

Oddziaływania regulatorowych limfocytów T na komórki chłoniaków z komórek B.

Wysoki odsetek regulatorowych limfocytów T (Treg) naciekających chłoniaka jest powiązany z dłuższym przeżyciem chorych na rozlanego chłoniaka z dużych komórek B, chłoniaka grudkowego i klasyczną postać chłoniaka Hodgkina. Ponieważ aktywowane limfocyty CD4+CD25+ Treg hamują proliferację i różnicowanie prawidłowych limfocytów B, powstaje pytanie czy Treg mogą podobnie bezpośrednio regulować proliferację komórek chłoniaków z obwodowych limfocytów B.

Celem pracy była ocena zdolności allogenicznych limfocytów Treg bezpośrednio po wyodrębnieniu z krwi obwodowej zdrowych dawców frakcji wzbogaconej w Treg drogą separacji magnetycznej komórek CD25+ oraz Treg po ich namnożeniu *in vitro* do supresji proliferacji ustalonych linii chłoniaków wywodzących się z obwodowych limfocytów B.

Populacja limfocytów CD25+ wzbogacona w CD4+CD25+FOXP3+Treg była aktywowana w obecności allogenicznych komórek dendrytycznych generowanych z monocytów (allo-MoDC) lub poliklonalnie kulkami magnetycznymi opłaszczonymi przeciwciałami anty-CD3, -CD28, -CD28, w obecności niskiej dawki IL-2 (10 U/ml), z rapamycyną lub bez obecności rapamycyny. Świeżo wyodrębniane oraz namnażane *in vitro* populacje wzbogacone w CD4+CD25+ Treg były kokulturowane z komórkami ustalonych linii komórkowych chłoniaka grudkowego, rozlanego chłoniaka z dużych komórek B, chłoniaka Burkitta, szpiczaka plazmocytozy, chłoniaka z komórek płaszczki i chłoniaka Hodgkina w mieszanych hodowlach leukocytarnych (MLC) zakładanych bez obecności rapamycyny. Komórki chłoniaka znakowano barwnikiem CFSE w celu umożliwienia oceny ich proliferacji w MLC metodą cytometrii przepływowej.

Świeżo wyodrębniane Treg nie przejawiały zdolności do supresji proliferacji linii chłoniaka w MLC. CD4+CD25+Tregs namnażane przez 2-3 tygodnie z rapamycyną powodowały supresję proliferacji linii chłoniaka i supresję poliklonalnie stymulowanych autologicznych i allogenicznych konwencjonalnych limfocytów T w MLC, jak też wykazywały ekspresję FOXP3 i demetylację regionu regulatorowego TSDR genu *FOXP3*. Treg restymulowane poliklonalnie lub przez allo-MoDC z rapamycyną proliferowały przez 6-8 tygodni i utrzymywały funkcje

regulacyjne. Treg namnażane bez obecności rapamycyny nie nabywały funkcji regulacyjnej wobec komórek chłoniaków. Namnożone CD4+CD25+Treg produkowały IFN- γ , perforynę, granzym A, a w niewielkim stopniu granzym B, TGF- β 1 i IL-10. Namnożone CD4+CD25+Treg wykazywały ekspresję Helios, CD152 (CTLA-4), CD39, GITR, CD95 (APO-1), CD62L, CD69, CD49d, CD5, CD132, CD278 (ICOS), CD28, CD27, CD154 (CD40L), CD134 (OX-40).

Treg namnożone *in vitro* w obecności niskiej dawki IL-2 i rapamycyny z frakcji limfocytów CD25+ lub z frakcji oczyszczonych limfocytów CD4+CD25+T mogłyby być użyte do supresji przetrwałych komórek chłoniaka po autologicznym przeszczepieniu komórek krwiotwórczych, a po przeszczepieniu allogenicznym do przeciwdziałania reakcji przeszczep przeciwko gospodarzowi i wznowie chłoniaka u chorych, których chłoniak jest wrażliwy na regulacyjne działanie limfocytów Treg.

Słowa kluczowe:

Immunoterapia, limfocyty Treg, chłoniak z komórek B, komórki dendrytyczne, FoxP3