ORIGINAL ARTICLE

Effect of Mesenchymal Stem Cell Conditioned Medium on Proliferation of A549 and JEG3 Cancer Cell Lines

Shahnaz Hosseinzadeh[1],
Hossein Ranjbaran[2],
Saeid Abediankenari[3]

[1] PhD Student in Immunology, Mazandaran University of Medical Sciences, Immunogenetics Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Assistant Professor, Immunogenetics Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Professor, Immunogenetics Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received April 14, 2020 ; Accepted July 5, 2020)

Abstract

Background and purpose: Cancer is a serious public health problem. Some studies indicated the anti-cancer effects of mesenchymal stem cells (MSCs) associated with stem cells or their secretory mediators. The aim of this study was to evaluate the impact of conditioned medium derived from MSCs on A549 and JEG3 cancer cell lines.

Materials and methods: In an experimental study, A549 and JEG3 cell lines were provided and grown in the culture media of DMEM F12 containing 10% fetal bovine serum. They were then treated with different percentages of conditioned medium from mesenchymal stem cells (5, 10, 20, 40, 50, and 100) for 48 hours. Metabolic activity was evaluated by MTT assay.

Results: MTT assay showed that various percentages of condition medium from mesenchymal stem cells had inhibitory effects on A549 cell line and significant differences were observed between treated cells and control cells ($P< 0.05$).

Conclusion: Current study showed different effects of conditioned medium from mesenchymal stem cells, including suppressive effect on A549 cell line. Therefore, MSCs and their secretory paracrine factors could be considered as one of the treatment purposes in this cancer.

Keywords: conditioned medium, msenchymal stem cell, A549 cell line, JEG3 cell line, MTT assay

J Mazandaran Univ Med Sci 2020; 30 (187): 49-57 (Persian).

* **Corresponding Author: Saeid Abediankenari**- Immunogenetics Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: abedianlab@yahoo.co.uk)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-20]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی ام شماره 187 مرداد سال 1399 (57-49)

بررسی اثر سوپر ناتانت سلول های بنیادی مزانشیمال بر روی رده های سرطانی A549 و JEG3

شهناز حسین زاده[1]
حسین رنجبران[2]
سعید عابدیان کناری[3]

چکیده

سابقه و هدف: سرطان یکی از بیماری‌های مهم تهدیدکننده سلامت جهانی است. برخی از مطالعات، اثرات ضد سرطانی سلول‌های بنیادی مزانشیمال را نشان داده اند که این اثرات مربوط به سلول‌های بنیادی یا واسطه‌های مترشحه از آن‌ها می‌باشد. لذا هدف از این مطالعه، ارزیابی اثر سوپر ناتانت سلول‌های بنیادی مزانشیمال بر روی رده‌های سرطانی A549 و JEG3 بوده است.

مواد و روش‌ها: در یک مطالعه تجربی، سلول‌های A549 و JEG3 در محیط کشت DMEMF12 حاوی 10 درصد FBS کشت داده شدند. سپس با درصدهای مختلف سوپر ناتانت سلول‌های بنیادی مزانشیمال (100، 50، 40، 20، 10، 2) به مدت 48 ساعت تیمار شدند. در نهایت با استفاده از تست MTT فعالیت متابولیک سلولی در مقایسه با کنترل مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصل از MTT، اثر مهاری درصدهای مختلف سوپر ناتانت سلولی بر روی سلول های A549 را نشان داد. تفاوت معناداری بین سلول‌های تیمار شده با کنترل مشاهده شد ($P < 0/05$).

استنتاج: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داده است که سوپر ناتانت سلول‌های بنیادی مزانشیمال اثرات متفاوتی بر روی رده‌های مختلف سلول‌های سرطانی دارد. با توجه به اثر مهاری مشاهده شده در این تحقیق بر روی رده سلولی A549، پیشنهاد می‌شود که سلول‌های بنیادی مزانشیمال و فاکتورهای پاراکرین مترشحه از آن‌ها به عنوان یکی از اهداف درمانی در این نوع سرطان‌ها مد نظر قرار گیرند.

واژه های کلیدی: سوپر ناتانت، سلول های بنیادی مزانشیمال، رده سلولی A549، رده سلولی JEG3، MTT

مقدمه

سرطان یکی از عوامل تهدیدکننده سلامت و از علل اصلی مرگ و میر انسان در سراسر جهان محسوب می‌شود. میزان ابتلا به سرطان در سال 2018 حدود 18/1 میلیون نفر مورد جدید و 9/6 میلیون نفر مرگ تخمین زده شده است(1). در حال حاضر رادیو تراپی، شیمی درمانی و جراحی از درمان‌های متداول سرطان‌ها هستند. با این حال، اثرات درمانی به خاطر عوارض جانبی جدی، عدم توانایی در تشخیص دقیق بین سلول‌های طبیعی و توموری و مقاومت در برابر شیمی درمانی رضایت بخش نیستند(2).

