مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی، دوره ۱۳، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شاهرود

DOI: 10.22100/jkh.v13i3.1953

مقاله پژوهشی

بررسی اثر سولفورافان بر بیان ژن‌های CXCR4 و Snail در سلول‌های سرطانی پستان

مهدی باقری[۱]، مژگان فضلی[۲]، نغمه احمدیان‌کیا*[۲،۳]

۱- واحد توسعه پژوهش‌های بالینی- بیمارستان امام حسین (ع)- دانشگاه علوم پزشکی شاهرود- شاهرود- ایران.
۲- دانشکده پزشکی- دانشگاه علوم پزشکی شاهرود- شاهرود- ایران.
۳- مرکزتحقیقات پیشگیری از سرطان- دانشگاه علوم پزشکی شاهرود- شاهرود- ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۳/۱۹، **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۷/۶/۲۰

چکیده

مقدمه: *متاستاز علت اصلی مرگ و میر در اکثر بیماران مبتلابه سرطان پستان است. فاکتور رونویسی snail و مسیر پیام رسانی SDF / CXCR4-1 از مهمترین عوامل پیشرفت روند متاستاز است. بنابراین، هدف قراردادن EMT و مسیر پیام‌رسانی SDF / CXCR4-1 یک استراتژی درمانی مهم برای پیشگیری یا درمان متاستاز سرطان پستان محسوب می‌شود. ترکیبات گیاهی به‌دلیل خواص درمانی، جایگزینی مناسب برای درمان‌های معمول هستند. سولفورافان (Sulforaphane=SFN)، که ترکیبی گیاهی از خانواده ایزوتیوسیانات است و در سبزیجات یافت می‌شود، به‌دلیل خواص ضد سرطانی خود مورد توجه زیادی قرار گرفته است. بر این اساس، در این مطالعه اثر غلظت‌های مختلف SFN بر مهاجرت سلول‌های سرطانی پستان و همچنین تأثیر آن بر بیان ژن‌های snail و CXCR4 که نقش مهمی در القاء EMT و متاستاز دارند، بررسی شد.*

مواد و روش‌ها: *سلول‌های MDA-MB-231 باغلظت‌های مختلف SFN تیمار شدند. اثر SFN بر روی مهاجرت سلولی بعد از ۷۲ ساعت با استفاده از تست خراش (Scratch assay) بررسی شد. در ادامه تأثیر SFN در میزان بیان snail و CXCR4 با روش Real-time PCR مورد بررسی قرار گرفت.*

نتایج: *SFN مهاجرت سلول‌های MDA-MB-231 را به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش داد. غلظت بالای سولفورافان (40µM) باعث کاهش معنی‌دار بیان CXCR4 شد، اما تغییر معنی‌داری در میزان بیان snail در هیچ یک از غلظت‌های مورد مطالعه ایجاد نشد.*

نتیجه‌گیری: *باتوجه به نتایج به‌دست آمده سولفورافان می‌تواند به‌عنوان عاملی برای کاهش متاستاز سرطان پستان در نظر گرفته شود.*

واژه‌های کلیدی: سولفورافان، سرطان پستان، متاستاز، **CXCR4**، **snail**

***نویسنده مسئول:** شاهرود، میدان هفتم تیر، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، **تلفن:** ۰۲۳-۳۲۳۹۵۰۵۴، **نمابر:** ۰۲۳-۳۲۳۹۵۰۰۹ **Email:** Ahmadiankia@shmu.ac.ir

ارجاع: باقری مهدی، فضلی مژگان، احمدیان‌کیا نغمه. بررسی اثر سولفورافان بر بیان ژن‌های CXCR4 و Snail در سلول‌های سرطانی پستان. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۳۹۷؛۱۳(۳):۸-۱۳.

مقدمه

سرطان پستان شایع‌ترین سرطان درزنان و عامل اصلی مرگ و میر ناشی ازسرطان در بین زنان در سراسر جهان است (۱). تقریباً از هر هشت زن، یک نفر در طول زندگی خود تحت تأثیر این بیماری قرار می‌گیرد (۲). سرطان پستان ۲۳ درصد از کل موارد سرطان و ۱۴ درصد از مرگ و میر مرتبط با سرطان را به خود اختصاص می‌دهد (۳). اکثر مرگ و میرهای ناشی از سرطان پستان به علت تشکیل تومور اولیه نیست بلکه متاستاز آن به سایر بافت‌ها عامل اصلی مرگ و میر محسوب می‌شود (۴). در بین انواع مختلف سرطان، سرطان پستان بیشترین میزان متاستاز را نشان می‌دهد به‌طوری‌که بیش از ۹۰ درصد مرگ و میر در بیماران مبتلابه سرطان پستان ناشی از متاستاز می‌باشد (۵). متاستاز سلول‌های سرطانی به نقاط دور شامل چند مرحله متوالی از قبیل ورود سلول‌های توموری از بافت اولیه به عروق خونی، بقا در گردش خون، مهاجرت به ارگان‌های ثانویه و تکثیر سلول‌های سرطانی در بافت هدف می‌باشد (۶).

