مجلـه‌ی علمـی، پژوهشـــی دانشـگاه علـــوم پزشـکی زنجـــان
دوره‌ی ۲۲, شماره‌ی ۹۱, خرداد و تیر ۱۳۹۳, صفحات ۵۲ تا ۶۰

اثرات آنتی پرولیفراتیو rmIL-27 بر روی رده‌ی سلول 4T1 سرطان سینه (مدل موش)، به عنوان یک کاندید در ایمونوتراپی سرطان پستان

دکتر عبدالرضا اسماعیل‌زاده[۱]، دکتر معصومه ابتکار[۲]، دکتر علیرضا بیگلری[۳]، دکتر زهیر صراف[۴]، دکتر تاکویوکی یوشیموتو[۵]

نویسنده‌ی مسوول: تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده‌ی پزشکی، گروه ایمونولوژی ebtekarm@modares.ac.ir

دریافت: ۹۱/۸/۲۰ پذیرش: ۹۲/۸/۲۵

چکیده

زمینه و هدف: *سرطان پستان، شایع‌ترین سرطان در میان زنان است. بیش از چندین دهه است که پیشرفت‌های چشمگیری در زمینه‌ی ایمنوتراپی سرطان پستان و نیز ایمنوبیولوژی تومور حاصل شده است. مطالعات in vitro برای بررسی اثر سایتوکاین‌های مختلف بر روی این نوع تومور انجام شده است. در میان اینترلوکین‌ها، IL-27 یک سایتوکاین جدید با ویژگی‌های خاص می‌باشد. IL-27 در کنار فعالیتش در القای Th1، به عنوان سیتوکاین پیش التهابی هم عمل می‌کند. هدف این مطالعه بررسی اثرات آنتی پرولیفراتیو IL-27 در شرایط in vitro می‌باشد.*

روش بررسی: *سلول‌های 4T1 در محیط کشت سلولی RPMI1640 کشت شدند. بعد از کلون کردن ژن mIL-27، تهیه ترانسفک دایمی و تولید پروتئین نوترکیب میزان تاثیر آنتی‌پرولیفراتیو IL-27 بر روی سلول‌های سرطانی سینه 4T1 در محیط کشت سلول ارزیابی گردید.*

یافته‌ها: *نتایج به دست آمده از این تحقیق برای اولین بار نشان داد که IL-27 می‌تواند در کشت سلول، تکثیر سلول‌های 4T1 را به‌طور معنی‌داری کاهش ($P<0/01$) دهد. ارتباط و اتصالات بین سلول‌ها و شکل و اندازه سلول‌ها نیز به طور محسوس نسبت به سلول‌های کنترل تغییر پیدا کرد.*

نتیجه‌گیری: *نتایج حاصل نشان دهنده‌ی این واقعیت است که IL-27 در شرایط in vitro نیز بدون نیاز به سلول و فاکتورهای بیولوژیکی بستر تومور، توان مهار تومور را دارا است. لذا می‌تواند به‌عنوان پروتئین نوترکیب، برای ایمونوتراپی تومورپستان پیشنهاد شود.*

واژگان کلیدی: ***اینترلوکین۲۷ نوترکیب موشی، آنتی پرولیفراتیو، سرطان پستان، ایمونوتراپی***

مقدمه

سرطان پستان اولین سرطان کشنده در میان زنان است که در سراسر جهان به سختی قابل درمان می‌باشد (۳-۱). بیش از چندین دهه است که پیـشرفت‌هـای چـشمگیری در زمینـه‌ی ایمنوتراپی سرطان پستان و نیز ایمنوبیولـوژی تومـور حاصـل شده است. اینکه با وجود پیشرفت‌های اخیر همچنان مـشکل درمان تومور باقی است شاید به‌دلیل تغییرات در بستر تومـور و عملکرد ایمیونوساپرسیو فـاکتورهـای محلـول در آن باشـد (۵و ۴). در سرطان سینه پاسخ‌هـای ایمنـی بیـشتر بـه طـرف

