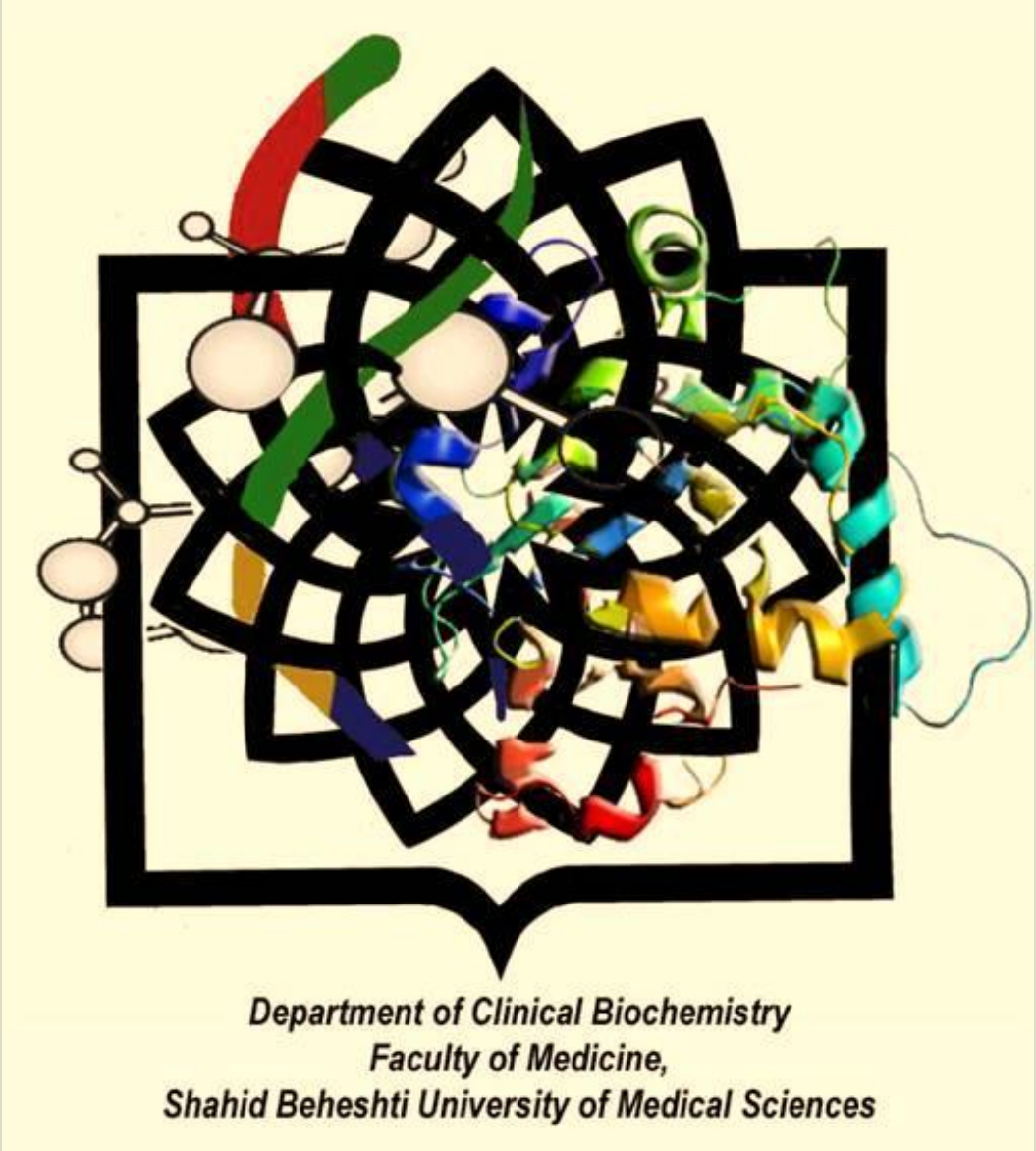
شماره ۱

۱۵ دی ۱۳۹۶

خبرنامه بیوشیمی بالینی

نشریه علمی - خبری گروه بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی



به نام آن که جان را فکرت آموخت

سخنی با خوانندگان

با استعانت از درگاه احدیت، اولین شماره خبرنامه بیوشیمی بالینی که نشریه علمی - خبری گروه بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی است زیر نظر اعضای هیئت علمی و با همکاری دانشجویان تحصیلات تکمیلی گروه بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی آماده شد.

تلاش بر این است که در این خبرنامه در راستای اهداف علمی گروه، بستری مناسب جهت ارائه مقالات و تبادل تجربیات پژوهشگران، اساتید و دانشجویان گرامی ایجاد شود. از کلیه اساتید و دانشجویان علاقمند دعوت می‌شود تا با کمک به ارائه هر چه بهتر این خبرنامه بر غنای علمی آن بیفزایند.

نشست علمی گروه بیوشیمی بالینی

نشست علمی گروه بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی با عنوان مباحثی در بیوشیمی اعصاب با همکاری انجمن بیوشیمی در روز چهاردهم آذر ۱۳۹۶ در سالن ابن‌سینای دانشکده پزشکی برگزار شد. در این گردهمایی علمی سه سخنرانی ارائه شد:

- مکانیسم‌های مولکولی تنظیم و انتقال پیام مرتبط با RhoGTPase، توسط دکتر رضا احمدیان استاد مدعو از دانشگاه دوسلدورف (آلمان).
- رقابت دینامیک استیلاسیون و بوتیریلاسیون لیزین ۵ و ۸ هیستون H4 به عنوان Hallmark پروموتر ژن‌های بسیار فعال، توسط دکتر افسانه گودرزی عضو هیئت علمی گروه بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.
- مکانیسم‌های اپی‌ژنتیک و متیلاسیون DNA در اختلالات تکاملی، توسط دکتر مژگان رستگار استاد مدعو از دانشگاه مانیتوبا (کانادا).

آدرس وب‌گاه خبرنامه بیوشیمی بالینی

http://msp.sbmu.ac.ir/?fkeyid=&siteid=294&pageid=51522

خبرنامه بیوشیمی بالینی

صاحب امتیاز:

گروه بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

زیر نظر:

اعضای هیئت علمی گروه بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

دل گرچه در این بادیه بسیار شتافت

یک موی ندانست ولی موی شکافت

ابن‌سینا

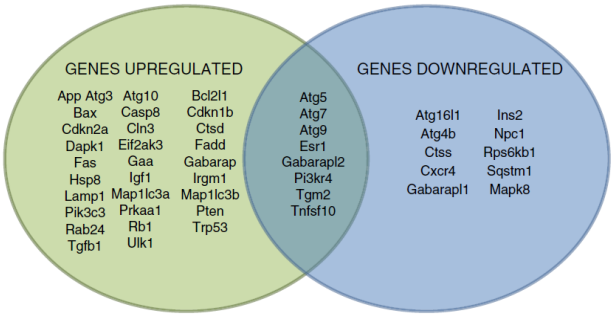
خبر کوتاه

نقش پروتئین‌های klf در عملکرد رگ‌ها و افزایش بقا

پروتئین‌های klf جزو خانواده‌ای از پروتئین‌ها به نام فاکتورهای رونویسی مشابه کراپل[1] هستند که در کنترل مسیرهای اتوفاژی نقش دارند. هرچند که سازوکار مولکولی اتوفاژی تاکنون به خوبی مشخص نشده است اما نقص در عملکرد مسیرهای اتوفاژی را می‌توان یکی از عوامل وقوع پیری دانست. با افزایش سن سلول، توانایی سلول در انجام اتوفاژی کاهش می‌یابد. این اختلال می‌تواند منجر به تجمع پروتئین‌های سمی در سلول شود و یکی از عواملی است که در کاهش عمر سلول نقش دارد.

در این تحقیق مشاهده شد که تغییر بیان پروتئین‌های klf در کرم‌های C.elegans با طول عمر آن‌ها ارتباط دارد. اتوفاژی در کرم‌های فاقد پروتئین‌های klf دچار مشکل می‌شود و این امر سبب کاهش سن کرم‌ها می‌شود. لذا، می‌توان در نظر گرفت که پروتئین‌های klf جزو عواملی هستند که در به تاخیر انداختن فرایند پیری نقش دارند.

هم‌چنین، در این پژوهش مشخص شد اختلال در عملکرد رگ‌ها در موش‌هایی که در آن‌ها مقدار پروتئین فاکتور رونویسی مشابه کراپل ۴ بیش‌تر است نسبت به گروه کنترل دیرتر ایجاد می‌شود. وجود مقدار مشخصی از این پروتئین می‌تواند از اختلال در عملکرد رگ‌ها که با افزایش سن ایجاد می‌شود جلوگیری کند. کاهش این پروتئین در اندوتلیوم رگ‌های انسان با افزایش سن مشاهده شده است.



آدرس مقاله:

Hsieh PN, Zhou G, Yuan Y, Zhang R, Prosdocimo DA, Sangwung P, et al. A conserved KLF-autophagy pathway modulates nematode lifespan and mammalian age-associated vascular dysfunction. Nature communications. 2017;8(1):914-26.

[1] Kruppel-like family of transcription factors

مقاله مروری

مکانیسم‌های فعال‌سازی سیستم ایمنی علیه سلول‌های سرطانی با تاکید بر مهارکننده‌های نقاط وارسی

مجید قاسمیان
دانشجوی دوره دکترای بیوشیمی بالینی
دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

معصومه رجبی‌بذل
دانشیار گروه بیوشیمی بالینی
دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

ایمنی ذاتی

دفاع در برابر میکروب‌ها با واکنش‌های ایمنی ذاتی میانجی‌گری می‌شود و با پاسخ‌های ایمنی تطبیقی دنبال می‌شود.

ویژگی‌های ایمنی ذاتی

ایمنی ذاتی دارای ویژگی‌های مختلفی است از جمله:

۱- خط آغازین دفاع است.

۲- پیش از ورود عفونت در محل وجود دارد بنابر این، به سرعت به عفونت پاسخ می‌دهد.

۳- در برخوردهای متوالی با عفونت پاسخ‌های یکسان می‌دهد.

۴- امکان تشخیص دقیق تفاوت بین میکروب‌ها را ندارد.

اجزای اصلی ایمنی ذاتی

اجزای اصلی ایمنی ذاتی عبارت است از:

۱- سدهای فیزیکی – شیمیایی

۲- سلول‌های بیگانه‌خوار از جمله نوتروفیل و ماکروفاژ

۳- پروتئین‌های خون از جمله اجزای کمپلمان

ایمنی تطبیقی

خصوصیات ایمنی تطبیقی عبارت است از:

۱- این نوع ایمنی پس از برخورد با عوامل عفونی تحریک می‌شود.

۲- پس از هر برخورد با یک میکروب مشخص از لحاظ ظرفیت دفاعی و بزرگی، افزایش می‌یابد (خاطره).

۳- اختصاصیت دارد یعنی توانایی تشخیص مواد مختلف را دارد (ویژگی اصلی).

۴- عناصر اصلی این سیستم لنفوسیت‌ها هستند.

۵- ایمنی تطبیقی شامل دو نوع، ایمنی هومورال و ایمنی سلولی است.

۶- گسترش کلونی[۲]

۷- کاهش و هموستاز: همه پاسخ‌های ایمنی پس از تحریک آنتی‌ژن با گذشت زمان رو به کاهش می‌گذارند و به حالت پایه و استراحت خود برمی‌گردند که به این روند هموستاز گفته می‌شود و علت این است که پس از حذف آنتی‌ژن توسط سیستم ایمنی دیگر محرکی (آنتی‌ژن) وجود ندارد. بنابراین، فعال‌سازی لنفوسیت انجام نمی‌گیرد پس بدون محرک، لنفوسیت‌های باقی‌مانده به علت آپاپتوز می‌میرند.

[2] clonal expansion

ایمنی هومورال

خصوصیات ایمنی هومورال عبارت است از:

۱- با واسطه مولکول‌هایی در خون و ترشحات مخاطی به نام آنتی‌بادی (Ab) ایجاد می‌شود. آنتی‌بادی‌ها توسط لنفوسیت‌های B تولید می‌شوند.

۲- مکانیسم اصلی دفاعی بر ضد میکروب‌های خارج سلولی است.

۳- آنتی‌بادی‌ها با مکانیسم‌های مختلفی عمل می‌کنند.

ایمنی سلولی

خصوصیات ایمنی سلولی عبارت است از:

۱- با واسطه لنفوسیت T انجام می‌شود.

۲- برخی میکروب‌ها قادرند در درون سلول‌های بیگانه‌خوار و انواع دیگر سلول‌های میزبان زنده بمانند و تکثیر شوند بنابراین، در این مکان‌ها از دسترس آنتی‌بادی‌ها در امان هستند لذا برای حذف عوامل در داخل سلول از ایمنی سلولی استفاده می‌شود.

ایمنی فعال

ایمنی فعال نوعی از ایمنی است که از برخورد با آنتی‌ژن (Ag) بیگانه به وجود می‌آید. به فرد یا لنفوسیت‌هایی که با آنتی‌ژن خاصی برخورد ندارند مبتدی یا Naive می‌گویند.

