مجله علوم پزشکی مدرس: آسیب‌شناسی زیستی
دوره ۱۲، شماره ۳: از ۱-۸
پاییز ۱۳۸۸

مقایسه تأثیر اجزای پروتئینی و اسید نوکلئیکی عصاره توکسوپلاسما گوندی بر تولید IL-12 از سلول‌های دندریتیک و تکثیر سلول‌های T

افشین آماری[۱]، سیدعلی‌رضا رضوی[۲]، آرزو جمالی[۳]، عباس‌علی امینی‌سردرود[۴]، معصومه معتمدی[۱]، سعیده شجاعی[۵]، بیتا انصاری‌پور[۶]، جمشید حاجتی[۷*]

۱- کارشناس ارشد، گروه ایمونولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۲- دانشیار، گروه ایمونولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳- کارشناس ارشد، گروه ایمونولوژی، دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۴- کارشناس ارشد، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۵- دانشیار، گروه انگل‌شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۶- کارشناس، گروه ایمونولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۷- دانشیار، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

دریافت مقاله: ۸۸/۰۶/۱۶ پذیرش مقاله: ۸۸/۰۸/۲۰

چکیده

هدف: بررسی تأثیر اجزای پروتئینی و اسید نوکلئیکی توکسوپلاسما گوندی بر بلوغ سلول‌های دندریتیک و توانایی آن‌ها در تولید IL-12 و تکثیر لنفوسیت‌های T اختصاصی آنتی‌ژن‌های توموری

مواد و روش‌ها: سلول‌های مغز استخوان موش به‌مدت پنج روز در حضور GM-CSF و IL-4 کشت داده شدند. روز پنجم سلول‌های دندریتیک نابالغ به‌دست آمده با لیزات تومور و اجزای پروتئینی و اسید نوکلئیکی توکسوپلاسما گوندی و لیپوپلی ساکارید به‌مدت دو روز کشت داده شدند. برای بررسی عملکرد سلول‌های دندریتیک در تحریک لنفوسیت‌های T از آزمون MLR استفاده شد. از کیت الایزا برای اندازه‌گیری میزان IL-12 استفاده و بلوغ سلول‌های دندریتیک با فلوسیتومتری بررسی شد.

نتایج: سلول‌های دندریتیک بالغ شده با اجزای پروتئینی توکسوپلاسما باعث تکثیر معنی‌داری در سلول‌های طحالی در مقایسه با دیگر گروه‌ها شد و میزان تولید IL-12 در این گروه بالاتر بود ($P<0/001$).

نتیجه‌گیری: ترکیبات مختلف پیکره میکروبی مانند اجزای پروتئینی و اسید نوکلئیکی توکسوپلاسما گوندی می‌توانند باعث افزایش قابلیت عرضه آنتی‌ژن سلول‌های دندریتیک به لنفوسیت‌ها شوند که در این میان تأثیر اجزای پروتئینی از اجزای اسید نوکلئیکی بیشتر بوده است.

کلیدواژگان: سلول دندریتیک، توکسوپلاسما گوندی، IL-12

۱- مقدمه

سلول‌های دندریتیک (Dendritic Cells: DCs)، سلول‌های حرفه‌ای عرضه‌کننده آنتی‌ژن هستند که نقش کلیدی در آغاز و جهت‌دهی پاسخ‌های اولیه و ثانویه سلول T دارند [۱]. DCs برحسب مرحله بلوغ، عامل محرک بلوغ، زیرگروه و نسبت

*نشانی مکاتبه: تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه ایمونولوژی، صندوق پستی: ۶۴۴۷-۱۴۱۵۵
Email: hajatij@sina.tums.ac.ir

DCs بـه لنفوسـیت‌هـای T قـادر بـه ایجـاد طیـف متنـوعی از پاسخ‌های ایمنی از تحمل (Tolerance) تا ایجاد پاسخ ایمنـی سـلولی هستند [۲]. DCs نابالغ اغلب در بافت‌های محیطی مستقر هستند و بـا قدرت زیاد اندوسیتوز و بروز انـدک مولکـول‌هـای سـطحی CD80، CD40، CD86 و کمـپلکس سـازگاری نـسجی اصـلی کـلاس ۲ (Major Histocompatibility Complex class II: MHCII) شناسایی می‌شوند [۳، ٤].