۱- دکترای تخصصی ایمونولوژی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
۲- دکترای تخصصی ایمونولوژی، دانشیار گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
۳- دکترای تخصصی ژنتیک، استادیار دانشگاه علوم پزشکی زنجان
۴- دکترای تخصصی ایمونولوژی، استاد گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
۵- دکترای تخصصی ایمونولوژی، مرکز تحقیقات بیماری‌های صعب العلاج، دانشگاه پزشکی توکیو- ژاپن

Th2 سوق داده می‌شود این در حالی است که برای مقابله با تومور بدن نیازمند پاسخ‌های Th1 می‌باشد (۸-۶). اخیرا مشاهده شده است که در محل تومور میزان ترشح درونی بعضی سیتوکاین‌ها در تعامل با سلول‌های توموری کاهش می‌یابد و منجر به تضعیف سیستم ایمنی می‌شود و این مساله منجر به گسترش تومور، متاستاز و بدخیم شدن تومور می‌گردد (۹). لذا از نظر تئوری به نظر می‌رسد که با انتقال ژن‌های سیتوکاین، تولید و ترشح آن در محل تومور و جایگزین کردن سیتوکاین به شکل هدفمند مستقیما و یا به‌طور غیرمستقیم می‌توان شرایط ایمنی در بستر تومور را به حالت اولیه هدایت کرد. شواهد بیانگر اثر بخشی این روش نوین در تعدادی از سرطان‌ها است (۱۰و۹). بعضی از سیتوکاین‌های خانواده اینترلوکین ۱۲(IL-12،IL-27, IL-23) برای تمایز TH0 به TH1 که سیستم ایمنی سلولی را با تولید سیتوکین‌های TH1 از قبیل IFN-gamma, IL-12 القای می‌کند، ضروری است. در مطالعات قبلی نقش IL-۱۲ (۱۲و۱۱) وIL-23 (۱۳) از سیتوکین‌های این خانواده در مهار تومور و هدایت پاسخ‌های ایمنی به سوی TH1 گزارش شده است. زمان زیادی از کشف سیتوکین‌های دیگر این خانواده مثل IL-27 و IL-35 (۱۷-۱۴) نمی‌گذرد و با وجود شناسایی ساختار آن‌ها با پیشرفت‌های اخیر عملکرد بیولوژیکی و مکانیسم‌های مولکولی این سیتوکاین‌ها هنوز ناشناخته مانده است (۱۸). اینترلوکین ۲۷ توسط طیف وسیعی از سلول‌ها تولید و ترشح می‌شود و بروی طیف وسیعی از سلول‌ها نیز گیرنده‌های آن بیان می‌شود. لذا بسته به نوع سیگنال ارسالی، سلول هدف، اعمال متنوعی را در سلول ها و بافت‌ها انجام می‌دهد (۱۹و ۱۸). IL-27 سیتوکاین هترودیمری است که از پروتئین‌های EBI3, P28 تشکیل شده و از طریق گیرنده‌های WSX-1=TCCR و GP130 عمل می‌کند (۲۲-۲۰). برای اعمال فعالیت ضد توموری هر دو زیر واحد IL-27 ضروری است چون با افزایش بیان تک تک زیر واحدها ماندگاری موش‌های مبتلا طولانی نشد. رسپتور IL-27 بر روی سطح سلول‌های اپی‌تلیال توموری پستان موش و سلول‌های اندوتلیال بیان می‌شوند (۲۳). اثر ضد تکثیری IL-27 همچنین بر روی سلول‌های نوروبلاستومای TBJ، سلول‌های توموری کلون (Colon 26) و سلول‌های گلایومای GL26 اثبات گردیده و نشان داده شده است که در این سلول‌ها، IL-27 از طریق فعال سازی لنفوسیت‌های وابسته به MHCI اثر آنتی‌توموری خود را القای می‌نماید (۲٤). همچنین نشان داده شد که اثر IL-27 بر روی گیرنده WSX-1 در مهار رشد تومور وابسته به عملکرد سلول‌های کشنده طبیعی (NK) Natural Killer Cell است (۲۳). اینکه آیا IL-27 بدون کمک سلول‌های ایمنی توانایی مهار سلول‌های سرطان پستان را دارا است یا نه تا الان گزارش نشده است. با توجه به عدم درمان قطعی بیماری سرطان پستان در بیش از ۴۰ درصد موارد و ناکارآمد بودن درمان‌های رایج و عدم انتقال داروهای شیمی درمانی در دوزهای بالا به محل تومور پستان به‌خاطر سمیت بالا (۲۵)، لزوم به‌کارگیری روش‌های جدید درمانی مثل ژن درمانی و ایمنی درمانی ضروری به نظر می‌رسد (۲٦).

