مقاله پژوهشی

تأثیر هورمون پروژسترون بر میزان پروتئین p53 در رده سلولی T47D سرطان پستان

رباب شیخ‌پور*[1]، جواد محیطی اردکانی[2]

تاریخ دریافت ۱۳۹۳/۰۶/۲۰ تاریخ پذیرش ۱۳۹۳/۰۸/۳۰

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: سرطان پستان شایع‌ترین بیماری بدخیم در زنان است. حدود ۵۰ درصد از سرطان‌های پستان وابسته به هورمون‌های جنسی هستند و اثرات این هورمون‌ها به‌واسطه اتصال به گیرنده اختصاصی‌شان می‌باشد. همچنین پروتئین p53 در نیمی از سرطان‌ها ازجمله سرطان پستان دچار جهش می‌شود و افزایش سطح آن ویژگی مشترک بسیاری از سرطان‌های بدخیم است، با توجه به این‌که رده سلولی T47D دارای رسپتور استروژن، پروژسترون است و پروتئین p53 به‌عنوان محصول مهم‌ترین ژن مهارکننده تومور است، این مقاله به تأثیر هورمون پروژسترون بر میزان پروتئین p53 در رده سلولی T47D می‌پردازد.

مواد و روش کار: رده سلولی T47Dسرطان پستان دریک فلاسک $25cm^2$ در محیط DMEM وFBS کشت داده شد. سپس سلول‌ها تحت تیمار با غلظت‌های مختلف هورمون پروژسترون (۱، ۱۰ و ۲۰ نانو مول) قرار گرفتند. میزان پروتئین p53 با روش وسترن بلات موردبررسی قرار گرفت. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Gene tool انجام گرفت.

نتایج: سلول‌هایی که تحت تیمار با غلظت ۱ نانومول از هورمون پروژسترون قرار داشتند تغییری در میزان پروتئین p53 نسبت به گروه کنترل نشان ندادند ($P>0.05$) ولی سلول‌هایی که تحت تیمار با غلظت ۱۰ و ۲۰ نانومول بودند میزان پروتئین کمتری نسبت به گروه کنترل نشان دادند ($P<0.01$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش غلظت هورمون پروژسترون سبب کاهش میزان پروتئین p53 در رده سلولی T47D می‌شود. بنابراین به نظر می‌رسد هورمون پروژسترون با کاهش میزان پروتئین p53، سبب کاهش تجمع پروتئین p53 در رده سلولی T47D شود.

کلمات کلیدی: هورمون پروژسترون، رده سلولی T47D، سرطان پستان، پروتئین p53

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و پنجم، شماره دهم، ص ۹۶۰-۹۵٤، دی ۱۳۹۳

آدرس مکاتبه: یزد. خیابان دکتر چمران. خیابان رهبر –کوچه ۱۷ رهبر – پلاک ۹۱، تلفن: ۰۹۱۳۱۵۲۲۴۶۲

Email: R.Sheikhpour@yahoo.com

مقدمه

سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در میان زنان است (۱-۳). سالانه حدود یک‌میلیون مورد جدید از این بیماری تشخیص داده می‌شود. علی‌رغم پیشرفت‌های چشمگیر در درمان، حدود ۲۵ درصد بیماران مبتلا به سرطان پستان سالانه جان خود را به علت این بیماری از دست می‌دهند (۴)، درحالی‌که به نظر نمی‌رسد سرطان‌های غیرحساس به هورمون رسپتورهای عملکردی در پاسخ به هورمون‌ها داشته باشند، ولی سرطان‌های وابسته به هورمون مانند سرطان پستان دارای گیرنده‌های استروژن و پروژسترون هستند (۵) و اثرات این هورمون‌ها به‌واسطه اتصال به گیرنده‌های اختصاصی‌شان می‌باشد. تیمار سلول‌های سرطانی با هورمون استروژن و پروژسترون و یا داروهای ضد هورمونی ممکن است سبب یک تأخیر یا پیشرفت در رشد سلول‌های سرطانی می‌شود (۶، ۷). همچنین از پروژسترون در پیش‌گیری از بارداری و هورمون تراپی در زنان یائسه نیز استفاده می‌شود. از طرف دیگر ژن p53 یکی از مهم‌ترین ژن‌های مهارکننده تومور است که در نیمی از سرطان‌ها دچار جهش می‌شود (۹،۸). ژن p53 یک فسفو پروتئین هسته‌ای ۵۳ کیلو دالتونی ۳۹۳ آمینواسیدی را کد می‌کند که عملکرد طبیعی آن محافظت از ژنوم در مقابل صدمات وارده است. این فرایند منجر به ترمیم ژنوم می‌گردد و در صورت عدم ترمیم، آنکوپروتئین p53 با القا مرگ سلولی منجر به آپوپتوزیز سلول می‌شود و از این طریق سلول‌های کارسینوژنیک را حذف می‌نماید (۱۰-۱۲).