مولف مسئول: سعید عابدیان کناری - ساری: کیلومتر 18 جاده خزرآباد، مجتمع پیامبر اعظم(ص)، دانشکده پزشکی E-mail: abedianlab@yahoo.co.uk
1. دانشجوی دکترای تخصصی ایمونولوژی، مرکز تحقیقات ایمونوژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
2. استادیار، مرکز تحقیقات ایمونوژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
3. استاد، مرکز تحقیقات ایمونوژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : 1399/1/26 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :1399/1/27 تاریخ تصویب : 1399/4/15

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-20]

بنابراین توسعه روش‌های درمانی اختصاصی و کارآمد، حائز اهمیت است. سلول‌های بنیادی مزانشیمال، سلول‌هایی چند ظرفیتی با توانایی تکثیر زیاد هستند که توانایی تمایز به رده‌های مختلف سلولی مانند آدیپوسیت‌ها، کندروسیت‌ها، میوسیت‌ها و استئوبلاست‌ها را دارند. مشخص شده که سلول‌های بنیادی مزانشیمال اثرات ایمونومدولاتوری دارند که این ویژگی آن‌ها را در درمان بیماری‌های مرتبط با ایمنی مانند بیماری پیوند علیه میزبان، لوپوس اریتماتوز سیستمیک و مولتیپل اسکلروزیس حائز اهمیت کرده است(3). سلول های بنیادی مزانشیمال می‌توانند از انواع بافت ها مانند کبد، مغز استخوان، پالپ دندانی، بافت چربی، مایع آمنیوتیک، جفت و خون بند ناف جدا شوند(4). مکانیسم عملکردی سلول‌های بنیادی مزانشیمال هم از طریق تماس مستقیم با سلول‌ها و هم از طریق فاکتورهای محلول ترشحی می‌باشد(3). سلول‌های بنیادی مزانشیمال محدوده وسیعی از مولکول‌های بیولوژیک مانند فاکتورهای رشد، سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها را تولید می‌کنند(5). همان‌طور که ذکر شد، بخشی از فعالیت‌های سلول‌های بنیادی مزانشیمال با واسطه بیومولکول‌های ترشح شده می‌باشد که این مهم استفاده از سوپر ناتانت سلولی (condition medium) مشتق از سلول بنیادی مزانشیمال (MSC-CM) را درپزشکی و درمان سرطان حائز اهمیت کرده است. از نظر بالینی استفاده از ترشحات سلولی ممکن است ابزار درمانی بهتری در مقایسه با درمان مبتنی بر سلول باشد(6). در مورد اثرات سلول‌های بنیادی مزانشیمال بر سرطان نظرات مختلفی وجود دارد. تعدادی مطالعات نشان داده‌اندکه سلول‌های بنیادی مزانشیمال باعث پیشبرد تکثیر تومور و متاستاز می‌شوند. در مطالعه‌ای که روی تومورهای سینه و پروستات انجام شد نشان دادند که سلول‌های بنیادی مزانشیمال مشتق از مغز استخوان رشد و رگ‌زایی در این تومورها را افزایش می‌دهند(8،7). علاوه بر این، در یک مطالعه روی سلول‌های سرطان معده نشان دادند که سلول‌های بنیادی مزانشیمال مشتق از سرطان معده، تکثیر و مهاجرت سلول های سرطانی را افزایش می‌دهند(9). در حالی که مطالعات دیگر پیشنهاد کرده‌اند که سلول‌های بنیادی مزانشیمال فعالیت‌های ضد سرطانی دارند(10،11). بررسی‌ها نشان داده که سوپر ناتانت سلول‌های بنیادی مزانشیمال بند ناف، رشد سلول‌های سرطانی سینه، ریه و پانکراس را مهار می‌کند(12). در پژوهشی اثر سلول‌های بنیادی مزانشیمال مشتق از منابع مختلف روی رده‌های سلولی سرطان تخمدان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که سلول‌های بنیادی مزانشیمال و سوپر ناتانت حاصل از آن‌ها اثر مهاری روی قدرت تهاجمی سلول‌های توموری دارد(13). در مطالعه‌ای روی سلول‌های سرطان کبد نشان دادند سوپر ناتانت سلول‌های بنیادی مزانشیمال به صورت سینرژیسم با داروی Sorafenib عمل کرده و باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی می‌شود(14). به دلیل تناقضات و تفاوت‌هایی که در مطالعات متعدد در رابطه با اثرات سلول‌های بنیادی مزانشیمال بر روی رده‌های سلولی مختلف وجود دارد، این مطالعه با هدف ارزیابی اثر سوپر ناتانت سلول‌های بنیادی مزانشیمال بر روی سلول‌های سرطانی کوریوکارسینوما (JEG3) و ریه (A549) پایه‌ریزی گردید تا بتواند افق درمانی جدیدی در این بدخیمی‌ها ترسیم نماید.