مطالعات اخیر نشان می‌دهد کموکاین‌ها و گیرنده‌های آن‌ها در فرآیند متاستاز نقش حیاتی دارند و بیان نابجای آنها می‌تواند منجر به سرطان شود (۷). CXCR4 (C-X-C chemokine receptor type 4) گیرنده‌ای از خانواده آلفا کموکاین‌ها می‌باشد که به‌طور اختصاصی به فاکتور مشتق از استرومال (SDF) stromal-derived-factor-1 متصل می‌شود CXCR4. به خانواده گیرنده‌های هفت بار گذرنده از غشا و جفت شده با پروتئین G(Gprotein-coupled receptor=GPCRs) تعلق دارد و در بسیاری از سلول‌های انسانی مانند سلول‌های اپیتلیالی و اندوتلیالی، فیبروبلاست‌ها و سلول‌های روده‌ای به‌طور طبیعی بیان می شود (۸). CXCR4 در سطح بافت نرمال پستان در مقادیر ناچیز بیان می‌شود اما بیان آن در سطح سلول‌های سرطانی پستان به‌طور قابل توجهی افزایش پیدا می‌کند. مطالعات قبلی نشان می‌دهد که CXCR4 در بقای سلول، تکثیر، مهاجرت و متاستاز چندین نوع سرطان از جمله سرطان پستان نقش مهمی ایفا می‌کند (۹). واکنش بین CXCR4 و لیگاند آن (SDF-۱) باعث خروج سلول‌های سرطانی از گردش خون و ورود آن‌ها به ارگان‌هایی مانند استخوان، کبد و ریه شده و در نتیجه تومورهای تهاجمی تشکیل می‌شوند (۱۰).

یکی دیگر از عوامل دخیل در متاستاز تومور، انتقال از حالت اپی تلیالی به مزانشیمی (Epithelial to mesenchymal transition=EMT) می‌باشد که در آن سلول‌های اپیتلیالی قطبیت سلولی و اتصال سلول به سلول را از دست داده و ظاهری دوکی شکل و مزانشیمی پیدا کرده وتوانایی مهاجرت وتهاجم را به‌دست می‌آورند (۱۱). یکی از صفات بارز EMT از دست دادن بیان E-cadherin است E-cadherin. یک مولکول چسبندگی سلولی وابسته به کلسیم است که در ایجاد اتصالات بین سلولی، تمایز و ساختمان بافتی نقش مهمی دارد. فقدان بیان E-Cadherin در پیشرفت تومور و تهاجم سلول‌های توموری بسیار مؤثر است (۱۲). چندین فاکتور رونویسی از قبیل Twist, ZEB1 وخانواده Snail/Slug در سرکوب رونویسی از E-cadherin نقش دارند. افزایش بیانsnail، بیان E-cadherin را سرکوب و منجر به القاء EMT در سلول‌های سرطانی پستان و متاستاز می‌شود. علاوه بر این افزایش بیان snail منجر به مقاومت سلول‌ها نسبت‌به آپوپتوز و عود مجدد تومور پستان می‌شود (۱۳).

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که می‌توان با استفاده از مهارکننده های مولکول CXCR4 مانند آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده و ایجاد اختلال در واکنش بین CXCR4 وSDF-1 از رشد و متاستاز سرطان پستان در شرایط in vitro و in vivo جلوگیری نمود (۱۴). از طرفی نقش snail در فرآیند EMT و متعاقب آن متاستاز، آن را به‌عنوان هدفی بالقوه برای جلوگیری از پیشرفت تومور مطرح می‌نماید. به‌طوری که خاموش کردن پایدار بیان snail به‌وسیله shRNA به‌طور مؤثر باعث کاهش بیان E-cadherin و جلوگیری از متاستاز تومور می‌شود (۱۵).

