JSST
فصلنامهٔ علمی - پژوهشی علوم و فناوری فضایی

دوره ۴ / شمارهٔ ۴/ زمستان ۱۴۰۰ (دوره ۱۴/ شماره پیاپی ۴۹) DOI: 10.22034/JSST.2021.1285
ص. ص . ۶۶- ۶۱

مقاله علمی– پژوهشی

تغییرات بیانی ژن CD44 در رده سلولی سرطانی MDA-MB-231 بعد از قرارگیری در شرایط میکروگراویتی شبیه‌سازی شده

زهرا حاج‌ابراهیمی[۱] و مریم صلواتی‌فر[۲]

۱ و ۲- گروه فیزیولوژی فضایی، پژوهشگاه هوافضا، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، تهران، ایران

میکروگراویتی (بی وزنی) بر رشد و متاستاز سلول‌های توموری اثر می‌گذارد. با این وجود، اساس مولکولی آن شناخته نشده است. به دلیل بیان بالای مولکول CD44 در تومورهای بازال تهاجمی سرطان پستان، این مسئله در سال‌های اخیر موضوع بسیاری از مطالعات بوده است. هدف از مطالعه حاضر بررسی تغییرات بیانی ژن CD44 در رده سلولی MDA-MB-231 در شرایط بی‌وزنی بود. رده سلولی در شرایط جاذبه طبیعی و بی‌وزنی ۱ و ۳ روز توسط دستگاه کلینواستت دو بعدی تکثیر شد. بیان ژن با Real-time PCR اندازه‌گیری شد. میزان بیان ژن پس از یک روز به میزان ۱۰۰ درصد افزایش و پس از ۳ روز به میزان ۱۵ درصد کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد که پاسخ سلول‌های سرطانی به بی‌وزنی وابسته به زمان باشد و اعمال آن برای مدت سه روز ممکن است اثرات مثبتی بر کاهش فنوتیپ سرطانی در این رده سلولی از لحاظ کاهش بیان مولکول CD44 داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: سرطان پستان، بی‌وزنی، CD44، رده سلولی MDA-MB-231

علائم و اختصارات

بافت خارج سلولی	Extracellular Matrix (ECM)
پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن	Mitogen-Activated) MAPK (Protein Kinase
عامل رشد اپیدرمی انسان	Human epidermal growth factor receptor-2 (HER2)
یک محیط پایه برای کشت سلول	Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)

مقدمه

از ابتدای مأموریت‌های فضایی تاکنون مشخص شده است که قرارگیری در فضا با تغییرات سازشی و غیرسازشی (بیماری) فیزیولوژیکی در بدن انسان همراه است. با بازگشت به زمین، بسیاری از این تغییرات مجدداً تعدیل می‌شود که این تعدیل برای برخی مشکلات به سرعت و برای برخی دیگر به صورت تدریجی و کند است. در طول تکامل، حیات بر روی زمین در شرایط جاذبهٔ ۱g گسترش یافته است. تأثیر این نیرو و جبر بر حیات، تا به امروز به‌خوبی مطالعه نشده است. با وجودی که تکنیک‌هایی بر روی زمین برای افزایش نیروی جاذبه (سانتریفیوژ) یا کاهش آن (بی‌تحرکی و چرخش آرام) وجود دارد، اما مطالعهٔ اثرات طولانی‌مدت بی‌وزنی بر روی زمین تاکنون مطالعه نشده است. همچنین، با وجودی که کلیاتی در مورد اثر جاذبه و بی‌وزنی بر روی کل یک ارگانیسم می‌دانیم، اما آگاهی زیادی در مورد تأثیر آن در سطح سلول و وقایع سلولی وجود ندارد. نتایجی که از این‌گونه مطالعات به‌دست می‌آید می‌تواند در سلامت فضانوردان، انتقال حیات به کرات دیگر، افزایش دانش زیست شناسی و در بهبود کیفیت زندگی انسان بر روی زمین و سلامت آن مؤثر باشد [۱].

