خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۳ شماره ۲ تابستان ۹۵ (۱۳۷-۱۳۰)
مقاله پژوهشی

مطالعه بیان کمی و کیفی ژن لیپوپروتئین لیپاز قبل و بعد از تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان انسانی به سلول چربی

سید رسول رضوی باباحیدری[۱]، کامران موسوی حسینی[۲]، امیر آتشی[۳]، شادی اسمعیلی[۴]

چکیده

سابقه و هدف

تری‌گلیسرید سرم، نقش مهمی در سرطان‌زایی بازی می‌کند و آنزیم کلیدی LPL که مسبب هیدرولیز تری‌گلیسرید پلاسما است نیز، در این روند درگیر است. تنظیم نادرست LPL در بسیاری از بیماری‌های انسانی مثل آترواسکلروزیس نقش دارد. سطوح تری‌گلیسیرید سرم با افزایش خطر شیلومیکرونمیا، چاقی و دیابت نوع ۲ در ارتباط است. در این مطالعه بیان کمی و کیفی این ژن، قبل و بعد از تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان انسانی به سلول چربی در محیط آزمایشگاه بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

در یک کارآزمایی بالینی، سلول‌های بنیادی مزانشیمی جداسازی گردید و در محیط کشت حاوی القاگرهای مناسب به مدت ۱۴ روز به آدیپوسیت تمایز داده شد. سپس RNA استخراج شد و ساخت cDNA انجام گرفت و در نهایت آنالیز RT-PCR برای ژن *LPL* صورت گرفت.

یافته‌ها

مشاهده زیر میکروسکوپ معکوس بعد از ۱۴ روز نشان داد که قابلیت تمایز سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان به چربی وجود دارد. ژن *LPL* قبل از تمایز فاقد بیان بود در حالی که بعد از تمایز دارای بیان قابل توجهی بود.

نتیجه گیری

با توجه به یافته‌های حاصل از این مطالعه، سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان قادر به تمایز به رده استخوان و چربی می‌باشند که در تصمیم‌گیری برای تعهد به هر کدام از این رده‌ها، یک سری ژن‌های چربی‌ساز از جمله LPL ، نقش دارند. ممکن است بتوان با مهار و یا تحریک بیان آن‌ها در درمان بیماری‌های مختلف از جمله سرطان پروستات، آنمی آپلاستیک، دیابت و پوکی استخوان از آن بهره برد.

کلمات کلیدی: **سلول‌های بنیادی مزانشیمی، آدیپوسیت‌ها، لیپوپروتئین لیپاز، تمایز سلولی**

تاریخ دریافت : ۹۴/ ۷/ ۲
تاریخ پذیرش : ۹۴/۱۱/۱۰

۱- کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون ـ مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۲- مؤلف مسئول: PhD شیمی دارویی ـ دانشیار مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران ـ صندوق پستی: ۱۱۵۷-۱۴۶۶۵
۳- مؤلف مسئول: PhD هماتولوژی و بانک خون ـ استادیار دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس ـ تهران ـ ایران ـ صندوق پستی: ۱۱۱-۱۴۱۱۵
۴- کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون ـ دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس ـ گروه هماتولوژی ـ تهران ـ ایران

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-14]

مقدمه

سلول‌های بنیادی مزانشیمی، سلول‌هایی هستند که توانایی خود بازسازی و در نهایت تمایز به انواع متعدد سلول را دارند. این سلول‌های بنیادی اساساً از مغز استخوان منشا می‌گیرند اما قابل برداشت از بافت چربی، تاندون، خون محیطی، ماهیچه اسکلتی و اخیراً استخوان ترابکولار نیز می‌باشند. سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌توانند به رده‌های استخوان‌ساز، چربی‌ساز، غضروف‌ساز و ماهیچه‌ساز تمایز یابند(۱).

سلول‌های بنیادی مزانشیمی به تعداد وسیعی در انسان بالغ، در مغز استخوان و بافت چربی یافت می‌شوند و به طور گسترده‌ای به علت داشتن توانایی درمان بیماری‌های انسانی مورد بررسی قرار گرفته است(۲).

