

ИММУННЫЙ ОТВЕТ

Тема 4

ЛЕКЦИИ ДЛЯ СТУДЕНТОВ



СОДЕРЖАНИЕ

- 1 Стадии иммунного ответа**
- 2 Взаимодействие клеток в ходе иммунных ответов**
- 3 Процессинг антигена и его распознавание**
- 4 Трансдукция сигнала, активация клеток и их экспансия**
- 5 Эффекторные клетки и клетки памяти**



Суть любого иммунного ответа состоит в **антигензависимой дифференцировке** или **прайминге** лимфоцитарного клона до его способности к эффекторным функциям. Иммунный ответ является *специфическим*, но не изолированным процессом, который протекает только в **периферических органах иммунной системы**. Как правило, он сопровождается *неспецифическими реакциями* (такими, как фагоцитоз, активация комплемента, НК-клеток и т.д.). По крайней мере, три вида клеток инициируют иммунный ответ: **макрофаг** (или **дендритная клетка**), **Т-лимфоцит** и **В-лимфоцит**. В целом все клетки, участвующие в иммунном ответе, могут быть разделены на антигенпредставляющие, регуляторные, эффекторные и клетки памяти.



МАГИСТРАЛЬНЫЕ ПУТИ ИММУННОГО ОТВЕТА

Имеется два магистральных пути иммунного ответа:

1. Клеточный или Т-клеточно-опосредованный ответ
2. Гуморальный или В-клеточно-опосредованный ответ

- Первый контролируется Т-хелперами типа 1 и приводит к образованию эффекторных CD4+ Т-клеток, цитотоксических CD8+ Т-клеток, а также соответствующих клеток памяти.
- Второй, главным образом, регулируется Т-хелперами типа 2 и приводит к образованию плазматических клеток и В-клеток памяти. Переключение синтеза изотипов иммуноглобулинов частично контролируется Т-хелперами типа 1.

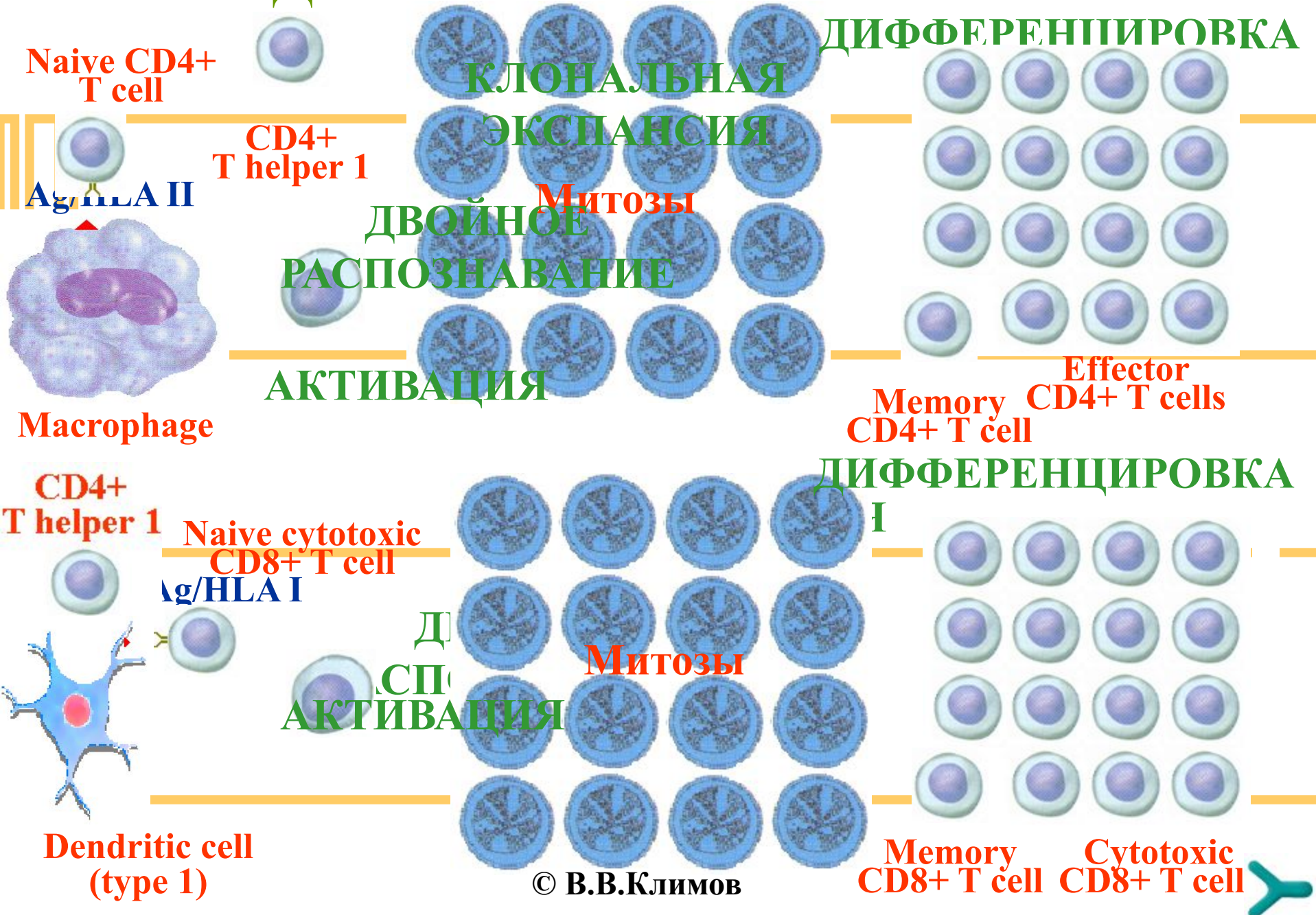


СТАДИИ ИММУННОГО ОТВЕТА

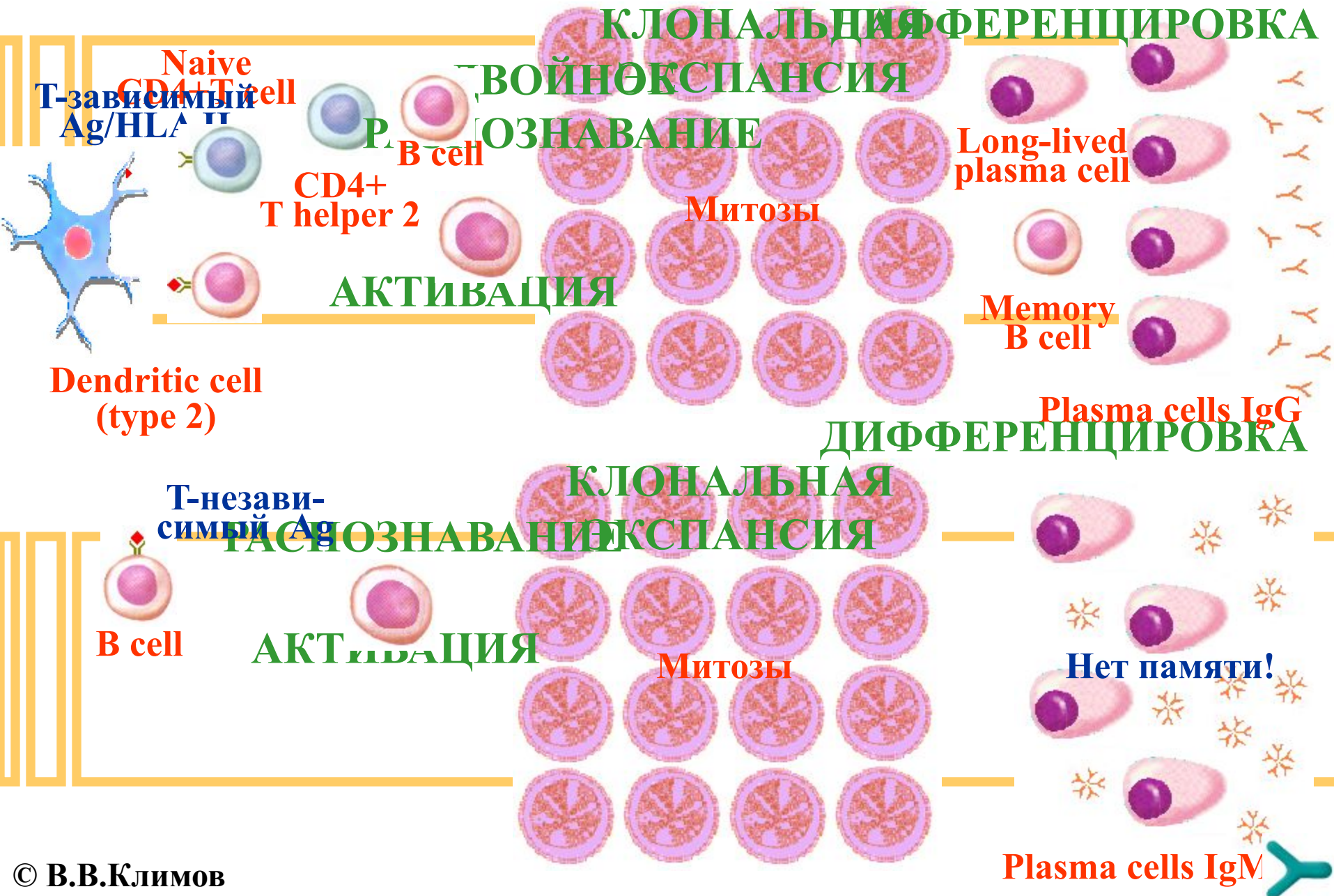
- 1.** Эндоцитоз антигена, его процессинг и загрузка на молекулы HLA I или II для презентации Т-клеткам
- 2.** «Двойное распознавание» презентируемого комплекса антиген/HLA I или II и распознавание неспецифических сигналов
- 3.** Трансдукция сигналов и активация клеточного клона
- 4.** Клональная экспансия или умножение числа клеток клона
- 5.** Дифференцировка эффекторов и клеток памяти
- 6.** Эффекторная активность



