

بررسی اثر نانوکورکومین دندروزومی بر بیان ژن‌های *POU5F1* و *NANOG* در رده

سلولی Caco-2 سرطان کولون



مرضیه چوری، سهراب بوذرپور*، عبدالوهاب مرادی و عیسی جرجانی

ایران، گنبد کاووس، دانشگاه گنبد کاووس، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۶

تاریخ دریافت: ۹۶/۶/۲۱

چکیده

سرطان کولون چهارمین سرطان شایع می‌باشد. با توجه به شیوع بسیار بالای سرطان و مرگ ناشی از آن، اهمیت پرداختن به پژوهش‌های مرتبط با داروها از جمله ترکیبات موثر در پیشگیری، درمان و جلوگیری از عود و بازگشت سرطان کاملاً واضح و آشکار است. کورکومین رنگدانه زرد طبیعی جداشده از ریزوم زردچوبه می‌باشد. کورکومین یک کاندید جدید برای درمان سرطان محسوب می‌شود اما دسترسی زیستی و حلالیت کم، استفاده از آن را با محدودیت روبرو کرده است. بدین منظور اثر نانوحامل دندروزومی در افزایش اثر کورکومین بر روی رده سلولی سرطانی کولون (Caco-2) مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور IC50 با استفاده از روش MTT محاسبه گردید و همچنین تاثیر نانوکورکومین دندروزومی بر بیان ژن‌های *POU5F1* و *NANOG* به وسیله روش Real Time PCR بررسی شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که نانوکورکومین دندروزومی به صورت وابسته به زمان و غلظت، رشد سلولی را کاهش داده، علاوه بر این بیان ژن‌های *POU5F1* و *NANOG* را در رده سلولی Caco-2 سرطان کولون کاهش می‌دهد. به‌طور کلی نتایج نشان داد که نانوکورکومین دندروزومی می‌تواند به‌طور مؤثر در درمان سرطان کولون با کاهش بیان ژن‌های دخیل در تکثیر نامحدود سلول‌ها دخیل باشد.

واژه‌های کلیدی: نانوکورکومین دندروزومی، سرطان کولون، *POU5F1*، *NANOG*.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۶۸۷۸۷۸۳، پست الکترونیکی: so.boozarpour@gonbad.ac.ir

مقدمه

تحقیقات گسترده‌ای جهت استفاده از ترکیباتی با منشا گیاهی در حال انجام می‌باشد (۴ و ۵، ۱۸).

Turmeric یا زردچوبه، نام عامیانه گیاه *Curcuma longa* عضوی از خانواده زنجبیل می‌باشد که ریزوم‌های خشک شده آن به عنوان غذا و همچنین دارو در طب سنتی استفاده می‌گردد (۱۰). زردچوبه علاوه بر استفاده به عنوان ادویه، طعم دهنده و رنگ دهنده به غذا، به‌طور سنتی برای درمان بیماری‌های مختلف از جمله زخم معده، زردی، تصفیه خون، گلودرد، نفخ شکم، تب، بیماری‌های پوستی مانند پسوریازیس، بیماری‌های ریوی مثل آسم، آلرژی، روماتیسم و غیره کاربرد داشته است (۱۸، ۲۳، ۲۴). با این

سرطان یک فرایند چند مرحله‌ای بوده که دوره نهفته آن طولانی ولی در ادامه سریع و پیش‌رونده است (۱۴). با توجه به شیوع بسیار بالای سرطان و مرگ ناشی از آن، اهمیت پرداختن به پژوهش‌های مرتبط با داروها از جمله ترکیبات موثر در پیشگیری، درمان و جلوگیری از عود مجدد سرطان کاملاً آشکار است. سرطان کولون، شایع‌ترین سرطان دستگاه گوارش می‌باشد که اگر در مراحل اولیه تشخیص داده شوند قابل درمان است. روش‌های مختلفی برای درمان سرطان کولون مانند جراحی، شیمی‌درمانی و ایمونوتراپی وجود دارد، با این حال، امروزه

بنابراین ما در این مطالعه برای بررسی اثرپذیری و کارایی نانوکورکومین دندروزومی بر رده سلولی Caco-2 سرطان کولون بیان این ژن‌ها را مورد بررسی قرار دادیم.

مواد و روشها

کشت سلولی: به منظور کشت و ازدیاد رده سلولی Caco-2 سرطان کولون در آزمایشگاه از محیط کشت DMEM حاوی ۲۰٪ FBS (سرم جنینی گاوی) و ۱٪ آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین-استرپتومایسین استفاده گردید و سلول‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵٪ CO₂ انکوبه شدند. محیط کشت سلول‌ها هر ۴ روز تعویض و تقریباً هر دو هفته یکبار سلول‌ها توسط تریپسین پاساژ داده شدند.

