



كلية العلوم
قسم الكيمياء الحيوية

إستهداف العلاج المناعي للسرطان من خلال
التطعيم بالمستخلص المشيمي المشع غير
الذاتي

رسالة مقدمة من

داليا محمد بدر الدين مصطفى

(ماجستير في الكيمياء الحيوية ٢٠١١)

للحصول علي درجة دكتوراه الفلسفة في العلوم في الكيمياء الحيوية

تحت إشراف

أ.د. سهير عبد العظيم عثمان
أستاذ الكيمياء الحيوية-قسم بيولوجيا الإشعاع
المركز القومي لبحوث و تكنولوجيا الإشعاع
هيئة الطاقة الذرية

أ.د. نادية محمد عبد الله
أستاذ الكيمياء الحيوية- قسم الكيمياء الحيوية
كلية العلوم- جامعة عين شمس

أ.د. محمد حسن نصر الدين
استاذ أمراض النساء و التوليد
كلية الطب - جامعة عين شمس

أ.د. فاطمة فرج عبد الحميد
أستاذ و رئيس قسم الكيمياء الحيوية
كلية العلوم- جامعة عين شمس

أ.م.د. اسماء ابو بكر الصديق محمد
أستاذ مساعد الكيمياء الحيوية-قسم بيولوجيا الإشعاع
المركز القومي لبحوث و تكنولوجيا الإشعاع
هيئة الطاقة الذرية

كلية العلوم
جامعة عين شمس

٢٠١٨



كلية العلوم
قسم الكيمياء الحيوية

رسالة دكتوراه الفلسفة في العلوم في الكيمياء الحيوية

اسم الطالب: داليا محمد بدر الدين مصطفى
عنوان البحث: إستهداف العلاج المناعي للسرطان من خلال التطعيم
بالمستخلص المشيمي المشع غير الذاتي
الدرجة: رسالة دكتوراه الفلسفة في العلوم في الكيمياء الحيوية

لجنة الإشراف

أ.د. نادية محمد عبد الله: أستاذ الكيمياء الحيوية المتفرغ - كلية العلوم - جامعة عين شمس.
أ.د. سهير عبد العظيم عثمان: أستاذ الكيمياء الحيوية - هيئة الطاقة الذرية.
أ.د. فاطمة فرج عبد الحميد: أستاذ الكيمياء الحيوية - كلية العلوم - جامعة عين شمس.
أ.د. محمد حسن نصر الدين: أستاذ امراض النساء و التوليد - كلية الطب - جامعة عين شمس.
د. اسماء ابو بكر الصديق محمد: أستاذ مساعد الكيمياء الحيوية - هيئة الطاقة الذرية.

لجنة التحكيم

أ.د. فاتن زهران محمد: أستاذ الكيمياء الحيوية - كلية العلوم - جامعة الزقازيق
أ.د. إبراهيم علي عمارة: أستاذ بالمعهد القومي لامراض السكر و الغدد الصماء
أ.د. نادية محمد عبد الله: أستاذ الكيمياء الحيوية المتفرغ - كلية العلوم - جامعة عين شمس
أ.د. سهير عبد العظيم عثمان: أستاذ الكيمياء الحيوية المتفرغ - هيئة الطاقة الذرية

تاريخ البحث: / /

الدراسات العليا

ختم الإجازة: / / أجزت الرسالة بتاريخ

موافقة مجلس الكلية / / موافقة مجلس الجامعة



كلية العلوم
قسم الكيمياء الحيوية

اسم الطالب : داليا محمد بدر الدين مصطفى

الدرجة العلمية : دكتوراه الفلسفة في العلوم

اسم الكلية : العلوم

اسم الجامعة : جامعة عين شمس

سنة التخرج : ٢٠٠٠ م

سنة منح الماجستير : ٢٠١١ م

سنة منح الدكتوراه :



كلية العلوم
قسم الكيمياء الحيوية

شكر

أتوجه بالشكر والتقدير إلى السادة الأساتذة الذين قاموا بالإشراف وهم:

الدكتورة / نادية نجّ عبد الله

أستاذ الكيمياء الحيوية- كلية العلوم - جامعة عين شمس.

الدكتورة / سهير عبد العظيم عثمان

أستاذ الكيمياء الحيوية- المركز القومي لبحوث وتكنولوجيا الإشعاع

هيئة الطاقة الذرية.

