

ЛЕКЦИЯ 8

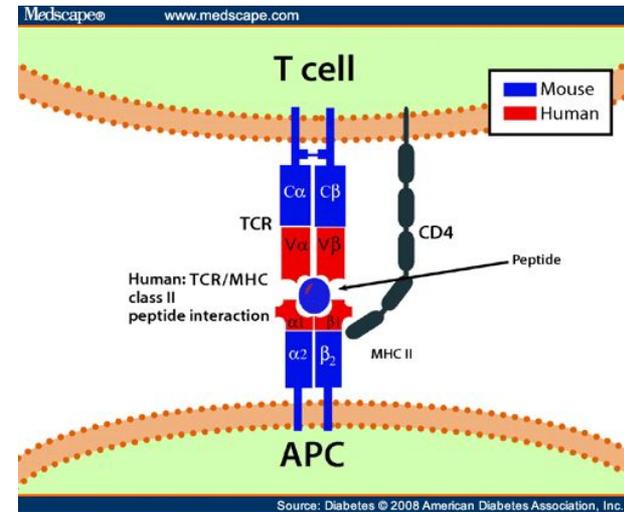
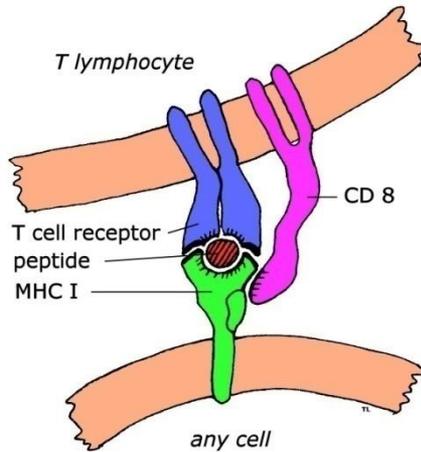
Т-ЛИМФОЦИТЫ (ЧАСТЬ 2).

Т-лимфоциты распознают АГ через TCR

Лиганд для TCR - поверхность, образованная а.к. остатками пептида и молекулы МНС.

TCR **CD8+** T cells – **MHCI** + пептид

TCR **CD4+** T cells – **MHCII** + пептид

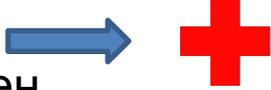


Много вариантов патогенов 

много вариантов молекул МНС

Молекулы МНС.

Функция – связывать пептиды внутриклеточных патогенов и представлять их на своей поверхности для узнавания Т-клетками. Т-клетка не может «увидеть» пока он а) интактный, б) внутри клетки, с) «соло» без молекулы МНС

Если Т-клетка «увидит» патоген 

НО: Патогены могут быстро эволюционировать и «ускользнуть» от иммунологического надзора. Мутация АГ Нет подходящей молекулы МНС

Т-клетка не может «узнать» АГ

Особенности МНС молекул – **полигенность** (у каждого индивидуума по несколько генов МНС I и МНС II) и **полиморфность** (у каждого гена – много аллелей, самые полиморфные семейства) **вариабельность** МНС в популяции увеличивается у популяции больше шансов преодолеть ускользание патогена от иммунологического надзора.

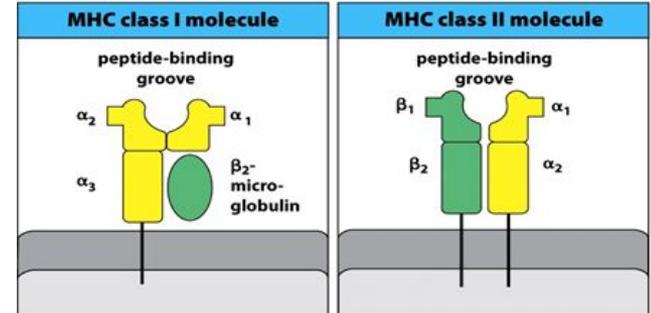
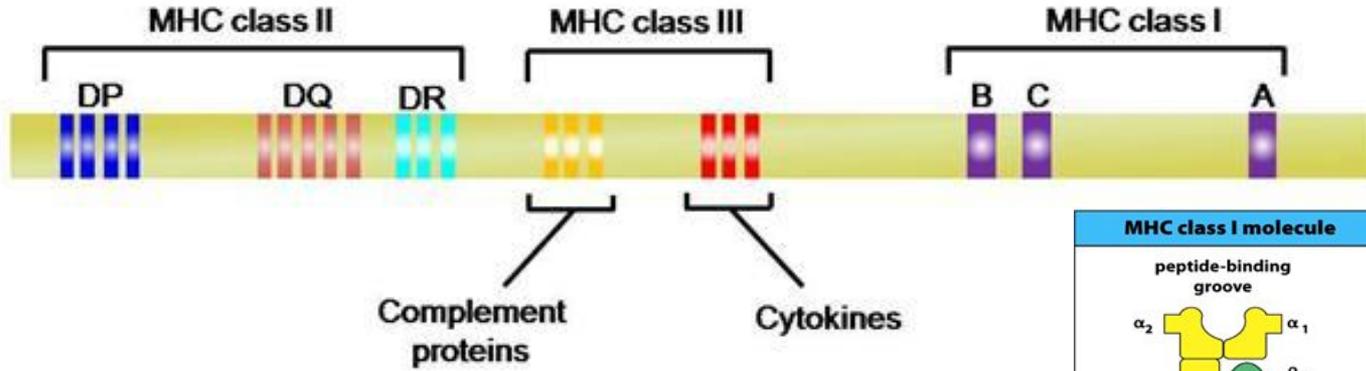
Human: HLA complex (chromosome 6)

4-7 x 10⁶ пар оснований

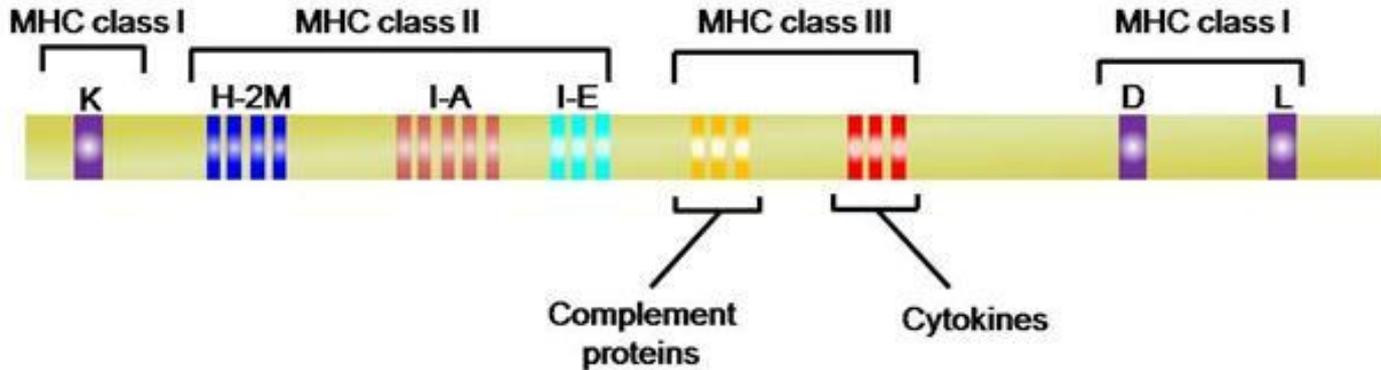
~200 генов

2001 г.

HLA – Human Leukocyte Antigens



Mouse: H-2 complex (chromosome 17)



HLA-DO – ингибитор HLA-DM

HLA-DM – for MHCII loading in vesicles

Gene structure of the human MHC

Tapasin

TAP-transporters

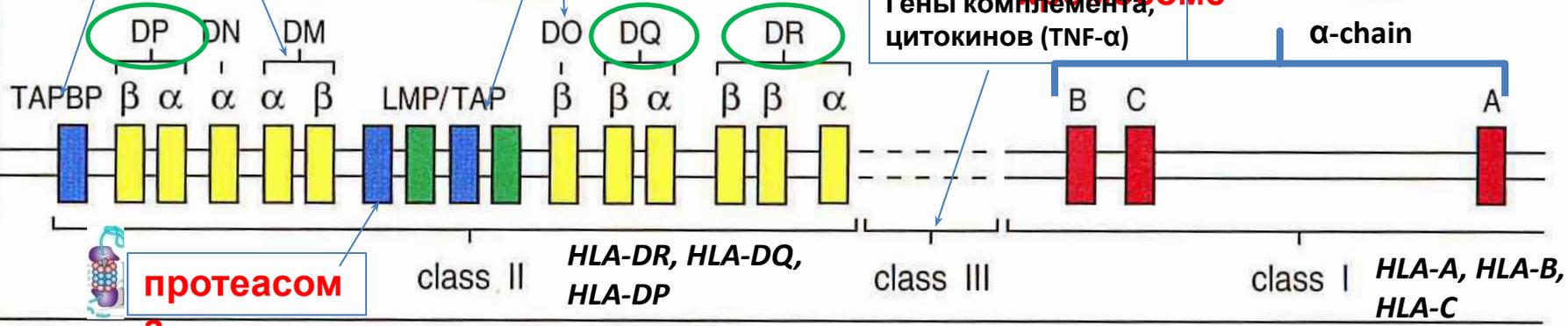


HLA

β2-microglobulin - в 15 хромосоме

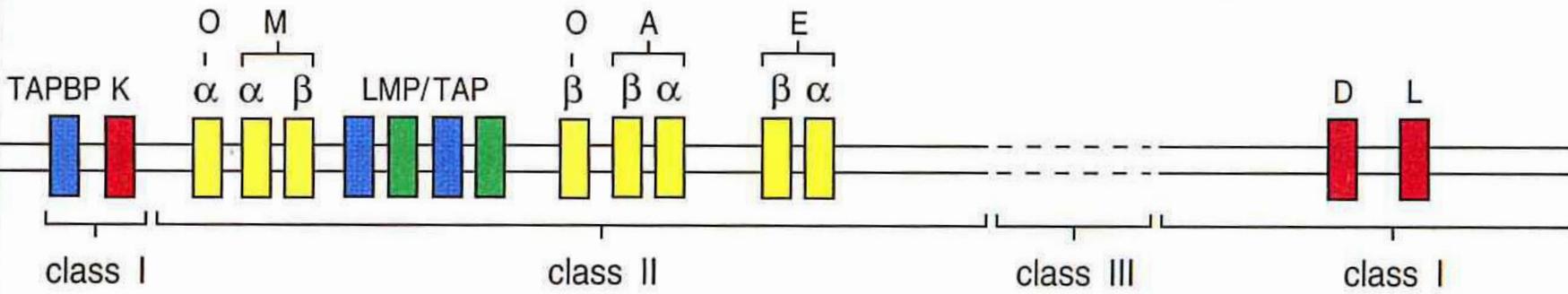
Гены комплемента, цитокинов (TNF-α)

