Journal of Ilam University of Medical Sciences

P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

Breast Cancer Treatment in Balb/C Mice Using Dendritic Cells

Nowruz Delirezh [1], Akram Zangeneh [1*], Sanaz Sheikhzadeh [1], Naser Abbasi [2]

[1] Dept of Microbiology,Faculty of Veterinary Medicine,Urmia University,Urmia,Iran
[2] Biotechnology and Medicinal Plants Research Center, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran

Article Info

Article type:
Research article

Article History:
Received: Sep. 14, 2024
Received in revised form: Oct. 08, 2024
Accepted: Oct. 15, 2024
Published Online: Feb. 03,2025

**** Correspondence to:***
Akram Zangeneh
Dept of Microbiology,Faculty of Veterinary Medicine,Urmia University,Urmia,Iran

Email:
Akramzangeneh2415@gmail.com

A B S T R A C T

Introduction: A fourth of all cancers in women in the country are breast cancer, making it the most common and fatal cancer in women. Some novel approaches are being implemented to reduce the impact of cancer. Thus, this study was conducted to treat breast cancer using dendritic cells in mice.

Materials & Methods: The study used the 4T1 cell line to induce breast cancer in Balb/C mice. After tumor induction, the mice were divided into three groups: healthy control, tumor control, and dendritic cell-treated groups. After developing palpable tumors, each group was treated with one million dendritic cells twice at a two-week interval. Body weight, tumor weight, and breast tissue samples were taken for pathological examination. Cells were photographed during the 9-day dendritic cell culture period. One-way analysis of variance (ANOVA) and Duncan's test were used in SPSS V.24 to analyze the data at the 0.05 significance level.

Results: In the dendritic cell treatment group, the ratio of tumor weight to body weight went down, and the amount of tumor weight loss was balanced out compared to the tumor control group. The dendritic cell receiving group also had a lot more tumor growth inhibition. The dendritic cell-treated group showed an increase in the number of immune cells in the tumor tissue.

Conclusion: Treatment with dendritic cells for the treatment of breast tumors enhances the immune response against the tumor.

Keywords: Dendritic Cells, Breast Tumor, 4T1

How to cite this paper: Delirezh N, Zangeneh A, Sheikhzadeh S, Abbasi N. Breast Cancer Treatment in Balb/C Mice Using Dendritic Cells. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2025;32(6):84-96.

Introduction

Breast cancer is recognized as the second-leading cause of mortality worldwide and one of the primary causes of cancer-related deaths among women (1, 2). Early diagnosis and the identification of anti-tumor compounds are critical factors in managing this disease (1). Developing countries face significant challenges with cancer and new therapeutic approaches. Approaches are emerging that focus on inhibiting cellular death pathways (3). Dendritic cells play a vital role in eliciting immune responses and are utilized in the development of vaccines aimed at disease prevention (5). To create vaccines based on these cells, it is necessary to proliferate them from blood samples (4,5). Thus, this study was conducted to treat breast cancer using dendritic cells in mice.

Methods

The 4T1 cell line, obtained from the Pasteur Institute in Tehran was utilized. This cell line represents a type of metastatic breast cancer cell. The cultivation of these cells was conducted in an RPMI 1640. medium supplemented with 10%. Additionally, Balb/C mice, aged one week, were purchased from Urmia University of Medical Sciences and were maintained in the veterinary laboratory. In the process of isolating cells from bone marrow, the Mice were euthanized, and the bones were prepared under sterile conditions. Cells were extracted using a needle and culture medium. Following centrifugation and the removal of red blood cells, the quantity and viability of the cells were assessed using trypan blue staining.

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

© The Author(s)

Dendritic cell culture was conducted using one million viable cells in one milliliter of complete medium, with the addition of specific cytokines. On the third and fifth days, the cell medium was replaced, and on the sixth day, tumor antigen was introduced to the cells. The collection and assessment of cell viability were performed on the ninth day, along with the confirmation of dendritic cell markers. 4T1 cells were utilized to induce mammary tumors in Balb/C mice. A total of 100,000 4T1 cells were injected subcutaneously in the interscapular region of the mice, and the mice were monitored daily to confirm tumor induction. Upon confirmation, the mice were divided into three groups of eight: Group A (healthy untreated mice), Group B (untreated mice with tumors), and Group C (tumor-bearing mice treated with dendritic cells). Following tumor induction, the body weight of the mice was measured and recorded daily using a digital scale. After anesthetizing the mice with ketamine and xylazine, the mammary tumors were excised and weighed using a digital scale. Following the anesthesia of Balb/C mice, the Breast tumor tissue and control tissues were preserved in 10% formalin and prepared for histopathological studies. One-way Analysis of variance (ANOVA) and Duncan's test were used in SPSS V.24 to analyze the data at the 0.05 significance level.

Results

The findings indicate a significant weight loss in the tumor control group throughout the experiment. The groups treated with dendritic cells were able to partially compensate for the weight loss caused by the tumor. When the tumors were taken out of the mice and their weights were recorded, it was found that the group that received dendritic cells had significantly less tumor weight than the control group. Tumor growth analysis demonstrated that the treated group exhibited considerably less tumor growth than the untreated group. In the control group, predominantly viable tumor cells were observed, whereas the treated group showed a higher incidence of necrosis. Also, looking at immune cells inside the tumor tissue showed that there were no immune cells in the control group, but there were a lot of immune cells in the treated group. Finally, the analysis of dendritic cells revealed an increase in both their number and volume during the first 72 hours, with subsequent changes in the status of suspended cells observed over time.

Conclusion

The high prevalence of breast cancer in the country underscores the necessity for further research to identify cancer mechanisms and develop new therapeutic approaches. This study utilized the 4T1. mouse breast cancer cell line, which exhibits characteristics similar to human breast cancer. The addition of LPS to these cells induces their maturation and the production of significant cytokines, such as IL-12, which directs the immune response toward a TH1 profile. Treatment with dendritic cells for the treatment of breast tumors enhances the immune response against the tumor.

Authors' Contribution

This study was approved by the Ethics Committee of Urmia University (Iran) (IR-UU-AEC-3/40). The authors adhered to ethical standards by avoiding data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

Ethical Statement

Honesty in library collection and data report, written informed consent from all samples according to the Declaration of Helsinki's announcement, and interventional human principles. The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Funding

This study was conducted with the Biotechnology and Medicinal Plants Research Center of Ilam University of Medical Sciences for their financial support and provision of laboratory equipment.

Acknowledgment

Authors would like to thank Urmia University and the Biotechnology and Medicinal Plants Research Center of Ilam University of Medical Sciences for their financial support and provision of laboratory equipment for the PhD thesis (No. 25421).

