

Μονάδα Ανοσολογίας Καρκίνου, Εργαστήριο Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας
Πνευμονολογική Κλινική,
Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας
Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

**CD8 T-ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ (CTL) ΑΠΑΝΤΗΣΕΙΣ
ΕΝΑΝΤΙ
ΕΥΡΕΩΣ ΕΚΦΡΑΖΟΜΕΝΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ ΤΩΝ
ΟΓΚΩΝ (ΤΑΑ)
ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ**

Φανή Καλαλά, BSc, MD, PhD

Γραμουσιάνου Ε,
Σούκου Φ,
Κερενίδη Θ,
Γουργουλιάνης Κ,
Καρανίκας Β, Γερμενής ΑΕ

Σκοπός

Αναζήτηση CTL κλώνων
έναντι επίτοπων
της Σαρβιβίνης, της hTERT & MAGE-A
στο αίμα
ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα
και υγιών ατόμων

Αντιγόνα του όγκου

Σαρβιβίνη

- Αντι-αποπτωτική πρωτεΐνη
- Έκφραση απαραίτητη για την επιβίωση και ανάπτυξη των κυττάρων
- Έκφραση:
 - ↑ καρκίνος – κύτταρα με υψηλό ρυθμό πολλαπλασιασμού
 - ↓ σε μη καρκινικούς ιστούς

hTERT

- Συστατικό της τελομεράσης
- Έκφραση απαραίτητη για την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων
- Υψηλή έκφραση – Κακή πρόγνωση
- Ευρέως εκφραζόμενο αντιγόνο των όγκων

MAGE-A

- Ειδικά των όγκων αντιγόνα (TSAs)
- Εκφράζεται αποκλειστικά σε καρκινικά κύτταρα

Υλικό

Ασθενείς/ Μάρτυρες (HLA-A1 ή HLA-A2 ή HLA-A24)

- 3 ασθενείς με NSCLC
- 8 ασθενείς με SCLC
- 6 φυσιολογικά άτομα



Πεπτίδια

Σαρβιβίνης

LTLGEFLKL (HLA-A2)

AYACNTSTL (HLA-A24)

hTERT

ILAKFLHWL (HLA-A2)

RLFFYRKSV (HLA-A2)

VYAETKHFL (HLA-A2)

MAGE-A3

FLWGPRALV (HLA-A2)

TFPDLESEF (HLA-A24)

EVDPIGHLY (HLA-A1)

MAGE-A1

EADPTGHSY (HLA-A1)

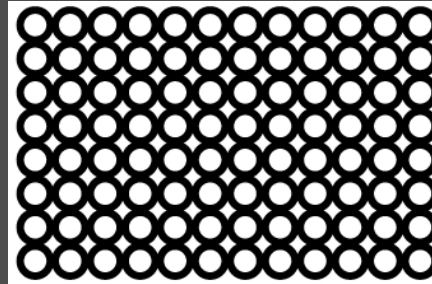
Μέθοδος

Παράλληλη σειρά μικροκαλλιιεργειών (MLPC, mixed lymphocyte peptide culture)
με συγκεκριμένο αριθμό PBMC (>96 φρεάτια – 2×10^5 κύτταρα/φρεάτιο)

