



Research Article

Investigating the Expression of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Gene Related to Angiogenesis and Interleukin-10 in Experimental Breast Tumor Model

Rana Noruozi Kuma Olya¹ , Sima Nasri¹ , Samad Farashi-banab² , Fereshteh Dadfar^{1,*} ,
Naeimeh Dehghani¹ 

¹ Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

² School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

* **Corresponding author:** Fereshteh Dadfar, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran.

Email: fdadfar@pnu.ac.ir

DOI: [10.61186/jams.27.4.205](https://doi.org/10.61186/jams.27.4.205)

How to Cite this Article:

Noruozi Kuma Olya R, Nasri S, Farashi-banab S, Dadfar F, Dehghani N. Investigating the Expression of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Gene Related to Angiogenesis and Interleukin-10 in Experimental Breast Tumor Model. *J Arak Uni Med Sci.* 2024;27(4): 205-10. DOI: 10.61186/jams.27.4.205

Received: 25.05.2024

Accepted: 13.08.2024

Keywords:

Vascular endothelial growth factor;
Interleukin-10;
Breast tumor

© 2024 Arak University of Medical Sciences

Abstract

Introduction: Breast cancer is one of the most common cancers and the principal cause of death in women. One of the mechanisms of cancer cells for the lack of access to the immune system is the production of compounds suppressing immune responses, such as interleukin-10. On the other hand, vascular endothelial growth factor, by binding to its receptors on the surface of endothelial cells, plays a significant role in vascular permeability and tumor vascularity. In this study, the expression of interleukin-10 and vascular endothelial growth factor in breast tumor tissue was investigated in an experimental tumor model.

Methods: First, mammary tumors were experimentally induced in Balb/C mice, and RNA was extracted from the tumor tissue. cDNA was synthesized from the extracted RNAs, and the expression level of 10-IL and VEGF genes was evaluated by RT-PCR.

Results: The results of data analysis showed that the expression of IL-10 and VEGF genes in the tumor tissue was higher than in the cells of the control group, but this increase in expression was not statistically significant.

Conclusions: In general, the expression level of Interleukin-10 and VEGF genes was increased in the experimental tumor model, but broader research and the correlation with other involved factors seem necessary.

بررسی بیان ژن فاکتور رشد اندوتلیال عروقی مرتبط با عروق زایی و اینترلوکین-۱۰ در مدل تجربی تومور پستان

رعنا نوروزی کما علیا^۱ ID، سیما نصری^۱ ID، صمد فراشی بناب^۲ ID، فرشته دادفر^{۱*} ID، نعیمه دهقانی^۱ ID

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

^۲ دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

* نویسنده مسئول: فرشته دادفر، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران. ایمیل: fdadfar@pnu.ac.ir

DOI: 10.61186/jams.27.4.205

چکیده

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۳/۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۵/۲۳

واژگان کلیدی:

فاکتور رشد اندوتلیال عروقی؛

اینترلوکین؛

تومور پستان

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه
علوم پزشکی اراک محفوظ است.

مقدمه: سرطان پستان، از جمله شایع‌ترین سرطان‌ها و علت اصلی مرگ و میر در زنان می‌باشد. یکی از مکانیسم‌های سلول‌های سرطانی برای عدم دسترسی سیستم ایمنی به آنها، تولید ترکیبات سرکوب‌کننده از قبیل اینترلوکین-۱۰ است. از طرف دیگر فاکتور رشد اندوتلیال عروقی با اتصال به گیرنده‌های خود در سطح سلول‌های اندوتلیال نقش مهمی در نفوذپذیری عروق و رگ‌زایی تومور ایفا می‌کند. در این مطالعه بیان ژن اینترلوکین-۱۰ و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی در بافت تومور پستان در مدل تجربی تومور بررسی شد.

روش کار: ابتدا در موش‌های نژاد بلب/سی به طور تجربی تومور پستان ایجاد شد و از بافت تومور RNA استخراج شد. از RNAهای استخراج شده cDNA تولید شد و میزان بیان ژن‌های IL-10 و VEGF با روش RT-PCR ارزیابی شد.

یافته‌ها: آنالیز داده‌ها نشان داد که بیان ژن IL-10 و VEGF بافت تومور نسبت به سلول‌های گروه شاهد بیشتر بود، اما این افزایش بیان از نظر آماری معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: به طور کلی سطح بیان ژن‌های اینترلوکین-۱۰ و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی در مدل تجربی تومور افزایش داشت، اما تحقیقات وسیع‌تر و ارتباط با سایر فاکتورهای دخیل ضروری به نظر می‌رسد.

