

ژن درمانی سرطان سه گانه منفی پستان

پیام پژوهشی

ژن درمانی با ژن خودکشی سلولی کاسپاز ۹ القایی در سلول های سه گانه منفی سرطان پستان می تواند به عنوان یک کاندید درمانی جهت کنترل متاستاز سرطان پستان مورد استفاده قرار گیرد.

مخاطبان پیام

سیاست گذاران درمانی

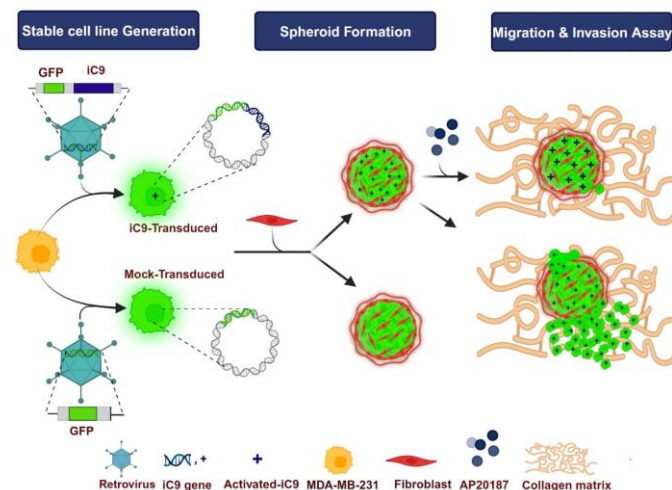
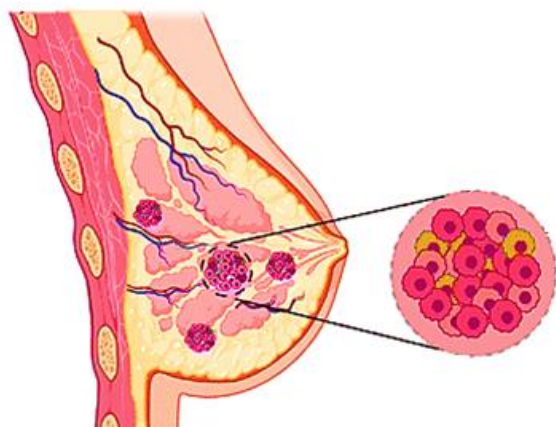
سیاست گذاران پژوهشی

پیام ترجمان دانش

سرطان پستان شایع ترین سرطان در بین جمعیت زنان است. بر اساس مارکرهای مولکولی سرطان پستان به ۴ زیرگروه اصلی لومینال A، لومینال B، غنی از HER2 و شبه بیزال تقسیم بندی می شود. سرطان سه گانه منفی پستان یک زیرگروه اصلی از دسته شبه بیزال هاست که در آن بیان گیرنده های هورمونی استروژن و پروژسترون و همچنین بیان گیرنده HER2 در آن منفی است و از تهاجمی ترین و متاستاتیک ترین زیرگروه سرطان پستان به شمار می آید که به علت همین ویژگی، از مزایای هورمون تراپی و درمان هدفمند علیه گیرنده HER2 برای درمان آن نمی توان سود برد. جراحی و شیمی درمانی از اصلی ترین روش های درمان این زیرگروه است که در نهایت منجر به مقاومت دارویی و عود مجدد این بیماری می شود. در نتیجه یافتن راهکار مناسب درمانی برای درمان این زیر گروه یک ضرورت محسوب می شود. ژن درمانی و زیر مجموعه آن ژن درمانی با ژن های خودکشی سلولی از روش های جدید درمانی است که علم پزشکی به آن امیدوار است.

عنوان طرح پژوهشی

بررسی اثر آنتی متاستاتیک ژن خودکشی سلولی کاسپاز ۹ القایی در مدل سه بعدی سرطان پستان در مجاورت سلول های مزانشیمی مغز استخوان



مدیریت اطلاع رسانی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زنجان

دپارتمان بیوتکنولوژی پزشکی دانشکده پزشکی

ژن درمانی با ژن های خودکشی سلولی روشی است که در آن یک ژن خارجی به طرق مختلف وارد سلول می شود و محصول بیان آن ژن برای سلول سمیت دارد و می تواند مرگ را در آن القاء کند. از شناخته شده ترین ژن های خودکشی سلولی آنزیم تیمیدین کیناز از ویروسی هرپس سیمپلکس است که می تواند پیش داروی گانسیکلوویر را از شکل منوفسفاته به شکل تری فسفات درآورد که با تیمیدین برای قرار گیری در ساختار DNA رقابت کرده و مانع تکثیر آن می شود. آنزیم شناخته شده دیگر سیتوزین دامیناز از باکتری اشرشایلا کولی است که پیش داروی ۵ فلوروسیتوزین را به داروی شیمی درمانی ۵ فلورواوراسیل تبدیل می کند که برای سلول سمیت دارد. استفاده از هر دو این آنزیم ها به علت منشاء غیر انسانی که دارند و وابستگی عملکردشان به چرخه سلولی با محدودیت هایی همراه است.

