

لاین های کارسینوما پروستات انسان (DU-145, PC3 و LNCap)، همچنین سلولهای سرطانی خون انسان (HL-60)، سلولهای T لیمفوما (Hut-78) و لاین های ادنوکارسینوما ی انسانی از جمله سلولهای سرطانی دهانه رحم (C-33A)، تخمدان (NIH-OVCAR-3)، پستان (MDA-MB-231) و سلولهای فیروبلاست موش (3T3) از کمپانی (Type Culture Collection American) خریداری گردید. سلول سرطانی پروستات انسان (JCA-1) از دکتر موراکی (24) گرفته شد. این سلولها در محیط RPMI-1640 حاوی 10% سرم جنین گاوی (FCS) همراه با آنتی بیوتیک پنسیلین (100 واحد در میلی لیتر) و استریتومایسین (100 میکروگرم در میلی لیتر) کشت داده شدند. سلولها با کیت کمپانی Gen-Probe (ساندیه گو، آمریکا) تست شدند و همه فاقد مایکوپلازما سم بودند. برای جمع آوری سوپرناتانت کشت سلولی، سلولها را 72 ساعت در 37 درجه سانتیگراد کشت داده و سوپرناتانت را بکمک سانتریفیوژ (15 دقیقه در 400xg) جدا کرده و سپس با فیلتر 0/25 میکرومتر صاف و برای تست توقف رشد سلولی بکار برده شدند.

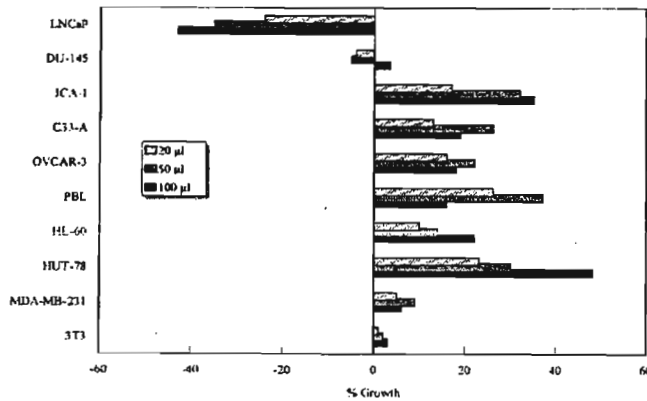
تست رشد سلولی (cell proliferation assay) :

$4/5 \times 10^4$ سلول در میلی لیتر را در خانه های دیش 96 خانه ای کشت داده و سوپرناتانت را تا حجم نهانی 200 میکرولیتر به آنها اضافه شدند. سلولها را 48 ساعت در 37 درجه سانتیگراد کشت داده و در 4 ساعت آخر کشت مقدار 2 میکروکوری در میلی لیتر تایمیدین مارک [3H] به آنها اضافه شد. سلولها را به کمک تریپسین-EDTA از دیش جدا نموده و تایمیدین مارک وارد شده در DNA سلول با scintillation counter اندازه گرفته شد.

آنتی بادیهای خنثی کننده سایتوکاین ها:

