

## بررسی اثر مهارگرهای مسیرهای انتقال پیام داخل سلولی بر میزان بیان کموکین-1 IP-10/Mob-1 CXC هپاتوسیتها

دکتر غلامحسین حسن شاهی راویز<sup>۱\*</sup>، محمدرضا حاجی زاده<sup>۲</sup>، محمدرضا میرزایی<sup>۳</sup>، دکترعلی اصغر پورشانظری<sup>۴</sup>، دکتر محمدابراهیم رضوانی<sup>۵</sup>، دکتر رضا وزیری<sup>۶</sup>، دکتر آلن دیکسون<sup>۷</sup>

### چکیده

مقدمه: کموکین‌ها مولکولهای پروتئینی کوچکی هستند که باعث بسیج سلولهای ایمنی به محلهای آسیب دیده جهت از بین بردن عوامل عفونی، سلولهای آلوده و ترمیم بافتها می‌شوند. از جمله کموکین‌های مهم IP-10/Mob-1 می‌باشد. سلولها در پاسخ به عوامل تحریکی مختلف اقدام به بیان این کموکین می‌کنند. برای انتقال پیام تحریکی به داخل سلول، سلولها از مسیرهای مختلفی استفاده می‌کنند. هدف از این مطالعه بررسی مسیرهای احتمالی انتقال پیام برای کنترل تولید کموکین-1 IP-10/Mob-1 توسط سلولهای هپاتوسیت است.

روش بورسی: این مطالعه از نوع تحریک آزمایشگاهی است که بر روی سلولهای کبد موش صحرایی نر از نژاد Sprague-Dawley (برای هر ازمایش از ۸ نمونه استفاده شد) و در محیط کشت ۱۲۷۱ Waymouth MD در زمانهای معین در حضور مهار کننده‌های استرسپورین، MG132 و SB203580 در غلظتهای مختلف انکوبه، شدنده سپس مایع رویی محیط کشت به وسیله سانتریفوژ از سلولها جدا شد. پروتئینهای موجود در این مایع توسط تکنیک SDS-PAGE از هم تفکیک شدند و سپس به غشای نیتروسلولزی منتقل شدند. بعد از انکوبه کردن غشای حاوی کمپلکس IP-10/Mob-1 با آنتی بادی ضد آن، این غشای با آنتی بادی ثانویه نشاندار با پراکسیداز تربچه انکوبه شد و پس از آن مقدار و محل پروتئین-1 IP-10/Mob-1 با تکنیک کمولاینسنس (ECL) اندازه گیری شد.

نتایج: بیان کموکین-1 IP-10/Mob-1 در حضور مهارگرهای اختصاصی مختلف شامل استرسپورین ( $\mu\text{M}$  ۵ و  $\mu\text{M}$  ۱۰)، MG132 ( $\mu\text{M}$  ۲۰) و SB203580 ( $\mu\text{M}$  ۲۰ و  $\mu\text{M}$  ۵۰) مهار شد ( $P < 0.05$ ) اما در غلظت‌های پایین و در عدم حضور مهار کننده‌ها بیان گردید.

نتیجه گیری: بررسی نتایج ممکن است به درک بهتر مسیرهای انتقال پیام در بیماریهای مزمن کبد و همچنین درمان و پیشگیری از بیماریها کمک کند. به علاوه با توجه به اینکه هپاتوسیتها پس از جداسازی وارد فاز غیر متمایز می‌گردند، نتایج این تحقیق ممکن است به نگهداری حالت متمایز سلولهای هپاتوسیت در محیط کشت اولیه کمک کند. همچنین با توجه به اینکه تمام مهارگرهای قادر به مهار نسبی بیان-1 IP-10/Mob-1 بودند می‌توان نتیجه گرفت که سلولهای هپاتوسیت از تمامی این مسیرهای برای انتقال پیام تحریکی به درون سلول استفاده می‌کنند.

### واژه‌های کلیدی: کموکین، سلولهای هپاتوسیت، IP-10/Mob-1، استرسپورین، MG132، KN62، SB203580

### مقدمه

از بین بردن عوامل عفونی، سلولهای آلوده و ترمیم بافتها می‌باشد<sup>(۱)</sup>. از جمله کموکین‌های مهم می‌توان به IP-10/Mob-1 (Interferon- $\gamma$ -Inducible protein-10) اشاره کرد. IP-10/Mob-1 (پروتئین افزایش یافته تحت تأثیر ایترنفرون گاما) برای اولین بار در سلولهای U937 (یک سلول لنفوцитی با خصوصیات مونوцит) شناسایی شد<sup>(۱,۲)</sup>. ژن-1 IP-10/Mob-1 انسانی از ۳ اینtron و ۴ اگزون ساخته شده است<sup>(۳,۴)</sup>. بخش عمده ناجیه کنترل و تنظیم نسخه برداری در این ژن در پاسخ به IFN-

