

Rozvoj adaptivní imunitní reakce

Jiří Litzman

ROZPOZNÁVÁNÍ PATOGENŮ A ABNORMÁLNÍCH BUNĚK POMOCÍ:

- POVRCHOVÝCH RECEPTORŮ
- “ROZPUSTNÝCH RECEPTORŮ”

Rozpoznávání cizorodých struktur imunitním systémem

Vrozená imunita:

receptory rozeznávající molekulární
signaturu (PAMPs) – „*pattern
recognition receptors*“ (PRR)

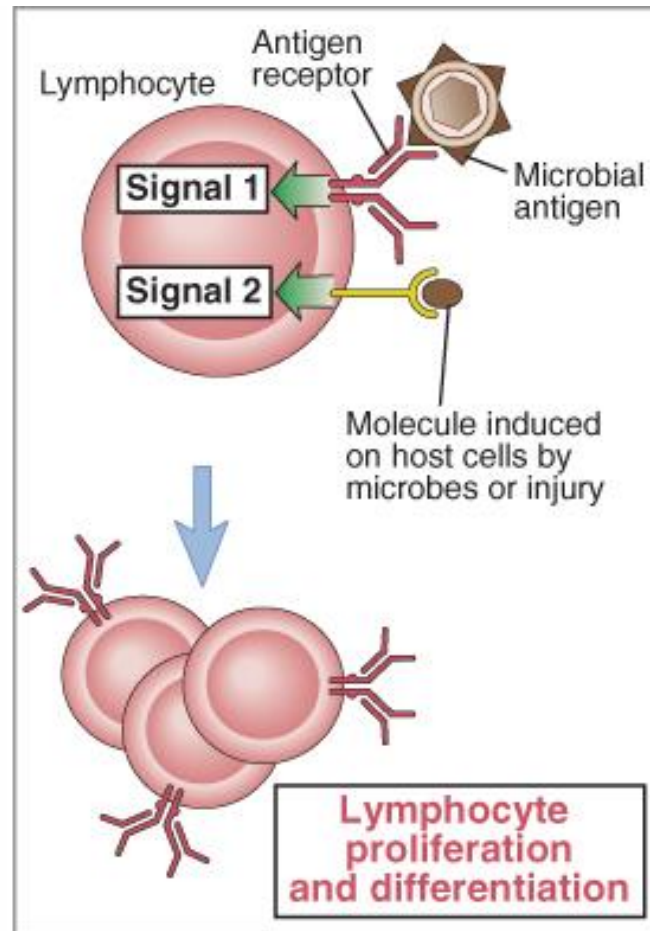
Adaptivní imunita:

molekuly MHC I. a II. třídy (HLA)
receptory lymfocytů T (TCR)
receptory lymfocytů B (BCR)

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.

Pro stimulaci lymfocytů jsou vždy nutné nejméně 2 signály



ZÁKLADNÍ SPOJENÍ MEZI
PŘIROZENÝM A ADAPTIVNÍM
SYSTÉMEM PŘEDSTAVUJÍ :

DENDRITICKÉ
BUŇKY

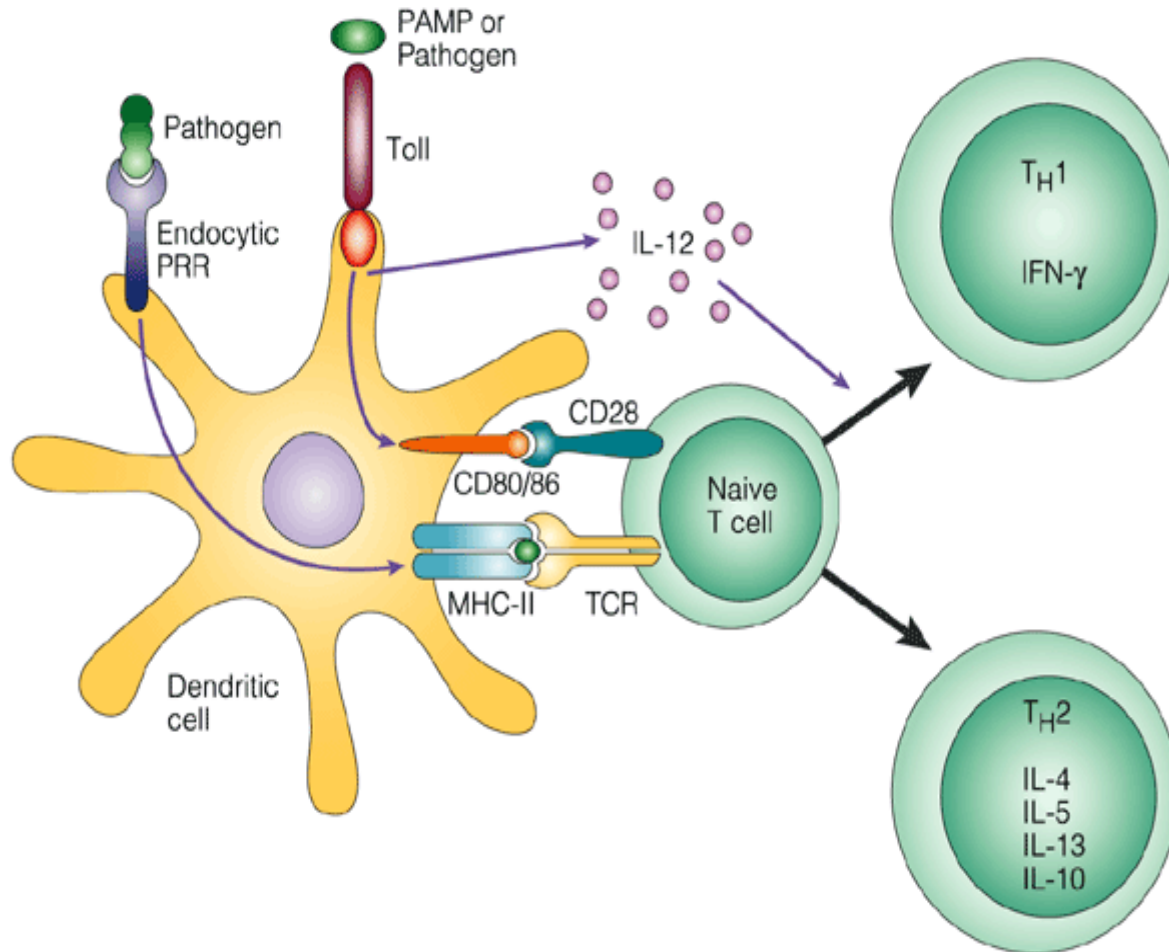
DENDRITICKÉ BUŇKY MUSÍ
BÝT PRE-STIMULOVÁNY

SIGNÁLY

NEBEZPEČÍ

ABY BYLY SCHOPNY
AKTIVOVAT T LYMFOCYTY

PAMP jsou důležité v aktivaci dendritických buněk



Aktivace buněk specifického imunitního systému

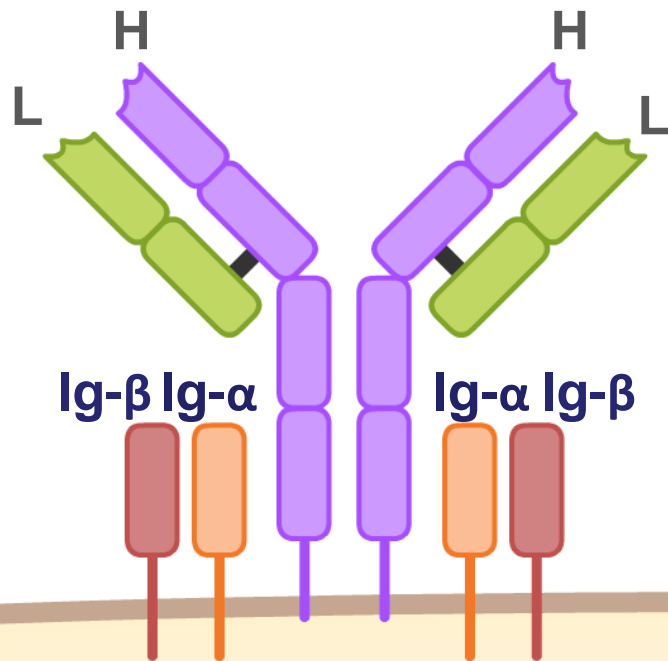
- B-lymfocyty – vazba nativního antigenu na B-buněčný receptor (BCR) + pro další vývoj jsou nutné další signály. Uplatňují se konformační i lineární epitopy.

Rozdílná je aktivace u T-dependentních a T-independentních antigenů.

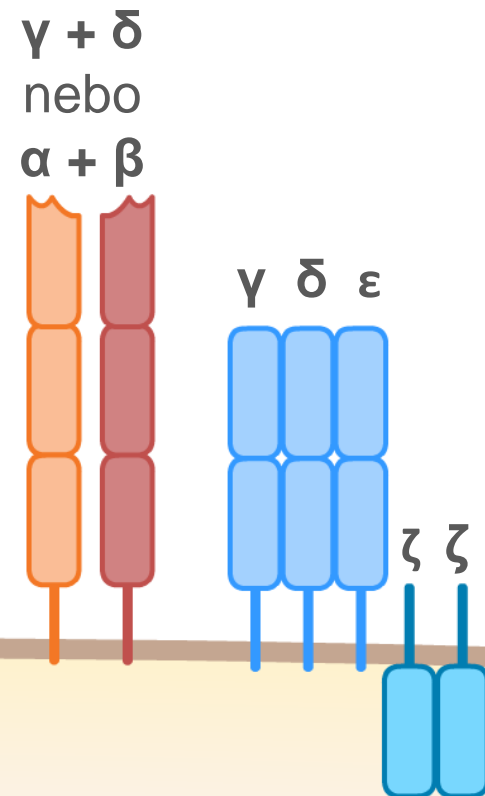
- T-lymfocyty- antigen musí být degradován a navázán na molekuly HLA. Uplatňují se lineární epitopy. Až tento komplex simuluje T-buněčný receptor (TCR) + jsou nutné další kostimulační signály.

Antigen-specific receptors T- a B- lymfocytů

B cell receptor - BCR



T-cell receptor - TCR

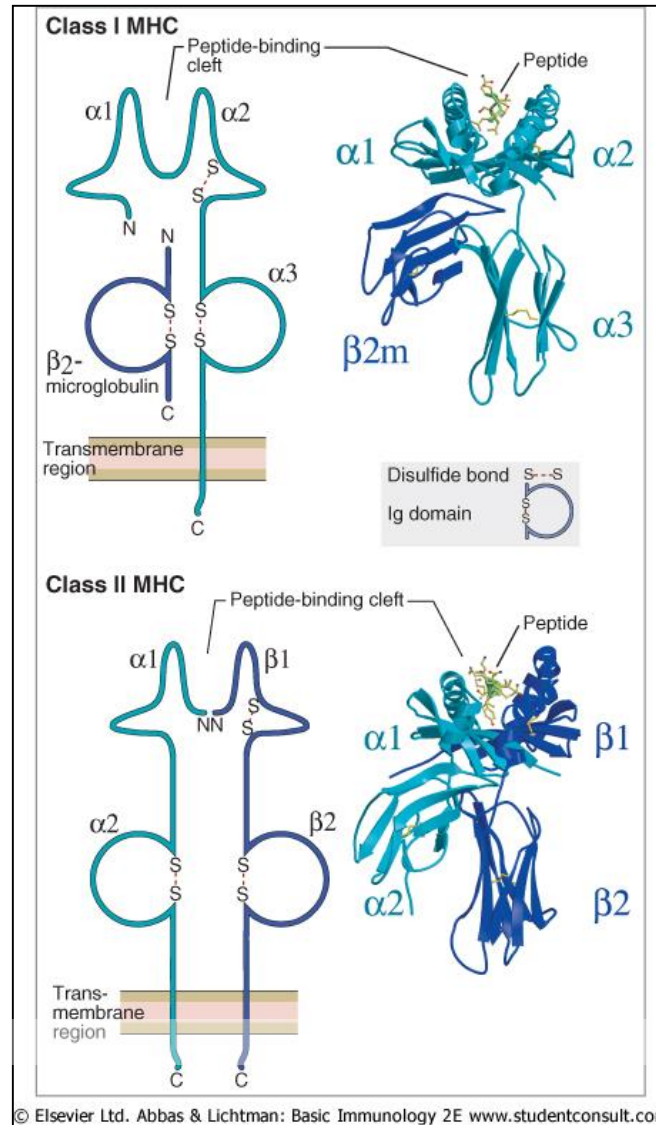


T-RECEPTORY (TCR)