МОДЕЛЬ Т-КЛЕТОЧНЫХ ОТВЕТОВ



МОДЕЛЬ В-КЛЕТОЧНЫХ ОТВЕТОВ

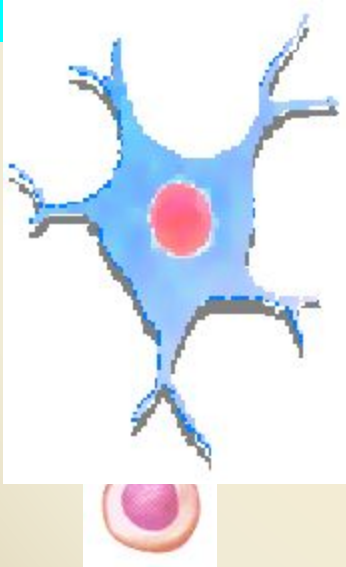


АНТИГЕНПРЕДСТАВЛЯЮЩИЕ КЛЕТКИ

Антигенпредставляющая клетка (макрофаг, дендритная клетка и В-лимфоцит) сталкивается с нативным антигеном и эндоцитирует его.



Макрофаги фагоцитируют большие либо внутриклеточно расположенные антигенные объекты: вирусы, бактерии, грибы, простейшие и т.д.



Дендритные клетки (типа 1 и 2)
«отлавливают» антигены повсюду, пиноцитируют вирусы

В-клетки интернализируют различные токсины



ПРОЦЕССИНГ АНТИГЕНА

Следующее событие, **процессинг**, предполагает разборку молекулы антигена внутри антигенпредставляющей клетки. Процессированный антиген приобретает иммуногенные свойства, так как экспрессируется на поверхности клетки в комплексе с молекулами HLA I/II, то есть в форме, доступной для **распознавания** Т-клетками. Имеются два пути процессинга антигена в зависимости от его типа:

1. **Путь HLA II** для экзогенных антигенов
2. **Путь HLA I** для эндогенных антигенов, включая внутриклеточно расположенные антигены микробного (вирусного) происхождения

- **Макрофаги** вовлечены в Т-клеточный, **В-клетки** - в гуморальный ответ по пути HLA II-презентации, тогда как **дендритные клетки** способны к *перекрёстной презентации*.



ПУТЬ ПРОЦЕССИНГА, СВЯЗАННЫЙ С HLA II

Этот путь предполагает процессинг *экзогенных антигенов*, которые презентируются в ассоциации с молекулами HLA II наивным CD4+ Т-клеткам и В-клеткам. Сначала такие нативные антигены эндоцитируются и расщепляются протеолитическими энзимами в **эндосомах (лизосомах)**. В это время молекулы **HLA II** в ассоциации с **инвариантной цепью (Ii)** синтезируются после транскрипции гена/ трансляции и собираются в эндоплазматическом ретикулуме. **Ii-цепь**, включая CLIP-область, необходима для защиты желобка молекулы HLA до того момента, пока антиген не будет загружен. Затем комплекс HLA II/Ii-цепь транспортируется в эндосомы, где Ii-цепь утрачивается, а дополнительные молекулы, **HLA-DM** и, возможно, **HLA-DO**, комплексуется с HLA II, чтобы стабилизировать «пустоту» последней до момента загрузки антигена. В последующем молекула HLA связывается с антигенным пептидом и транспортируется на поверхность клетки.



ПУТЬ ПРОЦЕССИНГА, СВЯЗАННЫЙ С HLA I

Эндогенные и внутриклеточно расположенные антигены микробного происхождения загружаются на молекулы HLA I для представления наивным CD8+ Т-клеткам. Сначала, в противоположность экзогенным антигенам, такие цитоплазматические антигены перемещаются в **ЦИТОЗОЛЬ**, где они расщепляются в крупном протеолитическом комплексе, **протеасоме**, который состоит из трёх компонентов (**LMP-2**, **LMP-7** и **MECL-1**). После этого антигенные пептиды транспортируются через «туннель» **TAP-1/TAP-2** в эндоплазматический ретикулум. В то же самое время здесь синтезируются молекулы **HLA I**, чей желобок находится под «защитой» **кальнексина**, затем **кальретикулина**, и комплексуются с различными дополнительными молекулами типа **тапазин**, **ERp57** и др. Затем они связываются с антигенным пептидом и транспортируются на клеточную поверхность.



