مقایسه میزان بیان کموکاین های CCL۲/CCR۲ و CCL۵/CCR۵ در بیماران مبتلا به ترانزیشنال سل کارسینومای مثانه در سطح mRNA و پروتئین قبل و بعد از جراحی رزکسیون ترانس اورترال(TUR)

مژگان موگوئی*[۱]، غلامحسین حسن شاهی[۲]، حسین خرمدل آزاد[۱]، مریم موگوئی[۳]، شیرین فتاح پور[۴]

۱) گروه ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

۲) مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

۳) گروه ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

۴) گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۱/۳۱ **تاریخ پذیرش: ۹۴/۵/۲۵**

چکیده

مقدمه: شبکه پیچیده کموکاین ها و رسپتور آن ها نقش مهمی در گسترش و متاستاز تومورها دارد. این مطالعه به بررسی میزان بیان mRNA ی CCR۲ و CCR۵ و هم چنین سطح سرمی CCL۲ و CCL۵ در بیماران مبتلا به کارسینوم سلول های ترانزیشنال مثانه قبل و بعد از عمل TUR می پردازد.

مواد و روش ها: در این تحقیق پیش رو ۴۰ نفر بیمار مرد مبتلا به Transitional Cell Carcinoma (TCC) و ۴۰ نفر مرد سالم وارد مطالعه شدند. نمونه های خون قبل از TUR و ۲۸ روز بعد از آن جمع آوری شد. هم چنین از ۱۲ نفر از این بیماران، بافت توموری و بافت نرمال در حین عمل گرفته شد. بیان ژن CCR۲ و CCR۵ از نمونه بافت سالم و توموری به صورت ظاهری(Gross) و هم چنین در PBLs با استفاده از تکنیک Real-Time PCR مشخص شد. سطح پروتئین CCL۲ و CCL۵ در PBLs با استفاده از تکنیک الیزا بررسی شد. یافته ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS با سطح معنی داری P<۰,۰۵ آنالیز شد.

یافته های پژوهش: بیان ژن CCR۲ و CCR۵ در بافت توموری نسبت به بافت سالم و در PBLs بعد از عمل TUR نسبت به قبل از عمل، افزایش معنی داری نشان می دهد(P<۰,۰۵). در بررسی سطح سرمی CCL۲ و CCL۵ در افراد مبتلا به TCC نسبت به افراد نرمال افزایش معنی داری نشان می دهد(P<۰,۰۵). در این بررسی سطح سرمی CCL۲ و CCL۵ رفتار متمایزی نشان می دهد، بدین صورت که سطح سرمی CCL۲ بعد از عمل TUR به طور معنی داری افزایش و سطح سرمی CCL۵، به طور معنی داری کاهش دارد(P<۰,۰۵).

بحث و نتیجه گیری: مطالعه حاضر نشان دهنده تغییرات محور کموکاین/رسپتور CCL۲/CCR۲ در بافت توموری نسبت به بافت سالم و هم چنین در PBLs است که بعد از عمل TUR نسبت به قبل از عمل، افزایش معنی داری نشان می دهد تغییرات محور کموکاین/رسپتور CCL۵/CCR۵ متفاوت می باشد و سطح سرمی CCL۵، به طور معنی داری کاهش پیدا کرده است. به نظر می رسد ماهیت سلول های توموری در تولید و بیان CCL۲/CCR۲ و CCL۵/CCR۵ متفاوت عمل کرده است. در حالی که به طور کلی انتظار داریم با پیشرفت تومور میزان لیگاند و رسپتور افزایش پیدا کرده باشد که حائز اهمیت بوده و نیاز به بررسی های بیشتر آن به خصوص در تومورهای توپر را نشان می دهد. از طرفی حذف فیزیکی تومور نقش عمیقی در بیان و ترشح کموکاین های مورد نظر نداشته است.

واژه های کلیدی: کارسینوم سلول های ترانزیشنال، CCR۵، CCR۲، CCL۵، CCL۲

* نویسنده مسئول: گروه ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

Email: mozhganmoogooei@yahoo.com

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.1.144]

مقدمه:

کارسینوم مثانه از نظر بروز، چهارمین سرطان شایع در مردان و در خانم ها هشتمین سرطان شایع است. این تومور ۶/۲ درصد از کل بدخیمی های مردان و ۲/۵ درصد از کل بدخیمی های زنان را تشکیل می دهد. تومورها در یک ریز محیط غنی سلولی قرار گرفته اند که تعامل آن با محیط سلولی اطراف در بقا، پیشرفت و متاستاز تومور موثر است. شناخت این محیط و واسطه های آن در شناخت ماهیت سرطان بسیار حائز اهمیت است(۱). بسیاری از سرطان ها یک شبکه قوی از کموکاین ها و گیرنده آن ها را بیان می کنند(۲). سلول های توموری به کمک بیان ژن های کموکاین و سایتوکاین ها سبب تحریک سلول های اندوتلیال شده که در نتیجه مهار تماسی خود را از دست می دهند و به کمک مهاجرت، تکثیر و تمایز رگ های جدید را به وجود می آورند(۳). این رگ ها علاوه بر تامین نیازهای متابولیکی سلول های سرطانی، به عنوان راهی برای تهاجم و متاستاز سلول های سرطانی به بافت های دیگر عمل می کنند(۴). CXC کموکاین ها بر روی لنفوسیت ها و نوتروفیل ها اثر گذاشته و باعث فراخوان این سلول ها به سمت سلول های سرطانی می شود(۵) از طرفی CC کموکاین ها با اثر بر ماکروفاژها باعث تولید گروهی از پروتئازها می شود که این پروتئازها از بدخیمی و رگزایی سلول های توموری جلوگیری می کند(۶،۷). بنا بر این، CC کموکاین ها دارای نقش موثری در تحریک یا مهار آنژیوژنز دارند. در واقع در بسیاری از سرطان ها یک توازنی بین فعالیت های رگزایی و ضد رگزایی تومور وجود دارد که بقاء و پیشرفت تومور را متاثر از خود می کند که مسئولیت این عملکرد مهم را CC کموکاین ها بر عهده دارند(۸).

