

СРС

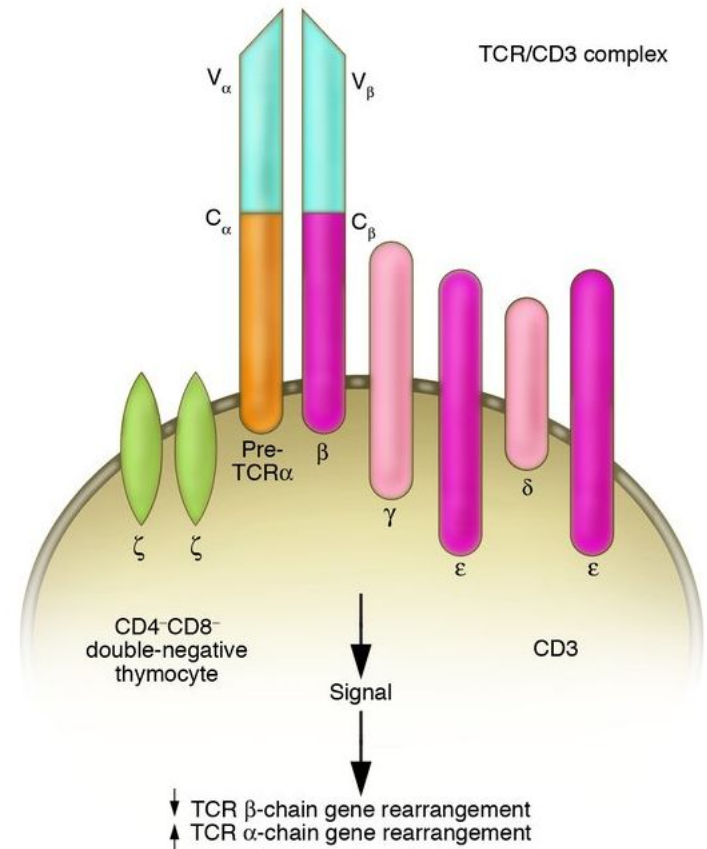
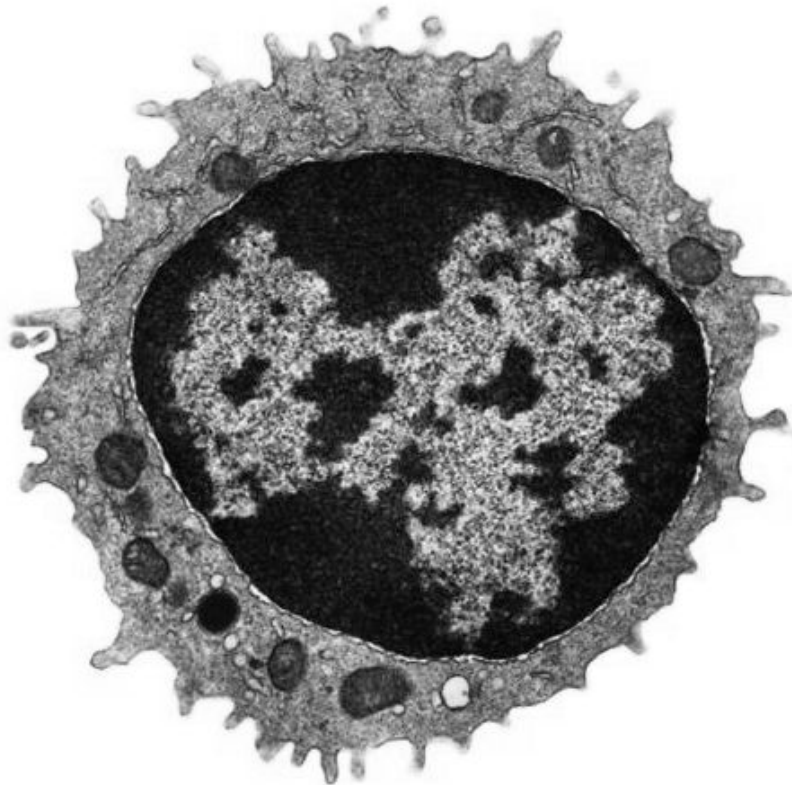
Дифференцировка Т-лимфоцитов