الدكتورة / فاطمة فرج عبد الحميد.

أستاذ الكيمياء الحيوية- كلية العلوم - جامعة عين شمس.

الدكتور / نجّ حسن نصر الدين.

استاذ امراض النساء و التوليد - كلية الطب - جامعة عين شمس.

الدكتور / أسماء ابو بكر الصديق نجّ

أستاذ مساعد الكيمياء الحيوية - المركز القومي لبحوث و تكنولوجيا الاشعاع

هيئة الطاقة الذرية.

ومعمل الكيمياء الحيوية - قسم بحوث بيولوجيا الإشعاع - المركز القومي لبحوث

وتكنولوجيا الإشعاع - هيئة الطاقة الذرية.

كما أتوجه بالشكر الى قسم الكيمياء الحيوية - كلية العلوم- جامعة عين شمس.

داليا محمد بدر الدين مصطفى



Ain Shams University
Faculty of Science
Biochemistry Department



Targeting Cancer Immunotherapy through Vaccination with Irradiated Xenogeneic Placental Extract

A thesis

**Submitted for the award of the degree of Ph.D in Biochemistry
By**

Dalia Mohamed Badr el-Dien Mostafa
(M.Sc. of Biochemistry, 2011)

Under supervision of

Prof. Dr. Nadia Mohamed Abdallah
Prof. of Biochemistry-Biochemistry Department
Faculty of Science-Ain Shams University

Prof. Dr. Soheir Abdel Azeem Osman
Prof. of Biochemistry-Radiation Biology Department
National Center for Radiation-Research and
Technology-Atomic Energy Authority

Prof. Dr. Fatma Farag Abdel Hamid
Prof. and head of Biochemistry Department
Faculty of Science--Ain Shams University

Prof. Dr. Mohamed Hassan Nasr el-Dien
Prof. of Gynecology -Faculty of Medicine
Ain Shams University

Assist. Prof. Dr. Asmaa Abubakr el-Seddik Mohamed
Assistant Prof. of Biochemistry-Radiation Biology Department
National Center for Radiation-Research and Technology
Atomic Energy Authority