از آنجایی که گیرنده‌ی اینترلوکین ۲۷ در سطح رده‌ی سلولی سرطان پستان بیان می‌شود (۲۳) و توان القای پاسخ‌های ایمنی برای حذف سلول‌های سرطانی را بر اساس مطالعات قبلی داراست (۲۸و ۲۷)، در این مطالعه اثرات پروتئین نوترکیب اینترلوکین ۲۷ بعد تولید بر روی رده‌ی سلول سرطانی در شرایط آزمایشگاهی از طریق کشت سلول بررسی شد.

روش بررسی

کشت سلول: رده‌ی سلولی تومور پستان 4T1 توسط آقای دکتر حسن استاد گروه ایمونولوژی دانشگاه تربیت مدرس برای پژوهش فراهم شد و بر طبق پروتکل ATCC کشت داده شد. به‌طور خلاصه، سلول‌ها به فلاسک

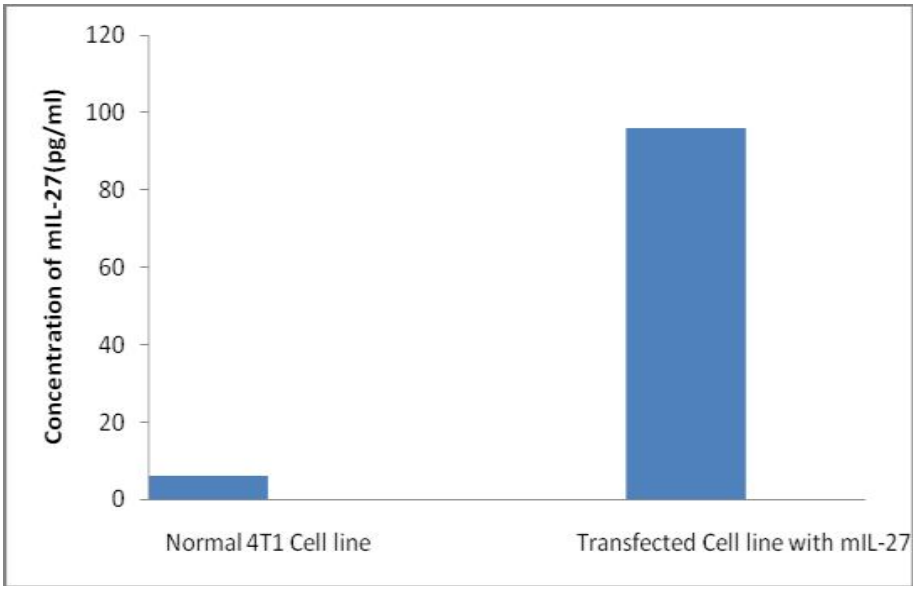
۲۵ سانتی‌متر مربعی انتقال داده شدند و پس از رشد در محیط کشت RPMI1640 پاساژ داده شدند. برای پاساژ سلول‌ها، ابتدا محیط کشت تخلیه شد و سلول‌ها با ۱۰ میلی‌لیتر از محلول PBS شستشو داده شدند. سپس، ۱ میلی‌لیتر تریپسین ۱x برای جدا شدن سلول‌ها از ته فلاسک اضافه شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت که حاوی سرم FBS است به آن اضافه گردید و در دور ۱۵۰۰ rpm برای ۳ دقیقه سانتریفیوژ و پلیت سلولی در ته فالکون جمع و محیط کشت رویی دور ریخته شد و سلول‌ها به فلاسک‌های ۲۵ سانتی‌متر مربعی برای پاساژ منتقل شدند.

