Research on Medicine *Original Article*

The Quarterly journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences Vol.39; No.2; 2015

Evaluation of CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T-cells increase in tumor environment of invasive intraductal breast carcinoma and control group

Mahya Ofoghi[1], Mehrnaz Mesdaghi[1], Ahad Khalilnezhad[1], Robabeh Taheri-Panah[3], Davar Amani[2]*

1. Department of Immunology, School of Medicine, International Branch of Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2. Department of Immunology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Department of Obstetric and Gynocology., School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received: 2015/03/12 Accept: 2015/10/7)

Abstract

Background: *It seems that the population of regulatory T-cells increases in many malignancies leading to suppression of effector immune responses and thereby leads to progression of the disease. We aimed to assess infiltration of the regulatory T-cells into tumor environment in women with breast carcinoma.*
Methods: *In a control-case study, 9 malignant tumor tissues from invasive intraductal breast carcinoma (case) and 8 benign breast tissues from healthy women (control) were mechanically and enzymatically processed. The prepared cell suspension was then subjected to staining of cell surface markers CD4 and CD25, and the extracellular marker FOXP3, and was finally analyzed by flow cytometry.*
Results: *Population of regulatory T-cells in malignant tumor tissues showed significant increase compared to the control ($p < 0.001$). A weak positive correlation was observed between size of the tumors and the infiltration of regulatory T-cells. Also, there was a moderate negative correlation between age of individuals and the number of regulatory T-cells in both malignant and benign breast tissues.*
Conclusions: *Increased regulatory T-cells population in invasive intraductal breast tumor environment may be the major cause of immunosuppression contributing to the tumor progression. However, further studies with larger sample size are suggested to clarify this hypothesis.*

Keywords: *Flow cytometry, Invasive intraductal breast carcinoma, Regulatory T-cells*

Archive of SID

* *Corresponding authors: Department of Immunology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran 1985717443, Iran.*
E-mail: amanid@sbmu.ac.ir
Tel/Fax: + 98 21 22439970
Corosponding Author: Davar Aamani, amanid@sbmu.ac.ir

www.SID.ir

پژوهش در پزشکی
فصلنامه علمی پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
مقاله پژوهشی
دور۳۹، شماره۲، ۱۳۹۴، صفحات ۵۵ تا ۵۹

بررسی سلول‌های T تنظیمی CD4+CD25+FOXP3+ در محیط تومور کارسینوم مجرایی مهاجم پستان و گروه شاهد

محیا افقی[۱]، مهرناز مصداقی[۲]، احد خلیل‌نژاد[۲]، ربابه طاهری پناه[۳]، داور امانی[۲]*

۱- گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، شعبه بین‌الملل دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲- گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۳- گروه زنان و مامایی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۱۲/۲۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۷/۱۵

چکیده

سابقه و هدف: سلول‌های *T* تنظیمی در سیستم ایمنی به عنوان تنظیمکننده منفی عمل کرده و در تعدیل و مهار پاسخ‌های ایمنی نقش دارند، در نتیجه از پیدایش بیماری‌های خود ایمن جلوگیری می کنند و این در حالی است که مطالعه‌های مختلف در انواعی از تومورها نشان داده است که این سلول‌ها در سرکوب پاسخ‌های موثر ایمنی بر ضد سرطان نقش داشته و باعث پیشرفت تومور می‌شوند. در این زمینه در مطالعه حاضر میزان ارتشاح جمعیت سلول‌های *T* تنظیمی در بافت تومور بیماران مبتلا به سرطان پستان و گروه شاهد بررسی شد.

روش بررسی: در این مطالعه مورد- شاهدی نمونه بافت توموری ۹ بیمار مبتلا به کارسینوم مجرایی مهاجم پستان و بافت خوش‌خیم یا سالم ۸ فرد سالم برداشت و مورد هضم مکانیکی و آنزیمی قرار گرفت. سوسپانسیون سلولی به دست آمده تحت رنگ‌آمیزی مارکرهای سطح سلولی یعنی *CD4* و *CD25* و سپس رنگ‌آمیزی مارکر خارج سلولی *FOXP3* و در نهایت با دستگاه فلوسایتومتری آنالیز و با آزمون *T* قضاوت آماری شد.

