

کاربرد مایع رویی سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق شده از مایع آمنیوتیک (hAFMSCs) در درمان سرطان

مریم پاشائی اصل^۱، رقیه پاشائی اصل^۲، ملیحه پاک‌نژاد^{۳*}

تاریخ دریافت ۱۴۰۰/۱۰/۰۵ تاریخ پذیرش ۱۴۰۰/۱۱/۱۹

چکیده

در حال حاضر درمان مبتنی بر جراحی و شیمی‌درمانی اصلی‌ترین استراتژی در درمان بالینی سرطان است. باوجود اینکه داروهای شیمی‌درمانی، سلول‌های سرطانی را از بین می‌برد ولی ممکن است اثرات زیان‌آور داشته و به بافت‌های طبیعی آسیب برساند، در این صورت بیمار با مجموعه‌ای از عوارض که به کیفیت زندگی فرد تأثیرگذار است، روبرو می‌شود. از طرفی مقاومت دارویی ناشی از شیمی‌درمانی در طولانی‌مدت، اثرات درمانی را به شدت محدود می‌کند. بنابراین کشف راهکارهای نوین دارویی در بهبود این امر میسر است. در سال‌های اخیر، مطالعات زیادی پتانسیل مهاری احتمالی سلول‌های بنیادی مزانشیمی در پیشرفت سرطان را نشان داده است. سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق شده از مایع آمنیوتیک (hAFMSCs) نوع منحصربه‌فردی از سلول‌های بنیادی هستند که مناسب برای درمان برخی از بیماری‌ها در انسان هستند. اخیراً خواص ضد سرطانی این نوع سلول‌ها نیز مورد بررسی قرار گرفته است. مایع رویی سلول‌های بنیادی مزانشیمی نسبت به خود سلول‌های مزانشیمی مزایایی دارد، ازجمله اینکه به راحتی تولید، بسته‌بندی و فریز می‌شود و حمل‌ونقل آسانی دارد، که می‌تواند منجر به تولید دارو شود. در نتیجه مایع رویی سلول‌های بنیادی مزانشیمی مایع آمنیوتیک کاندید مناسبی برای درمان سرطان می‌تواند به شمار آید.

کلیدواژه‌ها: مایع آمنیوتیک، سلول‌های بنیادی مزانشیمی، سرطان، مایع رویی

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و دوم، شماره نهم، ص ۶۸۳-۶۷۴، آذر ۱۴۰۰

آدرس مکاتبه: تهران، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تلفن: ۰۲۱۶۴۰۵۳۳۸۵

Email: paknejadma@tums.ac.ir

مقدمه

طرفی مقاومت دارویی در روند درمان نیز پیش‌آگهی ضعیفی را ایجاد می‌کند (۳) در نتیجه عود مجدد بیماری بعد از درمان وجود دارد. بنابراین نیاز به طراحی داروهای نوین ضروری است. مطالعات انجام‌شده در سال‌های اخیر نشان داده که سلول‌های بنیادی مشتق شده از بافت‌های مختلف مخصوصاً سلول‌های بنیادی مشتق شده از مایع آمنیوتیک دارای اثرات ضد توموری هستند و می‌توانند سرطان را از طرق مختلف مثل افزایش آپوپتوز، کاهش میزان زنده‌مانی سلول‌های سرطانی، افزایش فاکتورهای مؤثر در آپوپتوز، مهار کنند (۴). در مقاله مروری حاضر مقالات مربوط به سلول‌های بنیادی و سرطان موجود در پایگاه‌های اطلاعاتی ازجمله <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/> مورد مطالعه قرار گرفته و موضوعات سلول‌های بنیادی مشتق شده از آمنیوتیک و اثرات ضد توموری سلول‌های بنیادی مزانشیمی ازجمله مایع رویی سلول‌های

سرطان مجموعه‌ای از بیماری‌هاست که در آن سلول‌ها به علل مختلفی از قبیل ژنتیک یا در معرض بودن با مواد سمی، مواد شیمیایی و پرتوهای زیان‌آور به‌طور مهار نشده تکثیر می‌شوند (۱). سرطان دومین عامل اصلی مرگ‌ومیر در سطح جهان است. طبق آمار سازمان بهداشت جهانی تقریباً ۷۰ درصد از این افراد در کشورهای با درآمد کم و متوسط هستند (۲). امروزه سرطان به‌عنوان یک چالش مهم در حوزه بهداشت و سلامت جوامع مختلف ازجمله ایران مطرح است. بطوریکه علاوه بر درد ناشی از بیماری، هزینه‌های سرسام‌آور بیماران سرطانی بر معضلات این بیماری در کشورمان نیز می‌افزاید. باوجود روش‌های درمانی رایج برای کنترل پیشرفت بیماری سرطان ازجمله پرتودرمانی، شیمی‌درمانی، جراحی و برداشت تومور، این درمان‌ها عوارض جانبی داشته و حتی می‌تواند آسیب‌های غیرقابل‌برگشت بر بافت‌های سالم بدن داشته باشد. از

^۱ گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

^۲ گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

^۳ گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران (نویسنده مسئول)

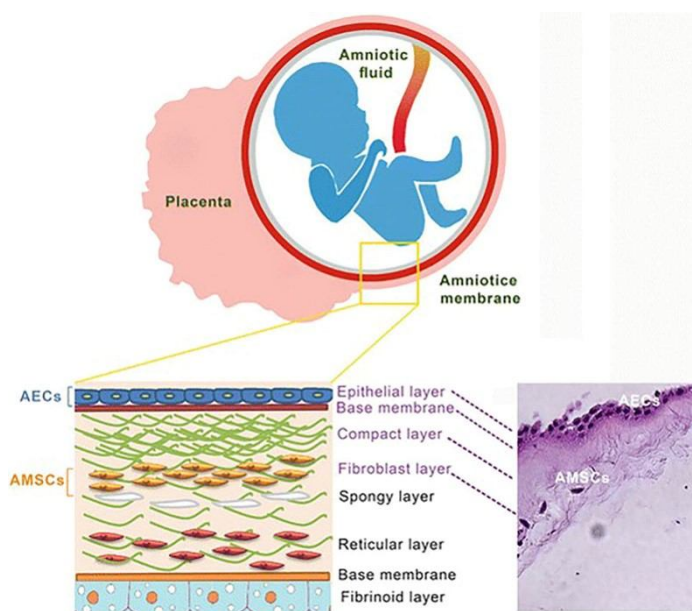
بنیادی مزانشیمی مشتق شده از مایع آمنیوتیک (hAFMSCs)^۱ را در سرطان مورد بررسی قرار داده شده است.

