مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان/ دوره شانزدهم/ بهار ۱۳۹۰/ ۹-۱

بررسی بیان ژن‌های خودبازسازی Tbx3، Tcl1، Esrrb و Dppa4 در سرطانهای کولون، کبد، پروستات و مثانه

صبریه امینی[۱]، فردین فتحی[۲]، بهرام نیکخو[۳]، حشمت الله صوفی مجیدپور[۴]، جعفر مبلغی[۵]

۱- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، سنندج، ایران

۲- دانشیار گروه علوم تشریح، مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران (مؤلف مسؤول)،
تلفن ۰۸۷۱-۶۱۳۱۳۷۷ farfath@gmail.com

۳- استادیار گروه پاتولوژی، مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۴- دانشیار گروه اورولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۵- استادیار گروه جراحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

چکیده

زمینه و هدف: بیان ژنهای خودبازسازی Tbx3، Tcl1، Esrrb، Dppa4 در رده‌های سلولی سرطانی کولون (Caco2 و HT-29)، کبد (HepG2)، پروستات (LN-Cap)، مثانه (HT-1376) و در نمونه‌های تومور انسانی کولون، مثانه و پروستات مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: سلول‌های Caco2، HT-29، HT 1376، Ln Cap و HepG2 در فلاسکهای T25 کشت داده شدند. همچنین نمونه‌های تومور انسانی تحت نظارت مستقیم پزشک متخصص و با توجه به علائم بالینی و یافته‌های آزمایشگاهی جمع‌آوری شدند. سپس بیان ژن‌های خودبازسازی Tbx3، Tcl1، Esrrb، Dppa4 با استفاده از تکنیک Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) در سلول‌های مذکور و در نمونه‌های تومور انسانی مورد ارزیابی قرار گرفت. برای اطمینان از صحت آزمایش‌های انجام شده، نمونه‌های کنترل منفی و بیان ژن کنترل داخلی نیز مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج ارزیابی‌های RT-PCR نشان داد که در دودمان‌های سلولی سرطانی و در نمونه‌های توموری مورد مطالعه، ژن‌های خود بازسازی Tbx3 ، Tcl1، Esrrb، Dppa4 بیان می‌شوند.

نتیجه‌گیری: سلول‌های سرطانی کولون، کبد، پروستات و مثانه بیان ژن های Tbx3، Tcl1، Esrrb، Dppa4 را که از مارکرهای اختصاصی سلول‌های بنیادی می‌باشند، بیان می‌کنند که این مسأله نشان می‌دهد در جمعیت سلول‌های سرطانی مذکور، تعدادی از سلول‌ها، ویژگی سلول‌های بنیادی را دارند و در تکثیر سلول‌های سرطانی نقش اصلی را بر عهده دارند.

کلید واژه‌ها: سلول‌های بنیادی سرطانی، ژنهای خود بازسازی، سرطان کولون، سرطان کبد، سرطان پروستات، سرطان مثانه

وصول مقاله: ۸۹/۷/۲۲ اصلاحیه نهایی: ۸۹/۱۰/۲۷ پذیرش مقاله: ۸۹/۱۱/۷

مقدمه

سرطان‌های کولون، کبد، مثانه و پروستات از مهمترین عوامل مرگ و میر ناشی از سرطان در جهان می‌باشند (۳-۱). بر اساس نظریه جدید اشتقاق سلولهای سرطانی از سلولهای بنیادی (Stem cell origin of cancer) بسیاری از تومورها از سلول‌های بنیادی بافت‌های تمایز یافته منشاء می‌گیرند (۵ و۴). در هر توده توموری، تعداد اندکی از سلول‌ها، به سلول‌های بنیادی شباهت دارند. این سلول‌ها، دارای توانایی مقاومت در برابر عوامل القاء کننده آپوپتوزیس و شیمی درمانی