EGF، $TGF-\beta_{1,2,3}$ و آنتی بادیهای اختصاصی علیه $TGF-\beta_{1,2,3}$ ، $IL-1$ ، $IL-2$ ، $IL-3$ ، $IL-4$ ، $IL-6$ ، $IL-7$ ، $IL-8$ ، $IL-10$ ، $IL-12$ ، $IL-13$ ، $IL-15$ ، $IL-17$ ، $IL-18$ ، $IL-19$ ، $IL-20$ ، $IL-21$ ، $IL-22$ ، $IL-23$ ، $IL-24$ ، $IL-25$ ، $IL-26$ ، $IL-27$ ، $IL-28$ ، $IL-29$ ، $IL-30$ ، $IL-31$ ، $IL-32$ ، $IL-33$ ، $IL-34$ ، $IL-35$ ، $IL-36$ ، $IL-37$ ، $IL-38$ ، $IL-39$ ، $IL-40$ ، $IL-41$ ، $IL-42$ ، $IL-43$ ، $IL-44$ ، $IL-45$ ، $IL-46$ ، $IL-47$ ، $IL-48$ ، $IL-49$ ، $IL-50$ ، $IL-51$ ، $IL-52$ ، $IL-53$ ، $IL-54$ ، $IL-55$ ، $IL-56$ ، $IL-57$ ، $IL-58$ ، $IL-59$ ، $IL-60$ ، $IL-61$ ، $IL-62$ ، $IL-63$ ، $IL-64$ ، $IL-65$ ، $IL-66$ ، $IL-67$ ، $IL-68$ ، $IL-69$ ، $IL-70$ ، $IL-71$ ، $IL-72$ ، $IL-73$ ، $IL-74$ ، $IL-75$ ، $IL-76$ ، $IL-77$ ، $IL-78$ ، $IL-79$ ، $IL-80$ ، $IL-81$ ، $IL-82$ ، $IL-83$ ، $IL-84$ ، $IL-85$ ، $IL-86$ ، $IL-87$ ، $IL-88$ ، $IL-89$ ، $IL-90$ ، $IL-91$ ، $IL-92$ ، $IL-93$ ، $IL-94$ ، $IL-95$ ، $IL-96$ ، $IL-97$ ، $IL-98$ ، $IL-99$ ، $IL-100$ ، $IL-101$ ، $IL-102$ ، $IL-103$ ، $IL-104$ ، $IL-105$ ، $IL-106$ ، $IL-107$ ، $IL-108$ ، $IL-109$ ، $IL-110$ ، $IL-111$ ، $IL-112$ ، $IL-113$ ، $IL-114$ ، $IL-115$ ، $IL-116$ ، $IL-117$ ، $IL-118$ ، $IL-119$ ، $IL-120$ ، $IL-121$ ، $IL-122$ ، $IL-123$ ، $IL-124$ ، $IL-125$ ، $IL-126$ ، $IL-127$ ، $IL-128$ ، $IL-129$ ، $IL-130$ ، $IL-131$ ، $IL-132$ ، $IL-133$ ، $IL-134$ ، $IL-135$ ، $IL-136$ ، $IL-137$ ، $IL-138$ ، $IL-139$ ، $IL-140$ ، $IL-141$ ، $IL-142$ ، $IL-143$ ، $IL-144$ ، $IL-145$ ، $IL-146$ ، $IL-147$ ، $IL-148$ ، $IL-149$ ، $IL-150$ ، $IL-151$ ، $IL-152$ ، $IL-153$ ، $IL-154$ ، $IL-155$ ، $IL-156$ ، $IL-157$ ، $IL-158$ ، $IL-159$ ، $IL-160$ ، $IL-161$ ، $IL-162$ ، $IL-163$ ، $IL-164$ ، $IL-165$ ، $IL-166$ ، $IL-167$ ، $IL-168$ ، $IL-169$ ، $IL-170$ ، $IL-171$ ، $IL-172$ ، $IL-173$ ، $IL-174$ ، $IL-175$ ، $IL-176$ ، $IL-177$ ، $IL-178$ ، $IL-179$ ، $IL-180$ ، $IL-181$ ، $IL-182$ ، $IL-183$ ، $IL-184$ ، $IL-185$ ، $IL-186$ ، $IL-187$ ، $IL-188$ ، $IL-189$ ، $IL-190$ ، $IL-191$ ، $IL-192$ ، $IL-193$ ، $IL-194$ ، $IL-195$ ، $IL-196$ ، $IL-197$ ، $IL-198$ ، $IL-199$ ، $IL-200$ ، $IL-201$ ، $IL-202$ ، $IL-203$ ، $IL-204$ ، $IL-205$ ، $IL-206$ ، $IL-207$ ، $IL-208$ ، $IL-209$ ، $IL-210$ ، $IL-211$ ، $IL-212$ ، $IL-213$ ، $IL-214$ ، $IL-215$ ، $IL-216$ ، $IL-217$ ، $IL-218$ ، $IL-219$ ، $IL-220$ ، $IL-221$ ، $IL-222$ ، $IL-223$ ، $IL-224$ ، $IL-225$ ، $IL-226$ ، $IL-227$ ، $IL-228$ ، $IL-229$ ، $IL-230$ ، $IL-231$ ، $IL-232$ ، $IL-233$ ، $IL-234$ ، $IL-235$ ، $IL-236$ ، $IL-237$ ، $IL-238$ ، $IL-239$ ، $IL-240$ ، $IL-241$ ، $IL-242$ ، $IL-243$ ، $IL-244$ ، $IL-245$ ، $IL-246$ ، $IL-247$ ، $IL-248$ ، $IL-249$ ، $IL-250$ ، $IL-251$ ، $IL-252$ ، $IL-253$ ، $IL-254$ ، $IL-255$ ، $IL-256$ ، $IL-257$ ، $IL-258$ ، $IL-259$ ، $IL-260$ ، $IL-261$ ، $IL-262$ ، $IL-263$ ، $IL-264$ ، $IL-265$ ، $IL-266$ ، $IL-267$ ، $IL-268$ ، $IL-269$ ، $IL-270$ ، $IL-271$ ، $IL-272$ ، $IL-273$ ، $IL-274$ ، $IL-275$ ، $IL-276$ ، $IL-277$ ، $IL-278$ ، $IL-279$ ، $IL-280$ ، $IL-281$ ، $IL-282$ ، $IL-283$ ، $IL-284$ ، $IL-285$ ، $IL-286$ ، $IL-287$ ، $IL-288$ ، $IL-289$ ، $IL-290$ ، $IL-291$ ، $IL-292$ ، $IL-293$ ، $IL-294$ ، $IL-295$ ، $IL-296$ ، $IL-297$ ، $IL-298$ ، $IL-299$ ، $IL-300$ ، $IL-301$ ، $IL-302$ ، $IL-303$ ، $IL-304$ ، $IL-305$ ، $IL-306$ ، $IL-307$ ، $IL-308$ ، $IL-309$ ، $IL-310$ ، $IL-311$ ، $IL-312$ ، $IL-313$ ، $IL-314$ ، $IL-315$ ، $IL-316$ ، $IL-317$ ، $IL-318$ ، $IL-319$ ، $IL-320$ ، $IL-321$ ، $IL-322$ ، $IL-323$ ، $IL-324$ ، $IL-325$ ، $IL-326$ ، $IL-327$ ، $IL-328$ ، $IL-329$ ، $IL-330$ ، $IL-331$ ، $IL-332$ ، $IL-333$ ، $IL-334$ ، $IL-335$ ، $IL-336$ ، $IL-337$ ، $IL-338$ ، $IL-339$ ، $IL-340$ ، $IL-341$ ، $IL-342$ ، $IL-343$ ، $IL-344$ ، $IL-345$ ، $IL-346$ ، $IL-347$ ، $IL-348$ ، $IL-349$ ، $IL-350$ ، $IL-351$ ، $IL-352$ ، $IL-353$ ، $IL-354$ ، $IL-355$ ، $IL-356$ ، $IL-357$ ، $IL-358$ ، $IL-359$ ، $IL-360$ ، $IL-361$ ، $IL-362$ ، $IL-363$ ، $IL-364$ ، $IL-365$ ، $IL-366$ ، $IL-367$ ، $IL-368$ ، $IL-369$ ، $IL-370$ ، $IL-371$ ، $IL-372$ ، $IL-373$ ، $IL-374$ ، $IL-375$ ، $IL-376$ ، $IL-377$ ، $IL-378$ ، $IL-379$ ، $IL-380$ ، $IL-381$ ، $IL-382$ ، $IL-383$ ، $IL-384$ ، $IL-385$ ، $IL-386$ ، $IL-387$ ، $IL-388$ ، $IL-389$ ، $IL-390$ ، $IL-391$ ، $IL-392$ ، $IL-393$ ، $IL-394$ ، $IL-395$ ، $IL-396$ ، $IL-397$ ، $IL-398$ ، $IL-399$ ، $IL-400$ ، $IL-401$ ، $IL-402$ ، $IL-403$ ، $IL-404$ ، $IL-405$ ، $IL-406$ ، $IL-407$ ، $IL-408$ ، $IL-409$ ، $IL-410$ ، $IL-411$ ، $IL-412$ ، $IL-413$ ، $IL-414$ ، $IL-415$ ، $IL-416$ ، $IL-417$ ، $IL-418$ ، $IL-419$ ، $IL-420$ ، $IL-421$ ، $IL-422$ ، $IL-423$ ، $IL-424$ ، $IL-425$ ، $IL-426$ ، $IL-427$ ، $IL-428$ ، $IL-429$ ، $IL-430$ ، $IL-431$ ، $IL-432$ ، $IL-433$ ، $IL-434$ ، $IL-435$ ، $IL-436$ ، $IL-437$ ، $IL-438$ ، $IL-439$ ، $IL-440$ ، $IL-441$ ، $IL-442$ ، $IL-443$ ، $IL-444$ ، $IL-445$ ، $IL-446$ ، $IL-447$ ، $IL-448$ ، $IL-449$ ، $IL-450$ ، $IL-451$ ، $IL-452$ ، $IL-453$ ، $IL-454$ ، $IL-455$ ، $IL-456$ ، $IL-457$ ، $IL-458$ ، $IL-459$ ، $IL-460$ ، $IL-461$ ، $IL-462$ ، $IL-463$ ، $IL-464$ ، $IL-465$ ، $IL-466$ ، $IL-467$ ، $IL-468$ ، $IL-469$ ، $IL-470$ ، $IL-471$ ، $IL-472$ ، $IL-473$ ، $IL-474$ ، $IL-475$ ، $IL-476$ ، $IL-477$ ، $IL-478$ ، $IL-479$ ، $IL-480$ ، $IL-481$ ، $IL-482$ ، $IL-483$ ، $IL-484$ ، $IL-485$ ، $IL-486$ ، $IL-487$ ، $IL-488$ ، $IL-489$ ، $IL-490$ ، $IL-491$ ، $IL-492$ ، $IL-493$ ، $IL-494$ ، $IL-495$ ، $IL-496$ ، $IL-497$ ، $IL-498$ ، $IL-499$ ، $IL-500$ ، $IL-501$ ، $IL-502$ ، $IL-503$ ، $IL-504$ ، $IL-505$ ، $IL-506$ ، $IL-507$ ، $IL-508$ ، $IL-509$ ، $IL-510$ ، $IL-511$ ، $IL-512$ ، $IL-513$ ، $IL-514$ ، $IL-515$ ، $IL-516$ ، $IL-517$ ، $IL-518$ ، $IL-519$ ، $IL-520$ ، $IL-521$ ، $IL-522$ ، $IL-523$ ، $IL-524$ ، $IL-525$ ، $IL-526$ ، $IL-527$ ، $IL-528$ ، $IL-529$ ، $IL-530$ ، $IL-531$ ، $IL-532$ ، $IL-533$ ، $IL-534$ ، $IL-535$ ، $IL-536$ ، $IL-537$ ، $IL-538$ ، $IL-539$ ، $IL-540$ ، $IL-541$ ، $IL-542$ ، $IL-543$ ، $IL-544$ ، $IL-545$ ، $IL-546$ ، $IL-547$ ، $IL-548$ ، $IL-549$ ، $IL-550$ ، $IL-551$ ، $IL-552$ ، $IL-553$ ، $IL-554$ ، $IL-555$ ، $IL-556$ ، $IL-557$ ، $IL-558$ ، $IL-559$ ، $IL-560$ ، $IL-561$ ، $IL-562$ ، $IL-563$ ، $IL-564$ ، $IL-565$ ، $IL-566$ ، $IL-567$ ، $IL-568$ ، $IL-569$ ، $IL-570$ ، $IL-571$ ، $IL-572$ ، $IL-573$ ، $IL-574$ ، $IL-575$ ، $IL-576$ ، $IL-577$ ، $IL-578$ ، $IL-579$ ، $IL-580$ ، $IL-581$ ، $IL-582$ ، $IL-583$ ، $IL-584$ ، $IL-585$ ، $IL-586$ ، $IL-587$ ، $IL-588$ ، $IL-589$ ، $IL-590$ ، $IL-591$ ، $IL-592$ ، $IL-593$ ، $IL-594$ ، $IL-595$ ، $IL-596$ ، $IL-597$ ، $IL-598$ ، $IL-599$ ، $IL-600$ ، $IL-601$ ، $IL-602$ ، $IL-603$ ، $IL-604$ ، $IL-605$ ، $IL-606$ ، $IL-607$ ، $IL-608$ ، $IL-609$ ، $IL-610$ ، $IL-611$ ، $IL-612$ ، $IL-613$ ، $IL-614$ ، $IL-615$ ، $IL-616$ ، $IL-617$ ، $IL-618$ ، $IL-619$ ، $IL-620$ ، $IL-621$ ، $IL-622$ ، $IL-623$ ، $IL-624$ ، $IL-625$ ، $IL-626$ ، $IL-627$ ، $IL-628$ ، $IL-629$ ، $IL-630$ ، $IL-631$ ، $IL-632$ ، $IL-633$ ، $IL-634$ ، $IL-635$ ، $IL-636$ ، $IL-637$ ، $IL-638$ ، $IL-639$ ، $IL-640$ ، $IL-641$ ، $IL-642$ ، $IL-643$ ، $IL-644$ ، $IL-645$ ، $IL-646$ ، $IL-647$ ، $IL-648$ ، $IL-649$ ، $IL-650$ ، $IL-651$ ، $IL-652$ ، $IL-653$ ، $IL-654$ ، $IL-655$ ، $IL-656$ ، $IL-657$ ، $IL-658$ ، $IL-659$ ، $IL-660$ ، $IL-661$ ، $IL-662$ ، $IL-663$ ، $IL-664$ ، $IL-665$ ، $IL-666$ ، $IL-667$ ، $IL-668$ ، $IL-669$ ، $IL-670$ ، $IL-671$ ، $IL-672$ ، $IL-673$ ، $IL-674$ ، $IL-675$ ، $IL-676$ ، $IL-677$ ، $IL-678$ ، $IL-679$ ، $IL-680$ ، $IL-681$ ، $IL-682$ ، $IL-683$ ، $IL-684$ ، $IL-685$ ، $IL-686$ ، $IL-687$ ، $IL-688$ ، $IL-689$ ، $IL-690$ ، $IL-691$ ، $IL-692$ ، $IL-693$ ، $IL-694$ ، $IL-695$ ، $IL-696$ ، $IL-697$ ، $IL-698$ ، $IL-699$ ، $IL-700$ ، $IL-701$ ، $IL-702$ ، $IL-703$ ، $IL-704$ ، $IL-705$ ، $IL-706$ ، $IL-707$ ، $IL-708$ ، $IL-709$ ، $IL-710$ ، $IL-711$ ، $IL-712$ ، $IL-713$ ، $IL-714$ ، $IL-715$ ، $IL-716$ ، $IL-717$ ، $IL-718$ ، $IL-719$ ، $IL-720$ ، $IL-721$ ، $IL-722$ ، $IL-723$ ، $IL-724$ ، $IL-725$ ، $IL-726$ ، $IL-727$ ، $IL-728$ ، $IL-729$ ، $IL-730$ ، $IL-731$ ، $IL-732$ ، $IL-733$ ، $IL-734$ ، $IL-735$ ، $IL-736$ ، $IL-737$ ، $IL-738$ ، $IL-739$ ، $IL-740$ ، $IL-741$ ، $IL-742$ ، $IL-743$ ، $IL-744$ ، $IL-745$ ، $IL-746$ ، $IL-747$ ، $IL-748$ ، $IL-749$ ، $IL-750$ ، $IL-751$ ، $IL-752$ ، $IL-753$ ، $IL-754$ ، $IL-755$ ، $IL-756$ ، $IL-757$ ، $IL-758$ ، $IL-759$ ، $IL-760$ ، $IL-761$ ، $IL-762$ ، $IL-763$ ، $IL-764$ ، $IL-765$ ، $IL-766$ ، $IL-767$ ، $IL-768$ ، $IL-769$ ، $IL-770$ ، $IL-771$ ، $IL-772$ ، $IL-773$ ، $IL-774$ ، $IL-775$ ، $IL-776$ ، $IL-777$ ، $IL-778$ ، $IL-779$ ، $IL-780$ ، $IL-781$ ، $IL-782$ ، $IL-783$ ، $IL-784$ ، $IL-785$ ، $IL-786$ ، $IL-787$ ، $IL-788$ ، $IL-789$ ، $IL-790$ ، $IL-791$ ، $IL-792$ ، $IL-793$ ، $IL-794$ ، $IL-795$ ، $IL-796$ ، $IL-797$ ، $IL-798$ ، $IL-799$ ، $IL-800$ ، $IL-801$ ، $IL-802$ ، $IL-803$ ، $IL-804$ ، $IL-805$ ، $IL-806$ ، $IL-807$ ، $IL-808$ ، $IL-809$ ، $IL-810$ ، $IL-811$ ، $IL-812$ ، $IL-813$ ، $IL-814$ ، $IL-815$ ، $IL-816$ ، $IL-817$ ، $IL-818$ ، $IL-819$ ، $IL-820$ ، $IL-821$ ، $IL-822$ ، $IL-823$ ، $IL-824$ ، $IL-825$ ، $IL-826$ ، $IL-827$ ، $IL-828$ ، $IL-829$ ، $IL-830$ ، $IL-831$ ، $IL-832$ ، $IL-833$ ، $IL-834$ ، $IL-835$ ، $IL-836$ ، $IL-837$ ، $IL-838$ ، $IL-839$ ، $IL-840$ ، $IL-841$ ، $IL-842$ ، $IL-843$ ، $IL-844$ ، $IL-845$ ، $IL-846$ ، $IL-847$ ، $IL-848$ ، $IL-849$ ، $IL-850$ ، $IL-851$ ، $IL-852$ ، $IL-853$ ، $IL-854$ ، $IL-855$ ، $IL-856$ ، $IL-857$ ، $IL-858$ ، $IL-859$ ، $IL-860$ ، $IL-861$ ، $IL-862$ ، $IL-863$ ، $IL-864$ ، $IL-865$ ، $IL-866$ ، $IL-867$ ، $IL-868$ ، $IL-869$ ، $IL-870$ ، $IL-871$ ، $IL-872$ ، $IL-873$ ، $IL-874$ ، $IL-875$ ، $IL-876$ ، $IL-877$ ، $IL-878$ ، $IL-879$ ، $IL-880$ ، $IL-881$ ، $IL-882$ ، $IL-883$ ، $IL-884$ ، $IL-885$ ، $IL-886$ ، $IL-887$ ، $IL-888$ ، $IL-889$ ، $IL-890$ ، $IL-891$ ، $IL-892$ ، $IL-893$ ، $IL-894$ ، $IL-895$ ، $IL-896$ ، $IL-897$ ، $IL-898$ ، $IL-899$ ، $IL-900$ ، $IL-901$ ، $IL-902$ ، $IL-903$ ، $IL-904$ ، $IL-905$ ، $IL-906$ ، $IL-907$ ، $IL-908$ ، $IL-909$ ، $IL-910$ ، $IL-911$ ، $IL-912$ ، $IL-913$ ، $IL-914$ ، $IL-915$ ، $IL-916$ ، $IL-917$ ، $IL-918$ ، $IL-919$ ، $IL-920$ ، $IL-921$ ، $IL-922$ ، $IL-923$ ، $IL-924$ ، $IL-925$ ، $IL-926$ ، $IL-927$ ، $IL-928$ ، $IL-929$ ، $IL-930$ ، $IL-931$ ، $IL-932$ ، $IL-933$ ، $IL-934$ ، $IL-935$ ، $IL-936$ ، $IL-937$ ، $IL-938$ ، $IL-939$ ، $IL-940$ ، $IL-941$ ، $IL-942$ ، $IL-943$ ، $IL-944$ ، $IL-945$ ، $IL-946$ ، $IL-947$ ، $IL-948$ ، $IL-949$ ، $IL-950$ ، $IL-951$ ، $IL-952$ ، $IL-953$ ، $IL-954$ ، $IL-955$ ، $IL-956$ ، $IL-957$ ، $IL-958$ ، $IL-959$ ، $IL-960$ ، $IL-961$ ، $IL-962$ ، $IL-963$ ، $IL-964$ ، $IL-965$ ، $IL-966$ ، $IL-967$ ، $IL-968$ ، $IL-969$ ، $IL-970$ ، $IL-971$ ، $IL-972$ ، $IL-973$ ، $IL-974$ ، $IL-975$ ، $IL-976$ ، $IL-9$

