



Evaluation of cytotoxic effects of condition medium from amniotic epithelial cells on cancer cell lines HeLa and MDA-MB-231

Hassan Niknejad*, Mahsa Khayat-khoei, Ghasem Yazdanpanah, Habibollah Peirovi

Nanomedicine and Tissue Engineering Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 31 Dec 2012

Accepted: 8 June 2013

Abstract

Introduction: Amniotic membrane, the innermost layer of extra-embryonic tissue, contains mesenchymal and epithelial stem cells. The amniotic mesenchymal cells have the capability of inhibition of growth of cancer cells. In this research, the effects of amniotic epithelial cells on the viability of cancer cells and the role of apoptosis in this procedure were evaluated.

Methods: Amniotic membrane derived epithelial cells were cultured for 24 hours and their supernatant was added to the culture of cancer cells (HeLa and MDA-MB-231) in volumes of 200, 400, 600 and 800 μ l. Viability of cancer cell lines were measured by MTT assay after 24 hours. Also, the expression of caspase 3 and 8 (pro apoptotic proteins) was evaluated with immunocytochemistry. Analysis of data was performed using one-way analysis and post-Tukey test in ANOVA.

Results: Viability of cancer cells were significantly decreased after culture with condition medium of amniotic epithelial cells in comparison to the control group. This decrease was dose-dependent and more significant at higher doses (600 and 800 μ l). The expression of caspase-3 and caspase-8 was dose-dependently increased in cancer cells.

Conclusion: The promising results of this study showed that amniotic epithelial cells have the capability to be investigated as a proper candidate for cancer therapy.

Key words: Amniotic epithelial cells, Viability, Apoptosis, Cancer cells

* Corresponding author e-mail: niknejad@sbmu.ac.ir
Available online at: www.phypha.ir/ppj

بررسی اثرات سایتوتوکسیک محیط کشت حاصل از سلول های اپی تللیال آمنیوتیک بر سلول های سرطانی HeLa و سلول های سرطان پستان

MDA-MB-231

حسن نیک نژاد*، مهسا خیاط خوبی، قاسم یزدان پناه، حبیب‌الله پیروی
مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی پزشکی و مهندسی بافت، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

پذیرش: ۱۸ خرداد ۹۲

دریافت: ۱۱ دی ۹۱

چکیده

مقدمه: پرده‌ی آمنیون، داخلی‌ترین لایه خارج جنینی، دارای دو نوع سلول شامل سلول های مزانشیمی و اپی تللیالی می‌باشد. توانایی سلول های مزانشیمی پرده آمنیون در مهار سرطان گزارش شده است. در این مطالعه تأثیر سلول های اپی تللیال آمنیوتیک بر روی زیست پذیری سلول های سرطانی و نقش آپوپتوز در این روند مورد ارزیابی قرار گرفته است.

روش‌ها: سلول های اپی تللیال حاصل از پرده آمنیون به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند. سپس محیط کشت روی آنها برداشته شد و در حجم‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرولیتر به کشت سلول های سرطانی (HeLa و MDA-MB-231) اضافه شد. درصد زیست پذیری سلول های سرطانی پس از ۲۴ ساعت با آزمون MTT به دست آمد. هم چنین رنگ آمیزی اختصاصی پروتئین های caspase 3 و ۸ و وسیله‌ی ایمنوسیتوشیمی در سلول های سرطانی صورت گرفت. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه و با آزمون ANOVA یکطرفه بررسی شد.

یافته‌ها: زیست پذیری سلول های سرطانی پس از ۲۴ ساعت کشت با محیط روی سلول های اپی تللیال آمنیوتیک، به صورت وابسته به دوز کاهش یافته بود و در دوز های بالاتر (۶۰۰ و ۸۰۰ میکرولیتر) کاهش بیشتری داشت. میزان بیان پروتئین های Caspase 3 و ۸ در سلول های سرطانی نیز به صورت وابسته به دوز افزایش یافت. **نتیجه گیری:** نتایج نوید بخش حاصل از این مطالعه نشان داد که سلول های اپی تللیال آمنیوتیک می‌توانند از طریق القاء آپوپتوز بعنوان یک انتخاب در درمان سرطان مدنظر قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: سلول های اپی تللیال آمنیوتیک، زنده ماندن، آپوپتوز، سلول های سرطانی

مقدمه

موفقیت بالایی برخوردار نیستند [۴، ۱۹]. اخیراً با کشف سلول های بنیادی و مشخص شدن نقش مهم آنها در سرطان [۱، ۴]، زمینه های جدیدی برای درمان این بیماری مطرح شده است که شامل پیوند سلول های بنیادی [۸]، از بین بردن سلول های بنیادی سرطانی [۴، ۱۶] و ژن درمانی با استفاده از سلول های بنیادی [۲، ۲۰] می‌باشد.