در سال‌های اخیر، چاقی به یک نگرانی که تهدیدکننده سلامتی می‌باشد تبدیل شده است. توده چربی سفید، بافتی اندوکرین است که نه تنها نقش فعال و مرکزی در تنظیم تعادل انرژی بازی می‌کند، بلکه نقش اساسی در تعدادی از فرآیندهای فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی نیز دارد. از طرفی مطالعه‌های اپیدمیولوژیک نشان داده‌اند که افزایش سطوح تری‌گلیسیرید سرم(TG) با احتمال پیشرفت سرطان همراه است. بنابراین TG سرم نقش مهمی در کارسینوژنزیس (سرطان‌زایی) بازی می‌کند و آنزیم کلیدی LPL که مسبب هیدرولیز TG پلاسما است نیز در این روند درگیر است(۳). بنابراین درک چگونگی فرآیندهای تمایز آدیپوست می‌تواند به ما در تنظیم تعداد و عملکرد این سلول‌ها در ارگانیسم بالغ کمک کرده و در نتیجه در درمان و تسکین بیماری‌های متابولیک هم چون چاقی و دیابت و برخی سرطان‌ها یاری رساند. اطلاعات کمی در مورد پتانسیل تمایزی سلول‌های بنیادی مغز استخوان وجود دارد و بیان این ژن قبل و بعد از تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سلول چربی مشخص نشده است(۵، ۴). این مطالعه به بررسی بیان این ژن قبل و بعد از تمایز پرداخته است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه که به روش کارآزمایی بالینی بود، اقداماتی به ترتیب زیر انجام گرفت:

۱- جداسازی و کشت MSCs از مغز استخوان:

آسپیره مغز استخوان بعد از گرفتن رضایت‌نامه کتبی از افراد سالم از بیمارستان طالقانی تهران تهیه شد. سلول‌های تک هسته‌ای از طریق شیب غلظتی با استفاده از محلول فایکول جدا شد.

بدین منظور بعد از رقیق کردن محلول آسپیره به نسبت یک به یک با PBS ، به مدت ۲۰ دقیقه با دور G ۴۵۰ سانتریفیوژ شد. سلول‌های تک هسته‌ای دارای چگالی کمتری نسبت به فایکول بودند لذا بر روی آن قرار گرفتند. گلبول‌های قرمز باقی‌مانده دارای وزن مولکولی بیشتری نسبت به فایکول هستند و در ته لوله رسوب می‌کنند. سپس مایع‌رویی که حاوی سلول‌های تک هسته‌ای است را برداشته و با دور G ۳۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ انجام شد. در نهایت ۱×۱۰^{۶} از سلول‌های تک هسته‌ای بر سانتی‌متر مکعب به فلاسک‌های T75 انتقال داده شد. فلاسک‌ها در شرایط دمایی ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵٪ CO_2 نگهداری شده و هفته‌ای سه بار تعویض محیط انجام شد. جهت تکثیر سلول‌ها از محیط DMEM با ۱۰٪ FBS استفاده شد.

۲- بررسی هویت سلول‌های بنیادی مزانشیمی جداسازی شده:

مارکرهای سطحی CD90 ، CD34 ، CD37 و CD105 با استفاده از فلوسیتومتری مورد بررسی قرار گرفت. سلول‌ها در غلظت ۳×۱۰^{۳} بر سانتی‌متر مربع در ۳ فلاسک T25 کشت داده شد و بعد از رسیدن به جمعیت سلولی ۸۰٪-۷۰٪، محیط تکثیری DMEM با محیط تمایزی استئوبلاستی تعویض شد.

برای تهیه محیط تمایزی استئوبلاستی از محیط کشت عمومی DMEM ، L- گلوتامین و ۱۰٪ FBS استفاده شد که به این محیط کشت فاکتورهای دگزامتازون با غلظت نهایی ۱۰ نانومولار، بتا ـ گلیسرول فسفات با غلظت نهایی ۵ میلی‌مولار و آسکوربات -۲- فسفات با غلظت نهایی ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اضافه گردید. بعد از ۲۱ روز، تمایز به سمت استخوان با استفاده از رنگ‌آمیزی آلیزارین قرمز مورد تایید قرار گرفت.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-14]

جدول ۱: توالی و اندازه آغازگرهای ژن LPL و ژن بتااکتین طراحی شده

ژن‌ها	آغازگرها	دما درجه سانتی‌گراد	Amplicon Size
LPL-F	CCCTACAAAGTCTTCCATTAC	۴۹	۱۹۷ bp
LPL-R	AGTTCTCCAATATCTACCTCTG		
β-Actin-F	TGAAGATCAAGATCATTGCTCCTC	۵۴	۱۶۸ bp
β-Actin-R	AGTCATAGTCCGCCTAGAAGC		

