

## تجزیه و تحلیل مدل سازی همگرا از برهم کنش زیر مجموعه های $\alpha$ و $\beta$ توکسین شیگا با پروتئین های اینترفرون گاما، پروستاگلاندین سنتتاز ۲ و سدیم/گلوکز کوترانسپورتر به عنوان گامی در مهار سرطان

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۲۷ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۱۵

### خلاصه

**مقدمه:** با پیشرفت فناوری بیوانفورماتیک، اکنون می توان با سرعت بیشتری بر روی روش های نوین درمان سرطان مانند استفاده از توکسین های باکتریایی تحقیق کرد. در این مطالعه بیوانفورماتیکی، امکان اتصال زیرواحدهای توکسین شیگا (StxA و StxB) به پروتئین های اینترفرون گاما (IFNG)، پروستاگلاندین سنتتاز ۲ (PTGS2) و سدیم/گلوکز کوترانسپورتر (SGLT1) بررسی شد تا بتوان گامی در جهت مهار سرطان برداشت.

**روش کار:** توالی های ژنی از پایگاه NCBI استخراج شد. برای توالی یابی و مدل سازی ساختار سه بعدی پروتئین ها به ترتیب از پایگاه های اطلاعاتی SWISS-MODEL و jmol استفاده شد. اثر StxA و StxB بر پروتئین های IFNG، PTGS2 و SGLT1 با پایگاه ZDOCK با روش پهلوگیری مولکولی مورد ارزیابی قرار گرفت.

**نتایج:** ساختار سه بعدی پروتئین ها نشان داد که پروتئین StxA مونومر نمی باشد و StxB دارای ساختارهای صفحه ای است که موجب اتصال آن به سطح سلول می شوند. مارپیچ های آلفا و صفحات بتا در IFNG وجود دارد و این پروتئین مونومری فاقد ساختار سوم متقارن است. PTGS2 دارای ساختار کمپلکس و بزرگ متشکل از چندین مارپیچ آلفا و صفحه بتا است. در SGLT1 که پروتئینی غشاء گذر است، تنها مارپیچ های آلفا وجود داشت. میان کنش قابل توجهی بین پروتئین شیگا توکسین با هر سه پروتئین IFNG، PTGS2 و SGLT1 وجود دارد.

**نتیجه گیری:** یافته های این تحقیق افق جدیدی جهت مطالعات آزمایشگاهی اثر شیگا توکسین جهت بررسی توانایی تحریک سیستم ایمنی، کاهش رشد تومور و درمان سرطان با توجه به امکان اتصال آن به پروتئین های مؤثر در این روندها ارائه می دهد.

**کلمات کلیدی:** سرطان، شیگا توکسین، اینترفرون گاما، پروستاگلاندین سنتتاز ۲، سدیم/گلوکز کوترانسپورتر

**پی نوشت:** این مطالعه فاقد تضاد منافع می باشد.

هاله پرنیان نژاد<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>گروه میکروبیولوژی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

Email: haleh.parnian91@gmail.com

## مقدمه

سرطان از شایع‌ترین عوامل ایجاد کننده بیماری و مرگ و میر در سراسر جهان است (۱). شیمی درمانی، جراحی و پرتودرمانی روش‌های درمانی در دسترس برای سرطان هستند. داروهای متداول که در شیمی درمانی سلول‌های تقسیم کننده فعال را هدف قرار می‌دهند، اغلب به دلیل عدم تعیین مشخص سلول‌های سرطانی، به سلول‌ها و بافت‌های سالم آسیب می‌رسانند. از طرف دیگر، افزایش بیان آنزیم‌های سم زدا و ناقلین دارو اغلب منجر به مقاومت سلول‌های سرطانی در برابر شیمی درمانی می‌شود (۲). بنابراین، درمان‌های هدفمندی که به طور خاص بر روی سلول‌های سرطانی عمل می‌کنند، مورد نیاز است که فقط برای درمان سرطان یا به عنوان مکمل درمان، منجر به کاهش دوزهای درمانی داروهای ضد سرطان شوند (۳). در میان این روش‌های درمانی، درمان سرطان با عوامل باکتریایی یا محصولات آنها برای مهار رشد تومورها مورد توجه قرار گرفته است (۴).

در مقایسه با درمان‌های هدفمند سرطان، باکتری‌ها دارای جایگاه خاصی هستند که مربوط به ویژگی‌های منحصر به فرد آنها می‌باشد. تقریباً همه تومورها دارای فشار اکسیژن پایین یا هیپوکسی هستند و باکتری‌های بی‌هوازی و بی‌هوازی اختیاری این محیط را ترجیح می‌دهند. علاوه بر این، باکتری‌ها به آسانی قابل دستکاری بوده و از این طریق می‌توان بر محدودیت‌هایی که برای درمان‌های معمول سرطان وجود دارد غلبه کرد. همچنین برخلاف سایر درمان‌های معمول، درمان باکتریایی نفوذ مناسبی در بافت‌های توموری دارد. با این وجود، ایرادات درمان باکتریایی که مربوط به ماهیت توکسیک و بیماری‌زای برخی باکتری‌ها و نیز ناپایداری ژنتیکی آنهاست را نمی‌توان نادیده گرفت. به منظور غلبه بر این مشکلات تلاش‌های قابل توجهی انجام شده است که از آن جمله می‌توان به از بین بردن اختصاصی سلول‌های سرطانی با استفاده از باکتری‌های

مهندسی ژنتیک شده به عنوان وکتور در ژن درمانی، استفاده از توکسین‌های باکتریایی و اسپور باکتری‌ها، استفاده از باکتری‌ها به عنوان عوامل محرک سیستم ایمنی، تضعیف باکتری‌های بیماری‌زا، نیز به کار بردن هم‌زمان درمان‌های باکتریایی با درمان‌های دیگر هم‌چون شیمی‌درمانی و رادیوتراپی اشاره کرد (۵، ۶).

توکسین باکتریایی شیکاگو توسط باکتری‌های *Shigella dysenteriae*<sup>۱</sup> و *Shigella flexneri*<sup>۲</sup> تولید می‌شود. توکسین از طریق زیرواحد A به سطح سلول متصل می‌شود و سپس بخش آنزیماتیک خود (زیرواحد B) را به درون سیتوپلاسم منتقل کرده و از طریق غیرفعال کردن ریبوزوم‌ها سنتز پروتئین در سلول را مهار می‌کند (۷).

نقش اینترفرون گاما در مهار رگ‌زایی و درمان سرطان به اثبات رسیده است. به نظر می‌رسد که این پروتئین به عنوان شمشیر دولبه‌ای عمل می‌کند که قادر است هم تاثیر مهاری و هم تاثیر القایی بر رشد سرطان داشته باشد. بنابراین آنچه که در بیان این پروتئین در زمان ابتلا به سرطان مهم به نظر می‌رسد، بیان آن در مکان و زمان درست می‌باشد (۸).

مهارکنندگان کوترانسپورتر گلوکز/سدیم گروه جدیدی از عوامل ضد دیابت محسوب می‌شوند. این داروها بازجذب گلوکز را مهار می‌نمایند. مطالعات جدید گزارش کرده‌اند که مهارگران مذکور توانایی بالقوه‌ای در به تعویق انداختن رشد تومور در سلول‌هایی دارند که این مولکول را در سطح خود بیان می‌نماید (۹).