۱ . دانشیار (نویسنده مخاطب)
۲ . استادیار

دریافت مقاله: ۹۹/۰۴/۰۴ ، پذیرش مقاله: ۹۹/۰۷/۲۳ / چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۰/۱۰/۰۱/ شاپای الکترونیکی: ۴۵۱۶-۲۳۲۴ / شاپای چاپی: ۴۵۱۶-۲۰۰۸

تغییر عملکرد و خصوصیات سلولی به روشنی با تغییر جاذبه و در شرایط بی‌وزنی مشاهده شده است. این امر موجب آتروفی عضلانی- اسکلتی و اختلال در عملکرد سیستم ایمنی و بیماری‌های مختلف در فضانوردان می‌شود [۲]. تغییر نیروی جاذبه بر روی سلول‌های مختلف، تأثیرات متفاوتی دارد. بی‌وزنی منجر به رشد سلول به صورت کلنی و توده‌های سلولی می‌شود و یک محیط ایده‌آل برای توسعه مدل‌های کشت سه بعدی سلول بدون نیاز به داربست است [۳]. این امر در مطالعه سلول‌های سرطانی به منظور فهم مکانیسم‌های ایجاد و پیشرفت سرطان حائز اهمیت است و می‌تواند ما را در توسعه روش‌های درمانی جدید یاری کند. از آنجاکه قرارگیری در شرایط بی‌وزنی واقعی در فضا پرهزینه و با خطرات زیادی همراه است و شبیه‌سازی بی‌وزنی برای موجودات زنده نیز بسیار مشکل است، زیست شناسان به مطالعه سلول‌ها و بافت‌های ارگانیسم‌های زنده با استفاده از دستگاه‌های شبیه‌ساز بی‌وزنی روی آوردند. هدف از مطالعه حاضر بررسی تغییرات بیانی ژن CD44 و در شرایط بی‌وزنی شبیه‌سازی شده با دستگاه کلینواستت در رده سلولی MDA-MB-231 سرطان پستان است.

مولکول CD44، عضو خانواده‌ای بزرگ از گلیکوپروتئین‌هاست که مسئول برقراری ارتباط و چسبندگی بین سلول‌های مجاور و بین سلول و بافت خارج سلولی است. همچنین، مطالعات نشان داده است که مولکول CD44 در هدایت پیام‌های سلولی رشد و حرکت سلول نقش دارد. در نتیجه این مولکول در فرایندهای زیستی بسیاری مانند رگزایی، لنفوژنز، ترمیم زخم، التهاب و متاستاز در سرطان تاثیرگذار است. نقش مولکول CD44 در پیشرفت سرطان‌های مختلفی در انسان همچون سرطان کبد، روده بزرگ، پستان، لنفوم، پروستات، تخمدان، دهانه رحم، کولون و ریه نشان داده شده است. برخی مطالعات بیانگر نقش دوگانه مولکول CD44 است. به طوری که در سرطان پروستات به‌عنوان ژن سرکوبگر متاستاز و در مدل‌های گزنوگرافت[3] آن به‌عنوان ژن پیش‌برنده رشد و متاستاز گزارش شده است [۴-۶]. نقش مولکول CD44 در سرطان پستان، نامشخص و تا به امروز به درستی تعیین نشده است. بیان مولکول CD44 در سرطان پستان با نتایج بد و ناسازگار مرتبط است و به عنوان مارکر سلول‌های بنیادی درنظر گرفته می‌شود [۷].

مطالعات نشان داده است که بی‌وزنی شبیه‌سازی شده بر اسکلت سلولی، پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی، چسبندگی سلول‌های توموری، تکثیر سلول‌های توموری، تهاجم و متاستاز سلول‌های توموری تأثیرگذار است [۱۲-۸]. با این حال، مکانیسم‌های مولکولی که منجر به تغییرات ذکر شده می‌شود هنوز به خوبی مطالعه نشده‌اند. اسکلت سلولی در تعیین شکل سلولی، انتقال داخل سلولی مواد، مهاجرت سلولی، رشد و تکثیر سلول نقش دارد [۱۳].