[1] گروه پرستاری، دانشکده پزشکی، واحد یزد، دانشگاه آزاد اسلامی، یزد، ایران (نویسنده مسئول)

[2] دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-07-18]

نیمه‌عمر پروتئین p53 کوتاه است، در هسته سلول، پروتئین MDM2 به پروتئین p53 متصل می‌شود و کمپلکس MDM2-p53 پس از صدور به سیتوپلاسم توسط پروتئوزوم تجزیه می‌گردد (۱۳، ۱۴) ولی پروتئین MDM2 قادر نیست به پروتئین موتانت یافته متصل شود، در نتیجه نیمه‌عمر آن در سلول بالا می‌رود. همچنین در پاسخ به استرس‌های آنکوژن، ARF با اتصال به ناحیه Ring Finger پروتئین MDM2، مانع اتصال آن به پروتئین P53 می‌گردد، در نتیجه این فرایند، غلظت پروتئین P53 در هسته سلول زیاد می‌شود و درون سلول تجمع پیدا می‌کند (۱۵-۱۷). نتایج محققان در مورد تأثیر پروژسترون بر میزان پروتئین p53 متفاوت است. Cliff و همکاران در سال ۲۰۰۵ طی مطالعه‌ای نشان دادند که هورمون پروژسترون سبب کاهش میزان پروتئین p53 می‌شود (۱۸)، درحالی‌که Lu در سال ۲۰۰۸ نشان داد که هورمون پروژسترون سبب افزایش میزان پروتئین p53 می‌شود (۱۸). Alkhalaf و همکاران تأثیر پروژسترون بر بیان ژن p53 را با روش Real-Time-PCR موردبررسی قرار دادند و در پایان گزارش کردند که پروژسترون سبب افزایش بیان ژن p53 می‌شود (۱۹). Carol طی مطالعه‌ای گزارش کرد رده سلولی T47D به دلیل دارا بودن سطح بالایی از گیرنده‌های پروژسترون می‌تواند به‌عنوان مدل خوبی برای مطالعه عمل پروژسترون باشد (۲۰). بنابراین با توجه به این‌که رده سلولی T47D، دارای رسپتور پروژسترون و پروتئین موتانت یافته p53 است (۲۱) و این پروتئین به‌عنوان محصول مهم‌ترین ژن مهارکننده تومور، میانجی مهم برای اثرات ضد تکثیری و آپوپتوزیزی بسیاری از داروها و درمان‌ها است (۱) و مطالعات کمی در مورد تأثیر پروژسترون بر میزان پروتئین p53 وجود دارد، هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف هورمون پروژسترون بر میزان پروتئین p53 در رده سلولی T47D می‌باشد.

مواد و روش کار

کشت سلول:

رده سلولی T47D از بانک سلولی انستیتو پاستور تهران خریداری شد و در یک فلاسک $25cm^2$ در محیط 15 درصد DMEM و FBS، جنتامایسین، انکوباتور مرطوب حاوی ۵ درصد دی‌اکسید کربن و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شد و محیط حاوی سلول یک روز در میان تعویض گردید. وقتی سلول‌ها ۸۰ درصد از کف فلاسک را پر کردند، پاساژ صورت می‌گیرد و سلول‌ها با Phosphate Buffer Saline(PBS) شسته می‌شوند و از کف فلاسک در حضور ۵ / ۱ میلی‌لیتر Trypsin –EDTA (1x, PAA) کنده می‌شوند. بعد عمل سانتریفیوژدر دور ۱۵۰۰ برای مدت‌زمان ۸ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام می‌گیرد و سلول‌ها بین فلاسک های جدید توزیع می‌شوند.

