

# Mechanismy specifické buněčné imunity

Jiří Litzman

# ADAPTIVNÍ SYSTÉM:

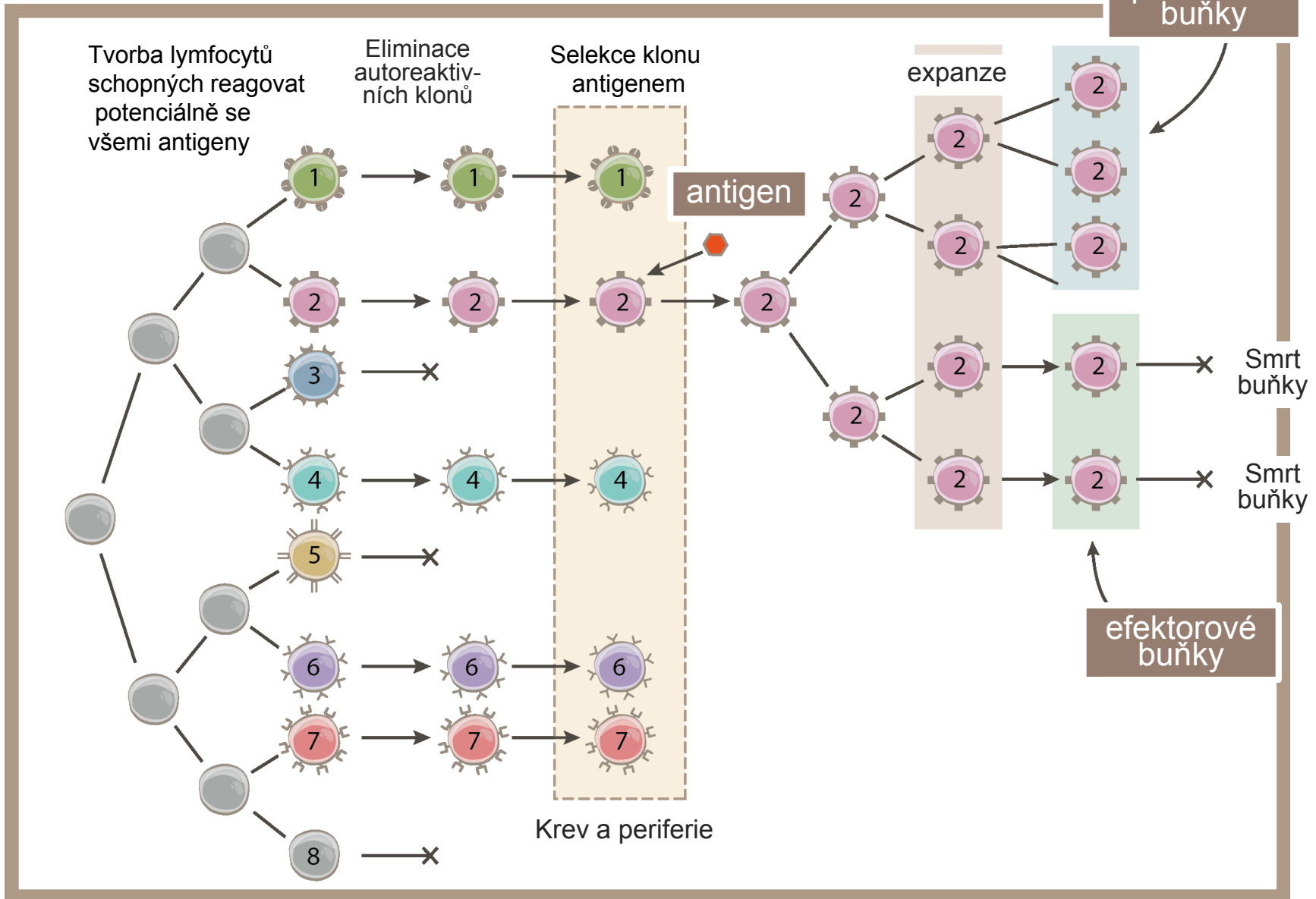
- Je založen na obrovském repertoáru klonů B- and T-lymfocytů, z nichž každý nese poněkud odlišné receptory (BCR resp. TCR)
- “Rozpustné receptory” adaptivního systému jsou protilátky (= rozpustné BCR)
- Systém je “anticipační”, klonální, “marnotratný”
- Klonální receptory vznikají hlavně přeskupováním genových fragmentů a somatickými mutacemi.

# Klonálně selekční teorie

F.M. Burnet, 1957

- V průběhu vývoje každého jedince dochází k vývoji buněk se specifickými vazebnými místy pro různé epitopy, přičemž každá buňka reaguje pouze s jedním epitopem.
- Během vývoje (zejména intrauterinního) dochází k eliminaci autoreaktivních lymfocytů (zakázané klony, „forbidden clones“), čímž vzniká pool buněk schopných reagovat na cizorodé antigeny.
- Dojde-li k reakci epitopu s příslušným receptorem, dochází k proliferaci daného buněčného klonu. (tj k **selekcí klonu**)
- Po opakovaném dělení dosáhnou buňky stadia terminálně diferencovaných buněk (např. plazmatická buňka), ty se již dále nedělí.
- U části stimulovaných a proliferujících buněk k terminální diferenciaci nedojde, přetrvávají v těle jako buňky paměťové.

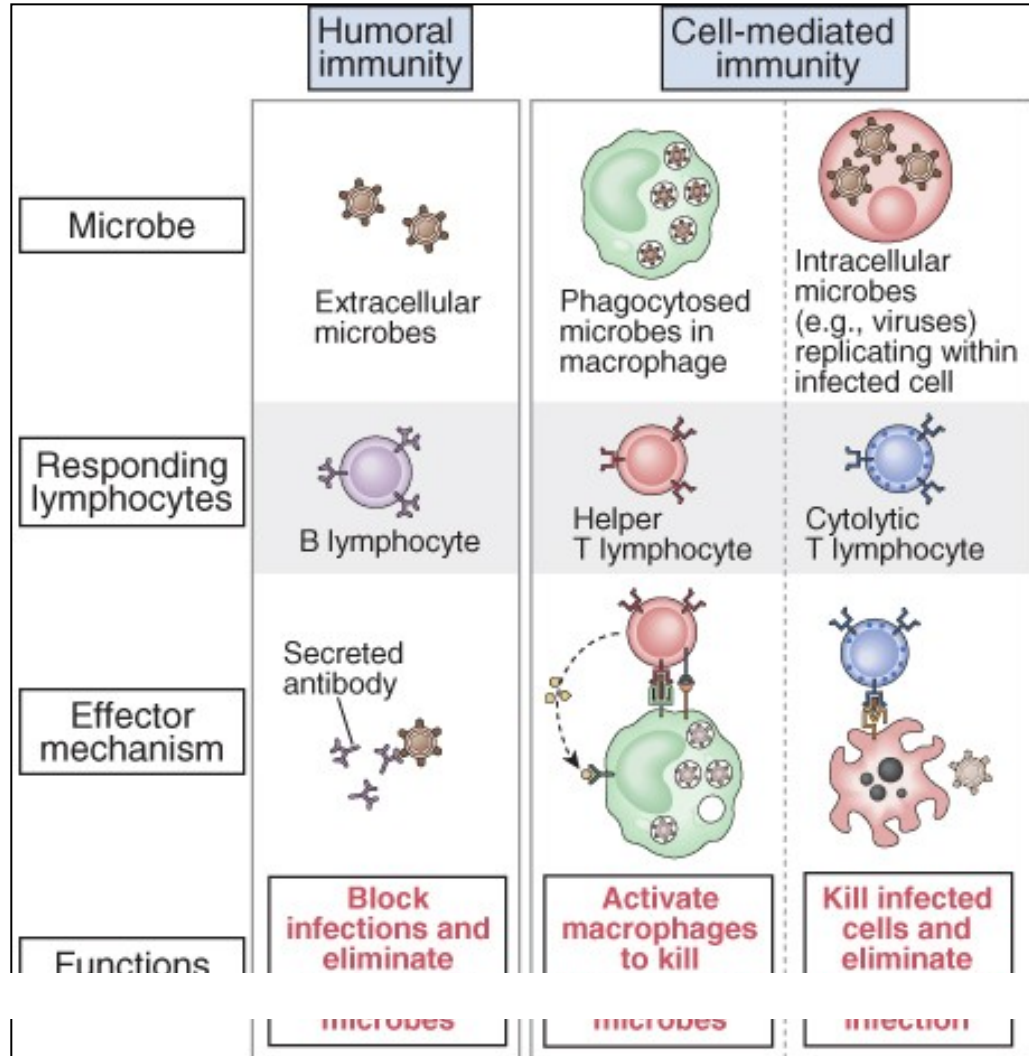
# Klonálně selekční teorie



# Imunologická paměť

- Je jedním z charakteristických rysů adaptivní imunity.
- Je založena na existenci dlouho žijících, antigen-specifických paměťových T- a B-lymfocytů.
- Tyto buňky jsou v případě opakované antigenní stimulace schopny rychlé proliferace a terminální diferenciaci v efektorové buněčné formy.
- Výsledkem je rychlejší, rozsáhlejší a efektivnější odpověď po opakovaném setkání se s antigenem.

# Dvě větve adaptivní imunity



# Aktivace T-lymfocytů

- T-lymfocyty mohou být stimulován pouze komplexy antigen-HLA.
- HLA antigeny musí být stejné, jaké má příslušný konkrétní jedinec = fenomén HLA restrikce.

# Thymová výchova T-lymfocytů

- Pozitivní selekce buněk reagujících s nízkou afinitou s HLA antigeny na povrchu antigen-prezentujících buněk. Probíhá v kortikální oblasti. Zajišťuje přežití jen těch thymocytů, které později rozpoznají komplex antigen-HLA.
- Negativní selekce – apoptózou hynou thymocyty reagující s vysokou afinitou s komplexem HLA-autoantigeny. Probíhá zejména v subkortikální oblasti thymu. Zajišťuje odstranění autorektivních klonů.
- V průběhu obou procesů hyne více než 85% thymocytů.



# Vývoj lymfocytů v thymu

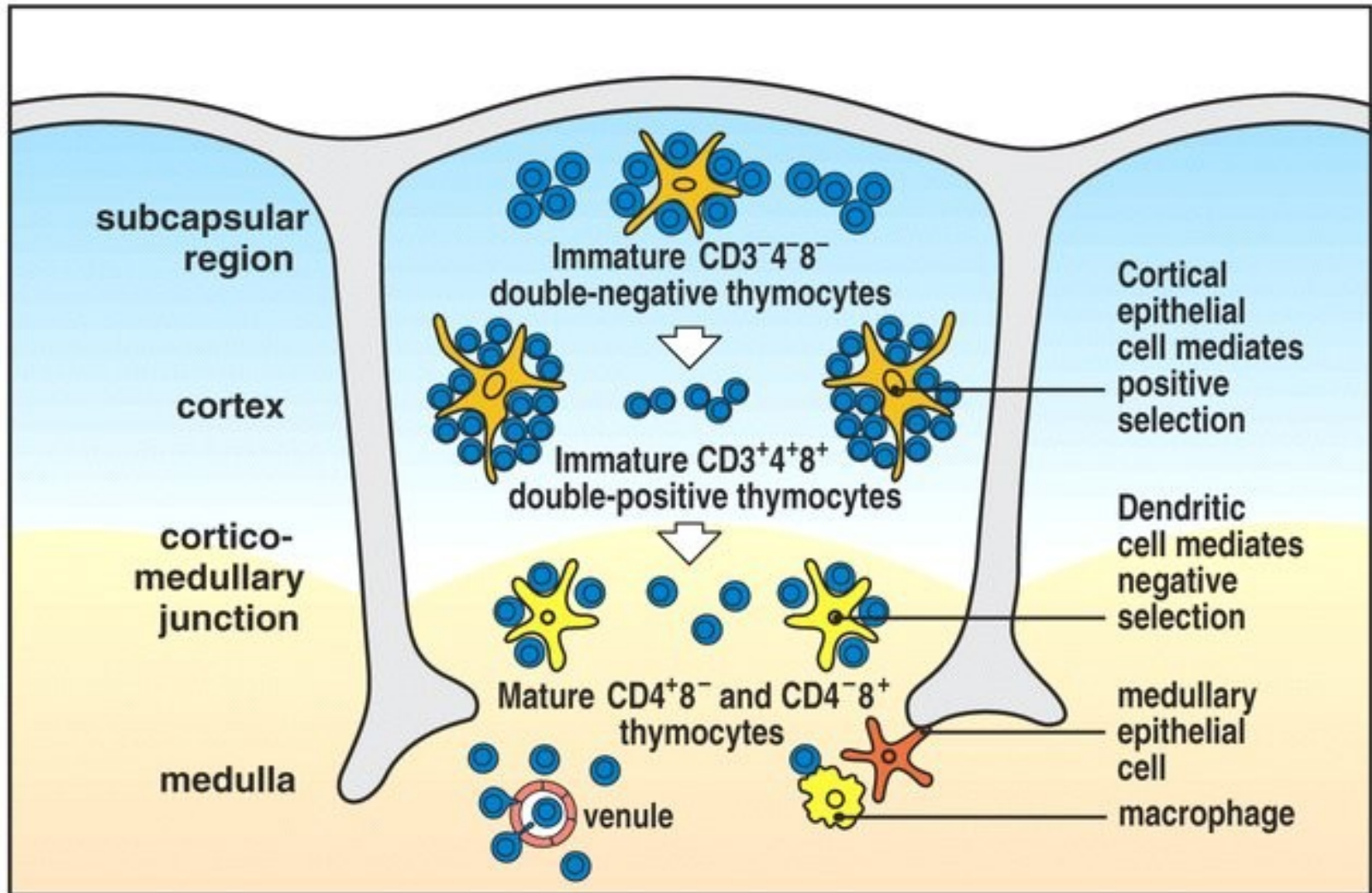
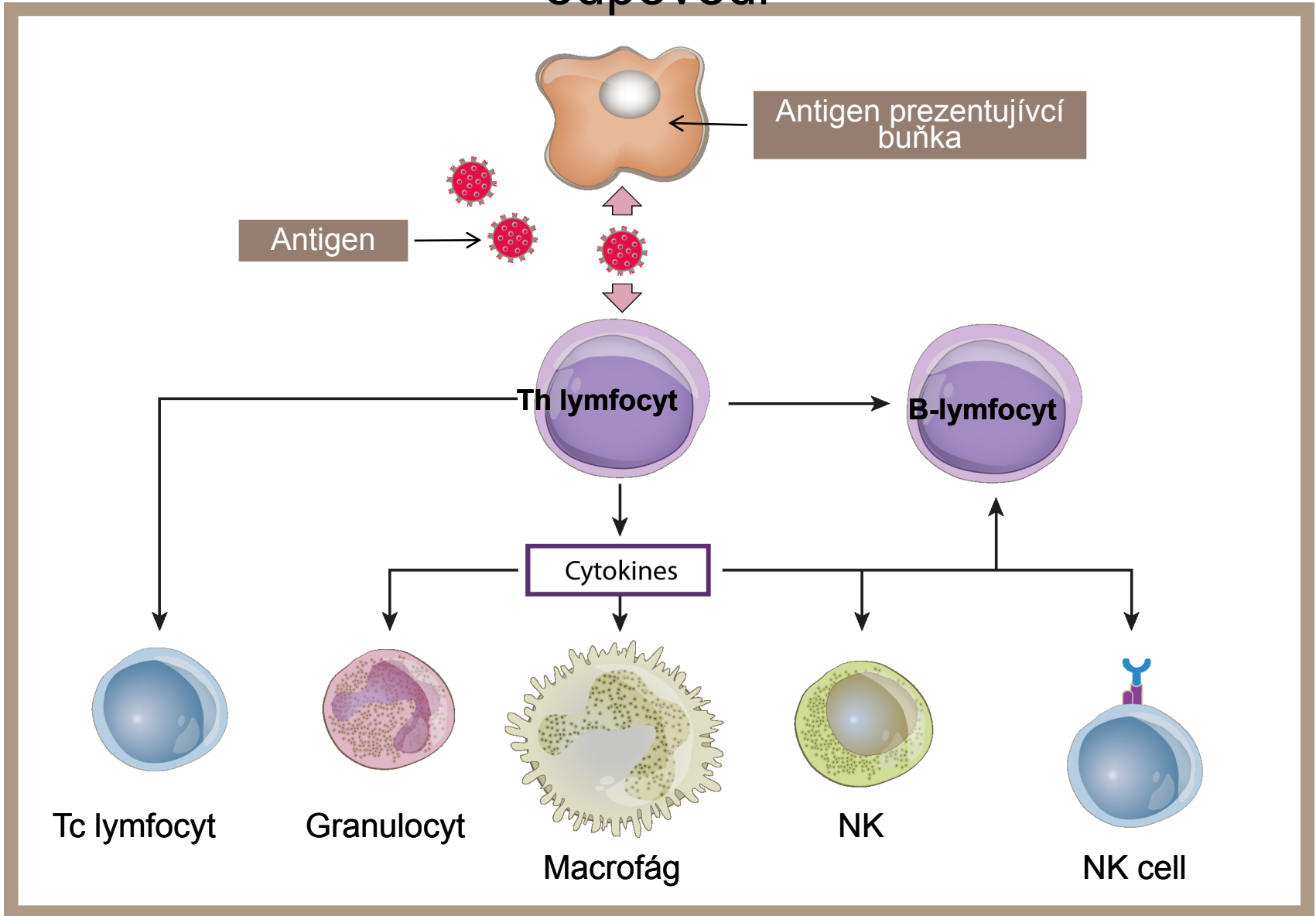