**Biochemistry Department
Faculty of Science
Ain Shams University**

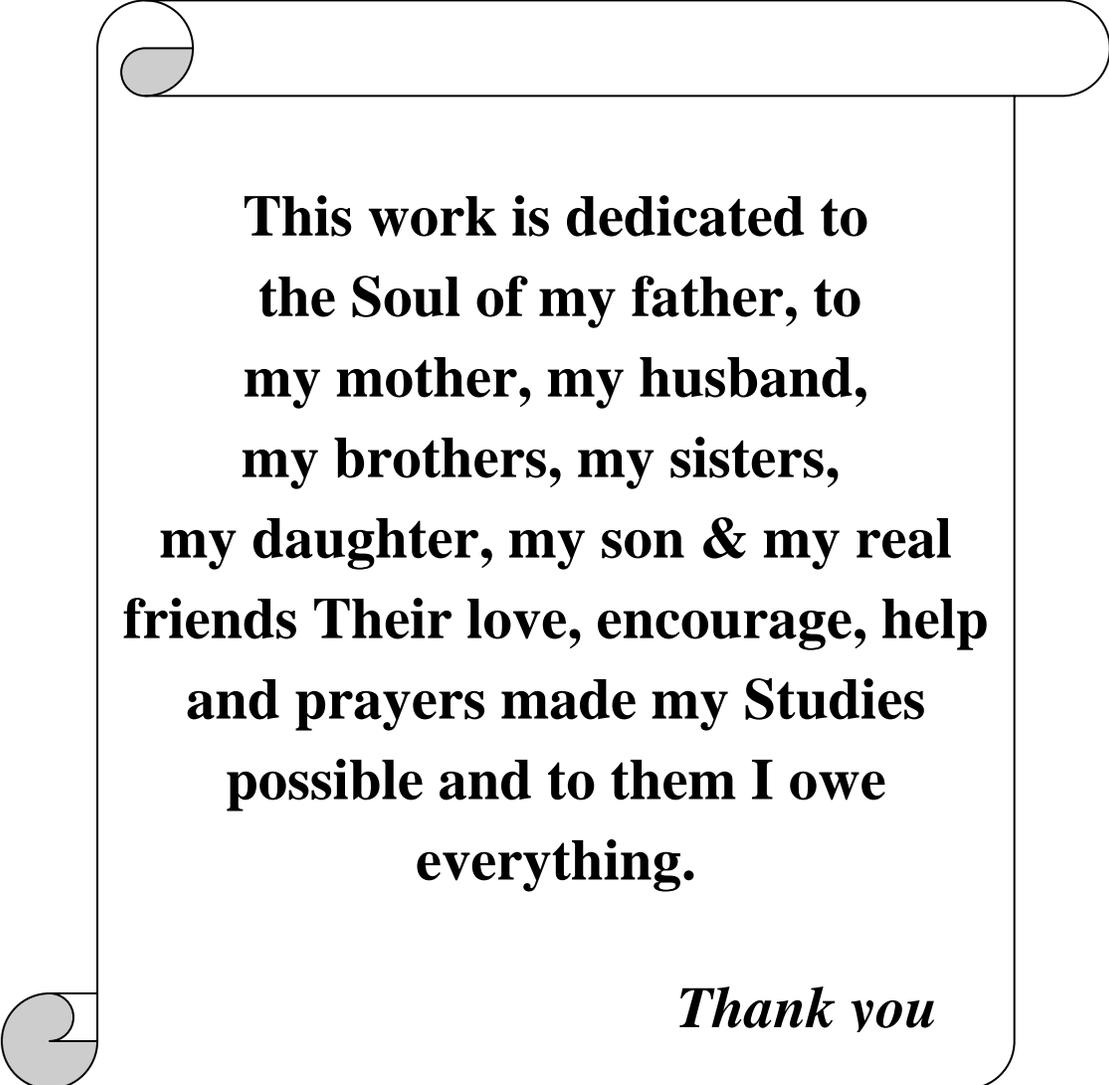
2018



Ain Shams University
Faculty of Science
Biochemistry Department

Biography

- Name** : Dalia Mohamed Badr el-Dien Mostafa
- Date of Graduation** : 2000, Faculty of Science, Biochemistry,
Department, Ain Shams University
- Degree awarded** : M.Sc. in Biochemistry 2011, Faculty of
Science, Biochemistry Department, Ain
Shams University
- Grade** : Ph.D. in Biochemistry
- Occupation** : Assistant lecturer at Radiation Biology
Research Department, National Centre
For Radiation and Technology (NCRR T),
Atomic Energy Authority (AEA), Cairo,
Egypt



**This work is dedicated to
the Soul of my father, to
my mother, my husband,
my brothers, my sisters,
my daughter, my son & my real
friends Their love, encourage, help
and prayers made my Studies
possible and to them I owe
everything.**

Thank you

Declaration

I declare that this thesis has been composed by myself and that the work of which it is a record has been done by myself. This thesis has not been submitted for a degree at this or any other university.

