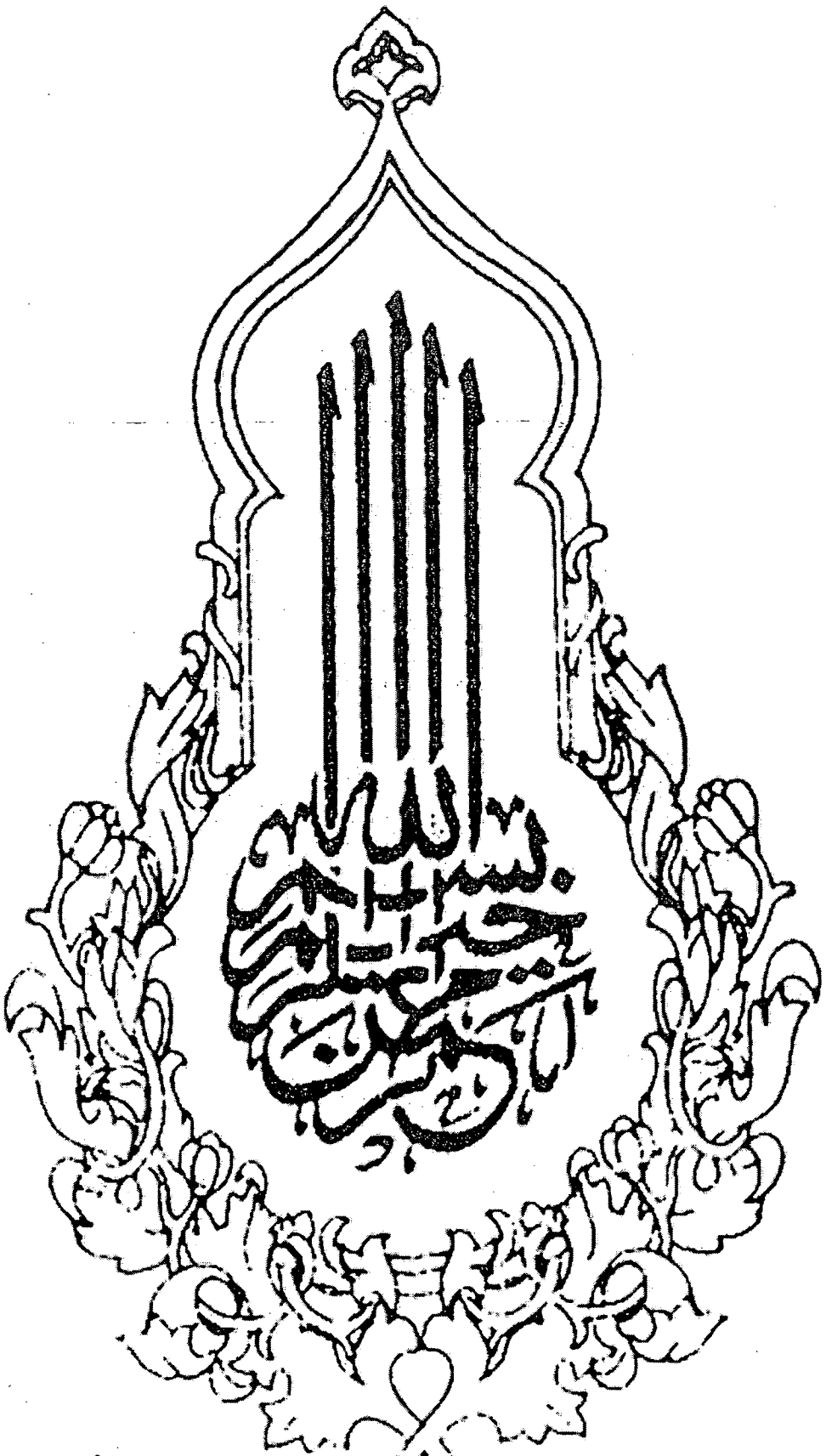

١٥٧٤٩

دانشگاه ارومیه

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایانامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

بافت شناسی و جنین شناسی

عنوان:

تمایز سلول های دندریتیک مشتق از مونوسیت بر روی لایه ای از سلول های اندوتلیال به عنوان لایه تغذیه کننده

اساتید راهنما:

دکتر وحید نجاتی

دکتر نوروز دلیرژ

پژوهش و نگارش:

کیکاوس غلامی

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
پژوهشگاه علوم و فناوری اطلاعات ایران
مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران
IRANDOC

شماره پایانامه ۱۱۳۸-۲

بهمن: ۸۹

این مطالعه در پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه ارومیه انجام گرفته است

(حق چاپ و نشر برای دانشگاه ارومیه محفوظ می باشد)

۱۵۷۶۰۶

۳۳۹۰/۳/ ۲

یان نامه آقای: کیکاوس غلامی به تاریخ ۸۹/۱۱/۱۲

ماره ۱۱۳۸-۲

ورد پذیرش هیات محترم داوران با رتبه عالی و نمره ۲۰ (به حروف بیست))

رار گرفت.

