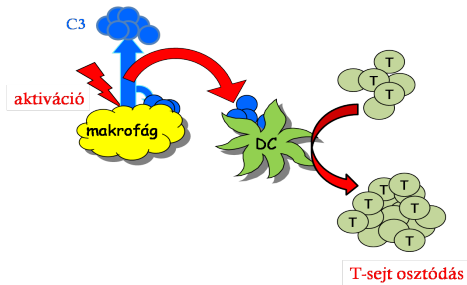


Doktori értekezés tézisei

A C3 komplementfehérje hatása humán monocita eredetű dendritikus sejtek funkcióira



Sándor Noémi

Témavezető: Bajtay Zsuzsa PhD

Biológia Doktori Iskola

Vezető: Prof. Erdei Anna

Immunológia Program

Programvezető: Prof. Erdei Anna

ELTE TTK, Biológiai Intézet

Immunológia Tanszék

2010

Bevezetés

Az adaptív immunrendszer aktiválásában elengedhetetlen szerepe van az antigénprezentáció folyamatának. A legfontosabb hivatásos antigénprezentáló sejtek, a dendritikus sejtek (DC-k), egyedülálló tulajdonságuk folytán képesek a naív T-limfocitákat aktiválni. Erre az aktiváló működésre különösen alkalmasak, mivel nagy számban található az antigén előfordulási helyszínein. Az antigént számos receptor által közvetített módon képesek felvenni, enzimeik segítségével feldolgozni és bemutatni a T-sejteknek. Az antigén stimulus hatására megfelelő mennyiségű kostimulátor molekulát expresszálnak a DC-k, ami biztosítja a T-sejtek aktivációját a nyirokcsomóban. Ezen kívül a dendritikus sejteknek kiemelkedő jelentősége van abban is, hogy különféle citokinek termelése révén, az immunválasz irányát is képesek meghatározni. Mind humorális, mind celluláris válasz kiváltására képesek, továbbá az immunológiai válaszképtelenség létrejöttében is alapvető szerepük van.

A dendritikus sejteket sokszor természetes adjuvánsként emlegetik a veleszületett és adaptív immunrendszer közötti kapcsolatban betöltött szerepük miatt. A két rendszer között hasonló összekötő szerepet tulajdonítanak a komplementrendszernek. A komplementrendszer a veleszületett immunrendszer része, kb. 30 fehérjéből áll, mely magában foglalja a kaszkádszerűen aktiválódó fehérjéket, ezek receptorait és a szabályozó molekulákat. A rendszer aktiválódása 3 úton indulhat el, ezek a klasszikus, a lektin indukált és az alternatív utak, melyek csak az aktivációt beindító molekulában különböznek. A rövid, kezdeti szakasz után, mindhárom út a központi jelentőségű C3 komponens aktivációjához vezet, majd a közös úton folytatódó terminális szakasz a membránkárosító komplex kialakulását eredményezi. A C3 molekulának az immunválasz szabályozásában is meghatározó szerepe van, amit alátámaszt az a megfigyelés, hogy C3 hiányában mind a B-, mind a T-sejtek aktivációja károsodik. Amíg a stimulációs mechanizmus háttérében

álló folyamatokat B-sejtek esetében sikerült tisztázni, addig T-sejtek esetében ez kevésbé feltárt.

Kutatócsoportunk korábban bizonyította, hogy a komplementrendszer T-sejtekre gyakorolt hatásának egyik lehetséges módja az antigénprezentáló sejtek funkcióinak modulálása. A klasszikus út első komponense, a C1q molekula dendritikus sejtek hatékony aktivátora, fokozza az antigénprezentációban fontos molekuláik expresszióját, T-sejt aktivációs képességüket, és gyulladási citokin termelésüket. A C3 molekula régóta bizonyítottan meghatározó szerepet játszik a megfelelő mértékű és minőségű T-limfocita aktiváció kiváltásában. Mindezek alapján feltételeztük, hogy a C3 általi dendritikus sejt moduláció befolyásolhatja a T-sejt aktivációt.

Célkitűzések

- Célunk volt a humán monocita eredetű dendritikus sejtek (MDC-k) C3 termelő képességének tisztázása
- Kísérleti rendszerünkben nyugvó és gyulladásozó körülményeket modellezve, tanulmányoztuk az MDC-k és monocita eredetű makrofágok (MM-k) közötti kölcsönhatást. Vizsgáltuk a kokultúrákban az MM-eredetű C3 depozícióját MDC-ken
- Jellemeztük az MDC-k C3 kötését normál humán savó (NHS) kezelést és tisztított natív C3 kezelést alkalmazva
- Tanulmányoztuk a kovalensen kötődött C3 hatásait:
 - Nyomon követtük a C3-fragmentumok további sorsát; sejt felszíni és intracelluláris megjelenésüket

