Semnan University of Medical Sciences

KOOMESH

Journal of Semnan University of Medical Sciences

Volume 21, Issue 1 (Winter 2019), 1-204

ISSN: 1608-7046

Full text of all articles indexed in:
Scopus, Index Copernicus, SID, CABI (UK), EMRO, Iranmedex, Magiran, ISC, Embase

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-05-03]

بررسی اثرات سینرژیسم IL-4 و RANKL روی بقا مونوسیت‌های خون محیطی بیماران مبتلا به ژانت سل گرانولوما

لیلا محامد خسروشاهی[۱](M.Sc)، علی محمدی[۱](M.Sc)، صونا رفیعیان[۲](DDS, MS)، علی آغبالی[۳](DDS, MS)، علی عاقبتی[۱و۴](Ph.D)، علی فتوحی[۵](M.Sc)، لیلی عاقبتی ملکی[۱و۴*](Ph.D)، بهزاد برادران[۱](Ph.D)

۱-مرکز تحقیقات ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۲-گروه آسیب‌شناسی دهان و فک و صورت، دانشکده دندان‌پزشکی زنجان، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران

۳-گروه آسیب‌شناسی دهان و فک و صورت، دانشکده دندان‌پزشکی تبریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۴-کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز،تبریز، ایران

۵-گروه ارتوپدی، دانشکده پزشکی شهید بهشتی، دانشگاه‌علوم‌پزشکی‌شهیدبهشتی، تهران، ایران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۴۳۲۱۲۲۹۶ leili_aghebati_maleki@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۴/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۴/۶

چکیده

هدف: ژانت سل گرانولوما ضایعه شبه تومور واکنشی استخوان فک می‌باشد که مشخصه آن پرولیفراسیون بافت گرانولیشن دارای سلول‌های ژانت چندهسته‌ای فراوان می‌باشد. با توجه به نقش مهم IL-4 و RANKLدر پاتوزنز بیماری و ایجاد بستر برای مهاجرت سلول‌های بدخیم به مغز استخوان، در این مطالعه اثرات سینرژیسم این دو فاکتور را در بقا مونوسیت‌های جداشده از خون محیطی بیماران مبتلا به ژانت سل گرانولوما در مقایسه با افراد سالم را مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: پس از خون‌گیری از بیماران مبتلا به ژانت سل گرانولوما و افراد سالم، سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی توسط گرادیانت شیب غلظت فایکول استخراج و مونوسیت‌ها توسط کیت جداسازی مونوسیتی انسانیII جداسازی شدند. مونوسیت‌های جدا شده به مدت پنج روز با غلظت‌های۱۰،۲۰ng/ml از IL-4 و RANKL تیمار شدند و پس از بررسی‌های مورفولوژیکی توسط میکروسکوپ اینورت، آزمون MTT روی بقا مونوسیت‌ها پس از مواجهه با سایتوکاین‌های مذبور انجام شد.

یافته‌ها:نتایج نشان‌دهنده تفاوت در بقا مونوسیت‌ها در مقایسه بین گروه بیمار و گروه سالم پس از طی دوره تیمار بود. از طرف دیگر، در هر دو گروه بیمار و سالم تعداد سلول‌های تیمار شده در مقایسه با گروه‌های کنترل فاقد تیمار بیش‌تر بود که در گروه‌های تحت تیمار شواهد مورفولوژیکی بیان‌گر تغییر به نفع تشکیل ژانت سل‌ها وجود داشت. هر دو فاکتور IL-4 و RANKL موجب افزایش بقا مونوسیت‌ها در مقایسه با گروه کنترل شده بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر، افزایش بقا و هم‌چنین تعداد مونوسیت‌های جدا شده از خون محیطی بیماران مبتلا به ژانت سل گرانولوما را توسط فاکتور IL-4 و RANKL همراه با ایجاد مورفولوژی ژانت سل نشان می‌دهد. این نتایج بیانگر دخالت IL-4 و RANKL در بدخیمی مرتبط با بیماری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: IL-4، RANKL، مونوسیت،و ژانت سل گرانولوما

