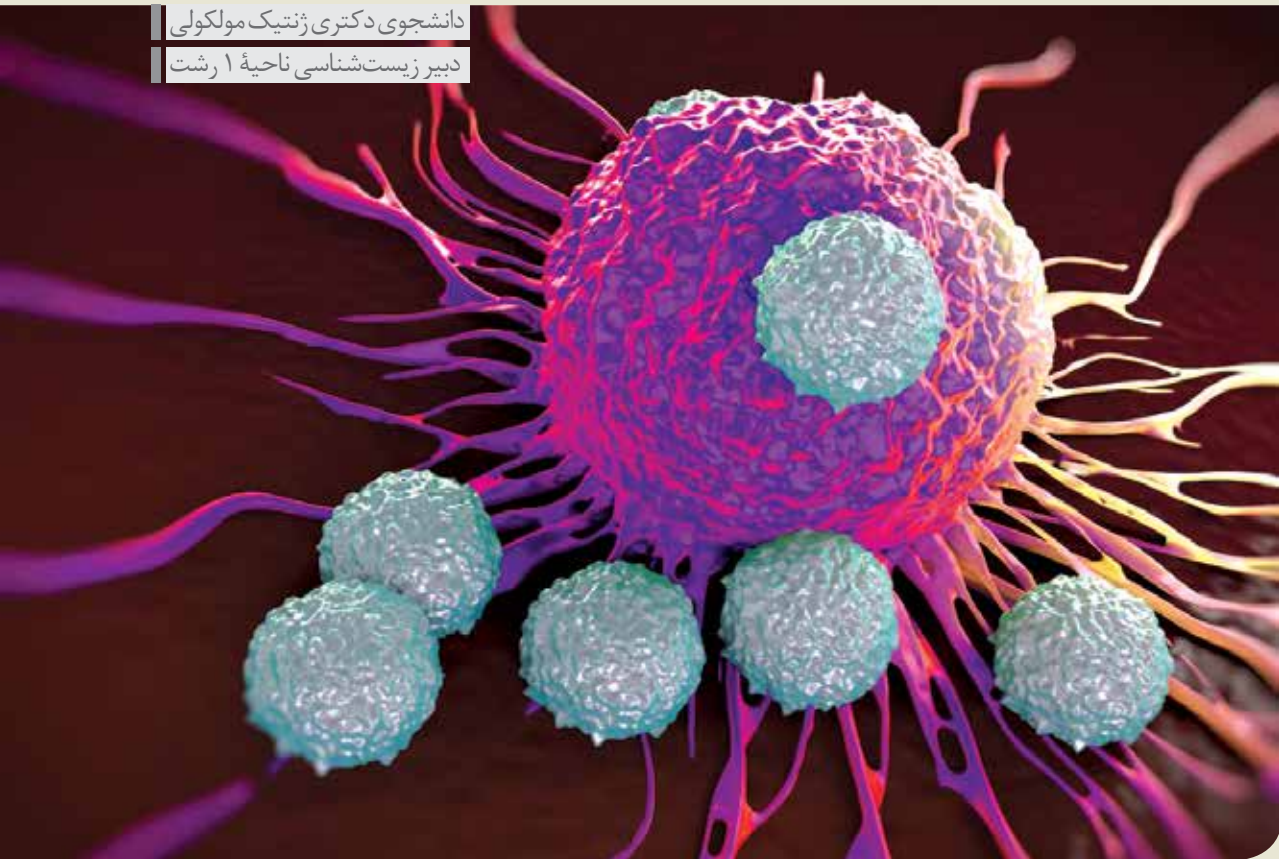


سلول‌های توموری در گردش

بهارک بلاایی

دانشجوی دکتری ژنتیک مولکولی

دبیر زیست‌شناسی ناحیه ۱ رشت



مقدمه

سلول‌های توموری در گردش (CTC)، توده‌هایی از تومورها هستند که در خون در گردش‌اند. این سلول‌ها که برای اولین بار حدود ۱۵۰ سال پیش از سوی توماس اشورت^۱ شناسایی شدند، از تومورها نشأت می‌گیرند و با عبور از ساختارهای گوناگون بینابینی، به صورت فعال یا غیرفعال، خود را به نزدیک‌ترین لومن‌های عروقی می‌رسانند. بر مبنای یافته‌ها، حدود ۰/۰۰۰۰۰۰۱ درصد از سلول‌های توموری به جریان خون می‌رسند. CTC‌ها، همراه با سلول‌های عادی خونی در عروق گردش