ارجاع: نوروزی کما علیا رعنا، نصری سیما، فراشی بناب صمد، دادفر فرشته، دهقانی نعیمه. بررسی بیان ژن فاکتور رشد اندوتلیال عروقی مرتبط با عروق زایی و اینترلوکین-۱۰ در مدل تجربی تومور پستان. *مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک* ۲۷ (۴): ۲۰۵-۲۱۰. ۱۴۰۳.

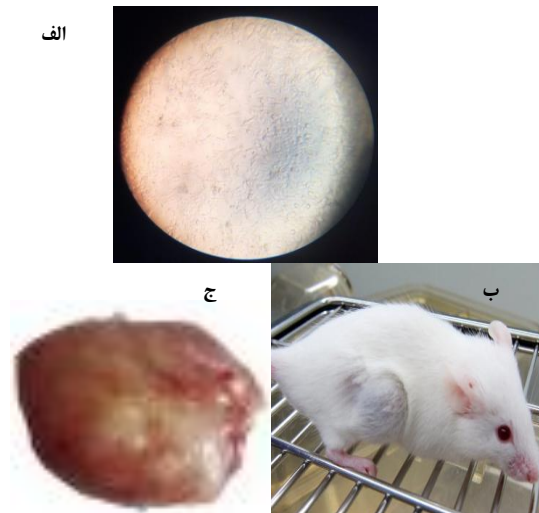
مقدمه

سرطان پستان، یکی از شایع‌ترین انواع سرطان و یکی از مهم‌ترین عوامل مرگ و میر زنان در این رابطه می‌باشد (۱). آسیب‌شناسی این بیماری چند فاکتوری است و عوامل مختلفی از جمله عوامل ژنتیکی، سابقه خانوادگی، بالا رفتن سن، عوامل هورمونی، عدم سابقه زایمان یا زایمان اول تا سن ۳۰ سالگی، عوامل محیطی از جمله عوامل تغذیه‌ای و نحوه زندگی و استفاده از بعضی از داروهای هورمونی در ایجاد سرطان پستان به عنوان عوامل خطرزا محسوب می‌شوند، در حال حاضر در کشورهای آسیایی این بیماری به سرعت در حال گسترش است (۲، ۳).

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که تقریباً ۲۵ درصد از سرطان‌ها به دلیل التهاب مزمن ناشی از عفونت یا حالت‌های التهابی با منشأهای گوناگون می‌باشد. یکی از عواملی که در گسترش تومور در سرطان پستان نقش ایفا می‌کند، التهاب می‌باشد (۴) که می‌تواند منجر به بروز متاستاز، مقاومت نسبت به درمان، رشد تومور، آنژیوژنز و تولید سیتوکین‌ها شود (۵).

سیتوکین‌ها گلیکوپروتئین‌هایی هستند که توسط سیستم ایمنی تولید می‌شوند و نقش کلیدی را در التهاب ناشی از سرطان ایفا می‌کنند (۶، ۷). اینترلوکین-۱۰ یا IL-10 (Interleukin-10) یکی از مهم‌ترین سیتوکین‌های ضدالتهابی و تعدیل‌کننده ایمنی در پاسخ‌های ایمنی است که بر روی کروموزوم ۱ قرار گرفته (۸) و به وسیله سلول‌های ایمنی از قبیل ماکروفاژها، لنفوسیت T و سلول‌های NT ساخته می‌شود و یک فاکتور حمایت‌کننده ایمنی و ضد آنژیوژنز است (۹). این فاکتور در ارتباط با سرطان پستان به صورت دوسویه عمل می‌کند، از یک طرف افزایش این سیتوکین از طریق فعال‌سازی لنفوسیت‌های T سیستم‌توسیک می‌تواند دارای اثر بازدارندگی در رشد و متاستاز سرطان پستان داشته باشد و می‌تواند رشد تومور را از طریق حمایت از سلول‌های تومور در برابر پاسخ‌های ایمنی افزایش دهد و از طرف دیگر به دلیل ویژگی ضد آنژیوژنزی منجر به سرکوب رشد و گسترش تومور می‌گردد و بنابراین بیشتر نقش این سیتوکین، نقش حمایتی است (۱۰).

بافت اضافه، تومور استخراج شد. سه هفته بعد از تلقیح سلول‌های توموری و مشاهده رشد تومور، میانگین حجم تومور در هفته سوم $190/4 \text{ mm}^3$ بود.