مقدمه

ژانت سل گرانولوما (Giant cell granuloma) ضایعه‌ای غیر نئوپلاستیک با پرولیفراسیون بافت گرانوله دارای سلول‌های ژانت چند هسته‌ای فراوان می‌باشد که در لثه، مخاط آلوئول داخل استخوان‌های ماگزیلا (Maxilla) و مندیبل(Mandible) دیده می‌شود و به دو دسته مرکزی و محیطی تقسیم می‌شود [۱]. نوع مرکزی این ضایعه به‌عنوان یک ضایعه داخل استخوانی نسبتاً مهاجم خوش‌خیم ایدیوپاتیک که بیش‌تر در فک‌ها ایجاد می‌شود [۲] و نوع محیطی آن تکثیر شبه تومور نسبتاً شایع حفره دهان است که بیش‌تر ضایعه واکنشی می‌باشد. تا امروز مطالعات زیادی در مورد اتیولوژی و چگونگی پیدایش سلول‌های ژانت انجام گرفته است [۳] و نظرات متفاوتی در مورد منشأ این سلول‌ها مبنی بر استئوکلاست یا ماکروفاژ وجود دارد [۴] که نظریه مونوسیت- ماکروفاژ بیش‌تر مورد قبول است [۵،۴]. تبدیل رده سلولی ماکروفاژی- مونوسیتی به سلول‌های ژانت طی مراحلی انجام می‌گیرد[۶] و

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-05-03]

این مسأله تحت تأثیر فاکتورهای متعددی از جمله اینترلوکین‌هایی مثل اینترلوکین ۳، اینترلوکین ۴ و اینترلوکین ۱۳ [۸،۷] صورت می‌گیرد. در مطالعات زیادی تأثیر IL-4 بر تشکیل ژانت سل‌ها مورد تأیید قرار گرفته است. [۹-۱۱] اینترلوکین ۴ به عنوان سایتوکاین مهمی در تمایز و عملکرد رده مونوسیت- ماکروفاژ ایفای نقش می‌کند [۹] و شواهد زیادی مبنی بر حضور این سایتوکاین در تشکیل ژانت سل‌ها وجود دارد [۱۲]. اینترلوکین ۴ با تنظیم بیان E-کادهرین در سطح سلول منجر به تقویت چسبندگی اتصالات سلولی به نفع تشکیل ژانت سل‌ها می‌شود [۹].

RANK (Receptor activator of nuclear factorkappa-B ligand) یک پروتئین ترانس ممبران بوده و عضو خانواده فاکتور نکروزدهنده تومور (TNF) می‌باشد [۱۳]. RANKL لیگاندهایی هستند که با اتصال به گیرنده‌های سطح سلولی RANK موجب فعال‌سازی این رسپتورها می‌شوند. واکنش بینRANK و RANKL باعث فعال شدن مسیرهای داخل سلولی می‌شود که در فرایندهایی مانند تکثیر سلولی و آپوپتوز و تمایز سلول‌ها دخیل است [۱۴]. این پروتئین‌ها توسط ژانت سل‌های بالغ بیان می‌شوند و بیانشان در سطح ژانت سل‌ها نسبت به مونوسیت‌ها به مقدار زیادی بیش‌تر می‌باشد [۱۰]. در واقع میزان بیان پروتئین RANK مدرکی دلیل بر تبدیل مونوسیت‌ها به ژانت سل‌ها می‌باشد [۱۵]. ولی هنوز مطالعات بیش‌تر در مورد تأثیرRANKL و نقش آن در ایجاد و بقا ژانت سل گرانولوما انجام نگرفته است و در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت [۱۶]. از زمان شناساییانواع مهاجم و غیر مهاجم ضایعات توسط Chuong و همکارانش تا امروز تلاش‌های زیادی برایافتن روش‌هایی جهت پیش‌بینی رفتار بیولوژیک ضایعات بر اساس تابلوی هیستوپاتولوژی صورت گرفته است که این می‌تواند بر نحوه درمان و پروگنوز ضایعات اثر داشته باشد. عواملی مانند سایز سلول‌های ژانت، نسبت سطح اشغال شده توسط آن‌ها [۱۷]، مقدار متوسط DNA [۱۸] و الگوی توزیع این سلول‌ها [۱۹] مورد مطالعه قرار گرفته‌اند که نتایج معنی‌دار پایدار گزارش نشده، به دلیل اهمیت حضور مونوسیت‌ها در بدخیمی‌های مرتبط با ژانت سل گرانولوما و نقش کلیدی IL-4 در عملکرد و بقا این سلول‌ها و هم‌چنین نقش شاخص RANK در متاستاز سلول‌های بدخیم به خصوص به مغز استخوان در این مطالعه بر آن شدیم نقش این فاکتورها را در بقا و مورفولوژی مونوسیت‌ها مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