Archive of SID

www.SID.ir

می‌باشند و پیشنهاد می‌شود یکی از عوامل بازگشت سرطان پس از انهدام تومورهای اولیه باشند (۷ و۶). حضور بن یاخته‌های سرطانی اولین بار در سرطان خون شناسایی شد (۹ و۸) و پس از آن در چندین سرطان از جمله سینه، مغز، پروستات، کبد، ریه، ملانوما و کولون نیز شناسایی شد (۱۵-۱۰). دو گروه مختلف از ژنها Nanog/oct4/sox2 و Tbx3/Tcl1/Esrrb/Dppa4 تنظیم کننده اصلی حفظ فرآیند خودتجدیدی در سلول‌های بنیادی جنینی می‌باشند و باعث مهار فرآیند تمایز در طی تکوین جنین می‌شوند. افزایش بیان هر کدام از آنها خاصیت پرتوانی را هم در سلول های بنیادی موش و هم در انسان افزایش می‌دهد (۱۷و۱۶). شبکه تنظیمی ژنهای Oct4، Nanog و Sox2 باعث تنظیم ژنهایTcl1،Tbx3، Esrrb و Dpaa4 می‌شوند و هر دو مسیر با همکاری متقابل در تنظیم خود تجدیدی و مهار تمایز سلولهای بنیادی جنینی نقش اساسی ایفا می‌کنند. مثلاً در صورت کاهش بیان ژنهای Tcl1، Tbx3 و Esrrb بیان ژن Nanog به شدت افزایش می‌یابد تا فرآیند خودتجدیدی و تمایز سلولهای بنیادی دچار اختلال نشود (۱۷). Oct4، Nanog و Sox2 به صورت یک شبکه مرکزی در تکثیر و خودتجدیدی سلول‌های بنیادی جنینی، نقش اساسی ایفا می‌کنند و باعث مهار فرایند تمایز در طی تکوین جنین می‌شوند (۱۸). بیان این سه ژن در تعدادی از تومورها و دودمان‌های سلولی سرطانی نیز نشان داده شده است (۲۰ و۱۹). ژن Tcl1 در هموستازی پوست و فولیکول مو نقش اساسی دارد. افزایش بیان این ژن، تکثیر سلولهای بنیادی جنینی را افزایش می‌دهد و مهار آن باعث کاهش فرایند خود تجدیدی در سلولهای بنیادی جنینی می‌شود (۲۲و۲۱). ژن Oct4 به پروموتور ژن Tcl1 متصل می‌شود و نسخه برداری آن را فعال می‌کند (۲۳). بیان این ژن به طور محدود در تعدادی از سرطانها مانند لمفوما و در سرطان بیضه با منشأ سلولهای جنسی نشان داده شده است (۲۵ و۲۴). پروموتور ژن Tcl1 بوسیله ژن Oct4 بطور مثبت تنظیم می‌شود (۲۶). ژن Tbx3 فرآیند خود تجدیدی را در سلولهای بنیادی در مراحل تکوین جنینی تنظیم می‌کند (۲۷). بیان ژن Tbx3 بوسیله مسیر wnt-β catenin فعال می‌شود و باعث تکثیر و حفظ سلولهای سرطانی می‌شود (۲۸). در انسان موتاسیون در این ژن موجب سندرم UMS (Ulnar-Mammary Syndrome) می‌شود که با هیپوپلازی غده پستان و آنومالی‌های ارثی همراه است که نشان می‌دهد این ژن برای تکوین نرمال پستان ضروری است (۲۹). بیان این ژن در سرطانهای پستان، تخمدان و اندومتریوم شناسایی شده است. (۳۱و۳۰). ژن Esrrb(estrogen related receptorβ) از خانواده رسپتورهای Orphan می‌باشد که نقش مهمی در تنظیم خودتجدیدی و مهار تمایز سلولهای بنیادی جنینی بر عهده دارد که برای تنظیم دقیق این فرآیندها با ژنهای Oct4، Nanog و Sox2 همکاری متقابل دارد و نسخه برداری ژن Oct4 را فعال می‌کند (۳۲). مهار ژن Esrrb باعث پیشبرد فرایند تمایز می‌شود و افزایش بیان آن خودتجدیدی را در سلولهای بنیادی جنینی افزایش می‌دهد و بیان آن در طی تکوین جفت نقش اساسی دارد (۳۳ و۳۲). ژن Dppa4 (Developmental pluripotency associated 4) در هسته سلولهای بنیادی جنینی همراه با کروماتین فعال در حال نسخه برداری قرار دارد. آنالیزهای بیوشیمیایی نشان داده است که این ژن هم بطور مستقیم و هم از طریق هیستون H3 می‌تواند به DNA متصل شود و از این راه ساختار کروماتین را تنظیم می‌کند. این ژن در سلولهای بنیادی جنینی به میزان