بررسی بقا سلولی پس از تیمار با کورکومین آزاد و نانوکورکومین دندروزومی با استفاده از روش MTT: میزان حساسیت سلول‌های کولون به داروی نانوکورکومین دندروزومی و کورکومین آزاد با روش MTT بررسی گردید. بدین منظور ده هزار سلول سرطانی (Caco-2) را در هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه‌ای قرار داده و پس از گذشت ۲۴ ساعت، تحت تیمار با غلظت‌های مختلف نانوکورکومین دندروزومی، قرار داده شدند. همزمان به عنوان شاهد، تیمار با دندروزوم نیز برای بررسی سمیت این حامل بر رده سلولی مورد مطالعه صورت گرفت. در بازه‌های زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تیمار، محیط کشت حاوی دارو حذف و سلول‌ها با PBS شستشو شدند و سپس ۲۰ میکرولیتر محلول MTT با غلظت ۵ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر به هر چاهک اضافه شد و نمونه‌ها به مدت ۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سلول‌های زنده قادر هستند که MTT را احیاء نموده و فورمازان را ایجاد کنند که وجه تمایز سلول‌های زنده از سلول‌های مرده می‌باشد. به منظور بررسی میزان رسوب فورمازان تشکیل شده در سلول، ۲۰۰ میکرولیتر DMSO به سلول‌ها اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط

حال نامحلول بودن، جذب و توزیع بافتی پایین، فعالیت کم، متابولیسم سریع و غیرفعال بودن محصولات حاصل در بدن، استفاده از کورکومین را به‌عنوان یک دارو با محدودیت روبه‌رو کرده است (۱۲). بدین علت راهکارهای متنوعی جهت رفع این محدودیت‌ها در حال بررسی می‌باشد از آن جمله می‌توان به طراحی آنالوگ‌های ساختاری، مهارکننده‌های متابولیسمی و ناقل‌های فسفولیپیدی اشاره کرد (۲۲). دندروزوم‌ها، ناقل‌های پلیمری شاخه‌دار مشتق از اولئیک اسید می‌باشند و برای اولین بار در ایران سنتز شدند. پایداری، عدم سمیت، خنثی بودن بار الکتریکی، زیست‌تخریب‌پذیری، تهیه آسان و هزینه اندک تولید از ویژگی‌های این ناقلین محسوب می‌شود (۲۵،۲۶).

بر اساس نظریه سلول بنیادی سرطان، سلول‌های بنیادی بالغ که تقریباً در تمامی بافت‌های بدن یافت می‌شوند، منشا پیدایش و توسعه سرطان می‌باشند. این نظریه با ردیابی رده‌های سلولی در تومورهای در حال رشد تأیید شده است. گزارشات متعددی حاکی از ارتباط مستقیم افزایش بیان ژن‌های ویژه سلول‌های بنیادی، پیشرفت و تهاجم سلول‌های سرطانی وجود دارد (۱۷).

فاکتورهای رونویسی نقش مهمی در بقا و ویژگی‌های پرتوانی و خودنوزائی سلول‌های بنیادی دارند که ژن‌های *POU5F1* و *NANOG* جزء مهمترین ژن‌های دخیل در حفظ خودنوزائی و ویژگی‌های پرتوانی بوده و ژن‌های شروع‌کننده تمایز را مهار می‌کنند (۷).

همچنین مطالعات متعددی بیانگر افزایش بیان این ژن‌ها در سلول‌های سرطانی کولون می‌باشد به طوری‌که ژن‌های *POU5F1* و *NANOG* را به عنوان عامل مهمی در رشد و پیشرفت سلول‌های سرطانی کولون مطرح کرده است (۱۳).

بررسی بیان ژن های *OCT-4* و *NANOG* با استفاده از

روش Real time PCR

واکنش نسخه‌برداری معکوس (ستتاز cDNA): سنتز cDNA، با استفاده از آغازگرهای (dT) Oligo و Random Hexamers طبق پروتکل استاندارد کیت PrimeScript RT (Takara, Japan) reagent Kit صورت گرفت بر این اساس، واکنش نسخه برداری معکوس در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه انجام پذیرفت و در نهایت آنزیم نسخه بردار معکوس در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ثانیه غیرفعال گردید و نمونه‌ها به فریزر -۲۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

برای بررسی میزان بیان ژن‌ها، پرایمرهای مورد نیاز برای ژن‌های *OCT-4B1*، *NANOG* و *GAPDH* (ژن مرجع) از مقالات مختلف انتخاب و توسط نرم افزار آنالیز Primer-BLAST بررسی شدند و در نهایت سه جفت پرایمر اختصاصی انتخاب گردید (جدول ۱). واکنش Real time PCR با استفاده از Premix Ex (TAKARA, Japan) SYBR Taq TM II و پرایمرهای اختصاصی انجام گرفت (جدول ۲). برای به دست آوردن شرایط بهینه، واکنش‌های مختلف از نظر بازه دمایی صورت گرفت.