از پنج بیمار مبتلا به ژانت سل گرانولوما به عنوان گروه آزمایش و پنج فرد سالم به عنوان گروه کنترل خونگیری به عمل آمد (مطابق با ضوابط کمیته اخلاق علوم پزشکی تبریز). جهت جداسازی مونوسیت‌ها ابتدا کل سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی جداسازی شدند، به این منظور ۵۰ میلی‌لیتر خون به روش معمول خونگیری از ورید مدین کوبیتال ناحیهآرنج با استفاده از سرنگG۲۰و لوله فالکون ۵۰ میلی‌لیتری جمع‌آوری شده و بلافاصله به زیر هود لامینار منتقل شدند. نمونه خون هپارینه جمع‌آوری شده به نسبت ۱ به ۳ با بافر PBS رقیق شد و توسط گرادیانت شیب غلظت (Histopaque density gradient-1077, sigma-aldrich) در دورg۵۰۰به مدت ۲۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMC) استخراج شده، سه مرتبه با بافر PBS شستشو شده و سپس مونوسیت‌ها توسط کیت (Monocyte Isolation Kit II-MiltenyBiotec, Auburb, CA) طی مراحل زیر جداسازی شدند. به رسوب PBMC ها ۵۰۰ µLبافر MACSاضافه شد، در مرحله بعدµL۱۰۰از محلول شماره یک(Biotin Antibody Cocktail) و µL۱۰۰محلول بلاک‌کننده FCR اضافه و سوسپانسیون سلولی به مدت ده دقیقه در دمای ۴ درجه انکوبه گردید. در مرحله بعد ۲۵۰ µL بافر و µL۲۵۰ میکروبیدهای Anti-Biotin روی سوسپانسیون سلولی افزوده و پس از انکوباسیون سلول‌ها به مدت ۵۰ دقیقه در دمای ۴ درجه، ۵Ml از بافرMACS به روی نمونه اضافه و به مدت۱۲ دقیقه در دورg۲۵۰سانتریفیوژ شد. رسوب سلولی در ۵۰۰ µL بافر MACS حل شده و وارد ستون‌های جداسازی مغناطیسی LS گردید. ستون توسط ۱۰Mlاز بافر شسته شده و مونوسیت‌ها جمع‌آوری گردیدند. سوسپانسیون مونوسیت‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دور g۲۵۰سانتریفیوژ و مونوسیت‌های جدا شده در فلاسک‌های حاوی محیط کشت RPMI همراه با ۱۵ درصد FBS، L۲Mm گلوتامین، ۱۰۰units/ml پنی‌سیلین/استرپتومایسین تیمار گردید.

برای ادامه کار گروه‌های مورد مطالعه به ترتیب زیر طراحی گردیدند:

گروه‌های مبتلا به بیماری ژانت سل گرانولوما:

۱- گروه تحت تیمار با دوزهای ۱۰،۲۰ ng/mlاز IL-4 (R & D Systems, Minneapolis, MN)
۲- گروه تحت تیمار با دوزهای ۱۰،۲۰ng/mlاز RANKL (R & D Systems, Minneapolis, MN)
۳- گروه‌های تحت تیمار همزمان با دوزهای ۱۰،۲۰ng/mlRANKLوIL-4
۴- گروه کنترل بدون تیمار

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-05-03]

گروه‌های کنترل

۱- گروه تحت تیمار با دوزهای۱۰،۲۰ng/mlاز IL-4

۲- گروه تحت تیمار با دوزهای۱۰،۲۰ ng/mlاز RANKL

۳- گروه‌های تحت تیمار هم‌زمان با دوزهای IL-4وRANKL۱۰،۲۰ng/ml

۴- گروه کنترل بدون تیمار

هریک از غلظت‌ها به‌صورت مستقل سه مرتبه تکرار شدند.