تهیه و تایید تولید MrIL-27 توسط لاین سلولی 4T1 به روش الایزا: پس از کلونینگ و تهیه‌ی ترانسفکت‌های دایمی تولید کننده‌ی IL-27، میزان تولید پروتئین بروش الایزا با استفاده از پروتکل eBioscience, USA اندازه‌گیری شد. برای افزایش حساسیت ایمونولوژیک جهت تشخیص مقدار در حد ۳ پیکوگرم در هر میلی‌لیتر (pg/ml) از انکوباسیون ۲٤ ساعته برای طراحی اولیه کیت استفاده گردید. نتایج با الایزا ریدر (Awareness Technology - Stat Fax 2100, USA) در طول موج ٤۵۰ نانومتر قرائت گردید.

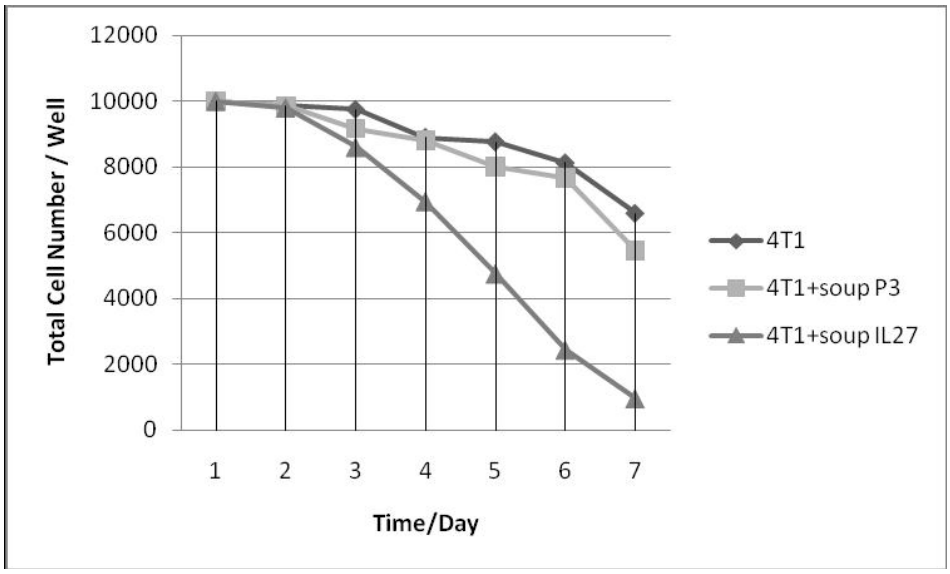
بررسی اثر آنتی پرولیفراتیو mrIL-27 بر روی کشت سلول 4T1: سلول‌ها بعد از کشت وقتی به تراکم ۷۰ تا ۹۰ درصد رسیدند با استفاده از تریپسین جدا و بعد از شمارش به تعداد ۱۰۰۰ سلول در هر چاهک و در ۳ پلیت ۲۴ خانه با اضافه کردن سوپ IL-27، سوپ پلاسمید خالی ترانسفکت شده در سلول 4T1 و محیط کشت عاری از هرگونه ماده افزودنی کشت داده شد. نسبت پروتئین (IL-27) و سوپ حاصل از کشت پلاسمید خالی، به محیط کشت ۱ به ٤ تنظیم شد. بعد از ٢٤ ساعت به مدت ۶ روز (در کل ۷ روز) به شکل triplicate تست قابلیت زیستی (Viability) برای هر دو گروه با استفاده از رنگ تری پان بلو انجام شد. شمارش سلولی با لام نئوبار انجام و از طریق محاسبه تعداد سلول‌های زنده و مرده به کل سلول محاسبه گردید.

یافته‌ها

در این مطالعه میزان تولید mrIL-27 سلول‌های ترانسفکت شده در مقایسه با سلول‌های 4T1 نرمال به‌طور معنی‌دار افزایش نشان داد (نمودار ۱).