Archive of SID

www.SID.ir

بالا بیان می‌شود اما عملکرد آن به خوبی شناسایی نشده است. تاکنون بیان ژن Dppa4 وEsrrb در سرطانهای انسان بررسی نشده است (۳۴). به دلیل شیوع بالای سرطانهای کولون، پروستات، مثانه و کبد و ضعف‌های موجود در روشهای متداول تشخیص آنها که دارای دقت و حساسیت نمی‌باشند شناسایی تومور مارکرهایی که بتوانند ماهیت بیولوژیکی تومورها را پیش بینی کنند اهمیت زیادی خواهند داشت. هدف از این تحقیق بیان ژنهای Esrrb ، Dppa4 ،Tcl1و Tbx3 با استفاده از روش RT-PCR در رده‌های سلولی سرطان کولون HT-29 و Caco2، رده سلولی سرطان پروستات LN-cap، رده سلولی سرطان کبد HepG2 و در رده سلولی سرطان مثانه HT-1376، همچنین در نمونه‌های توموری انسانی است چرا که بیان ژنهای مذکور علاوه بر آنکه می‌توانند به عنوان مارکر حالت سرطانی استفاده شوند، با توجه به نقش مهم آنها در سلول‌های بنیادی می‌توانند تأیید دیگری برای فرضیه Cancer stem cell بوده و خصوصیات بن یاخته‌های سرطانی یک تومور را بازگو کنند.

روش بررسی

روش کشت سلول‌های سرطانی مورد مطالعه

در این مطالعه که یک مطالعه توصیفی با ویژگی تشخیصی است از رده‌های سلولی Caco2 و HT-29 مشتق از آدنو کارسینومای کولورکتال انسان، HT1376 (کارسینومای مثانه)، HepG2 (کارسینومای کبد) و LnCap (کارسینومای پروستات) استفاده شد که از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. رده سلولی NT2 که یک رده سلولی کارسینومای جنینی انسانی می‌باشد، از طرف دانشگاه شفیلد (اهدائی از طرف دکتر احمد رضا بهرامی) در اختیار محققان این مطالعه قرار گرفت. رده سلولی NT2 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. برای کشت این سلولها از محیط کشتهای DMEM (Dulbeccos Modified Eagles Medium) و-RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute) سرم جنین گاوی FBS (Fetal bovin serum) ، به میزان ۱۵٪، اسید آمینه‌های غیر ضروری (Non essential amino acids:NEAA) به میزان یک درصد، پنی‌سیلین 100ml/u، استرپتومایسین 50ml/µg استفاده شد. سلولها در فلاسکهای T25 ودر انکوباتور با دمای 37°c و میزان 5 % CO2 کشت داده شدند .

نمونه‌گیری از انسان

نمونه‌های انسانی مورد نیاز این تحقیق از بیمارستان امام خمینی تهران، بیمارستان توحید و بیمارستان بعثت سنندج جمع‌آوری شدند. نمونه‌های مورد نظر، تحت نظارت مستقیم پزشک متخصص و با توجه به علایم بالینی و یافته‌های آزمایشگاهی جمع‌آوری شدند. نمونه‌های بیوپسی در میکروتیوب استریل و عاری از RNase و در تانک ازت قرار داده شد و پس از انتقال به آزمایشگاه، نمونه‌ها تا مرحله استخراج RNA در دمای 80- درجه سانتیگراد نگهداری می‌شدند. تعداد نمونه‌های مورد مطالعه شامل ۱۰ نمونه تومور مثانه، ۵ نمونه تومور پروستات و ۵ نمونه تومور کولون بود.

ارزیابی RT-PCR

از RT-PCR جهت تایید بیان ژنهای مورد مطالعه (جدول ۱) استفاده شد. برای این منظور، ابتدا با استفاده از محلول استخراج (RNX Plus,Sinagen) RNA ی کل (Total RNA) از سلولهای سرطانی استخراج شد و پس از اطمینان یافتن از کیفیت RNAی استخراج شده با انجام الکتروفورز ژل آگارز و اسپکتروفتومتری،

Archive of SID

www.SID.ir

مراحل تهیه cDNA از آن به انجام رسید. RNA استخراج شده با استفاده از پرایمر(Random Hexamer) و کیت (Bioneer)RT نسخه برداری معکوس شد. واکنش RT در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر انجام گرفت. پس از تهیه cDNA، واکنش PCR جهت تکثیر قطعه مورد نظر انجام گرفت. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر انجام شد و جهت تهیه حجم مذکور علاوه بر DNA الگو (محصول واکنش RT) از کیت PCR (Bioneer) ، آب مقطر استریل و پرایمرهای بالادست(Forward) و پایین دست (Reverse)، با مشخصات مورد اشاره در جدول یک استفاده شد. پس از آماده ساختن حجم مورد نظر جهت انجام واکنش، واکنش PCR با شرایط Denaturation ۴۵ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، Annealing ۴۵ ثانیه در دمای ۵۸-۶۴ (بر اساس نوع پرایمر) و Extention ۱دقیقه در دمای ۷۲ درجه انجام گرفت. تعداد سیکل ۳۵ و یک سیکل Extention نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد. جهت انجام هر دو واکنش RT و PCR از دستگاه ترمال سایکلر (Eppendorf) استفاده شد. ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی مورد استفاده قرار گرفت. بعد از اتمام واکنش ۸ میکرولیتر از محصول واکنش PCR توسط الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد بررسی شد. پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه با کمک نرم افزارهایGene runner و Primer3 طراحی شد.

