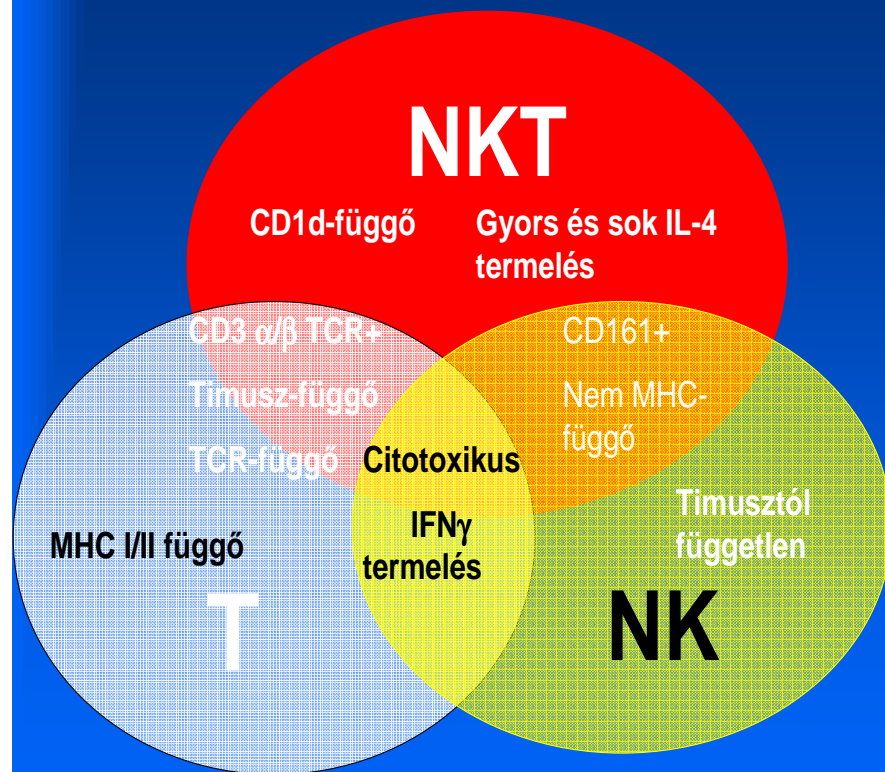


AZ INVARIÁNS NKT SEJTEK ÁRAMLÁSI CITOMETRIÁS MEGHATÁROZÁSA

Szárazné Széles M., Karcza A., Deákné
Tormás A., Gyimesi E., Sipka S.

DEOEC, III.sz. BELGYÓGYÁSZATI KLINIKA
REGIONÁLIS IMMUNOLÓGIAI
LABORATÓRIUM

AZ NKT SEJTEK JELLEMZŐI



Immunology Today alapján

- Az NK és T-sejt fenotípus
- Va24Ja18 a-lánc + V β 11 b-lánc
- Glycolipid antigéneket ismer fel (α -GalCer-dal demonstrálható)
- CD1d restricted
- Effektor funkció:
 1. citotoxikus hatás
 2. Citokin termelés:
 - Th1 (IFN γ ,) és Th2 (IL-4, IL-13)
- Előfordulás:
 - periféria: 0,01 - 1%