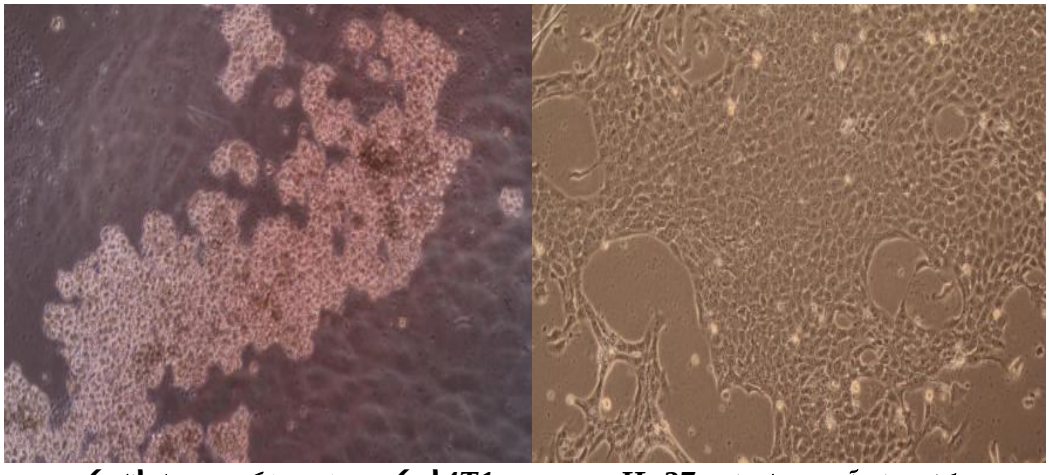
نمودار ۱: نتایج تولید mrIL-27 توسط سلول‌های ترانسفکت شده در مقایسه با سلول‌های سل لاین نرمال



نمودار ۲: اثر آنتی پرولیفراتیو mrIL-27 بر روی سلول 4T1
در مقایسه با گروه های کنترل میزان مرگ سلولی در مواجهه با IL-27 به طور معنی دار کاهش نشان می‌دهد (P<۰/۰۱)

نتایج سنجش پرولیفراسیون سلولی در مواجهه با mrIL-27 نیز بیانگر کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۱) تعداد سلول‌ها نسبت به گروه‌های کنترل می‌باشد (نمودار ۲). شکل ۱-الف سلول‌های 4T1 را نشان می‌دهد که در شرایط استاندارد کشت داده شده‌اند و بعد از هفت روز با وجود تغییرات در شکل، اندازه و کاهش قدرت چسبندگی به سطح پلیت کشت، بر عکس شکل ۱-ب به‌طور کامل از سطح پلیت کنده نشده و در کنار هم مجتمع نشده‌اند. تزریق زیر جلدی سلول‌ها تجمع یافته نیز بعد از تیمار با mrIL-27 به موش سینژنیک Balb/c ماده بعد از ۴۰ روز منجر به القای تومور نشد (یافته‌ها منتشر نشده است).

(الف) (ب)



شکل ۱: اثر آنتی پرولیفراتیو mrIL-27 بر روی 4T1 (ب) در مقایسه با گروه کنترل (الف)

تصاویر فوق بیانگر تغییرات در اندازه، شکل و فعالیت سلول‌های در معرض mrIL-27 در مقایسه با سلول‌های نرمال است. سلول‌های نرمال روند کاهشی طبیعی خود را همراه با تغییرات خفیف در اندازه و شکل و کاهش تدریجی ارتباط سلولی نشان می‌دهد.

بحث

یافته‌های مطالعه ما، اثر آنتی پرولیفراتیو IL-27 را بر روی سلول‌های مدل موشی تومور پستان(4T1) ، به صورت in vitro به‌خوبی نشان داد (P<۰/۰۱). یوشی‌موتو و همکارانش و نیز ناکایی و همکارانش اثر سیتوتوکسیک IL-27 را روی چندین رده‌ی سلولی ملانومای انسانی WSX-1 مثبت مشاهده کردند (۲۸، ۱۹).خواص ضد سرطانی IL-27 بر روی رده‌های سلولی سرطانی کولون (CT26)، نوروبلاستوما (TBJ) و ملانوما (B16F10)، همچنین بیان گیرنده‌ی IL-27R (WSX-1) در سلول‌های سرطان پستان، کولون، سرویکال، اسکواموس سل کارسینوما و سلول‌های لوسمی گزارش شده است (۲۳).

