التأثير النسخي لحمض الريتنويك وفيتامين د المسؤولة عن العلاج التطوري على خط خلايا سرطان الدم الحاد

نهى عبد الله العمودي

المشرفة: د.هديل سعدون السعدون

المستخلص

أحد العلاجات المستحدثة لخلايا سرطان الدم الحاد تعتمد على حث الخلايا على التطور و النمو لمقاومة الخلايا الأولية التي تتكاثر و تنقسم مكونة خلايا سرطان الدم الحاد. يعتبرإستخدام حمض الريتينويك و فيتامين د مثالين جيدين يوجهان الخلايا نحو الخلايا السليمة (الخلايا المحببة أو وحيدة النوى) مكتملة النمو. لذلك, ركزت الدراسات السابقة المتعلقة بالعلاج التطوري على التغيرات الحاصلة على مستوى البروتين, مستوى سطح الخلية و التغيرات الشكلية وقل التركيزعلى التغيرات التي تحصل على مستوى الحمض النووي الذي يحدد ماهية التغير على مستوى البروتين في خط خلايا سرطان الدم الحاد HL-60 . في هذه الدراسة عالجنا الخلايا بحمض الريتينويك و فيتامين د ومن ثم, تم قياس التغيرات الجينية على فترات مختلفة. أظهرت نتائجنا أن استخدام 1µMمن حمض الريتينويك يؤدي إلى رفع مستوى الجين الخاص بخلايا الدم المحببة CD11b على مستوى الجين و المؤدي إلى تطور الخلايا و نضجها على مستوى البروتين. فيما يتعلق بعوامل النسخ, فإن العاملان SPI1 المنظم لنمو خلايا وحيدات النواى و CEBPα المنظم لنمو الخلايا الدم المحببة قد زاد مستواهما الجيني نتيجة للعلاج بحمض الرتنويك. ومن المثير للاهتمام, لُوحظ إرتفاع في بعض الجينات الخاصة بالخلايا وحيدة النوى والتي ترمز للبروتينات التطورية لهذه الخلايا (CD14, CD11c,CD33,CD4) كما وجد ارتباط قوي بينها و بين SPI1 وذلك بعد علاجها بحمض الرتنويك والمسؤول عن نمو الخلايا إلى طورالخلايا المحببة. من ناحية أخرى, وجدنا أن استخدام ١٠nMمن فيتامين د, يزيد من مستوى CD14, CD68, CD11c ,CD11b بالإضافة إلى إزدياد مستوى RUNX1 وSPI1 وإنخفاض مستوى CEBPα. كما وجدنا أن الزيادة في مستوى CD14 وCD11c مرتبطة بزيادة مستوى العامل النسخي RUNX1. نتائج هذه الدراسة توضح أحد الأسباب المؤدية إلى تطوير الخلايا و نموها عن طريق حمض الرتنويك و فيتامين د, الا وهي إزدياد عوامل النسخ المسؤوله عن إعطاء الأوامر للخلية بالنمو و ذلك يتماشى مع طريقة نمو الخلايا بشكل طبيعي أثناء النموالفيسيولوجي الطبيعي لخلايا الدم البيضاء.

The Transcriptional effect of ATRA and Vitamin D differentiation agent on AML cell line

By

Noha Abdullah Alamoudi

Supervised By

Dr. Hadeel Sadoun Alsadoun

Abstract

Differentiation-based-therapy that based upon promoting the differentiation of arrested blast cells in AML is a well-known approach that is given much attention as an alternative therapy for acute myeloid leukemias. ATRA and VIT-D3 are widely used examples of differentiation agents that direct the cells toward granulocytic and monocytic lineages. Previous studies using ATRA and VIT-D3 focused on the changes that occurred at the protein level, cell surface marker level or morphology with less attention given to the changes made at mRNA level. Therefore, many questions remained unanswered regarding the underlying transcriptional regulation that instructs the differentiation of AML cells to granulocytes and monocytes. In this study, the expression level of maturation genes and transcription factors were measured in HL-60 AML cell line treated with ATRA and with VIT-D3 at different time points. Our results demonstrated that using 1µM ATRA showed increase in CD11b granulocyte marker, together with SPI1 and CEBPα transcription factors that are the master regulator of monocytic and granulocytic cells, respectively. Interestingly, some of the monocytic genes encoding for monocyte differentiation (CD14, CD11c, CD33, and CD4) were upregulated as well and showed a significant correlation with SPI1 in response to ATRA showing a tendency to commit and differentiate to monocytic lineage. On the other hand, in response to 10nM VIT-D3: CD14, CD68, CD11c, and CD11b were upregulated together with RUNX1 and SPI1 but not CEBPα. The upregulation in CD14 and CD11c positively correlate with RUNX1 transcription factor. Our data shows how ATRA and VIT-D3 can impact the transcription factors controlling the maturation by upregulating some differentiation gene in both granulocytes and monocytes linages and confirmed that the correlation between the markers and the regulatory transcription factors in response to ATRA and VIT-D3, which mimics the physiological pathway regulating maturation process.