کموکین‌ها مولکولهای پروتئینی کوچکی هستند که یکی از نقشهای آنها بسیج سلولهای ایمنی به محلهای آسیب دیده جهت

\*- نویسنده مسئول: استاد بار گروه هماتولوژی، دانشکده پزشکی  
تلفن: ۰۹۱۳۳۹۱۳۲۶۴ ، تلفن همراه: ۰۳۹۱-۵۲۳۴۰۰۴

Email: ghassanshahi@yahoo.co.uk

- ۲- مریم گروه بیوشیمی- دانشکده پزشکی
- ۳- فوق لیسانس ژنتیک، عضو هیئت علمی (مریم) دانشکده پزشکی
- ۴- استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی
- ۵- استادیار گروه اپیدمیولوژی
- ۶- استادیار گروه اپیدمیولوژی
- ۷- دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی رفسنجان.
- ۸- استاد گروه بیوشیمی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه منجستر  
تاریخ دریافت: ۱۳۸۵/۵/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۵/۱۲/۲۴

KN62 با کالمولولین در اتصال به  $\text{Ca}^{2+}$  رقابت می‌کند.<sup>(۱۲,۱۳)</sup> استاروسپورین (یک آلکالوئید که از باکتریها به دست می‌اید) دارای اثرات وسیع مهارگری و تحریکی است. این ماده اثر مهاری خود را به طور غیر اختصاصی بر ضد طیف وسیعی از سرین/ترئونین کینازها انجام می‌دهد.<sup>(۱۴)</sup> این تحقیق بر اساس یافته‌های سایر محققین در بیان کموکینها به وسیله سیستمهای سلولی و تعمیم آن به سلولهای کبدی پی‌ریزی شده است و بنابراین ما در این تحقیق مسیرهای تنظیم کننده بیان کموکین IP-10/Mob-1 را در سلولهای کبدی در حضور و غیاب (کنترل) مهارگرهای مسیرهای فوق الذکر، بررسی نموده ایم.

### روش بررسی

**الف) جداسازی هپاتوپویتیها:** این مطالعه از نوع Clinical-Trail Sprague – Dawley ( واحد BSU دانشگاه منچستر) با وزن تقریبی ۲۰۰g جداسازی شده اند که برای هر آزمایش از ۸ حیوان نمونه تهیه گردید. با استفاده از بافر Krebs-Henseleit در شرایط استریل از کبد حیوان جدا شده اند. پس از ۱۰-۸ دقیقه، کبد برداشته شده و در شرایطی کاملاً استریل به همراه بافر Krebs-Henseleit خرد شده و از میان یک قطعه گاز استریل به داخل یک شر فیلتر شده است. سلول‌ها برای سه بار با محلول فوق شسته شده، به طوری که در هر شستشو ته لوله با محلول رقیق گردیده دوباره سانتریفوژ گردیده است. تودهٔ نهایی سلول‌های کبدی در داخل محلول محرك (محتوی محیط کشت ۱۷۲۱ Waymouth MD) ساخت شرکت اینویتروژن انگلستان) منتقل و میزان درصد زنده بودن سلول‌ها با استفاده از تریپان بلو مشخص شده است. دسته‌ای از سلول‌های کبدی مورد استفاده قرار گرفته اند که میزان درصد سلول‌های زنده آنها بیش از ۸۵٪ و اکثرًا در محدوده ۹۰-۹۵٪ بوده است. جمعیت هپاتوپویتیها در زیر میکروسکوپ نوری کنترل گردیده و خلوص سلول‌های کبدی در بهترین حالت بوده و حضور سلول‌های اندوتیال در محیط کشت از ۱٪ تجاوز نمی‌کرده است. در هر پلیت (۶ سانتی متری) که از کلارژن نوع - I پوشیده شده بوده است تعداد  $10 \times 2-5$  سلول در هر میلی لیتر محلول القاء کاشته شده است و پس از آن به انکوباتور ( $\text{CO}_2/.5\%$ ،  $\text{O}_2/.95\%$ ) در دمای