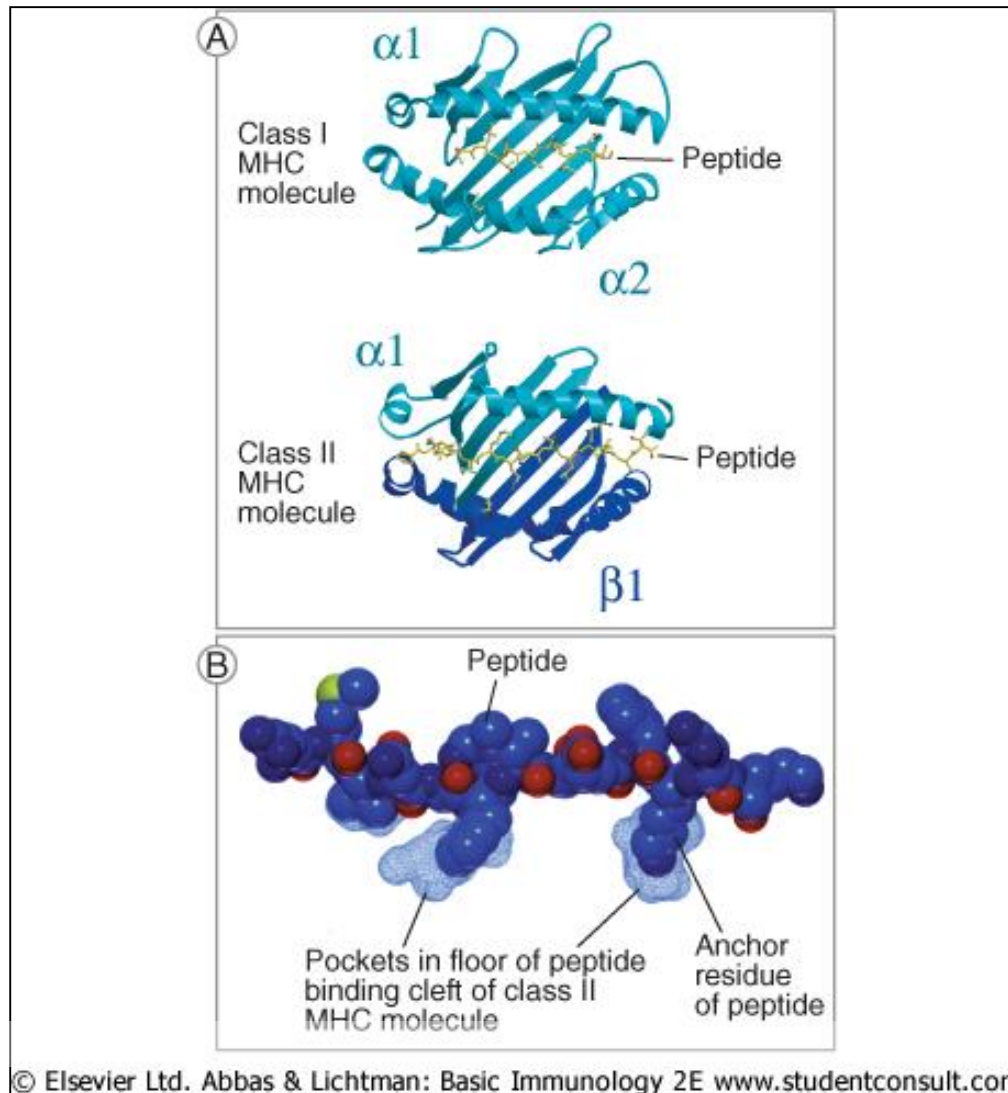
ROZEZNAVAJÍ HLAVNĚ KOMPLEXY
MHC-PROTEINŮ S PEPTIDY NA
POVRCHU JINÝCH BUNĚK

ÚČEL: DETEKCE BUNĚK
INFIKOVANÝCH “SKRYTÝMI”
INTRACELULÁRNÍMI PARAZITY (např.
VIRY)

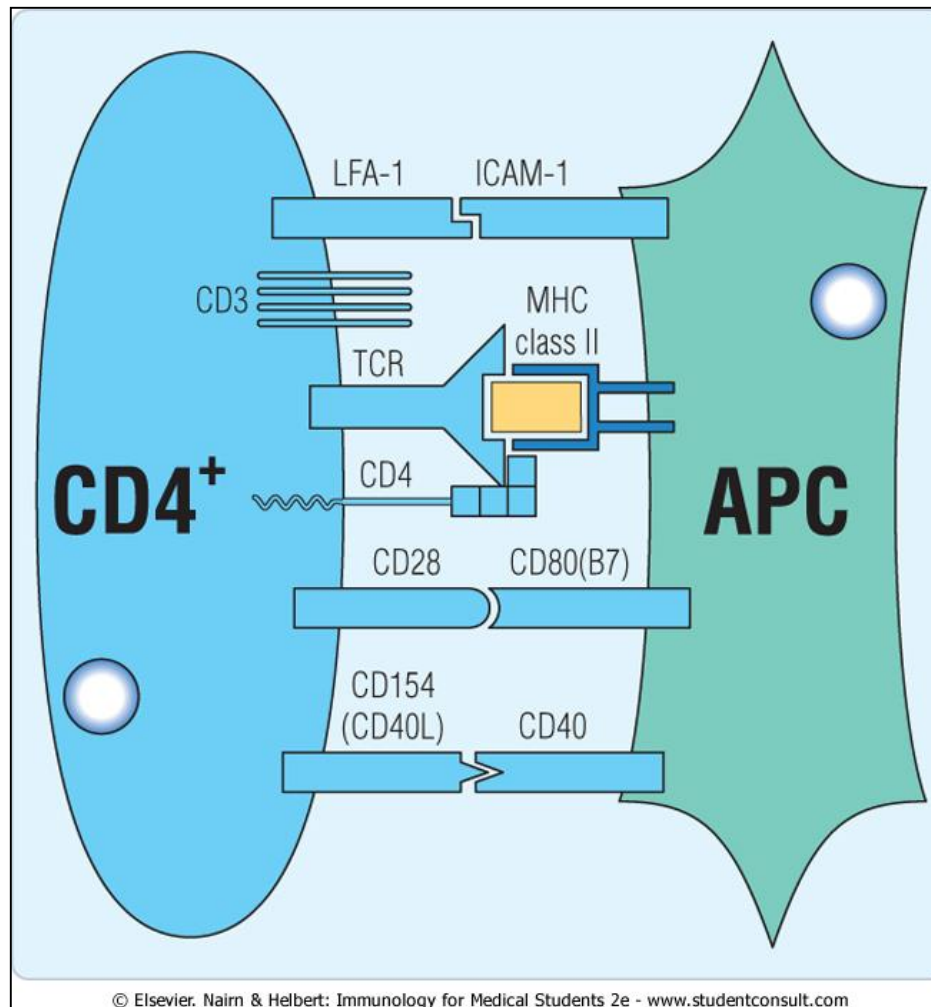
Molekuly HLA první a druhé třídy



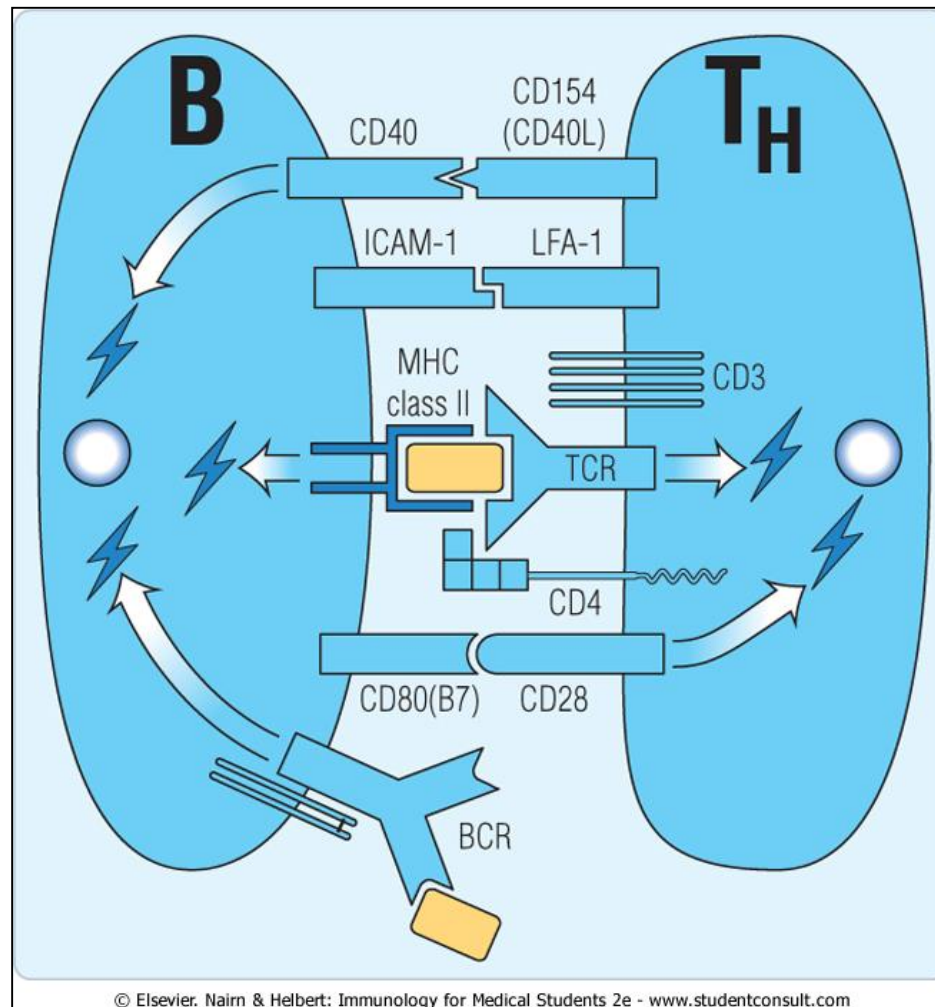
Vazba peptidů na HLA molekuly



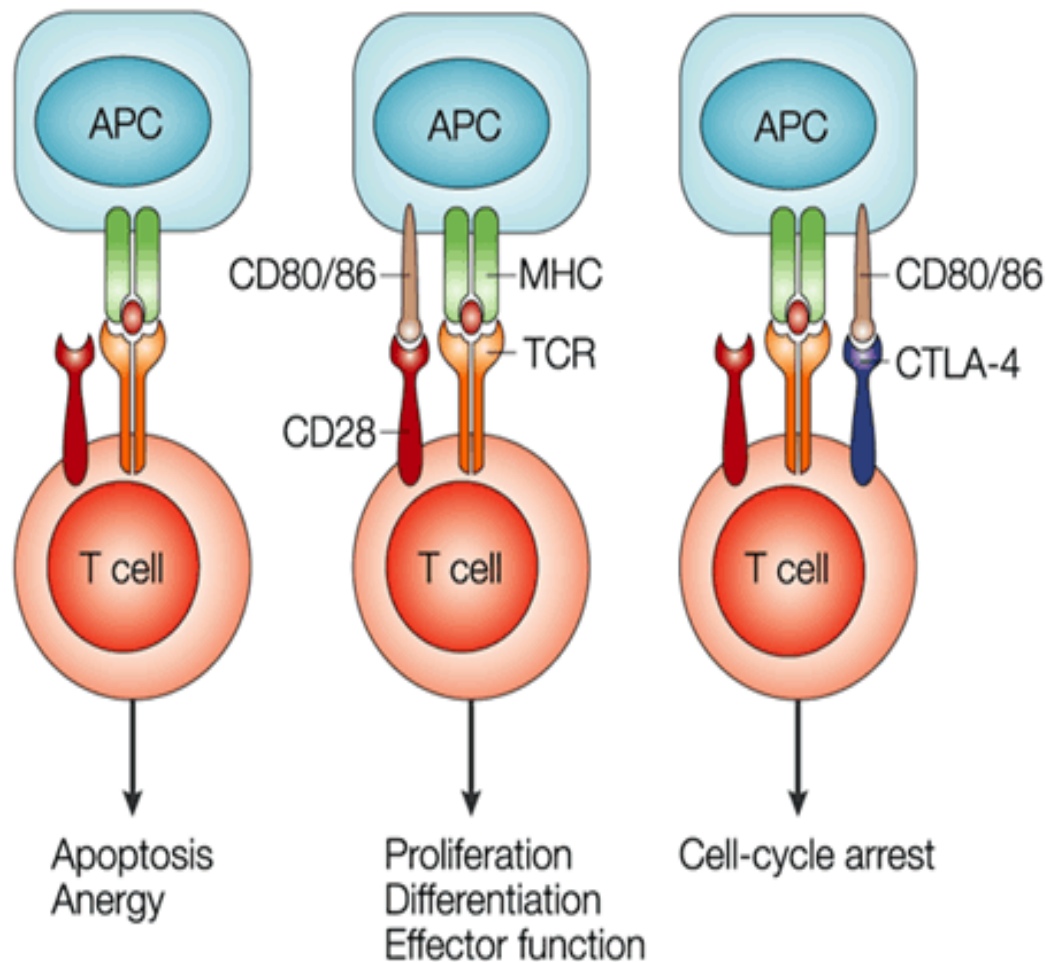
Kostimulační molekuly při aktivaci T-lymfocyту antigen prezentující buňkou