در حال حاضر درمان‌هایی نظیر جراحی، شیمی درمانی و پرتودرمانی برای بیماران مبتلا به سرطان پستان در دسترس هستند که این نوع درمان‌ها بسیار تهاجمی و توکسیک بوده و بر کیفیت زندگی بیماران تأثیر منفی می‌گذارند (۱۶, ۱۷). در سال‌های اخیر ترکیبات گیاهی به دلیل سمیت کم، ارزان بودن، عوارض جانبی کمتر و دسترسی راحت مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند و می‌توان به‌منظور افزایش کارآیی درمان از ترکیبات گیاهی همراه با شیمی درمانی استفاده نمود (۱۶). یکی از ترکیبات گیاهی ماده‌ای از خانواده ایزوتیوسیانات به نام Sulforaphane(SFN) می باشد که دارای فعالیت زیستی بوده و در خانواده کلم‌ها مانند کلم بروکلی و گل کلم به میزان قابل توجهی وجود دارد. در بسیاری از مطالعات، اثرات ضد تکثیری، ضد التهاب، ضد رگ زایی و ضد متاستازی SFN نشان داده شده است (۱۸ و ۱۹). با توجه به خواص ضد سرطانی SFN هدف از این مطالعه بررسی اثر غلظت‌های مختلف SFN بر مهاجرت سلولی در سلول‌های MDA-MB-231 می باشد. علاوه بر این بیان میزان بیان ژن‌های snail و CXCR4 در سلول های سرطانی پستان پس از تیمار با سولفورافان به صورت invitro مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

سلول‌های سرطانی پستان MDA-MB-231 از بانک سلولی انستیتوپاستور ایران تهیه و در محیط کشت DMEM حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاو (FBS) و آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین و استرپتومایسین (Penicillin 100 IU/ml, Streptomycin 100 µg/ml) کشت داده

شدند. سلول‌ها در انکوباتور ۳۷ °C حاوی ۵ درصد CO2 انکوبه شده و زمانی که به ۸۰ تا ۹۰ درصد تراکم رسیدند برای آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. سولفورافان (Sigma Aldrich) در DMSO حل شد و سپس غلظت‌های مورد نیاز سولفورافان (۴۰ و ۳۰، ۲۰، ۰ µM) تهیه شدندو برای تیمار سلول‌های MDA-MB-231 مورد استفاده قرار گرفتند.

تأثیر سولفورافان بر مهاجرت سلولی با استفاده از تست خراش مورد بررسی قرار گرفت. به طور خلاصه سلول‌ها در پلیت‌های کشت سلول شش خانه‌ای کشت داده شدند. زمانی که سلول‌ها تقریباً به ۹۰ درصد تراکم رسیدند به وسیله نوک سر سمپلرآبی خراشی در کف هر چاهک از پلیت شش خانه ایجاد شد و شکافی با دهانه باز با فاصله تقریبی یک میلیمتر به دست آمد. از ناحیه شکاف در زمان صفر به وسیله میکروسکوپ معکوس عکس گرفته شد. محیط کشت تعویض و غلظت های مختلف سولفورافان (۴۰ و ۳۰، ۲۰، ۰ µM) به هر خانه اضافه شد. پس از مدت زمان ۷۲ ساعت مجدداً از همان منطقه عکس برداری شد. میزان مهاجرت سلولی به درون خراش و تغییرات فاصله از طریق نرم افزار Image-J مورد بررسی قرار گرفت.

برای این منظور پس از تیمار سلول‌ها با غلظت‌های مختلف سولفورافان (۴۰ و ۳۰، ۲۰، ۰ µM) RNA کل با استفاده از محلول ترایزول (Roche,Germany) استخراج و کیفیت و کمیت RNA استخراج شده با استفاده از ژل الکتروفورز و اسپکتروفتومتری سنجیده شد. برای حذف هر گونه آلودگی به DNA ژنومی، RNA کل با استفاده از DNase I (Fermentase, USA) خالص گردید.

به‌منظور سنتز cDNA، یک میکروگرم RNA کل به عنوان الگو با یک میکرولیتر OligodT مخلوط و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵ °C انکوبه شد. نمونه‌ها بر روی یخ سرد شدند. سپس ۴ میکرولیتر بافر ۵X، ۲میکرولیتر dNTPs (10 mM)، نیم میکرولیتر ریبولاک و یک میکرولیتر M-MLV-Rtase به هر کدام از ویال‌ها اضافه شد و برای مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲°C و ده دقیقه در دمای ۷۲°C انکوبه شدند cDNA سنتز شده به نسبت ۱به۴رقیق ودو میکرولیتر ازآن برای real-time PCR مورد استفاده قرار گرفت.