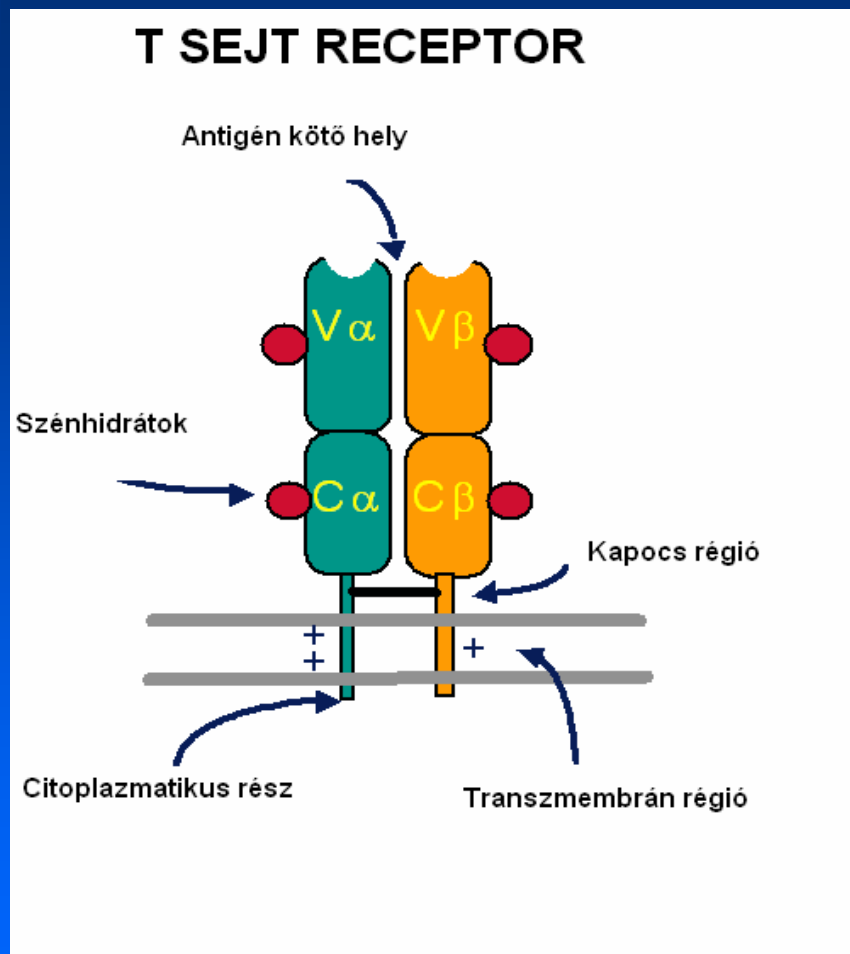
AZ NKT SEJTEK SZEREPE

- Összekötő szerep a természetes és adaptív immunitás között
- **Védő és káros funkciójuk is lehet:**
 - infekciók
 - autoimmun betegségek,
 - transzplantáció
 - tumorok,
 - allergia
- **ÉLETKORI SAJÁTOSSÁG:**
 - 1 hetes kortól detektálható
 - NKT sejtszám hat éves korig nő
 - Idős korban csökken

AZ NKT SEJTEK OSZTÁLYOZÁSA

- **KLASSZIKUS NKT (1. TÍPUS)**
invarians abTCR és CD1d-aGalCer specificitás
(tetramer-festés)
- **KLASSZIKUS NKT (2. TÍPUS)**
variábilis abTCR, CD1d-restrikció
- **Nem KLASSZIKUS NKT-szerű sejtek**
főleg variabilis TCR (ab és gd), CD1d-restrikció->
koexpresszálja az NK-sejt receptort

HUMÁN iNKT SEJTEK MEGHATÁROZÁSÁRA ALKALMAZOTT REAGENSEK



Human:

Va24Vb11

- **Korábban:** Va24-CD161 vagy CD56 kombináció - nem specifikus
- **Va24/Vb11 mAb.** - felülbecsüli az iNKT sejtek számát
- **Glikolipiddel telített Dimer X**
- **aGal/Cer/CD1d tetramer** - háttér festődés
- **6B11 mAb.**
a TCR Va24-Ja18 lánc CDR3 konzervatív régiója ellen.

CÉLKITŰZÉS

- Az iNKT sejtek meghatározásának összehasonlító vizsgálata Va24/CD3 és 6B11/CD3 antitest kombinációk alkalmazásával referens egyénektől származó perifériás vér mintában
- Az iNKT sejtek életkortól függő %-os eloszlásának meghatározása
- Az iNKT sejtek nem-től való függésének vizsgálata

DONOROK ÉS MÓDSZER

- **DONOROK**

- 120 egészséges donor (61 nő, 59 férfi)
- Átlagéletkor: 36,6 év (5-82 év)
- **Korcsoportok:**
 - I. <18 év
 - II. 18-60 év
 - III. >60 év