- استاد راهنما و رئیس هیئت داوران: دکتر وحید نجاتی

- استاد مشاور: دکتر نوروز دلیرژ

- داور خارجی: دکتر فرح فرخی

- داور داخلی: دکتر صمد زارع

- نماینده تحصیلات تکمیلی: دکتر کریم اکبری

تقدیم به

پدر و مادر

بزرگوارم

و خانواده عزیزم

تقدیر و تشکر

حمد و سپاس خدایی را سزاست که تیر حتمی قضایش را هیچ سپری نمی شکند و لطف و محبت و هدایتش را هیچ مانعی باز نمی دارد.

از تمامی دوستان و عزیزانی که در اجراء و اتمام این پروژه به بنده لطف بسیار داشته و این حقیر را همراهی نمودند کمال قدردانی و سپاس را دارم.

از اساتید راهنمای محبوب و صبورم جناب آقای دکتر وحید نجاتی و نوروز دلیرژ که با راهنمایی های بی دریغ شان مشوق و حامی ایجانب بودند نهایت تشکر را می نمایم، و همچنین از مدیر گروه محترم گروه زیست شناسی خانم دکتر فرخی کمال تشکر و قدردانی را دارم

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول: مقدمه و کلیات	
۱-۱: مقدمه	۱
۱-۲: سلول‌های دندریتیک	۳
۱-۲-۱: بیولوژی سلول‌های دندریتیک	۳
۱-۱-۲: عرضه انتی ژن وتحریک لنفوسیت‌های T	۴
۱-۳: تنوع سلول‌های دندریتیک	۹
۱-۳-۱: سلول‌های دندریتیک حاصل از پیشتاز مشترک میلوئیدی	۹
۱-۳-۲: سلول‌های لانگرهانس	۱۰
۱-۳-۳: سلول‌های دندریتیک بینابینی	۱۰
۱-۳-۴: سلول‌های دندریتیک-۱	۱۱
۱-۳-۵: سلول‌های دندریتیک حاصل از پیشتاز مشترک لنفوئیدی	۱۲
۱-۴: سلول‌های دندریتیک وبیماری‌ها	۱۲
۱-۴-۱: سلول‌های دندریتیک وایمونو تراپی سرطان	۱۳
۱-۵: تولید سلول‌های دندریتیک در شرایط ازمایشگاهی	۱۶
۱-۶: فلوسایتومتری	۱۸
۱-۷: بیولوژی سلول‌های اندوتلیال	۲۳
۱-۸: هدف از انجام تحقیق	۲۴
۱-۹: سابقه انجام تحقیق	۲۵

فهرست مطالب

فصل دوم: مواد و روش‌ها ۲۷

۲-۱: کشت سلوهای اندوتلیال ورید ناف انسان وتهیه مایع رو.ئی انها ۲۸

۲-۱-۱: مواد ولوازم مورد استفاده ۲۸

۲-۱-۲: روش کار ۲۹

۲-۲: تهیه عصاره سلول‌های توموری از سوسپانسیون سلولی K562 ۲۹

۲-۲-۱: روش کار ۲۹

۲-۳: تهیه مایع روئی مونوسیت‌های خون (MCM) ۳۰

۲-۳-۱: مواد ولوازم مورد استفاده ۳۰

۲-۳-۲: روش کار ۳۰

۲-۴: خون گیری ۳۱

۲-۴-۱: مواد ولوازم مورد استفاده ۳۱

۲-۴-۲: مواد وروش کار ۳۲

۲-۵: جداسازی سلول‌های تک هسته ای خون محیطی(PBMC) ۳۲

۲-۵-۱: مواد ولوازم مورد استفاده ۳۲

۲-۵-۲: روش کار ۳۳

۲-۶: تعیین تعداد ومیزان زنده بودن سلول ها ۳۳

۲-۶-۱: مواد ولوازم مورد استفاده ۳۳

۲-۶-۲: روش کار ۳۴

۲-۷: تولید سلول‌های دندریتیک در شرایط ازمایشگاهی ۳۴

فهرست مطالب

۱-۷-۲: مواد ولوازم مورد استفاده ۳۴

۲-۷-۲: روش کار ۳۵

۸-۲: تولید سلول‌های دندریتیگ بر روئی لایه ای از سلول‌های اندوتلیال به عنوان لایه تغذیه کننده ۳۷

۱-۸-۲: مواد ولوازم مورد استفاده ۳۷

۲-۸-۲: روش کار ۳۷

۹-۲: تولید سلول‌های دندریتیگ با اضافه کردن مایع روئی سلول‌های اندوتلیال از روز صفر ۳۸

۱-۹-۲: مواد ولوازم مورد استفاده ۳۸

۲-۹-۲: روش کار ۳۹

۱۰-۲: تولید سلول‌های دندریتیک با اضافه کردن مایع روئی سلول‌های اندوتلیال از روز روز پنجم ۴۰

