

بررسی توان القای مرگ سلولی سلول‌های میو اپی تلیال موشی بر رده‌ی سلولی کارسینومای

پستان

حمید خدایاری^۱، دکتر مصطفی لطیف پور^۲، ابراهیم عزیزی^۳، سعید خدایاری^۴، بهارک فرهنگی^۵،

علی زاهدی^۱، دکتر علی محمد علیزاده^۵

نویسنده‌ی مسوول: انستیتو سرطان ایران، مرکز تحقیقات سرطان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، aalizadeh@sina.tums.ac.ir

دریافت: ۹۴/۵/۱۴ پذیرش: ۹۴/۱۰/۷

چکیده

زمینه و هدف: نومورهای پستانی جمعیت غیرهمگونی از انواع سلول‌ها نظیر سلول‌های لومینال و میو اپی تلیال را در برمی‌گیرند که نقش مهمی در ایجاد و یا مهار سرطان پستان دارند. مشاهده شده که عملکرد پاراکرینی و اتوکرینی سلول‌های میو اپی تلیال موجب مهار تومور پستان از طریق مهار رگ زایی و افزایش آپوپتوزیس می‌گردد. هدف مطالعه‌ی حاضر استخراج و کشت سلول‌های میو اپی تلیال موشی و بررسی توان آن‌ها در القای مرگ سلولی بر رده‌ی سلولی کارسینومای پستان می‌باشد.

روش بررسی: طی مطالعه‌ی تجربی حاضر، پس از استخراج و کشت سلول‌های میو اپی تلیال از بافت پستان موش، سلول‌ها با استفاده از روش فلوسایتومتری از نظر بیان نشانگر اختصاصی مورد بررسی قرار گرفتند. سپس سلول‌های میو اپی تلیال با سلول‌های کارسینومای پستانی همکشتی داده شدند و توان بقای سلول‌های سرطانی با استفاده از آزمون *MTT* در روزهای یکم، سوم و پنجم بعد از همکشتی مورد بررسی قرار گرفت. **یافته‌ها:** نمای دوکی شکل سلول‌های میو اپی تلیال پس از استخراج و کشت به خوبی مشهود بودند. بررسی نشانگر اختصاصی این سلول‌ها با استفاده از روش فلوسایتومتری نشان داد که اکثر جمعیت سلول‌های میو اپی تلیال، نشانگر *CD10* را بیان کردند. همچنین نتایج حاصل از همکشتی سلول‌ها مشخص کرد که سلول‌های میو اپی تلیال به صورت معنی‌داری موجب مهار تکثیر و رشد سلول‌های کارسینومای پستانی در روزهای اول، سوم و پنجم بعد از همکشتی شدند ($P < 0.05$).

نتیجه گیری: به نظر می‌رسد کاربرد سلول‌های میو اپی تلیال در مهار سرطان، می‌تواند رویکرد جدید و کارآمدی جهت درمان سرطان پستان در آینده باشد.

واژگان کلیدی: سلول‌های میو اپی تلیال، سرطان پستان، بقای سلول

۱- کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات سرطان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران

۲- دکترای تخصصی آناتومی، مرکز تحقیقات سرطان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران

۳- کارشناسی ارشد ژنتیک، انستیتو پاستور، تهران

۴- کارشناسی ارشد ژنتیک، مرکز تحقیقات سرطان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران

۵- دکترای تخصصی فیزیولوژی پزشکی، استادیار مرکز تحقیقات سرطان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران

مقدمه

امروزه سرطان پستان شایع‌ترین نوع سرطان در زنان می‌باشد که سالیانه حدود ۱/۱ میلیون نفر به این نوع سرطان مبتلا می‌گردند و نتایج حاصل از مطالعات نیز نشان دهنده ی روند رو به رشد مبتلایان به آن می‌باشد (۱). در شرایط کنونی هیچ یک از روش‌های درمانی رایج بازده مناسبی جهت درمان و پیشگیری از پیشرفت بیماری در مراحل پیشرفته سرطان پستان را دارا نمی‌باشند (۳ و ۲). در این راستا، نتایج حاصل از مطالعات گذشته بر روی بدخیمی‌های پستان نشان می‌دهند که سلول‌های لومینال مهم‌ترین یاخته‌ها در شکل‌گیری بدخیمی‌های پستان و سلول‌های میوایی تلیال نقش مهمی در مهار سلول‌های بدخیم می‌توانند داشته باشند. سلول‌های لومینال ترشح‌کننده شیر به درون مجاری شیری می‌باشند که به همراه سلول‌های میوایی تلیال، ساختار اصلی بافت پوششی غدد شیری را به وجود می‌آورند. سلول‌های میوایی تلیال از نظر عملکردی مشابه سلول‌های بافت ماهیچه‌ای و اپی تلیالی می‌باشند و با ایجاد انقباض و فشار مکانیکی خروج شیر از مجاری شیری را تسهیل می‌کنند (۴) و این سلول‌ها دارای نقش کلیدی در تشکیل غشای پایه می‌باشند. مشاهده‌ها نشان می‌دهند که بدخیمی‌های پستانی با از بین رفتن سلول‌های میوایی تلیال و همچنین تخریب غشای پایه همراه می‌باشد (۵ و ۶) و مرگ ناحیه‌ای این سلول‌ها می‌تواند با بروز سرطان پستان در ارتباط باشد (۷).