لیو و همکاران در سال ۲۰۱۲ برای اولین بار گزارش کردند که اتصال IL-27 به رسپتورش منجر به توقف سیکل سلولی و در نهایت مهار تکثیر سلول‌ها از طریق مکانیسم‌های زیر می‌شود: کاهش بیان سوروایوین (Survivin) و افزایش بیان P21، که هر دوی این پروتئین‌ها در القای آپوپتوزیس نقش کلیدی دارند (۲۹). لذا به نظر می‌رسد که IL-27 در این مطالعه نیز از طریق مهار سیکل سلولی توانسته رشد سلول‌های 4T1 را به‌طور کامل مهار کند چرا که سلول‌های خاصی در این شرایط اثر گذار نبودند. این نکته بسیار حایز اهمیت است که روش مناسب برای بررسی خواص آنتی‌پرولیفراتیو یک ماده بسته به نوع مطالعه انتخاب شود. برای تعیین خواص آنتی‌پرولیفراتیو IL-27، از روش تریپان بلو استفاده نمودیم که برای بررسی قابلیت زیستی سلول‌ها مناسب است. چرا که با استفاده از تریپان بلو ما قادر بودیم تمام سلول‌های موجود (هم سلول‌های تک لایه و هم سلول‌های جدا شده) را شمارش کنیم، ما از روش MTT استفاده نکردیم، چرا که روش MTT برای بررسی فعالیت تکثیری سلول‌های تک لایه‌ای است و برای بررسی سلول‌های جدا شده مناسب نمی‌باشد (۳۰). به‌خصوص اینکه این امکان وجود دارد که سلول‌های سرطانی داخل سلول‌های جدا شده وجود داشته باشند (۳۲-۳۰). استفاده از رنگ ما را قادر ساخت تا سلول‌های زنده را از سلول‌های مرده تشخیص دهیم و بهتر بتوانیم قابلیت زیستی و تکثیری سلول‌های در معرض IL-27 را محاسبه کنیم. مطالعات نشان می‌دهد که IL-27 نه تنها موجب مهار تومور اولیه بلکه مرحله‌ی متاستاز را نیز مهار می‌کند (۳۳). همچنین نتایج تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که سمیت IL-27 نسبت به سایر اعضای خانواده‌ی IL-12 مثل IL-12,IL-23 در مطالعات آزمایشگاهی و مدل حیوانی کمتر است. لذا در مقایسه با آنها کاندید مناسب‌تری برای ژن درمانی در جهت ارتقای ایمنی و سرکوب سرطان خواهد بود (۳۳،۳٤). مطالعات تکمیلی در خصوص خواص ضد تکثیری این سایتوکاین در کشت تومور و در مدل حیوانی برای اظهار نظر نهایی و استفاده‌های بعدی در کلینیک ضرورت دارد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان داد که IL-27 از طریق غیر وابسته به اعمال بیولوژیکی میزبان نیز قادر به مهار سلول توموری هست، از این رو استفاده از آن در ایمونوتراپی سرطان می‌تواند مفید باشد.

تقدیر و تشکر

از همکار گرامی آقای دکتر چاردولی عضو هیات علمی گروه فیزیک دانشگاه تحصیلات تکمیلی زنجان به دلیل تهیه‌ی تصاویر این مطالعه صمیمانه تشکر می‌گردد.

References

1- Bhattacharya D, Yusuf N. Expression of toll-like receptors on breast tumors: taking a toll on tumor microenvironment. *Int J Breast Cancer*. 2012; 2012: 716564.

2- Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics. 2012. *Ca-Cancer J Clin.* 2012; 62: 10-29.

3- Ahmedin J, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global Cancer Statistics. *CA Cancer J Clin.* 61: 69-90.

4- Jindal S, Borges VF. The emerging role of cytokines in breast cancer: from initiation to survivorship. *CML Breast Cancer*. 2011; 23: 113-26.