جهت بررسی اثر سولفورافان برمیزان بیان CXCR4 و snail در سطح mRNA از تکنیک real-time PCR استفاده شد. دو میکرولیتر از cDNA سنتز شده همراه با ۲×۱۰ میکرولیتر SYBR Green PCRMastermix (Parstous, Iran) و یک میکرولیتر از پرایمر اختصاصی هر ژن مخلوط و سپس حجم واکنش به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد.ژن GAPDH نیز به عنوان کنترل داخلی مورد استفاده قرار گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ نشان داده شده است. برای تکثیر رونوشت ژن، واکنش real-time PCR به‌صورت واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۵°C به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد وسپس ۴۰ سیکل در برنامه دمایی ۹۵°C به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰°C به مدت ۳۰ ثانیه و۷۲°C به مدت ۳۰ ثانیه، انجام شد. بیان نسبی mRNA در هر نمونه با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ مورد ارزیابی قرار گرفت. برای اطمینان از تکثیر اختصاصی محصولات PCR، منحنی ذوب در بازه دمایی ۶۰ تا ۹۵ درجه سانتی‌گراد رسم شد.

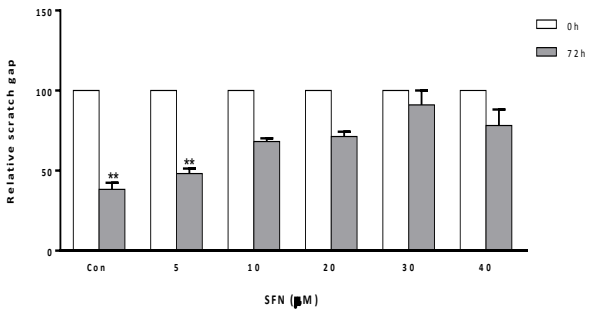
جدول ۱- توالی پرایمر مورد استفاده در تکنیک real-time PCR

Primers	Sequence	Product size
GAPDH	F: AAGGTGAAGGTCGGAGTCAAC R: GGGGTCATTGATGGCAACAATA	237 bp
Snail	F: CATGGGGGTCTGAAAGCTTGG R:TACCGCTGCTCCATTCCACG	185bp
CXCR4	F: TCGATGCTGATCCCAATGTA R: CTGCAAGCTGTCACACTCCA	117 bp

برای بررسی معنی‌داری تغییر بیان ژن CXCR4 و snail از نرم‌افزار Prism (Graph Pad Prism version 6.0) و به‌منظور ارزیابی تفاوت بین گروه‌ها آنالیز واریانس ANOVA استفاده شد.

نتایج

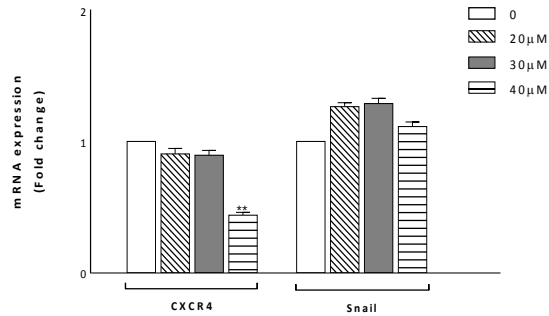
به منظور بررسی تأثیر SFN برتوانایی متاستاز سلولی، ظرفیت مهاجرت سلولی با استفاده ازتست خراش مورد بررسی قرار گرفت. سلول های تک لایه و متراکم MDA-MB-231 همان‌طور که در بالا توضیح داده شد خراش داده شدند. سپس سلول‌ها به مدت ۷۲ ساعت با غلظت های مختلف سولفورافان (۴۰ و ۳۰، ۲۰ ، ۱۰ ،۵ ،۰ µM) تیمار و میزان مهاجرت سلولی به درون خراش و تغییرات فاصله از طریق نرم افزار Image-J مورد بررسی قرار گرفت. (نمودار شماره ۱) نتایج ما نشان دادند که تیمار با سولفورافان در غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میکرو مولار به مدت ۷۲ ساعت به میزان معنی‌داری مهاجرت سلول‌های MDA-MB-231 را کاهش می‌دهد.