Figure 5-13 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

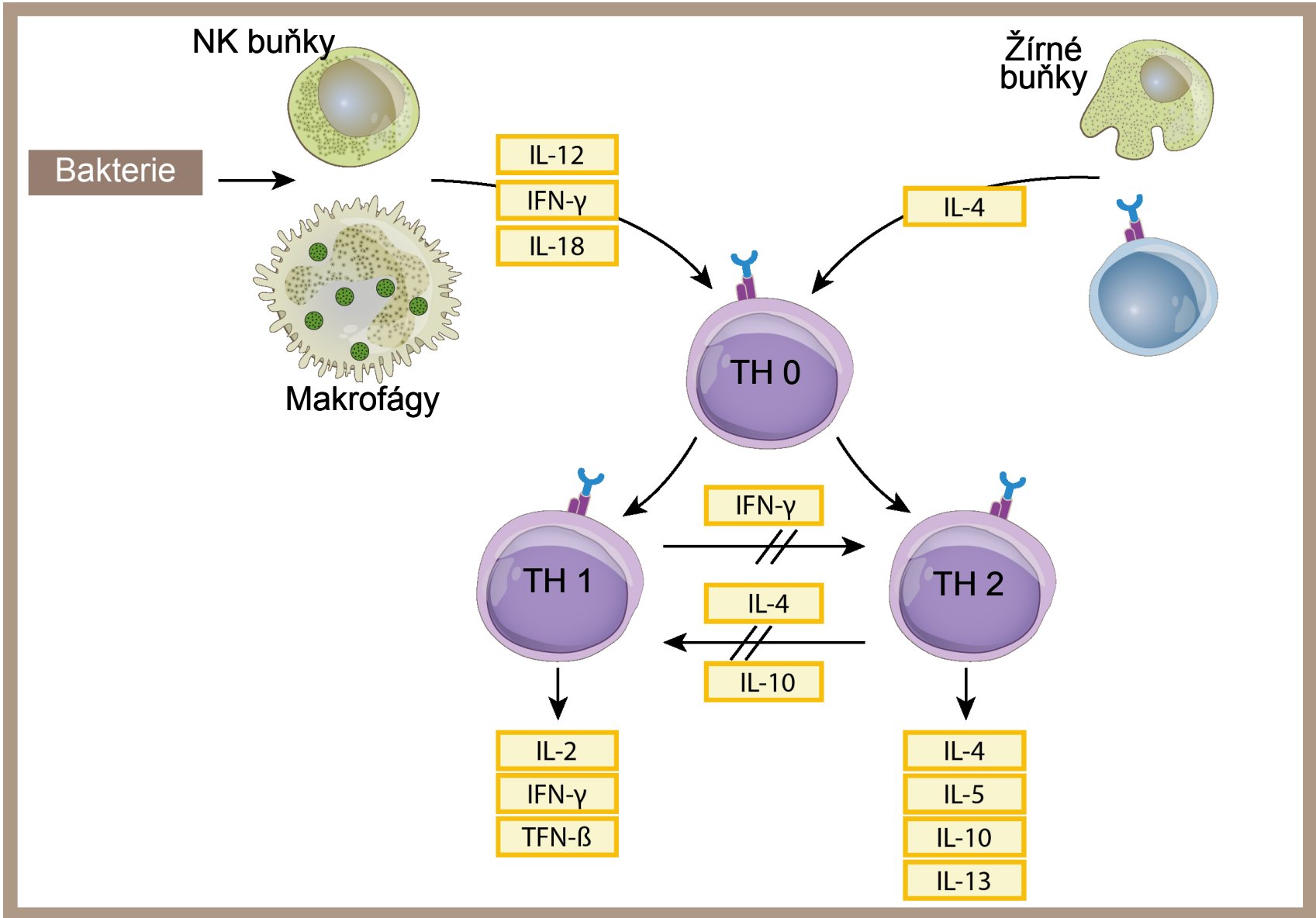
# T lymfocyty – centrální role v řízení imunitní odpovědi



# Základní subpopulace T-lymfocytů

- Cytotoxické T-lymfocyty (CD8+): zabíjejí cílové buňky. Rozeznávají komplex HLA-I-antigenní polypeptid.
- Pomocné T-lymfocyty (CD4+): produkcí pomocných signálů umožňují aktivaci a diferenciaci B-lymfocytů a aktivaci makrofágů. Rozeznávají komplex HLA-II-antigenní polypeptid.
- Regulační T-lymfocyty (CD4+): účastní se udržování imunitní tolerance

# Vývoj TH1 a TH2 lymfocytů

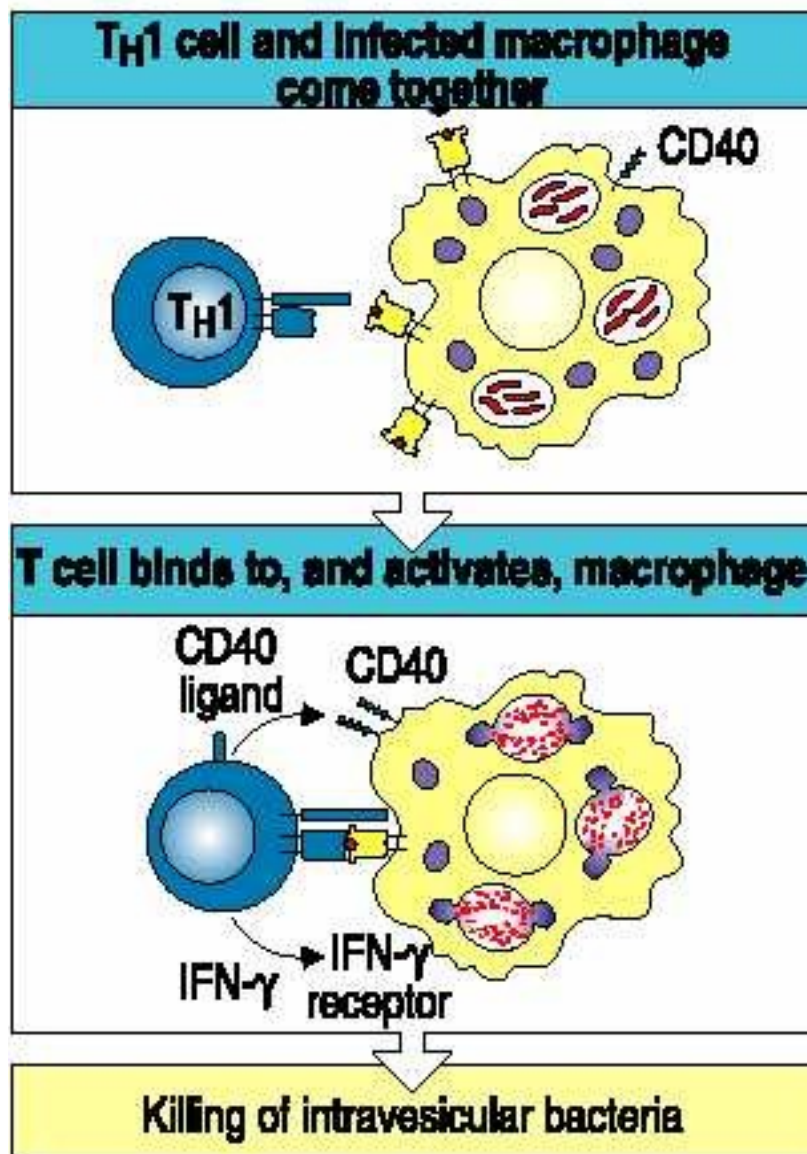


# T<sub>h</sub>1 lymfocyty

- Produkují zejména IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-3.
- Diferencují se pod vlivem IL-12, IL-18, IFN- $\gamma$
- Působí prozánětlivě, stimulují funkci makrofágů.
- Snad se spolupodílejí se na patogenezi autoimunitní thyreoiditidy, roztroušené mozkomíšní sklerózy.
- Produkci IFN- $\gamma$ , tlumí funkci T<sub>h</sub>2 lymfocytů.
- Hrají důležitou roli v akutní rejekci štěpu.

# Funkce Th1 buněk

Figure 6.27

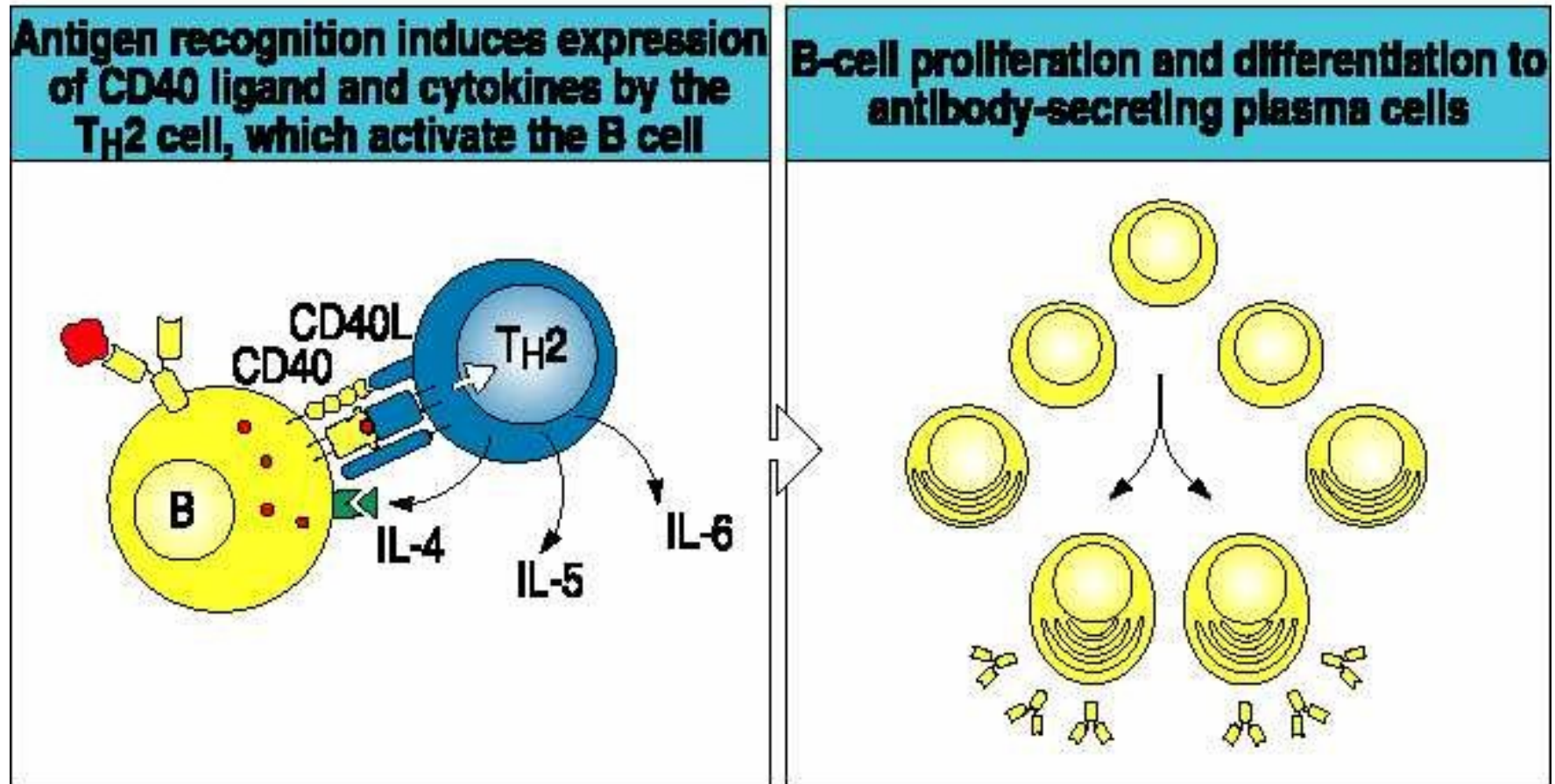


# T<sub>h</sub>2 lymfocyty

- Produkují zejména IL-3, IL-4, IL-5, IL-10.
- Diferencují se pod vlivem IL-4
- Stimulují tvorbu protilátek.
- Spolupodílejí se na patogenezi atopických chorob.
- Jejich predominance se objevuje během těhotenství.
- Produkcí IL-10 a IL-4 tlumí funkci T<sub>h</sub>1 lymfocytů.

