



## بررسی اثر ترکیبی اندوستاتین همراه با سلول‌های بنیادی آندومتر بیان‌کننده ژن ضد‌رگ‌زایی TSP-1 بر فاکتورهای القاء‌کننده‌ی رگ‌زایی در درمان سرطان پروستات موش صحرایی

حسین عطار شاکری<sup>۱</sup>، اسماعیل فتاحی<sup>۱\*</sup>، محمدرضا نوروزی<sup>۲</sup>، سید علی مؤمنی<sup>۲</sup>، عباس پیریایی<sup>۳</sup>

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد آیت...آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

۲- مرکز تحقیقات اورولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳- گروه زیست‌شناسی و علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

\*مسئول مکاتبات: esmail\_fattahi@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۵/۰۲

### چکیده

سرطان پروستات دومین علت اصلی مرگ و میر ناشی از سرطان در مردان است. محرومیت از آندروژن باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در سرطان پروستات می‌شود. این امر منجر به فعال‌سازی مجدد سیگنالینگ گیرنده آندروژن (AR) می‌شود. بنابراین، درمان با آنتی‌اکسیدان‌ها به عنوان یک روش کمکی در درمان این سرطان مورد توجه قرار گرفته است. در این پژوهش، برای اولین بار، نشان دادیم که اندوستاتین همراه با سلول‌های بنیادی آندومتر بیان‌کننده ژن ضد‌رگ‌زایی TSP-1 باعث بهبود فنوتیپ و ژنوتیپ آندروژن در سلول‌های سرطانی پروستات موش صحرایی می‌شود. چهل موش صحرایی نر از انیستیتو پاستور تهران خریداری شدند. حیوانات با تزریق رده‌ی سلولی LNCaP به مدت ۱۲ هفته به سرطان پروستات مبتلا شدند. حیوانات مبتلا به سرطان پروستات بلافاصله به مدت ۲۸ روز اندوستاتین دریافت کردند. سپس حیوانات مبتلا به سرطان پروستات، سلول‌های بنیادی حاوی ژن ضد‌رگ‌زایی Tsp-1 را دریافت کردند. در مرحله‌ی بعد آزمایش‌ها و معاینات بافت‌شناسی انجام و سطح سرمی IL8 و VEGF اندازه‌گیری شد. در گروه دریافت‌کننده سلول‌ها و داروها، مقدار و ارتفاع چین‌خوردگی دیواره آسینوس در مقایسه با گروه بیمار کاهش یافته بود. همچنین شکل وزیکول‌ها مشخص و پوشش اپیتلیال منسجم و منظم بود. سطح سرمی IL8 و VEGF به طور قابل توجهی در گروه ترکیبی نسبت به گروه سرطان پروستات کاهش یافت ( $p \leq 0.01$ ).

کلمات کلیدی: سرطان پروستات، اندوستاتین، سلول‌های بنیادی آندومتر، ضد‌رگ‌زایی، موش صحرایی.

### مقدمه

در زمان تشخیص ارتباط دارد (۴۰). به طور کل میزان مرگ و میر ناشی از سرطان پروستات به ۱ تا ۲ درصد می‌رسد (۵). بر طبق آمار انجمن سرطان آمریکا در سال ۲۰۱۸، از سال ۲۰۱۰ تا ۲۰۱۴، شیوع سرطان پروستات در مردان رتبه اول را داشته و میزان مرگ و میر آن رتبه دوم را دارا بوده است. میزان سرطان

پروستات غده ای است به اندازه گردو که وزن تقریبی آن در حالت طبیعی در افراد بزرگسال یازده گرم (۷ تا ۱۶ گرم) و اندازه آن بطور میانگین  $2 \times 3 \times 4$  سانتی-متر است (۳۰). سرطان پروستات دومین سرطان شایع و بدخیم در میان مردان سراسر جهان است. میزان بروز و مرگ و میر ناشی از سرطان پروستات در سراسر جهان با افزایش سن با میانگین سنی ۶۶ سال

هستند (۴۵). رگ‌زایی یک روند کلیدی برای رشد تومور و انتشار سلول‌های سرطانی برای تقریباً همه تومورهای بدخیم است. این روند، یک فرایند چند مرحله‌ای است که شامل تمایز، تکثیر، مهاجرت و تشکیل لوله‌ی سلول‌های اندوتلیال و تغییر در ماتریکس خارج سلولی در شرایط پاتولوژیک می‌شود (۳۳). مهم‌ترین محرک‌های فیزیولوژیکی رگ‌زایی ایسکمی بافتی، هیپوکسی و التهاب هستند و علاوه بر آن برخی از فاکتورهای اختصاصی از قبیل فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF)، فاکتور رشد مشتق از پلاکت (PDGF) و فاکتور رشد انتقالی (TGF)، همچنین سیتوکاین‌های التهابی، مولکول‌های چسبنده و نیتریک اکساید رگ‌زایی را تحریک و یا مهار می‌کنند (۱۳). به‌رحال در بالغین تغییرات اندکی در سلول‌های اندوتلیالی رخ می‌دهد، در واقع این سلول‌ها در بلوغ خاموش هستند ولی توانایی فعال شدن در پاسخ به عوامل مناسب را دارند به‌عبارت دیگر می‌توان رگ‌زایی را یک فرایند ضروری در فیزیولوژی بدن دانست که با واسطه تعادل بین فاکتورهای القاء‌کننده و مهارکننده رگ‌زایی تنظیم می‌گردد و در صورتی که این تعادل از بین برود زمینه برای بروز برخی بیماری‌ها از جمله رشد و متاستاز تومور فراهم می‌شود (۳۶). تیمار ضد رگ‌زایی در تومور عبارت است از مهار تشکیل رگ‌های جدید در تومور و یا هدف‌گیری رگ‌هایی که از قبل تشکیل شده‌اند. بیشتر عوامل ضد رگ‌زایی به‌صورت غیرمستقیم عمل می‌کنند و فاکتورهای رشد رگ‌زایی را از گردش خون حذف می‌کنند و یا با رسپتورها و پیام‌رسان این فاکتورهای رشد تداخل ایجاد می‌نمایند، گروهی دیگر از عوامل ضد رگ‌زایی مستقیماً بر اندوتلیوم اثر می‌گذارند. مهار کننده‌ها می‌توانند رگ‌زایی را در مراحل تکثیر سلول‌های اندوتلیالی،

پرورسات در این دوره، سالانه ۱۰ درصد کاهش داشته است (۴۱). همچنین سرطان پرورسات هشتمین علت مرگ در اثر سرطان در ایران است بطوری که در شمال کشور در سال‌های اخیر جزو ده سرطان شایع بوده است (۳۲). مکانیسم پیشرفت سرطان پرورسات بررسی و هم‌چنین پیشرفت‌های مهم و خوبی نیز در درمان آن حاصل شده است. درمان‌های اختصاصی بر اساس داروهای نانو پزشکی، فاکتورهای ژنتیکی و سلول‌های بنیادی به یکی از نقاط مهم درمان سرطان پرورسات تبدیل شده‌اند (۴۸). طبق مطالعات انجام شده در چند سال گذشته، چندین رویداد مولکولی شناسایی شده است که در طول توسعه تومورهایی که تهاجمی‌تر بوده و مستقل از آندروژن ایجاد می‌شوند، رخ می‌دهند. شناسایی این رویدادهای مولکولی به توسعه درمان‌های هدفمند برای مدیریت بیماری کمک قابل توجهی می‌کند (۴). در میان درمان‌های جدید و امیدوارکننده‌ای که برای سرطان پرورسات وجود دارند، درمان ضد رگ‌زایی است. در این درمان، از تشکیل عروق خونی جدید از بستر عروقی موجود جلوگیری شده که این امر در جلوگیری از پیشرفت رشد تومور، حمله و متاستاز بسیار مهم است (۱۸). اساساً رشد و متاستاز تومورهای سخت، بیش‌تر به آنژیوژنز یعنی همان روند تشکیل عروق خونی جدید بستگی دارد. بنابراین، برای کنترل رشد سرطان پرورسات، درمان‌هایی که رگ‌زایی را هدف قرار می‌دهند بسیار با اهمیت هستند (۱۹). به‌طور معمول، سلول‌های بنیادی با خودنوزایی و تمایز به دودمانشان (سلول‌های دختری) تعریف می‌شوند. در بافت‌های طبیعی، سلول‌های بنیادی جمعیت اپیتلیال از سلول‌ها هستند که ثابت شده است دودمان خاص بافت را بازسازی می‌کنند (۲). این سلول‌ها به عنوان اهداف سلولی برای درمان‌های سرطان پرورسات مورد توجه

اتصال به ماتریکس خارج سلولی و مهاجرت آن‌ها مهار کنند (۸).