اشاره

آنچه می‌خوانید نگاهی به نسبت دقیق و تحلیلی به ویژگی‌های سلول‌های توموری در گردش^۱ و رویارویی دستگاه ایمنی با آن‌ها و دریچه‌ای به فصل‌های ۵ و ۶ کتاب درسی زیست‌شناسی ۲ است.

کلیدواژه‌ها: متاستاز، تومور، ctDNA، ترومبولیسم سیاهرگی.

می‌کنند. این سلول‌های هسته‌دار با درصد بسیار اندک در اسمیرهای معمولی خون محیطی غیرقابل تشخیص‌اند و با وجود به کارگیری تجهیزات پیشرفته، ردیابی آن‌ها هنوز چالش بزرگی محسوب می‌شود. چنانچه CTC‌ها در خون محیطی حضور داشته باشند، تنها شامل حدود ۰/۰۰۰۱ درصد از کل سلول‌های هسته‌دار می‌شوند (۱۰-۱ سلول در هر میلی‌لیتر پلاسما).

حساسیت ردیابی CTC‌ها در خون بیماران، تا حد زیادی به روش‌های ردیابی مورد استفاده بستگی دارد؛ به گونه‌ای که روش‌های مختلف، زیرجمعیت‌های متفاوتی از این سلول‌ها را ردیابی می‌کنند. در باره سیستم جستجوی سلول وریدکس وارن^۳ که تنها سیستم تأیید شده از سوی سازمان غذا و داروی آمریکا^۴ برای CTC‌هاست، حساسیت بیش از ۵۸ درصد گزارش شده است. با به کارگیری سایر روش‌ها از قبیل پلاتفرم^۵، HD-SCA حساسیت به مقادیر بالایی تا ۹۹/۹۹ درصد می‌رسد. افراد سالم و گروه محدودی از افرادی که دچار تومورهای خوش‌خیم هستند به ندرت دارای CTC هستند.

شیوع CTC در بیمارانی که دچار تومورهای بدخیم هستند، بر مبنای نوع کارسینوما و مرحله آن متفاوت است (جدول ۱). در یک پژوهش، در مراحل اولیه سرطان پستان، CTC‌ها در ۳۰-۸۰ درصد بیماران ردیابی شدند؛ اما این رقم در نوع متاستازی، به حدود ۷۰ درصد می‌رسد.

جدول ۱: درصد نمونه‌های⁺ CTC در سرطان‌های مختلف

سرطان	درصد نمونه‌های ⁺ CTC
پستان	۷۱
کولون	۶۴
معه	۳۳
روده	۶۶
تخم‌دان	۶۰
پروستات	۲۰

بافت‌برداری^۶ مایع فقط برای بررسی سلول‌های توموری در گردش کاربرد ندارد، بلکه سایر اجزا، از جمله ترکیبات تولیدی تومورها، یا ترکیبات پیوسته با تومورها نیز معمولاً در روش بافت‌برداری مایع بررسی می‌شوند. به‌عنوان مثال، در حال حاضر،

با استفاده از روش‌های بافت‌برداری مایع، تحقیقات و کارهای هیجان‌انگیزی برای ارزیابی^۷ ctDNA، آگزوزوم‌ها و پلاکت‌ها در جریان است. پلاکت‌ها در جریان خون با CTC‌ها میان‌کنش دارند. آگزوزوم‌ها که وزیکول‌های خارج سلولی متصل به غشا و بخشی از روندهای سیگنالینگ به منظور برقراری ارتباطات درون سلولی مولکولی محسوب می‌شوند و از تومورها نشأت می‌گیرند، حامل DNA هستند که بازتابی است از حالت ژنی و موتاسیونی تومورها. از این رو، قابلیت دارند تا به‌عنوان نشانگرهای زیستی برای ردیابی و نشان‌دادن سرطان و متاستاز به کار گرفته شوند. در ضمن، ممکن است قطعاتی از ctDNA توسط CTC‌های آپوپتوزی یا نکروزوزی سلول‌های توموری اولیه یا متاستازی آزاد شوند و در جریان خون آزادانه گردش کنند. با وجود این، گلبول‌های سفید خون نیز DNA آزاد می‌کنند و از این رو با درصد کلی DNA ردیابی شده در جریان خون مرتبط هستند. این امر، ردیابی اختصاصی ctDNA را با چالش روبه‌رو کرده است.