باتوجه به مطالب ذکر شده، هدف از مطالعه حاضر بررسی تغییرات بیانی ژن CD44 در شرایط بی‌وزنی شبیه‌سازی شده با دستگاه کلینواستت در رده سلولی MDA-MB-231 سرطان پستان است. نتایج نشان داد که میزان بیان ژن پس از یک روز افزایش و پس از ۳ روز کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد که پاسخ سلول‌های سرطانی به بی‌وزنی وابسته به زمان باشد و اعمال آن برای مدت سه روز ممکن است اثرات مثبتی بر کاهش فنوتیپ سرطانی در این رده سلولی از لحاظ کاهش بیان مولکول CD44 داشته باشد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی بوده و در آزمایشگاه زیست- پزشکی فضایی، پژوهشگاه هوافضا در سال ۱۳۹۸ به انجام رسیده است. رده سلولی MDA-MB-231 از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران، کرج، خریداری شد.

کشت و تکثیر سلول‌های MDA-MB-231

سلول‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه در فلاسک T25 (TPP,Switzerland) در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد با ۵ درصد گاز دی اکسید کربن کشت و تکثیر شدند. محیط کشت شامل DMEM با گلوکز بالا (Dulbecco's Modified Eagle Medium; Biowest, France) به همراه ۱۰ درصد سرم گاوی (FBS; Biowest, France) و ۱ درصد آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلن/ استرپتومایسن بود. پس از پر شدن حدود ۸۰ % کف فلاسک، پاساژ با آنزیم تریپسین –EDTA (Biowest, France) ۰/۰۵ درصد صورت گرفت. آزمایش ها از پاساژ ۳ به بعد انجام شد.

شبیه‌سازی بی‌وزنی

سلول‌ها به تعداد ۲×۱۰^{۶} در لوله‌های کشت سلول (tissue culture tube=TPP) در دو گروه سلول‌های کنترل (1gیا بدون بی‌وزنی) و نمونه‌های بی‌وزنی (۱ روز و ۳ روز بی‌وزنی) کشت شدند. پس از چسبیدن سلول‌ها، برای جلوگیری از حضور حباب و ایجاد نیروهای برشی، لوله‌های کشت کاملاً با محیط کشت پر شدند. برای ثابت ماندن pH محیط کشت، از غلظت ۱۵ میلی مولار HEPES در محیط کشت استفاده شد. برای ایجاد بی‌وزنی از دستگاه کلینواستت دوبعدی (تک محوره) در

3. Xenograft

پژوهشگاه هوافضا که از سازمان ملل گرفته شده بود، استفاده شد. میزان بی‌وزنی اعمال شده g ۰/۰۰۱ بود. جهت ایجاد بی‌وزنی به صورت زیر اقدام شد: دستگاه کلینواستت توسط نور ماورای‌بنفش و الکل ۷۰ درصد استریل شد و در داخل انکوباتور گذاشته شد. دور دستگاه کلینواستت بر روی ۳۰rpm تنظیم شد و لوله‌های کشت سلول در مرکز کلینواستت تثبیت شد. در زمان‌های ۱ و ۳ روز، نمونه‌ها جهت استخراج RNA از دستگاه خارج شدند. نمونه‌های کنترل همزمان در داخل انکوباتور و خارج از کلینواستت قرار گرفتند. کلیه آزمایش‌ها ۳ بار تکرار شد.

آنالیز بیان ژن به روش Real- time PCR

میزان بیان ژن CD44 قبل و بعد از تیمار بی‌وزنی توسط روش quantitative real-time PCR[۴] بررسی شد. RNA کل سلولی با استفاده از کیت استخراج RNA (RNX-Plus; Sinaclon, Iran) و مطابق با دستورالعمل کیت استخراج شد. صحت و تمامیت RNA استخراج‌شده از طریق الکتروفورز ژل آگارز، اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر و همچنین PCR برای ژن کنترل داخلی (GAPDH) تأیید شد.