سلول‌های بنیادی:

سلول‌های بنیادی، سلول‌های تمایز نیافته و غیر تخصصی هستند که قابلیت خود نوسازی^۲، تکثیر و نیز تمایز به سایر سلول‌های بافتی را دارا می‌باشند. این سلول‌ها در جنین در حال تکوین به سلول‌های تخصصی هر بافت متمایز می‌یابند. این در حالی است که در بافت‌های بالغ، نقش ترمیمی در آسیب‌های بافتی دارند. بر اساس منبع سلول‌های بنیادی، می‌توان آن‌ها را به دو نوع سلول‌های بنیادی جنینی و سلول‌های بنیادی بالغ تقسیم‌بندی کرد. همچنین می‌توان سلول‌های بنیادی را با توجه به توان تمایزشان به انواع بافت‌های دیگر به انواع: همه (تمام) توان^۳، پرتوان^۴، چند توان^۵ و تک توان^۶ تقسیم‌بندی شوند (۵). سلول‌های بنیادی آمنیوتیک خواصی مابین سلول‌های بنیادی جنینی و بالغ دارند.

سلول‌های غشای آمنیوتیک (AM):^۷

غشای آمنیوتیک (AM)، فاقد هرگونه بافت عروقی بوده و از سه لایه تشکیل شده: ۱- لایه اپیتلیال متشکل از سلول‌های اپیتلیال، ۲- لایه غشای پایه و ۳- لایه خارجی که این لایه غنی از سلول‌های بنیادی مزانشیمی بوده و در مجاورت کوریون^۸ قرار گرفته است (شکل ۱) (۶). این سه لایه، عصب، عضله، رگ خونی و یا ساختار لنفاوی ندارد و به‌طور مستقیم مواد مغذی را از طریق انتشار از مایع آمنیوتیک به جنین انتقال می‌دهند. سلول‌های اپیتلیال غشای آمنیوتیک، گلیکوپروتئین‌ها، کلاژن‌ها و لامینین‌های تشکیل‌دهنده غشای پایه را ترشح می‌کنند که از جنین محافظت می‌کنند (۷). سلول‌های مزانشیمی موجود در لایه فیبروبلاست، ترشح‌کننده اصلی کلاژن در ساختار اسکلتی غشای آمنیوتیک جنین می‌باشند و سال‌هاست که برای ترمیم زخم در سوختگی‌ها و محافظت در برابر عفونت، بازسازی چشم، و پانسمان در نقص‌های جراحی دهان کاربرد کلینیکی دارند (۸-۱۰).



شکل (۱): نمای از لایه‌های غشای آمنیوتیک (۱۱)

بنیادی مزانشیمی غشا آمنیوتیک (AM-MSC)^۲، که به ترتیب از لایه‌های اپیتلیالی و مزانشیمی غشای آمنیوتیک مشتق شده‌اند (۱۲، ۱۳). برای دستیابی به هر دو نوع سلول نیاز به جداسازی مکانیکی از غشای جفتی و هضم آنزیمی است.

سلول‌های بنیادی غشای آمنیوتیک (AMSCs):^۱

سلول‌های بنیادی غشایی آمنیوتیک (AMSCs) دو نوع هستند: سلول‌های اپیتلیال آمنیوتیک (AECs)^۲ و سلول‌های

⁷Amniotic Membrane

⁸ Chorion

¹ Amniotic Mesenchymal Stem cells

² Amniotic Epithelial Cells

³ Amniotic Membrane Mesenchymal Stem cells

¹ Human Amniotic Fluid Mesenchymal Stem cells

² Self-renewal

³ Totipotent

⁴ Pluripotent

⁵ Multipotent

⁶ Unipotent

مایع آمنیوتیک و سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک (AFSCs):^۴

در سال‌های اخیر سلول‌های بنیادی مشتق شده از مایع آمنیوتیک (AF)^۵ کاندید مناسبی برای درمان‌های مبتنی بر سلول‌های بنیادی در نظر گرفته شده‌اند. مایع آمنیوتیک، فضای داخل آمنیون را پر می‌کند که منبع مهمی از سلول‌های جدا شده از جنین حین تکوین و همچنین سلول‌های جدا شده از غشای آمنیوتیک می‌باشد (۷). سلول‌های بنیادی اپتلیالی آمنیوتیک (AECs) را می‌توان از مایع آمنیوتیک یا غشای آمنیوتیک هنگام تولد نوزاد به دست آورد. این سلول‌ها دارای مارکرهای پروتئینی سطح سلولی موجود در سلول‌های بنیادی از قبیل: SSEA-3, SSEA-4, TRA 1-60, TRA 1-81, Thy-1 و ckit هستند. همچنین آن‌ها مارکرهای مولکولی لازم برای پروتئینی و تکثیر از قبیل Nanog, SOX2 و OCT4 را دارند (۴، ۷). این سلول‌ها توانایی تبدیل به سه لایه جنینی را دارند و بنابراین قادرند به بافت چربی، سلول‌های عصبی، استخوان، سلول‌های میوژنیک قلبی و اسکلتی و غیره تمایز یابند (۶). سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از غشای آمنیوتیک (AM-MSC) سطوح بالایی از پروتئین OCT4 را نسبت به سلول‌های بنیادی مشتق از مغز استخوان بیان می‌کنند و در نتیجه این سلول‌ها توانایی تکثیر و تمایز بالاتری نیز دارند (۱۴). همچنین حاوی مارکرهای CF, SOX2, Nanog, REX1 و NESTIN هستند (۱۵).

