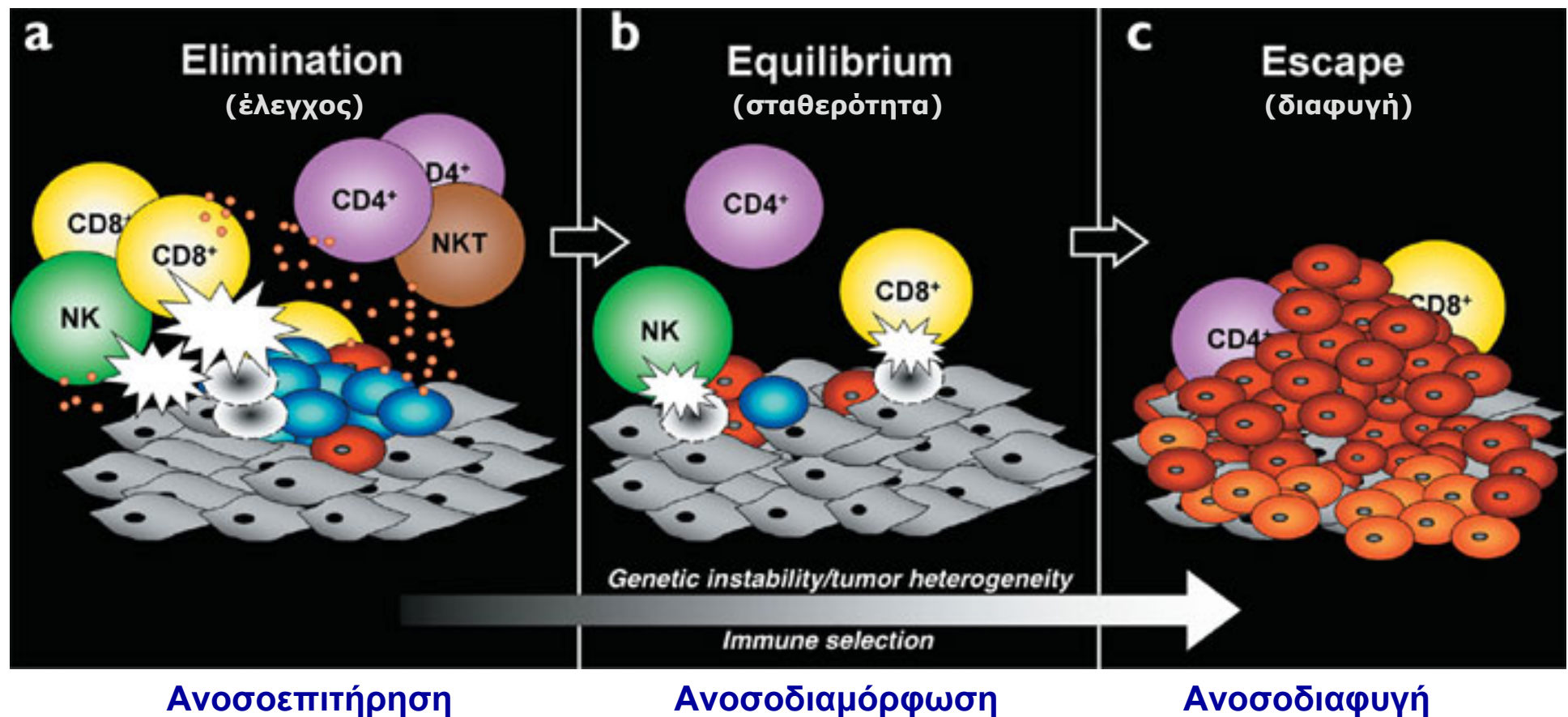


CD8 Τ-κυτταρολυτική απάντηση στον καρκίνο του πνεύμονα

Μαρία Ζαμανάκου

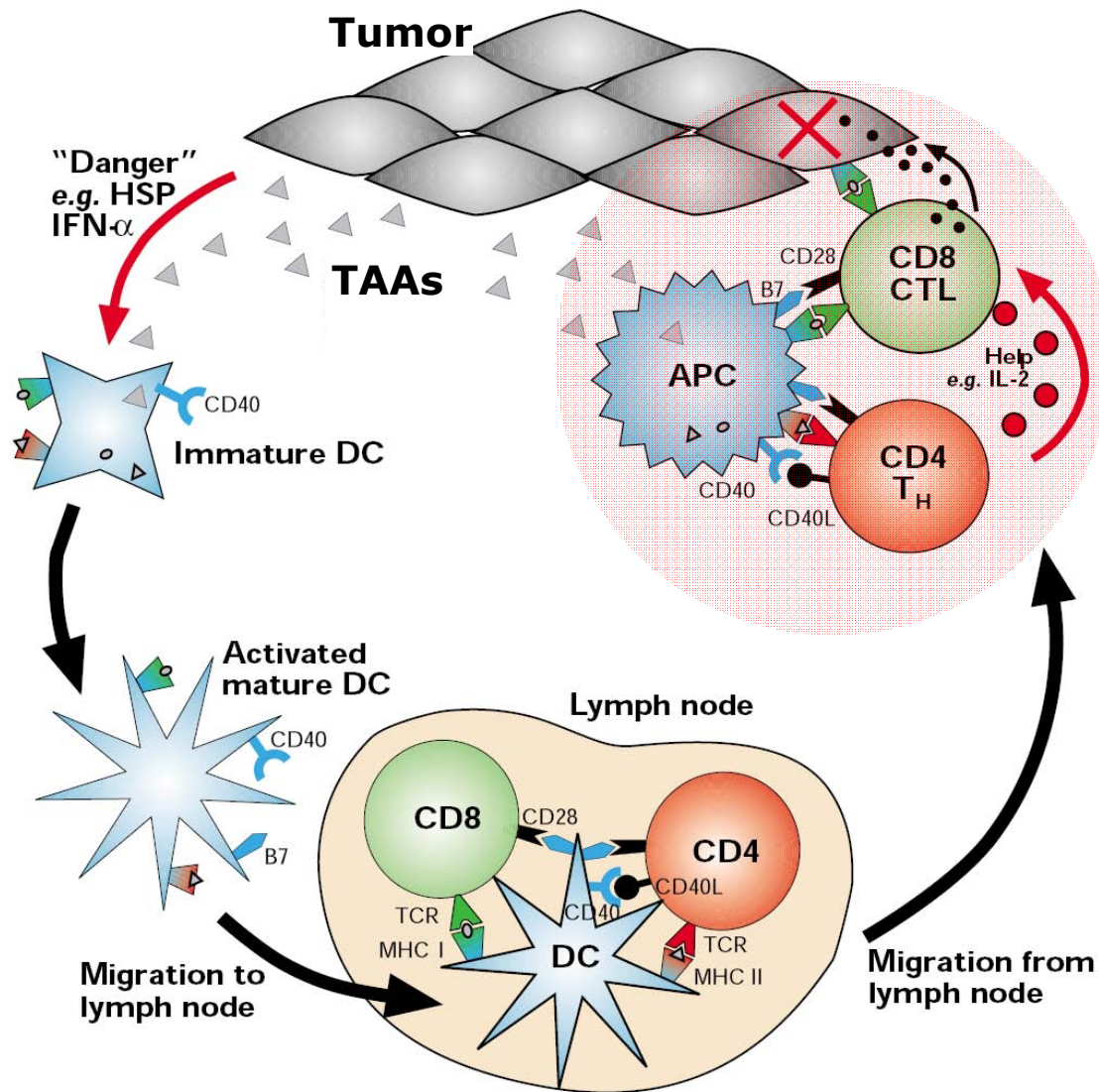
Βιολόγος-Υποψήφια Διδάκτωρ

Θεωρία ανοσοδιαμόρφωσης του καρκίνου (immunoediting theory)



Dunn G et al; Nature Immunology 2002





CD8 T κυτταρική απάντηση έναντι του όγκου:

APC στους λεμφαδένες
παρουσιάζουν αντιγόνα του όγκου

