

استهداف الشفرة الالاجينية في الخلايا السرطانية باستخدام مركب الثيموكوينون

إعداد

شهد عبدالقادر قاضي

إشراف

د. محمود الحسين

د. أشواق البخاري

تتميز العديد من الأورام السرطانية الصلبة وأورام الدم بالتنشيط الفوق جيني للجينات المثبطة للأورام. يؤدي إعادة تنشيط الجينات المثبطة للأورام عن طريق عملية نزع الميثيل من كل من الحمض النووي والهستون ٣ إلى تثبيط تكاثر الخلايا السرطانية وانبثاتها وتحفيز عملية الموت الخلوي المبرمج. لقد أثبت أن لمركب الثيموكوينون، المركب الأكثر فعالية في زيت حبة البركة السوداء، خصائص مقاومة للنشاط السرطاني في أنواع مختلفة من الأورام السرطانية عن طريق استهداف عدد من المسارات الحيوية ولكن لاتزال آلية استهداف مركب الثيموكوينون للشفرة الفوق جينية للخلايا السرطانية غير معروفة. ولهذا السبب قمنا بتحليل تأثير مركب الثيموكوينون على الشفرة الفوق جينية للخلية السرطانية التابعة لخلايا سرطان الدم الليمفاوي (Jurkat cells) كنموذج لأورام الدم وخلايا سرطان الثدي (MDA-MB-468) كنموذج للأورام السرطانية الصلبة.

تشير نتائج الدراسة الحالية إلى أن مركب الثيموكوينون بالاعتماد على جرعات محددة يثبط تكاثر الخلايا في كل من الخلايا السرطانية المستخدمة كما يحفز موت الخلايا المبرمج في خلايا سرطان الدم الليمفاوي. أظهرت نتائج دراسة تسلسل الحمض النووي الريبسي في خلايا سرطان الدم الليمفاوي إلى أن استخدام مركب الثيموكوينون أدى إلى تناقص في مستويات تعبير العديد من الجينات التي تلعب دوراً مهماً في التغيرات فوق الجينية مثل UHRF1 ، DNMT1 ، DNMT3A و DNMT3B وكذلك العديد من نازعات الأستيل من الهستون مثل HDAC1 ، HDAC4 و HDAC9. ومن المثير للاهتمام أن الثيموكوينون قد أحدث زيادة في تعبير العديد من الجينات المثبطة للأورام مثل p16^{INK4A} ، ST7 ، PPARG و FOXO4 والتي تكون غير مفعلة في الخلايا السرطانية نتيجة للتغيرات الفوق جينية. كما أدى استخدام مركب الثيموكوينون إلى زيادة في تعبير العديد من الجينات التي تلعب دوراً هاماً في تحفيز الموت الخلوي المبرمج للخلايا السرطانية مثل RASL11B ، RASD1 ، GNG3 ، BAD و BIK. وقد تم تأكيد هذه النتائج بواسطة تقنية (RT-qPCR) حيث أظهرت نتائجنا أن استخدام مركب الثيموكوينون أدى إلى تناقص في التعبير الجيني ل DNMT1 ، UHRF1 ، G9a و HDAC1 في الخلايا السرطانية المستخدمة في هذه الدراسة. كما تبين النتائج إلى أن مركب الثيموكوينون يمكن أن يكون علاجاً للخلايا السرطانية عن طريق استهداف الشفرة الفوق جينية للخلايا السرطانية.

TARGETING EPIGENETIC CODE IN CANCER CELL BY THYMOQUINONE

By

Shahad Abdulqader Qadi

Under supervision

Dr. Mahmoud Alhosin

Dr. Ashwag Albukhari

The epigenetic silencing of tumor suppressor genes (TSGs) is a common finding in several solid and hematological tumors. Demethylation of both DNA methylation and histone methylation mediated by DNA methyltransferase 1 (DNMT1) and histone methyltransferase such as G9a, respectively, as well as histone acetylation with subsequent reactivation of TSGs result in the inhibition of cell proliferation and metastasis and triggering cell apoptosis. Thymoquinone (TQ), the major biologically active compound of the black seed has demonstrated anticancer activities in various tumors by targeting several pathways. However, its effect on cancer cell epigenetic code is largely unknown. The present study aimed to investigate the effect of TQ on the “epigenetic cancer signature” in the human breast cancer cell line (MDA-MB-468 cells) and the human acute lymphoblastic leukemia (Jurkat cells) and the related events. We found that TQ induces dose-dependent inhibition of the cellular proliferation and induction of apoptosis in both cancer cell lines. RNA sequencing showed that the epigenetic integrator Ubiquitin-like with PHD and RING Finger domains 1 (UHRF1), the DNA methyltransferases: DNMT1 DNMT3A, DNMT3B as well as several histone deacetylases including HDAC1, 4 and 9 were down-regulated in TQ treated of Jurkat cells. Interestingly, several tumor suppressor genes such as p16^{INK4A}, ST7, PPARG, and FOXO4 known to be epigenetically silenced in various tumors including leukemia were up-regulated along with the up-regulation of several downstream pro-apoptotic genes such as RASL11B, RASD1, GNG3, BAD, and BIK. Data obtained from RNA sequencing were confirmed using RT-qPCR in Jurkat cells and MDA-MB-468 cells. We found that TQ decreases the expression of UHRF1, DNMT1, G9a and HDAC1 genes in both cancer cell lines in a dose dependent manner. These results suggest that TQ could be used as epigenetic drug that target both DNA methylation and histone post-translational modifications which could be a promising strategy for the epigenetic therapy for both solid and blood tumors.