

Review Paper

The Role of Toll-Like Receptors in Breast Cancer



Negin Nokhandani¹ , Mahdiah Naghavi-Alhosseini² , *Homa Davoodi³

1. Laboratory Sciences Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran.
2. Department of Immunology, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran.
3. Cancer Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran.



Citation Nokhandan N, Naghavi-Alhosseini M, Davoodi H. The Role of Toll-Like Receptors in Breast Cancer. The Journal of Qazvin University of Medical Sciences. 2019; 23(3):262-277. <https://doi.org/10.32598/JQUMS.23.3.262>

<https://doi.org/10.32598/JQUMS.23.3.262>



Received: 28 May 2019

Accepted: 16 Jul 2019

Available Online: 01 Aug 2019

ABSTRACT

Breast cancer is highly prevalent worldwide. Treatment of this disease is a major global public health problem; therefore, numerous studies have explored new molecular profile helping for breast cancer therapy. Different risk factors are attributed to breast cancer; however, chronic inflammation and immune regulation are highly essential. Various molecules impact this context, including toll-like receptors (TLRs), which are mainly expressed on the membrane of different immune cells and trigger pro-inflammatory responses. Of note, expressing these receptors, as well as inhibiting their functions lead to different and remarkable results in patients with breast cancer. More specifically, TLRs can induce the apoptosis of cancerous cells, expression of adhesion molecules, metastasis, and cytokine profile change. Therefore, evaluating new therapies and various factors, including demographic characteristics, nutrition, colonized microbial flora, and immune regulatory molecules in breast cancer patients is essential. Such information helps to improve our understanding of this disease and assists scientists to find effective therapies in the future. The content of this article is a review of 128 articles, published in prestigious international journals. Search in Google Scholar, PubMed, Scopus, and Science Direct were conducted using keyword combinations of "Breast cancer and Toll-like receptor". This review article is an overview of the role of TLRs in the treatment and progression of breast cancer. According to various research studies, TLRs can significantly affect the progression, metastasis, and treatment of breast cancer.

Keywords:

Breast cancer, Toll-like receptors

Extended Abstract

1. Introduction

Cancer is a significant cause of death worldwide. According to the world health organization (WHO) report in 2018, the highest incidence and mortality rates of cancer is attributed to lung, breast, colon, prostate, and gastric types [3]. Breast cancer is among the most preva-

lent cancers in the world as well as in Iran. Furthermore, its incidence has dramatically grown in all countries and particularly among women aged >50 years. Numerous factors contribute to cancer development, like the immune system. toll-like receptors (TLRs) are important immune system receptors and a member of the family of pattern recognition receptors. TLRs that have been recently considered and well-documented, significantly affect the immune system, inflammatory responses, and the tumorigenesis of breast

* Corresponding Author:

Homa Davoodi

Address: Cancer Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran.

Tel: +98 (71) 32452651

E-Mail: homdavoodi@yahoo.com

cancer [22, 23]. In this review, we investigated the TLRs role in breast cancer tumorigenesis and development.

2. Materials and Methods

In this review, we considered the latest information on the role of TLRs in breast cancer in PubMed, Google Scholar, and Science Direct databases in 2019. We used a combination of the keywords such as "TLR receptor", "breast cancer", and "breast cancer and TLR receptor".

3. Results

Extensive evidence demonstrated that TLRs are linked to innate and acquired immunity; thereby, the binding of TLRs ligands to the receptors will ignite inflammatory responses. Furthermore, this family contains at least 10 members in humans and 13 in mice, which has been extensively studied according to the investigation of the role of 2, 3, 5, 6, 7, 8, and 9 in breast cancer [14, 15]. Among these receptors, TLRs 1 and 10 were less studied in cancer. The effect of TLR4 in breast cancer has mainly been studied. These receptors are expressed by immune cells, including dendritic cells and macrophages; thus, they specifically bind to pathogen-association molecular patterns (PAMPs) and damage-association molecular patterns (DAMPs), as well as elicit immune responses [9, 10]. When the TLR detects the PAMPs, they activate intracellular signaling cascades through a set of adapters [10, 26]. The expression of TLR has demonstrated its association with the tumorigenesis of breast cancer. Different breast cancer cell lines may express one or more different TLRs on their membrane.

Various studies have revealed that the expression of 2, 3, 5, 6, 7, 8, and 9 TLRs have dichotomous manner [33, 36-40]. In one hand, they mediate the growth, tumor growth, and cancer development. On the other hand, they inhibit and prevent breast cancer. Researchers have found that polymorphisms in TLR genes may be associated with breast cancer in some cases. Furthermore, these polymorphisms in these genes can increase or decrease breast cancer risk. The deletion of 22 nucleotides (174-196) of the TLR2 gene and Asp299Gly polymorphism in the TLR4 gene increases the risk of breast cancer [79-81].

A large body of evidence indicated that inflammation related-TLRs are associated with tumorigenesis and metastasis [24, 25]. TLRs enhance metastasis in breast cancer by regulating the expression of integrin's genes. TLR4 gene is also silent in the mouse models of breast cancer and consequently promotes tumor progression and metastasis to the lung. Previous studies reported that TLRs could induce apoptosis in breast cancer through various processes. TLR4-expressing

tumor cells increase inflammation, tumor growth, invasive phenotype, and metastasis in tumor cells, and enhance the expression of anti-apoptotic genes, such as Bcl-2, XIAP, and Bcl-XL that eventually promote metastasis [96, 97].

The other TLRs directly induce apoptosis in the MCF-7 breast cancer cell line through IFN-1 and IRAK4 signaling [52]. The TLRs-induced inflammatory signals increase the expression of cytokines and chemokines; thereby, produce TH17 lymphocyte cells by tumor cells. TLRs activation increase NF- κ B activity and the phosphorylation of TAK1 and I κ B α ; consequently, it leads to the secretion of IL-6 and TGF- β cytokines in breast cancer [44, 101, 102]. TLRs can express IL-6 and IL-8 in breast cancer cell lines. Interestingly, TLRs are of the critical targets in cancer immunotherapy. Flagellin, a TLR5 agonist, induces autophagy in breast cancer cells, which requires autophagy factor MAP1S to prevent tumor cells' proliferation. The flagellin-TLR5 pathway significantly affects flagellar tumor suppression [114].

Furthermore, imiquimod, a TLR7 agonist, promotes the anti-tumor activity of immune systems. In addition, it has a synergistic effect by radiotherapy and a low dose of cyclophosphamide in the mouse models of breast cancer [115]. This receptor can also be used in chemotherapy in combination with various adjuvants therapies. The combination therapy of TLR and traditional chemotherapy approach can be effective, which increases the inhibitory effect of tumor growth concerning chemotherapy alone; thereby, it reduces the chemotherapy drug dose [118]. Moreover, the combination of CPG motifs (TLR9 agonist) and radiotherapy enhanced the efficacy of radiotherapy, decreased metastasis, and increased survival in the mouse models of cancer [126, 127].

4. Conclusion

In conclusion, studying these receptors individually and without regard to patient's specific conditions in terms of demographic factors, nutritional, and colonized microbial flora in the patient on the one hand, and status of other important molecules in the patient's immune system, including cytokines and other immunomodulatory molecules, may yield unrealistic results. This is an essential limitation in examining the function of these receptors and many other important molecules in the human immune system that follows a pattern. It is suitable for defining their role in complex diseases, like cancer.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This review article had no human or animal samples.

Funding

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Authors' contributions

Data collection, research, and writing: Negin Nokhandani; Writing and editing: Mahdieh Naghavi-Alhosseini; Editing and project management: Homa Davoodi.

Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank the management of the Golestan University of Medical Science for guiding on the study of these receptors and cancer.

نقش گیرنده‌های شبه Toll در سرطان پستان

نگین نوخندانی^۱، مهدیه نقوی‌الحسینی^۲، هما داودی^۳

- ۱- مرکز تحقیقات علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران.
 ۲- گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران.
 ۳- مرکز تحقیقات سرطان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران.

چکیده

تاریخ دریافت: ۰۷ خرداد ۱۳۹۸
 تاریخ پذیرش: ۲۵ تیر ۱۳۹۸
 تاریخ انتشار: ۱۰ مرداد ۱۳۹۸

سرطان پستان یکی از رایج ترین سرطان‌ها در سراسر جهان می باشد. از آنجاییکه درمان این بیماری یکی از مشکلات اساسی سلامت عمومی محسوب می شود، مطالعات بسیاری برای کشف پروفاایل‌های جدید مولکولی برای کمک به درمان سرطان پستان اختصاص یافته اند. عوامل خطرزای متعددی در پیدایش سرطان پستان نقش دارند اما یکی از مهم ترین عوامل، التهاب مزمن و تنظیم پاسخ‌های سیستم ایمنی است. مولکول‌های متعددی در این زمینه مؤثر می باشند همانند گیرنده‌های شبه Toll که عمدتاً پذیرنده‌های غشایی ایمنی ذاتی بوده و آغازگر واکنش‌های پیش التهابی می باشند. بیان گیرنده‌های شبه Toll و از طرفی دیگر مهار این مولکول‌ها نتایج متفاوت و قابل توجهی را در بیماران مبتلا به سرطان سینه نشان داده است. بصورت اختصاصی پذیرنده‌های شبه Toll می توانند در القای مرگ سلولی سلول‌های سرطانی، بیان مولکول‌های چسبندگی مختلف، متاستاز و تغییر پروفاایل سایتوکاینها نقش داشته باشند. در نتیجه ارزیابی روش‌های درمانی جدید و فاکتورهای مختلف از جمله: فاکتورهای دموگرافیک، تغذیه، فلورهای میکروبی کلونیزه شده و مولکول‌های تنظیم گر سیستم ایمنی در بیماران مبتلا به سرطان پستان امری ضروری می باشد که می تواند درک ما را از این بیماری بهبود بخشد و کمکی برای پیدا کردن درمانی مؤثر در آینده باشد. مطالب این مقاله مروری از تعداد ۱۲۸ مقاله چاپ شده در مجلات معتبر بین المللی با جستجو در پایگاه‌های اطلاعاتی: گوگل اسکالر، ساینس دایرکت، اسکوپوس و پابمد و با کلیدواژه‌های سرطان پستان، گیرنده شبه Toll گرفته شده است. این مقاله یک بررسی اجمالی بر نقش گیرنده‌های TLR بر درمان و پیشرفت سرطان پستان دارد. بر اساس بسیاری از تحقیقات انجام شده، گیرنده‌های TLR می‌توانند نقش مهمی در پیشرفت، متاستاز و درمان سرطان پستان داشته باشند.

کلیدواژه‌ها:

سرطان پستان، گیرنده شبه Toll

مقدمه

است که نقش دوگانه‌ای در پیشرفت و کنترل سرطان دارد [۵]. پذیرنده‌های شبه Toll^۱ یکی از پذیرنده‌های مهم سیستم ایمنی هستند که نقش آن در سرطان‌های مختلف از جمله سرطان پستان مطالعه شده است [۶-۸]. پذیرنده‌های TLR، پذیرنده‌های شناسایی کننده الگو^۲ هستند که توسط سلول‌های سیستم ایمنی مانند سلول‌های دندریتیک^۳ و ماکروفاژها بیان شده و به صورت اختصاصی به الگوهای مولکولی وابسته به پاتوژن^۴ و الگوهای مولکولی وابسته به آسیب^۵ متصل شده و موجب پاسخ‌های ایمنی در بدن می‌شوند [۹، ۱۰].

سرطان یکی از متداول ترین علل مرگ‌ومیر در سراسر جهان است [۱]. با وجود اینکه ابتلا به سرطان در تمام سنین، جنس و نژادها وجود دارد، میزان بروز و مرگ‌ومیر آن در موقعیت‌های جغرافیایی مختلف متفاوت است [۲]. بر اساس گزارش سازمان جهانی بهداشت در سال ۲۰۱۸، بیشترین بروز و مرگ‌ومیر ناشی از سرطان، مرتبط با سرطان‌های ریه، پستان، کولون، پروستات و معده است که در ایران سرطان پستان رتبه اول را دارد [۳]. سرطان پستان یکی از سرطان‌های شایع در سراسر دنیا می باشد که در تمامی کشورها و در خانم‌های بالای ۵۰ سال رشد چشمگیری داشته است [۴]. عوامل متعددی باعث بروز سرطان پستان می‌شوند. یکی از این عوامل سیستم ایمنی

1. Toll like receptor (TLR)
2. Pattern recognized receptor (PRR)
3. Dendritic cells
4. Pathogen association molecular patterns (PAMPs)
5. Damage association molecular patterns (DAMP)

* نویسنده مسئول:

هما داودی

نشانی: گرگان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، مرکز تحقیقات سرطان.

تلفن: ۳۲۴۵۲۶۵۱ (۷۱) ۹۸+

رایانامه: homdavoodi@yahoo.com

مواد و روش‌ها

این مطالعه مروری از ۱۲۸ مقاله انگلیسی و فارسی جمع‌آوری شده و به بررسی آخرین اطلاعات در رابطه با نقش گیرنده TLR در سرطان پستان در پایگاه‌های اطلاعاتی Google Scholar, Science Direct, PubMed تا سال ۲۰۱۹ با استفاده از ترکیبی از کلیدواژه‌های «گیرنده»، «TLR»، «سرطان پستان»، «سرطان پستان و گیرنده و TLR» پرداخته است.

