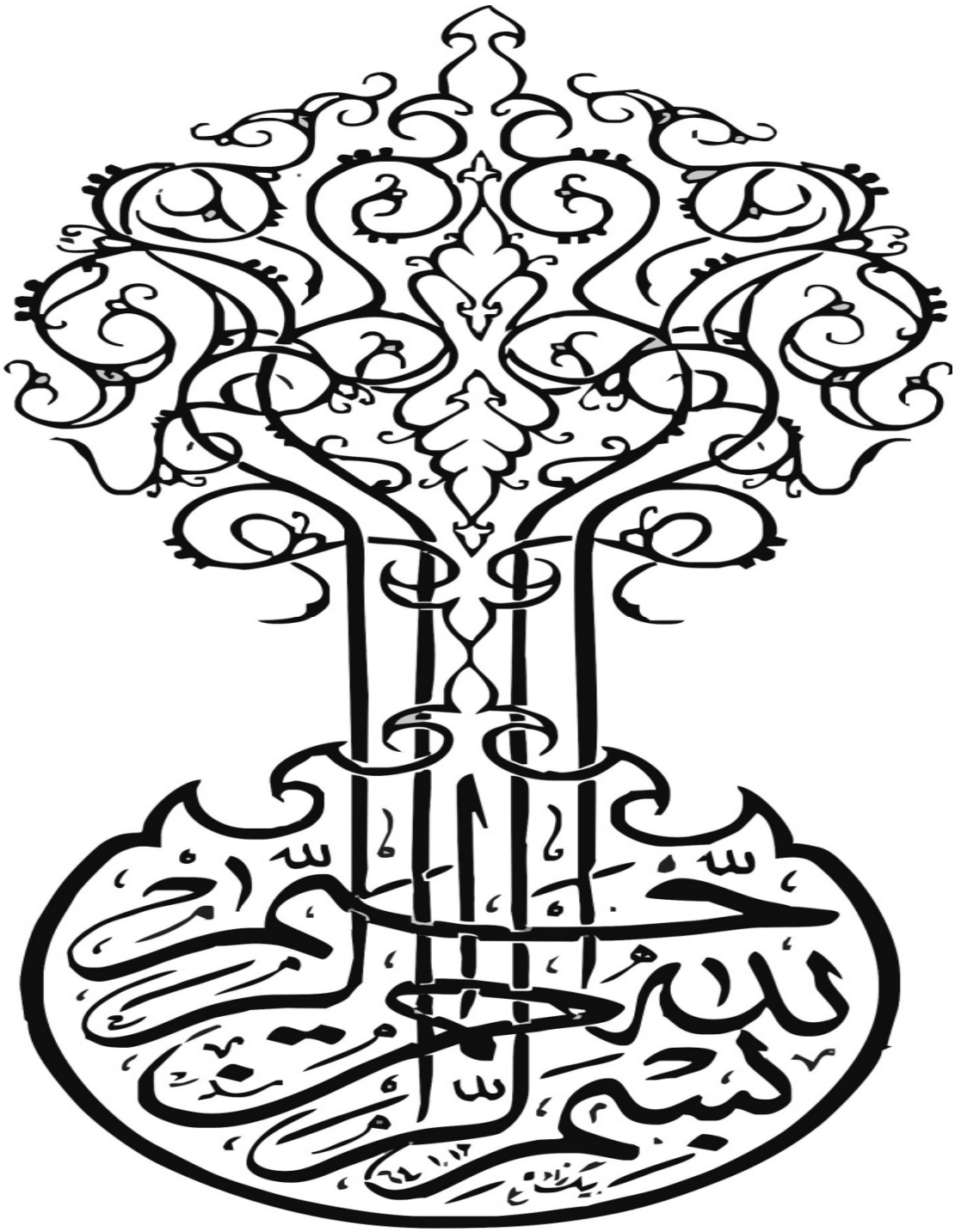

بسم الله الرحمن الرحیم

وزارت علوم تحقیقات و فناوری

دانشگاه علم و فرهنگ

جهاد دانشگاهی

پژوهشگاه رویان

پژوهشکده‌های:
علوم سلولی
پزشکی تولیدمثل
بیوتکنولوژی جانوری

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست شناسی جانوری گرایش سلولی تکوینی

بررسی اثر ریزملکولهای DAPT و XAV939 در مهار مسیرهای پیام رسانی Notch و Wnt در ملانوسفیرها

نگارش

مریم مهدی پور

استاد راهنما

دکتر مرضیه ابراهیمی

شهریور ۹۲

تقدیم به:

ساحت مقدس پروردگار سبحانه و تعالی ،

امام مهدی(علیه السلام) و جد بزرگوارشان باقرالعلوم (علیه السلام)

