Archive of SID

اثر مهارکنندگی **DNA** آزاد شده از سلول سرطانی میلوئید انسان **(HL-60)** بر روی تکثیر لنفوسیت‌های خون محیطی

محسن ابوالحسني(Ph.D.)* جن وي چيائو(Ph.D.) **

چکیده

سابقه و هدف: تا کنون چندین عامل پروتئینی مهارکننده سیستم ایمنی توسط سلول‌های سرطانی مختلف در محیط کشت، آزاد و خصوصیات آن‌ها مطالعه شده است. در این مقاله، DNA آزاد شده از سلول میلوئید انسان (HL-60) مورد مطالعه قرار گرفت و مشخص شد دارای فعالیت مهارکننده سیستم ایمنی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: سوپرناتانت کشت سلولی HL-60 پس از تغلیظ به ستون تعویض یونی DEAE–سفاروز CL-6B اضافه گردید و به کمک گرادیانت کلرور سدیم، فراکشن‌های مختلفی به دست آمد. فراکشن‌های مهارکننده سیستم ایمنی به کمک HPLC خالص گردید.

یافته ها: آزمایش‌ها نشان می‌دهند که تریپسین و RNase اثری روی فعالیت ضد تکثیر ندارد ولی DNase فعالیت ضد تکثیر را کاملاً از بین می‌برد. DNA با فعالیت مهارکنندگی غیرقابل برگشت تکثیر لنفوسیت‌ها، دو رشته بوده و وزن ملکولی آن بین ۰/٦ تا ۱/۵ کیلو باز می‌باشد. DNA ضد تکثیر، تغییری در تعداد سلول و زنده بودن آن‌ها نمی‌دهد و در نتیجه مسمومیت سلولی ایجاد نمی‌کند. آنالیز سیکل سلولی نشان می‌دهد که DNA، لنفوسیت‌های تحریک شده توسط میتوژن را در فاز G1 سیکل سلولی متوقف می‌نماید و مانع ورود آن‌ها به فاز S می‌شود.

استنتاج: علاوه بر فاکتورهای پروتئینی، DNA نیز می‌تواند سیستم ایمنی را مهار کند. همچنین، DNA تکثیر بعضی از سلول‌های سرطانی را نیزمتوقف می‌نماید. این DNA ممکن است در آینده به عنوان شاخصی درتشخیص سرطان به‌کار رود.

واژه هاي كليدي: دی.ان.ای، سلول اچ ال لنفوسیت‌ها- ناهنجاری‌ها، لوسمی میلوئید حاد، ایمونوسپرسیو

مقدمه

مطالعات متعددی در مورد شناسایی و تعیین خصوصیات عوامل مهارکننده سیستم ایمنی حاصل از سلول‌های سرطانی انجام گرفته است (۱). بیش‌تر این عوامل، خود به خود یا پس از تحریک با مولکول‌های مختلف تولید می‌شوند (۲تا۷). این عوامل که قادر هستند تکثیر لنفوسیت‌های فعال شده را مهار کنند، اغلب پلی‌پپتید بوده و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مختلفی دارند. مطالعات مختلفی نشان داده است که پروکاریوت‌ها و همچنین سلول‌های جانوران عالی‌تر قادر هستند خود به خود DNA را در محیط کشت آزاد

* دپارتمان ایمونولوژی انستیتو پاستور ایران ✉ تهران: خیابان پاستور- شماره ٦٩- کدپستی ١٣١٦٤

** دپارتمان پزشکی کالج پزشکی نیویورک، والهالا، نیویورک

تاریخ دریافت: ۸۲/۷/۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۲/۱۰/۳ تاریخ تصویب: ۸۳/۲/۱٦

www.SID.ir

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

Archive of SID

کنند. این DNA ممکن است متعاقباً به غشاء سلول متصل شود (۸تا۱۲). DNA در سطح بیش‌تر سلول‌های سرطانی، سلول‌های T بعضی از گونه‌ها و سلول‌های ترانسفرم شده، شناسایی شده است (۱۳،۱٤). عمل DNA آزاد شده و اثرات آن بر روی سیستم ایمنی به خوبی شناخته نشده است، ولی ممکن است نقشی در ارتباط سلول به سلول داشته باشد(۱۱).

