

Human Cytotoxic T-Cell Response to Dendritic Cells Loaded with Hepatocellular Carcinoma Antigens: Chemotherapeutic *In Vitro* Study

Mohamed RADWAN ^{1,*} & Nermin RAAFAT ²

¹ Tropical Medicine Department, ² Medical Biochemistry & Molecular Department,
Faculty of Medicine, Zagazig University, Egypt

SUMMARY. The study aimed to test the ability of monocytes to generate dendritic cells (DCs) and detect DCs maturity cocultured with tumor lysate. DCs produced from monocytes of peripheral blood were pulsed with HepG2 tumor lysate. After DCs coculture with lysate, DCs expression of CD83, CD86 was examined by RT-PCR to detect DCs maturation. Also, IL12p70 releasing was assessed by ELISA before and after loading. Pulsed-DCs were cocultured with autologous PBMCs; after 5 days, a concentration of IFN- γ was measured via ELISA using different Effector (Pulsed-DCs)/Target (T-cells) ratio (E/T) ratio. IL12p70 cytokine releasing in unloaded DCs before and after antigen loading step significantly increased ($p < 0.003$). CD83 and CD86 gene expression show significant up-regulation in loaded DCs (p -value < 0.01). Pulsed-DCs were cocultured with PBMCs, IFN- γ level significantly increased with an increased E/T ratio ($p < 0.001$). Tumor cell killing by T-cells enhanced with loaded DCs. Our results showed that pulsing DCs with cancer cell lysate prepared through repeated freeze-thaw cycles could effectively increase DCs' capacity to stimulate T-cells response against hepatocellular carcinoma cells.

RESUMEN. El estudio tuvo como objetivo probar la capacidad de los monocitos para generar células dendríticas (CD) y detectar la madurez de las CD cocultivadas con lisado tumoral. Las CD producidas a partir de monocitos de sangre periférica se pulsaron con lisado tumoral HepG2. Después del cocultivo de las CD con lisado, la expresión de CD83 de las CD se examinó mediante RT-PCR para detectar la maduración de las CD. Además, la liberación de IL12p70 se evaluó mediante ELISA antes y después de la carga. Las CD pulsadas se cocultivaron con PBMC autólogas; después de 5 días, se midió la concentración de IFN- γ mediante ELISA usando una relación de efector (CD pulsadas)/objetivo (células T) (E/T) diferente. La liberación de citocinas IL12p70 en CDs antes y después del paso de carga de antígeno aumentó significativamente ($p < 0,003$). La expresión de los genes CD83 y CD86 muestra una regulación positiva significativa en las CD cargadas (valor de $p < 0,01$). Las CD pulsadas se cocultivaron con PBMC, el nivel de IFN- γ aumentó significativamente con una relación E/T aumentada ($p < 0,001$). La matanza de células tumorales por células T mejoró con CD cargadas. Nuestros resultados mostraron que las CD pulsantes con lisado de células cancerosas preparado a través de ciclos repetidos de congelación-descongelación podrían aumentar efectivamente la capacidad de las CD para estimular la respuesta de las células T contra las células de carcinoma hepatocelular.

KEY WORDS: Dendritic cells; Hepatocellular carcinoma; IL-2; IFN- γ ; Immunotherapy

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: please Do3a2mahmood@yahoo.com