این سلول‌ها محصولات ترشحی و متـابولیزه شـده توسـط میکـروب‌هـا را از طریـق گیرنـده‌هـای شناسـایی‌کننـده ماننـد گیرنده‌های شبه تـول (Toll-like receptor: TLR) شناسـایی می‌کنند [۵]. شناسایی عوامل میکروبـی از ایـن طریـق موجـب ترشـح سـیتوکین‌هـای (Cytokines) التهـابی، کمـوکین‌هـا (Chemokins)، بروز مولکـول‌هـای کمـک محـرک و MHC می‌شوند [٦، ۷].

اجزا و ترکیبات میکروارگانیـسم‌هـای داخـل سـلولی مثـل توکسوپلاسما گونـدی (*Toxoplasma gondii*) نیـز از طریـق TLRها شناسایی می‌شوند. اتصال این گیرنده‌ها به لیگاند خـود موجـب بلـوغ سـلول‌هـای دنـدریتیک، ترشـح اینترلـوکین-۱۲ (Interleukin-12: IL12) [۸] و ایجاد پاسخ لنفوسیتی نـوع ۱ (TH1) می‌شوند [۹].

DCs نابالغ پس از برخورد با عصاره کامـل توکـسوپلاسما گونـدی از طریـق TLR-2، TLR-4، TLR-9 و TLR-11 بـا افزایش میزان بـروز مولکـول‌هـای CD86، MHCII و CD80 بالغ شده و مقدار فراوانی IL-12 تولید می‌کنند [۱۰- ۱۲].

با توجه به تجربیـات قبلـی کـه اسـتفاده از عـصاره کامـل توکسوپلاسما گوندی موجب تقویت عملکـرد DCs مـی‌شـود، در مطالعـه حاضـر ضـمن جداسـازی اجـزای پروتئینـی و اسید نوکلئیکی توکسوپلاسما گوندی، آثـار هـریـک از اجـزای مذکور در عملکرد DCs برای تحریک لنفوسیت‌های T و تولید IL-12 توسط این سلول‌ها بررسی شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- حیوانات و رده سلولی

در این مطالعـه از مـوش‌هـای Balb/c مـاده ٦ تـا ۸ هفتـه استفاده شد که از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند.

سلول‌های WEHI-164 (فیبروسارکومای مـوش Balb/c) از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. برای کشت این سلول‌هـا از محیط RPMI 1640 (Gibco,USA) حاوی ۱۰۰ واحـد در میلی‌لیتر پنی‌سیلین (Penicillin) و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر استرپتومایسین (Streptomycin)، ۲ میلی‌مول ال-گلوتـامین و ۱۰ درصد سرم غیرفعال شده جنین گوساله استفاده شد.

۲-۲- تهیه لیزات توموری

برای تهیه لیزات تومور تعداد ٤×١٠^{٧} سـلول WEHI-164 را ٦ تا ۷ بار منجمد و ذوب نموده و پس از سانتریفوژ و تعیین میزان پروتئین مایع رویی به‌عنوان منبـع آنتـی‌ژن‌هـای تومـوری استفاده شد.

۲-۳- تهیه اجزای پروتئینی و اسـید نـوکلئیکی توکسوپلاسما گوندی

سویه توکسوپلاسما (RH) از گروه انگل‌شناسـی بهداشـت دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه شد. ۲۰۰ میکرولیتر از محلول حاوی توکسوپلاسما به داخل صفاق موش تزریق شـد. سـه یـا چهار روز بعد از تزریق موش‌ها کشته شده و بعد از تزریق بافر فسفات به حفره صـفاقی، محتویـات صـفاقی جمـع‌آوری شـد. برای تهیه آنتی‌ژن، محتویات صفاق چنـد بـار (۸- ۱۰) از سـر سـوزن ۲۷ عبـور داده شـد تـا ماکروفاژهـا پـاره شـده و تاکی‌زوییـت‌هـا (Tachyzoite) آزاد شـوند. بـرای لیـز کـردن تاکی‌زوییـت‌هـا از سـونیکاتور (Sonicator) (٤ بـار بـه‌مـدت ۵ دقیقه با قدرت ۵ و چرخـه ۵۰ درصـد) اسـتفاده شـد. بـرای