تا کنون تعداد زیادی از عوامل ضد رگ‌زایی شناسایی شده‌اند؛ مانند آنژیوستاتین، اندوستاتین، تتراهیدروکورتیزول، ترومبوسپون‌دین-۱، ارستین، کانستین و تومستاتین. اندوستاتین به عنوان قوی‌ترین عامل مهار کننده‌ی رگ‌زایی در نظر گرفته شده است. اندوستاتین می‌تواند از تکثیر سلول‌های اندوتلیال، مهاجرت و رگ‌زایی جلوگیری کرده و باعث کاهش عروق تومور شده و رشد تومورها را کند کند (۱۹). نقش مهارکنندگی آنژیوژنز مربوط به اندوستاتین در تومورهای مختلف سخت از جمله سرطان پروستات تأیید شده است (۱۷). TSP-1 شناخته شده‌ترین مهار کننده رگ‌زایی بوده و یک هدف درمانی قوی در سرطان‌های بدخیم است (۳۸). TSP-1 نقش مهمی در تنظیم فعالیت‌های مختلف بیولوژیکی، از جمله هموستاز عروقی، ایمنی و ترمیم زخم دارد (۹).

هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر ترکیبی اندوستاتین همراه با سلول‌های بنیادی آندومتر بیان کننده ژن ضد رگ‌زایی TSP-1 بر فاکتورهای دخیل در رگ‌زایی در درمان سرطان پروستات موش صحرائی است.

#### مواد و روش‌ها

تعداد ۴۰ سر موش‌های صحرائی نر با وزن تقریبی ۹۵ تا ۱۰۰ گرم از انیستیتو پاستور تهران خریداری و ۲۰ روز در محیط حیوان‌خانه نگهداری می‌شوند تا به محیط سازش یابند و برای انجام پژوهش به وزن ۱۸۰ گرم برسند. دمای محیط حیوان‌خانه ۲۲ درجه و رطوبت بین ۳۰ تا ۴۰ درصد و مدت تاریکی و روشنایی آن نیز ۱۲ ساعته خواهد بود و طی این مدت هر ۳ روز یک بار از ساعت ۸ تا ۹ صبح قفس موش‌ها تمیز شده و هر روز نیز آب و غذای موش‌ها چک

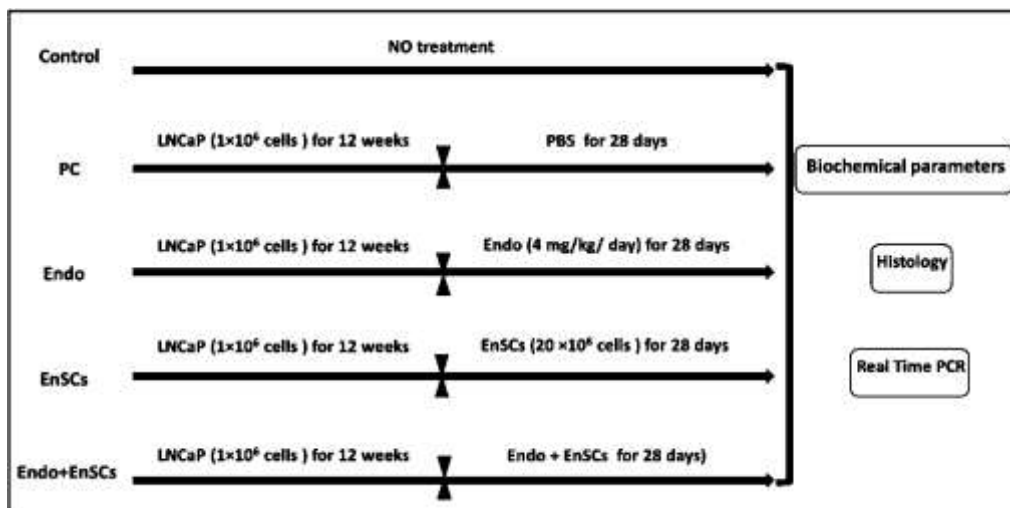
می‌شود. حیوان‌خانه دارای اتاقک‌های مجزا و سیستم گرمایشی و سرمایشی و همچنین دسترسی آسان به وسایل و امکانات بصورت مجزا است. در این آزمایش از کدهای اخلاقی تعریف شده توسط وزارت بهداشت پیروی شد. ضمناً قبل از بیرون آوردن موش از محیط آزمایشگاه ابتدا موش‌ها وزن شده و درون قفس‌های تمیز که بدون خاک اره، آب و غذا می‌باشد به تنهایی قرار داده شده و وزن موش با برچسب بر روی قفس نوشته می‌شود تا برای انجام تزریق یا تست‌های بعدی تداخلی ایجاد نشود. آزمایشات با توجه به راهنمای انستیتوی ملی بهداشت برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شدند.

**طراحی تجربی:** حیوانات به طور تصادفی به پنج گروه ۸ نفره تقسیم شدند: (۱) یک گروه از حیوانات در شرایط طبیعی آزمایشگاهی نگهداری شدند و تنها جراحی (ورود سوزن به پروستات) روی آنها انجام شد (گروه شاهد یا نرمال)، (۲) حیوانات با تزریق موضعی  $1 \times 10^6$  سلول LNCaP به همراه ۰/۲۵ میلی‌لیتر ماتریژل در ناحیه پروستات به مدت ۱۲ هفته به سرطان پروستات مبتلا شدند و روزانه به مدت ۲۸ روز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم بافر (محلول) نمکی فسفات (PBS) دریافت کردند (گروه سرطان پروستات)، (۳) حیوانات مبتلا شده به سرطان پروستات بلافاصله ۴ میلی‌گرم در کیلوگرم اندوستاتین به صورت داخل صفاقی به مدت ۲۸ روز دریافت کردند (گروه اندوستاتین) (۴). حیوانات مبتلا شده به سرطان پروستات، یک دوز ۲۰ میکروگرم بر میکرولیتر از سلول بنیادی حاوی ژن ضد رگ‌زایی Tsp-1 به صورت داخل سیاهرگی (۲۰ میلیون سلول در ۵ میکرولیتر PBS) دریافت کردند (گروه سلول-های بنیادی) (۵).

حیوانات مبتلا شده به سرطان پروستات بلافاصله ۴ میلی‌گرم در کیلوگرم اندوستاتین به صورت داخل

میلیون سلول در ۵ میکرولیتر (PBS) دریافت کردند (گروه اندواستاتین با سلول بنیادی) (شکل ۱).

صفاقی به مدت ۲۸ روز دریافت و سپس یک دوز ۲۰ میکروگرم بر میکرولیتر از سلول بنیادی حاوی ژن ضد رگ‌زایی Tsp-1 به صورت داخل سیاهرگی (۲۰)



شکل ۱- طراحی آزمایش. این طرح زمان‌بندی آزمایش را در ۵ گروه همراه با ۳ تکنیک شرح می‌دهد. گروه ۱: بدون تیمار (کنترل) ۲: سلول‌های LNCaP به همراه PBS (گروه سرطان پروستات) ۳: سرطان پروستات با اندواستاتین (Endo) ۴: سرطان پروستات با سلول‌های بنیادی TSP-1 (EnSCs) ۵: سرطان پروستات با اندواستاتین همراه با سلول بنیادی (Endo + EnSCs).