Студент: Кемаладдин Олжас

Группа: Ст16-006-02

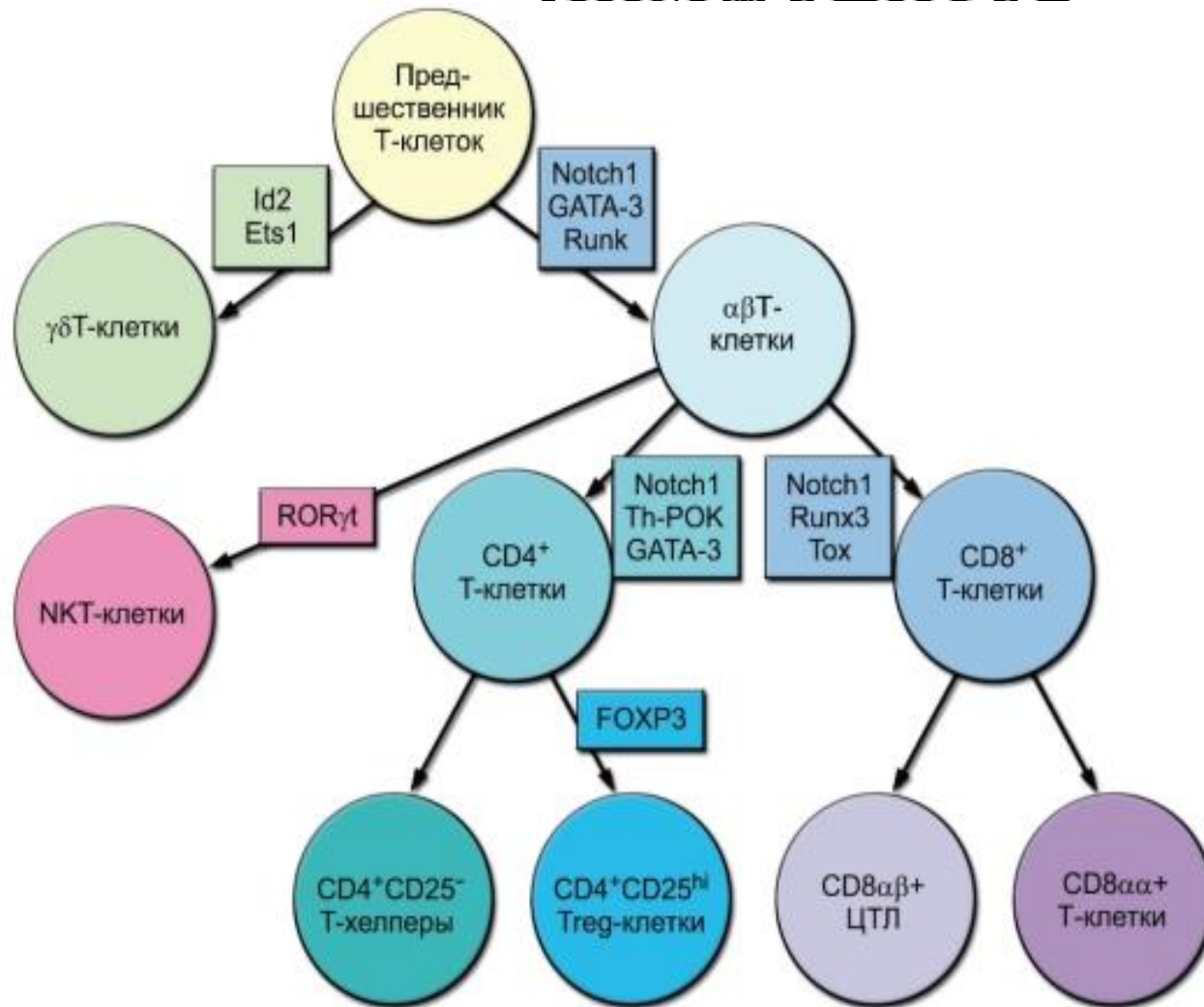
Проверено: Нурмуханбетова Алия Адилсарина

T-лимфоциты



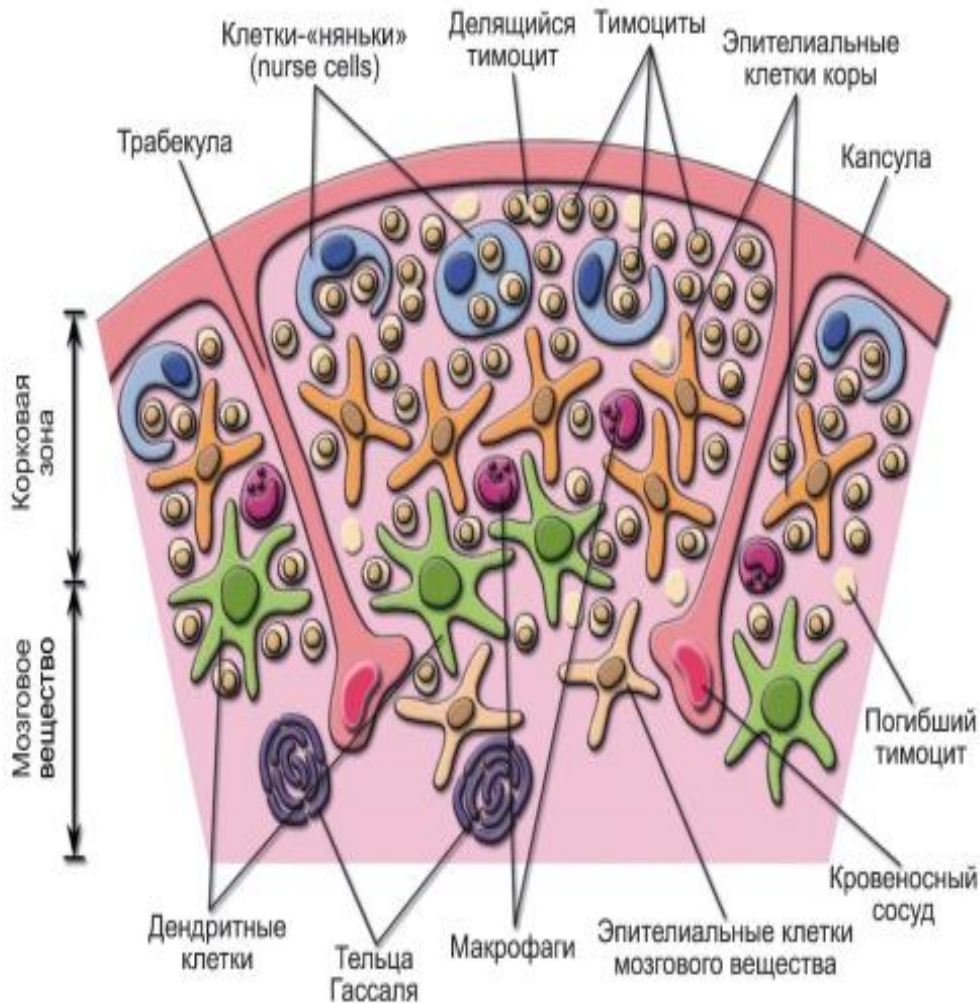
- **Т-лимфоциты**, или *Т-клетки* — лимфоциты, развивающиеся у млекопитающих в тимусе из предшественников — претимоцитов, поступающих в него из красного костного мозга. В тимусе Т-лимфоциты дифференцируются, приобретая Т-клеточные рецепторы (ТКР, англ. TCR) и различные корцепторы (поверхностные маркеры). Играют важную роль в приобретённом иммунном ответе. Обеспечивают распознавание и уничтожение клеток, несущих чужеродные антигены, усиливают действие моноцитов, НК-клеток, а также принимают участие в переключении изотипов иммуноглобулинов (в начале иммунного ответа В-клетки синтезируют IgM, позже переключаются на продукцию IgG, IgE, IgA).