جداسازی اجزای پروتئینی از کیت شرکت Qiagen (37900, USA) استفاده شد. برای اثبات عدم آلودگی DNA با پروتئین و اثبات اجزای پروتئینی جدا شده از روش SDS-PAGE (Sodium dodecyl sulfate polyacrylamid gel electrophoresis) استفاده شد.

برای جداسازی DNA از کیت شرکت Qiagen (51304, USA) استفاده شد و میزان جذب ۲۶۰/۲۸۰ با دستگاه بیوفتومتر (Biophotometer) تعیین شد.

۲-٤- تولید و بلوغ DCs میلوئید

برای تولید DCs از مغز استخوان استفاده شد [۱۳]. به‌طور خلاصه بعد از کشتن موش Balb/c استخوان ران و ساق جدا و با استفاده از محیط ناقص (RPMI بدون سرم) محتویات داخل استخوان‌ها خارج شد.

گلبول‌های قرمز با آمونیوم کلراید [۰/۱۵ مول NH_4Cl، ۱ میلی‌مول $KHCO_3$، ۰/۱ میلی‌مول EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid)] به‌مدت ۲ دقیقه در دمای اتاق لیز شدند. سلول‌ها با غلظت 10^6 در میلی‌لیتر در محیط RPMI 1640 (Gibco, USA) حاوی ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر پنی‌سیلین و ۱۰۰ میکروگرم استرپتومایسین، ۲ میلی‌مول ال-گلوتامین و ۱۰ درصد سرم غیرفعال شده گوساله (Gibco, USA)، ۰/۱ درصد ۲-مرکاپتواتانول (2-mercaptoethanole) (Sigma, USA)، سدیم پیروات (Sigma) و اسیدهای آمینه غیرضروری (Sigma) و در حضور ۲۰ نانوگرم GM-CSF (Granulocyte macrophage-colony stimulating factor) (Peprotech, USA) و ۱۰ نانوگرم IL-4 (Peprotech) در پلیت‌های ۲٤ خانه‌ای کشت داده شد. روز سوم سلول‌های غیرچسبان جدا شده و در پلیت‌های ٦ خانه‌ای کشت داده شد. در روز پنجم ۱۰۰ میکروگرم لیزات تومور به ازای 10^6 سلول به سلول‌ها اضافه و بعد از ٦ تا ۸ ساعت، ۷۰ میکروگرم اجزای پروتئینی توکسوپلاسما گوندی و ۱ میلی‌گرم لیپوپلی ساکارید (Lipopolysaccharide: LPS) (Sigma) و ۱۰ نانوگرم DNA به ازای 10^6 سلول به‌مدت ۲ روز به‌منظور القای بلوغ DCs به سلول‌ها اضافه شد.

۲-۵- تأثیر اجزای پروتئینی و اسید نوکلئیکی بر بلوغ DCs

فنوتایپ DCs در روز پنجم و هفتم توسط فلوسیتومتری با استفاده از آنتی‌بادی‌های کونژوگه ضد نشانگرها FITC CD80 (Fluorescein isothiocyanate)، CD86، CD40، MHCII، CD11C PE و ایزوتایپ کنترل (BD Pharmingen) تعیین شد. سلول‌های جدا شده از کشت DC در مجاورت آنتی‌بادی منوکلونال (Monoclonal) به‌مدت ٤۵ دقیقه در تاریکی و سرما قرار گرفتند. سپس برای خارج کردن آنتی‌بادی اضافی سلول‌ها با بافر فسفات شستشو داده شد. سپس قرائت نتایج توسط دستگاه فلوسیتومتری انجام پذیرفت (Partech, Germany) و با نرم‌افزار WinMDI-2.7 تجزیه و تحلیل شد.