α-chain

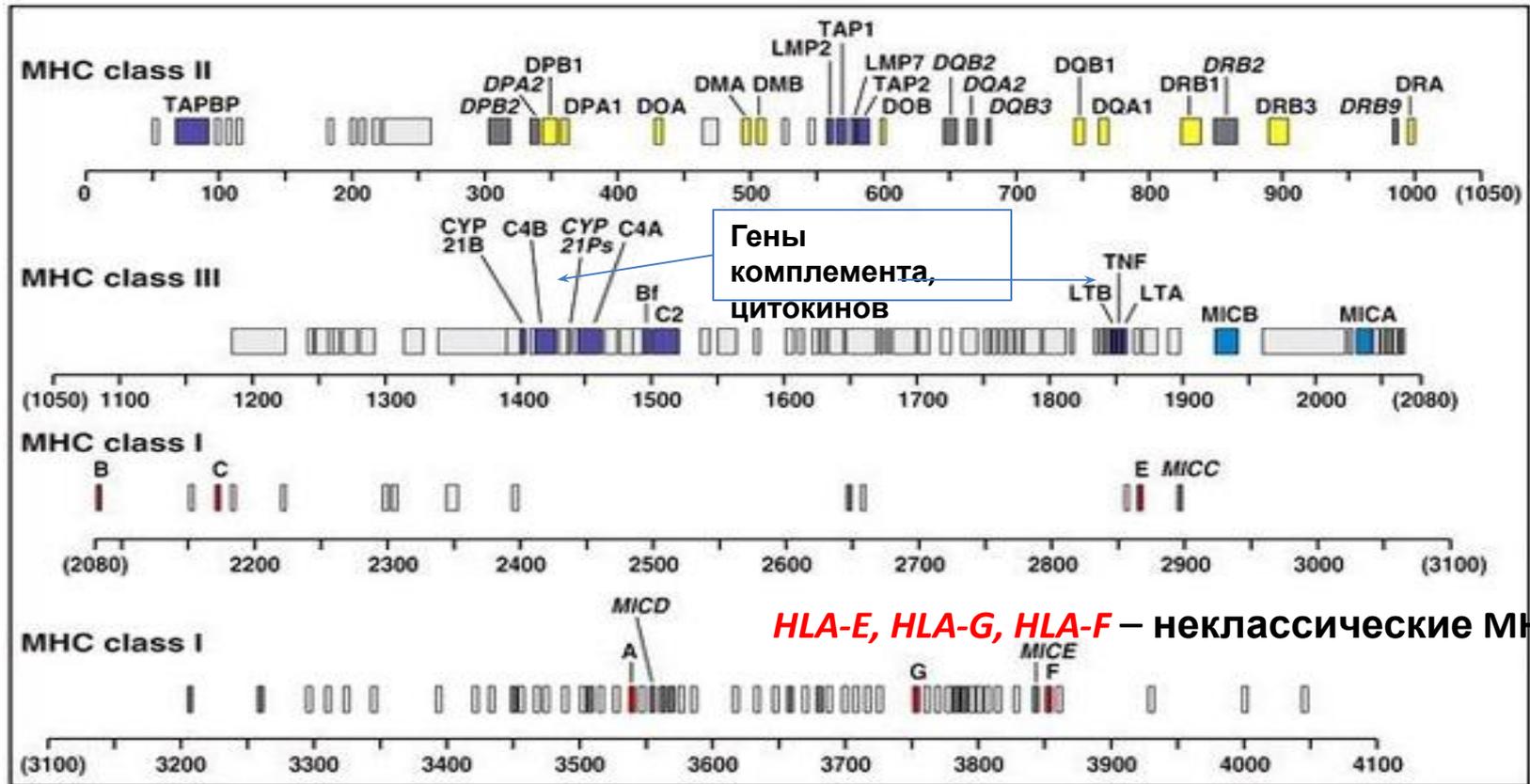


Gene structure of the mouse MHC

H-2



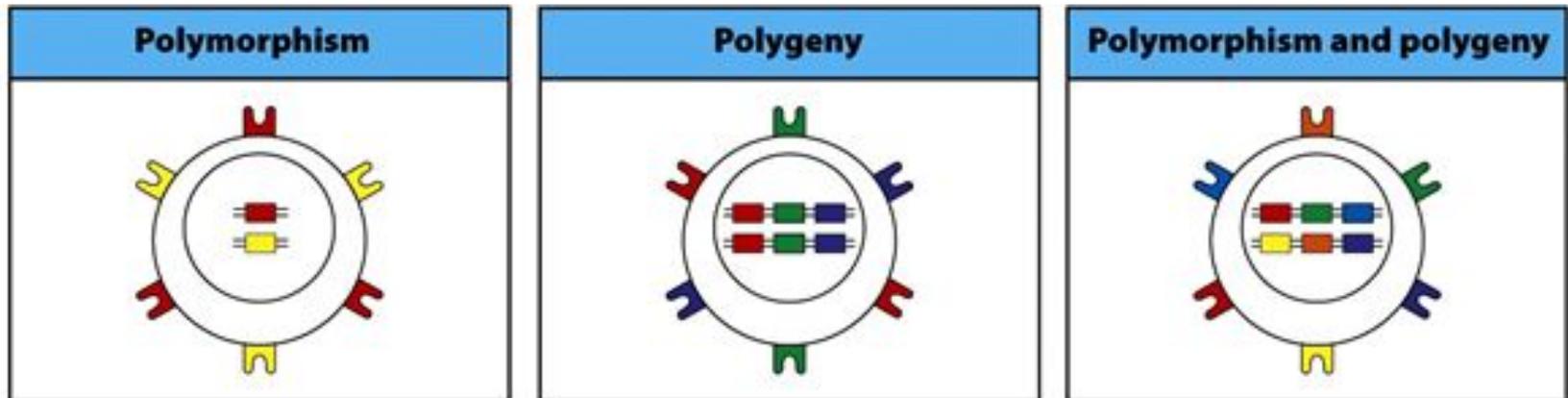
Генетическая карта МНС человека



Гены молекул МНС, доставляющих пептиды патогенов из клетки наружу, и гены вспомогательных белков, обеспечивающих этот транспорт, расположены вместе на хромосоме эволюционно закреплённая возможность одновременно регулировать экспрессию ключевых компонентов, обеспечивающих процессинг и презентацию АГ. (IFN- α , - β и - γ усиливают транскрипцию генов α -цепи МНСI, β 2-микроглобулина и, одновременно, компонентов протеосомы, тапасина и *TAP* генов. IFN- γ усиливает экспрессию МНСII и одновременно, HLA-DM усиление презентации АГ везикулярного компартмента)

Разнообразие молекул МНС создается:

- **полигенностью**. Каждый человек имеет на своих клетках по крайней мере три разных молекулы МНС I с похожей функцией (HLA-A, HLA-B, HLA-C) и три (иногда четыре) разных молекулы МНС II (HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DM).
- **полиморфизмом**. Популяция человека имеет огромное множество аллельных вариантов генов МНС I и МНС II. Экспрессия аллелей кодоминантна, что удваивает разнообразие молекул МНС у каждого индивидуума, создаваемое полигенностью.

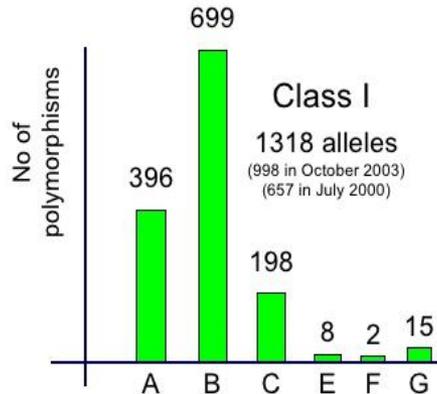


МНС I и МНС II белки высокополиморфны

Polymorphism in MHC Class I genes

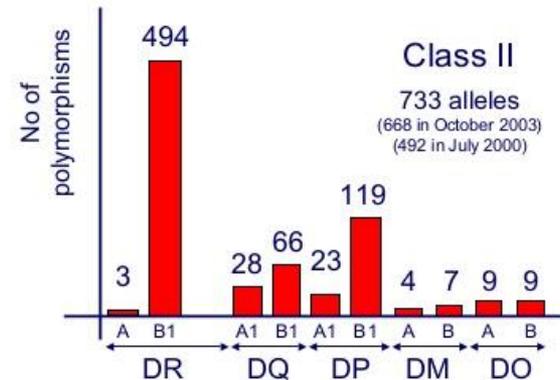
2005 г.

Variation >1% at a single genetic locus in a population of individuals
In the human population, over 1300 MHC class I alleles have been identified - some are null alleles, synonyms or differ in regions outside the coding region



Polymorphism in MHC Class II genes

Over 700 human MHC class II alleles have been identified - some are null alleles, synonyms or differ in regions outside the coding region



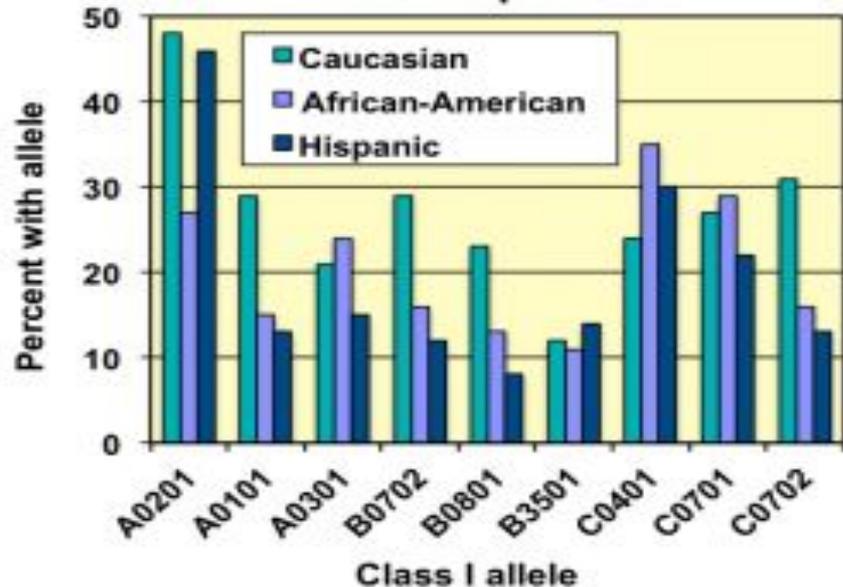
Data from www.anthonynolan.org.uk/HIG/index.html September 2005



Data from www.anthonynolan.org.uk/HIG/index.html September 2005

МНС гаплотип – комбинация аллелей, находящихся на одной хромосоме и наследуемая сцепленно

Allele frequencies



Частота встречаемости аллелей одного и того же гена МНС **разная** у разных рас человека.