Основные субпопуляции Т-лимфоцитов



Относительно е содержание Т-лимфоцитов в крови составляет в среднем около **73%** (55–85%) от общего числа лимфоцитов; абсолютное — **(950–2100) × 10⁹** клеток в литре.

Миграция в тимус клеток-предшественников

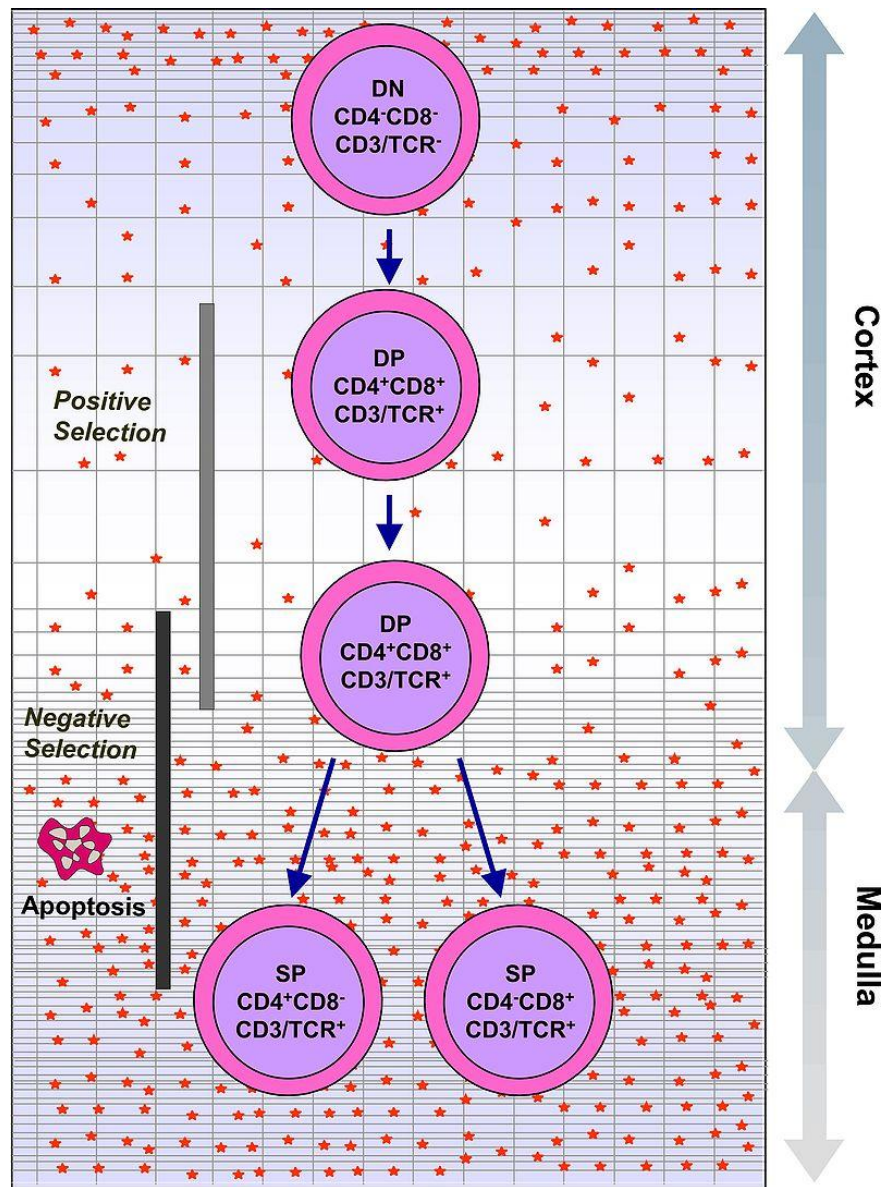


В ходе этих перемещений происходит созревание Т-клеток. На этом отрезке миграции проходят первые этапы развития самих Т-лимфоцитов.