**ANTIGEN-
PRESENTING
CELL**

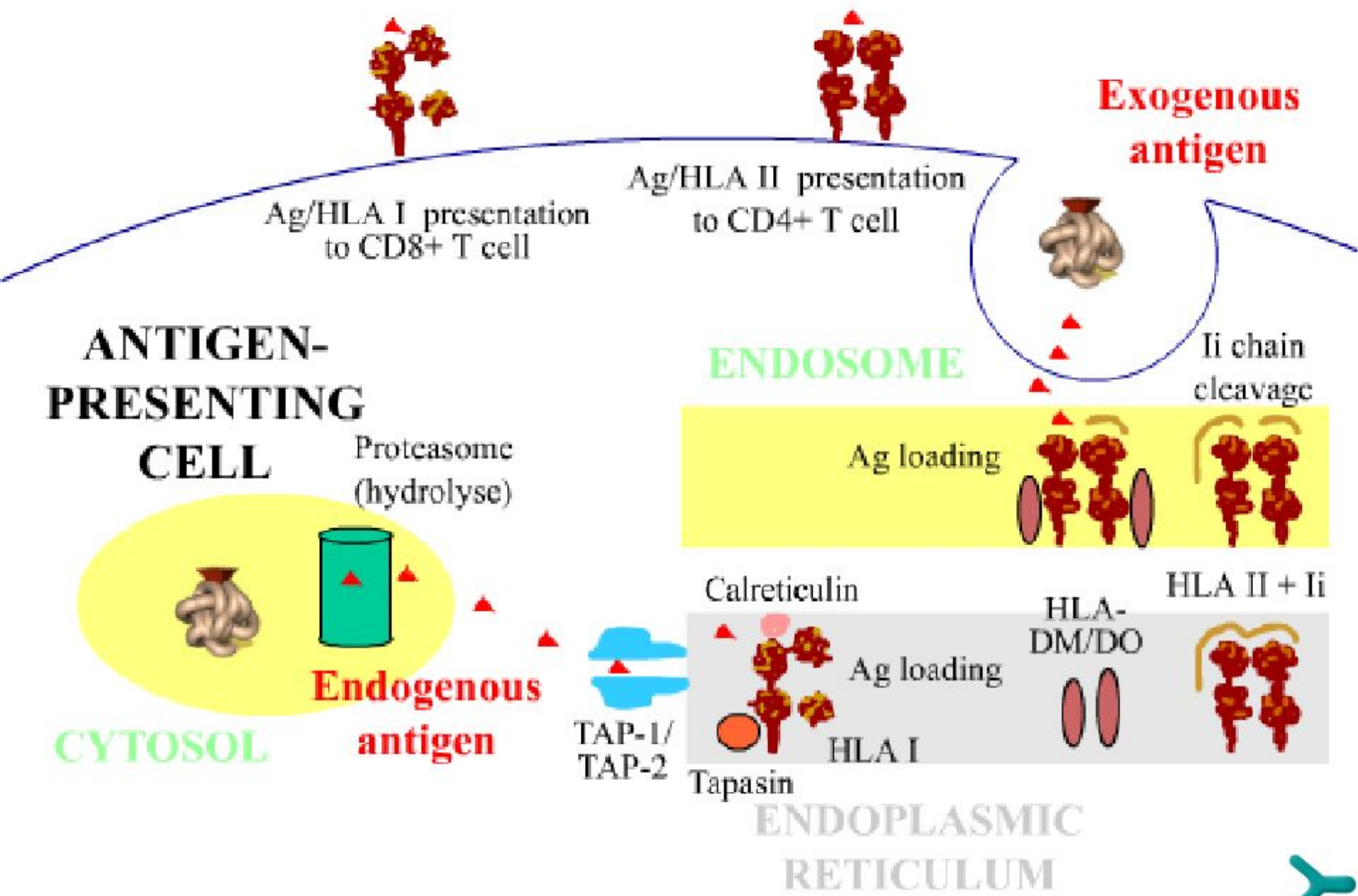
ENDOSOME

CYTOSOL

**ENDOPLASMIC
RETICULUM**



ANTIGEN PROCESSING AND PRESENTATION



РАСПОЗНАВАНИЕ АНТИГЕНА

Многие антигены попадают внутрь человеческого тела, но для включения специфических иммунных ответов Т- и В-клетки соответствующего клона должны встретиться с антигенпредставляющей клеткой. Т-независимые антигены распознаются BCR - антигенраспознающими рецепторами В-клеток, что не требует помощи со стороны Т-лимфоцитов. Т-зависимые антигены распознаются по «полной программе» **наивными CD4+ Th1 и CD8+ Т-клетками** (чтобы включить **Т-клеточный ответ** или **путь Т-хелперов-1**) и **наивными CD4+ Th2** (для запуска **гуморального ответа** или **пути Т-хелперов-2**). Т-зависимые антигены также распознаются наивными В-клетками. С одной стороны, В-клетки сами способны процессировать и представлять антиген, с другой, они могут распознавать антиген, представляемый дендритными клетками типа 2.



ТИПЫ СТИМУЛОВ

Распознавание в ходе иммунного ответа предполагает восприятие лимфоцитами трёх типов стимулов, одного специфического и двух неспецифических:

- 1. Антигенный пептид/HLA I или II**
- 2. Цитокины**
- 3. Костимулирующие молекулы**

Комплекс антигенный пептид/HLA I или II представляет собой необходимый специфический сигнал. Секретируемые цитокины и костимулирующие молекулы, экспрессированные на антигенпредставляющей клетке, являются двумя неспецифическими сигналами. Более того, требуются также другие адгезивные молекулы для обеспечения устойчивого контакта между клетками.

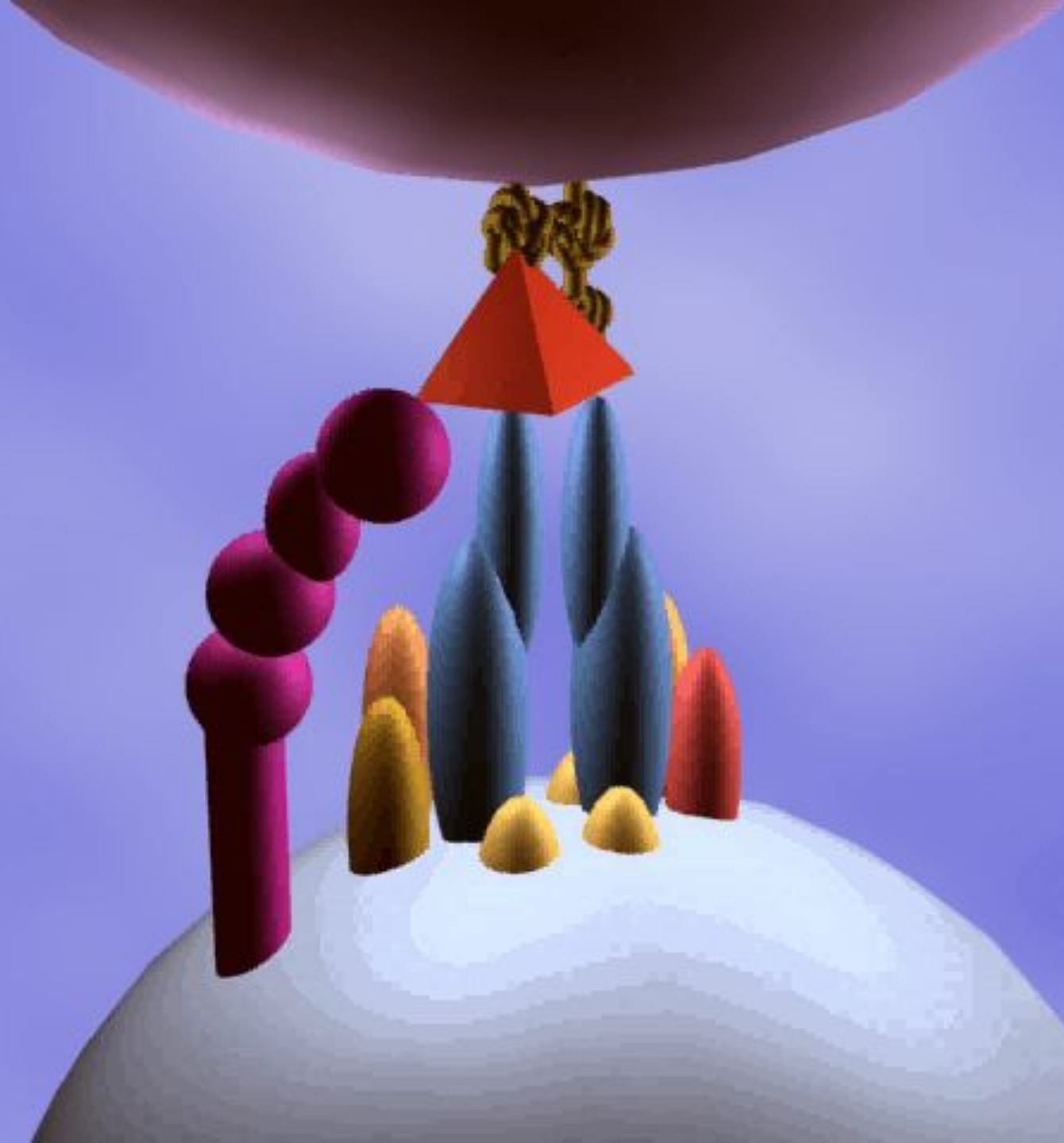


РАСПОЗНАВАНИЕ КОМПЛЕКСА АНТИГЕН/HLA I или II

Специфический $\alpha\beta$ TCR и корецепторы CD4 или CD8 распознают иммуноген/HLA II или I как синхронный специфический стимул. Это так называемое «двойное распознавание», т.е. одновременное распознавание «своего» и «не своего». Этот феномен универсален. Контактная зона между TCR и комплексом иммуноген/HLA I или II называется **иммунологическим синапсом**. CD3, которая ассоциирована с TCR, ответственна за трансдукцию этих сигналов внутрь клетки и экспрессию TCR.