انکوبه گردید و سپس شدت رنگ هر چاهک با استفاده از دستگاه الایزا در طول موج ۵۷۰ نانومتر تعیین گردید. درصد سلول‌های زنده در هر غلظت، از تقسیم میانگین جذب نوری سلول‌های تیمار شده با آن غلظت از ماده، بر میانگین جذب نوری کنترل (غلظت صفر دارو) و ضرب عدد حاصل در ۱۰۰ محاسبه گردید. با این روش، IC50 که به عنوان غلظتی از دارو می‌باشد که توانایی کشتن نیمی از سلول‌ها را دارد تعیین شد. نتایج بدست آمده توسط نرم افزار Excel به صورت منحنی‌های دوز- پاسخ رسم گردید.

استخراج RNA : RNA تام سلول با استفاده از محلول Tripure (Roche, Germany) طبق پروتکل استاندارد کیت از سلول‌ها، استخراج گردید. بررسی کیفیت و کمیت RNA استخراج شده برای مراحل بعدی آزمایشات به ویژه روش Real time PCR از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. کمیت RNA به وسیله جذب نوری نمونه‌ها در ۲۶۰ نانومتر در دستگاه نانودرآپ تعیین گردید و همچنین کیفیت RNA با بررسی پیوستگی آن در الکتروفورز ژل آگارز بررسی شد. در ادامه برای حذف آلودگی احتمالی DNA نمونه‌های RNA استخراج شده طبق پروتکل استاندارد با DNase I (Thermo Scientific, USA) تیمار شدند.

جدول ۱- توالی و ویژگی‌های پرایمرهای مورد استفاده

اندازه‌ی قطعه	دمای اتصال (Annealing)	توالی	شماره پذیرش NCBI (Acceptation number)	نام ژن
۱۳۰ bp	۶۰°C	F5'- GGTTCATTTGGTGGGTCC -3'	NM_001285986	<i>OCT-4B1</i>
		R 5'- TTCTCCCTCTCCCTACTCCTC -3'		
۱۲۳ bp	۶۰°C	F5'- GTGAACCATGAGAAGTATGACAAC-3'	NM-001289746.1	<i>GAPDH</i>
		R5'- CATGAGTCCTTCCACGATACC-3'		
۱۴۹ bp	۶۰°C	F5'- AATACCTCAGCCTCCAGCAGATG -3'	XM_011520852.1	<i>NANOG</i>
		R5'- TGCGTCACACCATTGCTATTCTTC -3'		

جدول ۲- برنامه واکنش Real Time PCR

برنامه	مرحله	دما	زمان	تعداد چرخه
۱	واسرشتگی اولیه	۹۵ °C	۳۰"	۱
۲	واسرشتگی و اتصال	۹۵ °C	۵"	۴۰
		۶۰ °C	۳۰"	
۳	گسترش	۹۵ °C	۱۵"	۱
		۶۰ °C	۶۰"	
		۹۵ °C	۱۵"	

نانوکورکومین دندروزومی در مقایسه با کورکومین آزاد اثر سمیت بیشتری دارد و در غلظت‌های پایین‌تر سبب مرگ سلولی شده در صورتی که کورکومین آزاد در غلظت‌های بالاتر سبب مرگ سلولی می‌شود و این نشان‌دهنده حلالیت پایین کورکومین می‌باشد. داده‌های حاصل نشان می‌دهد که القای مرگ سلولی در سلول‌های Caco-2 سرطان کولون از طریق کورکومین صورت گرفته و دندروزوم حلالیت کورکومین را باعث شده است.

پس از تیمار سلول‌های سرطانی با کورکومین آزاد میزان مرگ و میر سلول‌ها تا غلظت ۳۰ میکرومولار اندک بود اما در غلظت‌های بیش از ۴۰ میکرومولار، افزایش ناگهانی در مرگ و میر سلول‌ها مشاهده گردید. به طوری که میزان IC50 در ۲۴ ساعت برابر با ۶۰ و در ۴۸ ساعت برابر با ۴۹ میکرومولار محاسبه گردید. پس از تیمار سلول‌های Caco-2 سرطان کولون با نانوکورکومین دندروزومی در غلظت‌های ۱۵-۱۰ میکرومولار اثر چندانی بر میزان مرگ و میر سلول‌ها مشاهده نشد در حالیکه در غلظت‌های ۲۵-۲۰ میکرومولار افزایش ناگهانی در مرگ سلول‌ها قابل مشاهده بود این میزان پس از گذشت ۴۸ و ۷۲ ساعت از تیمار سلول‌ها با نانوکورکومین دندروزومی بیشتر گردید.

با توجه به نتایج بدست آمده، IC50 نانوکورکومین دندروزومی در بازه زمانی ۲۴ ساعت معادل ۲۶ میکرومولار و در ۴۸ ساعت برابر با ۲۲ و در ۷۲ ساعت ۱۸ میکرومولار محاسبه گردید. لذا نتایج ما رفتار وابسته به دوز نانوکورکومین دندروزومی را نشان می‌دهد.

