فصلنامه بیماری‌های پستان ایران، سال چهارم، شماره اول و دوم، بهار و تابستان ۱۳۹۰

مقاله پژوهشی

مدل‌سازی سرطان پستان متاستازی در موش BALB/c با استفاده از ردهٔ سلولی موشی و نشاندار نمودن پایدار ردهٔ سلولی با وکتور لنتی ویروسی

سمیرا محمدی‌یگانه: دانشجوی دکتری تخصصی بیوتکنولوژی پزشکی، بخش تحقیقات بیوتکنولوژی، انستیتوپاستور ایران، تهران، ایران
مهدی پریان: پژوهشگر بخش ژنتیک مولکولی و مهندسی ژنتیک، مرکز تحقیقات و فناوری بن یاخته، تهران، ایران
کیهان آزادمنش: استادیار بیولوژی، بخش ویروس‌شناسی، انستیتوپاستورایران، تهران، ایران
احسان عارفیان: پژوهشگر بخش ژنتیک مولکولی و مهندسی ژنتیک، مرکز تحقیقات و فناوری بن یاخته، تهران، ایران
فرزانهٔ بتول رحیمی: استاد پاتولوژی، آزمایشگاه بیمارستان دی، تهران، ایران
***مرتضی کریمی پور:** استادیار بیولوژی، بخش پزشکی مولکولی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
رضا مهدیان: استادیار بیولوژی، بخش پزشکی مولکولی انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
سیامک میراب سمیعی: استادیار بیولوژی آزمایشگاه مرجع سلامت، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران
مسعود سلیمانی: استادیار هماتولوژی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

چکیده

مقدمه: متاستاز، عامل اصلی مرگ‌های با منشأ سرطان پستان است که علیرغم پیشرفت‌های علمی اخیر، تغییرات ژنتیکی و مکانیسم‌های مولکولی درگیر در متاستاز سرطان پستان هنوز به‌طور کامل شناخته نشده‌اند. مدل‌های حیوانی مناسبی نیز برای بررسی مسیرهای سلولی و ژن‌هایی که به‌طور اختصاصی در جریان متاستاز سرطان نقش دارند، وجود ندارند. در مطالعهٔ اخیر، مدل متاستازی سرطان پستان موشی با استفاده از ردهٔ سلولی 4T1 ایجاد شد. همچنین این ردهٔ سلولی با ساخت و وارد نمودن وکتور لنتی ویروسی، نشاندار و به موش تزریق شد که می‌تواند در تحقیقات آینده به‌کار برده شود.

روش بررسی: ردهٔ سلولی 4T1 (CRL-2539) از بانک سلولی گرفته شد. تست تشکیل کلونی در آگار برای تأیید مهاجم بودن سلول‌ها انجام شد. سلول‌ها پس از یک شبانه‌روز کشت اولیه در محیطDMEM حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گوساله، تریپسینه و شمارش شدند. دو گروه موش به‌عنوان شاهد و مورد انتخاب شدند. به ۳ موش گروه مورد تزریق درون‌رگی و به ۳ موش دیگر تزریق در ناحیهٔ نزدیک پستان (fadpad#8) انجام شد و به گروه شاهد فقط آب مقطر استریل تزریق گردید. موش‌ها به‌صورت روزانه از نظر سلامت جسمانی مورد بررسی قرار گرفتند تا اینکه در روز ۲۸ قربانی شدند و بافت‌های مورد نظر برای تهیهٔ لام و بررسی پاتولوژی فرستاده شدند. سلول‌های این رده با استفاده از لنتی ویروس حاوی پلاسمید PL-RGFP به‌صورت پایدار نشاندار شدند و دوباره به موش BALB/c ماده تزریق شدند. بررسی مدل زنده با استفاده از invivo imaging انجام شد.

یافته‌ها: از میان دو گروه مورد بررسی، علایم عصبی و عضلانی- استخوانی نشان‌دهندهٔ متاستاز سلول‌های سرطانی در موش‌هایی که تزریق درون رگی شده بودند، زودتر مشاهده شد و بررسی‌های پاتولوژی نیز درگیری وسیع بافت‌ها توسط سلول‌های سرطانی را تأیید کرد.

