النازمختاری، دکترطاهره ناجی*
* استادیار گروه علوم دارویی و زیست شناسی سلولی و مولکولی

مکانیسم های اپی ژنتیکی مهارکننده ی تومور در سرطان پوست

اپی ژنتیک حوزه ی مهمی از مطالعات مکانیسم های ممانعت از سرطان است. عوامل مهاری سرطان، مشتق شده از منابع طبیعی، بقای سلول های سرطانی را با تعدیل فرآیندهای اپی ژنتیکی متأثر می کنند. در مقاله ی حاضر، مکانیسم های تنظیمی اپی ژنتیکی مهم را مورد بررسی قرار داده و اثر سولفورفان و پلی فنول های چای سبز را بر این فرآیندها بررسی می کنیم. همچنین درباره ی اطلاعات مربوط به زمینه های سرطان پوست بحث می کنیم.

اپی ژنتیک در سرطان

کلمه ی اپی ژنتیک به معنای تغییرات ارثی قابل برگشت در بیان ژن هاست که بدون تغییر در توالی DNA رخ می دهد. تغییرات مهم اپی ژنتیکی شامل تغییرات هیستون ها و DNA هستند. (1) این تغییرات فشردگی کروماتین، تاشدگی DNA و جابجایی نوکلئوزم را تحت تأثیر قرار می دهند و بیان ژن را تغییر میدهند. از این رو، تغییر اپی ژنتیکی با کاهش هموستازی سلولی مرتبط می شود که تغییرات ژنتیکی را به دنبال دارد. در نهایت، این تغییرات اپی ژنتیکی منجر به ناپایداری ژنتیکی، فعالسازی ژنومی و خاموش سازی ژن های مهارکننده ی توموری می گردند. (2) مکانیسم های اپی ژنتیکی به عنوان اهداف درمانی جذابی درنظر گرفته می شوند، زیرا تغییرات اپی ژنتیکی برگشت پذیر هستند. از این رو، ژن های خاموش شده با متیلاسیون می توانند از طریق مهارکننده های DNA متیل ترانسفرازها (DNMT) فعال شده و ژن های خاموش شده با داستیلاسیون قادرند توسط مهارکننده های هیستون داستیلاز (HDAC) روشن شود. این ویژگی ها در پیشبرد استراتژی های دارویی و شیمی درمانی مهم هستند. برخی از این عوامل اپی ژنتیکی در آزمایشات به منظور استفاده ار تومورهای غیر خونی و بدخیمی های خونی قرار دارند.

داروهای اپی ژنتیکی تولید شده ی کنونی، به چند علت دارای اثرات نسبی است. اول، مهارکننده های DNMT و HDAC می توانند ژن های غیردلخواه نظیر انکوژن ها را فعال نمایند و در برخی موارد تشکیل تومور را تشدید کنند. دوم، تصحیح وضعیت اپی ژنتیکی با دارو ممکن است پس از پایان مصرف دارو از بین برود.(3)

در این زمینه، عوامل غذایی مورد توجه قرار دارند، زیرا بسیاری از عوامل مشتق شده از رژیم غذایی که اپی ژنوم را تعدیل می کنند، غیر سمی هستند و می توانند به صورت دائمی اثر کنند و فعالیت ضد سرطانی را نمایش دهند.

متیلاسیون DNA

متیلاسیون DNA یک تغییر اپی ژنتیکی مهمی است. متیلاسیون DNA معمولاً در ریشه های سیتوزین در جفت های دی نوکلئوتیدی گوآنین-سیتوزین (CpG) رخ می دهد تا 5-متیل سیتوزین ایجاد شود(4)

هیپرمتیلاسیون جزایر CpG با مهار بیان ژن مرتبط است، درحالی که هیپومتیلاسیون منجر به فعالسازی رونویسی می شود. آنزیم های اصلی دخیل در واکنش متیلاسیونDNMT ها هستند. متیلاسیون DNA وضعیت رونویسی ژن ها را از طریق دو مکانیسم اصلی تنظیم می کنند.

اول، متیلاسیون DNA در ناحیه ی پروموتری از اتصال فاکتورهای رونویسی اختصاصی به جایگاه های توالی DNA اختصاصی فاکتورهای رونویسی ممانعت می کنند و رونویسی را مهار می کنند.(5) دوم، سیتوزین متیله در DNA به عنوان یک جایگاه اتصالی برای پروتئین های دومین اتصالی CpG متیله عمل می کند.