بررسی بیان ژن های *OCT-4B1* و *NANOG*

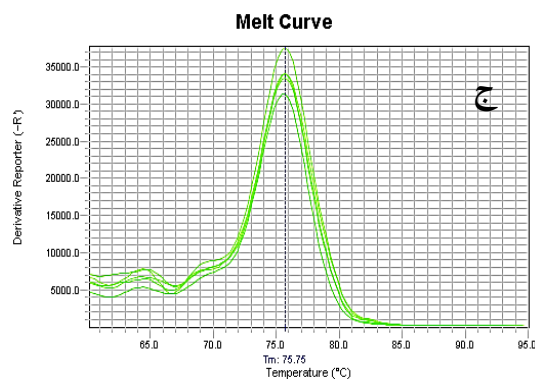
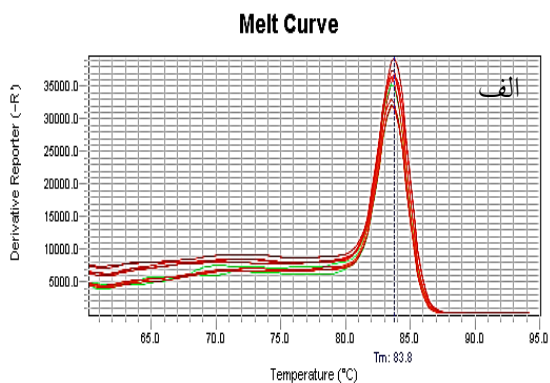
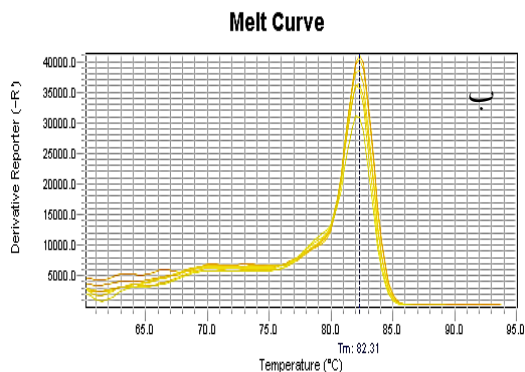
توسط نانوکورکومین دندروزومی: به منظور بررسی اختصاصیت پرایمرهای مورد استفاده از منحنی‌های ذوب آن‌ها استفاده گردید وجود یک پیک نشان اختصاصیت تکثیر انجام شده در هر سه پرایمر مورد استفاده می‌باشد (نمودار ۱).

آنالیز داده‌ها با استفاده از روش ارزیابی نسبی صورت گرفت. این روش بر پایه نسبت بیان ژن مورد نظر به ژن مرجع است. پس از محاسبه کارایی تکثیر آغازگرهای واکنش که به منظور استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ انجام شد، آنالیز داده‌های حاصل از Real time PCR براساس چرخه آستانه به دست آمده برای ژن‌های هدف و مرجع و محاسبه $2^{-\Delta\Delta Ct}$ طبق قانون لیواک انجام گرفت و در نهایت آنالیز داده‌های Real time PCR با نرم افزار REST و رسم نمودارها توسط نرم افزار Excel صورت گرفت.

نتایج و بحث

بررسی سمیت سلولی نانوکورکومین دندروزومی و کورکومین آزاد بر روی رده سلولی Caco-2 سرطان کولون: به منظور بررسی اثرات سمیت سلولی و فعالیت ضد سرطانی کورکومین و نانوکورکومین دندروزومی در شرایط *in vitro* بر رده سلولی Caco-2 سرطان کولون از تست MTT استفاده شد. بدین منظور غلظت‌های مختلفی از ترکیبات فوق بر روی سلول‌ها اثر داده شد و سلول‌های بدون تیمار نیز به عنوان کنترل در نظر گرفته شدند. میزان زنده ماندن سلول‌ها به کمک سنجش MTT در سه بازه زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت ارزیابی گردید.

نتایج نشان داد که کورکومین آزاد و نانوکورکومین دندروزومی به شکل وابسته به غلظت و زمان موجب مهار رشد سلول‌های سرطانی کولون می‌شوند. همچنین

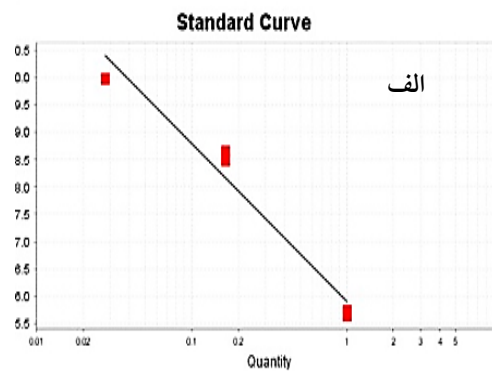
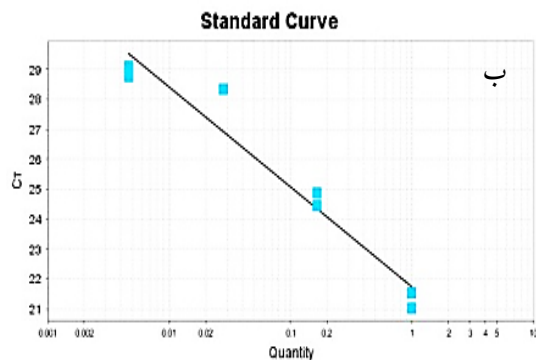