میکرولیتر RPMI 1640 به همراه ۵٪ FBS، با دقت از طریق یک سوزن همیلتون ۲۷ گیج به داخل فضای زیرپوستی سمت راست پروستات تزریق شد. اندازه تومورها دو بار در هفته (به مدت ۱۲ هفته) اندازه‌گیری شدند و حجم آنها با فرمول  $L \times W \times H \times 0.5236$  محاسبه شد. برش ایجاد شده با نخ ابریشم ۴-۰ بخیه زده و بسته شد (۴۳). سلول‌های بنیادی انسانی مشتق شده از آندومتر با ژن TSP-1 ترانسفکت شدند. دو روز پس از القاء سرطان، سلول‌های بنیادی مشتق از آندومتر که با ژن TSP-1 ترانسفکت شده بودند (TSP-1-EnSCs)، به داخل سیاهرگ دمی تجویز شدند. برای این منظور، حضور ژن ضد رگ‌زایی Tsp-1 برچسب‌گذاری شده، در سلول بنیادی آندومتریوم تایید شد. سپس سلول‌ها کشت داده شده و در نیتروژن مایع ذخیره شدند.

**تلقیح سلول‌های LNCaP:** رده‌ی سلول‌های LNCaP و TSP-1-EnSCs توسط گروه علوم سلول‌های کاربردی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کاشان تهیه شد (۷). سلول‌های LNCaP در ۱۶۴۰ RPMI مکمل با ۵ درصد FBS (Life Technologies) شرکت سهامی، بورلینگتون، کانادا) نگهداری شدند. قبل از تلقیح سلول‌های LNCaP، تمام حیوانات با متوکسی فلوران بیهوش شدند. برای رشد تومور، با  $1 \times 10^6$  سلول LNCaP در ۷۵ میکرولیتر RPMI 1640 همراه با ۵٪ FBS و ۷۵ میکرولیتر ماتریژل (Collaborative Biomedical Products، بدفورد، ماساچوست) سوسپانسیون تهیه شد. سپس یک برش عرضی در پایین شکم ایجاد شد. عضلات دیواره شکم بریده شده و مثانه و سمینال وزیکول‌ها از طریق برش آزاد شدند تا لوب پشتی پروستات نمایان شود. سوسپانسیون حاوی  $1 \times 10^6$  سلول LNCaP در ۲۰

و توسط یک کپسول مشترک احاطه شده‌اند. اجزای غده ای پروستات از مجاری و آسینی تشکیل شده است که از لحاظ ریخت‌شناسی یکسان هستند و به نظر می‌رسد هر دو به عنوان مخزن ذخیره عمل می‌کنند. سلول‌های ترشحی در سراسر پروستات توسط لایه‌ای از سلول‌های پایه از غشای پایه و استروما جدا می‌شوند (شکل ۲-۲A). در گروه سرطان، در بعضی از نقاط که دارای پوشش اپیتلیال نامنظم و ضخیم بودند، دیوار وجود نداشت. همچنین، در دیواره هر یک از آسینوس‌ها، سلول‌های عضلانی صاف و بافت پیوندی سخت وجود داشتند (شکل ۲-۲B). در شکل ۲-۲C، در گروه دریافت‌کننده سلول بنیادی حاوی ژن TSP-1، دیواره‌های آسینی نازک و ارتفاع بافت اپیتلیال و تخریب دیواره وزیکول در مقایسه با گروه سرطان کاهش یافته است. در گروه دریافت‌کننده داروی اندواستاتین، چین و چروک‌هایی در دیواره‌ی پوششی دیواره آسینوس دیده می‌شود، اما بی‌نظمی دیواره و بزرگ شدن دیواره اپیتلیال هنوز در برخی از بخش‌ها قابل مشاهده است (شکل ۲-۲D). اما در گروه دریافت‌کننده سلول بنیادی و دارو، مقدار و ارتفاع چین و چروک‌های دیواره آسینوس در مقایسه با گروه بیمار کاهش یافته و شکل وزیکول‌ها مشخص و جدا و پوشش اپیتلیال منسجم و منظم است (شکل ۲-۲E). در شکل ۳ نشان داده شده که سطح فاکتورهای سرمی در موش‌های سرطانی در حدود ۲ برابر نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است ( $p \leq 0/01$ ). تجویز جداگانه اندوستاتین و سلول بنیادی آندومتر، بیان‌کننده ژن ضد رگ‌زایی TSP-1 و نیز تجویز همزمان آن دو به طور قابل توجهی سطح این فاکتورها را در گروه سرطانی کاهش داد. بیان فاکتور سرمی IL8 در گروه اندواستاتین نسبت به شاهد افزایش یافت ( $p \leq 0/05$ ) ولی بیان این فاکتور در گروه دریافت‌کننده سلول بنیادی بیان‌کننده ژن TSP-1 و نیز گروه سلول بنیادی

آماده‌سازی بافت: موش‌های صحرایی نر با استفاده از ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کتامین و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم زیلازین بی‌حس شدند و سپس به بطن چپ قلب آن‌ها محلول بافر فسفات (۰/۰۱ مول PBS، ۲۰۰ میلی‌لیتر) با pH ۷/۴ تزریق شد. پس از آن برای تثبیت از پارافورمالدئید ۴ درصد در ۰/۰۱ مول PBS با pH ۷/۴ استفاده شد. به دنبال تزریق وریدی، پروستات موش‌ها برداشته و به مدت ۱ روز در محلول ثابت‌کننده یکسان فیکس شدند. نمونه‌ها پس از پردازش پاکسازی و دهیدراته شدن (به روش استاندارد)، به پارافین منتقل شدند و برش‌هایی با ضخامت ۶ میکرومتر از آن‌ها تهیه شد؛ سپس این برش‌ها توسط هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی و در زیر میکروسکوپ نوری مشاهده شدند.

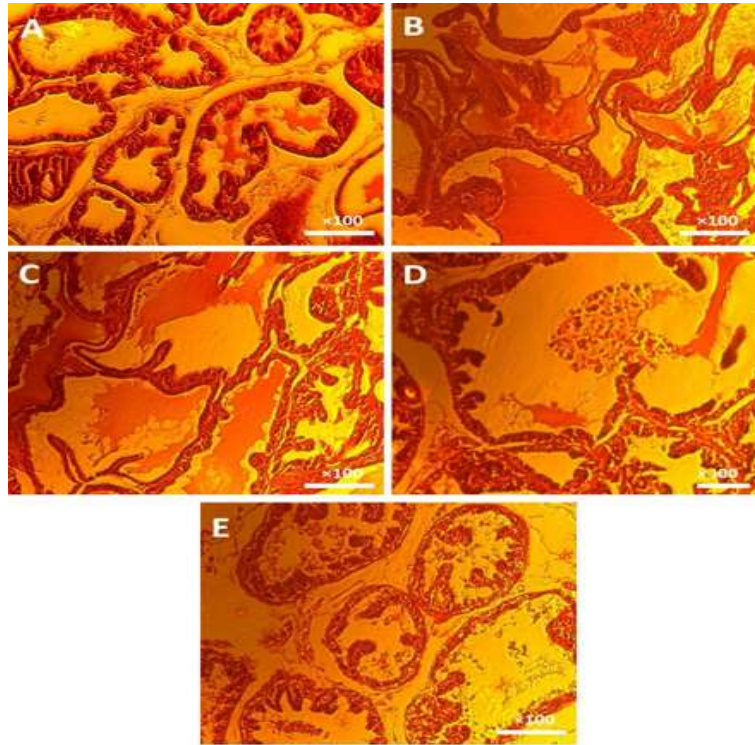
**سنجش فاکتورهای IL8 و VEGF:** موش‌ها با کتامین-زیلازین بی‌حس شدند و سپس از قلب آنها نمونه خون‌های ۵ میلی‌لیتری گرفته شد. به دنبال این نمونه‌گیری موش‌ها کشته شدند. سپس سطح سرمی-های IL8 و VEGF با استفاده از کیت‌های مخصوص موش ELISA (به ترتیب کیت شرکت R&D systemes، شماره کاتالوگ D8000C و کیت شرکت سیگما آلدریج، شماره سریال RAB0507) انجام گرفت و بر اساس دستورالعمل‌های شرکت مورد سنجش قرار گرفتند. خروجی‌های بدست آمده به صورت مطلق (پیکوگرم در میلی‌لیتر پروتئین) آمده‌اند. محتوای پروتئین با روش Lowry و با استفاده از آلبومین سرم گاو (BSA) به عنوان یک استاندارد ارزیابی شد.