Стадии дифференцировки

Таблица 3.13. Стадии развития и субпопуляции тимоцитов человека

Стадия развития	Фенотип	Содержание, %	Локализация	Функция, процессы
Дважды отрицательные (DN)	Стадия DN1: CD4 ⁻ CD8 ⁻ CD3 ⁻ ; CD44 ⁺ CD25 ⁻	4–5	Кортикомедуллярная и перимедуллярная зона	Полипотентные предшественники
	Стадия DN2 (про-Т-клетки): CD4 ⁻ CD8 ⁻ CD3 ⁻ ; CD44 ⁺ CD25 ⁺		Субкапсулярная зона	Подготовка перестройки генов
	Стадия DN3 (пре-Т-клетки): CD4 ⁻ CD8 ⁻ CD3 ⁻ ; CD44 ⁻ CD25 ⁺		То же	Перестройка V β -гена
Незрелые моноположительные (iSP)	CD4 ⁺ CD8 ⁻ CD3 ⁻	0,5–0,7	Наружные слои коры	Нет данных
Дважды положительные (DP) TCR $\alpha\beta$ ⁺	CD4 ⁺ CD8 ⁺ CD3 ⁻ TCR $\alpha\beta$ ^{lo} CD69 ⁻ CD5 ^{lo}	70–75	Кора	Перестройка V α -гена. Незрелые Т-клетки; положительная селекция
	CD4 ⁺ CD8 ⁺ CD3 ⁻ TCR $\alpha\beta$ ^{hi} CD69 ⁻ CD5 ⁺		Глубокие слои коры	Отрицательная селекция. Дифференцировка CD4/CD8
Моно-положительные (SP) TCR $\alpha\beta$ ⁺	CD4 ⁺ CD8 ⁻ CD3 ⁻ TCR $\alpha\beta$ ^{hi} CD25 ⁻	6–7	Мозговой и кортикомедуллярный слой	Предшественники Т-хелперов
	CD4 ⁺ CD8 ⁺ CD3 ⁻ TCR $\alpha\beta$ ^{hi}	4–5	То же	Предшественники цитотоксических Т-лимфоцитов
	CD4 ⁺ CD8 ⁻ CD3 ⁻ TCR $\alpha\beta$ ^{hi} CD25 ^{hi}	2–3	— << —	Естественные регуляторные Т-клетки
Дважды отрицательные (DN) TCR $\gamma\delta$ ⁺	CD4 ⁻ CD8 ⁻ CD3 ⁻ TCR $\gamma\delta$ ⁺	1	Наружные слои коры	Предшественники Т-клеток барьерных тканей