Специфический BCR и его корецепторы CD19/CD21/CD81 распознают иммуноген/HLA II. Молекулы $Ig\alpha$ (CD79a)/ $Ig\beta$ (CD79b), ассоциированные с BCR, функционируют подобно молекуле CD3.

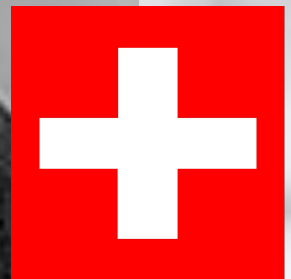
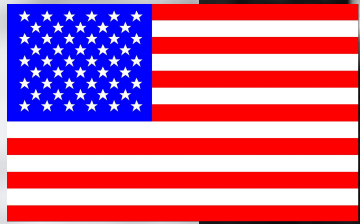
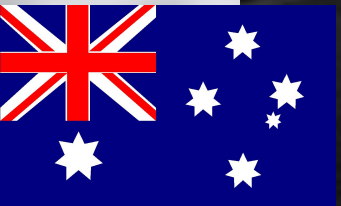




Антигенпредставляющая клетка



НОБЕЛЕВСКАЯ ПРЕМИЯ (1996)



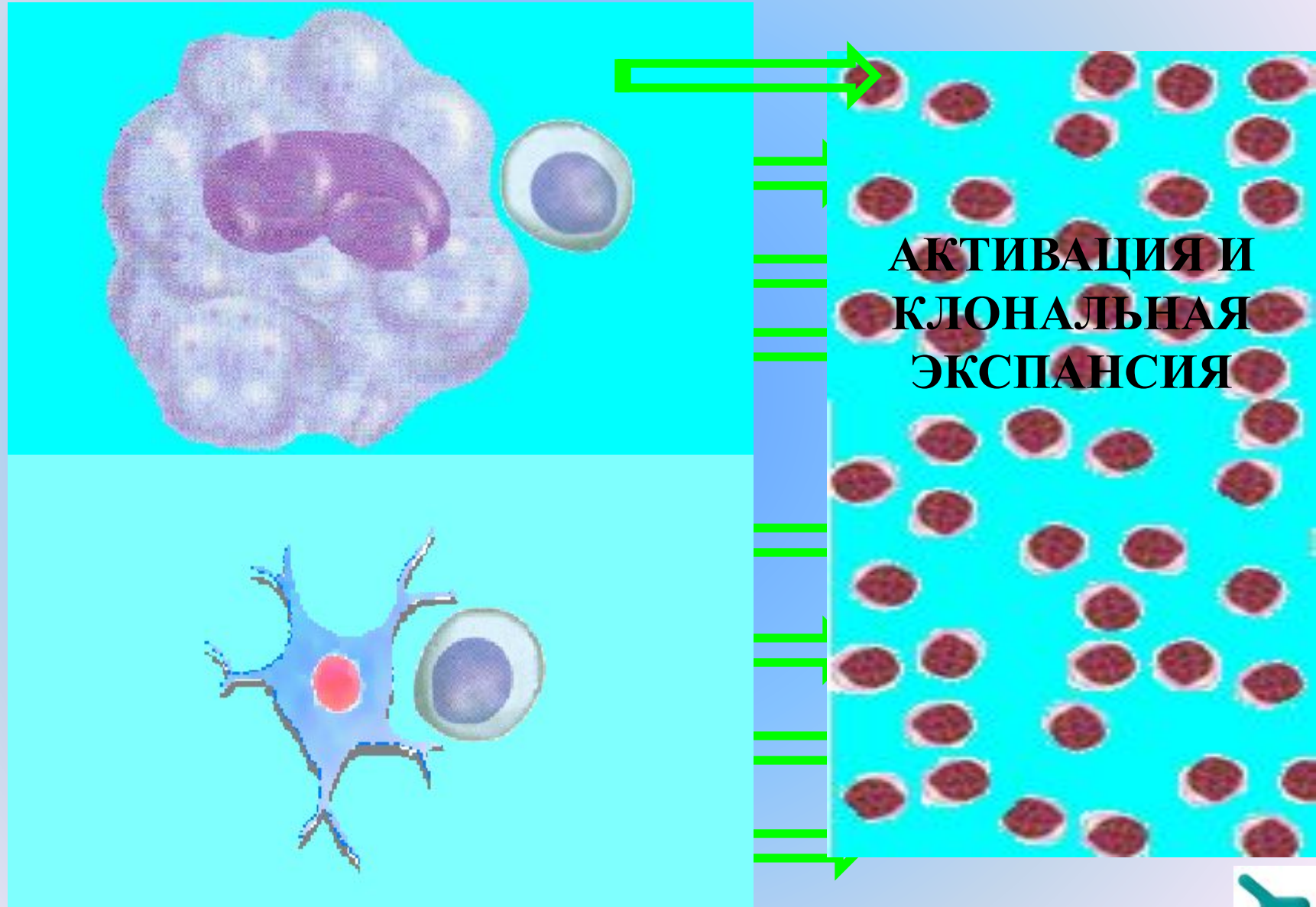
Открытие «двойного
распознавания»