۱-۱۰-۲: : مواد ولوازم مورد استفاده ۴۰

۲-۱۰-۲:روش کار ۴۰

۱۱-۲: بررسی شکل واندازه سلول‌های دندریتیک در طی مراحل تمایز ۴۰

۱-۱۱-۲: مواد ولوازم مورد استفاده ۴۰

۲-۱۱-۲: روش کار ۴۰

۱۲-۲: ارزیابی نشانگرهای سطحی یا فنوتیپ سلول‌های دندریتیک با دستگاه فلوسایتومتری ۴۱

۱-۱۲-۲: مواد ولوازم مورد استفاده ۴۱

۲-۱۲-۲: روش کار ۴۲

۱۳-۲: بررسی قدرت بیگانه خواری سلول‌های دندریتیک ۴۳

۱-۱۳-۲: مواد ولوازم مورد استفاده ۴۳

فهرست مطالب

۲-۱۳-۲: روش کار ۴۴

۲-۱۴: واکنش مختلط لکوسیتی الوژن(MLR) ۴۵

۲-۱۴-۱: مواد ولوازم مورد استفاده ۴۵

۲-۱۴-۲: روش کار ۴۵

۲-۱۵:اندازگیری سایتوکاین‌های تولید شده از سلول‌های دندریتیک ولنفوسیت‌های T ۴۶

فصل سوم: نتایج ۴۸

۳-۱: بررسی مورفولوژیک سلول های دندریتیک تولید شده با استفاده از میکروسکوپ معکوس ۴۸

۳-۲: بررسی نشانگرهای سطحی در سلول‌های دندریتیک تولید شده در گروه کنترل وتیمار: ۴۸

۳-۲-۱: بررسی نشانگر سطحی CD14 سلول‌های دندریتیک در گروه کنترل وتیمار ۴۸

۳-۲-۲: بررسی نشانگر سطحی CD80 سلول‌های دندریتیک در گروه کنترل وتیمار ۵۰

۳-۲-۳: بررسی نشانگر سطحی CD83 سلول‌های دندریتیک در گروه کنترل وتیمار ۵۰

۳-۲-۴: بررسی نشانگر سطحی CD86 سلول‌های دندریتیک در گروه کنترل وتیمار ۵۱

۳-۲-۵: بررسی نشانگر سطحی HLA-DR سلول‌های دندریتیک در گروه کنترل وتیمار ۵۱

۳-۳: بررسی قدرت بیگانه خواری سلول های دندریتیک گروه کنترل وتیمار ۵۲

۳-۴: واکنش مختلط لوکوسیتی (MLR) آلوژن ۵۳

۳-۵: بررسی میزان تولید سایتوکاین‌های IL-10 وIL-12 تولید شده به وسیله سلول‌های دندریتیک ۵۳

۳-۶: بررسی میزان تولید سایتوکاین‌های IL-4 وINF-γ تولید شده به وسیله لنفوسیت‌های T ۵۴

فصل چهارم: بحث ونتیجه گیری

بحث ونتیجه گیری ۵۵

فهرست مطالب

پیشنهادات ۶۱

فصل پنجم: منابع وماخذ

منابع وماخذ ۶۲

فهر ست مطالب

فهرست اشکال

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱: عرضه انتی ژن توسط سلول‌های دندریتیک	۸
شکل ۲-۱: مراحل تمایز سلول‌های دندریتیک مختلف از سلول بنیادی خون ساز مغز استخوان	۹
شکل۳-۱: تولید سلول‌های دندریتیک از مونوسیت‌های خون در محیط ازمایشگاهی	۱۸
شکل ۱-۳: سلول‌های دندریتیک تولید شده در گروه کنترل وتیمار	۴۹
شکل ۲-۳: نمونه ای از نمودار هیستوگرام دستگاه فلوسایتومتری مربوط به گروه کنترل وتیمار	۵۲

فهرست مطالب

فهرست جداول ونمودارها

عنوان	صفحه
نمودار۱-۳: میانگین درصد بیان ملکول CD14 در سلول های دندریتیک گروه کنترل و تیمار	۴۹
نمودار۲-۳: میانگین درصد بیان ملکول CD80 در سلول های دندریتیک گروه کنترل و تیمار	۵۰
نمودار ۳-۳: میانگین درصد بیان ملکول CD83 در سلول های دندریتیک گروه کنترل و تیمار	۵۰
نمودار۴-۳: میانگین درصد بیان ملکول CD86 در سلول های دندریتیک گروه کنترل و تیمار	۵۱
نمودار ۵-۳:بیان ملکولHLA-DR در گروه کنترل وتیمار	۵۱
نمودار۶-۳:بررسی میزان فاگوسیتوز سلول‌های دندریتیک در گروه کنترل وتیمار	۵۲
نمودار ۷-۳: واکنش مختلط لوکوسیتی مربوط به گروه کنترل وتیمار	۵۳
نمودار۸-۳: میزان تولید سایتوکاین‌های IL-10 وIL-12 تولید شده به وسیله سلول‌های دندریتیک	۵۳
نمودار۹-۳:میانگین میزان تولید اینتر لوکین- چهار(IL-4) واینترفرون- گاما(INF-γ) توسط لنفوسیت‌های T	۵۴