مشخص گردید که سلول‌های میوایی تلیال از توان ذاتی در سرکوب رشد تومور، مهار مهاجم سلول‌های بدخیم و همچنین محدودسازی رگزایی در تومورهای پستانی برخوردار می‌باشند (۸ و ۱). تصور براین است که این توانایی تا حد زیادی با عملکرد پاراکرائینی این سلول‌ها و ترشح فاکتورهایی همچون کالولین-۱، کالپونین و کانکسین (۹)، موسبین (۱۰)، اکتیوین (۱۲ و ۱۱) و اکسی توسین (۱۳ و ۶) (که به‌عنوان

پروتئین‌های سرکوبگر تومور نیز نامیده می‌شوند) در ارتباط باشد. همچنین این سلول‌ها از ظرفیت ترمیم DNA بالایی برخوردار بوده و ژن‌های سرکوبگر رشد تومور تیپ ۲ را به میزان بالایی بیان می‌کنند (۸). از سوی دیگر با مطالعه بر روی سلول‌های میوایی تلیال استخراج شده از تومور کارسینومای مجاری شیری مشخص گردید که این سلول‌ها برخلاف سلول‌های میوایی تلیال مشتق از بافت پستانی سالم منجر به تحریک رشد، مهاجرت و تهاجم سلول‌های تومور پستان می‌گردند (۱۴). از این رو درک هرچه بیشتر ماهیت سرطان پستان جهت توسعه روش‌های درمانی موثر آن، امری ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین هدف مطالعه تجربی حاضر استخراج و کشت سلول‌های میوایی تلیال از بافت پستانی سالم و موش‌های آزمایشگاهی و بررسی توان این سلول‌ها در مهار رشد سلول‌های سرطان پستان می‌باشد.

روش بررسی

مواد: رده‌ی سلولی سرطان پستان موشی MC4-L2 وابسته به گیرنده استروئیدی که توسط پروفیسور کلودیو لاناری، دانشگاه بوینس ایرس، آرژانتین به گروه تحقیقاتی حاضر هدیه شده است (۱۵). Methylthiazoltetrazolium (MTT)، بافر فسفات (PBS)، زایلازین و کتامین از شرکت سیگما (Sigma Aldrich St Louis, MO, USA) خریداری شد. محیط کشت Dulbecco's Modified Eagle's (DMEM)، Fetal Bovine Serum (FBS)، پنی سیلین و استرپتومایسین نیز از شرکت Invitrogen خریداری گردید.

جداسازی غدد پستانی: سلول‌های میوایی تلیال از غدد پستان موش بالغ سی ماده ۶ تا ۸ هفته (خریداری شده از انستیتو پاستور کرج) استخراج و کشت داده شدند. تمامی مراحل انتقال حیوانات و انجام جراحی تحت دستورالعمل کار با حیوانات آزمایشگاهی وزارت بهداشت و کمیته‌ی اخلاق

به‌طور متوسط سه بار در هفته تعویض گردید (۱۸). پس از گذشت دو هفته از کشت سلول‌ها، سلول‌های حاصل از پاساژ دوم و سوم با استفاده از دستگاه فلوسایتومتری از نظر بیان نشانگر اختصاصی سلول‌های میوایی تلیالی مورد آزمایش قرار گرفتند.