P.C.DOHERTY R.M.ZINKERNAGEL



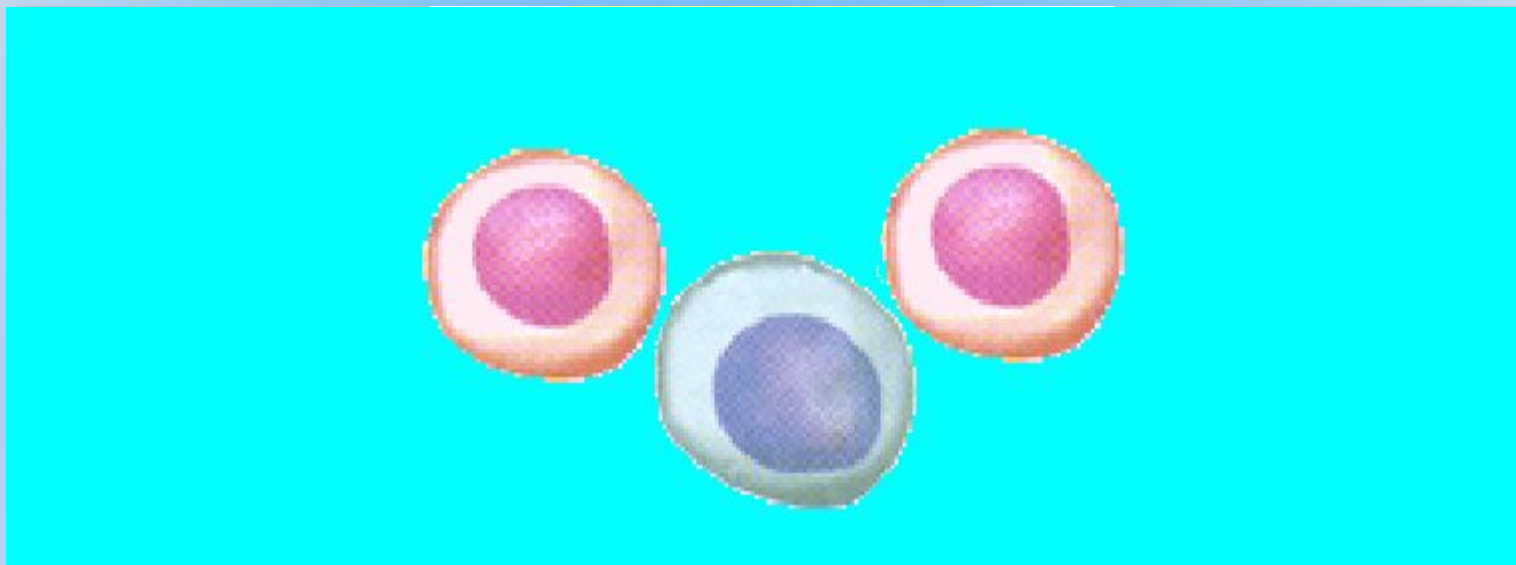
РАСПОЗНАВАНИЕ

Th1-ЗАВИСИМЫЙ ПУТЬ



РАСПОЗНАВАНИЕ

Th2-ЗАВИСИМЫЙ ПУТЬ



АКТИВАЦИЯ И КЛОНАЛЬНАЯ ЭКСПАНСИЯ

сигнал

сигнал

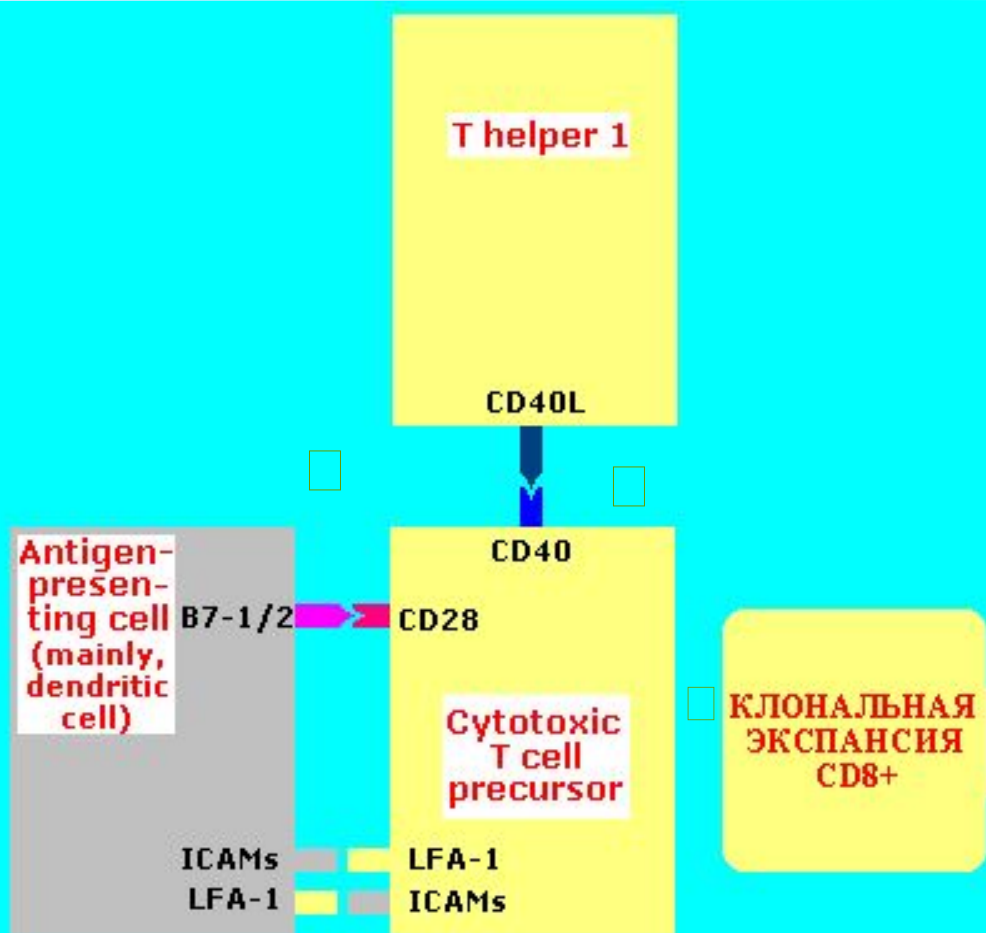


КОСТИМУЛИРУЮЩИЕ И АДГЕЗИВНЫЕ МОЛЕКУЛЫ

Костимулирующие молекулы семейства B7 (на антигенпредставляющих клетках), главным образом, **B7-1 (CD80)** и **B7-2 (CD86)**, через их контррецептор **CD28** стимулируют секрецию Т-клетками IL2. Другой контррецептор, экспрессируемый только Т-клетками, **CTLA-4 (CD152)**, обеспечивает противоположный, ингибирующий сигнал. **CD40** (на В-клетках), взаимодействуя со своим лигандом, **CD40L (CD 154)** (на Th2), стимулирует В-клеточную экспансию, синтез иммуноглобулинов и переключение их изотипов. Вероятно, такой же результат имеет связывание **CD30** (на В-клетке) с **CD30L (CD153)** (на Т-клетке). С другой стороны, обратный сигнал от В-клеток Т-клеткам при взаимодействии **OX40L** с **OX40 (CD134)** приводит к пролиферации Th2. Молекула **CD22**, которая присутствует только на зрелых В-клетках, обеспечивает ингибирующий сигнал для гуморального ответа. Адгезивные молекулы типа β_2 -интегрин **LFA-1 (CD 11a/CD18)** и его контррецепторы **ICAM-1 (CD54)**, **ICAM-2 (CD102)**, **ICAM-3 (CD50)** обеспечивают длительный устойчивый контакт между клетками.



CD4+T-ХЕЛПЕР ТИПА 1 ПРЕДОСТАВЛЯЕТ «ПОМОЩЬ» НАИВНОЙ CD8+Т-КЛЕТКЕ



**1. Прямое
взаимодействие
CD40L-CD40**

**2. Стимуляция повышенной
экспрессии молекул B7 на
антигенпредставляющей
клетке**



НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ЦИТОКИНОВЫЕ СИГНАЛЫ

Т- и В-лимфоциты получают неспецифические цитокиновые сигналы не только от антигенпредставляющих, но и других клеток (например, NK-, тучных клеток и т.д.). Обратный сигнал, как например $IFN\gamma$, способствует поддержанию экспрессии HLA I/II на поверхности антигенпредставляющей клетки. Цитокины, стимулирующие иммунный ответ на ранних стадиях, могут быть разделены на две группы в зависимости от Th1- или Th2-профиля соответственно:

1. **IL2, IL12, IL18, $IFN\gamma$, $TNF\alpha/\beta$**

2. **IL4**

Однако, на следующих этапах (рост, дифференцировка, переключение изотипов антител) регулирующее влияние оказывают и другие цитокины.