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

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام

JIUMS

P-ISSN: ۱۵۶۳-۴۷۲۸

E-ISSN: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

درمان سرطان پستان در موش Balb/C با استفاده از سلول‌های دندریتیک

نوروز دلیرژ [۱]، اکرم زنگنه [۱*]، ساناز شیخ‌زاده [۱]، ناصر عباسی [۲]

[۱] گروه میکروبیولوژی، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[۲] مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۲۴

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۷/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۲۴

تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۱۱/۱۵

نویسنده مسئول:
اکرم زنگنه
گروه میکروبیولوژی، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

Email:
Akramzangeneh2415@gmail.com

چکیده

مقدمه: سرطان پستان یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها در زنان و دومین عامل مرگ‌ومیر در میان زنان است و حدود یک‌چهارم سرطان‌های زنان در کشور مربوط به سرطان سینه است. شیوع و تعداد بالای افراد مبتلا به این نوع سرطان در کشور ما ضرورت انجام تحقیقات بیشتر برای کشف سازوکارهای سرطان و ابداع روش‌های درمانی مؤثر را آشکار می‌سازد. سلول‌های دندریتیک به‌عنوان تأمین‌کنندهٔ حرفه‌ای آنتی‌ژن‌ها، با برداشت و پردازش آنتی‌ژن‌ها، نقش مهمی در کنترل و هدایت پاسخ ایمنی در برابر بیماری‌های مختلف به‌ویژه سرطان ایفا می‌کنند.

مواد و روش‌ها: برای القای سرطان سینه در موش‌های Balb/C از ردهٔ سلولی 4T1 استفاده شد. پس از القای تومور، حیوانات به‌طور تصادفی به سه گروه ۸تایی تقسیم گردیدند. گروه‌ها شامل کنترل سالم، کنترل تومور و گروه تحت درمان با سلول‌های دندریتیک استخراج‌شده از مغز استخوان بودند. پس از ایجاد تومور قابل‌لمس در آن‌ها، هریک از آن‌ها با یک میلیون سلول دندریتیک دو بار به فاصلهٔ دو هفته تحت درمان قرار گرفتند. در طول دورهٔ درمان، وزن بدن موش‌ها اندازه‌گیری شد. وزن تومور نیز اندازه‌گیری و نمونهٔ بافت پستان نیز برای بررسی پاتولوژی جدا گردید؛ همچنین در طول دورهٔ ۹ روزهٔ کشت سلولی دندریتیک، از سلول‌ها با استفاده از میکروسکوپ عکس‌برداری شد. برای تحلیل داده‌ها از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن در نرم‌افزار SPSS vol.24 استفاده گردید.

یافته‌های پژوهش: نسبت وزن تومور به وزن بدن در گروه درمان با سلول‌های دندریتیک کاهش یافت و میزان کاهش وزن تومور در این گروه نسبت به گروه کنترل تومور جبران شد و میزان مهار رشد تومور در گروه دریافت‌کنندهٔ سلول‌های دندریتیک به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. تعداد سلول‌های ایمنی در بافت تومور در گروه درمان‌شده با سلول‌های دندریتیک افزایش یافت.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج می‌توان گفت که درمان با سلول‌های دندریتیک برای درمان تومورهای پستان باعث تقویت پاسخ ایمنی در برابر تومور می‌شود.

واژه‌های کلیدی: سلول‌های دندریتیک، تومور پستان، 4T1

استناد: دلیرژ نوروز، زنگنه اکرم، شیخ‌زاده ساناز، عباسی ناصر. درمان سرطان پستان در موش Balb/C با استفاده از سلول‌های دندریتیک. *مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام*، بهمن ۱۴۰۳؛ (۶)۳۲: ۹۶-۸۴

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

CC BY NC

حق‌مؤلف © نویسندگان

مقدمه

امروزه سرطان سینه دومین عامل مرگ‌ومیر در جهان است. آمارها نشان می‌دهد که سرطان یک‌سوم جمعیت را تحت تأثیر قرار می‌دهد. سرطان پستان یکی از علل اصلی مرگ‌ومیر ناشی از سرطان در میان زنان است (۱). تشخیص زودهنگام این بیماری و یافتن ترکیبات ضد تومور از عوامل مهم در کنترل سرطان سینه است (۳، ۲). از سوی دیگر، پس از سال‌ها پیشرفت در حوزهٔ سلامت، امروزه کشورهای درحال‌توسعه درگیر مبارزه با بیماری‌های مهلک سرطان هستند (۴). روش‌های درمانی جدیدی ابداع‌شده است که هدف آن خنثی کردن مسیر رشد سرطان است؛ به همین علت، این روش‌های درمانی علاقهٔ روزافزونی به سرکوب مسیر مرگ سلولی دارند و درنتیجه، سلول‌های سرطانی را وادار به مرگ می‌کنند. راه‌های مختلفی برای مرگ سلولی وجود دارد، ازجمله آپوپتوز، اتوفاژی و نکروز (۶، ۵). سلول‌های دندریتیک با برداشت و پردازش آنتی‌ژن‌ها پاسخ ایمنی را ایجاد و هدایت و کنترل می‌کنند. این سلول‌ها می‌توانند انواع مختلفی از پاسخ‌های ایمنی را با توجه به عوامل و شرایط محیطی هدایت نمایند (۷). سلول‌های دندریتیک یکی از سلول‌های حرفه‌ای هستند و به‌سبب نقش مهم این سلول‌ها، در تهیهٔ واکسن‌ها و پیشگیری از بیماری‌های مختلف ازجمله سرطان، آلرژی، بیماری‌های خودایمنی و نقص دستگاه ایمنی استفاده می‌شوند (۹، ۸). برای ساخت واکسن‌های مبتنی بر سلول‌های دندریتیک (DC) در انسان، باید در خارج از بدن، این سلول‌ها را به مقدار فراوان آماده کنیم. در ابتدا از DC خون محیطی به‌عنوان منبع این سلول‌ها استفاده می‌شد. در این روش از محصول لوکوفورز خون محیطی استفاده می‌گردد. مزیت این روش نبودِ شرایط کشت و سیتوکین است؛ اما مشکل محدود بودن تعداد سلول‌های دندریتیک خون محیطی است. امروزه در بیشتر آزمایش‌ها بالینی از مونوسیتهای خون محیطی به‌عنوان منبع سلول‌های دندریتیک استفاده می‌شود. در نمونه‌های موش، سلول‌های دندریتیک مغز استخوان یا سلول‌های دندریتیک طحال نیز به‌عنوان منبع سلول‌ها استفاده می‌گردند و باید تحت شرایط کشت مشابه انسان قرار گیرند (۱۰). روش‌های مختلفی برای کشت و تکثیر سلول‌های دندریتیک مغز استخوان موش وجود دارد. در مطالعهٔ پیتر ورواک از یک روش کشت شش‌روزه برای تولید سلول‌های دندریتیک نابالغ استفاده شد و به دنبال آن، از یک کشت سه‌روزه با مواد بالغ شامل آنتی‌ژن‌های تومور به‌دست‌آمده از سلول‌ها استفاده گردید (۱۲، ۱۱)؛ بنابراین، مطالعهٔ حاضر بر اساس تولید سلول‌های دندریتیک +CD34 بارگذاری‌شده با آنتی‌ژن‌های توموری به روش ex vivo در نمونهٔ موشی سرطان سینه انجام شد. در این مطالعه، سلول‌های خون‌ساز از مغز استخوان ران و درشت نی موش نژاد Balb/c استحصال گردید و سپس سلول‌های پیش‌ساز استحصال‌شده از مغز استخوان در محیط کشت به همراه کوکتایل سایتوکاینی رشد داده می‌شوند؛ سپس آنتی‌ژن‌های مربوط به لیپوپلی ساکارید باکتری گرم منفی در سلول‌های دندریتیک بارگذاری خواهد شد۱۵). ۱۵). و در سلول‌های دندریتیک نابالغ القای بلوغ خواهد گردید. از سوی دیگر، موش‌هایی که به‌طور تجربی دچار تومور سینه شده‌اند، پس از رسیدن تومور به‌اندازهٔ ۱۰۰–۵۰ میلی‌متر مکعب، طی حداقل دو نوبت با سلول‌های دندریتیک بالغ تولیدشده ایمونوتراپی خواهند شد (۱۵).