نمودار ۱- تأثیر سولفورافان بر مهاجرت سلولی در تست خراش.

سولفورافان به‌صورت معنی‌داری مهاجرت سلولی را در غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میکرو مولار مهار کرد. تفاوت معنی‌دار به‌صورت P<۰/۰۱ ** نمایش داده می‌شود. تفاوت در هر گروه نسبت‌به ساعت ۰ سنجیده می‌شود.

به‌منظور بررسی اثر سولفورافان درمیزان بیان ژن‌های درگیر در فرآیند متاستاز مانند CXCR4 و snail، تکنیک Real time PCR مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه حاضر، سلول‌های MDA-MB231 با غلظت‌های مختلف سولفورافان (μM ۴۰ و ۳۰، ۲۰، ۰) در مدت زمان ۷۲ ساعت تیمار و Total RNA جمع‌آوری شد. نتایج نشان داد که تیمار با سولفورافان در غلظت۴۰ میکرومولار به مدت ۷۲ ساعت میزان بیان CXCR4 را به‌طور معناداری کاهش می‌دهد. با وجود این سولفورافان تغییر معنی‌داری در بیان ژن snail ایجاد نکرد (نمودار ۲).



نمودار ۲- تأثیر سولفورافان درمیزان بیان ژن‌های خاص درگیر در فرآیند متاستاز.

سولفورافان در غلظت۴۰ میکرومولار به مدت ۷۲ ساعت میزان بیان CXCR4 را به‌طور معناداری کاهش داد ولی بر روی بیان ژن snail تأثیر معناداری نداشت. تفاوت معنی‌دار به صورت ** P<۰/۰۱ نمایش داده می‌شود. تفاوت در هر گروه نسبت‌به غلظت ۰ سنجیده می شود.

بحث

علت اصلی مرگ و میر در اکثر بیماران مبتلابه سرطان پستان متاستاز به سایر بافت‌ها می‌باشد (۴). متأسفانه، درمان‌های فعلی در درمان متاستاز و عود مجدد سرطان پستان ناکارآمد بوده و عوارض جانبی جدی ایجاد می‌نمایند (۱۷). اخیراً محققان از ترکیبات گیاهی به‌دلیل طیف وسیعی از فعالیت‌های بیولوژیکی، دارویی و درمانی به‌عنوان یک منبع جدید برای توسعه داروهای ضدسرطان استفاده می‌کنند. در طی سالیان اخیر یک ترکیب ایزوتیوسیانات طبیعی به‌دست آمده از کلم بروکلی به نام سولفورافان مورد توجه زیادی قرار گرفته است (۱۸, ۱۹). سولفورافان از رشد سلول‌های تومور و متاستاز در بسیاری از سرطان‌ها از جمله سرطان ریه (۲۰)، پروستات (۲۱) و مثانه (۲۲) جلوگیری می‌کند. مطالعات فراوانی بر روی مکانیسم‌های مولکولی ضدمتاستازی سولفورافان صورت گرفته است. سولفورافان با تنظیم مسیرهای پیام‌رسان سلولی از جمله مسیر NF-Kbal(23)، مسیر Keap1–Nrf2(24) و مسیر وابسته به ROS عمل می‌کند (۲۵). با این وجود به منظور درک مکانیسم‌های مولکولی که سولفورافان از طریق آن متاستاز را مهار می‌کند باید مطالعات بیشتری صورت گیرد. در طی سالیان اخیر مطالعات متعددی بر روی نقش مسیر پیام‌رسان SDF-1/CXCR4 صورت گرفته است. بیان CXCR4 در بیش از ۲۳ نوع مختلف از سرطان‌های انسانی از جمله کلیه، ریه، مغز، پروستات، پستان، پانکراس، تخمدان و ملانوما افزایش یافته و منجر به رشد تومور، رگ‌زایی، متاستاز و مقاومت در برابر درمان می‌شود (۲۶). با توجه به نقش مهم CXCR4 در فرآیند متاستاز، آنتاگونیست CXCR4 می‌تواند به عنوان عاملی امیدوار کننده برای پیشگیری و درمان متاستاز سرطان پستان مطرح باشد. امروزه تعدادی از مهارکننده‌های CXCR4 به دست آمده از محصولات گیاهی نیز گزارش شده است. به عنوان مثال کیم و پارک با مطالعه بر روی سلول‌های سرطان پستان و دهانه رحم نشان دادند که baohuoside I که ترکیبی از خانواده Epimediumkoreanum می‌باشد، میزان بیان CXCR4 را به صورت وابسته‌به دوز و زمان کاهش داده و نقش مهمی در سرکوب متاستاز سرطان پستان و سرطان دهانه رحم دارد (۲۷). در مطالعه صورت گرفته توسط چن و همکاران، تیمار سلول‌های MDA-MB-231 با ترکیبی مشتق از خانواده جنسینگ به نام Rg3، مهاجرت و تهاجم سلول‌های سرطانی پستان را از طریق کاهش میزان بیان CXCR4، مهار کرد (۲۸). باتوجه به خواص ضد سرطانی سولفورافان، در مطالعه حاضر اثر سولفورافان بر روی متاستاز و همچنین میزان بیان CXCR4 که در فرآیند متاستاز نقش مهمی دارد مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج ما نشان داد که تیمار با سولفورافان به طور قابل توجهی مهاجرت سلول‌های MDA-MB-231 و همچنین بیان ژن CXCR4 را مهار می‌کند. با توجه به نتایج به دست آمده مهار CXCR4 به وسیله سولفورافان می تواند به‌عنوان عاملی امیدوار کننده برای کاهش متاستاز در سرطان پستان مطرح شود. با این حال باید این نکته را در نظر داشت که CXCR4 نقش مهمی در جنین زایی و سیر تکاملی سیستم قلب و عروق و سیستم عصبی مرکزی ایفا می‌کند بنابراین در مهار این مسیر پیام‌رسان در انسان باید احتیاط صورت گیرد (۲۹).