مواد وروش ها

در یک مطالعه تجربی اثر سوپر ناتانت سلول‌های بنیادی مزاشیمال بر روی دو رده سرطانی به‌صورت سه‌تایی مورد بررسی قرار گرفت که مراحل انجام آزمایشات به صورت زیر بوده است.

جدا سازی سلول های بنیادی مزانشیمال و تعیین فنوتایپ به روش فلوسایتومتری

نمونه‌های بند ناف از مرکز آموزشی درمانی امام خمینی(ره) شهرستان ساری جمع‌آوری گردید. سپس به روش مکانیکی به قطعات کوچکتری تقسیم شدند. به

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-20]

این قطعات کوچک بند ناف که حاوی لایه‌ی ژلاتینی هستند، ژله وارتون گفته می‌شود. ژله وارتون به محیط کشت High Glucose DMEM (Biowest-USA) حاوی 15 درصد سرم جنین گاوی (Biochrom-) (FBS) و آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین 100IU/ml) و استرپتومایسین (100µg/ml) انتقال داده شد. سپس به مدت 5 دقیقه در دور 1250 rpm سانتریفوژ گردید. به رسوب سلولی محلول تریپسین –EDTA اضافه شد و به مدت نیم ساعت در انکوباتور کشت سلولی انکوبه گردید. سپس رسوب سلولی دو بار شستشو شده و از فیلتر 70 میکرون عبور داده شد. برای لیز گلبول‌های قرمز باقی مانده در نمونه، از محلول هیپوتونیک کلرید آمونیوم استفاده شد. رسوب سلولی به فلاسک کشت سلولی T75 (SPL) منتقل و با محیط کشت High Glucose DMEM حاوی 15 درصد FBS کشت داده شد. سلول‌های مزانشیمال با اتصال به کف فلاسک، پس از چند روز تشکیل کلنی داده و تکثیر شدند. بعد از این که سلول‌ها 80 تا 90 درصد فلاسک را پر کردند، با استفاده از تریپسین – EDTA 0/25 درصد، سلول‌ها از کف فلاسک کنده شده برای پاساژهای بعدی و همچنین تعیین هویت مورد استفاده قرار گرفتند. برای تعیین فنوتایپ از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال اختصاصی برای شاخص‌های CD44,CD90,CD105,CD34 و HLA-DR استفاده شد و با استفاده از دستگاه فلوسایتومتری، فنوتیپ سلول‌ها تعیین گردید.

کشت سلول های بنیادی مزانشیمال

سلول‌های بنیادی مزانشیمال حاصل از ژله وارتون پس از تعیین هویت به روش فلوسیتومتری تا زمان انجام آزمایش در تانک نیتروژن ذخیره شد سپس سلول‌ها در زمان استفاده ذوب شده و با محیط کشت DMEM F12 حاوی سرم شستشو داده شدند. سپس در فلاسک‌های مخصوص کشت T25 (SPL)کشت داده شدند. محیط کشت DMEM F12 حاوی 10 در صد FBS (Fetal Bovine Serum) به همراه آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (100 IU/ml) و استرپتومایسین (100µg/ml) برای کشت سلول‌ها استفاده شد. فلاسک‌های کشت در انکوباتور 37 درجه سانتی‌گراد با 90 درصد رطوبت و 5 درصد CO2 قرار داده شدند.

تهیه سوپر ناتانت سلولی از سلول های بنیادی مزانشیمال

سلول‌های بنیادی مزانشیمال درفلاسک‌های مخصوص کشت T75 با محیط کشت DMEM F12 حاوی 10 درصد FBS کشت داده شدند و این فلاسک‌های حاوی سلول‌ها تا زمانی که تعداد سلول‌ها افزایش پیدا کرده و 80 درصد فلاسک را پر کنند، نگهداری شدند. سپس سلول‌ها با بافر فسفات نمکی (Phosphate Buffer Saline) استریل شستشو داده شدند. بعد محیط کشت DMEM F12 فاقد سرم به میزان 12 میلی‌لیتر به فلاسک سلولی اضافه شد. سپس فلاسک ها در انکوباتور 37 درجه سانتی‌گراد با رطوبت 90 درصد و 5 درصد CO2 به مدت 48 ساعت انکوبه شدند. بعد از مدت زمان مذکور، سوپر ناتانت سلولی جمع‌آوری شده و در g 400 به مدت 8 دقیقه سانتریفوژ شدند تا سلول‌های مرده جدا شوند. سپس سوپر ناتانت‌های جمع‌آوری شده در لوله‌های فالکون استریل با حجم 15 میلی‌لیتر ریخته شده و در فریزر منهای 80 درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شدند.

