مقاله پژوهشی

مجله سلول و بافت (علمی - پژوهشی)
جلد۹، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۷

بررسی اثرات سمیت و مهار متاستازی نانو ذرات اکسید سریم در دو رده‌ی سلولی سرطان پستان MCF-7 و T47D

شیوا زمانی .M.Sc[۱]، فهیمه باغبانی آرانی .Ph.D[۲]*، سیدعطا اله سادات شاندیز .Ph.D[۳]

۱- کارشناس ارشد ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین، دانشکده علوم زیستی، گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، ورامین- پیشوا، ایران
۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین، دانشکده علوم زیستی، گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، ورامین- پیشوا، ایران
۳- دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، گروه زیست شناسی، تهران، ایران

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: fbaghbani@iauvaramin.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۴/۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۶/۲۰

چکیده

هدف: در تحقیق حاضر، به مطالعه اثرات ضد متاستاتیک و کشندگی نانو ذرات اکسید سریم در دو رده‌ی سلولی سرطان پستان MCF-7 و T47D پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها: رده‌های سلولی سرطان پستان MCF-7، T47D و سلول نرمال HEK293 تحت تیمار با غلظت‌های ۶/۵ میلی‌گرم، ۶۵ و ۶۵۰ میکروگرم، ۶۵ و ۶۵۰ نانوگرم، نانو ذرات اکسید سریم قرار گرفتند و آنالیز MTT برای بررسی سمیت نانو ذرات انجام شد. سپس میزان بیان ژن‌های NM23 و KAI-1 با روش Real time PCR اندازه‌گیری شد.

نتایج: غلظت ۶۵۰ میکروگرم و ۶/۵ میلی‌گرم از CNP به‌ترتیب باعث مرگ تقریبا ۶۰ درصد از سلول‌های MCF-7 و T47D شد. همچنین در تیمار سلول‌های نرمال با غلظت ۶/۵ میلی‌گرم CNP کاهش بقای ۲۵درصدی مشاهده شد. نتایج آنالیز بیان ژن نیز نشان داد دو ژن سرکوبگر توموری NM23 و KAI-1 تحت اثر CNP دچار افزایش بیان نمی‌شوند.

نتیجه‌گیری: بر طبق نتایج این تحقیق، نانو ذرات اکسیدسریم دارای اثر سمیت بر سلول‌های سرطان پستان می باشد. هر چند این تاثیر بسته به دوز و نوع رده سلولی متغیر می باشد. از طرفی بررسی بیان ژن‌های ضد متاستازیی نشان داد که این نانوذره قادر به افزایش بیان این ژن‌ها نیست و بنابراین در کنترل تهاجم سلولی بی تاثیر است و احتمالا اثر ضد سرطانی خود را از طریق القا مرگ سلولی اعمال می‌کند.

واژگان کلیدی: سرطان پستان، متاستاز، نانو ذرات اکسید سریم، MCF-7 ، T47D

مقدمه

سرطان پستان یکی از شایع‌ترین انواع سرطان است که هر ساله باعث مرگ و میر فراوانی در بین زنان می‌شود و علی‌رغم پیشرفت‌های بسیاری که در مورد تشخیص زود هنگام و درمان این بیماری صورت گرفته است، کماکان سردسته علل مرگ به علت سرطان در بین زنان است (۱). انواع سرطان پستان شامل کارسینوم درجای داکتال، کارسینوم درجای لوبولار، سرطان پستان التهابی و سرطان پستان راجعه می‌باشد. روش‌های درمانی متفاوتی برای سرطان پستان وجود دارد که چهار نوع روش درمانی متداول برای سرطان پستان شامل جراحی، پرتودرمانی، شیمی‌درمانی و هورمون درمانی می‌باشد (۲ و ۳).

