4th National Conference on Interdisciplinary Research in Management & Medical Science
17 July 2022-Tehran
OxfordCert Universal
۴ چهارمین همایش ملی تحقیقات میان رشته ای در مدیریت و علوم پزشکی
۲۶ تیر ۱۴۰۱ محل برگزاری: تهران

سرطان سینه، ژن‌های مرتبط و CRISPR

عالم‌آرا غلامی
استادیار، گروه علوم و فناوری های زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، ساری، ایران
alamaragholami.uni@gmail.com

مبینا قاسمی
باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران
mobinaghasemi899@gmail.com

فاطمه مطیعی بجارپسی
دانشجوی کارشناسی پیوسته علوم آزمایشگاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، ساری، ایران
Fatememotieebe@gmail.com

محمدرضا باباپور روشن
دانشجوی کارشناسی پیوسته علوم آزمایشگاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، ساری، ایران
Babapor.mohammadreza@gmail.com

سامان روزبه (نویسنده مسئول)
باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران
saman.rouzbeh1380@gmail.com

محمدجواد لطفی نودهی
دانشجوی کارشناسی پیوسته علوم آزمایشگاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، ساری، ایران
Mohammadjavadlotfi87@gmail.com

چکیده

سرطان سینه یکی از معمول‌ترین بدخیمی‌های زنان، در سراسر جهان است. ژن‌های متعددی مرتبط با سرطان سینه کشف شده است، اما محققان تعداد کمی از آنها را به خوبی شناخته‌اند. CRISPR، فناوری جدید ویرایش ژنومی می‌باشد، که به تازگی مورد استفاده قرار گرفته اما در همین مدت کوتاه، کاربرد گسترده‌ای در زمینه تحقیقات سرطان داشته است. طی تحقیقات ارتباط بین جهش ژن BRCA1 و TNBC (سرطان سینه سه‌گانه منفی) روشن شد. بنا به یافته‌ها، شش ژن CDM مرتبط با سرطان سینه کشف شده است. همچنین مشخص شد که استفاده از CRISPR در بیان نشدن ژن FASN به کاهش تکثیر و متاستاز سلول‌های سرطانی کمک می‌کند. علاوه بر ژن‌ها، پژوهش‌ها نشان می‌دهد که کموکاین‌های متعددی در بروز سرطان سینه نقش دارند. به عنوان مثال CXCL12 در بعضی اندام‌ها مانند کبد، غدد لنفاوی و ... به میزان بالایی بیان می‌شود، که نتیجه آن متاستاز آسان سلول‌های سرطانی به این اندام‌ها است. همچنین بیان بالای این کموکاین باعث متاستاز و پیش آگهی ضعیف می‌شود. در این مقاله مروری بر ارتباط

www.SID.ir

ژن‌های مختلف و سرطان سینه، عوامل دخیل در بروز این سرطان و همچنین درمان بیماری از طریق فناوری CRISPR داشتیم که هرکدام به تفصیل بیان گردیده است.

واژگان کلیدی: سرطان سینه، ژن‌های سرطانی، CRISPR، TNBC

مقدمه

سرطان سینه شایع‌ترین سرطان تشخیص داده شده در زنان است؛ به طوریکه، تقریباً از هر 4 سرطان در زنان، 1 مورد به عنوان سرطان سینه (BC) تشخیص داده می‌شود. علی رغم پیشرفت‌های چشمگیر در روند تشخیص و درمان BC، بسیاری از بیماران دچار متاستاز یا عود می‌شوند و متاسفانه تا به حال درمانی برای سرطان متاستاتیک سینه کشف نشده است. همچنین حدود 12 تا 17 درصد از بیماران ، مبتلا به سرطان سینه سه گانه منفی (TNBC) هستند. TNBC یک زیرگروه هتروژن تهاجمی از سرطان سینه است، که با فقدان گیرنده استروژن (ER)، گیرنده پروژسترون (PR) و گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی نوع ۲ (HER2) مشخص می‌شود. به دلیل ناهمگونی TNBC و فقدان مارکرهای اختصاصی برای درمان، شیمی درمانی معمولا تنها گزینه درمانی امکان پذیر برای این بیماری می‌باشد. از این رو، راهبردهای درمانی جدید مورد نیاز است، که بتواند به طور کارآمد سلول‌های بدخیم را از بین ببرد و جلوی پیشرفت بیماری را بگیرد. در این زمینه فن آوری CRISPR فرصت‌های منحصر به فرد و متنوعی را ارائه می‌دهد[1-3].