و خانواده مهربانم

با تشکر و تقدیر از:

اساتید بزرگوار
سر کارخانم دکتر مرضیه ابراهیمی
جناب آقای دکتر حسین بهاروند
همکاران محترم آزمایشگاه فلوسایتومتری آقایان سامانی ، جان زمین و خانم خسروانی
همکاران محترم آزمایشگاه ملکولی خانم ها صمدیان، مرادمند، سیاح پور
همکاران محترم ازمایشگاه پروتئومیکس اقایان میرشاه ولدی و وکیلیان
مسئول محترم آزمایشگاه سلول های بنیادی خونساز و تمایز ۲ جناب اقای فیرزوی و همچنین دوستان خوبم در این آزمایشگاه علی الخصوص دکتر منیره حاجی مرادی، دکتر مهدیه بخشی و پگاه عبداللهی که همواره من را در انجام این طرح کمک نمودند..

چکیده

ملانومای متاستاتیک یکی از چالش برانگیزترین سرطان ها در حوزه درمان است. مطالعات اخیر نشان میدهند، سلول های بنیادی سرطان مسئول ایجاد متاستاز، مقاومت دارویی و بازگشت مجدد تومور هستند. این خصوصیات سلول های بنیادی به اختلال در مسیرهای پیام رسانی سلولی مانند Notch و Wnt نسبت داده می شود و هدفگیری این مسیرها می تواند دستاورهای درمانی تازه ای را برای سرطان به همراه داشته باشد؛ اما تاکنون نقش مسیرهای Notch و Wnt در سلول های بنیادی ملانوما به خوبی روشن نشده است.

در بخش اول مطالعه ما، ملانوسفیرها (به عنوان سلول های شبه بنیادی ملانوما) از رده سلولی متاستاتیک A375 کشت داده شدند. سپس قدرت خودنوزایی این سلول ها با روش تشکیل اسفیر و کلنی بررسی و شاخص های پروتئینی مرتبط با بنیادینگی CD133 و Nestin و ژن های مرتبط با بنیادینگی NESTIN, Oct4 و Nanog در مقایسه با سلول های چسبنده توموری به عنوان گروه کنترل سنجیده شد.

در بخش بعدی مطالعه ژن های مرتبط با مسیرهای Notch(Notch, HES1, HES5) و-β Wnt, (catenin, cyclinD1, c-Myc) بررسی و ملانوسفیرها با ریزملکول های DAPT به عنوان مهار کننده مسیر Notch و XAV939 به عنوان مهارکننده مسیرWnt تیمار شدند. در آخر نیز ملانوسفیرها با ترکیب این ریزملکول ها تیمار شدند.

نتایج مطالعه ما نشان داد: در قدرت اسفیرزایی، کلنی زایی ، بیان پروتئین Nestin، بیان ژنهای NESTIN و Nanog و بیان ژنهای مسیر Notch و Wnt در ملانوسفیرها در مقایسه با سلول های توموری چسبنده افزایش مشاهده شد در حالیکه در بیان شاخص CD133 تغییری مشاهده نشد.

هنگام تیمار ملانوسفیرها با ریزملکول DAPT در قدرت خودنوزایی ملانوسفیرها، بیان ژن های HES1و NESTIN کاهش مشاهده شد. در تیمارملانوسفیرها با ریزملکول XVA939 در قدرت خودنوزایی

ملانوسفیرها و بیان ژن c-Myc کاهش دیده شد. هنگامی که ملانوسفیرها با ترکیبی از این ریزملکول ها تیمار شدند، علاوه بر کاهش در خودنوزایی، کاهش در پروتئین Nestin، بیان ژنهای مسیر Notch, Wnt و ژنهای مرتبط با بنیادینگی مشاهده شد.

به طور کلی مشاهدات ما شواهد بیشتری را در استفاده ملانوسفیرها به عنوان مدل مناسبی برای مطالعه سلول های شبه بنیادی ملانوما را ارائه کرد. همچنین مطالعه ما نشان داد؛ مسیر Notch و Wnt برای حفظ خصوصیات بنیادینگی سلولهای شبه بنیادی ملانوما ضروری اند و تیمار همزمان این سلولها بوسیله مهارکننده های Notch و Wnt میتواند در کاهش خصوصیات بنیادینگی آنها تاثیر زیادی داشته باشد و به نظر میرسد این روش می تواند به عنوان روشی تازه جهت از بین بردن سلول های شبه بنیادی ملانوما در درمان مطرح شود.