# Pro tvorbu protilátek B-lymfocyty je nutná pomoc Th2 buněk

Figure 6.30



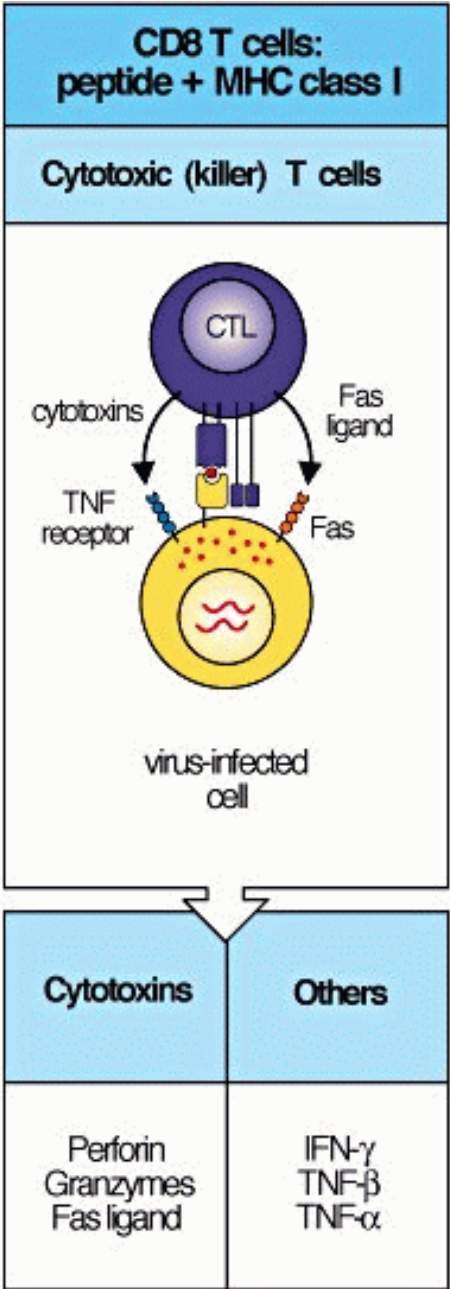


# T<sub>h</sub>17 lymfocyty

- Vznikají z antigenem-stimulovaných T-lymfocytů v prostředí TGF- $\beta$  a IL-6.
- Produkuji IL-17A , IL-17F a IL-23.
- Mají význam v obraně proti extracelulárním patogenům.
- Patogeneticky se uplatňují při chronických zánětlivých procesech a vzniku některých autoimunitních chorob ( ?Crohnova choroba, ?Rvmatoidní aritida).

# Cytotoxické T-lymfocyty

- Jsou CD8+
- Rozeznávají cizorodý antigen prezentovaný na HLA-I antigenech.
- Cytotoxicky působí perforin, dále různé mechanismy indukující apoptózu cílové buňky (granzymy, FasL, lymfotoxin).
- Jsou i důležitými producenty cytokinů (Tc1 a Tc2 buňky)



# Cytotoxická funkce CD8+ T lymfocytů

# T<sub>reg</sub> lymfocyty

- Samostatná subpopulace přirozeně regulačních buněk.
- Vývoj v thymu, za určitých okolností je možný vývoj i v periférii.
- Transkripčním faktorem je FOXP3 (možné terapeutické využití, využití při diagnostice)
- Jsou CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>.
- Přímo působí na jiné T-lymfocyty prostřednictvím molekuly CTLA-4 a snad i membránovou formou TGF- $\beta$ .
- Tvoří asi 5-10% CD4<sup>+</sup> lymfocytů.
- Zajišťují autoleranci, brání rozvoji autoimunitních chorob.
- Zajišťují ale také „autotoleranci“ nádorových buněk.

# Aktivace T-lymfocytů

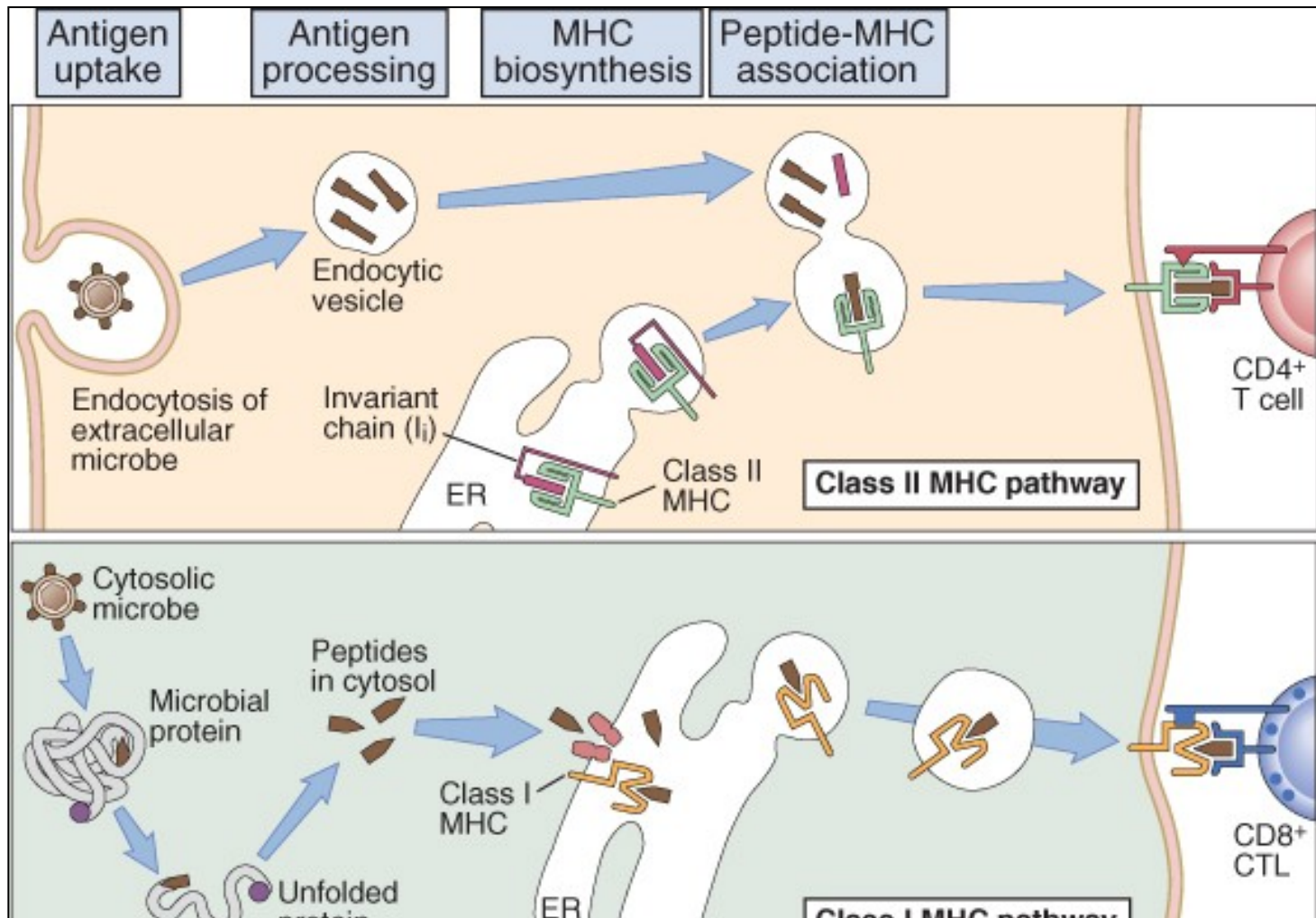
# HLA-I antigeny

- Exprimovány na všech jaderných buňkách
- Prezentují antigeny CD8+ lymfocytům
- Prezentované antigeny jsou produkty buněčné proteosyntézy
- Polypeptidové řetězce mají asi 10 aminokyselin

# HLA-II antigeny

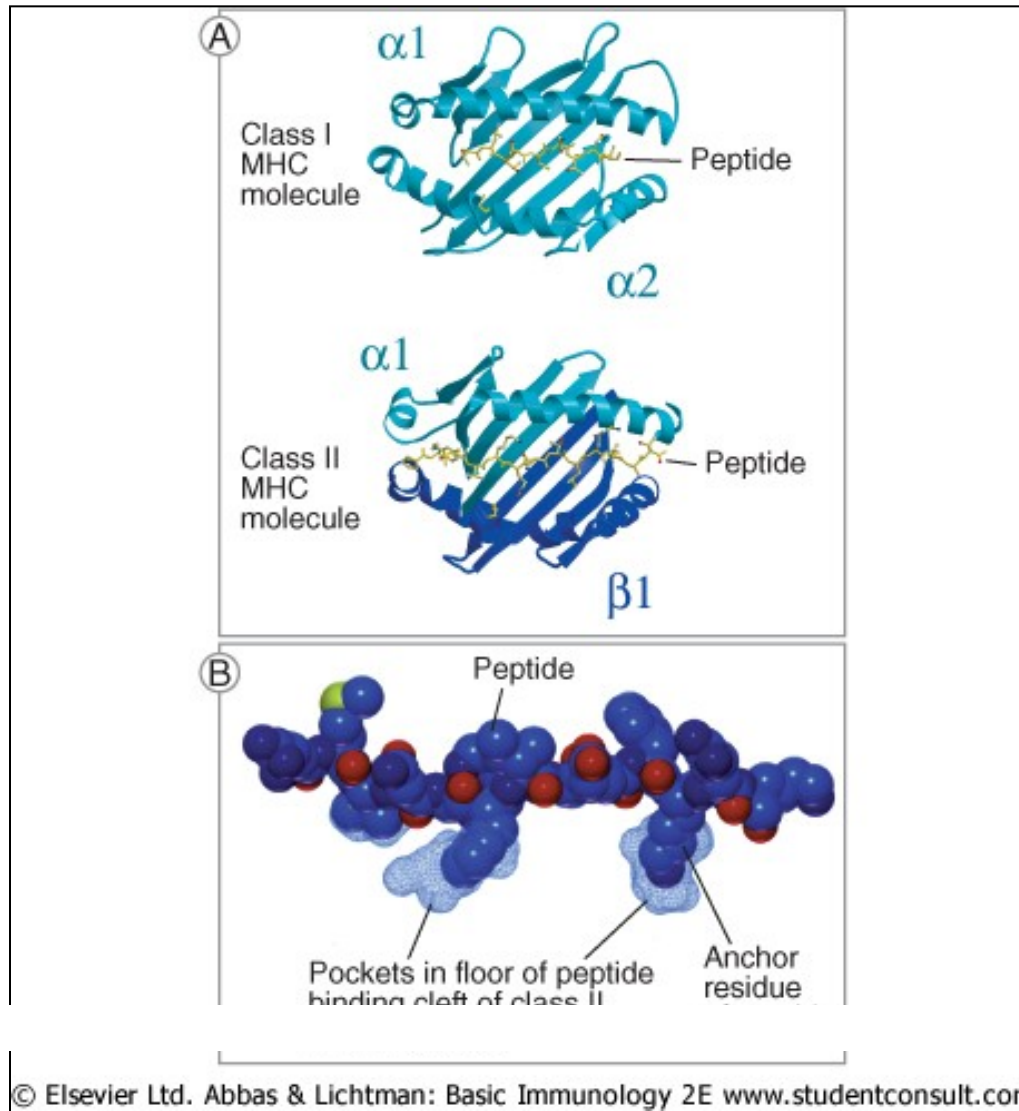
- Exprimovány na profesionálních antigen-prezentujících buňkách (monocyty a makrofágy, aktivované dendritické buňky, B-lymfocyty)
- Antigeny jsou předkládány CD4+ buňkám
- Antigeny jsou exogenního původu
- Polypeptidové řetězce mají asi 20 aminokyselin