امروزه واژه نانو، یکی از مهم‌ترین فناوری‌ها در علوم کاربردی بخصوص تولیدات دارویی به‌شمار می‌رود. کاربرد نانوتکنولوژی در درمان سرطان یکی از جدیدترین مطالعاتی است که دانشمندان علوم پایه و بالینی به آن روی آورده‌اند (۴). نانو ذرات اکسید فلزی (Metal Oxide Nanoparticles) یکی از مهم‌ترین ترکیبات در حیطه‌ی تولید نانو ذرات هستند که مدتی است که به‌عنوان یکی از کاندیدای درمان سرطان مورد چالش قرار گرفته‌اند. نانو ذرات اکسید سریم که با نام اختصاری CNP (Cerium Oxid Nanoparticles) شناخته می‌شوند در هسته ی فلزی خود دارای هر دو ترکیب Ce^{3+}/Ce^{4+} می‌باشند که با اتم‌های اکسیژن احاطه شده‌اند. هر کدام از این کاتیون‌ها نقش خاصی به این نانوذره می‌دهند. Ce^{3+} منجر به فعالیت احیاکنندگی نانوذره CNP می‌شود و Ce^{4+} فعالیت اکسیدکنندگی دارد. نسبت Ce^{3+}/Ce^{4+} در سطح CNP به ریز محیط اطراف نانوذره وابسته است و مکانیسم عمل این نانودارو از طریق القای واکنش های اکسایش-کاهش است، درنتیجه مهم‌ترین کاربرد این نانو ذرات در پاسخ به مکانیسم‌های سلولی ROS (Reactive Oxygen Spieces) است که در تولید رادیکال‌های آزاد نقش بسیار مهمی دارند. در بیولوژی سرطان این مکانیسم در تولید انرژی و تنظیم فعالیت‌های داخل سلولی مطرح می‌شود و از آنجاکه سرطان تکثیر غیرقابل‌کنترل و بی برنامه سلول است لذا این مسیر نیز در سرطان دچار اختلال شده است. تاثیر ضد آنتی اکسیدانتی نانو ذرات اکسید سریم که باعث ایجاد فعالیتی مشابه سوپراکسید دیسموتاز شده و از فعالیت کاتالاز تقلید می کند، به اثبات رسیده است. جذب این نانو ذرات در سلول‌های سالم و توموری به اثبات رسیده است و حداکثر تا سه ساعت بعد از تجویز، سلول‌ها می‌توانند این نانو ذرات را برداشت کنند. در یکی از مطالعات به اندوسیتوز با واسطه کلاترین این ذرات اشاره شده است. سایر بررسی‌ها نشان داده است که این ذرات می‌توانند به تمام اندامک‌ها از جمله هسته و میتوکندری نفوذ کنند و با توجه به تفاوت pH محیط داخل این اندامک‌ها نقش آنتی اکسیدانتی و یا پرواکسیدانتی آن متغیر است (۵).

متاستاز در سرطان، به‌عنوان یکی از علل مهم مرگ و میر بیماران سرطانی محسوب می‌شود. بیش از ۲۰ ژن به‌عنوان مهار کننده های فرایند متاستاز شناخته شده‌اند. که در این میان بیان ژن‌های ضد متاستازی NM23 و KAI-1 در سلول‌های سرطانی از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. مهم‌ترین نقش ژنNM23 در تولید ATP از سایر نوکلئوتیدهاست و در پردازش و عملکرد آنزیم‌هایی نظیر نوکلئوزید دی فسفات کیناز، کینازهای اختصاصی سرین/ترئونین، فارنسیل فسفات کیناز و اگزونوکلئازها می‌باشد (۶). مطالعات مروری سیستماتیک نشان می‌دهد که افزایش بیان این ژن در بیماران مبتلا به سرطان پستان با پیش‌آگهی خوب و افزایش بقای بیماران ارتباط مستقیم دارد (۴و۷). همچنین در افرادی که توده بدخیم در آن‌ها متاستاز داده است، میزان بیان این ژن به‌طور معنی‌داری با افراد سالم و یا افراد با توده‌های خوش خیم تفاوت داشته و کمتر است. و نبود بیان آن در غدد لنفاوی در افرادی که متاستاز به غدد لنفاوی مثبت بود دیده شده

است(۴ و ۵). بیان ژن KAI-1 نیز با مهار متاستاز در ارتباط است. بیان این ژن در مراحل پیشرفته سرطان و با گسترش متاستاز کاهش می‌یابد. مطالعات نشان می‌دهد که فعال شدن پروتئین محافظ ژنوم p53 با افزایش بیان KAI-1 مرتبط است.

هدف از این مطالعه بررسی اثر نانو ذرات اکسید سریم بر سمیت و بیان ژن‌های سرکوبگر متاستازیNM23 و KAI-1 در دو رده‌ی سلولی سرطان پستان MCF-7 و T47D می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی کاربردی از فروردین تا اسفند سال ۱۳۹۶ انجام پذیرفت. رده‌های سلولی سرطانی MCF-7 و T47D و نرمال HEK293 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه شدند و سپس سلول‌ها در شرایط استاندارد مطابق با پروتکل در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و شرایط ۵ درصد، CO_2، کشت و تکثیر شدند. نانو ذرات اکسید سریم نیز از شرکت US Research Nanomaterials, Inc. خریداری شد. به‌منظور اطمینان از سایز و بار نانو ذرات آنالیز توزیع سایز و زتا صورت پذیرفت و مشخص شد میانگین سایز نانو ذرات حدود ۳۰۰ نانومتر بوده و دارای بار منفی می‌باشند. سپس میزان سمیّت سلولی نانو ذرات اکسید سریم، با روش MTT مورد بررسی قرار گرفت. به‌طوری‌که رده‌های سلولی با غلظت‌های ۶/۵ میلی‌گرم، ۶۵ و ۶۵۰ میکروگرم و ۶۵ و ۶۵۰ میکروگرم، نانو ذرات اکسید سریم به‌مدت ۴۸ ساعت تیمار شدند. سپس با استفاده از رنگ MTT و بررسی میزان شدت رنگ حاصل از حل شدن کریستال‌های فورامازان تولید شده توسط سلول‌های زنده در ایزوپروپانول، توسط دستگاه قرائت‌گر الایزا (DNM-9602G) در طول موج ۵۷۰ نانومتر درصد بقای سلولی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