پذیرنده‌های شبه Toll^۶

کشف TLRs انقلاب بزرگی در دانش و تحقیقات پزشکی ایجاد کرده است و دانسته‌های بشری را در رابطه با نقش ایمنی ذاتی در فیزیولوژی و آسیب‌شناسی سلامت انسان بهبود بخشیده است. گیرنده‌های TLRs عضو خانواده پذیرنده‌های شناسایی‌کننده الگو هستند که نقش مهمی در پاسخ علیه پاتوژن‌های مختلف دارند [۱۰، ۱۱]. این گیرنده‌ها گلیکوپروتئین‌های غشایی نوع ۱ هستند که به صورت تدریجی از مگس *Caenorhabditis elegans* به انسان تکامل یافته است [۱۲، ۱۳]. در حال حاضر این خانواده شامل ۱۰ عضو در انسان و ۱۳ عضو در موش است و اخیراً افزایش بیان آن‌ها در انواع مختلف تومورها گزارش شده است که این تغییر بیان نشان‌دهنده نقش مهم این مولکول‌ها در انواع سرطان است [۱۴، ۱۵]. پذیرنده‌های TLR بر اساس محل قرارگیری به دو گروه تقسیم می‌شوند. پذیرنده‌های ۱، ۲، ۴، ۵، ۶، ۱۱ TLR بر سطح سلول قرار می‌گیرد و به PAMPها شامل لیپیدها و پروتئین‌های باکتریایی پاسخ می‌دهند؛ اما پذیرنده‌های ۳، ۷، ۸، ۹ TLR به صورت داخل سلولی و در اندوزوم قرار می‌گیرند و به اسیدهای نوکلئیک باکتری‌ها و ویروس‌ها متصل می‌شوند [۱۶، ۱۷]. مولکول‌های TLR دارای توالی غنی از لوسین^۸ در نواحی خارج سلولی و یک ناحیه پذیرنده^۹ Toll/IL-1 در بخش سیتوپلاسمی است که در اتصال به لیگاند و پیام‌رسانی دخالت دارند [۱۸]. گیرنده‌های TLR با شناسایی PAMPها، آبشارهای سیگنالینگ درون سلولی را به وسیله مجموعه‌ای از تنظیمگرهای^{۱۰} دارای دومین TIR شامل TRAM/TI- و^{۱۱}TRIF/TICAM1،^{۱۲}TIRAP/Mal،^{۱۳}DYM88 و^{۱۴}CAM2 فعال می‌کنند [۱۹].

نقش TLR در سیستم ایمنی

رستپورهای ایمنی TLR، بر سطح غشای لکوسیت‌ها شامل:

6. TLRs
7. Receptors
8. Leucine rich repeat (LRRs)
9. Toll/interleukin-1 receptor (TIR)
10. Adaptors
11. Myeloid differentiation primary response protein 88
12. TIR domain-containing adaptor protein
13. IR domain-containing adaptor inducing interferon (IFN)- β
14. TRIF-related adaptor molecule

ماکروفاژها، سلول‌های دندریتیک، سلول‌های کشنده طبیعی^{۱۵} و لنفوسیت‌های B و T و همچنین سلول‌های غیرایمنی شامل: سلول‌های اپیتلیال، اندوتلیال، فیبروبلاست‌ها و تومورهای مختلف بیان می‌شوند که می‌تواند رشد تومور و پاسخ ایمنی میزبان را تحت تأثیر خود قرار دهد [۲۰، ۲۱]. گیرنده‌های TLR نقش مهمی در بیماری‌های ایمنی، التهابی و همچنین سرطان‌ها ایفا می‌کنند. این گیرنده‌ها رابط ایمنی ذاتی و اختصاصی در سرطان‌ها بوده‌اند و اتصال TLRها به گیرنده خود، موجب ایجاد واکنش‌های التهابی در بدن خواهد شد [۲۲، ۲۳].

دانشمندان از گذشته تاکنون همواره رابطه بین التهاب و پیشرفت سرطان را ارزیابی کرده و به این نتیجه رسیدند که عفونت می‌تواند موجب پیشرفت سرطان شود [۲۴، ۲۵]. گیرنده‌های TLR به وسیله شناسایی ترکیبات ساختاری حفاظت‌شده ویروس‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها و تک‌یاخته‌ها، میزبان را از حضور آن‌ها در بدن آگاه می‌کنند و موجب شروع واکنش‌های التهابی در بدن می‌شوند و زمینه را برای بروز سرطان فراهم می‌کنند [۲۶، ۲۷]. ارتباط بین سلول‌های ایمنی، سلول‌های توموری و الگوهای مولکولی موجود در محیط توموری که شامل TLRها می‌شود، هم موجب پیشرفت تومور (اثر تومورزایی) شده و هم موجب تقویت سیستم ایمنی یا ایمنی ضد تومور می‌شود [۲۷]. سیگنالینگ گیرنده TLR موجب شروع واکنش‌های ایمنی و التهابی در بدن می‌شود که با اتصال لیگاند به آن شروع، سپس جفت^{۱۶} شده و موجب انتقال پیام به درون سلول می‌شود. این عمل به وسیله فعال‌سازی سه فاکتور نسخه‌برداری مهم شامل: فاکتورهای تنظیمی اینترفرون (IRF3، IRF5، IRF7، AP1 و NFkB) انجام می‌شود و در مرحله بعد موجب افزایش نسخه‌برداری فاکتورهای التهابی شامل: سایتوکاین‌ها^{۱۷}، کموکاین‌ها^{۱۸} و اینترفرون‌ها^{۱۹} می‌شوند [۲۲]. مطالعات مختلف نشان داده‌اند سیگنالینگ TLR موجب رشد تومور و فرار ایمنی می‌شود [۲۸، ۲۹، ۳۰]. گیرنده‌های TLR بازگردش لکوسیتی را به بافت‌های دارای عفونت میانجی‌گری کرده و سلول‌های فاگوسیتی را در گرفتن میکروارگانیزم‌ها یاری می‌دهند [۳۰]. یکی دیگر از نقش‌های TLRها در بدن تنظیم مرگ سلولی^{۲۰} به وسیله بیان پروتئین‌های ضدآپوپتوزی و همچنین حفظ هموستاز بافت‌های بدن به وسیله تنظیم بازسازی و ترمیم بافت است [۳۱]. گیرنده‌های TLR همچنین به شناسایی مولکول‌هایی می‌پردازند که موجب آسیب به بافت‌های خودی می‌شوند و به این ترتیب نقش مهمی در سیستم ایمنی بدن دارند [۳۲].

سرطان پستان و TLR

در مطالعات متعدد ارتباط قوی بین TLR و سرطان پستان نشان

15. Natural killer cells
16. Dimerized
17. Cytokines
18. Chemokines
19. Interferons
20. Apoptosis

می‌کند [۴۸]. این گیرنده در بیماران مبتلا به سرطان پستان بیان شده و با داشتن عملکرد سرکوب تومور، از پیشرفت آن جلوگیری می‌کند [۳۳]. فعال شدن TLR3، آپوپتوز را در سلول‌های سرطان پستان القا می‌کند. همچنین در مطالعه‌ای نشان داده شده است که تومورهایی با بیان بالای TLR3 شانس بیشتری برای متاستاز دارند [۴۹]. در گذشته آگونیست‌های TLR3 با اثربخشی‌های متفاوت در درمان بیماران سرطانی با هدف القای پاسخ ایمنی ضدسرطان به واسطه اینترفرون^{۲۴} استفاده می‌شد [۵۰، ۵۱]. امروزه محققان نشان داده‌اند آگونیست‌های TLR3 می‌توانند به‌طور مستقیم آپوپتوز را در سلول‌های سرطان پستان آغاز کنند، در نتیجه می‌تواند یک هدف درمانی در نظر گرفته شود [۵۲].

TLR4

گیرنده TLR4 یکی از گیرنده‌های ایمنی ذاتی است که به همراه ترکیب خارج سلولی خود شامل: MD-2 و CD14، لیپوپلی ساکارید^{۲۵} باکتری‌ها را که ترکیب دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی است را شناسایی و واکنش‌های ایمنی را آغاز می‌کند [۵۳]. بررسی انواع TLR و بیان آن‌ها در سرطان پستان نشان داده است که همه TLRها در این سرطان بیان شده و TLR4 بیشترین بیان را داشته است [۲۵]. گیرنده TLR4 پس از فعال شدن به وسیله لیگاند خود (LPS)، منجر به افزایش بیان مولکول چسبندگی بین‌سلولی^{۲۶} می‌شود که موجب اتصال سلول‌های ایمنی به سلول‌های سرطان پستان شده، در نتیجه موجب نابودی این سرطان می‌شود [۳۷]. از طرف دیگر بیان TLR4 در سلول‌های سرطان پستان استروژن / پروژسترون منفی (ER/PR-)، موجب تهاجم، متاستاز و کاهش آپوپتوز در این سرطان می‌شوند [۵۴]. بر اساس مطالعات مختلف، می‌توان نقش دوگانه‌ای برای TLR4 در سرطان پستان در نظر گرفت.

TLR5

گیرنده TLR5 یکی از گیرنده‌های شبه Toll است که به لیگاند خود که فلاژلین^{۲۷} باکتری‌هاست متصل شده، آن‌ها را شناسایی کرده و ایمنی ذاتی را واسطه‌گری می‌کند [۵۵]. این گیرنده در سرطان‌های پستان افزایش بیان دارد و فعال شدن آن به وسیله لیگاندش، اثرات ضدتوموری قوی داشته و از رشد این سرطان جلوگیری می‌کند [۵۶]. سازوکار این اثر، نکروز سلول‌های توموری، افزایش نفوذ لکوسیت‌های خون به بافت سرطانی و همچنین عدم بیان آنتی‌ژن هسته‌ای تکثیر سلولی^{۲۸} در سلول‌های توموری تیمار شده با فلاژلین است [۵۶].

