

بررسی عملکرد رده‌ی سلولی سرطانی 4T1 در راستای ایجاد مدل متاستاتیک حیوانی در موش‌های BALB/c

بنفشه فاضلی دلشاد^۱، مزدک گنجعلی خانی حاکمی^۲، فائزه سلطان‌پور غریب‌دوستی^۱، نسرین شایانفر^۳، رضا فلک^۴، غلامعلی کاردر^۵

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: متاستاز، مرحله‌ی پیشرفته‌ی سرطان است که سلول‌های سرطانی با جدا شدن از توده‌ی اولیه به مناطق دیگر بدن مهاجرت می‌کنند و با تکثیر خود توده‌های جدید ایجاد می‌کنند. می‌توان از مدل‌های حیوانی جهت بررسی روند مراحل متاستاز و همچنین پیش‌گیری و درمان آن استفاده کرد. رده‌ی سلولی کارسینوما‌ی 4T1 یک رده‌ی سلولی متاستاتیک است که با تکثیر شدید سلولی و با تهاجم می‌تواند به بافت‌های کبد، ریه، مغز و غدد لنفی وارد شده و آن‌ها را مورد تهاجم قرار دهد.

روش‌ها: حدود ۵۰۰۰۰۰ سلولی 4T1 به موش‌های BALB/c تزریق شد و پس از قابل لمس شدن بافت سرطانی، میزان رشد تومور، بقای حیوان و سایر علائم ظاهری بررسی و ثبت شد. جهت بررسی متاستاز، بافت‌های کبد، ریه و مغز جدا شده و با روش هماتوکسیلین-ئوزین (H-E یا Hematoxylin-Eosin) رنگ‌آمیزی شدند و نفوذ سلول‌های سرطانی در این بافت‌ها بررسی شد.

یافته‌ها: با گذشت زمان، میزان رشد تومور به طور فزاینده‌ای افزایش یافت و میزان بقای موش‌های سرطانی به ۷-۸ هفته کاهش یافت. با این که بافت‌های کبد و ریه ملتهب و حاوی توده‌های متعدد سرطانی و سلول‌های متاستاتیک در حال نکروز بودند، در بافت مغز متاستاز سلول‌های سرطانی مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: در این مدل موشی، تکثیر بالای سلول‌های سرطانی با کاهش شدید بقای موش‌ها همراه بود. همچنین، بافت‌های نرم ریه و کبد از بافت‌های در معرض متاستاز هستند. احتمال می‌رود این متاستاز به مغز با تزریق میزان بیشتری از سلول سرطانی و با سپری شدن مدت زمان بیشتر رخ می‌دهد.

واژگان کلیدی: رده‌ی سلولی 4T1، متاستاز، مدل موشی متاستاتیک

ارجاع: فاضلی دلشاد بنفشه، گنجعلی خانی حاکمی مزدک، سلطان‌پور غریب‌دوستی فائزه، شایانفر نسرین، فلک رضا، کاردر غلامعلی. **بررسی عملکرد رده‌ی سلولی**

سرطانی 4T1 در راستای ایجاد مدل متاستاتیک حیوانی در موش‌های BALB/c. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۳۹۶): ۹۹۰-۹۸۵

مقدمه

همه ساله، میلیون‌ها نفر به علت بیماری سرطان جان خود را از دست می‌دهند (۱). سرطان، توصیفی از صدها نوع بیماری مختلف است که در آن تکثیر سلول‌ها از کنترل خارج می‌شود و این سلول‌های در حال تکثیر، با درگیر کردن بافت‌های مختلف به اندام‌های مجاور گسترش می‌یابد (۲). به منظور تشخیص بهتر و درمان مؤثرتر، بیماری سرطان به مراحل مختلفی تقسیم‌بندی می‌شود که متاستاز در مرحله‌ی پیشرفته‌ی این مرحله‌بندی قرار می‌گیرد (۳-۴).