در طی سالیان اخیر فاکتور رونویسی snail به دلیل نقش آن در کاهش بیان E-Cadherin والقاء EMT به عنوان یک واسطه مهم در تهاجم تومور مطرح بوده و این عملکرد snail باعث شده است که به عنوان یک هدف درمانی برای جلوگیری از پیشرفت تومور مورد توجه قرار گیرد (۱۵). لیو و همکاران نشان دادند که می‌توان با مهار بیان ژن snail در سلول‌های HepG2 از پیشرفت و متاستاز سلول‌های سرطانی کبد پیشگیری نمود (۳۰). از طرفی چن و همکاران در مطالعه ای نشان دادند که می‌توان با استفاده از یک نوع فنل طبیعی به نام 3,6-dihydroxyflavone که به وسیله چندین نوع میوه از جمله انگور وتمشک تولید می‌شود القاء EMT را در سلول‌های MDA-MB-231 و MCF-7 از طریق کاهش بیان snail و E-cadherin مهار نمود (۳۱). بر این اساس، در این مطالعه اثر سولفورافان بر روی میزان بیان snail مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج ما نشان داد که تیمار با سولفورافان در میزان بیان snail تأثیر معناداری نداشته و ممکن است سولفورافان از

طریق مسیرهای پیام‌رسان دیگری از جمله مسیر SDFCXCR4/ ۱- متاستاز سلول‌های MDA-MB-231 را مهار نماید.

نتایج این مطالعه نشان داد که SFN مهاجرت سلول‌های MDA-MB-231 را به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش داد. غلظت بالای سولفورافان (40µM) باعث کاهش معنی‌دار بیان CXCR4 شد، اما تغییر معنی‌داری در میزان بیان snail در هیچ یک از غلظت‌های مورد مطالعه ایجاد نشد. البته به‌منظور درک خواص ضد متاستازی سولفورافان مطالعات بیشتری لازم است. با این حال نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که سولفورافان می‌تواند به لیست گزینه‌های درمانی فرم تهاجمی سرطان پستان اضافه گردد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مادی حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شاهرود انجام یافته است. بدین وسیله از زحمات عزیزان در این حوزه تقدیر و تشکر به‌عمل می‌آید.