# Vazba antigenu na HLA-I a HLA-II antigeny

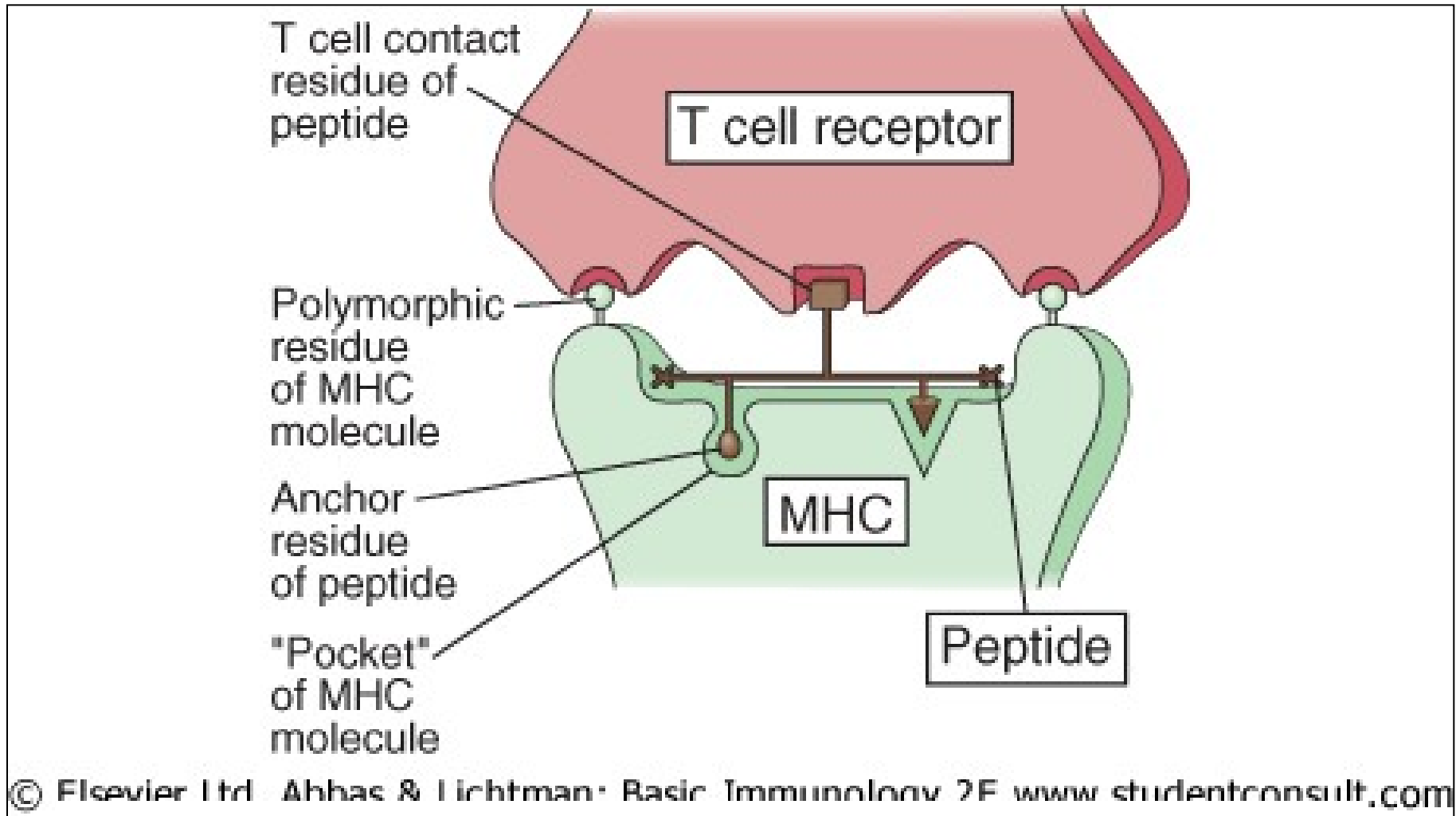




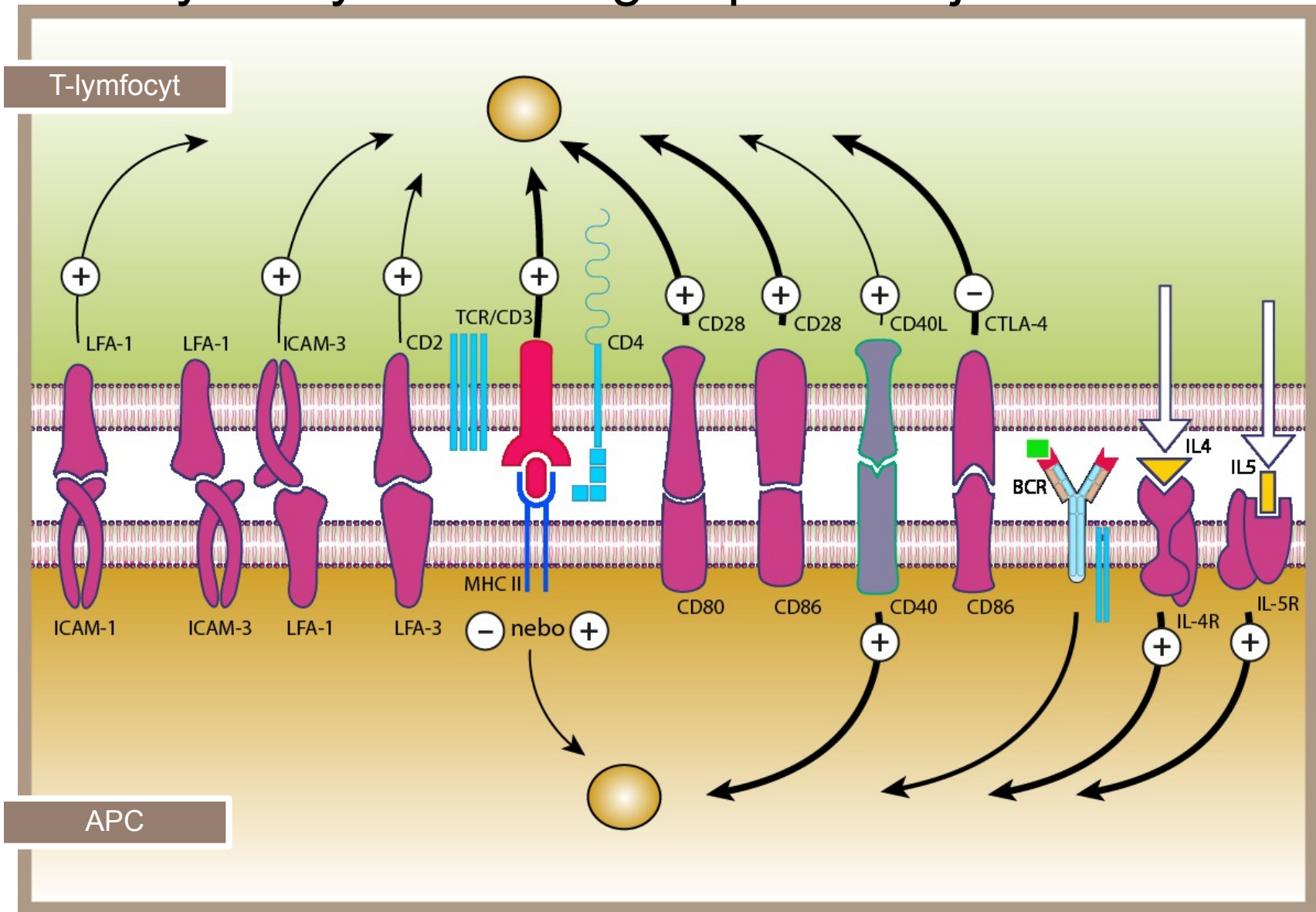
# Vazba antigenního polypeptidu na molekulu HLA



# Interakce TCR-polypeptid-HLA molekula



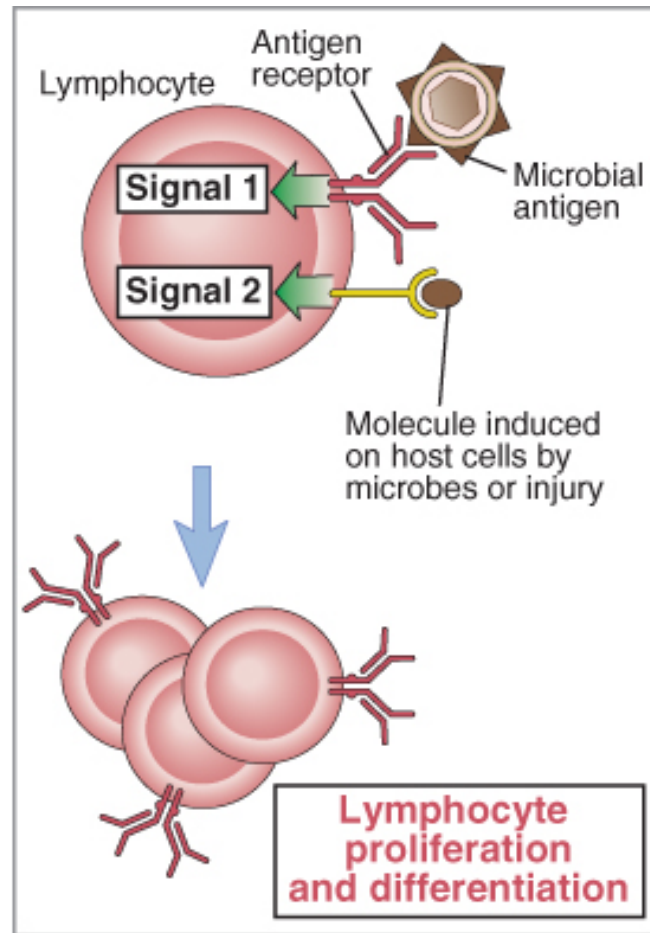
# Kostimulační molekuly účastníci se interakce mezi T-lymfocylem a antigen-prezentující buňkou



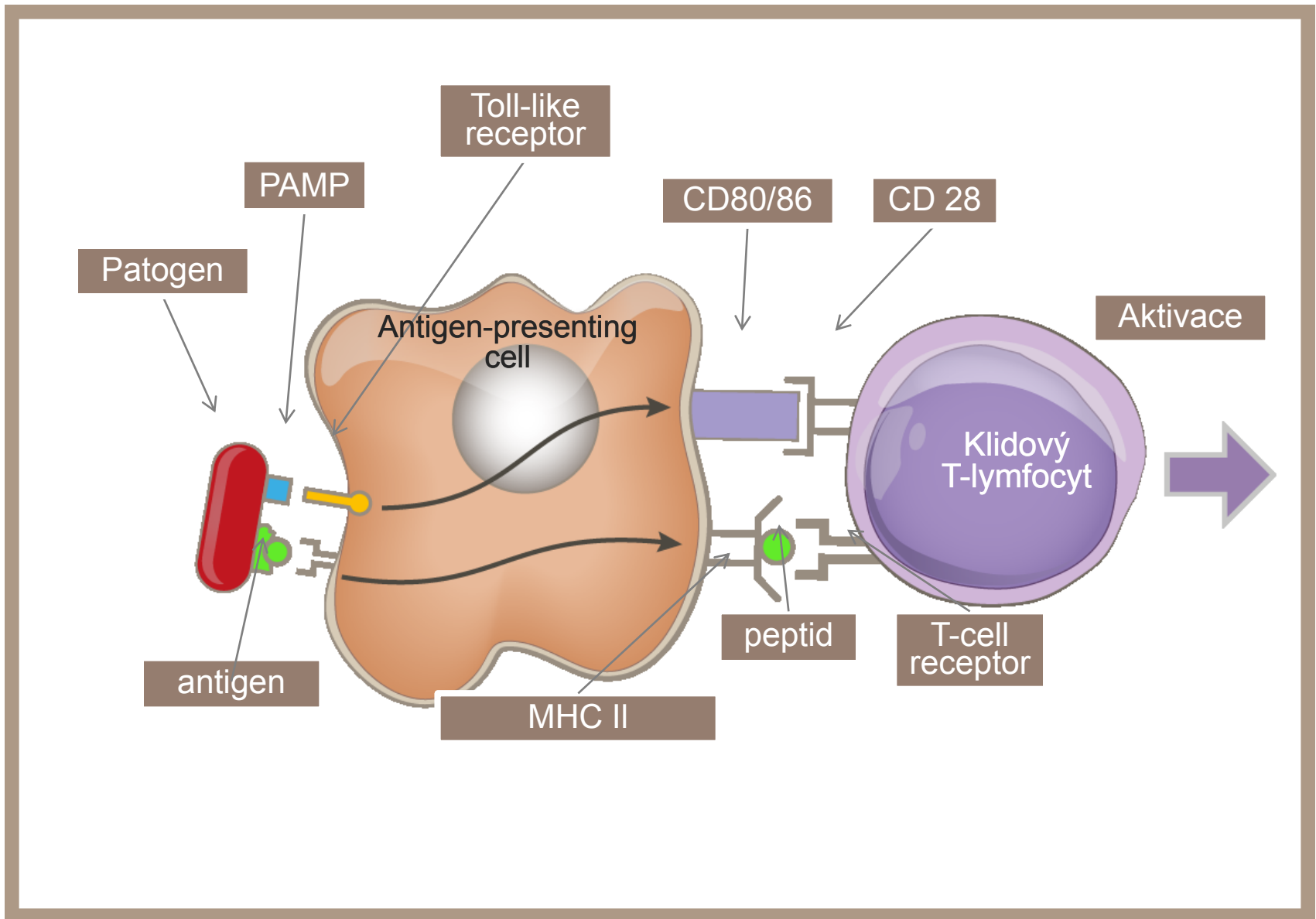
# Profesionální antigen-prezentující buňky

- Aktivované dendritické buňky
- Monocyty a makrofágy
- B-lymfocyty

# Pro stimulaci lymfocytů jsou vždy nutné nejméně 2 signály



# Stimulace T-lymfocytu antigenem je komplexní reakcí vyžadující vždy 2 signály



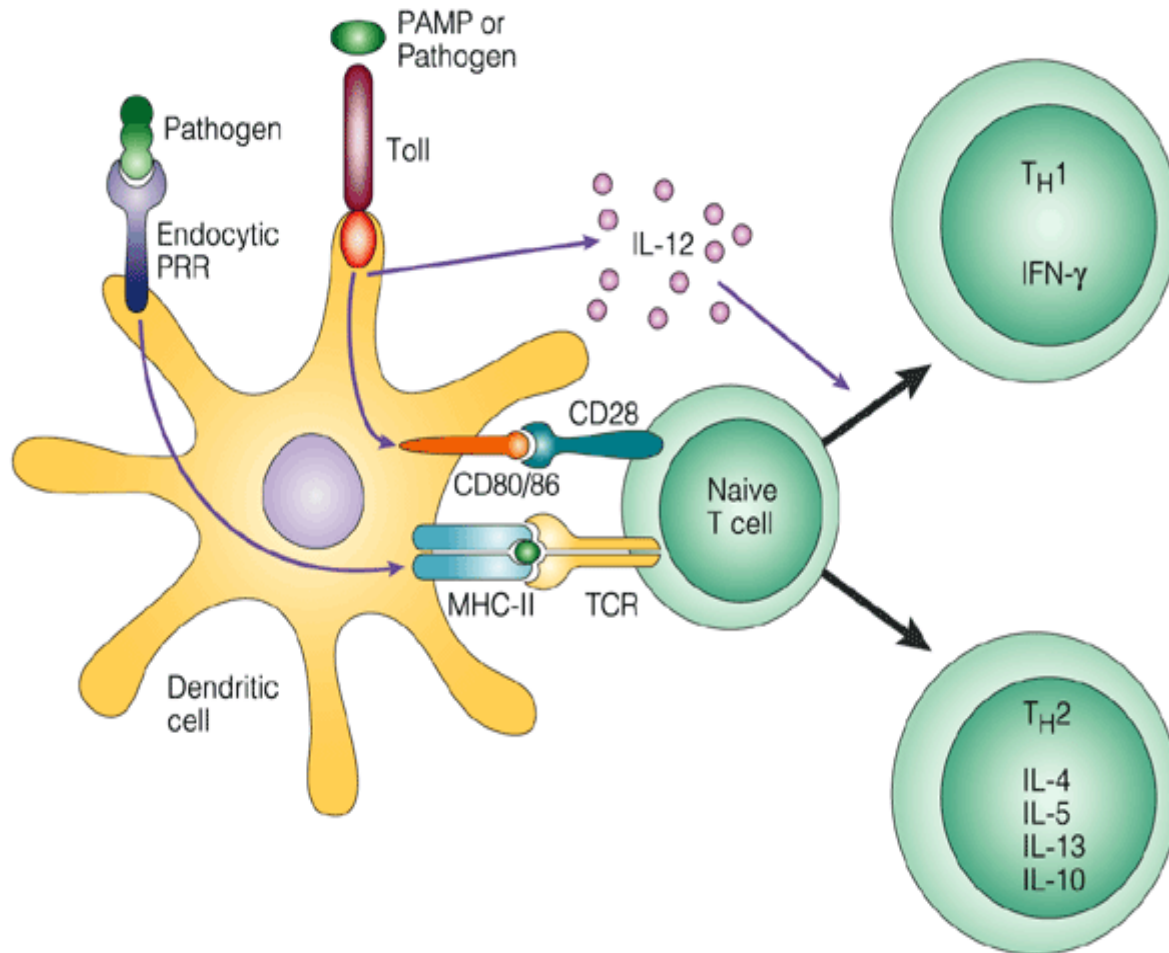
DENDRITICKÉ BUŇKY MUSÍ  
BÝT PRE-STIMULOVÁNY

SIGNÁLY

NEBEZPEČÍ

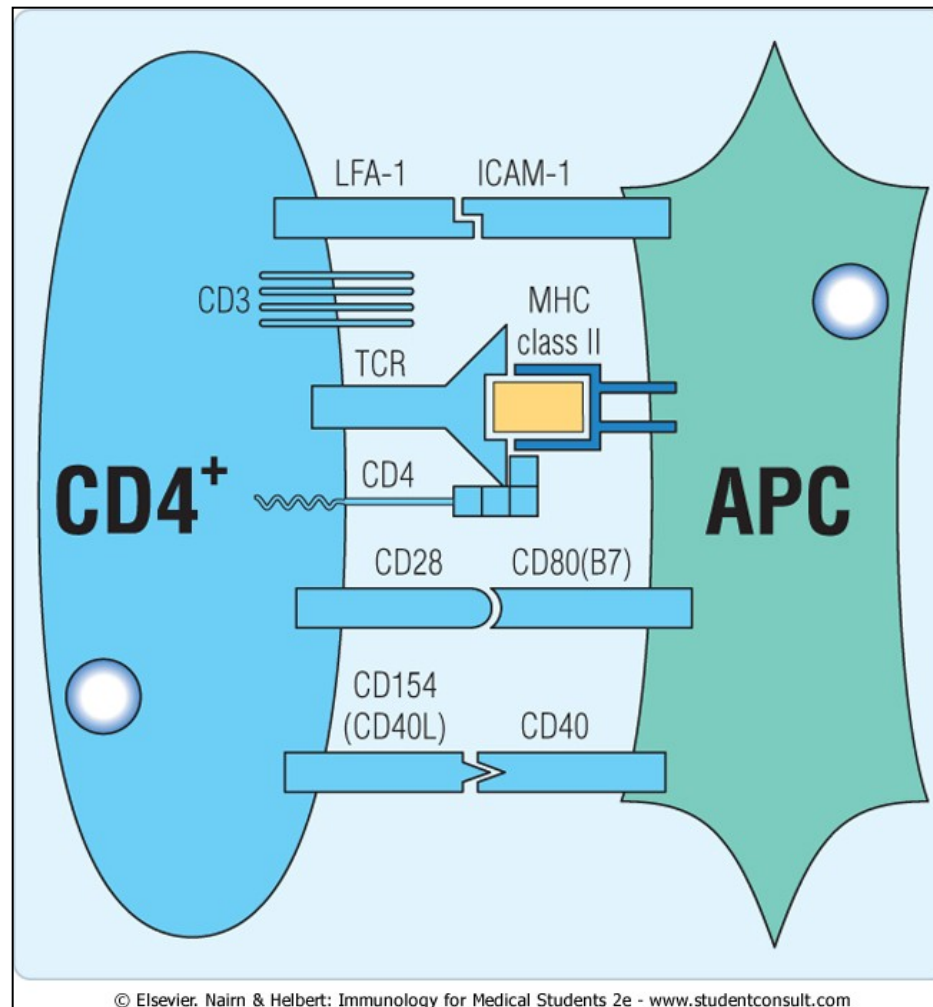
ABY BYLY SCHOPNY  
AKTIVOVAT T LYMFOCYTY