التهاب‌های مزمن مثل کولیت‌های زخمی یک فاکتور خطر برای انواع مختلف سرطان می‌باشند (۱۰). افزایش میزان سیکلواکسیژناز ۲ (Cox-2) میزان اسید آراشیدونیک آزاد داخل سلولی را پایین آورده و از آپتوز جلوگیری می‌کند (۱۱). افزایش میزان Cox-2 در سلول‌های ترانسفورم شده و اشکال مختلف سرطان نشان داده شده است (۱۲). در مطالعات اخیر، نقش قابل توجه

<sup>۲</sup> - *Escherichia coli*

<sup>۱</sup> - *Shigella dysenteriae*

## روش کار

**پایگاه های استخراج داده:** داده ها از پایگاه های uniprot kb (<http://www.uniprot.org/>) و NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>) استخراج شد. ژن های مستخرج شده شامل ژن های کد کننده زیر واحدهای A و B توکسین شیکا (Shiga toxin subunits A and B) با علامت های اختصاری *StxA* و *StxB*، ژن کد کننده اینترفرون گاما (Interferon gamma) با علامت اختصاری *IFNG*، ژن کد کننده پروستاگلاندین G/H سنتتاز (Prostaglandin G/H synthase 2) با علامت اختصاری *PTGS2* و ژن کد کننده مولکول انتقال دهنده هم زمان (کو ترانسپورتر) سدیم/گلوکز<sup>۱</sup> با علامت اختصاری *SGLT1* بود.

**دریافت داده های پروتئینی:** جهت دستیابی به فرمت *Protein data bank (PDB)* توالی های پروتئینی، از پایگاه اطلاعاتی *SWISS-MODEL* (<https://swiss-model.expasy.org>) استفاده شد.

**استخراج شکل سه بعدی پروتئین ها:** برای این منظور توالی پروتئین ها به صورت فایل *pdb* به پایگاه *jmol* (<http://jmol.sourceforge.net/>) وارد شد. سپس در همین پایگاه و در ساختار کریستالوگرافی پروتئین مورد نظر، نقشه رامانچاندرا ن مربوط به آن به دست آمد.

**دریافت فعل و انفعالات پروتئین-پروتئین:** کد *PDB* شیکا توکسین و پروتئین های واکنش دهنده با آن شامل *Interferon gamma* و *Prostaglandin G/H synthase 2* و *glucose cotransporter 1* وارد *ZDOCK server* (<http://zdock.umces.edu/>) شد و مدل های برتر داکینگ، موقعیت های مرکز توده ۵۰۰ لیگاند برتر و همچنین خروجی ۱۰ مدل برتر استخراج شد.

Cox-2 در بیان ایندول آمین ۲ و ۳ دی اکسیژناز ۱ (IDO1) نشان داده شده است که موجب عدم نفوذ سلول T در تومورها می شود (۱۳) و یا تولید آنتی بادی ضد ایست بازرسی<sup>۱</sup> را افزایش می دهد (۱۴). وقتی Cox-2 در رده های سلول سرطانی به میزان زیادی بیان می شود، تولید پروستاگلاندین ها افزایش یافته و در نتیجه قدرت مهاجمی سلول ها افزایش می یابد (۱۲). پروستاگلاندین ها در تحریک رشد سلولی دخالت دارند. شواهدی حاکی از افزایش رشد سلول های اپی تلیال توسط پروستاگلاندین وجود دارد (۱۵).

در مدل های همسانی، کیفیت یک مدل تا حد زیادی توسط فاصله تکاملی پروتئین مورد نظر (هدف) تا ساختارهای غالب موجود تعیین می شود. حساسیت ابزار برای تشخیص هومولوگ از راه دور با هویت توالی در سال های اخیر به دلیل توسعه الگوریتم های پیچیده به طور قابل توجهی افزایش یافته است. در نهایت، دقت یک مدل پروتئینی مناسب بودن آن را برای کاربردهای زیست پزشکی تعیین می کند. با این حال، در زمان مدل سازی کیفیت یک مدل مشخص نیست و باید پیش بینی شود. برای این منظور توابع امتیازدهی ایجاد شده است که ویژگی های مختلف ساختاری مدل های پروتئینی را به منظور تولید تخمین کیفیت ارزیابی می کند. بیشتر توابع امتیازدهی در درجه اول برای رتبه بندی مدل های جایگزین از همان توالی پروتئین طراحی شده اند (۱۶). مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرگذاری ساختار بخش های سم شیکا توکسین بر بیان ژن های اینترفرون گاما، پروستاگلاندین سنتتاز و سدیم/گلوکز کو ترانسپورتر به عنوان پروتئین های دارای ارتباط با سرطان از طریق پهلوگیری مولکولی (Molecular docking) انجام گردید.

<sup>2</sup> - Sodium/glucose cotransporter 1

<sup>1</sup> - anti-checkpoint antibodies

**دریافت اطلاعات تکمیلی در مورد ژن‌ها: برای این**

منظور از پایگاه اطلاعاتی

<https://www.wikigenes.org/app/WikiGene>

(WiKigenes) اطلاعاتی استفاده شد.

سدیم/گلوکز کوترانسپورتر مورد تحقیق قرار گرفته است. اطلاعات جامع این پروتئین‌ها در جدول ۱ ارائه گردیده است. در این جداول ژن کد کننده، عملکرد و ساختار پروتئین گزارش شده است. همچنین، نام فایل‌های ساختار سه بعدی پروتئین‌ها ارائه گردیده است که از پایگاه داده PDB به آدرس <https://www.rcsb.org> قابل استخراج است.

**نتایج****جستجوی توالی‌های ژنی:** در مطالعه حاضر ۴ پروتئین

شیگا توکسین، اینترفرون گاما، پروستاگلاندین و

**جدول ۱. مشخصات پروتئین‌های مورد بررسی**

نام پروتئین	نام ژن	عملکرد	ساختار	PDB
شیگاتوکسین (زیر واحد A)	STXA	گلیکوزیلاسیون	پپتید نشانه (۱-۲۲)، زیر واحد A (۲۳-۳۱۵)	1DM0, 1R4Q
شیگاتوکسین (زیر واحد B)	STXB	اتصال به گیرنده	پپتید نشانه (۱-۲۰)، زیر واحد B (۲۱-۸۹)	
اینترفرون گاما	IFNG	فعالیت به عنوان سایتوکاین	پپتید نشانه (۱-۲۳)، اینترفرون گاما (۱۶۶-۱۶۲)، پروپپتید (۱۶۶-۱۶۲)	1FG9, 1FYH, 1HIG, 3BES, 6E3K, 6E3L, 1V0X, 5F19, 5F1A, 5IKQ, 5IKR, 5IKT, 5IKV, 5KIR
پروستاگلاندین G/H سنتاز	PTGS2	تولید پروستاگلاندین	پپتید نشانه (۱-۱۷)، پروستاگلاندین سنتاز (۱۸-۶۰۴)	
سدیم/گلوکز کوترانسپورتر	SLC5A1	انتقال سدیم و گلوکز از غشاء سلول	۸ دامین توپولوژیک خارج سلولی، ۱۴ دامین غشاء گذر، ۶ دامین توپولوژیک سیتوپلاسمیک	2XQ2

نتایج هم ترازوی توالی‌های استخراج شده از پایگاه UniprotKB و NCBI در بانک ژنی نشان داد که طول توالی‌های پروتئینی شیگاتوکسین A، شیگاتوکسین B، اینترفرون گاما، پروستاگلاندین سنتاز و سدیم/گلوکز کوترانسپورتر سنتاز به ترتیب برابر با ۳۱۵، ۸۹، ۱۶۶، ۶۰۴ و ۶۶۴ اسید آمینه می‌باشند. همچنین، هر یک از پروتئین‌های اینترفرون گاما، پروستاگلاندین سنتاز و سدیم/گلوکز

کوترانسپورتر در ارتباط با رده‌های مورد نظر سلول‌های انسانی بررسی گردید. در جدول ۲ توالی هر یک از پروتئین‌های مورد بررسی در سلول‌های مورد مطالعه جستجو گردیده است. همچنین URL مختص داندول توالی هر یک از ژن‌ها از پایگاه داده Ensembl در جدول نشان داده شده است.