۲-٦- آزمون MLR (Mixed leukocyte reaction) برای بررسی عملکرد DCs

DCs بالغ شده (روز هفتم) با اجزای پروتئینی و اسید نوکلئیکی توکسوپلاسما گوندی در دو غلظت 5×10^3 و 2×10^3 در ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت تهیه و اشعه گاما (۳۰۰ راد) دریافت نمودند. سلول‌های طحالی به میزان 10^5 در ۱۰۰ میکرولیتر تهیه و به سلول‌های فوق اضافه شدند. از روش Brdu (Roche) برای انجام آزمون استفاده شد. طبق دستور کیت، بعد از ۵ روز کشت توام DCs و سلول‌های طحالی، در روز پنجم محلول Brdu به سلول‌ها اضافه شد و به‌مدت ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. بعد از این مدت آنتی Brdu به سلول‌ها اضافه شده و به‌مدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شدند. سپس سوبسترا را اضافه کرده و بعد

از ۲۰-۳۰ دقیقه با دستگاه قرائت‌گر الایزا (ELISA Reader) در طول موج ٤٥٠ و مرجع ٦٩٠ نانومتر قرائت شد.

۲-۷- ارزیابی میزان IL-12 مترشحه از DCs بر اثر تحریک اجزای پروتئینی و اسید نوکلئیکی

برای بررسی IL-12 تولید شده توسط DCs، سوپ رویی کشت DCs بالغ شده با اجزای پروتئینی و اسید نوکلئیکی توکسوپلاسما گوندی و LPS در روز هفتم جمع‌آوری و با کیت الایزا (R&D) اندازه‌گیری شد. تمام نمونه‌ها به‌صورت سه‌تایی انجام و غلظت IL-12 براساس منحنی استاندارد و برحسب پیکوگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد.

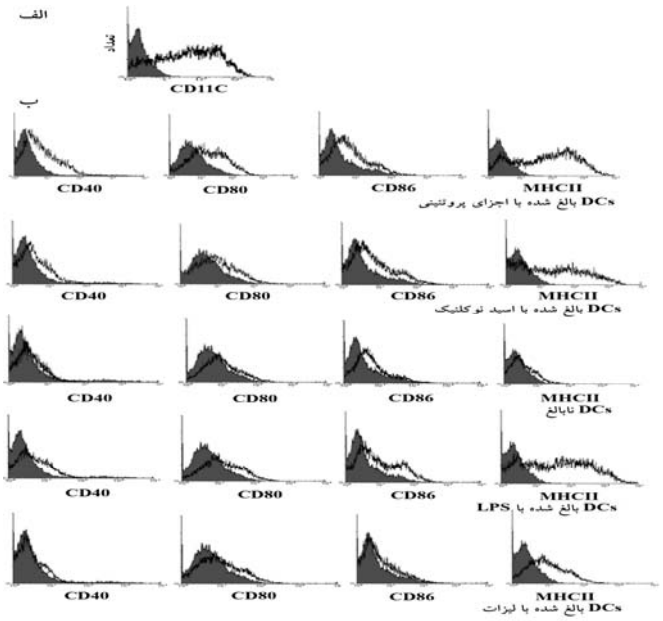
۲-۸- روش آماری

آزمون کروسکال- والیس (Kruskal-Wallis) برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۲ انجام شد و سطح معنی‌داری $P<۰/۰۵$ انتخاب شد.