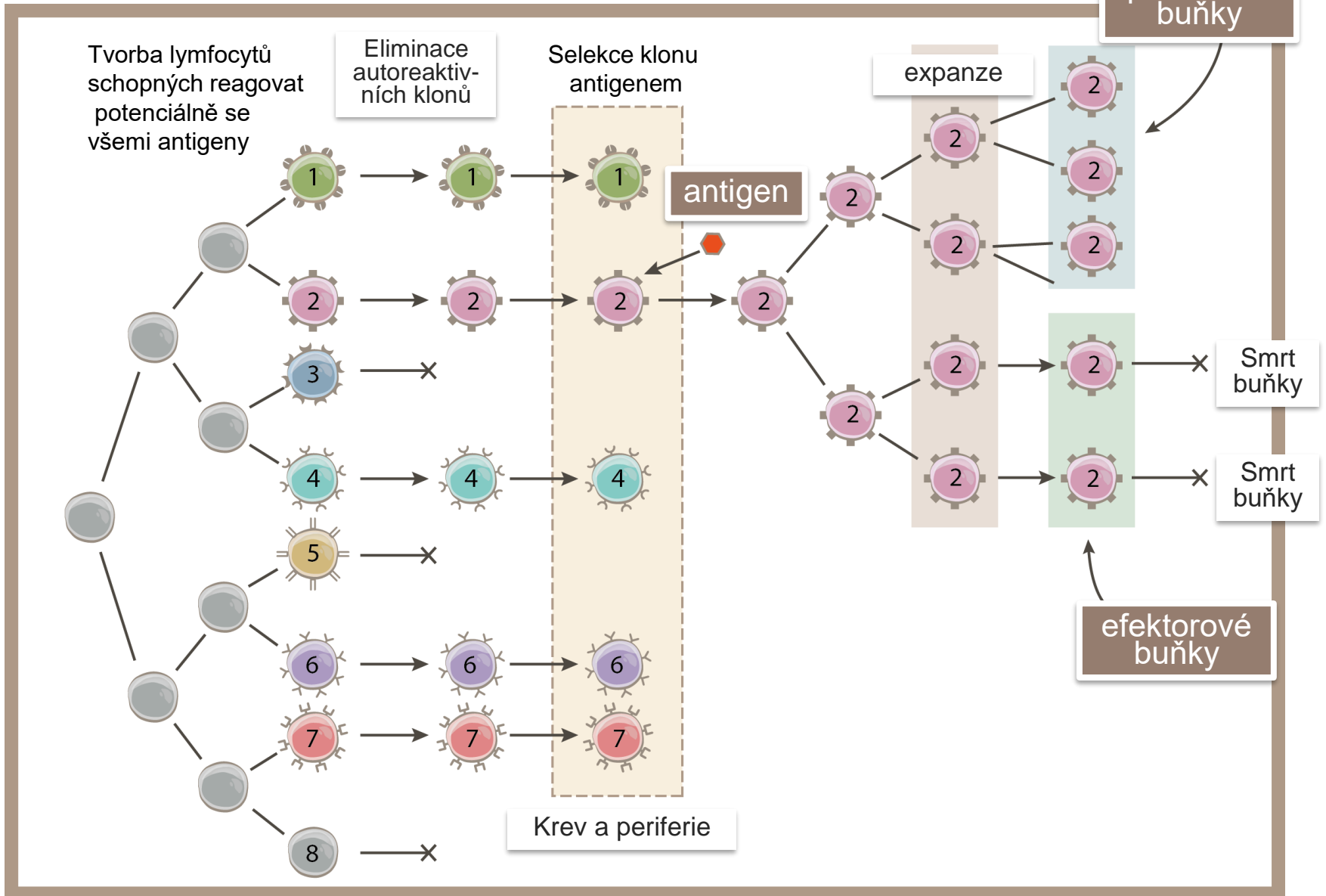
Kostimlační signály při interakci T-B- lymfocyt



Pouze některé signály vedou k stimulaci T-lymfocytů a následné aktivaci a proliferaci



Klonálně selekční teorie



Klonálně selekční teorie

F.M. Burnet, 1957

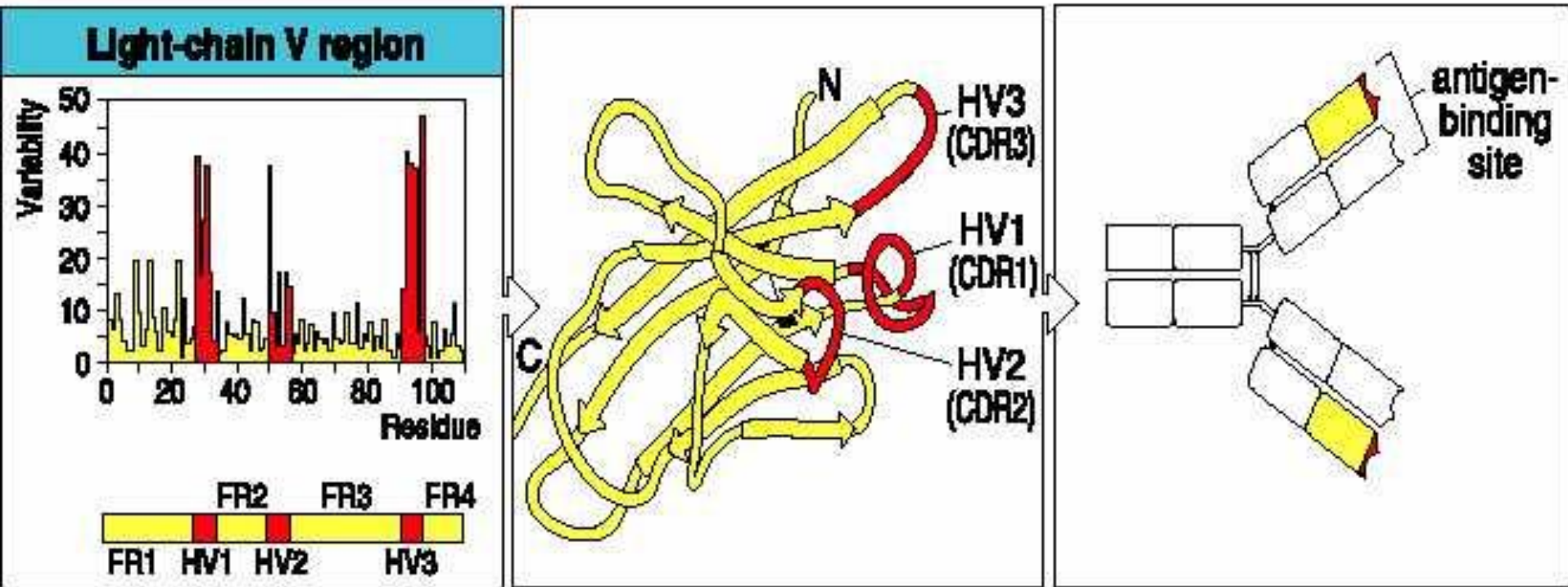
- V průběhu vývoje každého jedince dochází k vývoji buněk se specifickými vazebnými místy pro různé epitopy, přičemž každá buňka reaguje pouze s jedním epitopem.
- Během vývoje (zejména intrauterinního) dochází k eliminaci autoreaktivních lymfocytů (zakázané klony, „forbidden clones“), čímž vzniká pool 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.

Z historie imunologie

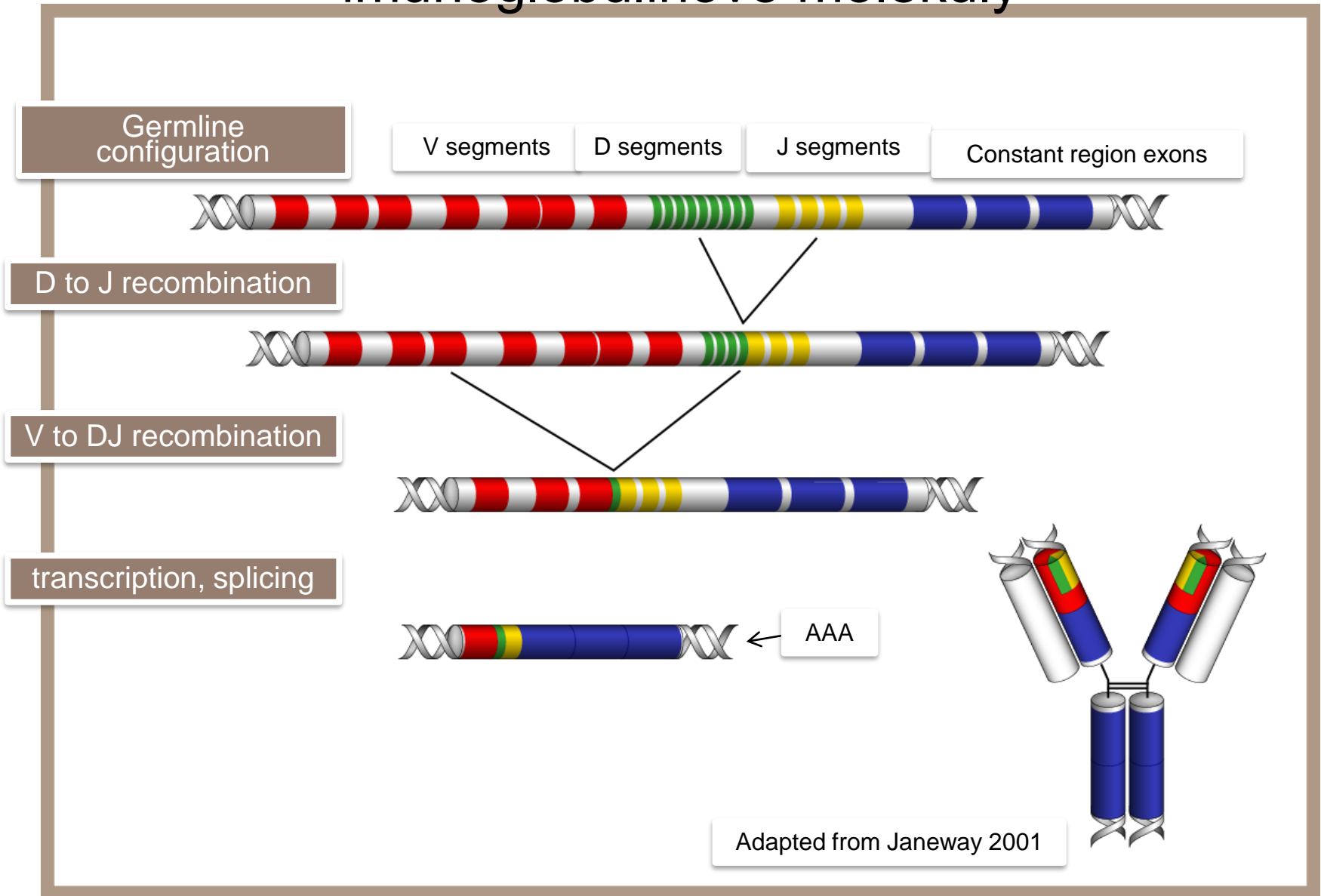
- **Klonálně selekční teorie: 1957**
- Objeven význam brzlíku v imunitním systému -1961
- Rozdělení lymfocytů na T- a B- 1965
- Objev funkce thymu a dichotomie imunitního systému -1969
- **Selekce lymfocytů při vývoji v thymu - 1975**
- Organizace genů pro imunoglobuliny 1978-1980