مواد و روش‌ها

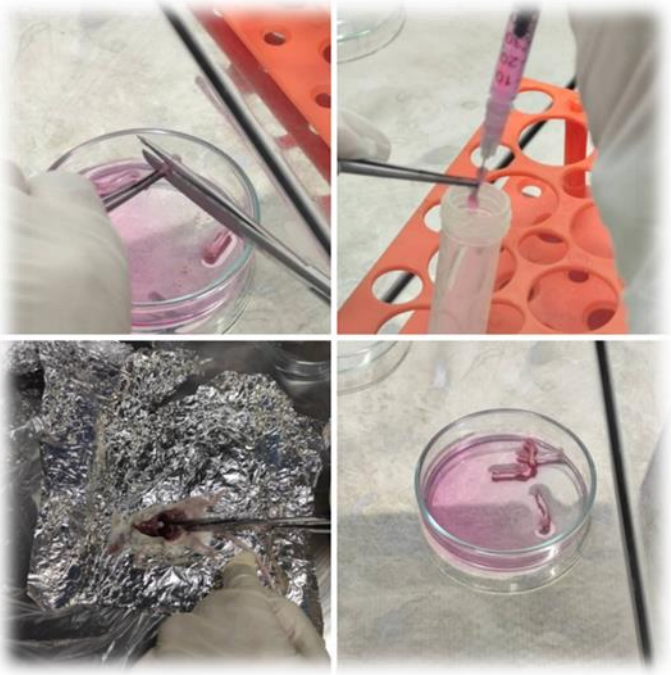
کشت سلولی: در این مطالعه از ردهٔ سلولی T۱۴ استفاده گردید. این ردهٔ سلولی به صورت ویال از انستیتو پاستور تهران تهیه شد. ردهٔ سلولی T۱۴ یکی از چندین ردهٔ سلولی سرطان سینه است که می‌تواند به‌طور مؤثر متاستاز دهد. برای کشت این ردهٔ سلولی از محیط کشت RPMI 1640+10% استفاده گردید. محیط کشت RPMI 1640 از شرکت سیگما خریداری شد.

در این تحقیق از موش‌های هفته‌ای Balb/C استفاده گردید که از دانشگاه علوم پزشکی ارومیه خریداری و تا زمان آزمایش در خانهٔ حیوانات دانشکدهٔ دامپزشکی ارومیه نگهداری شدند.

جداسازی سلول‌ها از مغز استخوان موش: ابتدا موش‌ها کشته شدند و در الکل ۷۰ درصد غوطه‌ور گردیدند؛ سپس پوست استخوان ران و ساق پا برداشته و در شرایط

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

استریل، عضلات این نواحی به‌طور کامل از استخوان جدا شد. توسط سوزنی با گیج ۲۵ حاوی محیط کشت RPMI 1640 به داخل استخوان‌ها تزریق گردید. این کار تا زمانی ادامه یافت که رنگ استخوان‌ها کاملاً سفید شد. سوسپانسیون سلولی به مدت ۵ دقیقه در G۱۵۰۰ سانتریفیوژ گردید. با استفاده از آب مقطر و بافر X۱۰ فسفات، گلبول‌های قرمز خون حذف و سلول‌ها سه بار شسته شدند. تعداد و بقایای سلول‌ها با استفاده از رنگ تریپان بلو ۵ درصد تعیین گردید. تصاویر انجام فرایند جداسازی سلول‌ها از مغز استخوان موش در شکل شمارهٔ ۱ نشان داده‌شده است.



شکل شماره ۱. جداسازی سلول‌ها از مغز استخوان موش

کشت سلول دندریتیک: در هر پلیت ۲۴ خانه‌ای، یک میلیون سلول زنده در یک میلی‌لیتر محیط کامل ریخته شد و به سلول‌های Gmcsf ۲۰ng/ml و ۱۰ng/ml اینترلوکین-۴ اضافه گردید. در روز سوم و پنجم، دوسوم محیط سلول‌ها با محیط کامل دارای سیتوکین تعویض شدند. در روز ششم، ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر آنتی‌ژن تومور به سلول‌ها اضافه گردید. در روز هفتم، ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر LPS اضافه شد. در روز نهم، سلول‌های دندریتیک جمع‌آوری و زنده ماندن آن‌ها با استفاده از رنگ تریپان بلو تعیین گردید. طی این دورهٔ ۹ روزه، هرروز از سلول‌ها زیر میکروسکوپ عکس‌برداری شد. تصاویر انجام کشت سلول‌های دندریتیک در شکل شمارهٔ ۲ نشان داده‌شده است. برای تأیید سلول‌های دندریتیک با مارکرهایی ازجمله CD11c- CD80-CD8a- CD4- CD86- CD40- I-AK سنجیده گردیدند.