نتیجه‌گیری: ردهٔ سلولی4T1 می‌تواند مدل موشی مرحلهٔ متاستازی سرطان پستان را به‌خوبی بازسازی نماید. ردهٔ سلولی نشاندارشدهٔ پایدار با وکتور لنتی ویروسی می‌تواند برای ردیابی سلول‌های سرطانی و کارهای تحقیقاتی آینده به‌خوبی به‌کار گرفته شود.

*نشانی نویسندهٔ پاسخگو: تهران، انستیتوپاستور ایران، بخش تحقیقات بیوتکنولوژی، مرتضی کریمی پور
تلفن: ۰۲۱-۲۲۰۱۸۱۲۰ نشانی الکترونیک: mortezakarimi@yahoo.com

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.17359406.1390.4.1.4.1]

مقدمه

سرطان پستان شایع‌ترین سرطان تشخیص داده شده و دومین عامل مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در میان خانم‌ها است که سالیانه ۱ میلیون مورد جدید از این بیماری تشخیص داده می‌شود. سن وقوع این بیماری در کشورهای توسعه‌یافته ۵۰-۴۰ سال می‌باشد درحالی‌که متأسفانه سن شیوع آن در ایران در سن ۴۰-۳۰ سالگی است. میزان شیوع این بیماری در زنان آسیایی در مقایسه با آمریکا و اروپای غربی تاحدودی کمتر است. همچنین زنان ساکن کشورهای صنعتی در مقایسه با سایرین، ریسک ابتلای بالاتری دارند که البته کشور ژاپن در این میان یک استثناء به‌شمار می‌آید. آمار و شواهد، حاکی از افزایش مداوم شیوع سرطان پستان از اواسط دهۀ ۱۹۴۰ می‌باشد. به‌عنوان مثال در ایالات متحدۀ آمریکا میزان شیوع آن از نسبت ۱ به ۱۳ در سال ۱۹۷۰ به ۱ به ۱۱ در سال ۱۹۸۰ و ۱ به ۸ در حال حاضر رسیده است[۳-۱].

متاستاز، علت اصلی مرگ در بیشتر بیماران مبتلا به سرطان پستان است. انتشار سلول‌های سرطانی در طی متاستاز از طریق خون، لنف و یا هردو صورت می‌گیرد. پیشرفت تومور از محل اولیه (متاستاز) شاخص بیشتر تومورهای بدخیم است. در افرادی که دچار متاستاز می‌شوند تومورهای ثانویه در ۹۰ درصد موارد در استخوان و ریه تشکیل می‌شوند. استخوان محل اولیه و اصلی متاستاز است که فراوانی متاستاز استخوانی بیش از ۸۰ درصد می‌باشد. با ایجاد متاستاز، بیماری به مرحلۀ غیرقابل درمان وارد می‌شود. هنگامی‌که اساس مولکولی متاستاز تومور بررسی می‌شود، برروی تکثیر سلول‌های سرطانی و انتشار آن‌ها از تومور اولیه تمرکز می‌گردد درحالی‌که وقایع مولکولی که در محل متاستاز اتفاق می‌افتد، عامل اصلی مرگ‌ومیر بیماران است[۴و۵]. اگرچه اکثر رژیم‌هایی که برای این منظور به‌کار می‌روند موجب آرام کردن پیشرفت بیماری می‌شوند، هیچ‌یک موجب توقف یا بازگشت متاستاز نمی‌گردند. بنابراین درمان‌هایی که بتوانند طبیعت متاستازی بیماری را هدف بگیرند نتایج بهتری خواهند داشت. یکی از مهم‌ترین موانع مطالعۀ متاستاز، در دست نبودن مدل مناسبی است که بتواند به‌صورت قابل اطمینان پروسۀ متاستاز در شرایط in vivo را مشابه‌سازی نماید. مدل‌های گزنوگراف که در آن‌ها سلول‌های توموری انسان به موش سرکوب ایمنی تزریق می‌شوند، به‌طور گسترده برای مطالعۀ رشد و متاستاز تومور در موش به‌کار رفته است[۶]. اگرچه ایجاد تومور اولیه با این شرایط امکان‌پذیر است، شبیه‌سازی متاستاز تومور بسیار مشکل‌تر می‌باشد.