بررسی نشانگر اختصاصی میوایی تلیال با استفاده از فلوسایتومتری: به‌منظور بررسی نشانگر اختصاصی سلول‌های میوایی تلیال، پس از گذشت حدود دو هفته از کشت، سلول‌ها با استفاده از دستگاه فلوسایتومتری از نظر بیان نشانگر CD10 مورد شمارش قرار گرفتند. شمارش سلول‌های میوایی تلیال و FACScan، طبق پروتکل دستگاه و با توجه به میزان بیان نشانگر سطحی سلول‌های میوایی تلیال (CD10) و نمای هیستولوژیکی سلول‌ها در انستیتو پاستور ایران انجام گرفت. در این راستا، تعداد 10^6 بر میلی‌لیتر سلول میوایی تلیال در محلول L15 حاوی ۱۰ درصد FCS به همراه آنتی بادی ضد CD10 فلورسئین ایزوتیوسیانات (Clone M1/69, BD Biosciences, Oxford, UK, 0.5 μ g/ml) به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس با استفاده از محلول L15 حاوی ۱۰ درصد FCS شسته شدند و در محلول حاوی L15، ۱۰ درصد FCS و ۰/۰۱ درصد فینیل دی‌امینوکلراید ۲-۴-۶ رسوب داده شدند. در ادامه تجزیه و تحلیل نمونه‌ها توسط سیستم BD FACS antage SE (BD Biosciences) مجهز به دو سیستم منسجم آرگون یون لیزر ۹۰ C-4 (Coherent, Santa Clara, CA, USA) در طول موج‌های ۴۸۸ نانومتر و ۳۳۳/۶ تا ۳۳۳/۸ نانومتر انجام شد (۱۹ و ۱۸).

همکشتی سلول‌های میوایی تلیال با رده سلولی کارسینومای پستانی و بررسی توان بقای سلول‌ها: به‌منظور بررسی توان مهارکنندگی سلول‌های میوایی تلیال بر رشد و تکثیر سلول‌های سرطان پستان از رده‌ی سلولی MC4-L2 استفاده گردید. سلول‌های MC4-L2 ابتدا در محیط کشت

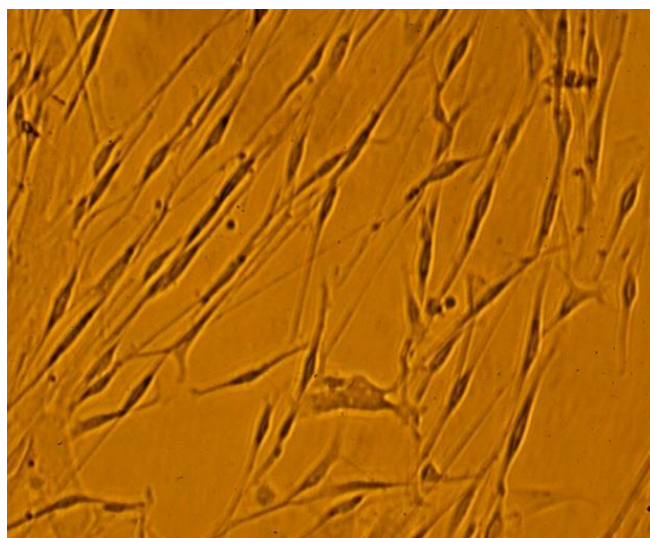
دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گردید. برای این منظور ابتدا ۵ سر از حیوانات با استفاده از کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند (۱۷ و ۱۶). سپس ناحیه‌ی شکمی حیوان با استفاده از اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی گردید و پس از فیکس کردن حیوانات بر سطح صفحه‌ی جراحی، برشی در جهت خط میان شکمی حیوانات با استفاده از اسکالپل ایجاد شد. پس از جدا کردن کامل پوست حیوان از بافت پوست، در شرایط استریل نمونه بافت پستان از پوست حیوان جدا گردید و به‌منظور انتقال به آزمایشگاه کشت سلول، درون محلول Hanks حاوی ۱۰۰ واحد بین‌المللی بر میلی‌لیتر پنی‌سلین و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر استرپتومایسین قرار داده شدند.