مطالعات نشان می دهد TNFα و IL-۱β سبب افزایش ترشح CCL۲ و CCL۵ در سلول های توموری می شوند علاوه بر این TNFα و IL-۱β سبب افزایش فعالیت های تومور زایی می شود که این عمل در ارتباط با توانایی و عملکرد CCL۲ و CCL۵ در ایجاد و پیشرفت سرطان است. بنا بر این مسیر التهابی سبب افزایش سیتوکین ها می شود و نهایتاً سیتوکین ها بر کموکاین ها اثر افزایشی دارند. TGF-β که به عنوان یک فاکتور عروق زایی شناخته شده است. افزایش میزان TGF-β در بیماران مبتلا به برخی سرطان ها سبب افزایش واسکولاریتی(پرعروقی) بافت توموری شود. TGF-β به عنوان یک فاکتور عروق زایی، توسط CCL۲ هدایت می شود؛ به این صورت که ایجاد هایپوکسی در سلول های توموری سبب برانگیختگی سلول های اپیتلیالی شده و در نتیجه آن CCL۲ افزایش یافته و به دنبال آن TGF-β افزایش می یابد و سبب افزایش پیشرفت و متاستاز در سرطان می شود(۹،۱۰).

مطالعات نشان می دهند در واقع شاخصه های اصلی و بازوی اصلی گسترش تومور (tumor supporting)، CCL۲ و CCL۵ است. (MCP-۱) CCL۲ پروتین جاذب مونوسیت ۱ (۱۱)، کموکاینی است از دسته کموکین های گروه CC که توسط منوسیت ها و ماکروفاژها و سلول های دندریتیک در حال آزردگی تولید و باعث فراخواندن منوسیت ها و بازوفیل ها می شود(۱۲).

کموکاین CCL۵(RANTES)(۱۳): کموکاینی است از دسته کموکاین های گروه CC که به طور عمده توسط Tcell و پلاکت ها تولید می شود و باعث فراخواندن منوسیت ها و ماکروفاژها و Tcell ها می شود و همین طور دارای خاصیت آنژیوژنک نیز می باشد(۱۴). CCL۲ و CCL۵ در محل تومور همانند یک فاکتور جذب کننده لکوسیت ها عمل می کنند و باعث فراخوانی مونوسیت ها به موضع تومور می شوند(۱۵،۱۶). مونوسیت ها در تومور به tumor assotiated macrophage(TAM) تمایز پیدا می کنند. TAM فاکتورهایی را تولید می کنند که در رگزایی بسیار موثرند. از جمله این فاکتورها می توان به VEGF(vascular epidermal growth factor) و EGF(epidermal growth factor) اشاره کرد(۱۷،۱۸). VEGF از فاکتورهای مهم رگزایی در TCC است(۱۹).

CCL۲ و CCL۵ بر هم زننده های بالانس لکوسیتی در محل تومور به نفع افزایش فعالیت تومور می باشند. به این صورت که باعث افزایش مهارکننده های مشتق از میلوئید(MDC) و به طبع آن باعث

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.1.144]

فراخوانی Treg و TH۱۷ به محل تومور می شود. برایند فراخوانی این سلول ها موجب مهار سلول های کشنده تومور و مهار پاسخ های ایمنی سلولی و ایمنی هومورال و فرار تومور از مکانیسم های دفاعی بدن و در نتیجه رشد تومور می شود. هم چنین CCL۲ سبب مهاجرت سلول های اندوتلیال به سایت تومور می شود که باعث رشد تومور می شود(۱،۲۰). علی رغم بررسی های انجام شده، دانش ما در ارتباط با کموکاین ها و تغییرات بیان ژن و سطح لیگاند آن در کارسینوم مثانه در انسان محدود است. از این رو در این مطالعه مقطعی به بررسی بیان محور کموکاین/رسپتور CCL۲/CCR۲ و CCL۵/ CCR۵ که نقش مهمی در گسترش تومور توپر و متاستاز آن دارند، در بیماران مبتلا به TCC مثانه قبل و بعد ازعمل TUR پرداخته شد. این بررسی با اندازه گیری بیان ژن رسپتورCCR۲/CCR۵ در بافت تومورال TCC و مقایسه آن با بافت سالم به صورت ظاهری(GROSS) در جراحی TUR و در PBLS قبل و ۲۸ روز بعد از عمل TUR انجام شد. هم چنین سطح CCL۲/CCL۵ در نمونه سرم بیماران قبل و ۲۸ روز بعد از عمل TUR و مقایسه آن با افراد سالم همسان انجام شد تا نتیجه حذف فیزیکی تومور توسط عمل TUR در بیان ژن و ترشح این کموکاین ها بررسی شود. نتایج حاصل از مطالعه حاضر می تواند پیش زمینه ای جهت بررسی تغییرات rich cell microenviroment در بیماران مبتلا به کارسینوم مثانه و شناخت مکانیسم(های) تغییرات آن باشد.