**جدول ۲. جستجوی پروتئین‌های مورد مطالعه در رده‌های سلولی**

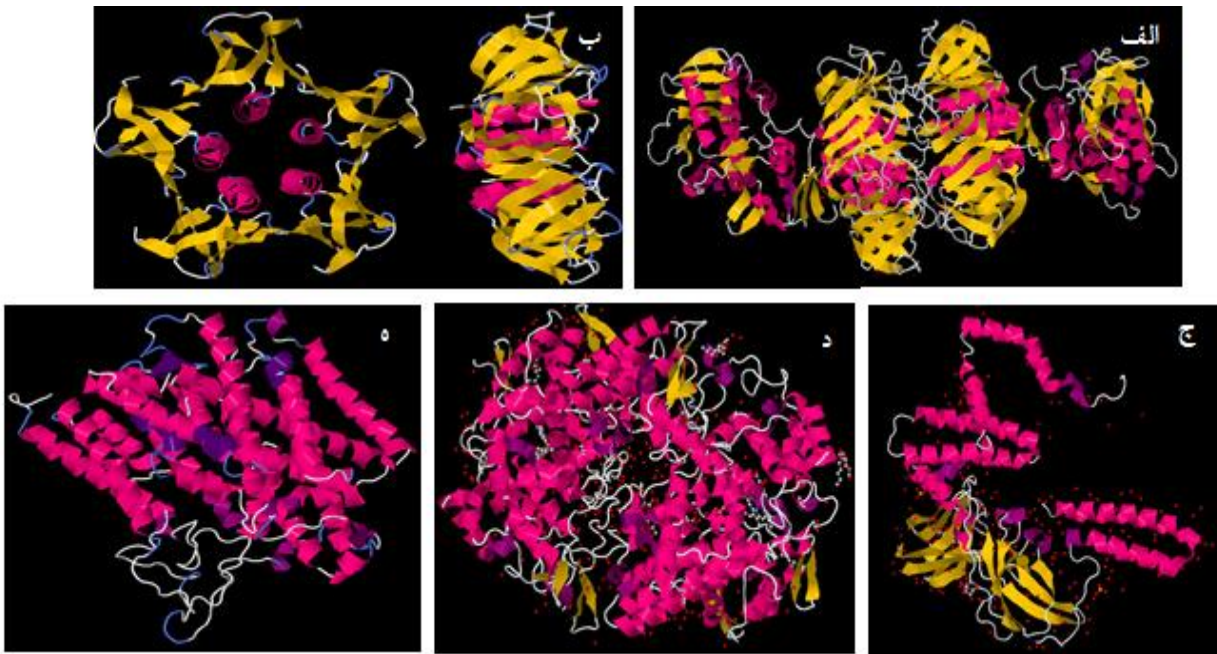
ژن مورد کاوش	IFNG	PTGS2	SLC5A1
شماره دسترسی ژن در Ensembl	<a href="https://www.ebi.ac.uk/ensembl/FASTA/FASTA?g=ENSG00000111537">ENSG00000111537</a>	<a href="https://www.ebi.ac.uk/ensembl/FASTA/FASTA?g=ENSG00000073756">ENSG00000073756</a>	<a href="https://www.ebi.ac.uk/ensembl/FASTA/FASTA?g=ENSG00000100170">ENSG00000100170</a>

## دستیابی به ساختمان سوم پروتئین

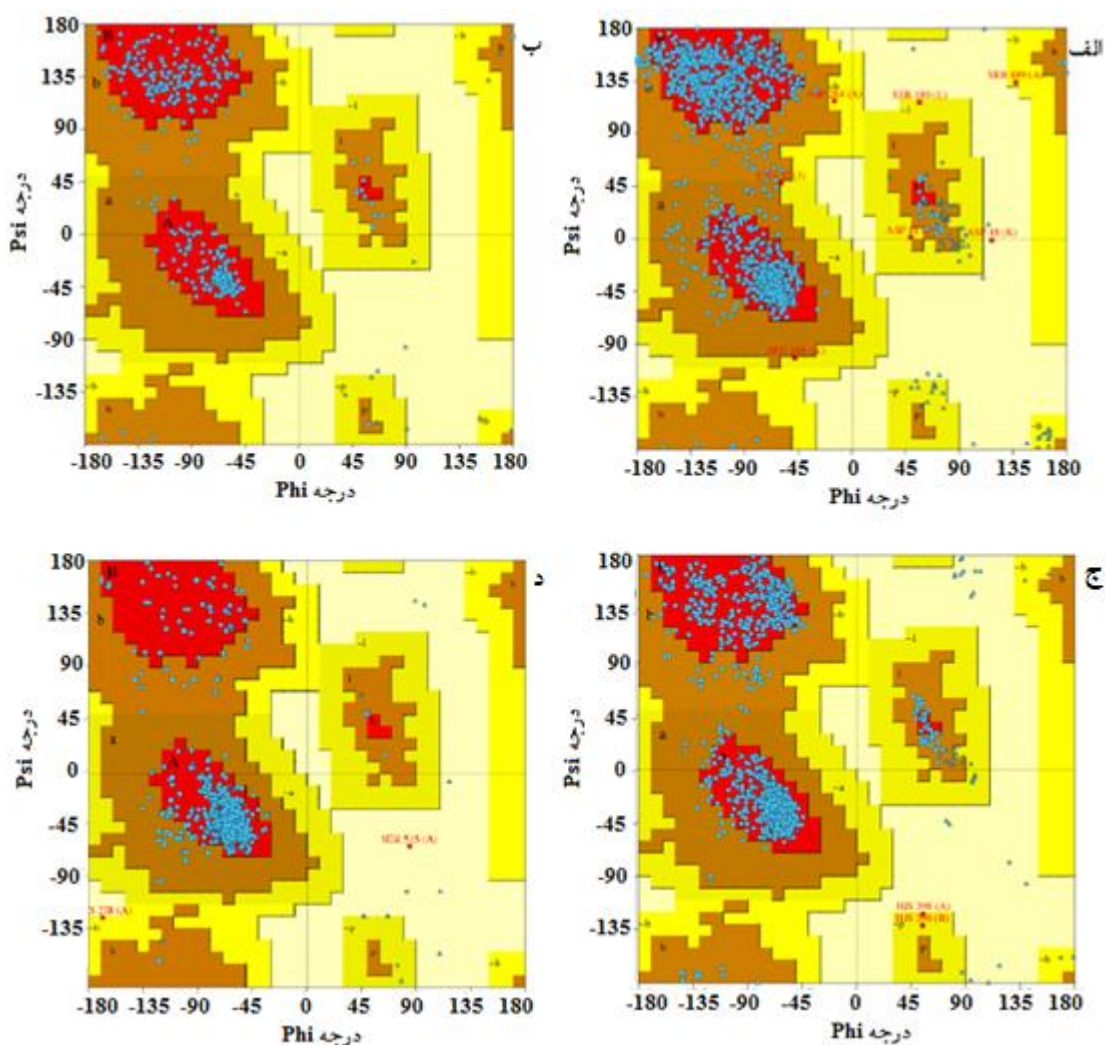
**شیگا توکسین:** نمایشی از فایل PDB شیگا توکسین A (با کد Q9FB12) استخراج شده توسط نرم افزار برخط Swiss Model در شکل ۱ (الف) ارائه گردیده است. ساختار سه بعدی متقارن پروتئین و نحوه میان کنش در مرکز شکل حاکی از آن است که پروتئین مونومر نمی باشد. همچنین فایل PDB شیگا توکسین B (با کد Q7BQ98) مدل سازی شده توسط نرم افزار برخط Swiss Model در شکل ۱ (ب) نشان داده شده است. ساختارهای صفحه‌ای در این پروتئین، اتصال توکسین را به سطح سلول‌ها مقدور می‌سازد.