سلول‌های توموری انسان به‌طور ضعیفی در موش متاستاز می‌یابند و هنگامی‌که متاستاز ایجاد شد، اغلب خصوصیات غیر منتظره به‌وقوع می‌پیوندد. درمقابل، مدل‌هایی که با استفاده از سلول‌های توموری موشی باشند، مؤثرتر متاستاز می‌یابند و خصوصیاتی مشابه آنچه در بیماران سرطانی دیده می‌شود تظاهر می‌یابد[۷]. این نوع مدل‌ها امکان آنالیز تومور در حیوان با سیستم ایمنی طبیعی را فراهم می‌نمایند. از آنجایی‌که سیستم ایمنی نقش مهمی در ایجاد و پیشرفت سرطان ایفا می‌نماید، مدل‌هایی که بتوان در موش دارای ایمنی کامل به‌کار برد برای آنالیز پیشرفت و متاستاز سرطان و ارزیابی داروها ضروری خواهد بود. تا به‌حال مدل‌های موشی کمی وجود داشته‌اند که بتوانند متاستاز به مغز استخوان را نشان دهند[۸].

ردۀ سلولی توموری موش (4T1) یکی از چند ردۀ سلولی سرطان پستان است که توانایی متاستاز مؤثر به نواحی را که در سرطان پستان انسانی آلوده می‌شوند، دارد[۹]. 4T1 که از تومور خودبه‌خود ایجاد شده در موش BALB/c مشتق شده است، توانایی متاستاز به چندین ارگان را که طی سرطان پستان درگیر می‌شوند مانند ریه، کبد، مغز و استخوان دارا می‌باشد. این سلول‌ها برای ایجاد چندین ایمونوتراپی به‌کار رفته‌اند[۱۰و۱۱].

در مطالعۀ اخیر، هدف بررسی امکان به‌کارگیری ردۀ سلولی 4T1 جهت ایجاد مدل موشی متاستاز سرطان پستان است که روندی مشابه ایجاد متاستاز در انسان داشته باشد یعنی؛ به اندام‌هایی تهاجم می‌یابد که در متاستاز سرطان پستان انسانی نیز دیده می‌شود. همچنین برای تولید سلول‌های قابل ردیابی، سلول‌های 4T1 به‌وسیلۀ وکتور لنتی ویروسی حاوی فلورسانس نشاندار شدند. در مرحلۀ بعد، تزریق سلول‌های نشاندارشده به موشBALB/c انجام شد تا حساسیت دستگاه invivo imaging برای ردیابی سلول‌های نشاندارشده بررسی گردد.

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.17359406.1390.4.1.4.1]

روش بررسی

کشت سلولی

ردهٔ سلولی 4T1 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران گرفته شد. سلول‌ها در محیط high glucose DMEM حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاو، ۵ درصد اسیدهای آمینهٔ غیرضروری و آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و استرپتومایسین در انکوباتور ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد حاوی CO_2 ۵ درصد کشت شدند. تمام بررسی‌ها برروی ردهٔ سلولی تازه از ازت مایع خارج شده انجام شد.

تست تشکیل کلونی در آگار

برای بررسی مهاجم بودن سلول‌ها در محیط کشت سلولی، Colony Forming Assay انجام شد. به این منظور آگارز۲ درصد و ۰/۷ درصد استریل تهیه شد و تا هنگام کار در بن ماری ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد. سلول‌هایی که در محیط DMEM حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گوساله کشت شده بودند،، با PBS-EDTA شسته شدند. سپس سلول‌ها تریپسینه و توسط لام نئوبار شمارش شدند. در پلیت ۶ خانه، برای هر خانه تعداد ۲۵۰۰ سلول و در لایهٔ زیرین هر ول ۱ میلی‌لیتر محیط 1X نیاز است. بنابراین ۳ میلی‌لیتر محیط DMEM با ۳ میلی‌لیتر آگارز ۲ درصد مخلوط گردید و در کف هر ول به میزان ۱ میلی‌لیتر ریخته شد. سلول‌ها به تعداد مشخص با آگارز ۷ درصد و محیط DMEM حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گوساله مخلوط و به هر ول ۱ میلی‌لیتر اضافه گردید. پلیت در انکوباتور ۳۷درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از ۱۰-۸ روز برای جلوگیری از خشک شدن محیط به هر ول ۱ میلی‌لیتر محیط DMEM اضافه گردید و در هفتهٔ دوم هر ول از نظر تشکیل کلونی در زیر میکروسکوپ بررسی شد. از سلول‌های HEK293T به‌عنوان کنترل مثبت مهاجرت استفاده گردید.