Ειδικά T κύτταρα πρέπει να
ενεργοποιηθούν και να
πολλαπλασιαστούν

CTL πρέπει να περάσουν από την
κυκλοφορία στο σημείο του όγκου

Τα CTL πρέπει να υπερπηδήσουν
ανοσοκατασταλτικούς
μηχανισμούς, να αναγνωρίσουν κ
να σκοτώσουν τα καρκινικά
κύτταρα

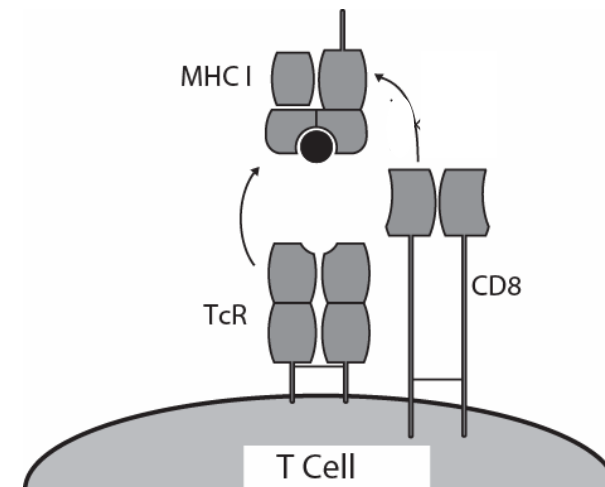
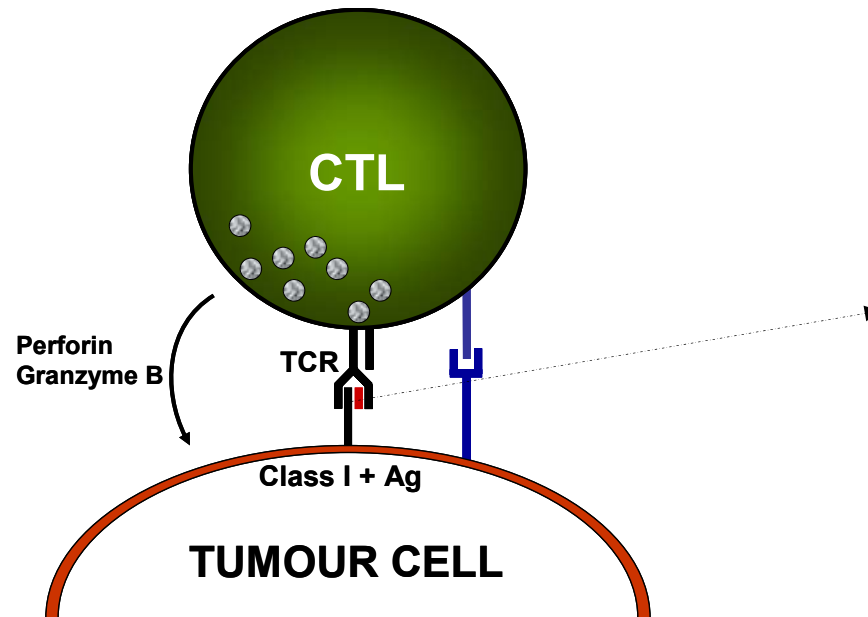
Δραστικά μνημονικά κύτταρα

