

HLA - systém

Marcela Vlková

Hlavní histokompatibilní komplex

- Jedná se o genetický systém, který je primárně zodpovědný za **rozeznávání vlastního od cizorodého (Major Histocompatibility Complex)**. U člověka je hlavním histokompatibilním systémem komplex **HLA (Human Leucocyte Antigen)** – rozsáhlý komplex genů, které determinují povrchové molekuly (Ag) umístěné v plazmatické membráně buněk.

HLA

- Antigeny se chovají jako **transplantační**, tzn. že jsou příčinou odhojení tkáně při inkompatibilních transplantacích
- HLA systém je homologický s lokusem H-2 u myši (systém, na kterém byl poprvé objeven princip histokompatibility) a je lokalizovaný v určitém úseku krátkého raménka chromosomu 6
- Obsahuje geny pro histokompatibilní antigeny, složky komplementu a pravděpodobně i Ir-geny (immune response genes, geny zodpovědné za intenzitu imunitní odpovědi)

Funkce HLA-systému

- Hlavní fyziologickou funkcí molekul MHC je předkládat antigeny nebo jejich fragmenty buňkám imunitního systému, především T-lymfocytům
- Prezentace antigenu je prvním předpokladem pro rozvoj imunitní reakce a tím obrany proti napadení mikroorganismy

HLA komplexy

- Známe 5 HLA komplexů:
 - HLA – A, HLA – B, HLA – C, HLA – D, HLA – DR
 - D-region related – ve vztahu k oblasti D
- Každý z nich má množství alel
 - dnes známo nejméně 20 alel pro HLA – A,
 - 40 alel pro HLA – B,
 - 8 a více pro zbylé tři
- Sada HLA genů na jednom chromosomu tvoří **haplotyp**,
- Jedinec má tedy dva haplotypy (od každého z rodičů) a v každém 5 determinantů.

Polymorfismus HLA- systému

- Pro každý z genů HLA I. a II. třídy existuje mnohotná alelie: pro 1 lokus existují více jak 2 alternativní alely
- Alelní formy molekul MHC se liší ve struktuře vazebného místa a tím i schopností vázat peptidy.
- Polymorfismus zde představuje selekční výhodu související se základní rolí molekul MHC, tj. prezentace antigenu

Izotypy HLA

- HLA I. třídy – klasické (HLA-A, HLA-B, HLA-C)
- HLA I. třídy – neklasické (HLA-E, HLA-F, HLA-G, CD1)
 - geny pro tyto molekuly jsou lokalizovány mimo MHC x funkční podobnost)
- HLA II. třídy – (HLA-DR, HLA – DP, HLA-DQ)