Compare Global HLA Allele Frequencies

Using the Solberg HLA Allele Frequency Compilation at www.pypop.org/popdata

A*0101

B*0702

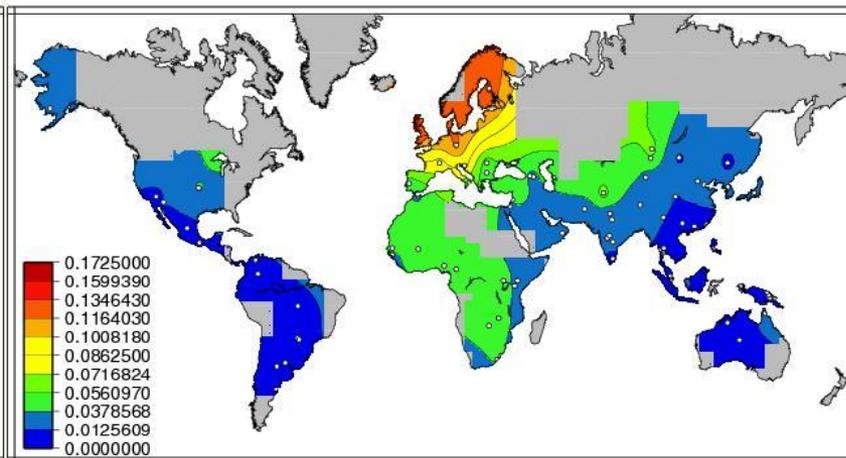
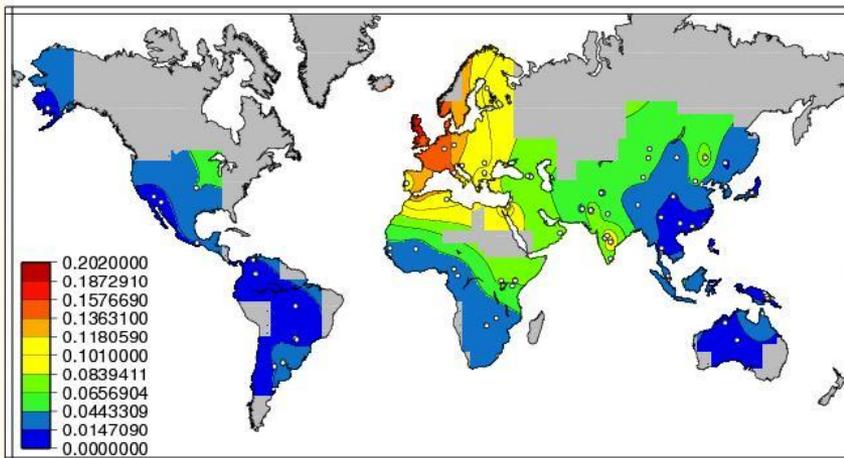
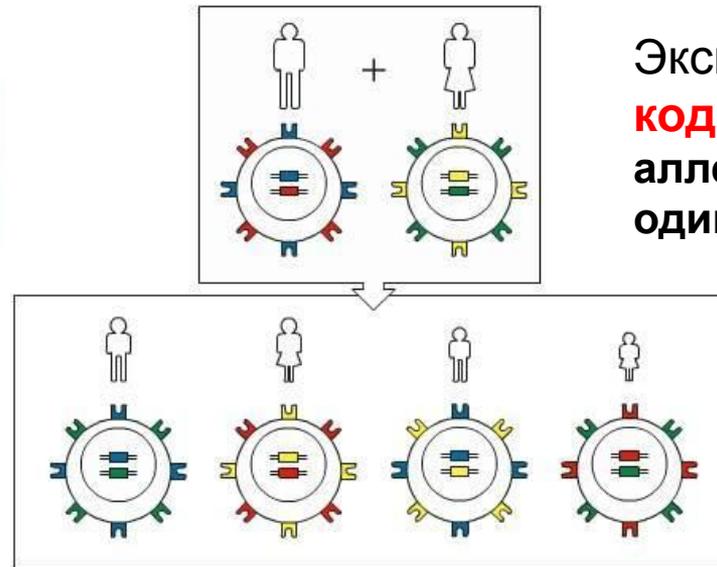


Image from Solberg et al. (2008) – see www.pypop.org/popdata for more info.

Image from Solberg et al. (2008) – see www.pypop.org/popdata for more info.

Полиморфизм и полигенность обеспечивают разнообразие молекул МНС у индивидуума и в популяции.

HLA polymorphism		
MHC class	HLA locus	Number of allotypes
MHC class I 9,437	A	506
	B	872
	C	274
	E	3
	F	4
	G	10
	MHC class II 3,105	DMA
DMB		7
DOA		3
DOB		4
DPA1		15
DPB1		114
DQA1		25
DQB1		66
DRA		2
DRB1		466
DRB3		37
DRB4		7
DRB5		15



Экспрессия МНС **КОДОМИНАНТНА** – оба аллеля экспрессируются одинаково в клетке

©1999 Elsevier Science/Garland Publishing

Множественность аллелей МНС

частота в популяции человека каждого аллеля низкая

большинство индивидуумов – гетерозиготы

- + увеличивается разнообразие молекул МНС
- трудно подобрать доноров для пересадки тканей

Зачем иммунной системе такое разнообразие МНС, поддерживаемое эволюцией?

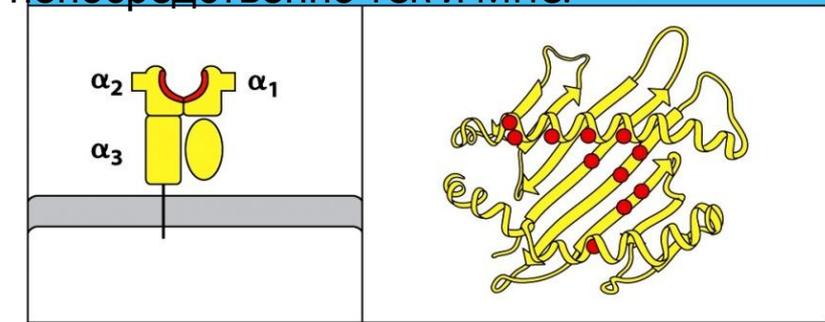
Figure 5.25 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Зачем иммунной системе нужен полиморфизм молекул МНС?

- Для эффективного Т-клеточного ответа на все разнообразие внутриклеточных АГ

МНС полиморфизм влияет на распознавание Т-клеткой антигена двумя способами: 1) изменяет связывание пептида с молекулой МНС и 2) изменяет контакт между

MHC class I variability



MHC class II variability

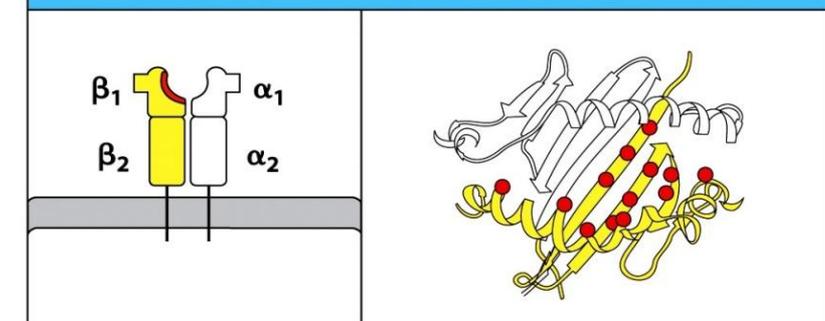


Figure 5.29 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Вариабельность аллельных вариантов молекулы МНС сосредоточена в области пептид-связывающей щели, но не только на «дне», в области связывания с пептидом, но и на «краях», в местах контакта с TCR. Разные аллельные варианты МНС связывают разные наборы пептидов, но с одинаковыми «якорными» а.к. , формирующими определенные мотивы.

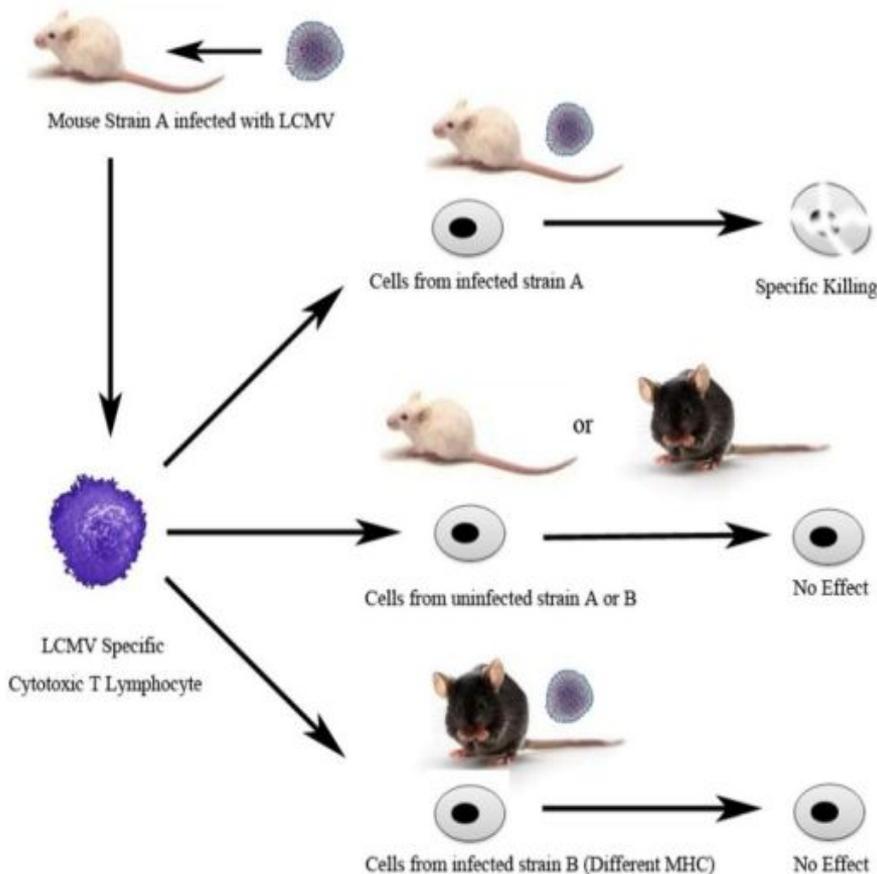
Нет подходящей молекулы МНС для определенного пептида → нет Т-клеточного иммунного ответа на данный пептид.

Не проблема для обычной гетерозиготной по генам МНС популяции, но проблема для изолированных популяций человека и инбридных животных.

Инбридные мыши отвечают не на все антигены!
Молекулы МНС контролируют Т-клеточный иммунный ответ – МНС restriction – МНС рестрикция.

Двойное распознавание (Double recognition) или МНС рестрикция (MHC restriction)

Peter Doherty and Rolf Zinkernagel – Нобелевская премия 1996 г. – для МНС I
 Для МНС II то же правило: активация Т-клеток макрофагами и В-клетками только при совпадении аллелей МНС II.



МНС рестрикция – потому что TCR не распознает антиген «соло», а только в комплексе с молекулой МНС.