۳- تمایز سلول‌های مزانشیمی به آدیپوسیت:

برای القای تمایز به آدیپوسیت، ۳×۱۰^{۳} بر سانتی‌متر مربع سلول در فلاسک‌های T25 برده شده و بعد از رسیدن به جمعیت سلولی ۷۰٪ ، از محیط اختصاصی آدیپوسیت به جای DMEM استفاده شد. برای تهیه محیط تمایزی آدیپوسیتی از محیط کشت عمومی DMEM ، L- گلوتامین و ۱۰٪FBS استفاده شد که به این محیط کشت، فاکتورهای دگزامتازون با غلظت نهایی ۱۲ نانومولار و آسکوربات -۲- فسفات با غلظت نهایی ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اضافه گردید. فلاسک‌ها به مدت ۱۴ روز در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد با ۵٪ Co_2 نگهداری شد. سلول‌های کنترل منفی فاقد محیط تمایزی بوده و تنها از ۱۰٪ DMEM + FBS تغذیه می‌کردند. جهت بررسی تمایز از رنگ‌آمیزی Oil Red O استفاده شد. جهت رنگ‌آمیزی، ابتدا سلول‌ها با ۱۰٪ فرمالین(سیگما)، فیکس شد و بعد از شستشو، با محلول Oil Red O به مدت ۵ دقیقه رنگ شدند.

۴- طراحی آغازگر:

طراحی توالی آغازگرهای مربوطه به صورت Exon Junction توسط Primer Blast انجام گرفت(جدول ۱).

۵- جداسازی RNA و RT-PCR:

استخراج RNA با استفاده از روش دستی و بر پایه جداسازی با فنل و کلروفرم انجام شد. برای ساخت cDNA، ۵ میکروگرم RNA استخراج شده به همراه آغازگرهای اولیگو T در حضور آنزیم ترانس کریپتاز معکوس قرار گرفت و سپس RT-PCR با استفاده از مستر میکس شرکت سیناژن انجام شد.

۶- انجام Real time PCR :

الگوی بیان کمی mRNA ژن *LPL* در طول تمایز آدیپوسیتی سلول‌های بنیادی مزانشیمی با محیط تمایزی با استفاده از روش quantitative Real Time PCR مورد ارزیابی قرار گرفت. بر این اساس آزمون quantitative Real Time PCR بر روی cDNA سلول‌های بنیادی مزانشیمی قبل از تمایز(روز صفر) و بعد از تمایز(روز ۱۴ تمایز) با آغازگرهای اختصاصی صورت گرفت.

۷- کنترل کیفی RNA استخراج شده:

مقدار RNA استخراج شده به واسطه جذب در طول موج ۲۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. هم چنین خلوص RNA استخراج شده از طریق نسبت جذب در طول موج ۲۶۰ نانومتر به ۲۸۰ نانومتر سنجیده شد.

۸- آنالیز داده‌ها:

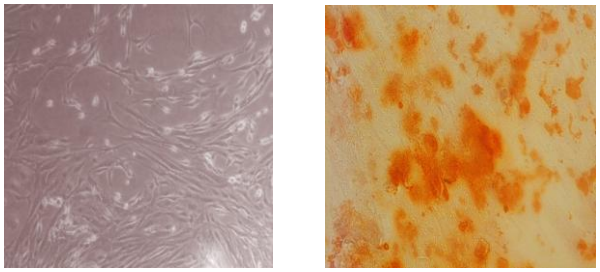
پس از انجام PCR و خارج کردن نمونه‌ها از دستگاه ترمال سایکلر، آنالیز کیفی ژن *LPL* با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگاروز ۲٪ و با بتا اکتین به عنوان کنترل داخلی مورد ارزیابی قرار گرفت. تمامی مراحل آزمایش به صورت سه بار تکرار انجام شد.

یافته‌ها

۱- یافته‌های حاصل از تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سمت استئوبلاست:

نتایج نشان داد که سلول‌های بنیادی مزانشیمی جدا شده قدرت تمایز به سمت سلول‌های استخوانی را داشته‌اند(شکل ۱).