۷۶٪ توقف رشد با سوپرناتانت DU-۱۴۵ بدست آمد. ولی، سوپرناتانت های کشت سلولهای JCA-۱، C33-A، OVCAR-3 یا ۳T3 روی سلولهای LNCaP اثر ضد رشد نداشتند. در این آزمایشات، سلولهای کنترل و سلولهای که به آن سوپرناتانت اضافه شده بودند بیشتر از ۹۷٪ زنده بودند



شکل ۱- اثر سوپرناتانت PC3 در کنترل رشد سلولهای مختلف. سلول در خانه های دیش ۹۶ خانه ای در حضور غلظت های مختلف سوپرناتانت PC3 به مدت ۲ روز کشت داده شدند و سپس ماده رادیواکتیو وارد شده به سلول اندازه گیری شد. لنفوسیت های خون محیطی (PBL) در حضور مایتوزن PHA و سوپرناتانت PC3 به مدت ۳ روز کشت داده شدند.

مطالعه سیکل سلولی:

جدول ۱ مطالعه سیکل سلولهای LNCaP را پس از اینکه دو روز در حضور سوپرناتانت PC3 یا DU-۱۴۵ کشت داده شده بودند نشان می دهد. نتایج نشان می دهد که سوپرناتانت هر دو سلول توانستند رشد سلولهای LNCaP را در فاز G0-G1 سیکل سلولی متوقف نمایند و مانع ورود بعضی از این سلولها به فاز S

جدول ۱: فعالیت ضد رشد سوپرناتانت PC3 و DU-۱۴۵ بر روی آنالیز سیکل سلولهای LNCaP

شرایط	فازهای سیکل سلولی (%)		
	G0 + G1	S	G2 + M
LNCaP	۷۲/۲	۱۴/۳۰	۱۳/۴۰
LNCaP + DU-145	۸۶/۰	۷/۶۷	۶/۲۴
LNCaP + PC3	۸۴/۷	۸/۲۹	۶/۹۷

آنتی بادی علیه p-IL انسان (۱:۲۰) یک واحد p-IL را خنثی، آنتی بادی علیه p-IL انسان ۲۰۰۰۰ واحد p-IL را خنثی، یک میلی لیتر منوکلنال ضد p-IL انسان ۵۰۰۰ واحد p-IL را خنثی، یک میلی لیتر آنتی بادی ضد p-IL انسان، ۱۰۰۰ پیکوگرم در میلی لیتر p-IL را خنثی، یک میلی لیتر آنتی بادی ضد p-IL انسان، ۱۰۰۰۰ واحد p-IL را خنثی و یک میلی لیتر آنتی بادی ضد PDGF، ۵ نانوگرم در میلی لیتر PDGF را خنثی می کند. این آنتی بادیهای خنثی کننده با سوپرناتانت کشت سلول با غلظتهای مختلف مخلوط شدند و پس از یک ساعت کشت در ۳۷ درجه، سلول LNCaP به آنها اضافه گردید.

آنالیز سیکل سلولی:

10×10^5 سلول LNCaP در میلی لیتر در حضور یک میلی لیتر سوپرناتانت کشت PC3 یا DU-۱۴۵ به مدت ۲ روز کشت داده شد. سپس ۲۵۰ میکرو لیتر فسفات بافر، ۲۵۰ میکرو لیتر RNase (از ۵۰۰ واحد در میلی لیتر) به سلولها اضافه گردید و پس از ۱۵ دقیقه، یک میلی لیتر پروپیدیم آیو داید (۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) به آنها افزوده شد. سلولها را پس از ۱۵ دقیقه در تاریکی قرار دادن با فلوسایتومتر کمپانی Coulter مورد مطالعه قرار گرفت و سیکل سلولی مشخص گردید.

نتایج:

شناسایی فاکتور ضد رشد از سوپرناتانت کشت سلولی PC3 و DU-۱۴۵:

شکل ۱ اثر غلظتهای مختلف سوپرناتانت کشت سلولی PC3 را در تکثیر سلولهای مختلف نشان میدهد. سوپرناتانت کشت سلولی PC3 سنتز DNA سلول کارسینوما پروستات LNCaP را که وابسته به آندروژن می باشد بطور اختصاصی متوقف می نماید، ولی باعث تحریک رشد سایر سلولها می شود. مشابه این جواب با سوپرناتانت کشت سلول DU-۱۴۵ نیز به دست آمد. در تمام آزمایشات از محیط کشت (FCS) ۱۰٪ + ۱۶۴۰-RPMI) بعنوان کنترل استفاده شد. با مصرف سوپرناتانت PC3 و DU-۱۴۵ غلیظ شده (تا ۶۰۰ میکروگرم در هر آزمایش) حداکثر ۹۲٪ توقف رشد سلول LNCaP با سوپرناتانت PC3 و

سلولهای PC3 و DU-145 بعلت وجود سایتوکاین های شناخته شده می باشد یا نه، اثرات آنتی بادیهای خنثی کننده علیه سایتوکاین های IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, EGF, PDGF, TNF- α , β مورد مطالعه قرار گرفتند. جدول ۲ نشان می دهد که آنتی بادیهای خنثی کننده در غلظت نهائی خود قادر نیستند اثر متوقف کنندگی سوپرناتانت PC3 و DU-145 را بر روی سلولهای LNCaP خنثی نمایند. کم شدن فعالیت ضد رشد بوسیله آنتی بادی ضد IL-4 بعلت فعالیت ضد رشد IL-4 در سوپرناتانت نمی باشد زیرا افزودن IL-4 تا ۱۰۰۰ واحد در میلی لیتر به محیط کشت سلول LNCaP باعث فعالیت ضد رشد نگردد.

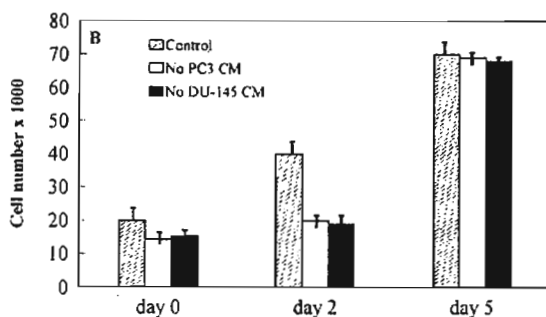
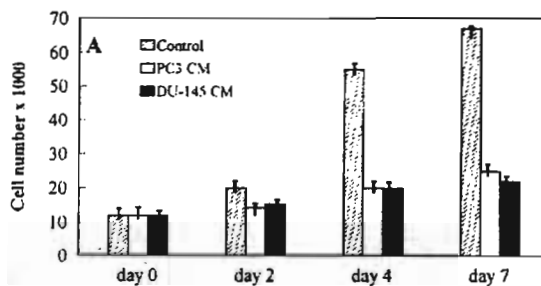
برای تفکیک فعالیت ضد رشد PC3 و DU-145 از فعالیت ضد رشد TNF آزمایش زیر انجام شد. جدول ۳ نشان می دهد که TNF ۳۷٪ رشد سلولهای LNCaP را متوقف می نماید. این فعالیت ضد رشد کاملاً بوسیله آنتی بادی ضد TNF- α خنثی میگردد. برعکس، این آنتی بادی نتوانست فعالیت ضد رشد سوپرناتانت PC3 و DU-145 را خنثی نماید.

جدول ۴ نشان می دهد که اگر سوپرناتانت PC3 یا DU-145 همراه با TNF بکار برده شود فعالیت ضد رشد افزایش پیدا می نماید. سوپرناتانت PC3 (۱۰۰ میکروگرم) به تنهایی ۴۹٪ رشد

جدول ۲: اثر آنتی بادیهای خنثی کننده بر روی فعالیت ضد رشد سوپرناتانت PC3 و DU-145

آنتی بادی	محیط کشت	سوپرناتانت PC3	سوپرناتانت DU-145
None	۴۰۱۶۰	(۵۷/۸) ۱۷۳۲۶	(۴۲/۵) ۲۳۱۰۰
Anti-IL-1 (5 μ)	۴۶۰۰۹	(۵۷/۶) ۲۰۸۹۲	(۵۴) ۲۱۲۰۰
Anti-IL-2 (5 μ)	۴۳۳۵۷	(۶۰/۲) ۱۷۲۵۳	(۴۵/۱) ۲۳۸۰۰
Anti-IL-3 (2 μ)	۳۹۰۲۴	(۵۲/۵) ۱۸۱۵۱	(۳۷/۵) ۲۴۷۰۰
Anti-IL-4 (1 μ)	۴۰۰۲۲	(۳۶) ۲۵۵۹۵	(۳۳) ۲۶۸۰۰
Anti-IL-6 (2 μ)	۵۵۳۳۲	(۶۳) ۲۰۴۳۳	(۴۱/۸) ۳۲۲۰۰
Anti-PDGF (2 μ)	۴۲۰۹۲	(۵۹/۵) ۱۷۰۵۲	(۴۰/۳) ۲۵۱۰۵
Anti-TGF- β (4 μ)	۴۱۵۶۳	(۵۱/۸) ۲۰۰۰۲	(۵۲/۲) ۱۹۸۶۵
Anti-TNF- α (5 μ)	۴۳۷۸۹	(۶۱/۱) ۱۷۰۳۲	(۴۷/۵) ۲۳۴۱۲

۵۰ میکرولیتر سوپرناتانت PC3 و ۱۰ میکرولیتر سوپرناتانت DU-145 با آنتی بادیهای خنثی کننده مختلف به مدت یکساعت مجاور گردید و سپس به سلولهای LNCaP اضافه شد و ۴۸ ساعت کشت داده شدند. اعداد داخل پرانتز نمایانگر درصد توقف رشد سلول می باشد و میانگین ۳ آزمایش مستقل است.