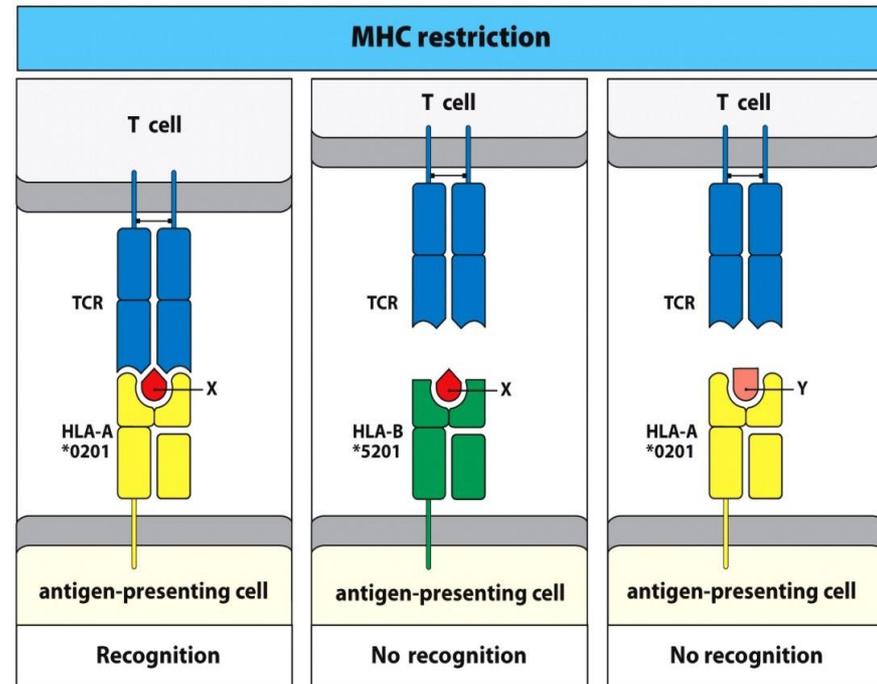


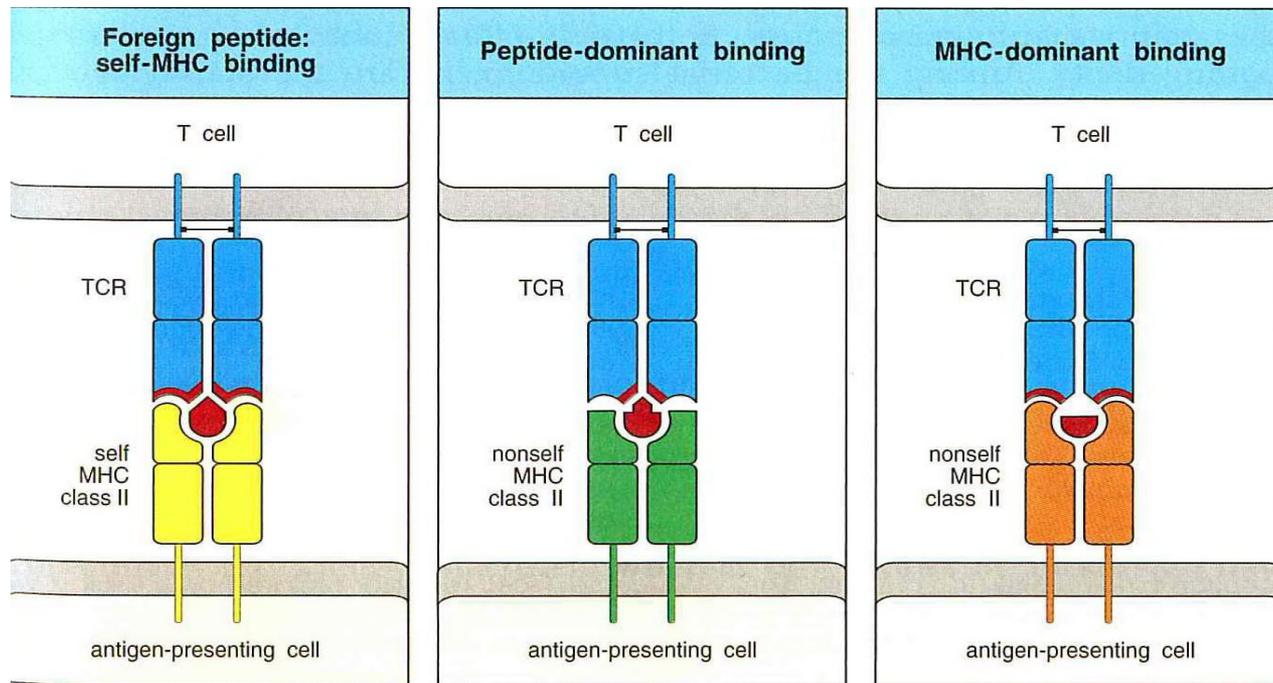
Figure 5.31 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

1-10% T-клеток распознают **аллогенные**, т.е. «не свои» МНС молекулы.

Феномен – аллореактивность (alloreactivity). Отторжение трансплантата и культура смешанных лимфоцитов (CD4+ Т-лимфоциты одного индивидуума активируются в присутствии лимфоцитов другого индивидуума).

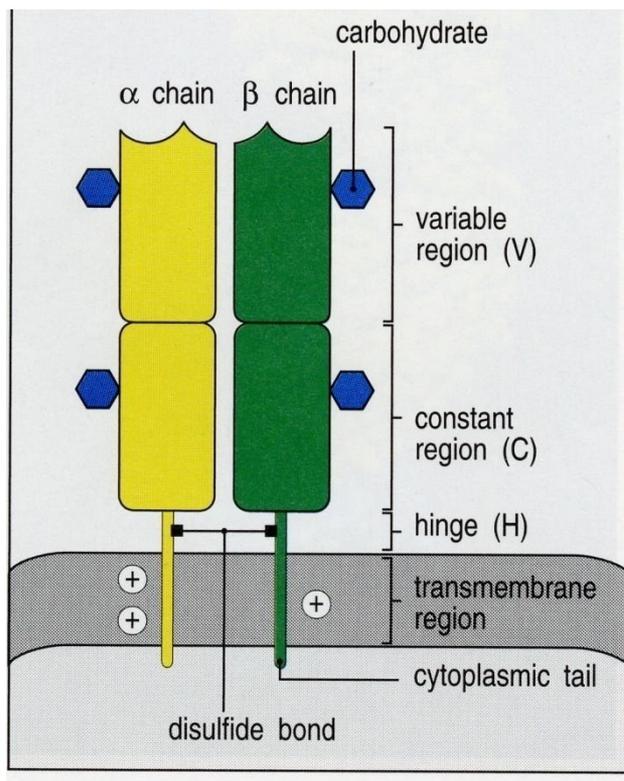
Две возможные теории для объяснения высокой частоты аллореактивных Т-клеток:

1. TCR распознает, в основном, чужеродный пептид в составе комплекса пептид-МНС (молекулярная мимикрия)
2. TCR распознает, в основном, чужеродный МНС в составе этого комплекса «disparate docking».



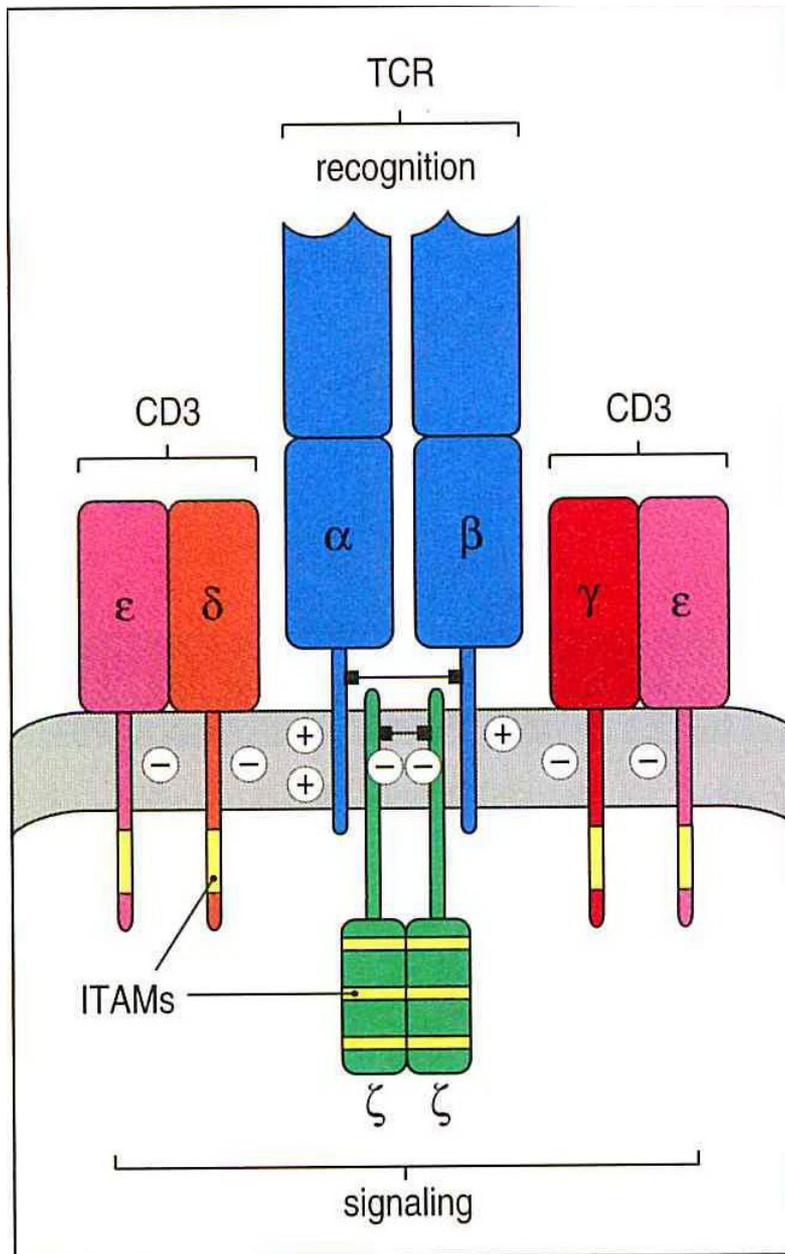
Еще одно объяснение – любой пептид, представленный **аллогеной молекулой** МНС, будет отличаться по своей 3D конформации и восприниматься как чужеродный.

TCR “узнал” пептид в комплексе с молекулой МНС. Что
дальше?
TCR – только для узнавания АГ, не может осуществить свою функцию
без дополнительных молекул, входящих в Т-рецепторный комплекс



Как устроен комплекс TCR?

Комплекс TCR состоит из варибельной АГ-распознающей части и инвариантных сигнальных белков



- TCR $\alpha\beta$ гетеродимер – обычно два в комплексе (АГ-распознающая часть)
- Инвариантные цепи:
CD3 комплекс (**CD3 γ** , **CD3 δ** , **2CD3 ϵ**)
+
2 **ζ** - цепи, гомодимер.
Функции инвариантных цепей:
 1. Доставка TCR на поверхность
 2. Сигналинг

Без комплекса CD3 TCR $\alpha\beta$ гетеродимер формируется в ЭПР, но не доходит до поверхности клетки. CD3 стабилизирует TCR в ЭПР.

ITAM мотивы – в сигнальных субъединицах. Всего – 10 ITAMs на один TCR.

Кластеризация TCR и ко-рецептора CD4 или CD8 **запускает** сигналинг в Т-клетке.

Киназы Lck всегда ассоциированы с цитоплазматической частью CD4 и CD8.