اندازه گیری پروتئین سوپر ناتانت سلولی به روش براد فورد

سنجش پروتئین به روش برادفورد یک روش رنگ‌سنجی سریع، دقیق و حساس می‌باشد. اساس روش برادفورد، تشکیل کمپلکس بین رنگ کوماسی بلو G-250 و پروتئین‌های موجود در محلول می‌باشد. میزان پروتئین در سوپر ناتانت سلولی با استفاده از روش براد فورد اندازه‌گیری شد. محلول برادفورد استفاده شده در این آزمایش از شرکت Bio Basic (cat.no: SK3041) خریداری گردید. تست در پلیت 96 خانه انجام و OD

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-20]

در طول موج 595 nm با دستگاه Synergy H1 Hybrid Reader خوانده شد.

کشت سلول های سرطانی

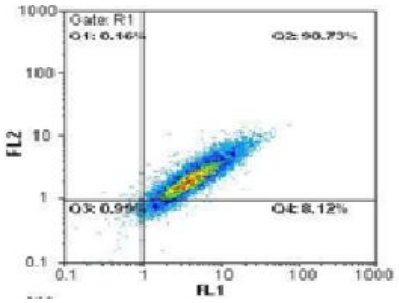
سلول‌های سرطانی شامل رده سلولی A549 (سرطان ریه) و رده سلولی JEG3 (کوریوکارسینوما) که قبلا از انستیتو پاستور تهیه شده و در کرایوتیوب‌ها به صورت فریز شده در داخل تانک نیتروژن قرار داشتند، مورد استفاده قرار گرفتند. ابتدا سلول‌ها دفریز شده و با محیط کشت DMEM F12 حاوی سرم شستشو شدند. سپس در فلاسک‌های کشت T25 کشت داده شدند. شرایط کشت این سلول‌ها مشابه با سلول‌های بنیادی مزانشیمال بود. فلاسک‌ها در انکوباتور 37 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا سلول‌ها رشد کرده و حدود 80 درصد فلاسک پر شود. این سلول‌ها برای آزمایش‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفتند.

بررسی بقا و فعالیت متابولیک سلولی با روش MTT

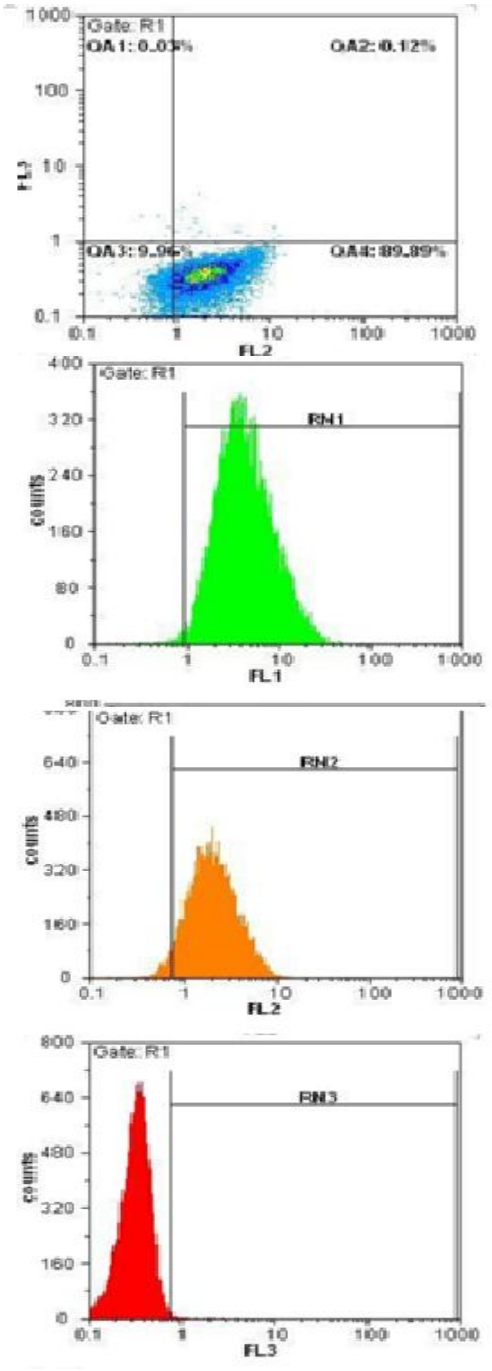
سلول‌های A549 و JEG3 در فلاسک های T25 در شرایطی که قبلا ذکر شد، کشت داده شدند. بعد از این که سلول‌ها 80 درصد فلاسک را پر کردند، برای تست MTT مورد استفاده قرار گرفتند. به این ترتیب که ابتدا محیط کشت سلولی جمع‌آوری و دور ریخته شد. سپس سلول‌ها با PBS استریل سه بار ستشو شدند. سپس با تریپسین -EDTA 0/25درصد به حجم 1تا 2 میلی‌لیتر به مدت 5 دقیقه در انکوباتور 37 درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سلول‌ها در زیر میکروسکوپ از نظر کنده‌شدن از کف فلاسک بررسی شده و بعد از کنده‌شدن به فالکون 15 میلی‌لیتر حاوی 2 میلی‌لیتر محیط کشت سرم‌دار اضافه شد. بعد از سانتریفیوژ در g 400 به مدت 6 دقیقه محیط کشت رویی برداشته شده و به رسوب سلولی 2 میلی‌لیتر محیط کشت حاوی سرم اضافه گردید و سوسپانسیون سلولی یکنواختی تهیه شد. سپس سلول‌ها با استفاده از رنگ تریپان بلو و لام نئوبار شمارش شد. تعداد 5000 سلول به هر چاهک در پلیت 96 تایی اضافه شد. بعد از یک شب انکوباسیون در انکوباتور 37 درجه سانتی‌گراد، سلول‌های سرطانی با درصدهای مختلف سوپر ناتانت سلولی سلول‌های بنیادی مزانشیمال (5، 10، 20، 40، 50، 100) به مدت 48 ساعت تیمار شدند. سپس 20 میکرولیتر از محیط کشت برداشته شده و 20 میکرولیتر رنگ MTT (Gibco) (غلظت 5 میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر) به چاهک‌ها اضافه شد و در انکوباتور 37 درجه سانتی‌گراد به مدت 4 ساعت انکوبه شد. بعد از زمان مورد نظر، محیط کشت سلولی خارج و 200 میکرولیتر محلول DMSO (Merk) به چاهک‌ها اضافه شد و پلیت داخل فویل پیچیده شده و به مدت 20 دقیقه روی روتاتور قرار داده شد. سپس برای خواندن شدت رنگ از دستگاه الایزا ریدر Synergy H1 در طول موج 570 نانومتر استفاده شد. طول موج 630 به عنوان طول موج رفرانس استفاده شد.