حدود ۲۳° وجود دارد.<sup>(۵)</sup> این ناحیه حاوی قسمتهای تنظیم کننده ای برای الحاق دیگر عناصر تنظیمی از قبیل عناصر پاسخ دهنده به تحریکات ناشی از اینترفرون (Interferon Sequence response element) ISRE (Interferon Response element)<sup>(۵)</sup> محل پاسخ به شوک حرارتی و غیره می‌باشد.<sup>(۶)</sup> تحقیقات مختلفی برای پیدا کردن مسیر انتقال پیام تحریکات خارج سلولی به داخل سلول، جهت فعل سازی بیان-IP-10/Mob-1 روی سلولهای مختلفی انجام شده است.<sup>(۵-۷)</sup> این تحقیقات مسیرهای متعددی را برای هر سلول بیان می‌کنند، به گونه‌ای که اکثر مطالعات مسیر وابسته به NF-κB را دخیل می‌دانند.<sup>(۸)</sup> با وجود شناخته شدن این مسیر در انتقال پیامهای تحریکی خارج سلولی جهت افزایش بیان-IP-10/Mob-1 مشاهده گردیده است که در این مسیر در صورت نبود یا مهار این مسیر، باز هم در پاسخ به عوامل محرك مقداری بیان می‌شود.<sup>(۸)</sup> بنابراین محققین دیگر مسیرها را نیز در این انتقال پیام دخیل دانسته اند. از جمله این مسیرها می‌توان به مسیر وابسته به سرین/ترئونین کینازها اشاره کرد.<sup>(۹)</sup> از جمله اعضای سرین/ترئونین کینازها می‌توان به موارد زیر اشاره نمود: ۱. پروتئین کیناز وابسته به cAMP (PKC)<sup>(۹)</sup> ۲. پروتئین کیناز وابسته به cGMP<sup>(۹)</sup> ۳. پروتئین کیناز وابسته به کلسیم/کالمولولین ( $\text{Ca}^{2+}/\text{CAMK-II}$ )<sup>(۹)</sup> ۴. MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase).

ما در این تحقیق به بررسی نقش مسیرهای  $\text{P}^{38}\text{NF-}\kappa\text{B}$ ،  $\text{P}^{38}\text{Ca}^{2+}/\text{CAMK-II}$  در انتقال پیام تحریکی برای بیان-IP-10/Mob-1 توسط سلولهای کبدی متعاقب جداسازی از کبد پرداختیم و به این منظور به ترتیب از مهار کننده‌های MG132، SB203580، MG132 و استرسبورین استفاده کرده ایم.  $\text{P}^{38}\text{NF-}\kappa\text{B}$  پیتیدی با توالی KN62 و استرسبورین ایمیدازولی است که به عنوان سرکوبگر  $\text{P}^{38}$  عمل پیرین ایمیدازولی است که به عنوان سرکوبگر  $\text{P}^{38}$  عمل می‌کند.<sup>(۱۰)</sup> SB203580 از طریق رقابت با ATP برای اتصال به  $\text{P}^{38}$ ، به جایگاه اتصالی به ATP متصل شده و این طریق  $\text{P}^{38}$  مهار می‌کند.<sup>(۱۱)</sup> KN62 مهارگر اختصاصی مسیر پروتئین کیناز وابسته به کلسیم/کالمولولین ( $\text{Ca}^{2+}/\text{CAMK-II}$ ) می‌باشد.

شستشوی غشاها نیتروسلولزی محتوی کمپلکس کموکین- آنتی بادی، این غشاها با استفاده از آنتی بادی ثانویه ای که با پراکسیداز تربچه نشاندار شده بود رنگ آمیزی شد. پس از آن مقدار و محل پروتئین ۱ IP-10/Mob-1 با تکنیک کمولاینس (ECL) اندازه گیری شد.

تمامی داده های تحقیق بر اساس mean $\pm$  SEM میان گردیده است و مقایسه بین گروه های آماری (ساعت های مختلف یان ژن) با Paired Student t. test انجام شده است و اختلاف زمانی معنی دار تلقی گردیده است و  $P<0.05$  سطح معنی داری در نظر گرفته شده است.

## نتایج

بررسی داده های به دست آمده از این تحقیق نشان داد که استرسبورین در غلظتها  $5\text{ }\mu\text{M}$  و  $10\text{ }\mu\text{M}$  باعث یک کاهش قابل ملاحظه در یان ۱ IP-10/Mob-1 شد در حالی که در غلظت های پایین تر ( $5\text{ }\mu\text{M}$  ۱ میکرومول) دارای چنین اثری نبود (شکل ۱). KN62 در غلظتها بالاتر تولید IP-10/Mob-1 به وسیله هپاتوسیتها را مهار نمود (شکل ۲) به گونه ای که در غلظتها  $10\text{ }\mu\text{M}$  و  $20\text{ }\mu\text{M}$  یان ۱ IP-10/Mob-1 به میزان زیادی کاهش یافت اما در غلظتها پایین تر چنین اثری مشاهده نشد. به علاوه بررسی های آماری نتایج نشان داد که در غلظتها  $20\text{ }\mu\text{M}$  از MG132 یک تفاوت قابل ملاحظه ای در یان-IP-10/Mob-1 مشاهده نمود. اما این تفاوتها در غلظت های کمتر مشاهده نشد (شکل ۳) همانگونه که در (شکل ۴) مشاهده می شود در حضور غلظت بالای SB203580 تولید IP-10/Mob-1 متوقف می شود. در حالی که در غلظتها پایین ( $10\text{ }\mu\text{M}$  تا  $20\text{ }\mu\text{M}$ ) این اثر مهاری مشاهده نشد. به گونه ای که افزایش از  $20\text{ }\mu\text{M}$  تا  $50\text{ }\mu\text{M}$  کاهش قابل ملاحظه ای در یان ۱ IP-10/Mob-1 ایجاد می کند. همچنین نتایج در جدول (۱) براساس میانگین و پراکندهگی آمده است.