سلول‌های طحال موش لوکمیک AKR قادر است پاسخ‌های آنتی‌بادی موش AKR نرمال را علیه گلبول قرمز گوسفند مهار کند و این فعالیت به هضم آنزیمی DNase حساس می‌باشد (۱۵، ۱٦).

گرچه سلول سرطانی پرومیلوسیتیک انسان HL-60 یک پروتئین ٦٦ کیلو دالتونی با فعالیت مهارکننده سیستم ایمنی در محیط کشت تولید می‌کند(۱۷) در مورد آزاد شدن DNA توسط HL-60 و اثرات آن بر روی سیستم ایمنی گزارشی وجود ندارد. در این مقاله، برای مطالعه اثر DNA آزاد شده از سلول HL-60 و نقش آن بر روی سیستم ایمنی از سوپرناتانت کشت سلولی استفاده شده و خصوصیات آن مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

لاین‌های سلولی: رده سرطانی مایلوئید انسان HL-60 در محیط کشت RPMI-1640 بدون سرم، حاوی انسولین، ترانسفرین و سلینیوم کشت داده شد (۱۸). محیط کشت سلول‌ها که فاقد مایکوپلاسما بود هر سه روز عوض و سوپرناتانت آن‌ها پس از سانتریفیوژ در g× ۵۰۰ در ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. همچنین، سلول‌های استئوسارکوما (TE81)، کارسینومای پستان (MCF-7) و لاین سلولی فیبروبلاست موش (3T3) که به همین نحو کشت داده شدند. کلیه سلول‌ها از ATCC (American Culture Collection, Rockville, MD) تهیه شدند. سلول سرطانی پروستات (JCA-1) و سلول کارسینومای penile (KU-8) (۱۹-۲۰) در محیط RPM1 حاوی ۱۵درصد FCS کشت داده شدند.

جدا کردن DNA آزاد شده از سوپرناتانت کشت سلول: سوپرناتانت کشت سلولی HL-60 پس از تغلیظ، در بافر ۰/۰۱ مولار تریس pH ۸ دیالیز شد و به ستون تعویض یونی DEAE– سفاروز CL-6B شرکت فارماسیا (۱٦ × ٦/۵ سانتیمتر) اضافه گردید. ستون را با همان بافر شسته و سپس با گرادیانت مرحله به مرحله۰/۰۱ تا یک مولار نمک طعام فراکشن‌های ۵ میلی لیتری جمع آوری شد که پس از تغلیظ و استریل شدن با فیلتر ۰/۲۵ میکرون مورد آزمایش ضد تکثیر قرار گرفتند. فراکشن‌هایی که فعالیت ضد تکثیر داشتند و در یک ناحیه بودند مخلوط و به کمک HPLC و ستون Gen-Pak خالص گردید. بافرهای بکار رفته در HPLC شامل(A) ۲۵ میلی‌مولار تریس، یک میلی مولار EDTA، pH ۸ و (B) یک مولار NaCl می باشد. غلظت DNA با جذب در ۲٦۰ نانومتر تعیین گردید. فراکشن‌های حاصل از HPLC در آگارز ۱ درصد الکتروفورز و به‌وسیله اتیدیوم بروماید شناسایی شدند. DNA فاژ لمبدا هضم شده توسط آنزیم BstEII به عنوان شاخص استاندارد استفاده شد.

آزمایش ضد تکثیر لنفوسیت: لنفوسیت‌های خون محیطی فرد نرمال به وسیله سانتریفیوژ فایکول-هایپک جدا شد(۲) و به مقدار $۱۰^{۵} \times ۳/۳$ سلول در میلی لیتر RPMI حاوی ۱۵ درصد FCS به دیش ۹٦ خانه‌ای اضافه گردید. لنفوسیت‌ها با PHA ۷۰ µg/ml یا ConA ٦ µg/ml تحریک شدند(۲) و غلظت‌های مختلف سوپرناتانت(بسته به نوع آزمایش) به آن‌ها اضافه گردید. پس ازسه روزکشت در۳۷ درجه، سلول‌ها با ۲/۳ µg/ml سوپرناتانت تایمیدین [^{3}H] علامت‌دار شدند و پس از ٤ ساعت رادیواکتیو وارد شده در DNA اندازه‌گیری شد.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

www.SID.ir

Archive of SID

آزمایش ضد تکثیر روی سلول‌های سرطانی نیز به همین صورت انجام گرفت ولی از ۲۵ میکروگرم درمیلی‌لیترDNA استفاده‌شد ومقدار سلول‌های به کار رفته در جدول شماره ۱ ذکر شده است. درصد توقف تکثیر از فومول زیر به دست آمد:

$$\% \text{ Suppression} = (1- \frac{\text{Sample CPM}}{\text{Control CPM}}) \times 100$$