ژن کاسپاز ۹ القایی از جدیدترین ژن های شناخته شده خودکشی سلولی است که در مطالعات سلول درمانی به عنوان یه کلید اطمینان جهت حذف سلول های بدخیم و هم چنین در درمان سرطان های مختلف برای حذف سلول های سرطانی استفاده شده است. این ژن یک فرم مهندسی شده ژن کاسپاز ۹ انسانی درپیش دمین آن با یک دمین CARD است که توالی جایگزین شده است که این دمین جدید تمایل FKBP12 بالایی برای اتصال به یک پیش داروی سنتتیک به نام دارد که پس از اتصال می تواند دایمریزه AP1903 یا AP20187 و فعال شود. القاء آپوپتوز داخلی از شناخته شده ترین عملکرد کاسپاز ۹ است، اما اخیرا نقش های غیر آپوپتوتیک دیگری مانند تاثیر بر القاء تمایز، اتوفازی و مهاجرت سلولی برای آن گزارش شده است. از طرفی دیگر از بین مدل های مطالعاتی که برای سرطان وجود دارد، مدل های کشت دو بعدی نمی توانند پیچیدگی های تومور و میان کنش های سلول با ریز محیط خود که بر رفتار سلول های توموری اثر گذار هستند را توصیف کنند، در نتیجه مدل های کشت سلولی ۳ بعدی توسعه پیدا کردند تا بهتر بتوانند محیط درون تنی را شبیه سازی کنند.

در این مطالعه ابتدا یک رده سلولی TNBC با بیان پایدار ژن کاسپاز ۹ القایی ایجاد شد و با مطالعات فلوسایتومتری، میکروسکپ فلورسنت، ریل تایم پی سی آر و وایمنوبلاستینگ، بیان پایدار این ژن و فعالیت آن در این رده سلولی مورد ارزیابی قرار گرفت و پس از تایید آن، زنده مانی این سلول ها در حضور AP20187 با تکنیک MTT و بررسی آپوپتوز با فلوسایتومتری مورد ارزیابی قرار گرفت. در مرحله بعد توانایی کلنی زایی این سلول ها با تکنیک ایجاد کلونی سنجیده شد و فازهای چرخه سلولی با فلوسایتومتری مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که فعالیت کاسپاز ۹ القایی نتوانست آپوپتوز را در سلول های TNBC القاء کند. اما توانایی کلنی زایی و تکثیر آن ها را کاهش داد و علت این پدیده توقف چرخه سلولی در فاز S به دنبال فعال شدن کاسپاز ۹ القایی بود. در مرحله دوم یک مدل ارگانوئیدی (سه بعدی) از هم کشتی سلول های TNBC و سلول های فیبروبلاست انسانی ایجاد شد که با مطالعات ایمنوهیستوشیمی تطابق آن با مدل واقعی TNBC مورد تایید قرار گرفت. در مرحله بعد اثر AP20187 بر کینتیک رشد ارگانوئید های حاصل از سلول های TNBC با بیان پایدار ژن کاسپاز ۹ القایی و سلول های فیبروبلاست انسانی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ارگانوئید های تیمار شده با AP20187 کینتیک رشد آهسته تری را نسبت به گروه کنترل داشتند که نتایج توقف سلولی در فاز S مرحله قبل را تایید می کرد.

در فاز بعدی مطالعات مهاجرت و تهاجم سلولی در کشت دو بعدی با تکنیک های تست خراش و تست ترانس ول انجام گرفت. در تمامی تست های بررسی مهاجرت و تهاجم از داروی پنیتوماب به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. نتایج تست خراش نشان داد که فعال شدن کاسپاز ۹ به خوبی داروی پنیتوماب توانست مهاجرت سلول های TNBC را کاهش دهد. هم چنین جهت ارزیابی این فرضیه که حضور سلول های مزانشیمی مغز استخوان چقدر می تواند بر مهاجرت و تهاجم سلول های TNBC اثر گذار باشند تست ترانس ول انجام شد. نتایج نشان داد که حضور سلول های مزانشیمی مغز استخوان مهاجرت سلول های TNBC را افزایش می دهند.

از طرفی فعال شدن کاسپاز ۹ القایی توانست این مهاجرت را کاهش دهد. در مرحله بعد مهاجرت و تهاجم سلول ها در مدل ارگانوئیدی با تکنیک تست تهاجم سه بعدی سنجیده شد. نتایج نشان داد که این ژن درمانی به خوبی و حتی بهتر از داروی پنیتوماب توانست مهاجرت و تهاجم سلول های TNBC را کاهش دهد.

مطالعات مولکولی با تکنیک های ایمنوبلاستینگ و ایمنوهیستوشیمی آشکار کرد که بیان مارکرهای تبدیل سلول اپیتلیال به مزانکایمال (EMT) و مارکرهای متاستاز RhoA، MMP2،9 و Rac1 که از عاملین اصلی مهاجرت و تهاجم سلولی هستند به دنبال فعال شدن کاسپاز ۹ کاهش یافتند. هم چنین استفاده همزمان از این سیستم ژن درمانی به همراه شیمی درمانی حساسیت سلول های TNBC را به شیمی درمانی با دوکسوروبیسیسین افزایش داد. این نتایج نشان داد که از این سیستم ژن درمانی به عنوان یک کاندید مناسب جهت درمان و کنترل مهاجرت و تهاجم در TNBC می توان بهره برد.

مجری طرح پژوهشی

فرزانه فلاهی

دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی پزشکی

f.falahi@zums.ac.ir