در سرطان‌های متاستاتیک، تغییرات مولکولی در سلول‌های

توموری و ریز محیط توموری، باعث جدا شدن این سلول‌ها از توده‌ی اولیه و تهاجم این سلول‌ها به درون استرومای تومور و در نهایت ورود آن‌ها به عروق خونی یا لنفی می‌گردد. این سلول‌ها، اغلب می‌توانند در جریان خون باقی بمانند و پس از خروج از جریان خون یا لنف، توانایی تشکیل توده‌های جدید و تکثیر و در نهایت متاستاز به اندام‌های دیگر را پیدا کنند (۵-۶).

گسترش و شدت بیماری سرطان در مرحله‌ی ایجاد متاستاز، به حدی است که برداشت این تومورها و همچنین درمان سرطان به سختی انجام می‌گیرد (۷). به همین دلیل، عامل حدود ۹۰ درصد

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استادیار، گروه پاتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۴- استادیار، مرکز تحقیقات ایمنی‌شناسی و گروه ایمنی‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۵- استادیار، مرکز تحقیقات ایمنولوژی آسم آلرژی و گروه زیست‌فن‌آوری پزشکی، دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

Email: gakardar@tums.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤؤل: غلامعلی کاردر

درجه‌ی حرارت ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و فشار دی‌اکسیدکربن ۵ درصد تحت شرایط استریل و عاری از عفونت‌های میکروبی و به خصوص مایکو پلاسمایی کشت داده شدند. موش‌های BALB/c ماده با سن ۶-۵ هفته از مرکز تحقیقات تجربی دانشگاه علوم پزشکی ایران تهیه شد. موش‌ها در دو گروه مورد و شاهد تقسیم‌بندی شدند و تحت شرایط متعادل از نظر دما، نور و تغذیه نگهداری شدند. تمام مراحل کار روی حیوانات آزمایشگاهی، توسط کمیته‌ی اخلاق دانشگاه مورد بررسی و تأیید قرار گرفت. سلول‌های رده‌ی 4T1 کشت داده شد و با استفاده از تریپسین و Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) از کف فلاسک جدا و پس از شستشو با محیط کشت، به مدت ۵ دقیقه با دور ۴۰۰ g سانتریفیوژ شد. مایع رویی دور ریخته شد و سلول‌ها در Phosphate buffered saline (PBS) سوسپانسیون شد و پس از بررسی حیات سلولی، شمارش و برای تزریق آماده گردید.

با استفاده از سرنگ انسولین حدود ۵۰۰ هزار سلول 4T1 در حجم ۱۰۰ میکرولیتر به صورت زیرجلدی به بافت چربی غده‌ی پستانی موش‌های گروه توموری تزریق شد. سپس، هر دو روز یک بار وزن موش‌ها و میزان رشد تومور اولیه به ترتیب با استفاده از ترازوی دیجیتال و کولیس ورنیه اندازه‌گیری شد. جهت محاسبه‌ی حجم تومور از فرمول طول × (عرض) × ۰/۵ استفاده شد.

موش‌هایی که برای بررسی متاستاز انتخاب شده بودند، پس از تشریح، وزن بافت‌های کبد، ریه و مغز نیز سنجیده شد. همچنین، میزان بقا، علائم بالینی، تغییرات ظاهری، گستره و کیفیت زندگی موش‌ها نیز بررسی شد. بافت‌های کبد، ریه و مغز گروه‌های مورد مطالعه از نظر پاتولوژی و متاستاز بررسی شد. بدین منظور، موش‌ها در پایان کار کشته شدند و این اندام‌ها از آنان جدا گردید و در فرمالدئید ۴ درصد تثبیت و نگهداری شدند. از بافت‌های پیش‌گفته، بلوک تهیه شد و پس از برش و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و انوزین، میزان متاستاز بررسی شد. بدین منظور، میزان رگ‌زایی (آنژیوژنز)، التهاب، نکروز و مهاجرت سلولی در بافت‌های پیش‌گفته مورد مطالعه قرار گرفت.