پس از رسیدن سلول‌های کشت داده شده به تعداد مورد نظر سلول‌ها از کف فلاسک جدا شده و در۱۳۰۰ rpmبه مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردیدند. بعد از شستشوی سلول‌ها، مایع رویی سلول‌ها را خارج نموده و رسوب سلولی باز شد. سپس با استفاده از لام هموسایتومتر تعداد سلول‌ها شمارش گردید. در طول آزمایش از میکروسکوپ معکوس جهت ارزیابی مورفولوژی سلول‌ها استفاده شد.

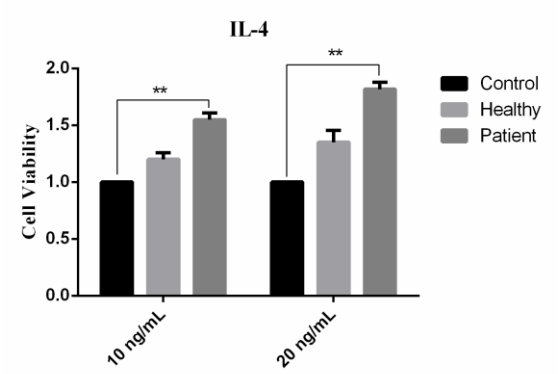
۲۰۰میکرولیتر از سوسپانسیون سلول حاوی ۱۵×۱۰^{۳} سلول در هر چاهک از پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای پخش گردید. پلیت به مدت ۲۴ ساعت داخل انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده شد تا سلول‌ها به کف پلیت متصل شوند. در مرحله بعد سلول‌ها به صورت سه تایی با استفاده از غلظت‌های۱۰،۲۰ ng/mlاز RANKLو IL-4 و داروی تاکسول به عنوان کنترل مثبت به مدت پنج روز تیمار شدند.

پس از طی مدت زمان تیمار و بررسی مورفولوژی سلول‌ها توسط میکروسکوپ اینورت، میزان بقا سلولی توسط آزمون MTT مورد بررسی قرار گرفت. بعد از گذشت زمان انکوباسیون، کل محیط کشت رویی سلول‌ها خارج شده و ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت کامل همراه با ۵۰ میکرولیتر محلول (۲MTT mg/ml) به هر چاهک اضافه گردید و سلول‌ها به مدت ۴ ساعت در انکوباسیون ۳۷ درجه همراه با CO2 انکوبه شدند. سپس محیط داخل چاهک‌ها خارج شدند و ۲۰۰ میکرولیترDMSO همراه با ۲۵ میکرولیتر از بافر سورنسون به هر چاهک اضافه شد و پلیت به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه و جای تاریک انکوبه شد. جذب پلیت‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط الایزا ریدر قرائت گردید.

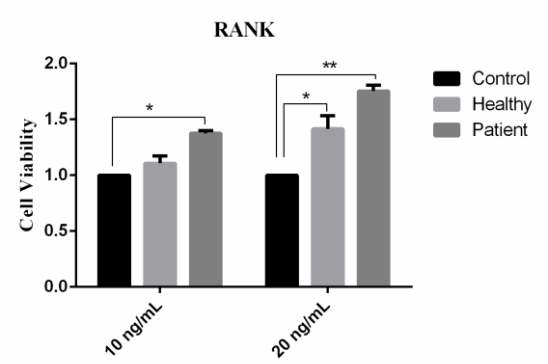
آنالیز آماری. آنالیز آماری توسط نرم‌افزار Graph-Pad Prism (GraphPad, San Diego, CA) صورت گرفت. آنالیزهای آماری ما بین دو گروه توسط Student's test و ما بین کل گروه‌ها توسط One-way ANOVA انجام شد. نتایج حاصل از میانگین± انحراف معیار می‌باشد و از سه تکرار مستقل از هم می‌باشد. p≤۰/۰۵به عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