جدول ۱: میزان یان ۱ IP-10/Mob-1 در غلظت های مختلف مهارکننده در مقایسه با عدم حضور مهارکننده بر حسب MEAN $\pm$ SD

غلظت مهارکننده	۱ میکرومول	۱۰ میکرومول	۲۰ میکرومول	۵۰ میکرومول
KN62	$112\pm26/5$	$10.1/4\pm19/3$	$67\pm18/8$	$44/2\pm16/7$
MG132	$97\pm2.0$	$10.9/2\pm19/6$	$57/7\pm20/2$	$41/2\pm12/2$
SB	$117/1\pm26/2$	$112/6\pm19/9$	$40\pm12/8$	$34/8\pm13/7$
استرسبورین	$92/6\pm11/3$	$94/8\pm8/7$	$33/4\pm13/1$	$28/1\pm9$

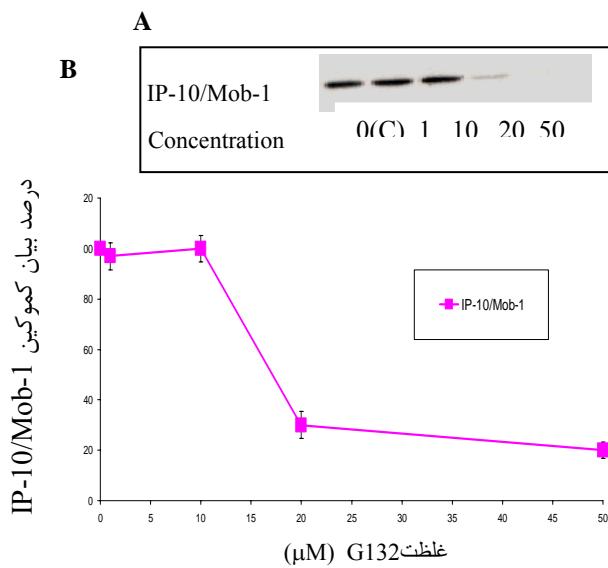
$37^{\circ}\text{C}$  منتقل گردیده است. پس از گذشت ۳ ساعت از کشت، محیط کشت حاوی محلول نگهدارنده (حاوی BSA و سدیم اولیات) تعویض گردیدند و با مهر کننده های مختلف بیا غلظت های زیر تیمار شدند (الف) ۱ میکرومول استرسبورین، ۱۰ میکرومول استرسبورین، ۲۰ میکرومول استرسبورین، ۵۰ میکرومول استرسبورین و کنترل (بدون استرسبورین).

(ب) ۱ میکرومول KN62، ۱۰ میکرومول KN62 و ۲۰ میکرومول KN62؛ (ب) KN62 و کنترل (بدون KN62)، (ج) ۱ میکرومول MG132، ۱۰ میکرومول MG132 و ۲۰ میکرومول MG132؛ (د) ۱ میکرومول SB203580، ۱۰ میکرومول SB203580 و ۲۰ میکرومول SB203580 و کنترل (بدون SB203580).

## ج) بررسی بیان پروتئینها توسط وسترن بلاستیک

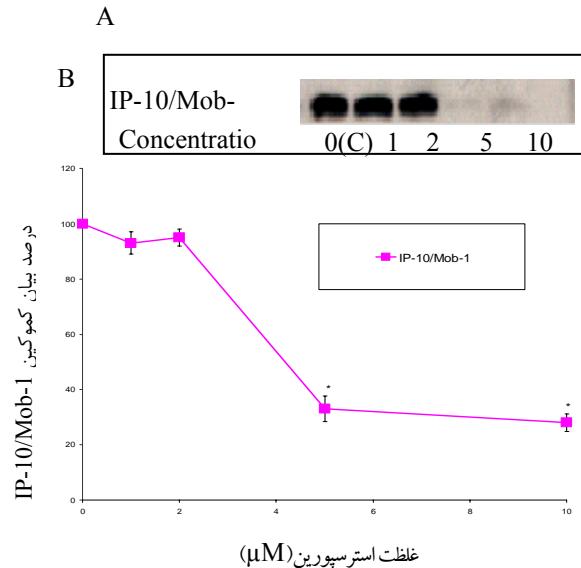
بعد از ۳ ساعت از کشت سلولها در محیط کشت و در حضور مهارکننده های مختلف قسمت بالایی محیط کشت برداشت و سانتریفوژ گردید و محیط کشت سانتریفوژ شده برای انجام SDS-PAGE آماده و بر روی آن SDS-PAGE انجام گردید. برای انجام این کار مقدار مساوی (۳۵ میکروگرم) از هر پروتئین به هر چاهه ۷ لیلی SDS-PAGE اضافه شد و طی الکتروفورز عمودی از هم جدا گردید. پس از اتمام SDS-PAGE که حدود ۴۰-۴۵ دقیقه به طول می کشید، پروتئینهای جدا شده از روی ۷ لیلی Phosphate به غشاء نیتروسلولز منتقل شد و سپس توسط محیط PBST(buffer Solution Tween20 تریس، ۱۴۰ میلی مولار کلرید سدیم، ۱٪ تووین ۲۰ و PH=۷/۴) حاوی ۳٪ شیر خشک بلوكه گردیده است. غشاها نیتروسلولز یک شب در  $4^{\circ}\text{C}$  با آنتی بادی ضد کموکین ۱ IP-10/Mob-1 (کمپانی کموکین آمریکا) انکوبه شد. متعاقباً روز بعد پس از