واژگان کلید: سلولهای بنیادی سرطان، ملانوسفیر ، مسیرهای پیام رسانی درون سلولی

فهرست

۱-۲ ملانوما و میزان شیوع آن ۳

۱-۳ سلولهای بنیادی سرطان و ایجاد سرطان ۵

۱-۴ خصوصیات سلولهای بنیادی سرطان..... ۸

۱-۴-۱ ایجاد متاستاز ۸

۱-۴-۲ بیان شاخص های پروتئینی ۹

۱-۴-۳ مقاومت به شیمی درمانی و رادیو درمانی ۱۱

۱-۵ روش های جداسازی سلولهای بنیادی سرطان..... ۱۳

۱-۵-۱ جداسازی بر اساس شاخص های سلولی(SURFACE MARKERS) ۱۳

۱-۵-۲ جدا سازی سلولهای بنیادی سرطانی بر اساس روش SIDE POPULATION SP) ۱۳

۱-۵- ۳ تشکیل ساختارهای شبه کروی(اسفیر) در محیط غیر چسبنده..... ۱۳

۱-۶ مسیر های مؤثر در خودنوزایی و تمایز سلولهای بنیادی سرطان ۱۵

۱-۶-۱ مسیر WNT/β-CATENIN در ملانوما ۱۶

۱-۶-۲ مسیر NOTCH در ملانوما..... ۱۹

۱-۷ استفاده از ریزملکولها در هدفگیری سلولهای بنیادی سرطان ملانوما.....۲۳

فصل۲.....۲۸

۲-۱ کشت و پاساژ رده سلولی ملانوما ۳۳

۲-۱-۱ رده سلولی مورد مطالعه ۳۳

۲-۱-۲ آماده سازی محیط کشت سلولی..... ۳۳

۲-۱-۳ پاساژ سلولی..... ۳۳
۲-۱-۴ شمارش سلولی ۳۴
۲-۱-۵ انجماد و ذخیره سازی سلول ها ۳۵
۲-۱-۶ ذوب کردن سلول های منجمد شده ۳۵
۲-۲ کشت غیر چسبنده یا کشت اسفیر ۳۵
۲-۲-۱روش تهیه پلی هما ۳۶
۲-۲-۲ کشت سه بعدی بر روی پلی هما..... ۳۷
۲-۳ پاساژ اسفیرها ۳۸
۲-۴گروههای سلولی مورد مطالعه ۳۸
۱-گروه سلول های چسبنده توموری ۳۹
۲ گروه ملانوسفیرها..... ۳۹
۲-۵ بررسی اثر ریزملکولهای DAPT, XAV939 و ترکیب این ریزملکلولها بر مرگ سلول ها ۳۹
۲-۶ روش بررسی ایمونوفنوتایپینگ سلول ها ۴۲
۲-۶-۱ اماده سازی سلول ها نمونه ها جهت برای بررسی میزان بیان شاخص سطحیCD133 ..... ۴۲
۲-۶-۲ آماده سازی نمونه ها چهت بررسی شاخص درون سلولی NESTIN ۴۳
۲-۷ روش انجام آزمایش قدرت کلنی زایی ۴۴
۲-۷-۱ روش انجام آزمایش قدرت کلنی زایی سلول های توموری و ملانوسفیرها..... ۴۵
۲-۷-۲ روش انجام آزمایش اثر ریزملکلول ها در قدرت کلنی زایی سلول های توموری و ملانوسفیرها ۴۵
۲-۸- آزمایش بررسی اثر ریزملکلول ها بر قدرت تشکیل اسفروئید ۴۶
۲-۹ بررسی بیان ژن ۴۷
۲-۹-۱ مراحل استخراج RNA..... ۴۷

۲-۹-۲ تیمار RNA با ۴۸
۲-۱۰ سنتز CDNA ۵۰
۲-۱۱ واکنش زنجیره ای پلیمراز ۵۱
۲-۱۲ پرایمر ۵۱
۲-۱۲-۱ نحوه رقیق کردن پرایمر ۵۳
۲-۱۳ REAL TIME PC ۵۳
۲-۱۴ ارزیابی آماری ۵۵
فصل سوم: ۵۶
۳-۱ مورفولوژی رده سلولی مورد مطالعه ۵۷
۳-۲ کشت ملانوسفیرهای رده سلولی A375 ..... ۵۷
۳-۳ بررسی خصوصیات بنیادینگی ملانوسفیرها ۵۸
۳-۳-۱ بررسی قدرت اسفیرزایی ملانوسفیرها ۵۸
۳-۳-۲ بررسی قدرت کلنی زایی ملانوسفیرها ۵۹
۳-۳-۳ بررسی بیان پروتئین های مرتبط با بنیادینگی ۶۰
۳-۳-۴ بررسی بیان ژن های مرتبط با بنیادینگی در ملانوسفیرها ۶۴
۳-۳-۴ نتایج حاصل از بررسی اثر غلظت های مختلف ریزملکول های DAPT, XAV939 و ترکیب این ریزملکولها در ملانوسفیرها ۶۵
۳-۴-۱ بررسی بیان ژن های مرتبط با مسیر NOTCH و مسیر WNT در ملانوسفیرها ۶۵
۳-۴-۱ بررسی اثر غلظت های مختلف ریزملکول DAPT و XAV939 و ترکیب این ریزملکولها برمهار رشد سلولهای توموری ۶۷
۳-۴-۲ بررسی اثر ریز ملکولهای DAPT, XAV939 و ترکیب این ریزملکول ها بر روی قدرت اسفیرزایی ملانوسفیرها ۶۹
۳-۴-۳ بررسی اثر ریز ملکولهای DAPT, XAV939 و ترکیب این ریزملکول ها بر درصد کلنی زایی ۷۲