شکل ۲- قسمت A، سلولهای LNCaP در حضور ۱۰۰ میکرولیتر سوپرناتانت PC3 و ۵۰ میکرولیتر سوپرناتانت DU-145 به مدت ۷ روز کشت داده شد. در روزهای دوم و چهارم محیط کشت تعویض گردید. قسمت B، رشد دوباره سلولهای LNCaP را ۲ و ۵ روز پس از برداشتن سوپرناتانت نشان می دهد (LNCaP در روز در حضور سوپرناتانت کشت داده شده بود).

شوند. سلولهای آپوپتوتیک (apoptotic) در ناحیه سلولهای آپوپتوتیک در فازهای سیکل سلولی دیده نشد. برای تعیین اینکه فعالیت ضد رشد قابل برگشت است یا نه، سلولهای LNCaP را به مدت ۲ روز در حضور سوپرناتانت PC3 یا DU-145 کشت داده شدند. پس از شستن سلولها، آنها را به مدت ۲-۵ روز دیگر فقط در محیط کشت بدون سوپرناتانت کشت داده شدند. شکل ۲ نشان می دهد که تعداد سلولهای LNCaP ۵ روز پس از برداشتن سوپرناتانت به اندازه تعداد سلولهای کنترل میرسد. این نتایج نشان می دهند که فعالیت ضد رشد سوپرناتانت سلولهای PC3 و DU-145 سایتواستاتیک (cytostatic) بوده و بعلت اثر سایتوتوکسیک نمی باشد.

اثر آنتی بادیهای خنثی کننده علیه فعالیت فاکتور ضد رشد:

برای تعیین اینکه آیا فعالیت ضد رشد سوپرناتانت

جدول ۳: اثر آنتی بادی ضد $TNF-\alpha$ بر روی فعالیت ضد رشد سوپرناتانت $PC3$ و $DU-145$

شرایط	cpm	در صد توقف رشد
Control medium	۴۳۷۰۷	-
$TNF-\alpha$ (250 U)	۲۷۴۵۸	۳۷/۱۰
Anti- $TNF-\alpha$ (5 μ l)	۴۳۰۲۰	۱/۸۰
$TNF-\alpha$ (250 U) + anti- $TNF-\alpha$ (5 μ l)	۴۴۸۰۳	-۲/۵۰
PC3 Supernatant (50 μ l)	۲۲۰۵۰	۴۲/۸۰
PC3 supernatant (50 μ l) + anti- $TNF-\alpha$ (5 μ l)	۲۳۰۱۵	۴۷/۴۰
Du-145 supernatant (20 μ l)	۱۹۰۴۶	۵۷/۵۰
Du-145 supernatant (20 μ l) + anti- $TNF-\alpha$ (5 μ l)	۱۷۰۰۷	۶۱/۱۰

جدول ۴: اثر مضاعف فعالیت ضد رشد $TNF-\alpha$ به فعالیت ضد رشد سوپرناتانت $PC3$ و $DU-145$

شرایط	cpm	در صد توقف رشد
Control medium	۷۳۸۰۳	-
PC3 supernatant (50 μ l)	۳۷۵۴۰	۴۹/۱
DU-145 supernatant (50 μ l)	۲۸۵۰۴	۶۱/۴
$TNF-\alpha$ (250 U)	۴۴۸۱۱	۳۹/۳
PC3 supernatant (50 μ l) + $TNF-\alpha$ (250 μ l)	۸۵۹۵	۸۸/۳
Du-145 supernatant (50 μ l) + $TNF-\alpha$ (250 U)	۳۹۸۷	۹۵/۸
PC3 supernatant (50 μ l) + DU-145 supernatant (50 μ l)	۲۶۷۶۲	۶۳/۷

کیلو دالتونی باقی ماند که نشان می دهد وزن ملکولی فاکتور ضد رشد بین ۵۰ تا ۱۰۰ کیلو دالتون می باشد.

بحث:

در این مقاله، یک فاکتور جدید ضد رشد در سوپرناتانت دو لاین سرطانی پروستات غیر وابسته به آندروژن ($PC3$ و $DU-145$) شناسایی شد که بطور اختصاصی رشد سلولی لاین سرطان پروستات وابسته به آندروژن (LNCaP) را متوقف میکند. فعالیت ضد رشد قابل برگشت بوده زیرا ۵ روز پس از برداشت ماده متوقف کننده رشد، تعداد سلولها به حد معمول سلولهای کنترل می رسد. بنظر میرسد که فاکتور ضد رشد روی سنتز DNA سلول اثر میگذارد زیرا هر دو فاکتور قادرند رشد سلولهای LNCaP را در فاز G_0-G_1 سیکل سلولی متوقف نمایند. نتایج بدست آمده نشان میدهد که این فاکتور با عمل سایتواستاتیک خود رشد سلولی را متوقف می نماید ولی باعث مرگ سلول نمیشود.

مطالعات قبلی نشان داده اند که سلولهای کارسینومای پروستات قادرند چندین سایتوکاین را که روی رشد سلول اثر می گذارند تولید و به محیط کشت خود ترشح نمایند (۱۱، ۱۲، ۲۲، ۲۵، ۲۶). یکی از این سایتوکاینها که سلولهای $PC3$ و $DU-145$ تولید و ترشح می نمایند $TGF-\beta$ می باشد (۱۲). این سایتوکاین در تنظیم مراحل مختلف رشد سلول، تمایز و اعمال آن نقشی ایفا می نماید. $TGF-\beta$ برای بعضی سلولها محرک رشد و برای برخی دیگر متوقف کننده رشد می باشد. برخلاف رل متوقف کنندگی $TGF-\beta$ ، سایتوکاین $TGF-\alpha$ رشد تومورهای پروستات را که این ماده را ترشح می نمایند افزایش می دهد (۲۳، ۲۶). نتایج بدست آمده در این مقاله نشان می دهد که ماده متوقف کننده رشد، $TGF-\alpha$ نمی باشد زیرا وزن ملکولی TGF ۵۲ کیلو دالتون است و وزن ملکولی فاکتور ضد رشد بیش از ۵۰ کیلو دالتون می باشد. همچنین، آنتی بادی ضد $TGF-\beta$ قادر به خنثی نمودن فعالیت ضد رشد نمیشود. فاکتور ضد رشد $IFN-\beta$ نیست زیرا سلولهای LNCaP نسبت به آن مقاوم هستند (۲۷). بعلاوه، وزن ملکولی هر دو $IFN-\alpha$ ، $IFN-\beta$ کمتر از ۲۵ کیلو دالتون است.

گزارشات نشان میدهند که TNF مستقیماً برای اکثر سلولهای سرطانی سایتوتوکسیک بوده، ولی سلولهای غیر سرطانی نسبت

سلول LNCaP را متوقف می نماید و یک میکرولیتر TNF (۲۵۰ واحد) به تنهایی قادر است ۳۹٪ رشد سلولهای LNCaP را متوقف کند. با افزودن هم زمان سوپرناتانت $PC3$ و TNF (با همان غلظت قبلی) باعث افزایش توقف رشد سلولهای LNCaP تا ۸۵٪ می شود. این افزایش فعالیت ضد رشد با سوپرناتانت $DU-145$ نیز دیده شد. برخلاف عمل TNF ، افزودن توام سوپرناتانت $PC3$ و $DU-145$ به سلولهای LNCaP باعث افزایش توقف رشد نمیشود (جدول ۴). این نتایج نشان می دهند که فاکتور ضد رشد $PC3$ و $DU-145$ ممکنست مشابه باشند، ولی مکانیسم عمل آنها با مکانیسم ضد رشد TNF ممکنست متفاوت باشد.