ایمنی غیرفعال

اگر لنفوسیت یا سرم فردی که نسبت به یک عفونت خاصی ایمن شده است را جدا کنیم و به فرد دیگری منتقل کنیم به این روند، انتقال انتخابی گفته می‌شود. دریافت‌کننده‌های چنین انتقالی بدون این که با آنتی‌ژن برخوردی داشته باشند یا به آن پاسخ داده باشند برای آن آنتی‌ژن خاص مقاوم یا ایمن هستند. یک نمونه مهم، انتقال آنتی‌بادی‌های مادری از جفت به جنین است.

لنفوسیت‌ها در ابتدا در اندام‌های لنفوئید اولیه (تیموس و مغز استخوان) تشکیل می‌شوند اما بخش اعظم فعال‌شدگی و تکثیر لنفوسیت‌ها در اندام‌های لنفوئید ثانویه (گره‌های لنفاوی، طحال، بافت‌های لنفوئید منتشر در مخاط دستگاه گوارش شامل لوزه‌ها و پلاک‌های پی‌یر[3]) روی می‌دهد.

اجزای سلولی سیستم ایمنی تطبیقی

۱- سلول‌های اصلی شامل لنفوسیت‌ها، سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن (APC) و سلول‌های اجرایی هستند.

۲- لنفوسیت B تنها سلولی است که آنتی‌بادی ترشح می‌کند و آنتی‌ژن خارج سلولی را شناسایی می‌کند.

۳- لنفوسیت T آنتی‌ژن داخل سلولی را شناسایی می‌کند. گیرنده آنتی‌ژن آن‌ها مولکول‌های غشایی هستند. این گیرنده‌ها فقط پپتیدهای آنتی‌ژنی متصل به پروتئین‌های میزبان را شناسایی می‌کنند که در واقع همان مولکول‌های MHC هستند.

انواع زیرمجموعه لنفوسیت T

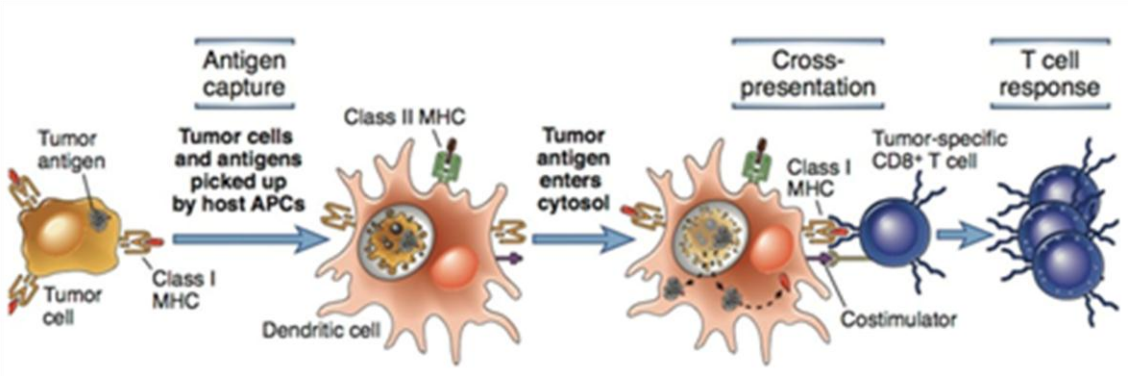
۱- سلول‌های T کمکی

۲- لنفوسیت‌های T سلول‌کش (CTL)

۳- سلول‌های T تنظیمی (Treg)

۴- سلول‌های NK

[3] peyer patch



شکل ۱ - چگونگی عرضه آنتی‌ژن

شروع و گسترش پاسخ ایمنی تطبیقی نیازمند گرفتن آنتی‌ژن و عرضه آن به لنفوسیت‌های اختصاصی است. سلول‌هایی که این نقش را بر عهده دارند سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن نامیده می‌شوند که تخصصی‌ترین آن‌ها سلول‌های دندریتیک است. بعد از فعال شدن لنفوسیت، آنتی‌ژن‌ها از طریق سلول‌های اجرایی از بین می‌روند.

لنفوسیت‌های T کمکی (CD4) پس از فعال شدن تکثیر می‌شوند و به سلول‌های اجرایی تمایز می‌یابند که این سلول‌ها سایتوکین‌هایی از جمله اینترلوکین۲ -IL) (2 را ترشح می‌کنند که یک عامل رشد است که روی لنفوسیت‌های فعال شده با آنتی‌ژن اثر می‌کند و تکثیر آن‌ها را تحریک می‌کند. لنفوسیت‌های CD8 T پس از فعال شدن تکثیر می‌یابند و به لنفوسیت‌های T سلول‌کش (CTL) تمایز می‌یابند.

مکانیسم عرضه آنتی‌ژن

آنتی‌ژن‌هایی را که سلول T شناسایی می‌کنند تجزیه می‌شوند یعنی آنتی‌ژن به قطعات پپتیدی تجزیه می‌شود و به مولکول‌های MHC کلاس I و II متصل می‌شوند. سپس گیرنده‌های سلول T (TCR) این قطعات را شناسایی می‌کنند. مولکول‌های MHC فقط بر روی سطح سلول‌های APC بیان می‌شوند. پروتئین‌هایی که توسط فاگوسیتوز از پروتئین‌های خارج سلولی به دست آمده‌اند توسط مولکول‌های MHC کلاس II عرضه می‌شوند ولی پپتیدهای داخل سلولی توسط MHC کلاس I عرضه می‌شوند. کمپلکس پپتید-MHC به عنوان لیگاند TCR عمل می‌کند. MHC کلاس I مسئول آنتی‌ژن‌های درونی است و آنتی‌ژن را به سلول‌های T سیتوتوکسیک (CTL) ارائه می‌دهد در حالی که MHC کلاس II مسئول آنتی‌ژن‌های خارجی است و آنتی‌ژن را به سلول‌های T کمکی عرضه می‌کند. بنابراین، به سلول‌های B در ایجاد آنتی‌بادی کمک می‌کنند. مولکول‌های CD1 ارتباط ساختمانی با MHC-I دارند و به صورت غیرکووالان به β_2-میکروگلوبولین متصل می‌شوند ولی آنتی‌ژن‌های لیپیدی را عرضه می‌کنند.

مکانیسم فعال شدن پاسخ ایمنی

سلول‌های بدخیم در سطح خود پپتیدهای مشتق از آنتی‌ژن‌های توموری را از طریق MHC-I عرضه می‌کنند. سلول‌های دندریتیک سلول‌های توموری را برداشت می‌کنند سپس، آنتی‌ژن بلعیده شده تجزیه

می‌شود و وارد مسیر MHC-I می‌شود که در سطح APC بروز می‌کند. در ادامه کمپلکس آنتی‌ژن – MHC با لنفوسیت‌های CD8 T واکنش می‌دهد و باعث فعال‌سازی آن‌ها می‌شود. سپس، لنفوسیت‌های فعال شده به تومورها با قدرت بیش‌تری حمله می‌کنند. به این فرایند عرضه متقاطع گفته می‌شود زیرا نوعی سلول (سلول دندریتیک) قادر به عرضه آنتی‌ژن سلول نوع دیگر (سلول توموری) است و موجب فعال‌سازی لنفوسیت T می‌شود.

دلایل ناتوانی پاسخ ایمنی در ریشه‌کن کردن سرطان

۱- سلول‌های توموری از سلول‌های میزبان به وجود می‌آیند. بنابر این، خاصیت ایمونوژن بودن قوی ندارند ولی تومورهایی که از طریق ویروس‌های انکوژن ایجاد می‌شوند توانایی بیش‌تری در القا پاسخ ایمنی دارند.

۲- به علت رشد سریع تومور سیستم ایمنی ظرفیت مقابله با آن را ندارد.

۳- فرار از سیستم ایمنی با مکانیسم‌های مختلف

۴- برخی از پاسخ‌های ایمنی باعث رشد تومور می‌شوند.

تاریخچه ایمونوتراپی سرطان

در مطالعات پاتولوژی بافتی بسیاری از تومورها، ارتشاح سلول‌های تک‌هسته‌ای در بستر تومور مشاهده شده است که شامل لنفوسیت‌های T، سلول‌های NK و ماکروفاژها هستند. وجود ارتشاح لنفوسیتی در برخی از انواع ملانوماها و سرطان‌های پستان و کولون نشان‌دهنده پیش‌آگهی خوش‌خیم‌تری برای آن‌ها است.

درمان سرطان از طریق محصولات باکتریایی

جهت درمان سرطان از طریق محصولات باکتریایی[۴] ترکیبی از باکتری‌های کشته شده از گونه‌های Streptococcus pyogenes و Serratia marcescen توسط ویلیام کولی که یک جراح سرطان‌شناس بود کشف شد و برای درمان سرطان از آن استفاده می‌شد.

مراقبت ایمنی

مراقبت ایمنی به معنای شناسایی و تخریب سلول‌های تغییر یافته است پیش از آن که به تومور تبدیل شوند و یا نابودی تومورها بعد از شکل‌گیری آن‌ها است. بنابر این، ثابت شده است در انسان‌ها و حیواناتی که سیستم ایمنی ضعیف‌تری دارند احتمال ابتلا به سرطان بیش‌تر است.

استفاده از BCG برای درمان سرطان مثانه

تحریک غیراختصاصی سیستم ایمنی بیماران سرطانی با تزریق مواد التهابی مانند باسیل کالمت و گرین (BCG) در جایگاه رشد تومور سالهاست که مورد استفاده قرار می‌گیرد. مایکوباکتریوم‌های BCG، ماکروفاژها را فعال می‌کنند و از فعالیت ضدتوموری ماکروفاژ برای تخریب تومور استفاده می‌شود. در حال حاضر از BCG در درون ویزیکول‌هایی برای درمان سرطان مثانه استفاده می‌شود.

استفاده از اینترلوکین ۲ برای درمان سرطان

فراهم کردن سیتوکین‌ها به طور مصنوعی یک رویکرد مهم برای تقویت پاسخ ایمنی میزبان به تومورها است که می‌تواند فعال شدن سلول‌های دندریتک و

[4] Coley's toxin

سلول‌های T اختصاصی تومور به خصوص CTL های CD8 را افزایش دهد. بزرگ‌ترین تجربه بالینی مربوط به دوز بالای اینترلوکین۲ (IL-2) است که به صورت درون رگی استفاده می‌شود و در حال حاضر یک درمان تایید شده برای سرطان‌های ملانومای پیشرفته و کارسینوم‌های سلول‌های کلیوی است. هم‌چنین اینترفرون آلفا (INF-α) برای درمان ملانومای بدخیم در ترکیب با شیمی درمانی مورد تایید قرار گرفته است.

سلول‌های کشنده طبیعی (NK)

این سلول‌ها انواع سلول‌های توموری به خصوص آن‌هایی که میزان بروز مولکول‌های MHC-I غشای آن‌ها کاهش یافته است را از بین می‌برند. از طرفی این سلول‌ها دارای گیرنده‌های نوع سه Fc زنجیره گاما (FcγRIII) هستند و نام دیگر آن‌ها CD16 است که می‌توانند زمانی که یک تومور با آنتی‌بادی منوکلونال مورد هدف قرار داده می‌شود با شناسایی آنتی‌بادی باعث مرگ تومور شوند. ویژگی‌های ضد توموری سلول‌های NK در حضور سایتوکاین‌ها به مخصوص اینترفرون گاما (IFNγ)، اینترلوکین۱۲ (IL-12) و اینترلوکین۱۵ (IL-15) افزایش می‌یابد چرا که این سایتوکاین‌ها موجب تحریک فعالیت آن‌ها می‌شوند.

آنتی‌بادی‌های کونژوگه شده با دارو

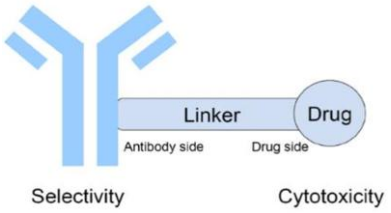
فرضیه حداکثری تحویل دارو یا یک توکسین به سلول‌های سرطانی اولین بار در سال ۱۹۱۳ میلادی توسط پائول ارلیش ارائه شد. در این زمان تحقیقات فراوانی انجام گرفت که در نهایت در سال ۲۰۰۰ میلادی سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) اولین آنتی‌بادی کونژوگه شده با دارو (ADC) به نام gemtozumab ozogamicin با نام تجاری mylotarg را تایید کرد. برآورد می‌شود در حال حاضر چهل ADC در کلینیک وجود داشته باشد. سه راهکار اصلی برای تولید ADC وجود دارد:

۱- قرار دادن ریشه‌های سیستئین در توالی آنتی‌بادی به وسیله جهش زایی هدفمند

۲- کونژوگه کردن آنزیمی

۳- قرار دادن یک اسید آمینه غیرطبیعی که دارای یک گروه عملکردی است که بتواند به طور انتخابی با یک گروه شیمیایی واکنش بدهد.

در بیش‌تر مواقع از داروهای مهارکننده بیوسنتز میکروتوبول‌ها مثل منومتیل‌اوریستاتین (MMAE) استفاده می‌شود.