یافته‌ها: جمعیت سلول‌های *T* تنظیمی در بافت تومور پستان در مقایسه با بافت خوش‌خیم پستان افزایش آماری معناداری نشان داد *(P< 0.001)*. همچنین یک همبستگی ضعیف مثبت بین اندازه تومور و جمعیت سلول‌های *T* تنظیمی در گروه بیمار و همچنین یک همبستگی متوسط منفی بین سن افراد و جمعیت این سلول‌ها در هر دو گروه شاهد و بیمار مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که افزایش سلول‌های *T* تنظیمی در محیط تومور افراد مبتلا به کارسینوم مجرایی مهاجم پستان، عامل اصلی سرکوب پاسخ‌های ایمنی ضد تومور و پیشرفت تومور باشد. با این حال، به دلیل کوچک بودن حجم نمونه در مطالعه حاضر به انجام بررسی‌های تأییدی بیش‌تر در پژوهش‌هایی با حجم نمونه بزرگ‌تر نیاز است.

واژگان کلیدی: سلول‌های *T* تنظیمی، کارسینوم مجرایی مهاجم پستان، فلوسایتومتری

مقدمه

سرطان پستان یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌ها در زنان و پس از سرطان ریه دومین سرطان منجر به مرگ است.(۱، ۲) در زنان ایرانی، سرطان پستان ۲۴/۴درصد از کل بدخیمی‌های زنان را شامل شده (۳) و کارسینومای مجرایی مهاجم شایع‌ترین نوع سرطان پستان است (۴). در بیشتر بیماران سرطانی نقص در پاسخ‌های ایمنی وجود دارد اما مکانیسم‌های این اختلالات ایمنی به طور کامل درک نشده است.(۵)

در شکل‌گیری سرطان پستان عوامل هورمونی و غیر هورمونی و عوامل ژنتیکی نقش دارند.(۲, ۶) سرطان پستان از نظر پاتولوژی به دو دسته کلی؛ درجا (In situ) و مهاجم (Invasive) تقسیم می‌شود. سرطان درجا را به دو نوع لوبولار (Lobular) و داکتال (Ductal) تقسیم بندی می‌کنند و سرطان مهاجم شامل بیماری پاژه (Paget) نوک پستان، سرطان مهاجم داکتال و لوبولار است.

نقش فیزیولوژیک سیستم ایمنی در پیشگیری و مهار رشد سلول‌های توموری بسیار اهمیت دارد(۵). سیستم ایمنی به مقابله با تغییرهای سلولی در بدن می‌پردازد و میان پاسخ ایمنی مؤثر و واکنش‌های کنترل نشده تعادل برقرار می‌کند که این نقش را به واسطه فراخوانی سلول‌ها و مولکول‌های تنظیمی انجام می‌دهد. یکی از سلول‌های اصلی تنظیمی که به تازگی بسیار مورد توجه قرار گرفته لنفوسیت‌های T تنظیمی هستند.(۷, ۸) مهم‌ترین گروه آن‌ها، سلول‌های T تنظیمی $CD4^+$هستند که شامل دو گروه T تنظیمی طبیعی و القایی هستند. جمعیتی از این سلول‌ها که دارای مارکرهای CD25+، $CD4^+$ و+FOXP3 هستند، بیش از همه تأیید شده‌اند.

نویسنده مسئول: داور امانی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، چمران، تهران، ایران
آدرس ایمیل: *amanid@sbmu.ac.ir* تلفن/دورنگار: ۲۲۴۳۹۹۷۰-۲۱-۹۸+

Archive of SID
www.SID.ir

این سلول‌ها از پاسخ علیه آنتی‌ژن‌های خودی جلوگیری می‌کنند و در حفظ تحمل به خود نقش دارند. بنابراین نقش مهمی در جلوگیری از خودایمنی ایفا می‌کنند.(۹, ۱۰) سلول‌های T تنظیمی عملکرد خود را یا به واسطه ترشح عوامل محلول یا توسط مکانیسم‌های وابسته به تماس سلولی انجام می‌دهند. (۱۱–۱۳) در ایمونولوژی سرطان عملکرد مهاری این سلول‌ها باعث سرکوب پاسخ‌های ایمنی ضد تومور شده و به رشد و پیشرفت تومور یا سرطان منجر می‌شود.(۱۴–۱۹)