ویژگی‌های فیزیکی CTC‌ها

- قطر CTC‌ها: اندازه CTC‌ها بسته به بافت منشأ، یا احتمالاً سایر عوامل از قبیل تغییرات در بیان پروتئین‌ها، متفاوت است (جدول ۲).
- قابلیت تغییر شکل CTC‌ها: دگرریختی یا قابلیت تغییر شکل، به توانایی تغییر شکل، تحت شرایط استرس اطلاق می‌شود. تفاوت در قابلیت تغییر شکل، از عوامل گوناگونی، از جمله سیگنالینگ مایع خارج سلولی (ECM)، شیمی‌درمانی، یا بازآرایی‌های DNA ناشی می‌شود که ممکن است به تغییر در بیان پروتئین منجر شود. این تغییر بیان، ساختار اسکلت سلولی سلول‌های سرطانی را تغییر می‌دهد که نتیجه آن، تغییر شکل، حرکت و در نهایت دگرریختی است. در سلول‌های سرطانی، قابلیت تغییر شکل بالاتر با پتانسیل متاستازی بالاتر تومور، پیوستگی مستقیم دارد. CTC‌ها نسبت به گلبول‌های سفید، قابلیت تغییر شکل کمتری نشان می‌دهند؛ اما به همان نسبت که پتانسیل متاستازی بیشتری کسب می‌کنند، درجه بالاتری از قابلیت تغییر شکل را بروز می‌دهند.

توده‌هایی از
تومورها با عبور
از ساختارهای
گوناگون
بینابینی
به صورت فعال
یا غیر فعال،
خود را به
نزدیک‌ترین
لومن‌های
عروقی
می‌رسانند

جدول ۲: مقایسه قطر انواع CTC ها و سلول های خون

سلول	قطر (میکرون)
سرطان ریه سلول کوچک (SCLC)	۱۰
CTC های سرطان پستان	۷۰
CTC های پروستات	۱۰۰
Surrounding WBCs- Erythrocyte	~۸
گرانولوسیت ها	۱۶
لنفوسیت ها	۱۸/۶
مونوسیت ها	۱۲-۲۰

متحمل آنوایکسیس می شوند. CTC ها نیز ممکن است دچار همین سرنوشت شوند و cfDNA آزاد کنند. مطالعات کینتیک، زمان کوتاه بقا را برای CTC ها در جریان خون پیش بینی می کنند. در یک آزمایش، موش مدل با لاین های سلولی کارسینومای کلیوی، ریزش سلولی بالغ بر ۶ میلیون را نشان داد که نزدیک به ۸۹ درصد این سلول ها پس از ریزش بلافاصله دچار مرگ می شوند و گروه بزرگی از این سلول ها، آپوپتوز را تجربه می کنند. سلول های زنده مانده به طور معمول، دوره زندگی کوتاه دارند. منگ و همکاران در بیماران مبتلا به سرطان پستان، نیمه عمر CTC ها را ۲/۴ ساعت، با حداکثر بقای ۲۴ ساعت پس از جدا شدن از تومور اولیه، اندازه گیری کرده اند.