استفاده از CRISPR/Cas9 اولین بار برای استفاده در ویرایش ژنوم در سال 2013 اقتباس شد. سادگی، سهولت استفاده و تطبیق پذیری این روش باعث شده است، تا استفاده گسترده در تمام زمینه‌های تحقیقات سرطان داشته باشد. روش کارآمد مکانیسم‌های CRISPR، ترمیم ژن با درج یا حذف جدید توالی و یا با خاموش کردن ژن و جلوگیری از بیان آن، می‌باشد. اکنون CRISPR این امکان را فراهم کرده است، تا بتوان برای درمان افرادی که از TNBC رنج می‌برند، از روش‌های نوینی استفاده کرد. به طور کلی، سیستم CRISPR/Cas9 را می‌توان در درمان BCs برای ایجاد دقت بسیار موثر در داروها استفاده کرد. با بهینه سازی بیشتر، این سیستم‌ها ممکن است با تولید درمان‌هایی که بر محدودیت‌های پیش رو غلبه می‌کند، درمان‌های فعلی و به طور قابل توجهی بقا را در بیماران مبتلا به BC بهبود بخشند[1,3].

به علاوه از CRISPR/Cas9 می‌توان برای توسعه ژن درمانی نیز استفاده کرد. این روش می‌تواند سلول‌های ایمنی را مهندسی کند تا آنها علیه سلول‌های سرطانی هدایت و تقویت شوند[4,5].

گیاه Thaliana مدلی برای بسیاری از تحقیقات ژنتیکی است. در تحقیقات ژنتیکی انسانی، ژن‌های زیادی در این گیاه وجود دارد که آنها را با انسان به اشتراک می‌گذارد. در ادامه از این گیاهی به عنوان مدلی برای سرطان سینه استفاده شده‌است. ویرایش ژن، یکی از مهم‌ترین ابزارها برای مطالعه تغییرات توالی‌های DNA، شامل جهش، حذف و اصلاح در محل خاصی از توالی‌های نوکلئوتیدی می‌باشد، که ابزار بسیار موثر در این زمینه، ژن CRISPR/Cas9 است. طراحی یک توالی هدف مناسب، مرحله‌ای مهم در موفقیت فناوری CRISPR/Cas9 می‌باشد. برای دستیابی به ویرایش کارآمد ژنوم در داخل بدن، یک وکتور برای رساندن اجزا به سلول‌های هدف مورد نیاز است. نانومواد طلا به دلیل داشتن بسیاری از ویژگی‌های سودمند در این زمینه، به طور گسترده به عنوان ناقل مورد استفاده قرار می‌گیرد. بررسی‌ها کاربردهای درمانی CRISPR/Cas9 و نقش نانومواد طلا و پتانسیل آنها در ارائه این روش برای درمان BCها را برجسته نشان می‌دهند[2,3].

رویکردهای درمانی جدید با درک ما از رابطه بین ساختارهای ثانویه DNA ، تغییرات اپی ژنتیکی و افزایش بیان ژن ظاهر می‌شوند، که ممکن است منجر به تنظیم قوی ژن و بازنشانی سلول‌های سرطانی EMP از طریق فناوری CRISPR شوند. با این حال، قبل از

www.SID.ir

اینکه فناوری CRISPR بتواند به عنوان یک درمان سرطان مورد استفاده قرار گیرد، توسعه انتقال ژن غیر ویروسی ضروری است و همکاری‌های چند رشته‌ای بین آزمایشگاه‌ها در این زمینه‌ها بسیار مهم است. علاوه بر این، تحویل موقت CRISPR همچنان یک گلوگاه است که با بازده درمانی پایین و منع از نفوذ تومور همراه است. به طور کلی، فرصت‌های زیادی در افق پیش رو وجود دارد که درمان‌های خاص ژن یا مسیر ژنی را برای سرطان سینه امکان‌پذیر می‌سازد. هدف قرار دادن بیان ناهنجار ژن‌های دخیل در پیشرفت سرطان از طریق CRISPR و ایجاد مقاومت از طریقEMT ، پتانسیل ارائه درمان‌های جدید و بهبود مدیریت سرطان‌های بدخیم با درجه بالا از جمله سرطان متاستاتیک سینه را دارد[6-8].