تیمار رده سلولی با لیگاند:

در این مرحله، تعداد سلول‌ها با لام نئوبار شمارش شد و ۵ پلیت که هرکدام دارای well ۶ بود انتخاب شد و تعداد ۳۰۰ هزار سلول به هرکدام از well ها انتقال داده شد. بعد از ۴۸ ساعت، سلول‌ها تحت تیمار با غلظت‌های مختلف پروژسترون (P1: ۱ نانومول، P2: ۱۰ نانومول، P3: ۲۰ نانومول)برای مدت‌زمان ۷۲ ساعت قرار گرفتند. لیگاندها در محلول ۱/ ۰ درصد اتانول تهیه شدند. همچنین پلیت‌های حاوی رده سلولی بدون هورمون به‌عنوان کنترل در نظر گرفته شدند و فقط محلول اتانولی دریافت نمودند. حذف هورمون‌های استروئیدی از سرم با سوسپانسیون چارکول (۵ درصد چارکول، ۰/۵ درصد دکستران T70) انجام شد. بعد از اضافه کردن سرم به این سوسپانسیون، آن برای مدت‌زمان چند ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شود و بعد ۲۰ دقیقه در دور g ۱۵۰۰ سانتریفیوژ می‌شود. سپس سرم با فیلتر ۲ /۰ میکرون فیلتر و در دمای ۲۰ – درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شود (۴).

لیز کردن سلول:

سلول‌ها بعد از کنده شدن از کف پلیت برای لیز شدن تحت تأثیر بافر لیزکننده (شرکت سیگما) با مهارکننده پروتئاز و فسفاتاز NaF, Cocktail inhibitor برای مدت‌زمان ۴۰ دقیقه بر روی یخ قرار گرفتند. همچنین برای وارد شدن شوک به سلول‌ها و لیز شدن کامل، سلول‌ها سه دفعه و هر بار ۲۰ ثانیه در ظرف نیتروژن مایع قرار داده شدند و بعد ۲۰ ثانیه بر روی ظرف یخ قرار داده شدند. سپس سلول‌های لیز شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۲۰ دقیقه در دور ۱۵۰۰g سانتریفیوژ می‌شوند و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده می‌شوند. سنجش کمی محتوای پروتئینی لیزات سلولی با روش برادفورد انجام شد (۲۲).

الکتروفورز و وسترن بلات:

لیزات سلولی در حضور Sample بافر و محلول ۷۰ میلی مولار مرکاپتواتانول در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت‌زمان ۵ دقیقه جوشانده شدند. سپس ۶۰ میکروگرم پروتئین به داخل چاهک‌های ژل ۱۰ درصد پلی اکریل آمید بارگذاری شدند سپس پروتئین‌های جداشده از ژل بر روی کاغذ نیتروسلولز منتقل شدند. برای این عمل از شدت‌جریان ۱۲۰ میلی‌آمپر به مدت‌زمان ۱۷ ساعت انجام شد. پس از انجام فرایند انتقال، کاغذ نیتروسلولز، به مدت یک ساعت در محلول بلوکینگ بافر (TBS-Tween حاوی 5 درصد پودر Skim milk) قرار گرفت. در مرحله بعد عمل شستشو انجام می‌شود و سپس با آنتی‌بادی P53- (Santa Cruz, C.A)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-07-18]

mouse monoclonal antibody رقیق‌شده با همان محلول قبلی با رقت ۱:۵۰۰ به مدت‌زمان یک شبانه‌روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس آنتی‌بادی ثانویه کنژوگه شده HRP(Goat anti-mouse IgG Santa cruz) با رقت ۱:۱۰۰۰ برای مدت‌زمان ۳ ساعت در دمای محیط قرار گرفت و درنهایت با روش کمی لومینسانس وبا ECL-kit Advance Western blotting detection kit, Amersham, Sweden مراحل تشخیص پروتئین p53 انجام گرفت. و پس از قرار دادن کاغذ در محفظه تاریک دستگاه Gel documentation و پس از گذشت ۵ دقیقه و تولید فوتون، تصویربرداری از باندهای پروتئین به فواصل زمانی ۲۰ ثانیه انجام گرفت. آزمایش‌ها به‌طور کامل چهار بار تکرار شد.