استخراج و کشت سلول‌های میوایی تلیال: پس از انتقال بافت‌ها به آزمایشگاه کشت سلول، بافت‌های جدا شده در زیر هود به درون ظرف پتری انتقال داده شدند و توسط اسکالپل استریل به قطعات کوچک تقسیم گردیدند. سپس قطعات بافتی به فلاسک‌های کوچک با نسبت ۱ گرم بافت به ۱۰ میلی‌لیتر PBS حاوی آنتی بیوتیک و یک درصد کلان‌ناز انتقال داده شدند و به مدت ۳۰ تا ۹۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد مخلوط گردیدند. سپس نمونه‌ها، با فیلترهای ۳۰ میکرومتر فیلتر گردیدند. در ادامه به نمونه‌ها مقدار ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت DMEM-F12 حاوی ۵ درصد FBS اضافه گردید. پس از گذشت ۲ دقیقه، نمونه‌ها در انکوباتور حاوی ۵ درصد CO₂ در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد کشت داده شدند. سلول‌های چسبیده به کف ظرف به تدریج رشد کرده و پس از گذشت چند روز، زمانی که تراکم سلولی در بستر حدود ۸۵ درصد رسید، سلول‌ها با استفاده از محلول ۰/۲۵ درصد Trypsin/EDTA از بستر جدا و پس از سانتریفوژ به مدت ۷-۵ دقیقه با دور ۱۵۰۰ بر دقیقه پاساژ و به ظرف کشت بعدی منتقل شدند. در مدت زمان کشت سلول‌های میوایی تلیال، محیط کشت سلول‌ها

درصد و میزان بقای سلول‌های MC4-L2 تیمار شده با سلول‌های میوایی تلیال در مقایسه با سلول‌های MC4-L2 گروه کنترل در روزهای ۱، ۳ و ۵ پس از شروع همکشتی، با استفاده از آزمون MTT با سه بار تکرار آزمون، توسط روش ELISA در طول موج ۵۷۰ نانومتر بررسی گردید (۲۳-۲۱).
بررسی آماری: تفسیر داده‌های مطالعه‌ی حاضر با استفاده از آزمون‌های تی و آنوای یک طرفه انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از فلوسایتومتری با استفاده از سیستم BD FACSV antage SE (BD Biosciences) انجام گردید و $P < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

مورفولوژی سلول‌های میوایی تلیال: سلول‌های حاصل از کشت اولیه مورفولوژی چندقطبی نشان دادند و تنها تعداد معدودی از سلول به شکل دوک مشاهده گردیدند. بلافاصله پس از پاساژ سلول‌های حاصل از کشت اولیه در روز دوم، تعداد سلول‌های دارای نمای دوکی افزایش یافت. این سلول‌ها با نمای میله‌ای شکل یا کشیده با سیتوپلاسم کم رنگ و هسته واضح و مشخص (فیبروبلاست مانند) در زیر میکروسکوپ نوری به وضوح نمایش داده شده است (شکل ۱).