## نتایج

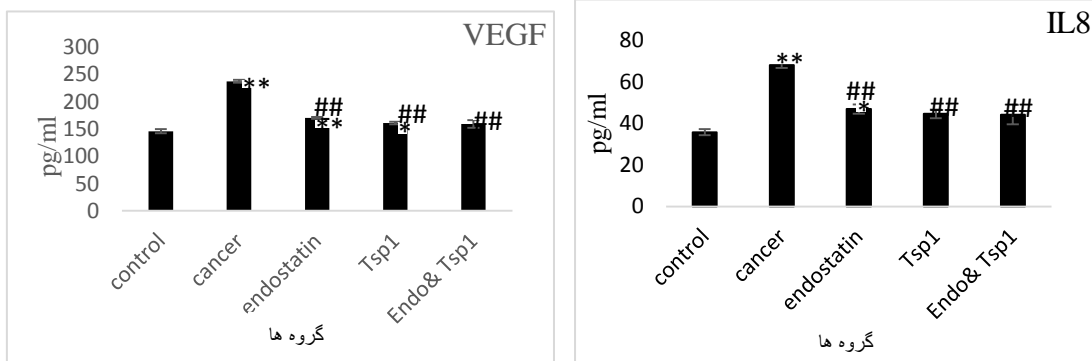
پروستات طبیعی انسان اندامی مرکب است که شامل غدد پروستات و یک استرومای غیر غده‌ای است. این بافت‌های مختلف به طور کامل به هم جوش خورده

شاهد بیشتر بود (به ترتیب  $p \leq 0/01$  و  $p \leq 0/05$ ) ولی سطح این فاکتور در گروه دریافت کننده سلول بنیادی به همراه داروی اندواستاتین نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان نداد.

به همراه داروی اندواستاتین نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان نداد. سطح فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) در گروه اندواستاتین و سلول بنیادی آندومتر حاوی ژن ضد رگ‌زایی TSP-1 نسبت به



شکل ۲- اثر اندواستاتین و سلول‌های بنیادی آندومتر بیان‌کننده ژن ضد رگ‌زایی TSP-1 روی بافت سرطانی پروستات. (A) گروه کنترل، (B) موش‌ها با سرطان پروستات، (C) موش‌های دارای سرطان پروستات داروی اندواستاتین دریافت کردند، (D) موش‌های دارای سرطان پروستات سلول بنیادی آندومتر حاوی ژن ضد رگ‌زایی TSP-1 دریافت کردند، (E) موش‌های دارای سرطان پروستات اندواستاتین به همراه سلول بنیادی آندومتر دارای TSP-1 دریافت کردند.



شکل ۳- سطح VEGF و IL8 سرم خون در همه گروه‌های جانوری. مقادیر با میانگین  $\pm$  انحراف معیار مشخص شده است (تعداد موش‌های هر گروه = ۸). (\*): اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد در سطح  $p \leq 0/05$ . (\*\*): اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد در سطح  $p \leq 0/01$ . (##): اختلاف معنی‌دار با گروه سرطان در سطح  $p \leq 0/01$ . (###): اختلاف معنی‌دار با گروه سرطان در سطح  $p \leq 0/01$ . (####): اختلاف معنی‌دار با گروه سرطان در سطح  $p \leq 0/01$ . (#####): اختلاف معنی‌دار با گروه سرطان در سطح  $p \leq 0/01$ . (TSP-1) ضد رگ‌زایی (TSP-1). Endo & TSP-1 (اندواستاتین به همراه سلول بنیادی آندومتر بیان‌کننده ژن ضد رگ‌زایی TSP-1).

## بحث

نتایج بافت‌شناسی مطالعه حاضر نشان می‌دهد که ارتفاع چین‌های دیواره آسینوسی در گروه اندوستاتین همراه با سلول‌های بنیادی آندومتر در مقایسه با گروه بیمار کاهش می‌یابد و همچنین، شکل وزیکول‌ها مشخص و جداگانه و پوشش اپیتلیال منسجم و منظم بود.

هیستوپاتولوژی پروستات و تغییرات مولکولی مرتبط با پیشرفت بیماری در آدنوکارسینوم تراریخته مدل پروستات موش به خوبی مشخص شده است و به شما این امکان را می‌دهد که اثرات درمانی جدید مداخله‌ای را به طور دقیق‌تری بررسی کنید.

تمام تومورهای سخت به القای عروق خونی جدید برای رشد نیاز دارند. با توجه به اینکه مهار رگ‌زایی یکی از فاکتورهای مهم در مهار متاستاز قلمداد می‌شود و سلول‌های بنیادی قابلیت انتقال این فاکتورها را به تومور دارند، از این رو مطالعات بسیاری در راستای بهره‌گیری از سلول‌های بنیادی مزانشیمی بعنوان ناقل ژن‌ها صورت گرفته است. شناسایی مکانیسم دقیق در لانه‌گزینی سلول‌های بنیادی مزانشیمال و همچنین حرکت هدفمند آنها به سمت تومورهای مختلف مشکل می‌باشد. آزاد سازی و ایجاد شیب کموکاینی توسط تومورها در مهاجرت سلول‌های بنیادی به سمت تومورهای مختلف، نقش پر رنگ‌تری دارند. سلول‌های بنیادی مزانشیمال تنوع وسیعی از گیرنده‌های سایتوکینی و کموکاینی را بر سطح خود بروز می‌دهند که به صورت عملکردی به لیگاندهایشان پاسخ می‌دهند. دستکاری این لیگاندها و رسپتورها موجب تغییر در الگوی مهاجرت سلول‌های بنیادی شده است (۲۸). مطالعات مختلف نشان می‌دهد که سلول‌های بنیادی مزانشیمال قادرند فاکتور VLA-4 را بیان کرده و با اتصال به VCAM-1 بر روی سلول‌های اندوتلیال، مشابه لکوسیت‌ها از عروق خارج

شوند. از طرف دیگر نشان داده شده است که بیان سلکتین P نیز برای این فرآیند ضروری می‌باشد (۲۱). سلول‌های بنیادی امکان رساندن پروتئین‌های درمانی به محیط تومورها را فراهم می‌کنند تا بدین وسیله غلظت بالایی از پروتئین‌های ضد توموری به صورت مستقیم در حجم تومور تولید شود و نشان داده شده که این پروتئین‌ها از رشد تومور در مدل‌های حیوانی جلوگیری می‌کنند. در مطالعه‌ای از سلول‌های بنیادی مزانشیمال که حامل اینترفرون B بودند در مدل موشی سرطان پروستات متاستاز ریه استفاده شد، نتایج حاصل از ایمونوهیستوشیمی بافت ریه، کاهش حجم تومور در ریه‌ها را پس از درمان با IFN- $\beta$  نشان داد. همچنین آپوپتوز سلول‌های توموری افزایش و میزان تکثیر سلول‌های تومور و تعداد رگ‌های خونی کاهش یافت. پس از درمان با IFN- $\beta$ ، افزایش قابل توجهی در فعالیت‌های سلول‌های کشته‌شده طبیعی مشاهده شد که ارتباط آن را با اثرات ضد توموری نشان می‌دهد (۴۲). با توجه به مطالب فوق و خواص منحصر به فرد سلول‌های بنیادی مانند مهاجرت به سمت سلول‌های سرطانی، ترشح عوامل بیولوژیکی، سرکوب ایمنی که گسترش تومور را هدف قرار می‌دهد و پتانسیل درمانی سرطان به وسیله ژن‌درمانی از طریق سلول‌های بنیادی مزانشیمی (۵۳)، سلول‌های بنیادی مزانشیمی آندومتر بعنوان ناقلی هدفمند جهت انتقال ژن TSP-1 پیشنهاد شده است.