چکیده فارسی:

تمایز سلول های دندریتیک مشتق از مونوسیت بر روی لایه ای از سلول های اندوتلیال به عنوان لایه تغذیه کننده

پاسخ‌های سیستم ایمنی ذاتی واکتسابی وابسته به مهاجرت لکوسیت‌ها از عرض سلول‌های اندوتلیال می‌باشد. سلول‌های دندریتیک که نقش مهمی در شروع پاسخ‌های ایمنی سلولی دارند، درمسیر مهاجرتشان از بافت‌های محیطی به غده های لنفاوی با سلول‌های اندوتلیال عروق لنفاوی تماس پیدا می‌کنند. در این تحقیق اثرات سلول‌های اندوتلیال چسبیده به سطح و غیرفعال برروی خصوصیات فنوتیپی وعملکردی سلول‌های دندریتیک مورد بررسی قرار گرفت. سلول‌های دندریتیک نابالغ از کشت سلول‌های مونوسیت درمحیط کشت حاوی IL-4 (10%) RPMI,FCS وGM-CSF (فاکتور محرک کلنی – گرانوسیت، ماکروفاژ) برای مدت ۵ روز بدست امد، سلول‌های دندریتیک نابالغ در روز ۵ همراه با فاکتورهای بلوغ (مایع روئی مونوسیت((MCM، TNF-α وPoly I-C) بر روی تک لایه‌ای سلول‌های اندوتلیال اضافه شد و به مدت ۴۸ ساعت ، در محیط کشت RPMIو FCS (10٪) کشت داده شد.در آزمایش دیگر تولید سلول‌های دندریتیک از روز صفر و روز ۵ با اضافه کردن ۵۰٪ از مایع روئی سلول‌های اندوتلیال به محیط کشت سلولی بدست آمد. ۷ روز پس از کشت، بلوغ سلول‌های کشت داده شده توسط دستگاه فلوسایتومتری، بتا کانتر و کیت الایزا بررسی شد. سلول‌های اندوتلیال هم از طریق تماس سلول به سلول وهم از طریق فاکتورهای محلول با همدیگر ارتباط برقرار می‌کنند، که در ارتباط سلولی باعث محدود شدن بلوغ سلول‌های دندریتیک(کاهش بیان CD83, CD86, CD80و HLA-DR) ، ومهار تحریک لنفوسیت‌های T از طریق کاهش تکثیر انها می‌شود در حالیکه فاکتورهای محلول باعث بلوغ سلول‌های دندریتیک می‌شوند. این داده ها نشان می‌دهد سلول‌های اندوتلیال که درمسیرمهاجرت سلول‌های دندریتیک از بافت‌های محیطی به غده‌های لنفاوی قرار دارند می‌توانند به عنوان تنظیم کننده‌های بالقوه‌ء عملکرد وتمایز سلول‌های دندریتیک به حساب آیند.

کلمات کلیدی: سلول دندریتیک، مونوسیت، سلول اندوتلیال، مایع روئی اندوتلیال، لایه تغذیه کنند

فصل اول-مقدمه وکلیات

۱-۱: مقدمه وهدف

سلول‌های دندریتیک مهمترین سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن هستند که از سلول‌های بنیادی مغزاستخوان با فنوتیپ $CD34^+$ مشتق می شوندظ. آنها را می توان از مونوسیت های خون محیطی در شرایط آزمایشگاهی بوسیله کشت با فاکتور تحریکی گرانوسیت-ماکروفاژ۱[1](GM-CSF) و اینترلوکین-۴ تولید نمود(۷۱). سلول‌های دندریتیک نقش اصلی را در برداشت،انتقال و عرضه آنتی ژن به لنفوسیت‌های T تمایز نیافته دارند(۴۷). توانائی سلول‌های دندریتیک در شروع و القائ پاسخ ایمنی به تغییر ماهیت آنها از حالت پردازش کننده آنتی ژن به حالت ارائه دهنده آنتی‌ژن بستگی دارد، که بیشترین تعداد مولکول‌های MHC-II و مولکولهای کمک تحریکی لنفوسیت T(CD80 وCD83) رادر سطح خارجی خود بیان می کنند که به این فرایند بلوغ سلول‌های دندریتیک گویند(۶ و ۵۴). این تغییر فاز به عنوان یک نقطه عطف در پاسخ ایمنی به حساب می آید زیرا سلول دندریتیک نابالغ نمی تواند به طور موثر لنفوسیت T اولیه را تحریک کند(۴۹و۵۰). دانشمندان بسیاری بر آن شده اند تا این سلول‌ها را در عرصه‌ی سلول درمانی وارد کرده و آنها را برای درمان دامنه ای نسبتاً وسیعی از بیماری ها به کار گیرند،که از مهم ترین آنها می توان به درمان انواع سرطان اشاره کرد. کشف اینکه این سلول‌های ارزشمند را می توان از سلول‌های $CD^{۲}34^+$ و یا مونوسیت‌های خون محیطی(۷۳) مشتق کرد، پیشبرد بزرگی در مسیر به کار گیری این سلول ها برای اهداف سلول درمانی به حساب می آمد. چرا که نه تنها از این طریق منبع قابل توجهی از سلول در دست بود، بلکه بدین روش، سلول ها در تمام مراحل تبدیل شدن به یک سلول دندریتیک بالغ قابلیت این را دارند که مورد تغییرات دلخواه و یا بررسی های لازم قرار گیرند. در این بین و بعد از اثبات کارآیی این سلول ها در درمان سرطان، دانشمندان در پی این بودند که چگونه این سلول ها را به بهترین نحو و با بهترین کارایی در محیط کشت تولید کنند(۸۷).