مواد و روش ها

انتخاب بیماران: در یک مطالعه در بیمارستان شهید باهنر کرمان، یکی از استان های ایران، به مطالعه دو محور کموکاین/رسپتور CCL۲/CCR۲ و CCL۵/CCR۵ در طول دو سال(۱۳۹۳-۱۳۹۱) در بیماران مبتلا به TCC مثانه پرداخته شد. بیمارانی که کاندیدای جراحی TUR برای حذف کامل تومور بودند به شرط این که هیچ گونه داروی شیمی درمانی دریافت نکرده و در صورتی که تومور در مرحله T۱ باشد وارد مطالعه این طرح شدند. بیماران با سابقه بیماری هایی مانند آسم، آلرژی، آرتریت روماتوئید، تروما، عفونت های دستگاه ادراری، دیابت، HIV و هر گونه عفونت شدید در ۶ ماه گذشته از مطالعه حذف شدند. هم چنین بیمارانی که بعد از عمل ب.ث.ژ (BCG) یا میتومایسین دریافت کرده بودند، به دلیل افزایش التهاب و ایجاد تداخل در بررسی صحیح سطح سرمی و میزان بیان RNA این دو کموکاین از مطالعه خارج شدند. نمونه گیری در سه مرحله اصلی صورت گرفت که قبل از عمل جراحی TUR، هنگام عمل و ۲۸ روز بعد از عمل جراحی بوده است. ۱cc از خون بیمار جهت استخراج RNA و ۴ سی سی از خون بیمار جهت جداسازی سرم مورد استفاده قرار گرفت. در هنگام عمل، مقداری از نمونه بافت سالم(بافت مجاور سلول های توموری) و توموری به صورت ظاهری(Gross) طبق تشخیص جراح جهت بررسی (تحت شرایط حفظ زنجیره سرد توسط تانک ازت) به آزمایشگاه دانشکده علوم پزشکی رفسنجان جهت تخلیص RNA و مقدار دیگری از آن جهت تشخیص و تعیین درجه به دپارتمان پاتولوژی ارسال شده است. از نمونه بافت سالم و توموری به صورت ظاهری(Gross) بیماران ۲۸ روز پس از عمل فراخوانده شده و از آن ها برای انجام تست های ESR و CRP نمونه گیری می شود. این کار به منظور بررسی التهاب ناشی از جراحی و عفونت های ناشی از آن و اطمینان از مرتفع شدن آن به عمل می آید که در صورت منفی بودن، بیماران در مطالعه حفظ شدند. از ۴۰ نفر از افراد مراجعه کننده غیر مبتلا بهTCC که با گروه مبتلا به TCC تقریباً در یک گروه سنی بودند به عنوان گروه کنترل طبق روش بالا نمونه خون جمع آوری شد. این افراد نیز از لحاظ بیماری هایی مثل آسم، آلرژی، آرتریت روماتوئید، تروما، عفونت های دستگاه ادراری، دیابت، HIV و هر گونه عفونت شدید در ۶ ماه گذشته تظاهرات مثبت نداشته اند. این مطالعه با تصویب و بر طبق پروتکل کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی باهنر انجام شد. در صورت عدم رضایت بیماران در ورود به طرح یا خروج از آن، هیچ گونه تداخلی در خدمات و پیگیری بیماران به وجود نیامد.

استخراج RNA: جهت تعیین میزان بیان ژن CCR۲ و CCR۵ استخراج mRNA از بافت ها و PBLs توسط کیت شرکت پارس طوس طبق پروتکل

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.1.144]

کیت انجام شد. برای اطمینان از خلوص RNA، از الکتروفورز با ژل آگارز ۱ درصد و رنگ اتیدیوم بروماید استفاده می گردد که این روش سالم بودن RNA را تائید می کند. در انتها با استفاده از اسپکتروفتومتری UV در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر میزان RNA و پروتئین را مورد ارزیابی قرار گرفت(۲۱). پس از سنتز cDNA(۲۲) طراحی پرایمرها توسط نرم افزار Beacon designer V ۷,۹۱ جهت انجام تست RT-PCR صورت گرفت(جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه به همراه ژن کنترل

gene	Forward	Reverse
CCR۲	AGCCACAAGCTGAACAGAGA	CTTCACCGCTCTCGTTGGTA
CCR۵	CAAAAAGAAGGTCTTCATTACACC	CCTGTGCCTCTTCTTCTCATTTCG
Bactin	ACTCTTCCAGCCTTCCTT	TACAGGTCTTTGCGGATG

تست الایزا جهت تعیین سطح سرمی CCL۲ و CCL۵: برای انجام تست الایزا از کیت ۹۶ تستی کمپانی R&D (طبق پروتکل) استفاده شد. نتایج در طول موج ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر خوانش شد. ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه های رقیق شده به همراه استانداردها را داخل چاهک ها ریخته پس از انکوبه کردن و شست و شو آنتی بادی ضد CCL۲/CCL۵ را اضافه می کنیم و مجدداً انکوبه کرده و عمل شست و شو را انجام می دهیم. سپس آنزیم HRP را به چاهک ها اضافه می کنیم و روی چاهک ها می پوشانیم و به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی انکوبه می کنیم. عمل شست و شو را مجدد انجام داده و پس از آن ۱۰۰ میکرولیتر از محلول سوبسترا را اضافه می کنیم و به مدت۲۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی مجدد انکوبه می کنیم. سپس محلول متوقف کننده را اضافه کرده و در طول موج ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر خوانش می کنیم.