ТРАНСДУКЦИЯ СИГНАЛА

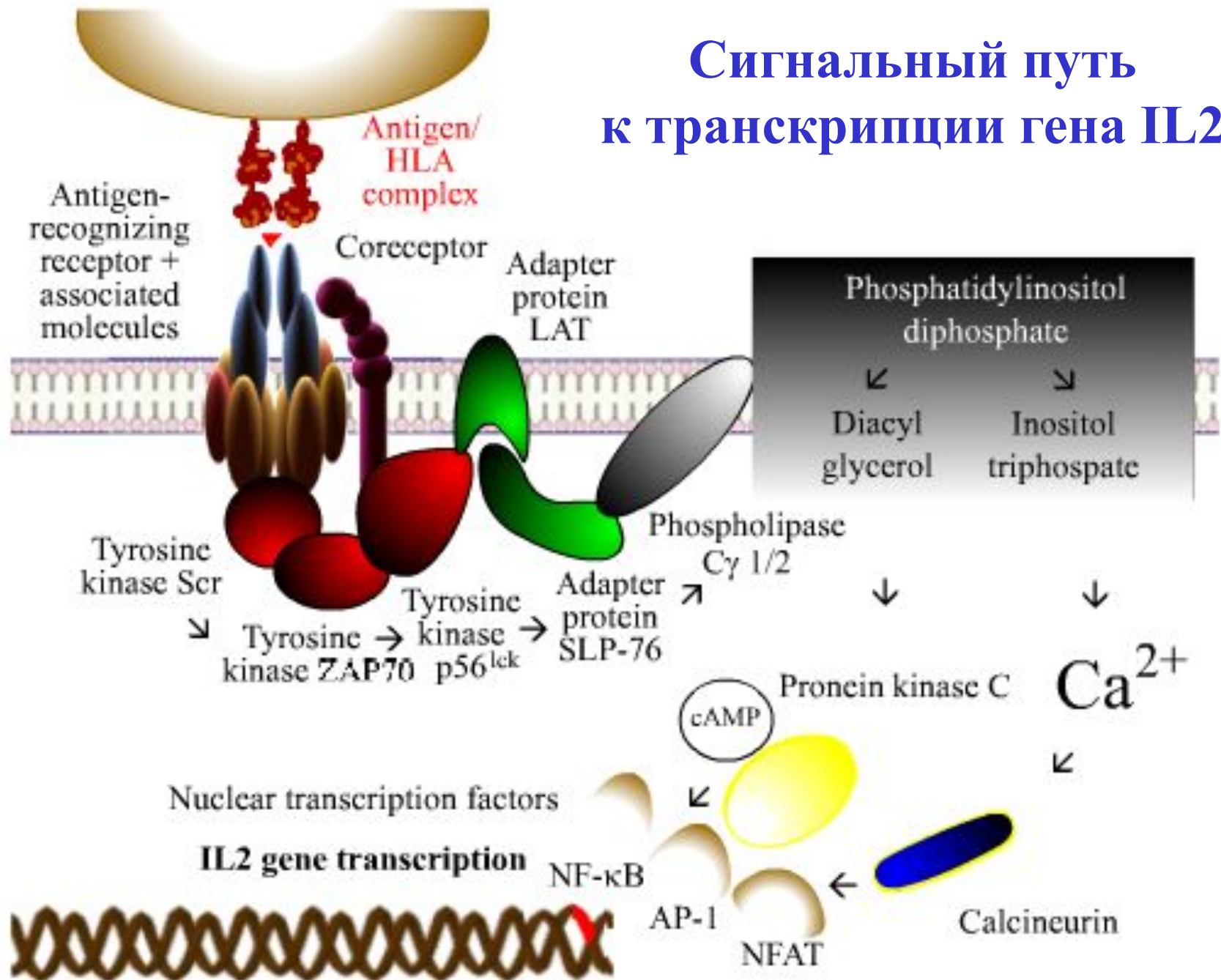
Специфические сигналы, чтобы иметь последующую эффективность, должны быть преобразованы и усилены внутри принимающей клетки серией реакций. При контактах «антиген-клетка» и «цитокин-клетка» данный лимфоцит активируется и инициирует клональную экспансию других клеток, секрецию ими цитокинов, а также рост моноцитов и гранулоцитов. Сигнальная трансдукция имеет следующие стадии :

- 1. Активация каскада тирозинкиназ**
- 2. Вовлечение адаптерных протеинов (LAT, SLP-76 и др.)**
- 3. Включение первичных сигнальных путей (например, цикла фосфатидилинозитол дифосфата)**
- 4. Транскрипция гена (например, IL2)**

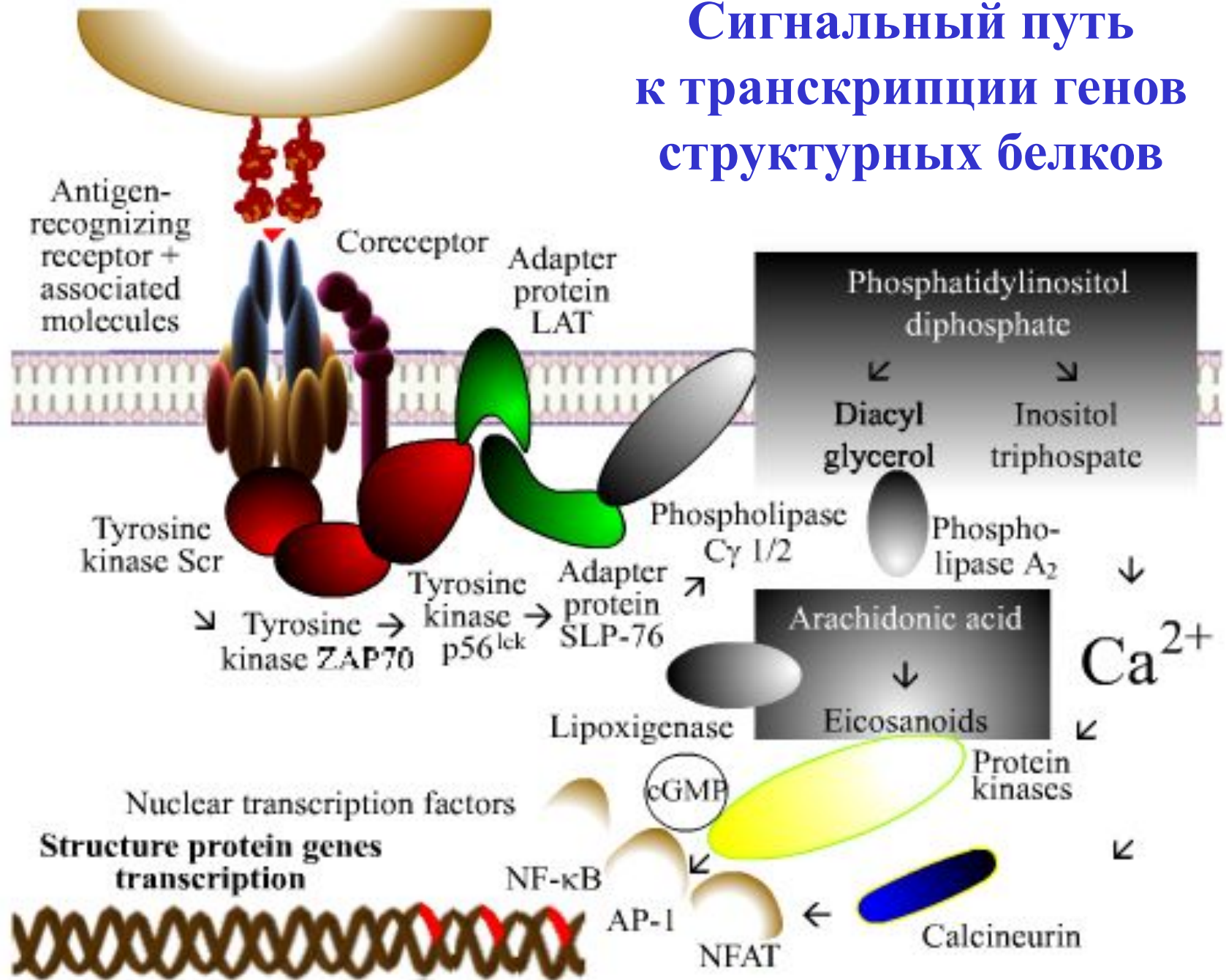




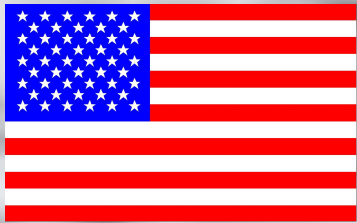
Сигнальный путь к транскрипции гена IL2



Сигнальный путь к транскрипции генов структурных белков



НОБЕЛЕВСКАЯ ПРЕМИЯ (1999)



**Работы в
области
сигнальной
трансдукции**

G. BLOBEL



КЛОНАЛЬНАЯ ЭКСПАНСИЯ Т-КЛЕТОК

Клональная экспансия Т-лимфоцитов происходит в паракортикальных зонах лимфатических узлов и периартериолярных пространствах селезёнки. Клетки, распознавшие антиген, пролиферируют и превращаются в лимфобласты. Если CD8⁺ Т-лимфоциты создают большой клон клеток быстро, то CD4⁺ Т-лимфоциты пролиферируют более медленно. Клональная экспансия регулируется разнообразными цитокинами (**IL2, IL7, IL9, IL12, IL15, IFN γ , TNF** и т.д.) и адгезивными молекулами. **IL2** играет ключевую роль как фактор роста и для Т-, и для В-клеток. Молекула **CTLA-4** оказывает ингибирующее действие на пролиферацию Т-клеток.