۱۰۰× (جذب نوری کنترل/جذب نوری تست)= میزان بقای سلولی

در این تست برای هر غلظت ۸ بار تکرار در نظر گرفته شد.

به‌منظور اندازه‌گیری بیان ژن ها، استخراج RNA از رده‌های سلولی سرطانی MCF-7 و T47D تیمار شده با غلظت IC50 نانوذره انجام شد و سنتز cDNA صورت گرفت. جهت استخراج RNA از واکنش‌گر Trizol Invitrogen ساخت کشور آمریکا استفاده شد و به‌منظور بررسی کمّی و کیفی RNA، از روش اسپکتوفتومتری استفاده شد. بعد از استخراج RNA سنتز cDNA با استفاده از کیت Transgene Biotech AE301-02 صورت پذیرفت.

به‌منظور انجام واکنش Real Time PCR حجم نهایی هر میکروتیوپ ۲۰ میکرولیتر لحاظ شد که حاوی ۱۰ پیکومول از پرایمرهای جلوبر و برگشتی مربوط به‌هر ژن، ۳۵ نانوگرم cDNA، ۱۰ میکرولیتر Master mix و ۷ میکرولیتر آب RNase free بود. در این واکنش ژن‌های NM23 و KAI-1 به‌عنوان ژن هدف و ژن GAPDH به‌عنوان ژن مرجع در نظر گرفته شدند. توالی پرایمرهای به‌کارگرفته شده در این واکنش در جدول ۱ مشخص شده است.

جدول۱: مشخصات پرایمرهای استفاده شده در Real Time PCR

نام ژن	توالی پرایمر ۵` ⟶ ۳`	اندازه قطعه تکثیر شده
NM23	F: ATGGCCAACTGTGAGCGTACC R: CATGTATTTCACCAGGCCGGC	۲۰۴ جفت باز
KAI-1	F: CTCAGCCTGTATCAAAGTCACCA R: CCCACGCCGATGAAGACATA	۱۸۳ جفت باز
GAPDH	F; CCCACTCCTCCACCTTTGAC R; CATACCAGGAAATGAGCTTGACAA	۷۴ جفت باز

در این تحقیق برنامه زمانی دمایی دستگاه PCR (مدل ABI 7300، Applied Biosystems ,Foster City,CA,USA) به‌صورت ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۸ دقیقه، مرحله دوم ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه و مرحله آخر دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. در آخر آنالیز نتایج Real Time PCR با استفاده از روش ΔΔCt طبق فرمول های زیر صورت گرفت:

ΔCt=Ct target-Ct reference

ΔΔCt = ΔCt T - ΔCt C

ΔΔCt-RQ=2

در این فرمول ΔCt T اختلاف بین سیکل‌های آستانه ژن هدف و کنترل داخلی در نمونه مورد آزمون و ΔCt C نیز اختلاف میان سیکل‌های آستانه ژن هدف و کنترل داخلی در نمونه کنترل می‌باشد. این روش کارایی پرایمرها را کامل در نظر گرفته، به این‌صورت که میزان محصول در تمام سیکل‌ها دو برابر می‌باشد.

آنالیزآماری

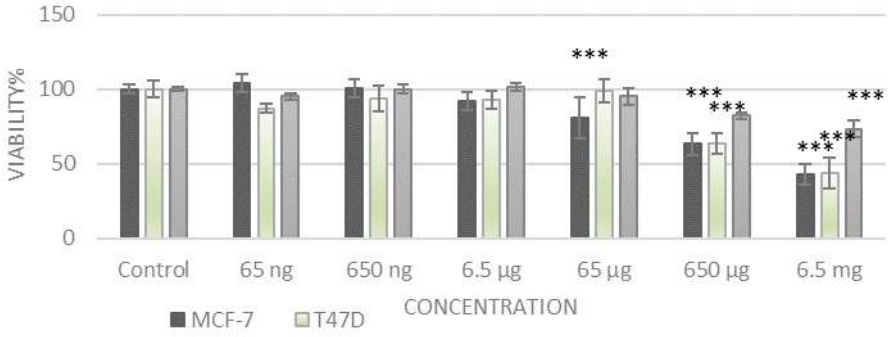
داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (one way ANOVA) و تست Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و محاسبه P value با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام گرفت. مقدار p<۰/۰۵ در هر تست معنی‌دار در نظرگرفته شد.