همچنین، این نوع سلول‌ها دارای ویژگی‌های منحصربه‌فردی نیز هستند، از جمله اینکه:

۱- این سلول‌ها سطوح پائینی از آنتی‌ژن‌های کمپلکس‌های سازگاری نسجی (MHC)^۶ را بیان می‌کند که ممکن است اثرات ضدالتهابی و ایمنی‌زایی پائینی در پیوند به دیگران داشته باشد (۱۶، ۱۷).

۲- تهیه آن‌ها نسبت به سلول‌های بنیادی جنینی محدودیت اخلاقی ندارد، چون مایع آمنیوتیک از مادران باردار هنگام ارزیابی ناهنجاری‌های جنینی در سه‌ماهه دوم بارداری (بین هفته‌های ۱۴ - ۱۶) جهت آمنیوسنتز و یا حین زایمان نمونه‌گیری می‌شود. در ضمن دسترسی آسانی هم داشته و نیاز به هضم مکانیکی یا آنزیمی نیست (۱۸).

۳- این سلول‌ها توانایی رشد و گسترش بالا در محیط کشت داشته و در نتیجه به راحتی استخراج و ذخیره‌سازی می‌شوند.

۴- بعد از پیوند در بدن فرد ایجاد تومور یا تراژوم نمی‌کنند. این سلول‌ها حد واسط بین سلول‌های جنینی و سلول‌های بنیادی

بالغ هستند. سلول‌های بنیادی مشتق شده از آمنیون OCT4 (مارکر سلول‌های بنیادی) را بیان می‌کنند، همچنین مارکرهای مزانشیمی از قبیل CD90, CD105, CD73, CD44, CD166 را دارا بوده اما مارکرهای هماتوپویتیک را ندارند (۱۹). بیشترین سلول‌های چسبنده در نمونه‌های مایع آمنیوتیک (۸۰ الی ۹۰ درصد) مربوط به سلول‌های مزانشیمی است (۲۰). این سلول‌ها برای مارکرهای مزانشیمی از قبیل CD90 (Thy-1), CD105, CD49, CD166, CD73 (SH3, SH4), (SH2, Endoglin) و CD29 مثبت و برای مارکرهای هماتوپویتیک از قبیل CD45, CD34, CD14 منفی هستند (۲۰-۲۲).

ویژگی‌های ایمنی‌زایی پائین سلول‌های بنیادی مشتق شده از مایع آمنیوتیک (AFMSCs):

سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌توانند بر سیستم ایمنی از طریق ارتباط مستقیم سلول با سلول و یا به‌طور غیرمستقیم به‌واسطه آزادسازی فاکتورهای ترشحی از قبیل IL-6, IL-10, PGE2, HLA-G5, TNF- β و NO تأثیر بگذارد (۲۳-۲۶). طبق مطالعات قبلی، AFMSCs برای آنتی‌ژن‌های HLA-ABC (MHC class I) مثبت و تنها بخش کوچکی از این سلول‌ها، برای آنتی‌ژن HLA-DR (MHC class II) مثبت هستند (۲۰، ۲۱). این سلول‌ها مقاوم به رد پیوند هستند زیرا فاکتورهای سرکوبگر ایمنی از قبیل CD59 (protectin) و HLA-G را بیان می‌کند. HLA-G نقش مهمی در تحمل ایمنی بارداری داشته و در جفت بیان می‌شود (۲۰). همچنین، به دلیل تطابق ایمنی این سلول‌ها با بدن جنین، احتمال رد پیوند در آن‌ها کمتر بوده و از طرفی پائین بودن سطح سلول‌ها با مولکول‌های سازگاری نسجی سبب تحریک کمتر سیستم ایمنی می‌شود (۲۱، ۲۷).

عدم تومور زایی سلول‌های بنیادی مشتق شده از آمنیوتیک:

از آنجائی که سلول‌های بنیادی قادر به خود تکثیری و زنده‌مانی طولانی‌مدت هستند، تومورزایی می‌تواند نگرانی اصلی در استفاده از آن‌ها در اهداف درمانی باشد. مطالعات مختلف، تومورزایی بعد از تزریق سلول‌های بنیادی پرتوان مثل سلول‌های بنیادی بالغ موش و یا انسان به مدل حیوانی را نشان داده است (۲۸-۳۱). بنابراین باوجود پتانسیل بالای سلول‌های بنیادی بالغ انسان در پزشکی ترمیمی، تومورزایی این سلول‌ها مانع عمده‌ای در به‌کارگیری آن‌ها به شمار می‌رود. ولی در مورد سلول‌های بنیادی