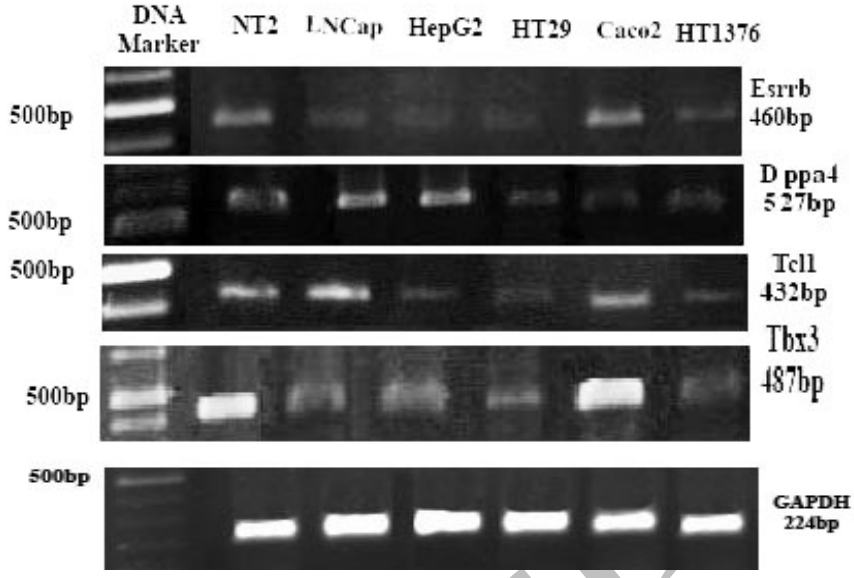
جدول ۱: اسامی ژنها و توالی مربوط به پرایمرهای بالادست (F) و پایین دست (R)

Product (bp) size	Annealing Temprature	Sequences	primer	Gene
224	59	CCAGGTGGTCTCCTCTGACTTCAACA	F	hGAPDH
	59	AGGGTCTCTCTCTTCCTCTTGTGCTC	R	
527	62	AAAAGCAAGAAGGGAGAGTGA	F	hDppa4
	62	CGGAGATTGCACTGAACTGA	R	
432	61	GATACCGATCCTCAGACTCCA	F	hTCL1
	61	GAGGGACAGAAGGGACAGAA	R	
487	58	GAAGAAGAGGTGGAGGACGA	F	hTBX3
	58	ATTCAGTTTCGGGGAACAAG	R	
460	62	TCAGAGAGCAGCCCATACCT	F	hEsrrb