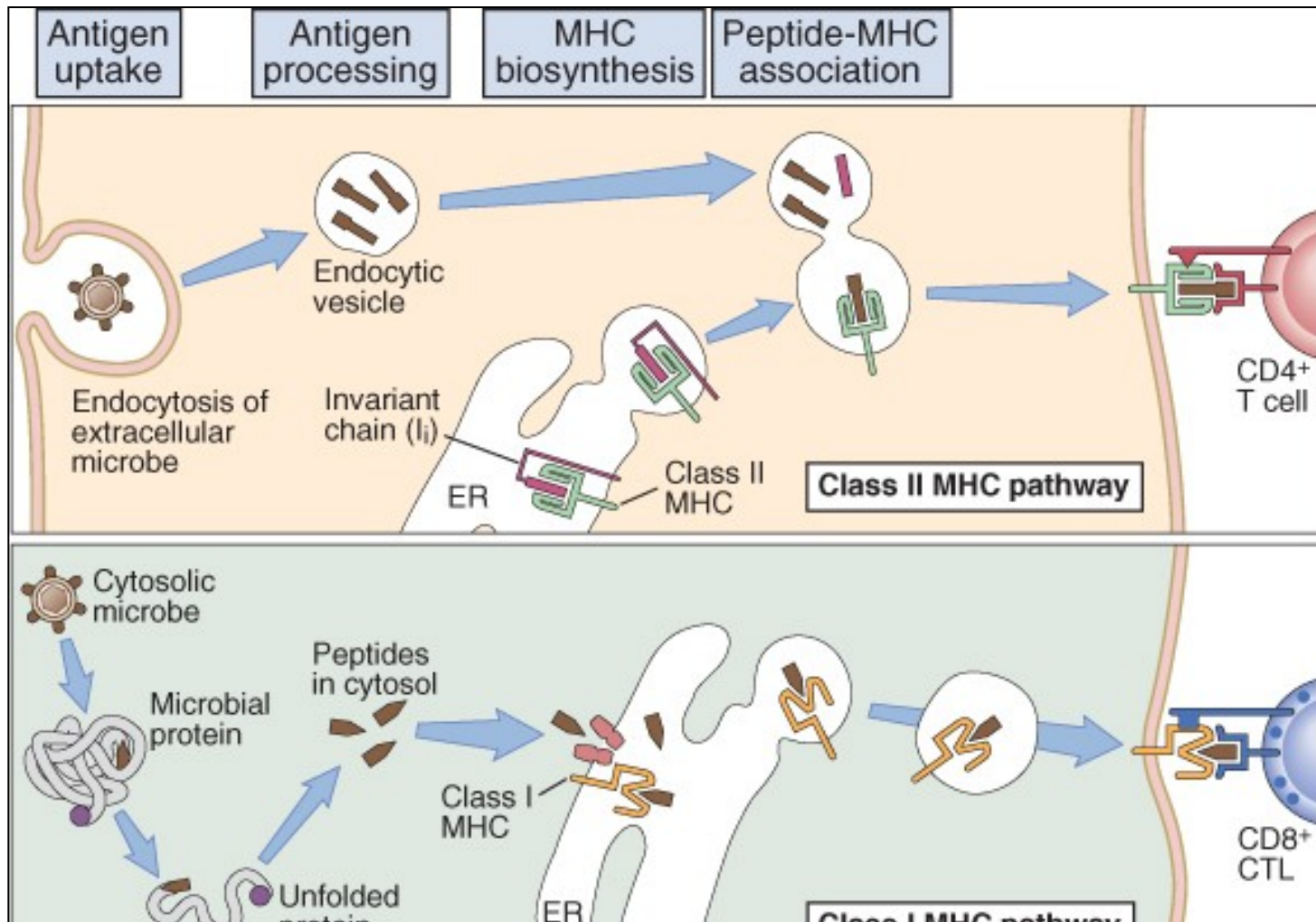
HLA antigeny

- HLA – I
 - Exprese na všech jaderných buňkách
 - Prezentace antigenu CD8+ T lymfocytům
 - Prezentované antigeny jsou produktem buněčné proteosyntézy
- HLA-II
 - Prezentace na APC
 - Antigeny předkládány CD4+ T lymfocytům
 - Antigeny jsou exogenního původu

Prezentace Ag

- HLA I. třídy – krátké peptidy (9 AK) z proteinů degradovaných v cytoplasmě buňky proteazomem, rozpoznávány cytotoxickými CD8+T-lymfocyty
- HLA II. Třídy – peptidy (15-30 AK) z fagocytovaných částic zpracovaných v endozomech – pomocné CD4+ T lymfocyty
- Extrémní polymorfismus – vazba širokého spektra nejrůznějších antigenních peptidů

Vazba antigenu na HLA-I a HLA-II antigeny



HLA I. třídy

- Exprese na všech jaderných buňkách
 - Nejvíce: buňky IS
 - Méně: epitelie, hepatocyty, trombocyty, ledviny, CNS
 - **Nejsou na erytrocytech**
- Exprese není konstitutivní, mění se působením cytokinů – INF
- Indukce cytotoxické imunitní odpovědi
- Rozdíly v expresi = imunobiologické důsledky (buňka IS x hepatocyt x erytrocyt)

Molekula HLA I. třídy

- Transmembránový glykoprotein, heterodimer, řetězce strukturně podobné imunoglobulinům
 - Alfa řetězec – membránově vázaný
 - Beta-2 mikroglobulin – navázaný na alfa, shodný pro všechny molekuly HLA, kódovaný na 15.chromosomu