یک منبع در دسترس و بدون مشکلات اخلاقی برای سلول های بنیادی، پرده‌ی آمنیون می‌باشد. این بافت که یکی از لایه های تشکیل دهنده‌ی جفت است، نزدیک‌ترین لایه به

سرطان یکی از کشنده‌ترین بیماری‌های بدخیم در سراسر دنیا می‌باشد که باعث مرگ و میر و ناتوانی عده‌ی زیادی از بیماران می‌شود [۲۲]. درمان های کنونی سرطان بر پایه‌ی شیمی درمانی، رادیودرمانی و جراحی می‌باشد که همیشه از

niknejad@sbm.ac.ir

www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

مواد و روش ها

با موافقت و تایید کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، بافت جفت از بیمارستان عرفان تهران تهیه شد. بارداری مادران طبیعی بوده و زایمان از طریق سزارین انتخابی انجام شد. جفت‌های حاصل از زایمان مادران با هفته‌های بارداری ۳۶-۳۸ هفته و منفی از نظر HIV، هپاتیت B و C، و سفلیس وارد مطالعه شدند. با اینکه بافت جفت پس از زایمان دور انداخته می‌شود، رضایت کامل و آگاهانه از خانواده‌ها گرفته شد.

بلافاصله پس از زایمان، بافت جفت به صورت استریل و در دمای ۴ درجه‌ی سانتیگراد به آزمایشگاه منتقل شد. پس از جداسازی پرده‌ی آمنیون از کوریون، چندین بار توسط بافر فسفات سالین سرد، برای از بین بردن خون روی آن، شستشو داده شد و از آن برای مراحل بعد استفاده شد. برای جداسازی سلول‌های اپی تلیال آمنیوتیک، از هضم آنزیمی به وسیله‌ی محلول آنزیمی تریپسین-EDTA ۰/۱۵٪ استفاده شد [۱۰]. به طور خلاصه پرده‌ی آمنیون جدا شده به قطعات کوچک تقسیم شد و طی سه مرحله به مدت‌های (به ترتیب) ۱۵، ۴۰ و ۴۰ دقیقه در محلول آنزیمی قرار داده شد. سلول‌های حاصل از مرحله‌ی دوم و سوم هضم آنزیمی در محیط کشت DMEM (Sigma-Aldrich) حاوی ۱۰٪ FBS (Sigma-Aldrich) و ۱٪ پنی‌سیلین-استرپتومایسین در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و دی‌اکسید کربن ۵٪ کشت داده شدند.

برای بررسی تأثیرات مواد محلول ترشح شده از سلول‌های اپی تلیال آمنیوتیک بر روی میزان زنده بودن و تکثیر سلول‌های سرطانی، از دو لاین سلول سرطانی شامل سلول‌های سرطانی HeLa و سلول‌های سرطانی پستان (MDA-MB-231) استفاده شد. این سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت در پلیت‌های ۲۴ خانه در محیط RPMI (Chemicon) به همراه ۱۰٪ FBS و ۱٪ پنی‌سیلین-استرپتومایسین، در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و دی‌اکسید کربن ۵٪ کشت داده شدند.

پس از ۲۴ ساعت از کشت سلول‌های اپی تلیال آمنیوتیک، محیط کشت روی سلول‌ها جمع‌آوری شد و به وسیله‌ی فیلتر ۰/۲۲ میکرون، برای حذف سلول‌های احتمالی، فیلتر شد.

چنین بوده که به کوریون متصل می‌باشد. پرده‌ی آمنیون از سمت جنین، به ترتیب شامل یک لایه‌ی سلول‌های اپی تلیال آمنیوتیک، یک غشای پایه و یک استروما حاوی سلول‌های بنیادی مزانشیمی، می‌باشد [۱۳]. سلول‌های اپی تلیال و سلول‌های مزانشیمی آمنیوتیک که به راحتی می‌توان آنها را از پرده‌ی آمنیون به دست آورد، دارای خواص سلول‌های بنیادی هستند [۱۴] که آنها را انتخاب مناسبی برای استفاده‌های کلینیکی کرده است.