یافته ها

بیان مارکرهای سطحی سلول‌های بنیادی مزانشیمال با استفاده از فلوسایتومتری آنالیز شدند. نتایج بررسی نشان داد که این سلول‌ها، مارکرهای CD105,CD90 و CD44 را به میزان بالایی بیان می‌کنند. در حالی که برای مارکرهای CD34 و HLA-DR منفی هستند. نتیجه فلوسایتومتری سلول‌های بنیادی مزانشیمال مشتق از ژله وارتون در تصویر شماره 1 نشان داده شده است. مطابق با شکل شماره 1، بیش از 90 درصد سلول‌ها مارکرهای CD90 و CD105 را بیان می‌کنند. همچنین بالای 80 درصد مارکر CD44 را بیان می‌کنند، در حالی که درصد ناچیزی از سلول‌ها CD34 و HLA-DR را بیان می‌کنند.

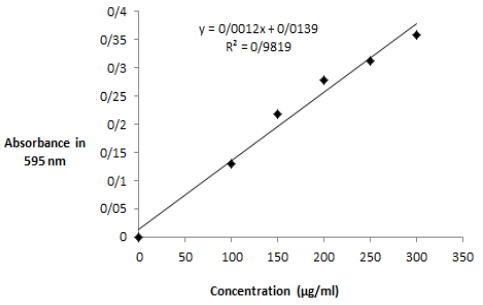


[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-20]



تصویر شماره 1: آنالیز فلوسایتومتری سلول های بنیادی مزانشیمال حاصل از ژله وارتون

همان‌طور که در تصویر مشاهده می‌شود بیش از 90 درصد سلول‌ها برای مارکر CD105 و CD90 مثبت هستند. درصورتی‌که درصد بسیار کمی از سلول‌ها (0/15 درصد) مارکر CD34 را بیان می‌کنند نمودار CD90 نشان می‌دهد که بیش از 95 درصد سلول‌ها برای مارکر CD90 مثبت هستند. نمودار CD105 نشان می‌دهد که بیش از 90 درصد سلول‌ها برای مارکر CD105 مثبت هستند نمودار CD34 نشان می‌دهد که تقریبا تمام سلول‌ها برای این مارکر منفی هستند در اندازه‌گیری پروتئین به روش براد فورد، منحنی استاندارد با رقت‌های مختلف از BSA (Bovine Serum Albumin) ترسیم شد و غلظت پروتئین در سوپر ناتانت سلول‌های بنیادی مزانشیمال براساس منحنی استاندارد، 56/75 میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آمد. نمودار استاندارد برای غلظت‌های 300-100 میکروگرم در هر میلی‌لیتر پروتئین، در تصویر شماره 2 نشان داده شده است.