محققین استفاده از سلول‌های دندریتیک تحریک شده با آنتی‌ژن‌های توموری را به صورت واکسن و نیز حساس سازی لنفوسیت-های اختصاصی به آنتی ژن توموری توسط سلول‌های دندریتیک در in vitro را به عنوان ایمونوتراپی غیر فعال در کنار سایر روش-های درمانی متداول سرطان یعنی شیمی درمانی ، جراحی هورمون درمانی و پرتو درمانی توصیه میکنند(۶۲). از مطالعاتی که نتایج بخشی از آنها بیان گردید چنین برمی‌آید که واکسن مبتنی بر سلول‌های دندریتیک نه تنها ساده و قابل اجرا است بلکه باعث القا پاسخ

1-Granulocyte-Monocyte Colony- Stimulating Factor
[2]. Cluster Differentiation

ایمنی ضد توموری در شرایط محیط بدن وشرایط ازمایشگاهی دارد. هنگام مهاجرت سلول‌های دندرتیک از بافت‌های محیطی به بافت لنفاوی با محیط‌های کوچک استرومایی که از ماتریکس خارج سلولی، فاکتورهای محلول وانواع مختلفی از سلول ها(نظیر سلول های فیبروبلاست، ماکروفاژ، مونوسیت واند وتلیال وغیره)تشکیل شده تماس می یابد.شواهد زیادی وجود دارد که این محیط‌های کوچک استرومایی نقش مهمی رادر تنظیم عملکرد سلول‌های دندریتیک ایفا می کنند(۴۴). سلول‌های اندوتلیال عروق انسان اساسا کمپلکس های MHCI ,II را در سطح خود نمایش می دهند وباسلول‌های لنفوسیتT تماس برقرار می کنند وبا ارائه دادن انتی ژن به سلول های Tخاطره نقش مهمی در بقای ایمنی ایفا می کنند درعوض سلول‌های Tفعال شده از طریق سیگنال‌های وابسته به تماس ومحلول نقش مهمی درتنظیم عملکرد سلول‌های اندوتلیال دارند(۳۸). باتوجه به اینکه سلول‌های دندریتیک درمسیر حرکت ازبافت به گره های لنفاوی وهمچنین در خون با سلو ل‌های اندوتلیال تماس مستقیم دارند وبا توجه به نقشی که این سلول‌ها در سیستم ایمنی ایفا میکنند. دراین مطاله در نظر است تاثیر مستقیم وسلول به سلول ونیز عوامل مترشحه از سلول‌های اند وتلیال بر تمایز وعملکرد سلول‌های دندریتیک تولید شده از مونوسیت‌های خون محیطی مورد بررسی وارزیابی قرار گیرد.

۲ -۱- سلولهای دندریتیک

۱-۲-۱- بیولوژی سلولهای دندریتیک

سلول‌های دندریتیک (DC) سلول‌های هستند که در سراسر بافت‌های لنفاوی و غیر لنفاوی، خون محیطی و رگ‌های لنفی آوران پراکنده‌اند(۷). آن ها سیستمی از سلول‌های خون سازی را تشکیل می‌دهند که هر چند تعداد آن ها کم است، ولی توزیع گسترده‌ای دارند. چندین نوع سلول دندریتیک متفاوت در بافت‌های گوناگون یافت شده اند که شامل سلول‌های لانگرهانس[1] در پوست، سلول های دندریتیک بینابینی[2] در بافت‌های مختلف، سلول‌های دندریتیک تیموس و جمعیت هایی از سلول‌های دندریتیکی که در سایر اندام‌های لنفاوی یافت می‌شوند، می‌باشد(۴۸).

سلول‌های دندریتیک برای اولین بار براساس موروفولوژی آن ها با تعداد زیاد زوائد سیتوپلاسمی که به آن ها ظاهری ستاره مانند می‌داد، مشخص شدند(۷۹)