داده‌های به‌دست‌آمده توسط دستگاه ژل داک با استفاده از نرم‌افزار مخصوص خود دستگاه Gene tool موردبررسی قرار گرفت و مقایسه میزان پروتئین بین گروه‌های تیمار با گروه کنترل با استفاده از تست آماری Student t test انجام گرفت. $P<0.05$ ازنظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

در این مطالعه بعد از این‌که سلول‌ها تحت تیمار با غلظت‌های مختلف هورمون پروژسترون قرار گرفتند، برای تعیین میزان پروتئین از روش وسترن بلات استفاده شد و درنهایت با کیت ECL تشخیص پروتئین P53 موردبررسی قرار گرفت. شکل ۱ باندهای نمونه کنترل و تحت تیمار بر روی کاغذ نیتروسلولز را نشان می‌دهد.

شکل (۱): باندهای نمونه کنترل و تحت تیمار بر روی کاغذ نیتروسلولز

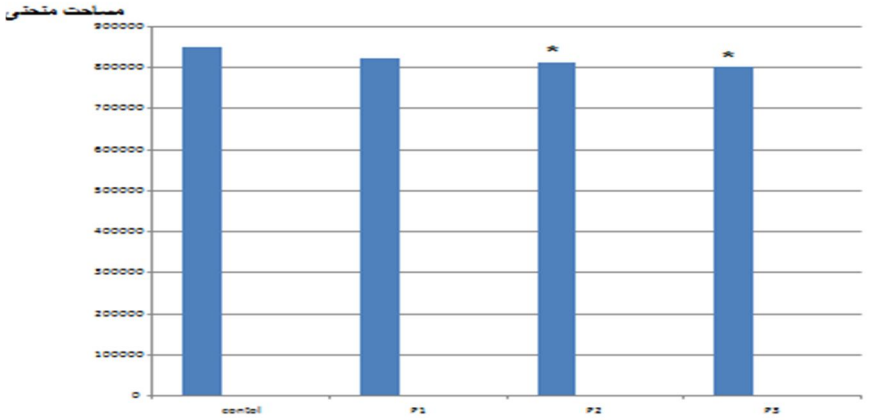
از سمت راست:C: کنترل، P1: غلظت ۱ نانومول، P2: ۱۰ نانومول، P3: ۲۰ نانومول

سپس با استفاده از نرم‌افزار Gel tool برای هرکدام از باندها یک منحنی رسم شد و سطح زیر منحنی به‌عنوان معیاری از میزان پروتئین در نظر گرفته شد. جدول ۱ مقادیر مربوط به سطح و ارتفاع منحنی باندهای کنترل و تحت تیمار با هورمون پروژسترون را نشان می‌دهد.

جدول (۱): مقادیر مربوط از سطح و ارتفاع منحنی مربوط به باندهای کنترل و تحت تیمار با هورمون پروژسترون

	Control	P1	P2	P3
Raw vol.	18747 ±110	18746. 5± 106	18640± 109	18638± 99.5
Heigh	45.02± 7.5	44.95± 8.2	44.51± 8.5	44.21± 6.8

سپس با استفاده از نرم‌افزار Gene tool مساحت منحنی برای تک‌تک باندها محاسبه شد. مساحت منحنی متناسب با میزان پروتئین p53 می‌باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که سلول‌هایی که تحت تیمار با غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ نانومول از پروژسترون بودند میزان پروتئین کمتری نسبت به گروه کنترل داشتند ($P<0.01$) ولی غلظت ۱ نانومول از پروژسترون تفاوتی در میزان پروتئین p53 نسبت به گروه کنترل نشان نداد ($P> 0.05$). نمودار ستونی ذیل میزان پروتئین p53 را در گروه کنترل و تحت تیمار مقایسه می‌کند.