References

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. Int J Cancer 2015;136:E359-86. doi:10.1002/ijc.29210
2. DeSantis C, Ma J, Bryan L, Jemal A. Breast cancer statistics, 2013. CA Cancer J Clin 2014;64:52-62. doi:10.3322/caac.21203
3. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin 2011;61:69-90. doi:10.3322/caac.20107
4. Tevaarwerk AJ, Gray RJ, Schneider BP, Smith ML, Wagner LI, Fetting JH, et al. Survival in patients with metastatic recurrent breast cancer after adjuvant chemotherapy: little evidence of improvement over the past 30 years. Cancer 2013;119:1140-8. doi:10.1002/cncr.27819
5. Chakrabarti R1, Hwang J, Andres Blanco M, Wei Y, Lukačišin M, Romano RA, et al. Elf5 inhibits the epithelial–mesenchymal transition in mammary gland development and breast cancer metastasis by transcriptionally repressing Snail2. Nat Cell Biol 2012;14:1212-22. doi:10.1038/ncb2607
6. Chambers AF, Groom AC, MacDonald IC. Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites. Nat Rev Cancer 2002;2:563-72. doi:10.1038/nrc865
7. Xu C, Zhao H, Chen H, Yao Q. CXCR4 in breast cancer: oncogenic role and therapeutic targeting. Drug Des Devel Ther 2015;9:4953-64. doi:10.2147/DDDT.S84932
8. Salvucci O, Yao L, Villalba S, Sajewicz A, Pittaluga S, Tosato G. Regulation of endothelial cell branching morphogenesis by endogenous chemokine stromal-derived factor-1. Blood 2002;99:2703-11.
9. Dewan MZ, Ahmed S, Iwasaki Y, Ohba K, Toi M, Yamamoto N. Stromal cell-derived factor-1 and CXCR4 receptor interaction in tumor growth and metastasis of breast cancer. Biomed Pharmacother 2006;60:273-6. doi:10.1016/j.biopha.2006.06.004
10. Müller A, Homey B, Soto H, Ge N, Catron D, Buchanan ME, et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. Nature 2001;410:50-6. doi:10.1038/35065016
11. Radisky DC. Epithelial-mesenchymal transition. J Cell Sci 2005;118:4325-6. doi:10.1242/jcs.02552
12. Thiery JP. Epithelial–mesenchymal transitions in tumour progression. Nat Rev Cancer 2002;2:442-54. doi:10.1038/nrc822
13. Blanco MJ, Moreno-Bueno G, Sarrio D, Locascio A, Cano A, Palacios J, et al. Correlation of Snail expression with histological grade and lymph node status in breast carcinomas. Oncogene 2002;21:3241-6. doi:10.1038/sj.onc.1205416
14. Darash-Yahana M, Pikarsky E, Abramovitch R, Zeira E, Pal B, Karplus R, et al. Role of high expression levels of CXCR4 in tumor growth, vascularization, and metastasis. FASEB J 2004;18:1240-2. doi:10.1096/fj.03-0935fje
15. Olmeda D, Jorda M, Peinado H, Fabra A, Cano A. Snail silencing effectively suppresses tumour growth and invasiveness. Oncogene 2007;26:1862-74. doi:10.1038/sj.onc.1209997
16. Coseri S. Natural products and their analogues as efficient anticancer drugs. Mini Rev Med Chem 2009;9:560-71.
17. Luo J, Solimini NL, Elledge SJ. Principles of cancer therapy: oncogene and non-oncogene addiction. Cell 2009;136:823-37. doi:10.1016/j.cell.2009.02.024
18. Kensler TW, Egner PA, Agyeman AS, Visvanathan K, Groopman JD, Chen JG, et al. Keap1-nrf2 signaling: a target for cancer prevention by sulforaphane. Top Curr Chem 2013;329:163-77. doi:10.1007/128_2012_339
19. Lenzi M, Fimognari C, Hrelia P. Sulforaphane as a promising molecule for fighting cancer. Cancer Treat Res 2014;159:207-23. doi:10.1007/978-3-642-38007-5_12
20. Di Pasqua AJ, Hong C, Wu MY, McCracken E, Wang X, Mi L, et al. Sensitization of non-small cell lung cancer cells to cisplatin by naturally occurring isothiocyanates. Chem Res Toxicol 2010;23:1307-9. doi:10.1021/tx100187f
21. Vyas AR, Singh SV. Functional relevance of D, L-sulforaphane-mediated induction of vimentin and plasminogen activator inhibitor-1 in human prostate cancer cells. Eur J Nutr 2014;53:843-52. doi:10.1007/s00394-013-0588-5
22. Tang L, Zirpoli GR, Guru K, Moysich KB, Zhang Y, Ambrosone CB, et al. Consumption of raw cruciferous vegetables is inversely associated with bladder cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2008;17:938-44. doi:10.1158/1055-9965.EPI-07-2502
23. Li W, Khor TO, Xu C, Shen G, Jeong WS, Yu S, et al. Activation of Nrf2-antioxidant signaling attenuates NFκB-inflammatory response and elicits apoptosis. Biochem Pharmacol 2008;76:1485-9. doi:10.1016/j.bcp.2008.07.017
24. Kensler TW, Egner PA, Agyeman AS, Visvanathan K, Groopman JD, Chen JG, et al. Keap1–nrf2 signaling: a target for cancer prevention by sulforaphane. Top Curr Chem 2013;329:163-77. doi:10.1007/128_2012_339
25. Wang L, Tian Z, Yang Q, Li H, Guan H, Shi B, et al. Sulforaphane inhibits thyroid cancer cell growth and invasiveness through the reactive oxygen species-dependent pathway. Oncotarget 2015;6:25917-31. doi:10.18632/oncotarget.4542
26. Balkwill F. Cancer and the chemokine network. Nat Rev Cancer 2004;4:540-50. doi:10.1038/nrc1388
27. Kim B, Park B. Baohuoside I suppresses invasion of cervical and breast cancer cells through the downregulation of CXCR4 chemokine receptor expression. Biochemistry 2014;53:7562-9. doi:10.1021/bi5011927
28. Chen XP, Qian LL, Jiang H, Chen JH. Ginsenoside Rg3 inhibits CXCR 4 expression and related migrations in a breast cancer cell line. Int J Clin Oncol 2011;16:519-23. doi:10.1007/s10147-011-0222-6
29. Hirbe AC, Morgan EA, Weilbaecher KN. The CXCR4/SDF-1 chemokine axis: a potential therapeutic target for bone metastases? Curr Pharm Des 2010;16:1284-90.
30. Hu CT, Wu JR, Chang TY, Cheng CC, Wu WS. The transcriptional factor Snail simultaneously triggers cell cycle arrest and migration of human hepatoma HepG2. J Biomed Sci 2008;15:343-55. doi:10.1007/s11373-007-9230-y
31. Chen J, Chang H, Peng X, Gu Y, Yi L, Zhang Q, et al. 3, 6-dihydroxyflavone suppresses the epithelial-mesenchymal transition in breast cancer cells by inhibiting the Notch signaling pathway. Sci Rep 2016;6:28858. doi:10.1038/srep28858