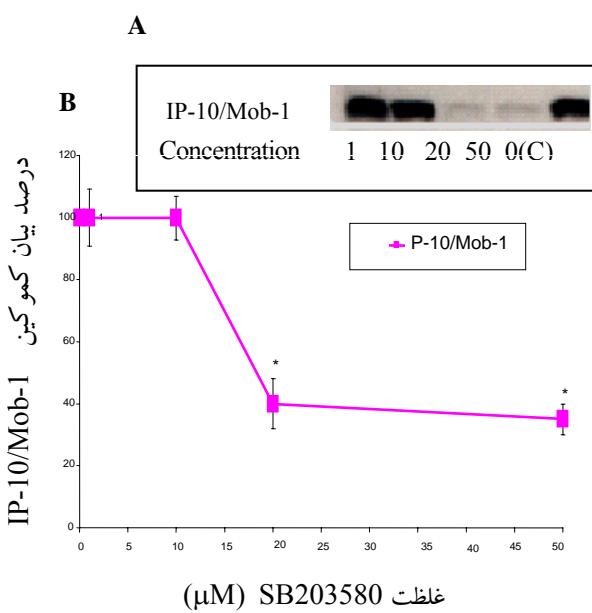
شکل ۳. بیان CXC کموکین IP-10/Mob-1 به وسیله هپاتوسيتها در حضور و غیاب MG132

(A) تصویر ایمنوبلاتینگ از پروتئین IP-10/Mob-1 در سلولهای کنترل و IP-10/Mob-1 در سلولهای تحت اثر غلطنهای مختلف (B) بیان IP-10/Mob-1 در سلول های کنترل (تحریک نشده با MG132) به عنوان IP-10/Mob-1/10 در سلول های کنترل (تحریک نشده با MG132) به عنوان بیان شده و سایر غلطنهای بخشی از این بیان می باشد ( $P < 0.05$ ). نسبت به کنترل.



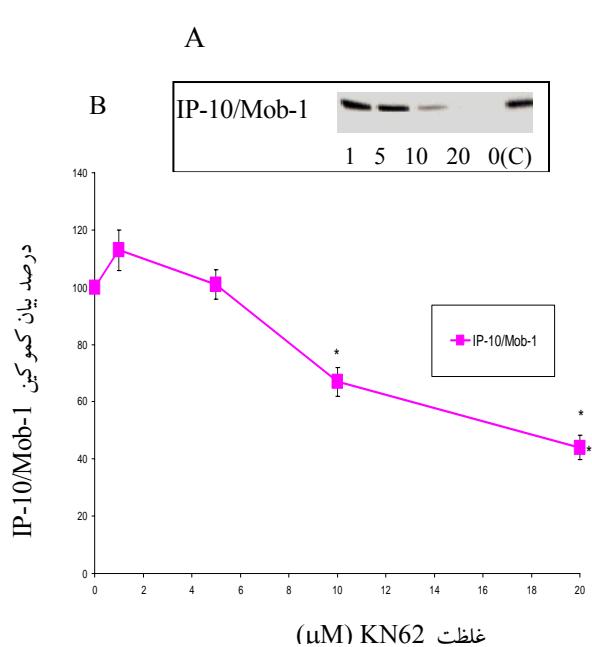
شکل ۱. بیان CXC کموکین IP-10/Mob-1 به وسیله هپاتوسيتها در حضور و غیاب استرسپورین

(A) تصویر ایمنوبلاتینگ از پروتئین IP-10/Mob-1 در سلولهای کنترل و در سلولهای تحت اثر غلطنهای مختلف IP-10/Mob-1 در سلولهای استرسپورین. (B) بیان IP-10/Mob-1 در سلول های کنترل (تحریک نشده با استرسپورین) به عنوان بیان شده و سایر غلطنهای بخشی از این بیان می باشد ( $P < 0.05$ ). نسبت به کنترل.