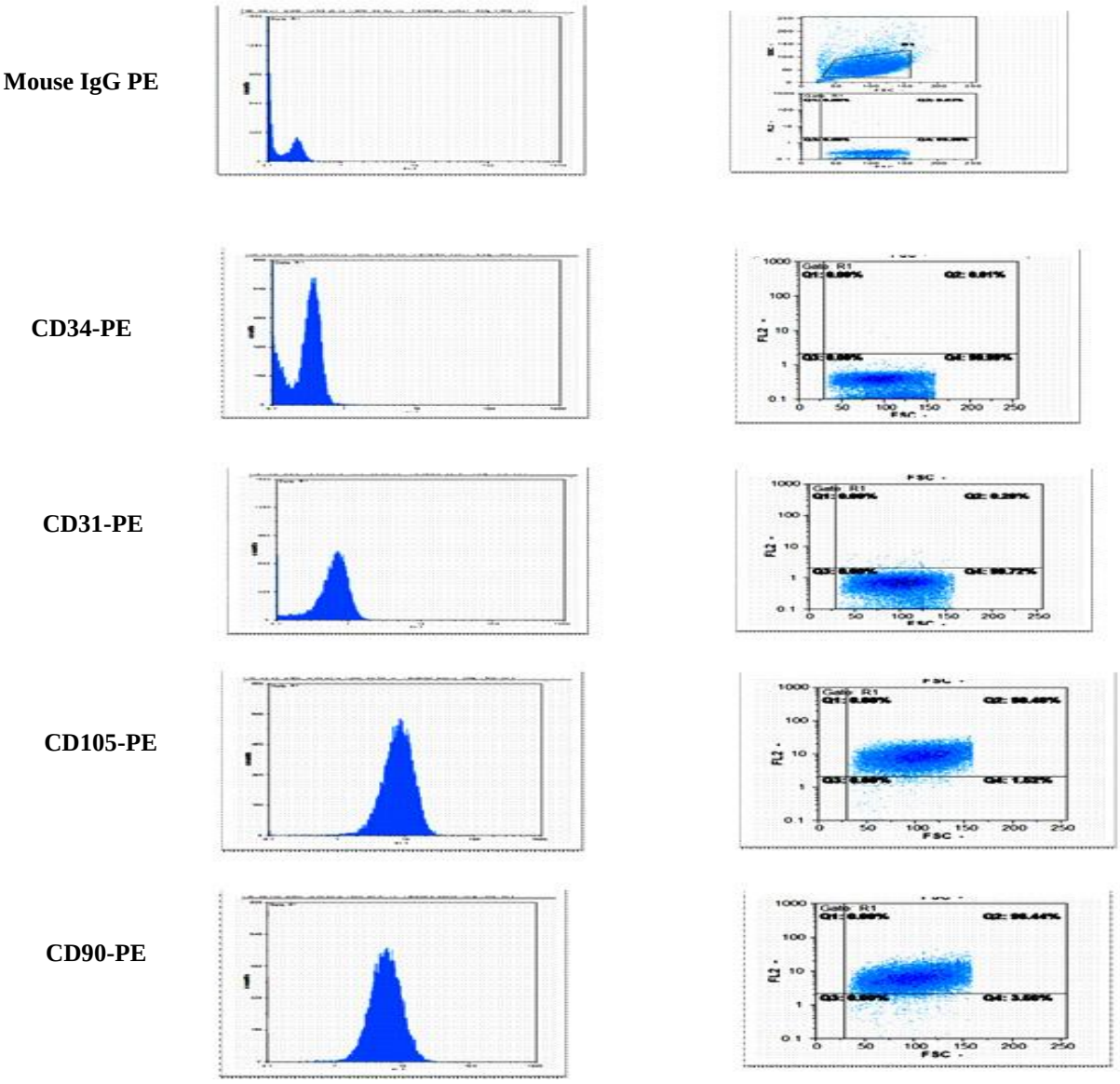
[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-14]



شکل ۱: راست به چپ : رنگ‌آمیزی آلیزارین رد سلول‌های بنیادی مزانشیمال تمایز یافته به سلول استخوان در روز ۲۱ تمایز و سلول‌های بنیادی مزانشیمال در روز ۲۱ (کنترل)

۲- نتایج فلوسیتومتری:

جهت تایید مزانشیم بودن سلول‌ها، فلوسیتومتری برای مارکرهای CD90 ، CD105 ، CD31 و CD34 انجام گرفت که نتایج آن در نمودار ۱ قابل مشاهده می‌باشد. نتایج حاصل از فلوسیتومتری نشان داد که سلول‌های جداسازی شده به لحاظ ماهیت، سلول بنیادی مزانشیمی هستند که با بیان بالای CD105 ، CD90 ، CD73 و نیز عدم بیان CD34 مشخص می‌شوند.