در مطالعاتی که روی خون محیطی افراد مبتلا به انواع بدخیمی انجام شده، مشخص شده است که جمعیت سلول‌های T تنظیمی $CD4^+CD25^+$ در خون محیطی بیماران در مقایسه با افراد سالم افزایش می‌یابد.(۱۶) افزایش سلول‌های تنظیمی $CD4^+CD25^{high}$ در خون محیطی افراد مبتلا به سرطان ریه، معده و مری تخمدان دیده شده است. (۲۰, ۲۱) همچنین مطالعه فلوسایتومتری روی خون محیطی زنان مبتلا به سرطان پستان در مقایسه با افراد سالم نشان داد که بیماران سلول‌های T تنظیمی بیشتری دارند ضمن این‌که نسبت Th/Tr در آن‌ها در مقایسه با افراد سالم کمتر است.(۲۲) با توجه به نقش سلول‌های T تنظیمی در پاسخ‌های ایمنی علیه تومور، در این مطالعه به ارزیابی جمعیت این سلول‌ها در بافت توموری افراد مبتلا به سرطان پستان پرداخته‌ایم.

مواد و روش‌ها

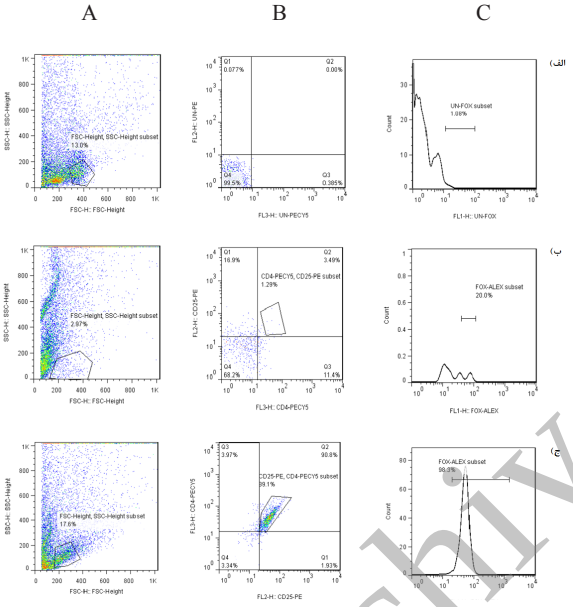
جامعه مورد مطالعه: این مطالعه به صورت مورد– شاهدی انجام شد. جمعیت بیمار شامل ۹ زن مبتلا به کارسینوم مجرایی مهاجم پستان (Invasive intraductal carcinoma) است که هیچ گونه سابقه بیماری‌های مزمن از قبیل سرطان و خود ایمنی و سابقه درمان نداشتند. بافت تومور پستان ضمن عمل جراحی از این بیماران برداشت شد. گروه شاهد شامل ۸ زن سالم بود که به دلیل تغییرهای خوش‌خیم در بافت پستان یا جراحی زیبایی پستان (Mammoplasty) تحت عمل جراحی قرار گرفته بودند. نمونه‌برداری در بیمارستان لاله شهر تهران از اردیبهشت ۱۳۹۲ تاشهریور ۱۳۹۳ انجام شد.

این مطالعه از سوی کمیته اخلاق مستقر در معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی تأیید شد. افراد شرکت کننده پس از کسب رضایت‌نامه کتبی، وارد این پژوهش شدند. اطلاعات شخصی افراد به طور کامل محرمانه مانده و هیچ هزینه‌ای به آنان تحمیل نشد.

آماده‌سازی نمونه‌ها: قطعات بافت بیوپسی شده تومور یا بافت خوش‌خیم پستان بلافاصله پس از جراحی به داخل لوله‌های فالکون ۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت RPMI ۱۶۴۰ منتقل و با حفظ زنجیره سرد به آزمایشگاه تحقیقاتی انتقال داده شد. در آنجا قطعات بافتی پس از حذف بافت‌های چربی و خونی وزن شده که وزن متوسط آن ۱/۲ گرم بود سپس توسط اسکالپل استریل به تکه‌های کوچک بریده شده و مورد هضم مکانیکی قرار گرفت. سپس جهت هضم آنزیمی، بافت در ۵ میلی‌لیتر از کوکتل آنزیمی شامل کلاژناز ۰/۰۵ درصد و DNase ۰/۰۰۲ درصد قرار گرفته و به مدت یک ساعت در انکوباتور 5% CO2 با دمای ۳۷ C° قرار داده شد. سپس سوسپانسیون سلولی حاصله از مش فلزی با منافذ ۸۰ میکرومتری عبور داده شده و یک میلی‌لیتر FBS غیر فعال شده با حرارت به آن اضافه شد تا واکنش آنزیمی متوقف شود. پس از آن، به مدت ۱۰ دقیقه با دور g ۲۵۰ در دمای اتاق سانتریفیوژ شد، محلول رویی دور ریخته شد ، ته‌نشین سلولی در یک میلی‌لیتر محیط کشت RPMI ۱۶۴۰ حل شد و تعداد سلول‌ها و همچنین درصد زنده بودن آن‌ها طبق پروتکل تعریف شده محاسبه شد.(۲۳) نمونه‌های حاوی بیش از ۹۵ درصد سلول‌های زنده برای انجام فلوسایتومتری استفاده شد.