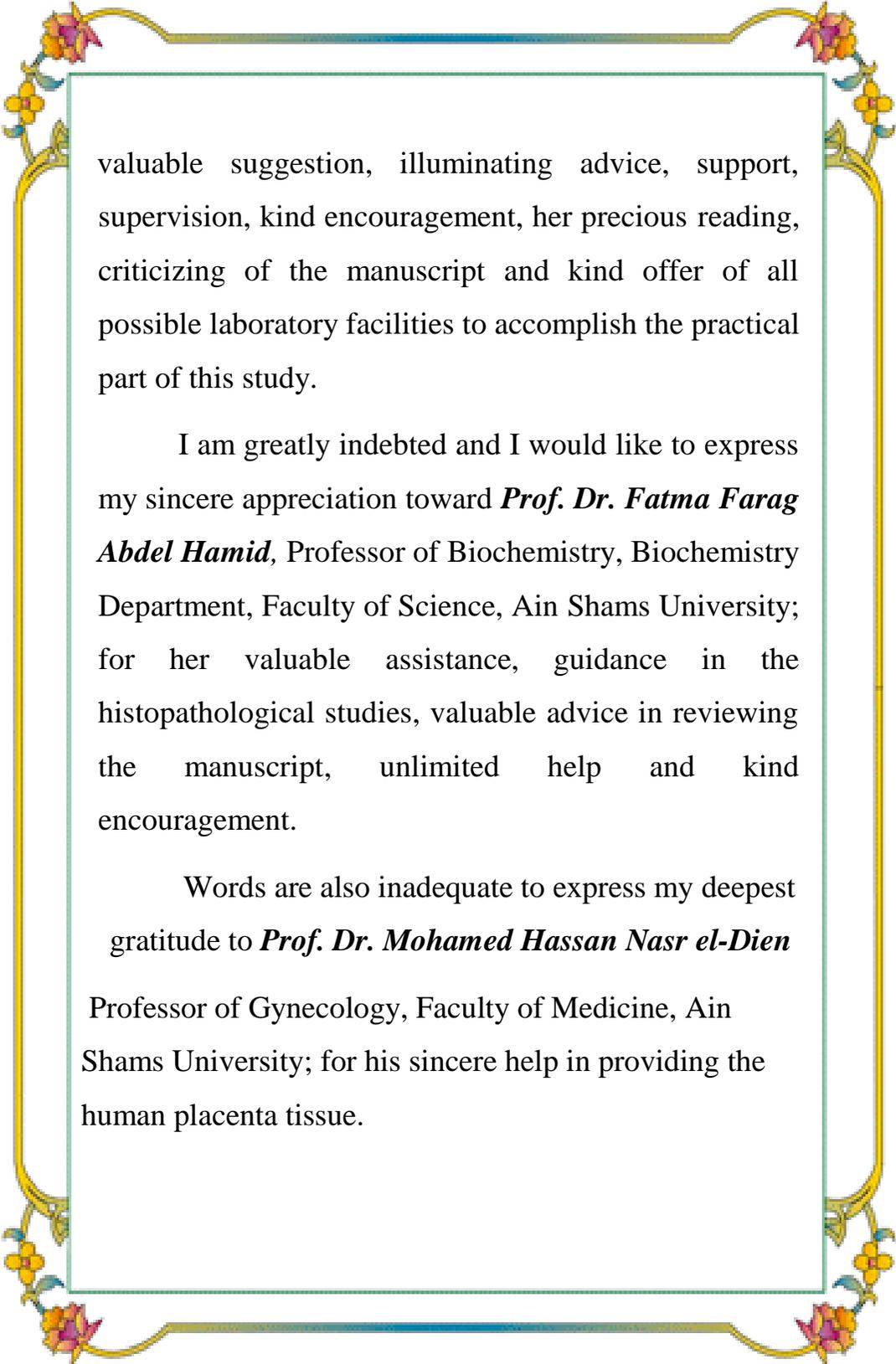
Dalia Mohamed Badr

AKNOWLEDGEMENT

First, foremost, and all thanks to *ALLAH* by whose grace this work had been completed.

Then I would like to express my deepest and sincere gratitude to *Prof. Dr. Nadia Mohamed Abd-ALLAH* professor of Biochemistry, Biochemistry Department, Faculty of Science, Ain Shams University; how I can evaluate her efforts in this, for her continuous, valuable discussions and advices during supervision, to her precious reading and valuable comments. Thanks for all, not only from me but also from everybody learned or will learn from me.