BRCA1 ، ایفاکننده نقش در سرطان سینه سه گانه منفی (TNBC)

میزان متاستازهای سرطان سینه سه گانه منفی (TNBC) از سایر سرطان‌ها بیشتر است . از مطالعه دیگر پژوهش‌ها در میابیم بیمارانی که دارای جهش BRCA1 هستند، حداقل یک سوم به سرطان پستان سه گانه منفی (TNBC) مبتلا می‌شوند. درمان TNBC نه تنها به دلیل فقدان گیرنده‌های هدف مولکولی دشوار است، بلکه جهش‌های BRCA1 (BRCA1m) نیز منجر به مقاومت شیمی درمانی می‌شود و احتمال عود بیماری را بیشتر می‌کند [9-11].

BRCA1m بسیار هتروژن است؛ بنابراین هدف قرار دادن آن دشوار است، جفت کشنده مصنوعی ژن BRCA1 ، PARP1 ، در سلول‌های سرطانی BRCA1m حفظ می‌شود. بنابراین، فرض می‌شود که هدف قرار دادن PARP1 ممکن است یک اقدام ثمربخش برای حساس شدن سلول‌های سرطانی BRCA1m در مقابل شیمی درمانی باشد[2,12]

در مطالعه‌ای از CRISPR/Cas9 برای ایجاد کمبود PARP1 در دو رده سلولی در TNBC استفاده شد.(MDA-MB-231 (BRCA1 wild-type) and MDA-MB-436 (BRCA1m))

در هر دو BRCA1m و PARP1m ، سلول‌های TNBC به سه داروی ضد سرطان پستان، دوکسوروبیسین، جمسیتابین و دوستاکسل حساس‌تر بودند. در مجموع نتایج، اختلاف در اثربخشی ترکیب مهار PARP1 و شیمی‌درمانی را برای درمان TNBC برجسته می‌کند، که باید برای توجیه، آزمایش‌های بالینی بیشتری انجام شود[2,13].

به طور کلی، 5 تا 10 درصد از سرطان‌های سینه به وراثت یک جهش در ژن سرکوبگر تومور BRCA1 نسبت داده می‌شود[14].

مهار PARP1و BRCA1 هر یک به تنهایی کشنده نیست، اما ترکیب این دو، یک استراتژی درمانی را پیشنهاد می‌کند که از این کشندگی مصنوعی استفاده می‌کند.

آنزیم‌های PARP عمدتاً در ترمیم شکست DNA تک رشته‌ای نقش دارند، در حالی که BRCA1 در چندین مسیر ترمیم DNA نقش دارد. مهار PARP1 باعث تجمع شکستگی‌های DNA تک رشته‌ای شده که منجر به توقف چنگال‌های همانندسازی می‌شود. از آنجایی که مکانیسم‌های ترمیم در سلول‌های BRCA1m وجود ندارند، این چنگال‌ها تکثیر متوقف شده، تخریب می‌شوند و شکستگی‌های DNA دو رشته‌ای را تشکیل می‌دهند. در نتیجه مطالعات، مهار PARP1 همراه با شیمی درمانی در کارآزمایی‌های بالینی به عنوان وسیله‌ای برای بهبود اثربخشی درمانی مورد آزمایش قرار گرفته‌اند، اما به طور مشابه، بهبود محدودی یافت شد[15].

در حالی که پارادایم کشندگی مصنوعی ژنتیکی ممکن است برای TNBC نوید درمانی داشته باشد، ترکیب داروهای مهارکننده PARP1 با شیمی درمانی برای بهره بردن از این رابطه ژنتیکی ممکن است چالش برانگیزتر از حد انتظار باشد[2].

به طور خلاصه، CRISPR/Cas9 برای مختل کردن PARP1، جفت کشنده مصنوعی BRCA1 ، طراحی و بهینه‌سازی شد. در حالی که نتایج 2 بعدی in vitro نشان داد که PARP1m با واسطه CRISPR/Cas9 سلول‌های TNBC را با BRCA1m نسبت به

www.SID.ir

داروهای شیمی‌درمانی حساس می‌کند، دوگانگی بین نتایج تومور روی تراشه دو بعدی و سه بعدی وجود داشت که منعکس کننده ناسازگاری‌های یافت شده در آزمایش‌های بالینی اخیر است. در مجموع، روش ترکیب جهش‌زا با واسطه CRISPR/Cas9 و یک سیستم تومور روی تراشه سه بعدی ممکن است یک استراتژی مدل‌سازی بهتر برای غربالگری دارو باشد. با این حال، تحقیقات بیشتری برای درک مکانیسم های این تفاوت ها و پارادایم های دوز دارو مورد نیاز است که پس از آن می‌توان بر این موانع حیاتی غلبه کرده و بهترین راه را برای بهینه‌سازی درمان مبتنی بر PARP1m برای درمان BRCA1m TNBC تعیین نمود[2] .