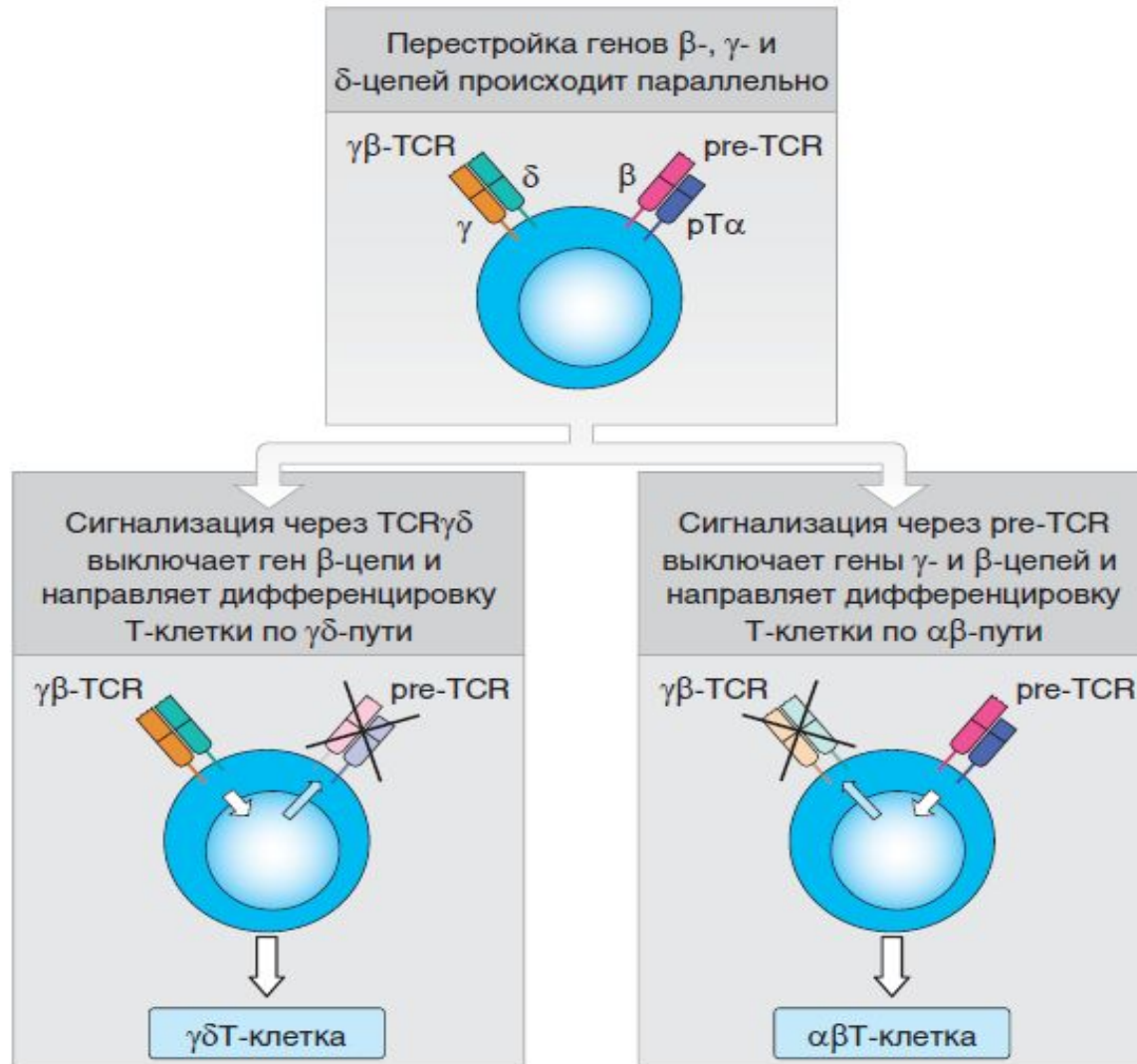
DN1-стадия

- Клетки пролиферируют (до 10 делений), что приводит к 1000-кратному увеличению их числа.
- Основной ростовой фактор на этом этапе — **SCF** (C-Kit лиганд).
- В это время рецептор для **IL-7** экспрессирован слабо или вообще не экспрессирован.
- Факторами дифференцировки на этом этапе развития служат **Wnt** и **Hedgehog**, а также **Notch**, коммиттирующий клетки-предшественники к дифференцировке в Т-лимфоциты.
- **V-гены** имеют зародышевую, т.е. *неперестроенную* конфигурацию

DN2-стадия

- Тимоциты перемещаются в сторону наружных слоев коры по градиенту **CXCL12**, секретируемого эпителиальными клетками наружной коры;
- Длительность стадии — 2 сут;
- Клетки продолжают пролиферировать уже преимущественно под действием **IL-7** и в меньшей степени — **SCF**;
- Сигналы от Notch коммиттируют Т-клетки к дифференцировке в различные линии ($\gamma\delta$ или $\alpha\beta$) и экспрессируется ген, кодирующий **pTCR α** , — знак выбора $\alpha\beta$ -направления развития клетки.

$\alpha\beta$ T или $\gamma\delta$ T?