میانگین حجم تومورها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, SPSS Inc., Chicago, IL) محاسبه شد. همچنین، میزان بقای موش‌ها در دو گروه مورد مطالعه، با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism6 و با روش Kaplan-Meier آنالیز شد.

موارد مرگ ناشی از سرطان، بروز متاستاز است (۸). از این رو، شناخت وقایع متاستاز و فهم ارتباط آن با خصوصیات مولکولی تومور اولیه و همچنین، تشخیص زودهنگام و دقیق سرطان در مراحل اولیه، مفید است. از طرفی، به منظور قابل استفاده بودن نتایج حاصل از تحقیق در موارد انسانی، استفاده از مدل‌هایی که نزدیکی بیشتری از لحاظ روند بیماری با مدل انسانی دارند، دارای اهمیت است. همچنین، انتقال سلول‌های سرطانی همگن به گونه‌ای که ماهیت رده‌ی سلول سرطانی با ماهیت مدل حیوانی سازگار باشد، موجب حذف واکنش‌های ایمنولوژیک پیوند شده و بررسی واکنش‌های ایمنولوژیک متاستاز را تسهیل می‌کند (۹).

رده‌ی سلولی کارسینومای پستانی 4T1 مدل مناسبی برای بررسی روند متاستاز و شناخت مکانیسم‌های مولکولی آن است. این رده‌ی سلولی، یکی از چهار زیر رده‌ی سلولی است که برگرفته از رده‌ی سلولی سرطانی ۴/۱۰ می‌باشد. این رده‌ی سلولی، علاوه بر قابلیت پیوند و رشد در موش‌های BALB/c، می‌تواند در محیط کشت سلولی نیز به راحتی تکثیر یابد (۱۱-۱۰).

امروزه، استفاده از این سلول‌ها برای تقلید سرطان پستان انسان در مدل تجربی موش، بسیار رایج شده است؛ چرا که سلول‌های پیش‌گفته، به آسانی قابل پیوند و رشد در غدد پستانی هستند و تومور اولیه، می‌تواند در مکان آناتومیک مشابه انسان رشد کند. علاوه بر تومورزایی بالا، سلول‌های رده‌ی 4T1 به شدت مهاجم هستند و بر خلاف اغلب مدل‌های توموری، می‌توانند از تومور اولیه در ناحیه‌ی غدد پستانی جدا شوند و به مکان دور از ناحیه‌ی اولیه همانند غدد لنفی، کبد، ریه، مغز و مغز استخوان متاستاز بدهند (۱۳-۱۲).

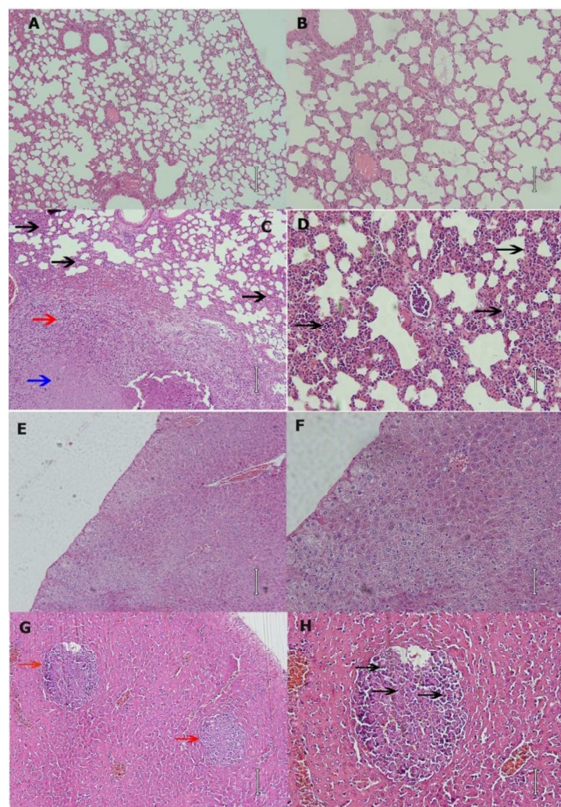
استفاده از حیوانات آزمایشگاهی، می‌تواند به نزدیک شدن نتایج آزمایش‌ها به مدل انسانی کمک کند. از این رو، می‌توان با استفاده از رده‌های سلولی موشی و انسانی، به این امر تحقق بخشید. هدف از انجام این مطالعه، معرفی یک مدل آزمایشگاهی تأیید شده‌ی متاستاز و بهینه‌سازی روش ایجاد آن برای محاسبه‌ی میزان پاسخ‌گویی به مطالعات دارویی و همچنین، تعیین میزان بقا در موش‌های دچار سرطان پستان بود. در این مطالعه، با استفاده از تغییرات مورفولوژیک حاصل از متاستاز رده‌ی سلولی 4T1، میزان متاستاز به بافت‌های مختلف بررسی شد.