Variabilní oblast imunoglobulinové molekuly

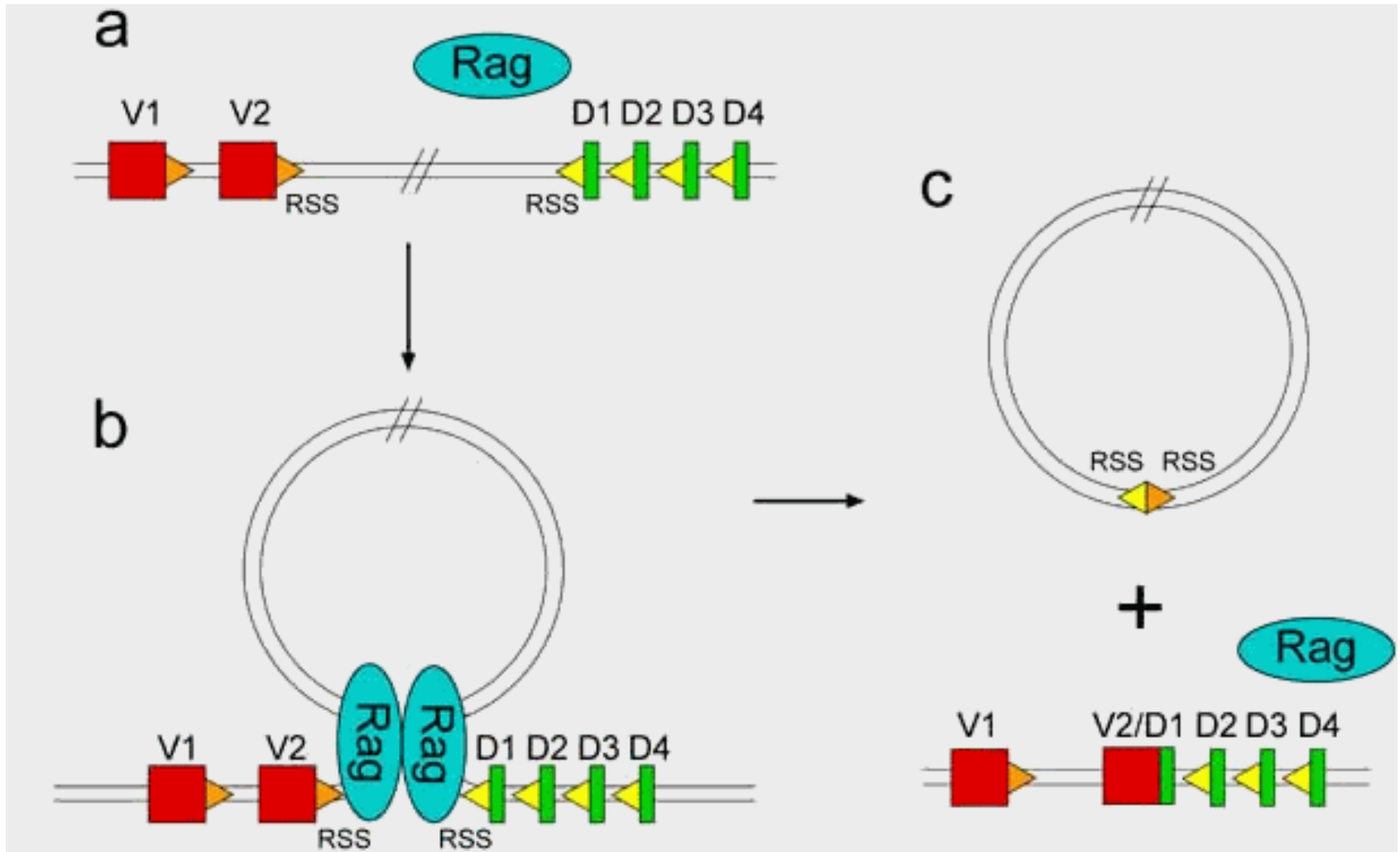
Figure 2.7



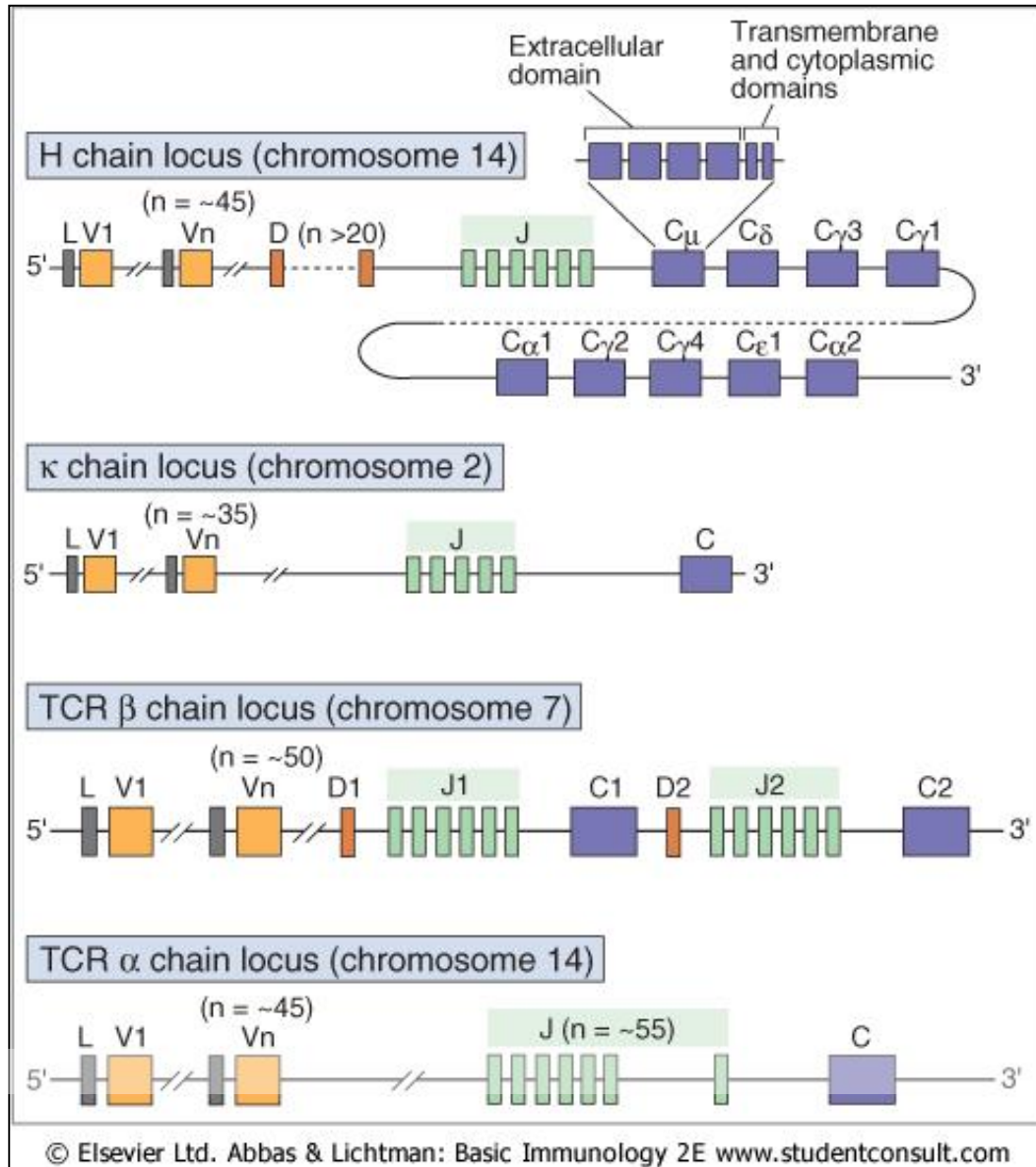
VDJ rekombinace při vzniku variabilního místa imunoglobulinové molekuly



Mechanismus VDJ rekombinace



Vznik variabilních oblastí T- a B- buněčných receptorů



Variabilní část imunoglobulinové molekuly

teoretický počet variant

Segment (počet genů)	IgH	IgK	Igλ
V	~ 100	~ 70	~ 30
D	~ 50	—	—
J	9	5	9

Variabilita pro těžký řetězec: $100 \times 50 \times 9 = 45\,000$ variant,

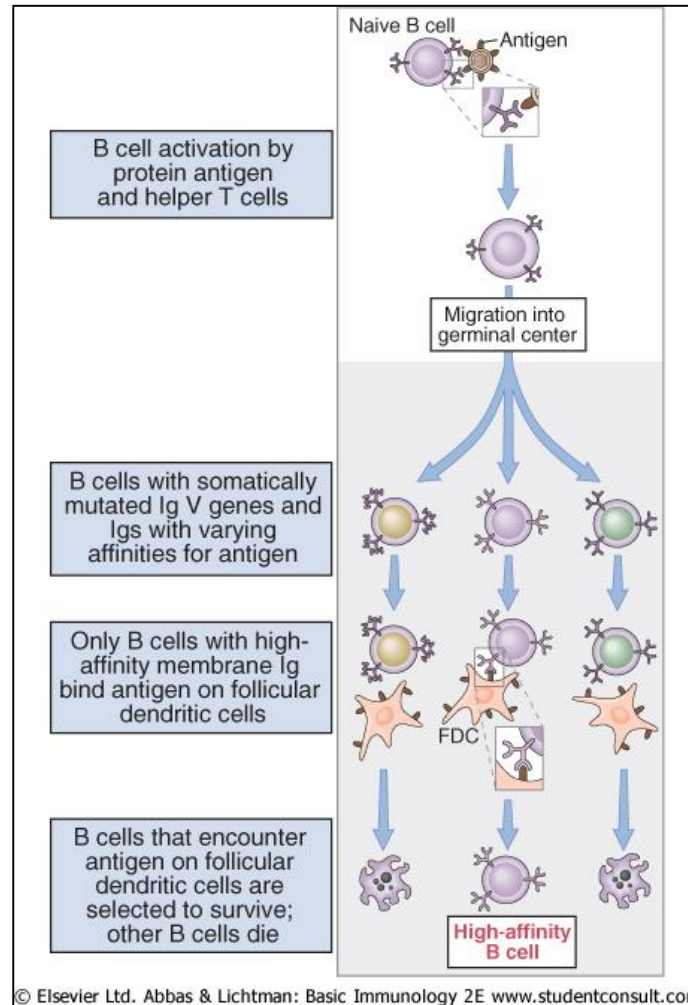
Lehký řetězec (IgK a Igλ): $70 \times 5 + 30 \times 9 = 620$ variant;

Protože tyto lze mezi sebou libovolně kombinovat, výsledný teoretický možných kvartérních struktur variabilní části molekuly imunoglobulinu je $45\,000 \times 620 = 27\,900\,000$.

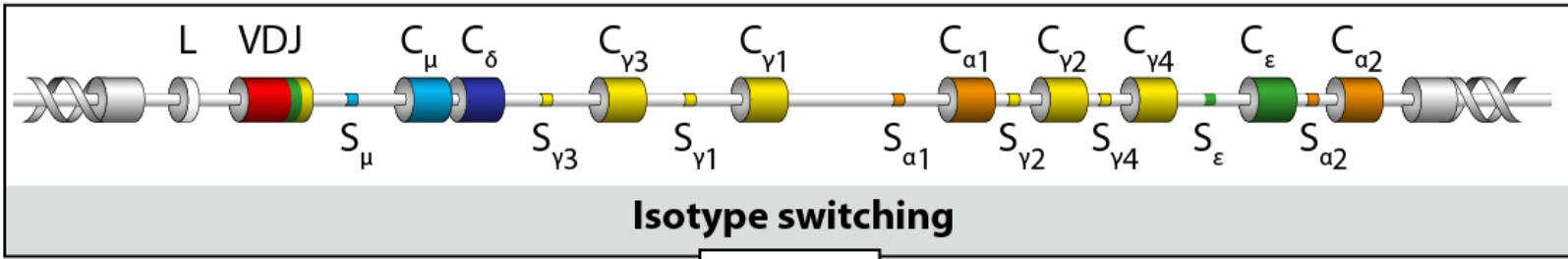
Somatické hypermutace

- Probíhají u aktivovaných B-lymfocytech v germinálních centrech sekundárních lymfatických orgánů (tj po proběhlé antigenní stimulaci).
- Proces je indukován enzymem AID (activation-induced deaminase).
- Frekvence mutací je až 10^6 x větší než v jiných oblastech genomu.
- Prezentace antigenů na folikulárních dendritických buňkách B-lymfocytům vede k následné selekci klonů s nejvyšší afinitou k antigenu – celkově proces označujeme jako afinitní maturace.

