

PRIMA RELAZIONE ATTIVITA' SPERIMENTALE ALL'ESTERO SVOLTA PRESSO IL WILLIAM HARVEY RESEARCH INSTITUTE - QUEEN MARY SCHOOL OF MEDICINE AND DENTISTRY- LONDON - UK

DOTT. FRANCESCO MAIONE

SUPERVISOR:
PROF. MAURO PERRETTI
DOTT. FULVIO D'ACQUISTO

Introduzione e scopo della ricerca

L'annessina-1 è una proteina antinfiammatoria coinvolta nell'omeostasi nell'immunità innata. Tuttavia, le sue potenziali azioni sulla modulazione dell'immunità adattativa non sono mai state investigate. Studi condotti presso il Queen Mary School of Medicine and Dentistry di Londra stanno dimostrando che l'annessina-1 è una molecola che funziona come un 'sintonizzatore' molecolare della trasmissione del segnale evocato dalla attivazione del "T cell-receptor" (TCR) e suggeriscono che questa proteina possa rappresentare un nuovo "target" per lo sviluppo di farmaci innovativi destinati alla cura di patologie caratterizzate da una modificazione della risposta Th1/Th2 e da un'alterata attivazione di cellule T. Sebbene annessina-1 sia in sé una molecola inattiva, una volta a contatto con cellule T stimolate ne promuove la proliferazione cellulare e l'espressione di CD25 e CD69 con meccanismo CD3/CD28 mediato. Questo effetto è accompagnato da incremento della produzione di NF- κ B, di NFAT (fattore nucleare delle cellule T attivate) e di AP-1 (proteina di attivazione-1), ed è preceduto da una rapida esternalizzazione del recettore dell'annessina-1, indotta dal TCR. È interessante notare che l'annessina-1 favorisce la differenziazione delle cellule T naïve a Th1. In un modello murino di artrite indotta da collagene, il trattamento con annessina-1 durante la fase di immunizzazione aumenta i segni e i sintomi all'esordio della malattia. I risultati concordano con l'osservazione che nel sangue di pazienti con artrite reumatoide, le cellule CD4+ mostrano un'elevata sovra-regolazione dell'espressione di annessina-1. La mia attività di ricerca presso il William Harvey Research Institute sarà pertanto finalizzata alla comprensione dei meccanismi molecolari che regolano la differenziazione delle cellule T naïve a Th1 e del ruolo svolto da specifici anticorpi contro l'annessina e il suo recettore nell'attivazione e differenziazione linfocitaria.

Materiali e Metodi

Cellule polimorfonucleate umane (PBMC) sono state coltivate in condizioni sperimentali standard e dopo 24 ore la successiva sospensione cellulare di T-cell è stata piastrata alla concentrazione di 500.000/ml, con concentrazioni di 5ug/ml di CD3-CD28. L'andamento della proliferazione cellulare è stato valutato aggiungendo [3H]-timidina e analizzando l'incorporazione di radioattivo nel DNA neosintetizzato, mentre la cinetica di produzione della IL-2 , è stata valutata mediante analisi ELISA. Entrambi i saggi permettono di delineare l'attivazione linfocitaria e il potenziale effetto inibitorio svolto dall'incubazione degli anticorpi anti-annessina (aANX) e dall'anticorpo contro il suo recettore FPRL-1 (aFPRL-1).

Risultati e Conclusioni

L'analisi proliferativa indica che gli anticorpi CD3-CD28 stimolano la proliferazione delle T-cell. Nella co-incubazione con CD3-CD28 e gli anticorpi aANX e aFPRL-1 l'effetto induttivo esercitato da CD3-CD28 viene completamente annullato da quello inibitorio indotto da aANX e aFPRL-1 (Figura 1). Infatti, la combinazione di concentrazioni scalari di aANX e aFPRL-1 con concentrazioni costanti (5ug/ml) di CD3-CD28 produce una progressiva, e statisticamente significativa, riduzione della proliferazione cellulare. La valutazione dell'espressione di IL-2 indica (Figura 2) che nella coincubazione i livelli di IL-2 appaiono minori rispetto a quelli espressi con l'esposizione di CD3-CD28 da sola.

In conclusione, i risultati ottenuti evidenziano la capacità immunomodulatoria dei due anticorpi nell'attivazione delle cellule T sottoposte a stimoli eccitatori quali il pretrattamento con CD3-CD28. Successivi studi saranno necessari per capire i meccanismi molecolari che sottintendono la regolazione della popolazione T-cell nelle condizioni sperimentali descritte.