متیلاسیون DNA در گسترش سرطان ضروری است، در حقیقت، درمان اپی ژنتیکی با استفاده از مهارکننده های DNMT به دمتیله شدن جزایر CpG هیپرمتیله کمک می کند تا بیان ژن های مهارکننده ی توموری بازیابی شده و از این رو بقا و تکثیر سلول های سرطانی کاهش یابد. بنابراین، سطح بالای متیلاسیون جزایر CpG

در سلول های سرطانی و سطح پایین آن در سلول های طبیعی دورنمای درمانی مناسبی را ایجاد می کند.

متیلاسیون DNA در سرطان پوست

یک کاهش چشمگیر در محتوای 5- متیل سیتوزین در تبدیل سلول های طبیعی به پاپیلومای خوش خیم و هنگام تبدیلات پاپیلومای خوش خیم به بیمارهای پیشرفته تر رخ می دهد. (6) کشف مهم دیگر این است که خاموش سازی ژن های مهارکننده ی توموری، شامل MLH-1، BRCA1 و MGMT، مرتبط با هیپرمتیلاسیون جزایر CpG، یک رخداد اولیه در تومورزایی در کارسینوژنز پوست موش است. (6)

تغییرات در متیلاسیون DNA همچنین در ملانومای انسانی مشاهده می شود. این مطالعات نشان میدهد که تغییر متیلاسیون DNA رخداد اپی ژنتیکی مهمی در سرطان پوست ملانوما و غیر ملانوما است که در پیشرفت بیماری نقش دارد.

تغییرات هیستونی

تغییرات هیستونی مکانیسم اپی ژنتیکی مهمی است که بیان ژن ها را تنظیم می کنند.(2) هیستون ها پروتئین های بازی غنی از لیزین و آرژنین هستند. انتهای آمینی دنباله ی هیستونی جایگاه هایی برای تغییرات پس از ترجمه ای است که دسترسی به DNA را تنظیم می کنند. (7) تغییرات پس از ترجمه ای هیستونی شامل متیلاسیون، استیلاسیون، فسفریلاسیون، یوبی کوئیتیناسیون، سومیویلاسیون و بیوتینیلاسیون هستند.

نواحی از کروماتین که غنی از هیستون های استیله باشند، نواحی فعال از نظر رونویسی محسوب می شود. استیلاسیون هیستونی میانکنش DNA- هیستون را خنثی می کند و ساختار باز کروماتینی را ایجاد می کند. کنترل کننده های اصلی استیلاسیون هیستونی HDAC و هیستون استیل ترانسفرازها (HAT) هستند.

متیلاسیون هیستونی بر ریشه های لیزین و آرژنین رخ می دهد. این واکنش با آنزیم های مختلفی کاتالیز می شود که تغییرات هیستونی مجزا و نتایج زیستی متفاوتی را باعث می شوند. یکی از موضوعات جالب، پروتئین های گروه پلی کامپ (PcG) هستند که مهم ترین هیستون متیل ترانسفراز است.(8) پروتئین های PcG خانواده ی مهمی از پروتئین های تغییر دهنده ی هیستون هستند که در سرطان پوست بسیار مطالعه شده اند. بیان افزایش یافته ی پروتئین PcG در سلول های سرطانی و تومورها با افزایش تکثیر سلولی و بقا مرتبط است. تغییرات کووالان هیستونی با تبدیل بافت طبیعی و خوش خیم به ملانومای بدخیم مرتبط است.

وضعیت متیلاسیون ممکن است دارای یک نقش باشد. افزایش بیان Ezh2 متیل ترانسفراز که در تری متیلاسیون لیزین ۲۷ در هیستون H3 نقش دارد، یا کاهش بیان ژن مهارکننده ی توموری p21Cip1 در ملانومای انسانی مربط است. در سلول های تومور انسانی، بیان p21Cip1 درطی حذف Ezh2 از طریق مکانیسمی نیازمند p53 بازیابی می گردد. افزایش در p21Cip1 در توقف چرخه ی سلولی و القای پیری نقش دارد. این وقایع همچنین با کاهش میانکنش HDAC1 در جایگاه شروع رونویسی ژن p21Cip1 نقش دارد که منجر به افزایش استیلاسیون هیستونی و افزایش رونویسی p21Cip1 می گردد. (9)

اثر اپی ژنتیک عوامل غذایی (سولفورافان و چای سبز)

عوامل غذایی به عنوان عوامل محافظت شیمی درمانی آزمایش شده اند. این عوامل دارای این مزیتند که به صورت زیستی علیه سرطان فعال هستند، ولی غیرسمی بوده و بنابراین میتوانند به صورت مداوم مصرف شوند. دوتا از شناخته شده ترین این عوامل سولفوروفان به دست آمده از بروکلی و EGCG مربوط به چای سبز است.