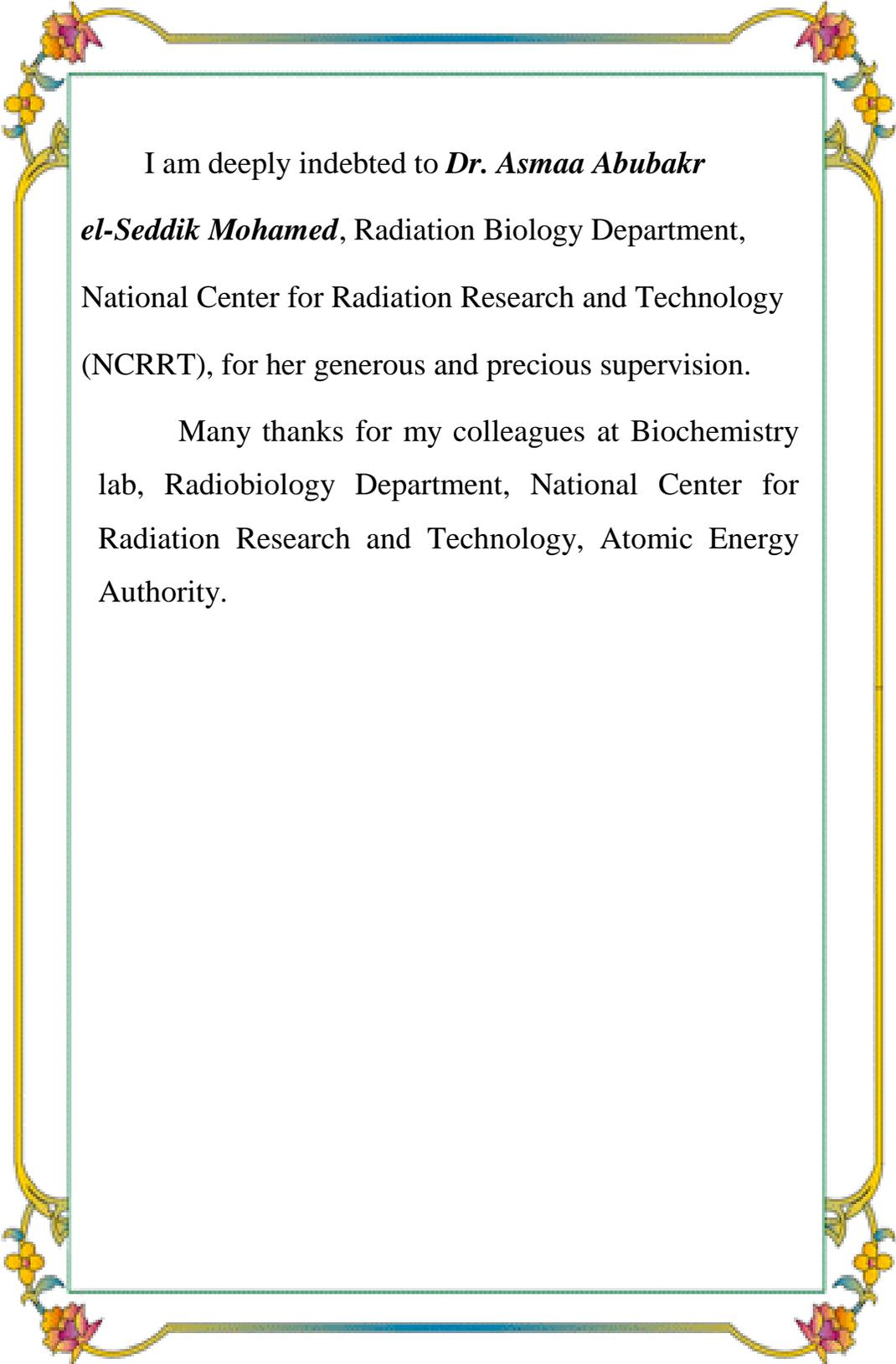
Really, I do not know how I can express my thanks to *Prof. Dr. Soheir Abdel Azeem Osman*, professor of Biochemistry, Radiation Biology Department, National Center for Radiation Research and Technology (NCRRT), for her creative thinking, instructive guidance,

A decorative border with a yellow and green floral pattern surrounds the text. The border features stylized flowers in shades of yellow, pink, and purple, with green leaves and stems. The border is composed of four corner pieces and two horizontal pieces, all connected by a thin yellow line.

valuable suggestion, illuminating advice, support, supervision, kind encouragement, her precious reading, criticizing of the manuscript and kind offer of all possible laboratory facilities to accomplish the practical part of this study.

I am greatly indebted and I would like to express my sincere appreciation toward ***Prof. Dr. Fatma Farag Abdel Hamid***, Professor of Biochemistry, Biochemistry Department, Faculty of Science, Ain Shams University; for her valuable assistance, guidance in the histopathological studies, valuable advice in reviewing the manuscript, unlimited help and kind encouragement.

Words are also inadequate to express my deepest gratitude to ***Prof. Dr. Mohamed Hassan Nasr el-Dien*** Professor of Gynecology, Faculty of Medicine, Ain Shams University; for his sincere help in providing the human placenta tissue.

A decorative border with a yellow and green gradient, featuring floral motifs in the corners. The text is centered within a white rectangular area defined by a thin green border.

I am deeply indebted to *Dr. Asmaa Abubakr el-Seddik Mohamed*, Radiation Biology Department, National Center for Radiation Research and Technology (NCRRT), for her generous and precious supervision.

Many thanks for my colleagues at Biochemistry lab, Radiobiology Department, National Center for Radiation Research and Technology, Atomic Energy Authority.