Здесь нет кросс-сшивки нескольких TCR, как в случае с BCR

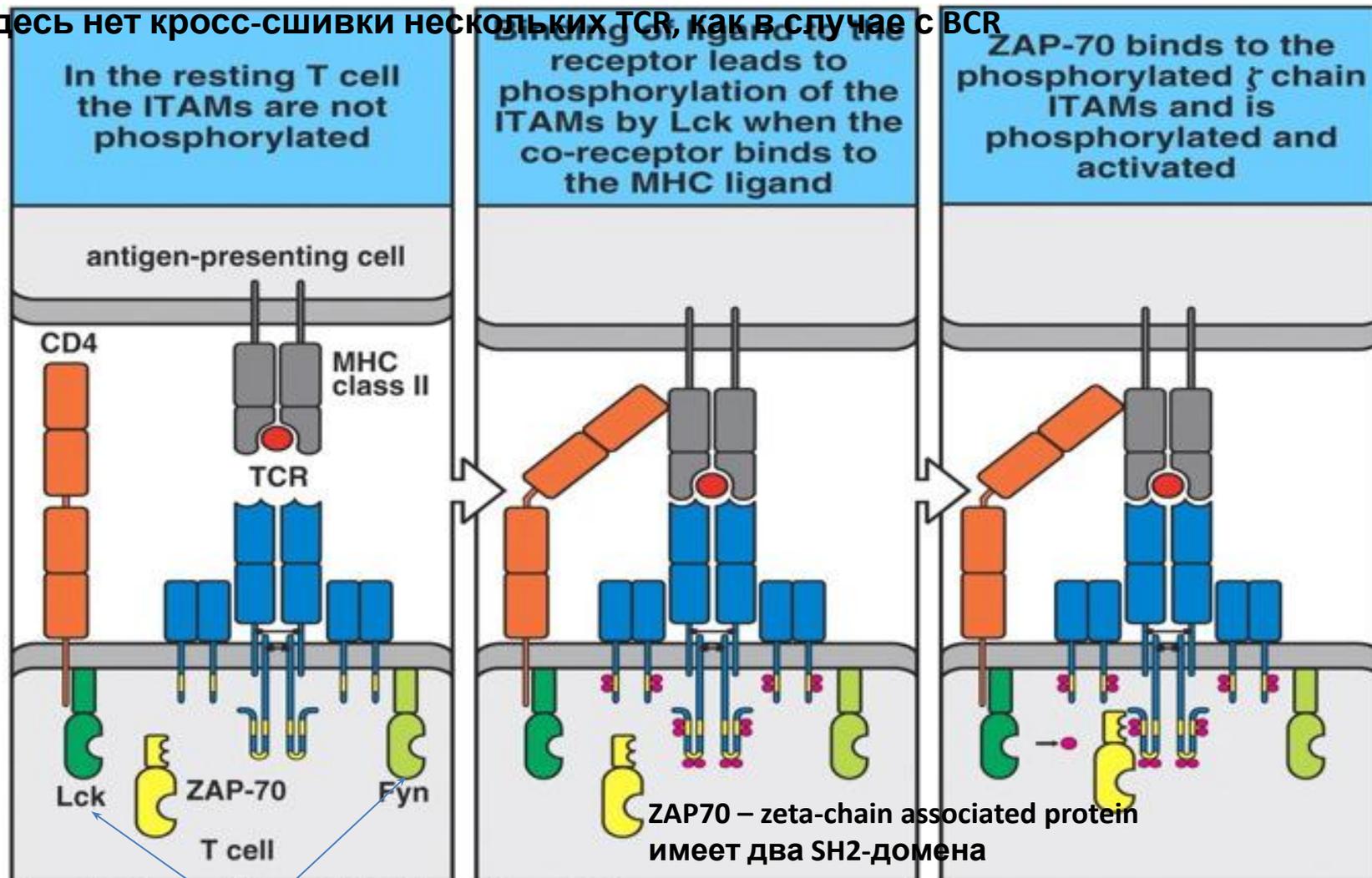


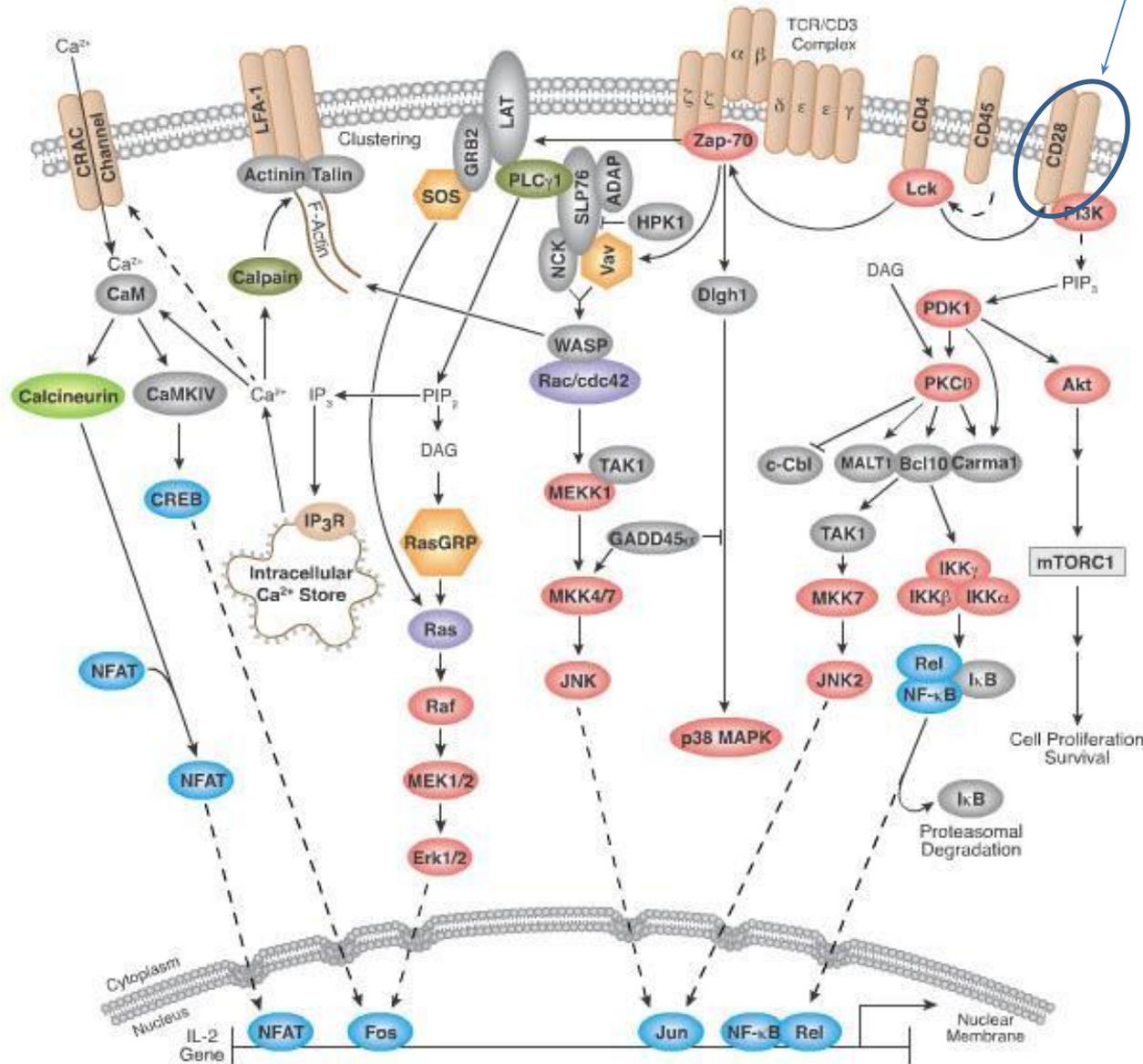
Figure 6-12 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

киназы семейства Src

Еще одна возможная роль ко-рецепторов CD4 и CD8 – стабилизируют низко аффинный комплекс TCR-АГ-МНС, продлевают этот контакт и т.о. дают время для развития