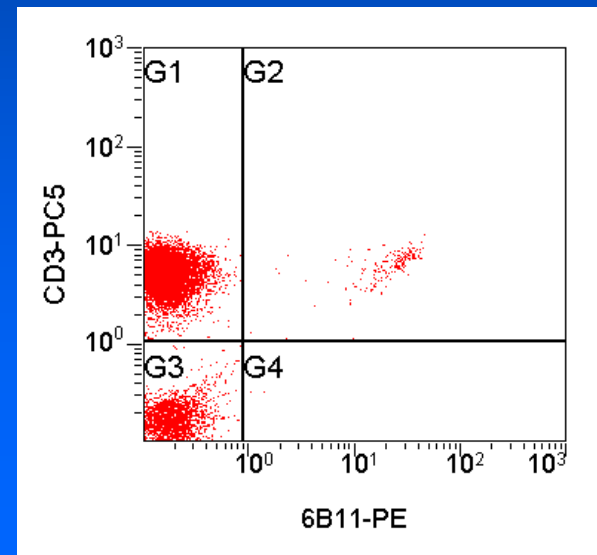
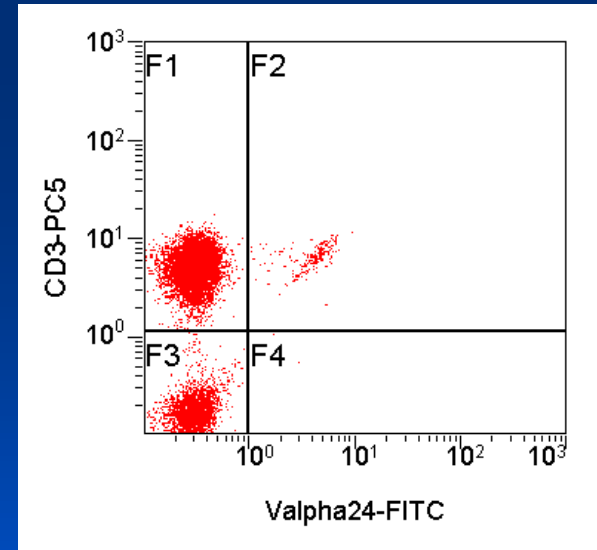
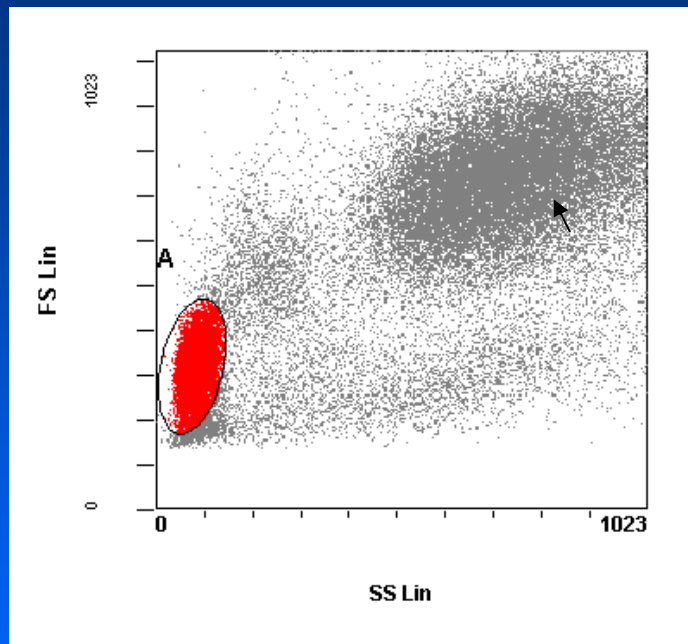
- **MINTA**