نتایج

تیمار دو رده سلولی سرطان پستان شامل MCF-7 و T47D و همچنین یک رده سلولی نرمال HEK293 با نانو ذرات اکسید سریم نشان داده که این نانوذره اثر سمیت وابسته به دوز در هر دو رده سلولی دارد. طبق شکل۱ نتایج سمیت به‌دست آمده برای رده سلولی MCF-7 حاکی از آن است که نانو ذرات اکسید سریم پس از بازه زمانی ۴۸ ساعت در غلظت‌های ۶/۵ میلی‌گرم، ۶۵ و ۶۵۰ میکروگرم، باعث کاهش معنی‌دار (p<۰/۰۰۱). بقای سلولی در رده سلولی MCF-7 می‌شوند.

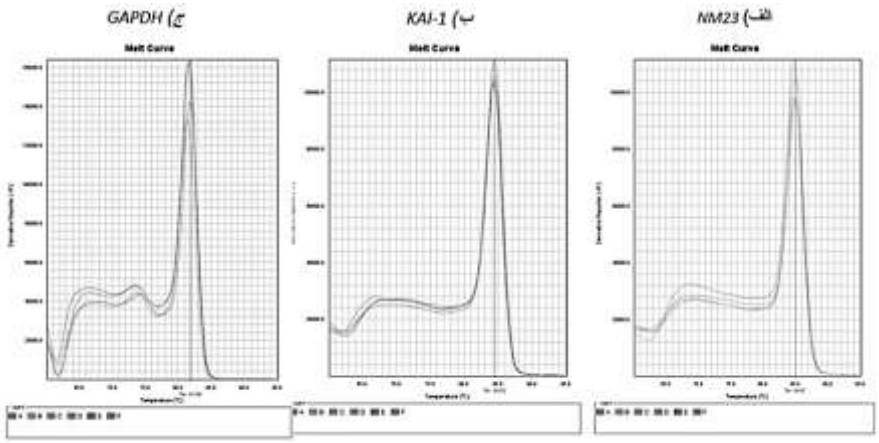
نتایج آزمون MTT برای بررسی اثرات سمیت نانو ذرات اکسید سریم بر رده سلولی سرطانی T47D (شکل۱) نیز نشان داد که غلظت ۶۵۰ میکروگرم، نانوذره باعث کاهش بقای ۴۰ درصد از سلول‌ها شد و با افزایش غلظت به ۶/۵ میلی‌گرم از نانوذره، کاهش بقای ۶۰ درصدی رده سلولی T47D را شاهدیم که این کاهش از نظر آماری معنی‌دار می باشد (p<۰/۰۰۱).

اثرات سمیت نانو ذرات اکسید سریم بر رده سلولی سرطانی HEK-293 به عنوان رده سلولی نرمال (شکل۱) نیز نشان داد که تنها غلظت ۶/۵ میلی‌گرم نانو ذرات اکسید سریم باعث مرگ ۲۵ درصدی سلول‌های HEK293 می شود (p<۰/۰۰۱). در غلظت‌های دیگر نانو ذرات تغییری در بقای سلول‌های HEK293 ایجاد نمی‌شود.



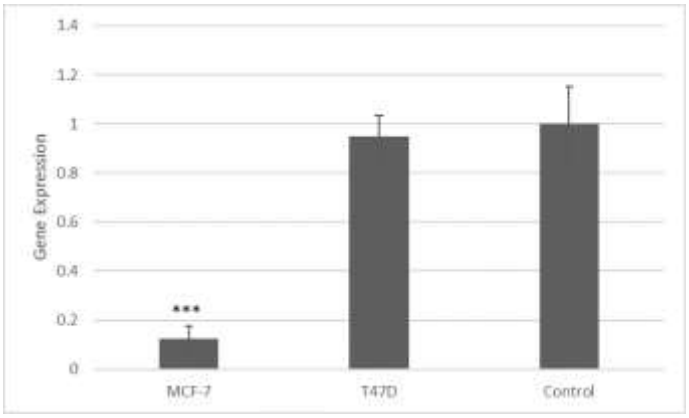
شکل۱: اثر غلظت‌های متفاوت نانو ذرات اکسید سریم بر سمیت رده سلولی سرطانی MCF-7 ،T47D، و رده سلولی نرمال HEK293. نتایج به‌صورت درصد بقا در مقایسه با نمونه‌های کنترل و به‌صورت میانگین± انحراف معیار گزارش شده است. ۰/۰۵ >p معنی‌دار در نظر گرفته شده است (***: p<۰/۰۰۱).