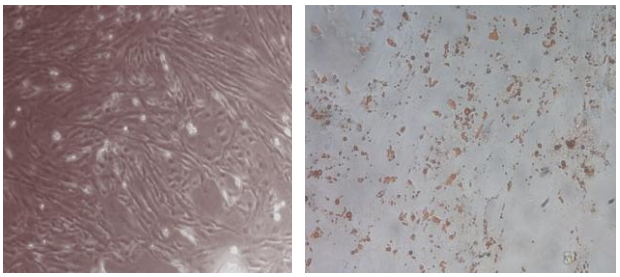


نمودار ۱: نتایج حاصل از فلوسیتومتری سلول‌های بنیادی

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-14]

۳- رنگ‌آمیزی BM-MSCs ضمن تمایز به آدیپوسیت‌ها:

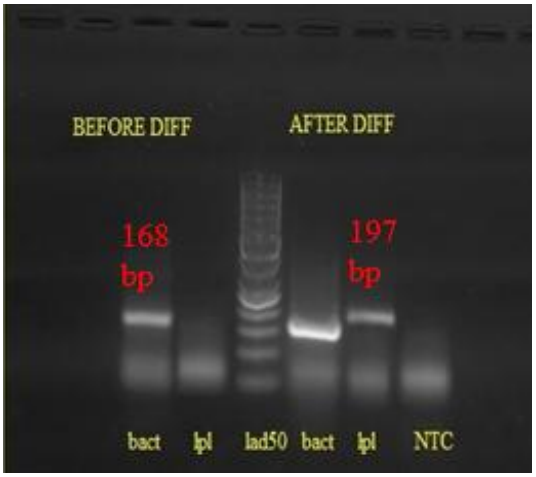
MSCs بعد از تمایز، مورفولوژی سلول‌های آدیپوسیت را به خود گرفته و رنگ‌آمیزی Oil Red O دانه‌های قرمز حاوی تجمع لیپیدها را در داخل سلول‌های آدیپوسیت نشان می‌دهد(شکل ۲).



شکل ۲: راست به چپ: رنگ‌آمیزیOil- Red- O سلول‌های بنیادی مزانشیمال تمایز یافته به چربی در روز ۱۴ و سلول‌های بنیادی مزانشیمال در روز ۱۴ تمایز(کنترل)

۴- نتایج حاصل از بیان کیفی ژن LPL:

در شکل ۳ نمایی از بیان کیفی ژن *LPL* قبل و بعد از تمایز BM-MSCs آورده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود، این ژن قبل از تمایز فاقد بیان بوده با این حال، بعد از تمایز، ژن *LPL* بیان شده و بیان آن کاملاً مشهود است.



شکل ۳ : نمای ژل الکترفورز بعد از الکتروفورز محصول PCR : ۱) beta actin قبل از تمایز، ۲) LPL قبل از تمایز ۳) سایز مارکر ۵۰ bp ۴) beta actin بعد از تمایز ۵) LPL بعد از تمایز ۶) NTC

۵- پس از انجام آزمایش Real Time PCR میانگین حاصل از ۳ نمونه به شرح زیر بود(جدول ۲):

جدول ۲: Ct های میانگین مربوط به ژن *LPL* و *β-actin* و انحراف معیار آن‌ها(C = control ، UD = undifferentiated ، D = differentiated و T=test)

C(UD) Housekeeping	SD	T(D) Housekeeping	SD	C(UD) Gene	SD	T (D) Gene	SD
۲۸/۵۱	۱/۲۲	۲۲/۹۲	۰/۸۸	–	–	۳۱/۸	۲/۰۹
۲۷/۱۰	۰/۹۸	۲۰/۱۱	۱/۱	–	–	۲۷/۱۰	۱/۵۵
۳۰/۰۵	۱/۲۸	۲۳/۱۰	۱/۱۲	–	–	۲۷	۱/۶۵

به علت عدم بیان ژن *LPL* قبل از تمایز و بیان آن بعد از تمایز، امکان مقایسه آن و بیان مقدار عددی این افزایش بیان امکان‌پذیر نمی‌باشد و تنها می‌توان از نظر کیفی بیان این ژن را بررسی نمود.