# PAMP jsou důležité v aktivaci dendritických buněk

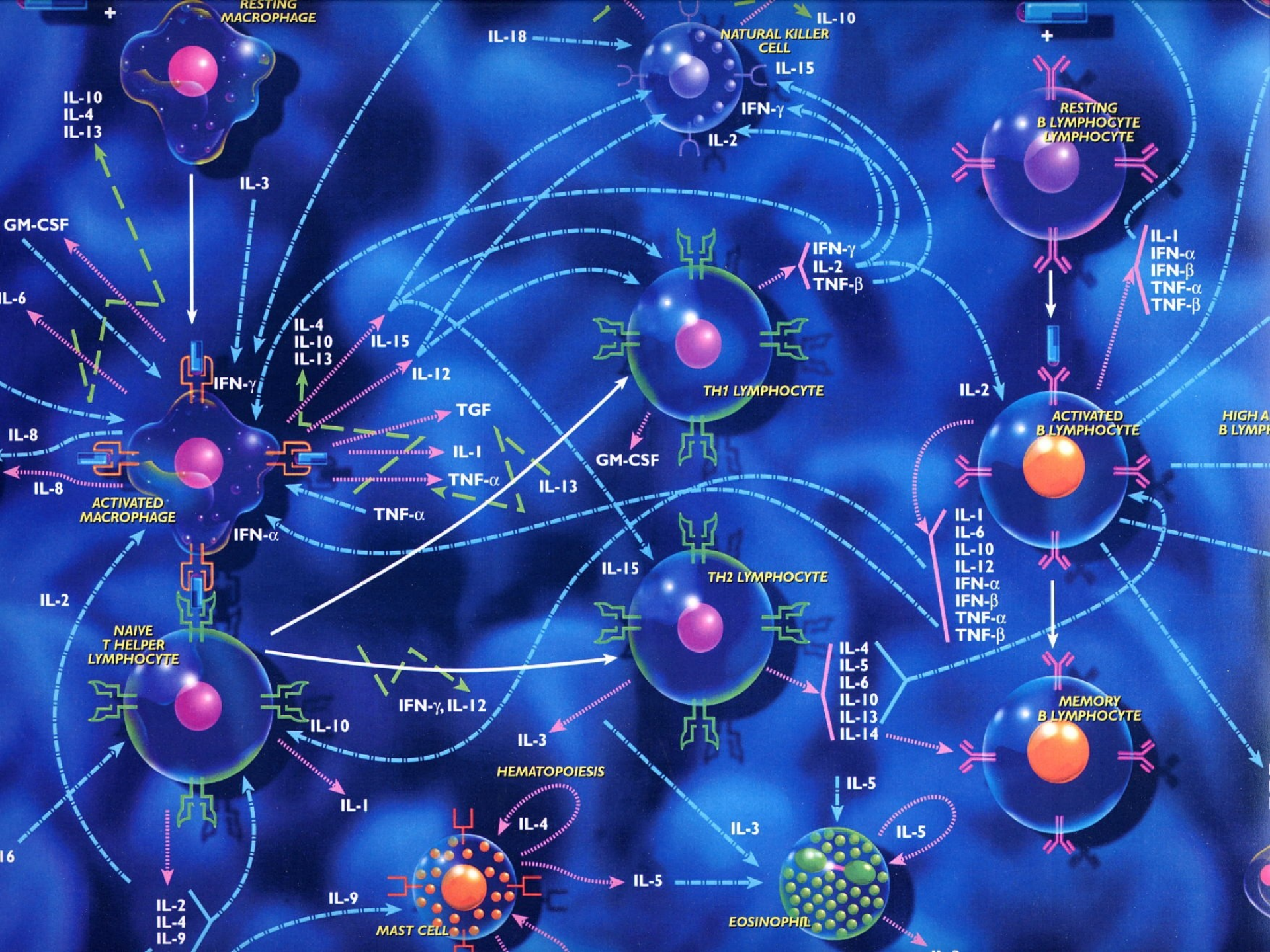




## Kostimulační molekuly při aktivaci T-lymfocyту antigen prezentující buňkou



Cytokiny



# Cytokiny

- Působky, „tkáňové hormony“, hlavní regulátory buněk imunitního systému.
- Produkty buněk imunitního systému působící hlavně opět v imunitním systému.
- Působí prostřednictvím specifických receptorů.
- Účinek autokrinní, parakrinní, endokrinní.
- Obvykle krátký biologický poločas
- Názvosloví:
  - IL-1 - IL-38 (?)
  - Historické názvy: interferony, TNF, CSF..

# Cytokiny

- Obvykle produkovány různými skupinami buněk, ale často je určitá skupina „hlavním producentem“.
- Pleiotropní efekt.
- Vytvářejí funkční cytokinovou síť.
- Jeden cytokin má často jak stimulační, tak tlumivý efekt.

# Funkce cytokinů

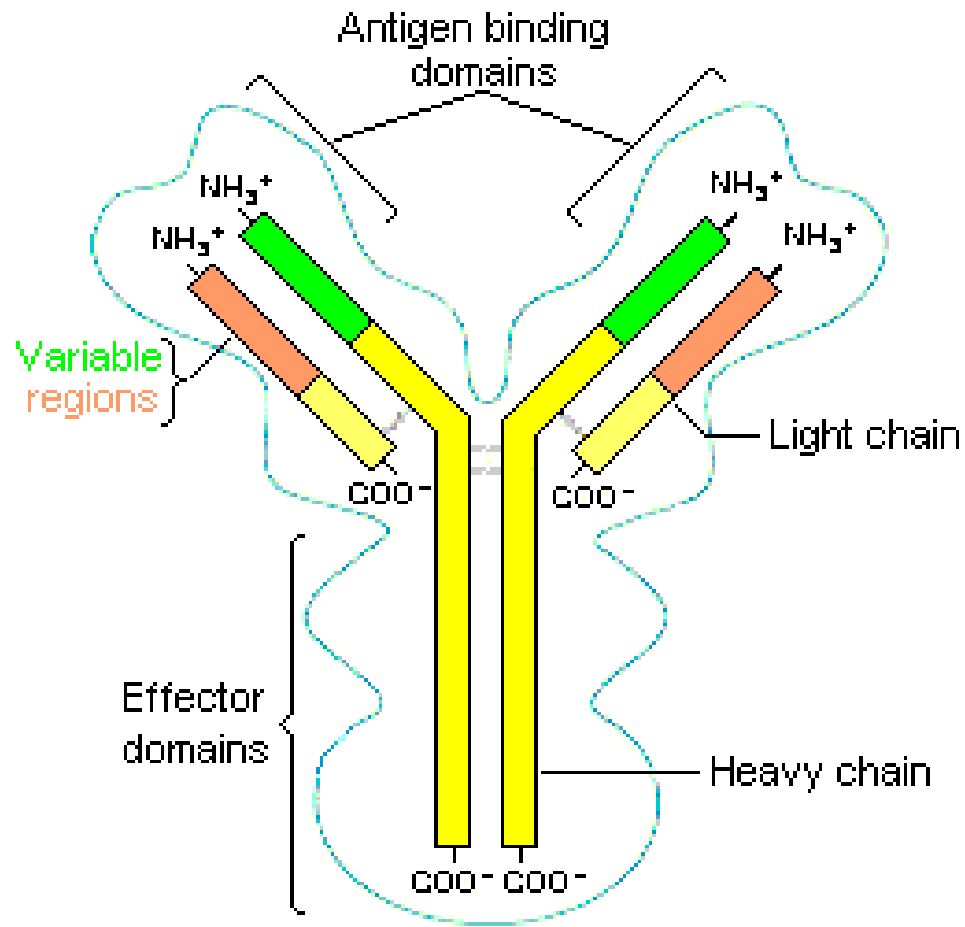
- Prozánětlivé cytokiny: IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-18
- Stimulace makrofágů: IFN- $\gamma$
- Stimulace granulocytů: chemokiny (včetně IL-8)
- Stimulace T-lymfocytů: IL-2
- Stimulace B-lymfocytů, produkce protilátek: IL-4, IL-5, IL-10, BAFF
- Proliferace progenitorových buněk: IL-3, GM-CSF, M-CSF
- Negativní regulátory: IL-10, IL-13, TGF $\beta$

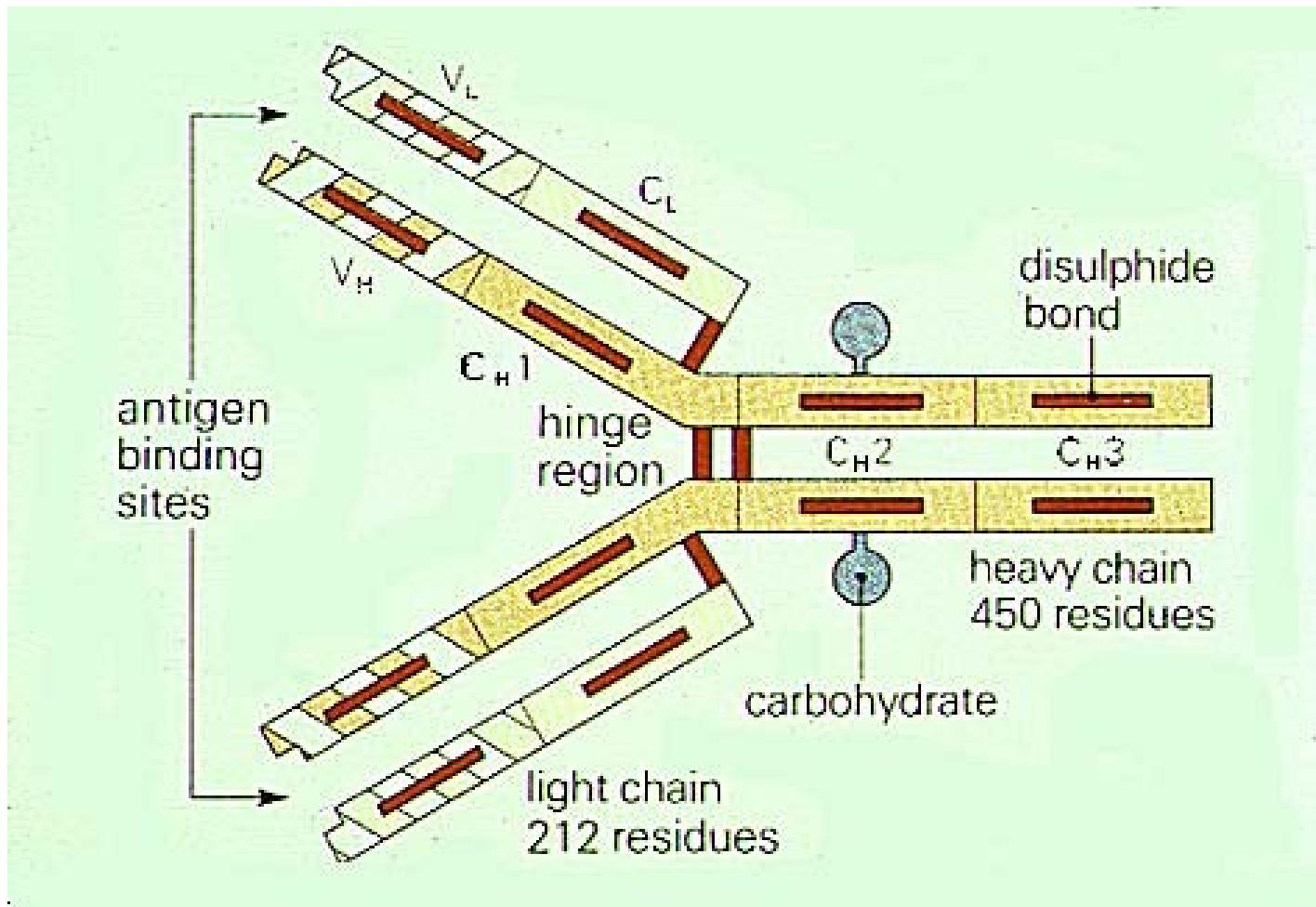
# Protilátky – imunoglobuliny

- Jsou produkována B- lymfocyty a především jejich posledním vývojovým stupněm – plazmatickými buňkami.
- Zajišťují rozpustnou (humorální) složku specifické imunity.