**Η αναγνώριση και καταστροφή των καρκινικών κυττάρων μπορεί να
αποτύχει σε καθένα από τα παραπάνω στάδια**

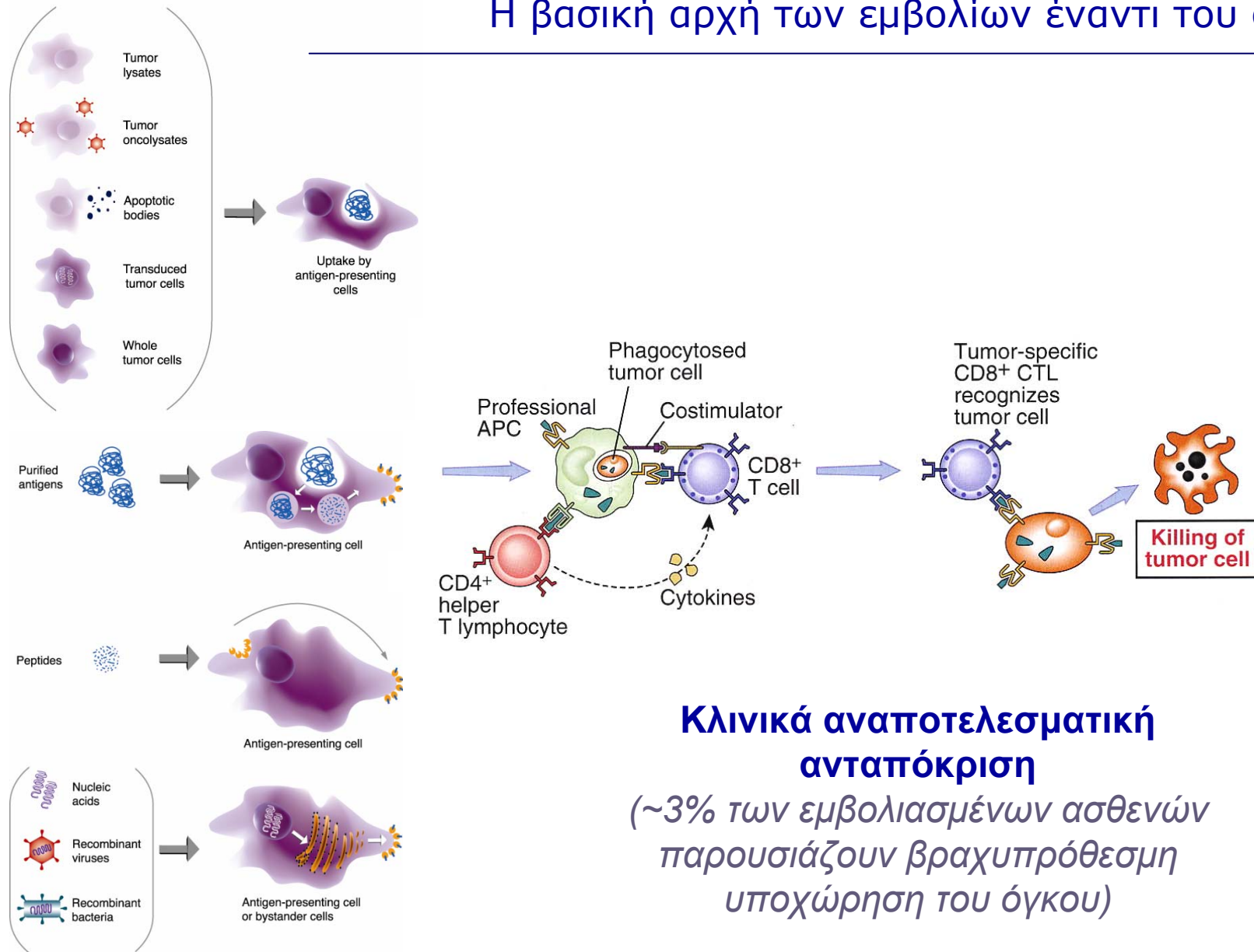


Αντιγόνα των όγκων

- Ειδικά έναντι του όγκου αντιγόνα (TSAs)
Εκφράζονται αποκλειστικά από τα καρκινικά κύτταρα και από κανένα φυσιολογικό κύτταρο του οργανισμού
- Σχετιζόμενα με τον όγκο αντιγόνα (TAAs)
Εκφράζονται και από φυσιολογικά κύτταρα, αλλά υπερεκφράζονται από τα καρκινικά κύτταρα



Η βασική αρχή των εμβολίων έναντι του όγκου



Κλινικά αναποτελεσματική ανταπόκριση

(~3% των εμβολιασμένων ασθενών
παρουσιάζουν βραχυπρόθεσμη
υποχώρηση του όγκου)



**Δεν έχει αναγνωρισθεί ειδικό
αντιγόνο για τον καρκίνο του
πνεύμονα**

**Η CD8 T κυτταρική απάντηση έναντι
αντιγόνων των όγκων δεν έχει
μελετηθεί**



Αξιολόγηση της αυτόματης (προϋπάρχουσας) CD8 T κυτταρικής απάντησης:

Ποσοτική και λειτουργική μελέτη
των ειδικών pCTL σε ασθενείς με καρκίνο
και υγιή άτομα



Σαρβιβίνη

- Αντι-αποπτωτική πρωτεΐνη
- Εκφράζεται από κύτταρα με υψηλό ρυθμό πολλαπλασιασμού
- Υπερεκφράζεται στα καρκινικά κύτταρα

hTERT

- Μέρος του συμπλέγματος της τελομεράσης
- Απαραίτητη για την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων
- Υψηλή έκφραση σχετίζεται με κακή πρόγνωση