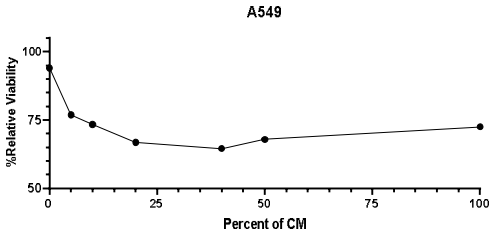


تصویر شماره 2: نمودار استاندارد برای غلظت های µg/ml 100-300 (دستگاه Synergy H1 Hybrid Reader)

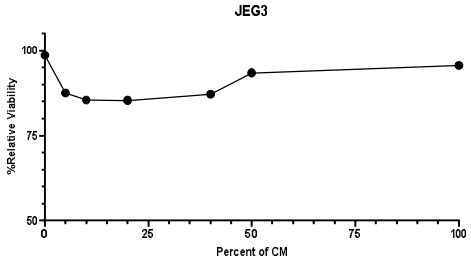
نتایج بررسی فعالیت متابولیک سلولی با روش MTT، به دنبال تیمار سلول‌های سرطانی رده A549 و JEG3 با درصدهای مختلف سوپرناتانت سلول‌های بنیادی مزانشیمال نشان داد که سوپر ناتانت حاصل از این سلول‌ها اثر منفی بر فعالیت متابولیک سلول های سرطانی ریه (A549) دارد (تصویر شماره 3) و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین گروه تیمار شده با کنترل وجود دارد ($P < 0/05$). همان‌طورکه در تصویر مشاهده می‌شود، درصد حیات سلولی بین گروه‌های تیمار شده با گروه تیمار نشده متفاوت است و سوپر ناتانت سلول‌های بنیادی مزانشیمال باعث کاهش بقا سلولی در سلول‌های سرطان ریه شده است؛ در حالی که تاثیر کمی بر فعالیت متابولیکی و حیات سلول

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-20]

در سلول‌های سرطانی کوریوکارسینوما (JEG3) داشته است (تصویر شماره 4) و تفاوت بین گروه تیمار شده و کنترل از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد(P >0/05). همچنین بین گروه‌های مختلف تیماری هم از نظر بقا سلولی تفاوت معناداری وجود ندارد.



تصویر شماره 3: نتایج MTT گروه های مختلف تیمار شده با سوپر ناتانت سلول های بنیادی مزانشیمال در مقایسه با کنترل در رده سلولی A549. همان طور که در شکل مشخص است، سوپر ناتانت باعث کاهش بقا سلول های سرطانی شده است و تفاوت معنا داری بین گروه های مختلف تیماری با گروه تیمار نشده (کنترل) وجود دارد (P <0/05).



تصویر شماره 4: نتایج MTT گروه های مختلف تیمار شده با سوپر ناتانت سلول های بنیادی مزانشیمال در مقایسه با کنترل در رده سلولی JEG3. همان طور که در شکل مشاهده می شود، درصد های مختلف سوپر ناتانت سلول های بنیادی مزانشیمال تاثیرکمی روی بقا سلول های سرطانی و فعالیت متابولیک سلول داشته است که این تاثیر از نظر آماری معنادار نمی باشد (P <0/05).

بحث

با توجه به نقش امیدبخش سلول‌های بنیادی مزانشیمال و سوپر ناتانت آن‌ها در درمان سرطان‌ها، در این مطالعه اثر سوپر ناتانت سلول‌های بنیادی مزانشیمال بر روی رده‌های سرطانی JEG3 و A549 مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که سوپر ناتانت سلول‌های بنیادی مزانشیمال بر روی رده سرطانی A549 اثر مهاری دارد و از نظر آماری تفاوت معناداری بین سلول‌های تیمار شده با سلول‌های کنترل، از نظر بقا و فعالیت متابولیکی وجود دارد (P <0/05)، در حالی که در رده سلولی JEG3 تاثیری روی بقا سلولی نداشت (P >0/05).

در مطالعه‌ای که توسط LI و همکاران در سال 2017 انجام شد، اثر سوپر ناتانت سلول‌های بنیادی مزانشیمال روی رده سلولی A549 و MDA-MB-231 مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که سوپر ناتانت سلولی، اثر مهاری روی مهاجرت سلول‌های سرطانی A549 دارد اما هیچ تاثیری روی تکثیر رده‌های سلولی مورد مطالعه نداشته است(2). نتایج این مطالعه با یافته‌های ما تناقض دارد.