گزارشاتی وجود دارد مبنی بر اینکه پرده‌ی آمنیون می‌تواند با ترشح مواد محلول باعث القای آپوپتوز در نوتروفیل‌ها [۲۴] و ماکروفاژها [۵] شود. بر همین اساس فرضیه‌هایی در خصوص وجود خواص ضد سرطانی پرده‌ی آمنیون منتشر شده است [۹، ۱۸]. آپوپتوز، مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلول است که علاوه بر اهمیت در رشد و نمو، کمترین تخریب را بر روی بافت اطراف خود دارد [۲۱].

خواص ضد سرطانی سلول‌های بنیادی در مطالعات گوناگونی نشان داده شده است؛ به طوری که توانایی سلول‌های بنیادی مزانشیمی به دست آمده از منابع مختلف از جمله مغز استخوان [۱۷]، بند ناف [۲۳] و پرده‌ی آمنیون [۳، ۷] در مهار تکثیر و القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی نشان داده شده است. هم چنین مفید بودن استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی در سرطان ریه دیده شده است [۲۲].

سلول‌های اپی تلیال پرده‌ی آمنیون سلول‌های پرتوانی [۱۰، ۱۲] هستند که با دارا بودن خواص سلول‌های بنیادی پتانسیل بالقوه‌ای برای استفاده در کلینیک دارند. این سلول‌ها، مواد بسیاری را از خود ترشح می‌کنند که توانایی تأثیر گذاری بر روی مکانیسم‌های دخیل در رشد و متاستاز تومور از جمله آنژیوژنز را دارند [۹]. این سلول‌ها سیستم ایمنی را تنظیم می‌کنند [۱، ۶] و خواص ضد میکروبی، ضد التهابی و ضد فیبروزی دارند [۱۳]. همچنین در مورد مکانیسم تأثیر ضد سرطانی سلول‌های بنیادی بزرگسال، اختلاف نظر وجود دارد. القای آپوپتوز توسط این سلول‌ها به عنوان یکی از اصلی‌ترین عوامل این تأثیر مطرح است. این مطالعه با هدف بررسی تأثیرات مواد ترشحاتی از سلول‌های اپی تلیال آمنیوتیک بر روی سلول‌های سرطانی و نقش آپوپتوز در اعمال خواص ضد سرطانی این سلول‌ها طراحی شده است.

نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میزان زیست‌پذیری سلول‌های سرطانی به صورت معناداری پس از تیمار با محیط کشت روی سلول‌های اپی‌تلیال آمینوتیک کاهش یافت و این کاهش وابسته به دوز بود. تیمار سلول‌های HeLa با ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرولیتر از محیط کشت روی سلول‌های اپی‌تلیال آمینوتیک باعث ایجاد تفاوت معناداری در کاهش زنده بودن آنها در مقایسه با گروه کنترل شد (۶۰۰ میکرولیتر در مقایسه با کنترل، $P < 0.05$ و ۸۰۰ میکرولیتر در مقایسه با کنترل، $P < 0.01$). در حالی که کاهش در میزان زیست‌پذیری سلول‌های HeLa، زمانی که با ۲۰۰ میکرولیتر از محیط کشت روی سلول‌های اپی‌تلیال آمینوتیک تیمار شده بودند در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار نبود. دوزهای بالاتر محیط کشت روی سلول‌های اپی‌تلیال آمینوتیک، به صورت معناداری تأثیر قوی‌تری بر میزان زنده بودن سلول‌های سرطانی داشتند (شکل ۱، A).

در سلول‌های سرطان پستان (MDA-MB-231)، تفاوت معنادار بین گروه کنترل و هر کدام از گروه‌های مداخله دیده شد. حتی ۲۰۰ میکرولیتر از محیط روی سلول‌های اپی‌تلیال آمینوتیک نیز تأثیر معنادار آماری بر روی زیست‌پذیری سلول‌های سرطانی پستان داشت (۲۰۰ میکرولیتر در مقایسه با گروه کنترل، $P < 0.05$) (شکل ۱، B).