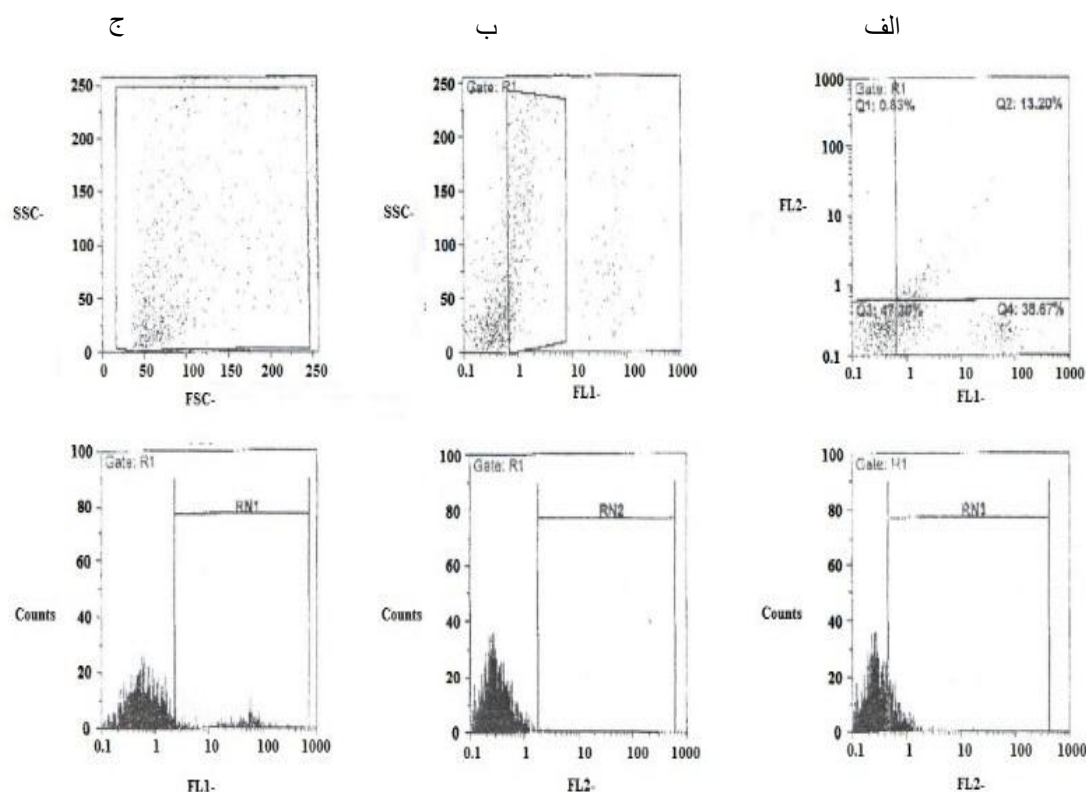


شکل ۱: نمایش سلول‌های میوایی تلیال پستانی موشی پس از جداسازی حاصل از پاساژ کشت دوم با مورفولوژی دوکی

DMEMF12 حاوی بافر HEPES، گلوتامین، پنی‌سیلین، استرپتومایسین و FBS ۱۰ درصد کشت داده شدند. هر دو روز یک بار نیمی از محیط کشت سلول‌ها تعویض می‌گردید (۲۰). طی فرایند همکشتی، به‌منظور جلوگیری از برهمکنش مستقیم سلولی مابین رده سلولی MC4-L2 و سلول‌های میوایی تلیال، ابتدا تعداد 5×10^5 از سلول میوایی تلیال حاصل از پاساژ سوم بر سطح صفحات فیلتر Transwell (SPL Life Sciences Co., Ltd) ۶ چاهکه با ضخامت ۴ میکرومتر کشت داده شدند. تعداد 6×10^5 از رده سلولی MC4-L2 نیز در پلیت ۶ چاهکه کشت داده شدند. هر دو نوع سلول در محیط کشت high glucose Dulbecco's Modified Eagle Medium حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی و ۱۰۰۰ واحد بر میلی‌لیتر پنی‌سیلین / استرپتومایسین (Gibco) در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد در انکوباتور مرطوب حاوی ۵ درصد CO_2 کشت داده شدند. سپس پلیت‌های فیلتر دار حاوی سلول‌های میوایی تلیال در بالای پلیت‌های ۶ چاهکه حاوی سلول‌های MC4-L2 به منظور ایجاد ارتباط سلولی قرار گرفته و در انکوباتور قرار داده شدند. یک پلیت ۶ خانه فقط حاوی سلول‌های MC4-L2 به‌عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد.

سلول‌های $CD10^+$ مشخص گردید (شکل ۲):
الف: $CD10^{High}$ (۵/۵ درصد \pm ۶۹/۹)، ب: $CD10^{Low}$
ج: $CD10^{Negative}$ (۵/۶ درصد \pm ۲۲/۲) و ج: $CD10^{Negative}$ (۱/۵ درصد \pm ۶/۳).
این نتایج حاصل بررسی ۱۵ نمونه مستقل می‌باشند.

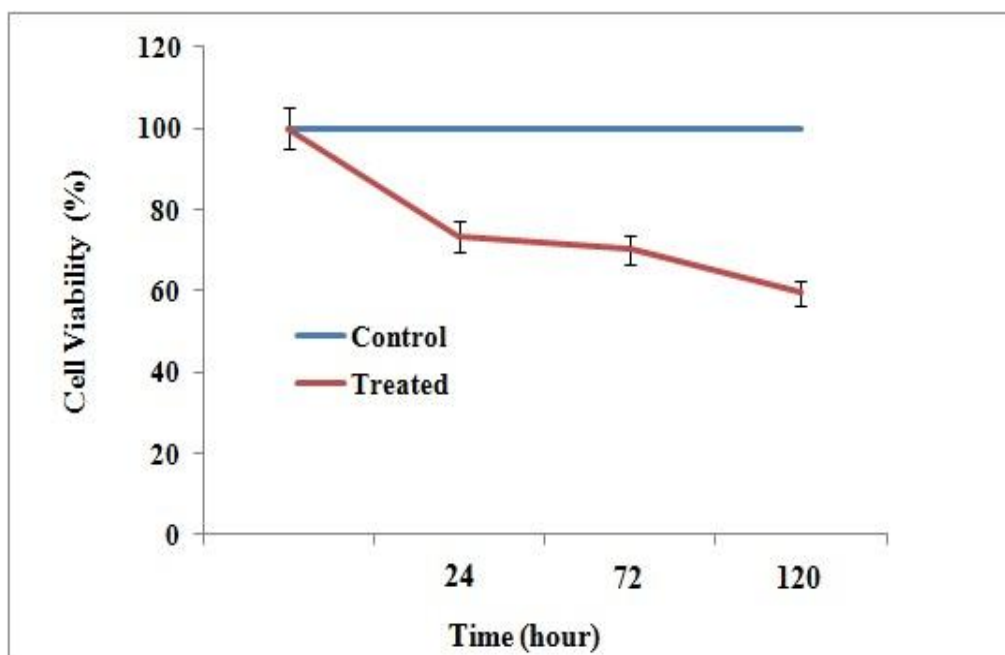
داده‌های مرتبط با فلوسایتمتری: مطالعات حاصل از بررسی نشانگر اختصاصی سلول‌های میوایی تلیال سالم مشخص کرد که این سلول‌ها سطح بالایی از نشانگر $CD10$ را بیان کردند (۲۴). بر این اساس با بررسی فلوسایتمتری سلول‌های حاصل از پاساژ دوم و سوم به‌طور مداوم سه جمعیت از