۳-۴-۵ بررسی اثر ریز ملکولهای DAPT, XAV939 و ترکیب این ریزملکول ها در بیان ژن های مرتبط با مسیرهای NOTCH و WNT ۷۹

۳-۴-۶ بررسی اثر ریز ملکولهای DAPT, XAV939 و ترکیب این ریزملکول ها در بیان ژن های مرتبط با بنیادینگی ۸۲

فصل چهارم: ۸۴

۴-۱ بحث ۸۵

۴-۲ نتایج ۹۴

۴-۳ پیشنهادات ۹۵

ABSTRACT ۰

REFERENCE ۹۷

فهرست اشکال

فهرست اشکال ..... ث

فهرست جداول ..... ح

شکل ۱-۱- دو مدل کلی را برای توضیح ناهمگنی تومورهای جامد ۶

شکل -۱-۲- سلولهای بنیادی طبیعی ۷

شکل ۱-۳- سلولهای بنیادی سرطان و متاستاز ۹

شکل۱-۴- مقاومت دارویی در سلولهای بنیادی سرطان ۱۲

شکل ۱-۵- مسیر های پیام رسانی سلولی ۱۶

شکل -۱-۶- ۱۸

شکل ۱-۷- مسیر NOTCH د ر سلول ها ۲۰

شکل ۱-۸- هدف گیری سلول های بنیادی سرطان ۲۳

شکل ۲-۱- ساختار شیمیایی پلی هما ۳۶
شکل ۲-۲- ساختارشیمیایی ریزملکلوب های DAPT و XAV939 ..... ۴۰
شکل۲- ۳-تبدیل MTT به حلقه بنفش رنگ فرمازان..... ۴۱
شکل ۳-۱ – تصویر رده سلولیA375 ..... ۵۷
شکل۳-۲- تصویر ملانوسفیرهای تشکیل شده از رده سلولی A375..... ۵۸
شکل۳-۳- نمودار قدرت اسفیرزایی ملانوسفیرها..... ۵۹
شکل۳-۴- نمودار درصد کلنی زایی ملانواسفیرها ۶۰
شکل ۳-۵- تصویرکلنی تشکیل شده از سلول های توموری..... ۶۰
شکل ۳-۶- نمودار بیان شاخص بنیادینگی CD133 ..... ۶۱
شکل ۳-۷- تصویر پلات های بیان شاخص CD133 ..... ۶۲
شکل۳-۸ - نمودار بیان شاخص بنیادینگی NESTIN ۶۳
شکل۳-۹- تصویر پلات های بیان شاخص NESTIN در ملانوسفیرها..... ۶۳
شکل ۳- ۱۰- نمودار بیان ژن های مرتبط با بنیادینگی در ملانوسفیرها..... ۶۴
شکل ۳-۱۱- نمودار بیان ژن های مرتبط با مسیر NOTCH..... ۶۶
شکل ۳-۱۲- نمودار بیان ژنهای مرتبط با مسیر WNT در ملانوسفیرها ۶۶
شکل۳-۱۳- نمودار اثر ریزملکول DAPT در مهار رشد سلول های توموری..... ۶۸
شکل ۳-۱۴- نمودار اثر ریزملکول XAV939 در مهار رشد سلول های توموری ۶۸
شکل ۳-۱۵- نمودار اثر ترکیبی ریزملکول در مهار رشد سلول های توموری ۶۹
شکل۳-۱۶- نمودار اثر ریزملکلولها بر تشکیل ملانواسفیرها..... ۷۰
شکل ۳-۱۷- نمودار اثر ریزملکلولها بر اندازه ملانوسفیرها ۷۱
شکل ۳-۱۸- تصویرها ملانوسفیرهای تیمار شده با ریزملکولها..... ۷۲