جدول شماره۱: اثر DNA در رشد لاین‌های سلولی مختلف

لاین سلولی	سلول در میلی لیتر (×۱۰۰۰)	CPM		درصد توقف رشد
		-DNA	+DNA	
KU8	۱۰۰	۷۶۷۰۰	۵۵۰۰	۹۳
TE81	۱۵	۱۱۰۴۸	۱۱۲۷	۸۸
MCF-7	۱۰۰	۳۵۰۰۰	۸۶۰۰	۷۵
3T3	۵۰	۶۳۰۰۰	۵۴۵۰۰	۱۴
JcA-1	۵۰	۱۲۲۰۰	۱۲۲۲۰	۰
HL-60	۱۵	۲۵۵۰۰	۲۵۲۰۰	۰

سلول‌ها در حضور DNA (۲۵ µg/ml) یا عدم حضـور آن به مـدت ۳ روز کشت داده شـد. نتایـج، میانگین سه بار تکرار است.

الکتروفورز: SDS-PAGE در ژل ۱۰درصد انجام و سپس با رنگ کماسی بلو ونقره رنگ‌آمیزی شد. ژل رنگ‌نشده به قطعات کوچکی تقسیم و DNA هر قطعه جدا و علیه RPMI دیالیز و به کمک فیلتر ۰/۲۵ میکرون استریل شد و برای آزمایش ضد تکثیر به کار رفت. DNA در آگارز ۱درصد الکتروفورز شد و با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شد.

هضم آنزیمی: فراکشن‌ها تحت اثر ۰/۵ mg/ml تریپسین، ۰/٤ mg/ml آلفا کیموتریسین، ٦۲ µg/ml DNase یا RNase به مدت ۳۰ دقیقه در ۳۷ درجه هضم و سپس در آزمایش ضد تکثیر به کار رفتند.

آنالیز سیکل سلولی: لنفوسیت‌های تحریک شده با میتوژن در حضور ۲۵ µg/ml فراکشن ضد تکثیر یا در غیاب آن به مدت سه روز کشت داده و سپس پس از شستن با الکل ۷۰ درصد به مدت یک ساعت در حرارت ٤ درجه تثبیت شدند. سپس، سه میلی لیتر Rnase(۱mg/ml) اضافه و پس از یک ساعت در حرارت ۳۷ درجه، سلول‌ها شسته شدند. به سلول‌ها ml ۱ از µg/ml ۵۰ پروپیدیوم آیوداید اضافه و سیکل سلولی با فلوسایتومتری (Coulter, Epics-Profile II) مطالعه شد.

یـافـتـه هـا

تشخیص فاکتور ضد رشد: شکل ۱A پروفایل پروتئینی حاصل از ستون تعویض یونی را که با گرادیانت مرحله به مرحله و فراکشن‌های حاوی فاکتور ضد تکثیر را نشان می‌دهد. فاکتور ضد تکثیر در غلظت ۰/٦ مولار نمک طعام از ستون خارج می‌شود. ناحیه I شامل چندین فراکشن است که همگی فعالیت ضد تکثیر داشته و با هم مخلوط شدند. شکل ۱B درصد مهار تکثیر لنفوسیت‌ها را با غلظت‌های مختلف نشان می‌دهد. فاکتور ضد تکثیر با غلظت نهایی µg/ml ۵۰ می‌تواند تکثیر لنفوسیت‌های تحریک شده با PHA یا Con A را تا ۹۰درصد مهار نماید. این شکل همچنین نشان می‌دهد سوپرناتانت غلیظ شده کشت سلولی، دارای حداقل قدرت مهاری است. محیط کشت غلیظ شده، هیچ گونه فعالیت مهارکنندگی ندارد که نشان می‌دهد فعالیت ضد تکثیر از اجزاء محیط کشت حاصل نمی‌شود و صرفاً سلول آن را تولید می‌کند.