Selekce B-lymocyťů s nejvyšší afinitou k antigenu v germinálních centrech

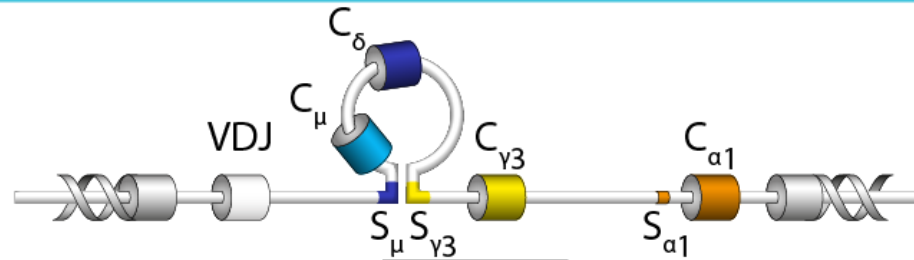


Izotypový přesmyk

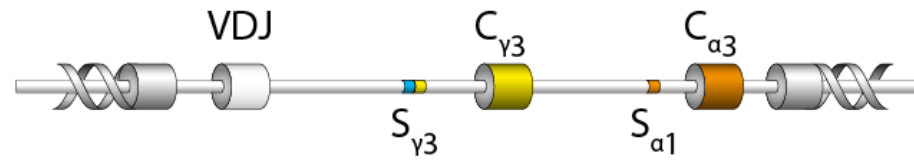


Isotype switching

Looping out

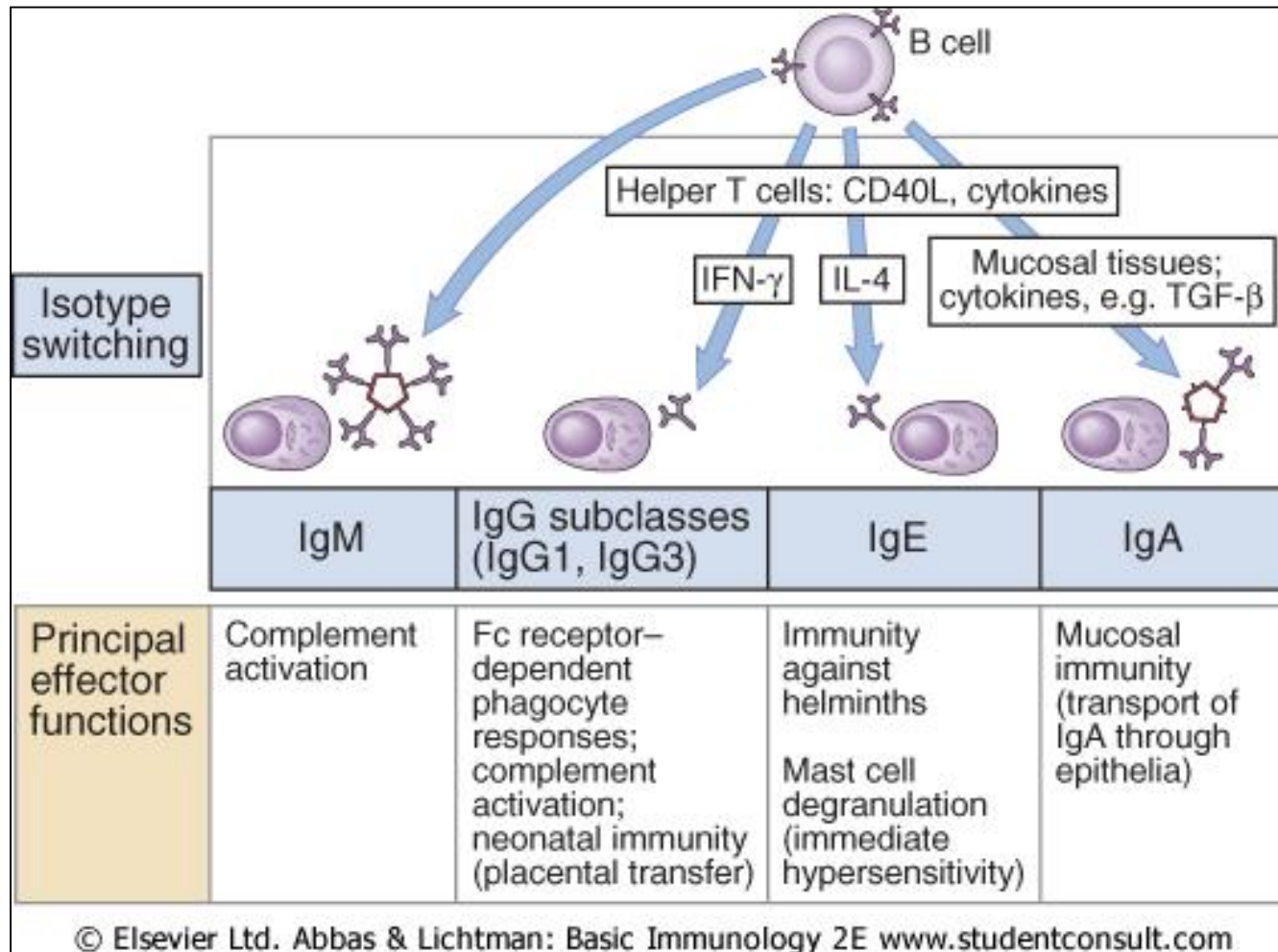


Switch region recombination



IgG3 produced

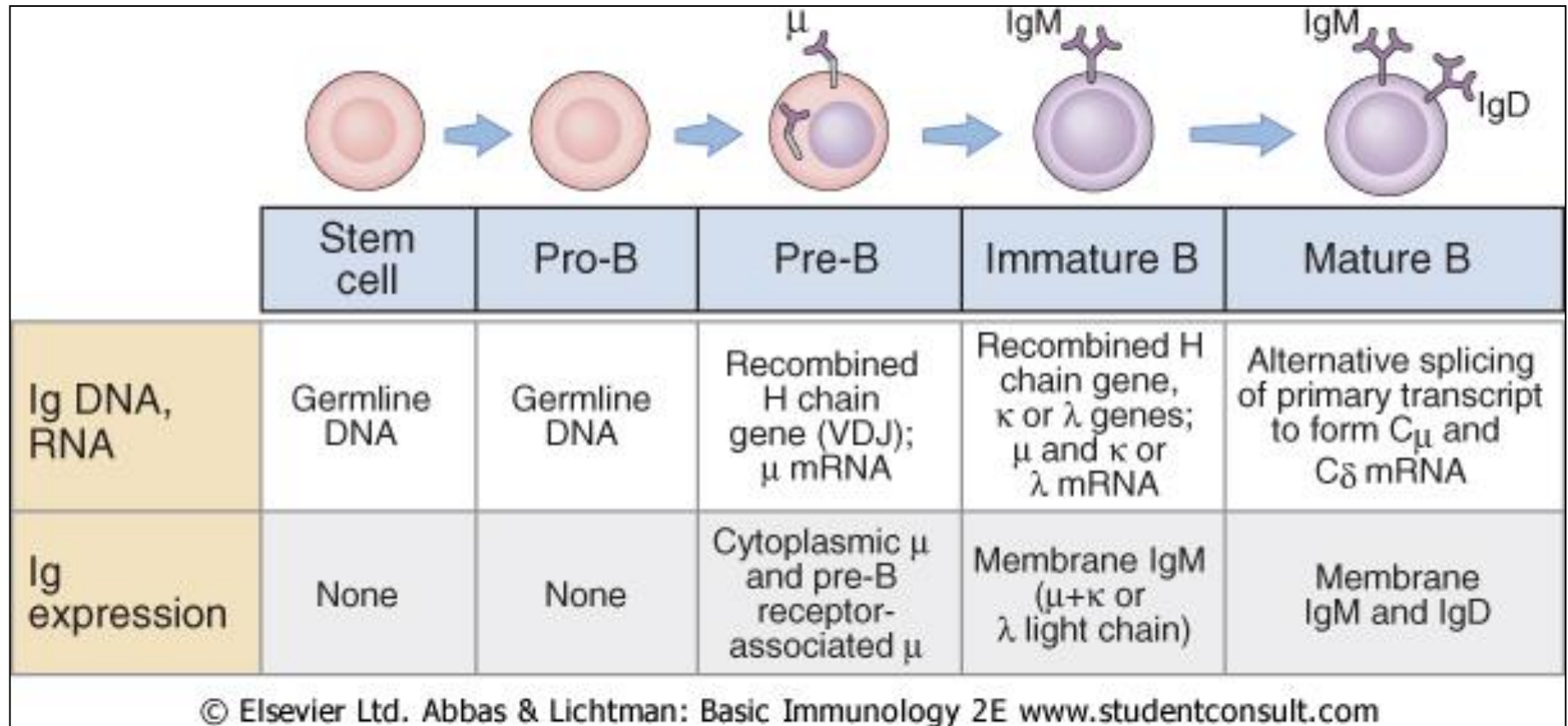
Izotypový přesmyk závisí na cytokinovém prostředí a stimulaci Th lymfocyty



Vývoj B-lymfocytů v kostní dřeni

- **Kmenová buňka:** bez povrchových znaků B-linie, bez přeskupování imunoglobulinových řetězců
- **Pro-B lymfocyt** – dochází k procesu vyštěpování v oblasti těžkých řetězců, exprese některých povrchových znaků B-lymfocytů (např. CD19), imunoglobulinové řetězce nejsou prokazatelné ani cytoplasmaticky.
- **Pre-B-lymfocyty** – došlo k ukončení VDJ rekombinace těžkých řetězců, μ řetězec je prokazatelný intracytoplasmaticky. Na povrchu se objevuje pre-B receptor – složený z μ řetězce a náhraních (surrogát) řetězců V-preB a $\lambda 5$. Přenos signálu tímto receptorem je podmínkou dalšího vývoje B-lymfocytů.
- **Nezralý B-lymfocyt** – došlo k přeskupení lehkých řetězců (V-J), na povrchu je B-cell receptor – monomerní IgM
- **Zralý B-lymfocyt** – má na povrchu receptory IgM a IgD