حیوانات

موش‌های BALB/c ماده با سن شش تا هفت هفته از حیوان‌خانهٔ انستیتو پاستور ایران(کرج) خریداری شدند.

تزریق ردهٔ سلولی به موش

سلول‌های 4T1 کشت داده شده در محیطDMEM حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گوساله پس از تریپسینه شدن و شستشو با بافر PBS شمارش شدند و رقت‌های 5×10^5 تا 1×10^6 از سلول‌ها تهیه گردید. موش‌ها به دو گروه شاهد و مورد تقسیم شدند. به ۳ موش در گروه مورد تزریق درون‌رگی سلول‌ها انجام شد و به ۳ موش دیگر تزریق در ناحیهٔ نزدیک پستان(fadpad#8) صورت گرفت. به موش‌های گروه شاهد آب مقطر استریل تزریق شد.

هیستوپاتولوژی

موش‌ها روزانه از نظر خصوصیات ظاهری و رفتاری بررسی و در روز۲۸ قربانی شدند. بافت‌های ریه، کبد، طحال، فمور و مغز جدا گردیدند. نمونه‌ها در فرمالین۱۰ درصد فیکس و برای رنگ‌آمیزی H&E و بررسی به آزمایشگاه پاتولوژی فرستاده شدند.

ایجاد مدل 4T1-RGFP

ردهٔ سلولی 4T1 با استفاده از وکتور PL-RGFP نشاندار شد. وکتور مورد استفاده LentiORF™ pLEX-JRed-TurboGFP Vector(Open Biosystems, Catalog number: OHS4736) بود که دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی پوروماپسین برای انتخاب در سلول‌های یوکاریوتی است. از ردهٔ سلولی HEK293T برای ترانسفکت اولیه و تولید لنتی‌ویروس حاوی PL-RGFP استفاده شد. پس از ترانسفکت سلول‌ها با وکتور مورد نظر با روش فسفات کلسیم[۱۲]، جمع آوری ویروس در ۴۸-۲۴ و ۷۲ ساعت انجام شد.

پس از سانتریفوژ اولیه، جهت حذف دبری‌های سلولی، اولتراسانتریفوژ برای تغلیظ ویروسی انجام شد. ویروس تغلیظ‌شده با MOI مناسب به‌همراه پلی برن برروی سلول‌های 4T1 که تراکم حدود۷۰ درصد در فلاسک۲۵ سانتی‌متر داشتند، کشت داده شدند. پس از ۲۴ ساعت محیط رویی سلول‌های چسبیده تعویض شد و از روز سوم تیمار با پوروماپسین به میزان۵میکروگرم بر میلی‌لیتر (که آنتی بیوتیک موجود برروی وکتور جهت انتخاب سلول‌های حاوی وکتوربود) انجام شد.

پس از ۷ روز تیمار آنتی‌بیوتیکی، بیان RGFP در سلول‌ها حدود ۱۰۰ درصد بود که این سلول‌ها با DMSO با غلظت مناسب در ازت مایع فریز شدند. تزریق ردهٔ سلولی 4T1 حاوی RGFP به موش‌های BALB/c سلول‌های 4T1-RGFP با غلظت‌های 1×10^6و5×10^5 در بافر PBS تهیه شد. این سلول‌ها به دو گروه موشBALB/c ماده به‌صورت درون‌رگی و یا در ناحیهٔ fadpad تزریق شدند. به گروه سوم آب مقطر استریل تزریق شد. در دوره‌های زمانی ۷ روز یک‌بار تا روز ۲۸

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.17359406.1390.4.1.4.1]

موش‌ها با دستگاه(Kodak)invivo imaging بررسی گردیدند.

یافته‌ها

بررسی تشکیل کلونی در آگار (Colony Forming Assay) سلول‌های 4T1 در مقایسه با کنترل، مثبت نشان داد، این سلول‌ها در شرایط درون‌آزمایشگاهی توانایی متاستاز بالایی دارند به‌طوری‌که کلونی‌های مربوط به ردهٔ سلولی 4T1 در روز ۱۲ مشاهده شدند.