فلوسایتومتری: برای رنگ‌آمیزی مارکرهای سطحی سلول‌های T تنظیمی از آنتی‌بادی‌های Anti-h-CD4 (RPE-Cy5) و Anti-h-CD25(RPE)ساخت شرکت Dako دانمارک و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. برای رنگ‌آمیزی مارکر داخل سلولی از آنتی‌بادی Anti-h-FOXP3 Alexa Fluor ۴۸۸ محصول شرکت BD آمریکا و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. به طور خلاصه، ۱۰ میکرولیتر از هریک از آنتی‌بادی ضد مارکر CD4 و CD25 به لوله تست حاوی ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون سلولی (۱×۱۰^۶ سلول در هرمیلی لیتر PBS[۱]) افزوده شد. سپس ۳۰ دقیقه در یخچال انکوبه و بعد با PBS شست‌وشو داده شد و ته‌نشین سلولی با توئین ۰/۲ درصد مجاور شده تا سلول‌ها نفوذپذیر شوند. سپس، ۲۰ میکرولیتر از آنتی‌بادی ضد FOXP3 افزوده شده و ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در شرایط تاریکی انکوبه شد. در مرحله بعد، سوسپانسیون با PBS شست‌وشو داده شده و در نهایت برای فیکس کردن از پارافرمالدئید یک درصد استفاده شد و تا زمان خوانش، به مدت حداکثر ۲۴ ساعت در دمای ۸–۲ درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار داده شد. در کمترین زمان پس از آماده‌سازی نمونه‌ها، آنالیز فلوسایتومتری آن‌ها با دستگاه فلوسایتومتری (BD FACS Calibur, USA) انجام شد. برای آنالیز داده‌های فلوسایتومتری از نرم افزار فلو جو ۷/۶/۱ استفاده شد. درصد سلول‌های T تنظیمی به صورت حاصل‌ضرب سلول‌های $FOXP3^+$ در سلول‌های $CD4^+CD25^+$ محاسبه شد.(شکل ۱)

آنالیز آماری: برای آنالیز آماری از نسخه شماره ۲۰ نرم‌افزار SPSS استفاده شد. ابتدا با آزمون کولموگروف اسمیرنوف (Kolmogorov–Smirnov test)توزیع داده‌ها از نظر نرمال بودن یا نبودن ارزیابی شد. برای مقایسه میانگین درصد سلول‌های T تنظیمی بین گروه بیمار و کنترل از آزمون T مستقل (Independent T test) و برای



شکل ۱– سنجش جمعیت سلول‌های T تنظیمی با تکنیک فلوسایتومتری: الف) نمونه بدون رنگ ب) نمونه بافت خوش‌خیم پستان (شاهد) ج) نمونه بافت تومور پستان (بیمار). در این شکل، اشکال ستون A) تعیین منطقه حضور لنفوسیت‌ها. اشکال ستون B) تعیین کوادران برای رنگ‌های CD4-PECY5/ CD25-PE بر اساس gate اعمال شده بر نمودار A. و اشکال ستون C)تهیه هیستوگرام FOXP3 با رنگ FOXP3-Alexa-Flur بر اساس منطقه تعیین شده در کوادران B را نشان می‌دهند. درصد سلول‌های T تنظیمی به صورت حاصل‌ضرب سلول‌های $FOXP3^+$ درسلول‌های $CD4^+CD25^+$ محاسبه گردید.

ارزیابی همبستگی بین سن افراد، اندازه تومور و جمعیت سلول‌های T تنظیمی از آزمون همبستگی پیرسون (Pearson Correlation) استفاده شد.

یافته‌ها

گروه شاهد شامل ۸ زن سالم با دامنه سنی ۵۸–۲۱ سال و در سنین ۴۲/۱۴±۴/۷ سال بودند. گروه بیمار شامل ۹ زن بیمار همگی مبتلا به کارسینوم مجرایی مهاجم (IDC) با دامنه سنی ۷۲–۵۰ سال و در سنین ۶۱/۷±۷ سال بودند. در گروه بیمار دامنه اندازه قطر تومور ۵–۱/۸ سانتی‌متر و میزان متوسط ۹۲/۰۷±۲/۱ سانتی‌متر به دست آمد.