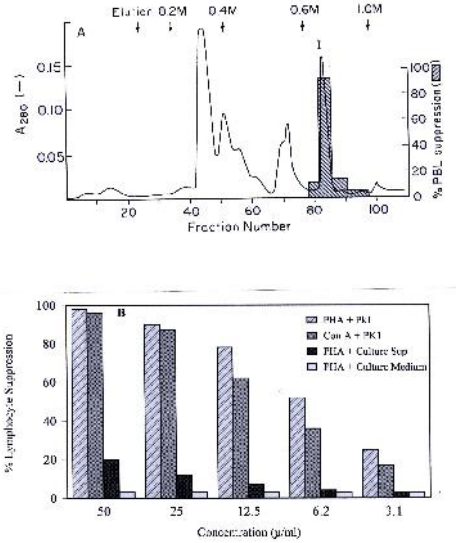
پس از الکتروفورز، با رنگ کماسی بلو هیچ‌گونه باندی مشاهده نشد ولی با رنگ نقره چندین باند با وزن مولکولی زیاد مشاهده گردید. مولکول‌های این ناحیه از ژل رنگ نشده، جدا گردید و در آزمایش ضد تکثیر مشاهده گردید که فعالیت ضد رشد دارند. جذب نوری این فراکشن با اسپکتروفوتومتر در ۲۲۰-۳۲۰ نانومتر اندازه گرفته شد که حداکثر جذب در ۲٦۰ نانومتر بود.

www.SID.ir

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

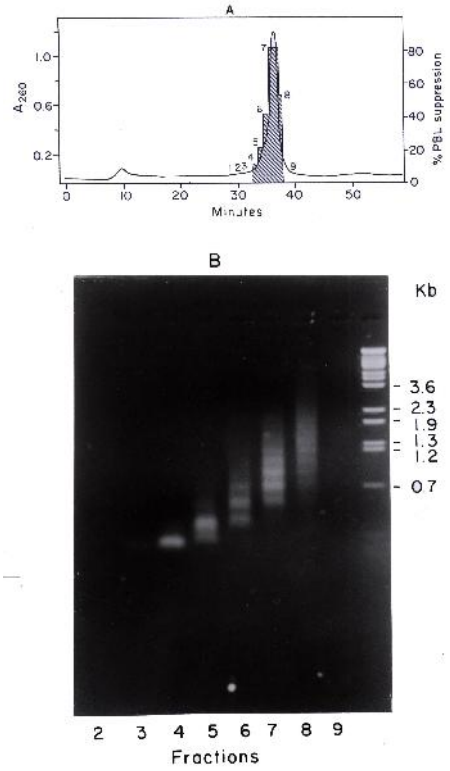
Archive of SID

به علاوه، میزان جذب در $^{۲۶۰}/_{۲۸۰}$ نانومتر برابر ۱/۸ بود که نشان دهنده وجود نوکلئیک اسید است نه پروتئین. فراکشن حاصل از ژل، با DNase هضم شد که حاصل این هضم آنزیمی از بین رفتن باندها بود و نشان‌دهنده حضور DNA در فراکشن است. ولی RNase اثری روی باندها نداشت.



شکل شماره ۱: کروماتوگرافی تعویض یونی سوپرناتانت تغلیظ شده کشت سلول HL-60 در ستون DEAE سفاروز CL-6B. شستشوی ستون با گرادیانت NaCl صورت گرفت. فراکشن ها با غلظت نهایی ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر همراه با لنفوسیت‌های خون محیطی که با PHA تحریک شده بودند به مدت سه روز کشت داده شد. فعالیت ضد رشد لنفوسیت ها در ناحیه (I) مشخص گردید. (B) فعالیت ضد رشد ماده حاصل از کروماتوگرافی تعویض یونی (فراکشن I) لنفوسیت های تحریک شده با PHA یا ConA را نشان می‌دهد که وابسته به دوز می‌باشد.