$P<0.01^{*}$

شکل (۳): مقایسه میزان پروتئین p53 در گروه کنترل و تحت تیمار با هورمون پروژسترون

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-07-18]

بحث

حدود نیمی از سرطان‌های پستان دارای گیرنده‌های استروژن و پروژسترون هستند و تیمار آن‌ها با هورمون استروژن و یا پروژسترون و یا داروهای ضد هورمونی ممکن است سبب یک تأخیر یا پیشرفت در رشد سلول‌های سرطانی شود. همچنین بسیاری از اعمال پروژسترون به اثرات ضد استروژنی آن‌ها نسبت داده می‌شود. پروژسترون بیان گیرنده استروژن را کاهش داده و تجزیه آن را افزایش می‌دهد. بسیاری از مطالعات نشان دادند که پروژسترون رشد سلول‌های سرطانی را در حضور استروژن مهار می‌کند و این فرضیه که پروژسترون اثر حفاظتی دارد را تائید می‌نماید (۷). Alkhalaf گزارش کرد که مهار رشد سلول‌های سرطان پستان به‌وسیله پروژسترون با تغییر بیان ژن‌هایی همراه است که در توقف رشد و تمایز نقش دارند (۶). همچنین مطالعات نشان دادند که از دست دادن فعالیت p53 سبب افزایش مقاومت سلول‌ها به انواع داروهای شیمی‌درمانی می‌شود. از دست دادن عملکرد این پروتئین همراه با پیش‌آگهی ضعیف بیماران سرطانی می‌باشد و تومورهای دارای p53 فعال قادر به القا آپوپتوزیز هستند (۱). پروتئین p53 از طریق بیان پروتئین p21 و bax می‌تواند در فرایند توقف سلولی و آپوپتوزیز نقش داشته باشد و به‌عنوان یک مهارکننده تومور، میانجی مهم برای اثرات ضد تکثیری و آپوپتوزیزی بسیاری از داروها و درمان‌ها باشد (۲۳). در مورد تأثیر هورمون پروژسترون بر میزان پروتئین P53 گزارش‌های ضدونقیضی وجود دارد. در مطالعه حاضر، هورمون پروژسترون سبب کاهش میزان پروتئین P53 در رده سلولی T47D شد. Guilemoro و همکاران در سال ۲۰۰۸ گزارش کردند که هورمون‌های استروئیدی بعد از اتصال به گیرنده‌های خود می‌تواند مستقیماً بر روی بیان ژن تأثیر بگذارد (۲۴). Alkhalaf در سال ۲۰۰۵ به همین نتیجه دست‌یافت (۱۹). Cliff در سال ۱۹۹۵ مطالعه‌ای بر روی رده سلولی T47D در محیط DMEM و FBS در حضور چارکول انجام داد و تأثیر دزهای مختلف پروژسترون را بر روی رده سلولی T47D موردبررسی قرار داد و مشاهده کرد که پروژسترون سبب کاهش میزان پروتئین P53 در رده سلولی T47D می‌شود. Cliff گزارش کرد که هورمون پروژسترون سبب کاهش بیان ژن p53 می‌شود (۱۸).Wang در مطالعه‌ای نشان داد که در رده سلولی MCF-7 تیمار شده با پروژسترون، کاهش میزان پروتئین p53 با کاهش آپوپتوزیز همراه هست. بنابراین به نظر می‌رسد که پروژسترون با تحریک بیان پروتئین‌های آنتی آپوپتوتیک و یا با کاهش بیان پروتئین‌های آپوپتوتیک، سلول‌ها را برای زنده ماندن یا برای فرار از مرگ با