شکل ۱. الف- کشت سلول‌های توموری پستان، ب- تومور ایجاد شده در تهی‌گاه موش، ج- بافت تومور پستان رشد کرده در تهی‌گاه موش

استخراج mRNAهای بافت تومور: برای بررسی بیان ژن‌های IL-10 و VEGF در مراحل مختلف رشد تومور، mRNA بافت تومور استخراج شد. بدین منظور پس از القاء تومور، بافت تومور از ۱۰ سر موش در هر گروه جداسازی شد. سپس بافت تومور با استفاده از بافر لیزکننده حاوی گوانیدین تیوسیانات (محلول کیازول، آمریکا) متلاشی گردید. پس از افزودن ۱ میلی‌لیتر بافر لیزکننده و انکوباسیون به مدت ۵ دردمای 25°C ، کلروفوم ($20/2 \text{ ml}$) اضافه شد و پس از ورتکس، میکروتیوب‌ها به مدت ۱۰ دردمای 25°C انکوبه شدند. با سانتریفیوژ میکروتیوب‌ها (در دور 12000 g به مدت ۱۵ دردمای 4°C سه فاز تشکیل شد. RNA از فاز رویی شفاف و بی‌رنگ با اضافه کردن ایزوپروپانول ($0/5 \text{ ml}$) و سپس انکوباسیون به مدت ۱۰ دردمای 25°C و سانتریفیوژ (با دور 12000 g به مدت ۵ دردمای 4°C) رسوب داده شد. رسوب با اتانول (اتیل الکل) ۷۵٪ (1 ml) شسته شده و پس از سانتریفیوژ (در دور 7500 g به مدت ۵ دردمای 4°C) و خشک کردن رسوب (در محیط)؛ RNA در $50 \mu\text{l}$ آب عاری از RNase حل شد. کیفیت و مقدار RNA به دست آمده با استفاده از نانودراپ (Thermoscientific, USA) با روش اسپکتروفتومتری بررسی شد. در مرحله بعد، هرگونه DNA باقیمانده در RNAهای استخراج شده با تیمار DNase عاری از RNase (فرمنتاز، آمریکا) حذف گردید.

سنتز cDNA از mRNAهای استخراج شده از سلول‌های توموری: سنتز cDNA از روی mRNAهای استخراج شده به روش (RT-PCR) توسط آنزیم رونوشت‌بررداری معکوس (M-MuLV (Meloney-murine leukemia virus) (فرمنتاز، آمریکا) و پرایمرهای رندوم هگزامر و Oligo dT(18) در حضور (d) RNA guard و dNTP (Nucleoside Triphosphate) (جدول ۱) و با انکوباسیون در دماهای 25°C به مدت ۵، 42°C به مدت ۶۰ و 75°C

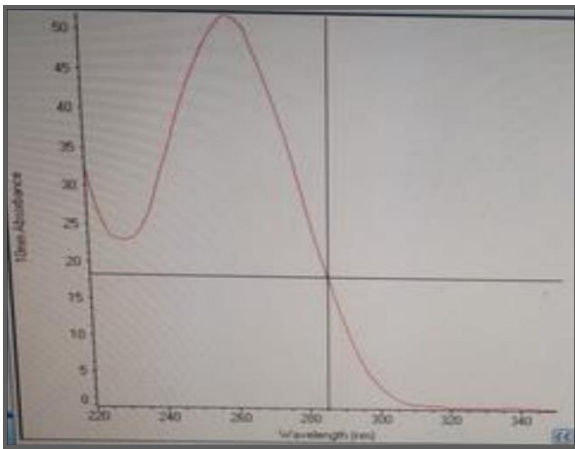
خانواده فاکتورهای رشد اندوتلیال عروقی یا VEGF (Vascular endothelial growth factor) شامل یکسری گلیکوپروتئین‌های ترشحی (VEGFA, VEGFB, VEGFC, VEGFD, PLGF) هستند که شباهت‌های بسیاری از نظر ساختاری باهم دارند (۱۱). فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGFA) یک از فاکتورهای ترشح شده از بافت توموری است که به عنوان تنظیم‌کننده رگ‌زایی، برای رشد تومور و متاستاز ضروری می‌باشد (۱۲). VEGF-A القاءکننده کلیدی توسعه عروق‌زایی از طریق فعال‌سازی گیرنده ۲ VEGF می‌باشد (۱۳). همچنین احتمالاً مهم‌ترین مسیر سیگنالینگ برای رشد عروق تومور است (۱۴). بررسی‌های متعدد نشان داده است که عملکرد VEGF محدود به عروق‌زایی و نفوذپذیری عروق نیست، به عنوان مثال این ملکول می‌تواند عملکرد سلول‌های ایمنی را که در محیط تومور حضور دارند را تحت تأثیر قرار دهد. گیرنده‌های VEGF ممکن است عملکرد فیروبلاست‌ها را در استرومای تومور تنظیم کند (۱۵). سیگنالینگ VEGF در سلول‌های تومور به صورت اتوکراین و پاراکراین انجام می‌شود و این سیگنالینگ در تومورزایی و به خصوص عملکرد سلول‌های بنیادی سرطان مستقل از عروق‌زایی نقش دارد (۱۶). در مطالعه حاضر با ایجاد مدل تجربی تومور پستان در موش‌های نژاد پالم/اسی، میزان بیان ژن‌های VEGF و IL-10 در بافت تومور مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش کار