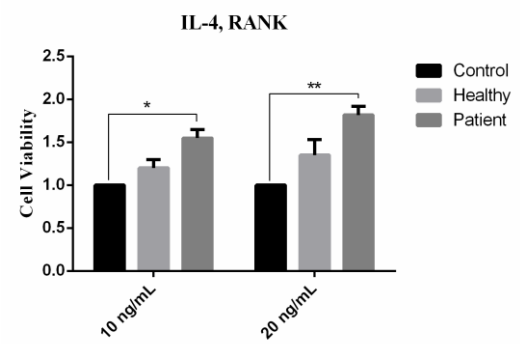
مونوسیت‌های جدا شده از خون محیطی طی روش به کار رفته، پس از بررسی توسط فلوسایتومتری با محاسبه سلول‌های CD14 + خلوصی بیش از ۹۰ درصد داشتند. نتایج آزمون MTT اقزایش بقا مونوسیت‌های جدا شده از بیماران مبتلا به ژانت سل گرانولوما و گروه کنترل را در هر دو دوز ۱۰،۲۰ ng/mlنشان داد که این افزایش به صورت وابسته به دوز بوده و در غلظت ۲۰ng/ml به صورت معناداری بیش‌تر از غلظت ۱۰ ng/mlبود.



شکل ۱. تاثیر غلظت های ۱۰ و ۲۰ng/ml از IL-4 روی مونوسیت های جدا شده از بیماران مبتلا به ژانت سل گرانولوما و مقایسه آن با افراد سالم. نتایج حاصل میانگین±SD با سه تکرار می باشد. *p≤0.05 **p≤0.01



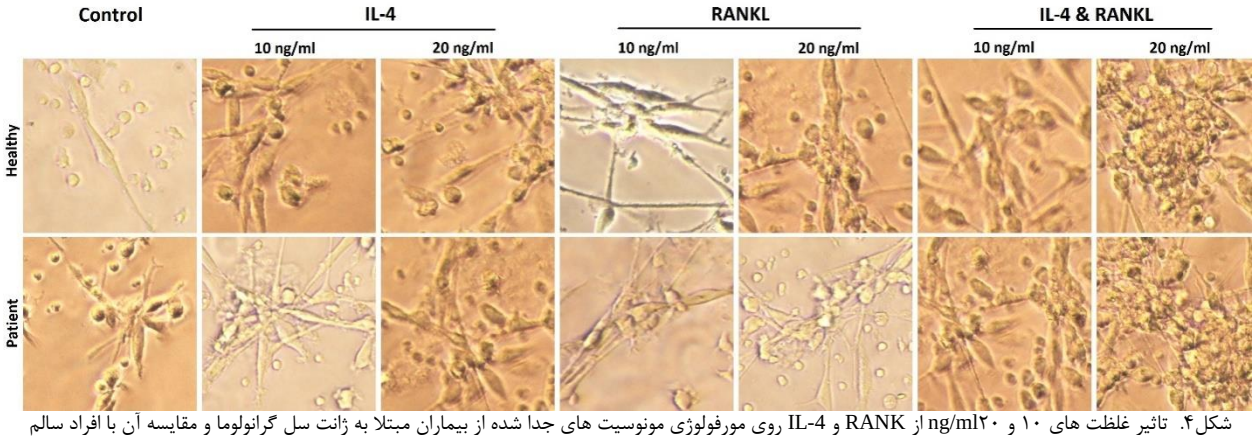
شکل ۲. تاثیر غلظت های ۱۰ و ۲۰ng/ml از RANK روی مونوسیت های جدا شده از بیماران مبتلا به ژانت سل گرانولوما و مقایسه آن با افراد سالم. نتایج حاصل میانگین±SD با سه تکرار می باشد. *p≤0.05 **p≤0.01



شکل ۳. تاثیر همزمان غلظت های ۱۰ و ۲۰ng/ml از RANK و IL-4 روی مونوسیت های جدا شده از بیماران مبتلا به ژانت سل گرانولوما و مقایسه آن با افراد سالم. نتایج حاصل میانگین±SD با سه تکرار می باشد. *p≤0.05 **p≤0.01

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-05-03]

هم‌چنین نتایج نشان دادند IL-4 به صورت معنادارتری نسبت به RANKL منجر به افزایش قابلیت بقا در مونوسیت‌ها شده است. از طرف دیگر نتایج حاصله بیان‌گر این موضوع می‌باشد که مونوسیت‌های بیماران مبتلا به ژانت سل گرانولوما در دوزهای ذکر شده بقا بیش‌تری نسبت به گروه کنترل داشته‌اند. نکته جالب توجه در این نتایج مربوط به مورفولوژی مونوسیت‌های جدا شده از بیماران و گروه کنترل بود، بررسی مورفولوژی سلول‌ها توسط میکروسکوپ اینورت نشان‌دهنده تمایز مونوسیت‌ها به نفع تشکیل سلول‌های چند هسته‌ای و غول پیکر بود که این حالت در مبتلایان به ژانت سل گرانولوما مشهودتر بوده و در غلظت ۲۰ ng/mlبه نسبت بیش‌تری دیده شد.