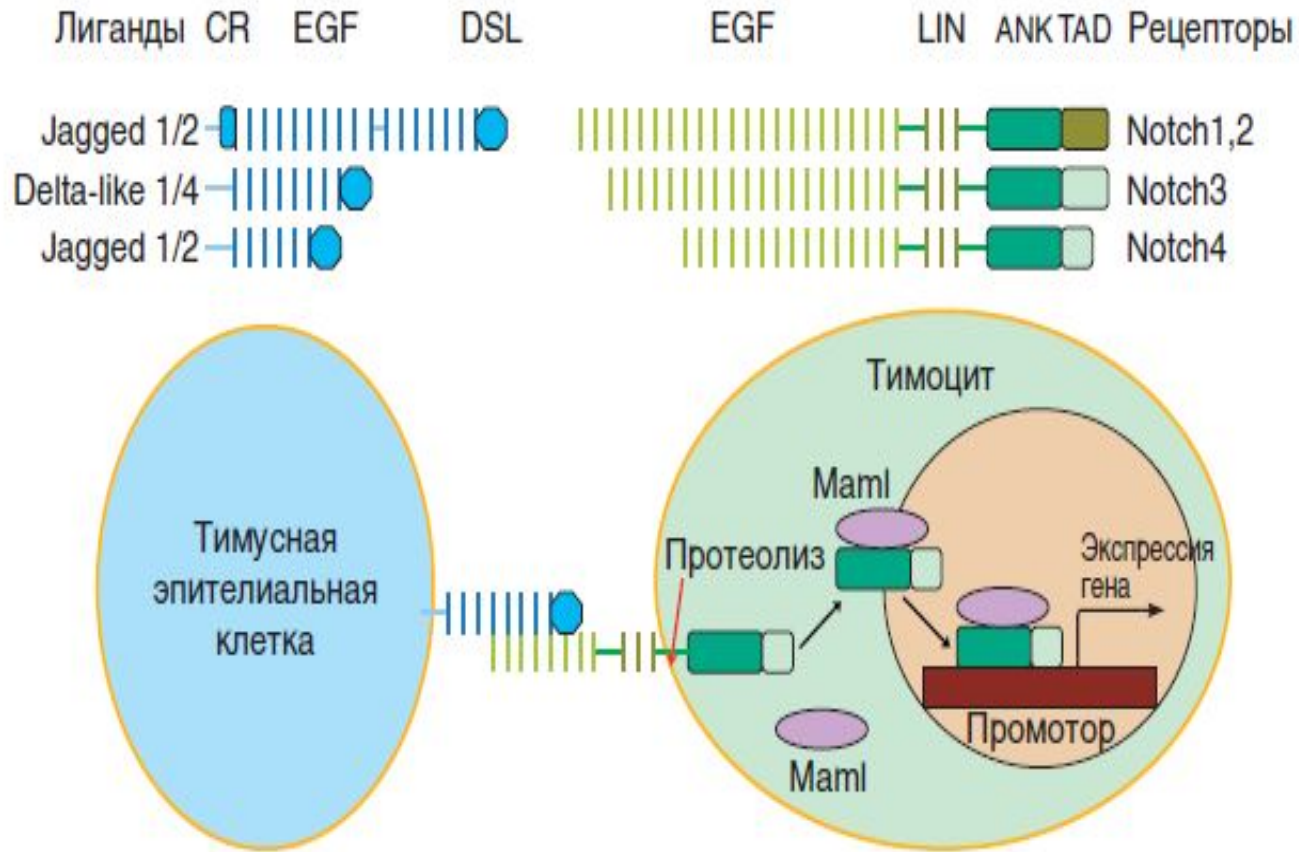
DN3-стадия

- Запускается основное событие дифференцировки Т-лимфоцитов — перестройка V-генов TCR (β , γ , δ).
- Реаранжировка V-генов TCR делает невозможной дифференцировку про-Т-клеток в направлении НК- и дендритных клеток.
- Включение этого процесса является следствием экспрессии в тимоцитах группы дифференцировочных факторов под влиянием эпителиального микроокружения.
- Экспрессия генов:
Notch (особенно Notch1 и Notch3), Runx-1, GATA-3, Ikaros, Gfil, c-Myb, PU.1, E2A/HEB, TCF-1

DN3-стадия

- ФЕНОТИП: CD44⁻CD25⁺ ,
- 2 суток до β-селекции, β-селекция – 1 сутки
- На заключительном этапе фазы DN3 на клетках экспрессируется корецептор CD4 (стадия **ISP** — от *Immature single-positive*, т.е. незрелых моноположительных тимоцитов).

DN3-стадия



Внутриклеточный механизм Notch-опосредованной регуляции

DN3-стадия

- Определенную роль в индукции перестройки V-генов играют цитокины, в частности **IL-7**, который особенно важен для запуска перестройки V-гена γ -цепи.
- Еще более существенна роль **IL-7** в качестве фактора выживания, индуцирующего экспрессию антиапоптотического фактора **Bcl-2**.
- **β -селекция** - отбор тимоцитов, успешно перестроивших V-ген β -цепи, путем подавления их апоптоза и индукции пролиферации (временно прекращается экспрессия генов **RAG1** и **RAG2** и приостанавливается процесс перестройки генов).
- Происходит формирование **pre-TCR = β -цепи + пре-TCR α** (пре-TCR α – инвариантная цепь, лишена варибельного участка). *Экспрессия пре-T-рецептора и передача сигнала с этой молекулы служит 1-й контрольной точкой перестройки TCR!*

DR-стадия

- Продолжительность: 1,5-2 сут
- Перестройка V-гена α -цепи – завершающий этап формирования $\alpha\beta$ TCR.
- Все это время не прекращаются экспрессии генов, кодирующих **RAG-1**, **RAG-2** и **TdT**, тем самым обеспечивая низкую вероятность неудачи.
- Сборка и экспрессия «зрелого» TCR. Зрелый TCR экспрессируется в комплексе с CD3 и ζ -цепями.
- Вероятно, появление на поверхности тимоцита зрелого рецептора служит сигналом, необходимым для прекращения экспрессии Т-клеткой генов *RAG1* и *RAG2* и для поддержания ее жизнеспособности. ***В этом состоит суть второй «контрольной точки» при формировании TCR!***
- Плотность экспрессии рецептора невысока.

Селекция тимоцитов

- **Положительная селекция** - обеспечивает отбор только тех тимоцитов, которые экспрессируют TCR, обладающие сродством к молекулам МНС.
- Положительной селекции подвергаются дважды положительные тимоциты фенотипа CD4⁺ CD8⁺ CD31^{lo} CD27⁻.
- Если TCR обладает сродством к молекуле МНС, тимоцит получает поддерживающий сигнал, основными результатами которого служат повышение экспрессии антиапоптотического фактора Bcl-2 и продвижение тимоцита по клеточному циклу.
- Внешний признак успешного прохождения тимоцитом положительной селекции — экспрессия маркера активации клетки CD69, а также молекул CD5, CD27 и костимулирующей молекулы CD28, сопровождающаяся повышением плотности экспрессии рецепторного комплекса TCR–CD3 на поверхности клетки.

Селекция тимоцитов

- **Отрицательная селекция** - ограничивает степень агрессивности Т-клеток в отношении собственных молекул.
- На этом этапе тимоциты представлены дважды положительными клетками или «**полузрелыми**» моноположительными клетками фенотипа CD4⁺/CD8⁺ CD24^{hi}.
- На этом этапе происходит дискриминация тимоцитов по степени сродства к комплексу МНС–пептид. Клетки, обладающие высоким сродством, подвергаются апоптозу как потенциально опасные
- В результате жизнеспособность сохраняют только тимоциты, рецепторы которых обладают умеренным (промежуточным) сродством к аутологичным комплексам МНС–пептид.