داده شده است. رده‌های سلولی مختلف ممکن است یک یا چندین TLR مختلف را بر سطح خود بیان کنند [۲۷]. نقش چشمگیر TLRها در سرطان موجب شده دانشمندان بیان TLR را در سرطان پستان و دیگر رده‌های سلولی بررسی کنند [۳۳، ۳۴]. یکی از رده‌های سلولی سرطان پستان MDA-MB-231 است که تمامی TLRها (TLR1-10) را در سطح پروتئین و mRNA بیان می‌کند [۳۵]. مطالعات مختلف نشان داده‌اند بیان پذیرنده‌های TLR ۲، ۳، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹، ۲۳، ۲۴، ۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۸، ۲۹، ۳۰، ۳۱، ۳۲، ۳۳، ۳۴، ۳۵، ۳۶، ۳۷، ۳۸، ۳۹، ۴۰، ۴۱، ۴۲، ۴۳، ۴۴، ۴۵، ۴۶، ۴۷، ۴۸، ۴۹، ۵۰، ۵۱، ۵۲، ۵۳، ۵۴، ۵۵، ۵۶، ۵۷، ۵۸، ۵۹، ۶۰، ۶۱، ۶۲، ۶۳، ۶۴، ۶۵، ۶۶، ۶۷، ۶۸، ۶۹، ۷۰، ۷۱، ۷۲، ۷۳، ۷۴، ۷۵، ۷۶، ۷۷، ۷۸، ۷۹، ۸۰، ۸۱، ۸۲، ۸۳، ۸۴، ۸۵، ۸۶، ۸۷، ۸۸، ۸۹، ۹۰، ۹۱، ۹۲، ۹۳، ۹۴، ۹۵، ۹۶، ۹۷، ۹۸، ۹۹، ۱۰۰، ۱۰۱، ۱۰۲، ۱۰۳، ۱۰۴، ۱۰۵، ۱۰۶، ۱۰۷، ۱۰۸، ۱۰۹، ۱۱۰، ۱۱۱، ۱۱۲، ۱۱۳، ۱۱۴، ۱۱۵، ۱۱۶، ۱۱۷، ۱۱۸، ۱۱۹، ۱۲۰، ۱۲۱، ۱۲۲، ۱۲۳، ۱۲۴، ۱۲۵، ۱۲۶، ۱۲۷، ۱۲۸، ۱۲۹، ۱۳۰، ۱۳۱، ۱۳۲، ۱۳۳، ۱۳۴، ۱۳۵، ۱۳۶، ۱۳۷، ۱۳۸، ۱۳۹، ۱۴۰، ۱۴۱، ۱۴۲، ۱۴۳، ۱۴۴، ۱۴۵، ۱۴۶، ۱۴۷، ۱۴۸، ۱۴۹، ۱۵۰، ۱۵۱، ۱۵۲، ۱۵۳، ۱۵۴، ۱۵۵، ۱۵۶، ۱۵۷، ۱۵۸، ۱۵۹، ۱۶۰، ۱۶۱، ۱۶۲، ۱۶۳، ۱۶۴، ۱۶۵، ۱۶۶، ۱۶۷، ۱۶۸، ۱۶۹، ۱۷۰، ۱۷۱، ۱۷۲، ۱۷۳، ۱۷۴، ۱۷۵، ۱۷۶، ۱۷۷، ۱۷۸، ۱۷۹، ۱۸۰، ۱۸۱، ۱۸۲، ۱۸۳، ۱۸۴، ۱۸۵، ۱۸۶، ۱۸۷، ۱۸۸، ۱۸۹، ۱۹۰، ۱۹۱، ۱۹۲، ۱۹۳، ۱۹۴، ۱۹۵، ۱۹۶، ۱۹۷، ۱۹۸، ۱۹۹، ۲۰۰، ۲۰۱، ۲۰۲، ۲۰۳، ۲۰۴، ۲۰۵، ۲۰۶، ۲۰۷، ۲۰۸، ۲۰۹، ۲۱۰، ۲۱۱، ۲۱۲، ۲۱۳، ۲۱۴، ۲۱۵، ۲۱۶، ۲۱۷، ۲۱۸، ۲۱۹، ۲۲۰، ۲۲۱، ۲۲۲، ۲۲۳، ۲۲۴، ۲۲۵، ۲۲۶، ۲۲۷، ۲۲۸، ۲۲۹، ۲۳۰، ۲۳۱، ۲۳۲، ۲۳۳، ۲۳۴، ۲۳۵، ۲۳۶، ۲۳۷، ۲۳۸، ۲۳۹، ۲۴۰، ۲۴۱، ۲۴۲، ۲۴۳، ۲۴۴، ۲۴۵، ۲۴۶، ۲۴۷، ۲۴۸، ۲۴۹، ۲۵۰، ۲۵۱، ۲۵۲، ۲۵۳، ۲۵۴، ۲۵۵، ۲۵۶، ۲۵۷، ۲۵۸، ۲۵۹، ۲۶۰، ۲۶۱، ۲۶۲، ۲۶۳، ۲۶۴، ۲۶۵، ۲۶۶، ۲۶۷، ۲۶۸، ۲۶۹، ۲۷۰، ۲۷۱، ۲۷۲، ۲۷۳، ۲۷۴، ۲۷۵، ۲۷۶، ۲۷۷، ۲۷۸، ۲۷۹، ۲۸۰، ۲۸۱، ۲۸۲، ۲۸۳، ۲۸۴، ۲۸۵، ۲۸۶، ۲۸۷، ۲۸۸، ۲۸۹، ۲۹۰، ۲۹۱، ۲۹۲، ۲۹۳، ۲۹۴، ۲۹۵، ۲۹۶، ۲۹۷، ۲۹۸، ۲۹۹، ۳۰۰، ۳۰۱، ۳۰۲، ۳۰۳، ۳۰۴، ۳۰۵، ۳۰۶، ۳۰۷، ۳۰۸، ۳۰۹، ۳۱۰، ۳۱۱، ۳۱۲، ۳۱۳، ۳۱۴، ۳۱۵، ۳۱۶، ۳۱۷، ۳۱۸، ۳۱۹، ۳۲۰، ۳۲۱، ۳۲۲، ۳۲۳، ۳۲۴، ۳۲۵، ۳۲۶، ۳۲۷، ۳۲۸، ۳۲۹، ۳۳۰، ۳۳۱، ۳۳۲، ۳۳۳، ۳۳۴، ۳۳۵، ۳۳۶، ۳۳۷، ۳۳۸، ۳۳۹، ۳۴۰، ۳۴۱، ۳۴۲، ۳۴۳، ۳۴۴، ۳۴۵، ۳۴۶، ۳۴۷، ۳۴۸، ۳۴۹، ۳۵۰، ۳۵۱، ۳۵۲، ۳۵۳، ۳۵۴، ۳۵۵، ۳۵۶، ۳۵۷، ۳۵۸، ۳۵۹، ۳۶۰، ۳۶۱، ۳۶۲، ۳۶۳، ۳۶۴، ۳۶۵، ۳۶۶، ۳۶۷، ۳۶۸، ۳۶۹، ۳۷۰، ۳۷۱، ۳۷۲، ۳۷۳، ۳۷۴، ۳۷۵، ۳۷۶، ۳۷۷، ۳۷۸، ۳۷۹، ۳۸۰، ۳۸۱، ۳۸۲، ۳۸۳، ۳۸۴، ۳۸۵، ۳۸۶، ۳۸۷، ۳۸۸، ۳۸۹، ۳۹۰، ۳۹۱، ۳۹۲، ۳۹۳، ۳۹۴، ۳۹۵، ۳۹۶، ۳۹۷، ۳۹۸، ۳۹۹، ۴۰۰، ۴۰۱، ۴۰۲، ۴۰۳، ۴۰۴، ۴۰۵، ۴۰۶، ۴۰۷، ۴۰۸، ۴۰۹، ۴۱۰، ۴۱۱، ۴۱۲، ۴۱۳، ۴۱۴، ۴۱۵، ۴۱۶، ۴۱۷، ۴۱۸، ۴۱۹، ۴۲۰، ۴۲۱، ۴۲۲، ۴۲۳، ۴۲۴، ۴۲۵، ۴۲۶، ۴۲۷، ۴۲۸، ۴۲۹، ۴۳۰، ۴۳۱، ۴۳۲، ۴۳۳، ۴۳۴، ۴۳۵، ۴۳۶، ۴۳۷، ۴۳۸، ۴۳۹، ۴۴۰، ۴۴۱، ۴۴۲، ۴۴۳، ۴۴۴، ۴۴۵، ۴۴۶، ۴۴۷، ۴۴۸، ۴۴۹، ۴۵۰، ۴۵۱، ۴۵۲، ۴۵۳، ۴۵۴، ۴۵۵، ۴۵۶، ۴۵۷، ۴۵۸، ۴۵۹، ۴۶۰، ۴۶۱، ۴۶۲، ۴۶۳، ۴۶۴، ۴۶۵، ۴۶۶، ۴۶۷، ۴۶۸، ۴۶۹، ۴۷۰، ۴۷۱، ۴۷۲، ۴۷۳، ۴۷۴، ۴۷۵، ۴۷۶، ۴۷۷، ۴۷۸، ۴۷۹، ۴۸۰، ۴۸۱، ۴۸۲، ۴۸۳، ۴۸۴، ۴۸۵، ۴۸۶، ۴۸۷، ۴۸۸، ۴۸۹، ۴۹۰، ۴۹۱، ۴۹۲، ۴۹۳، ۴۹۴، ۴۹۵، ۴۹۶، ۴۹۷، ۴۹۸، ۴۹۹، ۵۰۰، ۵۰۱، ۵۰۲، ۵۰۳، ۵۰۴، ۵۰۵، ۵۰۶، ۵۰۷، ۵۰۸، ۵۰۹، ۵۱۰، ۵۱۱، ۵۱۲، ۵۱۳، ۵۱۴، ۵۱۵، ۵۱۶، ۵۱۷، ۵۱۸، ۵۱۹، ۵۲۰، ۵۲۱، ۵۲۲، ۵۲۳، ۵۲۴، ۵۲۵، ۵۲۶، ۵۲۷، ۵۲۸، ۵۲۹، ۵۳۰، ۵۳۱، ۵۳۲، ۵۳۳، ۵۳۴، ۵۳۵، ۵۳۶، ۵۳۷، ۵۳۸، ۵۳۹، ۵۴۰، ۵۴۱، ۵۴۲، ۵۴۳، ۵۴۴، ۵۴۵، ۵۴۶، ۵۴۷، ۵۴۸، ۵۴۹، ۵۵۰، ۵۵۱، ۵۵۲، ۵۵۳، ۵۵۴، ۵۵۵، ۵۵۶، ۵۵۷، ۵۵۸، ۵۵۹، ۵۶۰، ۵۶۱، ۵۶۲، ۵۶۳، ۵۶۴، ۵۶۵، ۵۶۶، ۵۶۷، ۵۶۸، ۵۶۹، ۵۷۰، ۵۷۱، ۵۷۲، ۵۷۳، ۵۷۴، ۵۷۵، ۵۷۶، ۵۷۷، ۵۷۸، ۵۷۹، ۵۸۰، ۵۸۱، ۵۸۲، ۵۸۳، ۵۸۴، ۵۸۵، ۵۸۶، ۵۸۷، ۵۸۸، ۵۸۹، ۵۹۰، ۵۹۱، ۵۹۲، ۵۹۳، ۵۹۴، ۵۹۵، ۵۹۶، ۵۹۷، ۵۹۸، ۵۹۹، ۶۰۰، ۶۰۱، ۶۰۲، ۶۰۳، ۶۰۴، ۶۰۵، ۶۰۶، ۶۰۷، ۶۰۸، ۶۰۹، ۶۱۰، ۶۱۱، ۶۱۲، ۶۱۳، ۶۱۴، ۶۱۵، ۶۱۶، ۶۱۷، ۶۱۸، ۶۱۹، ۶۲۰، ۶۲۱، ۶۲۲، ۶۲۳، ۶۲۴، ۶۲۵، ۶۲۶، ۶۲۷، ۶۲۸، ۶۲۹، ۶۳۰، ۶۳۱، ۶۳۲، ۶۳۳، ۶۳۴، ۶۳۵، ۶۳۶، ۶۳۷، ۶۳۸، ۶۳۹، ۶۴۰، ۶۴۱، ۶۴۲، ۶۴۳، ۶۴۴، ۶۴۵، ۶۴۶، ۶۴۷، ۶۴۸، ۶۴۹، ۶۵۰، ۶۵۱، ۶۵۲، ۶۵۳، ۶۵۴، ۶۵۵، ۶۵۶، ۶۵۷، ۶۵۸، ۶۵۹، ۶۶۰، ۶۶۱، ۶۶۲، ۶۶۳، ۶۶۴، ۶۶۵، ۶۶۶، ۶۶۷، ۶۶۸، ۶۶۹، ۶۷۰، ۶۷۱، ۶۷۲، ۶۷۳، ۶۷۴، ۶۷۵، ۶۷۶، ۶۷۷، ۶۷۸، ۶۷۹، ۶۸۰، ۶۸۱، ۶۸۲، ۶۸۳، ۶۸۴، ۶۸۵، ۶۸۶، ۶۸۷، ۶۸۸، ۶۸۹، ۶۹۰، ۶۹۱، ۶۹۲، ۶۹۳، ۶۹۴، ۶۹۵، ۶۹۶، ۶۹۷، ۶۹۸، ۶۹۹، ۷۰۰، ۷۰۱، ۷۰۲، ۷۰۳، ۷۰۴، ۷۰۵، ۷۰۶، ۷۰۷، ۷۰۸، ۷۰۹، ۷۱۰، ۷۱۱، ۷۱۲، ۷۱۳، ۷۱۴، ۷۱۵، ۷۱۶، ۷۱۷، ۷۱۸، ۷۱۹، ۷۲۰، ۷۲۱، ۷۲۲، ۷۲۳، ۷۲۴، ۷۲۵، ۷۲۶، ۷۲۷، ۷۲۸، ۷۲۹، ۷۳۰، ۷۳۱، ۷۳۲، ۷۳۳، ۷۳۴، ۷۳۵، ۷۳۶، ۷۳۷، ۷۳۸، ۷۳۹، ۷۴۰، ۷۴۱، ۷۴۲، ۷۴۳، ۷۴۴، ۷۴۵، ۷۴۶، ۷۴۷، ۷۴۸، ۷۴۹، ۷۵۰، ۷۵۱، ۷۵۲، ۷۵۳، ۷۵۴، ۷۵۵، ۷۵۶، ۷۵۷، ۷۵۸، ۷۵۹، ۷۶۰، ۷۶۱، ۷۶۲، ۷۶۳، ۷۶۴، ۷۶۵، ۷۶۶، ۷۶۷، ۷۶۸، ۷۶۹، ۷۷۰، ۷۷۱، ۷۷۲، ۷۷۳، ۷۷۴، ۷۷۵، ۷۷۶، ۷۷۷، ۷۷۸، ۷۷۹، ۷۸۰، ۷۸۱، ۷۸۲، ۷۸۳، ۷۸۴، ۷۸۵، ۷۸۶، ۷۸۷، ۷۸۸، ۷۸۹، ۷۹۰، ۷۹۱، ۷۹۲، ۷۹۳، ۷۹۴، ۷۹۵، ۷۹۶، ۷۹۷، ۷۹۸، ۷۹۹، ۸۰۰، ۸۰۱، ۸۰۲، ۸۰۳، ۸۰۴، ۸۰۵، ۸۰۶، ۸۰۷، ۸۰۸، ۸۰۹، ۸۱۰، ۸۱۱، ۸۱۲، ۸۱۳، ۸۱۴، ۸۱۵، ۸۱۶، ۸۱۷، ۸۱۸، ۸۱۹، ۸۲۰، ۸۲۱، ۸۲۲، ۸۲۳، ۸۲۴، ۸۲۵، ۸۲۶، ۸۲۷، ۸۲۸، ۸۲۹، ۸۳۰، ۸۳۱، ۸۳۲، ۸۳۳، ۸۳۴، ۸۳۵، ۸۳۶، ۸۳۷، ۸۳۸، ۸۳۹، ۸۴۰، ۸۴۱، ۸۴۲، ۸۴۳، ۸۴۴، ۸۴۵، ۸۴۶، ۸۴۷، ۸۴۸، ۸۴۹، ۸۵۰، ۸۵۱، ۸۵۲، ۸۵۳، ۸۵۴، ۸۵۵، ۸۵۶، ۸۵۷، ۸۵۸، ۸۵۹، ۸۶۰، ۸۶۱، ۸۶۲، ۸۶۳، ۸۶۴، ۸۶۵، ۸۶۶، ۸۶۷، ۸۶۸، ۸۶۹، ۸۷۰، ۸۷۱، ۸۷۲، ۸۷۳، ۸۷۴، ۸۷۵، ۸۷۶، ۸۷۷، ۸۷۸، ۸۷۹، ۸۸۰، ۸۸۱، ۸۸۲، ۸۸۳، ۸۸۴، ۸۸۵، ۸۸۶، ۸۸۷، ۸۸۸، ۸۸۹، ۸۹۰، ۸۹۱، ۸۹۲، ۸۹۳، ۸۹۴، ۸۹۵، ۸۹۶، ۸۹۷، ۸۹۸، ۸۹۹، ۹۰۰، ۹۰۱، ۹۰۲، ۹۰۳، ۹۰۴، ۹۰۵، ۹۰۶، ۹۰۷، ۹۰۸، ۹۰۹، ۹۱۰، ۹۱۱، ۹۱۲، ۹۱۳، ۹۱۴، ۹۱۵، ۹۱۶، ۹۱۷، ۹۱۸، ۹۱۹، ۹۲۰، ۹۲۱، ۹۲۲، ۹۲۳، ۹۲۴، ۹۲۵، ۹۲۶، ۹۲۷، ۹۲۸، ۹۲۹، ۹۳۰، ۹۳۱، ۹۳۲، ۹۳۳، ۹۳۴، ۹۳۵، ۹۳۶، ۹۳۷، ۹۳۸، ۹۳۹، ۹۴۰، ۹۴۱، ۹۴۲، ۹۴۳، ۹۴۴، ۹۴۵، ۹۴۶، ۹۴۷، ۹۴۸، ۹۴۹، ۹۵۰، ۹۵۱، ۹۵۲، ۹۵۳، ۹۵۴، ۹۵۵، ۹۵۶، ۹۵۷، ۹۵۸، ۹۵۹، ۹۶۰، ۹۶۱، ۹۶۲، ۹۶۳، ۹۶۴، ۹۶۵، ۹۶۶، ۹۶۷، ۹۶۸، ۹۶۹، ۹۷۰، ۹۷۱، ۹۷۲، ۹۷۳، ۹۷۴، ۹۷۵، ۹۷۶، ۹۷۷، ۹۷۸، ۹۷۹، ۹۸۰، ۹۸۱، ۹۸۲، ۹۸۳، ۹۸۴، ۹۸۵، ۹۸۶، ۹۸۷، ۹۸۸، ۹۸۹، ۹۹۰، ۹۹۱، ۹۹۲، ۹۹۳، ۹۹۴، ۹۹۵، ۹۹۶، ۹۹۷، ۹۹۸، ۹۹۹، ۱۰۰۰، ۱۰۰۱، ۱۰۰۲، ۱۰۰۳، ۱۰۰۴، ۱۰۰۵، ۱۰۰۶، ۱۰۰۷، ۱۰۰۸، ۱۰۰۹، ۱۰۱۰، ۱۰۱۱، ۱۰۱۲، ۱۰۱۳، ۱۰۱۴، ۱۰۱۵، ۱۰۱۶، ۱۰۱۷، ۱۰۱۸، ۱۰۱۹، ۱۰۲۰، ۱۰۲۱، ۱۰۲۲، ۱۰۲۳، ۱۰۲۴، ۱۰۲۵، ۱۰۲۶، ۱۰۲۷، ۱۰۲۸، ۱۰۲۹، ۱۰۳۰، ۱۰۳۱، ۱۰۳۲، ۱۰۳۳، ۱۰۳۴، ۱۰۳۵، ۱۰۳۶، ۱۰۳۷، ۱۰۳۸، ۱۰۳۹، ۱۰۴۰، ۱۰۴۱، ۱۰۴۲، ۱۰۴۳، ۱۰۴۴، ۱۰۴۵، ۱۰۴۶، ۱۰۴۷، ۱۰۴۸، ۱۰۴۹، ۱۰۵۰، ۱۰۵۱، ۱۰۵۲، ۱۰۵۳، ۱۰۵۴، ۱۰۵۵، ۱۰۵۶، ۱۰۵۷، ۱۰۵۸، ۱۰۵۹، ۱۰۶۰، ۱۰۶۱، ۱۰۶۲، ۱۰۶۳، ۱۰۶۴، ۱۰۶۵، ۱۰۶۶، ۱۰۶۷، ۱۰۶۸، ۱۰۶۹، ۱۰۷۰، ۱۰۷۱، ۱۰۷۲، ۱۰۷۳، ۱۰۷۴، ۱۰۷۵، ۱۰۷۶، ۱۰۷۷، ۱۰۷۸، ۱۰۷۹، ۱۰۸۰، ۱۰۸۱، ۱۰۸۲، ۱۰۸۳، ۱۰۸۴، ۱۰۸۵، ۱۰۸۶، ۱۰۸۷، ۱۰۸۸، ۱۰۸۹، ۱۰۹۰، ۱۰۹۱، ۱۰۹۲، ۱۰۹۳، ۱۰۹۴، ۱۰۹۵، ۱۰۹۶، ۱۰۹۷، ۱۰۹۸، ۱۰۹۹، ۱۱۰۰، ۱۱۰۱، ۱۱۰۲، ۱۱۰۳، ۱۱۰۴، ۱۱۰۵، ۱۱۰۶، ۱۱۰۷، ۱۱۰۸، ۱۱۰۹، ۱۱۱۰، ۱۱۱۱، ۱۱۱۲، ۱۱۱۳، ۱۱۱۴، ۱۱۱۵، ۱۱۱۶، ۱۱۱۷، ۱۱۱۸، ۱۱۱۹، ۱۱۲۰، ۱۱۲۱، ۱۱۲۲، ۱۱۲۳، ۱۱۲۴، ۱۱۲۵، ۱۱۲۶، ۱۱۲۷، ۱۱۲۸، ۱۱۲۹، ۱۱۳۰، ۱۱۳۱، ۱۱۳۲، ۱۱۳۳، ۱۱۳۴، ۱۱۳۵، ۱۱۳۶، ۱۱۳۷، ۱۱۳۸، ۱۱۳۹، ۱۱۴۰، ۱۱۴۱، ۱۱۴۲، ۱۱۴۳، ۱۱۴۴، ۱۱۴۵، ۱۱۴۶، ۱۱۴۷، ۱۱۴۸، ۱۱۴۹، ۱۱۵۰، ۱۱۵۱، ۱۱۵۲، ۱۱۵۳، ۱۱۵۴، ۱۱۵۵، ۱۱۵۶، ۱۱۵۷، ۱۱۵۸، ۱۱۵۹، ۱۱۶۰، ۱۱۶۱، ۱۱۶۲، ۱۱۶۳، ۱۱۶۴، ۱۱۶۵، ۱۱۶۶، ۱۱۶۷، ۱۱۶۸، ۱۱۶۹، ۱۱۷۰، ۱۱۷۱، ۱۱۷۲، ۱۱۷۳، ۱۱۷۴، ۱۱۷۵، ۱۱۷۶، ۱۱۷۷، ۱۱۷۸، ۱۱۷۹، ۱۱۸۰، ۱۱۸۱، ۱۱۸۲، ۱۱۸۳، ۱۱۸۴، ۱۱۸۵، ۱۱۸۶، ۱۱۸۷، ۱۱۸۸، ۱۱۸۹، ۱۱۹۰، ۱۱۹۱، ۱۱۹۲، ۱۱۹۳، ۱۱۹۴، ۱۱۹۵، ۱۱۹۶، ۱۱۹۷، ۱۱۹۸، ۱۱۹۹، ۱۲۰۰، ۱۲۰۱، ۱۲۰۲، ۱۲۰۳، ۱۲۰۴، ۱۲۰۵، ۱۲۰۶، ۱۲۰۷، ۱۲۰۸، ۱۲۰۹، ۱۲۱۰، ۱۲۱۱، ۱۲۱۲، ۱۲۱۳، ۱۲۱۴، ۱۲۱۵، ۱۲۱۶، ۱۲۱۷، ۱۲۱۸، ۱۲۱۹، ۱۲۲۰، ۱۲۲۱، ۱۲۲۲، ۱۲۲۳، ۱۲۲۴، ۱۲۲۵، ۱۲۲۶، ۱۲۲۷، ۱۲۲۸، ۱۲۲۹، ۱۲۳۰، ۱۲۳۱، ۱۲۳۲، ۱۲۳۳، ۱۲۳۴، ۱۲۳۵، ۱۲۳۶، ۱۲۳۷، ۱۲۳۸، ۱۲۳۹، ۱۲۴۰، ۱۲۴۱، ۱۲۴۲، ۱۲۴۳، ۱۲۴۴، ۱۲۴۵، ۱۲۴۶، ۱۲۴۷، ۱۲۴۸، ۱۲۴۹، ۱۲۵۰، ۱۲۵۱، ۱۲۵۲، ۱۲۵۳، ۱۲۵۴، ۱۲۵۵، ۱۲۵۶، ۱۲۵۷، ۱۲۵۸، ۱۲۵۹، ۱۲۶۰، ۱۲۶۱، ۱۲۶۲، ۱۲۶۳، ۱۲۶۴، ۱۲۶۵، ۱۲۶۶، ۱۲۶۷، ۱۲۶۸، ۱۲۶۹، ۱۲۷۰، ۱۲۷۱، ۱۲۷۲، ۱۲۷۳، ۱۲۷۴، ۱۲۷۵، ۱۲۷۶، ۱۲۷۷، ۱۲۷۸، ۱۲۷۹، ۱۲۸۰، ۱۲۸۱، ۱۲۸۲، ۱۲۸۳، ۱۲۸۴، ۱۲۸۵، ۱۲۸۶، ۱۲۸۷، ۱۲۸۸، ۱۲۸۹، ۱۲۹۰، ۱۲۹۱، ۱۲۹۲، ۱۲۹۳، ۱۲۹۴، ۱۲۹۵، ۱۲۹۶، ۱۲۹۷، ۱۲۹۸، ۱۲۹۹، ۱۳۰۰، ۱۳۰۱، ۱۳۰۲، ۱۳۰۳، ۱۳۰۴، ۱۳۰۵، ۱۳۰۶، ۱۳۰۷، ۱۳۰۸، ۱۳۰۹، ۱۳۱۰، ۱۳۱۱، ۱۳۱۲، ۱۳۱۳، ۱۳۱۴، ۱۳۱۵، ۱۳۱۶، ۱۳۱۷، ۱۳۱۸، ۱۳۱۹، ۱۳۲۰، ۱۳۲۱، ۱۳۲۲، ۱۳۲۳، ۱۳۲۴، ۱۳۲۵، ۱۳۲۶، ۱۳۲۷، ۱۳۲۸، ۱۳۲۹، ۱۳۳۰، ۱۳۳۱، ۱۳۳۲، ۱۳۳۳، ۱۳۳۴، ۱۳۳۵، ۱۳۳۶، ۱۳۳۷، ۱۳۳۸، ۱۳۳۹، ۱۳۴۰، ۱۳۴۱، ۱۳۴۲، ۱۳۴۳،