آپوپتوزیز قادر می‌سازد(۲). Lee و همکاران در سال ۲۰۱۲، اثر پروژسترون و تاموکسیفن را بر رده سلولی سرطان تخمدان موردبررسی قرار دادند و مشاهده کردند که پروژسترون سبب آپوپتوزیز و تاموکسیفن سبب بازداری سیکل سلولی (G1) می‌شود. اثر ترکیبی تاموکسیفن و پروژسترون سبب القا آپوپتوزیز شد(مشابه اثر پروژسترون به‌تنهایی) (۲۵). Laura و همکاران در سال ۲۰۱۳ تأثیر پروژسترون را بر روی یک رده سلولی سرطان موردبررسی قرار دادند و در پایان گزارش کردند پروژسترون سبب افزایش بیان ژن پروتئین Bax می‌شود که این افزایش همراه با مهار رشد سلول‌های سرطان و آپوپتوزیز می‌باشد (۲۶) Lu . و همکاران طی مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۸ انجام دادند، این نتیجه را گزارش کردند که رشد و تمایز پستان تحت تأثیر هورمون استروژن و پروژسترون است و هر دو باعث افزایش میزان پروتئین p53 می‌شوند، ولی مسیری که این هورمون‌ها باعث تنظیم فعالیت پروتئین p53 می‌شوند مشخص نیست (۲۷). Gao در مطالعه دیگری در سال ۲۰۰۲ نشان داد که تیمار سلول‌ها با پروژسترون تأثیری بر میزان پروتئین p53 ندارد و اعلام کرد که نمی‌توان هیچ مکانیسم خاصی را برای آن در نظر گرفت (۲۸). Kester و همکاران طی مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۳، رده سلولی T47D را به مدت ۳ روز تحت تیمار با پروژسترون قرار دادند و در پایان مطالعه مشاهده کردند که پروژسترون سبب فعال شدن پروتئین P53 و آن‌هم بالطبع سبب فعال شدن پروتئین p21 (پروتئینی که در فعال شدن فرآیند آپوپتوزیز نقش دارد) شد. بدین ترتیب با انجام فرایند آپوپتوزیز در حضور پروژسترون تکثیر سلول‌ها مهار شد (۲۹) .همچنین مطالعه دیگری توسط Formby و همکاران در سال ۱۹۹۸ انجام شد و این محققان نشان دادند که هورمون پروژسترون سبب افزایش پروتئین p53 می‌شود. این محققان گزارش کردند که هورمون پروژسترون سبب افزایش بیان ژن p53 می‌گردد و افزایش بیان ژن p53 با افزایش آپوپتوزیز همراه است (۳۰). Alkalafو همکاران تأثیر پروژسترون بر بیان ژن p53 را موردبررسی قرار دادند و در پایان گزارش کردند که پروژسترون سبب افزایش بیان ژن p53 می‌شود. بیان بیش‌ازحد پروتئین p53 در تومورهای پستان با افزایش تکثیر سلولی و ریسک سرطان پستان همراه است. (۶). مطالعه دیگری نشان داد که پروژسترون سبب کاهش بیان ژن MDM2 می‌گردد. آن‌ها گزارش کردند که کاهش بیان پروتئین MDM2 با افزایش پروتئین p53 همراه است (۱۶).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که هورمون پروژسترون سبب کاهش میزان پروتئین p53 در رده سلولی T47D می‌شود. به نظر می‌رسد هورمون پروژسترون با کاهش میزان پروتئین p53، سبب

