

Оценка частоты наивных CD8 Т-клеток специфичных к минорным антигенам гистосовместимости АСС-1У и НА-2

Научный руководитель – Ефимов Григорий Александрович

Шитиков Савелий Андреевич

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра иммунологии, Москва, Россия

E-mail: rijik99@gmail.com

Введение: Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) способна приводить к полному излечению от злокачественных заболеваний гемопоэтической системы, за счет уничтожения опухолевых клеток лимфоцитами донора - реакция «трансплантат против опухоли» (РТПО). При подборе донора полностью совместимого по генам главного комплекса гистосовместимости HLA (Human Leukocyte Antigens) мишенями Т-клеточного аллореактивного иммунного ответа являются минорные антигены гистосовместимости (МАГ), то есть пептиды реципиента, представленные на поверхности клеток молекулами HLA. Существование МАГ обусловлено наличием несинонимичных однонуклеотидных полиморфизмов в геноме реципиента [2]. Аллогенный ответ возможен в случае, если геном донора не несет иммуногенного МАГ (МАГ^{-/-}), а в геноме реципиента присутствует хотя бы один иммуногенный аллель (МАГ^{+/-} или МАГ^{+/+}) (рис.1). Тем не менее, даже при подобном несовпадении, продуктивный ответ лимфоцитов донора против клеток опухоли *in vivo* наблюдается не всегда [1]. Например, Т-лимфоциты донора, распознающие такие МАГ, как НА-2 и PANE1, наблюдаются в 50-60% случаев после трансплантации, тогда как ответ на антигены НА-8, ADIR1 и АСС1-У наблюдается значительно реже, в 0-25% случаев. Одной из причин разного ответа *in vivo* на МАГ, может быть неодинаковая частота наивных МАГ-специфичных Т-клеток в кровообращении донора, что влияет на вероятность попадания МАГ-специфичных наивных Т-клеток в трансплантат и организм реципиента. В данной работе сравнивалась частота наивных Т-лимфоцитов, распознающих высокоиммуногенный МАГ НА-2 и низкоиммуногенный МАГ АСС1-У, для проверки гипотезы, что она коррелирует с вероятностью развития ответа *in vivo*.

Цель: Определить частоту наивных CD8⁺ Т-клеток, распознающих минорные антигены гистосовместимости АСС-1У и НА-2 у доноров, не имеющих данных антигенов.

Задачи:

- Генотипирование доноров на полиморфизмы НА-2 и АСС-1У, отбор доноров с генотипом НА-2^{-/-} и АСС-1У^{-/-}
- Получение НА-2 и АСС-1У специфичных Т-клеточных культур из наивного пула Т-клеток доноров, путем *in vitro* стимуляции аутологичными дендритными клетками, нагруженными синтетическими пептидами НА-2 и АСС-1У [3]
- Определение НА-2 и АСС-1У-специфических Т-клеточных клонов путем окрашивания Т-клеточных культур МНС-тетрамерами. Подсчёт частоты МАГ-специфичных Т-клеток программой ELDA для анализа данных, полученных методом предельного разведения [4]

Результаты: по полученным данным, частота наивных Т-клеток, распознающих НА-2 антиген ($f_{\text{НА-2}} \approx 5 \cdot 10^{-6}$) существенно превышает частоту наивных Т-клеток с рецепторами к АСС-1У ($f_{\text{АСС-1У}} \approx 2 \cdot 10^{-7}$), что соотносится с различной эффективностью иммунного ответа *in vivo*. В дальнейшем, понимание закономерностей формирования пула наивных Т-клеток распознающих МАГ, и предсказание иммунодоминантных антигенов для пары донор-реципиент могут быть использованы для повышения эффективности алло-ТГСК.