در سال ۱۹۹۳، شدت آنژیوژنز مرتبط با تومور در بافت خوش‌خیم و بدخیم سرطان پروستات توسط فرگن و همکارانش و نیز فعالیت آنژیوژنیک در بافت پروستات (پروستاتکتومی) با استفاده از رنگ آمیزی فاکتور هشتم بررسی شد. نتایج نشان داد که ایجاد رگ‌های کوچک (MVC) از تومور خوش‌خیم تا مراحل پیشرفته سرطان پروستات روند افزایشی دارد

فاکتور TRAIL که القاء‌کننده آپوپتوز است با استفاده از وکتورهای ویروسی و از طریق سلول‌های بنیادی مزانشیمی در گلیوبلاستوما مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که آنزیم های کاسپاز ۳،۷ و ۸ که نشانگر آپوپتوز می باشد، القاء شدند و همچنین میزان بیان CD31 که مرتبط با سلول‌های اندوتلیومی و آنژیوژنز است، مهار گردید (۱۰). در سال ۲۰۰۸ اثرات ضد رگ‌زایی و ضد التهابی TSP-1 همراه با ادجوانت ABT-510 بررسی گردید. این مطالعه در بیماری Inflammatory Bowel Disease (IBD) که همراه با اختلالات ساختمانی عروقی و ایجاد فاکتورهای پیش آنژیوژنز و التهاب است با طراحی مدل موشی DSS انجام شد. نتایج اثرات معنی‌دار ضد رگ‌زایی و ضد التهاب را نشان داد (۳۹). همچنین گزارش شده است که TSP-1,2 بطور مستقیم و غیرمستقیم انتاگونیسم VEGF هستند. (۲۷).

نتایج ما نشان داد که سطح سرمی IL8 و VEGF در گروه اندوستاتین همراه با سلول‌های بنیادی آندومتر بیان‌کننده ی ژن ضد رگ‌زایی TSP-1، در مقایسه با گروه سرطان پروستات در موش‌ها کاهش یافته است ( $p \leq 0/01$ ). در ضایعات توموری پروستات، جمعیتی از سلول‌های شبه نورواندوکراین، یعنی سلول‌هایی که فنوتیپ‌های NE را نشان می‌دهند و نشانگرهای NE را بیان می‌کنند، افزایش می‌یابد که با پیشرفت تومور، پیش‌آگهی ضعیف و حالت مستقل از آندروژن ارتباط دارد. سلول‌های نورواندوکراین منبع تولید IL8 در سرطان پروستات هستند. اگرچه گیرنده-IL CXCR1 8 به ندرت در سلول‌های خوش خیم اپیتلیالی بیان می‌شود، بیان آن در PIN و بیشتر در تومورهای تهاجمی افزایش می‌یابد. این یک مکانیسم پاراکراین را نشان می‌دهد که به موجب آن IL-8 تولید شده توسط سلول‌های نورواندوکراین تومور می‌تواند تکثیر سلول‌های غیرتوموری نورواندوکرینی را در عدم

و نتیجه گرفتند که آنژیوژنز مرتبط با تومور در سرطان پروستات اهمیت بالینی و پاتولوژیک دارد (۱۴). در سال ۲۰۰۷، ایسایوا و همکارانش اثر اندوستاتین و آنژیواستاتین به عنوان فاکتورهای ضد رگ‌زایی را روی سرطان پروستات موش‌های TRAMP با رده سلول-های سرطانی NCAP بررسی کردند، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که درمان با اندوستاتین در رده سلولی حساس به آندروژن (NLCaP) بیان ژن‌های Adra 2b، EphA2، گیرنده FGF و Mdk، FGF، MMP2، MMP9 و ژن‌های مرتبط با VEGF، PDGF، Ptn، Pecam1 و TGF $\beta$  را کاهش می‌دهد (۱۷). در سال ۱۹۹۷ مطالعه‌ای با عنوان "اندوستاتین: یک مهار کننده درون‌زای رگ‌زایی و رشد تومور" انجام شد. طبق نتایج بافت‌شناسی تومورهایی که توسط درمان با اندوستاتین پس روی کرده بودند، مشخص شد که فضای پری‌وازکولار سلول‌های سرطانی در اطراف مویرگ‌هایی که رگ‌زایی در آنها انجام شده بود، بسته شده است. بعلاوه، اندوستاتین از تکثیر سلول‌های اندوتلیال در شرایط آزمایشگاهی جلوگیری می‌کند (۳۷).

وانگ و همکارانش در سال ۲۰۱۷ سلول‌های بنیادی مشتق از آندومتر انسانی را به عنوان ناقل فاکتور TRAIL در درمان گلیوما بکار بردند و نشان دادند این فاکتور آپوپتوز سلول‌های سرطانی را افزایش و تکثیر آنها را کاهش داده است (۴۹). در سال ۱۹۹۴ وینستیت و همکارانش، اثرات ضد رگ‌زایی فاکتور TSP-1 را بر روی رده‌های سلولی سرطان پستان (MCF-7, T47-D, MDA-MB-231, ZR-75-1) مورد بررسی قرار دادند. نتایج بدست آمده، اثرات ضد رگ‌زایی و تهاجمی را به خوبی نشان داده است (۵۰). یکی از مهمترین دومین‌های این پروتئین که اثرات ضد رگ‌زایی دارد، دومین 3TSR است. در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۴ تأثیر این دومین را همراه با



(۳). در سلول‌های اندوتلیال، TSP-1 مهاجرت را در شرایط آزمایشگاهی مهار می‌کند و باعث بروز آپوپتوز در محیط زنده و آزمایشگاهی می‌شود (۳۶). نقشی که TSP-1 در پیشرفت تومور ایفا می‌کند با سطح بیان ژن سرکوبگر تومور، p53، و انکوژن‌هایی مانند myc و ras و همچنین فعالیت TGF- $\beta$  ارتباط نزدیکی دارد (۲۵). همچنین شواهد قابل توجهی وجود دارد که p53 بیان TSP-1 را بالا می‌برد و از بین رفتن بیان نوع طبیعی p53 می‌تواند با کاهش بیان TSP-1 و افزایش سطح VEGF در گسترش یک فنوتیپ رگ‌زایی کمک کند (۲۶). عملکرد TSP-1 در پیشرفت تومور با کاهش آنژیوژنز همراه است، که ممکن است توسط p53 تنظیم شده باشد، ژنی که تقریباً در ۵۰ درصد از سرطان‌ها جهش یافته است. نوع وحشی p53 یکی از چندین ژن سرکوبگر تومور انسانی است که می‌تواند با تعدیل بیان TSP-1 باعث تغییر سلول‌های تومور از یک شکل آنژیوژنیک به یک فنوتیپ آنژیواستاتیک شود. علاوه بر این سیگنال‌های هایپوکسیک و آنکوژنیک ممکن است در محیط تومور تعامل داشته باشند تا TSP-1 را مهار و بیان VEGF را القا کنند و در نتیجه سوئیچ را به یک فنوتیپ رگ‌زایی تقویت کنند (۲۳). فاکتور رشد انتقالی بتا ۱ (TGF- $\beta$ 1) یک سیتوکین چند منظوره است که به عنوان یک تنظیم کننده درون زای آنژیوژنز و یک عامل ضد آنکوژنیک عمل می‌کند (۳۲). TGF- $\beta$ 1 فعال می‌تواند مونوسیت‌ها و ماکروفاژها را برای ترشح سایتوکاین‌های طرفدار رگ‌زایی تحریک کند. گزارش شده است که TSP-1 به عنوان یک فعال کننده TGF- $\beta$  عمل می‌کند (۳۴). اسیدهای آمینه‌ی TSR که TGF- $\beta$  را فعال می‌کنند شناسایی شده‌اند. همچنین به نظر می‌رسد که برخی از این اسیدهای آمینه در خواص ضد رگ‌زایی TSP-1 دخیل هستند. مطالعات متعددی گزارش کرده‌اند که فعالیت ضد آنژیوژنیک