● تجمع CTC ها و ارتباط احتمالی آن ها با ترومبولیسم سیاهرگی: CTC ها، بسیاری اوقات، به صورت توده هایی تحت عنوان CTM در دستگاه عروقی یافت می شوند. CTC ها محتوی دو یا چند سلول سرطانی هستند. مطالعات روی مدل موش پیشنهاد می کند که این فرایند همراه است با بیش- بیان VEGF-A از سوی سلول های توموری. تئوری این است که CTM در متاستاز تومور و نیز ترومبومبولیسم سیاهرگی یا VTE (دو علت اصلی مرگ و میر در بیماران سرطانی) نقش ایفا می کند. CTM و نیز CTC ها، هر دو به طور فیزیکی با سایر انواع سلول ها از جمله فیبروبلاست ها، لکوسیت ها، سلول های اندوتلیال و پلاکت ها، ارتباط دارند. طی گردش درون عروقی، CTC ها و به طور قابل ملاحظه ای CTM ها، ممکن است با VTE مرتبط باشند؛ اما مکانیسم ها چندان مشخص نشده اند. بیان عامل بافتی عضو آبشار تشکیل لخته یا TF توسط CTC ها، ممکن است در این زمینه ایفای نقش کند. TF، برانگیزاننده ایجاد لخته است و می تواند توسط آنکوژن ها، بازدارنده های تومور یا عامل های رشد، تنظیم شود. فیلیپس و همکاران در سال ۲۰۱۴ تصریح کردند که CTM ممکن است عامل افزایش ناحیه ای سطح ترومبین باشد. از این رو، CTC ها و CTM به عنوان منابع متحرک ترومبین پیشنهاد شده اند؛ اما جزئیات نقش

● قطبیت و بار الکتریکی CTC ها: به علت تغییرات در شکل، اندازه هسته و سیتوپلاسم و نیز تغییرات بیان پروتئین ها طی تحرک و یا فعال سازی مکانیسم های بقای در گردش خون، نسبت اجزای قطبی شده سوسپانسیون (از جمله: پروتئین ها، نوکلئیک اسیدها و پپتیدها) به حلال آن ها، در CTC ها نسبت به گلبول های سفید و سلول های اپی تلیال خوش خیم متفاوت است.

● وزن CTC ها در واحد حجم: نوع سلولی غالب در کل خون، گلبول های قرمز هستند. سیتوپلاسم این سلول ها، شامل هموگلوبین است که خود عامل وزن بالاتر آن ها در واحد حجم در مقایسه با گلبول های سفید و CTC ها است. فیلیپس و همکاران در ۲۰۱۲، وزن CTC ها، گلبول های قرمز و گلبول های سفید در واحد حجم (تراکم وزن خشک سلولی) را در بیماران مبتلا به سرطان تخمدان مقایسه کردند. آن ها گزارش کردند که وزن در واحد حجم گلبول های سفید و CTC ها در مقایسه با گلبول های قرمز ۳/۵-۴/۵ بار پایین تر است. همچنین، وزن در واحد حجم گلبول های سفید و CTC ها هم پوشانی دارد.

برخی ویژگی های زیستی CTC ها

● زنده ماندن CTC ها در دستگاه عروقی: CTC ها، پس از ورود به درون عروق، با چندین عامل تنش مواجه می شوند: فشار قوی جریان خون، با فشارهای وارد بر سلول ها در بافت مبدأ کاملاً متفاوت است. ضمناً، سلول های اپی تلیالی که میان کنش های سلول-سلول و نیز سلول-ماتریکس را از دست داده اند، به طور معمول

اندازه

سلول های

توموری در

گردش بسته

به بافت منشأ،

یا احتمالاً

سایر عوامل از

قبیل تغییرات

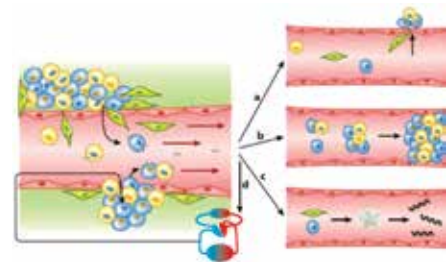
در بیان

پروتئین ها،

متفاوت است

آن‌ها در VTE، تعریف نشده باقی مانده است.