ATBRCA1 ژن سرطان سینه در گیاه thaliana است، که برای ویرایش ژن مورد استفاده قرار می‌گیرد. در پژوهشی تعدادی پرایمر برای تشخیص این ژن طراحی شدند. ژن ATBRCA1 با طراحیsgRNA ، به عنوان یک هدف در DNA برای عملکرد کریسپر، به وسیله مجموعه‌ای از پرایمرها، قرار گرفت [16].

ژن‌های CDM ، موثر در سرطان سینه

ژن‌های نقشه وابستگی سرطان (CDM)، مجموعه‌ای از آزمایش‌های از دست دادن عملکرد مبتنی بر RNAi در مقیاس ژنوم را تشکیل می‌دهند.

از آنجایی که ژن‌های CDM در بقا و تکثیر سلول‌های تومور نقش دارند، ممکن است به عنوان اهداف درمانی جدید برای برخی از تومورهای بدخیم مورد استفاده قرار گیرند.

تاکنون تحقیقات کمتری در مورد دخالت ژن‌های CDM در سرطان سینه انجام شده است و فقط نقش درصد کمی از ژن‌های CDM در این سرطان، مورد مطالعه قرار گرفته است. در مطالعه‌ای اطلاعات بیماران مبتلا به سرطان سینه، از اطلس ژنوم سرطان (TCGA)، استخراج شد و با بهره‌گیری از این اطلاعات، ژن‌های CDM متفاوت بیان شده در سرطان سینه تعیین شد.

در پژوهشی، انواعی از تکنیک‌های بیوانفورماتیک برای ارزیابی عملکرد و پیش بینی ارتباط این ژن‌های CDM تایید شده، استفاده شد. در کل 290 ژنCDM ، به‌طور متفاوتی بیان شدند و مشخص شد که شش ژن CDM (SRF ،RAD51 ،PMF1 ،EXOSC3، EXOC1 و TSEN54) با پیش آگهی نمونه‌های سرطان پستان مرتبط هستند. بر اساس بیان ژن‌های CDM شناسایی شده، یک مدل برای پیش بینی ساخته شد، که بر اساس آن بیماران مبتلا به سرطان سینه به دو دسته تقسیم شدند. افراد با خطر بالا در ابتلا به سرطان سینه، بقای کلی بسیار ضعیف تری نسبت به بیماران در سایر گروه‌های در معرض خطر در TCGA داشتند.

سپس در مرحله بعد، برای ایجاد یک روش مفید درمانی، نوموگرامی با استفاده از شش ژن CDM کشف شده که در سرطان سینه موثر بوده‌اند، ایجاد شد. در این مرحله برای به دست آوردن تصاویر رنگی ایمونوهیستوشیمی، از ژن‌های CDM کشف شده موثر در سرطان سینه، از پایگاه اطلس پروتئین‌های انسانی، استفاده شد و مشخص شد که نسبت نفوذ تومور سلول‌های ایمنی و همچنین سطوح بیان ژن‌های نقطه بازرسی، به طور قابل توجهی بین دو گروه در معرض خطر متفاوت بود. به همین دلیل تجزیه و تحلیل پاسخ ایمنی و در نتیجه، یافته‌های این تحقیق، می‌توانست به درک ارزش پیش آگهی و نقش بیولوژیکی ژن CDM در سرطان سینه، کمک کند.