روش تجزیه و تحلیل آماری: پس از جمع آوری داده ها، داده ها را به صورت کد ویژه وارد رایانه نموده و سپس برای تجزیه و تحلیل آن از نرم افزار SPSS vol.۲۱ و آزمون آماری با توجه به این که الگوی بیانی ژن پروتئین پیش التهابی و میانگین سطح سرمی پروتئین پیش التهابی متغیر کمی پیوسته می باشند بنا بر این برای مقایسه در زمـــان های مختلف از آزمون T-TEST استفاده شد.

یافته های پژوهش

نتایج برآمده از آنالیزهای RT-PCR برای بررسی بیان ژن CCR۲ نشان می دهد که میزان بیان ژن CCR۲ در PBLs قبل و بعد از TUR به ترتیب ۱/۰۰±۰/۳۰ و ۳/۴۹ ±۱/۰۳ می باشد(P=۰,۰۰۱۱) این میزان برای ژن CCR۵ به ترتیب ۱/۰۰ ±۰/۳۹ و ۴/۹۱±۳/۰۸ می باشد. بیان ژن CCR۲ و CCR۵ بعد از TUR افزایش معنی داری نشان می دهد(P=۰,۰۰۶۵)(نمودار شماره ۱).

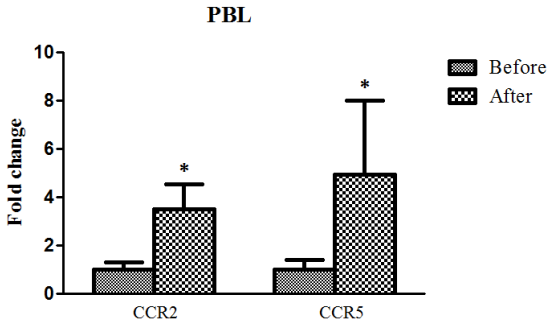
هم چنین میزان بیان ژن CCR۲ و CCR۵ در بافت توموری با میزان بیان ژن در بافت نرمال (Bystander) خود بیمار(به عنوان کنترل) مورد ارزیابی قرار گرفت. همان طور که در نمودار شماره ۲ مشخص است، این میزان برای ژن CCR۲ در بافت توموری و نرمال به ترتیب ۲/۹۴±۰/۶۳ و ۰/۱۵ ± ۱/۲ (P=۰,۰۰۰۶) و برای ژن CCR۵ در بافت توموری و نرمال به ترتیب ۴/۵۲ ±۰/۸۷ و ۱/۰۰±۰/۱۹ می باشد(P=۰,۰۰۸۲) که در بافت تومورال افزایش معنی داری نشان می دهند(نمودار شماره ۲). سطوح mRNAی کدکننده ژن های اختصاصی یاد شده با روش RT-PCR که نسبت به سطح mRNAی بتا اکتین(ژن خانه گزین) سنجش شده است. همه گروه ها بر اساس فرمول $2^{\Delta Ct}$ method سنجیده شده است.

میانگین میزان سطح سرمی CCL۲ قبل از TUR، ۲۸ روز بعد از TUR و هم چنین در افراد نرمال به ترتیـــب بـــرابـــر بـــــا ۱۱۵۱±۶۶/۷۶ pg/ml،

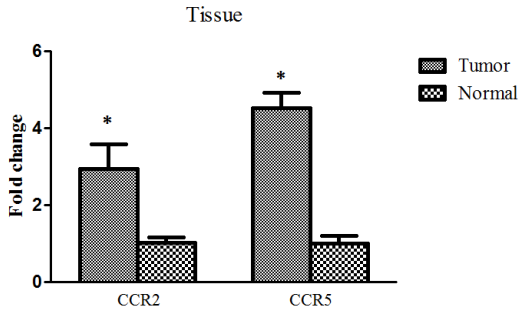
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.1.144]

pg/ml ۱۴۴۷±۱۰۱/۴، pg/ml ۲۷۵/۰±۱۵/۷۸ به دست آمد(نمودار شماره ۳). سطح سرمی CCL۲ در ۲۸ روز بعد از TUR به طور معنی داری افزایش یافته است. این میزان نسبت در مقایسه با افراد نرمال افزایش معنی داری را نشان می دهد. در بررسی دیگر میانگین میزان سطح سرمی CCL۵ قبل از TUR، ۲۸ روز بعد از TUR و در افراد نرمال به ترتیب برابر با pg/ml ۱۲۹۰±۶۳/۰۲، pg/ml ۳۳۰/۷±۹/۴۹۵، pg/ml ۲۲۵/۴±۱۷/۴۸ گزارش شده است(نمودار شماره ۴). سطح سرمی CCL۵ قبل از TUR نسبت ۲۸ روز بعد از آن به طور معنی داری کاهش یافته است. این سطح در مقایسه با افراد نرمال افزایش معنی داری دارد.