TLR6

gonucleotide)، فعال شود، موجب تهاجم و متاستاز سرطان پستان می‌شود [۳۹، ۴۰]. در مطالعه دیگر نشان داده شده است که TLR9 از طریق افزایش فعالیت ماتریکس متالوپروتئیناز ۱۳^{۲۵} موجب افزایش تهاجم سلول‌های MDA-MB-231 خواهد شد [۳۹]. هورمون‌های استروژنی α (ER α) و هورمون‌های استروئیدی جنسی، بیان TLR9 و تهاجم در سرطان پستان را تنظیم می‌کنند [۶۸].

TLR10

گیرنده TLR10 یکی دیگر از گیرنده‌های ایمنی است که به TLR1 و TLR2 به صورت همودایمر یا هتروداایمر متصل شده و مسیرهای نسخه‌برداری را فعال می‌کند [۷۱]. در میان TL‌های شناخته‌شده در انسان، تنها TLR10 است که لیگاند مشخصی نداشته و همچنین مسیرهای سیگنال‌دهی و عملکرد زیستی نامشخصی دارد [۷۲].

پلی‌مورفیسم در TLRs و تأثیر آن بر سرطان پستان

پلی‌مورفیسم نوعی از تغییرات در عوامل ژنتیکی انسان است که خطر ابتلا به سرطان پستان را افزایش یا کاهش می‌دهد [۷۶]. دانشمندان نشان دادند که پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی^{۲۶} در ژن‌های TLR ممکن است با ایجاد سرطان در ارتباط باشند یا نباشند [۷۷، ۷۸]. پلی‌مورفیسم rs7696175 (C>T) بین ژن‌های TLR1 و TLR6 با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان در جمعیت آفریقایی آمریکایی همراه است [۷۹]. پلی‌مورفیسم rs4986790 در ژن TLR4 موجب افزایش خطر ابتلا به سرطان می‌شود اما پلی‌مورفیسم rs1927911 با کاهش ابتلا به سرطان همراه است [۸۰]. در مطالعه داودی و همکاران پلی‌مورفیسم‌های مختلف در ژن TLR4 نژادهای مختلف بررسی شد. نتایج نشان دادند که فراوانی آن‌ها در جمعیت‌های مختلف متفاوت است. همچنین تأثیر این پلی‌مورفیسم‌ها در پاسخ به دارو، در سرطان روده نشان داده شد [۸۱].

حذف ۲۲ نوکلئوتید (۱۷۴- تا ۱۹۶-) از ژن TLR2 و پلی‌مورفیسم Asp299Gly در ژن TLR4 خطر ابتلا به سرطان پستان را افزایش می‌دهد [۸۲]. از پلی‌مورفیسم‌های دیگر دخیل در سرطان پستان می‌توان به پلی‌مورفیسم +3725 G/C در ژن TLR4 به عنوان عاملی خطرزا اشاره کرد که یک نشانگر تشخیصی در سرطان پستان نیز هست. به طور کلی به نظر می‌رسد که پلی‌مورفیسم در ژن TLR4 خطر ابتلا به سرطان پستان را افزایش می‌دهد [۸۳]. در مطالعه‌ای نشان دادند که آلل 1237C و همچنین rs352140 از ژن TLR9 نیز می‌تواند با پیشرفت سرطان پستان در خانم‌ها مرتبط باشد [۸۴، ۸۵]. بنابراین طبق

35. Matrix metalloproteinase 13 (MMP13)

36. Single-nucleotide polymorphisms (SNP)

گیرنده TLR6 یکی از پذیرنده‌های ایمنی ذاتی است که به همراه TLR2 (TLR6/TLR2)، لیپوپپتیدهای دی‌اسیل^{۲۹} را شناسایی می‌کنند [۵۷]. این گیرنده بیان محسوس بر سلول‌های سرطان پستان ندارد و در تعامل با TLR2 پاسخ سلولی را نسبت به لیپوپروتئین‌های باکتریایی میانجی‌گری کرده و مسیرهای التهابی را فعال می‌کند. فعال‌شدن مسیرهای التهابی نقش مهمی در پیشرفت تومور و تهاجم آن دارد [۵۸، ۵۹].

TLR7/8

گیرنده‌های شبه Toll ۷ و ۸ رسپتورهای ایمنی ذاتی هستند که RNAهای تک‌رشته‌ای^{۳۰} را شناسایی کرده و سیگنالینگ NF- κ B را آغاز می‌کنند [۶۰]. گیرنده‌های TLR ۷ و ۸ از لحاظ ساختار فیلوزنتیکی بسیار مرتبط و شبیه به هم هستند، اما عملکرد متفاوتی دارند [۶۱، ۶۲]. مطالعات نشان داده‌اند رسپتور اندوزومی TLR8 در افراد دارای کارسینومای تهاجمی پستان^{۳۱} افزایش بیان دارد [۶۳]. همچنین تیمار موش‌های دارای سرطان پستان با ایمیکیمود^{۳۲} که آگونیست TLR7 است، می‌تواند موجب عود مجدد سرطان پستان در موش‌ها شود [۶۴]. از طرفی R848 که یکی دیگر از آگونیست‌های TLR7-8 است، اثرات ضدتوموری قوی را با کاهش رگ‌زایی و القای آپوپتوز در مدل‌های دارای سرطان پستان نشان داده است [۳۸].