شکل ۳-۱۹- اثر ریزملکولها بر قدرت کلنی زایی سلولهای توموری..... ۷۳

شکل ۳-۲۰- اثر ریزملکلولها بر قدرت کلنی زایی ملانوسفیرها ۷۴

شکل -۳-۲۱- تصویرکلنی های تشکیل شده از سلول های توموری ۷۵

شکل ۳-۲۲-تصویرکلنی های تشکیل شده از سلول های ملانوسفیری ۷۶

شکل ۳-۲۳- نمودار اثر ریزملکولها بر شاخص بنیادینگی NESTIN در ملانوسفیرها ۷۷

شکل ۳-۲۵- نمودار بیان ژنهای مرتبط با مسیرNOTCH درسلولهای توموری پس از تیمار با ریزملکول DAPT و ترکیبی از ریزملکولها. ۸۰

شکل ۳-۲۶- نمودار مقایسه بیان ژنهای مرتبط با مسیر WNT در سلولهای توموری پس از تیمار با XAV939 و ترکیبی از این ریزملکولها ۸۰

شکل ۳-۲۷- نمودار مقایسه بیان ژنهای مرتبط با مسیر NOTCH در ملانوسفیرها پس از تیمار با ریزملکول DAPT و ترکیبی از ریزملکولها. ۸۱

شکل ۳-۲۸- نمودار مقایسه بیان ژنهای مرتبط با مسیر WNT در ملانوسفیرها پس از تیمار با ریزملکول DAPT و ترکیبی از ریزملکولها. ۸۲

شکل نمودار۳-۲۹- نمودار مقایسه بیان ژنهای مرتبط با بنیادینگی در سلولهای توموری پس از تیمار با ریزملکول DAPT ، XAV939 و ترکیبی از ریزملکولها ۸۳

شکل۳-۳۰- نمودار مقایسه بیان ژنهای مرتبط با بنیادینگی را در ملانوسفیرها پس از تیمار با ریزملکول پس از دریافت ریزملکول DAPT، XAV939 و ترکیبی از ریزملکولها ۸۳

فهرست جداول

جدول۲-۱ تجهیزات مورد استفاده.....۲۹

جدول ۲-۲ مواد مصرفی جهت ازمایشات سلولی ۳۰

جدول۲-۳ آنتی بادی های مورد استفاده.....۳۱

جدول۲-۴. مواد و وسایل مورد نیاز برای بررسی بیان ژن ۳۲

جدول۲-۵. توالی پرایمر ۵۳

فصل اول

مقدمه

۱-۱ مقدمه

ملانوما سرطانی است که به علت تکثیر افسارگسیخته سلولهای ملانوسیتی اتفاق می افتد[۱] حدود ۷۵ درصد از مرگ و میرهای ناشی از سرطان های پوستی مربوط به ملانوما است، این سرطان برای نخستین بار در سال ۱۷۸۷ با عنوان یک نوع بیماری قارچی گسترش یابنده، گزارش شد و در نهایت در ۱۹۶۸ نخستین نشانه های میکروسکوپی، از سرطانی پرده برداشت که بیماران آن در مرحله تهاجم[1] بیش از ۶ ماه مهلت زندگی نداشتند.[۲-۵]

در سال‌های اخیر فرضیه‌ای تحت عنوان سلول‌های بنیادی سرطان مطرح شده است که، طبق این فرضیه پیشرفت و تهاجم سلولهای سرطانی به علت وجود زیرگروهی از این سلول‌ها است، که خصوصیاتی شبیه به سلولهای بنیادی جنینی دارند، از این خصوصیات می توان به ، خود نوزایی ، توانایی بوجود آوردن جمعیت های مختلف سلولی ، تشکیل ساختارهایی کروی در محیط فاقد سرم در سطوح غیر چسبنده اشاره کرد. [۶]تحقیقات متعدد نشان داده است که سلولهای بنیادی ملانوما به علت بیان افزاینده شاخص های مرتبط با بنیادینگی مانندCD۱۳۳, NESTIN ، بیان مسیرهایی سیگنال‌دهی سلولی مانند SHH، Notch، Wnt/β-catenin، کانال های ABC مقاومت به درمان را در تومورها ایجاد میکنند. [۷-۱۰]دراین میان بیان بیش از حد مسیرهای سیگنال دهی در ملانوما به طور مستقیم در بیماریزایی دخالت دارد. به عنوان مثال مسیر Notch در حالت طبیعی برای نگهداری رنگدانه‌های مو ضروری است؛ هنگام سرطان افزایش این مسیر باعث آغاز رگ زایی و رشد سلول های سرطانی می شود؛[۱۰] همچنین جهش در مسیر Wnt/β-catenin در ملانوما باعث فعال شدن ژن‌های پیش سرطانی مثلc-Myc ,