پس از انجام Real Time PCR ، به‌منظور تائید اینکه آیا قطعات ژنی به‌صورت اختصاصی، بدون آلودگی و دایمر پرایمر تکثیرشده است، از آنالیز منحنی ذوب استفاده شد. طبق شکل۲ وجود تنها یک پیک برای ژن‌های NM23، KAI-1 و GAPDH در دمای ذوب ویژه آن‌ها، تائیدکننده اختصاصی بودن محصول تکثیر واکنش می‌باشد. همچنین نمودار تکثیر هرکدام از ژن‌ها در هر واکنش PCR مورد بررسی قرار گرفت و Ct به‌دست‌آمده، ثبت شد. منطبق بودن نمودار تکثیر مربوط به سه تکرار هرکدام از ژن‌ها در هر آزمون PCR نیز کنترل شد.



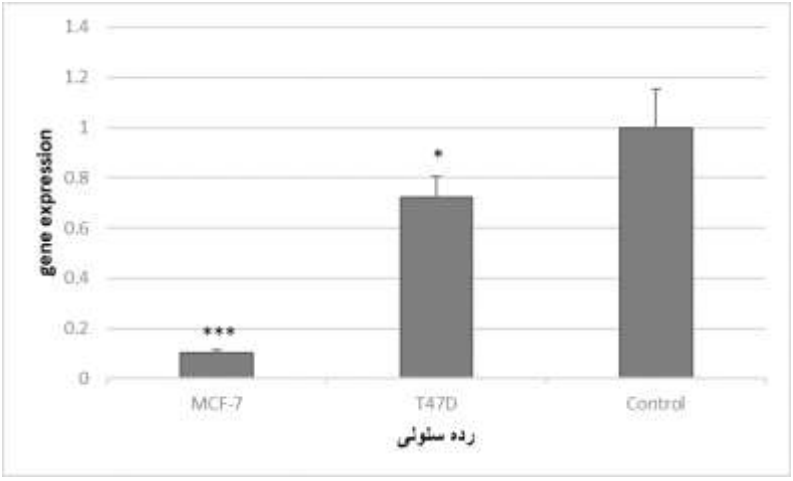
شکل ۲: منحنی ذوب ژن‌های مورد بررسی: الف) منحنی ذوب *NM23* ب) منحنی ذوب *KAI-1* ج)منحنی ذوب *GAPDH*. تک قله بودن و دمای ذوب یکسان منحنی‌های مربوط به ژن‌ها نشان دهنده اختصاصیت محصول تکثیرشده و صحت واکنش می‌باشد.

بعد از تیمار سلول‌ها با غلظت ۶۰۰ میکروگرم نانو ذرات اکسید سریم به‌مدت ۴۸ ساعت، بیان ژن NM23 در رده سلولی MCF-7 و T47D بررسی شد. طبق آنچه در شکل۳ نشان داده شده بیان ژن NM23 نسبت به ژن مرجع در رده سلولی MCF-7 تیمار شده با نانو ذرات اکسید سریم کاهش بیان معنی‌داری دارد (p<۰/۰۰۱). این در حالی است که بیان این ژن در رده سلولی T47D پس از تیمار با نانوذره تغییری را نشان نداد.



شکل۳: بررسی بیان ژن NM23 در رده‌های سلولی MCF-7 و T47D: الف) بیان ژن NM23 در رده سلولی سرطانی پستان MCF-7 کاهش‌یافته و آنالیز آماری تفاوت معناداری را نشان داد. ب) بیان ژن NM23 در رده سلولی T47D تفاوتی را نشان نمی دهد. (***: p<۰/۰۰۱).

شکل ۴ نیز میزان تغییرات بیان ژن KAI-1 در هر دو رده سلولی MCF-7 و T47D را پس از تیمار با نانوذره اکسید سریم نشان می‌دهد. به‌طوری‌که بیان این ژن در هر دو رده سلولی کاهش معناداری دارد. اما میزان این کاهش بیان در رده سلولی MCF-7 بیشتر می‌باشد.



شکل ٤: بررسی بیان ژن KAI-1 در رده‌های سلولی MCF-7 و T47D بعد از تیمار با نانو ذرات اکسید سریم: الف) بیان ژن KAI-1 در رده سلولی T47D ب) بیان ژن KAI-1 در رده سلولی MCF-7 (*:p<۰/۰۵، ***: p<۰/۰۰۱).