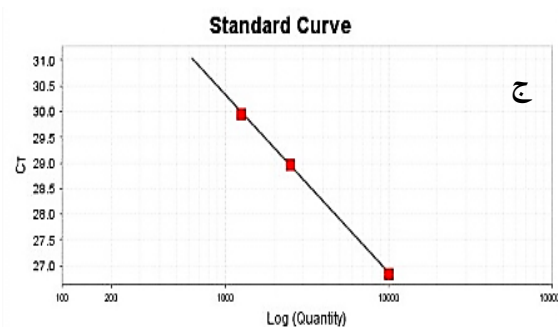
نمودار ۱- منحنی ذوب مربوط به بررسی بیان ژن های الف (GAPDH، ب) NANOG، ج) OCT-4B1 که توسط دستگاه Real-Time PCR (One Step Plus ABI) ثبت شده است. وجود یک پیک در نمودار بیانگر تکثیر اختصاصی ژن های مورد مطالعه می باشد.

اساس C_T های حاصل از هر یک از این واکنش‌ها به شکل زیر توسط دستگاه رسم گردید (نمودار ۲).

کارایی تکثیر ژن *GAPDH* معادل، ۱۲۱،۳۳ و ژن *NANOG* ۹۹،۷۱ می‌باشد و کارایی تکثیر واکنش برای ژن *OCT-4B1* معادل ۹۳،۹۱ می‌باشد.

رسم منحنی استاندارد و محاسبه Efficiency برای ژن های مورد مطالعه: برای هر یک از ژن‌های مورد مطالعه به طور همزمان، یک واکنش Real time PCR انجام شد و پس از اتمام کار، منحنی استاندارد و نمودار تکثیر بر

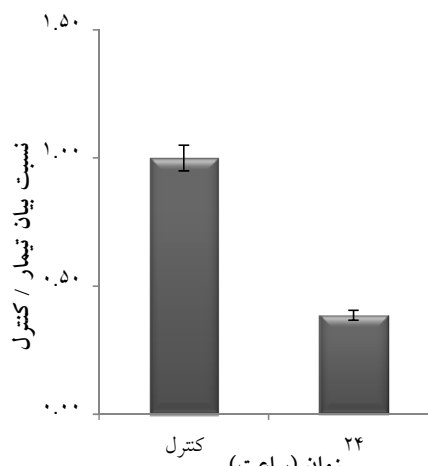




نمودار ۲- منحنی استاندارد ژن‌های مورد مطالعه که توسط دستگاه Real-Time PCR ثبت شده است. الف) GAPDH با کارایی ۱۲۱,۳۳، ب) NANOG با کارایی ۹۹,۷۱، ج) OCT-4B1 با کارایی ۹۳,۹۱.

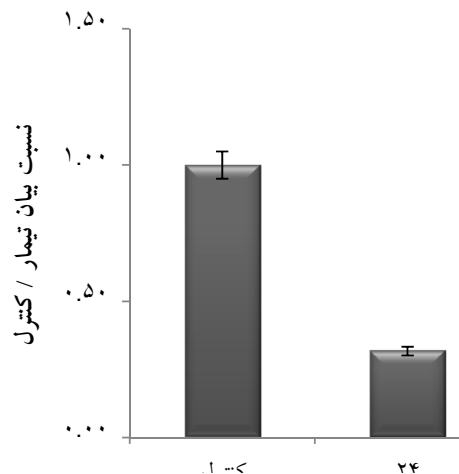
تکثیر تومورهای کولون باشد. نتایج نشان داد که بیان ژن *NANOG* پس از تیمار با نانوکورکومین دندروزومی ۳,۱۵ برابر و بیان ژن *OCT-4B1* ۲,۵۸ برابر کاهش می‌یابد. در نتیجه تیمار به میزان IC_{50} نانوکورکومین دندروزومی (۲۶ میکرومولار) بیان ژن‌های مورد مطالعه را به طور معناداری کاهش می‌دهد (نمودار ۳).

ب



بررسی اثر نانوکورکومین دندروزومی بر بیان ژن‌های *OCT-4B1* و *NANOG* در سلول‌های *Caco-2* سرطان کولون: داده‌های حاصل از Real Time PCR نشان داد که ژن‌های *OCT-4B1* و *NANOG* در رده سلولی *Caco-2* سرطان کولون بیان می‌شوند که می‌تواند نشان‌دهنده نقش این ژن‌ها در رشد و

الف



نمودار ۳- بررسی بیان mRNA ژن‌های مورد مطالعه پس از تیمار به میزان IC_{50} نانوکورکومین دندروزومی. الف) بیان ژن *NANOG* پس از تیمار ۲۴ ساعته، ب) بیان ژن *OCT-4B1* پس از تیمار ۲۴ ساعته.