5- Wantable M, Oda J, Amarante M, Voltarelli C. Regulatory T cells and breast cancer: implications for immunopathogenesis. *Cancer Metastasis Rev.* 2010; 29: 569-79.

6- Fridman W, Pages F, Sautes-Fridman C, Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nature Rev Cancer*. 2012; 12: 298-306.

7- Krohn M, Listing M, Tjahjono G, et al. Depression, mood, stress, and Th1/Th2 immune balance in primary breast cancer patients undergoing classical massage therapy, *Support Care Cancer*. 2011; 19: 1303-11.

8- Mukhtar RA, Nseyo O, Campbell MJ, Esseman LJ. Tumor-associated macrophages in breast cancer as potential biomarkers for new treatments and diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn.* 2011; 11: 91-100.

9- Piperi C, Zisakis A, W. Lea R, Kalofoutis A. Role of cytokines in the regulation of glioma tumour growth and angiogenesis. *Am J Immunol.* 2005 1: 106-113.

10- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and molecular immunology. 7th Edition. 2012, Elsevier Saunders, US

11- Fenstermaker RA, Ciesielski MJ. Immunotherapeutic strategies for malignant glioma. *Cancer control.* 2004; 11: 181-91.

12- Ehtesham M, Samoto K, Kabos P, et al. Treatment of intracranial glioma with in situ interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha gene transfer. *Cancer Gene Ther.* 2002; 9: 925-34.

13- Hu J, Yuan X, Belladonna M, et al. Induction of potent antitumor immunity by intratumoral injection of interleukin 23–transduced dendritic cells. *Cancer Res.* 2006; 66: 8887.

14- Wozniak TM, Ryan AA, Triccas JA, Britton WJ. Plasmid interleukin-23 (IL-23), but not plasmid IL-27, enhances the protective efficacy of a DNA vaccine against *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Infect Immun.* 2006; 74: 557-65.

15- Kastelian RA, Hunter CA, Cua DJ. Discovery and biology of IL-23 and IL-27: related but functionally distinct regulators of inflammation. *Annu Rev Immunol.* 2007; 25: 221-42.

16- Zhu S, Lee DA, Li S. IL-12 and IL-27 sequential gene therapy via intramuscular electroporation delivery for eliminating distal aggressive tumors. *J Immunol*. 2010; 184: 2348-54.

17- Morishima N, Mizoguchi I, Okumura M, et al. A pivotal role for interleukin-27 in CD8+ T cell functions and generation of cytotoxic T lymphocytes. *J Biomed Biotechnol*. 2010; 2010: 605483.

18- Owaki T, Asakawa M, Kamiya S, et al. IL-27 suppressesVCD28-mediated [correction of medicated] IL-2 production through suppressor of cytokine signaling 3. *J Immunol*. 2006; 176: 2773-80.

19- Nagai H, Oniki S, Fujiwara S, et al. Antitumor activities of interleukin-27 on melanoma. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2010; 10: 41-6.

20- Pflanz S, Timans JC, Cheung J, et al. IL-27, a heterodimeric cytokine composed of EBI3 and p28 protein, induces proliferation of naive CD4(+) T cells. *Immunity*. 2002; 16: 779-90.

21- Villarino AV, Huang E, Hunter CA. Understanding the pro- and anti-inflammatory properties of IL-27. *J Immunol*. 2004; 173: 715-20.

22- Coulomb-L'Herminé A, Larousserie F, Pflanz S, Bardel E, Kastelein RA, Devergne O. Expression of interleukin-27 by human trophoblast cells. *Placenta*. 2007; 28: 113340.

23- Dibra D, Cutrera1 JJ, Xia X, Birkenbach MP, Li S. Expression of WSX1 in tumors sensitizes IL27-signaling independent NK cell surveillance. *Cancer Res*. 2009; 69: 5505-13.

24- Yoshiyuki M, Yoshida H. Regulation of immune responses by interleukin-27. *Immunol Rev*. 2008; 226: 234-47.