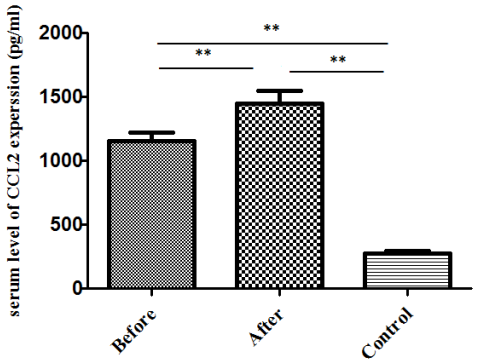


نمودار شماره ۱. تغییرات بیان ژن CCR۲ و CCR۵ در PBL قبل و بعد از TUR
(Mean±SD)(P<۰.۰۵) * اختلاف معنی دار

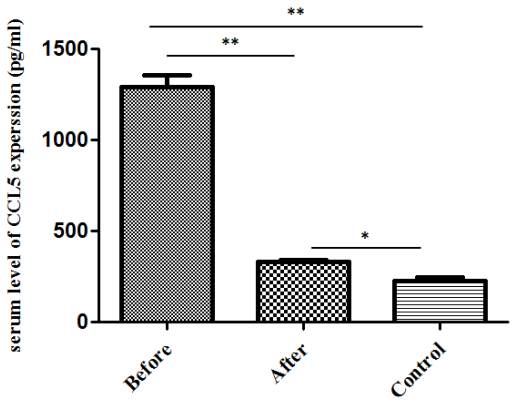


نمودار شماره ۲. تغییرات بیان ژن CCR۲ و CCR۵ در بافت توموری و بافت نرمال
(Mean±SD)(P<۰.۰۵) * اختلاف معنی دار

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12]
[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.1.144]



نمودار شماره ۳. تغییرات میزان سطح سرمی پروتئین CCL۲ قبل، بعد از TUR و گروه کنترل
*** اختلاف معنی دار**(Mean±SD) P<۰,۰۵



نمودار شماره ٤. تغییرات میزان سطح سرمی پروتئین CCL۵ قبل، بعد از TUR و گروه کنترل
*** اختلاف معنی دار**(Mean±SD) P<۰,۰۵

بحث و نتیجه گیری

عملکرد CCL۲ به عنوان یک جاذب شیمیایی (Chemoattractant) از طریق اتصال به گیرنده خود روی مونوسیت ها، ماکروفاژها و لنفوسیت ها می باشد. در پاسخ های التهابی حاد، CCL۲ به طور فعال در فراخوان مونوسیت ها به محل التهاب نقش دارد. در سرطان پروستات سطح سرمی CCL۲ در بیماران با متاستاز نسبت به سطح CCL۲ در موضع پروستات بیشتر می باشد که نشان از اهمیت این کموکاین دارد(۲۳). چندین بررسی دیگر نیز نشان داده اند که CCL۲ در سرم بیماران مبتلا به سرطان افزایش می یابد(۸،۲۴،۲۵). در یک مطالعه از ۳۹ بیمار مبتلا به سرطان پروستات، در مراحل مختلف نشان داده شده است که افزایش CCL۲ سرم، با بیماری های متاستاز استخوانی مرتبط است که امکان استفاده از CCL۲ سرمی را به عنوان نشانگر پیش آگهی فراهم می سازد. علاوه بر این، سطح افزایش یافته ای از CCL۲ در سرم و در ارتباط با درجه تومور در بیماران مبتلا به سرطان پستان تخمدان و سرطان ریه گزارش شده است(۸) Hsiao-Ying Chiua و همکاران نشان دادند که میزان تولید CCL۲ به وسیله TCC (transitional cell carcinoma) با عود مجدد بیماری و پروگنوز ضعیف آن(۲۶)، رابطه مستقیم دارد(۲۷).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.1.144]

مطالعه حاضر ابتدا نشان داد میزان بیان CCR۲ در بافت توموری با میزان بیان آن در بافت به ظاهر سالم مجاور مقایسه شد که میزان بیان mRNAی CCR۲ در بافت توموری اختلاف معنی داری را نشان داد(نمودار شماره ۲). سطح سرمی CCL۲ در بیماران مبتلا به TCC نسبت به سطح سرمی آن در افراد نرمال بیشتر می باشد. در گام بعدی با بررسی سطح سرمی CCL۲ و میزان بیان mRNAی CCR۲ در PBLs این بیماران قبل و بعد از TUR، شاهد افزایش قابل توجهی در سطح سرمی و میزان بیان CCL۲/CCR۲ بودیم که نشان دهنده افزایش یافتن هم زمان لیگاند و رسپتور است که با برهم خوردن Microenvironment تومور در اثر TUR، تولید این کموکاین ها در جهت گسترش تومور افزایش پیدا کرده است. در نتیجه حذف فیزیکی تومور که به صورت gross توسط جراح دیده می شود، تاثیری در کاهش بیان ژن و ترشح کموکاین نداشته است. این موضوع هم چنین می تواند در نتیجه افزایش درجه grade تومور باشد. در مطالعه Chiu, H.-Y و همکاران(۲۷) نشان داده شده است که سلول های سرطانی با درجه بالا high grade نسبت به low grade سطوح بالاتری CCL۲ بیان می کنند و فعالیت مهاجرت بیشتری نشان می دهند. اگر چه فعال شدن سیگنال های CCL۲/CCR۲ به طور محسوسی روی رشد سلول تاثیر نمی گذارد، باعث مهاجرت سلولی و تهاجم از طریق فعال شدن پروتئین کیناز C و فسفوریلاسیون تیروزین در paxillin می شود. مسدود کردن CCL۲ و CCR۲ با small heparin RNA (shCCL۲) باعث مهار مهاجرت سلول از طریق CCL۲/CCR۲ شده است(۲۷). به نظر می رسد این افزایش بیان CCR۲/CCL۲ در بافت توموری و PBLs در کموتاکسی و فراخوان سلول های عمل کننده ایمنی به محل بافت تومور و روند گسترش سلول های توموری جهت فراگیرتر شدن بافت تومور کمک می نماید.