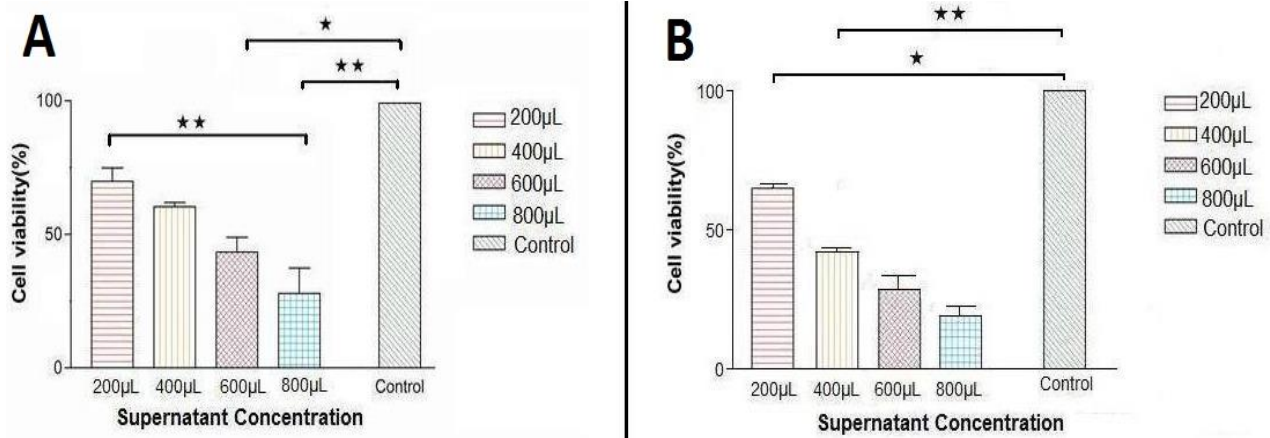
برای بررسی مکانیسمی که به وسیله‌ی آن سلول‌های اپی‌تلیال آمینوتیک، میزان زیست‌پذیری سلول‌های سرطانی را کاهش می‌دهند، ایمونوسایتوشیمی بر روی سلول‌های سرطانی که با محیط کشت روی این سلول‌ها برای مدت ۲۴ ساعت تیمار شده بودند، انجام شد. در این روش مارکرهاي caspase 3 و 8 با استفاده از آنتی‌بادی‌های اختصاصی بررسی شدند (شکل ۲، A و B). در هر میدان دید (۸ میدان/چاهک، ۱۲ چاهک/گروه)، تعداد سلول‌های سرطانی مثبت برای caspase-3 و caspase-8 محاسبه شدند و بین گروه‌های تیمار شده با دوز پایین (۲۰۰ میکرولیتر) و دوز بالای (۸۰۰ میکرولیتر) محیط کشت رویی سلول‌های اپی‌تلیال آمینوتیک، مقایسه شدند.

سپس محیط کشت فیلتر شده به سلول‌های سرطانی که قبلاً کشت داده شده بودند، اضافه شد. برای بررسی تأثیر دوز محیط کشت سلول‌های اپی‌تلیال بر روی سلول‌های سرطانی، این محیط در حجم‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرولیتر به چاهک‌های پلیت ۲۴ خانه‌ی سلول‌های سرطانی اضافه شد. میزان زنده بودن (viability) سلول‌های سرطانی پس از ۲۴ ساعت با آزمون MTT بررسی شد.

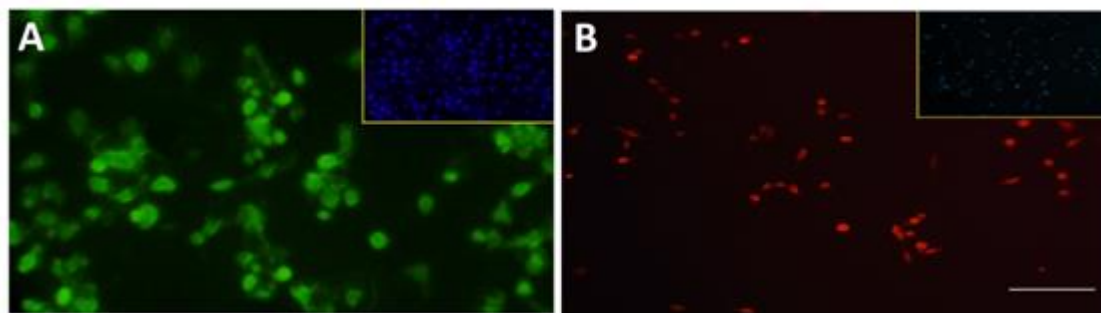
بدین صورت که محلول $MTT \ 0.5\%$ (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) پس از استریل شدن به وسیله‌ی فیلتر کردن، به محیط سلول‌های سرطانی اضافه شد. سپس پلیت‌های کشت سلول به مدت ۴ ساعت در محیط ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از آن، کریستال‌های فورمازان در DMSO حل شدند. سپس میزان جذب نوری فورمازان حل شده در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر (CE 7500, Cecil, UK) اندازه‌گیری شد.