یافته‌ها

پس از تلقیح رده‌ی سلولی 4T1، با اندازه‌گیری وزن، تغییرات مهمی در وزن موش‌های دو گروه مشاهده نشد. در اغلب موش‌ها (۴ موش از ۶ موش) در کمتر از ۱ هفته تومور اولیه ظاهر شده و با کولیس ورنیه قابل اندازه‌گیری بود. در بقیه‌ی موش‌ها، تومور قابل لمس در

روش‌ها

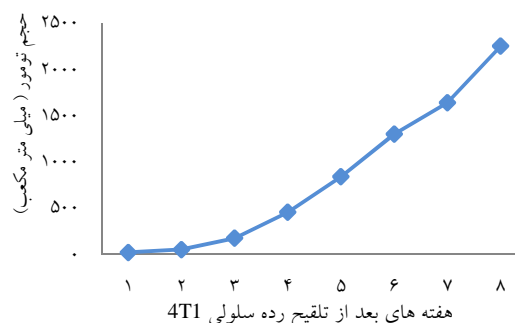
رده‌ی سلولی سرطان پستان موشی 4T1 در محیط کشت Roswell Park memorial institute-1640 (RPMI-1640) با افزودن ۱۰ درصد سرم جنین گاوی (FBS یا Fetal bovine serum) و ۱ درصد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین-استرپتومایسین در شرایط مرطوب با



شکل ۱. متاستاز در بافت‌های موش. متاستاز در کبد و ریه با روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انئوزین

A و B نشان دهنده‌ی بافت ریه‌ی سالم و C و D نشان دهنده‌ی بافت ریه‌ی توموری هستند. نواحی التهابی با مهاجرت سلول‌های تک هسته‌ای و ناحیه‌ی نکروز و سلول‌های توموری که به صورت نواحی جدا از هم قرار دارند، مشخص شده‌اند. نواحی E و F، بافت سالم کبد بدون التهاب و تومور هستند. نواحی G و H نواحی متاستاتیک سلول‌های 4T1 به همراه التهاب سلول‌های چند هسته‌ای به صورت متمرکز را نشان می‌دهند. ناحیه‌ی توموری با فلش قرمز، ناحیه‌ی نکروز با فلش آبی و التهاب به همراه سلول‌های التهابی با فلش مشکی نشان داده شده است.

طی هفته‌ی دوم پدیدار شد. اندازه‌گیری حجم تومور نشان داد که اندازه‌ی تومور پس از ۸ هفته به طور متوسط به $2/2$ سانتی‌متر مکعب رسید که نشان دهنده‌ی رشد فزاینده و تکثیر شدید سلول‌های توموری تلقیح شده بود (شکل ۱).



شکل ۱. نمودار رشد تومور رده‌ی سلولی 4T1

حجم تومور پس از تلقیح زیر جلدی رده‌ی سلولی 4T1 به موش‌های BALB/c نشان دهنده‌ی رشد بالای تومور در مدل موشی مورد نظر است.