چهارمین سرطان شایع در میان افراد جامعه می‌باشد. اختلال در مسیرهای پیام‌رسان متعدد یکی از روندهایی است که موجب بروز سرطان کولون می‌گردد. نقش کورکومین در مهار مسیر WNT و در نتیجه کاهش تکثیر

با توجه به میزان بالای شیوع سرطان و مرگ ناشی از آن، اهمیت شناسایی داروهای موثر بر سلول‌های سرطانی واضح و آشکار می‌باشد. سرطان کولون از جمله سرطان‌هایی است که شیوع بسیار زیادی دارد (۱۴). بطوریکه،

سلول‌های سرطانی تسهیل کرده است و این در حالی است که دندروزوم به تنهایی فاقد سمیت بر این رده سلولی می‌باشد.

یافته‌های حاضر نشان داد که نانوکورکومین دندروزومی اثر مهاری بالقوه‌ای بر سلول‌های Caco-2 سرطان کولون داشت که باعث کاهش رشد سلولی گردید. تاثیر مهاری نانوکورکومین دندروزومی به صورت وابسته به زمان و غلظت بود که در مطالعه ما IC50 نانوکورکومین دندروزومی در بازه زمانی ۲۴ ساعت معادل ۲۶ میکرومولار و در ۴۸ ساعت برابر با ۲۲ و در ۷۲ ساعت ۱۸ میکرومولار تعیین گردید.

نتایج مطالعات متعدد بر رده‌های مختلف سلول‌های سرطانی از جمله SW-480 (کولون)، AGS (معهه)، 4T1 (سرطان پستان) و 5637 (مثانه) هم راستا با مطالعه حاضر، نشان می‌دهند که نانوکورکومین دندروزومی با یک الگوی وابسته به غلظت و زمان رشد سلول‌های سرطانی را مهار می‌کند (جدول ۳) (۴، ۲۱).

جدول ۳- مقایسه IC50 نانوکورکومین دندروزومی در رده‌های مختلف سلول‌های سرطانی

منبع	IC50	رده سلولی	نوع سرطان
عصمت آبادی و همکاران (۱۳۹۲)	۱۵/۸۶	SW-480	کولون
پناهی و همکاران (۱۳۹۲)	۱۳/۵	AGS	معهه
عارف زاده و همکاران (۱۳۹۴)	۱۹	4T1	پستان
طهماسبی و همکاران (۱۳۹۲)	۲۰	5637	مثانه

آدنوکارسینومای معده انسان (AGS) تحت تیمار با نانوکورکومین کاهش می‌یابد (۳).

همچنین در تائید کار ما طهماسبی و همکاران القاء مرگ برنامه ریزی شده سلولی در رده سلولی توموری ۵۶۳۷ مثانه توسط نانوکورکومین دندروزومی و اثر آن بر کاهش بیان ژن‌های *NANOG*، *OCT-4* و *NUCLEOSTEMIN* را نشان دادند (۱).

سلولی در مطالعات مختلف و از طرق گوناگون بررسی و تایید شده است. همچنین تاثیر آن بر مسیرهای PTEN و NFKB از طریق مهار ژن *miR-21* تایید شده است. علاوه بر این از آنجاییکه سرطان کولون بیماری است که نقش اپی ژنتیک در آن بارز می‌باشد لذا ترکیباتی مانند کورکومین که با متیل ترانسفرازها و دیگر آنزیم‌های دخیل در فرایندهای اپی ژنتیکی بر همکنش دارد کاندید مناسبی برای درمان آن می‌باشد (۹، ۱۵).

لذا ما در این تحقیق اثر نانوکورکومین دندروزومی را در مقایسه با کورکومین آزاد مورد مطالعه قرار دادیم نتایج این پژوهش نشان داد که نانوکورکومین دندروزومی در مقایسه با کورکومین آزاد اثر سمیت بیشتری دارد و در غلظت‌های پایین‌تر سبب مرگ سلولی شده در صورتی که کورکومین آزاد در غلظت‌های بالاتر سبب مرگ سلولی می‌شود و این نشان‌دهنده حلالیت پایین کورکومین می‌باشد. این داده‌ها نشان می‌دهد که القای مرگ سلولی در سلول‌های Caco-2 سرطان کولون به واسطه کورکومین صورت گرفته و دندروزوم با افزایش حلالیت کورکومین این رسانش را به

ژن‌های *OCT-4* و *NANOG* از فاکتورهای رونویسی مهم ایجاد توانایی خودنوزایی و نامیرایی در سلول‌های بنیادی سرطانی می‌باشند (۵). مطالعات گوناگونی نقش ژن‌های دخیل در خودنوزایی سلول‌های بنیادی از جمله *SOX2*، *NANOG* و *OCT-4* را در سلول‌های سرطان کولون نشان داده‌اند.

رنجی و همکاران نشان دادند که بیان ژن‌های *hTERT* و *SURVIVIN* که از ژن‌های دخیل در افزایش تکثیر و بقای سلول‌های سرطانی می‌باشند، در رده سلولی

بطور موثری بیان آن‌ها را کاهش می‌دهد که موید این امر است که می‌تواند اثر مهاری بر رشد و توسعه سلول‌های سرطانی کولون داشته باشد. با این حال لزوم مطالعات تکمیلی گسترده‌تر برای استفاده آن در کلینیک ضروری می‌باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از همکاری صمیمانه جناب آقای دکتر مجید صادقی زاده بخاطر در اختیار گذاشتن کورکومین، نانوکورکومین و مشاوره‌های مفیدشان در جهت ارتقای این مطالعه کمال تشکر و قدردانی را دارند.