شکل ۲A جداسازی DNA را به کمک HPLC نشان می‌دهد. آزمایش ضد رشد نشان می‌دهد که حداکثر فعالیت ضد رشد در فراکشن‌های ۷ و ۸ می‌باشد که از ستون HPLC جدا شده. الکتروفورز این فراکشن ها در شکل ۲B نشان می‌دهد که فرکشن‌های DNA دارای اندازه‌های متفاوتی بوده ولی DNA با وزن مولکولی بین ۰/۶ تا ۱/۵کیلو باز دارای حداکثرفعالیت ضد رشد است.



شکل شماره ۲: خالص کردن فراکشن(I) حاصل از ستون تعویض یونی به کمک HPLC با ستون Gen-pak . شستشوی ستون با گرادیانت خطی 0-100% NaCl یک مولار در تریس۲۵ میلی‌مولار با pH, ۸ صورت گرفت. از هر فراکشن ۲۰ میکرولیتر برای آزمایش فعالیت ضد رشد به کار برده شد. (B) الکتروفورز فراکشن‌های حاصل از HPLC در ژل آگارز ۱٪. DNA لمبدا که توسط BstEII هضم شده بود به عنوان شاخص استاندارد به کار رفت.

خصوصیات فاکتور ضد رشد: آزمایش‌های انجام شده نشان می‌دهد که کشت لنفوسیت‌ها در حضور فاکتور ضد رشد، تغییری در تعداد سلول و میزان زنده بودن آن‌ها ایجاد نمی‌کند و نشان‌دهنده این‌است‌که مهار رشد سلول به علت مسمومیت سلولی DNA نمی‌باشد. فاکتور ضد رشد در حرارت ۱۰۰ درجه به مدت ۵ دقیقه

www.SID.ir
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

Archive of SID

(۹٤درصد توقف رشد) و در حضور آنزیم‌های تریپسین، کیموتریپسین و RNaseA مقاوم بوده (به ترتیب ۷۷درصد، ۷۱درصد و ۷۷درصد (با مقایسه با شاهد ۷٤درصد) فعالیت خود را حفظ می‌کند ولی DNase فعالیت ضد رشد آن را از بین می‌برد (۲۷درصد). این آزمایش‌ها نشان می‌دهند که فعالیت مهارکنندگی رشد در اثر DNA است نه RNA و پروتئین.

جدول شماره ۲ آنالیز سیکل سلولی لنفوسیت‌های تحریک شده با PHA را به مدت ۳ روز در حضور فاکتور ضد رشد نشان می‌دهد. DNA رشد لنفوسیت‌ها را در فاز G0-G1 متوقف می‌کند و مانع ورود آن‌ها به فاز S سیکل سلولی می‌شود.

جدول شماره ۲: آنالیز اثرDNA ضد رشد (مقدار ۲۵µg/ml) روی سیکل سلولی با فلوسایتومتری(نتایج،میانگین سه بارتکرار است).

شرایط	فازهای سیکل سلولی		
	G0-G1	S	G2+M
لنفوسیت	٪۹۸	٪۱/۵	٪۰/۵
لنفوسیت + PHA	٪۷۷/۷	٪۱۷/٤	٪٤/۹
لنفوسیت + DNA + PHA	٪۸٦/۸	٪۹/۸	٪۳/٤

جدول شماره ۱ نشان می‌دهد که لاین‌های سلولی مختلف نسبت به فعالیت ضد رشد DNA حساسیت متفاوتی دارند. رشد سلول HL-60، که DNA از آن‌ها مشتق شده، سلول سرطانی پروستات (JCA-1) و سلول فیبربلاست موش (3T3) تحت تاثیر فعالیت ضد رشد DNA نبوده ولی رشد سایر سلول‌ها متوقف می‌شود.