● پایه‌گذاری متاستاز: مرحله نهایی متاستاز، تعریف حقیقی نواحی دور از بافت نرمال موجود است و این گسترش، نیازمند خروج از جریان خون و ایجاد یک موقعیت تکثیر پایدار در یک مکان جدید است. در مدل‌های حیوانی تنها ۱۰۰٪ از کل سلول‌های توموری وارد شده به جریان خون، قادر به خروج عروقی به سمت بافت و ایجاد متاستاز هستند. خروجی‌های بالقوه دیگر عبارت‌اند از: آنوایکسیس، تخریب از سوی سلول‌های ایمنی، یا انتقال به یک موقعیت غیر تکثیری را کند. اینکه خروج عروقی قابلیت جایگزینی داشته باشد، به ریزمحیط خاصی که CTC‌ها طی سفر خود کسب می‌کنند و نیز به پتانسیل متاستازی ذاتی آن‌ها بستگی دارد. چنانچه یک CTC با قابلیت متاستازی، پس از عبور از مراحل اولیه و در نهایت، طی خروج عروقی وارد بافت شود، ممکن است با یک ریزمحیط مطلوب تحت عنوان «نیچ متاستازی» مواجه شود. دودا و همکاران در مدل‌های موشی تصریح کرده‌اند که CTC‌ها ممکن است در اصطلاح، رویشگاه خود را نیز از جایگاه اولیه به همراه بیاورند. آن‌ها CTC‌های جاسازی شده‌ای در روند گردش خون و در اجزای استرومای (مانند ماکروفاژها، فیبروبلاست‌ها و سلول‌های اندوتلیال) کشف کردند که برای CTC‌ها مزیت‌های زیستی و رشدی ایجاد می‌کنند.



شکل ۱: انتشار CTC‌ها به شبکه عروقی و دورنمای بعدی آن‌ها

● انتشاریابنده‌ها و اسفنج‌ها: چنانچه یک سایت متاستازی، توانایی بیشتری در جذب پتانسیل‌های متاستازی نسبت به انتشار آن‌ها داشته باشد، در گروه اسفنج‌ها جای می‌گیرد؛ اما اگر نسبت به سایرین پتانسیل انتشار بیشتری داشته باشد، در گروه گسترش‌گرها

قرار می‌گیرد. مهم‌ترین اسفنج‌ها گره‌های لنفاوی منطقه‌ای هستند.

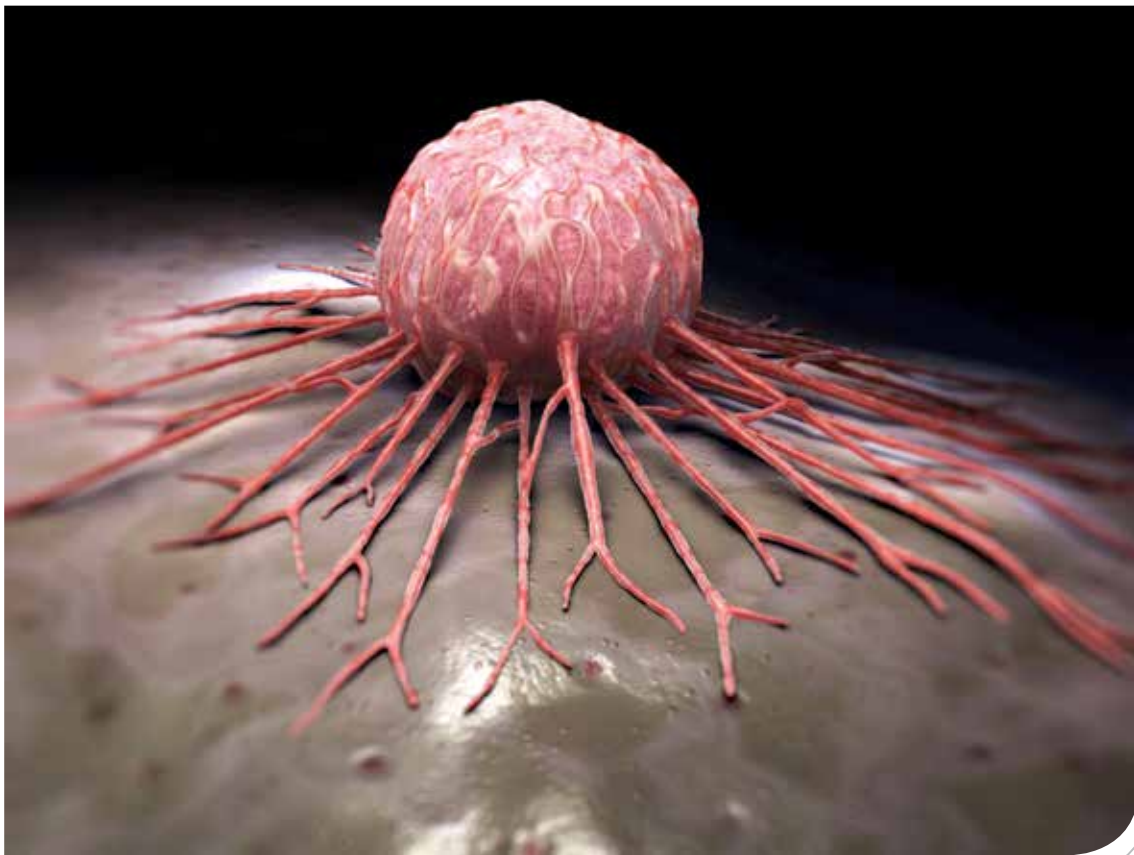
● کمون (نهفتگی): موقعیتی از CTC‌ها وجود دارد که طی آن، خروج عروقی و با رشد سلول‌های توموری خارج شده از عروق به سمت متاستاز متوقف می‌شود. این موقعیت که تحت عنوان نهفتگی یا خواب شناخته می‌شود، مکانیسم پیشنهادی تطبیق بار ریزمحیط‌های جدید است.