همچنین، با روند رو به رشد تومور، مرکز بافت توموری اولیه دچار نکروز شده بود. در حدود هفته‌ی پنجم (روز ۳۸) پس از تلقیح سلول‌ها، کلون‌های متاستاتیک روی بافت‌های کبد و ریه مشاهده شد. در تمام موش‌های توموری، در رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و انئوزین، سلول‌های سرطانی 4T1 با هسته‌های درشت، سیتوپلاسم کم و سلول‌های در حال تقسیم، شناسایی شدند (شکل ۲). همچنین، متاستاز کلون‌های سرطانی به بافت‌های کبد و ریه، همراه با نکروز شدید مرکز بافت توموری، افزایش التهاب، افزایش تقسیمات سلولی و افزایش سلول‌های تک هسته‌ای و چند هسته‌ای دیده شد (جدول ۱). متاستاز شدید سلول‌های سرطانی به غدد لنفی ناحیه‌ی ستون فقرات نیز در این زمان دیده شد. با وجود این، در هیچ یک از موش‌ها، متاستاز سلول‌های سرطانی به بافت مغز دیده نشد.

جدول ۱. توصیف میزان متاستاز بافت‌های ریه و کبد

تعداد کلون‌های متاستاتیک	درصد مهاجرت سلولی	رنگ‌زایی	نکروز	التهاب	موش‌ها	بافت متاستاتیک
۱۰	۴۰	+۱	۰	افزایش مونوسیت‌ها	۱	ریه
۴	۷۰	+۱	+۳	+	۲	
۱	۶۰	+۱	۰	افزایش مونوسیت‌ها	۳	
۱۱	۱۰	+۲	+۲	افزایش سلول‌های چند هسته‌ای	۱	کبد
۱۲	۵	+۲	+۱	۰	۲	
۱	۰	+۱	۰	۰	۳	

میزان متاستاز از لحاظ میزان التهاب، رنگ‌زایی، نکروز، میزان مهاجرت سلول‌ها و تعداد کلون‌های متاستاتیک در بافت‌های کبد و ریه نشان داده شد.

اگر چه سلول‌های 4T1 بسیار مهاجم و متاستاتیک هستند، اما دز تزریق سلول به زمان و کیفیت متاستاز و نوع بافت‌های درگیر بسیار مرتبط است؛ بدین صورت که با میزان تزریق کم سلول و بررسی بافت‌های متاستاتیک پس از مدت زمان کوتاهی نسبت به زمان تلقیح تومور، نتایجی دقیق مبنی بر متاستاز در بافت‌های مختلف به دست نمی‌آید.

در مطالعه‌ی حاضر، با تزریق ۵۰۰۰۰۰ سلول و بعد از گذشت ۵ هفته، متاستاز در بافت‌های کبد و ریه مشاهده شد. در مطالعات پیشین، اهمیت این موضوع مشخص شده بود؛ به گونه‌ای که Peixoto و همکاران با تزریق زیر جلدی ۲۰۰۰۰ سلول 4T1 به غدد پستانی، موش‌ها را به تومور مبتلا کردند و پس از ۱۹ روز، با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین، تغییرات بافت کبد به صورت فیروز و آسیب سلول‌های کبدی مشاهده شد. در ریه نیز التهاب به صورت افزایش سلول‌های نوتروفیل مشاهده شد و همچنین، در کلیه هیچ علائمی ظاهر نشد که در کل متاستاز مشخصی گزارش نگردید و در بیشتر موش‌های توموری شده، تغییری در میزان بقا دیده نشد (۱۴)، اما با افزایش زمان بین تلقیح سلول‌ها تا زمان بررسی متاستاز، می‌توان شدت متاستاز بافتی را بالا برد؛ به طوری که DuPre و همکاران در مطالعه‌ی خود، ۱۰۰۰۰ سلول 4T1 را به غدد پستانی موش تزریق کردند و بعد از ۲۹ روز متاستاز آن‌ها به کبد و ریه با روش هماتوکسیلین-ائوزین نشان دادند که در هر دو بافت، کلونی‌های متاستاز با مهاجرت گرانولوسیت‌ها قابل تشخیص بود (۱۵).