TLR9

گیرنده TLR9 یکی دیگر از پذیرنده‌های شبه Toll است که در ایمنی ذاتی نقش داشته و به شناسایی شکل داکسی سیتیدیل-فسفات-داکسی گوانوزین^{۳۳} غیرمتیله در DNA باکتری‌ها و ویروس‌ها می‌پردازد [۶۵]. این گیرنده علاوه بر اینکه در سلول‌های سالم بافت پستان بیان می‌شود، در سلول‌های سرطانی پستان نیز بیان گسترده‌ای دارد [۶۶، ۶۷، ۳۳]. گیرنده TLR9 دارای ۵ ایزوفرم مختلف (A تا E) است که بیان mRNA ایزوفرم A و B در سرطان پستان شناسایی و مورد ارزیابی قرار گرفته است [۶۸، ۶۹]. محققان در مطالعه‌ای با بررسی TLRهای مختلف (TLR1-10) نشان دادند که TLR9 بیشترین بیان را در بیماران دارای سرطان پستان غیرتهاجمی و همچنین سرطان پستان سه‌گانه منفی^{۳۴} داشته است [۶۳]. همچنین محققان نشان دادند که سطح TLR9 در گردش خون بیماران خانم دارای سرطان پستان نسبت به افراد طبیعی بیشتر است [۷۰]. مطالعات نشان داده‌اند زمانی که TLR9 به وسیله آگونیست خود (CpG oli-)

29. Di Acyl Ipopeptides

30. single-stranded RNA (ssRNA)

31. Invasive breast cancer (IBC)

32. Imiquimod

33. Deoxycytidyl-phosphate-deoxyguanosine (CpG)

34. Triple negative breast cancer (TNC)

جدول ۱. گیرنده‌های TLR و نقش آن‌ها در سرطان پستان

نوع گیرنده	نوع اثر	مکانیسم اثر	رفرنس
TLR2	القای تومور	افزایش متاستاز/ افزایش MMP	[۳۴، ۷۳]
TLR3	ضد تومور	القای آپوپتوز / افزایش اینترفرون تیپ ۱	[۵۰، ۵۱]
TLR4	القای تومور	بقا/ فرار ایمنی/ افزایش VEGF، NO، MMP	[۳۵، ۷۴]
TLR5	ضد تومور	کاهش تکثیر سلول‌های توموری/ افزایش نکروز آپوپتوزیس	[۵۶]
TLR6	القای تومور	پیشرفت تومور و تهاجم	[۵۸، ۵۹]
TLR7/TLR8	ضد تومور	تولید سایتوکاین‌ها/ کاهش رگ‌زایی و القای آپوپتوز	[۳۸، ۷۵]
	القای تومور	افزایش رگ‌زایی و عود تومور	[۶۴]
TLR9	القای تومور	افزایش متاستاز و متالوپروتئینازها	[۷۴]

مجله علمی
دانشگاه علوم پزشکی قزوین

متاستاز است [۹۰]. از طرفی در مطالعه‌ای دیگر نشان دادند که خاموش کردن ژن TLR4 در مدل‌های موشی دارای سرطان پستان، موجب پیشرفت تومور و متاستاز به ریه می‌شود که در تناقض با یافته‌های قبلی است [۹۱]. محققان همچنین نقش ایمیکیمود که آگونیست TLR7 است را در تنظیم پاسخ ایمنی و جلوگیری از متاستاز در سرطان پستان نشان دادند [۹۲].

نقش TLRها در آپوپتوز سرطان پستان

آپوپتوز، مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی است که نقش مهمی در هموستاز بافت‌های بدن دارد [۹۳]. یکی از دلایل پیدایش سرطان در بدن، فرار از سازوکار آپوپتوز است [۹۴]. آپوپتوز می‌تواند موجب حذف سلول‌های بدخیم و رشد تومور شود، در نتیجه کاهش آپوپتوز یا مقاومت به آن، نقش مهمی در رشد سرطان خواهد داشت [۹۵]. محققان نشان دادند گیرنده‌های TLR می‌توانند با فرآیندهای مختلف آپوپتوز را در سرطان پستان القا کنند. یکی از این گیرنده‌ها TLR3 است که به طور مستقیم آپوپتوز را در رده سلولی MCF-7 سرطان پستان از طریق سیگنالینگ IFN-1 و IRAK4 القا می‌کند [۵۲]. از طرف دیگر مطالعات مختلف نشان دادند که سلول‌های توموری دارای TLR4 موجب افزایش التهاب، رشد تومور، فتوتیپ تهاجمی و متاستاز در سلول‌های توموری شده و بیان مولکول‌های ممانعت‌کننده آپوپتوز مانند XIAP، Bcl-2 و Bcl-XL که در نهایت موجب رشد متاستاز می‌شوند را افزایش می‌دهند [۹۶، ۹۷].

محققان نشان دادند که گیرنده‌های TLR7/8 با استفاده از آدانتور^{۳۷} موجب به کارگیری IRAK³⁸ها و تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی و همچنین فعال کردن کاسپازها^{۳۹} و ایجاد آپوپتوز در

یافته‌های محققان، پلی‌مورفیسم در ژن‌های TLR می‌تواند در بعضی موارد با بروز سرطان پستان در ارتباط باشد.

نقش TLRها در متاستاز سرطان پستان

متاستاز یک عبارت کلی است که به گسترش سلول‌های سرطانی از تومور اولیه به بافت‌ها و ارگان‌های اطراف گفته می‌شود و مسئول ۹۰ درصد مرگ‌ومیر ناشی از سرطان‌هاست [۸۶]. مشاهده‌های مختلف نشان داده است که التهاب ایجاد شده به وسیله TLRها با ایجاد تومور و متاستاز آن در ارتباط است. TLRهای متعددی بر سطح تومور بیان می‌شوند که موجب تسهیل تولید ریزمحیط‌های پیش‌التهابی تومور می‌شوند، در نتیجه موجب تهاجم و متاستاز تومور خواهند شد [۸۷، ۸۸]. یکی از نشانگرهایی که سرطان‌ها تولید می‌کنند آگزوزوم‌ها هستند. آگزوزوم‌ها، وزیکول‌های خارج سلولی هستند که از سلول‌های توموری بیشتر از سلول‌های نرمال آزاد می‌شوند [۸۹].

آگزوزوم‌های حاصل از سرطان پستان، تولید سایتوکاین‌های التهابی را در ماکروفاژها به وسیله TLR2 افزایش می‌دهند و در نتیجه موجب افزایش متاستاز در این سرطان می‌شوند [۷۳]. همچنین مطالعات نشان داده است که سلول‌های توموری با بیان بالای TLR3، به طور محسوسی با احتمال افزایش متاستاز همراه هستند [۴۹]. فعال شدن TLR4 موجب تنظیم بیان اینترگرین $\alpha v \beta 3$ شده، در نتیجه سبب تهاجم و متاستاز سرطان پستان به واسطه چسبندگی این اینترگرین می‌شود [۶]. همچنین TLR4 از طریق فعال شدن توسط گیرنده خود (LPS) از طریق مسیر Akt/GSK3 β / β -Catenin نیز متاستاز را در این سرطان افزایش می‌دهد [۷].

در مطالعه‌ای نشان داده شد که بیان ژن TLR4 در سرطان پستان با متاستاز به غدد لنفاوی بیشتر از سرطان بدون

37. Myeloid differentiation primary response 88 (MYD88)
38. Interleukin-1 receptor-associated kinase
39. Caspase

ایمونوترابی سرطان پستان و TLRs

به مبارزه بدن در برابر بیماری‌های مختلف از جمله سرطان با استفاده از سیستم ایمنی انسان ایمنی درمانی گفته می‌شود. ایمنی ذاتی و اکتسابی هر دو می‌توانند در ریشه‌کن کردن تومور به وسیله دو عامل اصلی دندریتیک سل و لنفوسیت‌های T سهیم باشند. گیرنده‌های TLR یکی از پذیرنده‌های مهم ایمنی ذاتی هستند که نقش مهمی در ایمونوترابی سرطان ایفا می‌کنند. یکی از این پذیرنده‌ها TLR2 است. مصرف خوراکی پلی‌ساکراید کرسستین^{۵۱} که آگونیست TLR2 است، به طور چشمگیری از رشد سرطان پستان به وسیله عمل لنفوسیت‌های CD8+ و دندریتیک سل‌ها در موش‌های ترازیخت^{۵۲} جلوگیری می‌کند [۱۰۶].

از طرف دیگر آگونیست دیگری از TLR2 به نام پلی‌ساکراید PSA (A) با تولید IL-10 و T تنظیمی مانع ایجاد پاسخ ایمنی می‌شود [۱۰۷]. محققان به این نتیجه رسیدند که سیگنالینگ TLR می‌تواند اثر تنظیم‌کننده روی دندریتیک سل‌ها داشته و تعداد سلول‌های CD8+ را کاهش دهد و در نتیجه ایمنی بدن را تضعیف کرده و بدن را مستعد سرطان کند [۱۰۸، ۱۰۹]. مشاهده‌ها نشان داده است که ایمنی سلولی نسبت به ترکیب هیدروکربن پلی‌آروماتیک سرطان‌زای^{۵۳}، به گیرنده TLR4 و اثر محافظتی آن در سرطان پستان بستگی دارد. این عمل توسط ترشح IL-12 از سلول‌های CD11c+ انجام شده که منجر به پاسخ به واسطه IFN- γ می‌شود [۱۱۰]. همچنین اتصال TLR4 به لیگاندش سبب به‌کارگیری مولکول‌های آداپتور مختلفی شده که در نهایت منجر به فعال شدن NF- κ B و ایجاد التهاب می‌شود، این التهاب بستر را برای ابتلا به سرطان فراهم می‌کند [۱۱۱].

آگونیست‌های TLR4 مانند LPS^{۵۴} و GLA-SE55 پاسخ ایمنی لنفوسیت Th1 را افزایش می‌دهند. بررسی‌ها در این رابطه نشان داد که GLA سنتتیک، پاسخ CD4+ را با افزایش در تولید IFN- γ و TNF^{۵۵} تنظیم مثبت می‌کند [۱۱۲، ۱۱۳]. یکی دیگر از روش‌های درمانی سرطان، ایمونوترابی به وسیله TLR5 است که از جدیدترین استراتژی‌ها در ایمونوترابی تومور به شمار می‌رود. سیگنالینگ TLR5 می‌تواند از رشد سلول‌های توموری جلوگیری کند. فلاژلین که آگونیست TLR5 است، موجب القای خودخواری^{۵۷} در سلول‌های سرطان پستان شده که نشان داده است عامل اتوفاژی MAP1S برای جلوگیری از گسترش سلول‌های توموری به مسیر TLR5 فلاژلین نیازمند است و نقش مهمی در سرکوب تومور به وسیله فلاژلین دارد

51. Polysaccharide krestin (PSK)

52. Transgenic

53. 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA)

54. Lipopolysaccharide

55. Glucopyranosyl lipid a-stable emulsion

56. Tumor necrosis factor

57. Autophagy

سلول‌های سرطانی می‌شود [۹۸]. همچنین آگونیست TLR7^{۴۰} می‌تواند به طور مستقیم، آپوپتوز را در تومورهای بیان‌کننده TLR7 القا کند [۹۹].

فعالیت TLRs و تأثیر آن بر ترشح سایتوکاین‌ها در سرطان پستان

سایتوکاین‌ها پروتئین‌های کوچکی هستند که در سیگنالینگ سلول دخالت دارند [۱۰۰]. ترشح این پروتئین‌ها نقش بسیار مهم و گسترده‌ای در سرطان پستان دارند. به طوری که هم موجب القای سرطان پستان شده و هم اثر محافظتی در این سرطان دارند [۱۰۱]. یکی از عوامل ایمنی که بر ترشح سایتوکاین‌ها مؤثر است، پذیرنده‌های TLR است. سیگنال‌های التهابی تولیدشده به وسیله TLRها، موجب افزایش بیان سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها شده، در نتیجه موجب تولید سلول‌های لنفوسیت TH17 توسط سلول‌های توموری می‌شود [۱۰۲]. همچنین فعال شدن TLR2 به وسیله لیگاند خود، موجب افزایش فعالیت NF- κ B و فسفوریلاسیون TAK1^{۴۱} و I κ B α ^{۴۲} و در نتیجه ترشح سایتوکاین‌های IL-6^{۴۳} و TGF- β ^{۴۴} در سرطان پستان می‌شوند [۴۴].

در مطالعه‌ای به تأثیر محیط کشت شده از رده سلولی 45MCF-7 سرطان پستان بر سلول‌های مشابه نوتروفیل NB4^{۴۶} پرداخته و نشان دادند که این محیط موجب بیان TLR2 بر سطح سلول‌های مشابه نوتروفیل شدند که به دلیل تولید سایتوکاین‌های مختلف بوده است [۱۰۳]. لامرانی^{۴۷} و همکاران نشان دادند زمانی که مسیر فعال شدن TLR4 به مسیر اینترفرون گاما (IFN) ختم شود، همزمان به القای سطوح مشخصی از نیتریک اکساید سنتاز^{۴۸} و به دنبال آن تولید نیتریک اکساید^{۴۹} و گونه‌های واکنشگر اکسیژن^{۵۰} در مدل‌های موشی دارای سرطان پستان منجر می‌شود [۱۰۴]. از دیگر گیرنده‌های TLR می‌توان به TLR4 اشاره کرد که سیگنالینگ آن می‌تواند منجر به بیان IL-6 و IL-8 در رده سلولی MDA-MB-231 سرطان پستان شود [۵۴]. آگونیست‌های TLR7 علاوه بر تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی، IL-10 را که یک سایتوکاین سرکوبگر ایمنی قوی است، نیز ترشح می‌کند که با مانع شدن از عملکرد لنفوسیت T و NK cell و فعال کردن T تنظیمی و ماکروفاژ M2 از رشد تومور جلوگیری می‌کند [۱۰۵].

40. Imiquimod

41. Transforming growth factor b-activated kinase

42. inhibitor of kappa B

43. Interleukin 6 receptor

44. Tumor growth factor

45. Michigan cancer foundation-7

46. Human acute promyelocytic leukemia cells(neutrophil-like NB4 cells)

47. Lamrani

48. Nitric oxide synthase (NOS)

49. Nitric oxide (NO)

50. Reactive oxygen species (ROS)

درمانی ترکیبی با TLR بلوغ دندریتیک سل ها و در نتیجه عرضه آنتی ژنی و لنفوسیت های T سایتوتوکسیک (CTL) مختص تومور را افزایش داده و در نتیجه پاسخ ایمنی قوی تر و مؤثرتری را ایجاد می کند [۱۲۳، ۱۲۴].

در مطالعه دوان^{۶۸} و همکاران، ترکیب سینرژسم آگونیست TLR7 و رادیوتراپی و همچنین دُز پایین داروی سایکلو فسفامید در درمان سرطان پستان گزارش شده است [۱۱۵]. همچنین ترکیب آگونیست TLR7 (ایمیکیمود) به همراه داروی paclitaxel متصل به آلبومین^{۶۹} در درمان سرطان پستان همراه با متاستاز جلدی بسیار مؤثر است [۱۲۵]. بر اساس مطالعه دانشمندان، درمان ترکیبی رادیوتراپی و آگونیست TLR9 اثر درمانی قوی دارد. آگونیست TLR9 لنفوسیت B و دندریتیک سل ها را فعال کرده و اثر ایمنی قوی ای در موش ها ایجاد می کند. نتایج نشان دادند که ترکیب شکل های CPG و رادیوتراپی، اثر رادیوتراپی را تقویت کرده، متاستاز را کاهش داده و بقا را در مدل های موشی دارای سرطان افزایش داده است [۱۲۶، ۱۲۷].