Journal of Knowledge & Health
in Basic Medical Sciences 2018; Vol 13, No 3

DOI: 10.22100/jkh.v13i3.1953

Original Article

Study the Effect of Sulforaphane on the Expression of CXCR4 and Snail in Breast Cancer Cells

Mehdi Bagheri (M.Sc.)[1], Mozhgan Fazli (M.Sc.)[2], Naghmeh Ahmadiankia (Ph.D.)[2,3*]

1- Imam Hossein Center for Education, Research and Treatment, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.
2- School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.
3- Cancer Prevention Research Center, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

Received: 9 June 2018**, Accepted:** 11 September 2018

Abstract:

Introduction*: Metastasis is known to be the primary cause of death in the majority of breast cancer patients. The transcription factor of snail and the signaling pathway of CXCR4/SDF1are one of the most important factors in the process of metastasis. Thus, targeting EMT and CXCR4/SDF1 pathway represents an important therapeutic strategy for preventing or treating breast cancer metastasis. Natural products due to their therapeutic activities constitute a common alternative for conventional treatments. Sulforaphane (SFN), an isothiocyanate found in cruciferous vegetables, exhibits anticancer properties. Accordingly, the aim of this study was to evaluate the effects of various concentrations of SFN on cell migration in breast cancer cells and also the expression of CXCR4 and snail which are important in EMT induction and metastasis.*
Methods: *MDA-MB-231 cells were treated with different concentrations of SFN. The effect of SFN on cell migration was evaluated using scratch assay, after 72 hours. Next, the effect of SFN on the expression of CXCR4 and snail were examined by real-time PCR.*
Results: *SFN significantly retarded the migration of MDA-MB-231 cells. High concentrations of SFN (40µM), reduced the expression of CXCR4; however, There was no significant changes in the expression of snail in none of studied concentrations.*
Conclusion: *According to the obtained results, SFN can be considered as a potential therapeutic agent to decrease breast cancer metastasis.*

Keywords: Sulforaphane, Breast cancer, Metastasis,CXCR4, Snail.

Conflict of Interest: No

***Corresponding author:** N. Ahmadiankia, **Email**: Ahmadiankia@shmu.ac.ir*

Citation: Bagheri M, Fazli M, Ahmadiankia N. Study the effect of sulforaphane on the expression of CXCR4 and snail in breast cancer cells. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2018;13(3):8-13.