بحث

نانو ذرات اکسید سریم یک هسته سریم دارد که توسط اتم‌های اکسیژن احاطه شده است. مطالعات نشان دادند که شرایط محیط اطراف سلول ها و نیز شرایط داخلی آن‌ها اثر مهمی در تعیین نقش این ترکیبات دارد، به‌طوری‌که اثرات کشندگی این نانو ذرات بسته به نوع سلول متغییر است (۸). همچنین تاکنون چندین مطالعه اثر ضد سرطانی و ضد متاستازی این نانو ذرات را متذکر شده اند (۹). لذا در پژوهش حاضر در مرحله اول اثر نانو ذرات اکسید سریم بر سمیت و کشندگی دو رده سلولی مختلف از سرطان پستان و رده سلول نرمال بررسی شد و سپس نقش احتمالی این نانو ذرات روی مهار متاستاز از طریق تاثیر روی بیان ژن‌های سرکوبگر متاستازی NM23 و KAI-1 بررسی شد.

نتایج مطالعه حاضر بیانگر اثرات کاهنده بقای سلولی نانوذره در غلظت‌های ۶/۵ میلی‌گرم و ۶۵۰ میکروگرم در رده سلولی T47D و غلظت‌های ۶/۵ میلی‌گرم، ۶۵ و ۶۵۰ میکروگرم، در رده سلولی MCF-7 است که می‌توان گفت

نانو ذرات اکسید سریم در یک فرایند وابسته به دوز و نوع سلول می‌تواند اثر کشندگی روی سلول‌های سرطان پستان داشته باشد. همچنین در این مطالعه رده سلولی HEK293 نیز به‌عنوان رده نرمال تحت تیمار با نانو ذرات سریم قرار گرفتند و آنالیز نتایج MTT نشان داد که تنها در غلظت ۶/۵ میلی‌گرم نانوذره سریم، سلول‌های HEK293 مرگ ۲۵ درصدی را نشان می‌دهند، به‌عبارتی نانوذره سریم تنها در غلظت‌های بالا دارای اثرات سمی برای سلول‌های نرمال است اما در غلظت‌های پایین‌تر مانند غلظت ۶۵۰ میکروگرم که نانو ذرات اکسید سریم باعث مرگ بیش از ۵۰ درصد سلول‌های سرطانی پستان MCF-7 و T47D شدند، اثرات سمیتی بسیار پایینی برای سلول‌های HEK293 دارند. بنابراین در صورت فرمولاسون نانوذره اکسید سریم به‌عنوان یک داروی ضد سرطان با بهینه کردن غلظت می‌توان به یک داروی با اثرات جانبی کم رسید. این مساله جهت درمان سرطان بسیار مهم است زیرا در حال حاضر معضل اصلی درمان سرطان اثرات جانبی منفی داروها روی سلول های طبیعی است.

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۳ روی بیماران مبتلا به سرطان پانکراس انجام شد مشخص شد که نانو ذرات اکسید سریم (CONP) علاوه بر نقش حمایتی سلول‌های غیر سرطانی در برابر اثر اکسیداتیو رادیودرمانی، سبب افزایش pH و باعث افزایش حساسیت سلول‌های سرطانی به رادیودرمانی شده و باعث افزایش آپوپتوزیس می‌شود. در این بررسی از موش‌های سرطانی شده استفاده شد و همین‌طور در یک مرحله این دارو به بیماران قبل و بعد از رادیوتراپی تجویز شد (۱۰). هم‌چنین در مطالعه ای که Colon J و همکارانش (۱۱) روی سرطان GI (Gastro-Intestinal cancer) داشتند گزارش کردند که CONP در pH کمتر از ۴/۳ که در اثر برخورد پرتو ها در محیط اطراف سلول های توموری ایجاد می‌شود فعال شده و نقش کاتالاز را ایفا می‌کند. همین‌طور فعالیت آن مشابه سوپر اکسید دیسموتاز است و می‌تواند باعث مهار آسیب‌های شدید DNA شود. نتایج مطالعات پاتولوژیک نیز نشان داد که استفاده از نانو ذرات باعث افزایش بروز آپوپتوزیس در سلول‌های توموری شده و باعث افزایش مقاومت سلول‌های سالم در برابر پرتوهای یونیزان می‌شود. نتایج مطالعه حاضر تاییدی است بر این مطالعات بوده که اثر ضد سرطانی این نانوذره را نشان دادند. هرچند در مطالعه حاضر اثرات حفاظتی و یا آپوپتوتیک نانوذره در سرطان پستان بررسی نشد که لازم است در ادامه این مطالعه تکمیل شد.