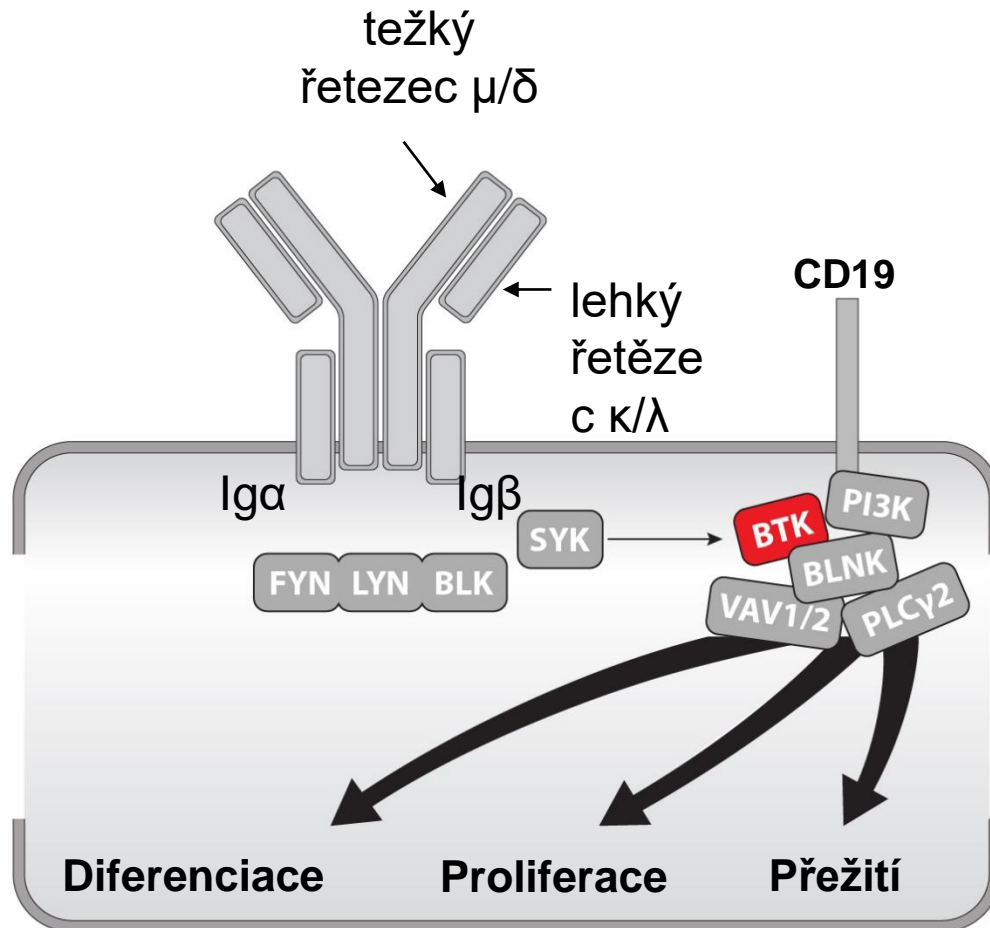
Vývoj B-lymfocytů v kostní dřeni



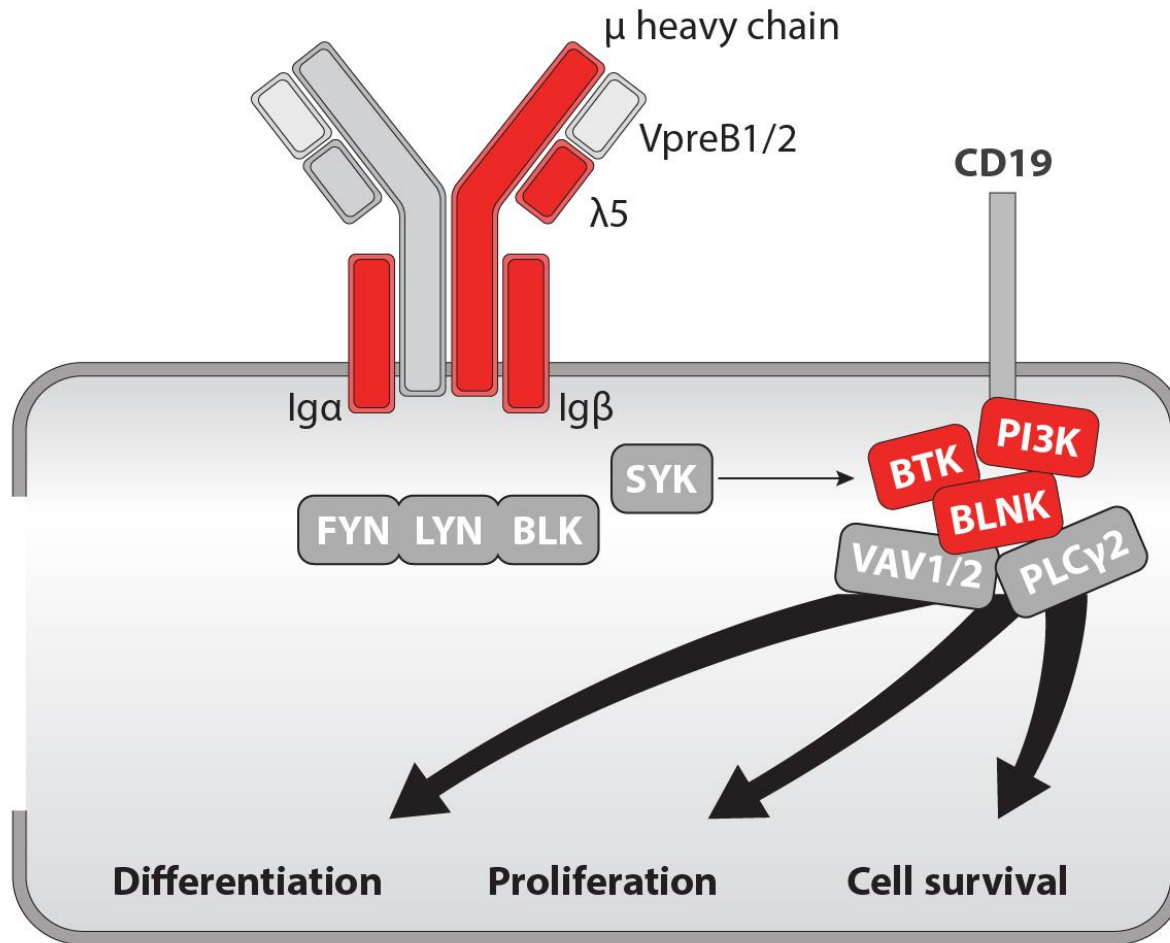
B-buněčný receptor

- Skládá se z monomerní molekuly IgM nebo IgD (po izotypovém přesmyku i z dalších isotypů).
- Invariantní řetězce $Ig\alpha$, $Ig\beta$.
- Tyrozinkinázy přenášejí signál dovnitř buňky.