شکل۴. تاثیر غلظت های ۱۰ و ng/ml۲۰ از RANK و IL-4 روی مورفولوژی مونوسیت های جدا شده از بیماران مبتلا به ژانت سل گرانولوما و مقایسه آن با افراد سالم

بحث و نتیجه‌گیری

ژانت سل گرانولوما (giant cell granuloma) ضایعه‌ای است که با پرولیفراسیون بافت گرانولیشن باعث ایجاد عوارضی در استخوان‌ها می‌شود [۲]. به دلیل شیوع نسبتاً بالای این بیماری انجام مطالعات بیش‌تر و دقیق‌تر برای شناخت نحوه تشکیل و فاکتورهای دخیل در پیدایش سلول‌هایژانت سل و چگونگی مهار آن‌ها ضرورت می‌یابد.

Konodo و همکارانش در مطالعه‌ای اثرات سایتوکاین‌های مختلفی مثل TNF، IFN، IL-4،GM-CSFو M-CSF روی تشکیل ژانت سل‌ها را بررسی کرده و گزارش کردند که بیش‌ترین اثر تحریکی در تشکیل ژانت سل‌ها مربوط به IL-4 می‌باشد. مطالعه مسیرهای داخل سلولی نمود که IL-4 از طریق القا فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانیNF-κB عمل می‌کند. طوری که با مهار مسیر سیگنالینگNF-κB توسط مهارکننده‌های اختصاصی اثر القاییIL-4در تشکیل ژانت سل گرانولوما از بین می‌رود [۱۱].

Monero و همکارانش نقش IL-4 در ایجاد ژانت سل‌ها را مربوط به اثر تحریکی این سایتوکاین در القای بیان E-cadherin گزارش کردند [۹].

مطالعه قبلی انجام شده توسط دکتر آغبالی و همکارانش بیانگر این بود که IL-4با القا بیانIntegrinβ5 در تشکیل ژانت سل‌ها نقش دارد و اثرات القایی IL-4 در نمونه‌های کشت سلولی مبتلایان به ژانت سل گرانولوما بیش‌تر از افراد سالم بود [۱۵] که این نتایج کاملاً همسو با نتایج ما در بررسیمورفولوژی سلول‌ها پس از تیمار با IL-4 و RANKL بود در واقع این دو فاکتور با برقراری اتصالات بین سلولی بستر را برای تحریک ایجاد ژانت سل‌ها فراهم نموده‌اند. و همان‌طور که در نتایج ذکر شد این تاثیر در دوزهای بالاتر و هم‌چنین در نمونه‌های بررسیاثر سینرژیسم به مراتب معنی‌دارتر و واضح‌تر بود.

ما در این مطالعه اثر IL-4 را در دوزهای ۱۰،۲۰ng/ml روی بقا مونوسیت‌ها در گروه بیماران مبتلا به ژانت سل گرانولوما و افراد سالم مورد بررسی قرار دادیم که نتایج نشان دادند مونوسیت‌های جدا شده از بیماران مبتلا به ژانت سل گرانولوما بقا بیش‌تری را در مقایسه با گروه کنترل دارند و این می‌تواند به علت تغییراتی باشد که در الگوی سایتوکاینی مبتلایان داخل بدن صورت گرفته است.

به نظر می‌رسد RANKL علاوه بر دخالت در مهاجرت مونوسیت‌ها اثر تحریکی در تکثیر این سلول‌ها داشته است. مطابق مطالعه انجام شده توسط Minjun مجاورت مونوسیت‌های جدا شده از بیماران با RANKL موجب افزایش بیان RANK در سطح سلول شده و این پروسه روند مهاجرت مونوسیت‌ها را افزایش خواهد داد. در واقع می‌توان به این صورت بیان نمود که RANKL با افزایش تکثیر در مونوسیت‌ها و تحریک مهاجرت در پاتوژنز بیماری ژانت سل گرانولوما نقش دارد که این نتایج همسو با بررسی انجام شده توسط Lim و همکارانش [۲۰] و هم‌چنینHuang و همکارانش [۲۱]می‌باشد که به بیانRANK در ضایعات مهاجم و ژانت سل تومورها اشاره کرده‌اند.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-05-03]