ΜΕΡΑ 0

PBMC + πεπτίδιο

60min, 20°C, πλύση, ανάμιξη

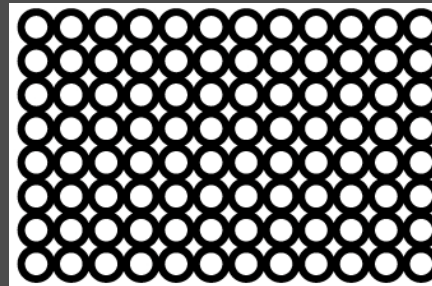


+IL-2, IL-4, IL-7



ΜΕΡΑ 7

Επαναδιέγερση με πεπτίδια

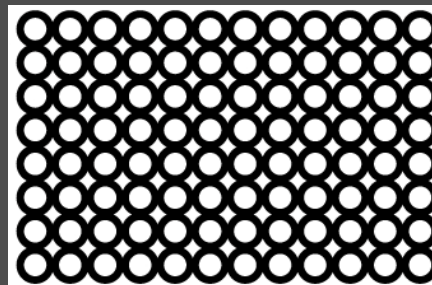


+IL-2, IL-4, IL-7



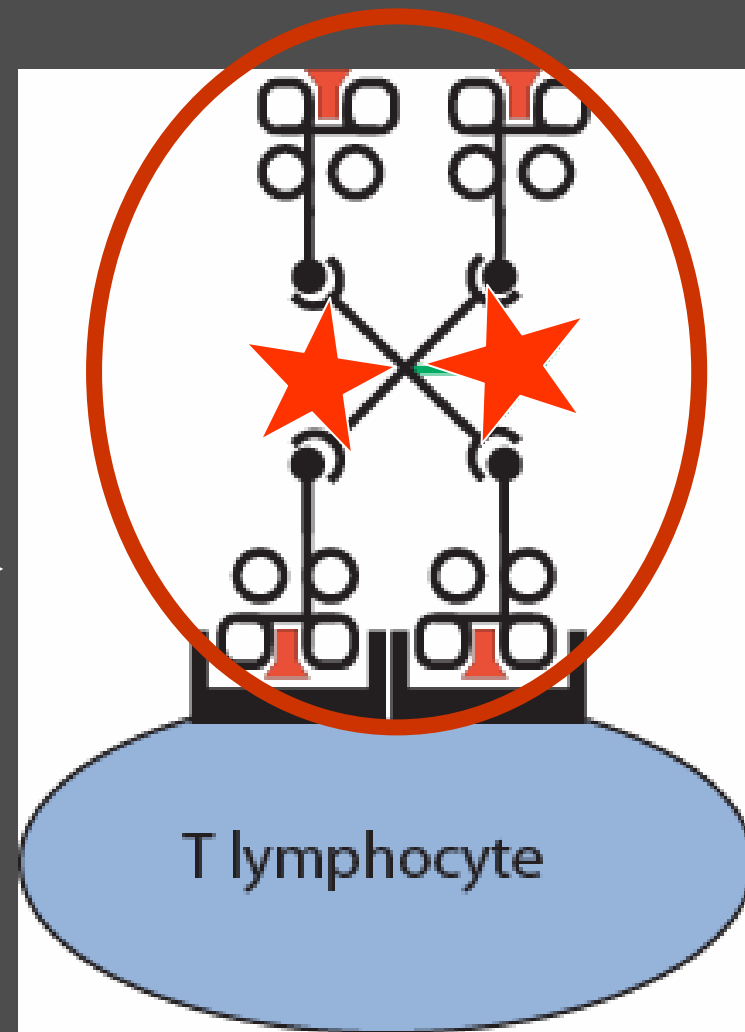
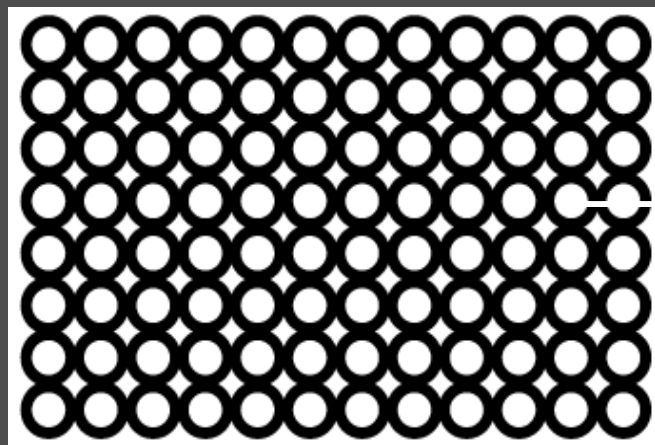
ΜΕΡΑ 14

Σήμανση με HLA-τετραμερή



ΕΠΑΝΑΔΙΕΓΕΡΣΗ ?

