

**THE EFFECT OF TIM-3 EXPRESSION ON
DENDRITIC CELLS WITHIN THE
TUMOUR MICROENVIRONMENT**

By Afnan Abdulqader Alqadiri

**Supervised By
Dr. Fatemah Basingab
Dr. Alia Aldahlawi**

المستخلص

الخلايا الشجرية الناضجة (mDCs) هي ضرورية لتهيئة استجابة الخلايا التائية (T- Cells) وتوليد مناعة فعالة مضادة للورم. ومع ذلك، فإن إنتاج عوامل مثبطة داخل البيئة المحيطة بالورم (TME) تساهم في هروب الورم. نتيجة لذلك، الجزيئات المثبطة يتم تنظيمها على الخلايا المناعية، بما في ذلك الخلايا الشجرية (DCs). T-cell immunoglobulin and mucin domain 3 receptor (TIM-3) مستقبل مثبط يتم التعبير عنه على كلا من الخلايا السرطانية والمناعية. تفاعل TIM-3 مع Gal-9 galectin-9 يعمل على إيقاف المناعة المضادة للورم. يمكن تحفيز تعبير TIM-3 على الخلايا القاتلة الطبيعية (NKs) في المختبر عن طريق (TNF- α). لذلك، تهدف هذه الدراسة إلى استكشاف تأثير تعبير TIM-3 و Gal-9 على DC. للبحث على تعبير TIM-3، تم إنتاج خلايا DC من خلايا الدم المحيطة أحادية النواة (PBMCs) من متبرعين أصحاء في وجود السيتوكينات (IL-4) و (GM-CSF) وفي وجود أو عدم وجود lipopolysaccharide (LPS) و TNF- α وكذلك tumour supernatant. تمت زراعة DCs بشكل مشترك مع CD4⁺ و CD8⁺ لتقييم قدرة DCs على تنشيط الخلايا التائية. أظهرت النتائج أن DCs المعالجة بـ LPS زادت من التعبير عن (MHC I and II)، وعلامات النضج (CD83)، وعلامات التحفيز المشترك (CD80، CD86) وانخفاض (CD14). وقد لوحظت نتائج مماثلة في DCs المعالجة بـ TNF- α أو بالاشتراك مع LPS. ومن المثير للاهتمام، أن mDCs تفتقر إلى تعبير TIM-3 و 90% من الخلايا الشجرية غير الناضجة (iDCs) كانت إيجابية لـ TIM-3. لم يتم العثور على اختلافات في التعبير عن Gal-9 في الخلايا المعالجة بـ LPS / TNF- α ، بينما تمت زيادتها في DCs المعالجة بـ tumour supernatant. كشفت هذه النتائج أن TNF- α و LPS إما منفرداً أو مجتمعاً تسبب في نضوج الخلايا الشجرية وبالتالي، تم تنشيط T-cells في المختبر. بالإضافة إلى ذلك، كان التعبير عن TIM-3 على mDCs بالكاد قابلاً للاكتشاف بالمقارنة مع iDCs. تشير هذه النتائج إلى أن TNF- α و tumour supernatant غير قادرين على تحفيز TIM-3 على mDCs بل زيادة تعبير Gal-9 في المختبر.

الكلمات المفتاحية: (الخلايا المناعية الشجرية، الخلايا التائية، البيئة المحيطة بالورم، خلايا الدم المحيطة أحادية النواة، مستقبل TIM-3)

**THE EFFECT OF TIM-3 EXPRESSION ON
DENDRITIC CELLS WITHIN THE
TUMOUR MICROENVIRONMENT**

By Afnan Abdulqader Alqadiri

**Supervised By
Dr. Fatemah Basingab
Dr. Alia Aldahlawi**

Abstract

Mature dendritic cells (mDCs) are essential for priming T-cell responses and generating effective anti-tumour immunity. However, producing suppressive factors released within the tumour microenvironment (TME) contributes to tumour escape. As a result, inhibitory molecules may be manipulated on immune cells, including DCs. T cell immunoglobulin and mucin domain-3 (TIM-3) inhibitory receptor is expressed by both tumour and immune cells. The interaction of TIM-3 with galectin-9 (Gal-9) suppresses anti-tumour immunity. Tumour necrosis factor alpha (TNF- α) can induce the expression of TIM-3 on natural killer cells (NKs) *in vitro*. Therefore, this study aims to explore the effect of the expression of TIM-3 and Gal-9 on DCs. To induce TIM-3 expression, DCs were differentiated from peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of healthy donors by IL-4 and GM-CSF in the presence or absence of lipopolysaccharide (LPS) and TNF- α as well as tumour culture supernatant. DCs have been co-cultured with CD4⁺ and CD8⁺ to evaluate the ability of DCs to activate T-cells. The results showed that LPS-treated DCs increased the expression of DC markers (MHC class I & II), maturation markers (CD83), co-stimulatory markers (CD80, CD86) and decreased monocyte markers (CD14). Similar results were observed in TNF- α -treated DCs or in combination with LPS. Interestingly, mDCs lack TIM-3 expression and 90% of immature dendritic cells (iDCs) were TIM-3 positive. No differences in the expression of Gal-9 in TNF- α /LPS-treated cells were found, while it was increased in tumour supernatant-treated DCs. These results revealed that TNF- α and LPS either alone or combined induced the maturation of DCs. Consequently, T-cells lymphocytes were activated *in vitro*. In addition, the expression of TIM-3 on mDCs was barely detectable in comparison with iDCs. These findings indicate that TNF- α and the supernatant of tumour cells are unable to induce TIM-3 on mDCs but rather increase Gal-9 expression *in vitro*.

Keywords: Dendritic cells (DCs), Mature dendritic cells (mDCs), T cell immunoglobulin and mucin domain-3 (TIM-3), Tumour necrosis factor alpha (TNF- α) and Tumour microenvironment (TME).