مطالعه حاضر با بررسی اثر سینرژیسم دوزهای ۱۰،۲۰ng/ml از IL-4 و RANKL روی مونوسیت‌های خون محیطی بیماران مبتلا به ژانت سل گرانولوما و مقایسه آن با افراد سالم نشان داد که مونوسیت‌های جدا شده از مبتلایان به ژانت سل گرانولوما در مجاورت هم‌زمان این دو فاکتور قدرت بقا بالاتری دارند. به نظر می‌رسد این ویژگی مربوط به ریزمحیط سایتوکاین‌هایی است که در بدن بیماران مبتلا به ژانت سل گرانولوما وجود دارد و مواجهه با فاکتورهای تحریکی IL-4 و RANKL باعث تشدید مقاومت مونوسیت‌ها نسبت به گروه کنترل شده است. با توجه به نتایج داده‌ها IL-4 و RANK را می‌توان به عنوان هدف درمانی در محدود کردن سلول‌های ژانت بیان نمود.

تشکر و قدردانی

از دانشگاه علوم پزشکی تبریز بابت حمایت از این طرح تشکر و قدرانی می شود.

منابع

[1] Spraggs P, Roth J, Young-Ramsaran J, Goodwin WJ. Giant cell reparative granuloma of the maxilla.Ear Nose Throat J 1997; 76:445-446, 449.

[2] Tsichlaki A, George KS, Manisali M. An unusual presentation of a maxillary central giant cell granuloma.J Surg Case Rep 2012; 2012:7.

[3] Pogrel AM. The diagnosis and management of giant cell lesions of the jaws.Ann MaxillofacSurg2012; 2:102-106.

[4] Vignery A. Osteoclasts and giant cells: macrophage-macrophage fusion mechanism. Int J ExpPathol2000; 81:291-304.

[5] Khoramian S, Poureslami H, Mohammadi B. Central giant cell granuloma: (A Case Report). J RafsanjanUniv Med Sci 2012; 11:503-510. (Persian).

[6] Gordon S, Taylor PR. Monocyte and macrophage heterogeneity. Nat Rev Immunol2005;5:953-964.

[7] Pak F, Barati M, Shokrolahi M, Kokhaei P. Tumor immunology and tumor escape mechanisms from immune response. Koomesh 2014; 15:412-430. (Persian).

[8] Lorenzo J, Horowitz M, Choi Y. Osteoimmunology: interactions of the bone and immune system. Endocr Rev 2008; 29:403-440.

[9] Moreno JL, Mikhailenko I, Tondravi MM, Keegan AD. IL-4 promotes the formation of multinucleated giant cells from macrophage precursors by a STAT6-dependent, homotypic mechanism: contribution of E-cadherin. J LeukocBiol 2007; 82:1542-1553.

[10] Yu M, Qi X, Moreno JL, Farber DL, Keegan AD. NF-kappaB signaling participates in both RANKL- and IL-4-induced macrophage fusion: receptor cross-talk leads to alterations in NF-kappaB pathways. J Immunol 2011; 187:1797-1806.

[11] Mirmohammadkhani O, Motahari P, Ghanadan A, Chahardehi R, Mirmohammadkhani M. Activated leukocyte cell adhesion molecule expression in oral squamus cell carcinoma and its association with clinical and histopathologic parameters. Koomesh 2013; 14:350-356.

[12] Moreno JL, Kaczmarek M, Keegan AD, Tondravi M. IL-4 suppresses osteoclast development and mature osteoclast function by a STAT6-dependent mechanism: irreversible inhibition of the differentiation program activated by RANKL. Blood 2003; 102:1078-1086.

[13] Breuil V, Schmid-Antomarchi H, Schmid-Alliana A, Rezzonico R, Euller-Ziegler L, Rossi B. The receptor activator of nuclear factor (NF)-kappaB ligand (RANKL) is a new chemotactic factor for human monocytes. FASEB J 2003; 17:1751-1753.