MAGE-A

- ΤΑΑ που υπερεκφράζονται κατά τη διάρκεια της ογκογένεσης
- Εκφράζεται από φυσιολογικά κύτταρα (όρχεις)
- Υπερεκφράζεται από τα καρκινικά κύτταρα



- **Μελέτη της έκφρασης**

- **Συχνότητα**

(μικτή λεμφοκυτταρική καλλιέργεια – HLA multimer κυτταρομετρία ροής – κατανομή Poisson για σπάνια φαινόμενα)

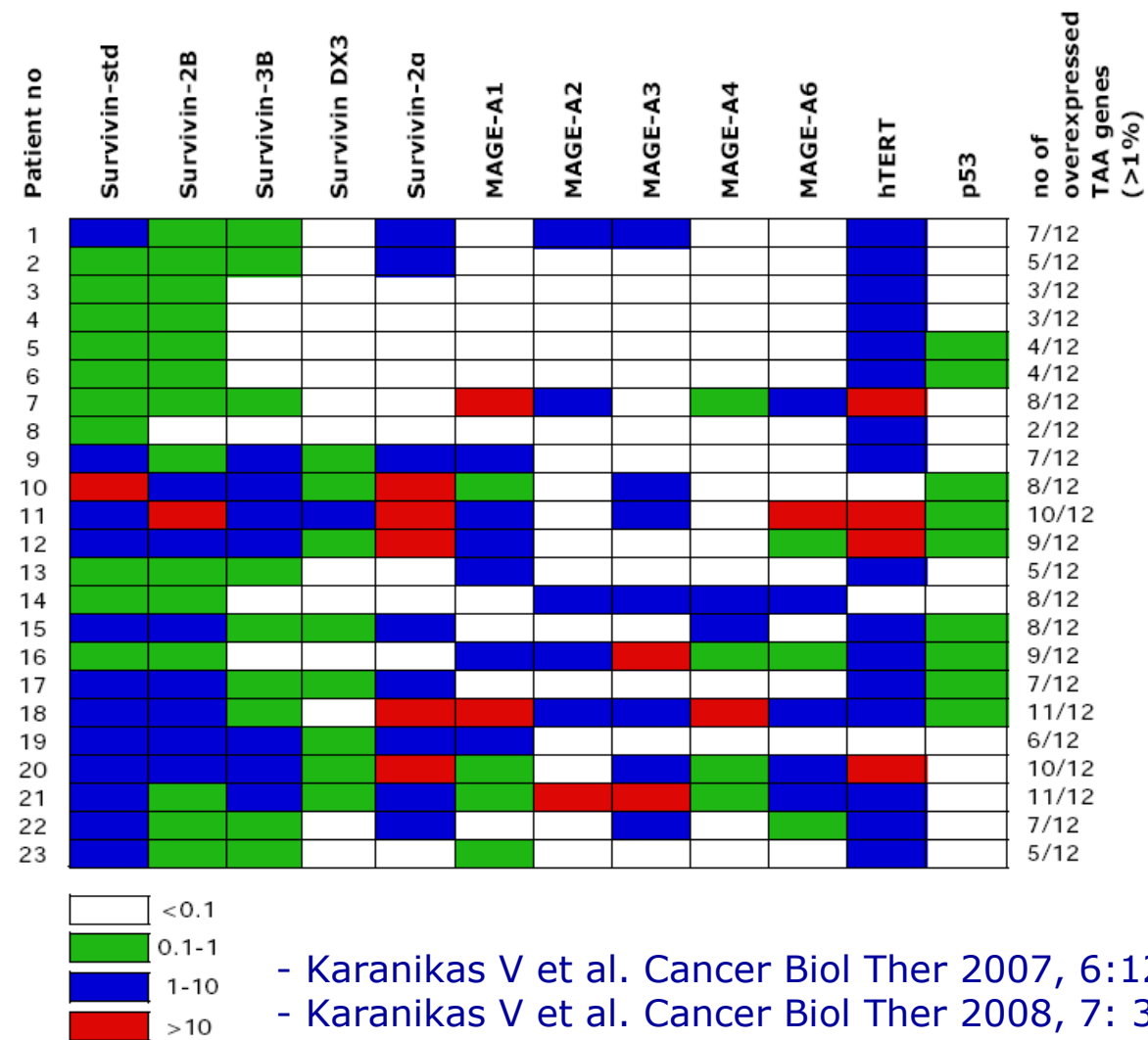
- **Απομόνωση CD8 T κλώνων**

- **Λειτουργικός χαρακτηρισμός**

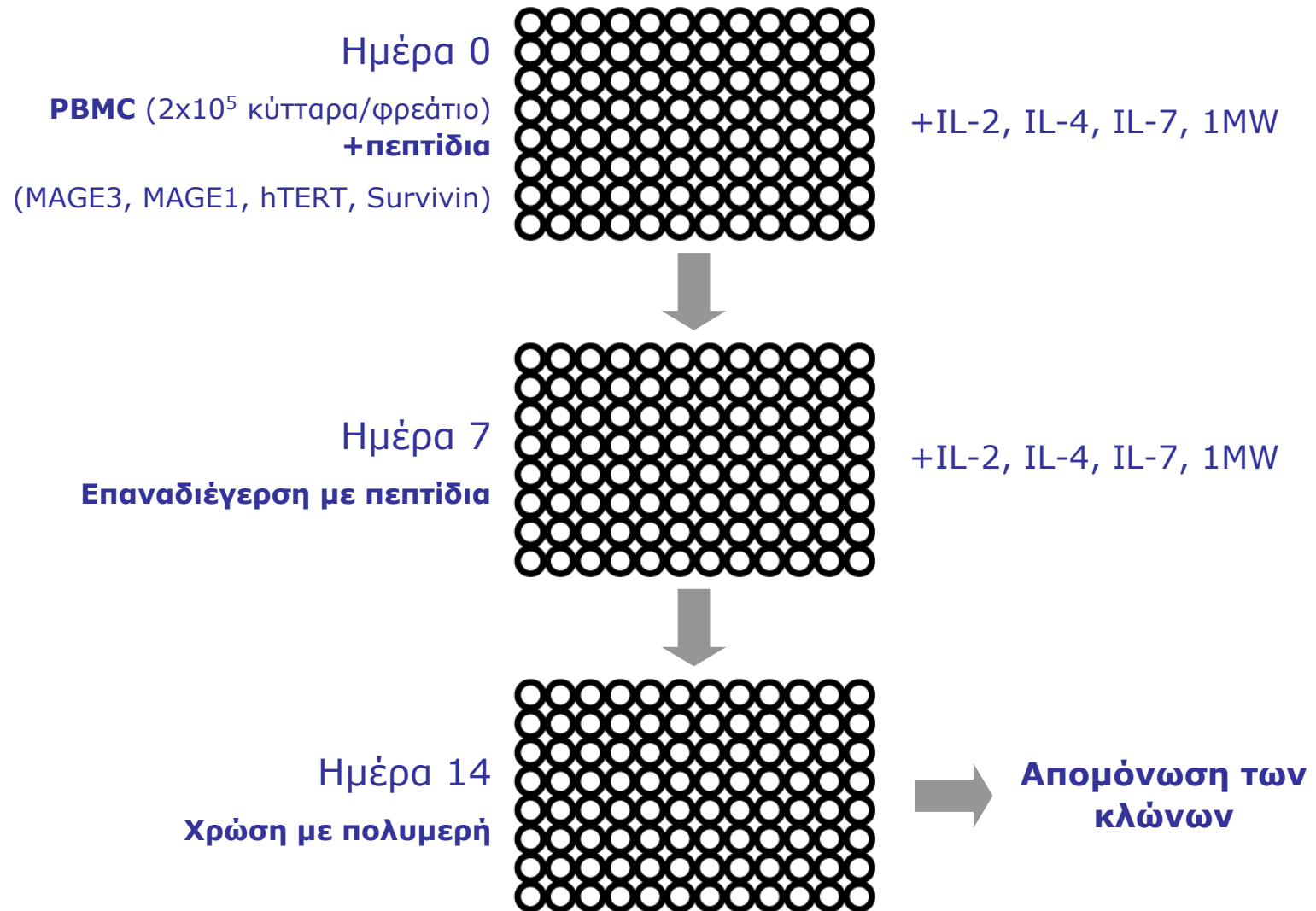
- TcR Vβ ανάλυση
- Παραγωγή κυτταροκινών – ^{51}Cr lysis assay
- Φαινότυπος (CD45-RA, CD45-RO, CCR7, CD57, CD28)
- Γήρανση (Senescence)



Μελέτη mRNA-έκφρασης



Ποσοτική ανάλυση της CD8 T κυτταρικής απάντησης



Συχνότητα ειδικών pCTL

Ασθενείς

Pt No	Age (yrs)	HLA	SURV.A2	SURV.A24	hTERT.A2 IL	hTERT.A2 RL	hTERT.A24	MAGE3.A1	IMAGE3.A2	MAGE3.A24	MAGE3.B35	IMAGE1.A1	MAGE1.B35
Non small cell lung cancer													