⁶ Major histocompatibility Complex

⁴ Amniotic Fluid Stem cells

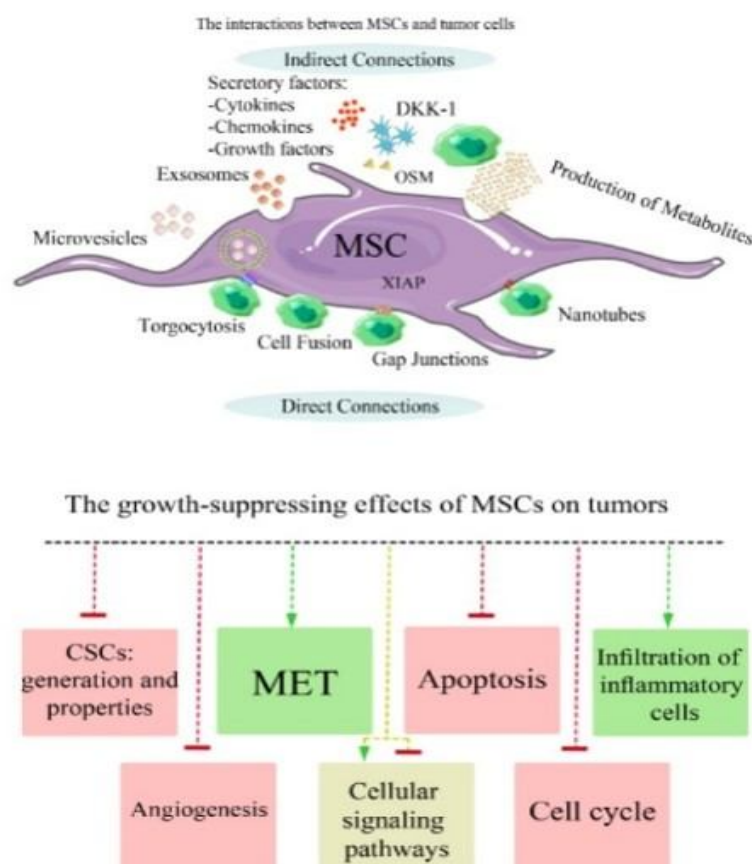
⁵ Amniotic Fluid

سلول‌های سرطان پستان MDA 231، سبب کاهش رشد سلول‌های سرطانی در شرایط *in vivo* و *in vitro* شده و به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای سنتز DNA در سلول‌های MDA 231 مهار شد. آن‌ها مدعی بر این شدند که سلول‌های بنیادی مشتق از بند ناف با تولید فاکتورهای همچون نیتریک اکساید و برخی سایتوکاین‌ها با اثر بر چرخه سلولی، سبب کاهش رشد سلول‌های سرطانی می‌شوند (۳۵). همچنین مطالعات روی سلول‌های بنیادی مزانشیمی پوست جنین نشان داد که ترشح فاکتور *dkk-1* از سلول‌های بنیادی، اثرات مهاری از طریق Wnt روی سلول‌های MCF-7 سرطان پستان دارد (۳۶). مطالعه دیگری نشان داد که کشت هم‌زمان غیرمستقیم سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مایع آمنیوتیک با سلول‌های سرطانی تخمدان SKOV-3 می‌تواند با افزایش فاکتورهای آپوپتوزی P53 و P21 و نیز با کاهش فاکتورهای چرخه سلولی Cyclin D1 و Cyclin B1 نسبت به سلول‌های نرمال سبب مهار سرطان شود (۳۷). Cho و همکارانش نشان دادند که سلول‌های بنیادی مزانشیمی جداشده از بافت چربی تحت تیمار با حرارت، با تولید سایتوکاین‌هایی مثل اینترلوکین ۱ اثرات ضد توموری بر سلول‌های کارسینومای انسان دارند (۳۸).

مشتق شده از آمنیوتیک، تومورزایی یا تشکیل تراتوما بعد از استفاده از این سلول‌ها در بدن انسان گزارش نشده است (۲۱، ۳۲). Phermthai و همکارانش ثبات کروموزوم سلول‌های بنیادی مشتق شده از آمنیوتیک hAFS را با آنالیز کاریو تایپ نشان دادند (۳۳). سلول‌های hAFS بعد از چندین پاساژ دارای کاریوتایپ کروموزومی ثابت و فاقد جهش بودند که نشان‌دهنده غیر تومورزایی این سلول‌ها می‌باشد. همچنین Secchiero و همکارانش کاریوتایپ سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق شده از مایع آمنیوتیک (AFMSCs) را در پاساژهای مختلف انجام داده و غیر توموری بودن آن‌ها را نشان دادند (۳۴). بنابراین می‌توان گفت hAFS و AFMSCs به علت خاصیت غیر تومورزایی کاندید مناسبی برای درمان‌های کلینیکی می‌توانند باشند.

سلول‌های بنیادی در درمان سرطان:

امروزه مطالعات متعددی روی اثرات ضد سرطانی سلول‌های بنیادی مهندسی‌شده و غیره مهندسی‌شده، انجام گرفته است. برای مثال Ayuzawa و همکارانش اثرات ضد تومور پیوند سلول‌های بنیادی مشتق شده از بند ناف انسان را روی سرطان پستان گزارش دادند. آن‌ها نشان دادند که کشت هم‌زمان سلول‌های بنیادی با



شکل (۲): اثرات مهاری سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر تومور (۳۹)

آپوپتوز (P21, P53) افزایش و ژن‌های مربوط به چرخه سلولی شامل Cyclin B و Cyclin D1 کاهش معناداری نسبت به گروه کنترل منفی (فیروبلست نرمال) داشت (۳۷). همچنین Serhal و همکارانش نشان دادند که سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از چربی (ADMSCs) و مایع‌رویی آن‌ها میزان تکثیر سلول‌های سرطانی کبدی رده سلولی HepG2 و PLC-PRF-5 را به‌طور چشمگیری کاهش و میزان آپوپتوز را افزایش دادند (۴۴). در سال ۲۰۲۰ رحمتی زاده و همکارانش نیز، اثرات ضد سرطانی مایع رویی حاصل از hAFMSCs را روی سلول‌های سرطانی Hela نشان دادند (۴۵). همچنین مطالعات ابوالقاسمی و همکارانش در سال ۲۰۲۲ نشان داد که مایع رویی حاصل از سلول‌های بنیادی مزانشیمی ماتریکس بند ناف می‌تواند میزان زنده‌مانی در سلول‌های سرطان پستان را کاهش دهد (۴۶). در نتیجه مایع رویی سلول‌های بنیادی مخصوصاً سلول‌های بنیادی مشتق شده از مایع آمنیوتیک کاندید مناسبی برای درمان سرطان می‌تواند باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

در حال حاضر درمان مبتنی بر جراحی و شیمی‌درمانی، اصلی‌ترین استراتژی در درمان بالینی سرطان است. داروهای شیمی‌درمانی علاوه بر اثرات تخریبی بر سلول‌های سرطانی، ممکن است اثرات زیان‌آور به بافت‌های طبیعی داشته یا سبب مقاومت دارویی در سلول‌های سرطانی گردند (۲۸، ۴۷). هنوز هم روابط بین سلول‌های بنیادی مزانشیمی و سرطان پرمزوراز باقی‌مانده است. شواهد ناکافی در مورد نقش تحریکی و مهاری سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر روی سلول‌های سرطانی وجود دارد (۴۸). بطوریکه سلول‌های مزانشیمی با سرکوب سیستم ایمنی، انتقال اپیتلیال به مزانشیما، آنژیوژنز (۴۹) و نگهداری شرایط استرومایی سرطان، تومور را حمایت می‌کند (۵۰). از طرفی، سلول‌های بنیادی مزانشیمی با تنظیم مهاری سرطان در مسیرهای مختلف سیگنالینگ مثل WNT/ β -catenin و AKT عمل می‌کند (۵۱). همچنین سلول‌های بنیادی مزانشیمی توانایی مهاجرت به سمت تومورهای اولیه را دارا هستند که از این خصوصیت جهت انتقال فاکتورهای ضد سرطانی به محل تومور می‌توان استفاده نمود (۵۲). در این میان سلول‌های بنیادی مشتق از مایع آمنیوتیک رشد تومور را با بیان انواع سیتوکاین‌های سیتوتوکسیک مهار می‌کنند. همچنین به‌عنوان ناقل می‌توانند ژن‌های درمانی را به محل‌های تشکیل سرطان در GEPC انتقال دهند (۴) دهه گذشته، درمان با سلول‌های بنیادی به‌عنوان یک روش جدید برای کشف