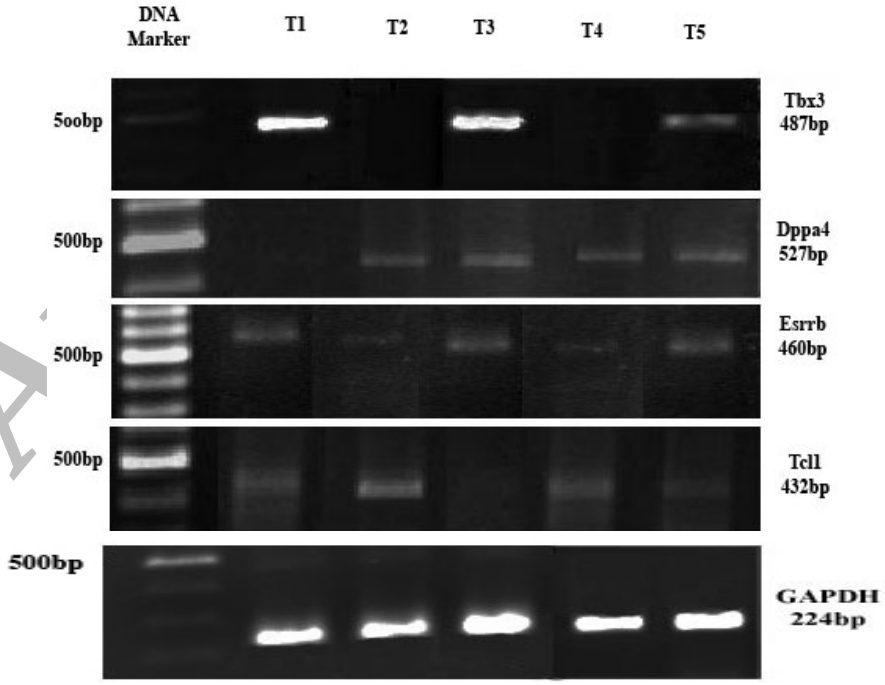
یافته‌ها

بیان ژنهای اختصاصی سلولهای بنیادی در سلول‌های مورد مطالعه، به روش RT-PCR مورد ارزیابی قرار گرفت. بیان ژنهای Tbx3، Dpaa4، Tcl1 و Esrrb در سلولهای سرطانی HT-29، HT1376، LnCap ، HepG2، Caco2 و در نمونه‌های توموری مشاهده شد (شکل‌های ۱ تا ۴) و اندازه باندهای مربوط به ژنهای مورد مطالعه مطابق با الگوی پرایمر طراحی شده بود (جدول ۱). در هیچکدام از نمونه‌های نرمال کولون مورد مطالعه بیان ژنهای مذکور مشاهده نشد.

Archive of SID
www.SID.ir

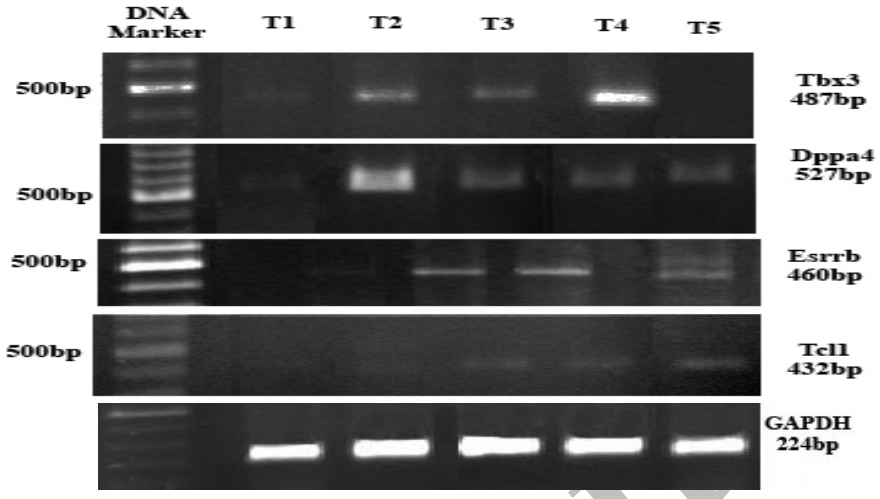


شکل۱: بیان ژن‌های خودبازسازی Tbx3، Esrrb، Tcl1 وDppa4 با استفاده از تکنیک RT-PCR در رده‌های سلولی HT-29 وCaco2 آدنوکارسینومای کولورکتال، Lncap کارسینومای پروستات، HepG2 کارسینومای کبد، HT-1376 کارسینومای مثانه. دودمان سلولی NT2 بعنوان کنترل مثبت استفاده شد. همچنین ژن GAPDH بعنوان ژن کنترل داخلی مورد استفاده قرار گرفت ژن Esrrb در رده‌های سلولی HepG2، LNcap و HT-29 به مقدار جزئی بیان شد.

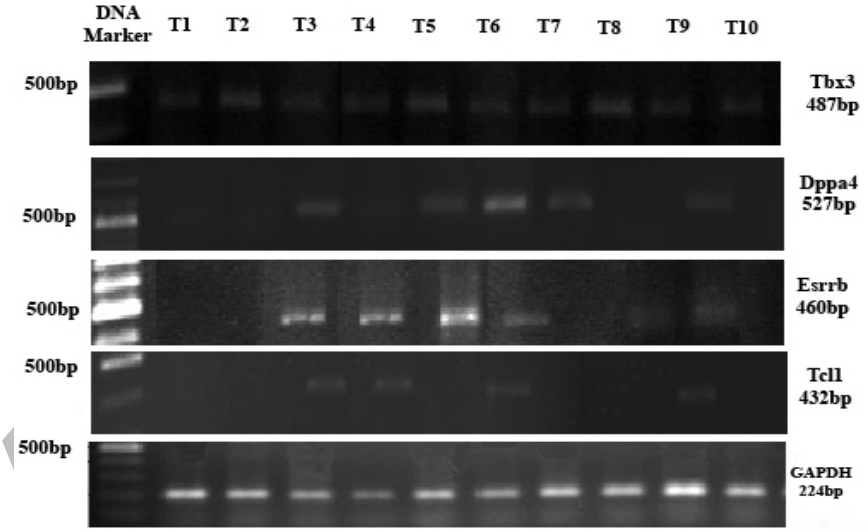


شکل۲: بیان ژن‌های خودبازسازی Tbx3، Esrrb، Tcl1 وDppa4 با استفاده از تکنیک RT-PCR در نمونه‌های توموری پروستات. GAPDH به عنوان ژن کنترل دا خلی مورد استفاده قرار گرفت. در نمونه‌های توموری T2وT4 بیان ژن Tbx3 مشاهده نشد. همچنین در نمونه‌های توموری T1 و T3 به ترتیب بیان ژنهای Dppa4 و Tcl1 مشاهده نشد.

