فعالية الخلايا الشجرية المغلفة بجزيئات النانو شيتوزان كعلاج مناعي ضد السرطان

نجلاء سهيل حباب العتيبي

الملخص بالعربي

يُعد فحص بيولوجيا الورم والعوامل المرتبطة به هو العنصر الأساسي في تطوير دواء فعال مضاد للأورام. ومن الجدير بالذكر أن العوامل المثبطة للمناعة الصادرة عن البيئة الدقيقة المحيطة للورم تؤثر على فعالية الخلايا المناعية الشجرية العارضة للمستضدات وبالتالي تمنع الاستجابة المناعية ضد الخلايا السرطانية. تتضمن هذه الآليات منع آلية عرض المستضد والتي تميز الخلايا الشجرية، وهي إحدى أهم العوائق التي تؤدي إلى تطور الورم. يُعد استهداف الخلايا الشجرية بواسطة الجسيمات النانو مترية كناقل لتوصيل الأدوية استراتيجية فعالة في العلاج المناعي للسرطان. لذلك، يهدف هذا البحث إلى تطوير لقاح فعال مضاد للأورام قائم على الخلايا الشجرية كعلاج مناعي من خلال تغليفها بجزيئات الشيتوزان النانو مترية. أيضًا، لتقييم تأثير اللقاح على تنشيط الخلايا التائية والخلايا الشجرية في الجسم الحي. تم عزل الخلايا الشجرية وتمييزها من نخاع العظم لفئران BALB/c في وجود عامل تحفيز السيتوكينات GM-CSF و IL-٤. بعد ذلك، تم تغليف الخلايا الشجرية بجزئيات الشيتوزان النانو مترية والتي تم تحضيرها بواسطة طريقة التكوّن الأيوني. تم استخدام اختبار MTT لتقدير السمية الخلوية للقاح. في نموذج العلاج الحي، تم توزيع الفئران بشكل عشوائي إلى خمس مجموعات رئيسية (ستة فئران لكل مجموعة) لتقييم فعالية اللقاح على تنشيط الخلايا الشجرية والخلايا التائية.

بعد حث الفئران بالورم تم تقسيم الفئران الى ثلاث مجموعات لقاح رئيسيه؛ المجموعة الأولى تم حقنها باللقاح المكون من الخلايا الشجرية المُغلفة بجزيئات الشيتوزان النانو مترية، المجموعة الثانية تم حقنها بجزيئات الشيتوزان النانو مترية، والمجموعة الأخيرة حُقنت بالخلايا الشجرية فقط. في حين أن المجموعة الضابطة السلبية لا تحتوي على ورم ولا لقاح، وإن مجموعة الضابطة الإيجابية تم تحفيزها بالورم وحقنت بالمحلول الملحي فقط كعلاج.

تم حقن الفئران باللقاح المخصص في اليوم الأول، اليوم الرابع عشر، واليوم الواحد والعشرون، ثُم تم حث الفئران بالورم عن طريق حقنها بالخلايا السرطانية MCF-7 في اليوم السابع. تم وزن الفئران بفواصل زمنية ٧ أيام. بحلول اليوم

الخامس والثلاثين، تم إنهاء التجربة وجمع عينات الدم للفئران تحت التجربة ووزن عينات الطحال وتثبيتها وصبغها (H&E) ودراسة الخصائص النسيجية للطحال والغدد اللمفاوية للفئران. ومن ثم تمت دراسة الخصائص الشكلية والنمطية والوظيفية للخلايا الشجرية والخلايا التائية المساعدة عن طريق تقنية قياس التدفق الخلوي لعينات الدم والطحال.

أظهرت الدراسة الحالية أن الخلايا التائية المساعدة زادت بشكل معنوي في مجموعة لقاح الخلايا الشجرية المُغلفة بجزيئات الشيتوزان النانو مترية، تليها مجموعة لقاح الخلايا الشجرية ثم مجموعة لقاح جزئيات الشيتوزان النانو مترية. بالإضافة الي ذلك، كانت نسب معالم الخلايا الشجرية تظهر بزيادة معنوية في مجموعة لقاح الخلايا الشجرية المغلفة بالشيتوزان. ومن الناحية النسيجية، أظهرت أنسجة الطحال والعقد الليمفاوية من مجموعة لقاح الخلايا الشجرية المُغلفة بجزيئات الشيتوزان النانو مترية تغييرات محدودة مقارنة بالمجموعات الأخرى. بشكل ملحوظ، لوحظت الخلايا الشجرية المسامية في الغدة الليمفاوية في مجموعة لقاح الخلايا الشجرية المُغلفة بجزيئات الشيتوزان النانو مترية مما يشير الى فعالية اللقاح في تخطي العوامل المثبطة في البيئة المحيطة للورم. وقد تسهم هذه الدراسة في تطوير وخلق طرق جديدة في توصيل اللقاحات المضادة للسرطان بشكل أكثر فاعلية.

IMPACT OF CHITOSAN NANOPARTICLES COATED DENDRITIC CELLS-BASED VACCINE AS CANCER IMMUNOTHERAPY

ABSTRACT

Dendritic cells (DCs) are major contributors to generate an effective immune response due to their ability to present antigen to T cells. Tumor microenvironment (TME) impact crucial immune cells and impair their functions including dendritic cells. Lately, nanoparticles are wildly used in different medical applications as a drug-delivery system to overcome impaired immune cells. Therefore, this research aims to develop an effective antitumor DC-based vaccine through coating DCs with *Chitosan*-nanoparticles (*CH*-NPs). Using cytokines and lipopolysaccharide (LPS), undifferentiated mouse bone marrow progenitor cells were differentiated into mature DCs. The ionic gelation method was used to prepare *CH*-NP then coated stimulated DCs. *MTT* test assessed all formulations' cytotoxicity. To compare the antitumor effect of *CH*-NPs, DCs, and DCs-*CH*-NPs, mice were randomized into five groups and injected with vaccine formulations. Flow cytometry was used to analyze DCs and $CD4^+$ T cell activations in blood and spleen tissue after immunization. Histological samples of the spleen and lymph nodes were taken. Our results show that co-stimulatory molecules CD80/CD86 and DC maturation marker CD83 were upregulated in vaccination DCs, maturing them. In addition, CD83, CD11c, and MHC-II were upregulated in blood and spleen samples *in vivo*. DC-*CH*-NPs vaccinated group had a higher mean percentage of 76.7±17.1 for CD83 expression in blood samples compared to DCs group (47.7±11.0), and *CH*-NPs group (37.7±8.6). Spleen samples also expressed DC markers, particularly CD83. However, the DC-*CH*-NPs vaccinated group had considerably more $CD4^+$T cells (MFI= 26.1±2.3) than DCs (18.6±1.6) and *CH-NPs* (13.3±1.4). The current work concludes that DC-*CH*-NP vaccine formulation can induce an effective *in vivo* immune response. This data may provide important knowledge to develop an effective delivery system for antitumor vaccine.

Keywords: Dendritic cells, Vaccine, Nanoparticles, *Chitosan*, Tumor Microenvironment.