مایع رویی (CM)^۱ سلول‌های بنیادی و درمان سرطان:

Cantineaux و همکارانش، وجود فاکتورهای پروآپوپتوتیک از جمله TROY, TRAIL, Fas Ligand/TNFSF6 در مایع‌رویی جمع‌آوری شده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی را گزارش دادند (۴۰). برخی از مطالعات نشان دادند که hAEC ها طیف وسیعی از سایتوکاین‌های سیتوتوکسیک، مانند $\text{TNF-}\alpha$, $\text{TGF-}\beta$, $\text{IFN-}\gamma$ و $\text{TNF-}\beta$ را به‌عنوان مواد القاکننده آپوپتوز (مرگ سلولی) بیان می‌کنند (۴۱). همچنین طی مطالعات دیگری فاکتورهای دیگری همچون KGF, TNF, IL-6 در شرایط هیپوکسی در CM سلول‌های بنیادی مزانشیمی وجود داشتند (۱۸). از آنجا که CM فاقد سلول است، مشکل رد پیوند و واکنش‌های ایمنی‌زایی که توسط سلول‌ها ایجاد می‌شود را نداشته و بنابراین، احتمال خطر سرطان‌زایی برخی از سلول‌های بنیادی را نیز ندارد (۲۳). در سال ۲۰۱۹ Kalamegam و همکارانش تأثیرات مایع‌رویی سلول‌های بنیادی مشتق از ژل وارتون را روی سلول‌های سرطانی تخمدان رده سلولی OVCAR3 بررسی کردند. بعد از ۴۸ ساعت تیمار با مایع‌رویی و لیفات سلولی، اینترلوکین‌های ۴، ۶، ۸، ۱۳، اینترلوکین- β و فاکتور تحریک‌کننده کلونی که در رشد تومور، تهاجم و مهاجرت نقش دارند به‌طور چشمگیری کاهش یافتند (۴۲). در سال ۲۰۱۶ Talimur Reza و همکارانش نشان دادند که مایع‌رویی حاصل از سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از بافت چربی (hAMSCs) اثرات مهاری بر روی سلول‌های سرطانی تخمدان رده A2780 از طریق مهار چرخه سلولی و فعال کردن سیگنالینگ آپوپتوز در مسیر میتوکندریایی دارد. همچنین، آگروزوم‌های مشتق شده از مایع‌رویی hAMSCs مسیرهای آپوپتوز را با افزایش بیان مولکول‌های سیگنالینگ پروآپوپتوتیک مثل BAX, CASP9 و CASP3 و کاهش بیان پروتئین آنتی آپوپتوتیک Bcl-2 القاء کرد. از طرفی، miRNAهای آگروزومی باهدف قرار دادن مولکول‌های مختلف مرتبط با بقاء سرطان، فعالیت ضد سرطانی نشان دادند. یافته‌های Talimur Reza و همکارانش حاکی از این بود که آگروزوم‌های حاصل از مایع‌رویی hAMSC نقش مهمی را در اثرات مهاری سرطان تخمدان بازی می‌کنند (۴۳). در سال ۲۰۱۹، قلی زاده و همکارانش اثرات hAFMSCs روی سرطان تخمدان رده سلولی SKOV-3 بررسی کردند، بطوریکه بعد از ۵ روز کشت هم‌زمان غیرمستقیم سلول‌های SKOV-3 با hAFMSCs، میزان بقای سلول‌های سرطانی به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافت. همچنین میزان بیان ژن‌های درگیر در

¹ Conditioned Medium

القای P53 و P21 و سرکوب Ki و Cyclin D1 در سلول‌های هیپاتوکارسینوما انجام می‌دهد (۵۳). همچنین وجود فاکتورهای پروآپتوتیک از جمله TROY, TRAIL, Fas Ligand/TNFSF6 در مایع‌رویی سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشخص شده است (۶۱). بعلاوه فاکتورهای آپتوزی دیگری همچون IL-6, TNF, KGF در شرایط هیپوکسی در CM سلول‌های بنیادی مزانشیمی وجود دارند (۱۸). مایع‌رویی (CM) فاقد سلول است و بنابراین، مشکل رد پیوند و واکنش‌های ایمنی‌زایی که توسط سلول‌ها ایجاد می‌شود را نداشته و همچنین احتمال خطر سرطان‌زایی برخی از سلول‌های بنیادی را نیز ندارد (۲۳). همچنین CM به‌راحتی تولید، فریز، بسته‌بندی و انتقال داده می‌شود. در نتیجه مطالعات و تحقیقات بیشتر روی اثرات ضد سرطانی مایع‌رویی سلول‌های بنیادی، بخصوص سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق شده از مایع آمنیوتیک می‌تواند راهگشای ایده‌های نوین جهت دستیابی به داروهای جدید ضد سرطانی باشد.

تشکر و قدردانی

ضروری است از گروه بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی تهران، و واحد توسعه و تحقیقات بالینی الزهرا (س) دانشگاه علوم پزشکی تبریز تشکر و قدردانی به عمل آید.