ماده فعال ضد رشد پروتئین است زیرا فعالیت ضد رشد آن بوسیله آنزیم پروتئیناز در مدت ۵ ساعت در ۳۷ درجه کاملاً از بین میرود. برای تعیین وزن ملکولی تقریبی این فاکتور از فیلترهای آمیکون با وزن ملکولی متفاوت استفاده شد. فاکتور ضد رشد از فیلتر ۱۰۰ کیلو دالتونی عبور نمود ولی روی فیلتر ۵۰

فاکتور ضد رشد از سایتوکاین های $IL-1$, $IL-2$, $IL-3$, $IL-4$, $IL-6$, $IL-8$, $IL-10$, $IL-12$, $IL-15$, $IL-17$, $IL-18$, $IL-19$, $IL-21$, $IL-22$, $IL-23$, $IL-24$, $IL-25$, $IL-26$, $IL-27$, $IL-28$, $IL-29$, $IL-30$, $IL-31$, $IL-32$, $IL-33$, $IL-34$, $IL-35$, $IL-36$, $IL-37$, $IL-38$, $IL-39$, $IL-40$, $IL-41$, $IL-42$, $IL-43$, $IL-44$, $IL-45$, $IL-46$, $IL-47$, $IL-48$, $IL-49$, $IL-50$, $IL-51$, $IL-52$, $IL-53$, $IL-54$, $IL-55$, $IL-56$, $IL-57$, $IL-58$, $IL-59$, $IL-60$, $IL-61$, $IL-62$, $IL-63$, $IL-64$, $IL-65$, $IL-66$, $IL-67$, $IL-68$, $IL-69$, $IL-70$, $IL-71$, $IL-72$, $IL-73$, $IL-74$, $IL-75$, $IL-76$, $IL-77$, $IL-78$, $IL-79$, $IL-80$, $IL-81$, $IL-82$, $IL-83$, $IL-84$, $IL-85$, $IL-86$, $IL-87$, $IL-88$, $IL-89$, $IL-90$, $IL-91$, $IL-92$, $IL-93$, $IL-94$, $IL-95$, $IL-96$, $IL-97$, $IL-98$, $IL-99$, $IL-100$, $IL-101$, $IL-102$, $IL-103$, $IL-104$, $IL-105$, $IL-106$, $IL-107$, $IL-108$, $IL-109$, $IL-110$, $IL-111$, $IL-112$, $IL-113$, $IL-114$, $IL-115$, $IL-116$, $IL-117$, $IL-118$, $IL-119$, $IL-120$, $IL-121$, $IL-122$, $IL-123$, $IL-124$, $IL-125$, $IL-126$, $IL-127$, $IL-128$, $IL-129$, $IL-130$, $IL-131$, $IL-132$, $IL-133$, $IL-134$, $IL-135$, $IL-136$, $IL-137$, $IL-138$, $IL-139$, $IL-140$, $IL-141$, $IL-142$, $IL-143$, $IL-144$, $IL-145$, $IL-146$, $IL-147$, $IL-148$, $IL-149$, $IL-150$, $IL-151$, $IL-152$, $IL-153$, $IL-154$, $IL-155$, $IL-156$, $IL-157$, $IL-158$, $IL-159$, $IL-160$, $IL-161$, $IL-162$, $IL-163$, $IL-164$, $IL-165$, $IL-166$, $IL-167$, $IL-168$, $IL-169$, $IL-170$, $IL-171$, $IL-172$, $IL-173$, $IL-174$, $IL-175$, $IL-176$, $IL-177$, $IL-178$, $IL-179$, $IL-180$, $IL-181$, $IL-182$, $IL-183$, $IL-184$, $IL-185$, $IL-186$, $IL-187$, $IL-188$, $IL-189$, $IL-190$, $IL-191$, $IL-192$, $IL-193$, $IL-194$, $IL-195$, $IL-196$, $IL-197$, $IL-198$, $IL-199$, $IL-200$, $IL-201$, $IL-202$, $IL-203$, $IL-204$, $IL-205$, $IL-206$, $IL-207$, $IL-208$, $IL-209$, $IL-210$, $IL-211$, $IL-212$, $IL-213$, $IL-214$, $IL-215$, $IL-216$, $IL-217$, $IL-218$, $IL-219$, $IL-220$, $IL-221$, $IL-222$, $IL-223$, $IL-224$, $IL-225$, $IL-226$, $IL-227$, $IL-228$, $IL-229$, $IL-230$, $IL-231$, $IL-232$, $IL-233$, $IL-234$, $IL-235$, $IL-236$, $IL-237$, $IL-238$, $IL-239$, $IL-240$, $IL-241$, $IL-242$, $IL-243$, $IL-244$, $IL-245$, $IL-246$, $IL-247$, $IL-248$, $IL-249$, $IL-250$, $IL-251$, $IL-252$, $IL-253$, $IL-254$, $IL-255$, $IL-256$, $IL-257$, $IL-258$, $IL-259$, $IL-260$, $IL-261$, $IL-262$, $IL-263$, $IL-264$, $IL-265$, $IL-266$, $IL-267$, $IL-268$, $IL-269$, $IL-270$, $IL-271$, $IL-272$, $IL-273$, $IL-274$, $IL-275$, $IL-276$, $IL-277$, $IL-278$, $IL-279$, $IL-280$, $IL-281$, $IL-282$, $IL-283$, $IL-284$, $IL-285$, $IL-286$, $IL-287$, $IL-288$, $IL-289$, $IL-290$, $IL-291$, $IL-292$, $IL-293$, $IL-294$, $IL-295$, $IL-296$, $IL-297$, $IL-298$, $IL-299$, $IL-300$, $IL-301$, $IL-302$, $IL-303$, $IL-304$, $IL-305$, $IL-306$, $IL-307$, $IL-308$, $IL-309$, $IL-310$, $IL-311$, $IL-312$, $IL-313$, $IL-314$, $IL-315$, $IL-316$, $IL-317$, $IL-318$, $IL-319$, $IL-320$, $IL-321$, $IL-322$, $IL-323$, $IL-324$, $IL-325$, $IL-326$, $IL-327$, $IL-328$, $IL-329$, $IL-330$, $IL-331$, $IL-332$, $IL-333$, $IL-334$, $IL-335$, $IL-336$, $IL-337$, $IL-338$, $IL-339$, $IL-340$, $IL-341$, $IL-342$, $IL-343$, $IL-344$, $IL-345$, $IL-346$, $IL-347$, $IL-348$, $IL-349$, $IL-350$, $IL-351$, $IL-352$, $IL-353$, $IL-354$, $IL-355$, $IL-356$, $IL-357$, $IL-358$, $IL-359$, $IL-360$, $IL-361$, $IL-362$, $IL-363$, $IL-364$, $IL-365$, $IL-366$, $IL-367$, $IL-368$, $IL-369$, $IL-370$, $IL-371$, $IL-372$, $IL-373$, $IL-374$, $IL-375$, $IL-376$, $IL-377$, $IL-378$, $IL-379$, $IL-380$, $IL-381$, $IL-382$, $IL-383$, $IL-384$, $IL-385$, $IL-386$, $IL-387$, $IL-388$, $IL-389$, $IL-390$, $IL-391$, $IL-392$, $IL-393$, $IL-394$, $IL-395$, $IL-396$, $IL-397$, $IL-398$, $IL-399$, $IL-400$, $IL-401$, $IL-402$, $IL-403$, $IL-404$, $IL-405$, $IL-406$, $IL-407$, $IL-408$, $IL-409$, $IL-410$, $IL-411$, $IL-412$, $IL-413$, $IL-414$, $IL-415$, $IL-416$, $IL-417$, $IL-418$, $IL-419$, $IL-420$, $IL-421$, $IL-422$, $IL-423$, $IL-424$, $IL-425$, $IL-426$, $IL-427$, $IL-428$, $IL-429$, $IL-430$, $IL-431$, $IL-432$, $IL-433$, $IL-434$, $IL-435$, $IL-436$, $IL-437$, $IL-438$, $IL-439$, $IL-440$, $IL-441$, $IL-442$, $IL-443$, $IL-444$, $IL-445$, $IL-446$, $IL-447$, $IL-448$, $IL-449$, $IL-450$, $IL-451$, $IL-452$, $IL-453$, $IL-454$, $IL-455$, $IL-456$, $IL-457$, $IL-458$, $IL-459$, $IL-460$, $IL-461$, $IL-462$, $IL-463$, $IL-464$, $IL-465$, $IL-466$, $IL-467$, $IL-468$, $IL-469$, $IL-470$, $IL-471$, $IL-472$, $IL-473$, $IL-474$, $IL-475$, $IL-476$, $IL-477$, $IL-478$, $IL-479$, $IL-480$, $IL-481$, $IL-482$, $IL-483$, $IL-484$, $IL-485$, $IL-486$, $IL-487$, $IL-488$, $IL-489$, $IL-490$, $IL-491$, $IL-492$, $IL-493$, $IL-