سولفورافان (SFN) یک ایزوتیوسیانات است که در بروکلی و جوانه ی بروکلی یافت می شود. SFN تکثیر را مهار می کند و آپوپتوز را در رده های سلولی سرطانی افزایش می دهد.(10) SFN همچنین تشکیل تومور را در اپیدرمیس مهار می کند.

تحقیق بر روی تنظیم اپی ژنتیکی عملکرد SFN در سرطان پوست بر نقش پروتئین گروه پلی کامپ متمرکز است. سطوح پروتئین PcG در کارسینومای سلول مکعبی انسان و تومورهای ملانوما افزایش می یابد.

بیان پروتئین پلی کامپ بقای سلول سرطان پوست را منجر می شود و یک کاهش در سطح پروتئین PcG برای مهار تکثیر سلولی توسط SFN لازم می شود. اولین بار پروتئین های پلی کامپ به عنوان هدف SFN در مدل سرطان پوست شناسایی شدند و نشان دادند که نقش پروتئوزم در مهار وابسته به SFN در سطح ژن پلی کامپ رخ می دهد و همچنین نشان دادند که اثر SFN بر سطح پروتئین PcG غیرمستقیم است و با کاهش آن توسط مکانیسم فعالسازی پروتئوزم وساطت می گردد. مکانیسم عملکرد SFN در کراتینوسیت ها در مقایسه با سلول های سرطان پوست متفاوت است. در کراتینوسیت ها، SFN سطح پروتئین p53 را از طریق کاهش بازچرخش p53 افزایش می دهد.

افزایش در p53 با افزایش اتصال p53 به عناصر پاسخ در پروموتر p21Cip1 مرتبط است. (11) SFN تکثیر کراتیونسیت های طبیعی انسانی را درمقابل القای آپوپتوز در کراتینوسیت های ترانسفورم کاهش می دهد، درحالی که کراتینوسیت های طبیعی اپیدرمال فقط رشد نشان دهند.

SFN و متیلاسیون DNA

SFN اثر کمتری بر متیلاسیون DNA در سرطان پوست داراست. هرچند، SFN، DNMTها را مهار کرده و بیان ژن ها را در انواع دیگر سلول ها تعدیل می کند.

چرخه ی سلولی یک فرآیند شدیداً هماهنگ است که توسط سایکلین ها و کینازهای وابسته به سایکلین (cdks) و مهارکننده های کیناز وابسته به سایکلین تنظیم می شود. cdkها کینازهای سرین ترئونینی هستند که نیاز به همراهی با یک زیرواحد سایکلین برای فعالسازی هستند. هر فاز از چرخه سلولی توسط یک جفت سایکلین-cdk خاص تنظیم می شود که پیشرفت یک فاز چرخه سلولی را به بعدی کاتالیز می کند. عدم تنظیم چرخه سلولی یکی از علائم مهم سرطان است و از این رو شناسایی عوامل مهاری سرطان که تنظیم کننده های چرخه سلولی را هدف قرار می دهند، بخش مهمی از تحقیقات را تشکیل می دهند. سایکلین D2 در انتقال G1/S نقش دارد و براساس نوع سرطان به عنوان مهار کننده توموری یا پروتواونکوژن عمل می کند. کاهش سایکلینD2 با افزایش ویژگی های پاتولوژی در سرطان پروستات همراه است. یک مشاهده ی جالب این است که متیلاسیون در جایگاه اتصال فاکتور رونویسی c-Mycو Sp1 به DNA با افزایش تجمع رونوشت های سایکلین D2 مرتبط است.(12) این مسیرها ممکن است به عنوان اهداف اپی ژنتیکی در سرطان پوست بررسی شوند، زیرا hTERT و DNMTها در بیماری زایی کارسینومای سلول مکعبی اپیدرمال نقش دارند.