تمرکز ما در ادامه روی CCL۵ و گیرنده آن، CCR۵ بوده است. CCL۵، ژن هدف فعالیت NF-kB است که توسط لنفوسیت هایT ، ماکروفاژها، پلاکت ها، فیبروبلاست های سینوویال و اپیتلیوم و انواعی از سلول های توموری بیان می شود. NF-kB توسط محرک های مختلف مانـــند CD۴۰L و یـــا IL-۱۵ تولید CCL۵ را القاء می کند. CCL۵ دارای نقش مهمی در فراخوان انواع لکوسیت ها از جمله سلول های T، ماکروفاژها، ائوزینوفیل ها و بازوفیل به محل های التهابی است. CCL۵ با همکاری برخی از سایتوکاین ها که توسط سلول های T (مانند IL-۲ وIFN-γ) ترشح می شود باعث فعال شدن و گسترش سلول های کشنده طبیعی خاص می شود که باعث افزایش تولید CC chemokine های سلول های کشنده می شود(۲۸). تعامل CCL۵/CCR۵ ممکن است به نفع رشد تومور به شکل های مختلف، از جمله عامل رشد، محرک رگزایی، تعدیل کننده ماتریکس خارج سلولی، فراخوان کننده سلول های التهابی و شرکت در مکانیسم های فرار تومور از سیستم ایمنی بدن باشد.

در این مطالعه نشان داده شد که سطح سرمی CCL۵ در بیماران مبتلا به TCC نسبت به سطح سرمی آن در افراد نرمال بیشتر می باشد. در ادامه به بررسی سطح سرمی CCL۵ و میزان بیان mRNAی CCR۵ در PBLs این بیماران قبل و بعد از TUR پرداختیم. برخلاف نتایج بررسی CCL۲/CCR۲، شاهد کاهش در سطح سرمی CCL۵ با وجود افزایش بیان CCR۵ در PBLs هستیم. از طرفی میزان بیان mRNAی CCR۵ در بافت تومور نسبت به بافت ظاهراً سالم مجاور(Bystander) مانند CCR۲ افزایش معنی داری را نشان داده است(نمودار شماره ۲) اگر چه مطالعات نشان می دهد CCL۵/CCR۵ در پیشرفت تومور در کانسر پستان افزایش می یابد(۲۹)، مطالعات محدودی در مورد تغییرات CCL۵/CCR۵ در تومورهای توپر solid وجود دارد. از طرفی این نقش ها از موثر بودن پاسخ ایمنی در مقابل تومور(۳۰) تا نقش آن در پیشرفت و متاستاز سرطان متغیر بوده است(۲۸).

به نظر می رسد ماهیت سلول های توموری در تولید و بیان CCL۲/CCR۲ و CCL۵/CCR۵ متفاوت عمل کرده است. در حالی که به طور کلی انتظار داریم با پیشرفت تومور میزان لیگاند و رسپتور افزایش پیدا کرده باشد، بررسی های بیشتری به صورت

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.1.144]

بررسی مدل حیوانی و رده های سلول سرطانی CELL LINE برای بررسی نتایج قطعی مورد نیاز است. از طرفی حذف فیزیکی تومور به صورت gross تاثیر عمیقی بر بیان ژن و ترشح سیتوکاین ها نداشته است. این نتایج می بایست با نتایج عود این تومور در به نظر می رسد علاوه بر پیشرفت درجه تومور TUMOR GRADE، دست کاری ناحیه توموری هنگام TUR و نیز ترومای ناشی از آن باعث فراخوان سلول های بیان کننده گیرنده ها از یک سوی و تولید لیگاندهای آن ها در سوی دیگر و هم چنین آزاد شدن سلول های توموری و سلول های ایمنی مانند، Tcell و ماکروفاژ در موضع تومور باعث افزایش تولید سایتوکاین و کموکاین ها شود. طول عمر سلول آزاد شده ایمنی از محل تومور در هنگام دستکاری که گردش قرار گرفته اند و احتمالاً بیان کننده CCR۵ هستند، ممکن است دلیل افزایش CCR۵ باشند، در حالی که میزان لیگاند CCL۵ در بررسی سرم پایین است. هم چنین عمل TUR ممکن است مواجهه بسیاری از سلول های بیان کننده کموکاین را با سایتوکاین های خاص موضع تومور افزایش دهد که در نتیجه این مواجهه مضاعف، میزان بیان CCR۵ در سلول های ایمنی در گردش افزایش یافته به نظر رسد. این در حالی است که به علت حذف تومور یا ماهیت متفاوت محور کموکاین/رسپتور CCL۵/CCR۵ شاهد کاهش لیگاند در PBLs هستیم.

افزایش بیان رسپتور ها در بافت توموری نسبت به بافت bystander قابل انتظار است و در مورد هر دو محور کموکاین/رسپتور CCL۲/CCR۲ و CCL۵/CCR۵ دیده می شود. به نظر می رسد مشخصات بافت همبند در این ناحیه به گونه ای است که می تواند نفوذ و میزان توانایی سایتوکاین های موثر در افزایش و یا کاهش رسپتور ها را تحت تاثیر قرار دهد. در واقع برد سایتوکاین ها در این ناحیه آن قدر نیست که بتواند در سلول های bystander بیان رسپتور های کموکاین ها را افزایش دهد. در این صورت در نمای gross تومور، فاصله بین سلول های درگیر(تومور سل) و سالم می تواند واقعی باشد. جهت بررسی برد سایتوکاین های موثر در بیان افزایش یافته رسپتور، می توان از مدل حیوانی مبتلا به کارسینوم مثانه استفاده کردو با تهیه بلوک های سریال، میزان بیان رسپتورها را با روش ایمونوهیستوشیمی بررسی کرد. هم چنین با آنالیز فلوسایتومتری و یا با روش هایی مانند ایمونوهیستوشیمی میزان بیان و نیز شدت بیان این گیرنده ها(CCR۲,CCR۵) در سلول های توموری TCC و نسبت مداخله این مدیاتورهای بیولوژیک در سرطان زایی و نیز میزان درگیری بافت های سرطانی را می توان مشخص کرد.