بخش حیوانات: در این مطالعه، ۲۴ موش مادهٔ نژاد Balb/C با محدودهٔ سنی ۸-۶ هفته از دانشکدهٔ پزشکی ارومیه خریداری و در خانهٔ حیوانات دانشکدهٔ دامپزشکی دانشگاه ارومیه با رطوبت ۵۵±۵ و دمای ۲۲±۲ نگهداری شدند. برنامهٔ نور شامل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود. حیوانات آزمایشی به غذا و آب دسترسی آزاد داشتند. این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه ارومیه (کد اخلاقی: IR-UU-AEC-3/40) تایید شد.

القای تومور پستانی در موش Balb/C: ردهٔ سلولی T14 برای القای تومورهای پستانی در موش Balb/C استفاده گردید. برای این منظور، ۱۰۰۰۰۰ سلول T14 در ۵۰ میکرولیتر بافر PBS حل شد و به‌صورت زیر جلدی در ناحیهٔ میان سینه ۴ و ۵ تزریق گردید. هرروز برای بررسی القای تومور، موش‌ها بررسی می‌شدند. پس از تأیید القای تومور در موش‌ها، آن‌ها

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

به‌طور تصادفی به سه گروه ۸ تایی به شرح ذیل تقسیم گردیدند (۱۵): گروه A شامل ۸ موش مادهٔ Balb/C سالم بود که تحت هیچ درمانی قرار نگرفتند؛ گروه B شامل ۸ موش مادهٔ Balb/C بود که در آن‌ها تومور القا شد؛ اما درمان نگردیدند و گروه C شامل ۸ موش مادهٔ Balb/C بود که پس از ایجاد تومور قابل‌لمس در آن‌ها، هریک از آن‌ها با یک میلیون سلول دندریتیک دو بار به فاصلهٔ دو هفته تحت درمان زیر جلدی قرار گرفتند (شکل شمارهٔ ۲).



شکل شمارهٔ ۲. القای تومور پستانی با استفاده از سلول‌های 4T1 در موش‌های Balb/C

بررسی وزن بدن موش‌های Balb/C: پس از القای تومور در موش‌ها، وزن آن‌ها روزانه با ترازو دیجیتالی اندازه‌گیری و ثبت شد.

اندازه‌گیری وزن تومور در موش Balb/C: پس از بیهوشی موش‌ها با کتامین و زایلازین، تومورهای پستانی موش‌ها خارج و با ترازو دیجیتال اندازه‌گیری گردید.

اندازه‌گیری مهار رشد تومور پستان در موش: به‌منظور ارزیابی مهار رشد تومور توسط تیمارهای مختلف، از فرمول زیر استفاده شد:

$$\frac{Ws - Wt}{Ws} \times 100$$

Wt	وزن تومور پستان در گروه‌های درمانی
Ws	وزن تومور پستان در گروه‌های کنترل توموری

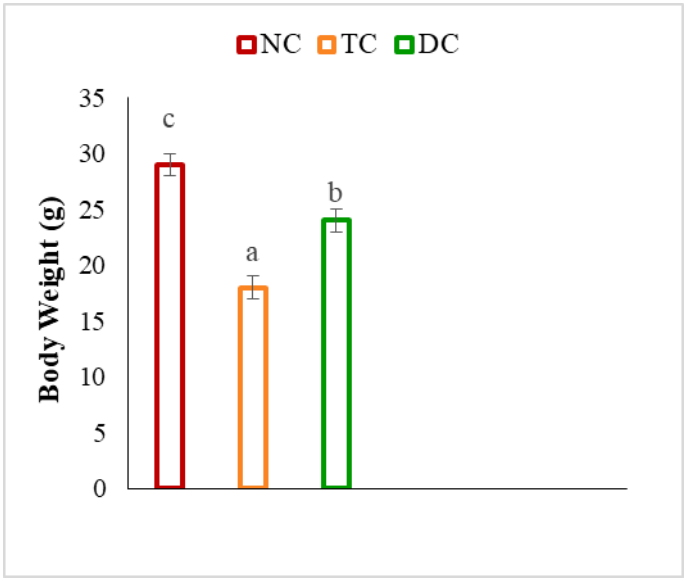
بررسی هیستوپاتولوژیک: پس از بیهوشی موش‌های Balb/C، تومور پستانی موش‌های مبتلا و بافت پستانی گروه کنترل سالم جدا و در فرمالین ۱۰ درصد نگهداری گردید و برای مطالعات هیستوپاتولوژیک با هماتوکسیلین و ائوزین

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

رنگ‌آمیزی شد.

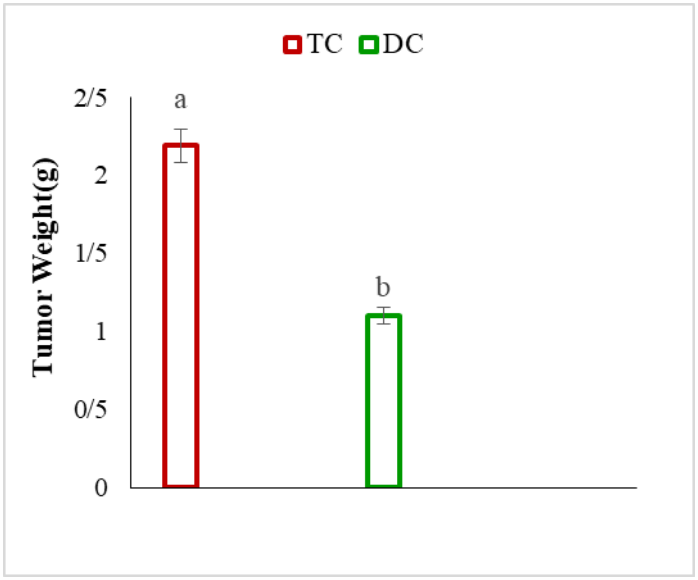
یافته‌های پژوهش

بررسی وزن بدن Balb/C: همان‌طور که در نمودار میانگین وزن بدن مشاهده می‌شود، در گروه کنترل توموری کاهش وزن مشخصی در طول دورهٔ آزمایش مشاهده گردید و همچنین گروهی که تحت درمان با سلول‌های دندریتیک قرار گرفتند، توانستند مقداری از کاهش وزن به علت تومور را جبران کنند (نمودار شمارهٔ ۱). حروف کوچک متفاوت نشان‌دهندهٔ معنی‌داری در سطح $P<0.05$ است.