در پژوهش تجربی حاضر ۲۰ سر موش نژاد پالم/اسی دوماهه با وزن ۲۵ تا ۳۰ انتخاب و به مدت یک هفته در حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی تهران در دمای ۲۲ تا ۲۶ درجه سانتی‌گراد، سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. برای ایجاد سرطان پستان از سلول‌های رده توموری اپیتلیال پستان (4T1) (ATCC CRL-2539) تهیه شده از انیستتو پاستور تهران استفاده شد. سلول‌های توموری پستان در محیط کشت RPMI ۱۶۴۰ (اینویتروژن، بریتانیا) حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاو (جیپکو-بریتانیا)، ۲ میلی‌مول L-گلوتامین (سیگما، بریتانیا) و آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (100 U/ml) و استرپتومایسین ($100 \mu\text{g/ml}$) کشت داده شدند. انکوباسیون سلول‌ها در دمای 37°C انجام شد. قبل از تلقیح تومور، سلول‌ها از نظر آلودگی به مایکوپلازما توسط کشت میکروبی بررسی شدند. موش‌ها به طور تصادفی به دو گروه شاهد و آزمایشی تقسیم شدند. در گروه شاهد هیچگونه تلقیحی صورت نگرفت و به گروه آزمایشی تومور کشت داده شده تلقیح شد. برای تلقیح تومور، سلول‌ها از فلاسک کشت سلول با تریپسین جدا شده و پس از شستشو، به تعداد 5×10^5 به صورت زیرجلدی با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی، در گروه آزمایشی ضمن بی‌دردی حیوان و مهار موش با زاویه ۱۰ الی ۳۰ درجه با سوزن مناسب با گیج ۲۳ و حجم تزریق $0/25$ میلی‌لیتر در تهی‌گاه گروه آزمایشی تزریق شدند. پس از رشد تومورها، با تهیه مقاطع هیستوپاتولوژی بافت تومور تأیید گردید. این تومور از نوع بدخیم بود در مقاطع بافتی نکروز مشاهده شد (شکل ۱).

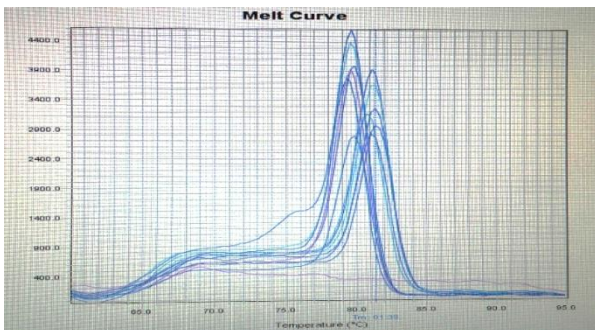
برای تهیه بافت توموری، پس از بیهوش کردن موش و برش در ناحیه تشکیل تومور، تومور برداشته شد و پس از جدا کردن خون و

جذب نوری ۲۶۰/۲۸۰ و ۲۳۰/۲۶۰ به ترتیب بین ۱/۸-۲ و ۱/۵-۲ بود که نشان‌دهنده کیفیت مناسب RNAهای استخراج شده بود (شکل ۲).