۱ بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده کیت، تعداد سلول‌ها یک میلیون در هر میلی لیتر بافر فلوسایتومتری PBS تعیین شد.

Archive of SID
www.SID.ir

فراوانی سلول‌های T تنظیمی: فراوانی این سلول‌ها در بافت توموری بیماران مبتلا به سرطان پستان ۱۵±/۱۰ ۸۰/۵۴ درصد و در بافت خوش‌خیم پستان گروه شاهد ۰/۳۱ ± ۰/۵۱ بود. نتایج آزمون T مستقل نشان داد که سلول‌های T تنظیمی در بافت تومور پستان گروه بیمار در مقایسه با بافت خوش‌خیم گروه شاهد افزایش آماری معناداری دارد (P< 0.001).

همبستگی: نتایج آزمون پیرسون نشان داد که بین اندازه تومور و جمعیت سلول‌های T تنظیمی در بافت تومور یک همبستگی ضعیف مثبت وجود دارد (r= 0.371 و P= 0.163)، به طوری که با افزایش اندازه تومور، تعداد سلول‌های T تنظیمی در بافت تومور نیز افزایش می‌یابد. همچنین نتایج آزمون پیرسون نشان داد که بین سن بیمار و جمعیت سلول‌های T تنظیمی در بافت تومور یک همبستگی متوسط منفی وجود دارد (P= 0.046 و r= -0.593)، به طوری که با افزایش سن بیمار تعداد سلول‌های T تنظیمی در بافت تومور کاهش می‌یابد، علاوه بر این، نتایج آزمون پیرسون نشان داد که بین سن فرد سالم و جمعیت سلول‌های T تنظیمی در بافت خوش خیم پستان نیز یک همبستگی متوسط منفی وجود دارد و (r= -0.406 P= 0.159)، به طوری که با افزایش سن افراد تعداد سلول‌های T تنظیمی در بافت پستان کاهش می‌یابد.

بحث

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که جمعیت سلول‌های T تنظیمی در بافت تومور کارسینوم مجرایی مهاجم در مقایسه با بافت پستان سالم به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد که این افزایش با اندازه تومور همبستگی مثبت و با سن افراد همبستگی منفی نشان می‌دهد.

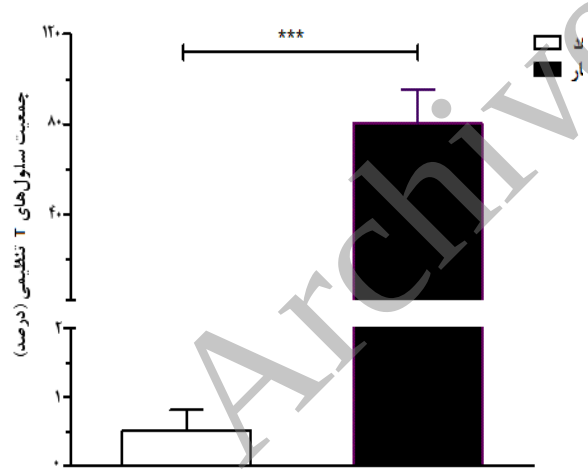
در بسیاری از مطالعه‌های پیشین به بررسی فلوسایتومتری سلول‌های T تنظیمی در خون محیطی افراد مبتلا به انواع سرطان‌ها از قبیل؛ سرطان ریه، کولون، پانکراس و ... پرداخته شده است (۱۴, ۲۰-۲۲, ۲۴-۲۶). نتایج حاصل از این مطالعه، با نتایج مطالعه‌هایی که روی سرطان پستان و سرطان‌هایی همچون سرطان معده، روده، مری، کبد، تخمدان و ریه صورت گرفته است، مشابه است. (۱۴, ۱۵, ۱۷, ۱۸) به عنوان مثال، در مطالعه بیتس (Bates) و همکاران مشاهده کردند که تعداد سلول‌های T تنظیمی FOXP3+ در کارسینومای مهاجم و درجا در مقایسه با بافت نرمال پستان به طور معناداری افزایش یافته است.(۲۷) آنان دریافتند که تعداد این سلول‌ها در افراد مبتلا به کارسینومای مجرایی درجا با خطر عود دوباره تومور همراه بوده و در بیماران دارای تومور مهاجم نیز تعداد این سلول‌ها بالا رفته است.(۲۷) در مطالعه‌ای که گوبرت (Gobert) و همکاران روی بافت توموری افراد مبتلا به سرطان پستان انجام دادند، سلول‌های T تنظیمی ارتشاح یافته به غدد لنفاوی پیرامون تومور بررسی شد و مشخص شد که تعداد این سلول‌ها در این محیط افزایش داشته است. (۲۸) در مطالعه گوبرت و همکاران، همچنین خون محیطی بیمارانی که دارای تومور اولیه پستان بودند از نظر حضور سلول‌های T تنظیمی CD25highFOXP3+ با خون محیطی افراد سالم مقایسه شد و مشخص شد تعداد این سلول‌ها در خون محیطی این بیماران در مقایسه با افراد سالم افزایش داشته است.(۲۸) بنابراین، یافته‌های ما با نتایج بیتس و همکاران و گوبرت و همکاران همخوانی دارد.