www.SID.ir



شکل ۳: بیان ژن‌های خودبازسازی Tcl1، Esrrb، Tbx3 وDppa4 با استفاده از تکنیک RT-PCR در نمونه‌های توموری کولون. GAPDH به عنوان ژن کنترل دا خلی مورد استفاده قرار گرفت. در نمونه‌های توموری T1 بیان ژنهای Esrrb، Tbx3، Tcl1 مشاهده نشد و ژن Dppa4 به میزان جزئی بیان شد. همچنین در سایر نمونه‌های تومور پروستات، بیان ژن Tcl1 به صورت جزئی مشاهده شد و در نمونه T5 بیان ژن Tb×3 مشاهده نشد.



شکل۴ : بیان ژن‌های خودبازسازی Tcl1، Esrrb، Tbx3 و Dppa4 با استفاده از تکنیک RT-PCR در نمونه‌های توموری مثانه. همچنین ژن GAPDH بعنوان ژن کنترل داخلی مورد استفاده قرار گرفت. همانطوری که در شکل ملاحظه می‌شود در بعضی از نمونه‌ها بیان بعضی از ژنهای مورد مطالعه مشاهده نشد.

بحث

نتایج این پژوهش به این دلیل که برای اولین بار بیان ژنهای Tcl1، Tbx3، Esrrb، Dppa4 را در رده‌های سلولی سرطان کولون Caco2 و HT-29، سرطان مثانه HT-1376، سرطان کبد HepG2، سرطان پروستات LN-cap و در نمونه‌های انسانی تومور کولون، مثانه و پروستات نشان داد، حائز اهمیت است. امروزه ژن‌هایی

www.SID.ir

که در کنترل خودبازسازی سلول های بنیادی نقش دارند به عنوان دسته جدیدی از مارکرهای مولکولی سرطان معرفی شده‌اند که بیان کنترل نشده آنها از اهمیت زیادی در فرآیند سرطانی شدن برخوردار است (۵ و۴). ژن Tcl1 بعنوان یک انکوژن در لوکیمیای T-cell شناخته شده است. افزایش بیان این ژن نقش مهمی در شروع لوکیمیای T-Cell در انسان و موش دارد (۲۱). بیان این ژن به طور محدود در تعدادی از سرطانها بررسی شده است. در سال ۲۰۱۰ Sean و همکاران بیان ژن Tcl1 را در سرطان بیضه با منشأ سلولهای جنسی نشان دادند (۲۵). ژن Tbx3 بعنوان یک ژن مهارکننده آپوپتوزیس شناسایی شده است (۲۹). بیان ژن Tbx3 بوسیله مسیر wnt-β catenin فعال می‌شود و باعث تکثیر و حفظ سلولهای سرطانی می‌شود (۲۹). افزایش بیان ژن Tbx3 با مهار ژن P14 باعث افزایش تقسیم سلولهای اپیتلیالی شده و می‌تواند منجر به بروز سرطان شود اما مکانیسم آن ناشناخته است (۳۰). بیان این ژن در سرطانهای پستان، تخمدان و اندومتریوم شناسایی شده است. با توجه به نقش کلیدی این ژن در کارسینوژنز، مهار فعالیت Tbx3 می‌تواند یک راهکار درمانی مناسب برای درمان سرطان باشد (۳۱). نتایج حاصل از تحقیق حاضر بیان ژنهای Tcl1و Tbx3 را با استفاده از روش RT-PCR برای اولین بار در رده‌های سلولی Caco2، HT-29، LnCap HepG2، HT-1376 و در نمونه‌های توموری کولون، مثانه و پروستات نشان داد که نتایج حاصل از یافته‌های محققان قبلی را در مورد بیان این ژنها در تعدادی از سرطانها تایید می‌کند. Ito و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان دادند که افزایش بیان ژن Tbx3 موجب افزایش تکثیر سلولهای اپیتلیالی و سرطان مثانه در موش می‌شود (۲۹). افزایش بیان ژن Esrrb خودتجدیدی را در سلولهای بنیادی جنینی افزایش می‌دهد. مهار ژن Esrrb باعث پیشبرد فرآیند تمایز می‌شود. موشهای موتانت در این ژن تکثیر غیر عادی تروفوبلاست و تمایز زودرس به سمت سلولهای سنسیتو تروفوبلاست را نشان دادند (۳۲). تاکنون گزارش قابل توجهی از بیان ژن Esrrb در سلولهای سرطانی گزارش نشده است. ژن Dppa4 در سلولهای بنیادی جنینی به میزان بالا بیان می شود و در پلوری پوتنسی سلولهای بنیادی جنین موش نقش مهمی دارد و تمایز سلولهای بنیادی جنینی را به سمت دودمانهای اکتودرم اولیه تنظیم می‌کند. اما عملکرد آن به خوبی شناسایی نشده است. تاکنون بیان ژن Dppa4 در سرطان های انسان بررسی نشده است (۳۴). در تحقیق حاضر بیان ژن Dppa4 و Esrrb نیز برای اولین بار در رده‌های سلولی و نمونه‌های توموری مورد مطالعه نشان داده شد. در مطالعات قبلی بیان این دو ژن در سلولهای بنیادی جنینی در انسان و موش نشان داده شده بود (۳۴ و ۳۲). با توجه به اینکه در هر توده توموری تعدادی از سلولها، ویژگی سلولهای بنیادی جنینی را دارا می‌باشند (۷و۶) پس می‌توان بیان ژنهای خودبازسازی مورد بررسی را دلیل حضور سلولهای بنیادی در رده‌ها و نمونه‌های توموری مورد مطالعه دانست.

نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج حاصل از تحقیق حاضر بیان ژنهای خودتجدیدی Tcl1، Tbx3، Dppa4 و Esrrb را برای اولین بار در رده‌های سلولی سرطان HT-29، HT1376، LnCap و HepG2 و در نمونه‌های توموری کولون، مثانه و پروستات نشان داد که این امر تأییدی بر نظریه Cancer stem cell می‌باشد. با مطالعات بیشتر روی عملکرد این ژنها با استفاده از تکنیک‌های پیشرفته

Archive of SID

www.SID.ir

مولکولی مانند مهار این ژنها در سلولهای سرطانی با استفاده از siRNA و بررسی اثر آن در کنترل تکثیر سلولی، همچنین استفاده از تکنیک Gene Chip، در آینده نتایج مهمتر و قابل اعتمادتری به دست خواهد آمد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با هزینه و مساعدت معاونت پژوهشی دانشگاههای علوم پزشکی کردستان و آزاد سنندج انجام شده که بدینوسیله قدردانی می‌شود.

References

1. Cohen SM, Shirai T, Steineck G. Epidemiology and Etiology of premalignant and malignant urothelial changes. Scandinavian J Urol and Nephro 2000; 205, 105.
2. Parkin DM, Pisani P, and Ferlay J. Global cancer statistics CA Cancer. J Clin 1: 33-64.
3. Vinay Kumar, Abul K. Abbas. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Advances in Anatomic Pathology: 2005 , p 103. Book Reviews.
4. Costjeva EV, Thilly WG. Stem cell stages and the origion of colon cancer. Stem Cell Rev 2005; 1: 243-51.
5. Clarke MF, Fuller M. Stem cell and cancer. Cell 2006; 124: 1111-5.
6. Haraguchi N, Inoue H,Tanaka F. Cancer stem cells in human gastrointestinal cancers. Hum Cell 2006; 19: 24-29.
7. Al-Hajj M, Clarke Mf. Self-renewal and solid tumor stem cells. Oncogene 2004; 23: 7274-82.
8. Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloide leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. Nat Med 1997; 3: 730-736.
9. Lapidot T, Sirard C, Vormoor J. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. Nature 1994; 17: 645-648.
10. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. Proc Natl Acad Sci 2003; 100: 3983-3988.
11. Singh, S. Identification of human brain tumor initiating cells. Nature 2004; 432: 396-401.
12. Collins At, Berry PA. Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells. Cancer Res 2005; 65: 10946-10951.
13. Chiba T, Kita K, Zheng YW, Yokosuka O, Saisho H, Iwama A and et al. Side population purified from hepatocellular carcinoma cells harbors cancer stem cell-like properties. Hepatology 2006; 44: 240-251
14. O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, Dick JE. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. Nature 2007; 445: 106-110.
15. Ricci-Vitiani L, Lombardi DG, Pilozzi E. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. Nature 2007; 445: 111-115.
16. Jose M, Galan-Caridad, Sivan Harel, Teresita L, Arenzana Z, Esther Hou, and et al. Zfx controls the self-renewal of embryonic and hematopoitic stem cells. Cell 2007; 129: 345-357.
17. Ivanova N, Dobrin R, Lu R, Kotenko I, Levorse J, DeCoste C and et al. Dissecting selfrenewal in stem cells with RNA interference. Nature 2006; 442: 533-538.
18. Rodda Dj, Chew JL, Lim LH, Loh YH, Wang B, Ng HH, and et al. Transcriptional regulation of Nanog by Oct4 and Sox2. J Biol Chem 2005; 280: 24731-24737.
19. Ezeh U, Turek P, Reijo R, Clark AT. Human Embryonic Stem Cell Genes OCT4, NANOG, STELLAR, and GDF3 Are Expressed in Both Seminoma and Breast Carcinoma. CANCER. 2005; 104: 2255-2265.
20. Atlasi Y, Mowla Sj. OCT-4, an embryonic stem cell marker, is highly expressed in bladder cancer. Int j cancer. 2007; 120: 1598-1602.