CD28 - Ко-стимулирующий рецептор

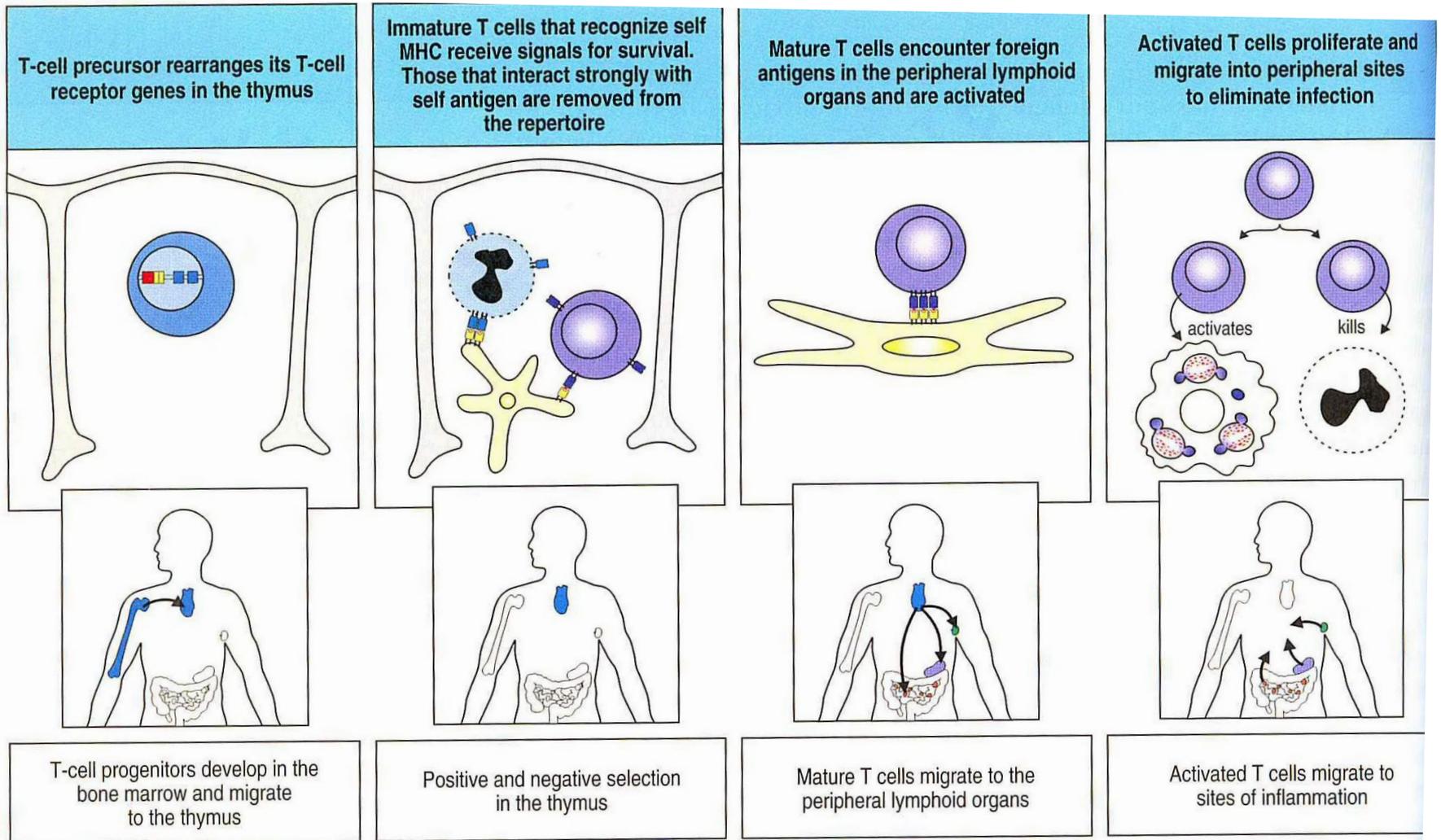
T Cell Receptor Signaling



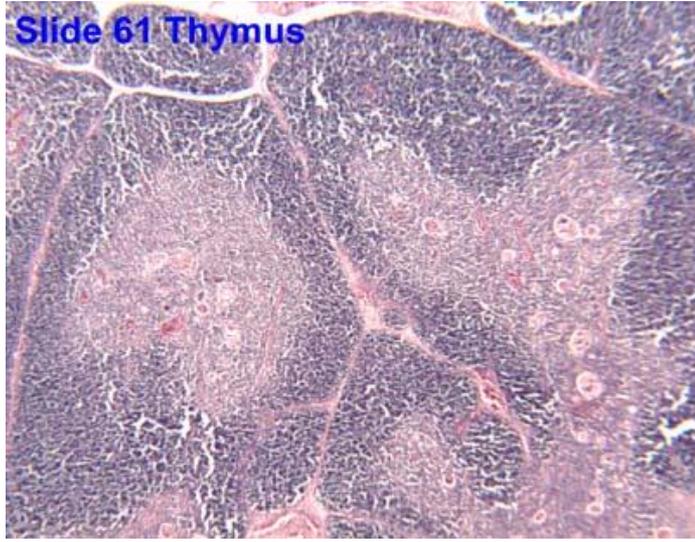
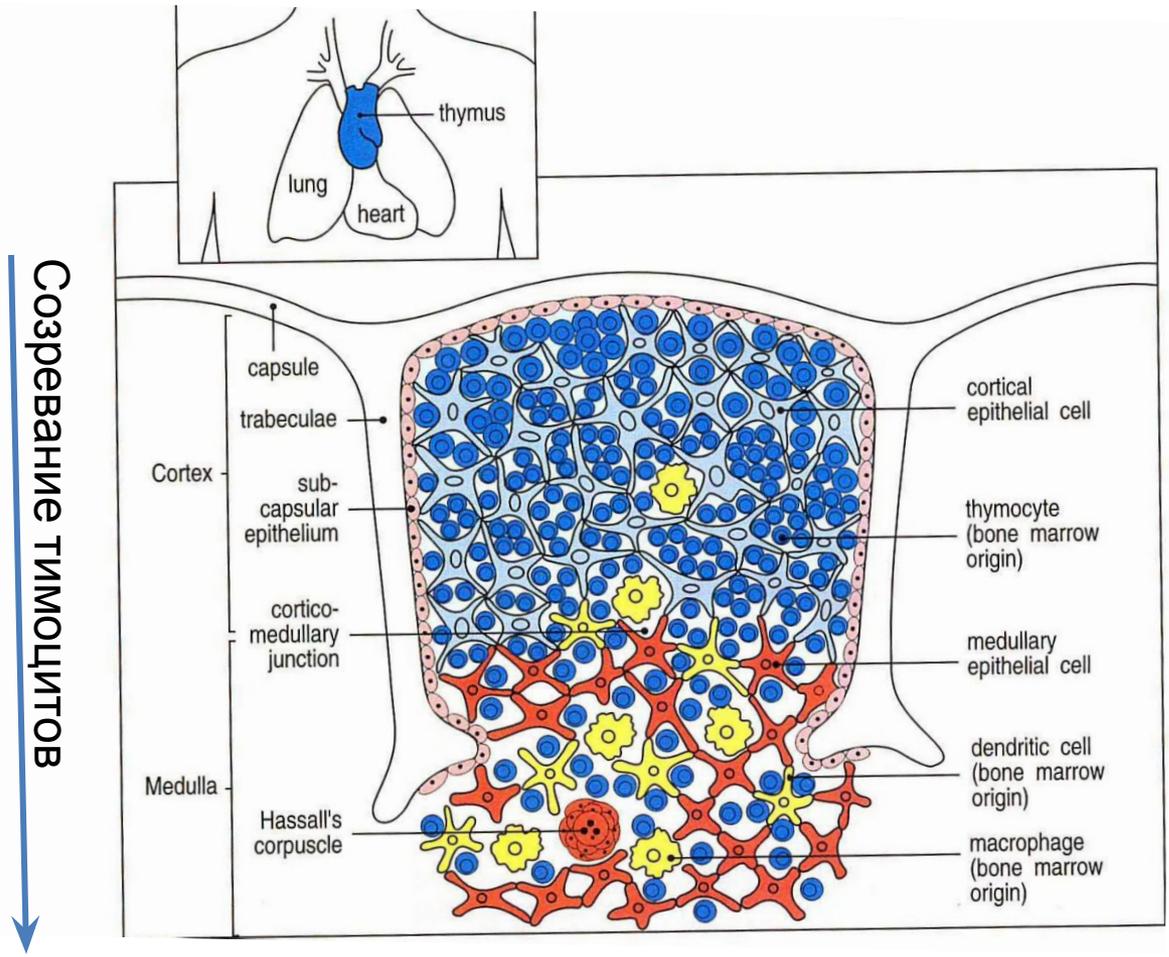
Основной результат сигнального каскада в Т-клетке – активация в ядре транскрипционных факторов NFAT и NF κ B, запускающих транскрипцию генов, связанных с размножением и дифференцировкой наивной Т-клетки в эффекторную клетку и секрецией IL-2, необходимого для облегчения дифференцировки наивной Т-клетки. IL-2 экспрессируется только когда NFAT и NF κ B одновременно связываются с

Развитие и дифференцировка Т-лимфоцитов.

Основные этапы



Т-лимфоциты зарождаются в костном мозге, но все важные процессы их дифференцировки происходят в тимусе.



Тимус – эпителиальный орган, развивается из энтодермы, эпителиальные клетки образуют строму для тимоцитов, дают сигналы для Т-клеточного развития через Notch1 рецептор на предшественнике **Т-клетки**.

Тимэктомия у детей редукция количества CD3+ Т-клеток и CD4+ Т-хелперов, но нормальное - CD8+CTL, созревание вне тимуса? Восстановление ткани тимуса? У взрослого

98% развивающихся в тимусе Т-клеток погибает внутри тимуса
 Причины: 1) если перестройка TCR непродуктивна – кортекс
 2) позитивная селекция - кортекс
 3) негативная селекция - медулла

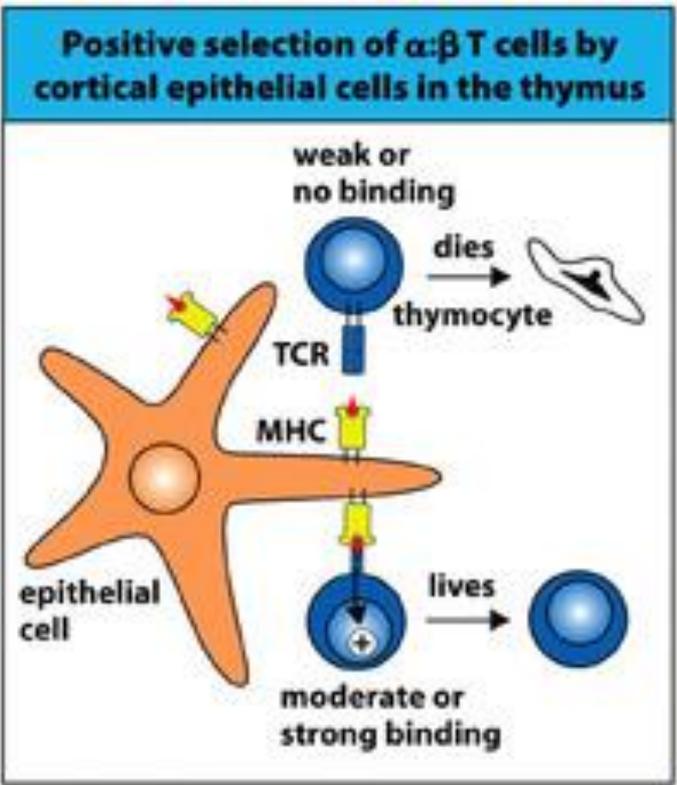
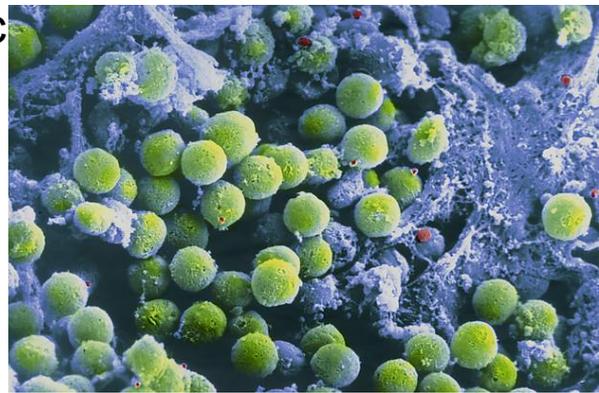


Figure 7.16 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

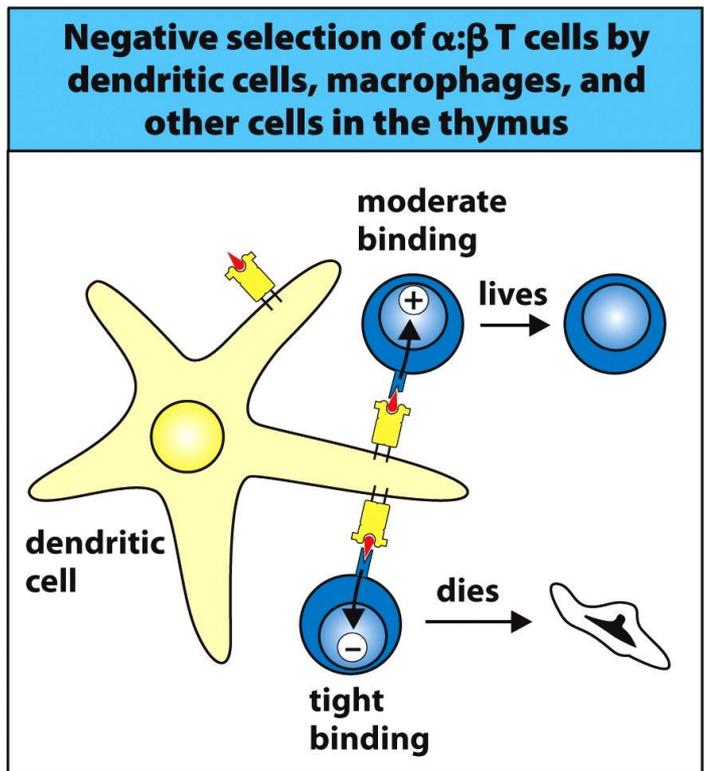


Figure 7.18 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Immature T Cells That Undergo Apoptosis Are Ingested By Macrophages In The Thymic Cortex

- ❖ Failure to make a productive rearrangement results in death by apoptosis (fate of about 98% of thymocytes)
 - **Macrophages** in thymus continually remove dead cells
 - Cells have been stained for **apoptosis** with a **red dye**
 - Apoptotic cells are scattered throughout the cortex but are rare in the medulla
 - Higher magnification **red** for **apoptotic cells** and **blue** for **macrophages**
 - **Apoptotic cells** are visible within macrophages

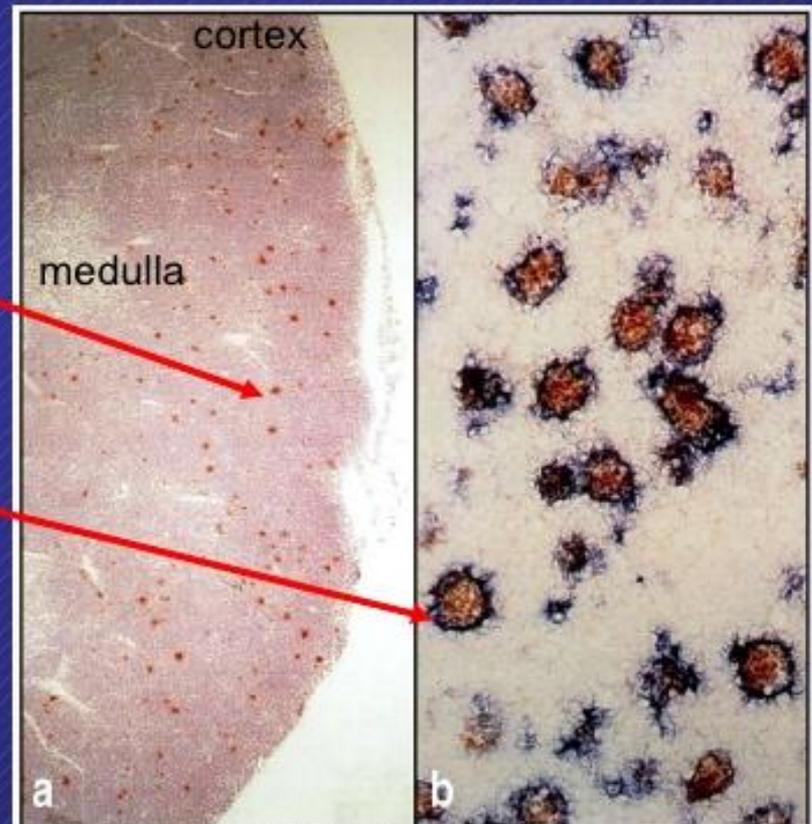
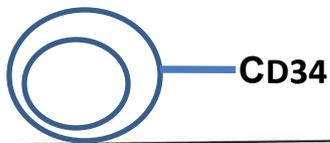