شکل ۲. بررسی کیفیت و کمیت RNAهای استخراج شده با نانودراپ

پس از اتمام چرخه‌های حرارتی، منحنی ذوب مربوط به ژن‌های IL-10 و VEGF توسط دستگاه ثبت شد. برای کشیدن منحنی ذوب، دمای میکروتیوب‌ها به ۶۵°C رسانده شد و تا ۹۵°C افزایش یافت. این افزایش دما به ازای هر ۰/۳ دقیقه به میزان ۰/۳°C بود و میزان فلورسنس طی هر بار افزایش دما اندازه‌گیری شد و به صورت گراف ترسیم شد. همچنین تک قله‌ای بودن منحنی ذوب حاکی از عملکرد بهینه پرایمرها برای انجام واکنش RT-PCR برای ژن‌های IL-10 و VEGF بود (شکل ۳).



شکل ۳. منحنی ذوب مربوط به بیان ژن‌های IL-10 و VEGF پس از انجام RT-PCR

نتایج مربوط به بیان ژن‌های IL-10 و VEGF در دو گروه آزمایشی: آنالیز داده‌های حاصل از بیان ژن‌های IL-10 و VEGF نشان داد که بیان ژن IL-10 در بافت تومور نسبت به سلول‌های گروه شاهد ۴/۷ برابر و بیان ژن VEGF ۵/۶ برابر نسبت به سلول‌های گروه شاهد بیشتر بوده است (نمودار ۱) ولی این افزایش بیان در گروه آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P > 0/05$).

بحث

پژوهش‌های پیشین نشان داده‌اند که اینترلوکین-۱۰ یک سیتوکین چند عملکردی می‌باشد که نقش تعدیل‌کننده در پاسخ‌های لنفوئیدی و

به مدت ۵ (در دستگاه ترموسیکلر، Eppendorf/England) صورت گرفت.

جدول ۱. اجزاء مسترمیکس سنتز cDNA از روی mRNAهای استخراج شده از سلول‌های توموری

Components	Volum/Concentration
RNA	۱۰۰-۵۰۰ ng
M-MuLV	۰/۷۵μl(۱۵۰ Unit)
PCR reaction buffer	۳μl
RNA guard	۰/۷۵μl(۳۰ Unit)
Oligo dT (18) primer	۰/۷۵μl
Random hexamer	۰/۷۵μl
dNTP	۱/۵μl(۱۰ mM)
DEPC treated H ₂ O	۶/۷۵μl
Total	۱۵μl

Real-time RT-PCR برای بررسی میزان بیان ژن‌های IL-10

و VEGF برای انجام Real-Time Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction (فرمتناز- لیتوانی) شامل DNA پلیمراز (Hot start) Taq، dNTP، ROX استفاده گردید و به آن ژن خانه‌دار (Housekeeping gene) با غلظت ۰/۲۵μM و cDNA (حدود ۵۰۰ ng) اضافه شد (با حجم نهایی محلول واکنش ۱۵μl چرخه‌های حرارتی شامل ۹۵°C به مدت ۱۰ (برای فعال‌سازی آنزیم) و به دنبال آن ۴۵ چرخه در دو مرحله ۹۵°C به مدت ۱۵ (مرحله واسرشتگی) و ۶۰°C به مدت ۶۰ (مرحله اتصال-مرحله امتداد) بود که در دستگاه Applied Biosystems مدل StepOne انجام شد. برای بررسی محصول PCR پس از اتمام چرخه‌ها، آنالیز منحنی ذوب برای تأیید محصول انجام شد. پرایمرها با استفاده از نرم‌افزار open primer3source frog USA طراحی شد و با استفاده از سایت اینترنتی <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast/> تایید گردید. توالی پرایمرهای استفاده شده برای تکثیر IL-10 و VEGF به ترتیب زیر بود:

10-IL/F
 5'-CGGACTGAGAGGACACAGGTTAC-3'
 10-IL/R
 VEGF/F
 5'-ACCATGCCAACTTCTGTCTG-3'
 VEGF/R
 5'-CGGGTTGTGTTGGTTGTAGA-3'

تحلیل و تجزیه متغیرهای حاصل از بیان ژن‌های اینترلوکین-۱۰ و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی در گروه‌های آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ (IBM Corporation, Armonk, NY) و روش آماری T-test انجام گرفت.

یافته‌ها

ارزیابی محصول PCR و منحنی ذوب بیان ژن‌های IL-10 و VEGF: در مطالعه حاضر کمیت و کیفیت RNAهای استخراج شده با نانودراپ در طول موج‌های ۲۶۰، ۲۸۰ و ۲۳۰ نانومتر بررسی شد. نسبت

سرانجام فعال شدن ژن‌ها می‌شود. گزارش شده که بیان VEGF با پتانسیل متاستاتیک تومورهای پستان ارتباط نزدیکی دارد (۲۳).