شکل ۲ – آنتی‌بادی کونژوگه شده با دارو

مکانیسم عمل ایماتینب‌میسلات

در لوسمی میلوئید مزمن (CML) با توجه به افزایش فعالیت تیروزین کینازی پروتئین الحاقی BCR-ABL در CML، مهارکننده‌های مختلفی برای تیروزین کینازها مورد آزمایش قرار گرفته‌اند. یکی از این مهارکننده‌ها ایماتنیب مسیلات است که به طور عموم STI571 و یا با نام تجاری Gleevec نیز معروف است. این دارو با اتصال به جایگاه اتصال ATP در ناحیه[۵]

[5] domain

تیروزین کینازی BCR-ABL به صورت مهارکننده رقابتی با ATP عملکرد آن را بلوکه می‌کند. در بسیاری از بیماران با توسعه‌ی ناهنجاری‌های کروموزومی و سیتوژنتیکی در پروتئین BCR-ABL مقاومت به ایماتنیب ایجاد می‌شود که باعث ظهور نسل دوم از مهارکننده‌های تیروزین کیناز مانند نیلوتینیب، ارلوتینیب و داساتینیب شده است. پروژنیتورهای CML هرگز خاموش نمی‌شوند و به صورت پیوسته تکثیر می‌شوند در مقایسه با پروتئین $p145^{ABL}$ که به طور عمده در هسته وجود دارد، مکان $p210^{BCR-ABL}$ به صورت اختصاصی در سیتوپلاسم است. فعالیت تیروزین کینازی و نقش اتصالی به F- اکتین پروتئین $p210^{BCR-ABL}$ در نسبت با پروتئین $p210^{BCR}$ افزایش یافته است. ناحیه[۴] sh[۶]، ABL تیروزین ۱۷۷ از BCR را برای تشکیل یک محل اتصال برای پروتئین آداپتور (Grb-2) فسفریله می‌کند که یک پروتئین کوچک متصل شونده به GTP است که همان Ras است. علاوه بر این ABL-sh1 چندین پروتئین سلولی دیگر از جمله $p120^{CBL}$ و CRKL را فسفریله می‌کند. این مولکول‌ها سپس به ABL متصل می‌شوند و محل‌های اتصال سیتوپلاسمی برای پروتئین‌های آداپتور هستند که می‌توانند مسیرهای MAPK، JNK و PI3-K را به خدمت بگیرند. تیروزین کیناز BCR-ABL هم‌چنین مسیرهای stat-5، stat-1 و jak-1 را فعال می‌کند چنین تصور می‌شود که فعال‌سازی این مسیرها باعث رشد رده‌ی سلولی CML به صورت غیروابسته به فاکتورهای رشد می‌شود. علاوه بر این، فعال شدن مسیرهای سیگنالی پاسخی برای افزایش مقاومت به آپاپتوز هستند که در رده‌های سلولی CML مشهود است. BCR-ABL هم‌چنین بر اسکلت سلولی تاثیر می‌گذارد. دومین sh1 چندین پروتئین مرتبط با اسکلت سلولی از جمله پاکسیلین و کیناز چسبنده مرکزی (Fak) را فسفریله می‌کند. به هر حال این حقیقت که پروتئین $p210^{BCR-ABL}$ به طور معنی‌داری بهتر از پروتئین $p145^{ABL}$ به F- اکتین متصل می‌شود ممکن است علت تکثیر پیوسته پروژینتورهای CML باشد. حضور پروتئین $p210^{BCR-ABL}$ در رده‌های سلولی می‌تواند از طریق مقاوت به آپاپتوز و تغییر رفتار چسبندگی سلولی به طور مستقیم باعث افزایش تکثیر مداوم سلول‌ها شود.

واکسن‌های درمانی

آنتی‌ژن‌های توموری را می‌توان به شکل واکسن‌های سلول‌های دندریتیک تحویل داد. در این شیوه سلول‌های دندریتیک بیماران خالص می‌شود سپس، با آنتی‌ژن‌های توموری انکوبه می‌شود و سپس به بیماران تزریق مجدد می‌شود. از این روش یک واکسن برای درمان سرطان پروستات مورد تایید قرار گرفته است. این واکسن از لکوسیت‌های خون محیطی بیماران که غنی از سلول‌های دندریتیک است تهیه شده است که در معرض یک پروتئین ادغامی شامل عامل محرک کلونی ماکروفاژ-گرانولوسیت (GM-CSF) و آنتی‌ژن همراه تومور اسید فسفاتاز پروستاتی قرار می‌گیرد. GM-CSF بلوغ سلول‌های دندریتیک را تقویت می‌کند که آنتی‌ژن توموری را عرضه کرده است بنابراین، پاسخ سلول‌های T ضد تومور را تحریک می‌کند.

[6] Src-homology 1

DNA واکسن

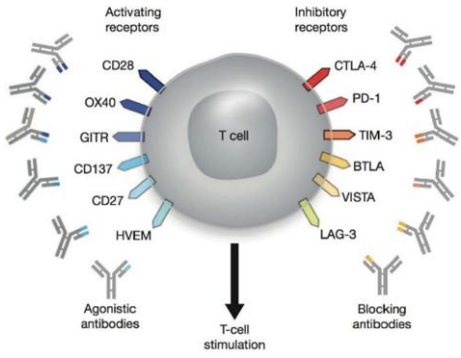
در یک رویکرد جدید ایمن‌سازی از DNA حاوی توالی خاصی از ژنوم پاتوژن استفاده می‌شود. این DNA به طور معمول یک پلاسمید باکتریایی است که ترتیبی داده شده است تا در برگیرنده توالی یک پروتئین آنتی‌ژنی از پاتوژن مورد نظر باشد. DNA واکسن بسیار مشابه ویروس‌ها عمل می‌کند اما مولکول‌های DNA حاوی مقدار بسیار محدودی از اطلاعات ژنتیکی هستند و نمی‌توانند عفونت‌زا باشند. هر چند که از این واکسن‌ها هم برای سرطان استفاده می‌شود ولی در واقع سلول‌های ایمنی‌ایمنی‌زایی اندکی دارند.

فعال‌سازی لنفوسیت‌های T

هدف از فعال‌سازی لنفوسیت T تولید تعداد فراوانی سلول‌های اجرایی دارای عملکرد از مقادیر کم لنفوسیت مبتدی است. فعال‌سازی لنفوسیت‌های T مبتدی به طور عمده در اعضای لنفوئید ثانویه رخ می‌دهد که با عبور از آن‌ها سلول‌های T با آنتی‌ژن عرضه شده توسط سلول‌های دندریتیک بالغ مواجه می‌شوند. پاسخ سلول‌های T اجرایی پس از حذف آنتی‌ژن کاهش می‌یابد که این کاهش به طور عمده به دلیل مرگ تعداد زیادی از سلول‌های T فعال شده از طریق آپاپتوز است.

پیام‌های فعال‌شدن لنفوسیت T

۱- شناسایی آنتی‌ژن نخستین پیام برای فعال شدن لنفوسیت است. لنفوسیت‌های T CD4 و CD8 از طریق TCR فقط قادر به پاسخ‌دهی به آنتی‌ژن‌های پروتئینی هستند.

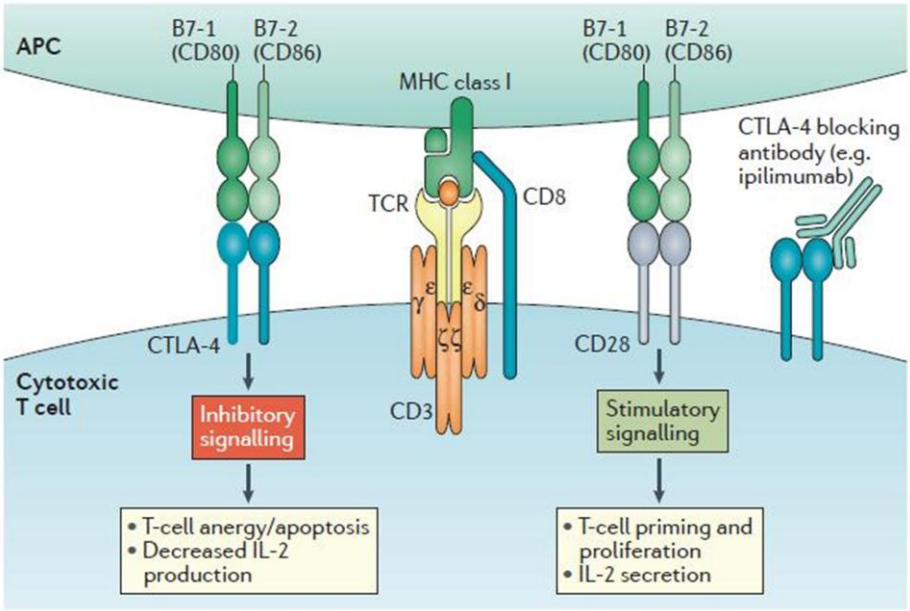


شکل ۳ – عوامل درگیر در فعال شدن لنفوسیت T

۲- نقش کمک محرک‌ها در فعال‌شدن سلول T: کمک محرک‌ها مولکول‌هایی هستند که از APC عرضه می‌شوند و برای فعال‌سازی سلول T نیاز هستند. از این گروه می‌توان به محرک‌های کمکی خانواده B7:CD28 اشاره کرد. CD28 یک گیرنده در سطح سلول‌های T است که به مولکول‌های کمک محرک B7-1(CD80) و B7-2(CD86) که در سطح سلول‌های APC بیان می‌شوند متصل می‌شوند.

CTLA-4 (آنتی‌ژن چهار لنفوسیت T سلول‌کش) نوعی گیرنده مهاری از خانواده CD28 است. PD1 (مرگ برنامه‌ریزی شده ۱) نیز نوعی گیرنده مهاری است این دو گیرنده مهاری در فرایند تحمل[۷] نقش دارند بنابر این، نقص عملکرد آن‌ها باعث بیماری خود ایمن می‌شود. CTLA-4 و CD28 دو گیرنده هستند که به یک لیگاند مشترک (B7) متصل می‌شوند ولی اثرهای مخالفی در فعال‌سازی لنفوسیت T دارند. CTLA-4 گیرنده‌ای با میل زیاد برای B7 است و زمانی که میزان B7 در سطح سلول‌های APC کم است به آن متصل می‌شود به عنوان مثال زمانی که APC در حالت

[7] tolerance



شکل ۴ – ارتباط سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن (APC) و سلول‌های T کشنده

استراحت است یا در زمان حذف آنتی‌ژن که باعث کاهش پاسخ ایمنی‌زایی می‌شود. CD28 دارای میل پیوندی ۲۰ تا ۵۰ بار کم‌تر از برای B7 است بنابر این، زمانی به B7 متصل می‌شود که مقدار آن در سطح APC زیاد باشد (به عنوان مثال زمان مواجه با میکروب). بنابر این، بر اساس این دو مدل سطح بروز B7 در سلول‌های APC اتصال نسبی CD28 و CTLA-4 را نشان می‌دهد بنابر این، آغاز یا پایان پاسخ ایمنی را نشان می‌دهد. پس زمانی که CTLA-4 به B7 متصل می‌شود از اتصال CD28 به آن جلوگیری می‌کند بنابر این، با ایجاد پیام مهاری از فعال شدن ناشی از TCR و CD28 جلوگیری می‌کند.

راهکار سلول سرطانی برای فرار از لنفوسیت فعال شده

سلول‌های سرطانی نیز برای دور زدن و فرار کردن از لنفوسیت‌های فعال شده راهکارهای مختلفی دارند که مهم‌ترین آن‌ها این است که این سلول‌ها بیان MHC-I در سطح خود را کاهش می‌دهند که باعث می‌شود مسیرهای سیگنالی اولیه که ناشی از آنتی‌ژن توموری است کاهش می‌یابد از طرفی این سلول‌ها با افزایش لیگاندهای مهار باعث افزایش سیگنال‌های مهار به لنفوسیت‌ها می‌شوند و آن‌ها را به سمت مرگ می‌برند و از فعال شدن آن‌ها جلوگیری می‌کنند.

اثرات انواع راهکارهای درمانی

نتایج بسیاری از تحقیقات از لحاظ اثرات مختلف درمانی بر روی سلول‌های سرطانی نشان می‌دهد که شیمی درمانی کم‌ترین اثرات درمانی را دارد و بقای بیمار با گذشت زمان بعد از مدتی کاهش می‌یابد ولی درمان‌های بر مبنای ژنتیک اثرات بهتری نسبت به شیمی درمانی داشتند هر چند که استفاده از مهارکننده‌های نقاط وارسی نسبت به دو گروه قبل نتایج امیدوارکننده‌تری را نشان می‌داد. به هرحال، این

نتایج نشان داد که بهترین نتایج درمانی زمانی است که از درمان ترکیبی استفاده شود و درمان مهار کننده‌های نقاط وارسی و درمان ژنتیکی بهترین نتایج را نشان می‌دهد.