۳- نتایج

۳-۱- تأثیر اجزای پروتئینی و اسید نوکلئیکی بر بلوغ DCs

فنوتایپ DCs در روز پنجم در مقایسه با ایزوتایپ کنترل، با بروز نشانگر CD11c و افزایش کمی در سایر نشانگرها همراه و بیانگر DC نابالغ است. در روز هفتم بعد از برخورد DCs با اجزای پروتئینی و اسید نوکلئیکی توکسوپلاسما گوندی و LPS، بروز مولکول‌های سطحی در تمام گروه‌ها افزایش یافته که DCهای مجاور شده با اجزای پروتئینی تمام نشانگرها را در سطح بالاتری نشان می‌دهند. شکل ۱ (الف) میزان بیان مولکول $CD11c^+$ در DCs روز پنجم را نشان می‌دهد که نشان‌دهنده میزان خلوص DCs تولید شده است. شکل ۱ (ب) DCs بالغ شده با اجزای پروتئینی و اسید نوکلئیکی توکسوپلاسما گوندی و LPS در مقایسه با سلول‌های نابالغ روز پنجم را نشان می‌دهد.

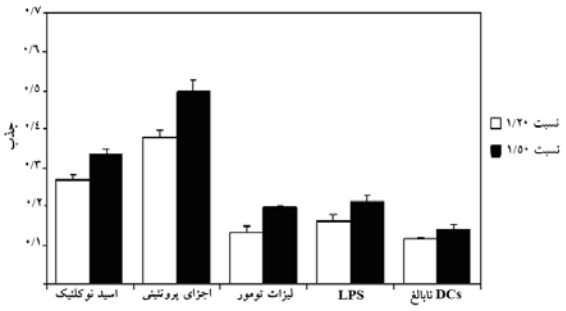


شکل ۱ الف) بروز نشانگر CD11c بر DCs نابالغ به‌صورت (توخالی) در مقایسه با ایزوتایپ کنترل (توپر) که میزان خلوص DCs تولید شده را نشان می‌دهد. **ب)** بروز نشانگرهای بلوغ بر DCs بالغ (توخالی) در مقایسه با DCs نابالغ (توپر) در گروه‌های مختلف سلول‌ها که تحت تأثیر ترکیبات مختلف قرار گرفته‌اند را نشان می‌دهد. میزان بروز نشانگرهای بلوغ در گروه DCs بالغ شده با اجزای پروتئینی از گروه‌های دیگر بیشتر است.

۳-۲- بررسی میزان تکثیر سلول‌های طحالی توسط DCs مجاور شده با اجزای پروتئینی و اسید نوکلئیکی

برای بررسی میزان تکثیر سلول‌های طحالی توسط DCs مجاور شده با اجزای پروتئینی و اسید نوکلئیکی توکسوپلاسما گوندی از آزمون MLR استفاده شد. نتایج به‌دست آمده نشان دادند که DCs در تمام گروه‌ها موجب تکثیر سلول‌های طحالی نسبت به گروه DCs نابالغ می‌شوند. DCs مجاور شده با اجزای پروتئینی توکسوپلاسما گوندی نسبت به DCs مجاور شده با اسید نوکلئیک، LPS، DCs نابالغ و DCs مجاور شده با لیزات تومور افزایش معنی‌داری در تکثیر سلول‌های طحالی دارند (P<۰/۰۰۱). در بین گروه‌ها کمترین تکثیر مربوط به DCs نابالغ است (P<۰/۰۰۱).

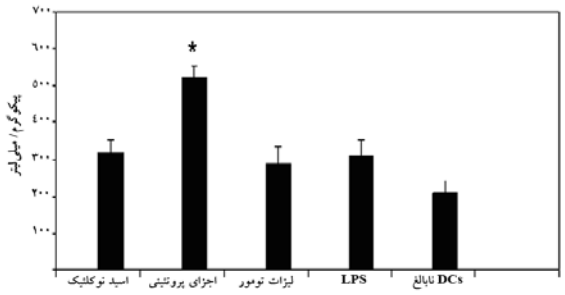
DCs بالغ شده با اسید نوکلئیک توکسوپلاسما گوندی بعد از گروه DCs بالغ شده با پروتئین نسبت به گروه‌های دیگر، تکثیر بیشتری داشته و تفاوت معنی‌داری را نسبت به دیگر گروه‌ها نشان می‌دهد. (P<۰/۰۰۱) (نمودار ۱).