(چپ) تومورهای اپیتلیالی هتروژن در جریان خون جاری می‌شوند. چنین جریان سلولی ممکن است غیرفعال باشد (پایین) که در نتیجه آن، CTC‌های اپیتلیالی (در مواردی حتی به عنوان میکروآمبولی‌های توموری در گردش یا CTM) به خون جریان می‌یابند. جریان سلولی نیز ممکن است فعال باشد (بالا) که طی آن سلول‌ها متحمل فرایند EMT می‌شوند (سلول‌های سبز رنگ: EMT-CTC‌ها). با توجه به اینکه این EMT-CTC‌ها به صورت فعال به رگ خونی نفوذ می‌کنند، ممکن است برخی سلول‌های اپیتلیالی نیز به صورت غیرفعال و با تبعیت از آن‌ها، راهی جریان خون شوند. هر CTC به دنبال ورود به شبکه عروقی، سرنوشت خاصی دارد: معکوس شدن فرایند EMT به عنوان بخشی از روند متاستاز، چسبیدن CTC‌ها و EMT‌ها که نتیجه آن ترومبومبولیسم سیاهرگی است، CTC‌های اپیتلیالی یا مزانشیمی ممکن است متحمل آپوپتوز شوند که نتیجه آن، آزاد شدن DNA توموری به جریان خون است و در صورت زنده ماندن در جریان خون، CTC‌ها هسته‌های سلولی تشکیل می‌دهند. (شکل ۱)

مکانیسم‌های زیست و فرار ایمنی

● مکانیسم‌های پایش ایمنی و فرار: انتشار سلول‌های توموری منفرد به جریان خون، در بیماران سرطانی مراحل اولیه، به طور معمول قابل ردیابی نیست. سلول‌های توموری انتشار یافته (DTCs)، سلول‌هایی هستند که از شبکه عروقی و دستگاه لنفاتیکی عبور و به اندام‌های دور دست مهاجرت کرده‌اند. از این رو، آن‌ها را می‌توان در مغز استخوان و گره‌های لنفاوی و نیز سایر اندام‌هایی که امکان متاستاز در آن‌ها وجود دارد، از جمله: کبد، شش‌ها و مغز یافت. DTC‌ها قادرند از مغز استخوان خارج شوند و

چنانچه یک سلول توموری در گردش با قابلیت متاستازی، پس از عبور از مراحل اولیه، در نهایت، از عروق خارج و وارد بافت شود، ممکن است با یک ریزمحیط مطلوب تحت عنوان «نیچ متاستازی» مواجه شود



فرار^{۲۵}: سلول‌های توموری که مکانیسم‌های اجتناب و یا سرکوب دستگاه ایمنی را کسب کرده‌اند، در یک ریزمحیط ایمن^{۲۶}، توانایی رشد و تکثیر کسب می‌کنند.