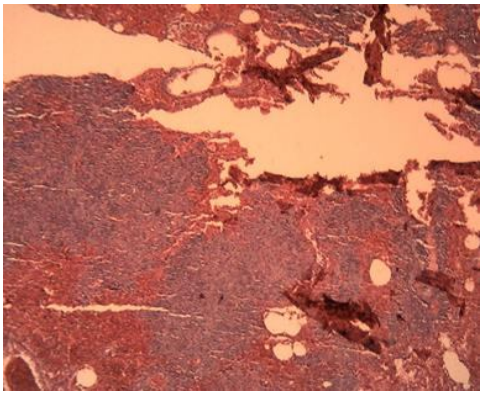
در تزریق ردهٔ سلولی به موشBALB/c عوارض عصبی و عضلانی مربوط به متاستاز سلول‌های سرطانی به سیستم عصبی و استخوان‌ها از هفتهٔ سوم پس از تزریق مشاهده شد. موش‌ها بسیار ناآرام بودند و لرزش‌های عصبی در هنگام تحریک سیستم عصبی آن‌ها دیده می‌شد. جلوگیری از رشد طبیعی حیوان و لاغری مفرط در هفته‌های ۳-۱ دیده می‌شد.

بررسی پاتولوژی تودهٔ سرطانی نشان‌دهندهٔ ارتشاح شدید سلولی همراه با نکروز و التهاب گسترده بود(شکل ۱).

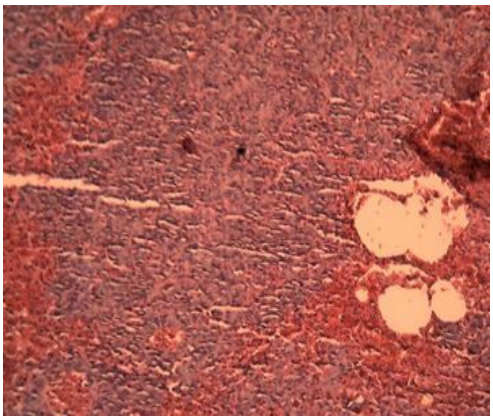


شکل ۱: رنگ آمیزی H&E از یک تومور اولیه که نشان دهندهٔ ناحیهٔ مرکزی نکروز است که لوکوسیت‌ها و سلول‌های نئوپلاستیک در اطراف آن دیده می‌شوند. سلول‌های نئوپلاستیک تمایزنیافته هستند و با وجود هسته‌های هایپرکروماتیک و مقدار کم سیتوپلاسم مشخص می‌باشند.

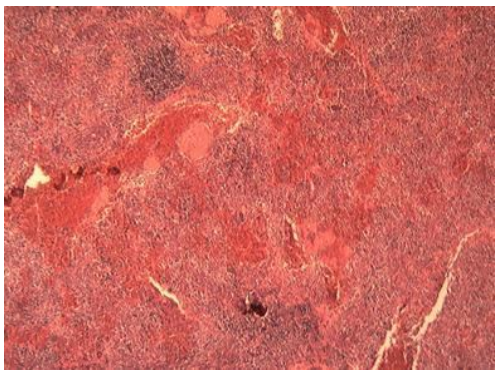
در مشاهده‌های ماکروسکوپی، بزرگی بیش از حد بافت‌های ریه، کبد، طحال همراه هماتوپوئز در کبد و بخصوص در طحال به‌وضوح مشخص بود. درگیری بافت ریه و کبد به‌وسیلهٔ متاستاز سلول‌های سرطانی تأیید گردید به‌طوری‌که سلول‌های متاستاتیک به‌صورت دسته‌های کوچک در بین سلول‌های کبدی مشاهده می‌شوند (شکل۲ الف و ب)، درحالی‌که چنین وضعیتی درطحال دیده نشد که نشانهٔ فقدان وجود رسپتور سلول‌های 4T1 در بافت طحال بود(شکل۲ ج).