این سلول‌ها تکثیر پیدا نکرده و بعد از مدت زمان معینی دچار آپوپتوز شده، جای خود را به سلول های دیگر می‌دهند (۴). سلول‌های دندریتیک مجموعه ی پپتید غیر خودی و MHC را به لنفوسیت‌های T دست نخورده و خاطره‌ای عرضه و باعث ایجاد ایمنی اختصاصی بویژه در اندام‌های لنفاوی ثانویه می‌شود. . DC هم چنین می‌تواند عملکرد لنفوسیت‌هایT تنظیم کننده را نیز کنترل نماید (۵۶). این سلول‌ها از طریق ترشح سیتوکین های IL-12[3] و انترفرون های کلاس Iو II نقش مهمی در ایمنی ذاتی ایفا می کنند(۴۵). سلول‌های دندریتیک تحت تاثیر سیتوکین ها از سلول‌های ریشه‌ای خون ساز $CD\ 34^+$ منشا گرفته و در طی یک فرایند چند مرحله‌ای تمایز پیدا می‌کنند(۶۹) .هرچند بعد از مرحله ی GM- CFU[4] سلول های دندریتیک به همراه منوسیت ها و ماکروفاژها از سلول های ریشه‌ای یکسانی منشا می‌گیرند و در خارج از بدن نیز از یک سلول پیش ساز $CD\ 34^+$ کلنی های مخلوطی از DC منوسیت و ماکروفاژ تشکیل می‌شود، با این حال این سلول ها ازنظر موروفولوژی، فنوتیپ و عملکرد متفاوت از منوسیت و ماکروفاژ بوده و همانگونه که گفته شد در بسیاری از بافت های بدن انسان و سایر گونه‌های جانوری پراکنده اند(۸۳).

---

[1]- Langerhans cells
[2]- Interstital cell
1- Interlukin- 12
[2]- Granolocyte-Monocyte-Colony Forming unit

سلول‌های دندریتیک نابالغ از طریق جریان خون به بافت ها منتقل و در آن ها مستقر می‌شوند و بسته به محل استقرار خود اسامی متفاوتی به خود می‌گیرند .در قلب، کبد، روده و ریه، سلول‌های دندریتیک بینابینی، پوست و بافت مخاطی، سلول‌های لانگرهانس، در مدولای تیموس و بافت لنفاوی ثانویه، سلول‌های دندریتیک دندانه‌دار و در خون و لنف سلو های نقاب دار[1] نامیده می‌شوند(۶۹). سلول‌های دندریتیک علی رغم توزیع گسترده در تمامی بدن از ویژگی های مشترکی چون شکل نامنظم با زوائد دندانه‌دار، فنوتیپ متمایز سطح سلولی، چگالی پائین، حرکت فعال و قدرت تحریک لنفوسیت‌هایT دست نخورده برخوردارند(۵۷).

در حال حاضر دو نوع پیش ساز DC در موش مشخص شده است که یک نوع آن به همراه سلول‌های لنفوئیدی از سلول‌های پیشساز، با مشخصات $IL-7R^-$ ، $c\text{-}kit^+Lin^-$(لیگاند برای فاکتور سلول بنیادی) و $Sca\text{-}1^+$ و نوع دیگر به همراه سلول‌های میلوئیدی از پیش سازهایی با مشخصات lin^- , $IL-7R^-$, $c\text{-}kit^-$, $Sca-1$- , CD 34- منشاء می‌گیرند(۲). معادل پیش ساز میلوئیدی موش در انسان هنوز مشخص نشده است ولی معادل پیش ساز لنفوئیدی در انسان ویژگی های زیر را دارا می‌باشد I :. L – 7 R, CD 10, CD 45 RA, CD 34 این سلول‌ها می‌توانند به لنفوسیت ها وDC تبدیل شوند ولی توانایی تبدیل شدن به سلول‌های میلوئیدی اریتروسیت ها را ندارند(۵۲). DC های میلوئیدی پیش ساز مشترکی دارند و منوسیت ها می‌توانند تحت تاثیر GM – CSF و 1L – 4 به DC تبدیل شوند(۵۸). در انسان علاوه بر وجود پیش سازهای مشترک بین DC وسلول‌های میلوئیدی پیش سازهای مجزائی نیز وجود دارند که در حضورGM– CSF , TNF – α وSCF[2] کلنی خالصی از DC را تولید می‌کنند(۹۲).

۲-۲-۱- عرضه ی آنتی ژن و تحریک لنفوسیت‌های T

سلول‌های دندریتیک به روش‌های مختلف آنتی ژن را از محیط اطراف خود برداشت می‌کنند.کارآیی سلول‌های دندریتیک در عرضهٔ آنتی‌ژنهای ذره‌ای به سلول‌های T صد برابر بیشتر از آنتی ژن‌های محلول است. در سلول‌های دندریتیک بالغ مکانیسم فاگوسیتوز همچنان فعال است و می‌تواند آنتی ژن‌های ذره‌ای را برداشت و به لنفوسیت T عرضه کند. نشان داده شده عرضه آنتی‌ژن از طریق MHC I با واسطهٔ CD32 انجام می‌گیرد(۶۸). برداشت آنتی‌ژن‌ها بوسیلهٔ ایزومرهای مختلف CD32 باعث عرضه اپی تپهای گوناگون می‌شود. در طی بلوغ قدرت فاگوسیتوز سلول‌های دندریتیک از طریق دو مکانیسم کاهش می‌یابد :