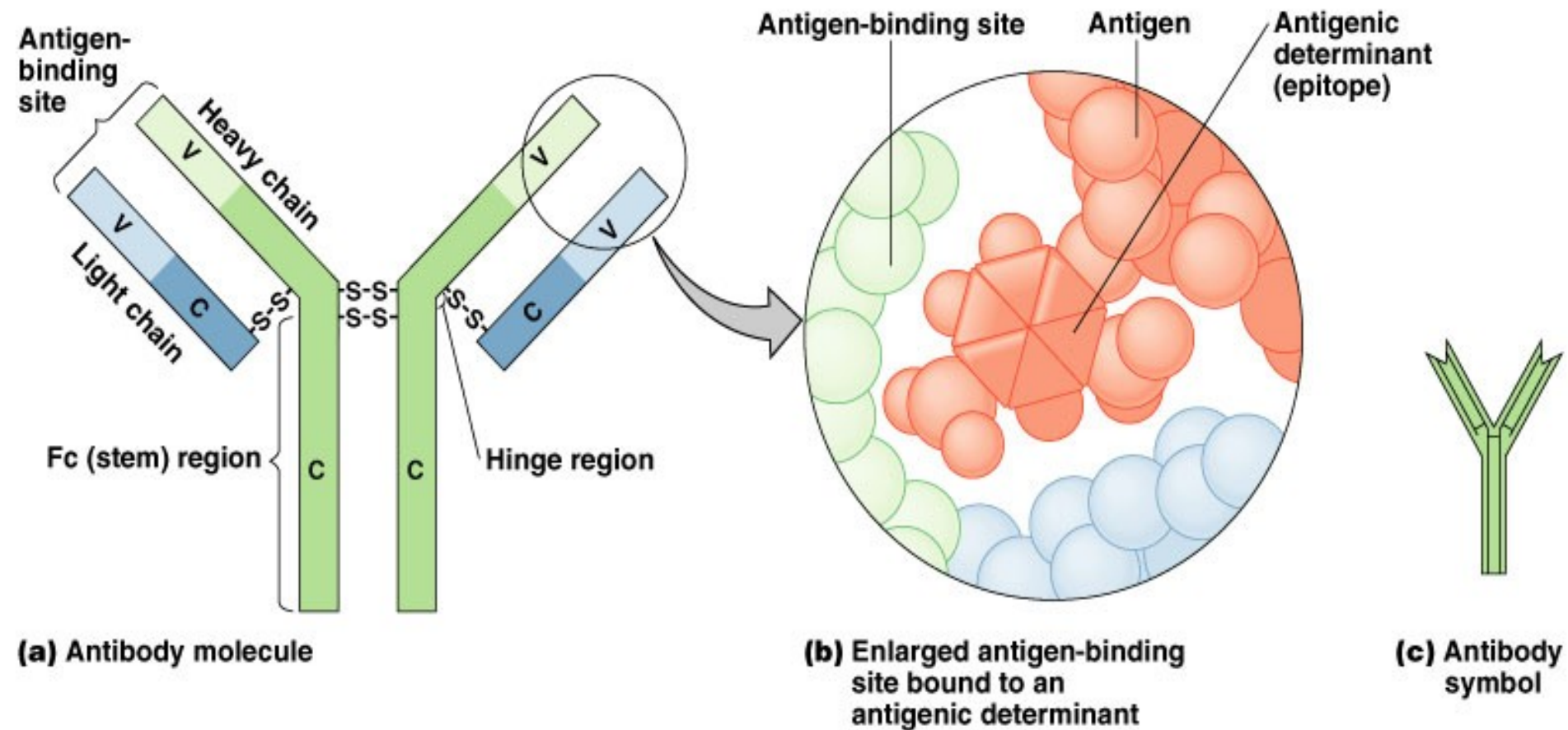




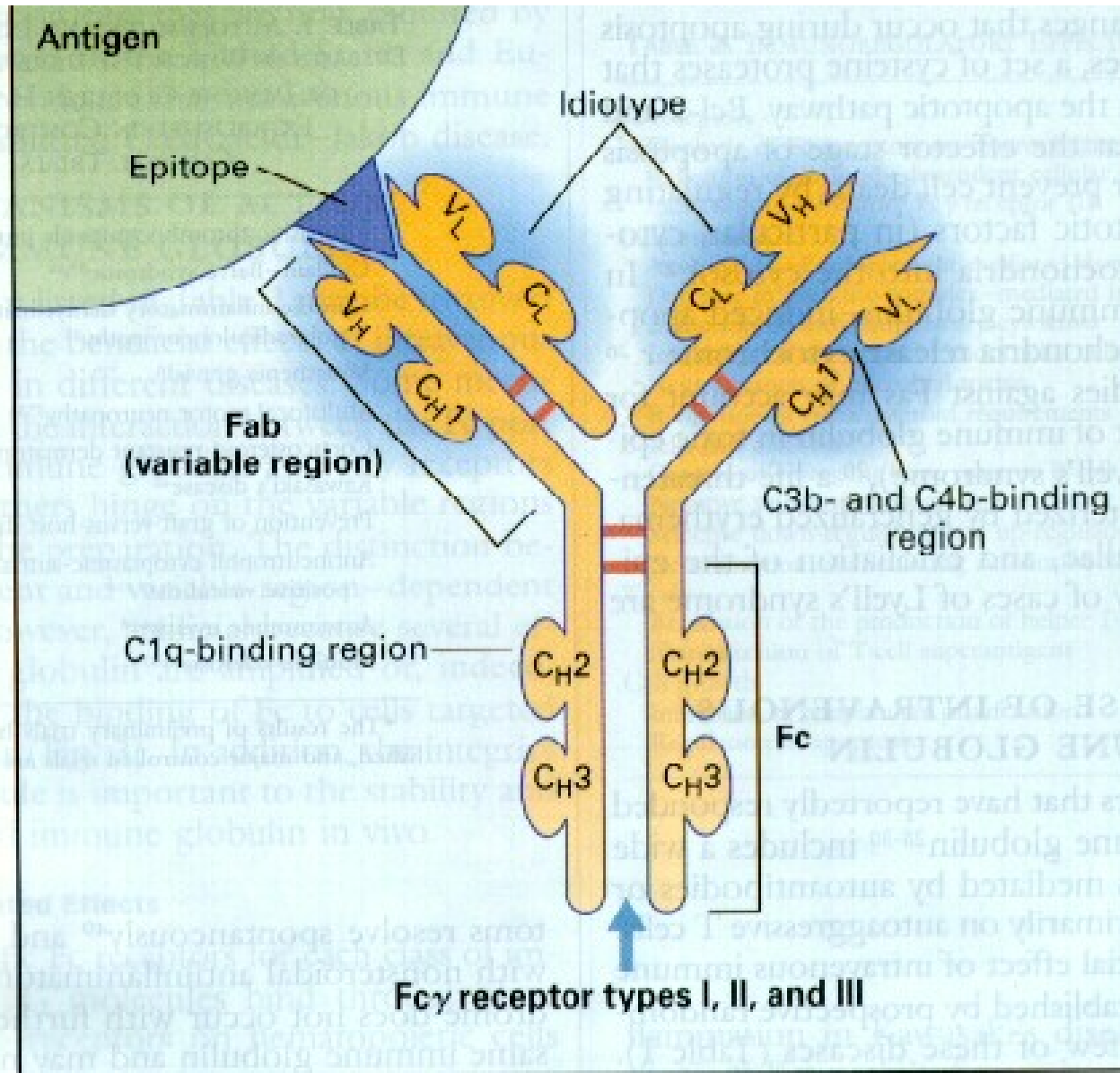
# Struktura molekuly protilátky

- 2 identické těžké řetězce (H) a 2 identické lehké řetězce (L) spojené disulfidickými můstky
- strukturně podobné domény (110-120 AK): 2 u lehkých řetězců, 4-5 domén u těžkých řetězců
- lehký i těžký řetězec
  - **variabilní oblast** (VH a VL); N-konec
    - každá oblast obsahuje 3 hypervariabilní úseky (6-10 AK)
    - **vazba antigenu**
  - **konstantní oblast** (CL, CH1-CH3/CH4); C-konec
    - CL - izotyp kappa, lambda
    - CH - izotyp (třída) protilátky (IgG, M, A, E, D), podtřídy
      - membránově vázaná nebo sekretovaná forma
      - **biologické (efektorové) funkce** protilátky
- flexibilita vazebné části – pantová oblast mezi CH1 a CH2

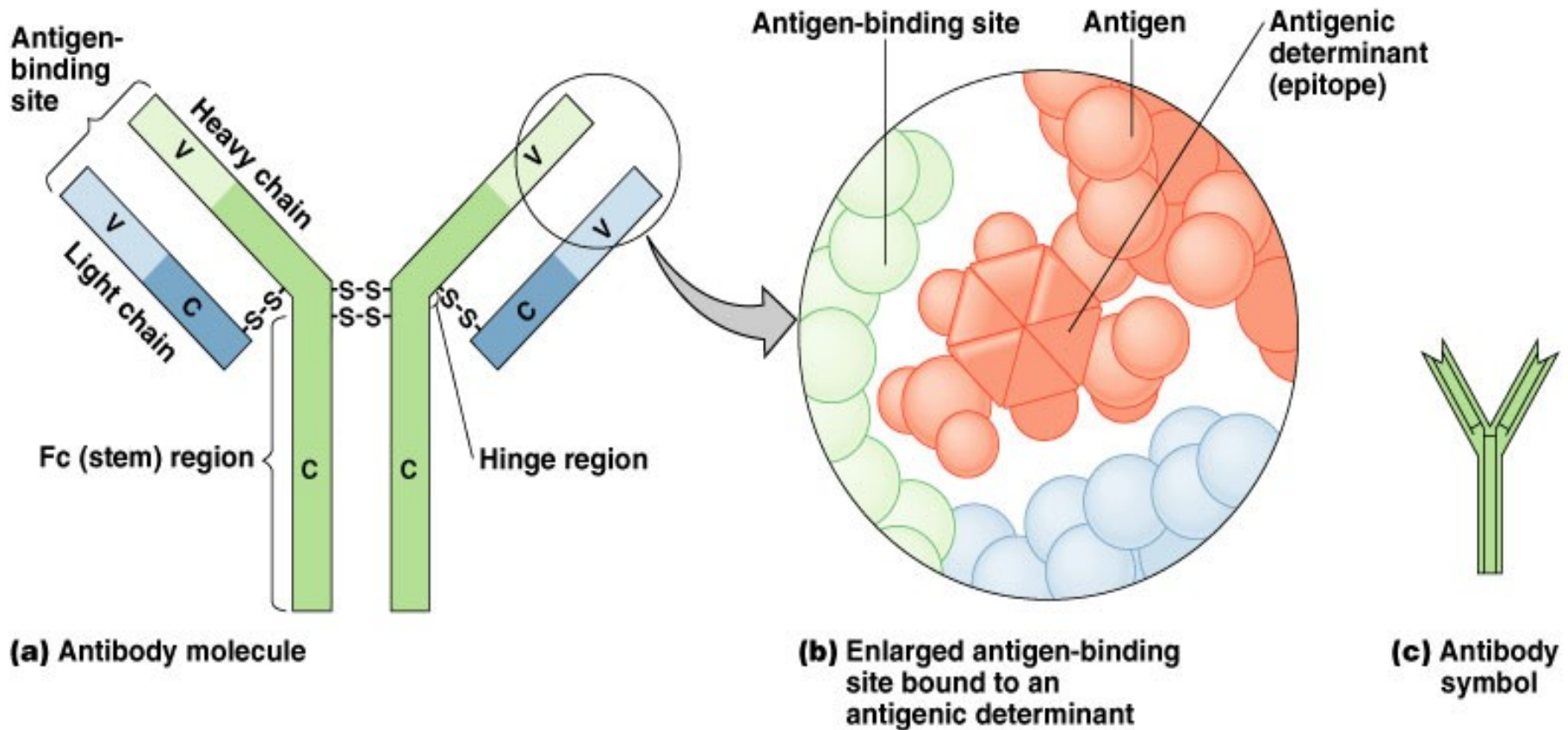
# Variabilní oblast Ig molekuly váže antigenní epitop



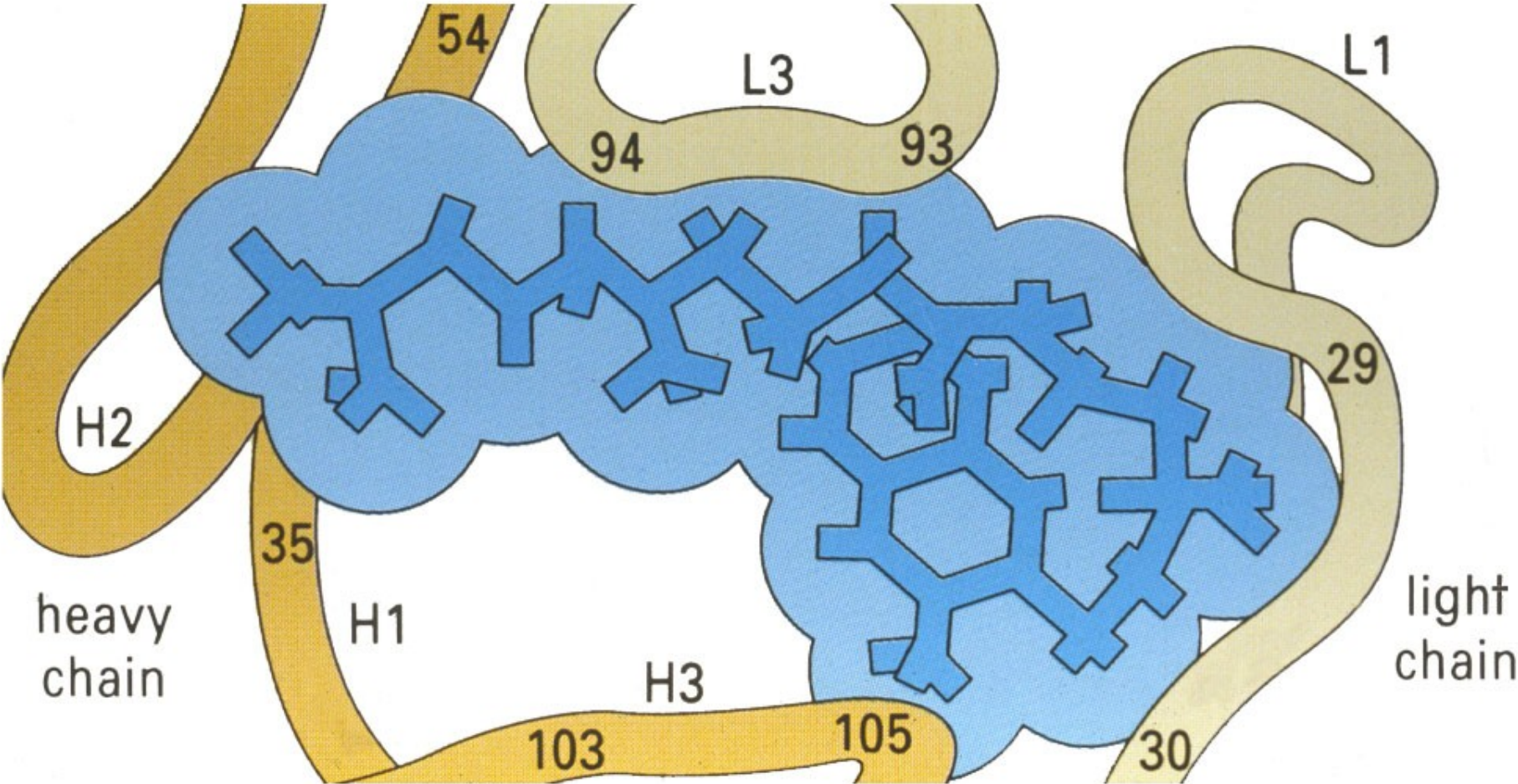
# Imunoglobulinová molekula



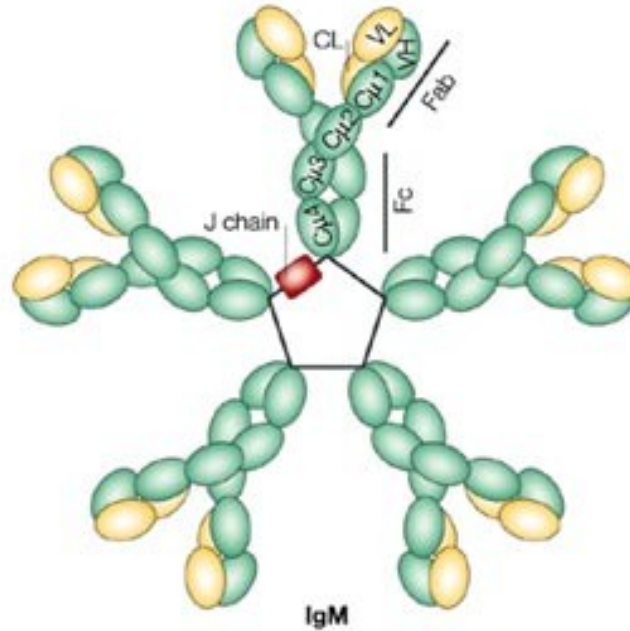
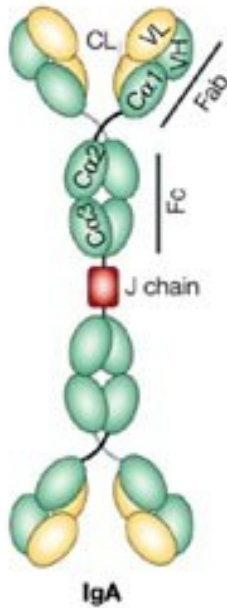
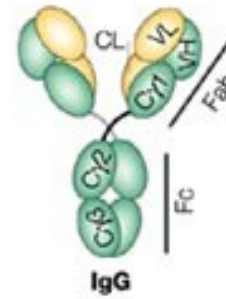
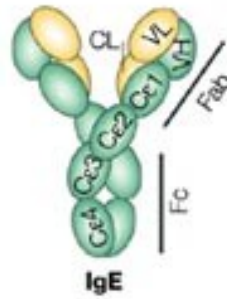
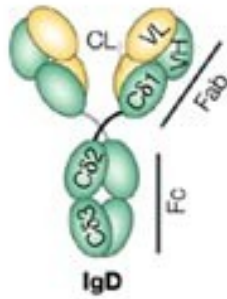
# Variabilní oblast Ig molekuly váže antigenní epitop