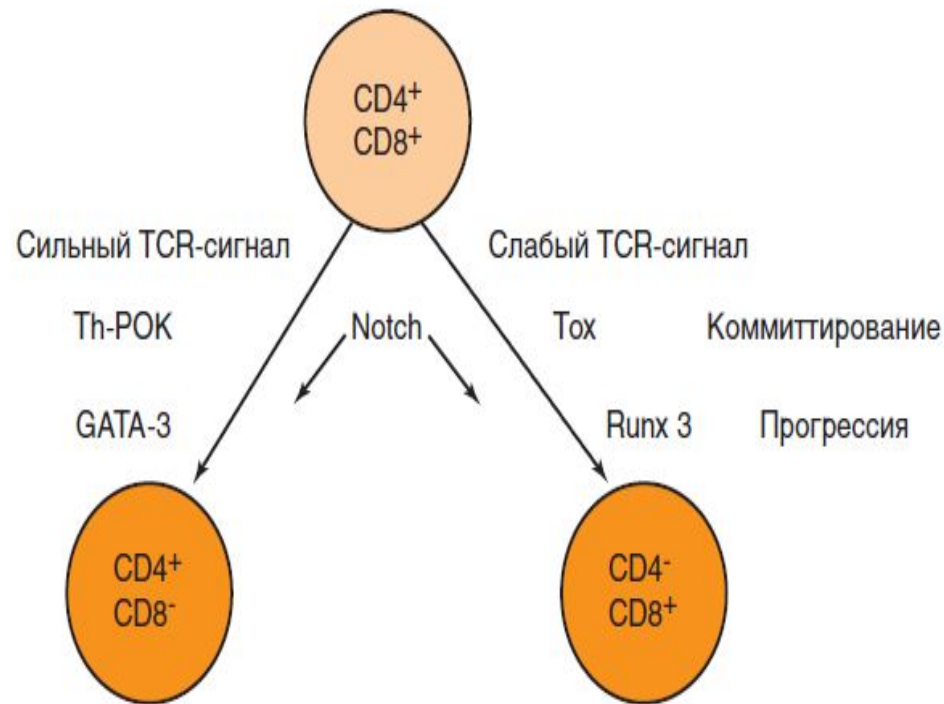
Селекция ТИМОЦИТОВ

- Т-клетки как бы «натаскиваются» на распознавание собственных антигенов, а не чужеродных молекул, но степень агрессивности Т-клеток в отношении собственных молекул ограничивается отрицательной селекцией.
- Белок гена **AIRE** (21q223) отвечает за экспрессию генов органоспецифических антигенов различных органов в клетках мозговой зоны тимуса – эпителиальных, в меньшей степени – дендритных.
- На этапе отрицательной селекции гибнет почти 50% тимоцитов, прошедших положительную селекцию (около 5% от числа незрелых дважды положительных тимоцитов).

Дифференцировка CD4⁺ и CD8⁺ ЛИМФОЦИТОВ

- Дифференцировка Т-клеток регулируется как внутренними (дифференцировочные факторы), так и внешними (сигналы, генерируемые при контактах между клетками) стимулами;
- Факторы Notch не оказывают решающего влияния на выбор пути дифференцировки;
- Для дифференцировки Т-лимфоцитов в CD8⁺ клетки нужен сигнал большей интенсивности, чем для дифференцировки CD4⁺ Т-клетки;
- Сочетанная экспрессия в клетках факторов Th-POK и GATA-3 направляет Т-клетку по CD4⁺-пути;
- Экспрессия факторов Tbx и Runx3 направляет Т-клетку по CD8⁺ пути.