---

[1].Veiled cells

[2]- Stimulating colony factor

۱ـ کاهش بیان بسیاری از گیرنده‌های آنتی ژن در سطح سلول

۲ـ غیر فعال شدنGTP آزهای کوچک1 rac , 42 cdc سلولهای دندریتیک تحت تاثیر دو عامل یکی شناسایی مستقیم پاتوژن‌ها و دیگری توسط سیتوکین‌های التهابی، ترکیبات داخل سلولی و ایمنی اختصاصی ایجاد شده تحریک و وارد مرحله بلوغ می‌شوند پنج نوع گیرندهٔ سطحی در بلوغ DC نقش دارند که عبارتند از :

۱ ـ گیرنده شبه ناقوس[1]

۲ ـ گیرنده سایتوکاین

۳ـ گیرنده عامل نکروزدهنده تومور[2]

۴ – گیرنده قسمت ثابت انتی بادی[3]

۵ـ حس گرهای مرگ سلول.

اتصال پروتئین‌های استرس مانند 90 hsp[4] , 70 hsp به گیرنده‌های اختصاصی آنها در سطحDC آنها را به بخشهای داخل سلولی حاوی II , MHCI هدایت و باعث عرضهٔ آنها می‌شود این عمل ضمن القاء بلوغ در سلول‌های دندریتیک میزان بیان گیرنده‌های فوق را نیز،کاهش می‌دهد. بعد از القاء بلوغ درDC نیمه عمر باز گردش MHC II به ۱۰۰ ساعت افزایش می‌یابد تا زمان لازم برای رسیدن این سلول‌ها به گره لنفاوی موضعی فراهم گردد بعد از بلوغ DC میزان بیان سیستاتین که به عنوان مهار کننده کاتپسین S عمل می‌کند کاهش و میزان کاتپسینS افزایش پیدا می‌کند در نتیجه میزان برش زنجیره غیر متغیر و امکان سوار شدن آنتی ژن به MHC II افزایش می‌یابد. در سطح غشاء سلولهای دندریتیک نابالغ هم دیمرهای MHC II و هم مولکول DM وجود دارد از طرفی این سلول‌ها پروتئازهایی را ترشح می‌کنند که می‌توانند آنتی ژن خارج سلولی را به پپتیدهای قابل اتصال به MHC II تبدیل نمایند بعد از اتصال پپتید آمینوپپتیداز N نیز اضافه‌های پپتید سوار شده را حذف می‌کند(۲۰). برخلافMHC II نیمه عمر MHC I در سطح غشا DC بالغ و نابالغ تفاوتی ندارد طول عمر آن ۱۶ ساعت است و باز گردش نمی‌کند. بنابراین برای عرضهٔ مداوم آنتی‌ژن توسط MHC I سنتز مداوم این مولکول و حضور پپتید آنتی‌ژنیک نیاز است. چگونگی ورود آنتی‌ژن به سیتوسول معلوم نیست ولی به نظر می‌رسد انتخاب براساس اندازه آنتی ژن باشد بیان مولکول‌های CD1 در سطح سلول‌های دندریتیک از الگوهای مختلفی

1- Toll- Like Receptor(TLR)
2-TOmour Necrosis Factor Receptor
3- Fragment Crystalline Receptor
4- Heat shok Proteine

تبعیت می‌کند CD1α در سطح سلول‌های لانگرهانس و زیر گروه خاصی از سلول‌های دندریتیک بیان و به آنتی‌ژن لیپیدی و گلیکولیپیدی آندوزوم‌های باز گردش اولی [1]متصل می‌گردد(۸۰) . CD1bکه در سطح انواع سلول‌ها ازجمله DC بیان می‌شود و به گروه دیگری از آنتی ژن‌های لیپیدی و مولکول‌های بخش‌های آندوسیتیک ثانویه متصل می‌گردد CD1c نیز از الگوی CD1b تبعیت می‌کند ولی به طور گسترده‌ای در سراسر بخش آندوسیتیک توزیع شده است. و امکان برداشت نمونهٔ لیپیدی از نواحی مختلف انواع سلول را فراهم می‌کند(۸۰). سلول‌های دندریتیک بعد از دریافت آنتی ژن در بافت‌های محیطی به گره‌های لنفاوی موضعی مهاجرت می‌کنند سه زیر گروه از سلول‌های دندریتیک در گره‌های لنفاوی مشخص شده‌اند :

زیر گروه ۱	زیر گروه ۲	زیرگروه۳
$CD\ 1a^{+}$	$CD\ 86^{-\text{or, dim}}$	$CD\ 83^{-\text{or dim}}$
$CD\ 1a^{-}$	$CD\ 86^{+}$	$CD\ 83^{+}$
$CD\ 1a^{\text{bright}}$	$C\ 86^{+}$	$CD83^{+}$