شکل ۲: بررسی خلوص سلول‌های میوایی تلیال $CD10^+$ با استفاده از سیستم فلوسایتمتری؛ این سلول‌ها نسبت به بیان نشانگر $CD10$ به سه جمعیت الف: $CD10^{High}$ (۵/۵ درصد \pm ۶۹/۹)، ب: $CD10^{Low}$ (۵/۶ درصد \pm ۲۲/۲) و ج: $CD10^{Negative}$ (۱/۵ درصد \pm ۶/۳) مشاهده شدند.

سلول‌های MC4-L2 برخوردار می‌باشند. با توجه به نتایج حاصل (شکل ۳)، تکثیر سلول‌های MC4-L2 توسط سلول‌های میوایی تلیال در زمان‌های ۲۴، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت پس از همکشتی به‌طور معنی‌داری مهار شده است ($P < 0.05$).

میزان بقای سلول‌های کارسینوما پستانی پس از همکشتی با سلول‌های میوایی تلیال: نتایج MTT حاصل از همکشتی سلول‌های میوایی تلیال با سلول‌های MC4-L2 توسط روش Transwell نشان دادند که سلول‌های میوایی تلیال استخراج شده از توان مناسبی جهت مهار تکثیر



شکل ۳: نمودار بقای سلول‌های سرطانی پستان در زمان‌های ۲۴، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت پس از همکشتی با سلول‌های میوایی تلیال با آزمون *MTT*

بحث

هدف از مطالعه‌ی حاضر استخراج و کشت سلول‌های میوایی تلیال پستانی موش و بررسی توان این سلول‌ها در مهار رشد سلول‌های کارسینومای پستانی می‌باشد. نتایج حاصل از بررسی نشانگر اختصاصی سلول‌های میوایی تلیال در مطالعه ما همانند مطالعات گذشته مشخص کرد که این سلول‌ها از توان بالایی در بیان نشانگر $CD10$ برخوردار هستند (۲۴). در این راستا، در طی روند استخراج و کشت سلول‌های میوایی تلیال، با استفاده از سیستم فلوسایتومتری، مشاهده شد که بیش از ۹۲ درصد از جمعیت سلول‌های حاصل از پاساژ دوم و سوم نشانگر $CD10$ را بیان کردند که به سه جمعیت شامل $CD10^{High}$ (۵/۵ درصد \pm ۶۹/۹)، $CD10^{Low}$ (۵/۶ درصد \pm ۲۲/۲) و $CD10^{Negativ}$ (۱/۵ درصد \pm ۶/۳) تقسیم گردیدند (شکل ۲). همچنین بلافاصله پس از پاساژ دوم سلول‌های حاصل از کشت اولیه، تعداد سلول‌های دارای نمای دوکی

افزایش یافت (شکل ۱) که نشان دهنده‌ی ظرفیت نسبتاً بالایی روش مورد استفاده در استخراج این سلول‌ها می‌باشد. از این رو به نظر می‌رسد که بیشتر جمعیت سلول‌های کشت داده شده شامل سلول‌های میوایی تلیال بوده و روش کشت حاضر از توان مناسبی جهت استخراج و کشت سلول‌های میوایی تلیال برخوردار می‌باشد.

در قسمتی دیگر از مطالعه‌ی حاضر، نشان داده شد که تکثیر سلول‌های کارسینومای پستانی توسط سلول‌های میوایی تلیال استخراج شده در زمان‌های ۲۴، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت پس از همکشتی به‌طور معنی‌داری مهار گردید (شکل ۳). مکانیزم‌های مهار سلول‌های میوایی تلیال بر توان تکثیر سلول‌های تومور پستان تا حد زیادی مبهم می‌باشد، با این حال مطالعات گذشته نشان دادند که این سلول‌ها در حالت نرمال از توان ذاتی در سرکوب رشد تومور و همچنین مهار تهاجم سلول‌های بدخیم برخوردار می‌باشند (۱۸). گزارش

سلول‌های میوایی تلیال از بافت پستانی سالم رویکردی نوین و کارآمد جهت بهره‌گیری از این سلول‌ها به‌منظور سلول درمانی سرطان پستان باشد.