بحث

در این مطالعه سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان انسانی(H-MSCs) به وسیله شیب غلظتی فایکول جدا شد. مارکرهای سطحی این سلول‌ها به وسیله فلوسیتومتری تایید شد و تمایز به سلول چربی و استخوان به وسیله دستورالعمل دگزامتازون انجام گرفت و به وسیله رنگ‌آمیزی تایید شد. سپس بیان کمی و کیفی ژن *LPL* به عنوان یکی از مهم‌ترین ژن‌های دخیل در تمایز چربی، قبل و بعد از تمایز به آدیپوسیت به وسیله Real Time PCR بررسی شد. مطالعه‌های بسیاری در زمینه تمایز سلول‌ها و هم چنین رده‌های سلولی مختلف از جمله BMS2 ، UAMS33 ، 2T3 به سمت سلول چربی انجام شده است(۹-۶).

هم چنین مطالعه‌هایی بر روی تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان انسانی نیز انجام شده است. به عنوان مثال در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۳ مشخص شد که هیپوکسی از تمایز سلول‌های BM-MSCs به سمت سلول‌های آدیپوسیتی جلوگیری می‌کند و در مطالعه‌ای در

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-14]

سال ۲۰۱۵ ، تمایز MSC ها به رده‌های استئوژنیک، آدیپوژنیک، کندروژنیک و میوژنیک بررسی شد و توانایی MSC ها در تمایز به چربی با مشاهده وزیکول‌های چربی پس از رنگ‌آمیزی Oil-Red-O به اثبات رسیده ولی اشاره‌ای بر روی بیان ژن *LPL* نشده است(۱۱، ۱۰). ساخت چربی فرآیندی پیچیده است که نیازمند همکاری بین فاکتورهای مختلف از جمله LPL ، PPARγ و C/EBPs می‌باشد (۱۲).

تمایز BM-MSCs به سلول‌های چربی دارای اهمیت زیادی است. استئوپورزیس و افزایش خطر شکستگی استخوان به علت افزایش سن، نه تنها به دنبال کاهش سلول‌های استخوانی است، بلکه جایگزینی بافت مغز استخوان با چربی نیز می‌تواند در آن اثرگذار باشد(۱۵-۱۳). در نتیجه علاوه بر تحریک استئوژنزیس، نیاز به مهار آدیپوژنزیس نیز هست(۱۷، ۱۶). از این رو مهار تمایز BM-MSCs به آدیپوسیت با واسطه سرکوب بیان LPL می‌تواند مفید باشد. امروزه چاقی به صورت یک نگرانی تهدید کننده حیات در آمده است(۲۰-۱۸). هم چنین یکی از عوارض کم خونی آپلاستیک، افزایش سلول‌های چربی در مغز استخوان است که منجر به اختلال در حمایت داربست مغز استخوان از سلول‌های بنیادی خونساز می‌شود. چنین نقصی می‌تواند به علت تمایز بیش از حد BM-MSCs به سلول‌های چربی باشد. مطالعه‌ها نشان داده‌اند که مهار چربی‌سازی در مبتلایان به کم خونی آپلاستیک می‌تواند به طور چشمگیری نیاز به پیوند مغز استخوان را کاهش دهد(۲۸-۲۰). اخیراً مشخص شده که BM-MSCs جدا شده از بیماران لوسمی حاد میلوئیدی (AML)، دارای قدرت بیشتری در تمایز به سمت سلول‌های چربی می‌باشند و تعداد این سلول‌ها در مغز استخوان این مبتلایان که دارای نقص در تولید مناسب سلول‌های خونی‌اند، نیز بیشتر است(۲۹). همان طور که پیشتر نیز اشاره شد، LPL با در اختیار گذاشتن منبعی از اسیدهای چرب برای سلول‌های سرطانی، در افزایش رشد و بقای این سلول‌ها مؤثر بوده و به عنوان هدفی مناسب برای شیمی درمانی مد نظر قرار گرفته است.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه ژن *LPL* بعد از تمایز، بیان بسیار بالایی در مقایسه با سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان انسانی به عنوان کنترل داشت.