1	74	A02, 24, B35	15,0	<5	<7.4		<7.4		<7	5,2	NT		NT
2	75	A02, 11	<2.6			<3.6			<2.6				
3	73	A24, 32 B35		<1			<1	<1		<1	NT	<1	NT
4	45	A24, 24		<3.6			3,6			<3.6			
5	81	A2, 32	<2.6		7,8	<2.6			<2.6				
6	69	A2	1,5		<1.5	<1.5			<1.5				
7	58	A24, B35		<4.2			<4.2				<4.2		<4.2
8	55	A1, B35						<1.2			<1.2	<1.2	<1.2
9	47	A2	<2.8		2,6	<2.6			5,8				
10	66	A2, B35	<6.3		<6.3	<6.3		<6.3	<6.3		<6.3	<6.3	
11	70	A2, B35	<3.5		42,0	<3.5			<3.5		<3.5		<3.5
12	80	A2	<6.3		6,3				70,0				
Small cell lung cancer													
13	69	A24, 24		<6			<10			6,0			
14	56	A2, 2	1,5		13,0				5,1				
15	71	A24, 68		1,4			<1.4			1,4			
16	74	A24, 25, B35		<2.9			2,9			5,8	NT		NT
17	54	A02, 23	<2.6		<2.6	<2.6			<2.6				
18	74	A24, 03		<3.4			<3.4			<3.4			
19	70	A02, 32	<5.2		<5.2	<5.2			<5.2				
20	63	A01, 02	<2		<2	<2		<2	14,0			<2	
21	56	A30, 32, B35									6,0		<6
22	71	A02	15,0		9,9	<4.9			15,0				