رویکردهای درمانی بالقوه در درمان سرطان در نظر گرفته شده است (۴، ۳۵، ۴۵، ۵۳). طبق یافته‌های اخیر سلول‌های بنیادی مایع آمنیوتیک (hAECs) با تولید فاکتورهای مهارکننده، از رشد و پیشرفت تومور جلوگیری می‌کنند. مطالعات نشان داده است که hAECs طیف وسیعی از سیتوکین‌های سیتوتوکسیک مانند IFN- α , TGF- β , TNF- β و TNF- γ را به عنوان مواد القاکننده آپتوتیک بیان می‌کند (۴۱). همچنین hAECs، اینترلوکین‌های مختلفی از جمله IL-3, IL-4 و IL-2 را ترشح می‌کنند که سبب افزایش سیتوتوکسیسیتی در سلول‌های NK^۲ شده و این سلول‌ها می‌توانند سلول‌های سرطانی را هدف قرار داده و سبب مهار تشکیل تومور شوند (۴، ۵۴، ۵۵). مطالعات نشان داده که hAFMSCs می‌تواند تعدادی از miRNAs از جمله: miR-195-3p, miR-19b-1-5p, miR-20a-5p, miR-20b-3p, miR-26a-1-3p, 708-3p, miR-16-1-3p, 3p, miR-15b-3p, 5p, miR-93-3p, miR204 (۵۶-۶۰) را تولید کند که مولکول‌های آنتی آپتوتیک را هدف قرار می‌دهند.

برخی از فرضیه‌های مطالعاتی بر اساس مایع‌رویی (CM) سلول‌های بنیادی نشان‌دهنده اثرات بازدارنده بر روی سلول‌های سرطانی است. برای مثال Riedel و همکارانش نشان دادند مایع‌رویی سلول‌های بنیادی آمنیوتیک انسانی باعث مهار زنده‌مانی، مهار سنتز DNA و چرخه سلولی می‌شود. بطوریکه این اعمال را با

References:

- Westcott PM, Halliwill KD, To MD, Rashid M, Rust AG, Keane TM, et al. The mutational landscapes of genetic and chemical models of Kras-driven lung cancer. *Nature* 2015;517(7535):489-92.
- WHO. Cancer [Internet]. [cited 2022 Mar 10]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>.
- Nikolaou M, Pavlopoulou A, Georgakilas AG, Kyrodimos E. The challenge of drug resistance in cancer treatment: a current overview. *Clin Exp Metastasis* 2018;35(4):309-18.
- Kang NH, Hwang KA, Kim SU, Kim YB, Hyun SH, Jeung EB, et al. Potential antitumor therapeutic strategies of human amniotic membrane and amniotic fluid-derived stem cells. *Cancer Gene Ther* 2012;19(8):517-22.
- Kalra K, Tomar P. Stem cell: basics, classification and applications. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics* 2014;2(7):919-30.
- Ilancheran S, Michalska A, Peh G, Wallace EM, Pera M, Manuelpillai U. Stem cells derived from human fetal membranes display multilineage differentiation potential. *Biol Reprod* 2007;77(3):577-88.
- Dobrev MP, Pereira PN, Deprest J, Zwijsen A. On the origin of amniotic stem cells: of mice and men. *Int J Dev Biol* 2010;54(5):761-77.
- Bose B. Burn wound dressing with human amniotic membrane. *Ann R Coll Surg Engl* 1979;61(6):444-7.
- Hao Y, Ma DH, Hwang DG, Kim WS, Zhang F. Identification of antiangiogenic and antiinflammatory

¹⁵ Natural Killer Cells

- proteins in human amniotic membrane. *Cornea* 2000;19(3):348-52.
10. Arai N, Tsuno H, Okabe M, Yoshida T, Koike C, Noguchi M, et al. Clinical application of a hyperdry amniotic membrane on surgical defects of the oral mucosa. *J Oral Maxillofac Surg* 2012;70(9):2221-8.
11. Kazemnejad S, Khanmohammadi M, Zarnani A-H, Bolouri MR. Characteristics of Mesenchymal Stem Cells Derived from Amniotic Membrane: A Potential Candidate for Stem Cell-Based Therapy. In *Perinatal Tissue-Derived Stem Cells*. Springer; 2016. p. 137-69.
12. Cai J, Li W, Su H, Qin D, Yang J, Zhu F, et al. Generation of human induced pluripotent stem cells from umbilical cord matrix and amniotic membrane mesenchymal cells. *J Biol Chem* 2010;285(15):11227-34.
13. Pappa KI, Anagnou NP. Novel sources of fetal stem cells: where do they fit on the developmental continuum? *Regen Med* 2009;4(3):423-33.
14. Alviano F, Fossati V, Marchionni C, Arpinati M, Bonsi L, Franchina M, et al. Term amniotic membrane is a high throughput source for multipotent mesenchymal stem cells with the ability to differentiate into endothelial cells in vitro. *BMC Dev Biol* 2007;7(1):1-14.
15. Kim J, Lee Y, Kim H, Hwang K, Kwon H, Kim S, et al. Human amniotic fluid - derived stem cells have characteristics of multipotent stem cells. *Cell Prolif* 2007;40(1):75-90.
16. Moorefield EC, McKee EE, Solchaga L, Orlando G, Yoo JJ, Walker S, et al. Cloned, CD117 selected human amniotic fluid stem cells are capable of modulating the immune response. *PloS one* 2011;6(10):e26535.
17. Lai D, Wang F, Chen Y, Wang L, Wang Y, Cheng W. Human amniotic fluid stem cells have a potential to recover ovarian function in mice with chemotherapy-induced sterility. *BMC Dev Biol* 2013;13:34.
18. Loukogeorgakis SP, De Coppi P. Concise Review: Amniotic Fluid Stem Cells: The Known, the Unknown, and Potential Regenerative Medicine Applications. *Stem Cells* 2017;35(7):1663-73.
19. int Anker PS, Scherjon SA, Kleijburg-Van der Keur C, Noort WA, Claas FH, Willemze R, et al. Amniotic fluid as a novel source of mesenchymal stem cells for therapeutic transplantation. *Blood* 2003;102(4):1548-9.
20. Walther G, Gekas J, Bertrand OF. Amniotic stem cells for cellular cardiomyoplasty: promises and premises. *Catheter Cardiovasc Interv* 2009;73(7):917-24.
21. De Coppi P, Bartsch G Jr, Siddiqui MM, Xu T, Santos CC, Perin L, et al. Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy. *Nat Biotechnol* 2007;25(1):100-6.
22. Siegel N, Rosner M, Hanneder M, Valli A, Hengstschläger M. Stem cells in amniotic fluid as new tools to study human genetic diseases. *Stem Cell Rev* 2007;3(4):256-64.
23. Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood* 2005;105(4):1815-22.
24. Luz-Crawford P, Djouad F, Toupet K, Bony C, Franquesa M, Hoogduijn MJ, et al. Mesenchymal Stem Cell-Derived Interleukin 1 Receptor Antagonist Promotes Macrophage Polarization and Inhibits B Cell Differentiation. *Stem Cells* 2016;34(2):483-92.
25. Sharma RR, Pollock K, Hubel A, McKenna D. Mesenchymal stem or stromal cells: a review of clinical applications and manufacturing practices. *Transfusion* 2014;54(5):1418-37.
26. Weiss ARR, Dahlke MH. Immunomodulation by Mesenchymal Stem Cells (MSCs): Mechanisms of Action of Living, Apoptotic, and Dead MSCs. *Front Immunol* 2019;10:1191.
27. Magatti M, Vertua E, Cargnoni A, Silini A, Parolini O. The Immunomodulatory Properties of Amniotic Cells: The Two Sides of the Coin. *Cell Transplant* 2018;27(1):31-44.
28. Kim KY, Kim SU, Leung PC, Jeung EB, Choi KC. Influence of the prodrugs 5 - fluorocytosine and