**پروتئین‌های هدف توکسین:** در شکل‌های ۱ (ج) تا ۱ (ه) ساختار سه بعدی پروتئین‌های IFNG، PTGS2 و SGLT1 نشان داده شده است که با استفاده از توالی آمینواسیدی آنها (کد P01579 برای IFNG، P35354 برای

PTGS2 و 2xq2.1 برای SGLT1) گرفته شده از سرور Swiss model تهیه گردیده است. مارپیچ‌های آلفا و صفحات بتا در IFNG قابل مشاهده می‌باشد. این پروتئین فاقد ساختار سوم متقارن بوده و به صورت مونومر عمل می‌نماید. PTGS2 ساختاری کمپلکس و بزرگ حاصل از چندین مارپیچ آلفا و صفحه بتا است. پروتئین SGLT1 به سبب آنکه پروتئینی غشاء گذر است تنها از مارپیچ‌های آلفا تشکیل شده است. این مارپیچ‌ها به صورت متناوب عرض غشاء را طی نموده و ساختاری پروتئینی جهت تبادل سدیم و گلوکز ایجاد می‌نمایند. همچنین، ساختار کریستالوگرافی پروتئین‌های مورد بررسی با ترسیم نقشه رامانچاندرا مربوط به آن تأیید شد (شکل ۲). در این نقشه صفحات بتا و مارپیچ آلفا در ساختار پروتئین‌ها به ترتیب با رنگ‌های آبی و قرمز نشان داده شده‌اند.



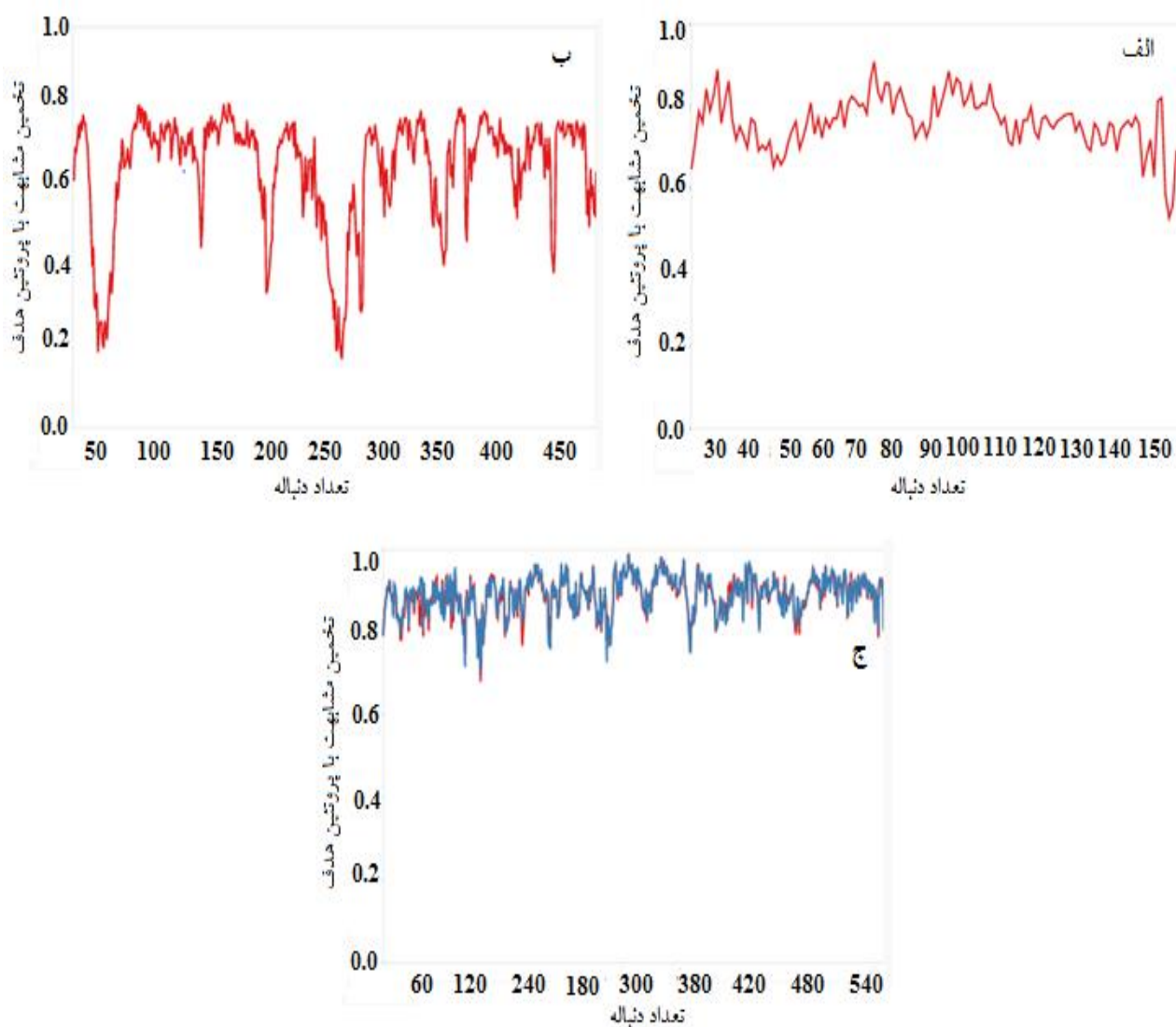
**شکل ۱.** ساختار سه بعدی پروتئین‌های مورد بررسی در فایل PDB تولید شده در مدلر Swiss Model. در این شکل ساختار دو بعدی پروتئین در قالب مارپیچ آلفا به رنگ قرمز و صفحات بتا به رنگ زرد نشان داده شده است. الف: STXA که پروتئین مونومری است. ب: STXB دارای ساختارهای صفحه‌ای-ای است. ج: IFNG که دارای مارپیچ‌های آلفا و صفحات بتا است. د: PTGS2 که کمپلکس بزرگ حاصل از چندین مارپیچ آلفا و صفحه بتا است. ه: SGLT1 که تنها از مارپیچ‌های آلفا تشکیل شده است.



**شکل ۲.** نتایج نقشه راماجاندرا. نقاط آبی نشان دهنده صفحات بتا و نقاط قرمز رنگ مربوط به مارپیچ آلفا است. الف: STX، در هر دو ناحیه بالا و پائین نقشه تعداد نقاط آبی بیشتر از قسمت‌های قرمز رنگ بوده که نشان دهنده غالب بودن صفحات بتا در این قسمت است. ب: IFNG، در هر دو ناحیه بالا و پائین نقشه رنگ آبی بیشتر از نقاط قرمز می‌باشد که نشان دهنده غالب بودن صفحات بتا در این ناحیه است. ج: PTGS2، در هر دو ناحیه بالا و پائین نقشه رنگ آبی بیشتر از نقاط قرمز می‌باشد که نشان دهنده غالب بودن صفحات بتا در این ناحیه است. د: SGLT1، در ناحیه پائین نقشه تعداد نقاط آبی بیشتر از قسمت‌های قرمز رنگ بوده که نشان دهنده غالب بودن صفحات بتا در این قسمت است و در ناحیه بالا که رنگ قرمز بیشتر از نقاط آبی می‌باشد نشان دهنده غالب بودن آلفا هلیکس‌ها در این ناحیه است.