Συχνότητα = $\times 10^{-7}$ CD8+ κύτταρα



Συχνότητα ειδικών pCTL

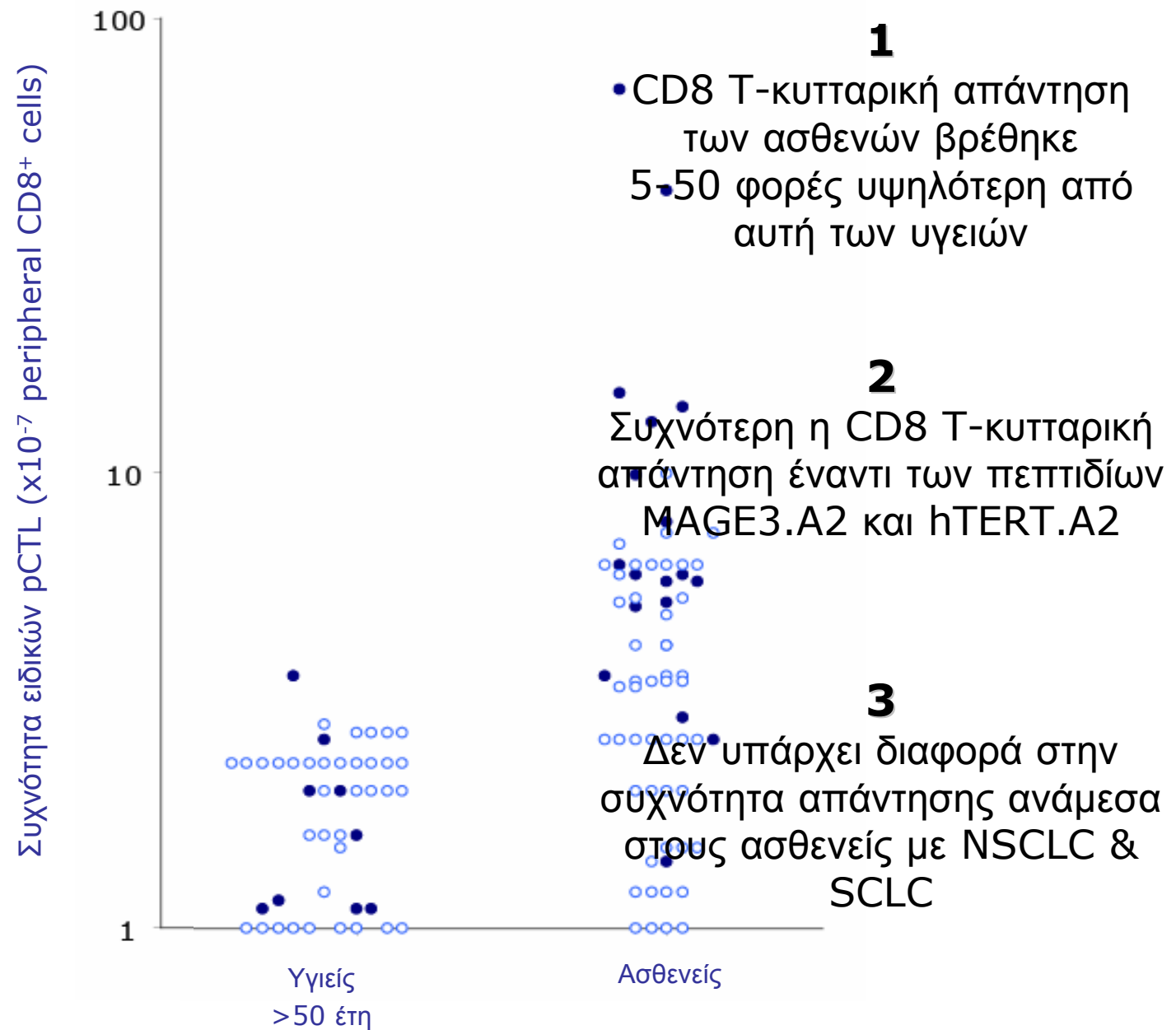
Υγιείς

Pt No	Age (yrs)	HLA	SURV.A2	SURV.A24	hTERT.A2 IL	hTERT.A2 RL	hTERT.A24	MAGE3.A1	MAGE3.A2	MAGE3.A24	MAGE3.B35	MAGE1.A1	MAGE1.B35
1	37	A02, 03, B35	<1			<1			1,0		NT		NT
2	26	A01, 02, B35	<3		<3	<3		<3	13,0		<3	<3	<3
3	27	A02, 24	1,5	1,5	10,0	2,0	<3		22,0	<3			
4	53	A02			2,6	<2.7							
5	40	A01, 24, B35					3,0	<6		<6.1	NT		NT
6	55	A02	<1		1,0	<1			3,6				
7	55	A01						<2				<2	
8	54	A01						1,0				<1	
9	54	A01, 02	<0.4		<0.4	<0.4		<0.4	<0.4			<0.4	
10	54	A02	<2		2,0	<2			2,0				
11	25	A02			3,0				10,0				
12	60	A2, A24, B35	<2.3	<2.3	<2.3	<2.3	<2.3		<2.3	<2.3	<2.3		<2.3
13	57	A24		<1.6			1,6	<1.6		<1.6		<1.6	
14	64	A2	<1		<1	<1			1,0				
15	60	A2			<1.15	<1.5			1,2				
16	51	A24, B35	<2.3		<2.3	<2.3			<2.3		<2.3		<2.3
17	62	A1						<2				<2	
18	60	A1,A24		<2.7			<2.7	<2.7		<2.7		<2.7	
19	26	A1,A2	<2.5		<2.5	<2.5		<2	13,0			<2.5	
20	27	A2	1,3		6,4	<1.3			15,0				
21	23	A2						2,0					