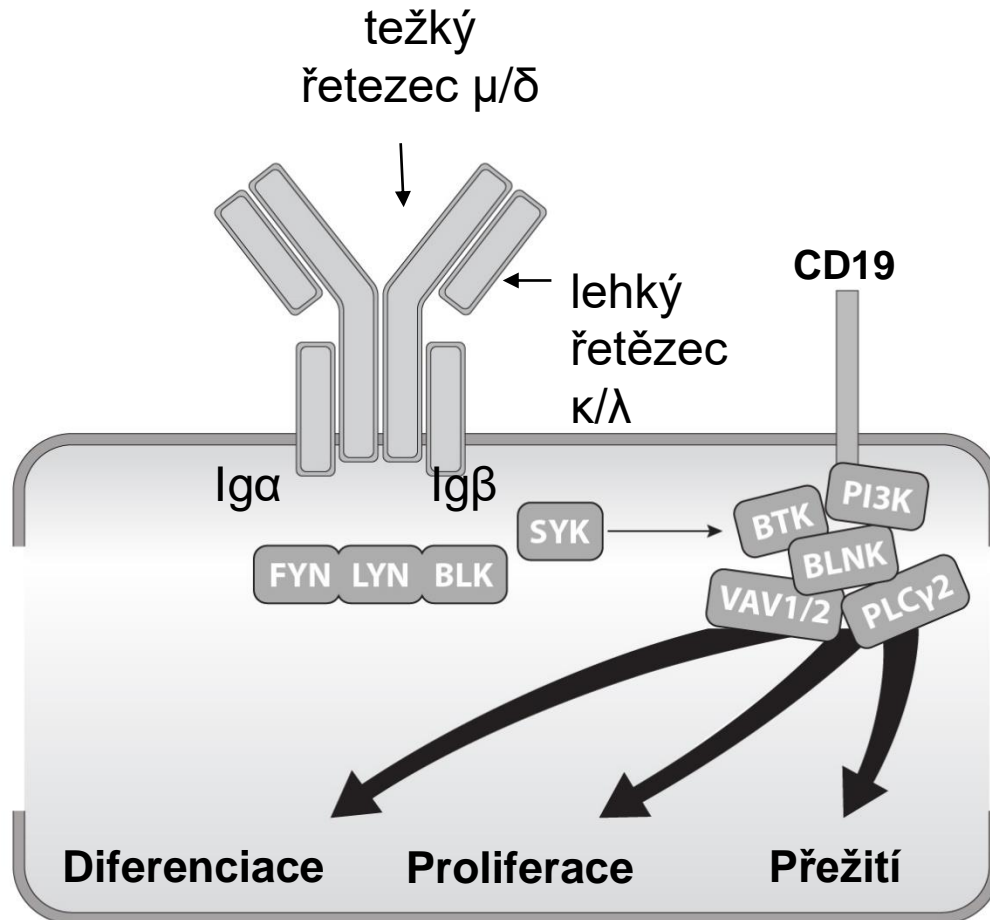
B-cell receptor



Pre B-cell receptor



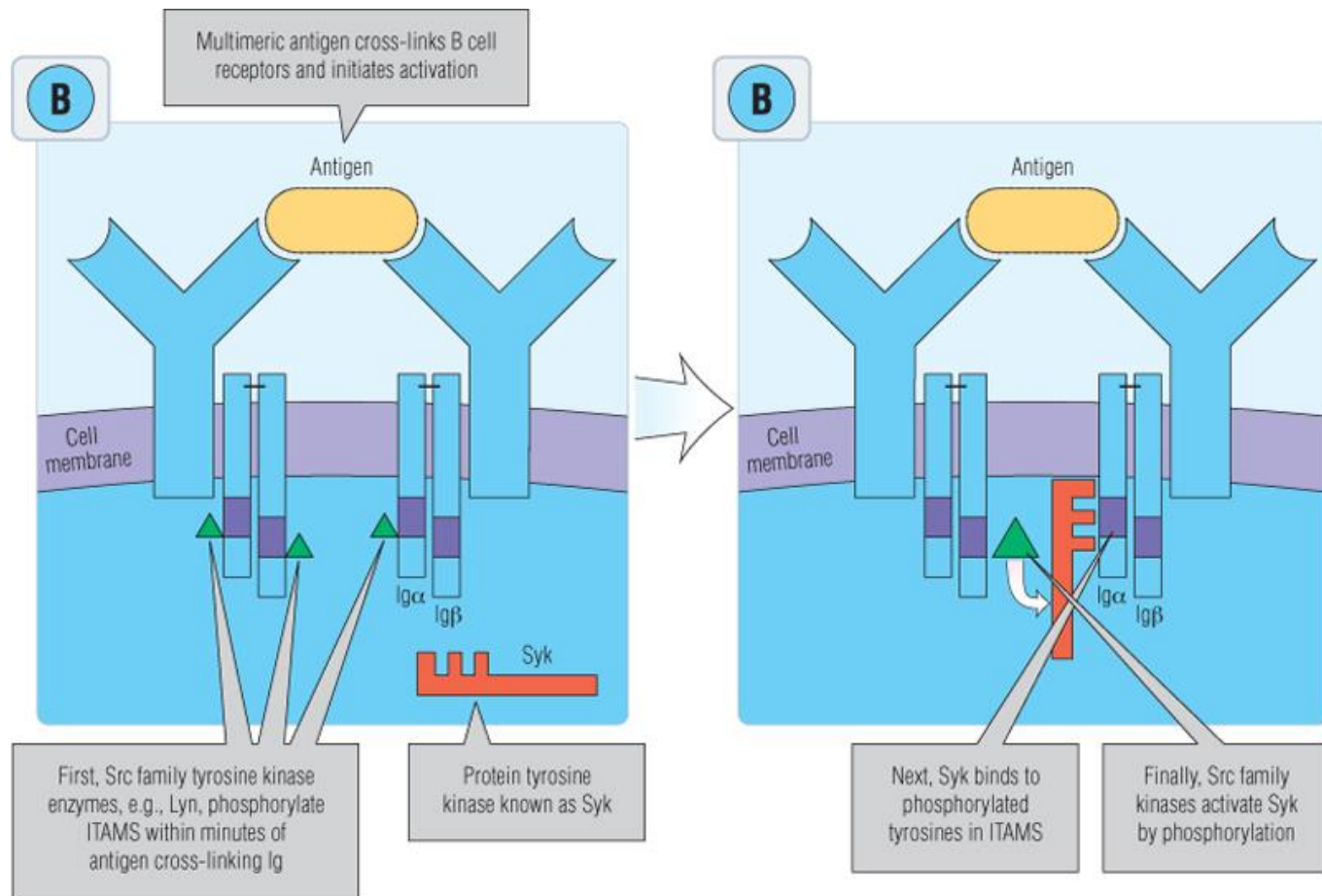
B-cell receptor



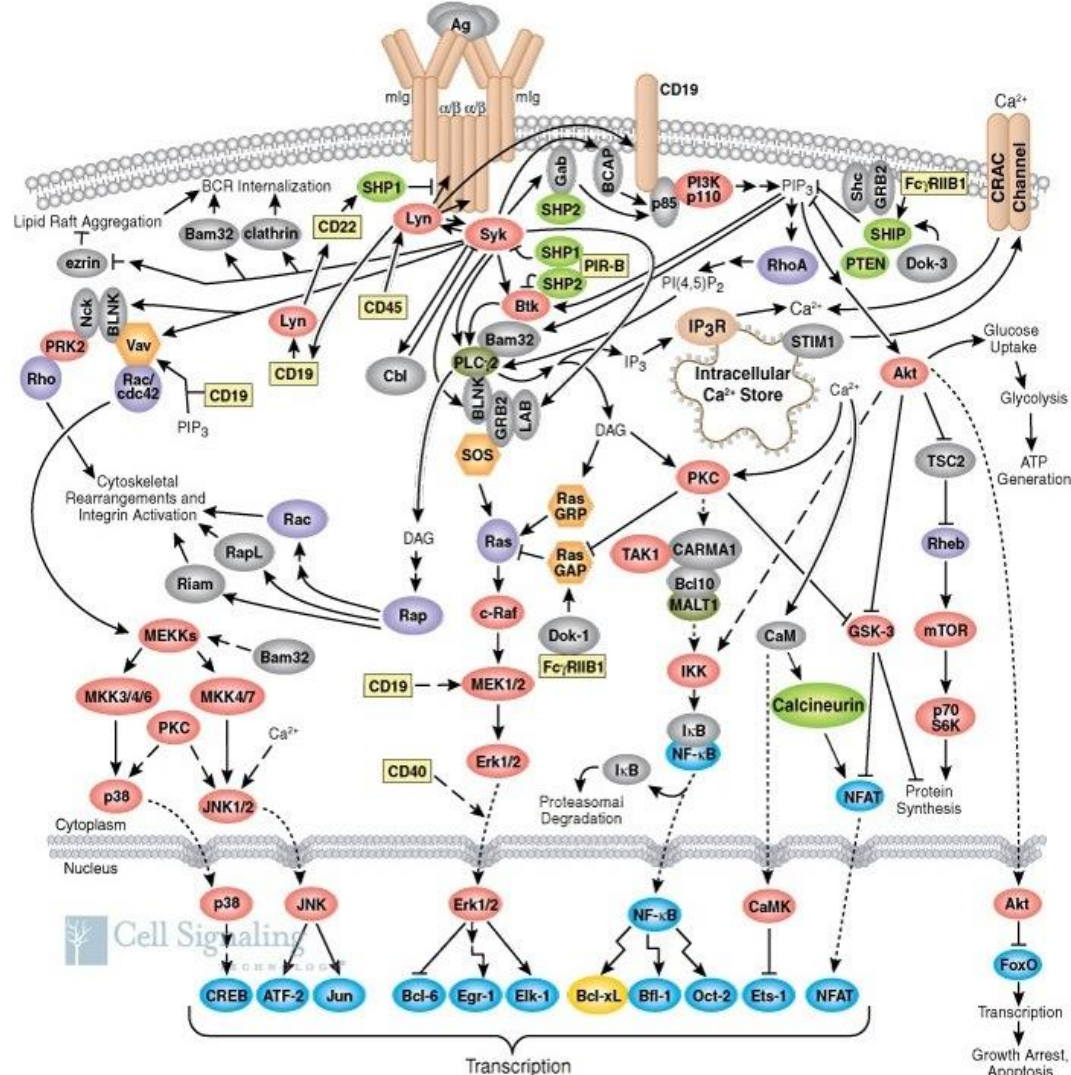
Brutonova tyrozinkináza (BTK)

- BTK váže fosfatidyloinositoltrifosfát (PIP₃).
- Navázání PIP₃ indukuje fosforylaci fosfolipázy C, ta hydrolyzuje fosfatidyloinositol (PIP₂) na inositoltrifosfát (IP₃) a diacylglycerol(DAG).
- Jedná se o klíčový proces v aktivaci, diferenciaci a vývoji B-lymfocytů
- Mutace: X-vázaná (Brutonova) agamaglobulinémie
- Blokátory BTK (např. ibrutinib) se používají k léčbě B-lymfocytárních malignit.

K aktivaci B-lymfocytů dochází po vzájemné fosforylaci kináz asociovaných s BCR



Přenos aktivačního signálu v B-lymfocytech



Primární fáze protilátkové reakce

- Nativní nebo opsonizovaný antigen zachycen folikulárními dendritickými buňkami.
- Stimulace B-lymfocytů v lymfoidních foliklech.
- Současně prezentace antigenů T-lymfocytům v T-zóně – ty postupně migrují na okraj lymfoidních foliklů.
- Vzniklé plazmatické buňky produkují IgM (především v kostní dřeni).

Sekundární fáze protilátkové reakce

- Probíhá v germinálních centrech sekundárních lymfoidních folikulů.
- Tfh lymfocyty stimulují B-lymfocyty k somatickým hypermutacím a isotypovému přesmyku.
- Dochází k afinitní maturaci B-lymfocytů.
- Značná část B-lymfocytů s nízkou afinitou BCR hyne.

Dva typy B-lymfocytární odpovědi na antigen

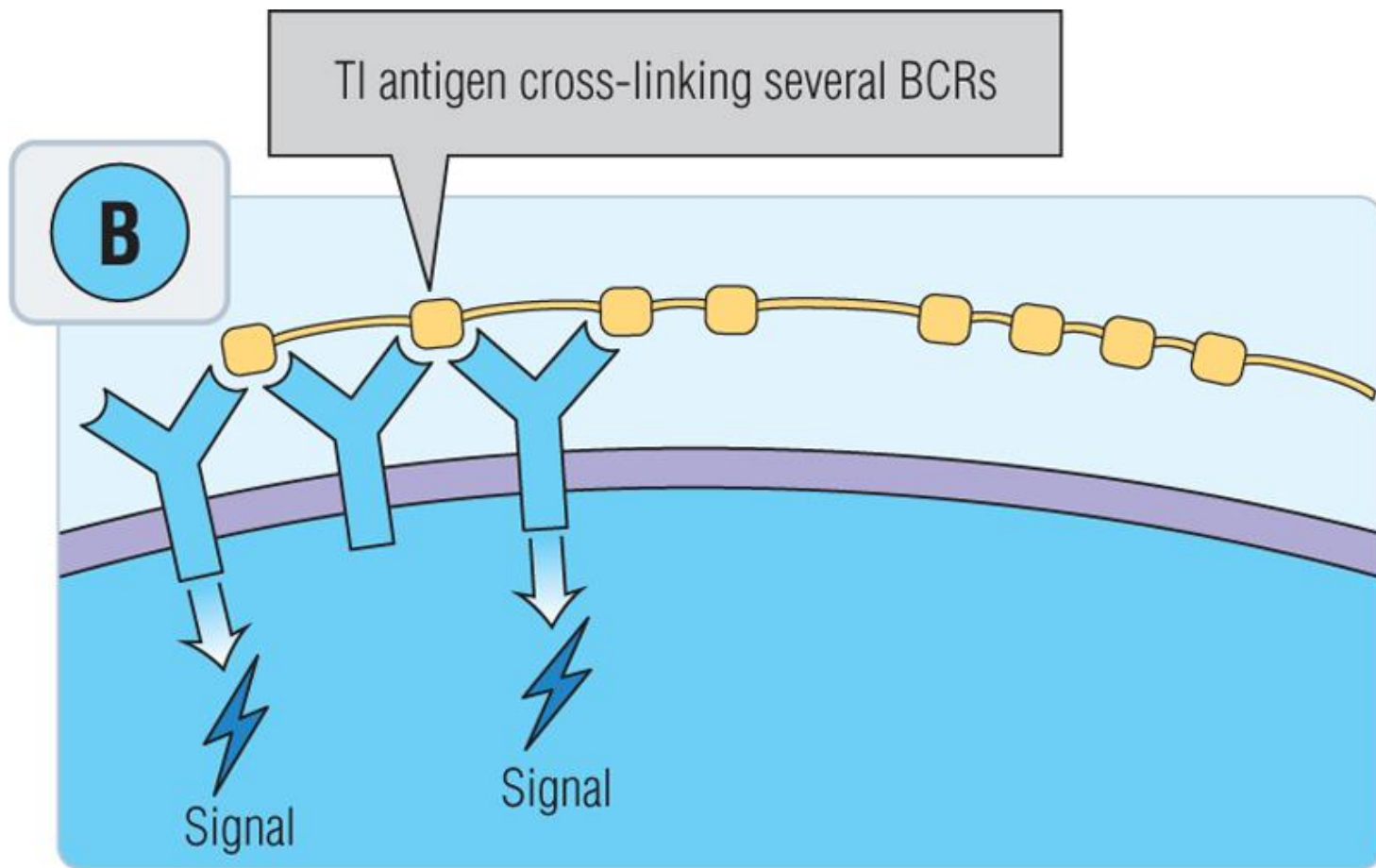
- **T-independentní odpověď**

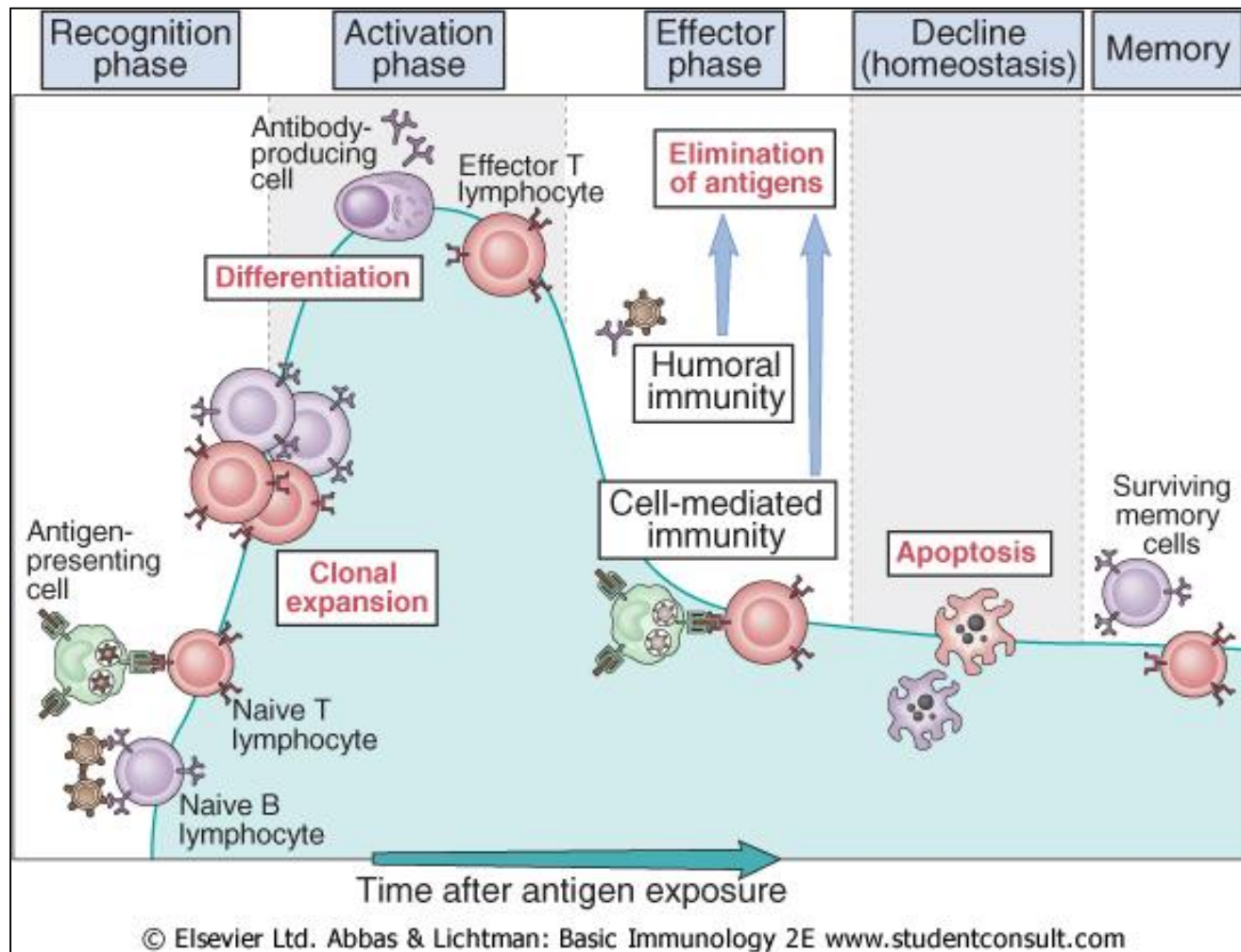
- Odpověď na antigeny s řadou stejných epitopů – typicky polysacharidové antigeny.
- Nahromadění B-buněčných receptorů (BCR) do jednoho místa vede k vzájemné aktivaci tyrozinkináz a následné aktivaci buňky.
- Tento proces nevyžaduje pomoc T-lymfocytů.
- Vytváří se pouze protilátky třídy IgM (nedochází k izotypovému přesmyku), nedojde k afinitní maturaci, nevytváří se imunitní paměť.
- Tj. proběhne pouze primární fáze protilátkové odpovědi.