494$, $IL-495$, $IL-496$, $IL-497$, $IL-498$, $IL-499$, $IL-500$, $IL-501$, $IL-502$, $IL-503$, $IL-504$, $IL-505$, $IL-506$, $IL-507$, $IL-508$, $IL-509$, $IL-510$, $IL-511$, $IL-512$, $IL-513$, $IL-514$, $IL-515$, $IL-516$, $IL-517$, $IL-518$, $IL-519$, $IL-520$, $IL-521$, $IL-522$, $IL-523$, $IL-524$, $IL-525$, $IL-526$, $IL-527$, $IL-528$, $IL-529$, $IL-530$, $IL-531$, $IL-532$, $IL-533$, $IL-534$, $IL-535$, $IL-536$, $IL-537$, $IL-538$, $IL-539$, $IL-540$, $IL-541$, $IL-542$, $IL-543$, $IL-544$, $IL-545$, $IL-546$, $IL-547$, $IL-548$, $IL-549$, $IL-550$, $IL-551$, $IL-552$, $IL-553$, $IL-554$, $IL-555$, $IL-556$, $IL-557$, $IL-558$, $IL-559$, $IL-560$, $IL-561$, $IL-562$, $IL-563$, $IL-564$, $IL-565$, $IL-566$, $IL-567$, $IL-568$, $IL-569$, $IL-570$, $IL-571$, $IL-572$, $IL-573$, $IL-574$, $IL-575$, $IL-576$, $IL-577$, $IL-578$, $IL-579$, $IL-580$, $IL-581$, $IL-582$, $IL-583$, $IL-584$, $IL-585$, $IL-586$, $IL-587$, $IL-588$, $IL-589$, $IL-590$, $IL-591$, $IL-592$, $IL-593$, $IL-594$, $IL-595$, $IL-596$, $IL-597$, $IL-598$, $IL-599$, $IL-600$, $IL-601$, $IL-602$, $IL-603$, $IL-604$, $IL-605$, $IL-606$, $IL-607$, $IL-608$, $IL-609$, $IL-610$, $IL-611$, $IL-612$, $IL-613$, $IL-614$, $IL-615$, $IL-616$, $IL-617$, $IL-618$, $IL-619$, $IL-620$, $IL-621$, $IL-622$, $IL-623$, $IL-624$, $IL-625$, $IL-626$, $IL-627$, $IL-628$, $IL-629$, $IL-630$, $IL-631$, $IL-632$, $IL-633$, $IL-634$, $IL-635$, $IL-636$, $IL-637$, $IL-638$, $IL-639$, $IL-640$, $IL-641$, $IL-642$, $IL-643$, $IL-644$, $IL-645$, $IL-646$, $IL-647$, $IL-648$, $IL-649$, $IL-650$, $IL-651$, $IL-652$, $IL-653$, $IL-654$, $IL-655$, $IL-656$, $IL-657$, $IL-658$, $IL-659$, $IL-660$, $IL-661$, $IL-662$, $IL-663$, $IL-664$, $IL-665$, $IL-666$, $IL-667$, $IL-668$, $IL-669$, $IL-670$, $IL-671$, $IL-672$, $IL-673$, $IL-674$, $IL-675$, $IL-676$, $IL-677$, $IL-678$, $IL-679$, $IL-680$, $IL-681$, $IL-682$, $IL-683$, $IL-684$, $IL-685$, $IL-686$, $IL-687$, $IL-688$, $IL-689$, $IL-690$, $IL-691$, $IL-692$, $IL-693$, $IL-694$, $IL-695$, $IL-696$, $IL-697$, $IL-698$, $IL-699$, $IL-700$, $IL-701$, $IL-702$, $IL-703$, $IL-704$, $IL-705$, $IL-706$, $IL-707$, $IL-708$, $IL-709$, $IL-710$, $IL-711$, $IL-712$, $IL-713$, $IL-714$, $IL-715$, $IL-716$, $IL-717$, $IL-718$, $IL-719$, $IL-720$, $IL-721$, $IL-722$, $IL-723$, $IL-724$, $IL-725$, $IL-726$, $IL-727$, $IL-728$, $IL-729$, $IL-730$, $IL-731$, $IL-732$, $IL-733$, $IL-734$, $IL-735$, $IL-736$, $IL-737$, $IL-738$, $IL-739$, $IL-740$, $IL-741$, $IL-742$, $IL-743$, $IL-744$, $IL-745$, $IL-746$, $IL-747$, $IL-748$, $IL-749$, $IL-750$, $IL-751$, $IL-752$, $IL-753$, $IL-754$, $IL-755$, $IL-756$, $IL-757$, $IL-758$, $IL-759$, $IL-760$, $IL-761$, $IL-762$, $IL-763$, $IL-764$, $IL-765$, $IL-766$, $IL-767$, $IL-768$, $IL-769$, $IL-770$, $IL-771$, $IL-772$, $IL-773$, $IL-774$, $IL-775$, $IL-776$, $IL-777$, $IL-778$, $IL-779$, $IL-780$, $IL-781$, $IL-782$, $IL-783$, $IL-784$, $IL-785$, $IL-786$, $IL-787$, $IL-788$, $IL-789$, $IL-790$, $IL-791$, $IL-792$, $IL-793$, $IL-794$, $IL-795$, $IL-796$, $IL-797$, $IL-798$, $IL-799$, $IL-800$, $IL-801$, $IL-802$, $IL-803$, $IL-804$, $IL-805$, $IL-806$, $IL-807$, $IL-808$, $IL-809$, $IL-810$, $IL-811$, $IL-812$, $IL-813$, $IL-814$, $IL-815$, $IL-816$, $IL-817$, $IL-818$, $IL-819$, $IL-820$, $IL-821$, $IL-822$, $IL-823$, $IL-824$, $IL-825$, $IL-826$, $IL-827$, $IL-828$, $IL-829$, $IL-830$, $IL-831$, $IL-832$, $IL-833$, $IL-834$, $IL-835$, $IL-836$, $IL-837$, $IL-838$, $IL-839$, $IL-840$, $IL-841$, $IL-842$, $IL-843$, $IL-844$, $IL-845$, $IL-846$, $IL-847$, $IL-848$, $IL-849$, $IL-850$, $IL-851$, $IL-852$, $IL-853$, $IL-854$, $IL-855$, $IL-856$, $IL-857$, $IL-858$, $IL-859$, $IL-860$, $IL-861$, $IL-862$, $IL-863$, $IL-864$, $IL-865$, $IL-866$, $IL-867$, $IL-868$, $IL-869$, $IL-870$, $IL-871$, $IL-872$, $IL-873$, $IL-874$, $IL-875$, $IL-876$, $IL-877$, $IL-878$, $IL-879$, $IL-880$, $IL-881$, $IL-882$, $IL-883$, $IL-884$, $IL-885$, $IL-886$, $IL-887$, $IL-888$, $IL-889$, $IL-890$, $IL-891$, $IL-892$, $IL-893$, $IL-894$, $IL-895$, $IL-896$, $IL-897$, $IL-898$, $IL-899$, $IL-900$, $IL-901$, $IL-902$, $IL-903$, $IL-904$, $IL-905$, $IL-906$, $IL-907$, $IL-908$, $IL-909$, $IL-910$, $IL-911$, $IL-912$, $IL-913$, $IL-914$, $IL-915$, $IL-916$, $IL-917$, $IL-918$, $IL-919$, $IL-920$, $IL-921$, $IL-922$, $IL-923$, $IL-924$, $IL-925$, $IL-926$, $IL-927$, $IL-928$, $IL-929$, $IL-930$, $IL-931$, $IL-932$, $IL-933$, $IL-934$, $IL-935$, $IL-936$, $IL-937$, $IL-938$, $IL-939$, $IL-940$, $IL-941$, $IL-942$, $IL-943$, $IL-944$, $IL-945$, $IL-946$, $IL-947$, $IL-948$, $IL-949$, $IL-950$, $IL-951$, $IL-952$, $IL-953$, $IL-954$, $IL-955$, $IL-956$, $IL-957$, $IL-958$, $IL-959$, $IL-960$, $IL-961$, $IL-962$, $IL-963$, $IL-964$, $IL-965$, $IL-966$, $IL-967$, $IL-968$, $IL-969$, $IL-970$, $IL-971$, $IL-972$, $IL-973$, $IL-974$, $IL-975$, $IL-976$, $IL-977$, $IL-978$, $IL-979$, $IL-980$, $IL-981$, $IL-982$, $IL-983$, $IL-984$, $IL-985$, $IL-986$, $IL-987$, $IL-988$, $IL-989$, $IL-990$, $IL-991$, $IL-992$, $IL-993$, $IL-994$, $IL-995$, $IL-996$, $IL-997$, $IL-998$, $IL-999$, $IL-1000$.