Iman Seyhoun و همکاران (2019) در مطالعه‌ای تاثیر سوپر ناتانت سلول‌های بنیادی مزانشیمال را بر روی رده سلولی کارسینومای هپاتو سلولار HepG2 مورد بررسی قرار دادند. میزان تکثیر سلولی در گروه‌های تیمار شده نسبت به گروه کنترل کاهش شدیدی را نشان داد. این مطالعه اثر مهاری سوپر ناتانت سلول‌های بنیادی مزانشیمال را بر روی رده سلولی سرطانی نشان داد(14). Li و همکاران در سال 2011 اثر سلول‌های بنیادی مزانشیمال و سوپر ناتانت آن‌ها را روی سلول‌های سرطان ریه (SK-MES-1, A549) بررسی کردند. نتایج این پژوهش نشان داد که سوپر ناتانت سلول‌های بنیادی مزانشیمال باعث القاء آپوپتوز در سلول‌های سرطان ریه می‌شود و تکثیر و رشد آن‌ها را مهار می‌کند. نتایج این مطالعه با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد و اثر مهاری سوپر ناتانت را بر روی سلول‌های سرطانی نشان می‌دهد(15). با توجه به نتایج این مطالعات، سلول های بنیادی مزانشیمال و سوپر ناتانت حاصل از آن‌ها به عنوان افق درمانی مناسبی در این نوع سرطان‌ها می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. در مطالعه‌ای توسط فرهمند و همکاران درسال 2018، اثر سوپر ناتانت سلول‌های بنیادی مزانشیمال مشتق ازمغز استخوان روی سلول‌های سرطان سینه (MCF7)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-20]

مورد بررسی قرار گرفت و بیان ژن‌های مربوط به تکثیر سلولی و آپوپتوز ارزیابی شد. نتایج این مطالعه نشان داد که سوپر ناتانت سلولی باعث افزایش بیان ژن‌های ضد آپوپتوز و ژن‌های مرتبط با تکثیر سلولی می‌شود. افزایش بیان این ژن‌ها با پیش‌آگهی بد بیماری ارتباط دارد(16).

Chen و همکاران اثر سوپر ناتانت سلول‌های بنیادی مزانشیمال را بر تکثیر و مهاجرت سلول‌های A549 مورد بررسی قرار دادند. نتایج مطالعه نشان داد که سوپر ناتانت سلولی باعث افزایش تکثیر و مهاجرت سلول‌های A549 می‌شود(17). با توجه به مطالعات مختلف مشاهده می‌شود که رفتار سلول‌های سرطانی مختلف در مقابل سوپر ناتانت سلولی متفاوت می‌باشد. بنابراین باید مطالعات بیش‌تری در مورد سرطان‌های مختلف انجام گیرد تا اطلاعات حاصل از این مطالعات در استفاده از این رویکرد درمانی مورد توجه قرارگیرند. یک مورد حائز اهمیت در این مطالعات، تفاوت در منشاء سلول‌های بنیادی مزانشیمال می‌باشد. بررسی‌ها نشان داده‌اند که سوپر ناتانت‌های حاصل از سلول‌های بنیادی مزانشیمال از منابع مختلف، از نظر مواد و ترکیبات مترشحه متفاوت می‌باشند که این مورد می‌تواند در انتخاب آن‌ها به عنوان راهکار درمانی، مد نظر قرار گیرد(18). یکی از دلایل تاثیر متفاوت سوپر ناتانت سلول‌های بنیادی مزانشیمال، ممکن است منشاء متفاوت سلول بنیادی باشد. به این ترتیب تناقضاتی که در اثرات آن‌ها مشاهده شده، می‌تواند تا حدی قابل توجیه باشد. از موارد قابل توجه دیگر در سوپر ناتانت‌های سلولی نحوه تهیه آن‌ها می‌باشد. در برخی پژوهش‌ها، سوپر ناتانت‌های تهیه شده، تغلیظ شده و ذخیره می‌شوند که این مورد می‌تواند در عملکرد آن‌ها تاثیرگذار باشد. لذا پیشنهاد می‌شود برای استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمال و سوپر ناتانت این سلول‌ها به عنوان اهداف درمانی، علاوه بر انجام مطالعات پایه جهت پی بردن به مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با این سلول‌ها، نقش آن‌ها بر روی سلول‌های مختلف سرطانی هم انجام گیرد تا این سلول‌ها بتوانند به عنوان یک رویکرد درمانی، مورد استفاده قرار گیرند.

سپاسگزاری

مطالعه حاضر با حمایت معاونت محترم تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران به شماره 2807 انجام شده است که نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را اعلام می‌دارند.