ژن NM23 به‌عنوان ژن سرکوبگر متاستاز شناخته می‌شود و میزان بیان این ژن در سلول‌هایی که سرطانی شده‌اند کاهش می‌یابد.. بیان این ژن ارتباط مستقیمی با ایجاد متاستاز در سرطان پستان نشان داده است بنابراین می‌توان میزان بیان این ژن را به‌عنوان نشانه‌ای از درجه متاستاز و سرطان در نظر گرفت. هرچند گزارش‌ها متفاوت نیز وجود دارد. برای مثال کوبوکو و همکاران (۱۲ و ۱۳) گزارش دادند که ارتباط معنی‌داری بین بیان ژن NM23 اندازه‌گیری شده با روش ایمنوهیستوشیمی و سرطان پستان مشاهده نکردند.

همچنین ژن KAI-1 با مهار متاستاز در ارتباط است به‌طوری‌که نشانداده شده بیان این ژن در مراحل پیشرفته سرطان و گسترش متاستاز کاهش می‌یابد (۱۳ و ۱۴). بنابراین می‌توان میزان بیان این ژن ها را به‌عنوان نشانه‌ای از درجه متاستاز و سرطان در نظر گرفت. با توجه به اینکه چندین مطالعه اثر ضد متاستازی نانو ذرات اکسید روی را متذکر شدند (۱۵ و ۱۶). در این مطالعه نیز با بررسی اثر نانوذره مذکور روی بیان این دو ژن تاثر نانوذره سریم روی متاستاز سلول‌های سرطان پستان بررسی شد. به‌طوری‌که نتایج نشان داد که بیان ژن NM23 وKAI-1 در هر دو رده سلولی تیمار شده با نانو ذرات اکسید سریم نسبت به سلول‌های تیمار نشده دچار افزایش بیان نشدند درصورتی‌که اگر نانوذره اکسید سریم باعث مهار متاستاز

در سرطان پستان می‌شد انتظار می رفت این دو ژن دچار افزایش بیان شوند. بنابراین می‌توان چنین استدلال کرد که یا CONP در سرطان پستان اثر ضد متاستازی ندارد یا اینکه این اثر را از مسیرهای سیگنالینگ دیگری که در آن‌ها این دو ژن دخالت ندارند اعمال می‌کند. در تایید این استدلال می‌توان به مطالعه جیری و همکاران (۱۷) در اشاره کرد که نشان دادند نانو ذرات اکسیدسریم از طریق مهار رگ‌زایی در سرطان تخمدان می‌توانند با مهاجرت و تهاجم رده سلولی سرطان تخمدان مقابله کند. بنابراین لازم است مطالعات بیشتری در این زمینه روی سرطان پستان صورت گیرد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه مشاهده شد که نانو ذرات اکسیدسریم در یک روند وابسته به دوز و نوع سلول می تواند اثر سمی روی رده‌های سلولی سرطان پستان داشته باشد. بنابراین نتایج استفاده از نانو ذرات اکسید سریم برای درمان سرطان پستان امیدوارکننده است ولی از طرف دیگر دیده شد تأثیر این نانوذره بر ژن‌های سرکوب‌کننده متاستاز که یکی از مهم‌ترین مراحل سرطان است، کاهنده هست و در نتیجه حداقل در مورد ژن‌های بررسی شده در این پژوهش می‌توان گفت نانو ذرات اکسیدسریم نمی‌تواند باعث سرکوب متاستاز ئر سرطان پستان شود. برای پی بردن به‌دلیل این خواص نانو ذرات اکسید سریم نیاز به مطالعات بیشتر است به‌طور مثال می توان با ارزیابی دیگر ژن‌های مهم در مسیر آپوپتوزیس و متاستاز در سلول‌های تیمار شده با نانو ذرات سریم و یا افزایش کارایی نانو ذرات از طریق کانجوگیشن با عوامل ضد سرطانی، ارزیابی دقیق‌تری از مکانیسم‌های ضد سرطانی این نانوذره در سرطان پستان به‌دست آورد.

تشکر وقدردانی

مقاله حاضر مستخرج از پایان نامه دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین -پیشوا (شیوا زمانی) می‌باشد. نویسندگان اعلام می دارند که تضادی در منافع وجود ندارد.

منابع

1. Li CI, Weiss NS, Stanford JL, Daling JR. Hormone replacement therapy in relation to risk of lobular and ductal breast carcinoma in middle aged women. Cancer. 2000; 88(11): 2570-7.

2. Katz SJ, Lantz PM, Janz NK, Fagerlin A, et al. Patient involvement in surgery treatment decisions for breast cancer. J Clin Oncol. 2005; 23(24): 5526-33.

3. Han W, Zhang C, Cao F-y, Cao F, et al. The prognostic role of Sirt1 expression in solid malignancies: a meta-analysis. Oncotarget. 2017; 8(39): 66343–51.

4. Duan S, Nordmeier S, Buxton IL. Exploring the metastatic potential of exosomal NM23 signaling using a triple negative breast cancer model in mice. Cancer Research. 2016;76(14 Supplement): 4275-.