نمودار شماره ۱. مقایسهٔ وزن بدن حیوانات در گروه درمانی و گروه کنترل سالم و کنترل توموری (کنترل سالم=NC، کنترل توموری=TC، سلول‌های دندریتیک=DC)

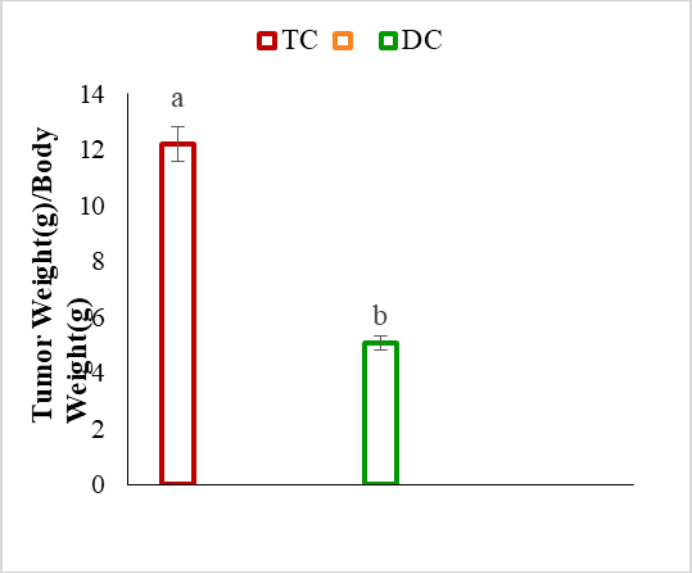
ارزیابی وزن تومور: پس از کشتن موش‌ها، تومور از بدن موش‌ها خارج شد و وزن تومورها با ترازو دیجیتال اندازه‌گیری گردید. نتایج مقایسهٔ وزن تومور در گروه‌های مختلف نشان داد که میزان کاهش در گروه گیرندهٔ سلول دندریتیک نسبت به گروه تومور معنی‌دار است (نمودار شمارهٔ ۲). حروف کوچک متفاوت نشان‌دهندهٔ معنی‌داری در سطح $P<0.05$ است.



نمودار شماره ۲. مقایسهٔ وزن تومور حیوانات در گروه درمانی و کنترل توموری (کنترل توموری TC، سلول‌های دندریتیک DC=)

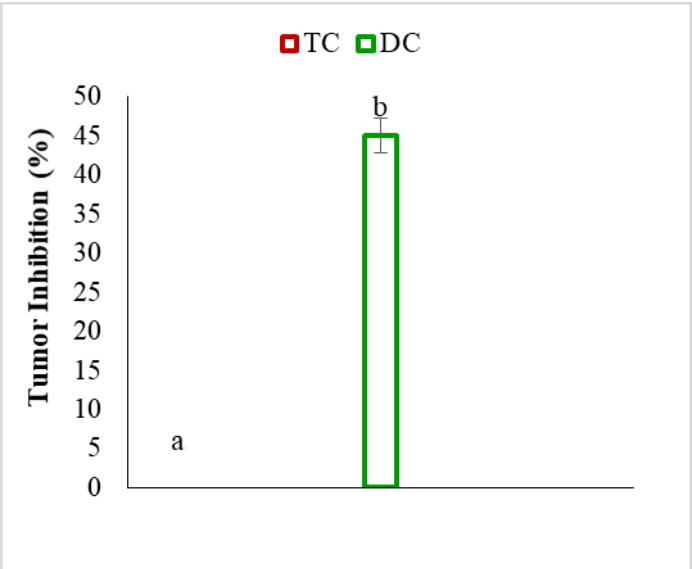
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

بررسی نسبت وزن تومور به وزن بدن: پس از بیهوشی موش‌ها، تومورها از بدن آن‌ها خارج شد و وزن آن‌ها با ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری گردید. همان‌طور که دیده می شود، نسبت وزن تومور به وزن بدن در گروه درمان نسبت به گروه کنترل کاهش‌یافته است (نمودار شمارهٔ ۳). حروف کوچک متفاوت نشان‌دهندهٔ معنی‌داری در سطح $P<0.05$ است.



نمودار شماره ۳. مقایسهٔ نسبت وزن تومور به وزن بدن حیوانات در گروه‌های مختلف (کنترل توموری=TC و سلول‌های دندریتیک =DC)

ارزیابی میزان مهار رشد تومور: نتایج تجزیه‌وتحلیل مهار رشد تومور در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد، در گروهی که تحت درمان با سلول‌های دندریتیک قرار گرفته‌اند، رشد تومور در مقایسه با گروه تومور بدون درمان، به‌طور چشمگیری کاهش یافته است (نمودار شمارهٔ ۴). حروف کوچک مختلف در سطح $P<0.05$، تفاوت معنیداری را نشان می‌دهد.

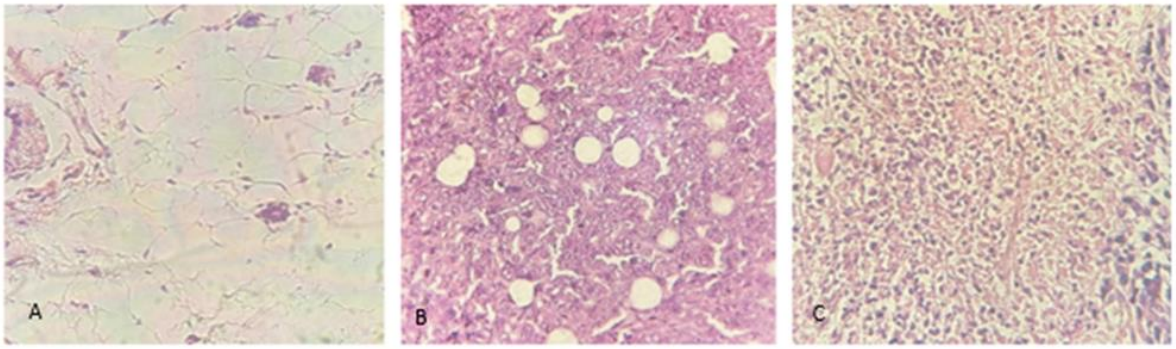


نمودار شماره ٤. ارزیابی میزان مهار رشد تومور حیوانات در گروه‌های مختلف (کنترل توموری=TC، سلول‌های دندریتیک =DC)

نتایج هیستوپاتولوژیک: در گروه کنترل تومور، ناحیهٔ تومور عمدتاً از سلول‌های تومور زنده تشکیل شد و تنها ناحیهٔ کوچکی از نکروز در بخش تومور مشاهده گردید، درحالی که بیشترین میزان نکروز در گروه درمان‌شده با سلول‌های