هم‌راستا با مطالعه حاضر، میرزایی و همکاران در سال ۱۳۹۳ اثر کورکومین بر بیان ژن‌های *POU5F1*، *AGS* و *NUCLEOSTEMIN* در رده سلولی معده را بررسی نمودند. نتایج آن‌ها نشان داد که کورکومین می‌تواند بیان ژن‌های فوق را کاهش دهد و به‌عنوان یک مهارکننده تقسیمات سلولی، در پیشگیری از سرطان مورد توجه قرار گیرد (۲۰).

مطالعه حاضر نشان داد که ژن‌های *OCT-4B1* و *NANOG* که ژن‌های مهم دخیل در خودنوزایی سلول‌های بنیادی سرطانی هستند، در رده سلولی *Caco-2* سرطان کولون بیان می‌شوند و نانوکورکومین دندروزومی

منابع

- ۱- پهماسی میرگانی، م. صادقی‌زاده، م. نجفی، ف. مولی، ج. ۱۳۹۲. القای مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی در رده توموری ۵۶۳۷ متانه توسط نانوکورکومین دندروزومی با مهار ژن‌های دخیل در پرتوانی. مجله علوم پزشکی مدرس، ۱۶:۱، ۳۳-۳۹.
- ۲- دهقان عصمت‌آبادی، م. فرهنگ، ب. شیرزاد، ه. صادقی‌زاده، م. ۱۳۹۲. بررسی اثر نانوکورکومین در مهار نرخ رشد و چسبندگی به ماتریکس خارج سلولی در سلول سرطانی رده SW-480. مجله طب انتظامی، (۴) ۲۶۳۳-۲۷۲۲.
- ۳- رنجی، ن. پادگانه، ع. صادقی‌زاده، د. صادقی‌زاده، م. ۱۳۹۳. بررسی بیان ژنهای *hTERT* و *Survivin* در رده سلولی an "ageold" solution. *Cancer Lett.* 267(1): 133-64.
- 10- Anand, P. Kunnumakkara, A.B, Newman, R.A. Aggarwal, B.B. 2007. Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Mol Pharm.* 4(6):807-18.
- 11- Amini, S. Fathi, F. Parivar, K. Kucheshfahani, M. Rezaie, M. J. Nikkhoo, B. 2009. Evaluating the Expression of Oct-4, Nanog, Sox2 and Nucleostemin in Colon Cancer Cell Lines (Caco-2, HT-29). *Original Article.* 12:223-230.
- 12- Aggarwal, B.B. Sung, B.B. 2009. Pharmacological basis for the role of curcumin in chronic diseases: an age-old spice with modern targets. *Trends Pharmacol Sci.* 30(2): 85-94.
- 13- Freberg, C. T. Dahl, J. A. Timoskainen, S. Collas, P. 2007. Epigenetic reprogramming of Oct-4 and NANOG regulatory regions by
- آدنوکارسینومای معده انسان (AGS) تحت تیمار با نانوکورکومین. مجله پژوهش‌های سلولی مولکولی، (۲۷) ۲۳۳-۲۴۱.
- ۴- تفریحی، م. نخعی سیستانی، ر. ۱۳۹۵. اثر عصاره استونی دانه انار بر بیان پروتئین‌های *B-catenin* و *E-cadherin* در سلول‌های سرطانی PC-3. مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی، (۱) ۲۹۱.
- ۵- میمندی، ک. یعقوبی، م. ۱۳۹۴. اثرات عصاره آبی و اتانولی گل محمدی بر علیه سلول‌های سرطانی معده انسان. مجله پژوهش‌های سلولی مولکولی، (۲) ۲۸.
- 6- Amini, S. Fathi, F. Ghadimi, T. Mobaleghi, J. 2014. The expressions of stem cell markers: OCT4, NANOG, SOX2, nucleostemin, BMI, ZFX, TCL1, TBX3, DPPA4, and ESRRB in bladder, colon, and prostate cancer, and certain cancer cell lines. *Oncogene.* 32(37): 4397-4405.
- 7- Avery, S. Inness, K. Moore, H. 2006. The regulation of self-renewal in human embryonic stem cells. *Stem Cells Dev.* 15(5): 729-740.
- 8- Assadollahi, V. Gholami, M. Zendedel, A. Afsartala, Z. Lahanmardi, F. 2015. Comparison of Oct- Sox-2 and Nanog Expression in pancreatic Cancer Cell Lines and Human Pancreatic Tumor. *Original Article.* 12(2): 256-288.
- 9- Anand, P. Sundaram, C. Jhurani, S. Kunnumakkara, A.B. Aggarwal, B.B. 2008. Curcumin and cancer: an "old-age" disease with