КЛОНАЛЬНАЯ ЭКСПАНСИЯ В-КЛЕТОК

Клональная экспансия В-лимфоцитов происходит в селезёнке и первичных фолликулах (зародышевых центрах) лимфатических узлов и МАЛТ. В лимфоузлах они распознают антиген, представляемый фолликулярными клетками, вступают в митоз, формируя **вторичные фолликулы** (*центробластная стадия*). Рост В-клеток стимулируется цитокинами (**IL2, IL4, IL5, IL6, IL10, IL13, IFN γ , TNF** и др.). Затем центробласты начинают превращаться в centroциты, которые мигрируют во внешние зоны фолликулов (*центроцитарная стадия*). Повышение аффинности BCR, по-видимому, происходит за счёт положительной селекции В-клеток с высокоаффинными BCR и отрицательной селекции клеток, имеющих низкоаффинные рецепторы.



СЕЛЕКЦИЯ ВЫСОКОАФФИННЫХ BCR ПРИ КЛОНАЛЬНОЙ ЭКСПАНСИИ

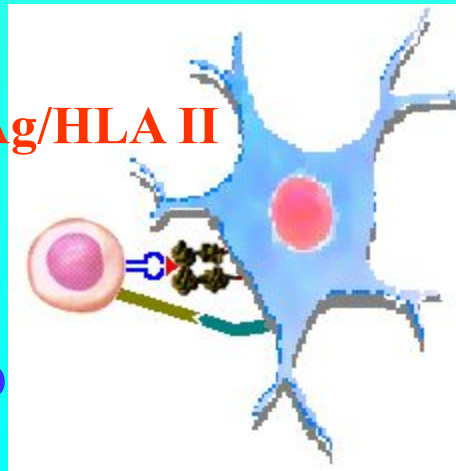
Если BCR и корецептор CD19 (на В-клетке) соответствуют комплексу антиген/HLA II и CD23 (на дендритной клетке), происходит экспрессия молекул семейства *bcl-2*, что предотвращает апоптоз В-клетки. В случае негативной селекции клетка подвергается апоптозу.

Апоптоз
отменяется

BCR $\square$ Ag/HLA II

Bcl-2+

CD



ДИФФЕРЕНЦИРОВКА Т-КЛЕТОК

Созревание Т-лимфоцитов происходит в периферических органах иммунной системы, где предшественники Т-эффекторов под влиянием цитокинов дифференцируются в эффекторные CD4⁺ Т-клетки, цитотоксические CD8⁺ Т-клетки, CD4⁺ и CD8⁺ клетки памяти. Одни и те же цитокины стимулируют рост и созревание Т-клеток: **IL2, IL7, IL9, IL12, IL15, IFN γ , TNF** и др. По ходу дифференцировки Т-клеток постепенно меняется их фенотип: усиливается экспрессия некоторых адгезивных молекул (**LFA-1, CD2, LFA-3**), появляется экспрессия **VLA-4**, у части - утрачиваются **L-селектины**. Наконец, к 10-му дню клинических проявлений инфекционного эпизода они превращаются в эффекторные клетки, TCRs которых имеют аффинность по отношению к антигену, совпадающую с исходной.



ДИФФЕРЕНЦИРОВКА В-КЛЕТОК

Созревание В-клеток начинается в лимфатических органах, а заканчивается в костном мозге. Некоторые В-клетки мигрируют в МАЛТ для синтеза секреторного IgA. Дифференцировка В-клеток характеризуется последовательными морфологическими изменениями: **иммунобласт, лимфоплазмоцитоподобная и плазматическая клетки**. Последняя является антителопродуцентом. Экспериментально показано, что иммунизация антигеном с одним и тем же эпитопом приводит к синтезу антител с различными паратопами. В начале наблюдается продукция IgM с пиком **на 2-3-й дни** клинического инфекционного эпизода. Все эти антитела имеют низкую аффинность по отношению к антигену. Затем появляются низкоаффинные IgG, которые постепенно превращаются в высокоаффинные с пиком **на 5-7-й дни**. Переключение изотипа зависит от влияния цитокинов и костимулирующих молекул.



ПЕРЕКЛЮЧЕНИЕ ИЗОТИПОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

CD40L $\square$ CD40

Острый инфекционный эпизод

1-й день

5-й день

9-й день

IgM

IgG

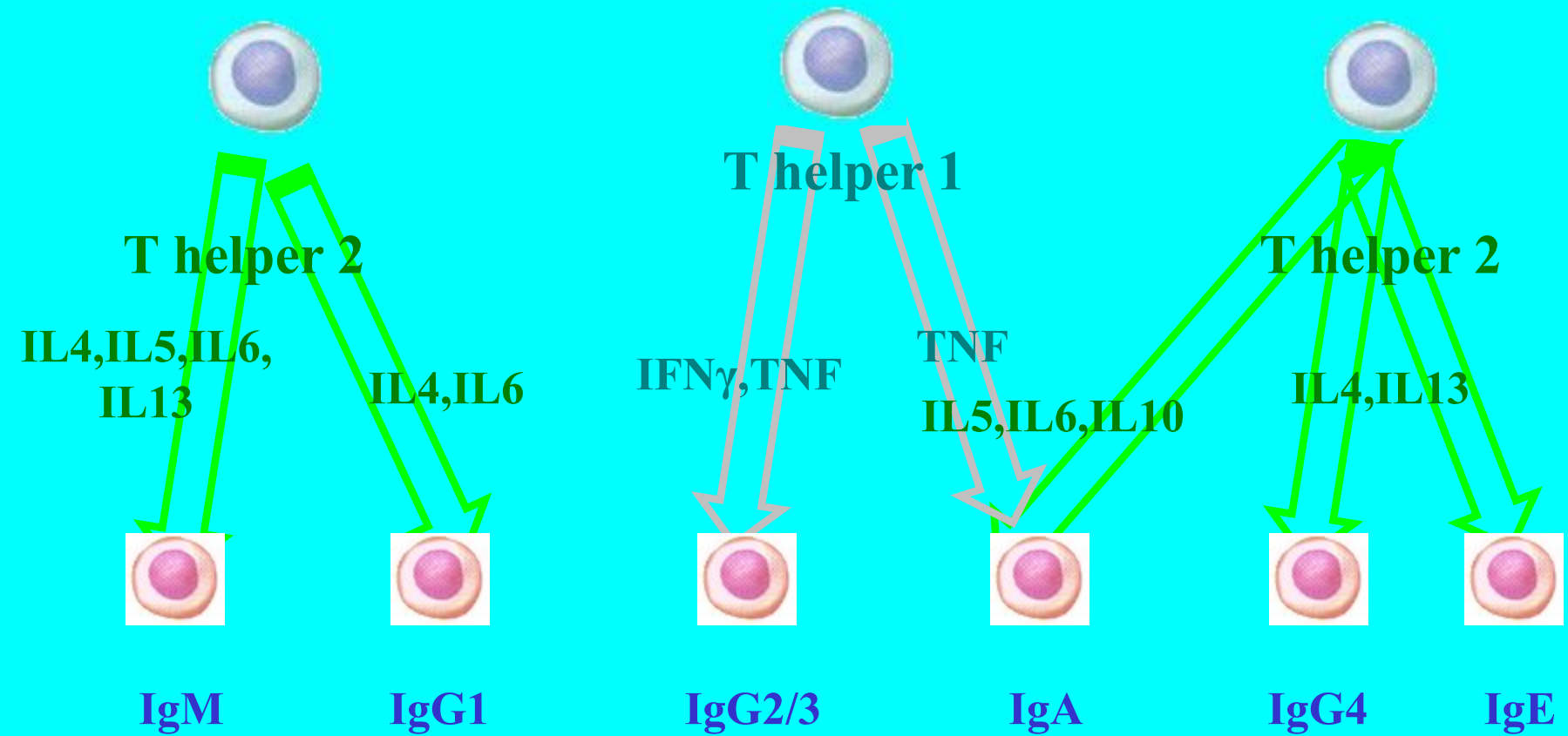
IgA

IgD

IgE



ЦИТОКИНОВАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПЕРЕКЛЮЧЕНИЯ ИЗОТИПОВ



ЭФФЕКТОРНЫЕ Т- И В-КЛЕТКИ

Дифференцирующиеся Т-клетки только изменяют свой фенотип, тогда как В-клетки через несколько морфологических стадий превращаются в плазматические.