(الف)



(ب)



(ج)

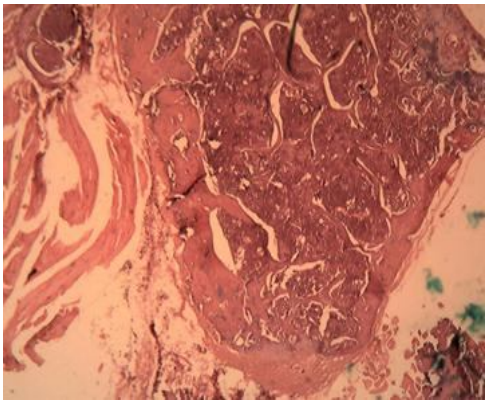
شکل ۲: متاستاز سلولهای سرطانی به ریه(الف)، کبد(ب) . بزرگی طحال وپرخونی آن(ج)

در بافت استخوان، تیغه‌های استخوانی آب شده‌اند و توسط سلول‌های تومورال جایگزین گردیده‌اند(شکل۳) که با روند رفتاری مشاهده شده در موش‌ها تطابق داشت.

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.17359406.1390.4.1.4.1]

ردهٔ سلولی 4T1-RGFP با استفاده از پایدارکردن وکتور لنتی ویروسی در این ردهٔ سلولی با موفقیت ایجاد شد.



شکل ۳: درگیری بافت استخوان توسط سلول‌های سرطانی

تزریق مجدد این رده به موش BALB/c، نتایج قبلی مربوط به قدرت متاستاز این سلول را تأیید نمود اما، دستگاه invivo imaging به‌کاربرده شده حساسیت کافی برای ردیابی سلول‌های سرطانی را نداشت.

بحث و نتیجه‌گیری

متاستاز یکی از بزرگ‌ترین مشکلات درمان سرطان پستان می‌باشد. مدل‌سازی این مرحله از سرطان در حیوان آزمایشگاهی، امکان بررسی مسیرهای سلولی درگیر و همچنین سنجش اثربخشی داروهای جدید را امکان‌پذیر می‌نماید. مدل موشی سرطان پستان که در این پروژه با موفقیت ساخته و به‌کاربرده شد، امکان شبیه‌سازی مرحلهٔ IV سرطان پستان در موش مشابه سرطان پستان انسانی را فراهم می‌نماید. درواقع، تهیهٔ مدل موشی با این ردهٔ سلول، برای مطالعهٔ سرطان پستان در مراحل دیررس و ارزیابی داروهای سرطان و سایر ترکیبات درمانی مفید خواهد بود[۱۳و۱۴]. اولین‌بار توسط Miller و همکارانش در Karmanos Cancer Institute این ردهٔ سلولی از تومور پستانی که خودبه‌خود در موش BALB/c ایجاد شده بود، به‌دست آمده است[۱۵]. بنابراین در جریان تزریق آن به موش، مشکلات تزریق ردهٔ سلولی توموری انسان به موش(رشد آهسته، متاستاز نامناسب و غیره) برطرف می‌شود[۹].

از مزایای دیگر استفاده از این رده این است که متاستاز آن به ریه، کبد، استخوان و سایر ارگان‌ها کارآمد و تکرارپذیر است. پروفایل بیان ژنی 4T1 و رده‌های سلولی مشتق از آن در دسترس می‌باشد که بررسی اساس ژنتیکی متاستاز به ریه، کبد، مغز و استخوان را فراهم می‌نماید[۱۶]. در تزریق سلول‌های سرطانی به موش BALB/c وجود سیستم ایمنی کامل بررسی اثر سیستم ایمنی در رشد و متاستاز تومور را امکان‌پذیر می‌نماید. از کاربردهای دیگر می‌توان آنالیز عملکرد ژن‌ها در رشد و متاستاز تومور، ارزیابی اثر داروها و پروسه‌های درمانی در رشد و متاستاز تومور، مطالعهٔ سودمندی و سمیت دارویی با استفاده از چنین رده‌های سرطانی را نام برد[۱۱].