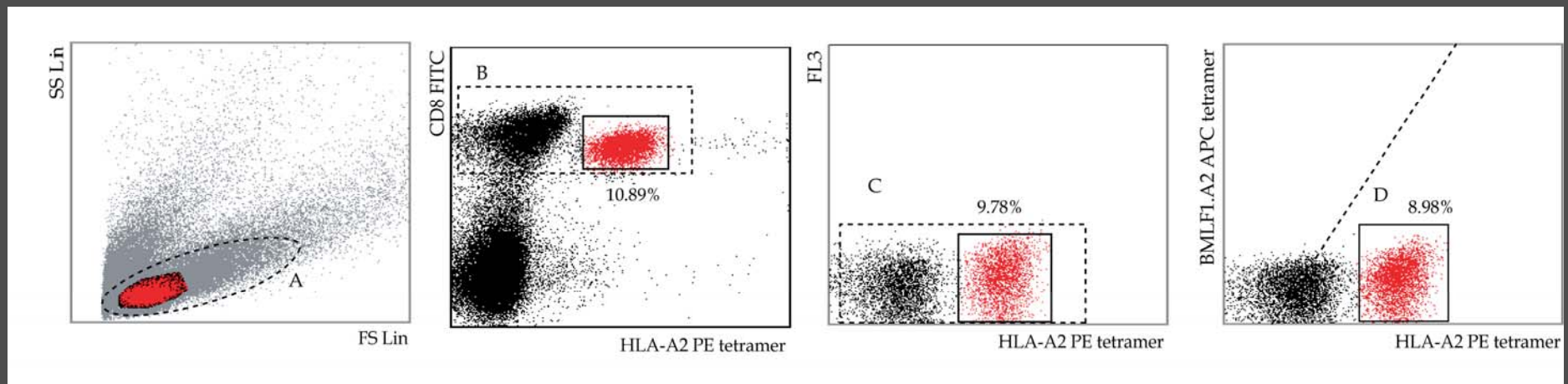
Σήμανση με Τετραμερή



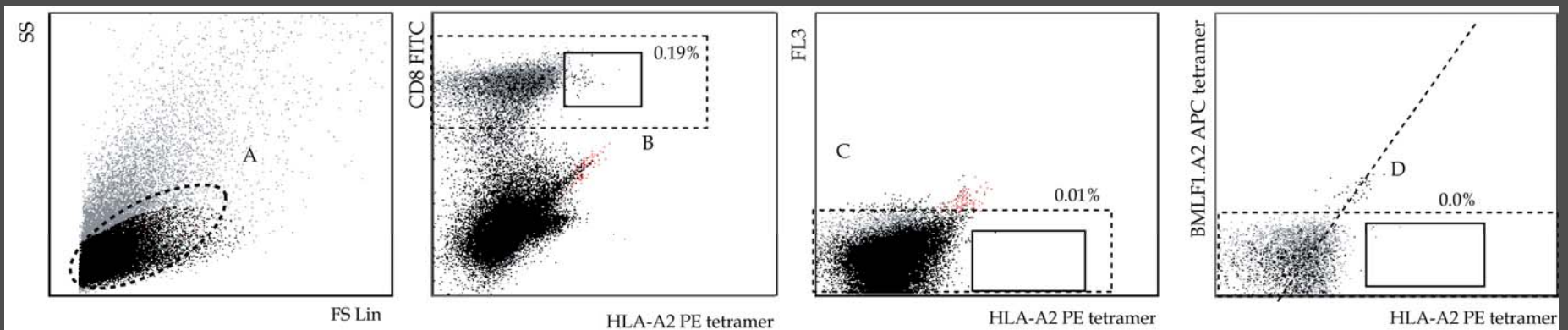
Για κάθε πείραμα γίνονται ~1000 αναλύσεις (1 μήνα)