- Heparinnal alvadásgátolt vér

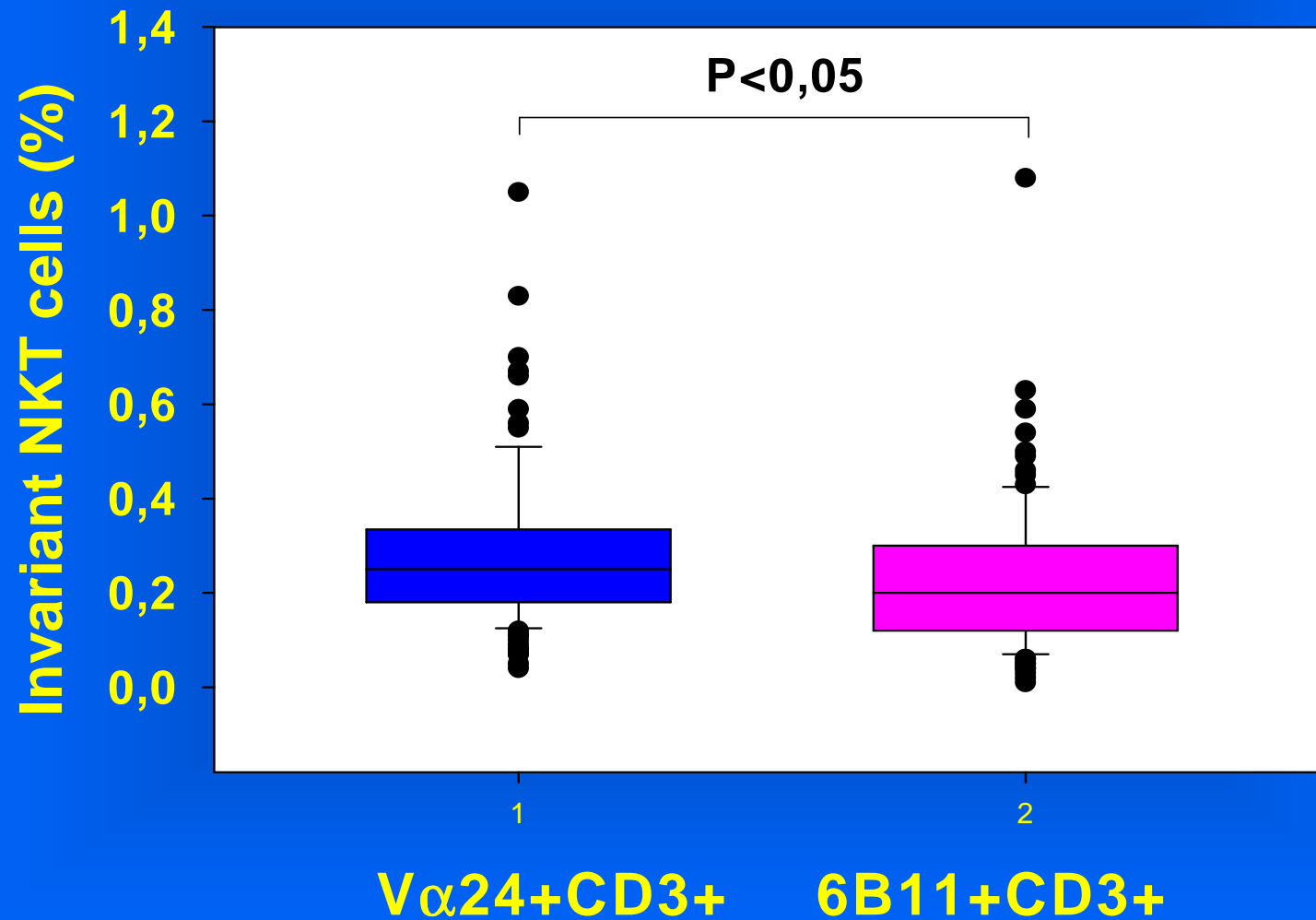
- **iNKT SEJTEK JELÖLÉSE**

- **Vα24-FITC/CD3-PC5** ill. **6B11-PE/CD3-PC5** monoklonális antitest
- **Mérés:** COULTER FC 500 áramlási citométer
min. 20 000 limfocita leszámolása