# The antibody combining site



# Třídy imunoglobulinů





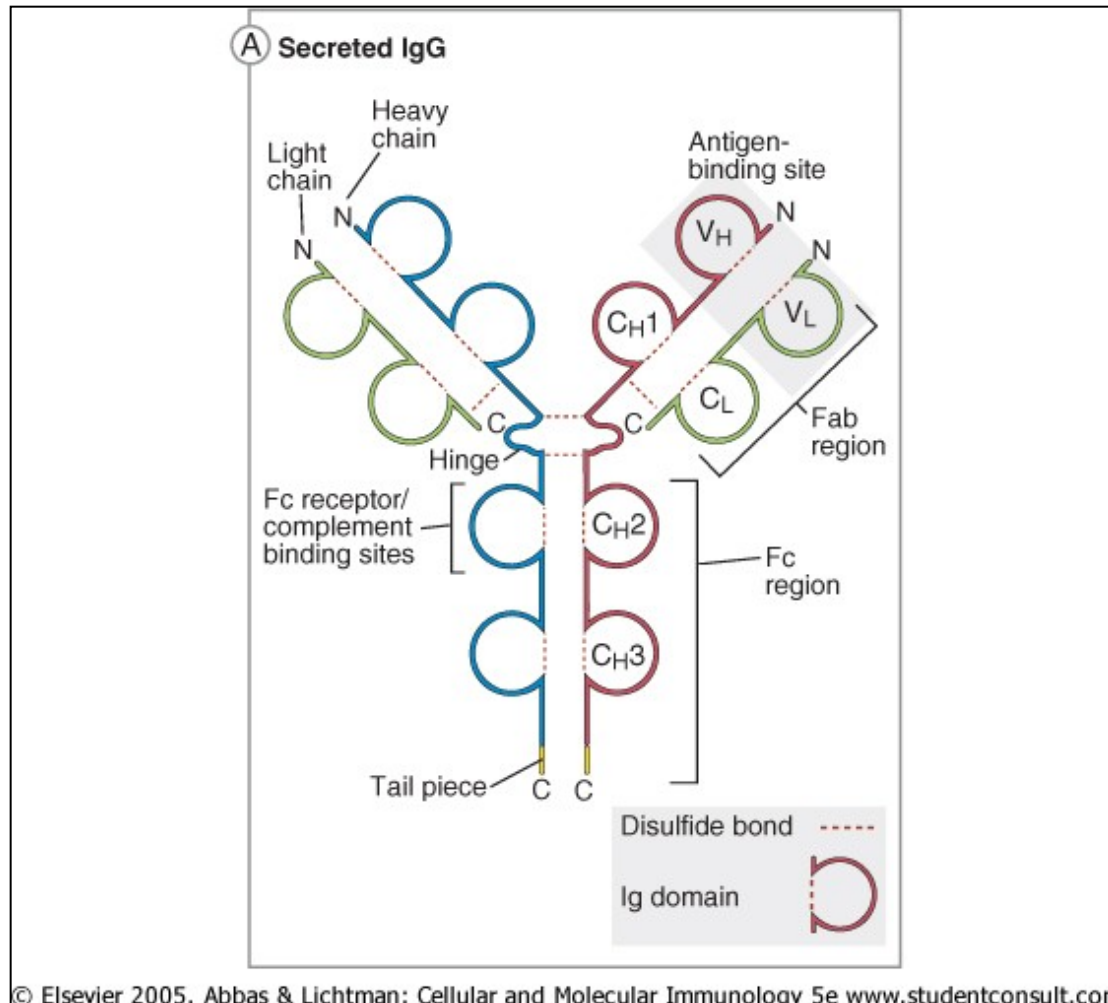
# Třídy a podtřídy imunoglobulinů

Izotyp	Podtřídy	Koncentrace v séru	Biol. poločas	Funkce
IgM	-	0,9-2,5 g/l	6 d	Receptor pro antigen (naivní B lymfocyty); primární odpověď; aktivace komplementu
IgD	-	Stopa	3 d	Receptor pro antigen (naivní B lymfocyty)
IgG	IgG1-4	8-18 g/l (převaha IgG1)	21 d	Sekundární odpověď; neonatální imunita; aktivace komplementu; opsonizace; neutralizace
IgA	IgA1,2	0,9-3,5 g/l	6 d	Slizniční imunita; opsonizace
IgE	-	0,0003 g/l	2 d	Obrana proti parazitům; reakce časně přecitlivělosti

# IgG1-4

- nejhojnější protilátka v séru, intersticiální tekutině
- největší zastoupení má podtřída IgG1
- výskyt ve formě monomeru
- nejdelší poločas (21 d)
- přestup přes placentu
  
- klíčová úloha v sekundární imunitní odpovědi
- aktivace komplementu, opsonizace, neutralizace

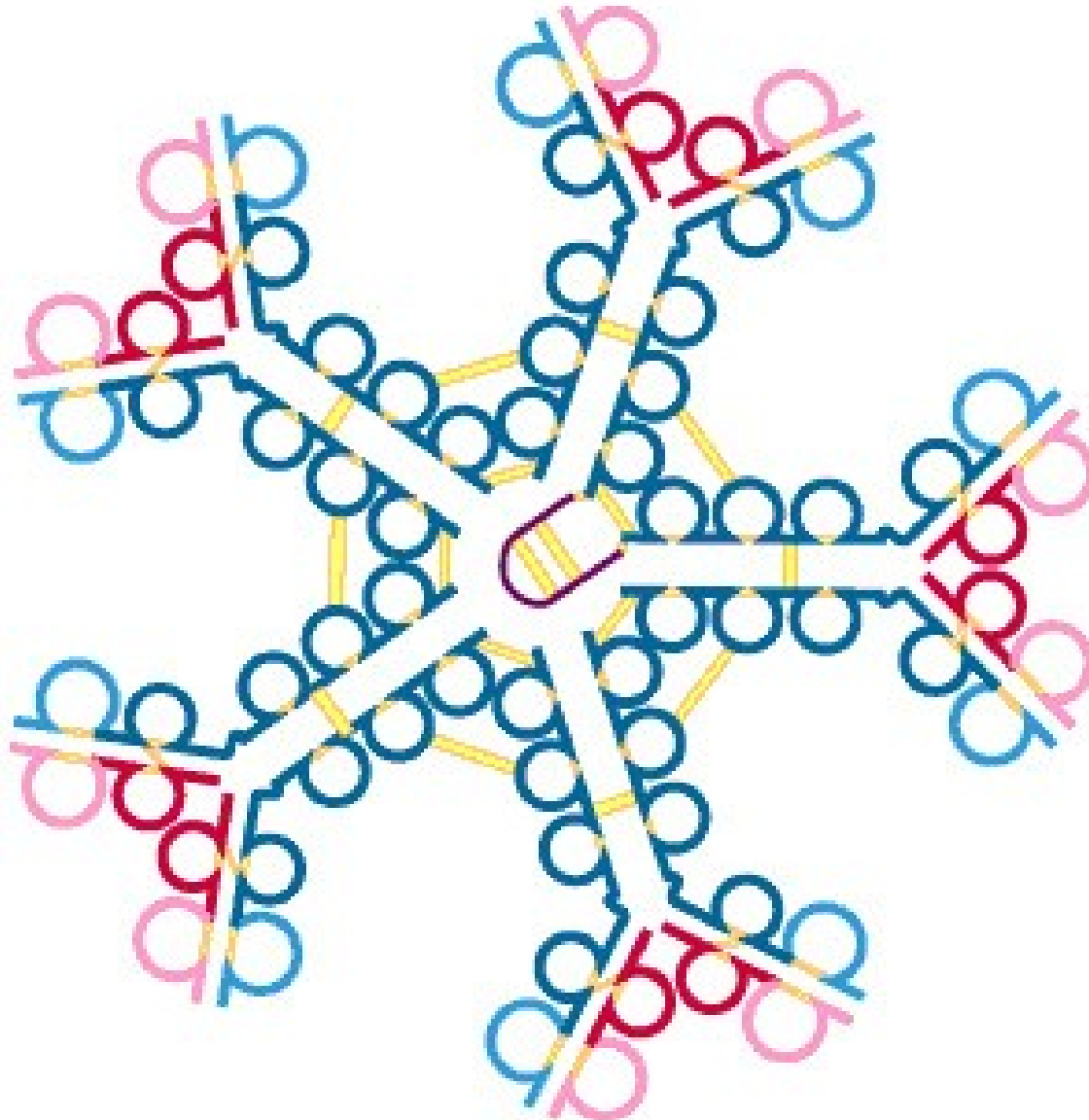
# IgG



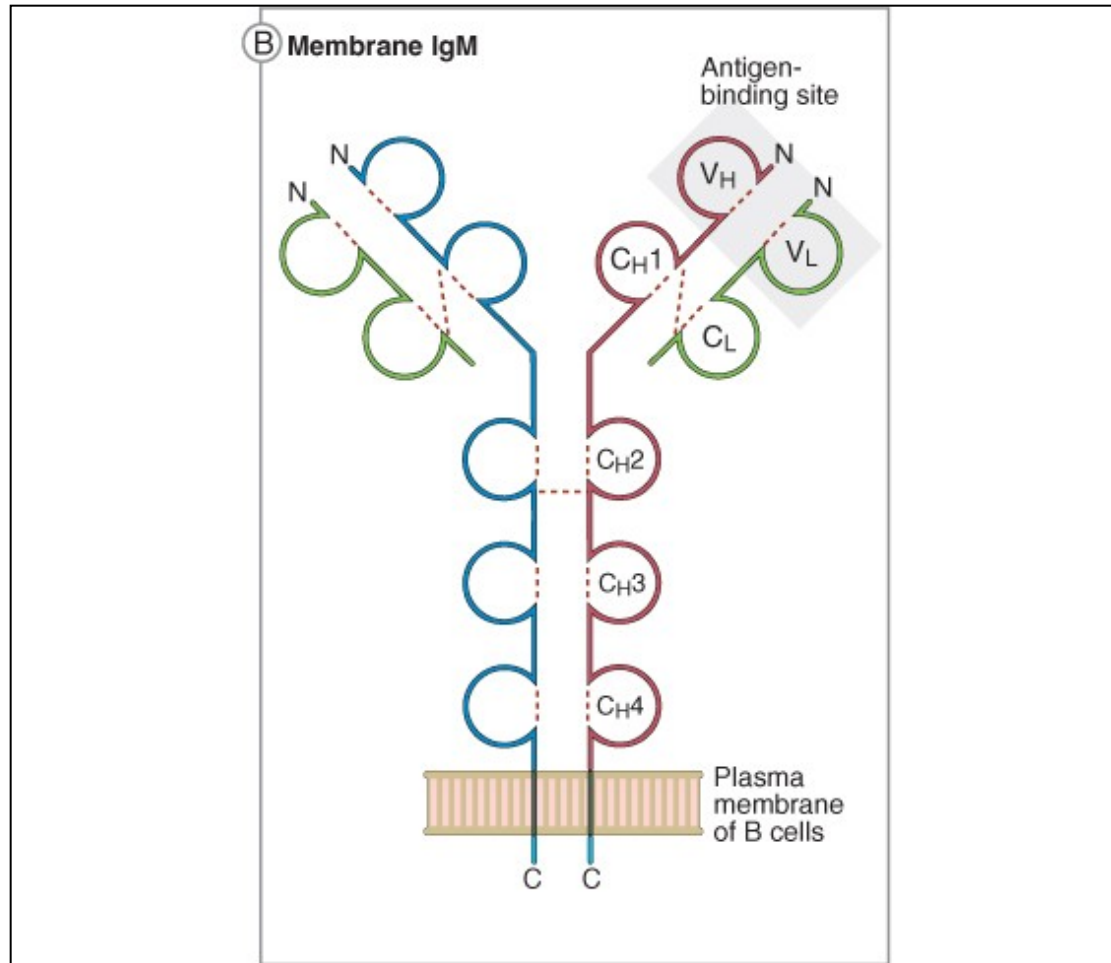
# IgM

- vázaný na membránu ve formě monomeru – receptor na B lymfocytech – po navázání antigenu zprostředkuje aktivaci B lymfocytů, důležitý pro **vývoj B lymfocytů**
- rozpustný ve formě pentameru (hexameru) – 10 (12) vazebných míst
- zajišťuje **primární imunitní odpověď**
- **účinná aktivace komplementu**