این مطالعه، نخستین مطالعه در ایران و جزو معدود مطالعه‌ها در جهان است که جمعیت سلول‌های T تنظیمی را با استفاده از تکنیک فلوسایتومتری در محیط تومور افراد مبتلا به سرطان پستان ارزیابی کرده است.(۲۹و۱۶) در مطالعات پیشین که روی بافت تومور پستان کار کرده‌اند، گروه شاهد خود را از بافت مجاور تومور که سالم است، انتخاب کرده بودند.(۱۵, ۲۹) حال آنکه در این مطالعه گروه شاهد از بافت افراد سالمی که تحت جراحی زیبایی قرار گرفته بودند یا از بافت خوش‌خیم افراد سالمی که تحت جراحی بافت قرار گرفته بودند، فراهم شد. همچنین در مطالعه حاضر برای تشخیص قطعی سلول‌های T تنظیمی از سلول‌های T فعال به وسیله دستگاه فلوسایتومتری از مولکول داخل سلولی FOXP3 استفاده شد که در حال حاضر اختصاصی‌ترین مارکر برای تشخیص و تمایز سلول‌های T تنظیمی از غیر تنظیمی است. مولکول FOXP3 نقش حیاتی در تولید سلول‌های T تنظیمی CD4+ CD25+ ایفا می‌کند.(۳۰, ۳۱) تعامل سلول‌های T تنظیمی FOXP3+ و سلول‌های اندوتلیال موجود در ریز محیط تومور به اثبات رسیده است به گونه‌ای که این سلول‌ها در مقایسه با سلول‌های T افکتور ترجیح بیشتری برای ارتشاح و تجمع در تومور دارند.(۱۱, ۳۲)

رشد تومورهای بدخیم تا حدود زیادی با ظرفیت تکثیر سلول‌های توموری و توانایی این سلول‌ها در تهاجم به بافت‌های میزبان و متاستاز به نقاط دوردست مشخص می‌شود.(۹) بنابراین درمان سرطان نیازمند برداشتن یا نابودی تمام سلول‌های بدخیم بدون آسیب رساندن به بافت‌های دیگر بیمار است که امروزه تلاش می‌شود از طریق تحریک پاسخ ایمنی مؤثر و حذف یا کاهش سلول‌های مهارکننده پاسخ‌های ایمنی مؤثر علیه تومور بتوان به این هدف دست یافت. در ایمونولوژی سرطان با توجه به این‌که اغلب آنتی‌ژن‌های توموری همان آنتی‌ژن‌های خودی هستند، سلول‌های T تنظیمی با سرکوب سلول‌های T اختصاصی علیه تومور نقش مهمی در مهار پاسخ‌های ایمنی ضد تومور ایفا می‌کنند.(۸, ۳۳) اکثر مطالعاتی که در زمینه سرطان انجام شده نشان می‌دهد که سلول‌های T تنظیمی به طور چشم‌پیری در بیماران مبتلا به سرطان افزایش می‌یابد. بنابراین با توجه به عملکرد مهاری سلول‌های T تنظیمی در تومور، انتظار می‌رود یکی از دلایل گسترده مهار پاسخ‌های ایمنی در تومور پستان نیز افزایش سلول‌های T تنظیمی در این نوع تومورها باشد. (۲۵،۱۸،۱۷،۱۵،۱۴)

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد که افزایش سلول‌های T تنظیمی CD4+CD25+FOXP3+ در محیط تومور افراد مبتلا به کارسینوم مجرایی مهاجم پستان مسئول سرکوب پاسخ‌های ایمنی ضد تومور و پیشرفت بدخیمی باشد. بنابراین، احتمال می‌رود درمان‌هایی که این دسته از سلول‌ها را هدف قرار می‌دهند، بتوانند استراتژی موفقی در درمان سرطان ارائه دهند. با این حال، به دلیل کوچک بودن حجم نمونه در مطالعه حاضر به انجام بررسی‌های تأییدی بیش‌تر در پژوهش‌هایی با حجم نمونه بزرگ‌تر نیاز است.