Источники и литература

- 1) Hobo, Willemijn et al. “Association of Disparities in Known Minor Histocompatibility Antigens with Relapse-Free Survival and Graft-versus-Host-Disease after Allogeneic Stem Cell Transplantation.”// *Biology of blood and marrow transplantation [U+202F]*: journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation 19.2 (2013): 274–282.
- 2) Marijt, W. A. Erik et al. “Hematopoiesis-Restricted Minor Histocompatibility Antigens НА-1- or НА-2-Specific T Cells Can Induce Complete Remissions of Relapsed Leukemia.”// *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100.5 (2003): 2742–2747.
- 3) Wölfl, Matthias, and Philip D Greenberg. “Antigen-Specific Activation and Cytokine-Facilitated Expansion of Naive, Human CD8+ T Cells.” // *Nature protocols* 9.4 (2014): 950–966.
- 4) Yifang Hu, Gordon K. Smyth, “ELDA: Extreme limiting dilution analysis for comparing depleted and enriched populations in stem cell and other assays.” // *Journal of Immunological Methods*, Vol. 347, Issues 1–2, 15 August 2009, Pages 70-78.

Иллюстрации

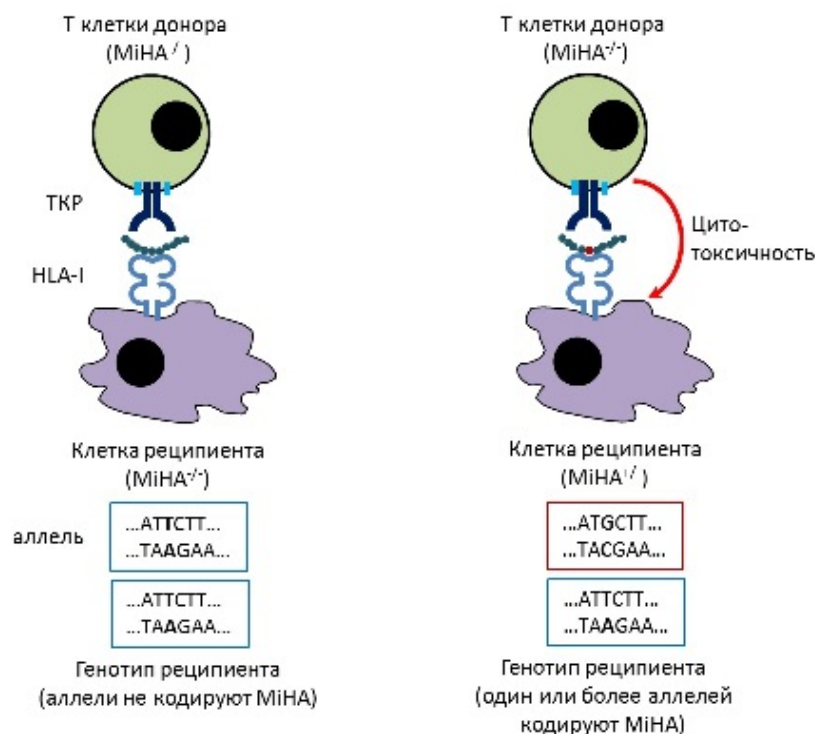


Рис. 1. Рис.1 Схематическое изображение механизма распознавания МАГ Т-лимфоцитами донора после аллогенной трансплантации костного мозга. Слева - отсутствие распознавания Т-лимфоцитами донора пептидома, представленного в составе HLA-I реципиента, в результате того, что набор пептидов представленных в составе HLA-I реципиента идентичен таковому донора. Справа - развитие РТПО или РТПХ в ответ на MiHA: в результате однонуклеотидного полиморфизма в организме реципиента появляется «чужеродный» для Т-лимфоцитов донора пептид, который вызывает цитотоксичность, направленную против тканей реципиента. Сокращения: ТКР – Т-клеточный рецептор; HLA-I – молекула главного комплекса гистосовместимости I класса; MiHA – минорный антиген гистосовместимости; замена аминокислоты в составе пептида показана в виде красной точки.