

توضيح دور مسارات نقل الإشارة من الخلايا الجذعية السرطانية خلال انتشار سرطان الثدي

وقاص اقبال

(أ.د/ كلوفندر سنج سانى)

(أ.د/ صالح عبدالعزيز الكريم)

المستخلص

كيف تنتشر الخلايا السرطانية السلف او الخلايا الجذعية السرطانية في الدورة الدموية و تبدأ أحداث الانبثاث (مصطلح يشير للنمو الخبيث للورم) لسرطان الثدي لايزال لغزا ، لذلك فأن محاولات اكتشاف ادوية جديدة وجهة لاستهداف مسارات الاشارات الخلوية للجينات المرتبطة بالبقاء ، الغزو ، تجديد الذات ، نظام هجرة الخلايا السرطانية وانبثاتها . أولا وقبل كل شيء أجرينا دراسة للمعلومات الحيوية (البيولوجيا الحاسوبية) لتقييم أنماط تعبير الجينات المختلفة في الخط الخلوي الطبيعي للخلايا الظهارية (الطلائية) MCF10A والخط الخلوي الخاص بسرطان الثدي MCF7 . ركزنا بشكل أساسي على كلا من جين CEACAM6 والمعروف بخاصية الغزو والانبثاث لسرطان الثدي و جين CEACAM5 وكلاهما يحتمل أن يكون مطلب أساسي لسلوك الغزو والانبثاث في سرطان الثدي. ان انطواء او التفاف A 4.5 يزيد من تنظيم التعبير في جين CEACAM5 بينما انطواء 7 سجل زيادة في تعبير جين CEACAM6 . ونقترح أن زيادة التعبير الجيني لكل من هذين البروتينين في الخط الخلوي MCF7 مقارنة بالخط الخلوي MCF10A يتضمن دور غير واضح في أحداث الورم وتعزيز الغزو وبالتالي الميل الى زيادة أحداث ورم خبيث لسرطان الثدي . هذا أعطانا أدلة لفحص إمكانية مكافحة الانبثاث عن طريق مركب جزئي صغير مستخرج من نباتات طبية تقليدية تعرف بـ (رازيا ستريكتا)، أجريت دراسة طيفية تشتمل على الـ NMR و الـ ATR-FTIR لتوضيح هيكل المركب الجزئي الصغير و المعزول حديثا من الرازيا منينين . وقد تم استخدام مجموع القلوبات وعلاجات الرازيامين في دراسة النمو النشط للخط الخلوي MCF 7 بطريقة تعتمد على الجرعة ، تلتها بعد ذلك تحليل هجرة الخلايا بواسطة scratch assay ، و تحليل مستويات تعبير جزيئات الرنا RNA-Seq للخط الخلوي MCF7 والمعالج بالقلوبات الفردية و الرازيامينين للتحقق من إمكانية هذا المركب المضاد للانبثاث ، وقد كانت عدد من الجينات المشاركة في نقل سلسلة إشارات الانبثاث الخلوية كانت أهدافا رئيسية كذلك خفض تنظيم التعبير الجيني لـ Bcl-2 (جين مضاد للموت الخلوي المبرمج ويشارك في إنبثاث الورم) ، وقد تم التحقق باستخدام تحليل RT-PCR . ومن خلال معرفتنا فهذه الدراسة الاولى التي تبرز دور الرازيامينين المستخرج من نبات الرازيا ستريكتا في خفض تعبير الجين الرئيسية المشاركة في موت الخلايا المبرمج ، بقاء الخلايا ، التحول الظهاري الوسيط (EMT) ، تكاثر الخلايا الجذعية السرطانية CSC ، مسارات نقل الاشارات للجين Wnt . إن المزيد من الدراسات على كيفية إنبثاث سرطان الثدي باستخدام النماذج في المختبر او الجسم الحي ستقدم لنا خطوات اقرب لتطوير أدوية جديدة تستهدف الخلايا الجذعية السرطانية المرتبطة بالجينات .

Abstract

Elucidating the role of Signal Transduction Pathways of Cancer Stem Cells during Metastasis
in Breast Cancer

By

Waqas Iqbal

Supervised by: Prof. Kulvinder Singh Saini

&

Prof. Saleh Al-karim

How disseminated cancer stem cells (CSCs) in circulation initiate breast cancer metastasis, still remains an enigma. Therefore, current new drug discovery efforts are directed towards targeting specific gene(s) in the signaling pathways involved in survival, invasion, self-renewal, and metastatic processes. First of all, we carried out a pilot Bioinformatics study to evaluate the differential gene expression patterns found between a normal epithelial cell line-MCF10 A and a breast cancer cell line-MCF7. We mainly focused on CEACAM6 (Carcinoembryonic antigen related cell adhesion molecule 6) and CEACAM5 (Carcinoembryonic antigen related cell adhesion molecule 5) both of which are presumably pre-requisites for invasive and metastatic behavior of breast cancer. A 4.5-fold up-regulation in CEACAM5 expression while 7-fold increase was recorded for CEACAM6 expression. We propose that the up-regulation of both these proteins in MCF7 cell line compared to MCF10A implicates their inconspicuous role in tumorigenesis, enhanced invasiveness and thus, leading to increased propensity towards breast cancer metastasis. This gave us clues to examine the anti-metastatic potential of individual small molecule compound, extracted from *Rhazya stricta*, a traditional medicinal plant. Spectroscopic study, including NMR (Nuclear magnetic resonance) and ATR-FTIR (Attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy) was performed to elucidate the structure of newly isolated small molecule compound (*Rhazyaminine*). Total alkaloid extract (TERS) and *Rhazyaminine* (R.A) treatments were used for growth kinetic studies of MCF7 cell line in a dose dependent manner, followed by scratch assays for cell migration analyses. In addition, RNA-Seq analysis of MCF7 cell line treated with R.A validated the its anti-metastatic potential as a number of genes involved in the signal transduction cascade of metastasis were prime targets. Down-regulation of *Bcl-2*, an anti-apoptotic gene, also involved in metastasis, was validated using qPCR. To our knowledge, this is the first study, which pinpoints the role of R.A in down-regulating key genes involved in apoptosis, cell survival, EMT (epithelial-to-mesenchymal transition), CSCs (Cancer stem cells) proliferation and Wnt signal transduction pathway. Further studies using *in vitro* and *in vivo* models of breast cancer metastasis will bring us a step closer to developing new drugs targeting CSCs related genes.