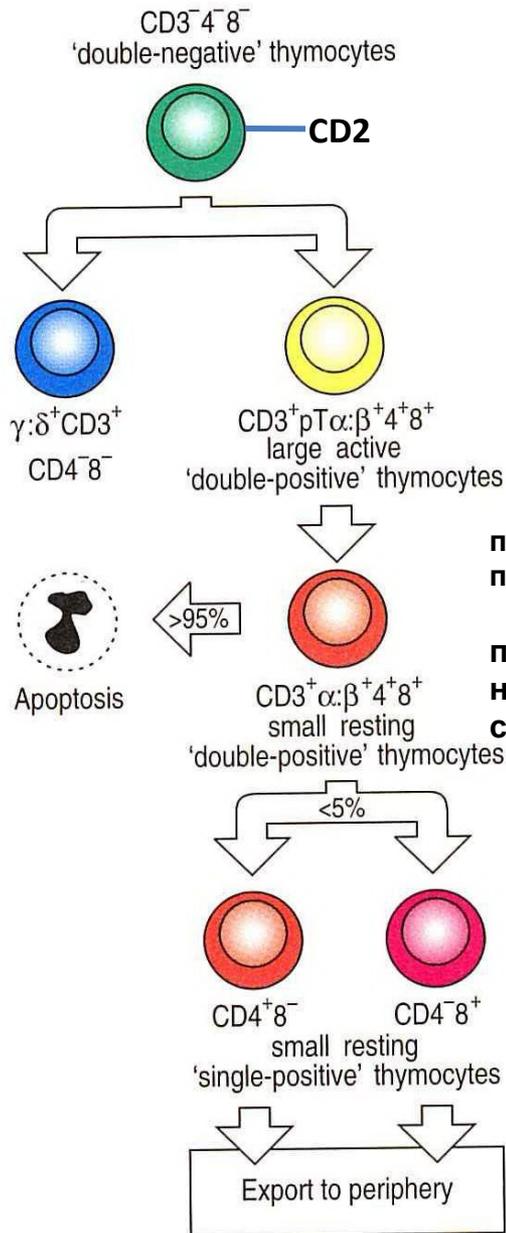
Figure 5-5 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

Костный
мозг



плюрипотентный предшественник

ТИМУС



проверка
перестройки β-цепи

позитивная и
негативная
селекция

Стадии дифференцировки тимоцитов
маркированы определенными
поверхностными молекулами

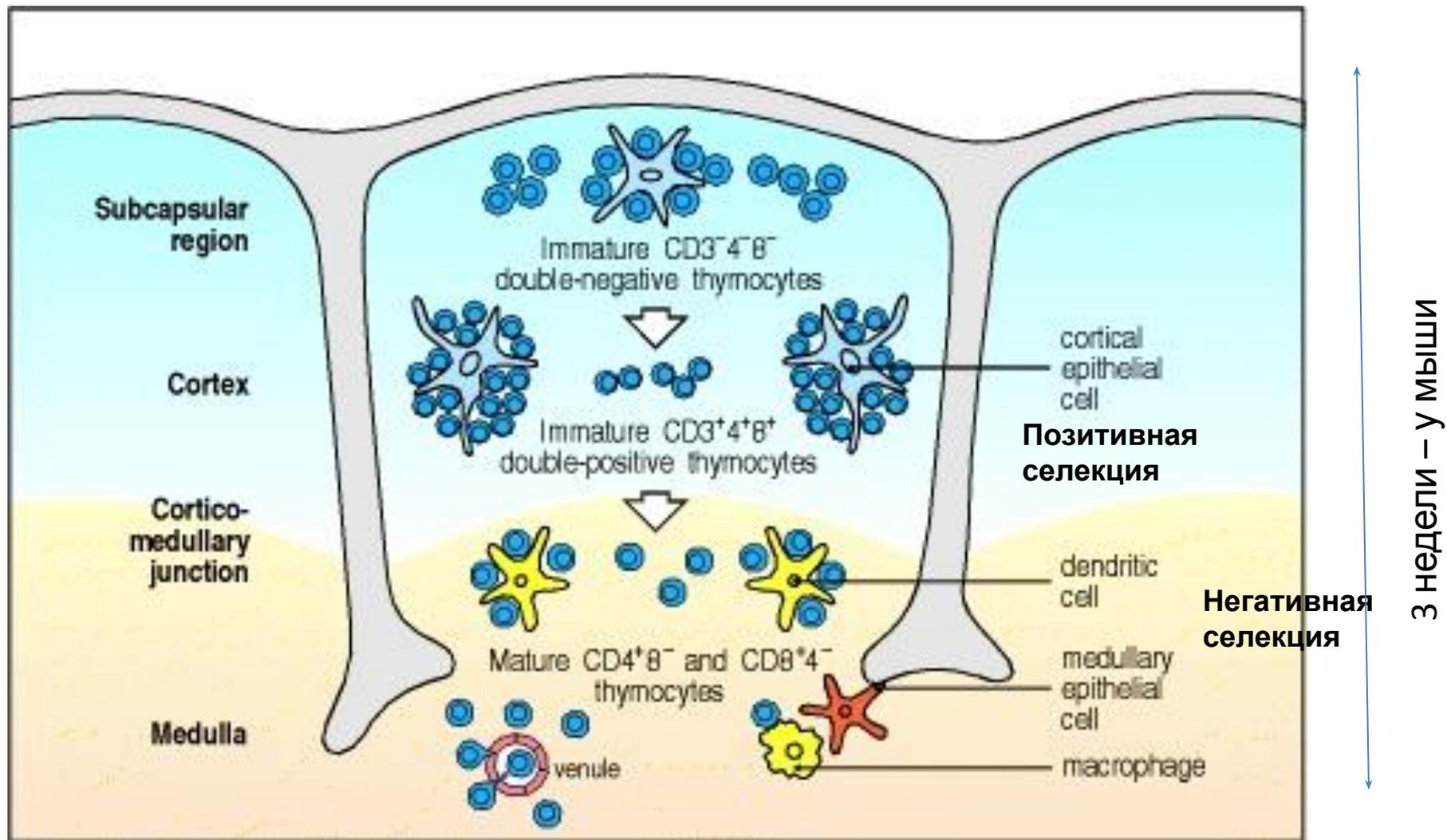
CD2 – первый специфичный
для Т-клеток маркер,
молекула межклеточной
адгезии

CD3 – маркер всех Т-клеток
(Tαβ и Tγδ)

CD4 – маркер Th1+Th2

CD8 – маркер CTL

Тимоциты в процессе развития движутся от кортекса к медулле и занимают определенные компартменты в тимусе.



где макрофаги в кортексе?

В тимусе в Т-клетках происходит ряд перестроек генных сегментов.

Задача – 1) собрать для TCR функциональный ген из сегментов,
2) обеспечить единственную специфичность TCR в данной Т-клетке

Подобно В-клеткам: - рецептор собирается в несколько стадий, каждая стадия

контролируется на корректность сборки,
- продуктивно перестроенный ген сразу же

экспрессируется.

- экспрессия рецептора означает прекращение

дальнейших

перестроек в только что активном локусе и переход к следующим стадиям развития.

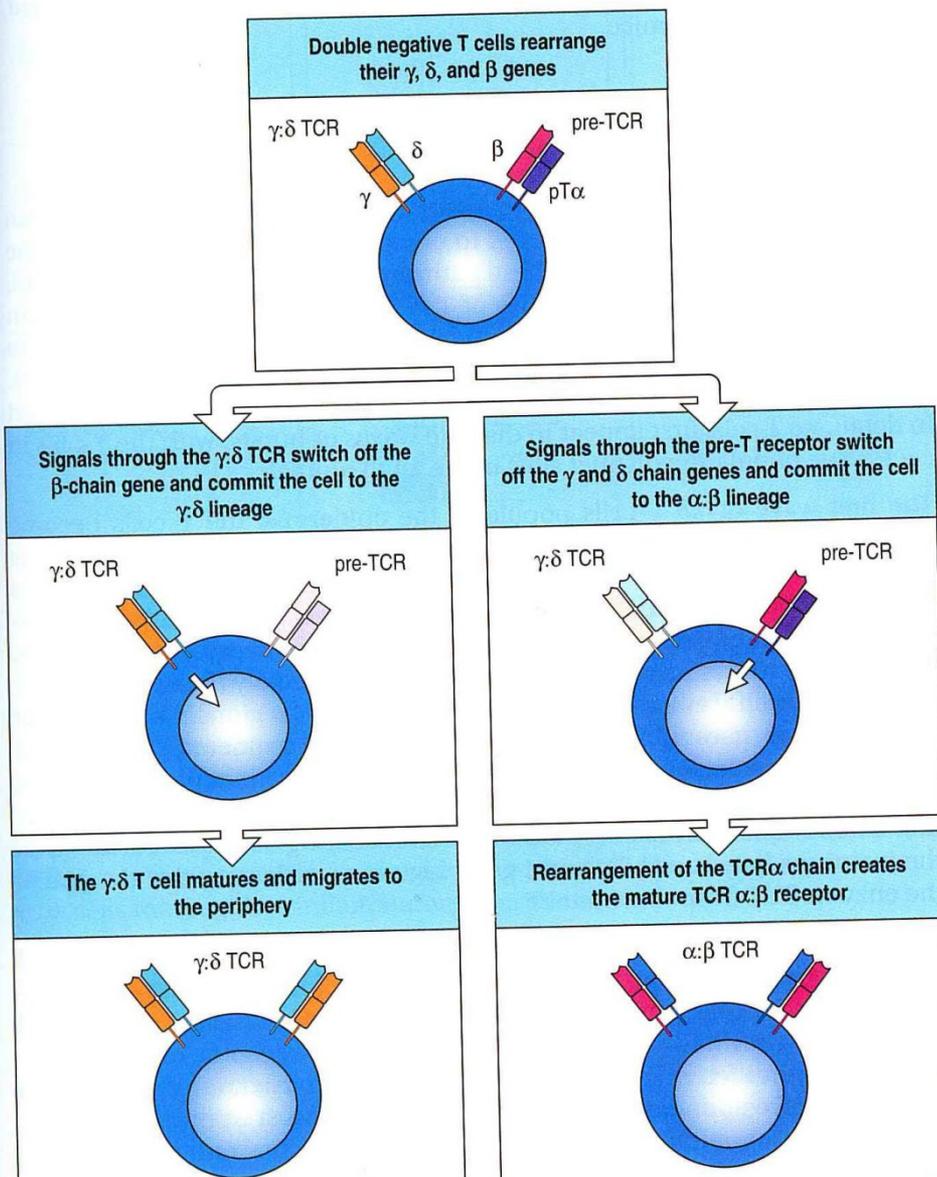
Различия с В-клетками: - в недифференцированной Т-клетке нужно сделать выбор между TCR $\alpha\beta$ и TCR $\gamma\delta$ и обеспечить экспрессию только одного вида рецептора

- перестройки в V α не прекращаются с образованием

TCR,

а продолжают до получения сигнала и позитивной селекции рецептора (нет аллельного исключения в α -цепи)

цепи)