- **T dependentní odpověď**

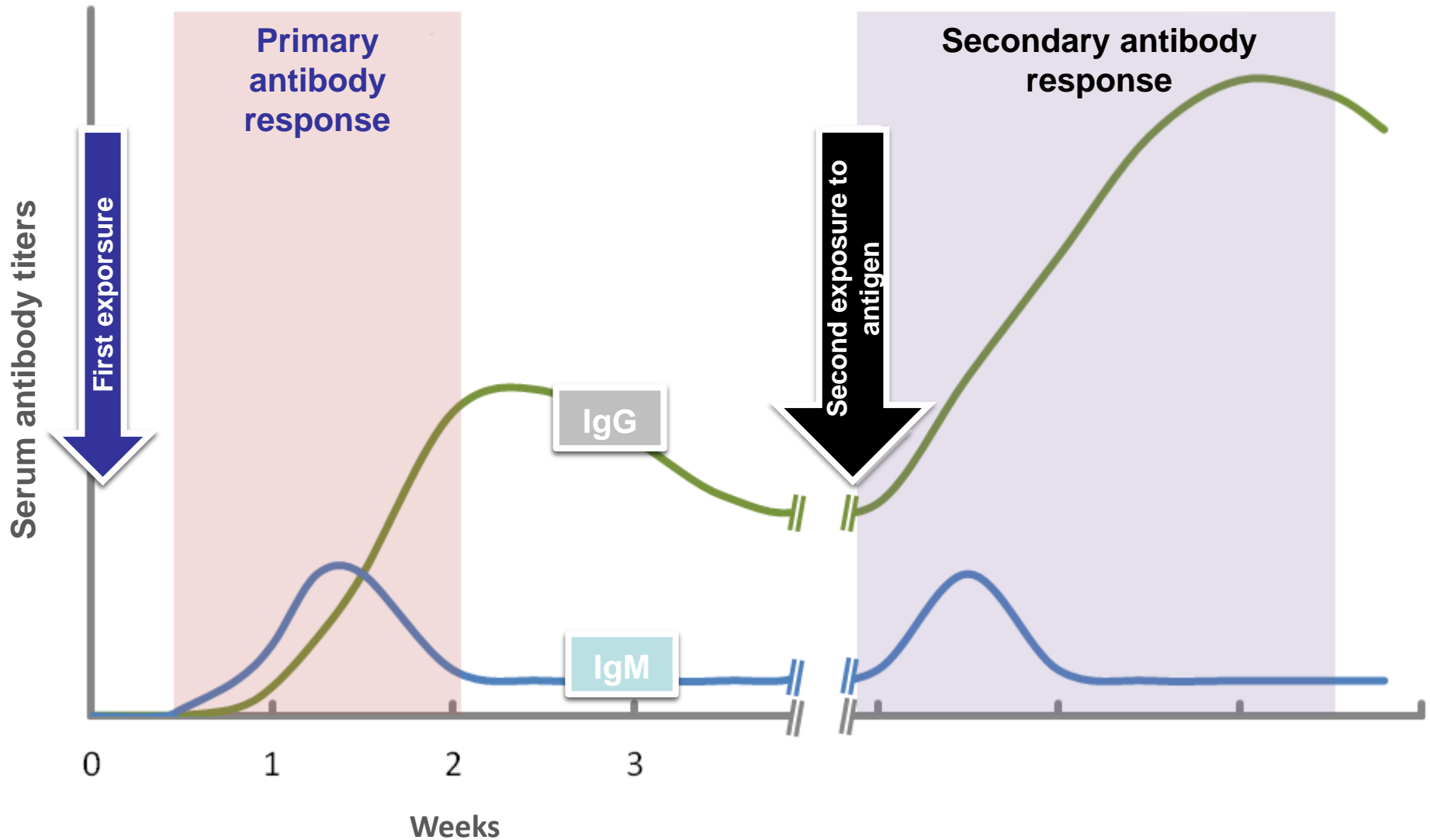
- Vyžaduje souhru B-lymfocytů, antigen prezentujících buněk (mohou jimi být i B-lymfocyty) a T-lymfocytů.
- Dochází k isotypovému přesmyku, afinitní maturaci, vzniku paměťových buněk.
- Tj. proběhne primární i sekundární fáze protilátkové odpovědi.

Aktivace B-lymfocytů při T-independentní odpovědi

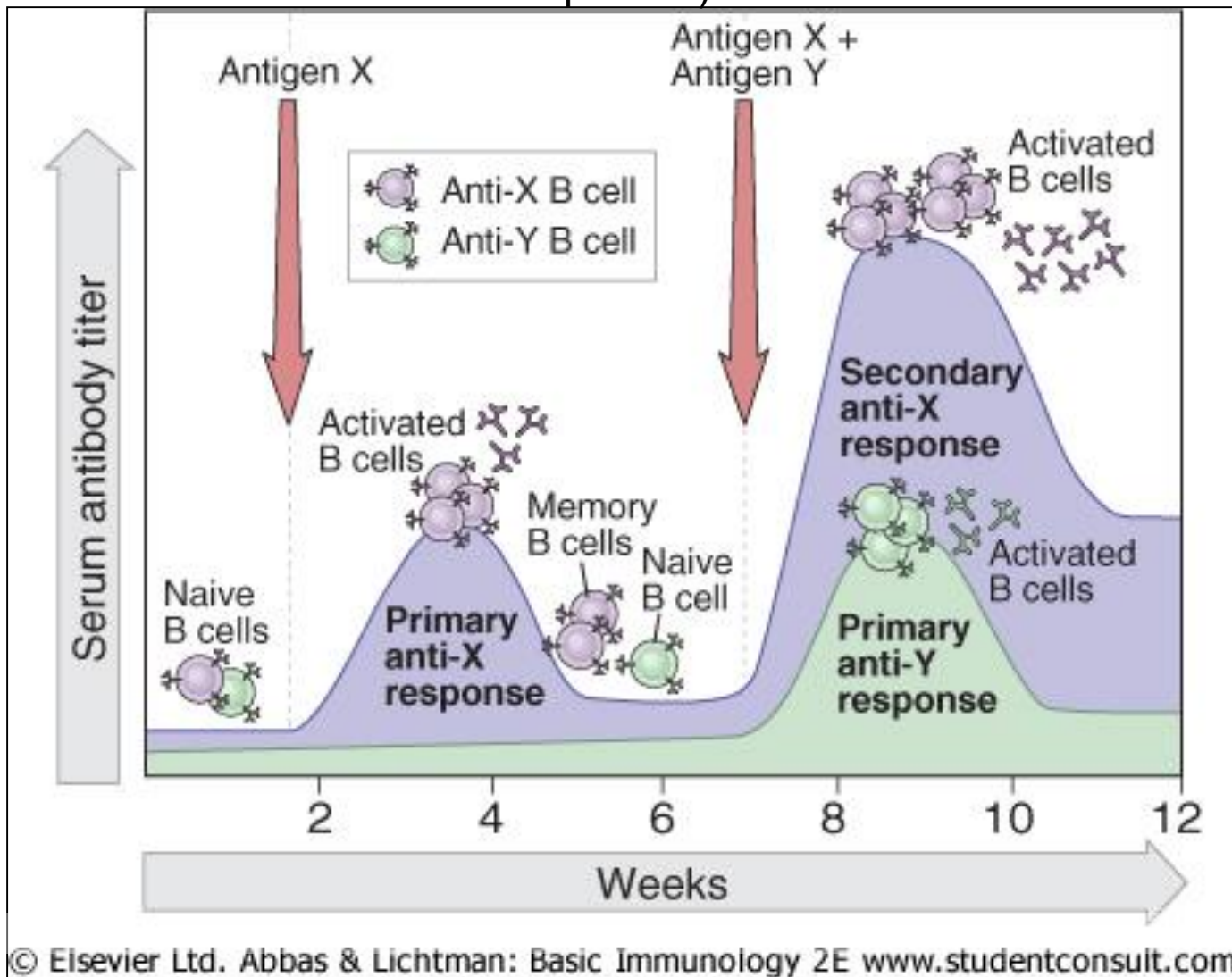




Imunitní odpověď po prvním a opakovaném setkání se s antigenem ("primární a sekundární protilátková odpověď")



Imunitní odpověď po prvním a opakovaném setkání se s antigenem (“primární a sekundární imunitní odpověď”)



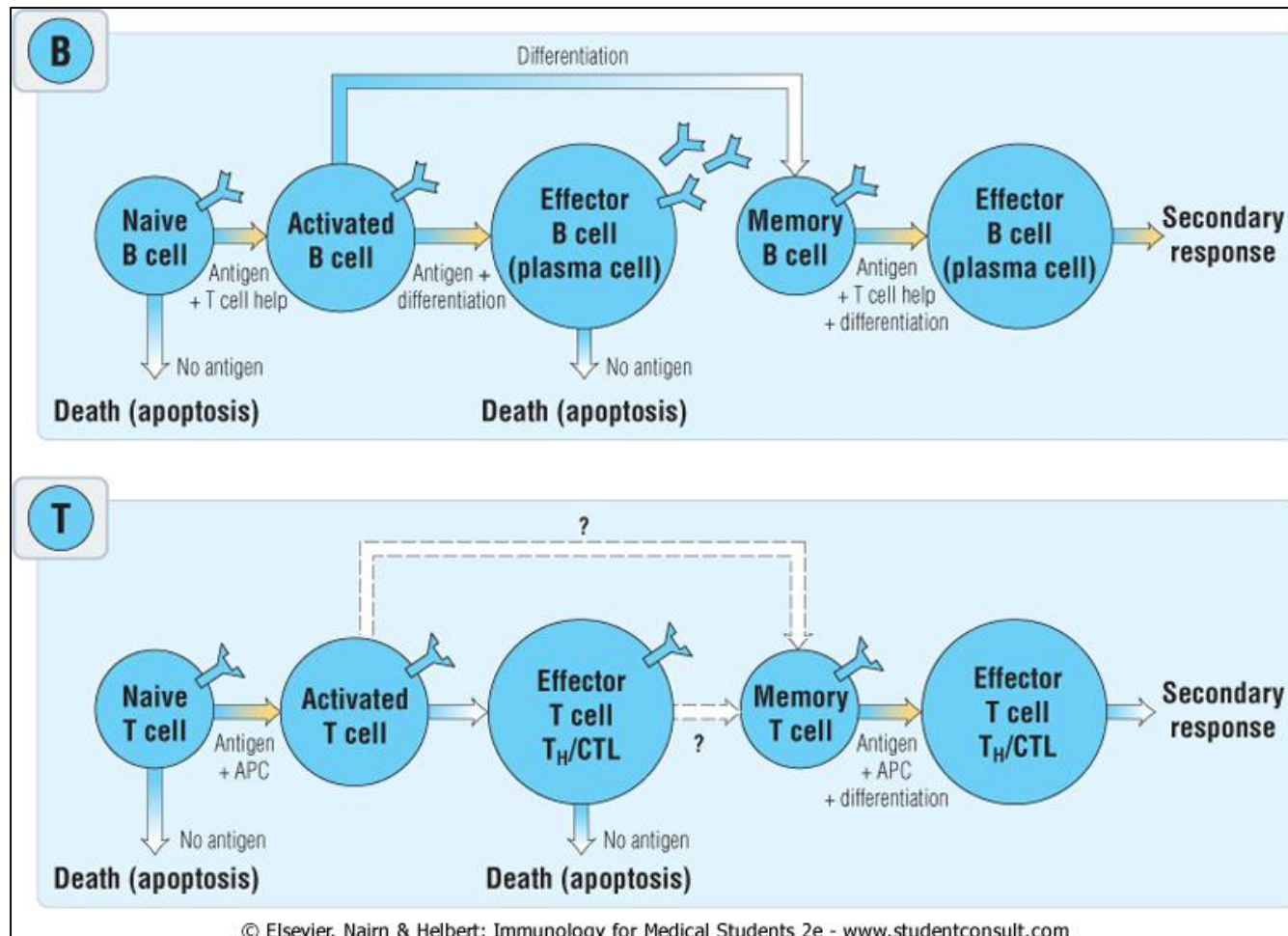
Imunologická paměť

- 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.

Terminálně diferencované buňky adaptivní imunity

- B-lymfocyty → plazmatické buňky
- T-lymfocyty → efektorové formy pomocných a cytotoxických T-lymfocytů

Vznik efektorových a paměťových buněk v T- a B- lymfocytární linii



Biologické funkce imunoglobulinových molekul

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

Osud antigenu v organismu a iniciace imunitní odpovědi

Způsob rozvinutí imunitní reakce závisí řadě faktorů

- Typ antigenu – chemické složení, rozdílná indukce imunitní odpovědi u T-dependentních a T-independentních antigenů.
- Místě vstupu antigenu – vstup cestou MALT, kůží, vznik antigenu přímo v těle (např. virové partikule).
- Faktu, jedná-li se o reakci primární či sekundární.