این مطالعه دارای محدودیت هایی می باشد. در درجه نخست، بیان لیگاند ها و رسپتور های مورد نظر در افرادی که TUR شده با وجود تومور خوش خیم مثانه بررسی نشده که بدانیم که آیا بیان لیگاندها و رسپتورها تحت تاثیر TUR بوده است یا نه. هم چنین ما به بررسی سلول های ایمنی در گیر در بافت قبل و بعد از عمل نپرداخته ایم تا بتوانیم کلید بهتری برای تفسیر نتایج حاصل داشته باشیم. بررسی های تکمیلی با رده سلولی CELL LINE و مدل حیوانی می تواند به تبیین بهتر نقش کموکاین ها در rich cell microenviroment تومور مثانه کمک کند. مطالعه حاضر نشان دهنده تغییرات متفاوت محور کموکاین/رسپتور CCL۲/CCR۲ و CCL۵/CCR۵ می باشد که حائز اهمیت و نیاز بررسی های بیشتر آن به خصوص در تومورها توپر را نشان می دهد.

References

۱.Benbaruch A. The tumor promoting flow of cells into within and out of the tumor site regulation by the inflammatory axis of TNFα and chemokines. Cancer Microenviron۲۰۱۲; ۵: ۱۵۱-٦٤.

۲.Karnoub AE, Weinberg RA. Chemokine networks and breast cancer metastasis. Breast Dis ۲۰۰۷; ۲٦:۷۵-۸۵.

۳.Albini A. Somatostatin controls Kaposis sarcoma tumor growth through inhibition of angiogenesis. FASEB J ۱۹۹۹; ۱۳:٦٤۷-۵۵.

٤.Bechara C. Growth related oncogene-α induces endothelial dysfunction through oxidative stress and downregulation of eNOS in porcine coronary arteries. Am J

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.1.144]

Physiol Heart Circ Physiol ۲۰۰۷;۲۹۳: ۳۰۸۸-۹۵.
۵.Kucukgergin C. The role of chemokine and chemokine receptor gene variants on the susceptibility and clinicopathological characteristics of bladder cancer. Gene۲۰۱۲;٤٥: ۱۲٥.
٦.Micheli A. Contrasts in cancer prevalence in Connecticut Iowa and Utah .Cancer ۲۰۰۲; ۹٥: ٤۳۰-۳۹.
۷.Vandamme J, Struyf S, Opdenakker G. Chemokine protease interactions in cancer. Cancer Biol ۲۰۰٤; ۲۲:۱۳۱-۷.
۸.Zhang J, Lu Y, Pienta KJ, Multiple roles of chemokine (CC motif) ligand ۲ in promoting prostate cancer growth. J National Cancer Ins۲۰۱۰; ۱۰۲: ٥۲۲-۲۸.
۹.Soria G. Inflammatory mediators in breast cancer: coordinated expression of TNFα & IL-۱β with CCL۲ and CCL٥ and effects on epithelial-to-mesenchymal transition. BMC Cancer ۲۰۱۱; ۱۱:۱۳۰.
۱۰.Wilson TJ. Cathepsin G-mediated enhanced TGF-beta signaling promotes angiogenesis via upregulation of VEGF and MCP-۱. Cancer Let۲۰۱۰;۲۸۸: ۱٦۲-۹.
۱۱.Lin ZY, Chuang YH, Chuang WL. Cancer-associated fibroblasts up-regulate CCL۲, CCL۲٦, IL٦ and LOXL۲ genes related to promotion of cancer progression in hepatocellular carcinoma cells. Biomed Pharmacotheraper ۲۰۱۲;۱۳:۱۷۰-٥.
۱۲.Stuart M, Baune B. Chemokines and chemokine receptors in mood disorders, schizophrenia, and cognitive impairment: a systematic review of biomarker studies. Neurosci Behavior Rev ۲۰۱٤; ٤۲: ۹۳-۱۱٥.
۱۳.Chang LY. Tumor derived chemokine CCL٥ enhances TGF-β–mediated killing of CD۸+ T cells in colon cancer by t-regulatory cells. Cancer Res۲۰۱۲;۷۲: ۱۰۹۲-۱۰۲.
۱٤.Baggiolini M, Ewald BD, Moser B. Human chemokines an update. Ann Rev Immunol۱۹۹۷;۱٥: ٦۷٥-۷۰٥.
۱٥.Mantovani A, Sica A. Macrophages, innate immunity and cancer balance tolerance and diversity. Current Opin Immunol ۲۰۱۰;۲۲: ۲۳۱-۷.
۱٦.Sica A, Allavena P, Mantovani A. Cancer related inflammation: the macrophage connection. Cancer Let ۲۰۰۸; ۲٦۷:۲۰٤-۱٥.
۱۷.Barcelos LdS. Production and in vivo effects of chemokines CXCL۱-۳/KC and CCL۲/JE in a model of inflammatory angiogenesis in mice. Inflamm Res۲۰۰٤; ٥۳: ٥۷٦-۸٤.
۱۸.Qian BZ. CCL۲ recruits inflammatory monocytes to facilitate breast-tumour metastasis. Nature ۲۰۱۱;٤۷٥:۲۲۲-٥.
۱۹.Mcdougal WS. Campbell-walsh urology. ۱۰th ed. Saunders;۲۰۱۱. P.۲۳٤۲.
۲۰.Salcedo R. Human endothelial cells express CCR۲ and respond to MCP-۱ direct role of MCP-۱ in angiogenesis and tumor progression. Blood ۲۰۰۰;۹٦: ۳٤-٤۰.
۲۱.Fleige S, Pfaffl MW. RNA integrity and the effect on the real-time qRT-PCR performance. Mol Asp Med۲۰۰٦;۲۷:۱۲٦-۳۹.
۲۲.Does WP. Polymerase Chain Reaction. J Inv Dermatol۲۰۱۳;۱۱:۱۳۳.
۲۳.Lu Y, et al. Activation of MCP-۱/CCR۲ axis promotes prostate cancer growth in bone. Clin Exp Metastasis ۲۰۰۹;۲٦:۱٦۱-۹.
۲٤.Loberg RD. CCL۲ is a potent regulator of prostate cancer cell migration and proliferation. Neoplasia۲۰۰٦;۸:٥۷۸-۸٦.
۲٥.Tao LL. Expression of monocyte chemotactic protein-۱/CCL۲ in gastric cancer and its relationship with tumor hypoxia. World J Gastroenterol WJG ۲۰۱٤; ۲۰: ٤٤۲۱.
۲٦.Amann B. Urinary levels of monocyte chemo-attractant protein-۱ correlate with tumour stage and grade in patients with bladder cancer. British J Urol۱۹۹۸; ۸۲:۱۱۸-۲۱.
۲۷.Chiu HY. Autocrine CCL۲ promotes cell migration and invasion via PKC activation and tyrosine phosphorylation of paxillin in bladder cancer cells. Cytokine ۲۰۱۲;٥۹: ٤۲۳-۳۲.
۲۸.Aldinucci, D. and A. Colombatti the inflammatory chemokine CCL٥ and cancer progression. Mediators Inflamm ۲۰۱٤;۸:۲۳٤-۸.
۲۹.Gao DF, Fish EN. A role for CCL٥ in breast cancer cell metabolism. Cytokine ۲۰۱۳;٦۳: ۲٦٤.
۳۰.Hanahan D, Coussens LM. Accessories to the crime functions of cells recruited to the tumor microenvironment. Cancer Cell۲۰۱۲;۲۱:۳۰۹-۲۲.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.1.144]