مورد پروتئین IFNG و SLC5A1 نوسانات بالاتر از ۰/۶ از خط نمودار بود که نشان دهنده شباهت اسیدآمین‌های هر نقطه از مدل ساخته شده با الگو است (شکل‌های ۳ الف و ب). در مورد پروتئین PTGS2 نمودار نزدیک به ۰/۸ است که نشان دهنده شباهت زیاد اسیدآمین‌های هر نقطه از مدل ساخته شده با الگو است (شکل ۳ ج).

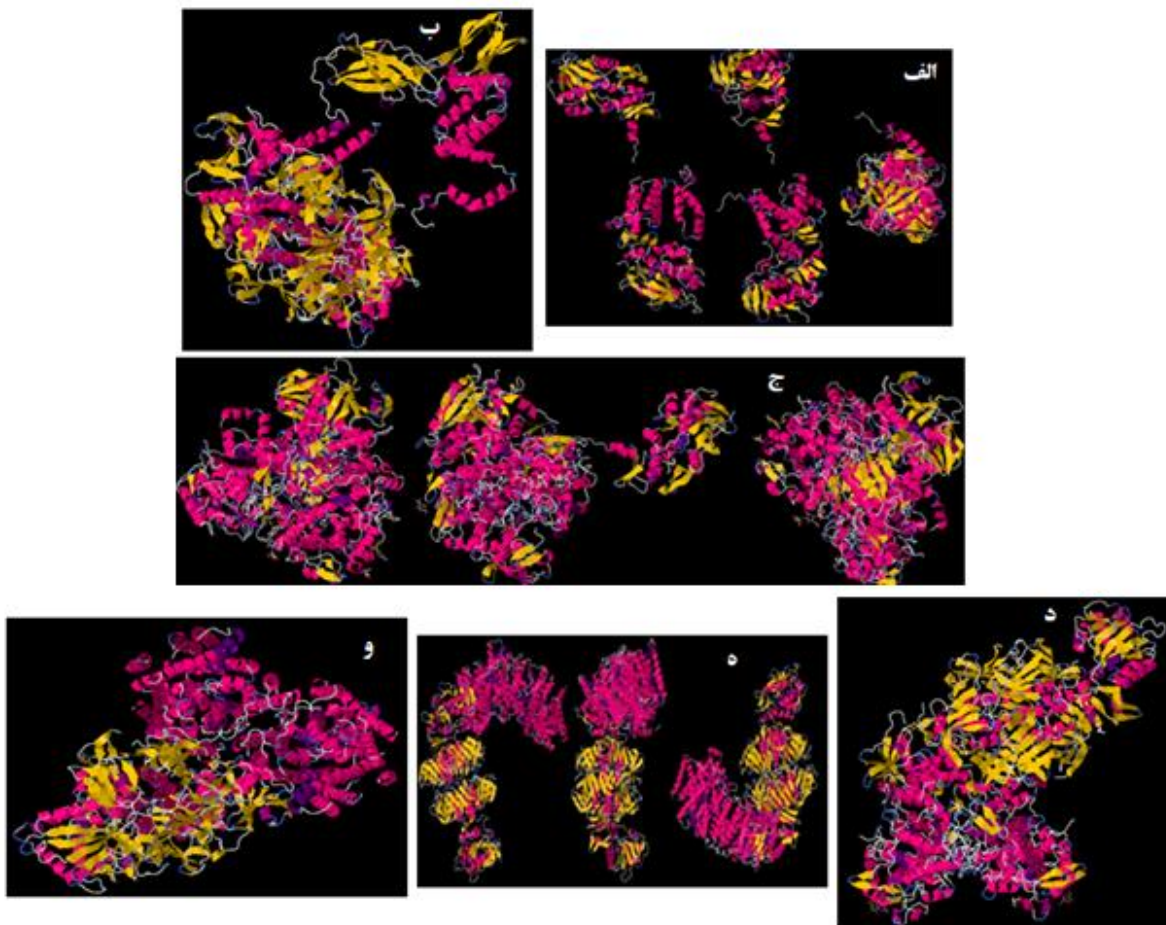
در نمودار مقایسه کیفیت، به مقایسه شباهت ساختاری اسیدآمین‌ها هر قسمت از مدل ساخته شده با مدل الگو می‌پردازد. این شباهت بین صفر تا یک است که عدد یک، شباهت و عدد صفر عدم شباهت را نشان می‌دهد. تا وقتی که نوسانات خط نمودار بالای ۰/۶ باشد، نشان دهنده شباهت اسیدآمین‌های هر نقطه از مدل ساخته شده با الگو است. در



شکل ۳. نمودار مقایسه کیفیت مربوط به پروتئین های IFNG، SLC5A1 و PTGS2. عدد یک، شباهت و عدد صفر عدم شباهت

پروتئین پروستاگلاندین سنتاز می باشد. (شکل ۴ ج، د). نتایج بررسی میان کنش بین دو پروتئین شیگا توکسین و سدیم/گلوکز کوترانسپورتر نشان دهنده تأثیرگذار بودن توکسین مذکور بر ساختار و عملکرد پروتئین سدیم/گلوکز کوترانسپورتر می باشد. (شکل ۴ ه، و).

نتایج حاصل از داکینگ پروتئین ها : نتایج بررسی میان کنش بین دو پروتئین شیگا توکسین و اینترفرون گاما توسط سرور ZDOCK در نرم افزای Jmol نشان دهنده تأثیرگذار بودن توکسین مذکور بر ساختار و عملکرد پروتئین اینترفرون گاما می باشد (شکل ۴ الف، ب). نتایج بررسی میان کنش بین دو پروتئین شیگا توکسین و پروستاگلاندین سنتاز نشان دهنده تأثیر گذار بودن توکسین مذکور بر ساختار و عملکرد

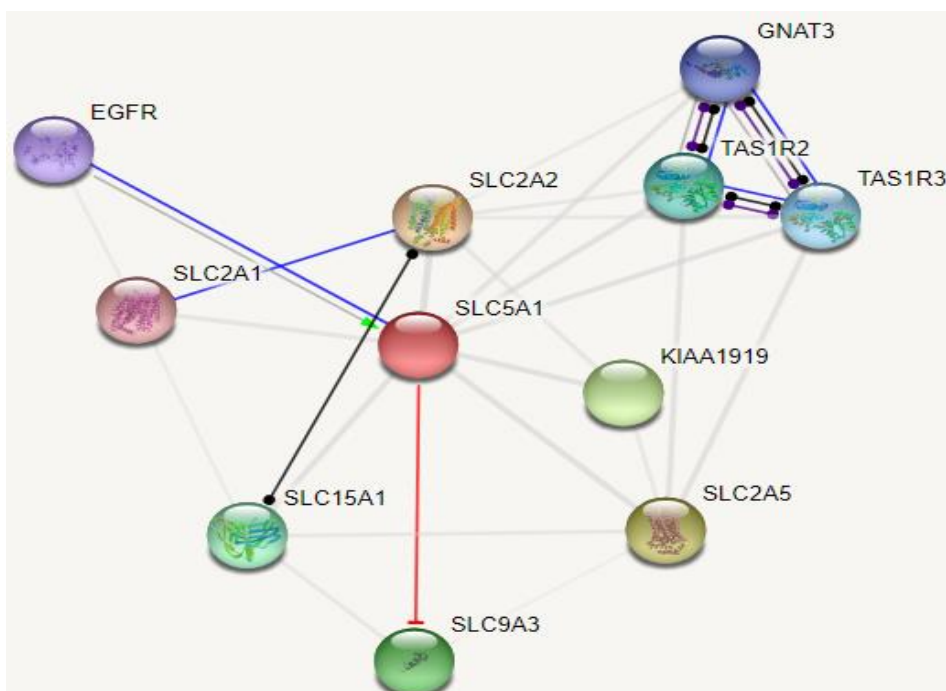


**شکل ۴.** نتیجه داکینگ زیر واحد A شیگا توکسین با اینترفرون گاما (الف)، نتیجه داکینگ زیر واحد B شیگا توکسین با اینترفرون گاما (ب)، نتیجه داکینگ زیر واحد A شیگا توکسین با پروستاگلاندین سنتاز (ج)، نتیجه داکینگ زیر واحد B شیگا توکسین با پروستاگلاندین سنتاز (د) نتیجه داکینگ زیر واحد A شیگا توکسین با سدیم/گلوکز کوترانسپورتر (ه)، نتیجه داکینگ زیر واحد B شیگا توکسین با سدیم/گلوکز کوترانسپورتر (و) در فایل PDB تولید شده توسط ZDock

نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که سدیم گلوکز کوترانسپورتر با پروتئین‌ها نشان داده شده با هم برهم کنش دارند. همچنین این پروتئین‌ها عملکرد مشابه دارند.

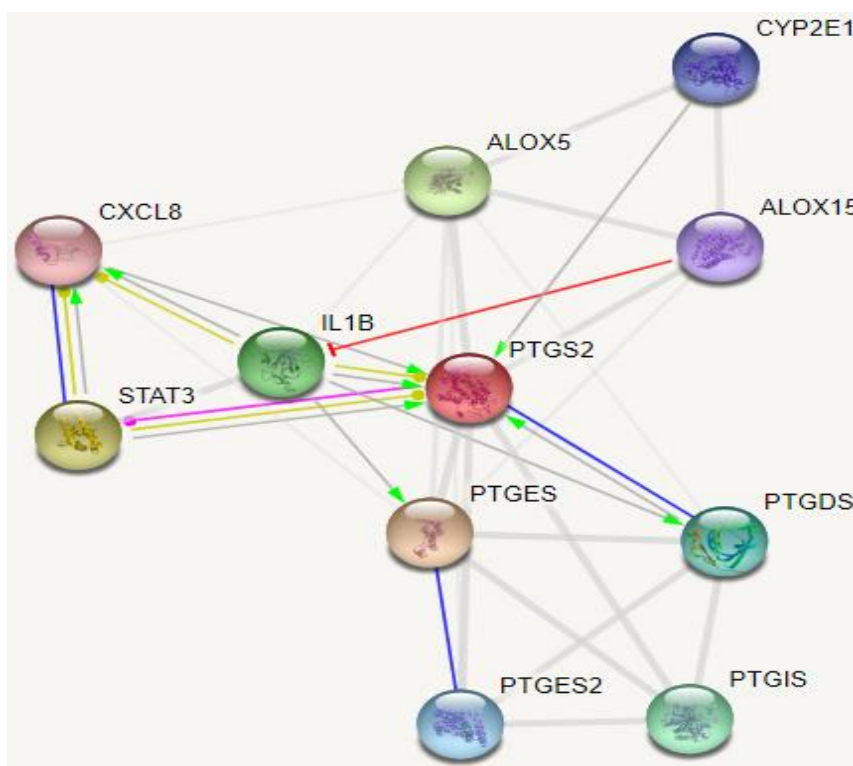
**برهم کنش مولکول‌های گیرنده پروتئین: شکل ۵** نتایج استرینگ حاصل از سدیم گلوکز کوترانسپورتر با مولکول‌های قابل اتصال به سدیم گلوکز کوترانسپورتر را





شکل ۵. استرینگ سدیم/گلوکز کوترانسپورتر

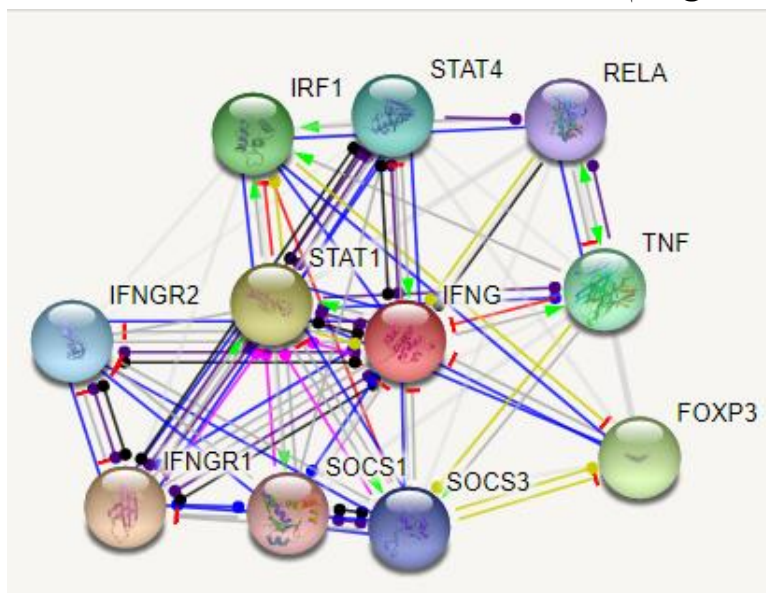
نتایج ارائه شده در شکل ۶ نشان می دهد پروستاگلاندین با CXCL8 یا همان اینترلوکین ۸ باهم برهم کنش داشته و در ارتباط با یکدیگر می باشند.



شکل ۶. استرینگ پروستاگلاندین مولکول های قابل اتصال به پروستاگلاندین با ارزش بالا

نشان می‌دهد که پروتئین‌ها بدون اتصال به یکدیگر می‌توانند دارای عملکرد مشترک باشند.

در شکل ۷ نتایج شبکه برهم کنش استرینگ پروتئینی حاصل نشان می‌دهد که پروتئین اینترفرون گاما با TNF و STAT4 در تعامل هستند. نتایج برهم کنش بین پروتئین‌ها



شکل ۷. استرینگ اینترفرون گاما

مهار اینترفرون گاما و گیرنده آن و نیز شاهراه سیگنال‌دهی آن در برخی از بدخیمی‌ها می‌تواند گزینه درمانی نوید بخشی باشد (۱۷). در مطالعه حاضر میان کنش شیگا توکسین به عنوان داروی پیشنهادی مورد بررسی، با اینترفرون گاما به روش بیوانفورماتیکی مورد بررسی قرار گرفت. شیگا توکسین میان کنش خوبی را با پروتئین اینترفرون گاما برقرار نمود. این بدان معناست که با استفاده از توکسین شیگا می‌توان اینترفرون گاما را به سمت سلول‌های سرطانی هدایت نمود. جهت تکمیل مطالعات گسترده تر *in vitro* پیشنهاد می‌گردد. از طرف دیگر مطالعات *in vitro* نشان می‌دهد اینترفرون گاما می‌تواند اثر مهاری بر روی سایتو توکسیسیته توکسین شیگا داشته باشد (۱۸). به همین دلیل می‌توان تحلیل کرد که اثر متقابل این دو پروتئین، ضمن هدایت اینترفرون‌ها به سمت سلول‌های سرطانی، مانع اعمال اثر سمی توکسین بر سلول‌های سالم می‌شود.