T سل درمانی

ایمنی درمانی اکتسابی نیز یکی از انواع روش‌های سلول درمانی است که سلول‌های ایمنی خون بیمار را جدا می‌کنند و خاصیت ضدسرطانی آن‌ها و تعداد آن‌ها را افزایش داده و دوباره به بیمار منتقل می‌کنند. در این روش با توجه به منبع سلول‌های T که برای انتقال استفاده می‌شوند، T سل درمانی به دو نوع طبقه‌بندی می‌شود: استفاده از سلول‌های T طبیعی و استفاده از سلول‌های T مهندسی شده. با ظهور تکنولوژی انتقال ژن دانشمندان سعی در هدفمند کردن سلول‌های T به سمت تومور هدف کردند. با استفاده از ترکیب ایمنی سلولی و ایمنی هومورال، تکنولوژی CAR[8] یا گیرنده آنتی‌ژنی نوترکیب شکل گرفت. بدین ترتیب که بخش اتصال به آنتی‌ژن (حاصل از آنتی‌بادی) به بخش‌های فعال‌کننده پاسخ ایمنی متصل شده و گیرنده‌های آنتی‌ژنی کایمریک شکل گرفتند. گیرنده آنتی‌ژن نوترکیب به صورت کلاسیک شامل یک بخش ویژه اتصال به آنتی‌ژن است که از ناحیه متغیر آنتی‌بادی مونوکلونال منشعب شده است. این بخش توسط یک ناحیه لولا و یک ناحیه غشاءگذر به بخش درون غشایی (با کارآیی انتقال پیام) متصل می‌شود. نسل اول CAR از ناحیه متغیر تک زنجیره آنتی‌بادی اختصاصی برای آنتی‌ژن توموری تشکیل شده است. این بخش از طریق یک دومین غشاءگذر به یک دومین انتقال دهنده پیام درون سلولی که متعلق به CD3ζ یا FcRζ است، متصل شده است. CAR های نسل اول عملکرد ضعیفی در درمان لنفوما، نوروبلاستوما و سرطان کلیه و تخمدان نشان دادند. چرا که فعال‌سازی سلول‌های T حاوی CAR تنها منجر به القای موقت تقسیم و ترشح کم‌تر از حد بهینه سایتوکاین‌ها می‌شد. به منظور بهره‌گیری از تحریک هم‌زمان سلول‌های T و تقویت فعالیت آن‌ها، در نسل دوم بخش درون سلولی آن‌ها از یک یا چند مولکول کمک محرک مانند CD28، OX40 و یا 4-1BB در ناحیه درون سلولی و متصل به بخش انتقال پیام، استفاده می‌شود. تغییر ایجاد شده منجر به افزایش فعالیت اختصاصی سلول‌های T علیه آنتی‌ژن و تکثیر آن‌ها می‌شود. نسل سوم CAR نیز شامل ترکیبی از دومین‌های درون سلولی هم محرک است.

اجزای CAR

CAR دارای اجزای مختلفی است که در عملکرد آن بسیار مهم هستند.

ناحیه خارج سلولی CAR

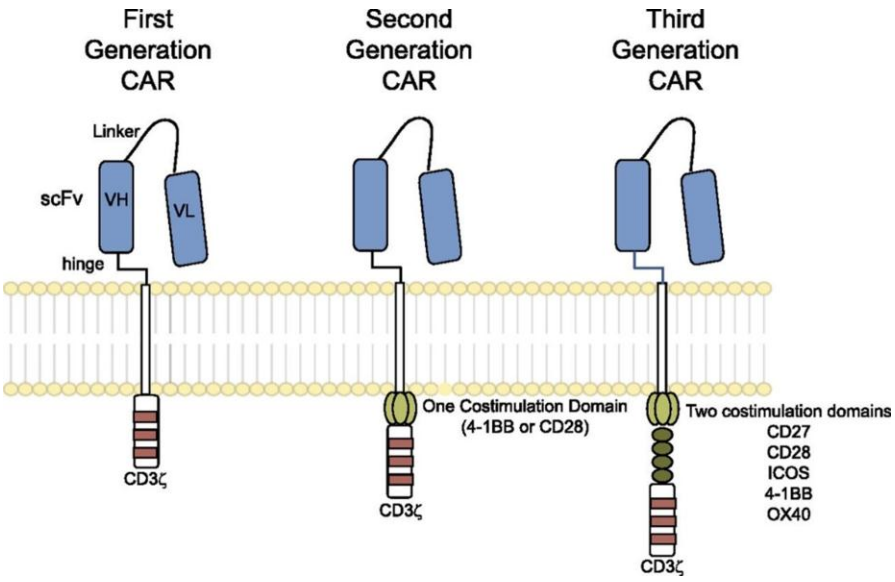
این ناحیه شامل دو بخش است: یک بخش اتصال به آنتی‌ژن و یک ناحیه لولا یا فاصله انداز.

بخش اتصال به آنتی‌ژن: رایج ترین دومین خارج سلولی اتصال به آنتی‌ژن، یک ScFv منشعب شده از بخش‌های متغیر زنجیره سبک و سنگین آنتی‌بادی منوکلونال ویژه آنتی‌ژن است.

ناحیه لولای CAR

ناحیه لولا وظیفه انعطاف‌پذیر بودن CAR را بر عهده دارد و به نظر می‌رسد نقش مهمی در قرارگیری صحیح

[8] Chimeric Antigen Receptor



شکل ۵ – ساختار نسل‌های مختلف CAR

دومین متصل شونده در حین میان‌کنش آنتی‌ژن و ScFv داشته باشد. فاصله‌انداز می‌تواند از ناحیه لولا IgG1، ناحیه CH2, CH3 ایمونوگلوبولین و یا بخشی از CD3 حاصل شود.

ناحیه غشاءگذر CAR

نقش بسیار مهمی در بیان سطحی CAR دارا است و هم‌چنین می‌تواند بر عملکرد آن نیز مؤثر باشد. این بخش یک ناحیه کاملاً ساختاری است و در نسل اول بخش‌های CD4 و CD8 مورد استفاده قرار می‌گرفتند که امکان ترشح سایتوکاین‌های مشابهی را فراهم می‌کردند. اما دومین غشاءگذر CD3ζ کارایی خود را در تسهیل میان‌کنش میان CAR و CD3 اندوژن نشان داد. این بخش غشاءگذر CD3ζ امکان دایمریزه شدن با گیرنده اندوژن سلول‌های T را فراهم می‌کند، که منجر به افزایش عملکرد ضد توموری و تولید سایتوکاین می‌شود. بررسی‌ها نشان می‌دهد که مولکول‌های CAR حاوی ناحیه غشاءگذر CD28 بالاترین بیان را در مقایسه با مولکول‌های CAR حاوی ناحیه غشاء گذر CD3ζ نشان می‌دهد.

بخش درون سلولی (انتقال پیام) CAR

گیرنده سلول‌های T (TCR) به تنهایی برای تکثیر و تمایز به سلول‌های عملکردی و حافظه‌ای کافی نیست. برای مؤثر بودن پاسخ، نیاز به تحریک هم‌زمان است. هم‌چنین موفقیت درمانی سلول‌های T حاوی CAR، بستگی به تحریک هم زمان برای فعال‌سازی کامل سلول‌های T دارد. بنابر این، مولکول‌های CAR باید حاوی ناحیه‌های انتقال پیام هم محرک به دست آمده از مولکول‌های هم محرک سلول‌های T، مانند CD28 باشند. در این بخش از ترکیب‌های متفاوتی از مولکول‌های هم‌محرک استفاده می‌شوند. عمده‌ترین این مولکول‌ها عبارت از CD28، 4-1BB (CD137)، OX40 (CD134)، ICOS، CD27 هستند که در تنظیم تکثیر سلول‌های T، بقاء و عملکرد ضد توموری نقش دارند.

انتقال سازه CAR به سلول‌های هدف

وکتورهای مختلفی برای انتقال سازه‌های CAR به سلول‌های هدف استفاده می‌شوند که هر کدام از آن‌ها دارای معایب و مزایایی از منظر پیچیدگی، پایداری، سطح بیان ترانس‌ژن، ایمنی و قیمت هستند. به طور کلی، روش‌های انتقال CAR به سلول‌های T شامل دو دسته وکتورهای ویروسی و وکتورهای غیرویروسی می‌شوند. تاکنون از ترانسپوزون‌ها و الکتروپوریشن mRNA برای انتقال سازه‌های CAR به سلول‌های هدف استفاده شده است که با توجه به کارآیی پایین، چندان مورد اقبال واقع نشده‌اند. وکتورهای ویروسی که تاکنون در انتقال سازه‌های CAR مورد استفاده قرار گرفتند، از دو نوع وکتورهای γ- رتروویروسی و لنتی ویروسی هستند.

عملکرد سلول‌های T حاوی CAR در از بین بردن سلول‌های سرطانی

در یک فرآیند درمانی طراحی شده برای درمان با استفاده از سلول‌های T حاوی CAR، ابتدا خون‌گیری از بیمار انجام می‌شود، در ادامه ابتدا همان طور که پیش از این شرح داده شد، سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی جدا شده و سلول‌های T جدا شده و فعال می‌شوند. پس از فعال‌سازی، سازه CAR ایجاد شده به آن‌ها منتقل می‌شود و سلول‌های مهندسی شده تکثیر می‌شوند. سپس این سلول‌های مهندسی شده به بیمار منتقل می‌شوند. پس از برخورد سلول‌های T حاوی CAR با سلول‌های توموری حاوی آنتی‌ژن هدف سیگنال فعال‌سازی اولیه به واسطه ناحیه CD3ζ موجود در سازه و سیگنال هم محرکی به واسطه حضور ناحیه‌های هم محرکی (CD28 و OX-40) در سلول حاوی CAR ایجاد می‌شود. سیگنال اول می‌تواند منجر به فعال‌سازی اولیه سلول‌های T شده و سیگنال دوم، فعال ماندن طولانی مدت سلول‌های T و القای سلول‌های T حافظه‌ای را بر عهده دارد. مجموعه پیام‌های ایجاد شده که در اثر برخورد با آنتی‌ژن صورت می‌گیرد، با کمک واسطه‌های انتقال پیام منجر به رونویسی از مجموعه‌ای از ژن‌ها شده که نتیجه آن تولید گرانول‌های پرفورین و گرانزیم، بیان FasL و لیگاند القاکننده آپوپتوز وابسته به فاکتور نکروز کننده توموری (TRAIL) و در نتیجه از بین رفتن سلول هدف است. تکثیر و فعال‌سازی سلول‌های T و تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مانند اینترلوکین ۲، اینترفرون γ و TNF-α نیز رخ می‌دهد. هم‌چنین سایر سلول‌های ایمنی موجود در تومور نیز به واسطه تولید سایتوکاین‌ها فعال می‌شوند.

Tisagenlecleucel با نام تجاری Kymriah و Axicabtagene ciloleucel با نام تجاری Yescarta، سلول‌های T حاوی CAR هستند که از سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) مجوز گرفته‌اند.

منابع

1. Goodman A, Patel SP, Kurzrock R. PD-1-PD-L1 immune-checkpoint blockade in B-cell lymphomas. Nature Reviews Clinical Oncology. 2017;14(4):203-20.

2. Lichtman EI, Dotti G. Chimeric antigen receptor T-cells for B-cell malignancies. Translational Research. 2017;187:59-82.

3. Miller JFAP, Sadelain M. The journey from discoveries in fundamental immunology to

and combinatorial approaches. Molecular oncology. 2015;9(10):2043-53.

7. Sharpe AH. Introduction to checkpoint inhibitors and cancer immunotherapy. Immunological Reviews. 2017;276(1):5- 8.

8. Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM. Immune checkpoint blockade: a common denominator approach to cancer therapy. Cancer cell. 2015;27(4):450-61.

cancer immunotherapy. Cancer cell. 2015;27(4):439-49.

4. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. Nature Reviews Cancer. 2012;12(4):252-64.

5. Robainas M, Otano R, Bueno S, Ait-Oudhia S. Understanding the role of PD-L1/PD1 pathway blockade and autophagy in cancer therapy. OncoTargets and therapy. 2017;10:1803.