وجود آن‌دروژن پیش ببرند. سلول‌های NE تولیدکنندگان اصلی فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) در رده‌ی سلولی PC37 هستند و میزان تمایز NE با سلول‌های جدید عروقی ارتباط دارد. تهاجم سلولی با واسطه VEGF با بیان ماتریکس پروتئینازهای نوع غشایی، ماتریکس پروتئینازهای ۲ و ۹، (MMP-2 و MMP-9) و فعال کننده پلاسمینوژن اوروکیناز که تخریب غشای پایه و ماتریکس خارج سلولی را امکان‌پذیر می‌کند، گسترش یافته و به سلول‌های اندوتلیال اجازه مهاجرت و تشکیل جوانه‌های مویرگی را می‌دهند (۴۷). نفوذپذیری عروق برای هموستاز بافت طبیعی بسیار مهم است و یک پیش‌نیاز برای رگ‌زایی ناشی از VEGF در نظر گرفته می‌شود. VEGF با مکانیسم‌های مختلفی از جمله بازسازی اتصالی، القاء فنسترا و اندامک‌های عروقی-وزیکولی (VVOs) باعث نفوذپذیری عروق می‌شود. در شرایط پاتولوژیک مانند سرطان، اختلال در تنظیم این مکانیسم‌ها منجر به نفوذپذیری عروقی می‌شود که به نوبه خود می‌تواند اثرات مستقیمی بر ریز محیط تومور از جمله افزایش فشار بینابینی و اختلال در تحویل درمانی داشته باشد (۶). علاوه بر این، عروق نشتی ممکن است فرار سلول‌های تومور به جریان خون را تسهیل کنند که استقرار متاستازهای دور دست را فراهم می‌کند (۵۱). ترشحات پروستات حاوی کموکین‌هایی نظیر IL8 (۳۱) می‌باشند که یک فعال کننده قوی برای جذب نوتروفیل بوده و با آسیب به اپیتلیوم پروستات و بدنبال آن نشت ترشحات پروستات می‌تواند یک عامل التهابی قدرتمند باشد (۴۴). TSP-1، اولین مهارکننده آنژیوژنیک طبیعی که کشف شده، یک پروتئین ماتریکس خارج سلولی چند منظوره است (۳). نشان داده شده است که TSP-1 نقش مهمی در مهار آنژیوژنز بازی می‌کند و در نتیجه در مهار رشد تومور و متاستاز تجربی استفاده می‌شود

با VEGF-R2 (KDR/FLK1) منجر به کاهش تحرک، تکثیر و بقا سلول می‌شود (۲۲). علاوه بر این، اندوستاتین با ماتریس متالوپروتیناز ۲ (MMP-2) یک ترکیب پایدار تشکیل می‌دهد و با پوشاندن دومین کاتالیتیک MMP-2، دامنه فعالیت آن را مهار می‌کند (۲۹). مکانیسم دیگری که با واسطه اندوستاتین صورت می‌گیرد، مهار رگ‌زایی از طریق باز داشت سلول‌های اندوتلیال در چرخه سلولی است. اندوستاتین مانع پیشرفت چرخه سلولی در مرحله انتقال G1 به S، می‌شود. این کار با تنظیم منفی فعالیت رونویسی پروموتور سیکلین-D1 از طریق بخش فاکتور متصل شونده به تقویت‌کننده لئوئید صورت می‌گیرد (۱۶).

اندوستاتین با مهار سیگنال ضد آپوپتوتیک ناشی از مسیر فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز (PI3-کیناز) یا پروتئین کیناز B (PKB) و القاء فسفوریلاسیون PKB، تعادل بین بقا و مرگ را مختل می‌کند (۲۰). همچنین اندوستاتین مسیرهای پیش آپپتوزی را از طریق القای فعال‌سازی کاسپاز-۹ با کاهش سطح پروتئین‌های ضد آپپتوز Bcl-2، Bcl-X1 و Bad فعال می‌کند (۱۲).

نتایج این محققان با مطالعه ما مطابقت داشت، اما نوع درمان مشابه نبود. به هر حال مطالعات نشان می‌دهد که اگرچه درمان اندوستاتین در مراحل اولیه بیماری بسیار مفید است، اما برای اثرات ضد توموری در سرطان پروستات در مراحل آخر ممکن است نیاز به ترکیب اندوستاتین با سایر روش‌های درمانی باشد (۱۸).

مطالعه ما نشان داد که کاربرد توأم اندوستاتین و سلول بنیادی آندومتر بیان‌کننده ژن ضد رگ‌زایی TSP-1 در بهبود رگ‌زایی و کاهش فاکتورهای التهابی سرطان پروستات مؤثر است. در حال حاضر، نیاز به تحقیقات بیشتری برای شناسایی روش‌های جدید پیشگیری و درمان سرطان است. چراکه روش‌های درمانی برای

TSP-1 توسط پروتئین غشایی CD36 واسطه می‌شود. بنابراین، عملکرد TSR برای اتصال هر دو TGF- $\beta$ 1 و CD36 طراحی شده است (۵۲). تزریق سیستمیک TSR نو ترکیب از طریق مهار آنژیوژنز و فعال سازی TGF- $\beta$ 1 از رشد تومورهای تجربی B16F10 جلوگیری می‌کند. بنابراین، TSP-1 واقع در محیط تومور با فعال کردن TGF- $\beta$ 1 در سلول‌های تومور واکنشی ممکن است به عنوان سرکوبگر رشد سلول‌های تومور عمل کند (۲۴). TGF- $\beta$ 1 به صورت غیر فعال ترشح می‌شود و برای عملکرد در تنظیم رشد تومور باید به شکل بیولوژیکی فعال درآید. این حالت هم در شرایط آزمایشگاهی و هم در محیط زنده بسیار مهم است (۱۱).