در پایان این پژوهش، یک مدل خطر مبتنی بر ژن CDM ساخته شد، که می‌توانست پیش آگهی بیماران مبتلا به سرطان سینه را پیش بینی کند. همچنین بیان متفاوت ژن CDM در این بیماران مشخص شد. علاوه بر اینها یک نوموگرام بالینی عملی که می‌تواند پیش آگهی بیماران سرطان سینه را پیش بینی کند، ساخته شد. اما در نهایت برای تأیید بیشتر نتایج، نیاز به تحقیقات بیشتری می‌باشد[17] .

www.SID.ir

FASN و سرطان سینه

FASN در لیپوژنز de novo و تنظیم سیگنال دهی ERα نقش دارد. با این حال، اثر جهش های ژنتیکی موثر بر FASN در سرطان پستان به طور کامل مورد مطالعه قرار نگرفته است؛ بنابراین، از سیستم CRISPR/Cas9 برای ویرایش مکان FASN در سلول‌های MCF-7 استفاده و اثر بیولوژیکی آن ارزیابی شد. چهار کلون حامل جهش و تغییر قالب در حوزه آسیل ترانسفراز FASN به دست آمد. پژوهشگران پی بردند که این کلون ها، تکثیر، مهاجرت و زنده ماندن را کاهش داده و تغییراتی را در چرخه سلولی نشان دادند. تجزیه و تحلیل RNA-Seq نشان می‌دهد که فقدان FASN ممکن است نقش مهم‌تری در ژن‌های مرتبط با تکثیر نسبت به متابولیسم لیپید داشته باشد. نتیجه آن شد که حذف های عملکردی در FASN به کاهش تکثیر و مهاجرت سلول‌های سرطان سینه بر خلاف جهش‌های نقطه‌ای در بیماران مبتلا به سرطان پستان کمک می‌کند[18].

فرآیند EMT و ارتباط آن با سرطان سینه

انتقال اپیتلیال به مزانشیمی (EMT) فرایندی است، که در آن سلول‌های اپیتلیال به حالت مزانشیمی تغییر می‌کنند، در بسیاری از جنبه‌های سرطان سینه مانند تومورزایی، متاستاز و مقاومت دارویی، نقش دارد. علی رغم ارتباط EMT با سرطان، EMT هیچ‌گاه یک هدف فعال برای درمان سرطان نبوده است، که این امر تا حدی به دلیل عدم وجود مدل‌های مناسب در شرایط آزمایشگاهی است[19].

5

در این پژوهش، از بیولوژی پایه EMT ، برای ایجاد یک مدل سلولی گزارشگر سرطان سینه متاستاتیک پیشرفته، در شرایط آزمایشگاهی برای استفاده در تحقیقات اساسی و کشف مهارکننده‌های جدید EMT استفاده شد.

در طول انجام فرآیند EMT ، بیان پروتئین E-cadherin (ECAD) در سلول‌های سرطانی مرتبط با آن، کاهش می‌یابد. در این فرایند از دست دادن چسبندگی سلول به سلول و قطبیت آپیکو پایه و تغییر در مورفولوژی دوکی شکل، با نصب یک برچسب پروتئین فلورسنت سبز زمردی (EmGFP) روی پایانه ژن ECAD در اپیتلیال رده سلولی سرطان سینه، از طریق فناوری ویرایش ژنوم CRISPR/Cas9، انجام می‌شود. در این حالت، وضعیت سلول‌های EMT نقطه پایانی، قابل ردیابی است.

رده سلولی BT-474 ECAD EmGFP، را می‌توان با بیان EmGFP و ظرفیت تهاجمی کنترل کرد. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که این سلول‌ها با نشان دادن کاهش ECAD و بیان EmGFP همراه با افزایش ظرفیت تهاجمی، به القای EMT پاسخ می‌دهند. علاوه بر این، این خط سلولی گزارشگر EMT، نشان می‌دهد که حساسیت به مهارکننده MEK1/2 U0126، مبنایی برای استفاده از این رده سلولی، در غربالگری با توان بالا (HTS)، مانند شناسایی داروهای جدید ضد EMT را برای سرطان سینه متاستاتیک، فراهم می‌کند. علاوه بر این، خط سلول BT-474 ECAD EmGFP ، یک مدل راحت و حساس برای تحقیقات علمی در مورد مکانیسم‌های متاستاز در سرطان‌ها به شمار می‌رود[20].

سرطان سینه یک بیماری بسیار ناهمگن و پیچیده است که بیماران فردی پروفایل‌های منحصر به فردی را نشان می‌دهند که توسط جهش‌ها، خاموش کردن یا فعال سازی ژن و درمان‌های گذشته ایجاد می‌شود. پیوند دادن هر یک از این پروفایل‌ها، بیان ژن غیرعادی است، که به نوبه خود می‌تواند برهمکنش‌های TF و در یک حلقه بازخورد، بیان ژن‌های دیگر را تغییر دهد. این اختلال در بیان ژن به علائم سرطان و فرآیندهایی مانند EMT از طریق تغییرات در اتصالTF ، کروماتین و علائم اپی ژنتیک کمک می‌کند. [21].