5. Lacombe M-LL, Milon L, Munier A, Mehus JG, et al. The human Nm23/nucleoside diphosphate kinases. J Bioenerg Biomembr. 2000; 32(3): 247-58.

6. Steeg PS, De La Rosa A, Flatow U, MacDonald NJ, et al. Nm23 and breast cancer metastasis. Breast Cancer Res Treat. 1993; 25(2): 175-87.

7. Asati A, Santra S, Kaittanis C, Nath S, et al. Oxidase-like activity of polymer-coated cerium oxide nanoparticles. Angew Chem Int Ed Engl. 2009; 48(13): 2308-12.

8. Alili L, Sack M, Karakoti AS, Teuber S, et al. Combined cytotoxic and anti-invasive properties of redox-active nanoparticles in tumor-stroma interactions. Biomaterials. 2011; 32(11): 2918-29.

10.Wason MS, Colon J, Das S, Seal S, et al. Sensitization of pancreatic cancer cells to

radiation by cerium oxide nanoparticle-induced ROS production. Nanomedicine. 2013; 9(4):558-69.

11. Colon J, Hsieh N, Ferguson A, Kupelian P, et al. Cerium oxide nanoparticles protect gastrointestinal epithelium from radiation-induced damage by reduction of reactive oxygen species and upregulation of superoxide dismutase 2. Nanomedicine. 2010; 6(5): 698-705.

12. Cubukcu E, Kanat O, Fatih Olmez O, Kabul S, Canhoroz M, Avci N, et al. Prognostic significance of estrogen receptor, progesterone receptor, HER2/neu, Ki-67, and nm23 expression in patients with invasive breast cancer. J BUON. 2013; 18(2): 359-65.

13. Yamauchi H, Cristofanilli M, Nakamura S, Hortobagyi GN, et al. Molecular targets for treatment of inflammatory breast cancer. Nat Rev Clin Oncol. 2009; 6(7): 387-94.

14. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. Science. 1994; 266(5182): 66-71.

15. Liu WM, Zhang XA. KAI1/CD82, a tumor metastasis suppressor. Cancer Lett. 2006; 240(2): 183-94.

16. Ouyang Z, Mainali MK, Sinha N, Strack G, et al. Potential of using cerium oxide nanoparticles for protecting healthy tissue during accelerated partial breast irradiation (APBI). Phys Med. 2016; 32(4): 631-5.

17. Giri S, Karakoti A, Graham RP, Maguire JL, et al. Nanoceria: a rare-earth nanoparticle as a novel anti-angiogenic therapeutic agent in ovarian cancer. PLoS One. 2013; 8(1): e54578.

Journal of Cell & Tissue (JCT)
Summer 2018; 9(2)

Original Article

Evaluation of toxicity and anti-metastatic effects of Cerium oxide on human breast cancer MCF-7 and T47D cell lines nanoparticles

Zamani Sh, M.Sc[1], Baghbani-Arani F, PhD[2], Sadat Shandiz SA, PhD[3]

1. Department of Genetics and Biotechnology, School of Biological Science, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
2. Department of Genetics and Biotechnology, School of Biological Science, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
3. Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

* Email corresponding author: fbaghbani@iauvaramin.ac.ir

Received: 29 Jun. 2018 Accepted: 11 Sep. 2018

Abstract

Aim: In the present study, The anti-metastatic and cytotoxicity effects of cerium oxide nanoparticles on two MCF-7 and T47D breast cancer cell lines have been studied.

Material and methods: MCF-7 and T47D breast cell lines and normal HEK293 cells were treated with 6.5 mg, 650µg, 65µg, 650ng, 65 ng of cerium oxide nanoparticles and MTT analysis was performed to investigate the toxicity of nanoparticles. Then, NM23 and KAI-1 genes expression were measured by real-time PCR method.

Results: Concentrations of 650 µg and 6.5 mg of CNP resulted in approximately 60% death of MCF-7 and T47D cells. Also, in treatment of normal cells with a concentration of 6.5 mg of CNP, Reduced survival of 25% was observed. Gene expression analysis showed that the two anti-metastatic NM23 and KAI-1 genes did not increase expression under CNP treatment.

Conclusion: According to the results of this study, the cerium oxide nanoparticles have toxic effects on breast cancer cells, However, this effect varies dose and type of cell line dependent. On the other hand, the study of the anti-metastatic expression of genes showed that this nanoparticle is not capable of enhancing the expression of these genes and therefore is ineffective in controlling cell invasion and is likely to exert its anticancer effect through induction of cell death.

Keywords: Breast cancer, metastasis, Cerium oxide nanoparticles, MCF-7, T47D