HLA I. třídy vznik

- Vznik Ag fragmentů pro vazbu na HLA I.
 - Protein + ubikvitin
 - Štěpení v proteazomu
 - Membránovými peptidovými pumpami (TAP) do endoplazmatického retikula (ER)
- V ER: syntéza řetězců HLA I. + vazba fragmentů na HLA I.
- Cestou přes Golgiho aparát na povrch buňky

Molekula HLA II.třídy

- Transmembránový heterodimer, řetězce alfa+beta – oba ukotveny v membráně
- Vazbné místo pro Ag je otevřené – vazba delších peptidů (15-35 AK)
- Hustě exprimovány na buňkách předkládajících antigen : makrofágy, monocyty, dendritické b., B-ly
- Slabá exprese na T-ly
- **Jiné buňky molekuly HLA II.tř. nenesou**

- **Vazba peptidů na HLA II.tř.**
- Molekuly HLA II.tř. vážou **exogenní Ag** – peptidové fragmenty pohlcených proteinů
 - Endocytóza + lysozomy...endozomy...Ag fragmenty
- Syntéza řetězců HLA II. V ER+ vazba na invariantní řetězec (Ii)...přes Golgiho a. do endozómu
- Oddělení Ii a vazba peptidu
- Vystavení na povrchu buňky

Genová organizace HLA systému

- HLA vysoce polymorfní = každý člověk nese na povrchu svých buněk unikátní sestavu molekul HLA I. a II.
- Molekuly HLA kódovány na krátkém raménku 6.chromosomu = HLA komplex
- Geny se člení do 3 tříd: HLA I., HLA II., HLA III.

- Geny HLA I. – 20 genů
 - Klasické: HLA-A, -B, -C.....kódují alfa řetězce HLA I.tř
 - HLA-E, -F, -G....jejich produkty inhibují aktivitu NK buněk
- Geny HLA II.
 - Tři páry genů HLA-DR, -DP, -DQ....kódují alfa+beta řetězce HLA II.tř.
 - LMP2, LMP7....bílkoviny štěpící proteiny pro HLA I.tř.
 - TAP...membránové transportéry
- (Geny HLA III. – C4, C2, TNFalfa....)