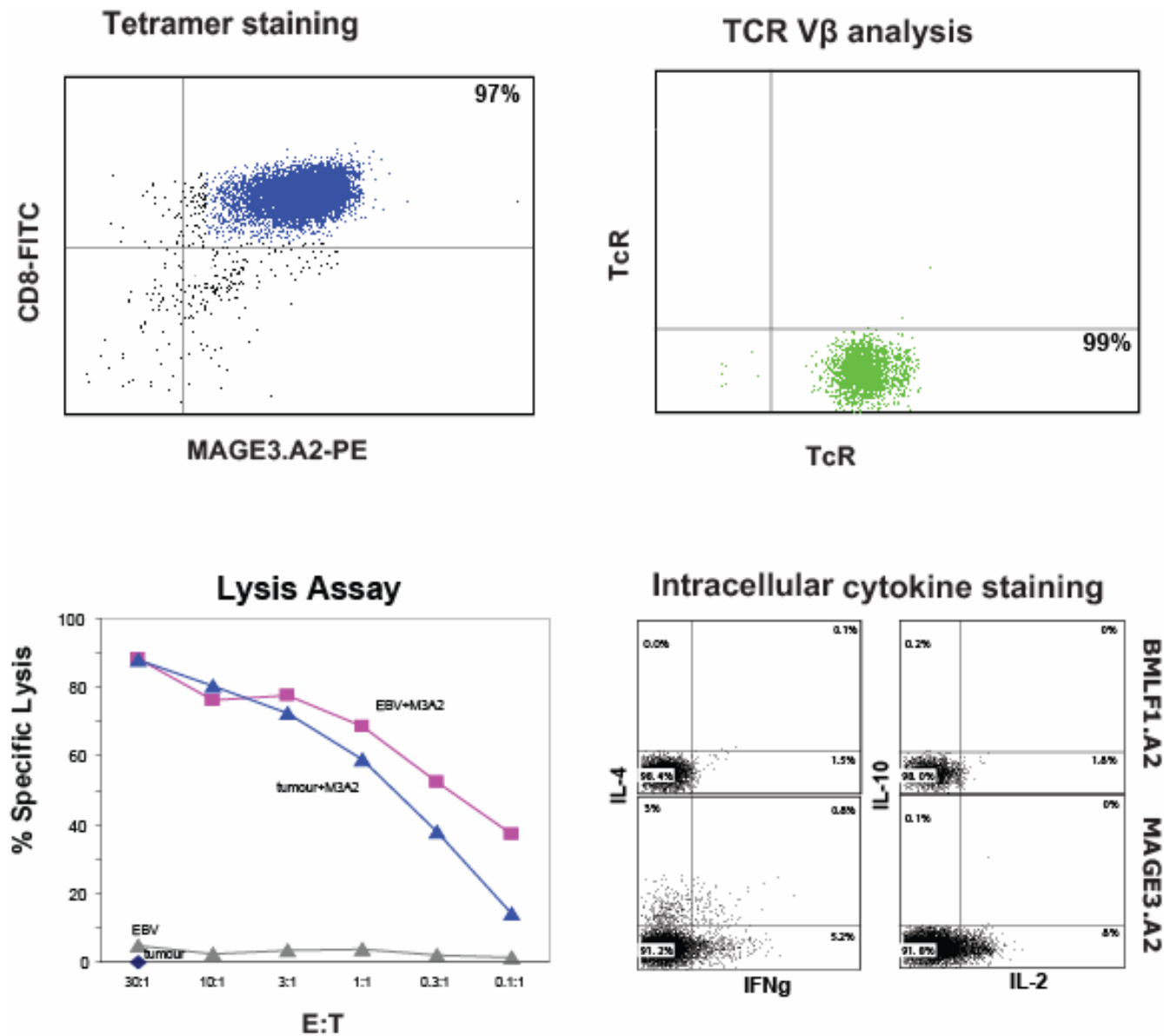
Συχνότητα = $\times 10^{-7}$ CD8+ κύτταρα



Συχνότητα ειδικών pCTL



Λειτουργική ανάλυση της CD8 T κυτταρικής απάντησης

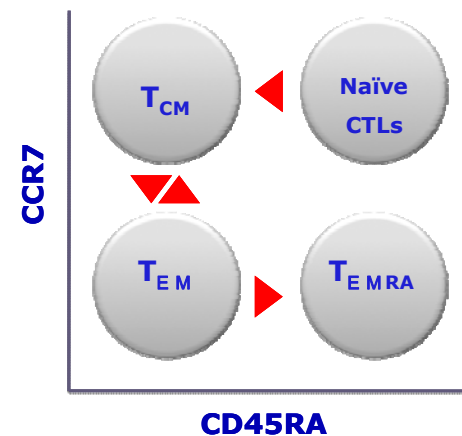


Λειτουργική ανάλυση της CD8 T κυτταρικής απάντησης

Κλώνος	Αντιγόνο	Λυτική ικανότητα		Φαινότυπος	CD 28
		T+p	T-p		
N1	M3A1	64	89	CM	+
N2	M3A2	65	-2	EM	+
N3	M3A2	85	17	CM	+
N4	M3A2	87	7	CM	+
N5	hTERT-ILA	71	1	EM	+
P1	hTERT-ILA	49	0	EM	+
P2	hTERT-ILA	50	1	EM	+
P3	M3A2	26	2	EM	+
P4	M3A2	69	2	CM	+
P5	M3A2	57	16	-	