6. Sathyanarayanan V, Neelapu SS. Cancer immunotherapy: Strategies for personalization

مقاله مروری

پاتوژنز مولکولی کارسینومای Midline NUT (NMC)

فائزه ناصری
دانشجوی دوره دکترای بیوشیمی بالینی
دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

افسانه گودرزی
استادیار گروه بیوشیمی بالینی
دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

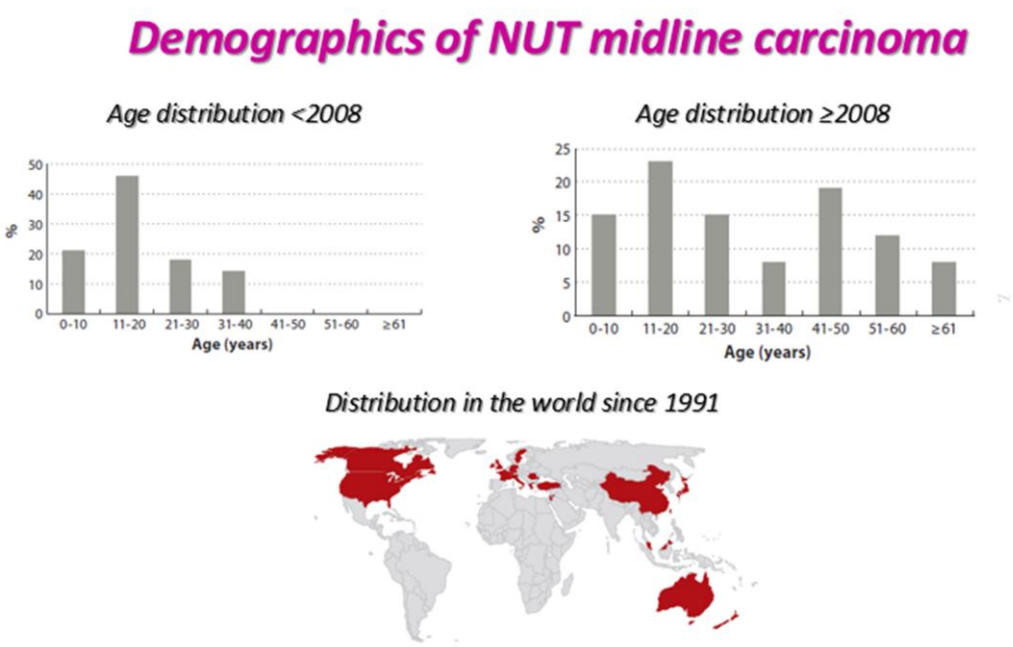
تاریخچه

در سال ۱۹۹۹ میلادی در کشور آمریکا یک دختر ۱۲ ساله دچار گلودرد، گرفتگی صدا و اختلال در بلع شد. پس از مراجعه به پزشک تحت درمان با آنتی‌بیوتیک قرار گرفت. بعد از گذشت حدود یک ماه، مشکلات وی شدیدتر شد و با مراجعه‌ی مجدد به پزشک و بررسی‌های بیش‌تر، توده‌ایی در ناحیه گلو تشخیص داده شد. نتیجه‌ی نمونه‌ی پاتولوژیک نشان‌دهنده‌ی کارسینومای حنجره بود. بنابر این، شیمی درمانی و رادیوتراپی برای وی آغاز و پس از مدت کوتاهی اندازه‌ی تومور کوچک شد. پس از گذشت مدتی بر خلاف انتظار تومور عود کرد و موجب مرگ بیمار در اثر خفگی و انسداد مجاری تنفسی شد. نمونه‌ی پاتولوژیک تحت بررسی‌های ژنتیکی قرار گرفت و نتایج آزمایش کاریوتایپ نمونه، نشان‌دهنده‌ی یک الگوی کروموزومی غیرطبیعی و وجود یک شکست کروموزومی و ترانسلوکاسیون ژنی بین کروموزوم های ۱۵ و ۱۹ بود. این یافته‌ها زمینه‌ایی شد جهت بررسی‌های بیش‌تر و در نهایت منجر به شناسایی کارسینومای Midline NUT (NMC) شد.

معرفی NMC

بیماری NMC علیرغم این که نادر است به شدت پیشرونده و متاستاز دهنده است. این بیماری کشنده است و پیش‌آگهی بیماران به طور میانگین ۹/۵ ماه است. این کارسینوما مختص به یک بافت یا ارگان خاص نیست و در هر جایی از بدن ممکن است ایجاد شود. اما در قسمت‌های سر، گردن و ناحیه‌ی قفسه‌ی سینه شایع‌تر است از این رو، کارسینومای سر و گردن نیز نامیده می‌شود. در این بیماری، سلول‌های سنگفرشی که در ناحیه‌ی ریه‌ها وجود دارند، سرطانی می‌شوند. NMC محدود به سن خاصی نیست و احتمال ابتلا به آن، از یک نوزاد تا یک فرد هشتاد ساله وجود دارد. از نظر توزیع آن در جهان نیز، بیش‌تر در کشورهای در حال توسعه مشاهده می‌شود (شکل ۱).

این کارسینوما از نظر ویژگی‌های هیستوپاتولوژیک بسیار شبیه به کارسینوماهایی که با کاهش تمایز سلولی همراه هستند، مانند کارسینومای غدد بزاقی، کارسینومای تیموس، نوروبلاستوما، پانکروبلاستوما و ... است. اما برخلاف این که این نوع سرطان‌ها کاریوتایپ پیچیده‌ای دارند و جهش‌های بسیار زیادی باید رخ دهد تا بیماری بروز کند، در NMC تنها یک ترانسلوکاسیون ساده ژنی برای بروز بیماری کافی است.

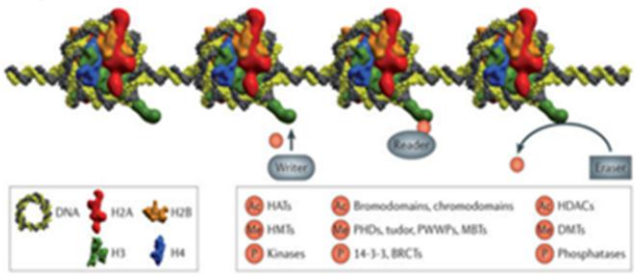


شکل ۱ – پراکندگی NUT Midline Carcinoma (برگرفته از Christopher.French, 2012)

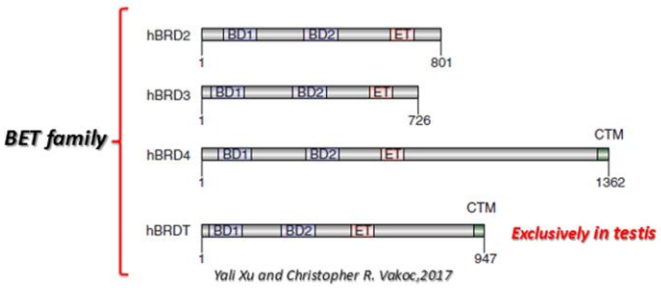
سیتوژنتیک NMC

در NMC یک ترانسلوکاسیون ژنی بین کروموزوم ۱۹ و ۱۵ بین ژن های BRD4 و NUT رخ می‌دهد. نتیجه این شکست‌های کروموزومی، ایجاد پروتئین فیوژن BRD4-NUT است که سبب بروز تغییراتی در سلول و سرطانی شدن آن می‌شود.

BRD4 چیست؟ این پروتئین یکی از اعضای خانواده‌ی BET (Bromodomain and Extra-Terminal) است. به طور کلی، اعضای این خانواده BRD2، BRD3، BRD4 و BRDT هستند. BRD2، BRD3، BRD4 در همه‌ی سلول‌ها بیان می‌شوند. در صورتی که BRDT به طور انحصاری در بافت بیضه بیان می‌شود. این پروتئین‌ها نقش reader را در اپی‌ژنتیک دارند (شکل ۲). به این ترتیب که گروه‌های استیلی که روی کروماتین قرار می‌گیرند و در بیان ژن‌ها نقش دارند را، شناسایی می‌کنند و به آن‌ها متصل می‌شوند. در ساختار این پروتئین‌ها، دو برومودومین وجود دارد که از طریق آن‌ها به گروه‌های استیل متصل می‌شوند. این اتصال بیش‌تر از طریق برومودومین اول (BD1) صورت می‌گیرد. Brd4 و Brdt از ناحیه CTM (C-ترمینال دومین) به P-TEFb متصل می‌شوند و فعالیت کینازی P-TEFb را برای فسفریلاسیون RNA پلیمراز II تحریک می کند (شکل۳).



شکل ۲ – نقش Reader در اپی‌ژنتیک

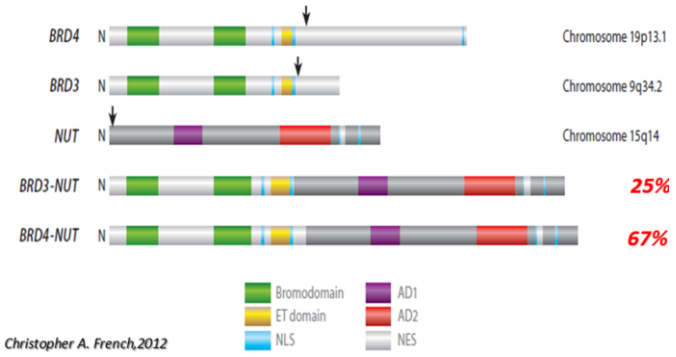


شکل ۳ – خصوصیات خانواده BET

NUT (Nuclear testis factor) چیست؟

پروتئینی با عملکرد ناشناخته است که مختص بافت بیضه می‌باشد و در بافت های دیگر بیان نمی‌شود. اگر چه، عملکرد این پروتئین هنوز شناخته نشده است اما اطلاعاتی در دسترس هست که نشان می‌دهد این پروتئین از ناحیه اسیدی ۱ (AD1) که در ساختار آن وجود دارد به p300 که یک هیستون‌استیل‌ترانسفراز است، متصل می‌شود. اگر این ژن به صورت اکتوپیک (نا به جا) در بافت‌های دیگر بیان شود، سبب بروز سرطان می‌شود. در واقع، بیان نا به جای ژن NUT در بافت‌های دیگر، سبب بروز NMC می‌شود.

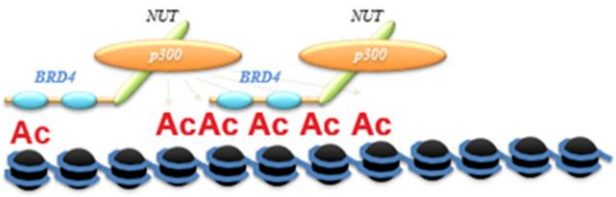
در NMC، قسمت بالا دست ژن BRD4 و کل ژن NUT به یک‌دیگر متصل می‌شوند و تشکیل یک انکوژن را می‌دهند. در اکثر موارد (۶۷ درصد)، NUT با BRD4 فیوژن می‌دهد با این وجود دیده شده است که در موارد کمتری (۲۵ درصد) BRD3 به NUT متصل می شود. مواردی نیز گزارش شده است که ژنی غیر از BRD به ژن NUT فیوژن شده است که این حالت NUT-Variant نامیده می‌شود (شکل ۴).



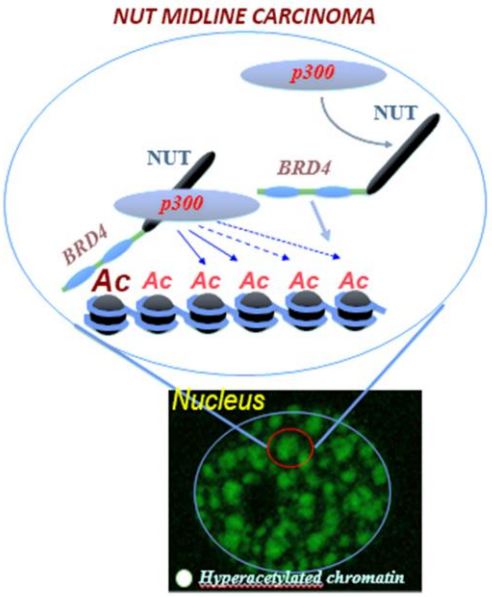
شکل ۴ – فیوژن ژن BRD با NUT، پیکان‌های سیاه نشان‌دهنده‌ی محل‌های شکست کروموزومی مرتبط با ترانسلوکاسیون است (برگرفته از Christopher.French, 2012)

بعد از اتصال این دو ژن به یک‌دیگر و بیان انکوپروتئین در سلول، برومودومین یک (BD1) در ساختار BRD4، به گروه استیل بر روی کروماتین متصل می‌شود، سپس پروتئین NUT، پروتئین p300 را به دام می‌اندازد و منجر به استیلاسیون کروماتین در آن قسمت می‌شود. این گروه‌های استیل دوباره توسط کمپلکس‌های BRD4-NUT بعدی شناسایی می‌شوند و در نهایت یک foci را در آن منطقه از کروماتین تشکیل می دهند (شکل ۵).

این فرآیندها موجب می‌شود که کروماتین به مناطق هایپراستیله و هایپواستیله تبدیل شود. حضور این



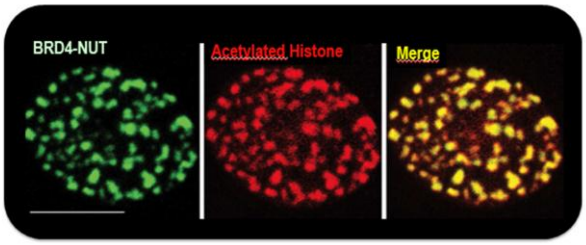
شکل ۵ – شناسایی گروه‌های استیل بر روی کروماتین توسط BRD4-NUT و القای استیلاسیون از طریق p300



شکل ۶ – القای مکان‌های foci از کروماتین استیله شده به وسیله‌ی BRD4-NUT-p300

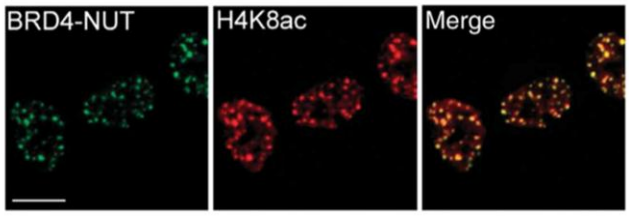
کمپلکس‌های حاوی BRD4-NUT-p300 و گروه‌های استیل، مکان‌های foci را ایجاد می‌کند که در زیر میکروسکوپ فلورسنت قابل مشاهده است (شکل ۶).