ایمونوسایتوشیمی برای ارزیابی بیان مارکرهای آپوپتوتیک Caspase 3 و Caspase 8 در سلول‌های سرطانی کشت داده شده با محیط روی سلول‌های اپی‌تلیال آمینوتیک صورت گرفت. سلول‌ها در دمای اتاق با پارافرمالدهید ۴٪ به مدت ۱۰ دقیقه فیکس شدند. پس از شستشو با PBS سلول‌ها با سرم ۱۰٪ (Goat serum, Chemicon) و Triton-X100 (۰.۱٪) به مدت ۱ ساعت انکوبه شدند. سپس سلول‌ها با آنتی‌بادی‌های اولیه‌ی 3 anti-caspase (Sigma-Aldrich, 1:100) و 8 anti-caspase (Sigma-Aldrich, 1:100) به مدت یک شب در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد در محیط مرطوب انکوبه شدند. آنتی‌بادی‌های ثانویه Anti-mouse و Anti-rabbit، IgG متصل شده به رودامین و فلئورسین (Chemicon, 1:100)، برای ۱ ساعت پس از شستشو با PBS، اضافه شدند. IgG های موشی و خرگوشی در غلظت‌های مشابه آنتی‌بادی‌های اختصاصی در هر آزمایش، به عنوان کنترل منفی استفاده شدند. تعداد کلی سلول‌ها با استفاده از رنگ آمیزی هسته‌های آنها با DAPI (Sigma-Aldrich)، شمارش گردید.

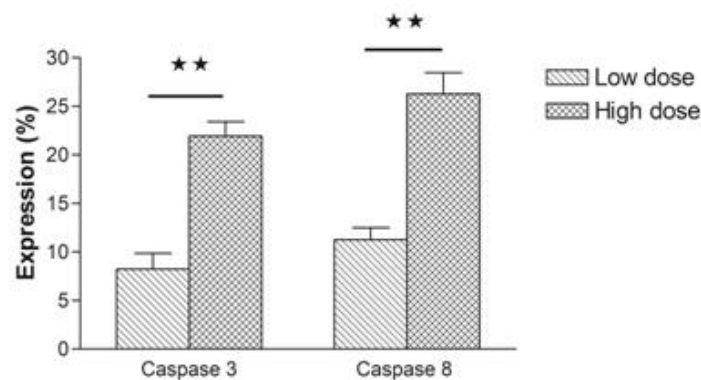
تمام نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شدند. تفاوت بین نتایج با استفاده از آزمون آماری ANOVA یکطرفه (پس آزمون Tukey) بررسی شد. P-value کمتر از ۰/۰۵ از



شکل ۱- A) محیط کشت روی سلول های اپی تلیال آمینوتیک باعث کاهش زیست پذیری سلول های سرطانی HeLa، به صورت وابسته به دوز، در مقایسه با گروه کنترل شد. B) زیست پذیری سلول های MDA-MB-231 نیز در کشت با محیط سلول های اپی تلیال آمینوتیک به صورت وابسته به دوز کاهش یافت. * $P < 0.05$ و ** $P < 0.01$



شکل ۲- بیان مارکهای caspase-3 (A) و caspase-8 (B) توسط سلول های سرطانی پس از ۲۴ ساعت از کشت آنها با محیط کشت روی سلول های آمینوتیک اپی تلیال. مقیاس، A) ۵۰ µm و B) ۱۰۰ µm.



شکل ۳- مقایسه ی تعداد سلول های سرطانی بیان کننده ی مارکهای آپوپتوتیک caspase-3 و caspase-8 نشان داد که محیط روی سلول های اپی تلیال آمینوتیک در دوزهای بالاتر از قدرت بیشتری برای القاء آپوپتوز در سلول های سرطانی برخوردار است. ** $P < 0.05$

caspase-8 را بیان می کردند. در گروه با دوز بالا از محیط کشت سلول های اپی تلیال آمینوتیک، تعداد سلول های سرطانی مثبت برای caspase-3 و ۸ به ترتیب به بیش از ۲۱٪ و ۲۶٪ رسید (شکل ۳).

همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است، محیط روی سلول های اپی تلیال آمینوتیک، caspase-8 و caspase-3 را به صورت وابسته به دوز فعال می کند. در گروه با دوز پایین از محیط کشت سلول های اپی تلیال آمینوتیک، $8/2 \pm 4/6$ ٪ و $11/3 \pm 3/4$ ٪ از سلول های سرطانی به ترتیب caspase-3

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که سلول های اپی تلیال آمینوتیک از طریق مواد محلولی که از خود ترشح می کنند باعث کاهش زیست پذیری در سلول های سرطانی HeLa و MDA-MB-231 می شوند. استفاده از دوزهای مختلف محیط کشت سلول های اپی تلیال آمینوتیک نشان داد که پس از بررسی سلول های سرطانی با آزمون MTT، در دوزهای بالا توانایی زیست پذیری این سلول ها به صورت معنی داری در مقایسه با دوزهای پایین و گروه کنترل کاهش یافته است. نتایج این مطالعه با گزارش های جیائو و همکارانش در سال ۲۰۱۲ [۳] و پارولینی و همکاران در همان سال [۷] همخوانی دارد با این تفاوت که دو مطالعه ذکر شده بر روی سلول های "مزانشیمی" پرده آمینون صورت گرفته است.

برای بررسی آپوپتوز به عنوان مکانیسم احتمالی کاهش زیست پذیری سلول های سرطانی در کشت با محیط سلول های اپی تلیال آمینوتیک از رنگ آمیزی سلول های سرطانی با آنتی بادی های اختصاصی caspase-3 و caspase-8 استفاده شد. نتایج ایمنوسیتوشیمی نشان دادند که سلول های تیمار شده با محیط سلول های اپی تلیال به صورت وابسته به دوز، پروتئین های دخیل در روند آپوپتوز را بیان می کنند، که نشان دهندهی این موضوع است که سلول های اپی تلیال آمینوتیک با ترشح مواد محلولی توانایی القای آپوپتوز را در سلول های سرطانی دارند. سایتوکاین های زیادی در سلول های اپی تلیال آمینوتیک وجود دارند که می توانند باعث مرگ سلولی گردند بطور مثال اینترفرون گاما، TNF- α ، TGF- β ، اینترفرون های ۲، ۳، ۴ و ۸ از جمله موادی می باشند که در سلول های اپی تلیال آمینوتیک وجود دارند و می توانند در القاء مرگ سلولی دخیل باشند ولی گزارشات متعدد و متناقض در مورد اثراتشان و یا اینکه مکانیسم های دیگری غیر از سایتوکاین ها می توانند علت اثرات ضد سرطان این سلول ها، باشند موضوعی است که نیاز به مطالعات بیشتر دارد [۳، ۵، ۷].

به تازگی گمانه زنی های مختلفی در خصوص توانایی سلول های بنیادی از جمله سلول های بنیادی حاصل از پردهی آمینون در خصوص مهار رشد سلول های سرطانی زده شده است، به عنوان مثال نشان داده شده است که سلول های

مزانشیمال مشتق شده از پردهی آمینون مانع از تکثیر سلول های گلیوما می شوند [۳]. هم چنین بیان شده است که ترشح مواد محلول از این سلول ها باعث مهار چرخه ی سلولی سلول های سرطانی می شود [۷]. با توجه به مطالعه حاضر، احتمالاً آپوپتوز توسط سلول های اپی تلیال آمینوتیک در سلول های سرطانی القا می شود که برای تایید این موضوع به مطالعات بیشتر نیاز است. همچنین، در این مطالعه مسیر خارج سلولی سیگنالینگ آپوپتوز مورد بررسی قرار گرفت. مسیر خارجی آپوپتوز از طریق اتصال لیگاند های خارج سلولی به رسیپتورهای مرگ سلولی (Death receptors) در سطح سلول آغاز می شود [۲۱]. همانطور که در این مطالعه نشان داده شد و خانم پارولینی و همکاران در سال ۲۰۱۲ گزارش نمودند، بنظر می رسد ماده ای که باعث القاء آپوپتوز توسط سلول های اپی تلیال پرده آمینون در سلول های سرطانی می شود بصورت ترشحی می باشد [۷]. بنابراین وجود فاکتورهای القاء مرگ سلولی در محیط کشت حاصل از سلول های پرده آمینون بعنوان یک لیگاند خارج سلولی، و اثر بر رسیپتورهای مرگ سلولی در سلول های سرطانی بعنوان اولین احتمال در نظر گرفته شد و فقط مسیر خارجی مورد بررسی قرار گرفت. به هر روی، القاء مسیر داخلی آپوپتوز و بررسی میزان بیان پروتئین هایی مانند Bax/Bcl2 و یا سیتوکروم C و Caspase 9 نیز در مطالعات آینده باید مد نظر قرار گیرد.