یک میکروگرم از RNA کل برای سنتز cDNA و با استفاده از کیت تجاری Prime ScriptTM RT reagent (Takara, Japan) در حجم واکنش ۲۰ میکرولیتر و مطابق پروتکل شرکت سازنده استفاده شد. محصول واکنش تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. به‌منظور تکثیر ژن‌های CD44 و کنترل داخلی، واکنش Real time PCR با استفاده از ۲ میکرولیتر از محصول cDNA، پرایمرهای مخصوص هر ژن، کیت SYBR Green Real Time Master Mix(Takara, Japan) و دستگاه StepOnePlus Real-Time PCR (Applied Biosystems, USA) انجام شد. شرایط دمایی مورد استفاده شامل یک مرحله فعال‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و در ادامه ۴۰ سیکل به صورت ۵ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای دناتوراسیون و ۳۴ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای گسترش هم زمان بود. منحنی ذوب برای ژن‌ها بعد از انجام واکنش Real time PCR رسم و محصولات PCR توسط الکتروفورز ژل آگارز چک شد. میزان بیان ژن با روش کمی نسبی و تعیین ΔΔCT و استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد. از GAPDH به عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد. توالی پرایمرها در جدول ۱ آورده شده است [۱۴].

جدول ۱- ترادف و مشخصات پرایمرهای به کار گرفته شده در این مطالعه

نام ژن	شماره RefSeq	توالی پرایمر (۵ به ۳)	طول محصول PCR (bp)
GAPDH	NG_007073.2	Forward: ACGACCACTTTGTCAAGCTCAT Reverse: TCCACCACCCTGTTGCTGTA	101
CD44	NM_001202556.1	Forward : GCTTCAATGCTTCAGCTCCAC Reverse : GGGTTGCTGGGGTAGATGTC	166

آنالیز آماری

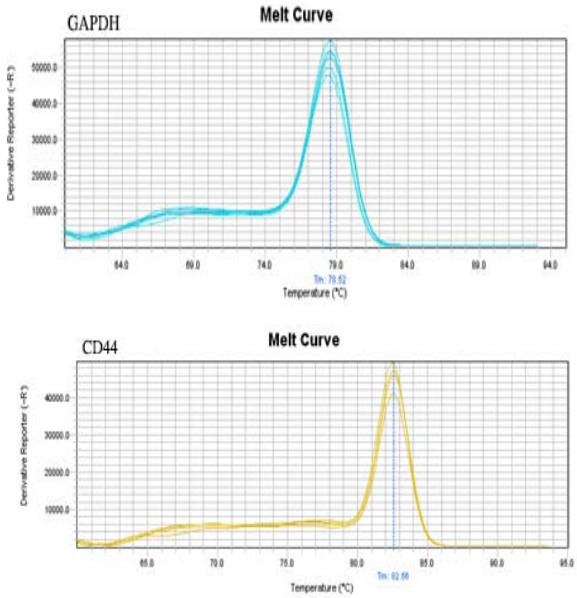
رسم نمودارها و آنالیز آماری اطلاعات به دست آمده شامل درصد بیان نسبی ژن با استفاده از نرم افزار GraphPad Prism (Version 7) و توسط آزمون آماری Unpaired t test بود. سطح معنی دار $P < 0.05$ درنظرگرفته شد.