Τετραμερή-Ανάλυση

Θετικός πληθυσμός κυττάρων για το τετραμερές-PE

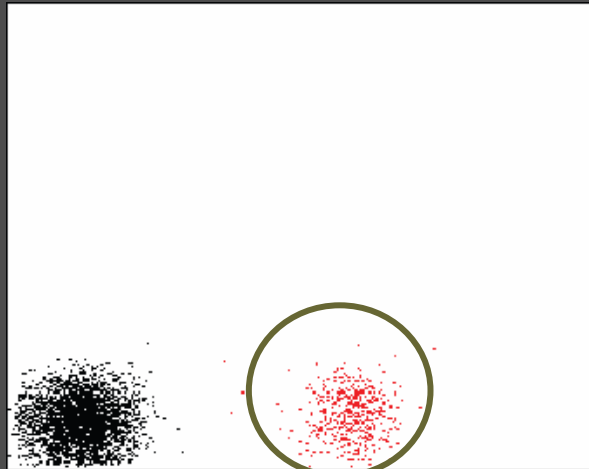


Αρνητικός πληθυσμός κυττάρων για το τετραμερές PE & APC (αυτοφθορισμός)

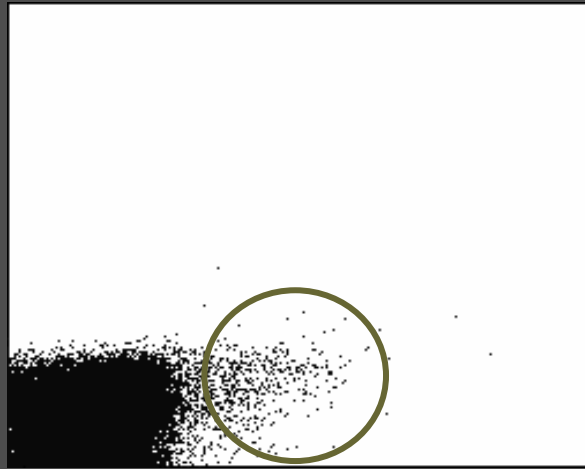


Αποτελέσματα 1

BMLF1.HLA-A2 APC