25- Abaan OD, Criss WE. Gene therapy in human breast cancer. *Turk J Med Sci*. 2002; 32: 283-91.

26- King A, Selak MA, Gottlieb E. Succinate dehydrogenase and fumarate hydratase: linking mitochondrial dysfunction and cancer. *Oncogene*. 2006; 25*:* 4675-82.

27- Shimizu M, Shimamura M, Owaki T, et al. Antiangiogenic and antitumor activities of IL-27; *J Immunol*. 2006; 176: 7317-24.

28- Yoshimoto T, Morishima N, Mizoguchi I, et al. Antiproliferative activity of IL-27 on melanoma. *J Immunol*. 2008; 180: 6527-35.

29- Liu L, Meng J, Zhang C, et al. Effects on apoptosis and cell cycle arrest contribute to the antitumor responses of interleukin-27 mediated by retrovirus in human pancreatic carcinoma cells. *Oncol Rep*. 2012; 27: 1497-503.

30- Drewa T, Styczynski J, Szczepanek J. Is the cancer stem cell population "a player" in multi-drug resistance?*Acta Pol Pharm*. 2008; 65: 493-500.

31- Kloskowski T, Olkowska J, Nazlica A, Drewa T. The influence of ciprofloxacin on hamster ovarian cancer cell line CHO AA8. *Acta Pol Pharm*. 2010; 67: 345-9.

32- Esmaeilzadeh A, Ebtekar M, Biglari A, Hassan ZM. Influence of ciprofloxacin on glioma cell line GL26: a new application for an

old antibiotic. *Afr J Microbiol Res.* 2012; 6: 4891-96.

33- Jankowski M, Kopinski P, Goc A. Interleukin-27: biological properties and clinical application arch. *Immunol Ther Exp.* 2010; 58: 417-25.

34- Oniki S, Nagai H, Horikawa T, et al. Interleukin-23 and interleukin-27 exert quite different antitumor and vaccine effects on poorly immunogenic melanoma. *Cancer Res.* 2006; 66: 6395-404.

Anti-Proliferative Effect of rmIL-27 Protein on 4T1 Mouse Breast Cancer Cells as a Candidate for Cancer Immunotherapy

Esmaeilzadeh AR[1], Ebtekar M[1], Biglari AR[2], Hassan ZM[1], Yoshimoto T[3]

[1]Dept. of Immunology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University ,Tehran, Iran

[2]Dept. of Genetic and Molecular Medicine, Faculty of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

[3]Intractable Immune System Disease Research Center, Tokyo Medical University, Tokyo, Japan

Correspond Author: Ebtekar M, Dept. of Immunology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

E-mail: ebtekarm@modares.ac.ir

Received: 10 Nov 2012 **Accepted:** 16 Nov 2013

Background and Objective: Breast cancer, assumed as a difficult -to –treat disorder across the world, is the most common malignancy among women. Over decades, significant advances in breast cancer immunotherapy and tumor immune biology have been brought about. In vitro studies of the effect of various cytokines have been conducted in breast tumor. Among Interleukins, IL-27 -a novel cytokine- is associated with specific properties. Moreover, IL-27 contributes to the Th1 induction and also acts as a pro-inflammatory cytokine. The aim of this study was to evaluate the IL-27 anti-proliferative effects on 4T1 cell line in vitro.

Materials and Methods: In this study, 4T1 cells were cultured in RPMI1640. mIL-27 gene was cloned, cells were transfected and recombinant protein was produced. Then, anti-proliferative effect of IL-27 on 4T1 breast cancer cell line was evaluated.

Results: Our results indicated that IL-27 could suppress 4T1 cell proliferation significantly ($p<0/01$). Cell to cell interactions and also morphology of the cells were remarkably changed in comparison to control cells.

Conclusion: Our results showed that, IL-27 under in vitro conditions, could potentially suppress tumor without any essential cells and biologic factors of tumor matrix. Therefore, rmIL-27 may be a probable candidate protein as an antitumor agent, applicable to breast cancer immunotherapy.

Keywords: Recombinant murine, IL-27, Antiproliferative, Breast tumor, Immune therapy