- CPT - 11 on ovarian cancer cells using genetically engineered stem cells: tumor - tropic potential and inhibition of ovarian cancer cell growth. *Cancer Sci* 2010;101(4):955-62.
29. Kim SU, Jeung EB, Kim YB, Cho MH, Choi KC. Potential tumor-tropic effect of genetically engineered stem cells expressing suicide enzymes to selectively target invasive cancer in animal models. *Anticancer Res* 2011;31(4):1249-58.
 30. Yi B-R, Kang N-H, Hwang K-A, Kim SU, Jeung E-B, Kim Y-B, et al. Genetically engineered stem cells expressing cytosine deaminase and interferon- β migrate to human lung cancer cells and have potentially therapeutic anti-tumor effects. *Int J Oncol* 2011;39(4):833-9.
 31. Cao F, Lin S, Xie X, Ray P, Patel M, Zhang X, et al. In vivo visualization of embryonic stem cell survival, proliferation, and migration after cardiac delivery. *Circulation* 2006;113(7):1005-14.
 32. Toda A, Okabe M, Yoshida T, Nikaido T. The potential of amniotic membrane/amnion-derived cells for regeneration of various tissues. *J Pharmacol Sci* 2007;105(3):215-28.
 33. Phermthai T, Odglun Y, Julavijitphong S, Titapant V, Chuenwattana P, Vantanasiri C, et al. A novel method to derive amniotic fluid stem cells for therapeutic purposes. *BMC Cell Biol* 2010;11(1):79.
 34. Sessarego N, Parodi A, Podesta M, Benvenuto F, Mogni M, Raviolo V, et al. Multipotent mesenchymal stromal cells from amniotic fluid: solid perspectives for clinical application. *Haematologica* 2008;93(3):339-46.
 35. Ayuzawa R, Doi C, Rachakatla RS, Pyle MM, Maurya DK, Troyer D, et al. Naive human umbilical cord matrix derived stem cells significantly attenuate growth of human breast cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer Lett* 2009;280(1):31-7.
 36. Qiao L, Xu ZL, Zhao TJ, Ye LH, Zhang XD. Dkk-1 secreted by mesenchymal stem cells inhibits growth of breast cancer cells via depression of Wnt signalling. *Cancer Lett* 2008;269(1):67-77.
 37. Gholizadeh-Ghaleh Aziz S, Fardiyazar Z, Pashaiasl M. The human amniotic fluid mesenchymal stem cells therapy on, SKOV3, ovarian cancer cell line. *Mol Genet Genomic Med* 2019;7(7):e00726.
 38. Cho JA, Park H, Kim HK, Lim EH, Seo SW, Choi JS, et al. Hyperthermia-treated mesenchymal stem cells exert antitumor effects on human carcinoma cell line. *Cancer* 2009;115(2):311-23.
 39. Rahmatizadeh F, Gholizadeh-Ghaleh Aziz S, Khodadadi K, Lale Ataei M, Ebrahimie E, Soleimani Rad J, et al. Bidirectional and Opposite Effects of Naive Mesenchymal Stem Cells on Tumor Growth and Progression. *Adv Pharm Bull* 2019;9(4):539-58.
 40. Cantinieaux D, Quertainmont R, Blacher S, Rossi L, Wanet T, Noel A, et al. Conditioned medium from bone marrow-derived mesenchymal stem cells improves recovery after spinal cord injury in rats: an original strategy to avoid cell transplantation. *PloS one* 2013;8(8):e69515.
 41. Jafari A, Rezaei-Tavirani M, Farhadihosseinabadi B, Zali H, Niknejad H. Human amniotic mesenchymal stem cells to promote/suppress cancer: two sides of the same coin. *Stem Cell Res Ther* 2021;12(1):126.
 42. Kalamegam G, Sait KHW, Anfinan N, Kadam R, Ahmed F, Rasool M, et al. Cytokines secreted by human Wharton's jelly stem cells inhibit the proliferation of ovarian cancer (OVCAR3) cells in vitro. *Oncol Lett* 2019;17(5):4521-31.
 43. Reza AMMT, Choi Y-J, Yasuda H, Kim J-H. Human adipose mesenchymal stem cell-derived exosomal-miRNAs are critical factors for inducing anti-proliferation signalling to A2780 and SKOV-3 ovarian cancer cells. *Sci Rep* 2016;6:38498.
 44. Serhal R, Saliba N, Hilal G, Moussa M, Hassan GS, El Atat O, et al. Effect of adipose-derived mesenchymal stem cells on hepatocellular carcinoma: In vitro inhibition of carcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2019;25(5):567-83.