نمودار ۱- میزان سلول‌های CD4+CD25+ FOXP3+ (T تنظیمی) به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه
*** به معنای P<0.001 است

تشکر و قدردانی

این پژوهش از سوی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی با شماره پرونده ۱۶۴۰ پشتیبانی مالی شده است، همچنین به عنوان بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد خانم محیا افقی است. نویسندگان از تمامی افراد شرکت کننده در این پژوهش کمال تشکر را دارند.

Archive of SID
www.SID.ir

منـابع

1. Kolahdoozan S, Sadjadi A, Radmard AR, Khademi H. Five common cancers in Iran. Arch Iran Med. 2010 Mar;13(2):143-6.

2. Kummar V AAK, Aster J.C. Robbins Basic Pathology. ninth ed: ELSEVIER SAUNDERS; 2013.

3. Mousavi SM, Gouya MM, Ramazani R, Davanlou M, Hajsadeghi N, Seddighi Z. Cancer incidence and mortality in Iran. Ann Oncol. 2009 Mar;20(3):556-63.

4. Hashemzadeh S, Aligholipour Maleki R, Golzari SE. The incidence of breast cancer in northwest iran (2003 -2008). J Cardiovasc Thorac Res. 2012;4(1):5-9.

5. Remedi MM, Hliba E, Demarchi M, Depiante-Depaoli M. Relationship between immune state and tumor growth rate in rats bearing progressive and non-progressive mammary tumors. Cancer Immunol Immunother. 1998 Aug;46(6):350-4.

6. Amani D, Khalilnezhad A, Ghaderi A, Niikawa N, Yoshiura K. Transforming growth factor beta1 (TGFbeta1) polymorphisms and breast cancer risk. Tumour Biol. 2014 May;35(5):4757-64.

7. Jonuleit H, Schmitt E, Kakirman H, Stassen M, Knop J, Enk AH. Infectious tolerance: human CD25(+) regulatory T cells convey suppressor activity to conventional CD4(+) T helper cells. J Exp Med. 2002 Jul 15;196(2):255-60.

8. Sakaguchi S. Regulatory T cells: key controllers of immunologic self-tolerance. Cell. 2000 May 26;101(5):455-8.

9. Abul K. Abbas AHL, Shiv Pillai. Cellular and Molecular Immunology. ELSEVIER SAUNDERS, 2012.

10. Kondelkova K, Vokurkova D, Krejsek J, Borska L, Fiala Z, Ctirad A. Regulatory T cells (TREG) and their roles in immune system with respect to immunopathological disorders. Acta Medica (Hradec Kralove). 2010;53(2):73-7.

11. Zou W. Regulatory T cells, tumour immunity and immunotherapy. Nat Rev Immunol. 2006 Apr;6(4):295-307.

12. Larmonier N, Marron M, Zeng Y, Cantrell J, Romanoski A, Sepassi M, et al. Tumor-derived CD4(+)CD25(+) regulatory T cell suppression of dendritic cell function involves TGF-beta and IL-10. Cancer Immunol Immunother. 2007 Jan;56(1):48-59.

13. Strauss L, Bergmann C, Szczepanski M, Gooding W, Johnson JT, Whiteside TL. A unique subset of CD4+CD25highFoxp3+ T cells secreting interleukin-10 and transforming growth factor-beta1 mediates suppression in the tumor microenvironment. Clin Cancer Res. 2007 Aug 1;13(15 Pt 1):4345-54.

14. Ormandy LA, Hillemann T, Wedemeyer H, Manns MP, Greten TF, Korangy F. Increased populations of regulatory T cells in peripheral blood of patients with hepatocellular carcinoma. Cancer Res. 2005 Mar 15;65(6):2457-64.

15. Ling KL, Pratap SE, Bates GJ, Singh B, Mortensen NJ, George BD, et al. Increased frequency of regulatory T cells in peripheral blood and tumour infiltrating lymphocytes in colorectal cancer patients. Cancer Immun. 2007;7:7.