سلول‌های توموری توان پوست‌اندازی دارند^{۲۷} که نتایج آن عبارت‌اند از: محدود شدن ارائه لیگاندهای درگیر در شناسایی آن‌ها از سوی سلول‌های کشنده طبیعی^{۲۸} و یا لنفوسیت‌های T کشنده و تنظیم کاهش عامل‌های راه‌انداز پاسخ ایمنی ویژه تومور از جمله سیتوکاین‌های پیش‌تهابی و کموکاین‌ها. پاسخ‌های ایمنی ضد توموری به دو طریق کلی سرکوب می‌شوند:

- مستقیم؛ شامل تنظیم افزایشی عامل‌های آنتاگونیست از سوی سلول‌های توموری،
- غیرمستقیم؛ از طریق سلول‌های ایمنی ضدالتهابی (شکل ۲).

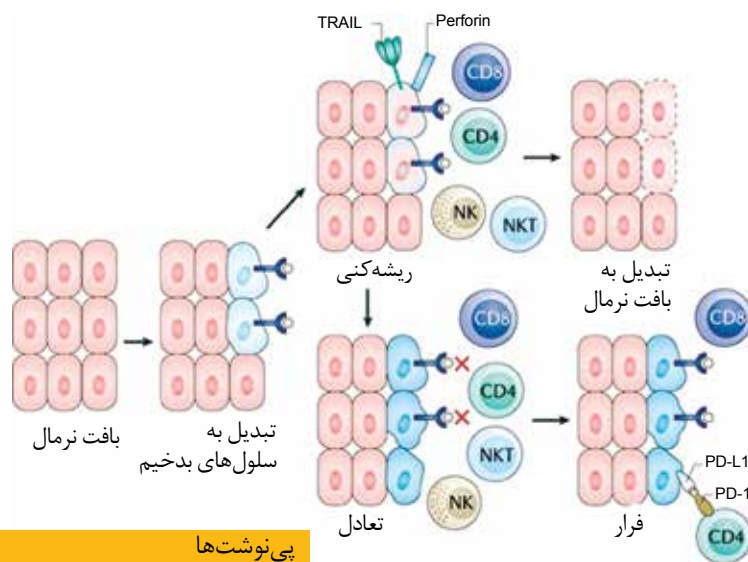
نقش سلول‌های کشنده طبیعی و ماکروفاژها

میان‌کنش سلول‌های کشنده طبیعی با سلول‌های توموری، از طریق شبکه پیچیده‌ای

ضمن گردش در خون، به جایگاه تومور اولیه بازگردند. TILها، لنفوسیت‌های التهابی توموری هستند که در بسیاری از تومورهای بدخیم حضور و تمایل ذاتی به ارائه پاسخ تطبیقی ضد توموری دارند. در کنار TILها، ریزمحیط توموری سرکوب کننده دستگاه ایمنی، جایگاهی با مزیت ایمنولوژیک است که از فعالیت منطقه‌ای و یا اعمال نقش TILها جلوگیری می‌کند. CTCها و نیز DTCهایی که این منطقه بی‌خطر را ترک می‌کنند، مستعد مورد حمله قرار گرفتن از سوی سلول‌های دستگاه ایمنی هستند.

- اصول فرار یا سرکوب دستگاه ایمنی^{۲۹}: فرار یا سرکوب دستگاه ایمنی سه مرحله دارد: ریشه‌کنی^{۳۰}: محدود کردن و ریشه‌کنی میکروکلنی‌های سلول‌های نئوپلاستیک توسط سلول‌های ایمنی ذاتی و تطبیقی، تعادل^{۳۱}: سلول‌های نئوپلاستیک پس از آنکه از نخستین رویارویی با دستگاه ایمنی جان به در بردند، با سلول‌های دستگاه ایمنی به یک تعادل پایدار می‌رسند که نتیجه آن اعمال فشار انتخابی پایا بر سلول‌های توموری است.