مشاهدات ما در این مطالعه می‌تواند به عنوان یکی از فرآیندهای درمانی برای بیماری‌های اشاره شده به کار رود و با مهار تمایز MSCs به چربی، بهبودی شرایط بیماری را سبب شود. شاید بتوان با مهار بیان آن در درمان بیماری‌های مختلف از جمله چاقی مفرط، آنمی آپلاستیک، پوکی استخوان، برخی سرطان‌ها به خصوص سرطان پروستات، آلزایمر و دیابت از آن بهره برد.

تشکر و قدردانی

لازم است که از اساتید راهنما در سازمان انتقال خون ایران و گروه هماتولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس و سایر افرادی که بنده را به نحوی در انجام این پژوهش یاری نمودند، تشکر نمایم. این مقاله از پایان نامه کارشناسی ارشد اینجانب که مصوب مرکز تحقیقات مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون می‌باشد منتج شده است.

References :

1- Whitelaw NC, Whitelaw E. Transgenerational epigenetic inheritance in health and disease. Curr Opin Genet Dev 2008; 18(3): 273-9.
2- Pastinen T, Sladek R, Gurd S, Sammak A, Ge B, Lepage P, *et al*. A survey of genetic and epigenetic variation affecting human gene expression. Physiol Genomics 2004; 16(2): 184-93.
3- Vaissiere T, Sawan C, Herceg Z. Epigenetic interplay between histone modifications and DNA methylation in gene silencing. Mutat Res 2008; 659(1-2): 40-8.
4- ubicek S, Schotta G, Lachner M, Sengupta R, Kohlmaier A, Perez-Burgos L, *et al*. The role of histone modifications in epigenetic transitions during normal and perturbed development. Ernst Schering Res Found Workshop 2006; (57): 1-27.
5- Mohtat D, Susztak K. Fine tuning gene expression: the epigenome. Semin Nephrol 2010; 30(5): 468-76.
6- Bohacek J, Mansuy IM. Epigenetic inheritance of disease and disease risk. Neuropsychopharmacology 2013; 38(1): 220-36.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-14]

7- Lund AH,van Lohuizen M. Epigenetics and cancer. Genes Dev 2004; 18(19): 2315-35.
8- Berdasco M,Esteller M. Hot topics in epigenetic mechanisms of aging. Aging Cell 2012; 11(2): 181-6.
9- Surani MA. Genomic imprinting: control of gene expression by epigenetic inheritance. Curr Opin Cell Biol 1994; 6(3): 390-5.
10- Zhang YB, Chu JY. Progress of research on epigenetic and human disease. Yi Chuan 2005; 27(3): 466-72. [Article in Chinese]
11- Turner BM. Histone acetylation and an epigenetic code. Bioessays 2000; 22(9): 836-45.
12- Chen S, Bohrer LR, Rai AN, Pan Y, Gan L, Zhou X, *et al*. Cyclin-dependent kinases regulate epigenetic gene silencing through phosphorylation of EZH2. Nat Cell Biol 2010; 12(11): 1108-14.
13- Calvo V, Beato M. BRCA1 counteracts progesterone action by ubiquitination leading to progesterone receptor degradation and epigenetic silencing of target promoters. Cancer Res 2011; 71(9): 3422-31.
14- Stielow B, Krüger I, Diezko R, Finkernagel F, Gillemans N, Kong-a-San J, *et al*. Epigenetic silencing of spermatocyte-specific and neuronal genes by SUMO modification of the transcription factor Sp3. PLoS Genet 2010; 6(11): e1001203.
15- Klose RJ, Bird AP. Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. Trends Biochem Sci 2006; 31(2): 89-97.
16- Bird AP. Functions for DNA methylation in vertebrates. Cold Spring Harb Symp Quant Biol 1993; 58: 281-5.
17- Guz J, Foksinski M, Olinski R. Mechanism of DNA methylation and demethylation--its role in control of genes expression. Postepy Biochem 2010; 56(1): 7-15. [Article in Polish]
18- Hendrich B, Bird A. Identification and characterization of a family of mammalian methyl-CpG binding proteins. Mol Cell Biol 1998; 18(11): 6538-47.
19- Lan J, Hua S, He X, Zhang Y. DNA methyltransferases and methyl-binding proteins of mammals. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai) 2010; 42(4): 243-52.
20- Feinberg AP, Cui H, Ohlsson R. DNA methylation and genomic imprinting: insights from cancer into epigenetic mechanisms. Semin Cancer Biol 2002; 12(5): 389-98.
21- Rottach A, Leonhardt H, Spada F. DNA methylation-mediated epigenetic control. J Cell Biochem 2009; 108(1): 43-51.
22- Byvoet P, Sayre DF, Baxter CS. Methods for the assessment of histone methylation. Methods Cell Biol 1978; 19: 95-100.
23- Mack FA, Patel JH, Biju MP, Haase VH, Simon MC. Decreased growth of Vhl-/- fibrosarcomas is associated with elevated levels of cyclin kinase inhibitors p21 and p27. Mol Cell Biol 2005; 25(11): 4565-78.
24- Tollefsbol TO. Methods of epigenetic analysis. Methods Mol Biol 2004; 287: 1-8.
25- Otera H, Harano T, Honsho M, Ghaedi K, Mukai S, Tanaka A, *et al*. The Mammalian Peroxin Pex5pL,the Longer Isoform ofthe Mobile Peroxisome Targeting Signal (PTS) Type 1Transporter,Translocates the Pex7pzPTS2 ProteinComplex into Peroxisomes via Its Initial Docking Site,Pex14p. J Biol Chem 2000; 275(28): 21703-14.
26- Ghaedi K, Kawai A, Okumoto K, Tamura S, Shimozawa N, Suzuki Y, *et al* Isolation and characterization of novel peroxisome biogenesis-defective Chinese hamster ovary cell mutants using green fluorescent protein. Exp Cell Res 1999; 248(2): 489-97.
27- Fujiki Y, Okumoto K, Kinoshita N, Ghaedi K. Lessons from peroxisome-deficient Chinesehamster ovary (CHO) cell mutants. Biochim Biophys Acta 2006; 1763(12): 1374-81.
28- Ghaedi K, Masanori H, Shimozawa N, Suzuki Y, Kondo N, Yukio F. PEX3 Is the causal generesponsible for peroxisome membrane assembly-defectivezellweger syndrome of complementation group G. Am J Hum Genet 2000; 67(4): 976-81.
29- Hihi AK, Michalik L, Wahli W. PPARs: transcriptional effectors of fatty acids and their derivatives. Cell Mol Life Sci 2002; 59(5): 790-8.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-14]