ABSTRACT

This study aims to investigate the effect of injection of sterilized xenogeneic placental protein extract as a vaccine before challenge with viable Ehrlich tumor cells for enhancement of immune system.

In this study 2, 4 and 6 mg protein/ml placental extract were examined by using 3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) viability assay and it was found that 6 mg protein/ml placental extract is the most effective protein concentration in apoptosis of tumor cells.

255 female swiss albino mice were divided into four main groups (G1 contained 15 mice while G2 contained 120 mice, G3 and G4 each contains 60 mice. G2, G3 and G4 were divided into 15 mice in each subgroup). G1 was the untreated control group, G2 is the Ehrlich treated group (divided into subgroups challenged with each subgroup of G3 and G4), injected with 2.5×10^5 viable Ehrlich tumor cells/mouse. G3 is vaccinated with xenogeneic placental extract (XPE) sterilized using 0.2 micron Millipore filters, while G4 is vaccinated with XPE sterilized using gamma irradiation at dose level 2 Gy. G3 and G4 groups were subdivided into subgroups (a, b, c and d).

Subgroups were vaccinated once and challenged with Ehrlich tumor cells after one week (G3a & G4a) or after four weeks (G3c & G4c).

Other subgroups were vaccinated three times and challenged with Ehrlich tumor cells after one week (G3b & G4b) or after four weeks (G3d & G4d).

Results of this study demonstrated a high significant decrease in tumor size in subgroups (G3a, G3c, G3d, G4a, G4b, G4c & G4d), high significant increase in animal weight (G3a, G3b, G3d, G4a, G4b, G4c & G4d), significant increase in lymphocyte count (G3d, G4b, G4c & G4d), CD8 and granzyme B activities (G4d) and caspase-3 activity (G4c & G4d) compared to the control group (G1).

Serum metalloproteinase 2 and 9 [MMP-(2&9)] activities showed that the G4d subgroup displays the less pronounced band compared to the other studied groups and to G2 (Ehrlich treated group).

Gel electrophoresis showed that Ehrlich ascites and serum sample of placental protein extract are represented by four detected bands at 7KDa, between 29KDa and 45kDa, at >67KDa and at >116KDa.

It was concluded that, vaccination using xenogeneic placental extract (XPE) targets the stimulation of the immune system against viable Ehrlich tumor cells, but it needs more study.



Content

ABSTRACT.....	I
LIST OF ABBREVIATIONS.....	Iii
LIST OF TABLES.....	V
LIST OF FIGURES.....	Vii
INTRODUCTION.....	1
AIM OF THE WORK.....	5
REVIEW OF LITERATURE.....	6
Matrix metalloproteinases.....	11
Cancer immunotherapy.....	13
The immune system: innate and adaptive immunity.....	15
I- Innate immunity.....	17
II- Adaptive immunity.....	20
A- B cells.....	20
B- T cells and antigen-presenting cells (APCs).....	21
C- Natural killer (NK) cells.....	26
Mechanism of action of cytotoxic T lymphocytes and natural killer cells.....	27
I- Fas dependent killing.....	28
II- Granule-Dependent Killing.....	30
A-Perforin.....	32
B- Granzymes.....	33

1- Granzyme A.....	34
2- Granzyme B.....	34
Granzyme B can promote caspase-independent cell death.....	35
Granzyme B Directly cleaves and activates caspases.....	36
Role of caspase-3 in cell apoptosis.....	37
Classification of anticancer immunotherapies.....	39
I-Passive immunotherapy.....	41
A-Tumor-targeting mAbs.....	41
B-Adoptive cell transfer.....	43
C- Oncolytic viruses.....	44
II-Active immunotherapy.....	44
A- Dendritic cell (DC)-based immunotherapies.....	44
B-Peptide-and DNA-based anticancer vaccines.....	45
C- Immunostimulatory cytokines.....	47
D- Immunomodulatory monoclonal antibodies (mAbs).....	48
E- Inhibitors of immunosuppressive metabolism.....	49
F- Pattern recognition receptors (PRRs).....	50
G- Immunogenic cell death inducers.....	51
Using placental extract as a method of anticancer immunotherapy.....	52
Shared characteristics of trophoblast cells and tumor cells.....	53
I-Proliferation.....	57
II-Invasion.....	58
III-Vasculogenic mimicry.....	59