به لیز وابسته به TNF مقاوم می باشند (۲۹،۲۸) TNF- α . برای هر سه لاین سلولی پروستات (PC_۳, DU-۱۴۵, LNCaP) سایتوتوکسیک است، ولی نه برای سلولهای ایتلیال یا استرومال (۱۳، ۱۵). نتایج بدست آمده در این مقاله فعالیت ضد رشد TNF- α را روی سلولهای LNCaP تأیید می نماید، ولی اطلاعات بدست آمده از آنتی بادی ضد TNF و افزایش فعالیت ضد رشد هنگامی که TNF- α همراه با سوپرناتانت ها نشان می دهد که فعالیت ضد رشد PC_۳ و DU-۱۴۵ بعلت وجود TNF- α نمی باشد. این

References:

- 1- Huggins C, Hodges CV. Studies on prostatic cancer. I. The effect of castration of estrogen snf og snftohrn injrvyion on serum phosphatases in metasatic crcinoma of the prostate. *Cancer Res.* 1941; 1: 293-297.
- 2- Peehl DM, Krishnan AV, Feldman D. Pathways medicating the growth-inhibitory actions of vitamin D in prostate cancer. *J Nutr.* 2003, 133 (7 Suppl): 2461S-2469S.
- 3- Adhami VM, Ahmad N, Mukhrar H. Molecular targets for green tea in prostate cancer prevention. *J Nutr.* 2003, 133(7 Suppl): 2417S-2424S.
- 4- Zhu YS, Huang Y, Car LQ, et al. The Chinese medicinal herbal formula ZYD88 inhibits cell growth and promotes cell apoptosis in prostatic tumor cells. *Oncol Rep.* 2003 10(5): 1633-1639.
- 5- Liu J, Bastian M, Kohlschein P, et al. Expression of functional protease-activated receptor 1 in human prosate cancer cell lines. *Urol Res.* 2003 31(3): 163-168.
- 6- Wen Y, Giri D, Yan DH, et al. Prostate-specific anti-tumor activity by probasin promoter directed p202 expression. *Mol Carcinog.* 2003 37(3): 130-137.
- 7- Sugarman BJ, Aggarwal BB, Hass PE, et al. Recombinant human tumor necrosis factor: Effects on proliferation of normal and trasformed cells in vitro. *Science* 1985; 230: 943-945.
- 8- Schmid DS, Tite JP, Ruddle NH, DNA fragmentation: Manifestation of target cell destruction mediated by cytotoxic T-cell lines lymphotoxin -secretubg gekoer T-cell clones, and cell-free lymphotoxin-containing supernatant. *Proc. Natl. Acad, Sci. U.S.A.* 1986;83:1881-1885.
- 9- De Maeyer E, De Maeyer-Guignad J, In Interferons and other regulatory cytokines. De Maeyer E, and De maeyer-Gignard J, eds. John Wiley, New York, 1988, pp. 134-153.
- 10- Sica G, Fabbroni L, Castagnetta L, et al. Antiproliferative effects of interferons on human prostate carcinoma cell lines. *Urol. Res.* 1989; 17-111-115.
- 11- Onozaki K, Urawa H, Tamatami T, et al. Synergistic interactions of interleukin 1, Inerferon- β , and tumor necrosis factor in terminally differentiating a mouse myeloid leukemic cell line (MI). *J. Immunol.* 1988; 140:112-119.
- 12- Wilding G, Zugmeier G, Knabbe C, et al. Differential effects of transforming growth factor β on human prostatic cancer cells in vitro. *Molecul. Cellul. Endocrinol.* 1989; 62: 79-87.
- 13- Sherwood ER, Le C, et al. Therapeutic efficacy of recombinant tumor necrosis factor in an experimental model of human prostatic carcinoma. *J. Biol. Response Mod.* 1990; 9:44-52.
- 14- Fruehauf JP, Myers CE, Sinha BK, Synergistic activity of suramin with tumor necrosis factor and doxorubicin on human prostate caner cell liner. *J. National Cancer Inst.* 1990; 82:1206-1202.
- 15- Van Moorselaar RJA, van Stratum P, Borm G, et al. Differential antiproliferative activities of alpha - and gamma-interferon and tumor necrosis factor alone or in combinations against two prostate cancer xenografts trasplanted in nude mice. *The prostate* 1991; 18;331-334.</

BTH, et al. In vivo antiproliferative effects of gamma-interferon and tumor necrosis factor alpha in a rat renal cell carcinoma model system. *J. Urol.* 1990; 143: 1247-1251.

17- Baisch H, Otto U, Klippel G, Antiproliferative and cytotoxic effects of single and combined treatment with tumor necrosis factor alpha and/or alpha interferon on a human renal cell carcinoma transplanted into nu/nu mice: cell kinetic studies. *Cancer Res.* 1990; 50:6389-6395.

18- Abolhassani M, muraki J, Chiao JW, Purification of a suppressor lymphokine (SL) from a human T cell line. *Immunol. Invest.* 1989; 18:741-751.

19- Abolhassani M, Chiao JW, Purification and characterization of a human leukemia cell derived immunosuppressive factor. *Prep. Biochem.* 1991; 21:25-33.

20- Abolhassani M, Chiao JW, Identification of a costimulator factor for human T cell proliferation. *Cancer Let.* 1991; 56:71-76.

21- Perker VS, Mohan S, Baylink DJ, et al. An inhibitory insulin-like growth factor binding protein (In-IGFBP) from human prostatic cell conditioned medium reveals N-terminal sequence identity with bone-derived In-IGFBP. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1990; 71:533-535.

22- Perkel VS, Mohan S, Herring SJ, et al. Human prostatic cancer cells, PC3, elaborate mitogenic activity which selectively stimulated human bone cells. *Cancer Research*, 1990; 580:6902-6907.

23- Hofer DR, Sherwood EF, Bromberg WD, et al. Autonomous growth of anreogen independent human

prostatic carcinoma cells: role of transforming growth factor *Cancer res.* 1991; 51:2780-2785.

24- Muraki J, Addonizio JC, Choudhury MS, et al. Establishment of new human prostatic cancer cell line (JCA-1). *Urology* 1990;36:79-84.

25- Nakamoto T, Chang, CS, Li AK, et al. Basic fibroblast growth factor in human prostate cancer cells. *Cancer res.* 1992;52:571-577.

26- Kim JH, Sherwood ER, Sutkowski DM, et al. Inhibition of prostatic tumor cell proliferation by suramin: alterations in TGF alpha-mediated autocrine growth regulation and cell cycle distribution. *J. Uol.* 1991; 146:171-176.

27- Horoszewicz JS, Leong SS, Kawinski E, et al. LNCaP model of human prostatic carcinoma. *Cancer Res.* 1983;43:1809-1818.

28- Creasey A, Doyle LV, Reynolds MT, et al. Biological effects of recombinant human tumor necrosis factor and its novel muteins on tumor and normal cell lines. *Cancer res.* 1987;47:145-149.

29- Haranaka K, Satomi N, Cytotoxic activity of tumor necrosis factro on human cancer in vitro. *Jpn. J. Exp. Med.* 1981; 51:191-194.

30- Abolhassani M, Tillotson JK, Chang J, t al. Regulation of human lymphocyte proliferation by a tumour cel-derived DNA fraction. *Immunol and Cell Biol.* 1991; 69:377-385.

31- Abolhassani M, Tillotson JK, Chiao JW, Characterization of the release of DNA by a human leukemia cell line HL-60. *Int.J.Oncology* 19944:417-421.

Abstract

Identificaion of a factor inhibiting prostate cancer cell line (LNCaP)

Authors: Dr. Mohsen Abolhasani (Ph.D.)¹

A new antiproliferative activity from the conditional medium of two androgen-independent prostatic cancer cell lines, PC3 and DU-145, was identified. This antiproliferative activity selectively inhibited cell proliferation of an androgen-dependent prostate cancer cell line LNCaP in a dose dependent manner. No antiproliferative activity was observed against mouse fibroblast 3T3, normal human lymphocytes, human leukemic cells including promyelocytes HL-60 and T-cells HUT-78, or human adenocarcinoma cell lines, including prostatic cells JCA-1, ovary NIH: OVCAR-3, cervix C-33A and breast MDA-MB-231. Cell cycle analysis revealed that the antiproliferative activity did not induce apoptosis in LNCaP cells, but it prevented some of G1 LNCaP cells from entering into the S-Phase of the cell cycle. The antiproliferative activity was sensitive to protease digestion and its approximate molecular weight was between 50-100 kDa by Amicon filters. The antiproliferative activity was not affected by neutralizing antibodies against TGF- $\beta_{1,2,3}$, TNF- α , PDGF, EGF, IL- 1 , IL- 2 , IL- 3 , IL- 4 , or IL- 6 .

Key words: Prostate cancer, Anti Growth factor, Cancer cells Du-145, Pc3, LNCaP