## بحث

در مطالعه حاضر تلاش شد تا با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی، میان کنش توکسین شیگا با اینترفرون گاما که در بسیاری از پروتکل‌های ایمونوتراپی سرطان مورد استفاده قرار می‌گیرد، پروستاگلاندین سنتاز که یکی از آنزیم‌های اصلی مسیر تولید برخی از انواع پروستاگلاندین‌ها می‌باشد و کوترانسپورتر گلوکز/سدیم که در به تعویق انداختن رشد تومور در سلول‌ها نقش دارد، به روش بیوانفورماتیکی و از طریق ابزارهای *in silico* مورد کاوش قرار گیرد.

تأثیر ضدسرطانی اینترفرون گاما به اثبات رسیده است، به نحوی که در بسیاری از فرایندهای درمانی سرطان، خط مقدم درمان‌ها قرار گرفته است. به عنوان مثال، در مطالعه انجام شده در توسط زایدی و مرلینو<sup>۱</sup> (۲۰۱۱) اشاره شده است که نوع میانکنش اینترفرون گاما با سلول‌های سرطانی وابسته به زمینه سلولی، مولکولی و محیطی سرطان می‌باشد. به نحوی که

<sup>1</sup> - Zaidi & Merlino

کاهش داده و سطح آنتی ژن های کارسینوما بیونیک یا آنتی-ژن های مشترک بین سلول های سرطانی و سلول های جنینی، که نشان دهنده عدم تمایز سلول های سرطانی است را می-کاهد. به عبارت دیگر، داروهای مذکور قادر خواهند بود که علاوه بر کنترل رشد سلول های سرطانی کلون متاستاز دهنده به کبد، تمایز آن ها را افزایش داده و میزان متاستاز را کاهش دهند (۲۱). یافته های مطالعات مذکور توسط کتو و همکاران<sup>۵</sup> (۲۰۱۹) در مدل های موشی تأیید گردید (۲۲).

مطالعات متعددی پتانسیل ضد سرطانی شیگاتوکسین را مورد کاوش قرار داده اند. پیشنهاد شده است که شیگاتوکسین می تواند درمان سرطان را از طریق مهار ترکیب گلیکواسفنگولیپید گلوبوتری اسیل سرامید (Gb3) که به میزان زیادی در بافت های سرطانی بیان شده و در سلول های نرمال بیان محدود شده ای را دارا می باشد، به انجام رساند (۲۳). این پیشنهاد بر روی بیماران دارای تومورهای هماتولوژیک مانند لنفومای فولیکولار، مالتیپل میلوما، لوسمی لنفوسایتیک مزمن مورد آزمون قرار گرفته و تأیید گردیده است (۲۴). در مطالعه انجام شده توسط فستر و همکاران<sup>۶</sup> (۲۰۰۰) نشان داده شد که شیگاتوکسین می تواند از طریق تولید فاکتور نکروز کننده تومور (TNF) آپوپتوز در سلول های سرطانی را افزایش دهد (۲۵). در مطالعه انجام شده توسط اینگدال و همکاران<sup>۷</sup> (۲۰۱۱) توانایی شیگاتوکسین در ترکیب با داروهای مورد استفاده در درمان هدفمند سرطان، برای مقابله با سلول های سرطانی به اثبات رسید. در این مطالعه تأثیر شیگاتوکسین از طریق کاهش Gb3 مقادیر گزارش گردیده است (۲۶). نتایج مطالعه حاضر گویای این واقعیت است که میان کنش مؤثری بین توکسین و آنزیم روستاگلاندین G/H سنتاز قابل رخداد و پیش بینی است و این توکسین می تواند داروی مؤثری در درمان سرطان باشد.

واضح است که با محدود کردن منابع غذایی سلول ها می توان رشد و تکثیر آن ها را مهار نمود. خوشبختانه سلول-های سرطانی نیز از این قاعده مستثنی نیستند (۱۹). در مطالعه حاضر میانکنش شیگاتوکسین با کوترانسپورتر سدیم/گلوکز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مدلینگ پروتئین SGLT و نیز داکینگ کردن آن با پروتئین شیگاتوکسین نشان دهنده میان-کنش مناسب این دو پروتئین با یکدیگر می باشد. جهت تکمیل مطالعات گسترده تر *in vitro* پیشنهاد می گردد. در مطالعه انجام شده توسط کاجی و همکاران<sup>۱</sup> در سال ۲۰۱۸ تأثیر مهارکنندگان ترانسپورتر مذکور در سلول های سرطان کبد مورد کاوش قرار گرفت. تأثیر این مهار بر روی رشد و پیشرفت سلول های سرطان کبد منفی گزارش گردید. محققان مذکور نتیجه گیری نمودند که درمان مبتنی بر مهار SGLT درمانی بالقوه و نوید بخشی در مدیریت سرطان هپاتوسلولار کبد می باشد (۹). رشد سرطان مستلزم در اختیار قرار گیری مقادیر بالایی از گلوکز خواهد بود. در مطالعه انجام شده توسط اسکا فگلیو و همکاران<sup>۲</sup> در سال ۲۰۱۵ به منظور کاهش میزان برداشت قند توسط سلول های سرطانی، نوع فعال انتقال گلوکز که توسط SGLT ها به انجام می رسد، توسط داروی آلفا متیل ۴- داکسی ۴- فلئورو دی گلو کوپیرانوزید مهار گردید. نتایج بررسی ها نشان داد که این فقدان منابع غذایی تکثیر سلول های سرطانی پروستات و پانکراس را مهار می نماید. محققان مذکور پیشنهاد نمودند که با تجویز داروها و مواد غذایی مهار کننده SGLT بقا و زیست پذیری سلول های سرطان پانکراس و پروستات قابل کنترل خواهد بود (۲۰). همچنین در مطالعه انجام شده توسط آبارا و همکاران<sup>۳</sup> در سال ۲۰۱۷ نشان داده شد که مهار کوترانسپورتر سدیم/گلوکز در کنار استفاده از داروی ستوکسیماب<sup>۴</sup> به طور معناداری اندازه تومور کلون متاستاز دهنده به کبد را

<sup>5</sup> - Kato et al

<sup>6</sup> - Foster et al

<sup>7</sup> - Engedal et al

<sup>1</sup> - Kaji et al

<sup>2</sup> - Scafoglio et al

<sup>3</sup> - Obara et al

<sup>4</sup> - Cetuximab

**نتیجه گیری**

در مطالعه حاضر پتانسیل درمانی احتمالی شیگا توکسین در سرطان‌ها با مهار پروتئین‌های اینترفرون گاما، پروستاگلاندین G/H سنتاز، و نیز کوترانسپورتر سدیم/گلوکز مورد اثبات قرار گرفت. ایجاد میان‌کنش مؤثر بین شیگا توکسین و پروتئین‌های مورد بررسی و گروه‌های دیگر پروتئین‌های مؤثر بر سرطان، می‌تواند نوید بخش اثر بر فعالیت این پروتئین‌ها باشد و منجر به تولید دارویی طبیعی از توکسین مورد نظر جهت مدیریت و کنترل انواع سرطان‌ها

شود. جهت تکمیل این مطالعه، مطالعات گسترده تر *in vitro* پیشنهاد می‌گردد.

**تشکر و قدردانی**

نویسنده این مقاله از جناب آقای دکتر علی اصغر رستگاری به دلیل راهنمایی‌های ارزنده ایشان کمال تشکر و امتنان را دارد.