TGF- $\beta$ 1 عملکرد پیچیده و دوگانه ای دارد. پیچیدگی و دوگانگی عملکرد TGF- $\beta$  با توانایی آن در سرکوب تکثیر سلول‌های توموری در مراحل اولیه بیماری و پیشرفت و تهاجم تومور و متاستاز با تأثیر بر استرومای میزبان در مراحل بعدی نشان داده شده است (۴۶). بخشی از فعالیت‌های مهاری اندوستاتین از طریق گیرنده VEGF-R و بخش دیگری از فعالیت آن مربوط به ارتباطات با اینتگرین‌های سطح سلول است (۲۲). در مطالعه قوامی‌پور و همکاران در سال ۲۰۰۴ بخش عظیمی از ارتباطات اندوستاتین با بیان بسیاری از ژن‌ها در سلول مشخص شد که به نظر می‌رسد عامل اصلی اثر گذاری اندوستاتین از طریق اینتگرین-ها باشد (۱۵). در سال ۲۰۰۳ عبداللهی و همکارانش، اثر همزمان اندوستاتین و یک مهارکننده مسیر VEGF-R را بررسی کردند. طی این مطالعه آنها به این نتیجه رسیدند که اثر همزمان اندوستاتین به عنوان یک مهارکننده مستقیم و SU5416 به عنوان یک مهارکننده غیرمستقیم می‌تواند تکثیر، مهاجرت و در کل رگ‌زایی را بهتر مهار کند (۱). همچنین نشان داده شده است که اندوستاتین در تعامل

*Journal of Cellular Physiology*, 233(11): 8441-8449. [in Persian]

3. Armstrong L.C., Bornstein P. 2003. Thrombospondins 1 and 2 function as inhibitors of angiogenesis. *Matrix Biology*, 22: 63-71.

4. Ashida S., Nakagawa H., Katagiri T., Furihata M., Iizumi M., Anazawa Y., Tsunoda T., Takata R., Kasahara K., Miki T., Fujioka T., Shuin T., Nakamura Y. 2004. Molecular features of the transition from prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) to prostate cancer: genome-wide gene-expression profiles of prostate cancers and PINs. *Cancer Research*, 64(17): 5963-5972.

5. Attard G., Swennenhuis J.F., Olmos D., Reid A.H., Vickers E., A'Hern R., Levink R., Coumans F., Moreira J., Riisnaes R., Oommen N.B., Hawche G., Jameson C., Thompson E., Sipkema R., Carden C.P., Parker C., Dearnaley D., Kaye S.B., Cooper C.S., Molina A., Cox M.E., Terstappen L.W.M.M., Bono J.S.D. 2009. Characterization of ERG, AR and PTEN gene status in circulating tumor cells from patients with castration-resistant prostate cancer. *Cancer Research*, 69(7): 2912-2918.

6. Azzi S., Hebda J.K., Gavard J. 2013. Vascular permeability and drug delivery in cancers. *Frontiers in Oncology*, 3: 211.

7. Bagheri Mohammadi S., Alani B., Karimian M., MoradianTehrani R., Nouredini M. 2019. Intranasal administration of endometrial mesenchymal stem cells as a suitable approach for Parkinson's disease therapy. *Molecular Biology Reports*, 46(4): 4293-4302. [in Persian]

8. Baharara J., Ramezani T., 2014. A review on Angiogenesis in Tumor. *Journal of Cell and Tissue*, 5(1): 89-100. [in Persian]

9. Bauer E.M., Qin Y., Miller T.W., Bandle R.W., Csanyi G., Pagano P.J., Bauer P.M., Jurgen Schnermann J., Roberts

بهبود یا جلوگیری از سرطان پیشرفته پروستات موثر نیستند و عوارض جانبی دارند. مطالعه حاضر تعیین کرد که اندوستاتین و سلولهای بنیادی آندومتر باعث بهبود تغییرات بافت‌شناختی نسبت به گروه سرطانی می‌شوند، ترشح IL8 و VEGF را از سلول‌های توموری مهار می‌کند و در نتیجه پتانسیل متاستاز را کاهش می‌دهد.

### نتیجه‌گیری

در حال حاضر، به تحقیقات بیشتری برای شناسایی روش‌های جدید پیشگیری و درمان سرطان نیاز است. چراکه روش‌های درمانی شیمیایی برای بهبود یا جلوگیری از سرطان پیشرفته پروستات موثر نیستند و عوارض جانبی دارند. بنابراین در این مطالعه، ما اثر داروی اندوستاتین و سلول‌های بنیادی آندومتر حاوی ژن ضد آنژیوژنز را در درمان سرطان پروستات در یک مدل موش نر با یکدیگر مقایسه کردیم. مطالعه حاضر تعیین کرد که اندوستاتین و سلول‌های بنیادی آندومتر باعث بهبود تغییرات بافت‌شناختی نسبت به گروه سرطانی می‌شوند، ترشح IL8 و VEGF از سلول‌های توموری را مهار می‌کند و در نتیجه پتانسیل متاستاز را کاهش می‌دهد.

### منابع

1. Abdollahi A., Lipson K.E., Sckell A., Zieher H., Klenke F., Poerschke D., Roth A., Han X., Krix M., Bischof M., Hahnfeldt P., Grone H.J., Debus J., Hlatky L., Huber P.E. 2003. Combined therapy with direct and indirect angiogenesis inhibition results in enhanced antiangiogenic and antitumor effects. *Cancer Research*, 63(24): 8890-8898. [in Persian]

2. Amini Mahabadi J., Sabzalipour H., Bafrani H.H., Gheibi Hayat S.M., Nikzad H. 2018. Application of induced pluripotent stem cell and embryonic stem cell technology to the study of male infertility.

17. Isayeva T., Chanda D., Kallman L., Eltoum I.E.A., Ponnazhagan S. 2007. Effects of sustained antiangiogenic therapy in multistage prostate cancer in TRAMP model. *Cancer Research*, 67(12): 5789-5797.
18. Isayeva T., Moore L.D., Chanda D., Chen D., Ponnazhagan S. 2009. Tumoristatic effects of endostatin in prostate cancer is dependent on androgen receptor status. *The Prostate*, 69 (10): 1055-1066.
19. Jiang J., Chen W., Zhuang R., Song T., Li P. 2010. The effect of endostatin mediated by human mesenchymal stem cells on ovarian cancer cells in vitro. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 136(6): 873-881.
20. Kang H.Y., Shim D., Kang S.S., Chang S.I., Kim H.Y. 2006. Protein kinase B inhibits endostatin-induced apoptosis in HUVECs. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 39: 97-104.
21. KapKo I., Thomas J.K., James E.D. 2009. Targeting mesenchymal stem cells to activated endothelial cells. *Biomaterials*, 30(22): 3702-3710.
22. Kim Y.M., Hwang S., Pyun B.J., Kim T.Y., Lee S.T., Gho Y.S., Kwon Y.G. 2002. Endostatin blocks vascular endothelial growth factor-mediated signaling via direct interaction with KDR/Flk-1. *Journal of Biology and Chemistry*, 277: 27872-27879.
23. Laderoute K.R., Alarcon R.M., Brody M.D., Calaoagan J.M., Chen E.Y., Knapp A.M., Yun Z., Denko N.C., Giaccia A.J. 2000. Opposing effects of hypoxia on expression of the angiogenic inhibitor thrombospondin 1 and the angiogenic inducer vascular endothelial growth factor. *Clinical Cancer Research*, 6: 2941-2950.
24. Lawler J. 2002. Thrombospondin-1 as an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Journal of Cell and Molecular Medicine*, 6: 1-12.
- D.D., Isenberg J. 2010. Thrombospondin-1 supports blood pressure by limiting eNOS activation and endothelial-dependent vasorelaxation. *Cardiovascular Research*, 88(3): 471-481.
10. Choi S.A., Hwang S.K., Wang K.C., Cho B.K., Phi J.H., Lee J.Y., Jung H.W., Lee D.H., Kim S.K. 2011. Therapeutic efficacy and safety of TRAIL-producing human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells against experimental brain stem glioma. *Neuro-Oncology*, 13: 61-69.
11. Crawford S.E., Stellmach V., Murphy-Ullrich J.E., Ribeiro S.M., Lawler J., Hynes R.O., Boivin G.P., Bouck N. 1998. Thrombospondin-1 is a major activator of TGF-beta1 in vivo. *Cell*, 93: 1159-1170.
12. Dhanabal M., Ramchandran R., Waterman M.J., Lu H., Knebelmann B., Segal M., Sukhatme V.P. 1999. Endostatin induces endothelial cell apoptosis. *Journal of Biology and Chemistry*, 274: 11721-11726.
13. Fam P.N., Verma S., Kutryk M., Stewart J.D. 2003. *Clinician Guide to Angiogenesis. Circulation*, 108(21): 2613-2618.
14. Fregene T.A., Khanuja P.S., Noto A.C., Gehani S.K., Van Egmont E.M., Luz D.A., Pienta K.J. 1993. Tumor-associated angiogenesis in prostate cancer. *Anticancer Research*, 13(6B): 2377-2381.
15. Ghavamipour F., Shahangian S.S., Sajedi R., Shahriar Arab S., Mansouri K., Reza Aghamaali M. 2014. Development of a highly-potent anti-angiogenic VEGF8-109 heterodimers by directed blocking of its VEGFR-2 binding site. *FEBS Journal*, 281(19): 4479-4494. [in Persian]
16. Hanai J., Dhanabal M., Karumanchi S.A., Albanese C., Waterman M., Chan B., Ramchandran R., Pestell R., Sukhatme V.P. 2002. Endostatin causes G1 arrest of endothelial cells through inhibition of cyclin D1. *Journal of Biology and Chemistry*, 277: 16464-16469.