یکی از نکات قابل توجه در این مقاله، تفاوت اثر سلول های اپی تلیال آمینوتیک بر سلول های سرطانی و سلول های نرمال می باشد. در مطالعات متعددی از سلول های اپی تلیال آمینوتیک برای کشت سلول های نرمال استفاده شده است [۱۱، ۱۸]. سلول های اپی تلیال پرده آمینون برای کشت و تکثیر سلول های لیمبال چشمی بکار گرفته شده اند [۱۸]. همچنین ما در مطالعه که اخیراً به چاپ رسیده نشان دادیم که سلول های اپی تلیال پرده آمینون محیط مناسبی برای کشت سلول های اندوتلیال عروقی می باشند [۱۱]. ضمناً سلول های اپی تلیال پرده آمینون بعنوان لایه مغذی (Feeder layer) باعث رشد سلول های بنیادی می گردند [۱۸]. این نتایج نشان می دهد که سلول های اپی تلیال آمینوتیک اثر سمی بر سلول های نرمال ندارند. به هر روی، تفاوت اثر این سلول ها بر سلول های نرمال و سلول های سرطانی احتمالاً بدلیل تفاوت

القای آپوپتوز به وسیله‌ی آنها در سلول‌های سرطانی، آنها را بعنوان انتخاب مناسبی برای درمان سرطان مطرح می‌نماید. نتایج این مطالعه نشان داد که سلول‌های اپی‌تلیال آمینوتیک می‌توانند از طریق ترشح مواد محلول باعث کاهش زیست‌پذیری سلول‌های سرطانی شوند. این خاصیت که به صورت وابسته به دوز اعمال می‌شود، احتمالاً از طریق القای آپوپتوز در سلول سرطانی صورت می‌گیرد که برای تایید آن به مطالعات بیشتر و بصورت درون تن نیاز می‌باشد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از پرسنل محترم اتاق عمل بیمارستان عرفان و همکاران در مرکز تحقیقات نانو تکنولوژی پزشکی و مهندسی بافت دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی قدردانی می‌نمائیم. این تحقیق با حمایت مالی ستاد توسعه و کاربرد سلول‌های بنیادی انجام گرفت. نتایج این مقاله برگرفته از پایان نامه پزشکی می‌باشد.

در سیگنالینگ‌های مربوط به چرخه سلولی در سلول‌های سرطانی و نرمال می‌باشد که در مطالعات آینده باید مورد بررسی قرار گیرد.

سلول‌های اپی‌تلیال آمینوتیک سلول‌هایی با خواص سلول‌های بنیادی می‌باشند که توانایی‌های مناسبی را برای استفاده در سلول‌درمانی دارند. این سلول‌ها با این که پرتوان هستند ولی مانند سلول‌های بنیادی جنینی تشکیل تراژوم نمی‌دهند [۱۳]. هم‌چنین این سلول‌ها خصوصیات ضد التهابی، ضد فیبروز، ضد باکتری و تنظیم‌کنندگی ایمنی را دارند که بر قدرت بالقوه‌ی آنها در استفاده در کلینیک می‌افزاید [۱۸]. تأثیر تنظیم‌کنندگی ایمنی پرده‌ی آمیون اساساً بدلیل سلول‌های اپی‌تلیال آمینوتیک آن می‌باشد که این سلول‌ها آنتی‌ژن‌های HLA-A، -B، -C یا DR را بیان نمی‌کنند [۱]. هم‌چنین لی و همکاران تأثیر مهارکنندگی سلول‌های اپی‌تلیال آمینوتیک را بر روی سلول‌های سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی نشان داده‌اند [۶]. این خصوصیات بالقوه، همراه با خواص ضد آژیوزنزی سلول‌های اپی‌تلیال آمینوتیک [۱۱] و هم‌چنین