تقدیر و تشکر

مقاله‌ی حاضر حاصل طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران در سال ۱۳۹۲ به کد ۱۶۱۲۸ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران صورت گرفته است که بدین وسیله نویسندگان کمال تشکر و قدردانی را از مسوولین ابراز می‌نمایند.

References

- 1- Alizadeh AM, Shiri S, Farsinejad S. Metastasis review: from bench to bedside. *Tumor Biology*. 2014; 35: 8483-523.
- 2- Ranji P, Heydari Z, Alizadeh AM. Nanobiotechnological approaches to overcome drug resistance in breast cancer. *Curr cancer Drug Targets*. 2015; 15: 544-62.
- 3- Farsinejad S, Gheisary Z, Samani SE, Alizadeh AM. Mitochondrial targeted peptides for cancer therapy. *Tumor Biology*. 2015; 36: 5715-25.
- 4- Pandey PR, Saidou J, Watabe K. Role of myoepithelial cells in breast tumor progression. *Front Bio Sci*. 2010; 15: 226-36.
- 5- Ronnov-Jessen L, Petersen OW, Bissell MJ. Cellular changes involved in conversion of normal to malignant breast: importance of the stromal reaction. *Physiol Rev*. 1996; 76: 69-125.
- 6- Imanieh MH, Bagheri F, Alizadeh AM, Ashkani-Esfahani S. Oxytocin has therapeutic

محققین پیشین نشان می‌دهد که این سلول‌ها سطح بالایی از پروتئین‌های اختصاصی سرکوبگر رشد تومور همچون کالولین-۱، کالپونین و کانکسین (۹)، موسبین (۱۰)، اکتیوین (۱۱ و ۱۲) و اکسی توسین (۱۳ و ۱۴) را ترشح کرده و ژن‌های سرکوبگر رشد تومور تیپ ۲ را به میزان بالایی نیز بیان می‌کنند (۸). تصور بر این است که این عملکرد پاراکرائی سلول‌های میوایی تلیال دارای نقش کلیدی در کنترل ریزمحیط و نهایتاً سرکوبگر رشد تومور می‌باشد. از این رو با توجه به نتایج حاصل از مطالعات پیشین و نتایج حاصل مطالعه تجربی حاضر، مبنی بر توان مناسب سلول‌های میوایی تلیال در مهار رشد سلول‌های سرطانی به‌نظر می‌رسد استخراج و کشت

effects on cancer, a hypothesis. *Eur J pharmacol*. 2014; 741: 112-23.

7- Man Y-G, Sang Q-XA. The significance of focal myoepithelial cell layer disruptions in human breast tumor invasion: a paradigm shift from the "protease-centered" hypothesis. *Exper Cell Res*. 2004; 301: 103-18.

8- Barsky SH. Myoepithelial mRNA expression profiling reveals a common tumor-suppressor phenotype. *Exper Mol Pathol*. 2003; 74: 113-22.

9- Hirschi KK, Xu C, Tsukamoto T, Sager R. Gap junction genes Cx26 and Cx43 individually suppress the cancer phenotype of human mammary carcinoma cells and restore differentiation potential. Cell growth and differentiation-publication. *Am Assoc Cancer Res*. 1996; 7: 861-70.

10- Maass N, Hojo T, Zhang M, Sager R, Jonat W, Nagasaki K. Maspin-a novel protease inhibitor with tumor-suppressing activity in breast