نمودار ۱ میزان تکثیر سلول‌های طحالی در کشت همزمان با انواع DCs بالغ شده با اجزای پروتئینی و اسید نوکلئیکی توکسوپلاسما گوندی، لیزات تومور و LPS در نسبت‌های ۱/۲۰ و ۱/۵۰ (سلول‌های طحالی/DCs)؛ در هر دو نسبت DCs بالغ شده با اجزای پروتئینی باعث تکثیر بیشتر سلول‌های طحالی نسبت به سایر گروه‌ها شده است و اختلاف معنی‌داری با سایر گروه‌ها دارند (P<۰/۰۰۱).

۳-۳- IL-12 مترشحه از DCs بر اثر تحریک اجزای پروتئینی و اسید نوکلئیکی

همان‌گونه که در شکل ۳ ملاحظه می‌شود، DCs بالغ شده با اجزای پروتئینی در مقایسه با سایر گروه‌ها به‌طور معنی‌داری بالاترین میزان ترشح IL-12 را دارند (P<۰/۰۰۱). در بین سایر گروه‌ها، DCs مجاور شده با اسید نوکلئیک تفاوت معنی‌داری با DCs مجاور شده با لیزات تومور و DCs نابالغ دارند (P<۰/۰۰۱) ولی تفاوت معنی‌داری با DCs مجاور شده با LPS ندارند. کمترین مقدار ترشح IL-12 مربوط به DCs نابالغ است (P<۰/۸۷۳) (نمودار ۲).



نمودار ۲ میزان ترشح IL-12 از DCs بالغ شده با اجزای پروتئینی و اسید نوکلئیکی توکسوپلاسما گوندی، لیزات تومور و LPS برحسب پیکوگرم در میلی‌لیتر را نشان می‌دهد. * بالاترین میزان ترشح IL-12 مربوط به DCs بالغ شده با اجزای پروتئینی است که اختلاف معنی‌داری با سایر گروه‌ها دارد (P<۰/۰۰۱).

٤- بحث

یکی از شرایط اولیه تحریک مناسب سلول‌های T بروز مناسب و کافی انواع مولکول‌های دخیل در روند عرضه آنتی‌ژن بر سطح DCs است [۲]. براساس برخی مطالعات، DCs نابالغ پس از مجاورت با عصاره کامل توکسوپلاسما گوندی بروز مولکول‌های محرک کمکی CD80، CD86، CD40، MHCII را افزایش داده و پس از بلوغ مقدار فراوانی IL-12 تولید می‌کنند

[١٤]. در مطالعه حاضر DCs مجاور شده با اجزای پروتئینی بیشترین میزان بروز مولکول‌های کمک محرک را دارند.

مواجهه DCs با بیماری‌زاها یا آنتی‌ژن‌ها از طریق گیرنده‌های سطحی مانند TLRها موجب بلوغ DCs شده که این امر برای مهاجرت DCs به بافت‌های لنفاوی، عرضه مناسب آنتی‌ژن به لنفوسیت‌های T و القای پاسخ ایمنی الزامی است [٦، ٧].

اولین بار مینز (Minns) و همکاران نشان دادند که TLR-9 که لیگاند DNA غیرمتیله باکتری (CpG) باکتریایی است برای ایجاد پاسخ ایمنی در روده بر علیه توکسوپلاسما بسیار مهم است و موش‌هایی که در ژن TLR-9 دچار اختلال باشند، دارای نقص در DCs خود بوده و نمی‌توانند پاسخ‌های TH1 در لامینا پروپریا (Lamina propria) ایجاد کنند [١٠]. TLR-2 و TLR-4 علاوه بر اهمیت در ایجاد پاسخ در برابر بسیاری از عفونت‌های باکتریایی برای ایجاد پاسخ‌های ایمنی بر علیه توکسوپلاسما نیز ضروری هستند [١٢]. واکنش بین TLR-11 روی DCs و توکسوپلاسما گوندی باعث تولید IL-12 از DCs موش می‌شود [١١]. در این مطالعه میزان ترشح IL-12 و تکثیر سلول‌های طحالی در DCs بالغ شده با اجزای پروتئینی به‌طور معنی‌داری از گروه‌های دیگر بیشتر بود.