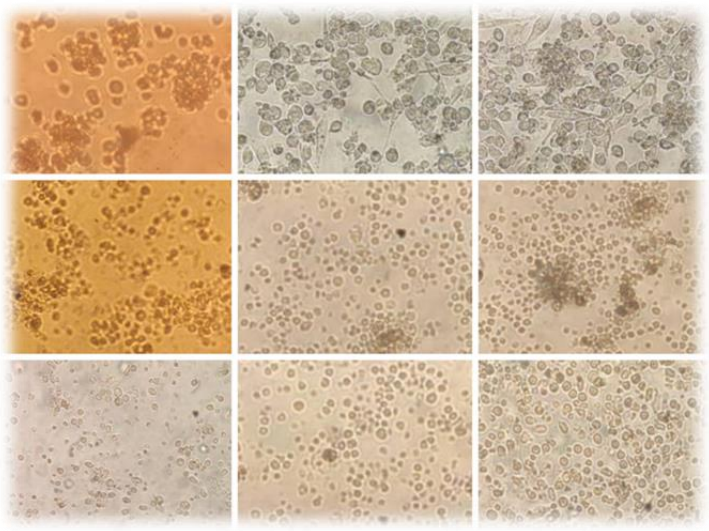
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-11]

دندریتیک دیده شد. برای بررسی سلول‌های ایمنی در بافت پستان، از لام‌های رنگ‌آمیزی با هماتوکسین و ائوزین استفاده گردید. همان‌طور که در شکل شمارهٔ ۳ مشاهده می‌شود، معمول‌ترین سلول‌های ایمنی در بافت تومور که شامل نوتروفیل‌ها، پلاسماسل‌ها و لنفوسیت‌ها هستند، در گروه‌های کنترل تومور، اثری از نفوذ این سلول‌های ایمنی دیده نشد؛ اما در گروه درمان‌شده با سلول‌های دندریتیک‌سل نفوذ سلول‌های ایمنی در بافت پستانی مشاهده گردید. پس از بررسی عکس‌های سلول‌های دندریتیک در مدت ۹ روز متوجه شدیم که پس از ۷۲ ساعت، تعداد سلول‌ها و حجم آن‌ها افزایش یافته است و با گذشت زمان، تعداد سلول‌های چسبنده کاهش یافت. پس از کاهش تعداد سلول‌های چسبنده، سلول‌های معلق با برآمدگی‌های دندریتی قابل‌مشاهده بود. در روز پنجم، تعداد سلول‌های معلق افزایش یافت و در روز هفتم، سلول‌های معلق پیچیده و برآمدگی‌های آن‌ها طولانی‌تر شد. پس از افزودن آنتی‌ژن و LPS، کلنی‌ها گسترش یافتند و سلول‌های دندریتیک طبیعی مشاهده گردیدند (شکل شمارهٔ ۳).



شکل شماره ۳. بررسی هیستوپاتولوژیک میان گروه‌های مختلف (A. گروه کنترل سالم؛ B. گروه کنترل توموری؛ C. گروه دریافت‌کنندهٔ سلول‌های دندریتیک)

بررسی میکروسکوپی سلول‌های دندریتیک: پس از بررسی عکس‌های سلول‌های دندریتیک در مدت ۹ روز دیده شد که پس از ۷۲ ساعت، تعداد سلول‌ها و حجم آن‌ها افزایش و با گذشت زمان، تعداد سلول‌های چسبنده کاهش می‌یابد. پس از کاهش تعداد سلول‌های چسبنده، سلول‌های معلق با برآمدگی‌های دندریتی قابل‌مشاهده است. در روز پنجم، تعداد سلول‌های معلق افزایش یافت و در روز هفتم، سلول‌های معلق پیچیده و برآمدگی‌های آن‌ها طولانی‌تر شد. پس از افزودن آنتی‌ژن و LPS، کلنی‌ها گسترش یافتند و سلول‌های دندریتیک طبیعی مشاهده گردیدند (شکل شمارهٔ ۴).



شکل شماره ٤. بررسی میکروسکوپی سلول‌های دندریتیک از مغز استخوان موش Balb/C

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

بحث و نتیجه‌گیری

شیوع بالای افراد مبتلا به سرطان سینه در کشور ما، ضرورت انجام تحقیقات بیشتر برای کشف سازوکارهای سرطان و ابداع روش‌های درمانی مؤثر را آشکار می‌سازد. سلول‌های دندریتیک به‌عنوان تأمین‌کنندهٔ حرفه‌ای آنتی‌ژن‌ها، با برداشت و پردازش آنتی‌ژن‌ها، نقش مهمی در کنترل و هدایت پاسخ ایمنی در برابر بیماری‌های مختلف به‌ویژه سرطان ایفا می‌کنند. در مطالعهٔ حاضر، از ردهٔ سلولی سرطان سینهٔ موش Balb/C به نام T14 استفاده شد. این ردهٔ سلولی قابلیت تهاجمی فراوانی دارد که از تومور خودبه‌خودی ایجادشده در موش Balb/C مشتق گردیده است. این ردهٔ سلولی چندین ویژگی دارد که آن را به‌عنوان نمونهٔ حیوانی سرطان سینهٔ انسان مناسب می‌نماید؛ ازجمله: ۱. سلول‌های توموری به‌آسانی در غدد پستانی جای می‌گیرند؛ بنابراین، تومور اولیه در مکان آناتومیکی صحیح خود رشد می‌کند؛ ۲. همانند سرطان سینهٔ انسان، سرطان متاستاتیک سینهٔ T14 به‌طور خودبه‌خودی از تومور اولیه پیشرفت می‌کند؛ همچنین پیشروی متاستاز T14 به عقدهٔ لنفاوی و سایر اعضا ازجمله گرهٔ لنفاوی، خون، کبد، ریه، مغز و استخوان بسیار مشابه سرطان سینهٔ انسان است (۲۳ و ۲۷). سلول‌های دندریتیک می‌توانند انواع مختلفی از پاسخ‌های ایمنی را با توجه به شرایط محیطی و عواملی که می‌توانند باعث پاسخ‌های نوع یک یا دو شوند، آغاز و هدایت کنند (۱۳و ۲۸) که در ایجاد ایمنی ضد تومور در درمان آسم و آلرژی و درمان بیماری‌های خودایمنی بسیار مؤثر هستند (۱۴ و ۲۹). سلول‌های دندریتیک به علت سیتوکین‌هایی که تولید می‌کنند، می‌توانند پاسخ ایمنی را هدایت نمایند و به‌عنوان‌مثال (۱۵ و ۱۶)، با تولید IL-12 و IL-18 پاسخ نوع یک و با تولید IL-4 و IL-10 پاسخ نوع دو را ایجاد می‌کنند (۱۷). در این مطالعه، افزودن LPS باعث بلوغ DC و تولید IL-12 می‌شود. IL-12 مهم‌ترین سیتوکین در هدایت پاسخ ایمنی به سوی TH1 است. این سیتوکین با تحریک Tcell و NK باعثتولید IFN Y می‌گردد (۱۸ و ۳۰). البته علاوه بر IL-12، پاسخ TH1 را القا می‌کند. LPS توسمی گردد (۱۹). این شناسایی باعث بلوغ این سلول‌ها و آزادسازی سیتوکین‌هایی مانند IL-12 و IL-18 می‌شود و پاسخ ایمنی را به TH1 (۲۰و۳۱) هدایت می‌کند. با انجام این تحقیق می‌توان ثابت کرد که با کشت ۹ روزهٔ سلول‌های مغز استخوان موش می‌توان سلول‌های کارآمد ایجاد کرد و با افزودن ترکیباتی به محیط کشت سلول‌های دندریتیک، باعث بلوغ این سلول‌ها و ایجاد آن‌ها شد. سیتوکین‌هایی که نوع پاسخ را القا می‌کنند (۲۱ و ۲۲)، آن‌ها یک یا دو می‌شوند که نشان‌دهندهٔ ایمونوتراپی در برابر بیماری‌های مختلف ازجمله سرطان است. در مطالعه‌ای که روی سلول‌های دندریتیک استخراج‌شده از مغز استخوان انجام گرفت، نشان داده شد، مبتلایان به تومور که با سلول‌های دندریتیک واکسینه شده بودند، به‌طور چشمگیری پاسخ بهتری از نظر کاهش حجم و اندازهٔ تومور نسبت به مبتلایان واکسینه‌شده با یک آنتی‌ژن توموری مشخص داشتند. در مطالعهٔ ما نیز، گروه دریافت‌کنندهٔ سلول‌های دندریتیک پاسخ بهتری را از نظر کاهش حجم و اندازهٔ تومور نشان دادند (۲۴و۳۲). در مطالعهٔ ژین‌میائو لو و همکاران نشان داده شد که درمان با سلول‌های دندریتیک رشد تومور را به‌طور چشمگیری مهار کرد و نشان داد که می‌تواند به‌عنوان راهبرد درمانی نوین سرطان استفاده گردد. در بررسی ما نیز گروه دریافت‌کنندهٔ سلول‌های دندریتیک نسبت به سایر گروه‌ها رشد تومور به‌طور چشمگیری مهار کرد (۲۵).