hTERT.A2 PE



MAGE3.A2 PE



SURV.A2 PE

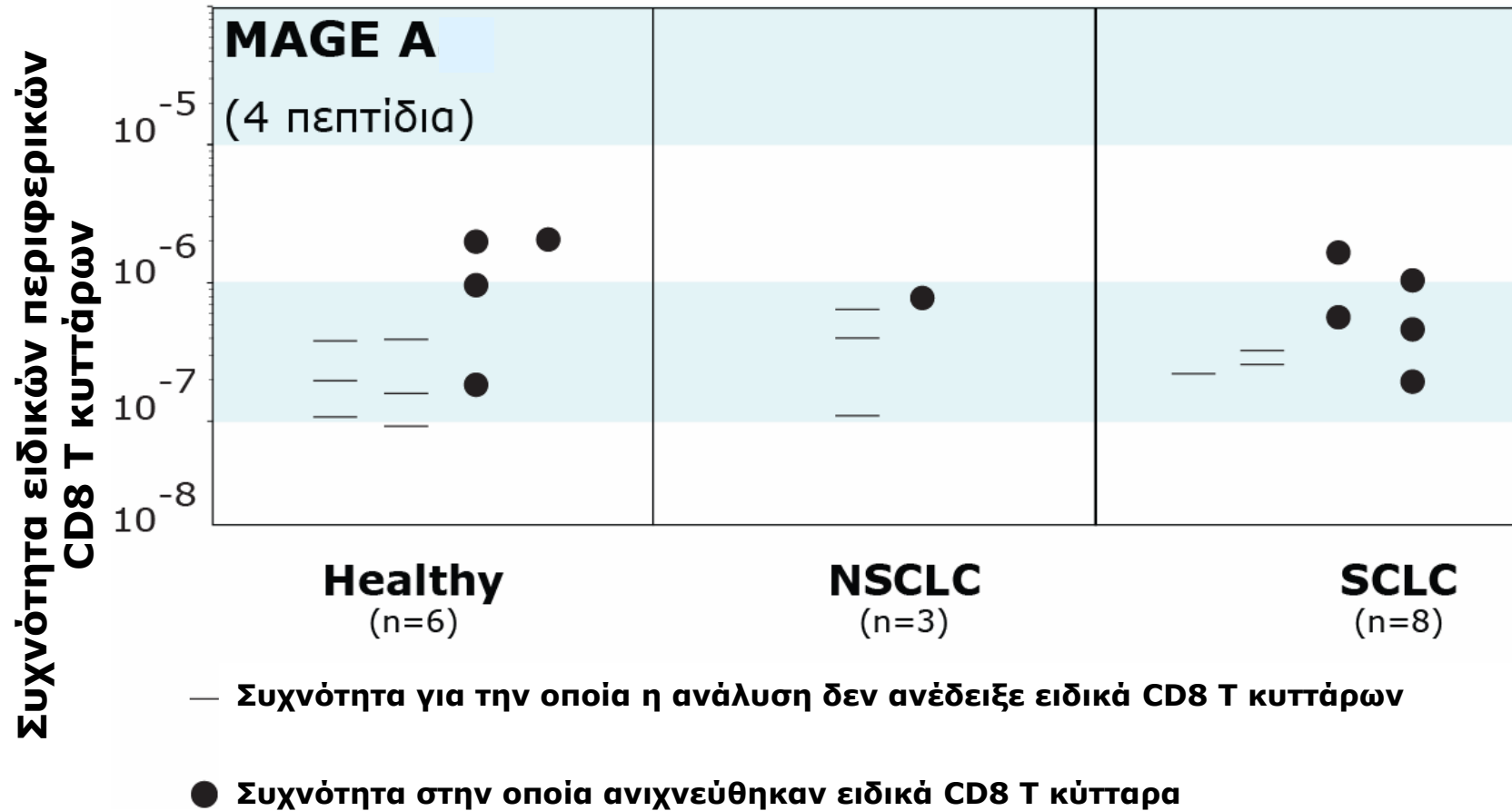


**Υπολογισμός αριθμού αντι-TAA CD8 κυττάρων
επί του συνόλου των κυκλοφορούντων CD8 κυττάρων**

Κατανομή σπανίων φαινομένων κατά Poisson
προσαρμοσμένη για την κλωνικότητα κατά Bernouli