در مطالعاتی که به بررسی اثر برخی از اجزای پروتئینی توکسوپلاسما پرداخته‌اند نشان داده شده که پروتئین شوک حرارتی ٧٠ (Heat-shock protein 70: HSP70) باعث بلوغ DCs و افزایش مولکول‌های محرک کمکی CD80، CD86، CD40، MHCII و کاهش خاصیت فاگوسیتوز و افزایش قابلیت عرضه آنتی‌ژن در DCs می‌شود [١٥]. HSP70 از طریق اتصال به TLR-4 باعث بلوغ DCs و افزایش تولید IL-12 می‌شود [١٦].

یکی دیگر از اجزای توکسوپلاسما، سایکلوفیلین (Cyclophilin) است که مولکولی شبیه چاپرون (Chaperone) بوده و توسط تاکی‌زوئیت‌ها و سلول‌های آلوده به توکسوپلاسما آزاد می‌شود [١٧]. این مولکول با اتصال به گیرنده کموکین ٥ [Chemokine (C-C motif) receptor 5: CCR5]، گیرنده کموکین مورد نیاز برای مهاجرت DCs به ناحیه سلول‌های T طحال، باعث تحریک این گیرنده و افزایش مهاجرت و تولید IL-12 توسط DCs می‌شود [١٨].

اخیراً نشان داده‌اند که DCs در مجاورت CpG مجاور شده‌اند می‌توانند باعث ایجاد پاسخ‌های تنظیمی و ایجاد سلول‌های T تنظیمی (Treg) شوند [١٩]. در مطالعه حاضر با توجه به این‌که DNA میکروبی می‌تواند در مواردی سبب بروز پاسخ تنظیمی شود و وجود اجزای پروتئینی که به برخی از آن‌ها اشاره شد و همچنین پروتئین‌های دیگری که هنوز شناسایی نشده‌اند، احتمالاً اجزای پروتئینی توکسوپلاسما گوندی باعث تحریک و افزایش عملکرد DCs در ترشح IL-12 و تکثیر سلول‌های طحالی شده‌اند. در نتیجه اجزای پروتئینی توکسوپلاسما در تحریک پاسخ‌های ایمنی به‌ویژه پاسخ‌های تیپ یک مؤثرتر از اجزای اسید نوکلئیکی عمل می‌نمایند. مطالعات آینده می‌تواند با تعیین دقیق‌تر اجزای مؤثر در بخش پروتئینی عصاره توکسوپلاسما، به استفاده از این میکروارگانیسم در تقویت عملکرد DCs در القای پاسخ‌های ایمنی تیپ یک از جمله پاسخ‌های ضد توموری کمک نماید.

٥- تشکر وقدردانی

این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره ٧٠١٩ به تاریخ ٨٧/٦/١٢ است.

٦- منابع

[1] Mashino K, Sadanaga N, Tanaka F, Ohta M, Yamaguchi H, Mori M. Effective strategy of dendritic cell-based immunotherapy for advanced tumor-bearing hosts: the critical role

of Th1-dominant immunity. Mol Cancer Ther 2002; 1(10): 785-94.

[2] Guermonprez P, Valladeau J, Zitvogel L, Théry C, Amigorena S. Antigen presentation and T cell stimulation by dendritic cells. Annu Rev Immunol 2002; 20: 621-67.

[3] Coyle AJ, Gutierrez-Ramos JC. The expanding B7 superfamily: increasing complexity in costimulatory signals regulating T cell function. Nat Immunol 2001; 2(3): 203-9.

[4] Svane IM, Soot ML, Buus S, Johnsen HE. Clinical application of dendritic cells in cancer vaccination therapy. APMIS 3003; 111(7-8): 818-34.

[5] Seya T, Akazawa T, Tsujita T, Matsumoto M. Role of Toll-like receptors in adjuvant-augmented immune therapies. Evid Based Complement Alternat Med 2006; 3(1): 31-8.