بحث و نتیجه گیری

در این مقاله مروری، نقش گیرنده های TLR در سرطان پستان بررسی شد. الگوی مشخصی از تأثیر این گیرنده ها بر پروفایل سایتوکاین ها در این بیماری ارائه نشده است، اما تأثیر محسوس و غالب این گیرنده ها در افزایش سایتوکاین های پیش التهابی ارتباط این گیرنده ها و استعداد ابتلا به سرطان را تقویت می کند. با توجه به نقش پیچیده و با اهمیت این گیرنده ها در بیماری سرطان پستان و اینکه هنوز روش های درمانی سنتی از جمله کموتراپی با مشکلات فراوان در بیماران همراه است، اهمیت روش های درمانی جدید مثل ایمونوتراپی و یا درمان های مکمل ترکیبی در این بیماری مشخص می شود.

به عنوان نتیجه گیری کلی، مطالعه این گیرنده ها به صورت منفرد و بدون در نظر گرفتن شرایط خاص بیماران از نظر عوامل جمعیت شناختی، تغذیه، فلورهای میکروبی کلونیزه شده در بیمار از یک طرف و وضعیت سایر ملکول های مهم در سیستم ایمنی بیمار، از جمله گیرنده های سایتوکاین ها و سایر مولکول های تعیین کننده ایمنی می تواند نتایج غیرواقعی از مطالعه به همراه داشته باشد که این یک محدودیت مهم در مطالعه عملکرد این گیرنده ها و یا بسیاری از ملکول های مهم دیگر در سیستم دفاعی انسان است که بشر در آرزوی یافتن یک الگوی مناسب برای تعریف نقش آن ها در بیماری های پیچیده ای مثل سرطان است.

[۱۱۴]. ایمیکیمود که آگونیست TLR7 است، منجر به تقویت ایمنی ضد تومور می شود. این ماده اثر هم افزایی^{۵۸} با رادیوتراپی و دُز پایین سایکلو فسفامید^{۵۹} در مدل های موشی دارای سرطان پستان است [۱۱۵]. محققان موفق به انجام ایمونوتراپی به وسیله واکسن ژنتیکی HER-2/neu و آگونیست TLR9 در سرطان پستان شدند [۱۱۶]. آگونیست TLR9^{۶۰} در کنار IL-12 و IL-18 می تواند گسترش T تنظیمی را کاهش و در نتیجه پاسخ لنفوسیت های T مؤثر^{۶۱} را افزایش دهد و اثر واکسن را تشدید کند [۱۱۷].

کموتراپی سرطان پستان و TLRs

راهکارهای درمانی بسیاری برای بهبود و درمان سرطان وجود دارد. یکی از این راهکارها، شیمی درمانی است. شیمی درمانی می تواند سلول های توموری را نابود سازد که این نابودی به وسیله همراه^{۶۲} های مختلف تشدید می یابد. همراه ها درمان های کمکی هستند که به بهبود عملکرد و اثربخشی درمان های پایه کمک می کنند [۱۱۸]. یکی از این همراه ها، HMGB163 است که در درمان سرطان پستان استفاده می شود. سلول های توموری مرده می توانند HMGB1 را ترشح کرده و موجب فعال شدن TLR4 های روی دندریتیک سل ها شوند. این TLR4 ها نیازمند عرضه متقابل آنتی ژن های توموری بوده و در نتیجه موجب افزایش پاسخ سایتوتوکسیک سلول های T مختص تومور^{۶۴} می شوند [۱۱۹]. مطالعات مختلف نشان داده است که فقدان عملکرد آلل های TLR4 با کاهش پاسخ به شیمی درمانی در بیماران دارای سرطان پستان همراه است [۱۲۰، ۱۲۱].

درمان ترکیبی سرطان پستان و TLR

درمان ترکیبی^{۶۵} TLR و روش های سنتی شیمی درمانی می تواند روش درمانی مؤثری باشد که اثر مهارکنندگی رشد تومور را نسبت به شیمی درمانی به تنهایی افزایش می دهد و در نتیجه می توان دُز مصرفی شیمی درمانی را کاهش داد [۱۲۲]. [۱۱۵]. روش های سنتی درمان مانند شیمی درمانی و رادیوتراپی، آنتی ژن های توموری را آزاد کرده، سپس فاگوسیتوز شده و برای عرضه به ماکروفاژ و دندریتیک سل داده می شوند. پتانسیل سمی لنفوسیت های T سایتوتوکسیک^{۶۶} به سرکوب سلول های سرطانی پس از شناسایی آنتی ژن های توموری^{۶۷} منجر خواهد شد. روش

58. Synergism
59. Cyclophosphamide
60. CpG oligodeoxynucleotides
61. Effector cell
62. Adjuvant
63. High mobility group protein B1
64. Tumor-specific T lymphocyte
65. Combination therapy
66. Cytotoxic T lymphocytes (CTL)
67. Tumor-associated antigens (TAAs)

68. Dewan

69. Albumin-bound paclitaxel (nab-paclitaxel)

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مقاله از نوع مروری است و نمونه انسانی و حیوانی نداشته است.

حامی مالی

این تحقیق هیچ کمک مالی خاصی از سازمان‌های تأمین مالی در بخش‌های دولتی، تجاری یا غیرانتفاعی دریافت نکرده است.

مشارکت نویسندگان

تحلیل: هما داودی، نگین نوخندانی، مهدیه نقوی الحسینی؛ تحقیق و بررسی: نگین نوخندانی؛ نگارش پیش‌نویس: نگین نوخندانی، مهدیه نقوی الحسینی؛ ویراستاری و نهایی‌سازی نوشته: هما داودی، نگین نوخندانی، مهدیه نقوی الحسینی؛ مدیریت پروژه: هما داودی.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

سپاسگزاری

از معاونت محترم تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی گلستان به خاطر فراهم کردن شرایط مطالعه روی این گیرنده‌ها و بیماری سرطان قدردانی می‌شود.

References

- [1] Amoori N, Mirzaei M, Cheraghi M. Incidence of cancers in Kuzestan province of Iran: Trend from 2004 to 2008. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014; 15(19):8345-9. [DOI:10.7314/APJCP.2014.15.19.8345] [PMID]
- [2] Mohammadian M, Salehiniya H, Mohammadian-Hafshejani A. Some facts on incidence and mortality of cancer in Iran. *Iran J Public Health*. 2017; 46(10):1446-7. [PMID] [PMCID]
- [3] Ferlay J, Ervik M, Lam F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, et al. *Global cancer observatory: Cancer today*. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2018.
- [4] Clegg LX, Reichman ME, Miller BA, Hankey BF, Singh GK, Lin YD, et al. Impact of socioeconomic status on cancer incidence and stage at diagnosis: Selected findings from the surveillance, epidemiology, and end results: National Longitudinal Mortality Study. *Cancer Causes Control*. 2009; 20(4):417-35. [DOI:10.1007/s10552-008-9256-0] [PMID] [PMCID]
- [5] Hagerling C, Casbon AJ, Werb Z. Balancing the innate immune system in tumor development. *Trends Cell Biol*. 2015; 25(4):214-20. [DOI:10.1016/j.tcb.2014.11.001] [PMID] [PMCID]
- [6] Liao SJ, Zhou YH, Yuan Y, Li D, Wu FH, Wang Q, et al. Triggering of Toll-like receptor 4 on metastatic breast cancer cells promotes $\alpha\text{v}\beta 3$ -mediated adhesion and invasive migration. *Breast Cancer Res Treat*. 2012; 133(3):853-63. [DOI:10.1007/s10549-011-1844-0] [PMID]
- [7] Li J, Yin J, Shen W, Gao R, Liu Y, Chen Y, et al. TLR4 promotes breast cancer metastasis via Akt/GSK3 β / β -Catenin pathway upon LPS Stimulation. *Anat Rec*. 2017; 300(7):1219-29. [DOI:10.1002/ar.23590] [PMID]
- [8] Huang B, Zhao J, Unkeless J, Feng Z, Xiong H. TLR signaling by tumor and immune cells: A double-edged sword. *Oncogene*. 2008; 27(2):218-24. [DOI:10.1038/sj.onc.1210904] [PMID]
- [9] Geddes K, Magalhães JG, Girardin SE. Unleashing the therapeutic potential of NOD-like receptors. *Nat Rev Drug Discov*. 2009; 8(6):465-79. [DOI:10.1038/nrd2783] [PMID]
- [10] Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*. 2006; 124(4):783-801. [DOI:10.1016/j.cell.2006.02.015] [PMID]
- [11] Beutler B. Toll-like receptors: How they work and what they do. *Curr Opin Hematol*. 2002; 9(1):2-10. [DOI:10.1097/00062752-200201000-00002] [PMID]
- [12] Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: Update on Toll-like receptors. *Nat Immunol*. 2010; 11:373-84. [DOI:10.1038/ni.1863] [PMID]
- [13] Janeway Jr CA, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol*. 2002; 20(1):197-216. [DOI:10.1146/annurev.immunol.20.083001.084359] [PMID]
- [14] Muccioli M, Benencia F. Toll-like receptors in ovarian cancer as targets for immunotherapies. *Front Immunol*. 2014; 5:341. [DOI:10.3389/fimmu.2014.00341] [PMID] [PMCID]
- [15] Dajon M, Iribarren K, Cremer I. Toll-like receptor stimulation in cancer: A pro- and anti-tumor double-edged sword. *Immunobiology*. 2017; 222(1):89-100. [DOI:10.1016/j.imbio.2016.06.009] [PMID]
- [16] Kawai T, Akira S. Pathogen recognition with Toll-like receptors. *Curr Opin Immunol*. 2005; 17(4):338-44. [DOI:10.1016/j.coi.2005.02.007] [PMID]
- [17] Maglione PJ, Simchoni N, Cunningham-Rundles C. Toll-like receptor signaling in primary immune deficiencies. *Ann N Y Acad Sci*. 2015; 1356(1):1-21. [DOI:10.1111/nyas.12763] [PMID] [PMCID]
- [18] Takeda K, Akira S. Toll-like receptors in innate immunity. *Int Immunol*. 2005; 17(1):1-14. [DOI:10.1093/intimm/dxh186] [PMID]
- [19] Kawai T, Akira S. *TLR signaling*. Amsterdam: Elsevier; 2007. [DOI:10.1016/j.smim.2006.12.004] [PMID]
- [20] Huang B, Zhao J, Li H, He KL, Chen Y, Mayer L, et al. Toll-like receptors on tumor cells facilitate evasion of immune surveillance. *Cancer Res*. 2005; 65(12):5009-14. [DOI:10.1158/0008-5472.CAN-05-0784] [PMID]
- [21] Kuo WT, Lee TC, Yu LCH. Eritoran suppresses colon cancer by altering a functional balance in Toll-like receptors that bind lipopolysaccharide. *Cancer Res*. 2016; 76(16):4684-95. [DOI:10.1158/0008-5472.CAN-16-0172] [PMID]
- [22] Rakoff-Nahoum S, Medzhitov R. Toll-like receptors and cancer. *Nat Rev Cancer*. 2009; 9(1):57-63. [DOI:10.1038/nrc2541] [PMID]
- [23] Broz P, Monack DM. Newly described pattern recognition receptors team up against intracellular pathogens. *Nat Rev Immunol*. 2013; 13(8):551-65. [DOI:10.1038/nri3479] [PMID]
- [24] Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: Back to Virchow? *The Lancet*. 2001; 357(9255):539-45. [DOI:10.1016/S0140-6736(00)04046-0]
- [25] Chen R, Alvero A, Silasi D, Steffensen K, Mor G. Cancers take their toll-the function and regulation of Toll-like receptors in cancer cells. *Oncogene*. 2008; 27(2):225-53 [DOI:10.1038/sj.onc.1210907] [PMID]
- [26] Iwasaki A, Medzhitov R. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nat Immunol*. 2004; 5(10):987-95. [DOI:10.1038/ni1112] [PMID]
- [27] Basith S, Manavalan B, Yoo TH, Kim SG, Choi S. Roles of toll-like receptors in cancer: a double-edged sword for defense and offense. *Arch Pharm Res*. 2012; 35(8):1297-316. [DOI:10.1007/s12272-012-0802-7] [PMID]
- [28] Huang B, Zhao J, Shen S, Li H, He KL, Shen GX, et al. *Listeria monocytogenes* promotes tumor growth via tumor cell toll-like receptor 2 signaling. *Cancer Res*. 2007; 67(9):4346-52. [DOI:10.1158/0008-5472.CAN-06-4067] [PMID]
- [29] Kelly MG, Alvero AB, Chen R, Silasi DA, Abrahams VM, Chan S, et al. TLR-4 signaling promotes tumor growth and paclitaxel chemoresistance in ovarian cancer. *Cancer Res*. 2006; 66(7):3859-68. [DOI:10.1158/0008-5472.CAN-05-3948] [PMID]
- [30] Blander JM, Medzhitov R. Regulation of phagosome maturation by signals from toll-like receptors. *Science*. 2004; 304(5673):1014-8. [DOI:10.1126/science.1096158] [PMID]