[1] metastase

cyclinD1 ، افزایش تهاجم و متاستاز می‌شود. با شناخت و جداسازی سلول های بنیادی سرطان، علت عدم کارایی روش های موجود برای از بین بردن توده توموری مشخص شد.[۱۱] بنابر این امروزه روش های نوین برای از بین بردن بیشتر سلولهای بنیادی سرطان در حال آزمایش است. یکی از این روش های تازه هدف گیری مسیرهای پیام رسانی سلولی در سرطان‌ها با استفاده از ریزملکول‌ها می باشد. هدف گیری مسیرهای سیگنالدهی سلولی می تواند، هم زمان باعث از بین رفتن سلولهای سرطانی شده و قدرت متاستاز آنها را کاهش دهد.

در راستای این امر، در این مطالعه بررسی تغییرات ناشی از هدفگیری مسیرهای پیام رسانی Notch توسط ریزملکول DAPT و Wntتوسط ریزملکول XAV939 در سلول های بنیادی جدا شده از رده سلولی A375 (ملانوسفیر ها) صورت می گیرد و پس از آن نیز اثر هدف گیری همزمان این مسیرها بر خصوصیات بنیادینگی این سلول ها بررسی خواهد شد.

۱-۲ ملانوما و میزان شیوع آن

منشا ملانوما(melanoma) گذر سلولهای ملانوسیتی (melanocyte) از حالت طبیعی به حالت سرطانی است. ملانوسیت‌ها سلول‌هایی هستند که رنگدانه ملانین را در بدن تولید می‌کنند. این رنگدانه مسئول رنگ بخشی به پوست بدن بوده و در مناطق دیگری مثل حفره دهانی، چشم ها و روده ها هم دیده می شود. ملانوما می تواند در هر بخشی از بدن که دارای ملانوسیت باشد، ایجاد گرد. [۱, ۵] زمان عبور ملانوما به ملانومای متاستازی (metastatic melanoma) نسبت به سایر سرطانها بسیار سریع تر بوده و سالیانه حدود ۱۶۰،۰۰۰بیمار جدید شناسایی شده که۴۸۰۰۰ نفر از این تعداد در کمتر از ۶ماه می میرند [۱۲] . بیشتر مبتلایان به ملانوما زن هستند که، در ناحیه پاها در گیر می شوند؛ در مردها نیز بیماری بیشتر در پشت دیده می شود.۱۰ملانوما در نژادهای قفقازی و در آب و هوای آفتابی نواحی اروپای شمال غربی ، اقیانوسیه، آمریکای شمالی، آمریکای لاتین و آفریقای جنوبی شیوع بیشتری دارد. [۲, ۱۳]

این پراکندگی جغرافیایی وابسته به میزان نور فرا بنفش۱۳ و میزان رنگدانه های پوستی می باشد.[۱۴, ۱۵]

از نشانه های ملانوما تغییر در اندازه خال های گوشتی در ملانومای گره‌ای[۲] و بروز هر نوع بر آمدگی گوشتی سیاهرنگ در شخص است. این بیماری شامل مراحل زیر است:

۱- مرحله ای که خال‌های گوشتی با ملانوسیت‌های عادی همراه است

۲- گسترش خال‌های گوشتی

۳- رشد سریع و بدون متاستاز توده توموری

۴- رشد سریع عمودی همراه با متاستاز

۵- ملانومای متاستاتیک پیشرفته همراه با ترشحات چرکی و خونریزی [۱۶]

از عوامل بوجود آورنده ملانوما می توان به عوامل ژنتیکی اشاره کرد. جهش در شبکه ملکولی درون سلولی ملانوما باعث پیچیدگی مولکولی زیادی در این سرطان شده است؛علیرغم روش های مختلف حاضر برای از بین بردن توده توموری، میزان بهبود دوره حیات بیماران بسیار کم است.این عدم پاسخ به روش های حذف تومور، سوالات بسیاری را پیرامون منشا تومور و علت اصلی موثر نبودن درمانها برای محققان ایجاد کرده است. در سال های اخیر تئوری سلول‌های بنیادی سرطان (Cancer stem cell) باعث شد محققان بتوانند با استفاده از این نظریه علت های عدم پاسخ ملانوما به درمان‌های رایج ، متاستاز و بازگشت مجدد آن را توجیه کنند. [۱۷]