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2016; 13(2): 130-137

Original Article

Study of quantitative and qualitative gene expression of lipoprotein lipase before and after differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells into adipocytes

Razavi Babaheidary S.R.[1], Mousavi Hosseini K.[1], Atashi A.[2], Esmaeeili Sh.[2]

[1]*Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran*
[2]*School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran*

Abstract

Background and Objectives

Serum TG plays an important role in carcinogenesis and the LPL as a key enzyme that hydrolyses plasma TG involves in this process. Abnormal regulation and/or expression of LPL play roles in many human diseases such as atherosclerosis. Serum TG levels increase the risk of chylomicronaemia, obesity and type 2 diabetes; thus, in this study we reported LPL expression before and after BM-MSCs differentiation into adipocyte under controlled conditions.

Materials and Methods

MSCs from human bone marrow were isolated from 3 healthy people and then differentiated into adipocytes by chemical materials for 14 days. Then, total RNA was extracted and cDNA was synthesized and finally RT-PCR and Real Time PCR analysis were performed for LPL gene.

Results

After 14 days, the analysis of morphology with invert microscopy indicated that BM-MSCs have the capacity of differentiation into adipocytes. BM-MSCs serving as the negative control do not have any expression of LPL while in BM-MSCs derived-adipocytes there has been the significant expression of LPL.

Conclusions

BM-MSCs can differentiate into either adipocytes or osteoblastic cells; LPL has the important role in the differentiation decision for either one. The inhibition or stimulation of LPL expression can be used for the treatment of various diseases including prostate cancer, aplastic anemia, and osteoporosis.

Key words: Mesenchymal Stromal Cells, Adipocytes, Lipoprotein Lipase, Cell Differentiation

Received: 24 Sep 2015
Accepted: 30 Jan 2016

Correspondence: Mousavi Hosseini K., PhD in Medicinal Chemistry. Associate Professor of Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine.
P.O.Box: 14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 82052160; Fax: (+9821) 88601599
E-mail: *mkmousavi@yahoo.com*
Correspondence: Atashi A., PhD of Hematology & Blood Banking. Assistant Professor of Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University.
Postal Code: 14115-111, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 82883579; Fax: (+9821) 82884507
E-mail: *atashia@modares.ac.ir*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-14]