در مطالعه‌ی حاضر، بافت‌های ریه و کبد از جمله بافت‌های مورد بررسی برای متاستاز بودند که متاستاز قابل توجهی در این بافت‌ها مشاهده شد، اما در رابطه با متاستاز به مغز، به نظر می‌رسد که دز تزریق سلول‌ها و همچنین، افزایش زمان بین تلقیح سلول‌ها تا بررسی متاستاز باید افزایش یابد.

در مطالعه‌ی Tao و همکاران پس از تزریق ۱ میلیون سلول 4T1 و بعد از گذشت ۶ هفته، میزان رشد تومور به بیش از ۱ متر مکعب رسید و علاوه بر متاستاز به کبد و ریه، متاستاز به مغز نیز مشاهده شد که البته متاستاز مغزی تنها در یک مورد از موش‌ها رخ داد (۱۶).

به طور مشابهی، در مطالعه‌ی حاضر نیز تزریق ۵۰۰۰۰۰ سلول (همانند تزریق ۱ میلیون سلول در مطالعه‌ی پیش‌گفته)، افزایش چشمگیری در رشد تومور را نشان داد و متاستاز به بافت‌های ریه و کبد بالا بود، اما به نظر می‌رسد که متاستاز رده‌ی سلولی 4T1 به مغز به سختی انجام شده و برای بررسی این نوع متاستاز، به میزان بیشتری از سلول و همچنین زمان بیشتر (بیش از ۶ هفته) نیاز است که موش‌های این مطالعه قبل از آن زمان، در اثر متاستاز سرطان به سایر بافت‌ها مردند. در نهایت، به نظر می‌رسد که نتایج این مطالعه با مطالعه‌ی Tao

با نگهداری موش‌ها به مدت طولانی، میزان بقای آن‌ها نیز اندازه‌گیری شد و نتایج نشان داد که در مقایسه با موش‌های سالم، میزان بقای موش‌های توموری و متاستاتیک به شدت کاهش یافت؛ به طوری که میزان بقای موش‌های دچار سرطان پستان، حداکثر تا حدود ۷ هفته بعد از ابتلا به تومور بود.

بحث

امروزه، با توجه به پیشرفت‌های گسترده در زمینه‌ی درمان سرطان‌ها، در مراحل اولیه‌ی تشخیص می‌توان از گسترش آن جلوگیری به عمل آورد، اما با تشخیص دیر هنگام و پیشروی سرطان به سمت متاستاز، درمان فرد به مخاطره می‌افتد. بنابراین، مطالعات گسترده و بررسی دقیق در جهت شناخت این بیماری، کمک شایانی در روند تحقیقات پزشکی می‌کند. مدل‌های موشی متاستاتیک سرطانی، یکی از مواردی است که می‌تواند در پیشبرد این گونه تحقیقات مفید باشد.

در این مطالعه، ایجاد متاستاز در مدل موشی با میزان معینی از سلول‌های رده‌ی 4T1 صورت گرفت. با توجه به نتایج به دست آمده، ظهور تومور پس از تلقیح سلول‌های 4T1 اغلب پس از مدت یک هفته در بیشتر موش‌ها آغاز شد که این امر، نشان دهنده‌ی سازگاری بالای این رده‌ی سلولی با محیط بدن حیوان آزمایشگاهی است. از آن جایی که رده‌ی سلولی 4T1 بسیار مهاجم و متاستاتیک است، با تزریق ۵۰۰۰۰۰ سلول، متاستاز به سرعت در بافت‌ها و اندام‌های بدن موش گسترش یافت. با توجه به بررسی‌های انجام شده بر روی بافت‌های متاستاتیک کبد و ریه، کلون‌های متاستاتیک به راحتی در بافت‌های مورد نظر قابل تشخیص بودند و میزان التهاب و نکروز و مهاجرت سلول‌های التهابی به مناطق توموری افزایش نشان می‌داد (شکل ۲). این نتیجه نشان می‌دهد که با این میزان تزریق سلول و پس از مدت حدود ۵ هفته، می‌توان متاستاز به نسبت شدیدی را در ریه و سپس در کبد مورد بررسی قرار داد.