طی مطالعه‌ای با طراحی پیتید آنتاگونیست فاکتور رشد اندوتلیال عروقی، مشاهده شد که پیتید VGB4 منجر به اثر ممانعت‌کنندگی معنی‌داری بر رشد تومور کارسینومای پستان شده است (۲۴). افزایش بیان فاکتورهای رشد به تنهایی برای رگ‌زایی شدن سلول‌های توموری کافی نیست، بلکه مهارکننده‌ها درون‌زاد رگ‌زا که اندوتلیوم را از اثر عوامل تحریک‌کننده میتوز حفظ می‌کند نیز باید کاهش یابند (۲۵، ۲۶). برای مهار پیشرفت و متاستاز تومور و سلول‌های هدف رگ‌زایی‌تراپی روش مناسبی است، از آنجایی که این روش مانع از رسیدن مواد غذایی به سلول‌های توموری می‌شود، موجب مرگ این سلول‌ها را فراهم می‌کند (۲۷).

نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر در خصوص بیان ژن‌های IL-10 و VEGF در مدل تجربی ایجاد تومور پستان، نشان داد که بیان هر دو ژن در بافت تومور پستان نسبت به سلول‌های گروه شاهد بیشتر بود ولیکن این اختلاف معنی‌دار نبود. با توجه به اینکه IL-10 نقش دوگانه در رشد تومور دارد به طوری که از یک طرف باعث سرکوب برخی از پاسخ‌های ایمنی ضد تومور و همچنین ممانعت از القای تشکیل عروق در بافت تومور می‌شود (۱۷) و از طرف دیگر می‌تواند برخی از پاسخ‌های ایمنی ضد تومور را تحریک کند (۲۴). از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به بررسی صرفاً بیان دو ژن مورد مطالعه اشاره کرد و بنابراین تحقیقات و مطالعات بیشتری لازم است تا نقش سیتوکین‌های مختلف و همچنین فاکتورهای رشد عروقی در رشد و توسعه تومور دقیق‌تر مشخص گردد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از تمامی افرادی که در انجام این پژوهش ما را یاری داده‌اند؛ کمال تشکر و قدردانی را داریم.

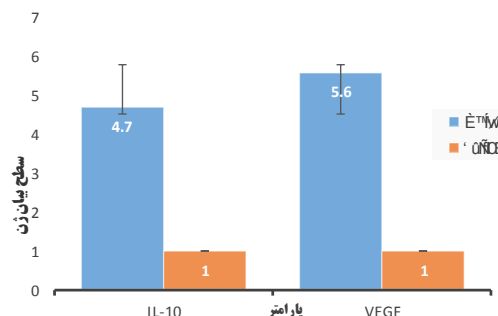
سهم نویسندگان

طراحی پژوهش: سیما نصری، صمد فراشی بناب انجام پژوهش و آنالیز آماری: رعنا نوروزی کما علیا، نگارش مقاله: فرشته دادفر، ویرایش مقاله: نعیمه دهقانی.

تضاد منافع

هیچگونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

میلونیدی ایفا می‌کند (۱۷). IL-10 تولید شده توسط ماکروفاژهای وابسته به تومور در سرکوب فعالیت ضد توموری در لنفوم غیر هوچکین نیز نقش دارد (۱۸).



نمودار ۱. بررسی سطح بیان ژن‌های IL-10 و VEGF در بافت تومور پستان نسبت به گروه شاهد

افزایش بیان IL-10 در انواع مختلف سرطان انسانی مثل سرطان دهانه رحم، کولورکتال، کلیه، سرطان هپاتوسلولار و تخمدان و همچنین سرطان سلول‌های سنگفرشی، سلول‌های بازال پوست و گلیومای انسانی و ملانوما گزارش شده است اینترلوکین-10 در مختل کردن پاسخ ایمنی از طریق کاهش بیان HLA-I (Human Leukocyte Antigen I) و با افزایش بیان HLA-G در تروفوبلاست انسان و مونوسیت و همچنین انواع خاصی از سرطان مثل سرطان ریه دخالت داشته است (۱۹). به طور کلی عملکرد بیولوژیکی دوگانه IL-10 به عنوان عامل ضد التهابی (گسترش دهنده سرطان) و ضد رگ‌زایی (مهارکننده تومور) نشان‌دهنده اطلاعات متناقض در سرطان می‌باشد (۲۰، ۲۱). مطالعات Li و همکاران نشان داد که دو پلی‌مورفیسم rs1800872 و rs1800896 ژن اینترلوکین-10 به طور معنی‌داری منجر به افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان در بین آسیایی‌ها می‌گردد و بنابراین این پلی‌مورفیسم‌های ژن IL-10 یک تنظیم‌کننده کلیدی در سرطان پستان می‌باشند (۸). IL-18 در سرطان پستان به شدت بیان می‌شود و ارتباط مثبتی با IL-10 دارد. هر دو IL-18 و IL-10 ممکن است ارتباط مثبتی با متاستاز به غدد لنفاوی در سرطان پستان داشته باشند (۲۲). همچنین به نظر می‌رسد آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های IL-10 ممکن است از طریق مکانیسم‌های مختلف اثرات درمانی داشته باشند. علاوه بر این، پلی‌مورفیسم‌های ژن IL-10 ممکن است استعداد ابتلا به سرطان سینه را تعیین کند (۹).