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-07-18]

کاهش تجمع پروتئین موتانت یافته p53 در رده سلولی T47D شود. پیشنهاد می‌گردد میزان پروتئین p53 در زمان‌های مختلف سیکل قاعدگی بیماران مبتلا به سرطان پستان مورد ارزیابی قرار گیرد و ارتباط آن با غلظت هورمون پروژسترون بررسی شود. همچنین میزان بیان ژن p53 با روش Rea Time PCR مورد ارزیابی قرار گیرد

سپاسگزاری

در پایان از همکاری کلیه کارکنان و کارکنان بخش بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی و پژوهشکده تولیدمثل یزد کمال تشکر را دارم.

References:

1. Sheikhpour R, Ghassemi N, Yaghmaei P. Immunohistochemical assessment of p53 protein and its correlation with clinicopathological parameters in breast cancer patients. Indian J sci technol 2014; 7(4): 472-9.
2. Wang YA, Johnson SK, Brown BL, McCarragher LM, Al-Sakkaf K, Royds JA, et al. Enhanced anti-cancer effect of a phosphatidylinositol-3 kinase inhibitor and doxorubicin on human breast epithelial cell lines with different p53 and oestrogen receptor status. Int J Cancer 2008;123(7):1536–44.
3. Richie RC, Swanson JO. Breast cancer: a review of the literature. J Insur Med 2003;35(2):85–101.
4. Azizi E, Namazi A, Kaabinejadian S, Fouladdel S, Rezaei P, Ramezani M. Molecular analysis of MEN1 expression in MCF7, T47D and MDA-MB 468 breast cancer cell lines treated with adriamycin using RT-PCR and immunocytochemistry. Daru 2010;18(1):17–22.
5. Lumachi F, Brunello A, Maruzzo M, Basso U, Basso SMM. Treatment of estrogen receptor-positive breast cancer. Curr Med Chem 2013;20(5):596–604.
6. Alkhalaf M, El-Mowafy A. Overexpression of wild-type p53 gene renders MCF-7 breast cancer cells more sensitive to the antiproliferative effect of progesterone. J Endocrinol 2003; 179: 55-62.
7. Hashemi M, Ghavami S. Effects of estradiol, progesterone and testosterone onproliferation of human breast cancer cell lines. Tabib Shargh 2006; 7(1): 22-9.
8. Jean F, Simpson L. The p53 Tumor Suppressor Gene in Ductal Carcinoma in Situ of the Breast. Am J Pathol 2000; 156(1): 5-6.
9. Bergh J. Clinical studies of p53 in treatment and benefit of breast cancer patients. Endocr Relat Canc 1999. 6: 51-9.
10. Pleşan DM, Georgescu CV, Pătrană N, Pleşan C, Stoica D. Immunohistochemical study of p53 and Ki67 in a group of patients with mammary carcinoma. Rom J Morphol Embryol 2010;51(3):459–65.
11. Breen L, Heenan M, Amberger Murphy V, Clynes M. Investigation of the Role of p53 in Chemotherapy Resistance of Lung Cancer Cell Lines. Anti Canc 2007; 27: 1361-4.
12. Rahko E. A mutant TP53 gene status is associated with a poor prognosis and anthracycline-resistance in breast cancer patients 2003; Eur J Canc 39:447-53.
13. Tsutsui S. Prognostic value of p53 protein expression in breast cancer; An immunohistochemical analysis of frozen section in 514 Japanese women. Breast Canc 2001; 8(3): 194-202.
14. Gaiger de oliveriam M, Lauxen I, Cecilia Moraeschaves A. Immunohistochemical analysis of the pattern of p53 and PCNA expression in odontogenic cystic lesion. Med Oral patol oral cirbucal 2008; 13(5): 275-80.
15. Mar Axelrod DE. Prognosis for Survival of Young Women with Breast Cancer by Quantitative p53 Immunohistochemistry. Canc Clin Oncol 2012; 1(1): 52-65.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-07-18]