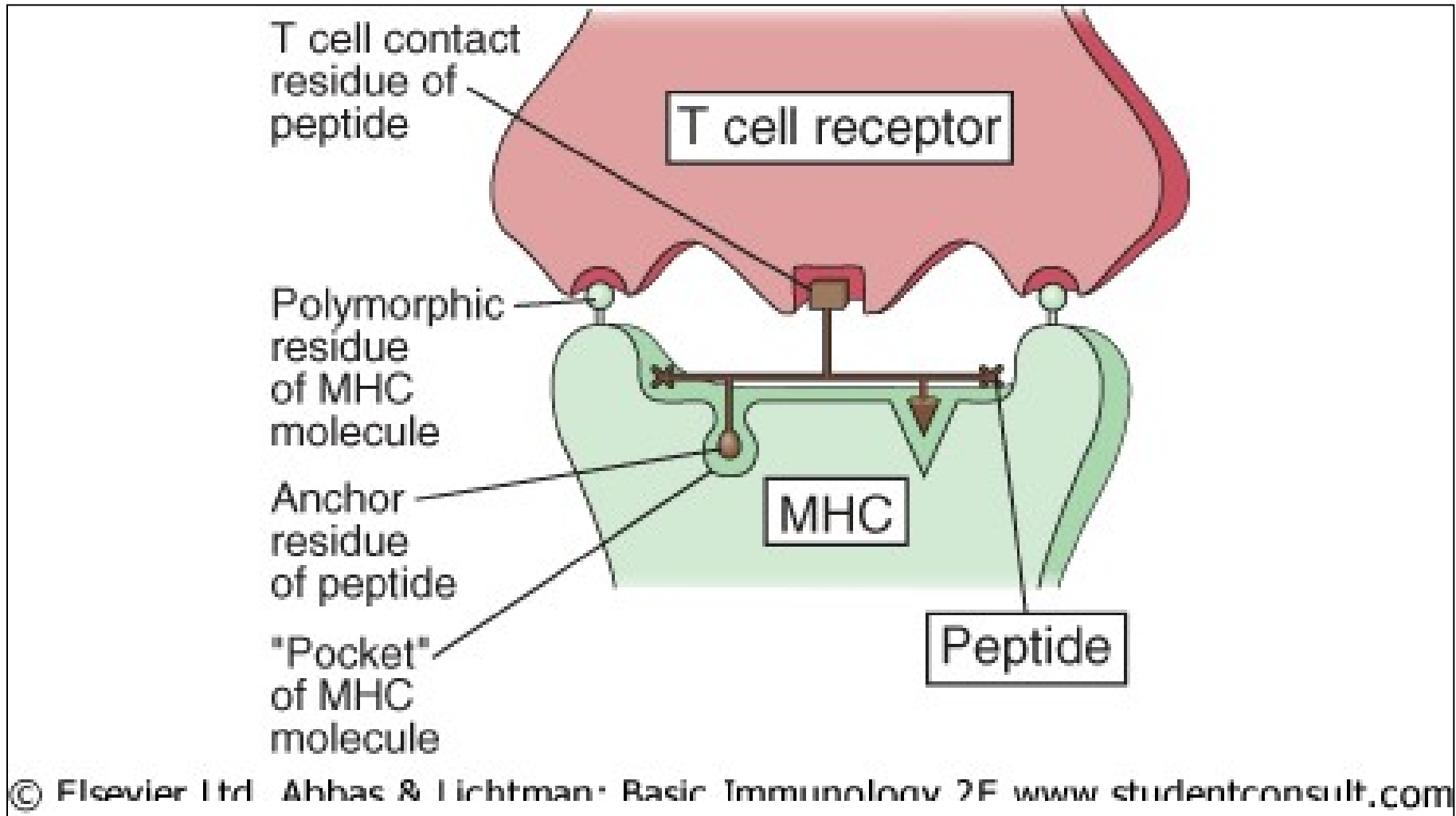
Neklasické HLA I. třídy

- Vyskytují se jen na některých buňkách
- Vazba na různé ligandy
- HLA- E, G –rozeznávány inhibičními receptory NK buněk
- CD1 (CD1a-e) váže mikrobiální lipidy a hydrofobní Ag, popř. organismu vlastní glykolipidy (CD1d)
 - Jsou rozeznávány NKT buňkami

Funkce MHC proteinů

- Prezentace antigenů T lymfocytům
- HLA I - Vazba peptidových fragmentů proteinů produkovaných buňkou
- HLA II- Vazba peptidových fragmentů proteinů pohlčených buňkou
- Jsou vystaveny na povrchu buňky
- Jsou rozeznávány TCR receptory T lymfocytů



Interakce TCR-polypeptid-HLA molekula



T-lymfocyty rozpoznávají

- cizí antigeny v komplexu s vlastními molekulami MHC, což vede k imunitní reakci
- vlastní antigeny v komplexu s vlastními molekulami MHC, což vede k toleranci
- cizí molekuly MHC (transplantační reakce)

TABLE 6–5 Comparative Features of Class I and Class II MHC Pathways of Antigen Processing and Presentation

Feature	Class I MHC Pathway	Class II MHC Pathway
Composition of stable peptide-MHC complex	Polymorphic α chain, β_2 -microglobulin, peptide Peptide  α β_2 -microglobulin	Polymorphic α and β chains, peptide Peptide  α β
Types of APCs	All nucleated cells	Dendritic cells, mononuclear phagocytes, B lymphocytes; endothelial cells, thymic epithelium
Responsive T cells	CD8 ⁺ T cells	CD4 ⁺ T cells
Source of protein antigens	Cytosolic proteins (mostly synthesized in the cell; may enter cytosol from phagosomes)	Endosomal and lysosomal proteins (mostly internalized from extracellular environment)
Enzymes responsible for peptide loading of MHC	Cytosolic proteasome	Endosomal and lysosomal proteases (e.g., cathepsins)
Site of peptide loading of MHC	Endoplasmic reticulum	Specialized vesicular compartment
Molecules involved in transport of peptides and loading of MHC molecules	Chaperones, TAP in ER	Chaperones in ER; invariant chain in ER, Golgi and MIIC/CIIV; DM
APC, antigen-presenting cell; CIIV, class II vesicle; ER, endoplasmic reticulum; MHC, major histocompatibility complex; MIIC, MHC class II compartment; TAP, transporter associated with antigen processing.		