- [31] Ioannou S, Voulgarelis M. Toll-like receptors, tissue injury, and tumorigenesis. *Mediators Inflamm.* 2010; 2010:581837. [DOI:10.1155/2010/581837] [PMID] [PMCID]
- [32] Zhang Z, Schluesener H. Mammalian toll-like receptors: From endogenous ligands to tissue regeneration. *Cell Mol Life Sci.* 2006; 63(24):2901-7. [DOI:10.1007/s00018-006-6189-1] [PMID]
- [33] González-Reyes S, Marín L, González L, González LO, del Casar JM, Lamelas ML, et al. Study of TLR3, TLR4 and TLR9 in breast carcinomas and their association with metastasis. *BMC Cancer.* 2010; 10:665. [DOI:10.1186/1471-2407-10-665] [PMID] [PMCID]
- [34] Davoodi H, Hashemi SR, Seow HF. Increased NFκ-B activity in HCT116 colorectal cancer cell line harboring TLR4 Asp299Gly Variant. *Iran J Allergy, Asthma Immunol.* 2012; 11(2):121-32.
- [35] Yang H, Zhou H, Feng P, Zhou X, Wen H, Xie X, et al. Reduced expression of toll-like receptor 4 inhibits human breast cancer cells proliferation and inflammatory cytokines secretion. *J Exp Clin Cancer Res.* 2010; 29(1):92. [DOI:10.1186/1756-9966-29-92] [PMID] [PMCID]
- [36] Tsuji S, Matsumoto M, Takeuchi O, Akira S, Azuma I, Hayashi A, et al. Maturation of human dendritic cells by cell wall skeleton of mycobacterium bovis bacillus calmette-guerin: Involvement of toll-like receptors. *Infect Immun.* 2000; 68(12):6883-90. [DOI:10.1128/IAI.68.12.6883-6890.2000] [PMID] [PMCID]
- [37] Park GS, Kim JH. LPS up-regulates ICAM-1 expression in breast cancer cells by stimulating a MyD88-BLT2-ERK-linked cascade, which promotes adhesion to monocytes. *Mol Cells.* 2015; 38(9):821-8. [DOI:10.14348/molcells.2015.0174] [PMID] [PMCID]
- [38] Yin T, He S, Wang Y. Tolllike receptor 7/8 agonist, R848, exhibits antitumoral effects in a breast cancer model. *Mol Med Rep.* 2015; 12(3):3515-20. [DOI:10.3892/mmr.2015.3885] [PMID]
- [39] Merrell MA, Ilvesaro JM, Lehtonen N, Sorsa T, Gehrs B, Rosenthal E, et al. Toll-like receptor 9 agonists promote cellular invasion by increasing matrix metalloproteinase activity. *Mol Cancer Res.* 2006; 4(7):437-47. [DOI:10.1158/1541-7786.MCR-06-0007] [PMID]
- [40] Ilvesaro JM, Merrell MA, Li L, Wakchoure S, Graves D, Brooks S, et al. Toll-like receptor 9 mediates CpG oligonucleotide-induced cellular invasion. *Mol Cancer Res.* 2008; 6(10):1534-43. [DOI:10.1158/1541-7786.MCR-07-2005] [PMID]
- [41] Takeuchi O, Sato S, Horiuchi T, Hoshino K, Takeda K, Dong Z, et al. Cutting edge: Role of Toll-like receptor 1 in mediating immune response to microbial lipoproteins. *J Immunol.* 2002; 169(1):10-4. [DOI:10.4049/jimmunol.169.1.10] [PMID]
- [42] Ehsan N, Murad S, Ashiq T, Mansoor MU, Gul S, Khalid S, et al. Significant correlation of TLR4 expression with the clinicopathological features of invasive ductal carcinoma of the breast. *Tumor Biol.* 2013; 34(2):1053-9. [DOI:10.1007/s13277-013-0645-y] [PMID]
- [43] Takeuchi O, Hoshino K, Kawai T, Sanjo H, Takada H, Ogawa T, et al. Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components. *Immun.* 1999; 11(4):443-51. [DOI:10.1016/S1074-7613(00)80119-3]
- [44] Xie W, Wang Y, Huang Y, Yang H, Wang J, Hu Z. Toll-like receptor 2 mediates invasion via activating NF-κB in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009; 379(4):1027-32. [DOI:10.1016/j.bbrc.2009.01.009] [PMID]
- [45] Scheeren FA, Kuo AH, Van Weele LJ, Cai S, Glykofridis I, Sikandar SS, et al. A cell-intrinsic role for TLR2-MYD88 in intestinal and breast epithelia and oncogenesis. *Nat Cell Biol.* 2014; 16(12):1238. [DOI:10.1038/ncb3058] [PMID]
- [46] Tang M, Diao J, Gu H, Khatri I, Zhao J, Cattral MS. Toll-like receptor 2 activation promotes tumor dendritic cell dysfunction by regulating IL-6 and IL-10 receptor signaling. *Cell Rep.* 2015; 13(12):2851-64. [DOI:10.1016/j.celrep.2015.11.053] [PMID]
- [47] Alexopoulou L, Holt AC, Medzhitov R, Flavell RA. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-κB by Toll-like receptor 3. *Nat.* 2001; 413(6857):732-8. [DOI:10.1038/35099560] [PMID]
- [48] de Bouteiller O, Merck E, Hasan UA, Hubac S, Benguigui B, Trinchieri G, et al. Recognition of double-stranded RNA by human toll-like receptor 3 and downstream receptor signaling requires multimerization and an acidic pH. *J Biol Chem.* 2005; 280(46):38133-45. [DOI:10.1074/jbc.M507163200] [PMID]
- [49] Li D, Gu R, Yang X, Hu C, Li Y, Gao M, et al. TLR3 correlated with cervical lymph node metastasis in patients with papillary thyroid cancer. *Int J Clin Exp Med.* 2014; 7(12):5111-7.
- [50] Khan A, Heys S, Eremin O. Synthetic polyribonucleotides: current role and potential use in oncological practice. *Eur J Surg Oncol.* 1995; 21(2):224-7. [DOI:10.1016/S0748-7983(95)90930-3]
- [51] Lacour J, Spira A, Petit JY, Sarrazin D, Lacour F, Michelson M, et al. Adjuvant treatment with polyadenylic-polyuridylic acid (Polya. Polyu) in operable breast cancer. *The Lancet.* 1980; 316(8187):161-4. [DOI:10.1016/S0140-6736(80)90057-4]
- [52] Salaun B, Coste I, Rissoan MC, Lebecque SJ, Renno T. TLR3 can directly trigger apoptosis in human cancer cells. *J Immunol.* 2006; 176(8):4894-901. [DOI:10.4049/jimmunol.176.8.4894] [PMID]
- [53] Poltorak A, He X, Smirnova I, Liu MY, Van Huffel C, Du X, et al. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Sci.* 1998; 282(5396):2085-8. [DOI:10.1126/science.282.5396.2085] [PMID]
- [54] Mehmeti M, Allaoui R, Bergenfelz C, Saal LH, Ethier SP, Johansson ME, et al. Expression of functional toll like receptor 4 in estrogen receptor/progesterone receptor-negative breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2015; 17(1):130. [DOI:10.1186/s13058-015-0640-x] [PMID] [PMCID]
- [55] Hayashi F, Smith KD, Ozinsky A, Hawn TR, Eugene CY, Goodlett DR, et al. The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature.* 2001; 410(6832):1099-103. [DOI:10.1038/35074106] [PMID]
- [56] Cai Z, Sanchez A, Shi Z, Zhang T, Liu M, Zhang D. Activation of Toll-like receptor 5 on breast cancer cells by flagellin suppresses cell proliferation and tumor growth. *Cancer Res.* 2011; 71(7):2466-75. [DOI:10.1158/0008-5472.CAN-10-1993] [PMID] [PMCID]

- [57] Takeuchi O, Kawai T, Mühlradt PF, Morr M, Radolf JD, Zychlinsky A, et al. Discrimination of bacterial lipoproteins by Toll-like receptor 6. *Int Immunology*. 2001; 13(7):933-40. [DOI:10.1093/intimm/13.7.933] [PMID]
- [58] Hong J, Cho IH, Kwak KI, Suh EC, Seo J, Min HJ, Choi SY, Kim CH, Park SH, Jo EK, Lee S. Microglial Toll-like receptor 2 contributes to kainic acid-induced glial activation and hippocampal neuronal cell death. *J Biol Chem*. 2010; 285(50):39447-57. [DOI:10.1074/jbc.M110.132522] [PMID] [PMCID]
- [59] Park SJ, Youn HS. Isoliquiritigenin suppresses the Toll-Interleukin-1 receptor domain-containing adapter inducing interferon- β (TRIF)-dependent signaling pathway of Toll-like receptors by targeting TBK1. *J Agric Food Chem*. 2010; 58(8):4701-5. [DOI:10.1021/jf100484r] [PMID]
- [60] Heil F, Hemmi H, Hochrein H, Ampenberger F, Kirschning C, Akira S, et al. Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. *Sci*. 2004; 303(5663):1526-9. [DOI:10.1126/science.1093620] [PMID]
- [61] Roach JC, Glusman G, Rowen L, Kaur A, Purcell MK, Smith KD, et al. The evolution of vertebrate Toll-like receptors. *Proc Natl Acad Sci*. 2005; 102(27):9577-82. [DOI:10.1073/pnas.0502272102] [PMID] [PMCID]
- [62] Larange A, Antonios D, Pallardy M, Kerdine-Römer S. TLR7 and TLR8 agonists trigger different signaling pathways for human dendritic cell maturation. *J Leukoc Biol*. 2009; 85(4):673-83. [DOI:10.1189/jlb.0808504] [PMID]
- [63] Meseure D, Vacher S, Alsibai KD, Trassard M, Nicolas A, Leclere R, et al. Biopathological significance of TLR9 expression in cancer cells and tumor microenvironment across invasive breast carcinomas subtypes. *Cancer Microenviron*. 2016; 9(2-3):107-18. [DOI:10.1007/s12307-016-0186-1] [PMID] [PMCID]
- [64] Lu H, Wagner WM, Gad E, Yang Y, Duan H, Amon LM, et al. Treatment failure of a TLR-7 agonist occurs due to self-regulation of acute inflammation and can be overcome by IL-10 blockade. *J Immunol*. 2010; 184(9):5360-7. [DOI:10.4049/jimmunol.0902997] [PMID]
- [65] Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, Kaisho T, Sato S, Sanjo H, et al. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nat*. 2000; 408(6813):740. [DOI:10.1038/35047123] [PMID]
- [66] Berger R, Fiegl H, Goebel G, Obexer P, Ausserlechner M, Doppler W, et al. Toll-like receptor 9 expression in breast and ovarian cancer is associated with poorly differentiated tumors. *Cancer scie*. 2010; 101(4):1059-66. [DOI:10.1111/j.1349-7006.2010.01491.x] [PMID] [PMCID]
- [67] Jukkola-Vuorinen A, Rahko E, Vuopala KS, Desmond R, Lehenkari PP, Harris KW, et al. Toll-like receptor-9 expression is inversely correlated with estrogen receptor status in breast cancer. *J Innate Immun*. 2009; 1(1):59-68. [DOI:10.1159/000151602] [PMID]
- [68] Sandholm J, Kauppila JH, Pressey C, Tuomela J, Jukkola-Vuorinen A, Vaarala M, et al. Estrogen receptor- α and sex steroid hormones regulate Toll-like receptor-9 expression and invasive function in human breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat*. 2012; 132(2):411-9. [DOI:10.1007/s10549-011-1590-3] [PMID]
- [69] McKelvey KJ, Highton J, Hessian PA. Cell-specific expression of TLR9 isoforms in inflammation. *J Autoimmun*. 2011; 36(1):76-86. [DOI:10.1016/j.jaut.2010.11.001] [PMID]
- [70] Qiu J, Shao S, Yang G, Shen Z, Zhang Y. Association of Toll like receptor 9 expression with lymph node metastasis in human breast cancer. *Neoplasma*. 2011; 58(3):251-5. [DOI:10.4149/neo_2011_03_251] [PMID]
- [71] Hasan U, Chaffois C, Gaillard C, Saulnier V, Merck E, Tancredi S, et al. Human TLR10 is a functional receptor, expressed by B cells and plasmacytoid dendritic cells, which activates gene transcription through MyD88. *J Immunol*. 2005; 174(5):2942-50. [DOI:10.4049/jimmunol.174.5.2942] [PMID]
- [72] Jiang S, Li X, Hess NJ, Guan Y, Tapping RI. TLR10 is a negative regulator of both MyD88-dependent and-independent TLR signaling. *J Immunol*. 2016; 196(9):3834-41. [DOI:10.4049/jimmunol.1502599] [PMID] [PMCID]
- [73] Chow A, Zhou W, Liu L, Fong MY, Champer J, Van Haute D, et al. Macrophage immunomodulation by breast cancer-derived exosomes requires Toll-like receptor 2-mediated activation of NF- κ B. *Sci Rep*. 2014; 4:5750. [DOI:10.1038/srep05750] [PMID] [PMCID]
- [74] Bhattacharya D, Yusuf N. Expression of toll-like receptors on breast tumors: taking a toll on tumor microenvironment. *Int J Breast Cancer*. 2012; 2012(716564):1-6. [DOI:10.1155/2012/716564] [PMID] [PMCID]
- [75] Vatner R, Demaria S, Fenton-Kerimian M, Novik Y, Oratz R, Tiersten A, et al. Novel combination of Toll-Like Receptor (TLR)-7 agonist Imiquimod and local radiation therapy in the treatment of metastatic breast cancer involving the skin or chest Wall. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2013; 87(2):S111. [DOI:10.1016/j.ijrobp.2013.06.286]
- [76] Ulrich CM, Robien K, McLeod HL. Cancer pharmacogenetics: polymorphisms, pathways and beyond. *Nat Rev Cancer*. 2003; 3(12):912-20. [DOI:10.1038/nrc1233] [PMID]
- [77] Zidi S, Sghaier I, Gazouani E, Mezlini A, Yacoubi-Loueslati B. Evaluation of Toll-like receptors 2/3/4/9 gene polymorphisms in cervical cancer evolution. *Pathol Oncol Res*. 2016; 22(2):323-30. [DOI:10.1007/s12253-015-0009-6] [PMID]
- [78] Davoodi H, Seow F. Variant Toll-like receptor4 (Asp299Gly and Thr399Ile alleles) and Toll-like receptor2 (Arg753Gln and Arg677Trp alleles) in colorectal cancer. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2011; 10(2):91-9.
- [79] Barnholtz-Sloan JS, Shetty PB, Guan X, Nyante SJ, Luo J, Brennan DJ, et al. FGFR2 and other loci identified in genome-wide association studies are associated with breast cancer in African-American and younger women. *Carcinog*. 2010; 31(8):1417-23. [DOI:10.1093/carcin/bgq128] [PMID] [PMCID]
- [80] Zhang K, Zhou B, Wang Y, Rao L, Zhang L. The TLR4 gene polymorphisms and susceptibility to cancer: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer*. 2013; 49(4):946-54. [DOI:10.1016/j.ejca.2012.09.022] [PMID]
- [81] Davoodi H, Hashemi SR, Seow HF. 5-fluorouracil induce the expression of TLR4 on HCT116 colorectal cancer cell line expressing different variants of TLR4. *Iran J Pharm Res*. 2013; 12(2):453.