تمامی این فرآیندها، طی آزمایشاتی با استفاده از روش ایمنوفلورسنت مورد تائید قرار گرفته است. اولین سوالی که در ارتباط با این فرآیند مطرح شد این بود که آیا در سلولی که BRD4-NUT بیان شده است، استیلاسیون هیستون‌ها نیز رخ می‌دهد یا خیر؟ برای پاسخ به این سوال، در شرایط in vitro سلول‌های COS7 با وکتور بیانی GFP-BRD4-NUT ترانسفکت شدند. سپس استیلاسیون هیستون نیز در همین سلول‌های ترانسفکت شده با آنتی‌بادی علیه استیلاسیون هیستون ردیابی شد، در نهایت ادغام[9] تصاویر گرفته شده با میکروسکوپ فلورسنت نشان داد که پروتئین فیوژن BRD4-NUT در هسته، مکان‌های foci را تشکیل می‌دهد که شامل ناحیه‌های[10] هایپراستیله کروماتین است. این نتایج تاییدکننده‌ی این مطلب بود که BRD4-NUT سبب القای استیلاسیون در کروماتین می‌شود (شکل ۷).



شکل ۷ – BRD4-NUT سبب ایجاد مکان‌های foci از کروماتین استیله شده می‌شود (برگرفته از Reynoird et al, 2010)

همین آزمایشات بر روی سلول‌های بیمار مبتلا به NMC انجام شد و نتایج به دست آمده، به طور کامل مشابه یافته‌های حاصل از سلول COS7 ترانسفکت شده با GFP-BRD4-NUT بود (شکل ۸).



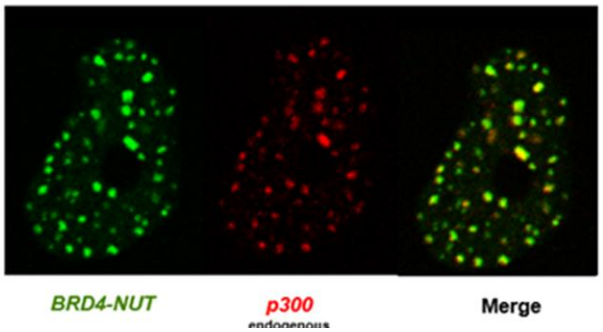
شکل ۸ – القای استیلاسیون کروماتین توسط BRD4-NUT در سلول‌های بیمار مبتلا به NMC

[9] Merge

[10] Domains

در مرحله بعد سوالی که مطرح شد این بود که آیا BRD4-NUT از p300 جهت استیلاسیون هیستون‌ها استفاده می‌کند؟

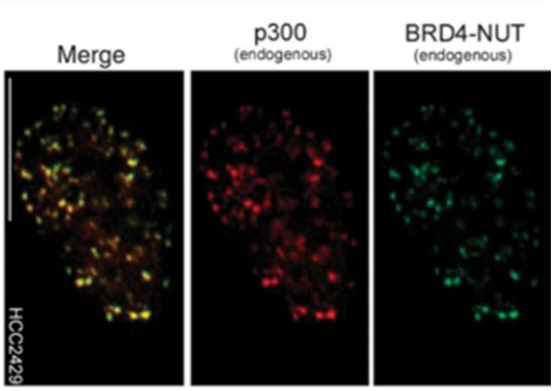
در این مرحله نیز سلول‌ها با GFP-BRD4-NUT ترانسفکت شدند و پس از تایید بیان این ژن در سلول و مشاهده‌ی ناحیه‌های foci سبز رنگ، جهت نشان دادن حضور p300، از آنتی‌بادی علیه p300 استفاده شد و نتیجه به صورت ناحیه‌های foci قرمز رنگ مشاهده شد. پس از قرار دادن تصاویر روی هم، انطباق کامل ناحیه‌های foci بر هم، همراهی p300 را با BRD4-NUT تایید کرد (شکل ۹).



شکل ۹ – BRD4-NUT برای افزایش استیلاسیون local کروماتین، p300 را به کار می‌گیرد (برگرفته از Reynoird et al, 2010)

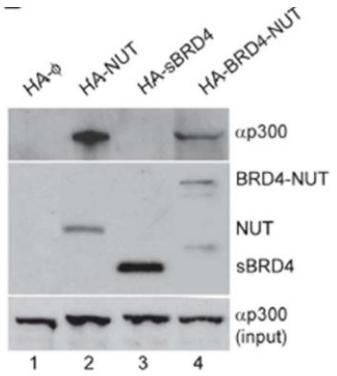
این آزمایش هم‌چنین روی سلول‌های NMC انجام شد و نتایج به دست آمده تاییدی بر مشاهدات در شرایطی که سلول‌ها با GFP-BRD4-NUT ترانسفکت شده بودند، فراهم کرد (شکل ۱۰).

جهت تایید این مطلب که BRD4-NUT و p300 در foci شکل گرفته حضور دارند، سلول‌های COS7 با HA-BRD4-NUT ترانسفکت شدند و آزمایش immunoprecipitation با استفاده از آنتی‌بادی HA



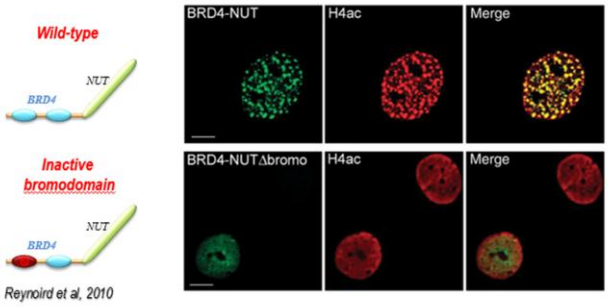
شکل ۱۰ – BRD4-NUT برای افزایش استیلاسیون local کروماتین، p300 را به کار می‌گیرد (برگرفته از Reynoird et al, 2010)

انجام شد و حضور BRD4-NUT با p300 اندوژن با استفاده از آنتی‌بادی‌های مربوطه و وسترن بلات تایید شد (شکل ۱۱).



شکل ۱۱ – به کارگیری p300 از طریق NUT در BRD4-NUT (برگرفته از Reynoird et al, 2010)

برای تایید این که آیا برومودومین (BD1) پروتئین BRD4، در تشکیل این ناحیه‌های foci نقش دارد، برومودومین یک (BD1) این پروتئین، غیرفعال شد و سپس با استفاده از آنتی‌بادی‌های مربوطه تشکیل ناحیه‌های foci مورد بررسی قرار گرفت. در نتیجه‌های

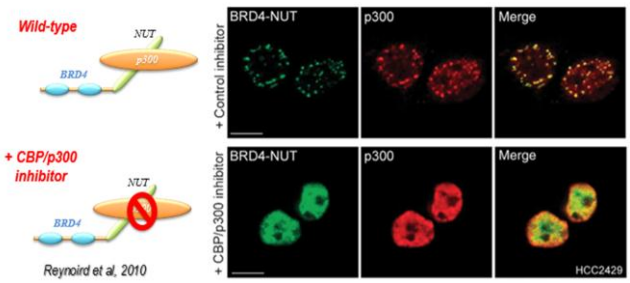


شکل ۱۲ – تشکیل مکان‌های foci مربوط به BRD4-NUT وابسته به برومودومین BRD4 است (برگرفته از Reynoird et al, 2010)

به دست آمده foci وجود نداشت که این عدم حضور، بیان‌گر نقش برومودومین یک (BD1) پروتئین BRD4 در ایجاد این ناحیه‌های foci بود (شکل ۱۲).

سوال پایانی این بود که آیا p300 در تشکیل ناحیه‌های foci نقش دارد یا خیر؟

برای رسیدن به پاسخ این سوال با استفاده از مهار کننده ویژه ی p300، فعالیت p300 مهار شد و توسط آنتی‌بادی‌های اختصاصی تشکیل ناحیه‌های foci بررسی شد. عدم تشکیل foci تاییدکننده‌ی نقش مهم p300 در استیلاسیون کروماتین و شکل‌گیری foci بود (شکل ۱۳).



شکل ۱۳ – تشکیل مکان‌های foci مربوط به BRD4-NUT وابسته به p300 است (برگرفته از Reynoird et al, 2010)

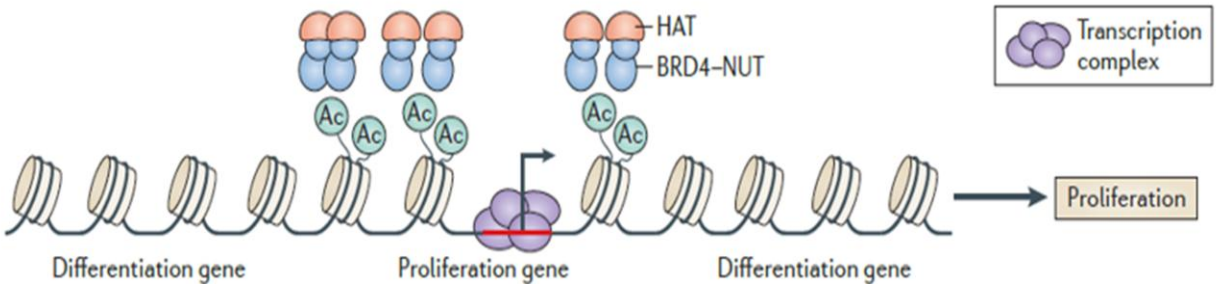
پاتوژنز NMC

تشکیل foci حاوی کمپلکس BRD4-NUT و p300 و ریشه‌های استیل، با دو مکانیسم منجر به سرطانی شدن سلول‌های اپی‌تلیالی می‌شود:

۱ - کاهش تمایز سلول‌ها و افزایش تکثیر آن‌ها. این تغییر در سلول‌ها به دو دلیل رخ می‌دهد. اول این که بررسی‌ها نشان داده است که کمپلکس مذکور، در محل ژن‌های مربوط به تکثیر سلول قرار می‌گیرد و منجر به افزایش رونویسی از آن‌ها می‌شود. حال آن که به علت به دام افتادن p300 توسط BRD4-NUT، استیلاسیون در قسمت ژن‌های مرتبط با تمایز سلول رخ نمی‌دهد در نتیجه، سلول با کاهش بیان آن‌ها مواجه می‌شود و در نهایت سلول به سمت کاهش تمایز می‌رود (شکل ۱۴).

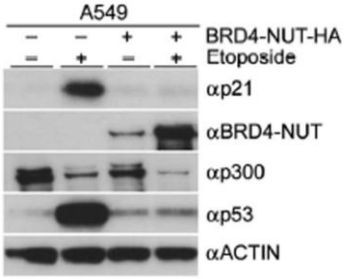
دومین مسئله، حضور این کمپلکس در پروموتر انکوژن MYC است که خود نقش مهمی در تکثیر سلول و کاهش تمایز آن دارد.

جهت اثبات این موضوع، ابتدا بیان ژن BRD4-NUT، توسط siRNA کاهش یافت. بررسی سلول‌ها نشان‌دهنده‌ی این بود که سلول‌ها به طرف کاهش تکثیر و افزایش تمایز می‌روند. همان طور که در شکل ۱۵ نشان داده شده است، سلول‌های تمایز نیافته هسته‌های بزرگ دارند و با تمایز سلول، هسته‌ها کوچک‌تر شده‌اند. هم‌چنین با استفاده از رنگ‌آمیزی با آنتی‌بادی مربوطه مشخص شد که با کاهش بیان این ژن، بیان سیتوکراتین که مارکر تمایز سلولی است و مارکر Ki67 که مارکر تکثیر سلولی است، به ترتیب افزایش و کاهش یافته‌اند (شکل ۱۵).

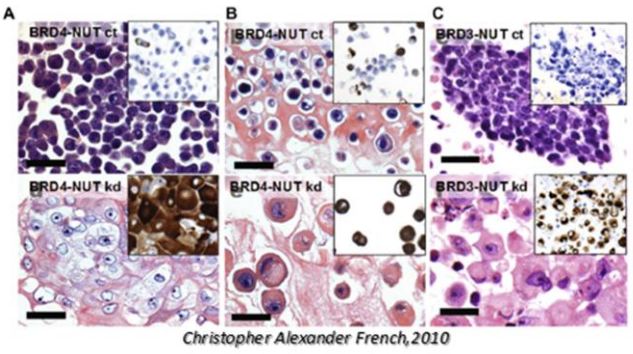


شکل ۱۴ – مدلی که ممکن است بیان‌گر نقش BRD4-NUT در مسدود کردن تمایز باشد (برگرفته از Christopher.French, 2014)

۲- غیرفعال نمودن p53. از آنجائی که یکی از مهم‌ترین افکتورها در فعال کردن p53، p300 است، به دلیل به دام افتادن p300 در ناحیه‌های foci، فعال‌سازی p53 رخ نمی‌دهد به طوری که در آزمایشات immunoprecipitation انجام شده مشخص شد که سلول‌های ترانسفکت شده با HA-BRD4-NUT، به علت غیرفعال بودن p53 آن‌ها در پاسخ به آسیب‌های وارد شده به DNA با ترکیبی مانند اتوپوزید، نمی‌توانند P21 را القا کنند. در حالی که، سلول‌هایی که با HA-BRD4-NUT ترانسفکت نشده بودند، پس از وارد شدن آسیب به DNA، افزایش میزان p53 و p21 را نشان دادند (شکل ۱۶).