VEGF یک فاکتور ترشحی است که به گیرنده‌های بین‌غشایی خود متصل شده و منجر به فعال‌سازی آبشارهای سیگنال‌دهی داخل سلولی و

References

- Anastasiadi Z, Lianos GD, Ignatiadou E, Harissis HV, Mitsis M. Breast Cancer in Young Women: An Overview. *Updates Surg.* 2017;69:313-7. [pmid: 28260181](#) [doi: 10.1007/s13304-017-0424-1](#)
- Mubarik S, Wang F, Fawad M, Wang Y, Ahmad I, Yu C. Trends and projections in breast cancer mortality among four Asian Countries (1990-2017): evidence from five stochastic mortality models. *Sci Rep.* 2020;10:5480. [pmid: 32214176](#) [doi: 10.1038/s41598-020-62393-1](#)
- Oblak T, Zadnik V, Krajc M, Lokar K, Zgajnar J. Breast cancer risk based on adapted ibis prediction model in slovenian women aged 40- 49 years - could it be better? *Radiol. Oncol.* 2020;54:335-40. [pmid: 32614783](#) [doi: 10.2478/raon-2020-0040](#)

4. Mohamed H.T, El-Husseiny N, El-Ghonaimy E.A, Ibrahim S.A, et al. IL-10 Correlates with the Expression of Carboxypeptidase B2 and Lymphovascular Invasion in Inflammatory Breast Cancer: The Potential Role of Tumor Infiltrated Macrophages. *Curr Probl Cancer*. 2018;42(2):215-30. [pmid: 29459177](#) [doi: 10.1016/j.currprobcancer.2018.01.009](#)
5. Carpi A, Nicolini A, Antonelli A, Ferrari P and Rossi G. Cytokines in the management of high risk or advanced breast cancer: an update and expectation. *Curr. Cancer Drug Targets*. 2009;9(8):888-903. [pmid: 20025599](#) [doi: 10.2174/156800909790192392](#)
6. Korkaya H, Liu S, Wicha MS. Breast cancer stem cells, cytokine networks, and the tumor microenvironment. *J Clin Invest*. 2011;121(10):3804-9. [pmid: 21965337](#) [doi: 10.1172/JCI57099](#)
7. Vacchelli E, Aranda F, Obrist F, Eggermont A, Galon J, Cremer I, et al. Trial watch: immunostimulatory cytokines in cancer therapy. *Oncimmunology*. 2014;3(6):290-94. [pmid: 25083328](#) [doi: 10.4161/onci.29030](#)
8. Li L, Xiong W, Li D, Cao J. Association of Interleukin-10 Polymorphism (rs1800896, rs1800871, and rs1800872) With Breast Cancer Risk: An Updated Meta-Analysis Based on Different Ethnic Groups. *Front. Genet*. 2022;13:829283. [pmid: 35186043](#) [doi: 10.3389/fgene.2022.829283](#)
9. Sheikhpour E, Noorbakhsh P, Foroughi E, et al. A survey on the role of interleukin-10 in breast cancer: a narrative. *Rep Biochem Mol Biol*. 2018;7(1):30-7. [pmid: 30324115](#)
10. Pournemati P, Hooshmand Moghadam. The effect of 12 weeks of interval and continuous training on serum levels of interleukin-17 and interleukin-10 in postmenopausal breast cancer survivors: a clinical trial [in Persian]. *Iranian Journal of Breast Diseases*. 2021;14(2):4-15. [doi: 10.30699/ijbd.14.2.4](#)
11. Ferrara N. VEGF and the quest for tumor angiogenesis factors. *Nature Reviews Cancer* 2002;2(10): 795-803. [pmid: 12360282](#) [doi: 10.1038/nrc909](#)
12. Shibuya M. Vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1/Flt-1): a dual regulator for angiogenesis. *Angiogenesis*. 2006;9(4):225-30. [pmid: 17109193](#) [doi: 10.1007/s10456-006-9055-8](#)
13. Koch S, Claesson-Welsh L. Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012;2(7):a006502. [pmid: 22762016](#) [doi: 10.1101/cshperspect.a006502](#)