کموکاین‌ها و تاثیر آن‌ها در سرطان سینه

کموکاین‌ها و گیرنده‌های آن‌ها نقش مهمی در متاستاز و توسعه تومورها ایفا می‌کنند، اما مکانیسم‌های خاص آن‌ها در تأثیرگذاری بر متاستاز باید بیشتر مشخص شود. CXCL12 که به عنوان فاکتور مشتق از سلول‌های استرومایی شناخته می‌شود، با پیشرفت بسیاری

www.SID.ir

از سلول‌ها، به ویژه سلول‌های تومور مرتبط است و در بسیاری از اندام‌ها به شدت بیان می‌شود و در نتیجه متاستاز آسان سلول‌های سرطان سینه به این اندام‌ها، مانند غدد لنفاوی، کبد و ... ، ریه و مغز استخوان است. علاوه بر این، بیان بالای آن در سلول‌های سرطان پستان با تهاجم، متاستاز و پیش‌آگهی ضعیف همراه است. CXCL12 با گیرنده‌های همولوگ CXCR4 و CXCR7 برای تنظیم تکثیر سلولی، تهاجم، مهاجرت و رگ‌زایی در تعامل است[22,23].

CXCR4 به طور مداوم در سلول‌های سرطان پستان انسان بیان می‌شود و لیگاند آن CXCL12 ترجیحاً در ریه، کبد و لنفوم بیان می‌شود. به‌علاوه، CXCL12 یک اثر شیمیایی بر سلول‌های توموری بیان‌کننده CXCR4 نشان می‌دهد، که می‌تواند باعث ایجاد متاستاز خاص تومورها شود (کانون های متاستاتیک). بنابراین، تصور می‌شود که محور سیگنالینگ CXCL12/CXCR4 نقش کلیدی در ایجاد متاستاز سرطان سینه ایفا می‌کند.

CXCR7، گیرنده دیگر CXCL12 نقش پیچیده‌تری در پیشرفت سرطان سینه ایفا می‌کند و در سیستم عروقی تومورهای اولیه به شدت بیان می‌شود.

مطالعات نشان داده‌اند که CXCR7 در بافت سرطان سینه به میزان زیادی بیان می‌شود و باعث رشد، تکثیر، تهاجم و متاستاز سلول‌های تومور می‌شود. بعلاوه CXCR7 می‌تواند چسبندگی، تهاجم و رگ‌زایی سلولی را در شرایط آزمایشگاهی و رشد تومور را در داخل بدن افزایش دهد. مطالعات دیگر نشان داده‌اند که CXCR7 می‌تواند تکثیر و مهاجرت را تقویت کند. با این حال، مکانیسم خاص محور CXCL12/CXCR7 در تهاجم و متاستاز سرطان پستان نامشخص است.

مطالعات قبلی نشان داده است که بیان بیش از حد CXCL12 و گیرنده‌های آن CXCR4 و CXCR7 در سرطان پستان با پیش آگهی و متاستاز ضعیف همراه است و سطح بیان آنها در TNBC بیشتر از سایر انواع سرطان پستان است. در این مطالعه، تکنیک CRISPR/Cas9 برای حذف تکی و حذف همزمان ژن هدف CXCR4 یا CXCR7 در سلول‌های TNBC (MDA-MB-231) ، برای بررسی تغییر در عملکردهای بیولوژیکی (مانند تکثیر، مهاجرت و تهاجم) سلول‌های TNBC، و برای بررسی اثرات بیولوژیکی CXCL12 بر روی سلول‌های کنترل و حذف، که همگی می‌توانند نقش کموکاین CXCL12 و گیرنده‌های آن CXCR4 و CXCR7 را در فرآیند متاستاز TNBC روشن کنند و ارائه دهند.

در انتهای این پژوهش نتایج نشان داد که حذف تکی ژن CXCR4 یا CXCR7 به طور قابل توجهی تکثیر سلولی، رشد، مهاجرت و تهاجم را کاهش داد و تبدیل چرخه G1/S را به تاخیر انداخت، در حالی که حذف همزمان، این توانایی‌های بیولوژیکی را به میزان قابل توجهی مهار کرد. در هر دو گروه حذفی و کنترل، مهاجرت و تهاجم سلول‌های اضافه شده با CXCL12 به‌طور قابل‌توجهی قوی‌تر از سلول‌های بدون CXCL12 بود، و CXCL12 باعث مهاجرت و تهاجم کمتری در گروه حذف CXCR4 و CXCR7 شد[9].