Дифференцировка CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитов

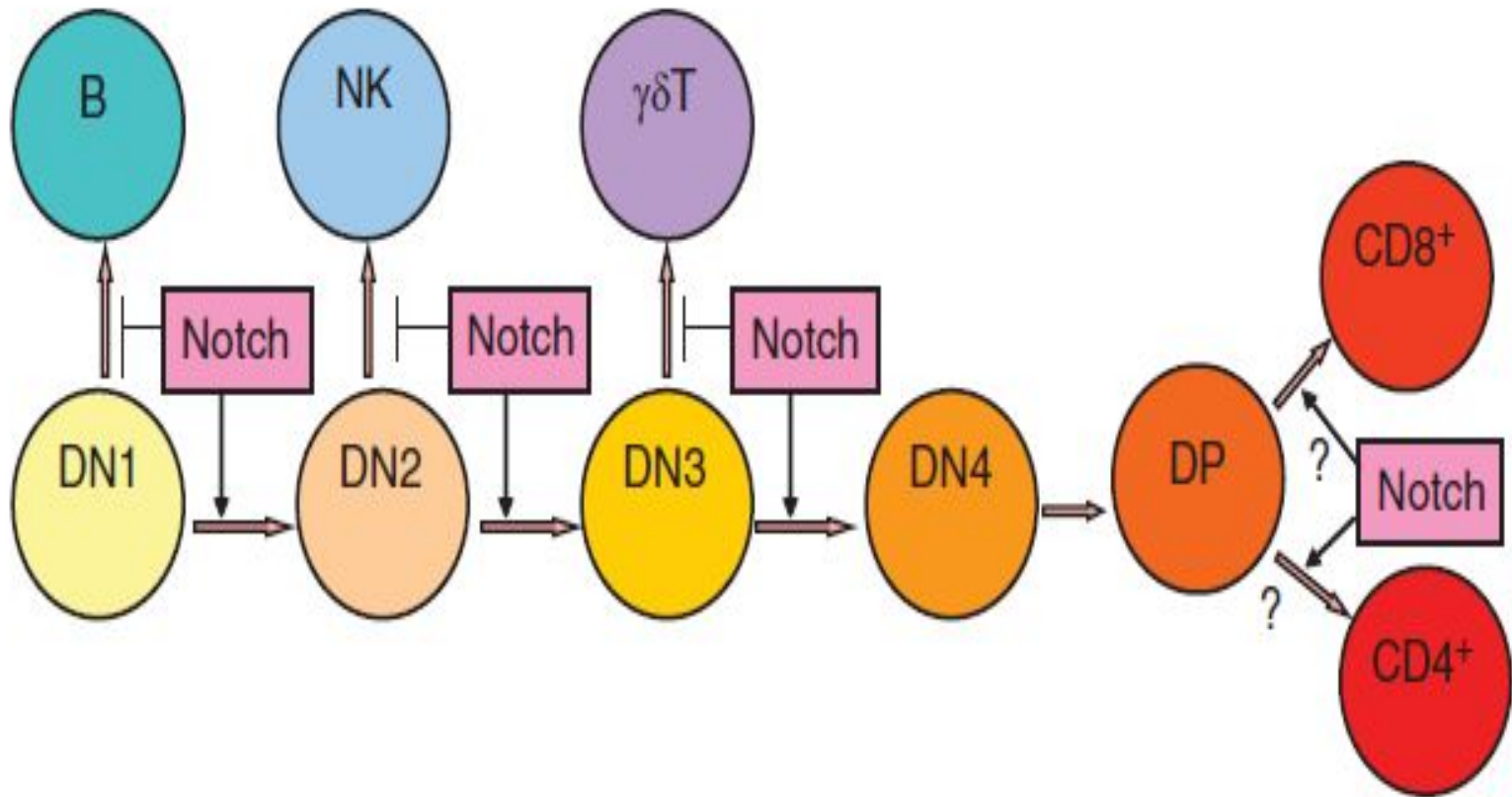


Факторы, контролирующие дифференцировку $\alpha\beta$ Т-клеток

Дифференцировка CD4⁺ и CD8⁺

ЛИМФОЦИТОВ

- Созревшие тимоциты довольно долго (7—14 сут) не покидают тимус, пребывая преимущественно в наружных слоях мозгового слоя;
- Завершается формирование аутоотолерантности и Т-клетки приобретают свойства, важные для поддержания их жизнеспособности вне тимуса:
- Вследствие активации *сиалилтрансфераз* происходит сialiрование мембранных гликопротеинов, защищающее лимфоциты от поглощения макрофагами;
- Созревшие Т-лимфоциты начинают экспрессировать набор мембранных молекул адгезии и рецепторов для хемокинов, необходимые для направленной миграции клеток в специализированные участки иммунной системы и для последующей рециркуляции;
- Под влиянием фактора **KLF2** (Kruppel-like factor 2) на тимоцитах экспрессируются *селектин L* (CD62L), *β7-интегрины*, *хемокиновый рецептор CCR7* и *рецептор SIP-1* для сфингозин-1-фосфата (играет основную роль в эмиграции зрелых Т-клеток из тимуса в кровяное русло.)



Характеристика «классических»

$\alpha\beta$ Т-клеток

- На поверхности $\alpha\beta$ Т-клеток экспрессируется примерно в 5 раз меньше молекул TCR, чем BCR на поверхности В-лимфоцитов (30 000—40 000 TCR на клетку). Содержание комплексов CD3 примерно в 10 раз больше, чем TCR — около 300 000 молекул на клетку, что свидетельствует о присутствии на мембране молекул CD3, не связанных с TCR;
- Помимо TCR—CD3 зрелые Т-клетки экспрессируют молекулы CD2, CD5, CD7;
- Наиболее важные в функциональном отношении мембранные молекулы Т-клеток — корцепторы CD4 и CD8, служащие маркерами основных субпопуляций $\alpha\beta$ Т-клеток, а также костимулирующая молекула CD28, экспрессируемая на большинстве (около 80%) Т-клеток;
- Для наивных (не контактировавших с антигеном) $\alpha\beta$ Т-клеток характерен высокий уровень экспрессии селектина L (CD62L) и хемокинового рецептора CCR7. Эти молекулы определяют пути миграции Т-клеток;
- На Т-клетках содержатся также β 1- и β 2-интегрины (особенно LFA-1 и VLA-4) и рецепторы для цитокинов (для IL-7, IL-1, IL-2, IL-4, IL-15 и др.).
- Маркером наивных Т-клеток, отличающим их от клеток памяти, служит полноразмерная форма молекулы CD45 — CD45RA.

Характеристика «классических» $\alpha\beta$ T-клеток

- T-лимфоциты относят к долгоживущим клеткам. Срок жизни различных субпопуляций наивных $\alpha\beta$ T-лимфоцитов составляет месяцы и годы;
- Основное место локализации T-лимфоцитов в лимфоидных органах — тимусзависимые зоны. К ним относят паракортикальные зоны лимфатических узлов и параартериальные муфты селезенки. Вне T-зон T-лимфоциты непосредственно соседствуют с B-клетками. Содержатся в барьерных тканях — слизистых и эпидермисе. Также они активно рециркулирующие клетки.
- Для выживания T-лимфоцитов необходим IL-7, а также сигналы от TCR, при распознавании ими молекул MHC и аутологичных пептидов.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!