References

- [1] Adinolfi M, Akle CA, McColl I, Fensom AH, Tansley L, Connolly P, et al. Expression of HLA antigens, beta 2-microglobulin and enzymes by human amniotic epithelial cells. *Nature* 295 (1982) 325-7.
- [2] Ahmed AU, Alexiades NG, Lesniak MS. The use of neural stem cells in cancer gene therapy: predicting the path to the clinic. *Current opinion in molecular therapeutics* 12 (2010) 546-52.
- [3] Jiao H, Guan F, Yang B, Li J, Song L, Hu X, Du Y, Human amniotic membrane derived-mesenchymal stem cells induce C6 glioma apoptosis in vivo through the Bcl-2/caspase pathways. *Mol Biol Rep* 39 (2012) 467-73
- [4] Koch U, Krause M, Baumann M. Cancer stem cells at the crossroads of current cancer therapy failures--radiation oncology perspective. *Semin Cancer Biol* 20 (2010) 116-24.
- [5] Li W, He H, Kawakita T, Espana EM, Tseng SC, Amniotic membrane induces apoptosis of interferon-gamma activated macrophages in vitro. *Exp Eye Res* 82 (2006) 282-92.
- [6] Li H, Niederkorn JY, Neelam S, Mayhew E, Word RA, McCulley JP, Alizadeh H, Immunosuppressive factors secreted by human amniotic epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46 (2005) 900-7.
- [7] Magatti M, De Munari S, Vertua E, Parolini O, Amniotic membrane-derived cells inhibit proliferation of cancer cell lines by inducing cell cycle arrest. *J Cell Mol Med* 16 (2012) 2208-18.
- [8] Moreau P, Avet-Loiseau H, Harousseau JL, Attal M, Current trends in autologous stem-cell transplantation for myeloma in the era of novel therapies. *J Clin Oncol* 29 (2011) 1898-906.
- [9] Niknejad H, Khayat-Khoei M, Peirovi H, Inhibition of MMPs might increase anticancer properties of amniotic epithelial cells. *Med Hypotheses* 78 (2012) 690-1.
- [10] Niknejad H, Deihim T, Ahmadiani A, Jorjani M, Peirovi H, Permanent expression of midbrain dopaminergic neurons traits in differentiated amniotic epithelial cells. *Neurosci Lett* 506 (2012) 22-7.

- [11] Niknejad H, Deihim T, Solati-Hashjin M, Peirovi H, The effects of preservation procedures on amniotic membrane's ability to serve as a substrate for cultivation of endothelial cells. *Cryobiology* 63 (2011) 145-51.
- [12] Niknejad H, Peirovi H, Ahmadiani A, Ghanavi J, Jorjani M, Differentiation factor that influence neuronal markers expression in vitro from human amniotic epithelial cells. *Eur Cell Mater* 19 (2010) 22-29.
- [13] Niknejad H, Peirovi H, Jorjani M, Ahmadiani A, Ghanavi J, Seifalian AM, Properties of the amniotic membrane for potential use in tissue engineering. *Eur Cell Mater* 15 (2008) 88-99.
- [14] Peirovi H, Rezvani N, Hajinasrollah M, Mohammadi SS, Niknejad H, Implantation of amniotic membrane as a vascular substitute in the external jugular vein of juvenile sheep. *J Vasc Surg* 56 (2012) 1098-104.
- [15] Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL, Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 414 (2001) 105-11.
- [16] Sagar J, Chaib B, Sales K, Winslet M, Seifalian A, Role of stem cells in cancer therapy and cancer stem cells: a review. *Cancer Cell Int* 7 (2007) 9.
- [17] Secchiero P, Zorzet S, Tripodo C, Corallini F, Melloni E, Caruso L, Bosco R, Ingraio S, Zavan B, Zauli G, Human bone marrow mesenchymal stem cells display anti-cancer activity in SCID mice bearing disseminated non-Hodgkin's lymphoma xenografts. *PloS one* 5 (2010) e11140.
- [18] Seo JH, Kim YH, Kim JS, Properties of the amniotic membrane may be applicable in cancer therapy. *Med Hypotheses* 70 (2008) 812-4.
- [19] Sun Y, Liu M, Yang B, Li B, Lu J, Role of siRNA silencing of MMP-2 gene on invasion and growth of laryngeal squamous cell carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 265 (2008) 1385-91.
- [20] Sun XY, Nong J, Qin K, Warnock GL, Dai LJ, Mesenchymal stem cell-mediated cancer therapy: A dual-targeted strategy of personalized medicine. *World J Stem Cells* 3 (2011) 96-103.
- [21] Thompson HJ, Strange R, Schedin PJ, Apoptosis in the genesis and prevention of cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1 (1992) 597-602.
- [22] Zhang X, Zhang L, Xu W, Qian H, Ye S, Zhu W, Cao H, Yan Y, Li W, Wang M, Wang W, Zhang R, Experimental Therapy for Lung Cancer: Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stem Cell-Mediated Interleukin-24 Delivery. *Curr Cancer Drug Targets* 13 (2013) 92-102.
- [23] Zhou H, Chang S, Rao M, M. Human cord blood applications in cell therapy: looking back and look ahead. *Expert Opin Biol Ther* 12 (2012) 1059-66.
- [24] Zhou S, Chen J, Feng J, The effects of amniotic membrane on polymorphonuclear cells. *Chin Med J (Engl)* 116 (2003) 788-90.