در راستای ظهور و افزایش متاستاز، بقا به طور چشمگیری کاهش یافت ($P = 0/003$)؛ بدین معنی که موش‌ها از زمان توموری شدن تا مرگ ناشی از تومور، تنها ۷-۸ هفته زنده ماندند که نشان دهنده‌ی تکثیر شدید رده‌ی سلولی 4T1 در موش‌های سرطانی است. بنابراین، به کمک این مدل، به راحتی می‌توان اثر عوامل دارویی را در محیط بدن (*In vivo*) بر روی مهار و یا القای متاستاز ارزیابی و مطالعه نمود.

عدم ارتباط معنی‌دار در وزن موش‌ها قبل و بعد از تلقیح تومور و همچنین، وزن بافت‌های توموری کبد، ریه و مغز بین دو گروه مورد (مبتلا به تومور) و شاهد، به عدم تأثیر وزن در روند شکل‌گیری تومور و متاستاز اشاره دارد. با وجود این، اندازه‌گیری وزن به دلیل جلوگیری از خطاهای احتمالی در روند کار، ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش حاصل طرح تحقیقاتی به شماره‌ی ۲۹۲۲۸۵ دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد و هزینه‌های اجرای طرح توسط مرکز تحقیقات ایمنونولوژی سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تأمین گردیده است. همچنین، از مدیریت و پرسنل محترم مرکز تحقیقات ایمنونولوژی، گروه ایمنی‌شناسی و مرکز تحقیقات تجربی دانشگاه علوم پزشکی ایران که در اجرای این پروژه نقش کلیدی داشتند، سپاسگزاری می‌گردد.

و همکاران (۱۶) همخوانی دارد و می‌توان از آن به عنوان یک مدل متاستاتیک سرطان پستان استفاده نمود.

با توجه به قابلیت رشد سریع و متاستاز تهاجمی رده‌ی سلولی 4T1 و طبق مطالعات قبلی، درگیری عوامل مختلف در متاستاز سریع این رده‌ی سلولی، غیر قابل چشم‌پوشی است؛ همچنین، با توجه به فقدان یک راه‌کار درمانی موفق در زمینه‌ی درمان و حتی پیش‌گیری از متاستاز، انتظار می‌رود که مطالعات جزئی‌تر و کامل‌تری همانند کشف مسیرهای اصلی متاستاز و درمان آن بر روی این رده‌ی سلولی انجام گیرد.