45. Rahmatizadeh F, Pashaei-Asl F, Dehcheshmeh MM, Rahbar S, LaleAtaei M, Aziz SG-G, et al. Reduction in the Viability of Human Cervical Cancer HeLa Cell Line via Indirect Co-culture With Amniotic Fluid-Derived Mesenchymal Stem Cells. *International Journal Of Women's Health And Reproduction Sciences* 2020; 8:319-27.
46. Abolghasemi R, Ebrahimi-Barough S, Mohamadnia A, Ai J. Synergistic inhibitory effect of human umbilical cord matrix mesenchymal stem cells-conditioned medium and atorvastatin on MCF7 cancer cells viability and migration. *Cell Tissue Bank* 2022;1-23.
47. Longley DB, Harkin DP, Johnston PG. 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nat Rev Cancer* 2003;3(5):330-8.
48. Hong I-S, Lee H-Y, Kang K-S. Mesenchymal stem cells and cancer: friends or enemies? *Mutat. Res. Fundam Mol Mech Mutagen* 2014;768:98-106.
49. Reza AT, Shiwani S, Singh N, Lohakare J, Lee S, Jeong D, et al. Keratinocyte growth factor and thiazolidinediones and linolenic acid differentiate characterized mammary fat pad adipose stem cells isolated from prepubertal Korean black goat to epithelial and adipogenic lineage. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2014;50(3):194-206.
50. Nomoto-Kojima N, Aoki S, Uchihashi K, Matsunobu A, Koike E, Ootani A, et al. Interaction between adipose tissue stromal cells and gastric cancer cells in vitro. *Cell Tissue Res* 2011;344(2):287-98.
51. Qiao L, Xu Z, Zhao T, Zhao Z, Shi M, Zhao RC, et al. Suppression of tumorigenesis by human mesenchymal stem cells in a hepatoma model. *Cell Res* 2008;18(4):500-7.
52. Wu XB, Liu Y, Wang GH, Xu X, Cai Y, Wang HY, et al. Mesenchymal stem cells promote colorectal cancer progression through AMPK/mTOR-mediated NF-kappaB activation. *Sci Rep* 2016;6:21420.
53. Riedel R, Pérez-Pérez A, Carmona-Fernández A, Jaime M, Casale R, Dueñas JL, et al. Human amniotic membrane conditioned medium inhibits proliferation and modulates related microRNAs expression in hepatocarcinoma cells. *Sci Rep* 2019;9(1):14193.
54. Kim YS, Hwang KA, Go RE, Kim CW, Choi KC. Gene therapy strategies using engineered stem cells for treating gynecologic and breast cancer patients (Review). *Oncol Rep* 2015;33(5):2107-12.
55. Kang NH, Yi BR, Lim SY, Hwang KA, Baek YS, Kang KS, et al. Human amniotic membrane-derived epithelial stem cells display anticancer activity in BALB/c female nude mice bearing disseminated breast cancer xenografts. *Int J Oncol* 2012;40(6):2022-8.
56. Lazzarini R, Olivieri F, Ferretti C, Mattioli-Belmonte M, Di Primio R, Orciani M. mRNAs and miRNAs profiling of mesenchymal stem cells derived from amniotic fluid and skin: the double face of the coin. *Cell Tissue Res* 2014;355(1):121-30.
57. Lazzarini R, Sorgentoni G, Caffarini M, Sayeed MA, Olivieri F, Di Primio R, et al. New miRNAs network in human mesenchymal stem cells derived from skin and amniotic fluid. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2016;29(3):523-8.
58. Shen SQ, Huang LS, Xiao XL, Zhu XF, Xiong DD, Cao XM, et al. miR-204 regulates the biological behavior of breast cancer MCF-7 cells by directly targeting FOXA1. *Oncol Rep*;38(1):368-76.
59. Shirjang S, Mansoori B, Asghari S, Duijf PHG, Mohammadi A, Gjerstorff M, et al. MicroRNAs in cancer cell death pathways: Apoptosis and necroptosis. *Free Radic Biol Med* 2019;139:1-15.
60. Bueno MJ, Malumbres M. MicroRNAs and the cell cycle. *Biochim Biophys Acta Bioenerg* 2011;1812(5):592-601.
61. Korkmaz-Icoz S, Zhou P, Guo Y, Loganathan S, Brlecic P, Radovits T, et al. Mesenchymal stem cell-derived conditioned medium protects vascular grafts of brain-dead rats against in vitro ischemia/reperfusion injury. *Stem Cell Res Ther* 2021;12(1):144.

THE APPLICATION OF AMNIOTIC FLUID-DERIVED MESENCHYMAL STEM CELL-CONDITIONED MEDIUM IN CANCER TREATMENT

Maryam Pashaiasl¹, Roghiyeh Pashaei-Asl², Maliheh Paknejad³

Received: 26 December, 2021; Accepted: 08 February, 2022

Abstract

Currently, chemotherapy and surgery are the main strategies in the clinical treatment of cancer. However, the side effects of chemotherapy drugs on normal tissues affect the quality of a patient's life. In addition, the resistance of the cancer cells to anticancer drugs limits the therapeutic effects. Therefore, the discovery of new treatments to improve cancer therapy is required. In recent years, many studies have shown the potential inhibitory effects of mesenchymal stem cells in cancer progression. Human amniotic fluid mesenchymal stem cells (hAFMSCs) are the unique type of human mesenchymal stem cells that are suitable for some human diseases. Furthermore, recently there are investigations on the anticancer effects of these types of cells. Conditioned medium of mesenchymal stem cells has more advantages than stem cells, such as being easy to produce, package, freeze, and transport, which can lead to drug production. As a result, the conditioned media of amniotic fluid mesenchymal stem cells can be a beneficial candidate for cancer treatment.

Keywords: Amniotic fluid, Mesenchymal stem cell, Cancer, Conditioned medium

Address: Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Tel: +982164053385

Email: paknejadma@tums.ac.ir

SOURCE: STUD MED SCI 2021; 32(9): 683 ISSN: 2717-008X

Copyright © 2021 Studies in Medical Sciences

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

¹ Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences

² Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³ Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran (Corresponding author)