- embryonal carcinoma cell extract. *MolBiol Cell*. 18(5): 1543-1553.
- 14- Gorgoulis, V. G. Vassiliou, L. V. Karakaidos, P. Zacharatos, P. Kotsinas, A. Liloglou, T. Venere, M. Ditullio, R. A. Kastrinakis, N. G., Levy, B., Kletsas, D. Yoneta, A. Herlyn, M. Kittas, C. and Halazonetis, T. D. 2005.
- 15- Gordaliza, M. 2007. Natural products as leads to anticancer drugs. *Clin Transl Oncol*. 9(1): 767-776.
- 16- Giovannucci, E. 2003. body weight, and colorectal cancer: a summary of the epidemiologic evidence. *J Wom-ens Health (Larchmt)*. 12:173-82.
- 17- Gostjeva EV, Thilly, W.G. 2005. Stem cell stages and the origins of colon cancer: a multidisciplinary perspective. *Stem Cell Rev*. 1(3): 243-251.
- 18 -Khan R, Khan AQ, Lateef A, Rehman MU, Tahir M, Ali F, et al. 2013. Glycyrrhizic Acid Suppresses the Development of Precancerous Lesions via Regulating the Hyperproliferation Inflammation, Angiogenesis and Apoptosis in the Colon of Wistar Rats. *PLoS ONE*. 8(2): 56020.
- 19- Maheshwari, R.K. Singh, A.K. Gaddipati, J. Srimal, R.C. 2006. Multiple biological activities of curcumin: a short review. *Life Sci*. 78(18): 2081-7.
- 20- Mirzaei, M. R. Mahmodi, M. Hajizadeh, M. R. Bagrezaei, F. Akbar poor, V. Bahramabadi, R. 2014. The survey of curcumin effect on the expressional profile of oct4, Nanog and Nucleostemin genes in AGS (adenocarcinoma) cancer cell line. 8(2): 19-27.
- 21- Nabiuni, M. Kouchesfahani, H. Azari, S. Delfan, B. Gholami, S. Yarmohamadi, A. 2012. Effect of Curcumin on AQP5 gene expression in HT-29 human colorectal cancer cells. *Original Article*. 16(6): 493-500.
- 22- Ohoi, H. Yamakoshi, H. Tomizawa, M. Shibuya, M. Kakudo, Y. Takahashi, A. Takahashi, S. Kato, S. Suzuki, T. Ishioka, C. Iwabuchi, Y. Shibata, H. 2006. Synthesis and biological analysis of new curcumin analogues bearing an enhanced potential for the medicinal treatment of cancer. *Mol Cancer Ther*. 5(10): 2563-71.
- 23- Singh, S. 2007. From exotic spice to modern drug? *Cell*. 130(5): 765-8.
- 24- Sharma, R. A. Gescher, A. J. Steward, W. P. 2005. Curcumin: the story so far. *Cancer*. 41(13): 1955-68.
- 25- Sarbolouki, M.N. Sadeghizadeh, M. Yaghoobi, M.M. Karami, A. Lohrasbi, T. 2000. Dendrosomes: a novel family of vehicles for transfection and therapy. *J Chem Technol Biotechnol*. 75(10): 919-22.
- 26- Sadeghizadeh, M. Ranjbar, B. Damaghi, M. Khaki, L. Sarbolouki, M.N. Najafi, F. Parsaee, S. Ziaee, A.A. Massumi, M. Lubitz, W. Kudela, P. Paukner, S. Karami, A. 2008. Dendrosomes as novel gene porters-III. *J Chem Technol Biot* 83(6): 912-20.

Investigation of *POU5F1* and *NANOG* gene expression in colon cancer cell line (Caco-2) treated by dendrosomal nano-curcumin

Choori M., Boozarpour S., Moradi A.V. and Jorjani E.

Biology Dept., Faculty of Basic Science, Gonbadkavous University, Gonbadkavous, I.R. of Iran

Abstract

Colon cancer is the fourth most common cancer. With concern to high prevalence and mortality of colon cancer, it is obvious the importance of drug related study, such as effective component in prevention, therapy and recurrence of the cancer. Curcumin is natural yellow pigment isolated from rhizome of turmeric. Curcumin is a new candidate for anticancer treatment, but its low bioavailability and water solubility represent the main disadvantages of its use. In this study, the role of dendrosomal nano carrier assessed in increment of curcumin effects in colon cancer cell line (caco-2). For this reason, IC50 was determined by MTT assay. Also, the effects of dendrosomal nano-curcumin recognized with gene expression study of *POU5F1* and *NANOG* by Real Time PCR. Our finding showed that dendrosomal nano-curcumin decrease cell growth depends on time and concentration, moreover, it significantly declines *POU5F1* and *NANOG* gene expression in colon cancer cell line (caco-2). Overall, the results showed that dendrosomal nano-cucomin could be effective in therapy of colon cancer by reducing the expression of genes involved in unlimited cell proliferation.

Key words: dendrosomal curcumin, colon cancer, *POU5F1*, *NANOG*.