بحث

در این مطالعه یک عامل ضد تکثیر که توسط سلول سرطانی HL-60 در محیط کشت آزاد شده شناسایی و خصوصیات آن بررسی شد. این فراکشن قادر است رشد لنفوسیت‌های تحریک شده با میتوژن را که وابسته به دوز است، متوقف نماید. نسبت جذب نوری عامل ضد تکثیر در ۲٦۰ به ۲۸۰ نانومتر و الکتروفورز در آگارز ۱درصد در حضور پروتئاز، RNase و DNase نشان داد که فعالیت ضد رشد به آنزیم پروتئولتیک و RNase حساس نمی‌باشد ولی DNase فعالیت زیستی آن را کاملاً از بین می‌برد. جدا سازی فراکشن‌های مختلف DNA با HPLC نشان داد که مولکول DNA که اندازه آن بین ۰/٦ تا ۱/۵ کیلو باز باشد، فعالیت ضد رشد قوی دارد، ولی مولکول خارج از این محدوده، فعالیت ضد رشد قابل توجهی ندارد. نتایج فلوسیتومتری نشان می‌دهد که DNA رشد لنفوسیت‌ها را در فاز G1 سیکل سلولی متوقف می‌کند و مانع ورود سلول‌ها به فاز S می‌شود. اثر ضد رشد DNA غیرقابل برگشت می‌باشد؛ زیرا اگر پس از سه روز کشت، سلول‌ها شسته شوند و بدون عامل ضد رشد و فقط در حضور میتوژن دوباره فعال شوند، لنفوسیت‌ها به صورت سرکوب شده باقی می‌مانند که نشان می‌دهد فعالیت ضد رشد، غیر قابل برگشت است (نتایج ارائه نشده). همچنین، سلول‌های مختلف سرطانی نسبت به ماده ضد رشد حساسیت متفاوتی دارند که نشان می‌دهد فعالیت ضد رشد DNA یک سم عمومی برای سلول‌ها نمی‌باشد.

مطالعات محدودی که توسط سایر محققین صورت گرفته نشان می‌دهد که DNA ضد رشد ممکن است تکثیر لنفوسیت‌ها را از طریق اتصال به گیرنده اختصاصی DNA متوقف نماید. یک گیرنده اختصاصی DNA در سطح بیش‌تر لنفوسیت‌ها و منوسیت‌ها شناسایی شده که یک زنجیر پروتئینی با وزن مولکوی ۳۰/۰۰۰ دالتون است (۲۱، ۲۲) و واکنش DNA با لنفوسیت‌های انسان با واکنش لیگاند-رسپتور هماهنگی دارد(۲۱).

www.SID.ir

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

Archive of SID

مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که توقف رشد لنفوسیت‌ها ممکن است یک پدیده اختصاصی باشد که نیاز به واکنش DNA به گیرنده‌اش دارد. برعکس، DNA حاصل از سلول سرطانی ممکن است عمل ضد رشد غیراختصاصی برای لنفوسیت‌ها داشته باشد، زیرا وقتی DNA اسپرم ماهی آزاد را به کار می بریم، رشد لنفوسیت‌های خون محیطی را به‌طور غیر اختصاصی متوقف می کند (نتایج ارائه نشده).

مطالعات متعددی در مورد آزاد شدن DNA از سلول‌های زنده صورت گرفته است (۹،۱۰). باکتری‌ها، سلول قلب قورباغه(۸) و سلول‌های طحال خرگوش، خود به خودDNA را در محیط کشت آزاد می کنند. لنفوسیت‌های انسان بدون تحریک(۱۲) یا پس از تحریک با آنتی‌ژن یا میتوژن (۱۱-۹) مقدار زیادی DNA سنتز شده جدید در محیط کشت آزادمی کنند. بیشتر DNA آزاد شده دو رشته‌ای بوده و وزن مولکولی آن‌ها بین $۱۰^{۶} \times ۱۲$-۳ دالتون می‌باشد که حدود ۶۰درصد آن‌ها به غشاء سلول متصل می‌شود (۹، ۱۰). همچنین، معلوم شده است که تزریق لیپو پلی ساکاریدها به موش باعث آزاد شدن DNA در خون محیطی می‌شود که بعداً باعث تولید آنتی‌بادی علیه یک یا دو زنجیره DNA می‌شود (۲۳). DNA آزاد شده با DNA هسته یا میتوکندری فرق دارد و در فاز G1 ساخته می‌شود و نه فاز S در هسته(۲٤).