[2] nodular melanoma

۱-۳ سلولهای بنیادی سرطان و ایجاد سرطان

تومورها بواسطه تکثیر زیاد سلول ها و بروز خصوصیات غیرطبیعی در ظاهر و عملکرد سلول های توموری از سلول های بافت عادی متمایز میشوند. به طور کلی سرطان‌ها ناشی از یک سری جهش می‌باشند که در تعداد کم و یا حتی یک سلول منفرد بنیانگذار رخ می‌دهد. این سلول‌ها در نهایت پتانسیل تکثیری نامحدود و کنترل نشده را بدست می‌آورند. [۱۸] در سال ۱۹۷۰ محققان در آزمایش‌های خود مشاهده کردند؛ زیر گروهی از سلولهای سرطانی در محیط آزمایشگاهی قابلیت بیشتری برای تولید کلنی دارند و می‌توانند به صورت پیوسته در حیوانات آزمایشگاهی تولید تومور کنند. آزمایش‌های بعدی نشان داد که یک سلول از این سلول‌ها قادر است، تمامی انواع سلول‌های موجود در یک توده سرطانی را بوجود بیاورد. [۱۹] سپس در۱۹۹۴ نخستین بار سلول‌های بنیادی سرطانی در لوکیمیای میلوژنوس با شاخص سطحی $CD34^{+}, CD38^{-}$ شناخته شد[۲۰] و طبق آن نظریه سلول‌های بنیادی سرطان ارایه شد، جداسازی این سلول‌ها از سال۲۰۰۳در سرطان سینه امکان پذیر شد،[۱۷] و در سال‌های بعد سلول‌های بنیادی سرطان در سرطان‌های کلون، پروستات، سر و گردن، ریه، کبد، مغز، پانکراس، رحم و ملانوما شناسایی شدند.[۲۱-۲۶]در این سال‌ها محققان برای سرطان دو نظریه ارائه کردند، (شکل ۱-۱) نظریه ابتدایی با عنوان مدل‌های کلاسیک سرطان زایی، مدل اتفاقی[۳] می‌باشد که بیان می‌کند، تمام سلول‌ها در یک بافت سرطانی به یک اندازه بیماری زا هستند. و هر سلول به تنهایی می تواند تومور جدیدی را ایجاد کند.(شکل ۱-۱-a)

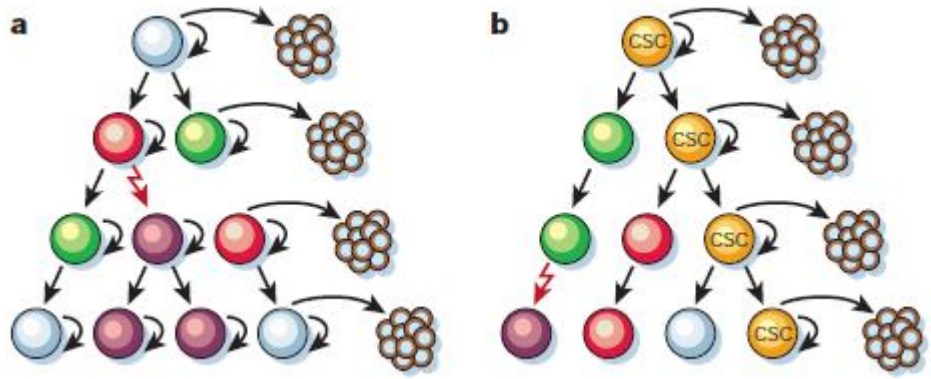
اما مدل سلول‌های بنیادی سرطان یعنی مدل هرمی[۴] دارای دو جزء متفاوت و کاملا مرتبط می‌باشد و بیان می کند، تومور از سلول‌هایی بنیادی به واسطه عدم تنظیم در مرحله خودنوزایی در بافت سالم به

---

[3] Stochastic

[4] Hierarchical model

وجود می آید. در نتیجه تومور شامل سلول‌هایی می‌باشد که ویژگی‌های سلول‌های بنیادی نرمال از جمله نوزایی را دارند که این سلول ها مسئول آغاز و پیش بردن سرطان هستند.(شکل ۱-۱-b) به غیر از سلول های بنیادی سرطان تومور دارای سلولهای عادی سرطان نیز میباشد که از تقسیم سلولهای بنیادی سرطان بوجود می آیند.[۲۷-۲۹]