شکل ۴. بیان CXC کموکین IP-10/Mob-1 به وسیله هپاتوسيتها در حضور و غیاب SB203580

(A) تصویر ایمنوبلاتینگ از پروتئین IP-10/Mob-1 در سلولهای کنترل و در سلولهای تحت اثر غلطنهای مختلف (B) بیان IP-10/Mob-1 در سلول های کنترل (تحریک نشده با SB203580) به عنوان بیان شده و سایر غلطنهای بخشی از این بیان می باشد ( $P < 0.05$ ). نسبت به کنترل.



شکل ۲. بیان CXC کموکین IP-10/Mob-1 به وسیله هپاتوسيتها در حضور و غیاب KN62

(A) تصویر ایمنوبلاتینگ از پروتئین IP-10/Mob-1 در سلولهای کنترل و در سلولهای تحت اثر غلطنهای مختلف (B) بیان IP-10/Mob-1 در سلول های کنترل (تحریک نشده با KN62) به عنوان بیان شده و سایر غلطنهای بخشی از این بیان می باشد ( $P < 0.05$ ). نسبت به کنترل.

## بحث

استفاده می کنند<sup>(۱۵,۱۶)</sup>. مطالعه دیگری نشان داده است که IP-10/Mob-1 و γ-IFN از مسیر NF-κB و ISRE را در سلولهای کبدی و سلولهای هپاتومای انسانی Huh-7 افزایش می دهند<sup>(۱۹)</sup> مطالعات دیگری که توسط همین محققین انجام شده است دخالت شوک حرارتی، اسмолاریته و کمبود اکسیژن را در بیان-1 IP-10/Mob-1 و کموکاین هایی نظیر GRO و SDF-α1 در هپاتوسیت ها و سلولهای هپاتوما H4 نشان داده این<sup>(۲۰)</sup> همانطور که می دانیم IP-10/Mob-1 دارای عناصر پاسخ دهنده به NF-κB در پرومотор خود می باشد، بنابراین دلیل عدم بیان MG132 IP-10/Mob-1 در حضور MG132 مشخص می شود<sup>(۱۰)</sup>. شاید این مسئله میزان اهمیت هر مسیر را در انتقال پیام منعکس کند. با این وجود ما در این مطالعه میزان بیان-1 IP-10/Mob-1 را در هپاتوسیت بررسی نمودیم و مطالعات بیشتری نیاز است تا بیان این کموکین و دیگر کموکینها را در سایر سیستمهای سلولی جهت مشخص شدن مسیرهای انتقال پیام بررسی نماید. در مطالعه ما SB203580 قادر به سرکوب بیان-1 IP-10/Mob-1 در غلاظتهای بالاتر از ۲۰ μM بود. این میزان غلاظت مهار کننده به کار رفته در تحقیق ما بر اساس مطالعات گذشته انتخاب شد به گونه ای که طی یک تحقیق یک میزان مشخص از مهار کننده استفاده شد و از ۱۰ μM روی کراتینوسیتهای اپیدرمال<sup>(۲۱)</sup> تا ۳۰ μM در سلولهای لوسمی انسانی و سلولهای مزانشیال<sup>(۲۲)</sup> استفاده شد. بنابراین، این مطالعات به همراه مطالعه ما نشان می دهد که برای عمل بازدارندگی SB203580 یک درجه ای از حساسیت بازدارندگی وجود دارد. در مورد سایر نتایج به دست آمده در این تحقیق در حضور مهار کننده KN62 در غلاظتهای بالاتر تولید IP-10/Mob-1 به وسیله هپاتوسیتها را مهار نمود به گونه ای که در غلاظتهای ۱۰ μM و ۲۰ μM بیان-1 IP-10/Mob-1 به میزان زیادی کاهش یافت اما در غلاظتهای پایین تر چنین اثری مشاهده نشد. همچنین استرسپورین در غلاظتهای ۵ μM و ۱۰ μM باعث یک کاهش قابل ملاحظه در بیان-1 IP-10/Mob-1 شد در حالی که در غلاظتهای پایین تر (۵-۱۵ μM) دارای چنین اثری نبود با بررسی به عمل آمده تابه حال هیچ تحقیقی در مورد حضور این مهار کننده ها گزارش نشده است.