سپاس‌گزاری

با تشکر و قدردانی از دانشگاه ارومیه و مرکز تحقیقات زیست فناوری و گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی ایلام به سبب حمایت در زمینه مالی و فراهم نمودن تجهیزات ازمایشگاهی از پایان نامه دکتری تخصصی به شماره ثبت ۲۵۴۲۱.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که در انجام این پژوهش،هیچگونه تعارض منافعی گزارش نشده است.

کد اخلاق

این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه ارومیه (کد اخلاقی: IR-UU-AEC-3/40) تایید شد.

حمایت مالی

این مطالعه با همکاری مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی

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

و گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی ایلام به منظور حمایت مالی و تهیه تجهیزات آزمایشگاهی انجام شد.

مشارکت نویسندگان

نوروز دلیرژ و اکرم زنگنه در بررسی روش های تحقیق، ساناز شیخ زاده و اکرم زنگنه و ناصر عباسی انجام ازمایشات in vitro ، نوروز دلیرژ و ساناز شیخ زاده و اکرم زنگنه انجام ازمایشات in vivo، نوروز دلیرژ و اکرم زنگنه مدیریت تحقیق، نوروز دلیرژ و اکرم زنگنه بررسی اماری داده ها، ساناز شیخ زاده و اکرم زنگنه جمع اوری داده ها ، نوروز دلیرژو ناصر عباسی حمایت مالی. همه نویسندگان به طور مساوی در مفهوم سازی مقاله و نوشتن پیش نویس های اصلی و بعدی مشارکت داشتند.