نتایج

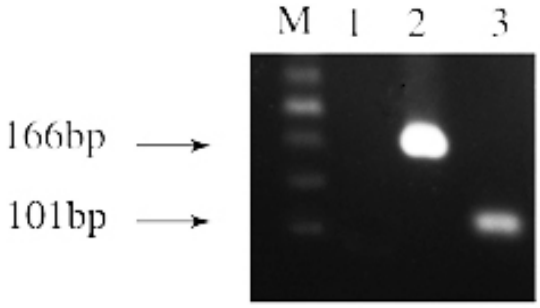
در این مطالعه از رنگ فلورسانت سایبر گرین برای بررسی تغییرات بیانی ژن CD44 استفاده شد. به منظور اطمینان از تکثیر محصول اختصاصی و عدم تکثیر محصولات غیراختصاصی و تأیید اختصاصی‌بودن پرایمرها، نمودار منحنی ذوب (شکل ۱) برای هر دوی ژن‌های CD44 و GAPDH رسم و محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز شد (شکل ۲). نتایج منحنی ذوب حاکی از اتصال صحیح پرایمرها و اختصاصی‌بودن محصول PCR برای ژن‌های موردنظر بود؛ همچنین ژل آگارز در الکتروفورز تنها یک باند دیده شد که بیانگر عدم تکثیر محصول غیراختصاصی در محصول PCR است. پس از انجام واکنش Real time PCR ، $2^{-\Delta\Delta ct}$ برای هر نمونه با استفاده از نرم‌افزار اکسل محاسبه شد و نمودار بیان ژن با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism رسم (شکل ۳) و داده‌ها با تست آماری Unpaired t test آنالیز شد. نتایج نشان داد که بیان ژن CD44 در رده سلولی MDA-MB-231 سرطان پستان پس از یک روز قرارگیری در معرض بی‌وزنی شبیه‌سازی شده، به میزان ۱۰۰ درصد در مقایسه با نمونه‌های کنترل (سلول‌های کشت شده در شرایط عادی و بدون قرارگیری بر روی دستگاه شبیه‌ساز بی‌وزنی، جاذبه نرمال ۱ g) افزایش می‌یابد (P=0.0460) و در مقایسه با نمونه‌های کنترل دو برابر می‌شود. ادامه یافتن بی‌وزنی منجر به کاهش بیان ژن CD44 در این رده سلولی

۴. تکنیکی است که به طور گسترده در بررسی‌های کمی بیان ژن به‌کار می‌رود.

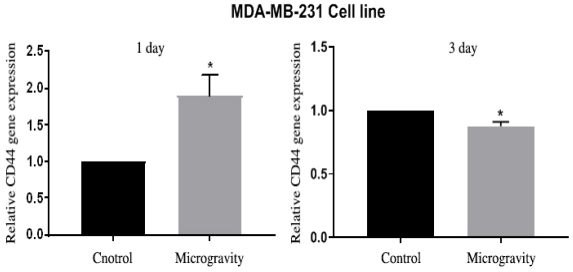
شد به‌طوری که پس از سه روز اعمال بی‌وزنی، بیان ژن CD44 تقریبا نزدیک به نمونه‌های کنترل شد و در مقایسه با نمونه‌های کنترل ۱۵ درصد کاهش یافت (P=0.0377).



شکل ۱ – نمودار منحنی ذوب ژن‌های GAPDH و CD44



شکل ۲– الکتروفورز ژل آگارز محصول PCR، چاهک M: DNA مارکر ۵۰bp (Sinaclon, Cat. No. SL7021)، چاهک شماره ۲: محصول PCR ژن CD44 و چاهک شماره ۳: محصولPCR ژن GAPDH



شکل ۳– تغییرات بیانی ژن CD44 در رده سلولی MDA-MB-231 پس از یک و سه روز کشت در محیط بی‌وزنی شبیه‌سازی شده (گروه کنترل نمونه‌های سلولی کشت شده در شرایط نرمال (۱g، بدون بی وزنی) و * سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵)

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات قبلی در شرایط بی‌وزنی شبیه‌سازی شده نشان داده است که بی‌وزنی بر چسبندگی سلول‌های توموری، تکثیر، تهاجم و متاستاز آنها تأثیر می‌گذارد [۸-۱۲] با این حال، مکانیسم‌هایی که منجر به این تغییرات می‌شود در سطح مولکولی هنوز به درستی مشخص نشده‌اند. در این مطالعه نشان داده شد که بی‌وزنی شبیه‌سازی شده توسط دستگاه کلینواستت دوبعدی، منجر به تغییر بیان ژن CD44 در رده سلولی MDA-MB-231 می‌شود. اعمال بی‌وزنی منجر به افزایش ۱۰۰ درصدی ژن CD44 در رده سلولی MDA-MB-231 سرطان پستان (دو برابر شدن بیان ژن در مقایسه با نمونه‌های کنترل) پس از یک روز کشت سلول‌ها بر روی دستگاه کلینواستت شد. ادامه یافتن بی‌وزنی منجر به کاهش بیان این ژن و حتی کمتر از نمونه‌های کنترل شد. به طوری‌که پس از سه روز قرارگیری سلول‌ها در شرایط بی‌وزنی شبیه‌سازی شده، بیان این ژن به میزان ۱۵ درصد در مقایسه با نمونه‌های کنترل کاهش یافت و بیان آن به سطح ۸۵ درصد نمونه‌های کنترل رسید.