انتشار سلول‌های توموری منفرد به جریان خون، در بیماران سرطانی، مراحل اولیه، به طور معمول قابل ردیابی نیست



شکل ۲. فرار سلول‌های توموری یا ریشه‌کنی آن‌ها از سوی سلول‌های ایمنی

پی‌نوشت‌ها

1. CIRCULATING TUMOR CELLS
2. Thomas Ashworth
3. CELLSEARCHR System (Veridex, Warren, NJ)
4. FDA
5. High highdefinition single-cell analysis
6. fluid biopsy
7. Circulating tumor DNA (ctDNA)
8. Deformability
9. Phillips
10. Anoikis نوعی مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده است که سلول‌های لنگردار زمانی که از ماتریس خارج سلولی جدا می‌شوند، رخ می‌دهد - م
11. Meng
12. circulating tumor microemboli
13. vascular epidermal growth factor A
14. Venous thromboembolism (VTE)
15. Duda
16. sponge
17. spreader
18. dormancy
19. disseminated tumour cells
20. Tumor-Infiltrating Lymphocyte
21. immunosuppressive tumour microenvironment
22. cancer immuno-editing
23. Elimination
24. Equilibrium
25. Scape
26. immunocompetent
27. امکان تغییر ماهیت پروتئین‌ها و آنتی‌ژن‌های غشایی - م
28. NK cells
29. MHC I-related inhibitory molecules
30. Killer-cell immunoglobulin-like receptor
31. prostaglandin E2
32. TNF-related apoptosis inducing ligand

منابع

1. Peinado H, Zhango H ,Matei I.H,et al(2017). Pre-metastatic niches: organ-specific homes for metastases.Nature. doi:10.1038/nrc.2017.6
2. Thiele J.A, Bethel K., Kr' al' t'ckov'a M, and Kuhn P(2017). Circulating Tumor Cells: Fluid Surrogates of Solid Tumors. Annual Review of Pathology. doi: 10.1146/annurev-pathol-052016-100256.
3. Mohme M, Riethdorf S and Pantel K(2016). Circulating and disseminated tumour cells — mechanisms of immune surveillance and escape.Nature. doi:10.1038/nrclinonc.2016.144

از رسپتورها و لیگاندها، از جمله مولکول‌های بازدارنده مرتبط با MHC I^{۲۹} کنترل می‌شود. ظرفیت کشندگی و تخریب سلول‌های کشف‌شده طبیعی در بیماران CTC⁺ مبتلا به سرطان‌های پستان، کلورکتال و پروستات، در مقایسه با بیماران CTC⁻ مبتلا به همین سرطان‌ها، کاهش نشان می‌دهد. به‌عکس، تعداد سلول‌های کشف‌شده طبیعی در بسیاری از بیماران مبتلا به سرطان افزایش می‌یابد. مکانیسم‌های پیشنهادی سرکوب فعالیت ضد توموری با واسطه سلول‌های کشف‌شده طبیعی عبارتند از:

- ممانعت مستقیم سلول‌های کشف‌شده طبیعی از طریق برخورد سلول- سلول که از سوی رسپتورهای شبه‌ایمونوگلوبولینی سلول کشف‌شده^{۳۰} یا توسط مسیری که E - CBL^{۳۱} - ubiquitin protein ligase در آن درگیر است، میانجی‌گری می‌شود.

- بازدارندگی غیرمستقیم از طریق تولید سیتوکاین‌های بازدارنده مانند (IL-1, IL-6, IL-8, PGE^{۳۲})

سلول‌های کشف‌شده طبیعی ممکن است بتوانند CTC‌ها را حائل و متاستاز را بلوکه کنند. سلول‌های کشف‌شده طبیعی همچنین، به واسطه ترشح TRAIL، عامل تجزیه سلول‌های توموری هستند.

ماکروفازها (به‌ویژه ماکروفازهای مقیم کبد) هم در کنار سلول‌های کشف‌شده طبیعی، در کنترل پیشرفت متاستاز، نقش اساسی دارند.