Charakteristika interakcí mezi MHC a peptidy

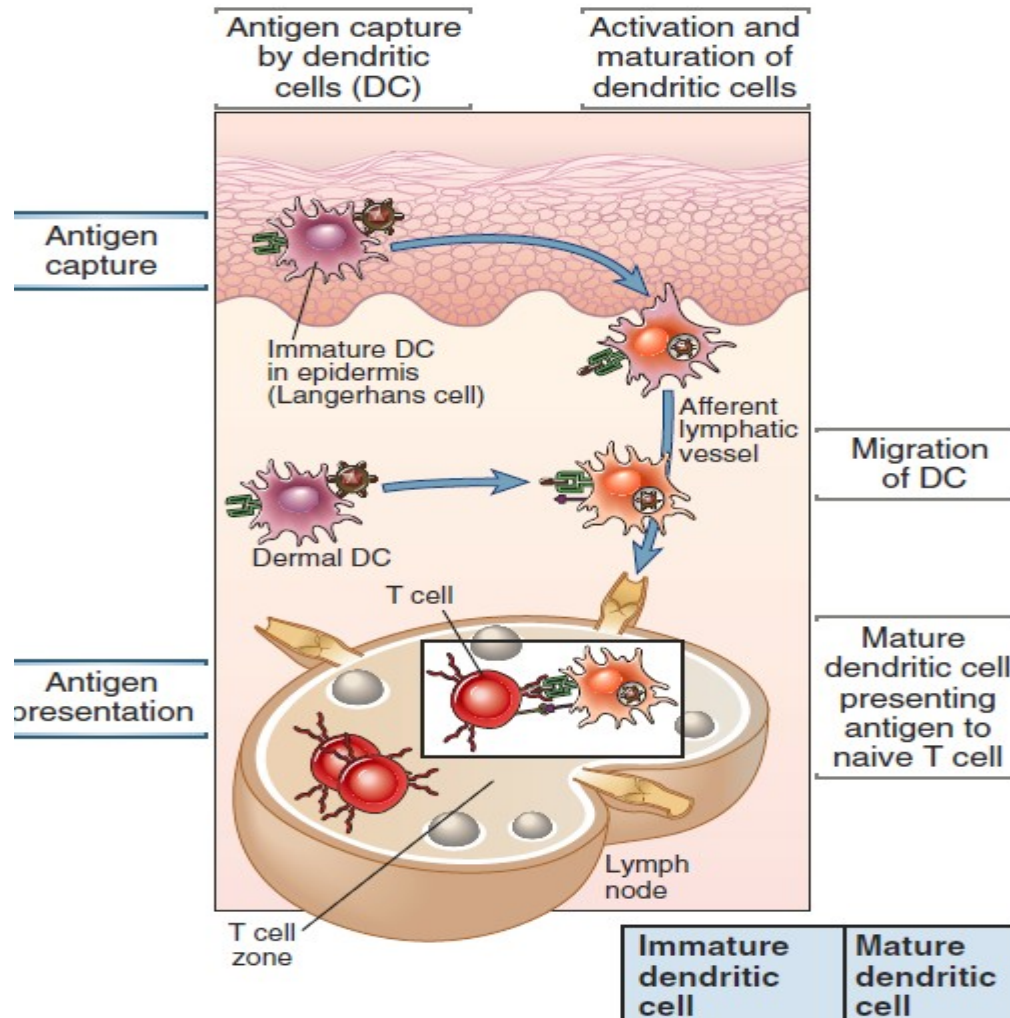
- MHC molekuly neodlišují peptidy vlastní a cizí
- MHC molekuly vážou řadu strukturálně podobných peptidů (**x** TCR-epitop)
- Vazba je nekovalentní, ligand pro MHC I sestává z 8-11 aminokyselin, pro MHC II cca z 10-30

Vztah antigenů HLA k chorobám

- Choroby s imunologickou patogenezí (např. autoimunitní, jako revmatoidní artritida, juvenilní diabetes, celiakie..)
- Choroby s etiopatogenezí nejasnou (psoriasis vulgaris, m. Bechterev)
- Choroby, u nichž se imunopatogenetický mechanismus neuplatňuje (narkolepsie, idiopatická hemochromatóza, adrenogenitální syndrom)