Distinct Pattern of CC Chemokine ۲ and ۵ in Post-Transurethral Resection of Bladder Cancer

Moogooei M[۱], Hasanshahi G[۲], Jafarzadeh A[۱], Khoramdelazad H[۱], Moogooei M[۳], Fatahpour S[٤]*

(Received: April ۲۰, ۲۰۱۵ Accepted: August ۱٦, ۲۰۱۵)

Abstract

Introduction: The complex network of chemokines and their receptors play an important role in development and metastasis of tumors. This study examines the mRNA expression rate of CCR۲ and CCR۵ and also the serum levels of CCL۲ and CCL۵ in patients with bladder transitional cells carcinoma before and after transurethral resection (TUR) surgery.

Materials & methods: In the present study, ٤۰ male patients with transitional cell carcinoma (TCC) and ٤۰ healthy subjects were included in the study. The blood samples were collected before TUR surgery and ۲۸ days thereafter. Also, tumor and normal tissue samples were collected during the operation from۱۲ of these patients. The CCR۲ and CCR۵ gene expressions of normal and tumor tissues were determined grossly and also in PBLs using real-time PCR technique. The protein levels of CCL۲ and CCL۵ in PBLs were investigated using ELISA technique.

Findings: The CCR۲ and CCR۵ gene expression in tumor tissue compared to normal tissue, and in PBLs after TUR surgery compared to pre-surgery rate showed a significant increase ($P < ۰,۰۵$). In examination, the serum levels of CCL۲ and CCL۵ in patients with cancer compared to normal subjects showed a significant increase ($P < ۰,۰۵$). In this study, the serum levels of CCL۲ and CCL۵ showed a distinct behavior; thus, the post- operative serum levels of CCL۲ significantly increased, while the serum levels of CCL۵ significantly reduced ($P < ۰,۰۵$).

Discussion & Conclusions: This study showed variations of chemokine / receptor axis of CCL۲ / CCR۲ which in tumor tissue compared to normal tissue, and in PBLs after TUR surgery compared to pre-surgery rate showed a significant increase. variations of chemokine / receptor axis of.CCL۵ / CCR۵ is so different, serum levels of CCL۵ significantly reduced. It seems that the nature of the tumor cells acts differently in producing and expressing CCL۲ / CCR۲ and CCL۵ / CCR۵. While it is generally expected that with tumor progression, the ligand and the receptor rates will increase which is important and requires further research, particularly regarding solid tumors. However, physical removal of the tumor has not a profound role in expression and secretion of studied chemokines.

Keywords: Transitional cells carcinoma, CCL۲, CCL۵, CCR۲, CCR۵

۱. Dept of Immunology, Faculty of Medicien, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
۲. Molecular and Celular Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
۳. Dept of Immunology, Faculty of Medicien, Shahid sedoghi Yazd University of Medical Sciences, Yazd, Iran
٤. Dept of Biochemistry, Faculty of Medicien, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
** Correspondin author Email: mozhganmoogooei@yahoo.com*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-12]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.1.144]