DNA ممکن است غیراختصاصی باشد و توسط سلول‌های آسیب دیده یا مرده آزاد شود. ولی به نظر می‌رسد که DNA خارج سلولی در سوپرناتانت کشت HL-60 توسط سلول زنده آزاد می‌شود نه از سلول مرده (۲۵). اگر تعداد مشخصی سلول HL-60 را به مدت ۱، ۲ یا ۳ روز کشت دهیم، مقدار تقریباً مساوی DNA (حدود ۵۱ میکروگرم) از سوپرناتانت کشت سلولی در روزهای مختلف حاصل می‌شود (۲۵). اگر برفرض، DNA از سلول‌های مرده حاصل می‌شد، انتظار می‌رفت که غلظت DNA خارج سلولی در عرض ۲ یا ۳ روز افزایش یابد.

به علاوه، همه سلول‌ها نمی‌توانند DNA آزاد نمایند. در محیط کشت سلول JCA-1، در شرایط یکسان با سلول HL-60، فراکشن DNA با اثر ضد رشد مشاهده نشد. همچنین، در سوپرناتانت کشت سلول T انسان اثری از DNA متوقف‌کننده رشد مشاهده نگردید (۲). در نتیجه، بعید به نظرمی‌رسد که اکثر DNA در سوپرناتانت کشت سلولی مربوط به سلول‌های مرده یا در حال مرگ باشد. ممکن است برای آزادشدن DNA، کنترل فعال در بعضی از سلول‌ها وجود داشته باشد که هنوز مکانیسم آن مشخص نشده است. مطالعات اخیر نشان می‌دهند که DNA آزاد شده سلول‌های سرطانی در مدفوع، ادرار و سرم، شاخص خوبی برای تشخیص سرطان کولون می‌باشند(۲٦تا۲۸). تومورها، DNA طویل آزاد می کنند ولی DNA سلول‌های غیر سرطانی کولون، هنگام مرگ سلولی، قطعه قطعه شده و به صورت قطعات کوچک وارد مدفوع می‌شود(۲٦تا۲۸). همچنین، DNA آزاد شده توسط تومورها در سرم، شاخص مناسبی برای تشخیص و پیشگیری سرطان ریه می‌باشد (۲۹). در مورد DNA آزاد شده توسط سلول سرطانی HL-60 به مطالعات بیش‌تری نیاز است تا مکانیسم عمل و خصوصیات آن به خوبی مشخص شود.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

www.SID.ir

Archive of SID

فهرست منابع

1. Halpern MT. Human nonspecific suppressive lymphokines. ***J.Clin. Immunol.*** 1991; 11: 1-12.
2. Abolhassani M, Muraki J, Chiao JW. Purification of a suppressor lymphokine(SL) from a human T-cell line. ***Immunological Investigations***. 1989; 18: 741-751.
3. Abolhassani M, Chiao JW. Purification and characterization of a human leukemia cell-derived immunosuppressive factor. ***Preparative Biochem***. 1991; 21: 25-33.
4. Sugimura K, Ueda Y, Takeda K, Fukuda S, Tsukahara K, Habu Y, Fujiwara H, Azuma I. A cytokine, lymphocyte blastogenesis inhibitory factor (LBIF), arrests mitogen-stimulated T lymphocytes at early G_1 phase with no influence on interleukin 2 production and interleukin 2 receptor light chain expression. ***Eur. J. Immunol.*** 1989; 19: 1357-1364.
5. Ebert EC, Roberts AI, O'Connell SM, Robertson FM, Nagase H. Characterization of an immunosuppressive factor derived from colon cancer cells. ***J. Immunol***. 1987; 138: 2161-2168.
6. Roth JA, Grimm EA, Osborne BA, Putnam JB, Darrell JR, Davidson D, Ames, RS. Suppressive immunoregulatory factors produced by tumors. ***Lymphokine Res***. 1983; 2: 67-73.
7. Santoli D, Tweardy DJ, Ferrero D, Kreider BL, Rovera G. A suppressor lymphokine produced by human T leukemia cell lines; partial characterization and spectrum of activity against normal and malignant hemopoietic cells. ***J. Exp. Med***. 1986; 163: 18-40.
8. Stroun M, Anker P. *In vitro* synthesis of DNA spontaneously released by bacteria or frog auricles. ***Biochimie***. 1972; 54: 1443-1452.
9. Olsen I, Harris G. Uptake and release of DNA by lymphoid tissue and cells. ***Immunology***. 1974; 27:973-987.
10. Rogers JC, Boldt D, Kornfeld S, Skinner SA, Valeri C R. Excretion of deoxyribonucleic acid by lymphocytes stimulated with phytohemagglutinin or antigen. ***Proc. Nat. Acad. Sci. USA***. 1972; 69:1685-1689.
11. Boldt DH, MacDermott RP, Speckart SF, Nash GS. Excretion of DNA by purified human lymphocyte subpopulations. ***J. Immunol.*** 1977; 118: 1495-1498.
12. Anker P, Stroun M, Maurice MA. Spontaneous release of DNA by human blood lymphocytes as shown in an *in vitro* system. ***Cancer Res.*** 1975; 35: 2375-2382.
13. Wickelgren I. DNA's extended domain: Sightings of cell-surface DNA turn ***scientific orthodoxy inside out. Science News.*** 1989; 136: 234-237.
14. Aggarwal SK, Wagner RW, McAllister PK, Rosenberg B. Cell-surface-associated nucleic acid in