- thrombospondin-1: mechanisms and physiology. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 11: 59-69.
35. Nor J.E., Mitra R.S., Sutorik M.M., Mooney D.J., Castle V.P., Polverini P.J. 2000. Thrombospondin-1 induces endothelial cell apoptosis and inhibits angiogenesis by activating the caspase death pathway. *Journal of Vascular Research*, 37: 209-218.
36. Odoriso T., Cianfarani C., Failla C., Zambruno G. 2006. The placenta growth factor in skin angiogenesis. *Journal of Dermatological Science*, 41(3):11-19.
37. O'Reilly M.S., Boehm T., Shing Y., Fukai N., Vasios G., Lane W.S., E., Birkhead J.R., Olsen B.R., Folkman J. 1997. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell*, 88(2): 277-285.
38. Pili R., Häggman M., Stadler W.M., Gingrich J.R., Assikis V.J., Björk A., Nordle O., Goran Forsberg G., Carducci M.A., Armstrong A.J. 2011. Phase II randomized, double-blind, placebo-controlled study of tasquinimod in men with minimally symptomatic metastatic castrate-resistant prostate cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 29(30): 4022-40288.
39. Punekar S., Zak S., Kalter V.G., Dobransky L., Punekar I., Lawler J.W., Gutierrez L.S. 2008. Thrombospondin 1 and Its Mimetic Peptide ABT-510 Decrease Angiogenesis and Inflammation in a Murine Model of Inflammatory Bowel Disease. *Pathobiology*, 75:9-21. [in Persian]
40. Rebecca Siegel L., Miller K.D., Jemal A. 2018. *Cancer Statistics, CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68: 7-30.
41. Reiher F.K., Ivanovich M., Huang H., Smith N.D., Bouck N.P., Campbell S.C. 2001. The role of hypoxia and p53 in the regulation of angiogenesis in bladder cancer. *Journal of Urology*, 165: 2075-2081.
25. Lawler J., Detmar M. 2004. Tumor progression: the effects of thrombospondin-1 and -2. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 36: 1038-1045.
26. Lawler J., Miao W.M., Duquette M., Bouck N., Bronson R.T., Hynes R.O. 2001. Thrombospondin-1 gene expression affects survival and tumor spectrum of p53-deficient mice. *American Journal of Pathology*, 159: 1949-1956.
27. Lawler P.R., Lawler J. 2012. Molecular basis for the regulation of angiogenesis by thrombospondin-1 and 2. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(5): a006627.
28. Lazennec G., Lam P.Y. 2016. Recent discoveries concerning the tumour-mesenchymal stem cell interactions. *Biochemistry and Biophysics Acta*, 1866: 290-299.
29. Lee S.J., Jang J.W., Kim Y.M., Lee H.I., Jeon J.Y., Kwon Y.G., Lee S.T. 2002. Endostatin binds to the catalytic domain of matrix metalloproteinase-2. *FEBS Letters*, 519: 147-152.
30. Leissner K.H., Tisell LE. 1997. The weight of the human prostate. *Scand. Journal of Urology and Nephrology*, 13(2): 137-142.
31. Li S.P., Meng S.Y., Li R. 2006. Clinical evaluation of four cytokines in serum and prostatic fluid in chronic abacterial prostatitis. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 12(1): 25-27.
32. Markowitz S.D., Roberts A.B. 1996. Tumor suppressor activity of the TGFbeta pathway in human cancers. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 7: 93-102.
33. Miyata Y., Sakai H. 2013. Thrombospondin-1 in urological cancer: pathological role, clinical significance, and therapeutic prospects. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(6):12249-72.
34. Murphy-Ullrich J.E., Poczatek M. 2000. Activation of latent TGF-beta by

48. Wang X., Fang G., Pang Y. 2018. Chinese medicines in the treatment of prostate cancer: From formulas to extracts and compounds. *Nutrients*, 10(3): 283.
49. Wang X.J., Xiang B.Y., Ding Y.H., Chen L., Zou H., Mou X.Z., Xiang C. 2017. Human menstrual blood derived mesenchymal stem cells as a cellular vehicle form alignant glioma gene therapy. *Oncotarget*, 8: 58309-58321.
50. Weinstat-Saslow D.L., Zabrenetzky V.S., VanHoutte K., Frazier W.A., Roberts D.D., Steeg P.S. 1994. Transfection of thrombospondin 1 complementary DNA into a human breast carcinoma cell line reduces primary tumor growth, metastatic potential and angiogenesis. *Cancer Research*, 54: 6504-6511.
51. Weis S., Cui J., Barnes L., Cheres D. 2004. Endothelial barrier disruption by VEGF-mediated Src activity potentiates tumor cell extravasation and metastasis. *Journal of Cell Biology*, 167(2): 223-229.
52. Young G.D., Murphy-Ullrich J.E. 2004. Molecular interactions that confer latency to transforming growth factor-beta. *Journal of Biology and Chemistry*, 279: 38032-38039.
53. Young G.D., Murphy-Ullrich J.E. 2004. The tryptophan-rich motifs of the thrombospondin type 1 repeats bind VLAL motifs in the latent transforming growth factor-beta complex. *Journal of Biology and Chemistry*, 27: 47633-47642.
42. Ren C., Kumar S., Chanda D., Chen J., Mountz J.D., Ponnazhagan S. 2008. Therapeutic potential of mesenchymal stem cells producing interferon-alpha in a mouse melanoma lung metastasis model. *Stem Cells*, 26: 2332-2338.
43. Sato N., Gleave M.E., Bruchovsky N., Rennie P.S., Beraldi E., Sullivan L.D. 1997. A metastatic and androgen-sensitive human prostate cancer model using intraprostatic inoculation of LNCaP cells in SCID mice. *Cancer Research*, 57(8):1584-1589.
44. Sfanos K.S., Isaacs W.B., De Marzo A.M. 2013. Infections and inflammation in prostate cancer. *American Journal of Clinical and Experimental Urology*, 1(1): 3- 11.
45. Taylor R.A., Toivanen R., Risbridger G.P., 2010. Stem cells in prostate cancer: treating the root of the problem. *Endocrine-Related Cancer*, 17(4): 273-285.
46. Tian F., Byfield S.D., Parks W.T., Stuelten C.H., Nemani D., Zhang Y.E., Roberts A.E. 2004. Smad-binding defective mutant of transforming growth factor beta type I receptor enhances tumorigenesis but suppresses metastasis of breast cancer cell lines. *Cancer Research*, 64: 4523-4530.
47. Van Hinsbergh V.W., Koolwijk P. 2008. Endothelial sprouting and angiogenesis: matrix metalloproteinases in the lead. *Cardiovascular Research*, 78(2): 203-212