[14] Hoffmann A, Baltimore D. Circuitry of nuclear factor kappaB signaling. Immunol Rev2006;210:171-186.

[15] Aghbali A, Rafieyan S, Mohamed-Khosroshahi L, Baradaran B, Shanehbandi D, Kouhsoltani M. IL-4 induces the formation of multinucleated giant cells and expression of beta5 integrin in central giant cell lesion. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2017; 22:e1-e6.

[16] Regezi JA. Comments on the pathogenesis and medical treatment of central giant cell granulomas.J Oral MaxillofacSurg 2004;62:116-118.

[17] Kruse-Lösler B, Diallo R, Gaertner C, Mischke KL, Joos U, Kleinheinz J. Central giant cell granuloma of the jaws: a clinical, radiologic, and histopathologic study of 26 cases. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod 2006; 101:346-354.

[18] Eckardt A, Pogrel MA, Kaban LB, Chew K, Mayall BH. Central giant cell granulomas of the jaws: nuclear DNA analysis using image cytometry. Int J Oral MaxillofacSurg 1989; 18:3-6.

[19] Whitaker SB, Waldron CA. Central giant cell lesions of the jaws: a clinical, radiologic, and histopathologic study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1993; 75:199-208.

[20] Lim L, Gibbins JR. Immunohistochemical and ultrastructural evidence of a modified microvasculature in the giant cell granuloma of the jaws. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod 1995; 79:190-198.

[21] Huang L, Xu J, Wood DJ, Zheng MH. Gene expression of osteoprotegerin ligand, osteoprotegerin, and receptor activator of NF-κB in giant cell tumor of bone: possible involvement in tumor cell-induced osteoclast-like cell formation. Am J Pathol 2000; 156:761-767.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-05-03]

Effects of IL-4 and RANKL synergism on survival of peripheral blood monocytes in patients with giant cell granuloma

Leila Mohamed Khosroshahi(M.Sc)[1], Ali Mohammadi(M.Sc)[*1], SonaRafieyan(DDS, MS)[2], Ali Aghbali(DDS, MS)[3], Ali Aghebati(Ph.D)[1,4], Ali Fotouhi (M.D)[5], leiliAghebati-Maleki (Ph.D)[1,4*], BehzadBaradaran (Ph.D)[1]

1- Immunology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
2- Dept. of Oral and Maxillofacial Pathology, Faculty of Dentistry, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran
3- Dept. of Oral and Maxillofacial Pathology, Faculty of Dentistry, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
4- Student Research Committee, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
5- Dept. of Orthopedic Surgery, Faculty of Medicine, ShahidBeheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

* Corresponding author. +98 *9143212296* leili_aghebati_maleki@yahoo.com Received: 19 Jul 2017; Accepted: 27 Jun 2018

***Introduction**:* Giant cell granuloma is a non-neoplastic lesion that is characterized by the fact that granulation tissue proliferation has many multiples of giant cells.Considering the role of IL-4 and RANKL in the pathogens of the disease in this study, we investigated the synergism effects of these two factors on the survival of monocytes isolated from peripheral blood in patients with giant cell granuloma compared with healthy subjects.

***Materials and Methods**:* After blood collection of patients with giant cell granuloma and healthy individuals, peripheral blood mononuclear cells were isolated by ficoll density gradient centrifugation and the monocytes were isolated using human Monocyte Isolation Kit II. Isolated monocytes were then cultured in the absence or presence of IL-4 and RANKL (10 and 20 ng/mL) for five days. After morphological examination by inverted microscope, following MTT assay was performed to determine proliferation.

Results: The results showed a difference in the survival of monocytes in comparison between the patient group and the healthy group after the treatment period. On the other hand, in both patient and healthy groups, the number of treated cells was higher in comparison to untreated control groups, which in the groups treated with morphological evidence showed a change in favor of the formation of giant cells. Both IL-4 and RANKL factors increased the survival of monocytes in comparison with the control group.

Conclusion: The results of this study showed the increased survival and the number of monocytes isolated from peripheral blood in patients with giant cell granuloma by IL-4 and RANKL factors, with the creation of morphology of giant cell. These results indicate that IL-4 and RANKL factors are involved in the onset of malignant disease.

***Keywords**:* IL-4, Monocyte, RANKL, Giant Cell Granuloma.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-05-03]