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

References

1. Adan A, Alizada G, Kiraz Y, et al. Flow cytometry: basic principles and applications. Crit Rev Biotechnol 2017; 37: 163-76. doi: 10.3109/07388551.2015.1128876.
2. Aghaabbasi K, Hassani Kumleh H, Askari N, et al. Anticancer activity of Blepharis persica seed hydroalcoholic extract on (MCF-7) human breast cancer and (LNCaP) prostate cancer cell lines and its synergistic effect with doxorubicin. JCT 2018; 9: 206-21. doi: 10.52547/JCT.9.3.206.
3. Isetta AM, Fornasiero MC, Ferrari M, Trizio D. Immunosuppressive activity of 4'-iodo-4'-deoxy-doxorubicin on humoral and cell mediated immune responses in mice: comparison with doxorubicin. Int J Immunopharmacol 1990; 12: 665-73. doi: 10.1016/0192-0561(90)90104-u.
4. Anderson AR, Weaver AM, Cummings PT, Quaranta V. Tumor morphology and phenotypic evolution driven by selective pressure from the microenvironment. Cell 2006;127: 905-15. doi: 10.1016/j.cell.2006.09.042.
5. Asadi M, Taghizadeh S, Kaviani E, et al. Caspase-3: Structure, function, and biotechnological aspects. Biotechnol Appl Biochem 2022; 69:1633- 45. doi: 10.1002/bab.2233.
6. Aydin S. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. Peptides 2015; 72: 4-15. doi: 10.1016/j.peptides.2015.04.012.
7. Yousefi Sadeghloo A, Khorsandi K, Kianmehr Z. Synergistic effect of photodynamic treatment and doxorubicin on triple negative breast cancer cells. Photochem Photobiol Sci 2020; 19:1580-9. doi: 10.1039/d0pp00132e.
8. Barton VN, D'Amato NC, Gordon MA, Lind HT, Spoelstra NS, Babbs BL, et al. Multiple molecular subtypes of triple-negative breast cancer critically rely on androgen receptor and respond to enzalutamide in vivo. Mol Cancer Ther 2015; 14: 769-78. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-14-0926.
9. Berraondo P, Sanmamed MF, Ochoa MC, Etxeberria I, Aznar MA, Pérez-Gracia JL, et al. Cytokines in clinical cancer immunotherapy. Br J Cancer 2019; 120: 6-15. doi: 10.1038/s41416-018-0328-y.
10. Brose MS, Rebbeck TR, Calzone KA, Stopfer JE, Nathanson KL, Weber BL. Cancer risk estimates for BRCA1 mutation carriers identified in a risk evaluation program. J Natl Cancer Inst 2002; 94:1365-72. doi: 10.1093/jnci/94.18.1365.
11. Bukowski K, Kciuk M, Kontek R. Mechanisms of multidrug resistance in cancer chemotherapy. Int J Mol Sci 2020; 21:3233. doi: 10.3390/ijms21093233.
12. Chen S, Lv M, Fang S, et al. Poly(I:C) enhanced anti-cervical cancer immunities induced by dendritic cells-derived exosomes. Int J Biol Macromol 2018; 113: 1182-7. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.02.034.
13. Yang CY, Liu HW, Tsai YC, Tseng JY, Liang SC, Chen CY, et al. Interleukin-4 receptor-targeted liposomal doxorubicin as a model for enhancing cellular uptake and antitumor efficacy in murine colorectal cancer. Cancer Biol Ther 2015;16: 1641-50. doi:10.1080/15384047.2015.1095397.
14. De Henau O, Rausch M, Winkler D, Campesato LF, Liu C, Cymerman DH, et al. Overcoming resistance to checkpoint blockade therapy by targeting PI3Kγ in myeloid cells. Nature 2016; 539:443-7. doi: 10.1038/nature20554.
15. De Vera AA, Gupta P, Lei Z, et al. Immuno-oncology agent IPI-549 is a modulator of P-glycoprotein (P-gp, MDR1, ABCB1)-mediated multidrug resistance (MDR) in cancer: In vitro and in vivo. Cancer Lett 2019; 442:91-103. doi: 10.1016/j.canlet.2018.10.020.
16. Dobosz P, Stępień M, Golke A, Dzieciątkowski T. Challenges of the Immunotherapy: Perspectives and Limitations of the Immune Checkpoint Inhibitor Treatment. Int J Mol Sci 2022;23: 2847. doi: 10.3390/ijms23052847.
17. Eskandari E, Eaves CJ. Paradoxical roles of caspase-3 in regulating cell survival, proliferation, and tumorigenesis. J Cell Biol 2022; 221: e202201159. doi: 10.1083/jcb.202201159.
18. Fares J, Fares MY, Khachfe HH, Salhab HA, Fares Y. Molecular principles of metastasis: a hallmark of cancer revisited. Signal Transduct Target Ther 2020; 5:28. doi: 10.1038/s41392-020-0134-x.
19. Gebremeskel S, Johnston B. Concepts and mechanisms underlying chemotherapy induced immunogenic cell death: impact on clinical studies and considerations for combined therapies. Oncotarget 2015;6: 41600-19.doi: 10.18632/oncotarget.6113.
20. Ghasemi M, Turnbull T, Sebastian S, Kempson I. The MTT Assay: Utility, Limitations, Pitfalls, and Interpretation in Bulk and Single-Cell Analysis. Int J Mol Sci 2021; 22:12827. doi: 10.3390/ijms222312827.
21. Ghotbi Z, Haddadi A, Hamdy S, Hung RW, Samuel J, Lavasanifar A. Active targeting of dendritic cells with mannan-decorated PLGA

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

nanoparticles. J Drug Target 2011; 19:281-92. doi: 10.3109/1061186X.2010.499463.
22. Gibbert K, Schlaak JF, Yang D, et al. IFN-α subtypes: distinct biological activities in anti-viral therapy. Br J Pharmacol 2013; 168: 1048-58.doi: 10.1111/bph.12010.
23. Hanlon DJ, Aldo PB, Devine L, Alvero AB, Engberg AK, Edelson R, et al. Enhanced Stimulation of Anti-Ovarian Cancer CD8+ T Cells by Dendritic Cells Loaded with Nanoparticle Encapsulated Tumor Antigen. Am J Reprod Immunol 2011; 65: 597-609. doi: 10.1111/j.1600-0897.2010.00968. x.
24. Harshitha R, Arunraj DR. Real-time quantitative PCR: A tool for absolute and relative quantification. Biochem Mol Biol Educ 2021; 49: 800-812. doi: 10.1002/bmb.21552.
25. Hashimoto N, Nagano H, Tanaka T. The role of tumor suppressor p53 in metabolism and energy regulation, and its implication in cancer and lifestyle-related diseases. Endocr J 2019; 66:485-96. doi: 10.1507/endocrj. EJ18-0565.
26. Hayrapetyan H, Tran T, Tellez-Corrales E, Madiraju C. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. Methods Mol Biol 2023; 2612: 1-17.doi: 10.1007/978-1-0716-2903-1_1.
27. Hong DS, Postow M, Chmielowski B, et al. Eganelisib, a First-in-Class PI3Kγ Inhibitor, in Patients with Advanced Solid Tumors: Results of the Phase 1/1b MARIO-1 Trial. Clin Cancer Res 2023;29: 2210-19.
28. Huang L, Rong Y, Tang X, Yi K, Qi P, Hou J, Liu W, et al. Engineered exosomes as an in situ DC-primed vaccine to boost antitumor immunity in breast cancer. Mol Cancer 2022; 21:45. doi: 10.1186/s12943-022-01515-x.
29. Huo W, Yang X, Wang B, Cao L, Fang Z, Li Z, et al. Biomineralized hydrogel DC vaccine for cancer immunotherapy: a boosting strategy via improving immunogenicity and reversing immune-inhibitory microenvironment. Biomaterials 2022; 288: 121722. doi: 10.1016/j.biomaterials.2022.121722.
30. Ilango S, Paital B, Jayachandran P, Padma PR, Nirmaladevi R. Epigenetic alterations in cancer. Front Biosci 2020; 25:1058-109. doi: 10.2741/4847.
31. Jinmiao Lu, Nana Wei, Shilan Zhu, et al. Exosomes Derived from Dendritic Cells Infected with Toxoplasma gondii Show Antitumoral Activity in a Mouse Model of Colorectal Cancer. Front Oncol 2022; 12: 899737.doi: 10.3389/fonc.2022.899737.
32. Jozefczuk J, Adjaye J. Quantitative real-time PCR-based analysis of gene expression. Methods Enzymol 2011;500: 99-109. doi: 10.1016/B978-0-12-385118-5.00006-2.
33. Kaneda MM, Messer KS, Ralainirina N, et al, PI3Kγ is a molecular switch that controls immune suppression. Nature 2016; 539: 437-42.doi: 10.1038/nature19834.
34. Ling SP, Ming LC, Dhaliwal JS, et al. Role of Immunotherapy in the Treatment of Cancer: A Systematic Review. Cancers (Basel) 2022; 14:5205. doi: 10.3390/cancers14215205.

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