اثرات SFN بر استیلاسیون هیستونی

SFN فعالیت HDAC را در سلول های سرطانی پروستات LNCaP، PC3 و BPH1 تنظیم می کند و باعث افزایش بعدی در استیلاسیون سرتاسری و بیان پروتئین و رونوشت p21Cip1 و Bax می شود که منجر توقف چرخه سلولی G2/M و آپوپتوز می گردد. p21Cip1 و دیگر پروتئین های چرخه سلولی هدف های مهمی در سرطان پوست هستند، زیرا SFN سطح p21Cip1 را افزایش و سطح پروتئین های دیگر چرخه سلولی را در سلول های سرطان پوست تغییر می دهد.(13)

چای سبز مخلوط شیمیایی غنی از عوامل ضد سرطانی شامل EGCG و اپی کاتچین است. EGCG پلی فنول اصلی حاضر در چای سبز و عامل مؤثر برعلیه اختلالات التهابی پوستی و سرطان است. خوردن و درمان موضعی EGCG گسترش سرطان پوست را در موش مهار می کند. فعالیت ضد توموری EGCG در سرطان پوست به ویژگی های ترمیم DNA، ضد اکسیدانی و ضد التهابی آن نسبت داده می شود.

بیان خارجی Bmi-1 در سلول های سرطان پوستی SCC-1 اثرات مهار رشد EGCG را معکوس می کند که نشان می دهد یک کاهش در بیان پروتئین PcG برای اثرات ضد سرطانی EGCG نیاز است.

با هدف یافتن ترکیبات مهارکننده ی جدید، اثر تیمار همزمان با DZNep و EGCG را بر سلول های سرطان پوست مطالعه کردیم. DZNep، مهارکننده ی S-آدنوزیل هموسیستئین (AdoHcy) هیدرولاز است. مهار این آنزیم باعث تجمع AdoHcy می شود که گروه های متیل در دسترس را برای استفاده توسط متیل ترانسفرازهای وابسته به S- آدنوزیل-L- متیونین محدود می کند. DZNep فعالیت Ezh2 متیل ترانسفراز را کاهش می دهد. تیمار تلفیقی با DZNep و EGCG منجر به کاهش زیادی در تعداد سلول و افزایش در جمعیت سلولی تحتG1، در مقایسه با هر کدام از تیمارهای مجزا می شود و همچنین نسبت به تیمارهای مجزا در کاهش سطح پروتئین های PcG مؤثرتر است.

یک مشاهده ی جالب دیگر این بود که DZNep و EGCG تشکیل هیستون H3 استیله را افزایش می دهند. این افزایش در تشکیل H3Ac به علت کاهش سطح HDAC1 نتیجهی تیمار ترکیبی EGCG و DZNep است. کراتینوسیتهای طبیعی انسان به عملکرد ترکیبی EGCG و DZNep در مقایسه با سلولهای سرطان پوست کمتر پاسخگو هستند که این درمان ترکیبی را به یک انتخاب نوید بخش برای جلوگیری از سرطان پوست تبدیل می کند.

اثرات EGCG بر متیلاسیون در سرطان پوست

مطالعات فراوانی بر EGCG به عنوان عامل تحریک دمتیلاسیون انجام گرفته است که از طریق چندین مکانیسم رخ می دهد. اول، S-آدنوزیل-L-هموسیستئین (SAH) تولید می شود. EGCG توسط کتکول – O – متیل ترانسفراز متیله می شود که یک گروه متیل را به گروه کاتکول آمین از EGCG منتقل می نماید. دمتیلاسیون SAM منجر به تشکیل SAH می شود که یک مهارکننده ی DNMT است.

دوم، EGCG به ریشهی جایگاه فعال از DNMT1 متصل می گردد تا مستقیم از فعالیت آن ممانعت نماید. این از متیلاسیون DNA تازه سنتز شده جلوگیری می کند و باعث بیان ژن های خاموش از قبل می گردد. از طریق این مکانیسم، EGCG متیلاسیون مهارکننده ی توموری را در میزبان و انواع سرطانی کاهش می دهد.