مولکول CD44 در برقراری ارتباط و ایجاد چسبندگی بین سلول‌های مجاور یکدیگر و بین سلول با ماتریکس خارج سلولی نقش دارد. همچنین، این مولکول در حرکت و مهاجرت سلولی و در انتقال پیام‌های سلولی مؤثر است. بنابراین، مطالعه آن در ایجاد و پیشرفت سلول‌های سرطانی اهمیت بسیار دارد. مطالعه این مولکول در سرطان‌های مختلف در انسان از جمله سرطان کبد، روده بزرگ، پستان، لنفوم، پروستات، تخمدان، دهانه رحم، کولون و ریه حاکی از نقش دوگانه این مولکول در پیشرفت و ایجاد سرطان است. به‌طوری‌که در برخی سرطان‌ها به عنوان ژن سرکوبگر متاستاز و در برخی مدل‌ها به‌عنوان ژن پیش‌برنده رشد و متاستاز سلول‌های سرطانی گزارش شده است [۶-۵]. رده سلولی MDA-MB-231 سرطان پستان، سلول‌های دوکی شکل هستند. سلول‌های سرطانی در این رده، فاقد گیرنده استروژن، گیرنده پروژسترون و گیرنده ۲ عامل رشد اپیدرمی انسان (Human epidermal growth factor receptor-2=HER2) هستند [۱۳، ۱۵]. بنابراین، این سلول‌ها رده سه گانه منفی نامیده می‌شوند. این رده جزء رده سلول‌های بازال[5] سرطان پستان است. ژن CD44 به طور معنی‌داری در تومورهای بازال و تومورهای بازال تهاجمی بیان می‌شود و به شدت با مارکرهای بازال (EGFR، CK5، P-cadherin، CK14 و vimentin)