Možné příčiny: HLA antigen je znakem přítomnosti patognostického genu, HLA antigeny jsou receptory pro mikroby, fenomen molekulárního mimikry a zkřížená reaktivita

Cesty antigenů



Presentace antigenů lymfocytům T

- T-lymfocyty poznávají antigeny pouze ve formě peptidových fragmentů vázaných na MHC I nebo II.
- HLA antigeny musí být stejné, jako má příslušný konkrétní jedinec (*Fenomen MHC-restrikce*).
- Antigen musí být nejdříve v buňkách „zpracován“ (*processing*)-nativní protein je proteolyticky degradován na peptidy, které se (intracelulárně) váží na molekuly MHC. Tento komplex se dostává na buněčnou membránu, kde je schopen reagovat s TCR.
- T-lymfocyty jsou schopny poznávat i lipidové a glykolipidové struktury: je to populace NK-T, která poznává tyto antigeny „neklasickými molekulami MHC“ – CD1
- *Imunogennost proteinových antigenů je určena schopností buněk předkládajících antigen vytvořit peptidy, které se budou vázat na vlastní molekuly MHC.*

Antigen prezentující buňky

- Dendritické buňky
- Monocyty, makrofágy
- B-lymfocyty
- Presentují antigen pomocí MHC (major histocompatibility complex)
- U lidí se označují jako HLA (human leukocyte antigen)

Buňky předkládající antigen

- **APC** (Antigen-presenting Cells)...monocyty/makrofágy, B-lymfocyty, dendritické buňky
- **Makrofágy** – ve všech tkáních těla
 - Diferenciace v kostní dřeni – myeloidní řada – monocyty (CD14+HLADR+) – do periferní krve
 - Změna exprese povrchových znaků – do tkání – makrofág: identifikuje nebezpečné podněty, vystavuje endogenní(HLA I.) i exogenní(HLA II.) antigeny....aktivace T-lymfocytů

- **Dendritické buňky (DC)** – informace z počátku 70.let, studium umožněno až po kultivaci v laboratořích (mono z PK, prekurzory z KD)
 - Diferenciace z pluripotentních kmenových buněk (CD34+)
 - Lymfoidní větev (CD11c-)
 - Myeloidní větev (CD11c+)
 - Nejúčinnější APC, žijí 2-3 dny
 - V organismu ve dvou formách
 - Nezralé
 - zralé

- **Nezralé dendritické buňky** – rozhraní organismus x okolní prostředí (kůže, sliznice), pohlcují téměř všechno ze svého okolí
 - Není přítomen patogen: fagocytují odumřelé buňky – vystavují na svém povrchu, nemají kostimulační CD znaky (CD80-CD86-CD40-).... **neaktivují** T-lymfocyty – zajišťují autotoleranci
 - Je přítomen patogen nebo zánětlivé cytokiny: dendritická b. začne dozrávat

- **Zralé dendritické buňky** – přesun ze sliznic a kůže do lymfoidních tkání (uzliny)
 - Přestávají fagocytovat
 - Vystavují na svém povrchu fragmenty pohlcených patogenů
 - Exprimují kostimulační a adhezivní molekuly: CD80+CD86+CD40+
 - Poskytují T-lymfocytům 2.signál.... klonální expanze a efektorová aktivita T-ly

- Použití dendritických buněk v terapii nádorových onemocnění
 - Rozdíl zralé x nezralé.....indukce: imunitní odpovědi x imunitní tolerance
 - Izolace monocytů z PK
 - Kultivace s růstovými faktory...nezralé dendritické b.
 - Nezralé DC + nádorový Ag...vyzrávání
 - Problém = nádorový Ag

- Funkce APC:
 - Spojují nespecifickou a specifickou imunitní reakci
 - Aktivují T-lymfocyty
 - Navozují imunitní odpověď vůči
 - Virům
 - Bakteriím
 - Nádorovým buňkám
 - Navozují toleranci vůči
 - Vlastním antigenům
 - transplantátu