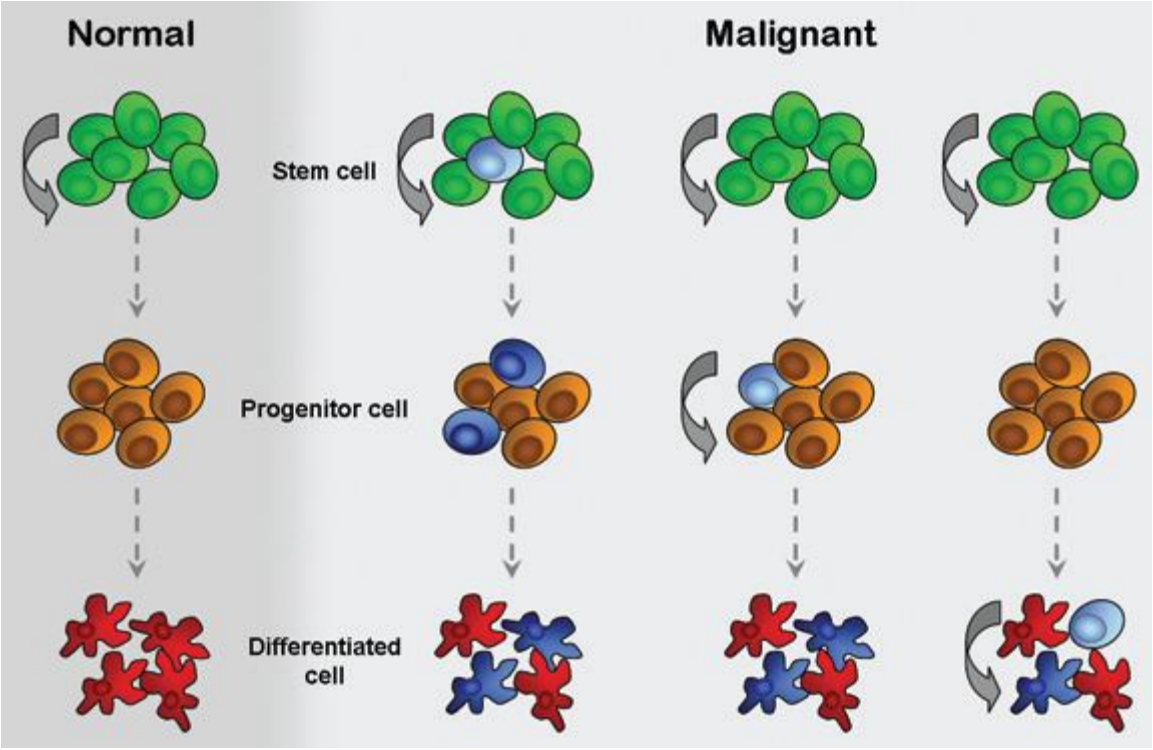
سلول های توموری هتروژن هستند ولی تنها سلول های بنیادی سرطان (Csc)

سلول های توموری هتروژن هستند ولی تمامی آنها قادر به تکثیر گسترده و ایجاد تومور جدید

شکل ۱-۱- دو مدل کلی را برای توضیح ناهمگنی تومورهای جامد نشان می دهد. a : تمام سلول های سرطانی با فنوتیپ‌های مختلف قادر به تقسیم نامحدود می باشند اما هر سلول توموری احتمال کمی برای بروز این پتانسیل در آزمایشات کلون زایی و تومورزایی دارد(مدل اتفاقی) b : اکثر سلول‌های تومورهای جامد قدرت تکثیر محدودی دارند و تنها زیرگروه کوچکی از سلول‌های سرطانی قادر به تقسیمات نامحدود در آزمایشات کلون زایی هستند و طی پیوند تومور جدید ایجاد می‌کنند.(مدل هرمی)[۲۹]

به عبارت دیگر سلول های بنیادی سرطان شبیه سلولهای بنیادی نرمال هستند، اما به علت جهش در ژن هایشان عملکرد متفاوتی از این سلول ها دارند. (شکل ۱-۲) از جمله این تفاوت ها این است که سلول-

های بنیادی طبیعی تحت تنظیم هومئوستازی شدید می‌باشند و در محیطی تحت عنوان کنام[5] کاملا محافظت می‌شوند. در حالیکه سلول‌های بنیادی سرطان تحت عومل تنظیمی قرار ندارند و از کنام سلول-های بنیادی سرطان برای تومووری شدن بافت استفاده میکنند.[29, 30]



شکل -۱-۲- سلول‌های بنیادی طبیعی در بافت ها به صورت نامتقارن تقسیم می‌شوند و سلول‌های اجدادی[6] را بوجود می‌آورد که در نهایت به سلول‌های تمایز یافته تقسیم می‌شوند. در حالت سرطانی سلولهای بنیادی پس از جهش‌های سرطان زا می‌توانند به سلول‌های بنیادی سرطانی تبدیل شوند که در نهایت سلول‌هایی را بوجود می‌آورند که با جهش در مسیر های پیام رسانی مجددا می‌توانند خصوصیات شبه بنیادینگی را کسب کنند.[۳۱]

[5] Niche

[6] progenitor