[6] Re F, Strominger JL. Toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4 differentially activate human dendritic cells. J Biol Chem 2001; 276(40): 37692-9.

[7] Akira S, Hemmi H. Recognition of pathogen-associated molecular patterns by TLR family. Immunol Lett 2003; 85(2): 85-95.

[8] Bourguin I, Moser M, Buzoni-Gatel D, Tielemans F, Bout D, Urbain J, Leo O. Murine dendritic cells pulsed in vitro with Toxoplasma gondii antigens induce protective immunity in vivo. Infect Immun 1998; 66(10): 4867–74.

[9] Kasper L, Courret N, Darche S, Luangsay S, Mennechet F, Minns L, Rachinel N, Ronet C, Buzoni-Gatel D. Toxoplasma gondii and mucosal immunity. Int J Parasitol 2004; 34(3): 401-9.

[10] Minns LA, Menard LC, Foureau DM, Darche S, Ronet C, Mielcarz DW, Buzoni-Gatel D, Kasper LH. TLR9 is required for the gut-associated lymphoid tissue response following oral infection of Toxoplasma gondii. J Immunol 2006; 176(12): 7589-97.

[11] Yarovinsky F, Zhang D, Andersen JF, Bannenberg GL, Serhan CN, Hayden MS, Hieny S, Sutterwala FS, Flavell RA, Ghosh S, Sher A. TLR11 activation of dendritic cells by a protozoan profilin-like protein. Science 2005; 308(5728): 1626-9.

[12] Mun HS, Aosai F, Norose K, Chen M, Piao LX, Takeuchi O, Akira S, Ishikura H, Yano A. TLR2 as an essential molecule for protective immunity against Toxoplasma gondii infection. Int Immunol 2003; 15(9): 1081-7.

[13] Inaba K, Inaba M, Romani N, Aya H, Deguchi M, Ikehara S, Muramatsu S, Steinman RM. Generation of large numbers of dendritic cells from mouse bone marrow cultures supplemented with granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. J Exp Med 1992; 176(6): 1693–702.

[14] Barratt-Boyes SM, Watkins SC, Finn OJ. I In vivo migration of dendritic cells differentiated in vitro: a chimpanzee model. J Immunol 1997; 158(10): 4543–7.

[15] Kang HK, Lee HY, Lee YN, Jo EJ, Kim JI, Aosai F, Yano A, Kwak JY, Bae YS. Toxoplasma gondii-derived heat shock protein 70 stimulates the maturation of human monocyte-derived dendritic cells. Biochem Biophys Res Commun 2004; 322(3): 899–904.

[16] Aosai F, Rodriguez Pena MS, Mun HS, Fang H, Mitsunaga T, Norose K, Kang HK, Bae YS, Yano A. Toxoplasma gondii-derived heat

shock protein 70 stimulates maturation of murine bone marrow-derived dendritic cells via Toll-like receptor 4. Cell Stress Chaperones 2006; 11(1): 13-22.

[17] Aliberti J, Reis e Sousa C, Schito M, Hieny S, Wells T, Huffnagle GB, Sher A. CCR5 provides a signal for microbial induced production of IL-12 by CD8 alpha+ dendritic cells. Nat Immunol 2000; 1(1): 83–7.

[18] Aliberti J, Valenzuela JG, Carruthers VB, Hieny S, Andersen J, Charest H, Reis e Sousa C, Fairlamb A, Ribeiro JM, Sher A. Molecular mimicry of a CCR5 binding-domain in the microbial activation of dendritic cells. Nat Immunol 2003; 4(5): 485–90.

[19] Jarnicki AG, Conroy H, Brereton C, Donnelly G, Toomey D, Walsh K, Sweeney C, Leavy O, Fletcher J, Lavelle EC, Dunne P, Mills KH. Attenuating regulatory T cell induction by TLR agonists through inhibition of p38 MAPK signaling in dendritic cells enhances their efficacy as vaccine adjuvants and cancer immunotherapeutics. J Immunol 2008; 180(6): 3797–806.