در این مطالعه با ایجاد استرس ناشی از جداسازی بافت مسیرهای NF-κB، سرین/ترئونین کینازها، پروتئین کیناز وابسته به کلیسم/کالمودولین و  $P^{38}$  در انتقال پیام تحریکی (ناشی از استرس جداسازی از بافت) منجر به بیان-1 IP-10/Mob-1، مشاهده شد. همچنین در پژوهش ما بیان-1 IP-10/Mob-1 در سلولهای هپاتوسیت کشت شده اولیه به وسیله غلاظتهای بالاتر از ۲۰ μM از MG132 مهار شد. که این میزان غلاظت به کار گرفته شده براساس غلاظتهای به کار رفته در مطالعات گذشته انتخاب شد<sup>(۱۰)</sup> دیگر مطالعات روی هپاتوسیتها که نتایجی مشابه یافته های ما داشت، نشان می دهد که بیان-1 IP-10/Mob-1 در سلولهای تحت استرس ناشی از جدا سازی از بافت، به وسیله مسیر NF-κB تنظیم می شود<sup>(۱۵)</sup>. تا کنون هیچ مطالعه ای اثر MG132 را در مهار بیان کموکینها در هپاتوسیت ها بررسی نکرده است اما اثر MG132 روی مسیر NF-κB و بیان کموکین ها روی سایر سلول های نشان داده شده است همان طور که قبل اشاره شد این مهار کننده باعث مهار مسیر پیام رسانی از طریق مسیر وابسته به NF-κB می شود. سلولهای مختلف جهت انتقال پیام می توانند از مسیرهای مختلفی استفاده کنند که مسیر وابسته به NF-κB از آن جمله است<sup>(۸)</sup>. در مطالعاتی که این مسیر به اثبات رسیده است به نظر می رسد که پاسخ سینرژی سلولهای کراتینوسیت به TNF-α و γ-IFN به افزایش بیان-1 IP-10/Mob-1 در پاسخ به هر دو این سیتوکینها به دلیل وجود هر دو منطقه تنظیمی NF-κB و ISRE در پرومotor ژن IP-10/Mob-1 باشد<sup>(۱۶)</sup> همچنین نتایج تحقیقات نشان داده است که در سلولهای آسینار پانکراس، کوله سیتوکینین-۸ باعث افزایش بیان-1 IP-10/Mob-1 از مسیر NF-κB بوده است. به گونه ای که با مهار مسیر NF-κB، جلوی تجزیه کمپلکس NF-κB;IKB متوقف شد<sup>(۱۷)</sup> و نیز در مطالعه ای تحریک سلولهای مزانشیال IP-10/Mob-1 و γ-IFN نیز منجر به افزایش بیان-1 IP-10/Mob-1 از مسیر NF-κB گردیده است<sup>(۱۸)</sup>. باید مذکور شد که IP-10/Mob-1 کلیه با TNF-α و γ-IFN نیز به افزایش بیان-1 IP-10/Mob-1 از مسیر NF-κB گردیده است<sup>(۱۸)</sup>. برای STAT-1α و کمپلکس NF-κB از IFN-γ در سلولهای فیبروبلاست انسانی تحریک بیان-1 IP-10/Mob-1 در سلولهای فیبروبلاست انسانی

## سپاسگزاری

نویسنده‌گان مقاله از وزارت بهداشت و درمان جمهوری اسلامی ایران که حمایت مالی این پژوهه را به عهده داشته و از پرسنل و دانشجویان آزمایشگاه شماره ۲۰۳ دانشکده علوم زیستی دانشگاه منچستر که در مراحل انجام آزمایشات رهنمودهایی ارایه نموده اند، کمال سپاس و تقدیر را دارند.

## نتیجه گیری

با توجه به نتایج این تحقیق، به نظر می‌رسد در کمک بهتر مسیرهای انتقال پیام در بیماریهای مزمن کبد و همچنین درمان و پیشگیری از بیماریها می‌تواند کمک کننده باشد. همچنین پیشنهاد می‌شود مطالعه ای کلی و مروی از کلیه این مطالعات انجام تا میزان اهمیت هر مسیر را ذکر کند. در ضمن تحقیقات ییشتری در آینده نیاز است تا میزان بیان mRNA این کموکین توسط هپاتوسيتها در حضور بازدارنده‌های دارویی را اندازه گیری کند.