References

- Lindsey T, Rebecca S, Ahmedin J. Global cancer facts and figures. Atlanta, GA: American Cancer Society, Inc; 2012.
- Cairns J. Mutation selection and the natural history of cancer. *Nature* 1975; 255(5505): 197-200.
- American Cancer Society. Cancer facts and figures [Online]. [cited 2015]; Available from: URL: <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@editorial/documents/document/acspc-044552.pdf>
- Ray MR, Jablons DM. Hallmarks of metastasis. In: Keshamouni V, Arenberg D, Kalemkerian G, Editors. Lung cancer metastasis: Novel biological mechanisms and impact on clinical practice. Berlin, Germany: Springer Science & Business Media; 2009. p. 29-46.
- Chambers AF, Groom AC, MacDonald IC. Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites. *Nat Rev Cancer* 2002; 2(8): 563-72.
- Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100(1): 57-70.
- Weigelt B, Peterse JL, van 't Veer LJ. Breast cancer metastasis: markers and models. *Nat Rev Cancer* 2005; 5(8): 591-602.
- Ostrand-Rosenberg S, Kruisbeek AM. Animal models for tumor immunology. *Curr Opin Immunol* 2001; 20: 20.0. [Online]. [cited 2001]; Available from: URL: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/0471142735.im2000s43/pdf>
- van Dalum G, Holland L, Terstappen LW. Metastasis and circulating tumor cells. *EJIFCC* 2012; 23(3): 87-97.
- Dexter DL, Kowalski HM, Blazar BA, Fligiel Z, Vogel R, Heppner GH. Heterogeneity of tumor cells from a single mouse mammary tumor. *Cancer Res* 1978; 38(10): 3174-81.
- Aslakson CJ, Miller FR. Selective events in the metastatic process defined by analysis of the sequential dissemination of subpopulations of a mouse mammary tumor. *Cancer Res* 1992; 52(6): 1399-405.
- Pulaski BA, Ostrand-Rosenberg S. Reduction of established spontaneous mammary carcinoma metastases following immunotherapy with major histocompatibility complex class II and B7.1 cell-based tumor vaccines. *Cancer Res* 1998; 58(7): 1486-93.
- Lelekakis M, Moseley JM, Martin TJ, Hards D, Williams E, Ho P, et al. A novel orthotopic model of breast cancer metastasis to bone. *Clin Exp Metastasis* 1999; 17(2): 163-70.
- Peixoto RC, Miranda-Vilela AL, de Souza Filho J, Carneiro ML, Oliveira RG, da Silva MO, et al. Antitumor effect of free rhodium (II) citrate and rhodium (II) citrate-loaded maghemite nanoparticles on mice bearing breast cancer: a systemic toxicity assay. *Tumour Biol* 2015; 36(5): 3325-36.
- DuPre SA, Redelman D, Hunter KW Jr. The mouse mammary carcinoma 4T1: characterization of the cellular landscape of primary tumours and metastatic tumour foci. *Int J Exp Pathol* 2007; 88(5): 351-60.
- Tao K, Fang M, Alroy J, Sahagian GG. Imagable 4T1 model for the study of late stage breast cancer. *BMC Cancer* 2008; 8: 228.

Evaluation of the Functionality of 4T1 Cell Line in Development of Metastatic Cancer in Balb/c Mice as an Animal Model

Banafsheh Fazeli-Delshad¹, Mazdak Ganjalikhani-Hakemi², Faezeh Soltanpour-Gharibdousti¹, Nasrin Shayanfar³, Reza Falak⁴, Gholam Ali Kardar⁵

Original Article

Abstract

Background: Metastasis is an advanced stage of cancer in which tumor cells are removed from the primary tumor and migrate to other areas of the body and develop a new mass by high replication. Animal models could be applied to evaluate metastasis along with a metastatic and appropriate cell line. Carcinoma 4T1 cell line is a metastatic cell line with excessive cell proliferation and invasion up to the liver, lungs, brain and lymph nodes.

Methods: By injection of about 5×10^5 4T1 cells to BALB/c mice, primary tumor was developed. Rate of tumor growth, survival and other morphologic symptoms were checked and recorded. To study the metastasis process, liver, lung and brain tissues were separated and the pathological status was studied following hematoxylin/eosin dye staining.

Findings: The primary tumor growth was increased significantly. The survival rate in mice with breast cancer was decreased to maximum in 7-8 weeks. Liver and lung tissues were metastatic with necrosis and infiltration of numerous cancer cells while metastasis was not observed in brain tissue.

Conclusion: In this model, high proliferation of cancer cells in mice was in association with a sharp decline in survival rate as well as lung and liver tissues metastasis. Metastasis to the brain cells might be accomplished by injection of more 4T1 cells and presumably occurs in a longer period.

Keywords: 4T1 cell line, Metastasis, Metastatic mouse model

Citation: Fazeli-Delshad B, Ganjalikhani-Hakemi M, Soltanpour-Gharibdousti F, Shayanfar N, Falak R, Kardar GA. **Evaluation of the Functionality of 4T1 Cell Line in Development of Metastatic Cancer in Balb/c Mice as an Animal Model.** J Isfahan Med Sch 2016; 34(396): 985-90.

1- MSc Student, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Assistant Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Assistant Professor, Immunology Research Center AND Department of Immunology, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5- Assistant Professor, Asthma and Allergy Research Institute AND Department of Biotechnology, School of Advanced Technologies in Medicin, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Corresponding Author: Gholam Ali Kardar, Email: gakardar@tums.ac.ir