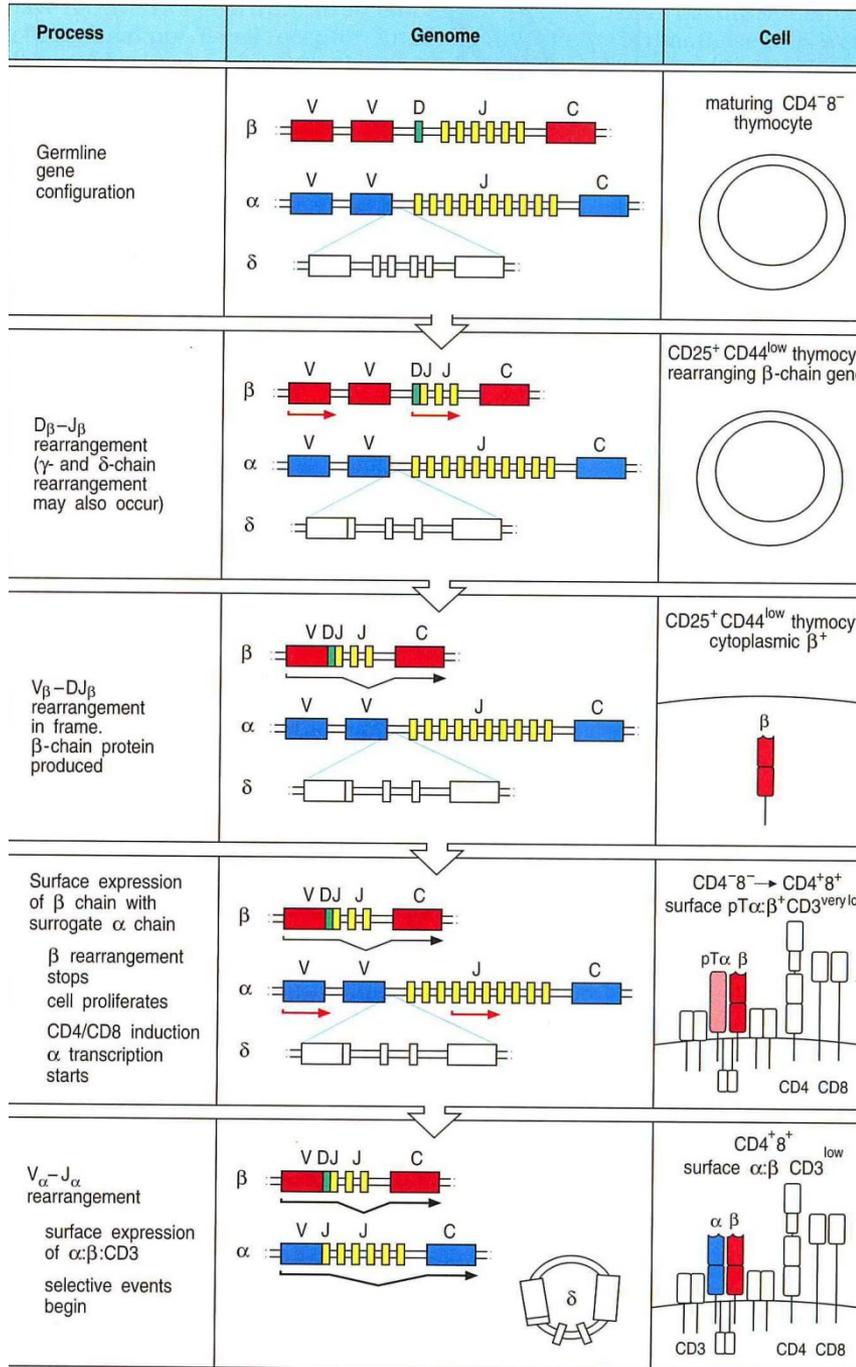
Т-клетки, несущие TCR $\alpha\beta$ и TCR $\gamma\delta$ возникают из общего предшественника.

Локусы γ , δ и β начинают перестраиваться одновременно. Но β -цепь заканчивает перестройку, как правило, раньше, чем две цепи γ , δ .

TCR $\gamma\delta$ и пре-TCR $\alpha\beta$ «сигналят» конститутивно

Сигналы через TCR $\gamma\delta$ и через пре-TCR $\alpha\beta$ конкурируют в определении дальнейшего направления дифференцировки Т-клетки. Кто первый сформирует полноценный рецептор.

Первыми в эмбриональном развитии появляются $\gamma\delta$ Т-клетки, через несколько дней - $\alpha\beta$ Т-клетки. Но $\alpha\beta$ Т-клеток больше, чем $\gamma\delta$ Т-клеток



Стадии генетических перестроек в αβ Т-клетках

Пре-TCR – функциональный рецептор с сигнальными свойствами.
Экспрессия β-цепи в составе пре-TCR - сигнал для Т-клетки:

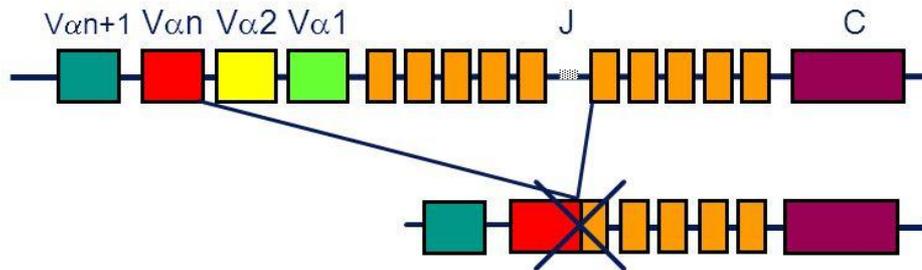
- остановить дальнейшую перестройку β-цепей
- пролиферировать
- экспрессировать CD4 и CD8
- начать перестройку α-цепи

Т-клетка готова к селекции по своей способности узнавать свои пептиды в комплексе со своими молекулами МНС.

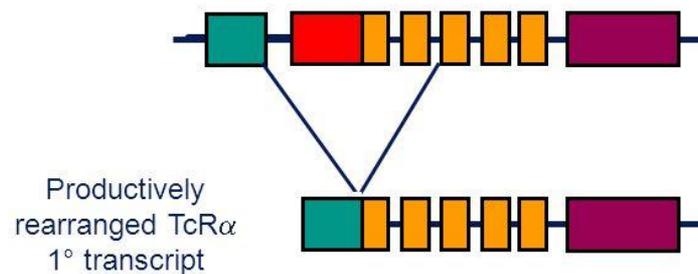
Гены **α -цепи TCR** проходят через последовательные перестройки до тех пор, пока позитивная селекция или смерть клетки не прервет этот процесс

TcR α gene rearrangement RESCUE PATHWAY

There is only a 1:3 chance of the join between the V and J region being in frame



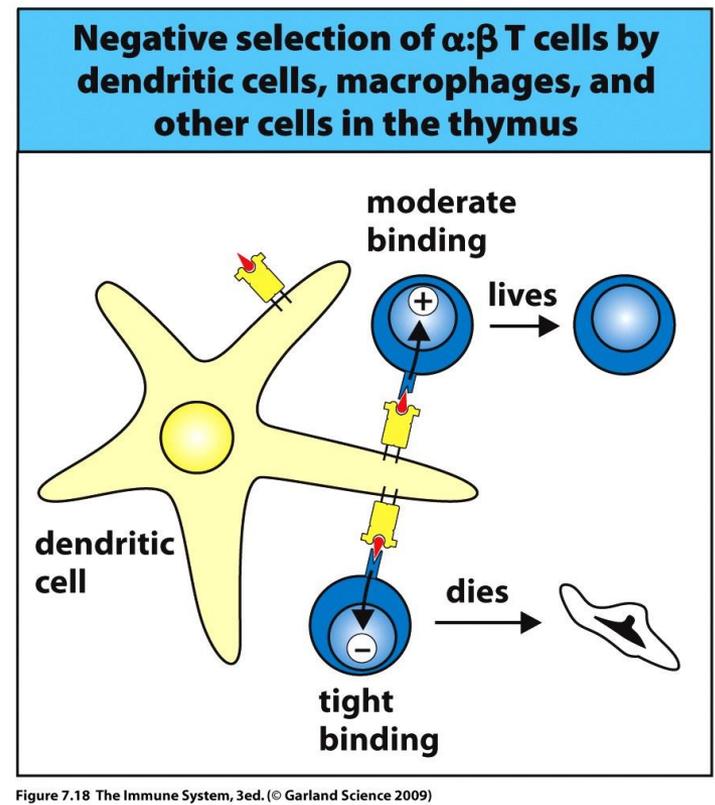
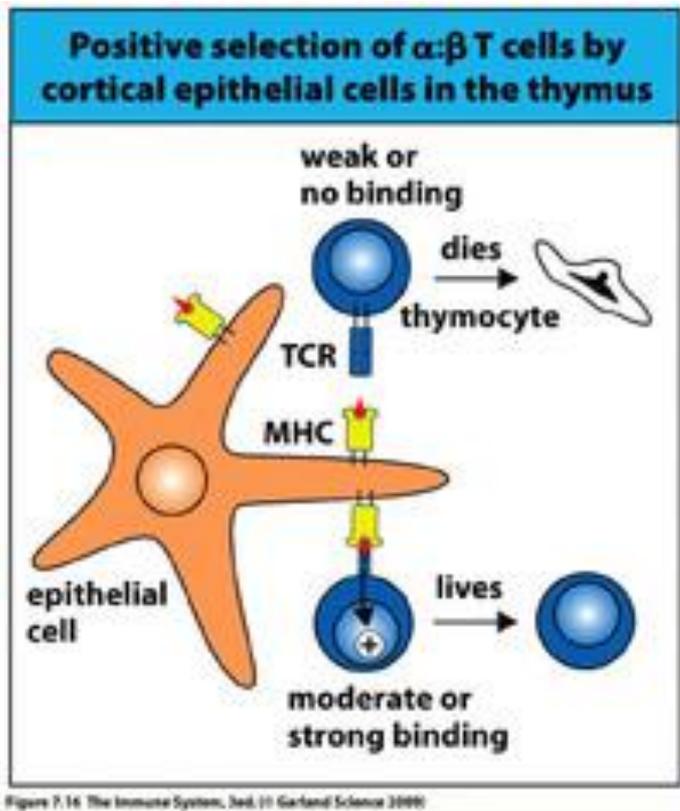
α chain tries for a second time to make a productive join using new V and J elements



Для α -цепи нет аллельного исключения, в одной клетке теоретически могут быть **две α -цепи**, но позитивная селекция обеспечивает только **одну функциональную** специфичность T-клетки, т.к. процесс перестройки α -цепи прекращается сразу же после взаимодействия TCR с собственными МНС.

98% дифференцирующихся в тимусе Т-клеток погибает внутри тимуса

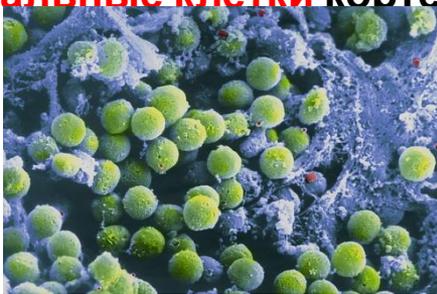
- Причины:
- 1) если перестройка непродуктивна – кортекс
 - 2) позитивная селекция - кортекс
 - 3) негативная селекция - медулла



Позитивная селекция:

- Определяет репертуар TCR. Тимоциты, имеющие TCR, который не может взаимодействовать с комплексом собственных МНС:собственный АГ, выставленном на поверхности эпителиальных клеток тимуса, погибают в тимусе.**
- Координирует экспрессию CD4 и CD8 со специфичностью TCR данной Т-клетки и определяет возможные эффекторные функции этой клетки, т.е. определяет фенотип и эффекторную функцию Т-клетки.**
(CD4-----МНСII-----секреция цитокинов, CD8-----МНСI-----CTL)

- **Эпителиальные клетки** кортекса опосредуют позитивную селекцию Т-клеток в тимусе



Vare (голый, лишенный) lymphocyte syndromes – нет экспрессии молекул МНСII на лимфоцитах и эпителиальных клетках тимуса – количество CD8+ клеток нормальное – нет CD4+ Т-клеток , лечение – пересадка костного мозга



Негативная селекция

- Т-клетки, взаимодействующие сильно с собственными АГ, удаляются в тимусе
- АГ-презентирующие клетки костно-мозгового происхождения (дендритные клетки и макрофаги) направляют негативную селекцию в медуллярной части тимуса