ردهٔ سلولی مشتق از 4T1 که 4T1-RGFP نامیده شد، دارای نشانهٔ فلورسانس سبز می‌باشد که می‌توان آن را به‌صورت ارتوتوپیک به ناحیهٔ fadpad موش nude,SCID و یا BALB/c به‌صورت جراحی یا با تزریق مستقیم درون‌رگی وارد نمود. در این شرایط ردهٔ 4T1 به سرعت در محل اولیه رشد نموده است و در ریه، کبد، استخوان و مغز در دورهٔ ۶-۳ هفته‌ای متاستاز می‌دهد. درصورت تزریق درون‌رگی، متاستاز در ۲-۱ هفته ایجاد می‌شود. متاستاز سریع و مؤثر به ارگان‌هایی که در سرطان پستان انسانی مورد تهاجم قرار می‌گیرد، مدل حاصل ازاین ردهٔ سلولی را مدل مناسبی برای مطالعهٔ نحوهٔ پیشرفت متاستاز سرطان پستان در انسان می‌نماید[۱۳]. هرچند هنوز امکان استفاده از رده‌های سلولی مراحل انتهایی سرطان مانند4T1 برای بررسی مراحل ابتدایی و early event سرطان وجود ندارد. همچنین دارا بودن نشانهٔ فلورسانس امکان ردیابی سلول‌ها با استفاده از تکنیک ایمونوهیستوشیمی یا دستگاه‌های دقیق برای ردیابی در محل(invivo imaging) را امکان‌پذیر می‌نماید.

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-22]

[DOR: 20.1001.1.17359406.1390.4.1.4.1]

References

1. Spellman P, Gray J. A new treasure in the breast cancer gene hunt. Nat Med 2011; 17(4): 422-3.
2. Tavazoie SF, Alarcon C, Oskarsson T, Padua D, Wang Q, Bos PD. Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis. Nature 2008; 451(7175): 147-52.
3. Negrini M, Calin GA. Breast cancer metastasis: a microRNA story. Breast Cancer Res 2008; 10(2): 203.
4. Hamilton EP, Blackwell KL. Safety of bevacizumab in patients with metastatic breast cancer. Oncology 2011; 80(5-6): 314-25.
5. Lianidou ES, Markou A. Circulating tumor cells in breast cancer: detection systems, molecular characterization and future challenges. Clin Chem 2011; 57(9): 1242-55.
6. Heppner GH, Miller FR, Shekhar PM. Nontransgenic models of breast cancer. Breast Cancer Res 2000; 2(5): 331-4.
7. Jonkers J, Derksen PW. Modeling metastatic breast cancer in mice. J Mammary Gland Biol Neoplasia 2007; 12(2-3): 191-203.
8. Xanthopoulos JM, Romano AE, Majumdar SK. Response of Mouse Breast Cancer Cells to Anastrozole, Tamoxifen, and the Combination. J Biomed Biotechnol 2005; (1): 10-9.
9. Pulaski BA, Ostrand-Rosenberg S. Mouse 4T1 breast tumor model. Curr Protoc Immunol 2001; Chapter 20(20): Unit 202.
10. DuPre SA, Redelman D, Hunter KWJr. The mouse mammary carcinoma 4T1: characterization of the cellular landscape of primary tumors and metastatic tumor foci. Int J Exp Pathol 2007; 88(5): 351-60.
11. Baliga MS, Meleth S, Katiyar SK. Growth inhibitory and antimetastatic effect of green tea polyphenols on metastasis-specific mouse mammary carcinoma 4T1 cells invitro and invivo systems. Clin Cancer Res 2005; 11(5): 1918-27.
12. Salmon P, Trono D. Production and titration of lentiviral vectors. Curr Protoc Neurosci 2006; Chapter 4(4): Unit 4 21.
13. Rosen LS, Ashurst HL, Chap L. Targeting signal transduction pathways in metastatic breast cancer: a comprehensive review. Oncologist 2010; 15(3): 216-35.
14 . Weigelt B, Baehner FL, Reis-Filho JS. The contribution of gene expression profiling to breast cancer classification, prognostication and prediction: a retrospective of the last decade. J Pathol 2010; 220(2): 263-80.
15. 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.
16. Gumireddy K, Sun F, Klein-Szanto AJ, Gibbins JM, Gimotty PA, Saunders AJ. Invivo selection for metastasis promoting genes in the mouse. Proc Natl Acad Sci U S A 2007; 104(16): 7.

[Downloaded from ijbd.ir on 2026-11-22]
[DOR: 20.1001.1.17359406.1390.4.1.4.1]