- cancer. *Acta Oncologica*. 2000; 39: 931-4.
- 11- Agarwal VR, Bhatia D, Joshi A, et al. P7170, a novel inhibitor of phosphoinositide 3-kinase (PI3K)-mammalian target of rapamycin (mTOR) and activin receptor-like kinase 1 (ALK1) shows anti-tumor activity in triple negative breast cancer. *Cancer Res*. 2014; 74: 4521-28.
- 12- Liu QY, Niranjana B, Gomes P, et al. Inhibitory effects of activin on the growth and morphogenesis of primary and transformed mammary epithelial cells. *Cancer Res*. 1996; 56: 1155-63.
- 13- Alizadeh AM, Mirzabeglo P. Is oxytocin a therapeutic factor for ischemic heart disease? *Peptides*. 2013; 45: 66-72.
- 14- Allinen M, Beroukhi R, Cai L, Brennan C, et al. Molecular characterization of the tumor microenvironment in breast cancer. *Cancer Cell*. 2004; 6: 17-32.
- 15- Lanari C, Lüthy I, Lamb CA, et al. Five novel hormone-responsive cell lines derived from murine mammary ductal carcinomas: in vivo and in vitro effects of estrogens and progestins. *Cancer Res*. 2001; 61: 293-302.
- 16- Alizadeh AM, Sadeghizadeh M, Najafi F, et al. Encapsulation of curcumin in diblock copolymer micelles for cancer therapy. *Bio Med Res Int*. 2015; 2015: 824746.
- 17- Khodayari S, Alizadeh A, Kouhpayeh S, et al. The acute and chronic toxicity effects of alpha-solanine in mice. 2013; 15: 24-31.
- 18- Farhanji B, Latifpour M, Alizadeh AM, et al. Tumor suppression effects of myoepithelial cells on mice breast cancer. *Eur J Pharmacol*. 2015; 765: 171-8.
- 19- Hosseinpour Z, Hashemi S, Salehi E, Ghazanfari T. Mesenchymal stem cell isolation from adipose tissue and lung of BALB/c murine and comparison of their immunophenotype. *J Zanzan Univ Med Sci*. 2013; 21: 17-29.
- 20- Johari-Ahar M, Barar J, Alizadeh AM, Davaran S, Omidi Y, Rashidi M-R. Methotrexate-conjugated quantum dots: synthesis, characterisation and cytotoxicity in drug resistant cancer cells. *J Drug Target*. 2015: 1-14.
- 21- Farhang B, Alizadeh AM, Khodayari H, et al. Protective effects of dendrosomal curcumin on an animal metastatic breast tumor. *Eur J Pharmacol*. 2015; 758: 188-96.
- 22- Mohsenikia M, Alizadeh AM, Khodayari S, et al. The protective and therapeutic effects of alpha-solanine on mice breast cancer. *Eur J Pharmacol*. 2013; 718: 1-9.
- 23- Baharara J, Zafar Balanejad S, Hesami Z. The impact of atorvastatin on progress and proliferation of MCF7 breast cancer cell line. *J Zanzan Univ Med*. 2013; 21: 1-11.
- 24- Moritani S, Kushima R, Sugihara H, Bamba M, Kobayashi TK, Hattori T. Availability of CD10 immunohistochemistry as a marker of breast myoepithelial cells on paraffin sections. *Modern Pathol*. 2002; 15: 397-405.

Assessment of Cell Growth Inhibitory Effects of Myoepithelial Cells on Breast Carcinoma Cell line

Khodayari H¹, Latifpour M¹, Azizi E², Khodayari S¹, Farhangi B¹, Zahedi A¹, Alizadeh AM¹

¹Cancer Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

²Pasteur Institute, Tehran, Iran

Corresponding author: Cancer Institute, Cancer Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

E-mail: aalizadeh@sina.tums.ac.ir

Received: 5 Aug 2015 **Accepted:** 28 Dec 2015

Background and Objective: Breast tumors include the heterogeneous population of various cells such as luminal and myoepithelial cells which can play a significant role in the development and/or the inhibition of breast cancer. It has been observed that paracrine and autocrine activities of myoepithelial cells can limit the mammary tumors via angiogenesis inhibition and apoptosis induction. Therefore, the present study was set to isolate mice mammary myoepithelial cells and to assess their cell death-inducing potential in the breast carcinogenic cells.

Materials and Methods: In this experimental study following the primary culture of mice-isolated myoepithelial cells, specific marker of the myoepithelial cells was determined by flow cytometry analysis. Then, myoepithelial cells were co-cultured with breast carcinoma cells, and the viability of cells was assayed by MTT on the 1st, 3rd, and 5th days after co-culture.

Results: The isolated cells were spindle shaped and elongated. Flow cytometric analysis showed cells with myoepithelial marker including CD10 expression. The co-culture results elicited that the myoepithelial cells significantly inhibited the proliferation and the growth of breast carcinoma cells on the 1st, 3rd, and 5th days after co-culture ($P < 0.05$).

Conclusion: Implementation of myoepithelial cells in the inhibition of mammary cancerous cells is postulated as a new and an efficient approach for cancer therapy.

Keywords: Myoepithelial cells, Breast tumor, Cell survival