16. Wolf AM, Wolf D, Steurer M, Gastl G, Gunsilius E, Grubeck-Loebenstein B. Increase of regulatory T cells in the peripheral blood of cancer patients. Clin Cancer Res. 2003 Feb;9(2):606-12.

17. Woo EY, Chu CS, Goletz TJ, Schlienger K, Yeh H, Coukos G, et al. Regulatory CD4(+)CD25(+) T cells in tumors from patients with early-stage non-small cell lung cancer and late-stage ovarian cancer. Cancer Res. 2001 Jun 15;61(12):4766-72.

18. Liyanage UK, Goedegebuure PS, Moore TT, Viehl CT, Moo-Young TA, Larson JW, et al. Increased prevalence of regulatory T cells (Treg) is induced by pancreas adenocarcinoma. J Immunother. 2006 Jul-Aug;29(4):416-24.

19. Zenclussen AC. CD4(+)CD25+ T regulatory cells in murine pregnancy. J Reprod Immunol. 2005 Apr;65(2):101-10.

20. Liu L, Yao J, Ding Q, Huang S. CD4+CD25high regulatory cells in peripheral blood of NSCLC patients. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci. 2006;26(5):548-51.

21. Kono K, Kawaida H, Takahashi A, Sugai H, Mimura K, Miyagawa N, et al. CD4(+)CD25high regulatory T cells increase with tumor stage in patients with gastric and esophageal cancers. Cancer Immunol Immunother. 2006 Sep;55(9):1064-71.

22. Wang ZK, Yang B, Liu H, Hu Y, Yang JL, Wu LL, et al. Regulatory T cells increase in breast cancer and in stage IV breast cancer. Cancer Immunol Immunother. 2012 Jun;61(6):911-6.

23. Dressler LG, Visscher D. Handling, storage, and preparation of human tissues. Curr Protoc Cytom. 2001 May;Chapter 5:Unit 5 2.

24. Beyer M, Kochanek M, Giese T, Endl E, Weihrauch MR, Knolle PA, et al. In vivo peripheral expansion of naive CD4+CD25high FoxP3+ regulatory T cells in patients with multiple myeloma. Blood. 2006 May 15;107(10):3940-9.

25. Curiel TJ, Coukos G, Zou L, Alvarez X, Cheng P, Mottram P, et al. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. Nat Med. 2004 Sep;10(9):942-9.

26. Erfani N, Mehrabadi SM, Ghayumi MA, Haghshenas MR, Mojtahedi Z, Ghaderi A, et al. Increase of regulatory T cells in metastatic stage and CTLA-4 over expression in lymphocytes of patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). Lung Cancer. 2012 Aug;77(2):306-11.

27. Bates GJ, Fox SB, Han C, Leek RD, Garcia JF, Harris AL, et al. Quantification of regulatory T cells enables the identification of high-risk breast cancer patients and those at risk of late relapse. J Clin Oncol. 2006 Dec 1;24(34):5373-80.

28. Gobert M, Treilleux I, Bendriss-Vermare N, Bachelot T, Goddard-Leon S, Arfi V, et al. Regulatory T cells recruited through CCL22/CCR4 are selectively activated in lymphoid infiltrates surrounding primary breast tumors and lead to an adverse clinical outcome. Cancer Res. 2009 Mar 1;69(5):2000-9.

29. Liyanage UK, Moore TT, Joo HG, Tanaka Y, Herrmann V, Doherty G, et al. Prevalence of regulatory T cells is increased in peripheral blood and tumor microenvironment of patients with pancreas or breast adenocarcinoma. J Immunol. 2002 Sep 1;169(5):2756-61.

30. Sakaguchi S, Ono M, Setoguchi R, Yagi H, Hori S, Fehervari Z, et al. Foxp3+ CD25+ CD4+ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease. Immunol Rev. 2006 Aug;212:8-27.

31. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. Science. 2003 Feb 14;299(5609):1057-61.

32. Menetrier-Caux C, Curiel T, Faget J, Manuel M, Caux C, Zou W. Targeting regulatory T cells. Target Oncol. 2012 Mar;7(1):15-28.

33. Annunziato F, Cosmi L, Liotta F, Lazzeri E, Manetti R, Vanini V, et al. Phenotype, localization, and mechanism of suppression of CD4(+)CD25(+) human thymocytes. J Exp Med. 2002 Aug 5;196(3):379-87.

Archive of SID

www.SID.ir