شکل ۱۶ – غیرفعال شدن p53 در سلول‌های بیان‌کننده‌ی BRD4-NUT (برگرفته از Reynoird et al, 2010)



شکل ۱۵ – Knockdown کردن BRD4-NUT سبب تمایز سلول سنگفرشی و توقف رشد می‌شود

تشخیص NMC

الف- انجام کاریوتایپ و مشاهده‌ی ترانسلوکاسیون کروموزوم ۱۹ و ۱۵.

ب- ردیابی NUT با استفاده از روش ایمونوهیستوشیمی و آنتی‌بادی ضد پروتئین NUT. این روش ۱۰۰ درصد اختصاصیت و ۸۷ درصد حساسیت دارد. اختصاصیت بالای آن به علت بیان انحصاری NUT در بافت بیضه است.

ج- روش FISH جهت مشاهده‌ی فیوژن شدن ژن‌ها.

د- بررسی بیان ژن BRD4-NUT در سلول سرطانی با استفاده از تکنیک RT-qPCR.

منابع

1. French CA. NUT midline carcinoma. Cancer genetics and cytogenetics. 2010;203(1):16-20.

2. French C. NUT midline carcinoma. Nature Reviews Cancer. 2014;14(3):149.

3. French CA. Pathogenesis of NUT midline carcinoma. Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease. 2012;7:247-65.

4. French CA. The importance of diagnosing NUT midline carcinoma. Head and neck pathology. 2013;7(1):11-6.

5. Parikh SA, French CA, Costello BA, Marks RS, Dronca RS, Nerby CL, et al. NUT midline carcinoma: an aggressive intrathoracic neoplasm. Journal of Thoracic Oncology. 2013;8(10):1335-8.

6. Reynoird N, Schwartz BE, Delvecchio M, Sadoul K, Meyers D, Mukherjee C, et al. Oncogenesis by sequestration of CBP/p300 in transcriptionally inactive hyperacetylated chromatin domains. The EMBO journal. 2010;29(17):2943-52.

7. Schwartz BE, Hofer MD, Lemieux ME, Bauer DE, Cameron MJ, West NH, et al. Differentiation of NUT midline carcinoma by epigenomic reprogramming. Cancer research. 2011;71(7):2686-96.

مقاله مروری

نقش مسیر پیام‌رسانی Notch در سرطان

کبری ساکت کیسمی
کارشناس‌ارشد بیوشیمی بالینی

مجید سیرتی‌ثابت
دانشیار گروه بیوشیمی بالینی
دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

مسیر پیام‌رسانی Notch

مسیر پیام‌رسانی Notch مسیری است که در بسیاری از بافت‌ها به صورت ارتباط سلول با سلول عمل می‌کند و در نوسازی، تعیین سرنوشت، تکثیر و مهاجرت سلول نقش دارد. این مسیر پیام‌رسانی در رشد و نمو طبیعی پستانداران نقشی ضروری ایفا می‌کند. اختلال در این مسیر پیام‌رسانی با بسیاری از بیماری‌های ژنتیکی مخرب و سرطان مرتبط است.

مسیر پیام‌رسانی Notch در موجودات پرسلولی در ایجاد ارتباط بین سلولی کم‌دامنه نقش دارد. در واقع، برقراری پیام‌رسانی Notch به ارتباط فیزیکی بین سلول‌ها وابسته است. مسیر پیام‌رسانی Notch نقشی حیاتی را در بسیاری از فرآیندهای بنیادی ایفا می‌کند.

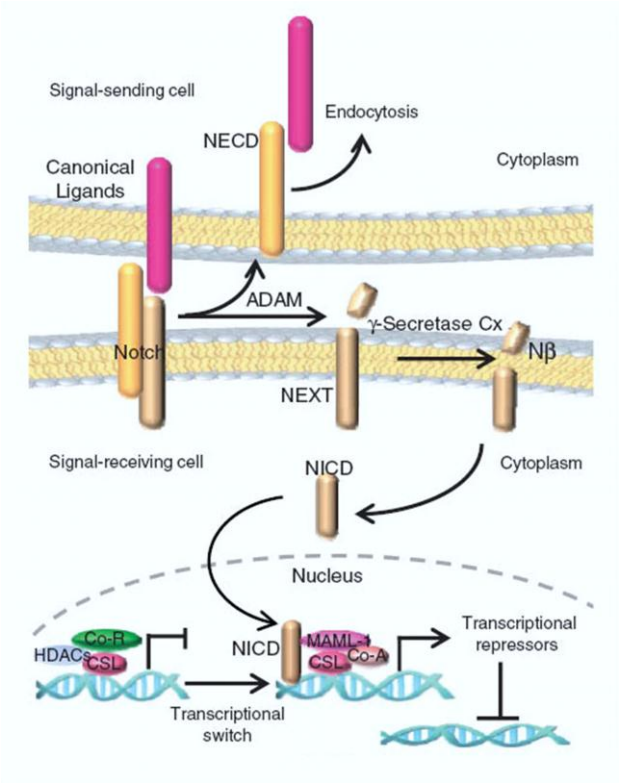
مسیر پیام‌رسانی Notch دارای تعدادی گیرنده است. گیرنده Notch مانند فاکتور رونویسی قلاب‌شده در غشا عمل می‌کند و به وسیله اعضای خانواده‌ای از لیگاندهای Notch فعال می‌شود. لیگاندهای این مسیر پیام‌رسانی شامل لیگاندهای Delta/Serrate/Lag-2 هستند که به اختصار DSL نامیده می‌شوند. چندین نوع از این لیگاندها وجود دارند که شامل Delta-like نوع ۱، ۳ و ۴ و هم‌چنین Jagged نوع ۱ و ۲ هستند. این لیگاندها با یکی از چهار گیرنده‌ی Notch که نوع ۱ الی ۴ نام دارند میان‌کنش می‌دهند. این میان‌کنش منجر به آغاز این مسیر می‌شود.

گیرنده‌های Notch پروتئین‌هایی تک‌انتقالی از غشا هستند که دارای یک ناحیه خارج سلولی (NECD)، یک ناحیه گذرنده از غشا (TM) و یک ناحیه داخل سلولی (NICD[1]) هستند. لیگاندهای Notch نیز پروتئین‌هایی عرض غشایی هستند. محصولات خانواده‌های ژنی Hes[2] و Hey[3] از جمله پروتئین‌های هدف مسیر پیام‌رسانی Notch هستند.

شاخصی مهم که مسیر پیام‌رسانی Notch را از سایر مسیرهای پیام‌رسانی محافظت شده متمایز می‌کند، سازوکار انتقال پیام آن است. پیام‌رسانی Notch با اتصال گیرنده Notch به لیگاند قرار گرفته روی سلول همسایه آغاز می‌شود. این اتصال باعث فعال‌شدن گیرنده Notch می‌شود. لیگاندهای Notch به ناحیه خارج سلولی گیرنده (NECD) متصل می‌شوند. در این مرحله دو شکست پروتئولیتیک در گیرنده اتفاق می‌افتد. سلولی که پروتئین گیرنده Notch را بیان می‌کند، سلول دریافت‌کننده پیام است. گیرنده Notch پس از بیان شدن تحت یک سری تغییرات قرار

[1] Notch intracellular domain (NotchIC or NICD)
[2] Hairy/enhancer of split
[3] Hes-related with YRPW motif protein

می‌گیرد. پروتئین گیرنده Notch تازه ترجمه شده گلیکوزیله می‌شود. این گلیکوزیلاسیون برای ایجاد گیرنده دارای فعالیت کامل ضروری است. بعد از یک شکاف پروتئولیتیک در جایگاه ۱ (S1)، گیرنده بالغ ایجاد می‌شود. گیرنده بالغ در حالت هترودایمر که دایمرها در آن به وسیله میان‌کنش‌های غیرکووالان متصل شده‌اند، به‌سمت غشای سلولی هدایت می‌شود. گیرنده Notch به سطح سلول حرکت می‌کند و برای اتصال به لیگاند حاضر در سطح سلول همسایه فعال می‌شود. اندوسیتوز و رفت‌وآمد غشایی، حضور لیگاند و گیرنده را در سطح سلول تنظیم می‌کند. اتصال لیگاند موجود در سطح سلول فرستنده پیام، نیرویی اندوسیتوزی ایجاد می‌کند که می‌خواهد کمپلکس لیگاند-گیرنده را به داخل سلول ببلعد. تصور می‌شود نیروی اندوسیتوزی وارد شده به لیگاند، نیرویی مکانیکی تولید می‌کند که تغییری کنفورماسیونی را در گیرنده Notch ایجاد می‌کند. این تغییر کنفورماسیونی، جایگاه ۲ (S2) در گیرنده Notch را در معرض متالوپروتئازهای ADAM قرار می‌دهد. در نتیجه، گیرنده از جایگاه ۲ برش می‌خورد. شکاف‌خوردن گیرنده در S2، قطعه ناقص متصل به غشا به نام NEXT را تولید می‌کند. NEXT سوبسترایی برای کمپلکس γ-سکرتاز است. سپس، γ-سکرتاز ناحیه داخل غشایی Notch در NEXT را برش می‌دهد. در نهایت، ناحیه داخل‌سلولی Notch (NICD) و پپتید Nβ آزاد می‌شود. NICD به هسته وارد می‌شود. NICD در هسته با خانواده‌ای از تنظیم‌کننده‌های رونویسی به نام خانواده



شکل ۱ – مسیر پیام‌رسانی Notch

CSL[4] میان‌کنش می‌کند. در غیاب NICD تصور می‌شود CSL به پروتئین‌های کمک‌سرکوبگر رونویسی متصل است تا از بیان برخی از ژن‌های هدف جلوگیری شود. این کمک‌سرکوبگرها هیستون دِاستیلازها و سایر آنزیم‌های تغییردهنده کروماتین را به کار می‌گیرند. در صورت اتصال NICD به کمپلکس CSL تغییرات آلوستریکی اتفاق می‌افتند که جایگزین‌شدن سرکوبگرهای رونویسی را تسهیل می‌کنند. سپس، کمک‌فعال‌گر رونویسی مسترمایند (MAML) میانجی NICD/CSL را شناسایی می‌کند و این کمپلکس سه‌پروتئینه، کمک‌فعال‌گرهای بعدی از جمله هیستون‌استیلازها را برای فعال‌کردن رونویسی به کار

[4] CBF1/Su(H)/Lag1

می‌گیرد. در نتیجه، یک کمپلکس رونویسی برای فعال‌سازی رونویسی اهداف پایین‌دست، به کار گرفته می‌شود. از جمله این اهداف، خانواده‌های ژنی Hes و Hey هستند. محصولات ژنی Hes، دسته‌ای از مهارکننده‌های رونویسی هستند که به خانواده پروتئین‌های bHLH[5] تعلق دارند و نقش مهمی در مسیر پیام‌رسانی Notch دارند. محصولات ژنی Hey، پروتئین‌های هسته‌ای هستند که به خانواده مرتبط با Hes[6] تعلق دارند. این پروتئین‌ها نیز پروتئین‌های bHLH هستند که نقش مهارکننده‌های رونویسی را ایفا می‌کنند.

فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی Notch به صورتی قوی و در چندین سطح هماهنگ می‌شود. با توجه به محتوای سلول، شدت و تداوم فعالیت Notch می‌تواند در نقاط مختلف مسیر تنظیم شود. بازده زیستی این مسیر وابستگی شدیدی به محتوای مولکولی سلول دارد. ویژگی مهم و منحصر به فرد پیام‌رسانی Notch، فقدان تقویت ثانویه است. در واقع NICD، قسمتی از گیرنده Notch و فعال‌کننده مستقیم پیام‌رسانی Notch است. بنابر این، هر بار فعال‌سازی Notch، باعث مصرف‌شدن یک گیرنده Notch می‌شود. همین موضوع به طور مشابه برای لیگاندهای Notch نیز اتفاق می‌افتد. نوآرایی لیگاند و گیرنده Notch، الگویی نوسانی از فعال‌سازی Notch را بر اساس توانایی دوباره جایگزین کردن گیرنده‌ها و لیگاندهای Notch، به بار می‌آورد. به منظور خاموش‌کردن این مسیر پیام‌رسانی، تجزیه‌شدن NICD هسته‌ای به وسیله یوبی‌کویتین لیگاز E3 اتفاق می‌افتد.