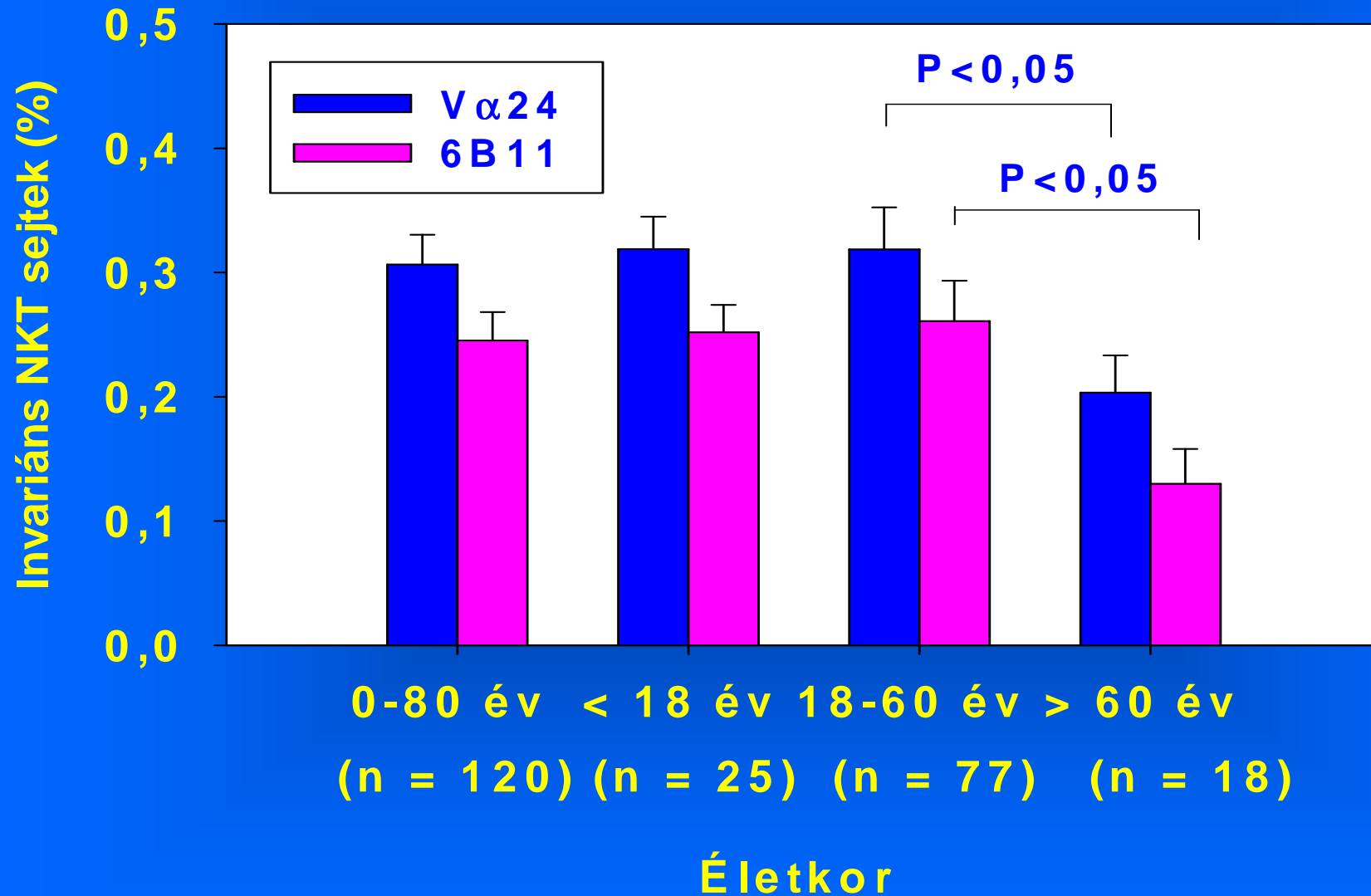
Az iNKT SEJTEK KAPUZÁSA



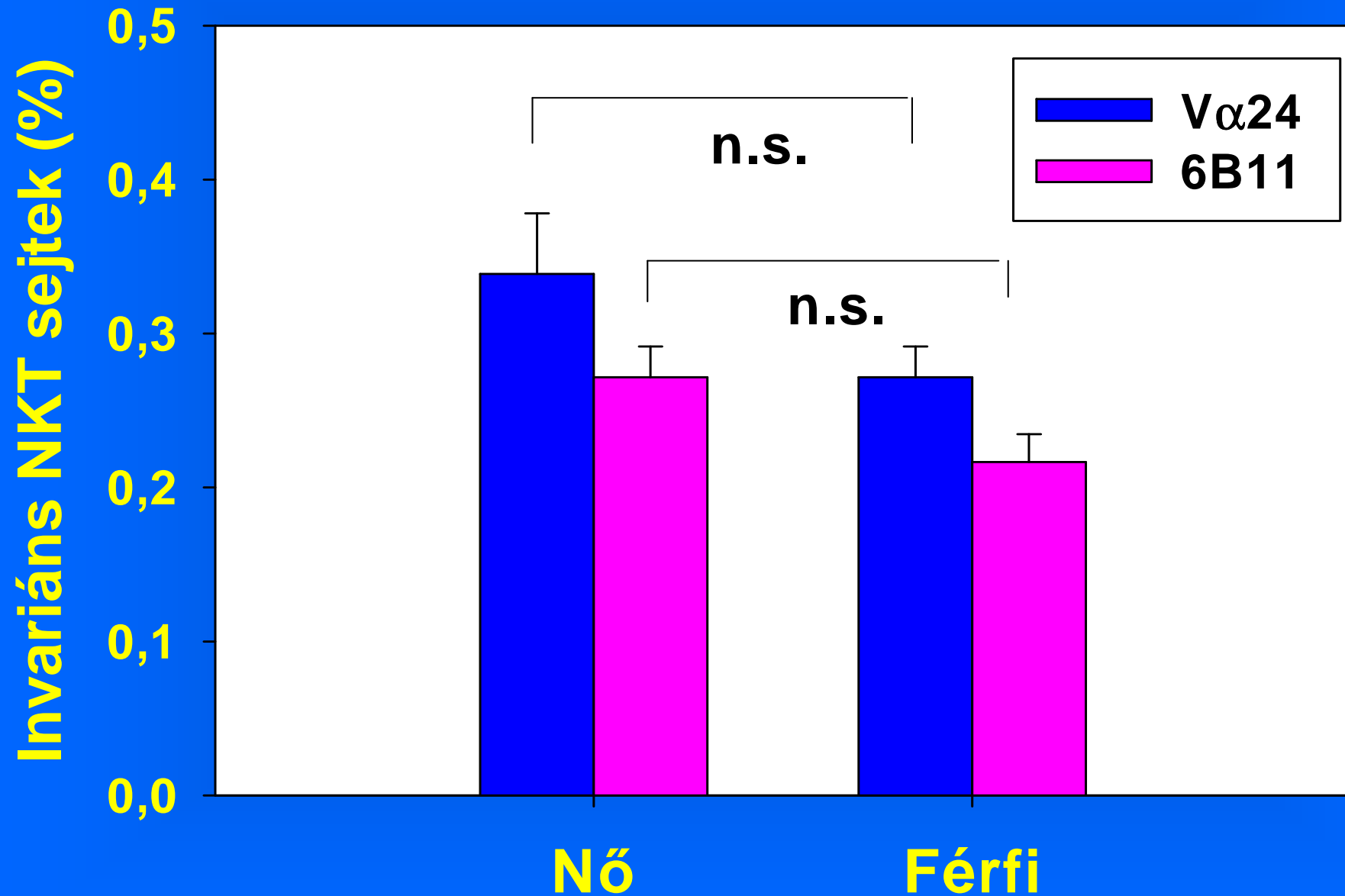
A $V\alpha 24/CD3$ ill. $6B11/CD3$ antitestekkel mért invariáns NKT sejtek %-os eloszlása referens egyéneknben (n=120)



A $V\alpha 24/CD3$ ill. $6B11/CD3$ monoklonális antitestekkel jelzett iNKT sejtek áramlási citometriás meghatározása különböző korcsoportú referens egyéneken



Az iNKT sejtek nemek szerinti eloszlása



ÖSSZEFOGLALÁS

- Az invariáns NKT sejtek kimutatásakor a 6B11/CD3 antitestekkel szignifikánsan alacsonyabb %-os megoszlási értéket kaptunk, mint a Va24/CD3 antitestek esetén.
- Az iNKT sejtek százalékos eloszlása 3 korcsoportra történő bontás esetén a >60 év feletti korcsoportban szignifikánsan csökkent mindkét antitest kombináció alkalmazásakor.
- Az iNKT sejtek %-os előfordulási gyakoriságában nemektől való függést nem tudtunk kimutani.

KÖVETKEZTETÉSEK

- Az iNKT sejtek meghatározására a rutin laboratóriumi diagnosztikában a specifikus 6B11 monoklonális antitest használatát javasoljuk.
- Nagyobb mintaszám alkalmazásával szükséges életkorfüggő referencia tartományok kialakítása.
- A jövőben szükséges az NKT sejtek abszolút szám adatainak megismerése egészségeseekben és betegekben.



Köszönöm a figyelmet!