Archive of SID

www.SID.ir

21. Narducci MG, Fiorenza MT, Kang SM, Bevilacqua A, Di Giacomo M, Remotti D and et al. TCL1 participates in early embryonic development and is overexpressed in human seminomas. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2002; 99: 11712-11717.
22. Lock RB. TCL1: A new drug target in lymphoid and germ-cell malignancies? Int J Biochem Cell Biol 2003; 35: 1614-1618.
23. Bichi R, Shinton A, Martin, ES, Koval A, Calin GA, Cesari R and et al. Human chronic lymphocytic leukemia modeled in mouse by targeted TCL1 expression. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; 99: 6955-6960.
24. Hoyer KH, French SW, Turner DE, Nguyen MTN, Renard M, Malone CS and et al. Dysregulated TCL1 promotes multiple classes of mature B cell lymphoma. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; 99: 14392-14397.
25. Lau SK, Weiss M, Chu PG. TCL1 Protein Expression in testicular germ cell tumors. Am J Clin Pathol 2010; 133: 762-766.
26. Ryo Matoba, Hitoshi Niwa, Shinji Masui, Satoshi Ohtsuka, Mark G. Carter. Dissecting Oct3/4-Regulated Gene Networks in Embryonic Stem Cells by Expression Profiling. PloS ONE 2006;1:e26.
27. Carlson H, Ota S, Campbell CE, Hurlin PJ. A dominant repression domain in Tbx3 mediates transcriptional repression and cell immortalization: relevance to mutations in Tbx3 that cause ulnar-mammary syndrome. Hum Mol Genet 2001; 10: 2403-2413.
28. Renard CA, Labalette C, Armengol C. Tbx3 is a downstream target of the Wnt/β-catenin pathway and a critical mediator of β-catenin survival functions in liver cancer. Cancer Res 2007; 67: 901-910.
29. Ito A, Asamoto M, Hokaiwado N, Takahashi S, Shirai T. Tbx3 expression is related to apoptosis and cell proliferation in rat bladder both hyperplastic epithelial cells and carcinoma cells. Cancer Lett 2005;219:105–112.
30. Yarosh W, Barrientos T, Esmailpour T, Lin L, Carpenter PM, Osann K. et al. TBX3 Is Overexpressed in Breast Cancer and Represses p14 by Interacting with Histone Deacetylases . Cancer Res 2008; 68: 693-969.
31. Lomnytska M, Dubrovska A, Hellman U, Volodko N, Souchelnytskyi S. Increased expression of cSHMT, Tbx3 and utrophin in plasma of ovarian and breast cancer. Int J Cancer 2006; 118:412–421.
32. Zhang X, Zhang J, Wang T, Esteban MA, Pei D. Esrrb activates Oct4 Transcription and sustains self-renewal and pluripotency in embryonic stem cells. J Biol Chem 2008; 283: 35825-33.
33. van den Berg DL, Zhang W, Yates A, Engelen E, Takacs K, Bezstarosti K and et al. The estrogen related receptor beta interacts with Oct4 to positively regulate Nanog gene expression. Mol Cell Biol 2008; 28: 5986-5995.
34. Chakravarthy H, Boer B, Desler M, Mallanna SK, McKeithan TW, Rizzino A. Identification of DPPA4 and other genes as putative Sox2:Oct-3/4 target genes using a combination of in silico analysis and transcription-based assays. J Cell Physiol 2008; 216: 651-662.

Archive of SID

www.SID.ir