اینتگرین‌ها و تاثیر آن‌ها در سرطان سینه

اینتگرین‌ها پروتئین‌های هترودیمری و گذرا متشکل از یک زیرواحد α و β هستند، که به عنوان گیرنده‌های سطح سلولی اصلی برای چسبندگی سلول به ماتریکس خارج سلولی (ECM) عمل می‌کنند[24].

فرسایش بیان اینتگرین با واسطه CRISPR در زمینه‌های مختلف اعمال شده است. هنگام بررسی یک ژن اینتگرین، منطقی به نظر می‌رسد که پیش بینی کنیم که استفاده از CRISPR برای کاهش بیان آن یا RNAi برای سرکوب بیان آن ممکن است منجر به فنوتیپ‌های مشابه شود. با این حال، یک هشدار مهم این است که RNAi معمولا باعث کاهش بیان ژن هدف می‌شود، در حالی که CRISPR ممکن است منجر به فرسایش کامل آن شود. اینتگرین α3β1 متصل شونده به لامینین باعث رشد تومور، تهاجم و متاستاز سلول‌های سرطان سینه می‌شود، اگرچه این نقش ممکن است وابسته به زمینه باشد. مطالعات با استفاده از RNAi برای از بین بردن

www.SID.ir

زیرواحد اینتگرین α3 در سلول‌های سرطان سینه، تنظیم ژن وابسته به α3β1 را شناسایی کرده‌اند، که باعث رشد و تهاجم سلول‌های تومور می‌شود. در مطالعه‌ای، از CRISPR برای هدف قرار دادن ژن ITGA3 استفاده شد که زیرواحد اینتگرین α3 را در سلول‌های MDA-MB-231 کد می‌کند، مدلی پرکاربرد از سرطان پستان سه‌گانه منفی (TNBC)، در نتیجه یک خط متغیر ایجاد کرد که در آن بیان α3β1 به طور کامل وجود ندارد. یافته‌ها همچنین بر اهمیت استفاده از بیش از یک رویکرد ژنتیکی برای شناسایی طیف کامل عملکردهای سلولی که توسط یک اینتگرین تنظیم می‌شوند، تاکید می‌کنند[25].