**References**

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. 2015. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 136: E359-86. [Link](#)
2. Raguz, S., Yagüe, E., 2008. Resistance to chemotherapy: new treatments and novel insights into an old problem. *Br J Cancer*. 99(3): 387. [Link](#)
3. Kaur, S., Kaur, S., 2015. Bacteriocins as potential anticancer agents. *Front Pharmacol* 6, 272. [Link](#)
4. Zitvogel L., Daillere R., Roberti MP., Routy B., Kroemer G. Anticancer effects of the microbiome and its products. *Nat Rev Microbiol*. 2017; 15(8): 465. [Link](#)
5. Sai L, Xiaoping X, Xin Z, Longjiang L, Qianmimng C, Jing L. Tumor-targeting bacterial therapy: A potential treatment for oral cancer. *Rev Onc Let* 2014; 8(6): 2359-2366. [Link](#)
6. Reiter Y. Recombinant immunotoxins in targeted cancer cell therapy. *Adv Cancer Res* 2001; 81: 93-124. [Link](#)
7. O'Brien AD, Tesh VL, Donohue-Rolfe A, Jackson MP, Olsnes S, Sandvig K, Lindberg AA, Keusch GT. Pathogenesis of Shigellosis Shiga toxin. Berlin: Springer: 1992. P. 65-94. [Link](#)
8. Ni L, Lu J. Interferon gamma in cancer immunotherapy. *Cancer Med* 2018; 7(9): 4509-16. [Link](#)
9. Kaji K, Nishimura N, Seki K, Sato S, Saikawa S, Nakanishi K, et al. Sodium glucose cotransporter 2 inhibitor canagliflozin attenuates liver cancer cell growth and angiogenic activity by inhibiting glucose uptake. *Int Jo Cancer* 2018; 142(8): 1712-22. [Link](#)
10. Grivennikov SI. Inflammation and colorectal cancer: colitis-associated neoplasia. *Semin Immunopathol* 2013; 35(2): 229-244. [Link](#)
11. Bakhle YS. Cox-2 and cancer: a new approach to an old problem. *British J Phamacol* 2001; 134: 1137-50. [Link](#)
12. Dannenberg AJ, Altork NK, Boyle JO, Dang C, Howe LR, weksler BB, et al. 2001. Cyclooxygenase 2: a pharmacological target for the prevention of cancer. *Lancet Oncol* 2: 544-51. [Link](#)
13. Hennequart M, Pilote L, Cane S, Hoffmann D, Stroobant V, Plaen E, et al. Constitutive IDO1 expression in human tumors is driven by cyclooxygenase-2 and mediates intrinsic immune resistance. *Cancer Immunol Res* 2017; 5: 695-709. [Link](#)
14. Zelenay S, Van Der Veen A G, Bottcher JP, Snelgrove KJ, Rogers N, Acton SE, et al. Cyclooxygenase-dependent tumor growth through evasion of immunity. *Cell* 2015; 162: 1257-1270. [Link](#)
15. Singh B, Lucci A. Role of cyclooxygenase-2 in breast cancer. *Surg Res* 2002; 108: 173-79.
16. Macindoe G, Mavridis L, Venkatraman V, Devignes MD, Ritchie DW. HexServer: an FFT-based protein docking server powered by graphics processors. *Nucleic Acids Res* 2010; 38(suppl\_2): W445-9. [Link](#)
17. Zaidi MR, Merlino G. The two faces of interferon- $\gamma$  in cancer. *Clin Cancer Res* 2011; 17(19): 6118-24. [Link](#)
18. Yoshida T, Sugiyama T, Koide N, Mori I, Yokochi T. Human microvascular endothelial cells resist Shiga toxins by IFN- $\gamma$  treatment in vitro. *Microbiol* 2003; 149(9): 2609-14. [Link](#)
19. Barczak K, Palczewska-Komsa M, Nowicka A, Chlubek D, Buczkowska-Radlińska J. Analysis of the activity and expression of cyclooxygenases COX1 and COX2 in THP-1 monocytes and macrophages cultured with biodentine TM silicate cement. *Int J Mol Sci* 2020; 21(6): 2237. [Link](#)

20. Scafoglio C, Hirayama BA, Kepe V, Liu J, Ghezzi C, Satyamurthy N, et al. Functional expression of sodium-glucose transporters in cancer. *Proc Natl Acad Sci* 2015; 112(30): E4111-E9. [Link](#)
21. Obara K, Shirakami Y, Maruta A, Ideta T, Miyazaki T, Kochi T, et al. Preventive effects of the sodium glucose cotransporter 2 inhibitor tofogliflozin on diethylnitrosamine-induced liver tumorigenesis in obese and diabetic mice. *Oncotarget* 2017; 8(35): 58353. [Link](#)
22. Kato J, Shirakami Y, Ohnishi M, Mizutani T, Kubota M, Sakai H, et al. Suppressive effects of the sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor tofogliflozin on colorectal tumorigenesis in diabetic and obese mice. *Oncol Rep* 2019; 42(6): 2797-805. [Link](#)
23. Oloomi M, Bouzari S, Arshadi M. N-terminus leader sequence of shiga toxin (Stx) 1 is essential for production of active recombinant protein in *E. coli*. *Protein Pept Lett* 2018; 13(5): 509-512. [Link](#)
24. Gariépy J. The use of Shiga-like toxin 1 in cancer therapy. *Crit Rev Oncol Hematol* 2001; 39(1-2): 99-106. [Link](#)
25. Foster GH, Armstrong CS, Sakiri R, Tesh VL. Shiga toxin-induced tumor necrosis factor alpha expression: requirement for toxin enzymatic activity and monocyte protein kinase C and protein tyrosine kinases. *Infect Immun* 2000; 68(9): 5183-9. [Link](#)
26. Engedal N, Skotland T, Torgersen ML, Sandvig K. Shiga toxin and its use in targeted cancer therapy and imaging. *Microbial Biotechnol* 2011; 4(1): 32-46. [Link](#)

## Original Article

# Homology modeling analysis of the effect of $\alpha$ and $\beta$ subunits of the interaction of Shiga toxin with Interferon gamma, Prostaglandin G/H synthase 2, and Sodium/ glucose cotransporter 1 proteins as a step for cancer suppression

Received: 18/07/2021 - Accepted: 22/04/2022

Haleh Parniannejad<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology,  
Falavarjan Branch, Islamic Azad  
University, Isfahan, Iran

Email:  
haleh.parniyan91@gmail.com

### Abstract

**Introduction:** With of bioinformatics technology advancement, new methods of cancer treatment, such as the use of bacterial toxins, can now be explored more rapidly. In the present bioinformatics study, the probable attachment of Shiga toxin subunits to Interferon gamma (IFNG), Prostaglandin G/H synthase 2 (PTGS2), and Sodium/ glucose cotransporter 1 (SGLT1) was investigated to take a step towards cancer suppression.

**Materials and Methods:** The gene sequences were extracted from NCBI database. SWISS-MODE and jmol databases were used to detect the sequence and model the three-dimensional structure of proteins, respectively. The effect of StxA and StxB on IFNG, PTGS2 and SGLT1 proteins was evaluated with ZDOCK data base.

**Results:** Three-dimensional structure of proteins showed that the StxA protein was not a monomer, and that StxB had flat structures that bound it to the cell surface. Alpha helices and beta sheets are present in IFNG, and this monomeric protein lacks a symmetric tertiary structure. PTGS2 has a large complex structure consisting of several alpha helices and a beta sheet. In SGLT1, which is a transmembrane protein, only alpha helices were seen. There is a significant interaction between Shiga toxin protein and all three proteins IFNG, PTGS2 and SGLT1 by the method of molecular docking.

**Conclusion:** Findings of this study provide a new dedication for laboratory studies of the effect of Shiga toxin to evaluate its ability to stimulate the immune system, reduce tumor growth and treat cancer according to its ability to attach to the proteins which are effective in these processes.

**Key words:** Cancer, Shiga toxin, Interferon gamma, Prostaglandin G/H synthase 2, Sodium/ glucose cotransporter 1.

**Acknowledgement:** There is no conflict of interest