زیر گروه اول شامل سلول‌های گرد یا تخم مرغی فاقد شکل دندانه‌دار ، کوچکتر از دو زیر گروه دیگر بوده و اساساً در سینوس و پارانشیم نزدیک سینوس گره لنفاوی یافت می‌شوند. زیر گروه دوم ظاهری دندانه‌دار داشته و در نواحی مربوط به سلول T پراکنده‌اند. زیر گروه سوم در نواحی مربوط به سلولT که هیپرپلازی واکنشی نشان می‌دهند یافت می‌شوند از دو زیر گروه اول و دوم بزرگتر و دندانه‌دار بوده به صورت گروهی دیده می‌شوند یکی از ویژگیهای بارز آنها بیان زیاد و فشردهٔ CD1a است. . دو زیر گروه عملکردی از DC بنامهای DC2, DC1 وجود دارد که اولی با تولید 12 - 1L باعث ایجاد Th1[2] و دومی از طریق سیتوکینهایی که هنوز بخوبی شناخته نشده اند باعث ایجادTh2 می‌شود. اتصال مولکول CD40 سطحDC به CD40L سطح NK باعث فعال شدن سلول‌هایNK ، افزایش قدرت سلول کشی و تولید IFN-γ توسط آنها می‌گردد.DC تکثیر لنفوسیت‌های B فعال شده توسط CD40 را تحریک و بالغ شدن آنها به پلاسماسل‌های مولد IgM را تسریع می‌کند(۲۵). تمایز سلول‌هایB دست نخورده به پلاسماسل‌های مولد IgM بستگی به ترشح IL – 12 توسط DC دارد(۷۹). در ارتباط بین سلول‌های T و DC چندین گیرنده و لیگاند ازجمله CD40/CD40L دخالت دارند (۱۴) . برای مثال تنظیم بیان CD40L در سطح سلول‌های T بلوغ DC را تسهیل می‌کند: سپس DC فعال شده IL-12 تولید و باعث ترشح IFN-γ بوسیلهٔ سلول‌های T می‌شود DC فعال شده می‌تواند سلول‌های

---

[1]- arly recycling endosomes

1- T Helper-1

$TCD8^+$ را هم حساس و هم دچار آپوپتوز نماید. سلولT فعال شده به ناحیه فولیکولهای لنفوسیت‌های B مهاجرت و لنفوسیت‌های Bدست نخورده را فعال می‌کند. (شکل ۱-2)

عوامل القا بلوغ درDC عبارتند از :

RNA سی ویروسی از طریق TLR3

عصارهٔ مایکوپاکتریوم از طریقTLR2 , TLR4

امیدازوکوئینولین از طریقTLR7

DNAی باکتری وCpG۱ از طریق TLR9

عوامل دیگر شامل FasL . TNF-α و IFN–α نیز باعث بلوغ DL می‌شوند. سلول‌های دندریتیک مستقر در میان سلول‌های اپی تلیوم مخاط نقش تنظیم کنندگی داشته و مانع از ایجاد پاسخ بر علیه آنتی‌ژن‌های محیطی می شود و نیز هدایت لنفوسیت‌های T به طرف Th2 را دارد. اینترلوکین‌های IL - 12, IL – 23 باعث القا Th1 توسط DC می‌شوند(۳۴). هیستامین و لنفو پروتئین استرومای تیموس انسان باعث القاء Th2 توسط DC می‌شوند. DC توانایی تولید IL–15 را دارد که می‌تواند خاطره را در$TCD8^+$ حفظ کند از طرفی DC می‌تواند آنتی ژن برداشت شده را ماه‌ها نگه داشته، سیستم ایمنی را تحریک و خاطره را حفظ کند. سلول-های$CD4^+$ نیز از طریق تولید IL–15در حفظ خاطره در$TCD8^+$ مشارکت می‌کنند(۱۸). در غیاب التهاب و عفونت DC نابالغ از طریق حذف سلول‌ها در تحمل محیطی دخالت می‌کند از جمله موجب القاء $TCD4^+$ تولید کنندهٔ IL - 10 می‌گردد. شواهد جدید حاکی از آن است کهDC می‌تواند لنفوسیت‌های T مهار کنندهٔ $CD4^+$ $CD25^+$ را القاء کند DC از طریق گیرندهٔ DEC 205 مقدار پائین آنتی ژنهای همراه سلول یا محلول را برداشت و القاء تولرانس می‌کند .هنگام واکنش متقابل بین سلول‌های دندریتیک و لنفوسیت‌های T ابتدا اتصال غیر اختصاصی از طریق مولکوی‌های (CD50) ICAM – 3 , DC – SiGN (CD 209) و یا Neuropilin های سطح DC و سلول‌هایT انجام وسپس زمینه برای ایجاد سیناپس اختصاصی از طریق مجموعهٔ MHC – Ag و TCR فراهم می‌گردد(۶۴). از خانواده TNF نیز IBBL -4 باعث تکثیر و حفظ خاطره در سلوهای $TCD8^+$ می‌شود و OX – 40 L باعث مهاجرت Th به فولیکول‌های لنفوسیت‌های B در جریان پاسخ آنتی بادی وابسته بهT می‌شود(. سلول‌های دندریتیک ویژگیهای فنوتیپی و عملکردی لازم به شرح زیر را برای ایجاد پاسخ ایمنی دارا می‌باشند :

2- InterCellular Adhesion Molecular