**Эффекторная
CD4+
Т-клетка
воспаления**

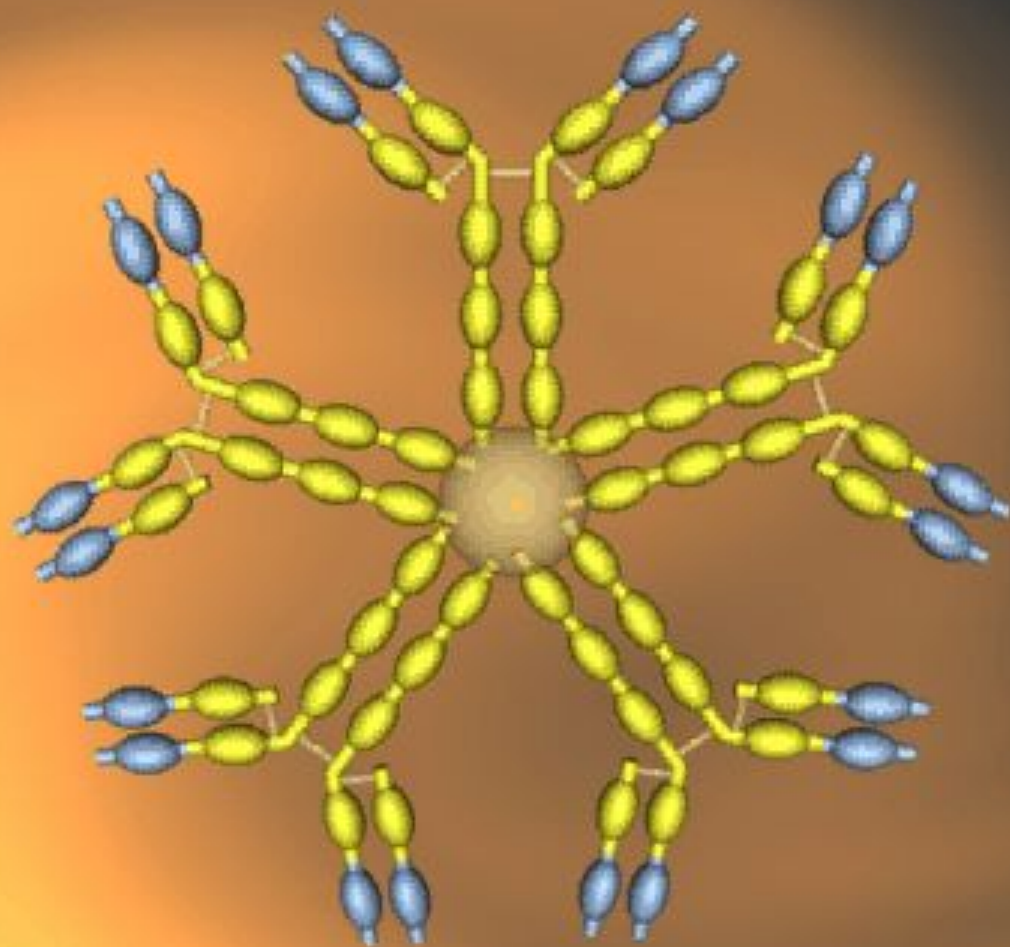


**Цитотокси-
ческая CD8+
Т-клетка**



**Плазматичес-
кая клетка
(антитело-
продуцент)**





КЛЕТКИ ПАМЯТИ

CD4+ Т-клетки памяти

CD8+ Т-клетки памяти

В-клетки памяти

Долгоживущие плазмоциты

пожизненные

- 1,5 года

Т-клетки памяти имеют фенотип: CD45RO, VLA-4^{hi}, CD44^{hi}, LFA-1^{hi}, CD2^{hi}, LFA-3^{hi}, быстрый рециклинг, не зависящий от HLA и костимулирующих молекул, и обладают способностью секретировать цитокины в более высоких концентрациях по сравнению с наивными клетками. По-видимому, они существуют в течение всей жизни индивида.

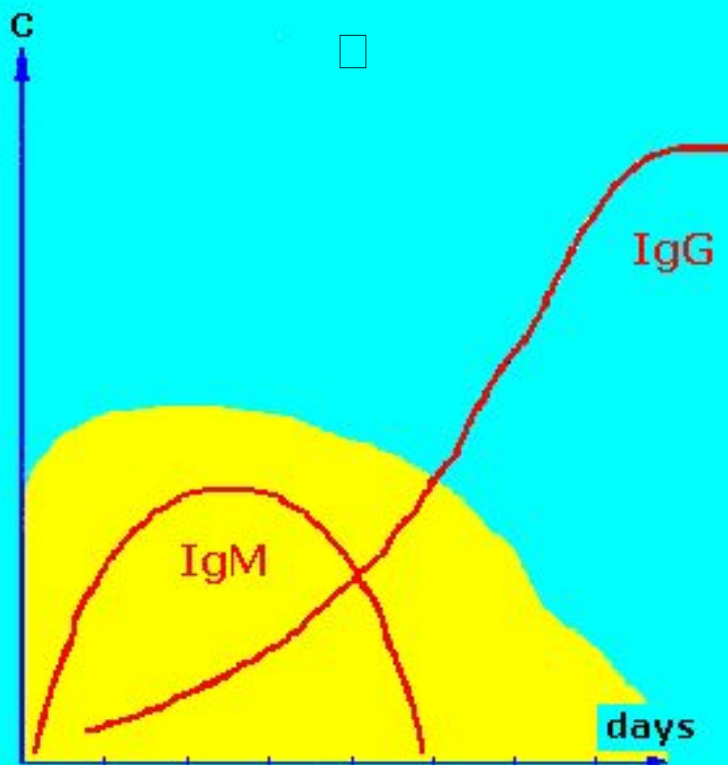
Для образования **В-клеток памяти**, также как для переключения синтеза изотипов иммуноглобулинов, необходима молекула CD40. Известен X-сцепленный синдром гипер-IgM-емии, при котором отсутствует экспрессия CD40 на В-клетках.

Долгоживущие плазматические клетки обеспечивают дополнительный механизм для поддержания продукции антител без антигенной стимуляции в течение 1,5 лет.



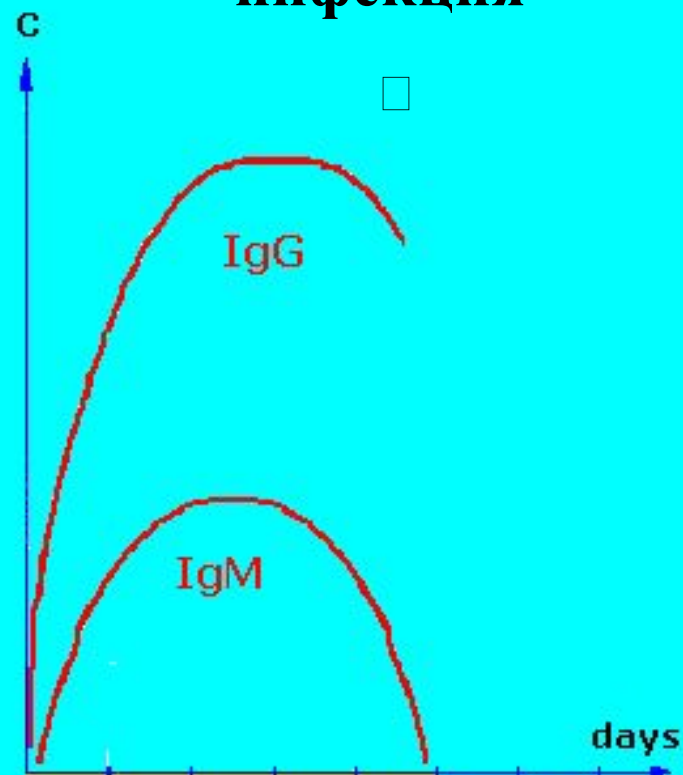
В-КЛЕТКИ ПАМЯТИ

Первичная инфекция



Клинические симптомы есть

Та же самая инфекция



Нет клинических проявлений