16. Wu L, Maki CG. MDM2: RING Finger Protein and Regulator of p53. Madame Curie Bioscience Database. Landes Bioscience 2000; 275: 5733-8.
17. Moll UM, Petrenko O. The MDM2-p53 Interaction. Mol Canc Res 2003; 1: 1001-8.
18. Hurd C, et al. Hormonal Regulation of the p53 Tumor Suppressor Protein in T47D Human Breast Carcinoma Cell Line. J Biol Chem 1995; 270(48): 2850-7.
19. Alkhalaf M, El-Mowafy AM, Abou-Zeid LA. Progesterone inhibition of MDM2 p90 protein in MCF-7 human breast cancer cell line is dependent on p53 levels. J Mol Genet Med 2005;1(1):33–7.
20. Sartorius CA. New T47D Breast Cancer Cell Lines for the Independent Study Transcriptional Agonists by cAMP of Progesterone B- and A-Receptors: Only Antiprogestin-occupied B-Receptors Are Switched to Transcriptional Agonists by cAMP. Cancer Res 1994; 54: 3868-77.
21. Chen C-C, Hardy DB, Mendelson CR. Progesterone receptor inhibits proliferation of human breast cancer cells via induction of MAPK phosphatase 1 (MKP-1/DUSP1). J Biol Chem 2011;286(50):43091–102.
22. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-day binding. Anal Biochem 1976; 72: 248-54.
23. Peterson LF, Mitrikeska E, Giannola D, Lui Y, Sun H, Bixby D, et al. p53 stabilization induces apoptosis in chronic myeloid leukemia blast crisis cells. Leukemia 2011;25(5):761–9.
24. Guillermo P. Progesterone Signaling to Chromatin in Breast Cancer Cells. Two Initial Cycles of Remodeling. Advances in Rapid Sex-Steroid Action Advances in Rapid Sex-Steroid Action 2012: 19-29.
25. Lee J. Effect of combined treatment with progesterone and tamoxifen on the growth and apoptosis of human ovarian cancer cells. Oncol Rep 2012; 27(1): 87-93.
26. Lee LR, Teng P-N, Nguyen H, Hood BL, Kavandi L, Wang G, et al. Progesterone enhances calcitriol antitumor activity by upregulating vitamin D receptor expression and promoting apoptosis in endometrial cancer cells. Cancer Prev Res (Phila) 2013;6(7):731–43.
27. Lu S. Transcriptional response to estrogen and progesterone in mammary gland identify network regulating p53 activity. Endocrinology 2008; 149(10): 4809-20.
28. Gao Z, Matsuo H, Nakago S, Kurachi O, Maruo T. p53 Tumor suppressor protein content in human uterine leiomyomas and its down-regulation by 17 beta-estradiol. J Clin Endocrinol Metab 2002;87(8):3915–20.
29. Kester HA, Sonneveld E, van der Saag PT, van der Burg B. Prolonged progestin treatment induces the promoter of CDK inhibitor p21 Cip1,Waf1 through activation of p53 in human breast and endometrial tumor cells. Exp Cell Res 2003;284(2):264–73.
30. Formby B, Wiley TS. Progesterone inhibits growth and induces apoptosis in breast cancer cells: inverse effects on Bcl-2 and p53. Ann Clin Lab Sci 1998;28(6):360–9..

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-07-18]

Original Article

THE EFFECT OF PROGESTERONE ON P53 PROTEIN IN T47D CELL LINE

*Robab Sheikhpour[1] *, Javad Mohiti Ardekani[2]*

Received: 11 Sep, 2014; Accepted: 21 Nov, 2014

Abstract

Background & Aims: Breast cancer is the most common cancer in women. Nearly 50% of breast cancers are dependent to sex hormones, and the effects of these hormones are mediated by their binding to specific receptors. Also p53 protein is mutated in about half of cancers including breast cancer and high level of p53 protein is a common feature of many human malignant cancers. Given that T47D cell line has estrogen and progesterone receptor and p53 protein is product of tumor suppressor gene. This article was devoted to the effect of progesterone on p53 protein in T47D cell line.

Materials & Methods: The breast cancer T47D cell line were grown in $25cm^2$ flasks in DMEM with fetal bovine serum (FBS). Then cells were treated with different concentrations (1 nmol, 10 nmol and 20 nmol) of progesterone hormone. The level of proteins was measured by western blot method. Gene tool software was used for data analysis.

Results: There was no differences in p53 protein level in cells that were exposed to 1nmol of progesterone compared to the control group ($P>0.05$), but cells that were exposed to 10 and 20 nmol of progesterone treatment had lower level of p53 protein concentration than the control ($P<0.01$).

Conclusion: The result of this study showed that increased progesterone can reduce the level of p53 protein in T47D cell line. It seems progesterone with decreased level of p53 protein reduced accumulation of p53 protein in T47 cell line.

Keyword: T47D cell line Breast cancer, Progesterone, p53 protein

Address: No. 91, 17 Rahbar Allay, Rahbar Street, Chamran Avenue, Yazd, Iran
Tel: +989131522462
Email: R.Sheikhpour@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2014: 25(10): 960 ISSN: 1027-3727

[1] *Department of Nursing, Yazd Medical Sciences Branch, Islamic Azad University, Yazd, Iran (Corresponding Author)*
[2] *Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd Iran*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-07-18]