- [82] Theodoropoulos GE, Saridakis V, Karantanos T, Michalopoulos NV, Zagouri F, Kontogianni P, et al. Toll-like receptors gene polymorphisms may confer increased susceptibility to breast cancer development. *Breast*. 2012; 21(4):534-8. [DOI:10.1016/j.breast.2012.04.001] [PMID]
- [83] Yang CX, Li CY, Feng W. Toll-like receptor 4 genetic variants and prognosis of breast cancer. *Tissue Antigens*. 2013; 81(4):221-6. [DOI:10.1111/tan.12096] [PMID]
- [84] AlHarras MF, Houssen ME, Shaker ME, Farag K, Farouk O, Monir R, et al. Polymorphisms of glutathione S-transferase π 1 and toll-like receptors 2 and 9: Association with breast cancer susceptibility. *Oncol Lett*. 2016; 11(3):2182-8. [DOI:10.3892/ol.2016.4159] [PMID] [PMCID]
- [85] Resler AJ, Malone KE, Johnson LG, Malkki M, Petersdorf EW, McKnight B, et al. Genetic variation in TLR or NFKappaB pathways and the risk of breast cancer: A case-control study. *BMC cancer*. 2013; 13:219. [DOI:10.1186/1471-2407-13-219] [PMID] [PMCID]
- [86] Steeg PS. Tumor metastasis: Mechanistic insights and clinical challenges. *Nat Med*. 2006; 12(8):895-904. [DOI:10.1038/nm1469] [PMID]
- [87] Liu Y, Yan W, Tohme S, Chen M, Fu Y, Tian D, et al. Hypoxia induced HMGB1 and mitochondrial DNA interactions mediate tumor growth in hepatocellular carcinoma through Toll-like receptor 9. *J Hepatol*. 2015; 63(1):114-21. [DOI:10.1016/j.jhep.2015.02.009] [PMID] [PMCID]
- [88] Monlish DA, Bhatt ST, Schuettpelz LG. The role of toll-like receptors in hematopoietic malignancies. *Front Immunol*. 2016; 7:390. [DOI:10.3389/fimmu.2016.00390] [PMID] [PMCID]
- [89] Taylor DD, Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2008; 110(1):13-21. [DOI:10.1016/j.ygyno.2008.04.033] [PMID]
- [90] Yang H, Wang B, Wang T, Xu L, He C, Wen H, et al. Toll-like receptor 4 prompts human breast cancer cells invasiveness via lipopolysaccharide stimulation and is overexpressed in patients with lymph node metastasis. *PLOS One*. 2014; 9(10):e109980. [DOI:10.1371/journal.pone.0109980] [PMID] [PMCID]
- [91] Ahmed A, Wang JH, Redmond HP. Silencing of TLR4 increases tumor progression and lung metastasis in a murine model of breast cancer. *Ann Surg Oncol*. 2013; 20(3):389-96. [DOI:10.1245/s10434-012-2595-9] [PMID]
- [92] Adams S, Kozhaya L, Martiniuk F, Meng T-C, Chiriboga L, Liebes L, et al. Topical TLR7 agonist imiquimod can induce immune-mediated rejection of skin metastases in patients with breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2012; 18(24):6748-57. [DOI:10.1158/1078-0432.CCR-12-1149] [PMID] [PMCID]
- [93] Lockshin RA, Williams CM. Programmed cell death-I. Cytology of degeneration in the intersegmental muscles of the Pernyi silkworm. *J Insect Physiol*. 1965; 11(2):123-33. [DOI:10.1016/0022-1910(65)90099-5]
- [94] Ouyang L, Shi Z, Zhao S, Wang FT, Zhou TT, Liu B, et al. Programmed cell death pathways in cancer: A review of apoptosis, autophagy and programmed necrosis. *Cell Prolif*. 2012; 45(6):487-98. [DOI:10.1111/j.1365-2184.2012.00845.x] [PMID]
- [95] Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*. 1972; 26(4):239-57. [DOI:10.1038/bjc.1972.33] [PMID] [PMCID]
- [96] Rajput S, Volk-Draper LD, Ran S. TLR4 is a novel determinant of the response to paclitaxel in breast cancer. *Molecular cancer Ther*. 2013; 12(8):1676-87. [DOI:10.1158/1535-7163.MCT-12-1019] [PMID] [PMCID]
- [97] Wang A, Su Q, Wu F, Zhang X, Liu P. Role of TLR4 for paclitaxel chemotherapy in human epithelial ovarian cancer cells. *Eur J Clin Invest*. 2009; 39(2):157-64. [DOI:10.1111/j.1365-2362.2008.02070.x] [PMID]
- [98] Chi H, Li C, Zhao FS, Zhang L, Ng TB, Jin G, et al. Anti-tumor activity of toll-like receptor 7 agonists. *Front Pharmacol*. 2017; 8:304. [DOI:10.3389/fphar.2017.00304] [PMID] [PMCID]
- [99] Schön M, Bong AB, Drewniok C, Herz J, Geilen CC, Reifemberger J, et al. Tumor-selective induction of apoptosis and the small-molecule immune response modifier imiquimod. *J Natl Cancer Inst*. 2003; 95(15):1138-49. [DOI:10.1093/jnci/djg016] [PMID]
- [100] Lackie J. A dictionary of biomedicine. Oxford: Oxford University Press; 2010.
- [101] Esquivel-Velázquez M, Ostoa-Saloma P, Palacios-Arreola MI, Nava-Castro KE, Castro JI, Morales-Montor J. The role of cytokines in breast cancer development and progression. *J Interferon Cytokine Res*. 2015; 35(1):1-16. [DOI:10.1089/jir.2014.0026] [PMID] [PMCID]
- [102] Su X, Ye J, Hsueh EC, Zhang Y, Hoft DF, Peng G. Tumor micro-environments direct the recruitment and expansion of human Th17 cells. *J Immunol*. 2010; 184(3):1630-41. [DOI:10.4049/jimmunol.0902813] [PMID]
- [103] Amirfakhri S, Salimi A, Fernandez N. Effects of conditioned medium from breast cancer Cells on Tlr2 expression in Nb4 Cells. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015; 16(18):8445-50. [DOI:10.7314/APJCP.2015.16.18.8445] [PMID]
- [104] Lamrani M, Sassi N, Paul C, Yousfi N, Boucher JL, Gauthier N, et al. TLR4/IFN γ pathways induce tumor regression via NOS II-dependent NO and ROS production in murine breast cancer models. *Oncol Immunology*. 2016; 5(5):e1123369. [DOI:10.1080/2162402X.2015.1123369] [PMID] [PMCID]
- [105] Zou W. Immunosuppressive networks in the tumour environment and their therapeutic relevance. *Nat Rev cancer*. 2005; 5(4):263-74. [DOI:10.1038/nrc1586] [PMID]
- [106] Lu H, Yang Y, Gad E, Wenner CA, Chang A, Larson ER, et al. Polysaccharide krestin is a novel TLR2 agonist that mediates inhibition of tumor growth via stimulation of CD8 T cells and NK cells. *Clin Cancer Res*. 2011; 17(1):67-76. [DOI:10.1158/1078-0432.CCR-10-1763] [PMID] [PMCID]
- [107] Round JL, Mazmanian SK. Inducible Foxp3⁺ regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota. *Proc Natl Acad Sci*. 2010; 107(27):12204-9. [DOI:10.1073/pnas.0909122107] [PMID] [PMCID]
- [108] Pasare C, Medzhitov R. Toll pathway-dependent blockade of CD4⁺ CD25⁺ T cell-mediated suppression by dendritic cells.

- Sci. 2003; 299(5609):1033-6. [DOI:10.1126/science.1078231] [PMID]
- [109] Yang Y, Huang CT, Huang X, Pardoll DM. Persistent Toll-like receptor signals are required for reversal of regulatory T cell-mediated CD8 tolerance. *Nat Immunol.* 2004; 5(5):508-15. [DOI:10.1038/ni1059] [PMID]
- [110] Naseemuddin M, Iqbal A, Nasti TH, Ghandhi JL, Kapadia AD, Yusuf N. Cell mediated immune responses through TLR4 prevents DMBA-induced mammary carcinogenesis in mice. *Int J Cancer.* 2012; 130(4):765-74. [DOI:10.1002/ijc.26100] [PMID] [PMCID]
- [111] Ikebe M, Kitaura Y, Nakamura M, Tanaka H, Yamasaki A, Nagai S, et al. Lipopolysaccharide (LPS) increases the invasive ability of pancreatic cancer cells through the TLR4/MyD88 signaling pathway. *J Surg Oncol.* 2009; 100(8):725-31. [DOI:10.1002/jso.21392] [PMID]
- [112] Orr MT, Fox CB, Baldwin SL, Sivananthan SJ, Lucas E, Lin S, et al. Adjuvant formulation structure and composition are critical for the development of an effective vaccine against tuberculosis. *J Control Release.* 2013; 172(1):190-200. [DOI:10.1016/j.jconrel.2013.07.030] [PMID] [PMCID]
- [113] Coler RN, Bertholet S, Moutaftsi M, Guderian JA, Windish HP, Baldwin SL, et al. Development and characterization of synthetic glucopyranosyl lipid adjuvant system as a vaccine adjuvant. *PLOS One.* 2011; 6(1):e16333. [DOI:10.1371/journal.pone.0016333] [PMID] [PMCID]
- [114] Shi M, Yao Y, Han F, Li Y, Li Y. MAP1S controls breast cancer cell TLR5 signaling pathway and promotes TLR5 signaling-based tumor suppression. *PLOS One.* 2014; 9(1):e86839. [DOI:10.1371/journal.pone.0086839] [PMID] [PMCID]
- [115] Dewan MZ, Vanpouille-Box C, Kawashima N, DiNapoli S, Babb JS, Formenti SC, et al. Synergy of topical toll-like receptor 7 agonist with radiation and low-dose cyclophosphamide in a mouse model of cutaneous breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2012; 18(24):6668-78. [DOI:10.1158/1078-0432.CCR-12-0984] [PMID] [PMCID]
- [116] Aurisicchio L, Peruzzi D, Conforti A, Dharmapuri S, Biondo A, Giampaoli S, et al. Treatment of mammary carcinomas in HER-2 transgenic mice through combination of genetic vaccine and an agonist of Toll-like receptor 9. *Clin Cancer Res.* 2009; 15(5):1575-84. [DOI:10.1158/1078-0432.CCR-08-2628] [PMID]
- [117] Vasir B, Wu Z, Crawford K, Rosenblatt J, Zarwan C, Bissonnette A, et al. Fusions of dendritic cells with breast carcinoma stimulate the expansion of regulatory T cells while concomitant exposure to IL-12, CpG oligodeoxynucleotides, and anti-CD3/CD28 promotes the expansion of activated tumor reactive cells. *J Immunol.* 2008; 181(1):808-21. [DOI:10.4049/jimmunol.181.1.808] [PMID]
- [118] Mostafa G, Lamont C, Greene FL, editors. *Review of Surgery: Basic Science and Clinical Topics for ABSITE.* Berlin: Springer Science & Business Media; 2006. [DOI:10.1007/978-0-387-44952-4]
- [119] Apetoh L, Ghiringhelli F, Tesniere A, Obeid M, Ortiz C, Criollo A, et al. Toll-like receptor 4-dependent contribution of the immune system to anticancer chemotherapy and radiotherapy. *Nat Med.* 2007; 13(9):1050-9. [DOI:10.1038/nm1622] [PMID]
- [120] Vacchelli E, Galluzzi L, Rousseau V, Rigoni A, Tesniere A, Delahaye N, et al. Loss-of-function alleles of P2RX7 and TLR4 fail to affect the response to chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Oncoimmunology.* 2012; 1(3):271-8. [DOI:10.4161/onci.18684] [PMID] [PMCID]
- [121] Apetoh L, Tesniere A, Ghiringhelli F, Kroemer G, Zitvogel L. Molecular interactions between dying tumor cells and the innate immune system determine the efficacy of conventional anticancer therapies. *Cancer Res.* 2008; 68(11):4026-30. [DOI:10.1158/0008-5472.CAN-08-0427] [PMID]
- [122] Jeung HC, Moon Y, Rha S, Yoo N, Roh J, Noh S, et al. Phase III trial of adjuvant 5-fluorouracil and adriamycin versus 5-fluorouracil, adriamycin, and polyadenylic-polyuridylic acid (poly A: U) for locally advanced gastric cancer after curative surgery: Final results of 15-year follow-up. *Ann Oncol.* 2007; 19(3):520-6. [DOI:10.1093/annonc/mdm536] [PMID]
- [123] Van De Voort TJ, Felder MA, Yang RK, Sondel PM, Rakhmievich AL. Intratumoral delivery of low doses of anti-CD40 mAb combined with monophosphoryl lipid A induces local and systemic antitumor effects in immunocompetent and T cell-deficient mice. *J Immunother.* 2013; 36(1):29-40. [DOI:10.1097/CJI.0b013e3182780f61] [PMID] [PMCID]
- [124] Schölch S, Rauber C, Weitz J, Koch M, Huber PE. TLR activation and ionizing radiation induce strong immune responses against multiple tumor entities. *Oncoimmunology.* 2015; 4(11):e1042201. [DOI:10.1080/2162402X.2015.1042201] [PMID] [PMCID]
- [125] Salazar LG, Lu H, Reichow JL, Childs JS, Coveler AL, Higgins DM, et al. Topical imiquimod plus nab-paclitaxel for breast cancer cutaneous metastases: A phase 2 clinical trial. *JAMA.* 2017; 317(7):969-73. [DOI:10.1001/jamaoncol.2016.6007] [PMID] [PMCID]
- [126] Zhang H, Liu L, Yu D, Kandimalla ER, Sun HB, Agrawal S, et al. An in situ autologous tumor vaccination with combined radiation therapy and TLR9 agonist therapy. *PLOS One.* 2012; 7(5):e38111. [DOI:10.1371/journal.pone.0038111] [PMID] [PMCID]
- [127] Mason KA, Hunter NR. CpG plus radiotherapy: a review of preclinical works leading to clinical trial. *Front Oncol.* 2012; 2:101. [DOI:10.3389/fonc.2012.00101] [PMID] [PMCID]