EGCG یک تنظیم کننده اپی ژنتیکی در سلولهای سرطان پوست است که متیلاسیون DNA را در سلول های سرطانی A431 و SCC-13 به صورت وابسته به دوز و زمان مهار می نماید (14)که همراه با کاهش سطح رونوشت و فعالیت DNMT است. همچنین، مهار متیلاسیون DNA یکی از مکانیسم های دخیل بر فعالیت آنتی متاستازی EGCG در سلول های کارسینومای مکعبی دهان است که با سرطان پوست ارتباط دارند. RECK یک پروتئین مهارکننده توموری است که با کاهش بیان متالوپروتئازها متاستاز را مهار می کند. کاهش سطح پروتئین RECK با افزایش متاستاز مرتبط است. علاوه براین، کاربرد موضعی EGCG گزارش شده است که از هیپومتیلاسیون سرتاسری القا شده با UVB در موش بی موی SKH-1 جلوگیری می کند. این مطالعات نشان می دهد که مهار متیلاسیون DNA مکانیسم مهمی است که در عملکرد شیمی درمانی EGCG در سرطان پوست دخالت دارد.

EGCG و استیلاسیون هیستونی. EGCG فعالیت HDAC را مهار کرده و سطح رونوشت HDACهای کلاس I، در برخی دیگراز سرطان ها کاهش می دهد و با استیلاسیون افزایش یافته ی هیستون H3 و H4 مرتبط است. (15) EGCG اثرات مشابهی در سلول های سرطان پوست دارد و می تواند به عنوان یک مهارکننده ی احتمالی HDAC و همچنین مهارکننده میتلاسیون DNA عمل کند.

نتیجه گیری

بااینکه اثرات محافظتی پلی فنول های خوراکی نوید بخش هستند، ولی بسیاری از جزئیات مکانیسمی شامل مکانیسم دقیق، با توجه به نقش عوامل مهارکننده ی سرطان در تنظیم بیان HDAC، پروتئینهای PcG و غیره باید کشف شود. همچنین اغلب این مطالعات شامل استفاده از تنها یک فاکتور غذایی است. بنابراین مفید خواهد بود تا اثر مخلوط های غذایی ترکیبی به عنوان تغییردهنده های اپی ژنتیکی در سرطان پوست مطالعه شود.

منابع:

1. Holliday R. Mechanisms for the control of gene activity during development. Biol Rev Camb Philos Soc. 1990;65:431–71. Esteller M. Epigenetics in cancer. N Engl J Med. 2008;358:1148–59.2 .

3. Sato N, Maitra A, Fukushima N, van Heek NT, Matsubayashi H, Iacobuzio-Donahue CA, et al. Frequent hypomethylation of multiple genes overexpressed in pancreatic ductal adenocarcinoma. Cancer Res. 2003;63:4158–66..

4. Issa JP, Kantarjian HM. Targeting DNA methylation. Clin Cancer Res. 2009;15:3938–46.

5. Tate PH, Bird AP. Effects of DNA methylation on DNAbinding proteins and gene expression. Curr Opin Genet Dev. 1993;3:226–31.

6. Fraga MF, Herranz M, Espada J, Ballestar E, Paz MF, RoperoS, et al. A mouse skin multistage carcinogenesis model reflects the aberrant DNA methylation patterns of human tumors. Cancer Res. 2004;64:5527–34.

7. Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. Cell. 2007;128:693–705.

8. Kouzarides T. Histone methylation in transcriptional control. Curr Opin Genet Dev. 2002;12:198–209.

9. Fan T, Jiang S, Chung N, Alikhan A, Ni C, Lee CC, et al. EZH2-dependent suppression of a cellular senescence phenotype in melanoma cells by inhibition of p21/CDKN1A expression. Mol Cancer Res. 2011;9:418–29.

10. Myzak MC, Tong P, Dashwood WM, Dashwood RH, Ho E. Sulforaphane retards the growth of human PC-3 xenografts and inhibits HDAC activity in human subjects. Exp Biol Med (Maywood). 2007;232:227–34.

11. Chew YC, Adhikary G, Wilson GM, Xu W, Eckert RL. Sulforaphane induction of p21(Cip1) cyclin-dependent kinase inhibitor expression requires p53 and Sp1 transcription factors and is p53-dependent. J Biol Chem. 2012;287:16168–78.

12.Hsu A, Wong CP, Yu Z, Williams DE, Dashwood RH, Ho E. Promoter demethylation of cyclin D2 by sulforaphane in prostate cancer cells. Clin Epigenetics. 2011;3:3.

13. Balasubramanian S, Chew YC, Eckert RL. Sulforaphane suppresses polycomb group protein level via a proteasome-dependentmechanism in skin cancer cells. Mol Pharmacol. 2011;80:870–8.

14.Nandakumar V, Vaid M, Katiyar SK. (−)-Epigallocatechin-3- gallate reactivates silenced tumor suppressor genes, Cip1/p21 and p16INK4a, by reducing