مسیر پیام‌رسانی Notch در سرطان

تعداد بسیار زیادی از عملکردهای سلولی مرتبط با تومورزایی، به وسیله پیام‌رسانی Notch تنظیم می‌شوند. این عملکردها شامل تکثیر سلولی، آپوپتوز، چسبندگی، گذار اپیتلیال به مزانشیم و رگ‌زایی هستند.

تاکنون ردپای پیام‌رسانی Notch در بسیاری از سرطان‌های مختلف مشاهده شده است. تنظیم افزایشی Jagged1 در سرطان دهانه رحم، پروستات و مغز مشخص شده است. افزایش بیان بیش از حد Jagged2 در سرطان لوزالمعده (پانکراس) انسان دیده شده است. بیان Dll1[7] در سرطان‌های دهانه رحم انسان و در سرطان‌های مغزی در سطح mRNA و پروتئین افزایش می‌یابد. بیان خارج از تنظیم گیرنده‌های Notch نیز در تعداد رو به افزایشی از تومورهای جامد انسان گزارش شده است. بیان افزایشی پروتئین Notch1 در سرطان‌های دهانه رحم، کولون، ریه، لوزالمعده، پوست و مغز انسان مشاهده شده است. بیان بیش از حد mRNA کدکننده Notch2 در سرطان‌های مغز انسان و بیان بیش از حد پروتئین Notch2 در سرطان‌های دهانه رحم، کولون، پانکراس، پوست و مغز انسان گزارش شده است. بیان بیش از حد پروتئین Notch3 و Notch4 در ملانومای بدخیم و سرطان لوزالمعده انسان دیده شده است. بیان mRNA کدکننده Notch4 در سرطان پستان انسان گزارش شده است. این مشاهدات نقش

[5] Basic helix-loop-helix
[6] Hes-related (HESR)
[7] Delta-like ligand 1

پیام‌رسانی Notch را در ایجاد سرطان برجسته‌تر می‌کند.

یکی از نقش‌های مهم مسیر پیام‌رسانی Notch، حفظ تعادل بین دو فرایند تکثیر سلولی و آپوپتوز است. این مقوله به نقش مهم این مسیر در پیشرفت بدخیمی‌ها اشاره دارد. تنظیم ژن‌های درگیر در مسیر پیام‌رسانی Notch در بسیاری از بدخیمی‌های انسانی به هم می‌خورد. بسته به شرایط سلولی، مسیر پیام‌رسانی Notch در بعضی از مواقع در تومورزایی، عملکرد اونکوژنی دارد و در برخی مواقع دیگر عملکرد ضدتکثیری از خود نشان می‌دهد. عملکرد ضدتکثیری Notch در موارد محدودی نظیر سرطان پوست، سرطان ریه سلول کوچک و کارسینومای هپاتوسلولار مشاهده شده است، ولی در اکثر مواقع این مسیر پیام‌رسانی تأثیر معکوسی را در تومورهای انسانی از خود برجای می‌گذارد. در واقع، در اکثر بدخیمی‌های انسانی، تنظیم این مسیر پیام‌رسانی به هم می‌ریزد و افزایش بیان گیرنده‌ها و لیگاندهای Notch دیده می‌شود. به عنوان مثال، می‌توان به سرطان‌های ریه، سر و گردن، لوزالمعده و میلوئید حاد اشاره کرد که Notch در این سرطان‌ها نقش اونکوژنیک دارد. میزان بالای بیان پروتئین گیرنده Notch1 و لیگاند آن (Jagged1) با ایجاد پیش‌آگهی بد در سرطان پستان، مثانه و پروستات ارتباط دارد. فعال‌سازی Notch در سلول‌های اندوتلیال باعث ایجاد تغییراتی در فنوتیپ، مورفولوژی و عملکرد سلول می‌شود و تغییراتی مثل تنظیم کاهشی شاخص‌های اندوتلیومی و تنظیم افزایشی شاخص‌های مزانشیمی رخ می‌دهد.

ارتباط بین افزایش افسارگسیخته پیام‌رسانی Notch و ایجاد سلول سرطانی پستان این گونه توجیه می‌شود که پیام‌رسانی تنظیم‌نشده Notch، از تمایز نهایی سلول‌های اپیتلیالی پستان جلوگیری می‌کند. این افزایش میزان پیام‌رسانی، سلول‌های اپیتلیالی را در وضعیتی تکثیری حفظ می‌کند که این امر می‌تواند به افزایش غیرطبیعی توده سلولی مجرایی و به دنبال آن سرطان پستان منجر شود.

مسیر پیام‌رسانی Notch در تنظیم مسیرهایی نقش دارد که در افزایش تکثیر سلولی و مهار آپوپتوز سلولی درگیر هستند. بنابر این، می‌توان گفت که مسیر پیام‌رسانی Notch با سرطان در ارتباط است. به علاوه، فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی Notch می‌تواند گذار اپیتلیالی به مزانشیمی سلول (پدیده EMT) را القا کند؛ در نتیجه، تهاجم و انتشار سلول‌های سرطانی را ارتقا بخشد.

مشخص شده است که تأثیرات ضدآپوپتوزی پروتئین‌های فعال در مسیر پیام‌رسانی Notch با القای Bcl2 و هم‌چنین افزایش مسیرهای پیام‌رسانی PI3K و NFκB مرتبط است. در این حالت حلقه پس‌نورد مثبتی وجود دارد. بدین ترتیب که، پروتئین Jagged1 فعال‌سازی پیام‌رسانی NFκB را القا می‌کند و NFκB بیان Jagged1 را القا می‌کند. این حلقه می‌تواند تأثیرات محافظتی پیام‌رسانی Notch را افزایش دهد.

افزایش تکثیر سلولی که در پاسخ به فعال‌سازی Notch رخ می‌دهد، ارتقادهنده تومورزایی است. در یک رده سلولی اپیتلیالی کلیوی، پروتئین Notch1 فعال، ورود به چرخه سلولی را با افزایش فعالیت CDK1 و

cyclinD1 افزایش می‌دهد. پروتئین HES1 در سلول‌های HeLa، تکثیر سلولی را به وسیله سرکوب بیان مهارکننده کیناز وابسته به سیکلین $p27^{kip1}$ ارتقا می‌دهد. پروتئین Notch1 فعال به طور ویژه بیان SKP2[8] را القا می‌کند. این پروتئین یکی از زیرواحدهای کمپلکس یوبی‌کویتین لیگاز SCF^{skp2} است که تجزیه وابسته به پروتئازوم $p27^{kip1}$ را افزایش می‌دهد. از آنجایی که SKP2 تجزیه $p21^{Cip1}$ را ارتقا می‌دهد، توانایی Notch در ارتقای ورود به چرخه سلولی را بیش‌تر افزایش می‌دهد.

فعالیت انتقال پیام‌رسانی Notch می‌تواند از طریق فعال‌سازی پیام‌رسانی Ras میانجی‌گری شود. در رده‌های سلولی مشتق شده از تومورهای اولیه موش‌های ترانس‌ژنیک Notch4IC پیام‌رسانی‌های فعال ERK و PI3K مشاهده می‌شود. هر دوی این مسیرها از شاخه‌های پایین‌دست مسیر Ras هستند. در فیبروبلاست‌های پوست پیشانی انسان و سلول‌های اپیتلیال کلیوی انسان که بیان‌کننده انکوپروتئین‌های hTERT و SV40 هستند، افزایش بیان Ras فعال، بیان پروتئین‌های Notch1 و Notch4 و DLL1 را افزایش می‌دهد. این مطالعات پیشنهاد می‌دهند که حفاظت از فنوتیپ نئوپلاستیک القاشده با Ras به طور مهمی به پیام‌رسانی تقویت شده Notch نیاز دارد. بنابر این، Notch به احتمال زیاد به عنوان هدف پایین‌دست Ras عمل می‌کند و هم‌چنین حلقه پس‌نورد مثبتی وجود دارد که در نقش فعال‌کننده مسیر Ras در طول تومورزایی فعالیت دارد.

سازوکار دیگر رشد و نمو و پیشروی تومور وابسته به Notch می‌تواند مسیر پیام‌رسانی TGFβ[9] را درگیر کند. TGFβ رشد بسیاری از سلول‌های اپیتلیالی را مهار می‌کند. در نتیجه، می‌تواند نقشی در سرکوب تومور داشته باشد. Notch1 فعال تأثیر ضدرشدی TGFβ را مهار می‌کند. علاوه بر این، Notch4 فعال، به بعضی از عوامل پایین‌دست TGFβ مانند Smad2 و Smad3 و Smad4 متصل می‌شود و آن‌ها را مهار می‌کند. در نتیجه، پیام‌رسانی TGFβ در برخی از سلول‌های سرطان پستان تضعیف می‌شود. می‌توان نتیجه گرفت که سلول‌هایی که پیام‌رسانی Notch فعال را نشان می‌دهند، به تأثیرات ضدرشدی TGFβ مقاوم‌اند و این امر می‌تواند رشد و نمو تومور را ارتقا بخشد.

با توجه به نتایج مطالعات اخیر، نقش بالقوه‌ای برای پیام‌رسانی Notch در توسعه برخی از سرطان‌های انسان در نظر گرفته می‌شود.

منابع

1. Bi P, Kuang S. Notch signaling as a novel regulator of metabolism. Trends in Endocrinology & Metabolism. 2015;26(5):248-55.

2. Farnie G, Clarke RB. Mammary stem cells and breast cancer: role of Notch signalling. Stem cell reviews. 2007;3(2):169-75.

3. Kopan R, Ilagan MXG. The canonical Notch signaling pathway: unfolding the activation mechanism. Cell. 2009;137(2):216-33.

[8] S phase kinase-associated protein 2

[9] Transforming growth factor beta

4. Lai EC. Notch signaling: control of cell communication and cell fate. Development. 2004;131(5):965-73.

5. Leong KG, Karsan A. Recent insights into the role of Notch signaling in tumorigenesis. Blood. 2006;107(6):2223-33.

6. Okajima T. Notch signaling: A sweet strategy. Nature chemical biology. 2018;14(1):3-4.

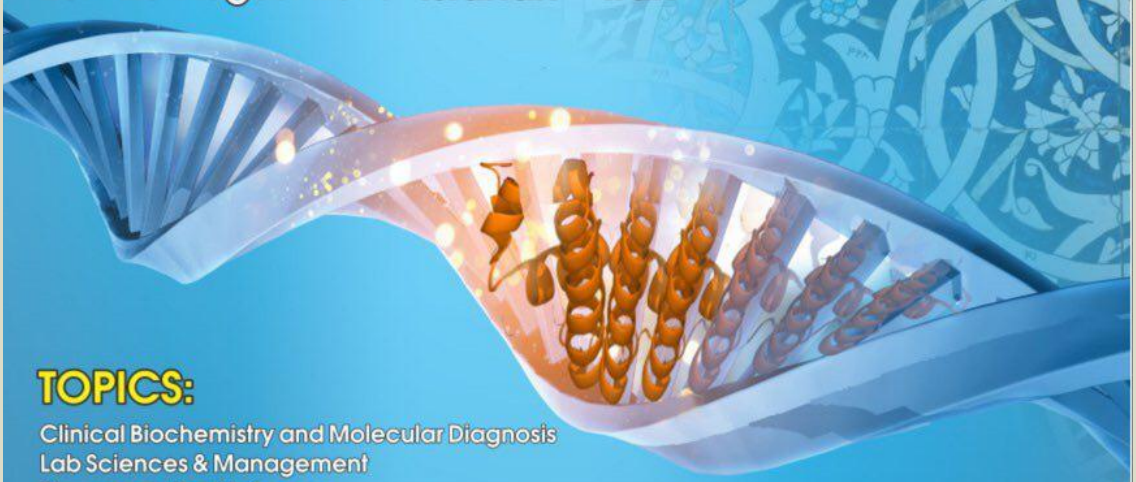
7. Politi K, Feirt N, Kitajewski J. Notch in mammary gland development and breast cancer. Seminars in cancer biology. 2004;14:341-7.

8. Tania M, Khan MA, Fu J. Epithelial to mesenchymal transition inducing transcription factors and metastatic cancer. Tumor Biology. 2014;35(8):7335-42.

ICBMB 2018

The 15th Iranian National Congress of Biochemistry & 6th International Congress of Biochemistry & Molecular Biology

25 - 28 August 2018 Isfahan – Iran



TOPICS:

Clinical Biochemistry and Molecular Diagnosis
Lab Sciences & Management
Pharmaceutical Sciences
Cancer & Autophagy
Natural Products
Micronutrients
Life Sciences
proteomics

ICBMB2018.COM

Send Number 15 to 30005747 for more information

INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY

Scientific Secretariat:

Department of Clinical Biochemistry, School of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences, Isfahan, Iran.
Tel/Fax: +9831-36700272
ICBMB2018.COM
https://t.me/ICBMB2018

Roxan Executive secretariat:

Unit6, 3rd Floor, Platinum Building
No.8, Alley4, North Amirabad
Tehran, Iran
Cell Phone: +98-9032225747
Tel: +98-21-88334436-8
Fax: +98-21-88224067
Web-site: www.roxanco.com
E-mail: info@roxanco.com