14. Senger DR. Vascular endothelial growth factor: much more than an angiogenesis factor. *Mol Biol Cell*. 2010; 21(3):377-9. [pmid: 20124007](#) [doi: 10.1091/mbc.E09-07-0591](#)
15. Yaqoob U, Cao S, Shergill U, Jagavelu K, et al. Neuropilin-1 stimulates tumor growth by increasing fibronectin fibril assembly in the tumor microenvironment. *Cancer Res*. 2012;72(16):4047-59. [pmid: 22738912](#) [doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3907](#)
16. Goel H.L, Mercurio A.M. VEGF targets the tumor cell. *Nat Rev Cancer*.2013; 13(12):871-882.
17. Berti FCB, de Oliveira KB. IL-10 in cancer: Just a classical immunosuppressive factor or also an immunostimulant one? *AIMS Allergy and Immunology*. 2018; 2(2):88-97. [doi: 10.3934/Allergy.2018.2.88](#)
18. Garcia-Hernández ML, Hernandez-Pando R, Gariglio P, Berumen J. Interleukin-10 promotes B16-melanoma growth by inhibition of macrophage functions and induction of tumour and vascular cell proliferation. *Immunology*. 2002; 105(2):231-43. [pmid: 11872099](#) [doi: 10.1046/j.1365-2567.2002.01363.x](#)
19. Hedrich CM, Bream JH. Cell type-specific regulation of IL-10 expression in inflammation and disease. *Immunol Res*. 2010;47(1-3):185-206. [pmid: 20087682](#) [doi: 10.1007/s12026-009-8150-5](#)
20. Segal BM, Glass DD, Shevach EM. Cutting Edge: IL- 10-producing CD4+ T cells mediate tumor rejection. *J Immunol*. 2002;168(1):1-4. [pmid: 11751938](#) [doi: 10.4049/jimmunol.168.1.1](#)
21. Kohno T, Mizukami H, Suzuki M, Saga Y, Takei Y, Shimpo M, et al. Interleukin-10-mediated inhibition of angiogenesis and tumor growth in mice bearing VEGF-producing ovarian cancer. *Cancer Res*. 2003;63(16):5091-4. [pmid: 12941839](#)
22. Ma T, Kong M. Interleukin-18 and -10 may be associated with lymph node metastasis in breast cancer. *Oncol Lett*. 2021;21(4):253. [pmid: 33664817](#) [doi: 10.3892/ol.2021.12515](#)
23. Bolat F, Kayaselcuk F, Nursal TZ, Yagmurdur MC, Bal N, Demirhan B. Microvessel density, VEGF expression, and tumor-associated macrophages in breast tumors: correlations with prognostic parameters. *J Exp Clin Cancer Res*. 2006;25(3):365-72. [pmid: 17167977](#)
24. Farzaneh Behelgard M, Zahri S, Mashayekhi F, Asghari SM. The effect of vascular endothelial growth factor antagonist peptide (VGB4) on breast tumor growth suppression in vivo [in Persian]. *Armaghane-Danesh*. 2019;23(6):683-93.
25. Ricci-Vitiani L, Pallini R, Biffoni M. Tumour vas-cularization via endothelial differentiation of glioblastoma stem-like cells. *Nature*. 2010; 468(7325):824-8. [pmid: 21102434](#) [doi: 10.1038/nature09557](#)
26. de Laporte L, des Rieux A, Tuinstra HM, Zelivyanskaya ML, De Clerck NM, Postnov AA, et al. Vascular endothelial growth factor and fibroblast growth factor 2 delivery from spinal cord bridges to enhance angiogenesis following injury. *J Biomed Mater Res A*. 2011;98(3):372-82. [pmid: 21630429](#) [DOI: 10.1002/jbm.a.33112](#)
27. Ramezani T, Baharaa J. A review on angiogenesis in tumor [in Persian]. *Journal of Cell & Tissue*. 2014;5(1):89-100. [doi: 10.52547/JCT.5.1.89](#)