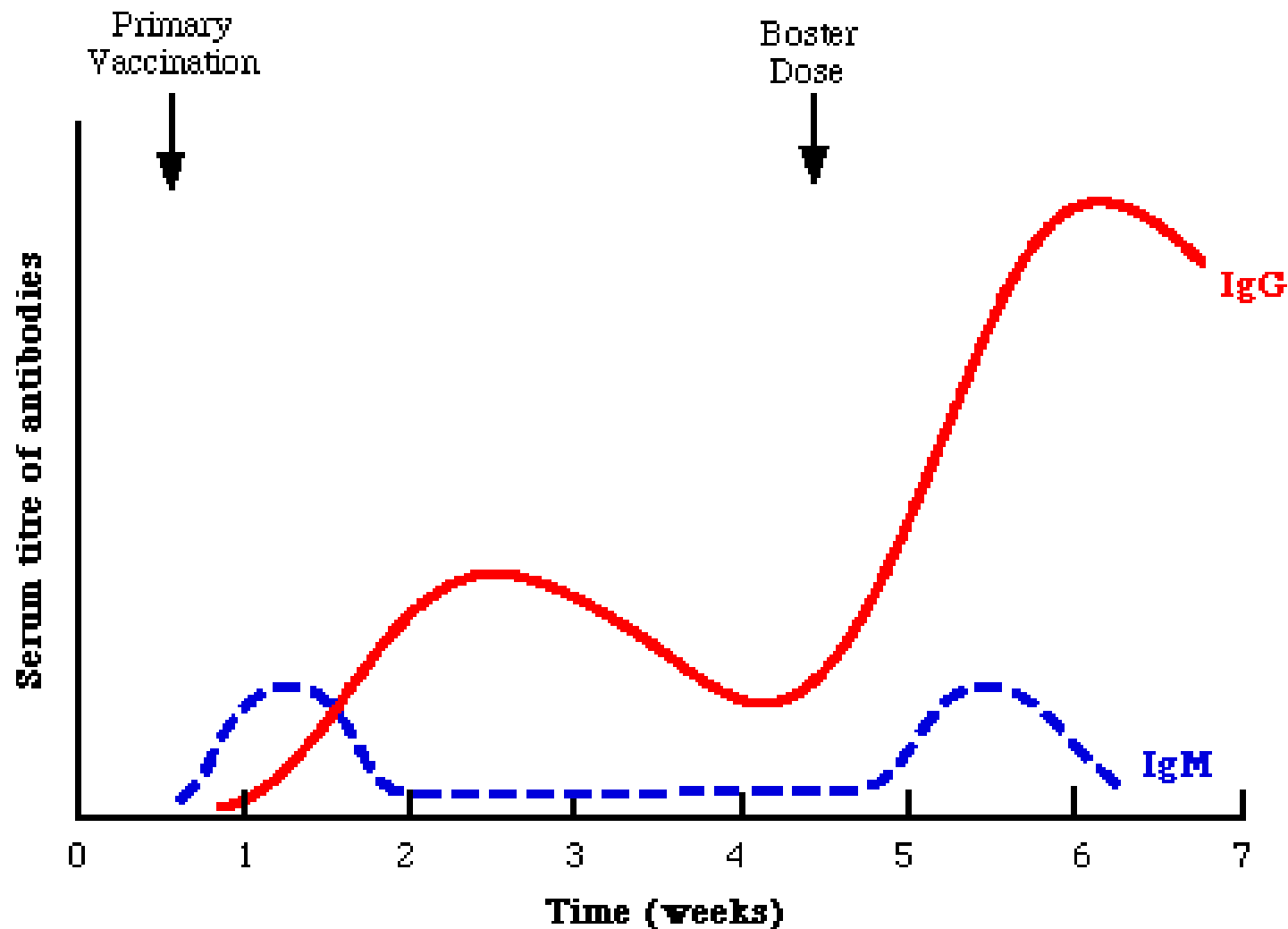
# Molekula IgM (pentamer)



# IgM vázané na membránu - receptor



# Protilátková imunitní odpověď



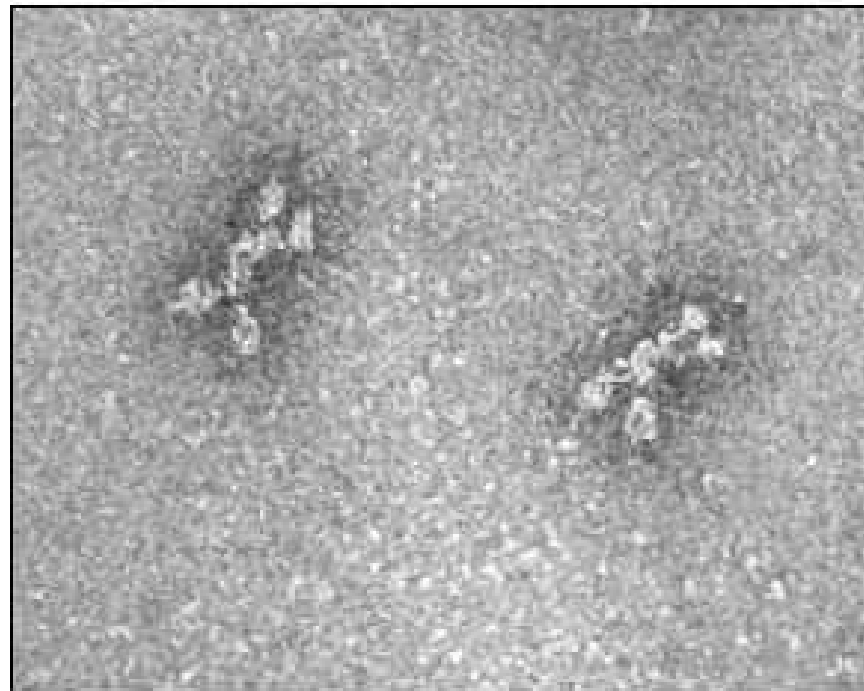
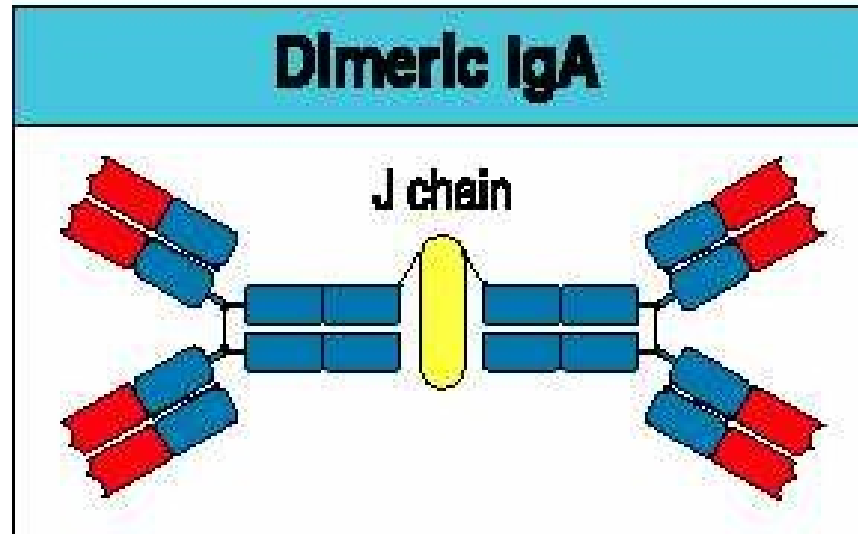
# IgA1,2

- slizniční forma (dimer) – významná úloha ve **slizniční imunitě** (neutralizace, opsonizace; neaktivuje C)
  - produkován plazmatickými buňkami a B lymfocyty v submukóze
  - transportován na slizniční povrch pomocí transportního Fc receptoru (poly-Ig-receptor)
  - transport přes epitel transcytózou: endocytóza – přeprava v transportním váčku – fúze s luminální membránou – odštěpení z receptoru proteolýzou
  - část poly-Ig-receptoru zůstává po uvolnění na slizniční povrch součástí dimeru IgA = sekreční komponenta – zajišťuje rezistenci vůči proteázám
- sérová forma (monomer, dimer, trimer) – opsonizace

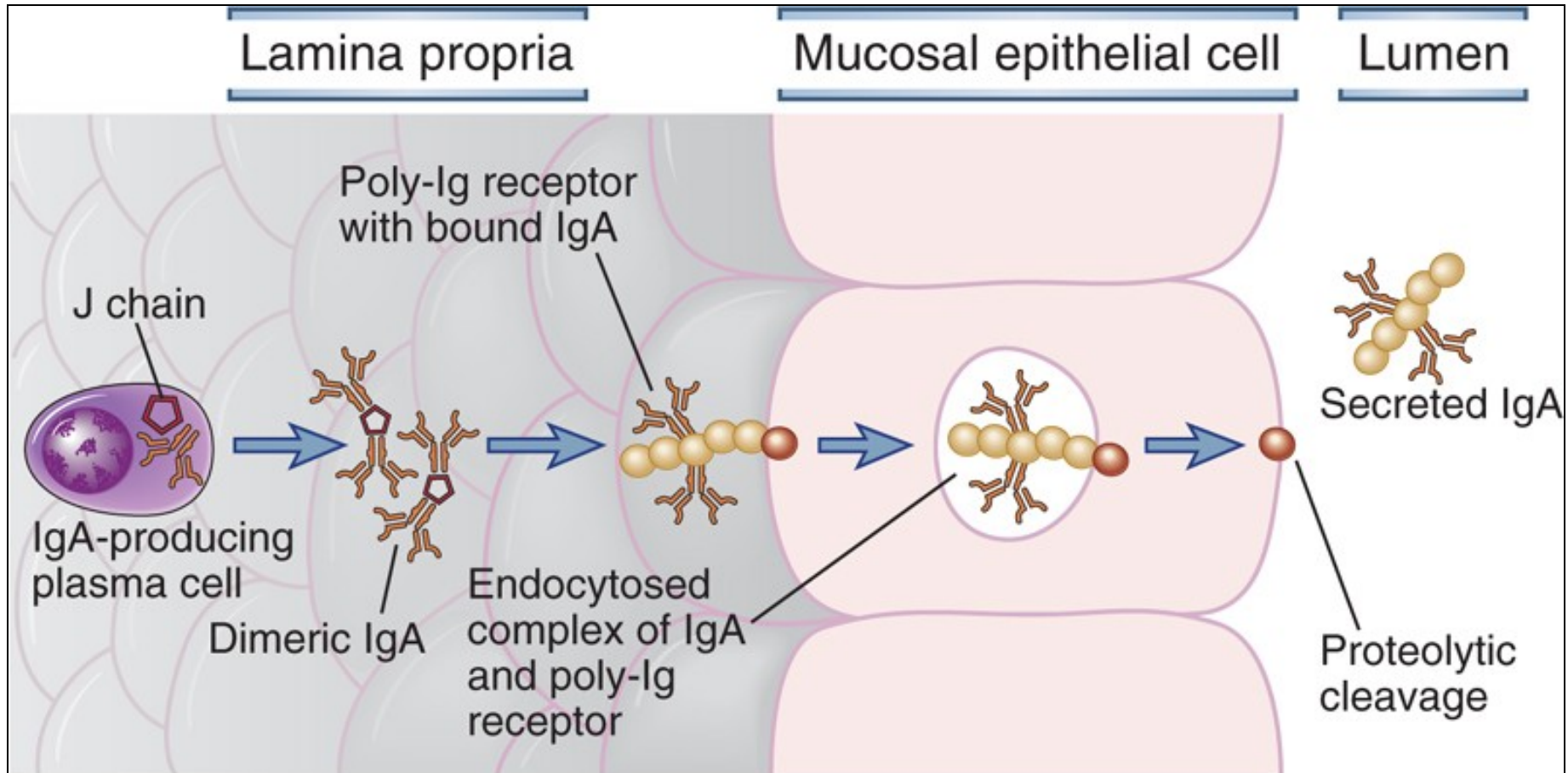


Figure 2.29

Sekreční IgA  
(dimer)



# Transcytózsa IgA



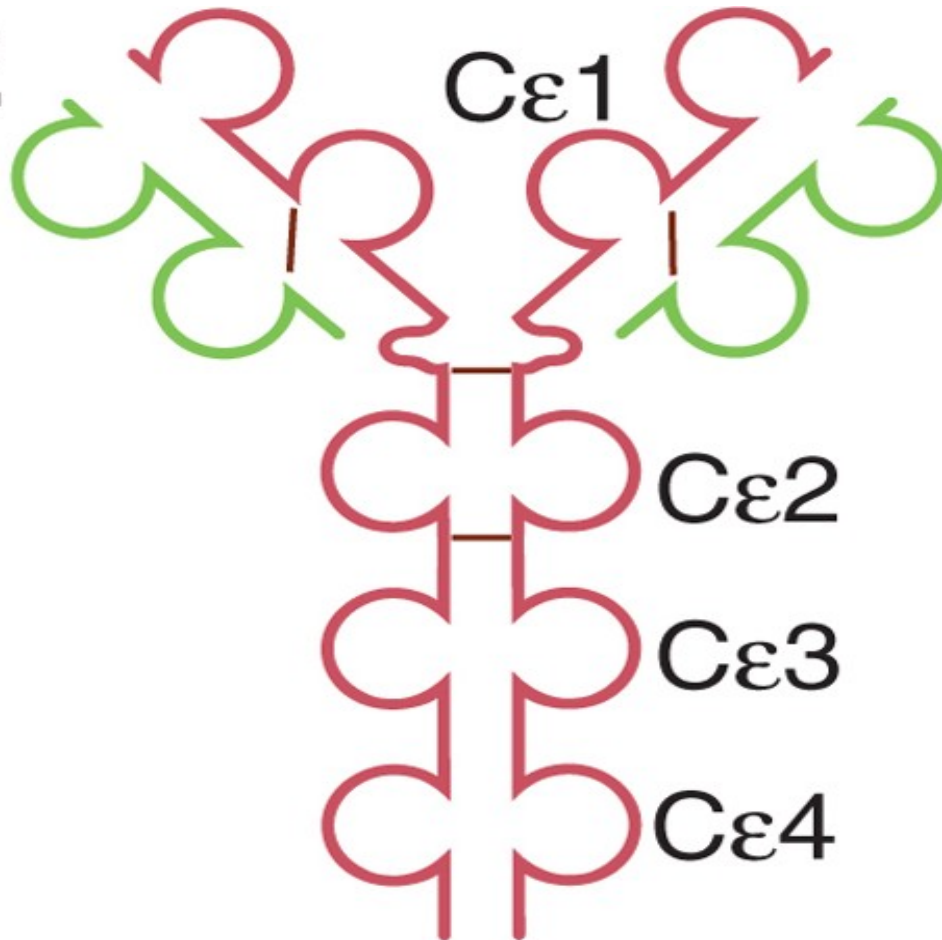
Abbas et al: Cellular and Molecular Immunology, 7e.

Copyright © 2012, 2007, 2005, 2003, 2000, 1997, 1994, 1991 by Saunders, an imprint of Elsevier Inc.

# IgE

- V séru se vyskytuje ve velmi nízkých koncentracích ( $10^{-4}$  g/l).
- Zvýšené hladiny nacházíme při parazitárních a alergických onemocněních.
- Váže se na receptor pro IgE na žírných buňkách.
- Pokud se takto navázaný IgE setká se svým antigenem (alergenem) dojde k aktivaci žírné buňky a vzniku alergické reakce.
- Fyziologicky hraje roli v obraně proti parazitům.

**IgE**



**Monomer**

2x těžké řetězce  $\epsilon$

2x lehké řetězce  $\kappa$  nebo  $\lambda$

Variabilní část (vazba Ag)

Konstantní část (Fc fragment)

# Biologické funkce imunoglobulinových molekul

- Aktivace komplementového systému (IgG, IgM)
- Opsonizace (zejména IgG, též IgA)
- Neutralizace antigenů (IgG, IgA, IgM)
- Zábřana adherence (IgA, IgG)
- Aglutinace, precipitace (IgG, IgM)
- Degranulace žírných buněk (IgE)
- Přechod placentou (IgG)
- Imunoregulace (zejména IgG)
- Fenomén ADCC ( IgG)

# Vazba antigenu a protilátky

- nekovalentní komplexy (iontové, hydrofobní, van der Waalsovy síly, vodíkové můstky)
- vazba je reverzibilní
- vysoká diversita protilátek:  $> 10^{11}$  různých vazebných míst
- komplementarita vazebného místa protilátky s epitopem antigenu
  - hypervariabilní oblasti VL a VH (CDR1-3 – complementarity determining regions)
  - jedinečnost vazebného místa dána procesem VDJ (VJ) rekombinace a somatickými hypermutacemi
- přístupnost epitopů v závislosti na konformaci antigenu