- Elemeztük a kovalensen kötődött C3 hatását az MDC-k fenotípusának változására
 - Meghatároztuk a natív C3-al kezelt MDC-k T-sejt aktiváló képességét
 - Jellemeztük a sejtek citokintermelését a natív C3-kezelést követően
- Vizsgáltuk a CR3 és CR4 komplement-receptorok funkcionális szerepét MDC-ken

Alkalmazott módszerek

- Humán primer sejtek tenyésztése
- Fast Protein Liquid Chromatography
- SDS-PAGE
- Western-blot
- Áramlási citofluorimetria
- Konfokális lézerpásztázó mikroszkópia
- ELISA
- RNS silencing technika

Eredmények

- Eredményeink szerint a humán MDC-k ellentétben a humán MM-kkal, nem termelnek C3-at, viszont az aktivált makrofágokból felszabaduló C3 megkötésére képesek.
- Bizonyítottuk, hogy a MDC-k a C3-fragmentumokat kovalensen, dóziszfüggő módon, fixálják felszínükön.
- Kimutattuk, hogy a fixált C3b nagy része 30 percen belül bekerül a sejtekbe, másrészt viszont a C3 kezelés után még 48 órával is detektálható fixált C3-fragmentum a sejtek felszínén. A kovalensen megkötött és felvett C3-fragmentumok egy részét a MDC-k nanopartikulumokhoz kapcsolt módon a környezetükbe leadják.
- A kovalensen kapcsolódó C3b növeli a MDC-k CD83, CD86 és MHCII sejtmembrán molekulák

expresszióját. Ezzel ellentétben MR expresszió és funkcionális aktivitás nem változik

- A natív C3-mal kezelt MDC-k fokozott T-sejt aktiváló képességgel jellemezhetők. Bizonyítottuk, hogy a C3-mal kezelt MDC-k felszínén jelenlévő C3b fragmentumoknak közvetlen szerepe van a T-sejtek aktivációjában, amit kiegészít a MDC-k modulálásán keresztül kifejtett hatása.
- A natív C3 kezelés fokozza MDC-k IL-6, TNF- α és IL-8 citokin termelését.
- Vizsgálataink alapján megállapítottuk, hogy a kovalensen kötődött C3b által kiváltott hatásokat *nem* a MDC-ken expresszálandó, C3-fragmentumokat megkötő CR3 és CR4 receptorok közvetítésével valósul meg.

Az értekezéshez kapcsolódó saját közlemények

Noémi Sándor, Domonkos Pap, József Prechl, Anna Erdei, Zsuzsa Bajtay: „**A novel, complement-mediated way to enhance the interplay between macrophages, dendritic cells and T lymphocytes**”
Molecular Immunology 2009. 47(2-3):438-48. (IF: 3,742)

Zsuzsa Bajtay, Eszter Csomor, Noémi Sándor, Anna Erdei: „**Expression and role of Fc- and complement-receptors on human dendritic cells**”
Immunology Letters 2006. 104(1-2):46-52. (IF: 2,35)

Noémi Sándor, Katalin Kristóf, Katalin Paréj, Anna Erdei, Zsuzsa Bajtay: „**The different role of complement CR3 and CR4 in regulation of dendritic cell functions**”. Közlésre elküldve

Egyéb közlemények

Anna Erdei, Andrea Isaák, Katalin Török, Noémi Sándor, Mariann Kremlitzka, József Prechl, Zsuzsa Bajtay: **„Expression and role of CR1 and CR2 on B and T lymphocytes under physiological and autoimmune conditions”**. Molecular Immunology 2009. 47(2-3):438-48. (IF:3,742)

Eszter Csomor, Zsuzsa Bajtay, Noémi Sándor, Katalin Kristóf, Gerard J Arlaud, Steffen Thiel, Anna Erdei: **„Complement protein C1q induces maturation of human dendritic cells”**. Molecular Immunology 2007. 44(13):3389-97. (IF:3,742)

Katalin Kristóf, Krisztina Madách, Noémi Sándor, Zsolt Iványi, Anna Erdei, János Gál, Zsuzsa Bajtay: **„Molecular mimicry between pathogens and self reduces severity but lengthens recovery of pneumonia induced sepsis”**. Közlésre elküldve.

**Referált folyóiratban megjelent konferencia
absztrakt**

Eszter Csomor, Zsuzsa Bajtay, Noémi Sándor,
Nicole Thielens, Steffen Thiel, Gerard Arlaud, Anna
Erdei: „**Immobilized C1q induces maturation of
human monocyte-derived dendritic cells**”. FEBS
Journal 2005 272(1): 288-289 (IF 3,03)

Előadás konferencián: 3 db

Absztrakt nemzetközi konferencián: 8db

Absztrakt hazai konferencián: 4 db