FIGURA 1

Proliferazione cellulare

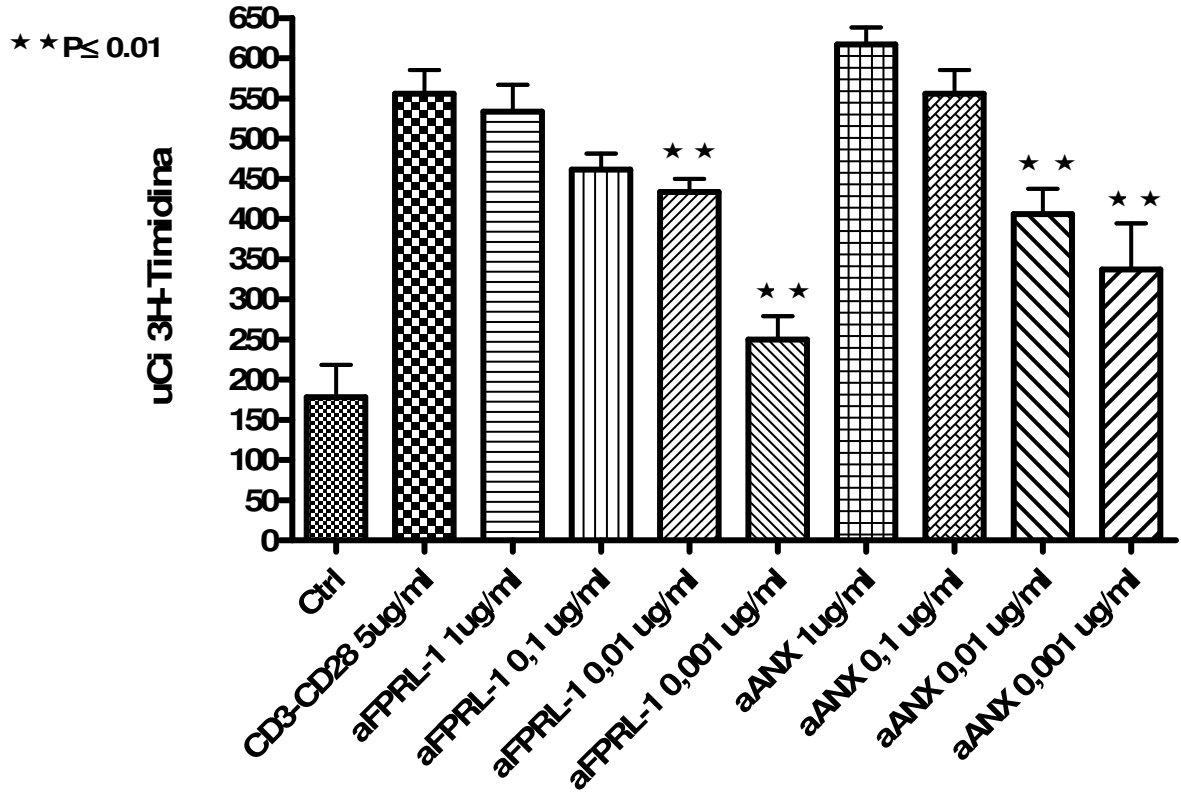


FIGURA 2

Produzione di IL-2

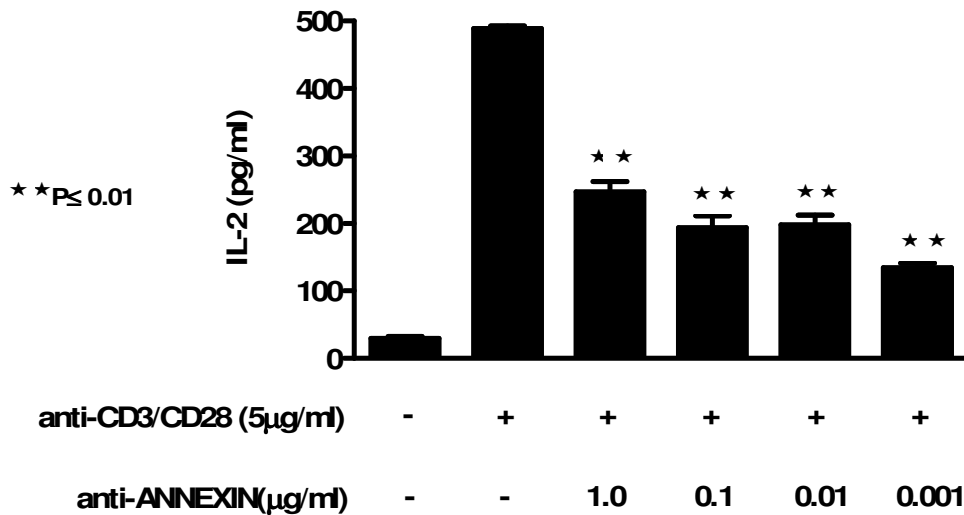


FIGURA 2