References

1. IARC Global Cancer Observatory. Latest global cancer data: Cancer burden rises to 18.1 million new cases and 9.6 million cancer deaths in 2018. International Agency for Research on Cancer: Lyon, France. 2018.
2. Li P, Zhou H, Di G, Liu J, Liu Y, Wang Z, et al. Mesenchymal stem cell-conditioned medium promotes MDA-MB-231 cell migration and inhibits A549 cell migration by regulating insulin receptor and human epidermal growth factor receptor 3 phosphorylation. Oncol Lett 2017; 13(3): 1581-1586.
3. Bertolo A, Pavlicek D, Gemperli A, Baur M, Pötzel T, Stoyanov J. Increased motility of mesenchymal stem cells is correlated with inhibition of stimulated peripheral blood mononuclear cells in vitro. Journal of Stem Cells and Regenerative Medicine 2017; 13(2): 62-74.
4. Abediankenari S, Yousefzadeh Y, Azadeh H, Vahedi, M. Comparison of several maturation inducing factors in dendritic cell differentiation. Iranian Journal of Immunology 2010; 7(2): 83-87.
5. Abediankenari S, Eslami MB, Sarrafnejad A, Mohseni M, Larijani B. Dendritic cells bearing

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-20]

HLA-G inhibit T-cell activation in type 1 diabetes. Iran J Allergy Asthma and Immunol 2007; 6(1): 1-7 (Persian).

6. Linero I, Chaparro O. Paracrine effect of mesenchymal stem cells derived from human adipose tissue in bone regeneration. PloS one 2014; 9(9): e107001.
7. Shinagawa K, Kitadai Y, Tanaka M, Sumida T, Kodama M, Higashi Y, et al. Mesenchymal stem cells enhance growth and metastasis of colon cancer. Int J Cancer 2010; 127(10): 2323-2333.
8. Zhang T, Lee YW, Rui YF, Cheng TY, Jiang XH, Li G. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells promote growth and angiogenesis of breast and prostate tumors. Stem Cell Research & Therapy 2013; 4(3): 70.
9. Li W, Zhou Y, Yang J, Zhang X, Zhang H, Zhang T, et al. Gastric cancer-derived mesenchymal stem cells prompt gastric cancer progression through secretion of interleukin-8. J Exp Clin Cancer Res 2015; 34(1): 52.
10. Khakoo AY, Pati S, Anderson SA, Reid W, Elshal MF, Rovira II, et al. Human mesenchymal stem cells exert potent antitumorigenic effects in a model of Kaposi's sarcoma. J Exp Med 2006; 203(5): 1235-1247.
11. Gauthaman K, Yee FC, Cheyyatraivendran S, Biswas A, Choolani M, Bongso A. Human umbilical cord Wharton's jelly stem cell (hWJSC) extracts inhibit cancer cell growth in vitro. J Cell Biochem 2012; 113(6): 2027-2039.
12. Ayuzawa R, Doi C, Rachakatla RS, Pyle MM, Maurya DK, Troyer D, et al. Naive human umbilical cord matrix derived stem cells significantly attenuate growth of human breast cancer cells in vitro and in vivo. Cancer Letters 2009; 280(1): 31-37.
13. Khalil C, Moussa M, Azar A, Tawk J, Habbouche J, Salameh R, et al. Anti-proliferative effects of mesenchymal stem cells (MSCs) derived from multiple sources on ovarian cancer cell lines: an in-vitro experimental study. J Ovarian Res 2019; 12(1): 70.
14. Seyhoun I, Hajighasemlou S, Jafari A, Hosseinzadeh F, Mirmoghtadaei M, Seyhoun SM, et al. Novel Combination of Mesenchymal Stem Cell-Conditioned Medium with Sorafenib Have Synergistic Antitumor Effect of Hepatocellular Carcinoma Cells. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention 2019; 20(1): 263-267 (Persian).
15. Li L, Tian H, Chen Z, Yue W, Li S, Li W. Inhibition of lung cancer cell proliferation mediated by human mesenchymal stem cells. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai) 2011; 43(2): 143-148.
16. Farahmand L, Esmaeili R, Eini L, Majidzadeh AK. The effect of mesenchymal stem cell-conditioned medium on proliferation and apoptosis of breast cancer cell line. Journal of Cancer Research and Therapeutics 2018; 14(2): 341-344 (Persian).
17. Chen J, Li Y, Hao H, Li C, Du Y, Hu Y, et al. Mesenchymal stem cell conditioned medium promotes proliferation and migration of alveolar epithelial cells under septic conditions in vitro via the JNK-P38 signaling pathway. Cell Physiol Biochem 2015; 37(5): 1830-1846.
18. Li X, Bai J, Ji X, Li R, Xuan Y, Wang Y. Comprehensive characterization of four different populations of human mesenchymal stem cells as regards their immune properties, proliferation and differentiation. International Journal of Molecular Medicine 2014; 34(3): 695-704.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-20]