CM: Central memory

EM: Effector memory



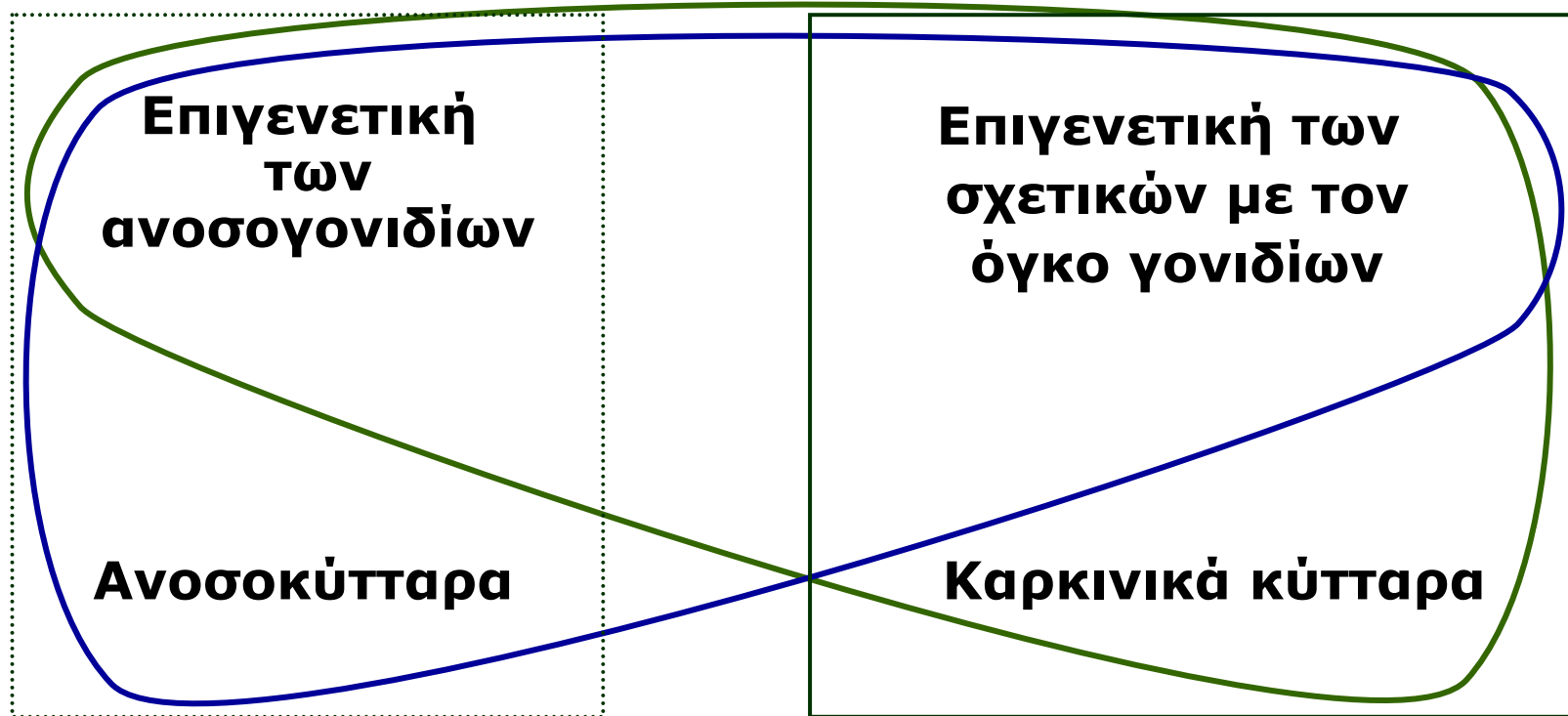
- ✓ **Στο αίμα** ασθενών με καρκίνο πνεύμονα και υγιών ατόμων εντοπίζονται **ειδικοί έναντι του όγκου** CTL κλώνοι
- ✓ **Δεν φαίνεται** να εμφανίζουν σημαντικές λειτουργικές **διαφορές**
- ✓ Στους ασθενείς τα κύτταρα αυτά πιθανότατα αντιπροσωπεύουν **κύτταρα μνήμης** δεν κατάφεραν όμως να οδηγήσουν σε μια επιτυχή ανοσιακή απάντηση (διαφυγή, ανοσοκατασταλτικοί μηχανισμοί)
- ✓ Στους υγιείς ανιχνεύονται σε χαμηλή συχνότητα και πιθανότατα αντιπροσωπεύουν **naïve** T κύτταρα

Η ανίχνευση πεπτιδοειδικών CTL κλώνων και η μελέτη της λειτουργικότητάς τους, μπορεί να συνδράμει στην κατανόηση των μηχανισμών που είναι υπεύθυνοι για την ανοσοδιαφυγή του όγκου



ΑΝΟΣΟΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ

Germenis AE, Karanikas V. *Immunol Cell Biol* 2007, 85:55



Μεταβολές στην έκφραση των άνοσο- και σχετικών με τον όγκο γονιδίων από τα CD8 T κύτταρα είναι υπεύθυνες για την μη επιτυχή CD8 T κυτταρική απάντηση έναντι του όγκου



1. EU **Marie Curie** Incoming International Fellowship 021975-IRTALUNG
2. EU **Marie Curie IRG** 046459-IMMUNOEPIGENETICS
3. Hellenic General Secretariat of R&T – **Matching funds**

1. Hellenic Ministry of Education, **PYTHAGORAS**, EPAEK II Project Grant
2. Hellenic General Secretariat of R&T – **ENTEP2004** Grant# 04EP9
3. Hellenic General Secretariat of R&T – **ΕΠΑΝ** Grant# 05-NON-EU 445

1. **Phizer** Hellas, Grant in Aid
2. **GSK** Hellas, Research Fellowship



Ευχαριστώ για την προσοχή σας!

Germenis A, Karanikas V, Soukou F, Kalala F, Tsohas S, Boukas K

Department of Respiratory Medicine

Gourgoulisanis K, Kerenidi T

Department of Pathology

Koukoulis G, Nakou M

Athens Medical Center

Dahabreh J

Ludwig Institute for Cancer Research, Belgium

Coulie P

Austin Research Institute, Australia

Loveland B

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ – ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