5 Basal

مرتبط است. این تومورها دارای پیش آگهی ضعیفی هستند [۱۶]. از طرف دیگر، سلول‌هایی که برای مولکول CD44 مثبت هستند پروفایل سلول‌های مزانشیمی را نشان می‌دهند و غنی از ژن‌هایی هستند که مرتبط با تکثیر، تحرک و رگزایی است و مثبت بودن این سلول‌ها همراه با کاهش بقای بیمار است [۱۶]. به نظر می‌رسد اعمال بی‌وزنی برای سه روز بر روی این رده سلولی، دارای اثرات مثبت در کاهش فنوتیپ سرطانی است که موجب کاهش ۱۵ درصدی بیان این گیرنده می‌شود. در مقابل، بی‌وزنی برای یک روز، موجب افزایش دو برابری این گیرنده شده است. بنابراین، بی‌وزنی حاد (یک روز) اثر منفی بر فنوتیپ این رده سلولی دارد درحالی‌که بی‌وزنی مزمن (سه روز) اثر مثبت بر روی این رده سلولی از لحاظ کاهش این گیرنده داشته است. در مطالعه دیگری که قبلاً بر روی سلول‌های سرطانی MCF-7 انجام شد، نتایج متفاوتی مشاهده شده است [۱۷]. در آن مطالعه مشخص شد که اعمال بی‌وزنی منجر به کاهش ۵۰ درصدی ژن CD44 در رده سلولی MCF-7 سرطان پستان پس از یک روز کشت سلول‌ها در شرایط شبیه‌سازی بی‌وزنی می‌شود. ادامه یافتن بی‌وزنی منجر به افزایش بیان این ژن شد، به‌طوری که پس از سه روز قرارگیری سلول‌های سرطانی MCF-7 در شرایط بی‌وزنی شبیه‌سازی شده، بیان این ژن به میزان چشمگیری افزایش یافت و به ۴ برابر میزان بیان آن در سلول‌های کنترل رسید. بنابراین، به نظر می‌رسد که پاسخ سلول‌های سرطانی به بی‌وزنی می‌تواند وابسته به زمان باشد و با تغییر مدت زمان بی‌وزنی تغییر یابد. همچنین، نوع سلول‌های سرطانی نیز در پاسخ مشاهده شده مؤثر است و سلول‌های سرطانی متفاوت، پاسخشان به بی‌وزنی متفاوت است. رده سلولی MCF-7 جزء رده سلول‌های لومینال سرطان پستان است که گیرنده استروژن و گیرنده پروژسترون را بیان می‌کنند، اما گیرنده HER2 در این رده بیان نمی‌شود [۸]. افزایش بیان ژن CD44 در این رده سرطانی پس از سه روز قرارگیری در شرایط بی‌وزنی ممکن است بیانگر تغییر فنوتیپ سلول‌های این رده از نوع لومینال به نوع بازال باشد. این امر نیازمند مطالعات آینده و بررسی تغییرات بیانی گیرنده‌های استروژن و پروژسترون در این دو رده سلولی پس از قرارگیری در شرایط بی‌وزنی می‌باشد. تغییرات فنوتیپی رده‌های سلولی سرطان پستان براثر تغییرات بیانی ژن‌ها تحت تأثیر فاکتورهای محیطی دیگر در مطالعات دیگری نیز نشان داده شده است. در سال ۲۰۰۷، بایلیسس و همکارانش نشان دادند که مهار بیان ژن MAPK در رده‌های سلولی سرطان پستان فاقد گیرنده استروژن منجر به بیان این گیرنده در این سلول‌ها می‌شود [۱۸].

به طورکلی، نتایج مطالعه ما نشان داد که اعمال بی‌وزنی می‌تواند منجر به تغییر بیان ژن CD44 در رده سلولی MDA-MB-231 سرطان پستان شود. به نظر می‌رسد که مدت زمان اعمال بی‌وزنی بر روی سلول‌های سرطانی مهم است و می‌تواند منجر به بروز نتایج متفاوتی شود. همچنین، نوع سلول‌های سرطانی و ویژگی‌های آنها نیز می‌تواند منجر به تغییر پاسخ سلول‌های سرطانی به بی‌وزنی شود. در مطالعه حاضر اعمال بی‌وزنی به مدت سه روز نتایج بهتری در مقایسه با اعمال بی‌وزنی برای مدت یک روز داشت و منجر به کاهش میزان بیان ژن CD44 شد. مطالعه بیشتر تغییرات بیانی ژن‌ها و فنوتیپ رده‌های سلول‌های سرطانی در شرایط بی‌وزنی ممکن است به توسعه روش‌های درمانی جدید برای درمان بیماری سرطان کمک کند.

مراجع

[1] G. Clément and K. Slenzka, *Fundamentals of space biology: research on cells, animals, and plants in space* vol. 18: Springer Science & Business Media, 2006.

[2] P. J. Moos, H. K. Fattaey, and T. C. Johnson, "Cell proliferation inhibition in reduced gravity," *Experimental cell research,* vol. 213, pp. 458-462, 1994.

[3] J. Jessup, T. Goodwin, and G. Spaulding, "Prospects for use of microgravity-based bioreactors to study three-dimensional host—tumor interactions in human neoplasia," *Journal of cellular biochemistry,* vol. 51, pp. 290-300, 1993.

[4] D. Naor, S. Nedvetzki, I. Golan, L. Melnik, and Y. Faitelson, "CD44 in cancer," *Critical reviews in clinical laboratory sciences,* vol. 39, pp. 527-579, 2002.

[5] C. E. Horak, J. H. Lee, J. C. MARSHALL, S. M. Shreeve, and P. S. Steeg, "The role of metastasis suppressor genes in metastatic dormancy," *Apmis,* vol. 116, pp. 586-601, 2008.