www.SID.ir

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

Archive of SID

tumorigenic cells made visible with platinum-pyrimidine complexes by electron microscopy. ***Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*** 1975; 72: 928-932.

15. Russell JL, Golub ES. Leukemia in AKR mice: A defined suppressor cell population expressing membrane-associated ***DNA. Immunology***. 1978; 75: 6211-6214.
16. Russell JL, Golub ES. Cell surface DNA in immunosuppression in AKR leukemia. ***J. Immunol.*** 1980; 125: 2328-2333.
17. Collins SJ, Gallo RC, Gallagher RE. Continuous growth and differentiation of human myeloid leukemic cells in suspension culture. ***Nature***. 1977; 270: 347-349.
18. Breitman TR, Collins SJ, Keene BR. Replacement of serum by insulin and transferrin supports growth and differentiation of the human promyelocytic cell line, HL60. ***Exp. Cell. Res.*** 1980; 126:494-498.
19. Muraki J, Addonizio JC, Choudhury MS, Fischer J, Eshghi M, Davidian MM, Shapiro LR, Wilmot PL, Nagamatsu GR, Chiao JW. Establishment of new human prostatic cancer cell line (JCA-1). ***Urology***. 1990; 36: 79-84.
20. Tsukamoto T. Establishment and characterization of a cell line (KU-8) from squamous cell carcinoma of the penis. ***Keio J. Med***. 1989; 38: 277-293.
21. Bennett RM, Gabor GT, Merritt MM. DNA binding to human leukocytes: Evidence for a receptor-mediated association, internalization, and degradation of DNA. J. ***Clin. Invest.*** 1985; 76: 2182-2190.
22. Bennett RM, Hefeneider SH, Bakke A, Merritt M,Smith CA,Mourich D, Heinrich MC. The production and characterization of murine monoclonal antibodies to a DNA receptor on human leukocytes. ***J. Immunol***. 1988; 140: 2937-2942.
23. Fournie GJ, Lambert PH, Miescher PA. Release of DNA in circulating blood and induction of anti-DNA antibodies after injection of bacterial lipopolysaccharides. ***J. Exp. Med.*** 1974; 140: 1189-1206.
24. Lerner RA, Meinke W, Goldstein DA. Membrane-associated DNA in the cytoplasm of diploid human lymphocytes. ***Proc. Nat. Acad. Sci. USA***. 1971; 68: 1212-1216.
25. Abolhassani M, Tillotson JK, and Chiao JW. Characterization of the release of DNA by a human leukemia cell line HL-60. Int. J. ***Oncology*** 1994; 4: 417-421.
26. Steinberg D. Detecting tumors from shed DNA. ***The Scientis*** 2001; 15 1-5.
27. Ahlquist DA.Colorectal cancer screening by detection of altered human DNA in stool: feasibility of a multitarget assay panel. ***Gastrienterology*** 2000; 1219-1227.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

www.SID.ir

Archive of SID

28. Jen J, et al. An overview on the isolation and analysis of circulating tumor DNA in plasma and serum. ***Annal. NY. Acad. Sci.*** 2000; 906: 8-12.

29. Ziegler A,Zangemeister-Wittke U, Stahel RA. Circulating DNA: a new diagnostic gold mine? ***Cancer Treat. Rev.*** 2002; 28: 255-271.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

www.SID.ir