منابع

1.Mintz, R. L., Gao, M. A., Lo, K., Lao, Y. H., Li, M., & Leong, K. W. (2018). CRISPR technology for breast cancer: diagnostics, modeling, and therapy. Advanced biosystems, 2(11), 1800132.
2.Mintz, R. L., Lao, Y. H., Chi, C. W., He, S., Li, M., Quek, C. H., ... & Leong, K. W. (2020). CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis to validate the synergy between PARP1 inhibition and chemotherapy in BRCA1-mutated breast cancer cells. Bioengineering & translational medicine, 5(1), e10152.
3.Khalil, M. I. (2020, November). CRISPR/Cas9 design to knockout and knockin the breast cancer gene-BRCA1 in Arabidopsis thaliana. In Journal of Physics: Conference Series (Vol. 1660, No. 1, p. 012009). IOP Publishing.
4.Padayachee, J., & Singh, M. (2020). Therapeutic applications of CRISPR/Cas9 in breast cancer and delivery potential of gold nanomaterials. Nanobiomedicine, 7, 1849543520983196.
5.Zhan, T., Rindtorff, N., Betge, J., Ebert, M. P., & Boutros, M. (2019, April). CRISPR/Cas9 for cancer research and therapy. In Seminars in cancer biology (Vol. 55, pp. 106-119). Academic Press.
6.Demirkan, B. (2013). The roles of epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) and mesenchymal-to-epithelial transition (MET) in breast cancer bone metastasis: potential targets for prevention and treatment. Journal of clinical medicine, 2(4), 264-282.
7.Horimoto, Y., Tokuda, E., Murakami, F., Uomori, T., Himuro, T., Nakai, K., ... & Saito, M. (2018). Analysis of circulating tumour cell and the epithelial mesenchymal transition (EMT) status during eribulin-based treatment in 22 patients with metastatic breast cancer: a pilot study. Journal of translational medicine, 16(1), 1-8.
8.Kretzmann, J. A., Irving, K. L., Smith, N. M., & Evans, C. W. (2021). Modulating gene expression in breast cancer via DNA secondary structure and the CRISPR toolbox. *NAR cancer*, *3*(4), zcab048.
9. Yang, M., Zeng, C., Li, P., Qian, L., Ding, B., Huang, L., ... & Wu, W. (2019). Impact of CXCR4 and CXCR7 knockout by CRISPR/Cas9 on the function of triple-negative breast cancer cells. *OncoTargets and therapy*, *12*, 3849..
10. Hilakivi-Clarke, L. (2000). Estrogens, BRCA1, and breast cancer. *Cancer research*, *60*(18), 4993-5001.
11. Yang, X., & Lippman, M. E. (1999). BRCA1 and BRCA2 in breast cancer. *Breast cancer research and treatment*, *54*(1), 1-10.
12. Ashworth, A. (2008). A synthetic lethal therapeutic approach: poly (ADP) ribose polymerase inhibitors for the treatment of cancers deficient in DNA double-strand break repair. *Journal of Clinical Oncology*, *26*(22), 3785-3790.
13. Hon, J. D. C., Singh, B., Sahin, A., Du, G., Wang, J., Wang, V. Y., ... & Lee, P. (2016). Breast cancer molecular subtypes: from TNBC to QNBC. *American journal of cancer research*, *6*(9), 1864.
14. Foulkes, W. D. (2008). Inherited susceptibility to common cancers. *New England Journal of Medicine*, *359*(20), 2143-2153.
15. Matulonis, U. A., & Monk, B. J. (2017). PARP inhibitor and chemotherapy combination trials for the treatment of advanced malignancies: does a development pathway forward exist?. *Annals of Oncology*, *28*(3), 443-447.
16. Lafarge, S., & Montané, M. H. (2003). Characterization of Arabidopsis thaliana ortholog of the human breast cancer susceptibility gene 1: AtBRCA1, strongly induced by gamma rays. *Nucleic acids research*, *31*(4), 1148-1155.
17. Yan, X., You, S. N., Chen, Y., & Qian, K. (2022). Construction and Validation of a Newly Prognostic Signature for CRISPR-Cas9-Based Cancer Dependency Map Genes in Breast Cancer. *Journal of Oncology*, *2022*.

www.SID.ir

18. Gonzalez-Salinas, F., Rojo, R., Martinez-Amador, C., Herrera-Gamboa, J., & Trevino, V. (2020). Transcriptomic and cellular analyses of CRISPR/Cas9-mediated edition of FASN show inhibition of aggressive characteristics in breast cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *529*(2), 321-327.
19. Ye, X., Brabletz, T., Kang, Y., Longmore, G. D., Nieto, M. A., Stanger, B. Z., ... & Weinberg, R. A. (2017). Upholding a role for EMT in breast cancer metastasis. *Nature*, *547*(7661), E1-E3.
20. Enuameh, M. S., Shu, W., & Newman, R. (2019, July). CRISPR/cas9 mediated generation of an EMT reporter cell line for metastatic breast cancer drug discovery and development. In *Cancer Research* (Vol. 79, No. 13). 615 CHESTNUT ST, 17TH FLOOR, PHILADELPHIA, PA 19106-4404 USA: AMER ASSOC CANCER RESEARCH.
21. Kölbl, A. C., Jeschke, U., Friese, K., & Andergassen, U. (2016). The role of TF-and Tn-antigens in breast cancer metastasis.
22. Luker, K. E., & Luker, G. D. (2006). Functions of CXCL12 and CXCR4 in breast cancer. *Cancer letters*, *238*(1), 30-41.
23. Hernandez, L., Magalhaes, M. A., Coniglio, S. J., Condeelis, J. S., & Segall, J. E. (2011). Opposing roles of CXCR4 and CXCR7 in breast cancer metastasis. *Breast Cancer Research*, *13*(6), 1-17.
24. Hynes, R. O. (2002). Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *cell*, *110*(6), 673-687.
25. Kenney, J., Ndoye, A., Lamar, J. M., & DiPersio, C. M. (2021). Comparative use of CRISPR and RNAi to modulate integrin α3β1 in triple negative breast cancer cells reveals that some pro-invasive/pro-metastatic α3β1 functions are independent of global regulation of the transcriptome. *PLoS One*, *16*(7), e0254714.

www.SID.ir