[6] C. Liu, K. Kelnar, B. Liu, X. Chen, T. Calhoun-Davis, H. Li, *et al.*, "The microRNA miR-34a inhibits prostate cancer stem cells and metastasis by directly repressing CD44," *Nature medicine,* vol. 17, pp. 211-215, 2011.

[7] M. Al-Hajj, M. S. Wicha, A. Benito-Hernandez, S. J. Morrison, and M. F. Clarke, "Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells," *Proceedings of the National Academy of Sciences,* vol. 100, pp. 3983-3988, 2003.

[8] M. Infanger, P. Kossmehl, M. Shakibaei, J. Bauer, S. Kossmehl-Zorn, A. Cogoli, *et al.*, "Simulated weightlessness changes the cytoskeleton and extracellular matrix proteins in papillary thyroid carcinoma cells," *Cell and tissue research,* vol. 324, pp. 267-277, 2006.

[9] D. Chang, H. Xu, Y. Guo, X. Jiang, Y. Liu, K. Li, *et al.*, "Simulated microgravity alters the metastatic potential of a human lung adenocarcinoma cell line," *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal,* vol. 49, pp. 170-177, 2013.

[10] Y. J. Kim, A. J. Jeong, M. Kim, C. Lee, S.-K. Ye, and S. Kim, "Time-averaged simulated microgravity (taSMG) inhibits proliferation of lymphoma cells, L-540 and HDLM-2, using a 3D clinostat," *Biomedical engineering online,* vol. 16, pp. 1-12, 2017.

[11] X. Tan, A. Xu, T. Zhao, Q. Zhao, J. Zhang, C. Fan, *et al.*, "Simulated microgravity inhibits cell focal adhesions leading to reduced melanoma cell proliferation and metastasis via FAK/RhoA-regulated mTORC1 and AMPK pathways," *Scientific Reports,* vol. 8, pp. 1-12, 2018.

[12] J. Bauer, S. Kopp, E. M. Schlagberger, J. Grosse, J. Sahana, S. Riwaldt, *et al.*, "Proteome analysis of human follicular thyroid cancer cells exposed to the random positioning machine," *International Journal of Molecular Sciences,* vol. 18, p. 546, 2017.

[13] C. M. Fillmore and C. Kuperwasser, "Human breast cancer cell lines contain stem-like cells that self-renew, give rise to phenotypically diverse progeny and survive chemotherapy," *Breast cancer research,* vol. 10, pp. 1-13, 2008.

[14] F. Ebnerasuly, Z. Hajebrahimi, S. M. Tabaie, and M. Darbouy, "Simulated microgravity condition alters the gene expression of some ECM and adhesion molecules in adipose derived stem cells", *International Journal of Molecular and Cellular Medicine,* vol. 7, p. 146, 2018.

[15] C. Sheridan, H. Kishimoto, R. K. Fuchs, S. Mehrotra, P. Bhat-Nakshatri, C. H. Turner, *et al.*, "CD44+/CD24-breast cancer cells exhibit enhanced invasive properties: an early step necessary for metastasis," *Breast Cancer Research,* vol. 8, pp. 1-13, 2006.

[16] S. Ricardo, A. F. Vieira, R. Gerhard, D. Leitão, R. Pinto, J. F. Cameselle-Teijeiro, *et al.*, "Breast cancer stem cell markers CD44, CD24 and ALDH1: expression distribution within intrinsic molecular subtype," *Journal of clinical pathology,* vol. 64, pp. 937-946, 2011.

[17] Z. Hajebrahimi and M. Salavatifar, "CD44 expression changes and increased apoptosis in MCF-7 cell line of breast cancer in simulated microgravity condition," *Journal of Jahrom University of Medical Sciences,* vol. 17, pp. 26-34, 2019.

[18] J. Bayliss, A. Hilger, P. Vishnu, K. Diehl, and D. El-Ashry, "Reversal of the estrogen receptor–negative phenotype in breast cancer and restoration of antiestrogen response," *Clinical Cancer Research,* vol. 13, pp. 7029-7036, 2007.