## References

- 1- Abdi R, Means TK, Luster A. *Chemokines in islet allograft rejection*. Diabetes Metabolism Research Reviews. 2003; 19, 186-190.
- 2- Luster AD, Ravetch JV. *Biochemical characterization of a gamma interferon-inducible cytokine (IP-10)*. J Exp Med. 1987 Oct 1; 166 (4): 1084-97.
- 3- Neville LF, Abdullah F, McDonell PM, Young PR, Feuerstein GZ, Rainovici R. *Mob-1 expression in IL-2-induced ARDS: regulation by TNF-alpha*. Am J Physiol. 1995 Dec; 269 (6 Pt 1): L884-90.
- 4- Ohmori Y, Tebo J, Nedospasov S, Hamilton TA. *Kappa B binding activity in a murine macrophage-like cell line. Sequence-specific differences in kappa B binding and transcriptional activation functions*. J Biol Chem. 1994 Jul 1; 269 (26): 17684-90
- 5- Ohmari Y, Wyner L, Narumi S, Armstrong D, Stoler M, Hamilton TA. *Tumor necrosis factor-alpha induces cell type and tissue-specific expression of chemoattractant cytokines in vivo*. Am J Pathol. 1993 Mar; 142 (3): 861-70.
- 6- Johnson LN, Moliner ED, Brown NR, Song H, Bradford D, Endicott JA, Noble MEM. *Structural studies with inhibitors of the cell cycle regulatory kinase cyclin-dependent protein kinase 2*. Pharmacol Ther. 2002 Feb-Mar; 93 (2-3): 113-24.
- 7- Matthias, P, Wymann, Marketa, Z, Muriel L. *Phosphoinositide 3-kinase signalling-which way to target?* Trends Pharmacol Sci. 2003 Jul; 24 (7): 366-76.
- 8- Hur GM, Ryu YS, Yun HY, Jeon BH, Kim YM, Seok JH, Lee JH. *Epatic ischemia/reperfusion in rats induces iNOS gene transcription by activation of NF-kappaB*. Biochem Biophys Res Commun. 1999; 261 (3): 917-22.
- 9- Joshi-Brave S, Brave SS, Butt W, Klein J, McClain CJ. *Inhibition of proteasome function leads to NF-kappaB-independent IL-8 expression in human hepatocytes*. Hepatology. 2003; 38 (5): 1178-87.
- 10- Blinman TA, Gukovsky I, Mouria M, Zaninovic V, Livingston E, Pandol SJ, Gukovskaya AS. *Activation of pancreatic acinar cells on isolation from tissue: cytokine upregulation via p38 MAP kinase*. Am J Physiol Cell Physiol. 2000 Dec; 279 (6): C1993-2003.
- 11- Lee JC, Kassis S, Kumar S, Badger A, Adams JL. *P38 mitogen-activated protein kinase inhibitors--mechanisms and therapeutic potentials*. Pharmacol Ther. 1999 May-Jun; 82 (2-3): 389-97.
- 12- Davies SP, Reddy H, Caivano M, Cohen P.

- Specificity and mechanism of action of some commonly used protein kinase inhibitors.* Biochem J. 2000 Oct 1; 351 (Pt 1): 95-105.
- 13- Varley CL, Armitage S, Hassanshahiraviz G, Dickson AJ. *Regulation of the C-X-C chemokine, mob-1, gene expression in primary rat hepatocytes.* Cytokine. 2003; 23: 640-75.
- 14- Cho JY, Katz DR, Chain BM. *Staurosporine induces rapid homotypic intercellular adhesion of U937 cells via multiple kinase activation.* Br J Pharmacol. 2003 Sep; 140 (2): 269-76. Epub 2003 Aug 26.
- 15- Majumder S, Zhou LZH, Chaturvedi P, Babcock G, Aras S, Ransohoff RM. *Regulation of human IP-10 gene expression in astrocytoma cells by inflammatory cytokines.* J Neurosci Res. 1998 Oct 15; 54 (2): 169-80.
- 16- Romagnani P, Lazzeri E, Lasagni L, Mavilia C, Beltrame C, Francalanci M, Rotondi M, Annuziaton F, Maurenzig L, Cosmi L, Galli G, Salvadiri M, Maggi E, Serio M. *IP-10 and Mig production by glomerular cells in human proliferative glomerulonephritis and regulation by nitric oxide.* J Am Soc Nephrol. 2002 Jan; 13 (1): 53-64.
- 17- Helbig KJ, Ruszkiewicz A, Semendric L, Harley HAJ, McColl SR, Beard MR. *Expression of the CXCR3 ligand I-TAC by hepatocytes in chronic hepatitis C and its correlation with hepatic inflammation.* Hepatology. 2004 May; 39 (5): 1220-9.
- 18- Koniaris LG, Koniaris TZ, Hsiao EC, Chavin K, Stizmann J, Farber JM. *Cytokine-responsive gene-2/IFN-inducible protein-10 expression in multiple models of liver and bile duct injury suggests a role in tissue regeneration.* Journal of Immunology. 2001; 167: 399-406.
- 19- Hassanshahi GH , Patel SS, Jafarzadeh AA. *Expression of CXC chemokine IP-10/Mob-1 by primary hepatocytes following heatshock.* Saudi Med J. 2007 Apr;28(4):514-8.
- 20- Dillman III JF, McGary KL, Schlager JJ. *An inhibitor of p38 MAP kinase downregulates cytokine release induced by sulfur mustard exposure in human epidermal keratinocytes.* Toxicol In Vitro. 2004 Oct; 18 (5): 593-9.
- 21- Ishi Y, Sakai S, Honma Y. *Pyridinyl imidazole inhibitor SB203580 activates p44/42 mitogen-activated protein kinase and induces the differentiation of human myeloid leukemia cells.* Leuk Res. 2001 Sep; 25 (9): 813-20.