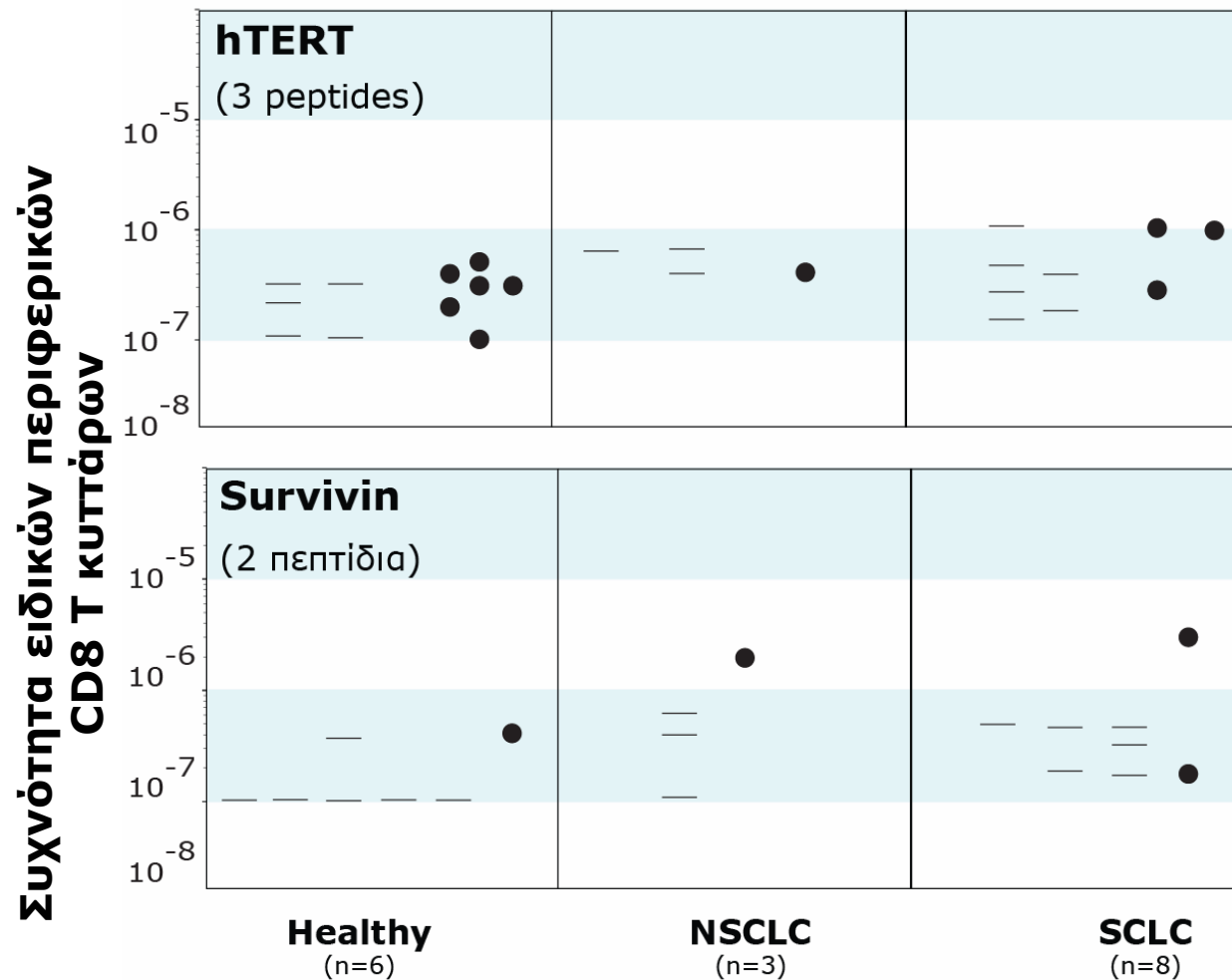
Αποτελέσματα 2

CTL έναντι MAGE-A



Αποτελέσματα 3

CTL έναντι hTERT & Survivin



- Συχνότητα για την οποία η ανάλυση δεν ανέδειξε ειδικά CD8 T κυττάρων
- Συχνότητα στην οποία ανιχνεύθηκαν ειδικά CD8 T κύτταρα

Συμπεράσματα

**CD8 T κυτταρικές απαντήσεις
σε φυσιολογικά άτομα
& ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα
(κεντρική και περιφερική ανοχή;)**

**CD8 T κυτταρικές απαντήσεις
έναντι πολλαπλών επίτοπων ίδιων αντιγόνων
(λειτουργικές διαφορές;)**

Department of Immunology and Histocompatibility

Prof Anastasios Germenis

Cancer Immunology Unit

Dr Vaios Karanikas

Kalala F

Gramoustianou E

Soukou F

Tsohas S

Zamanakou M

Boukas K

Loules G

Khalil S

Argentou N

Siska E

Vardakastani N

Collaborators

- Respiratory Medicine Department, UTH: Prof Gourgoulis K, Kerenidi N
- Thoracic Surgery Department, UTH: Dr Hevas A
- Department of Pathology, UTH: Prof Koukoulis G, Nakou M
- Genetic and Cellular Unit, Ludwig Institute for Cancer Research, Belgium: Prof Coulie
- Cancer Trials Laboratory, Austin Research Institute, Melbourne, Australia: Prof. Loveland
- 2nd Department of Surgery, University of Kitakyushu, Japan: M. Takenoyama

Funding

EU, GSRT, GSK, Pfizer