

Клеточный иммунитет: дифференцировка Т-лимфоцитов. Основные субпопуляции Т-лимфоцитов. Клеточная цитотоксичность, механизм, биологическое значение.

Регуляторные функции Т-лимфоцитов. Методы изучения клеточного иммунитета

Кафедра иммунологии и аллергологии

- Иммунная система исторически разделена на две части — систему гуморального иммунитета и систему клеточного иммунитета. В случае гуморального иммунитета, защитные функции выполняют молекулы, находящиеся в плазме крови, но не клеточные элементы. В то время как в случае клеточного иммунитета защитная функция связана именно с клетками иммунной системы. Лимфоциты кластера дифференцировки CD4 или Т-хелперы осуществляют защиту против различных патогенов.

- Клеточный иммунитет (англ. Cell-mediated immunity) — это такой тип иммунного ответа, в котором не участвуют ни антитела, ни система комплемента. В процессе клеточного иммунитета активируются макрофаги, натуральные киллеры, антиген-специфичные цитотоксические Т-лимфоциты, и в ответ на антиген выделяются цитокины.

Система клеточного иммунитета выполняет защитные функции следующими способами:

- путём активации антиген-специфических цитотоксичных Т-лимфоцитов, которые могут вызывать апоптоз соматических клеток, демонстрируя на поверхности эпитопы чужеродных антигенов, например, клеток, заражённых вирусами, содержащими бактерии и клеток опухолей, демонстрирующих опухолевые антигены;
- путём активации макрофагов и натуральных киллеров, которые разрушают внутриклеточные патогены;
- путём стимулирования системы, принимающие участие в адаптивном иммунном ответе и врождённом иммунном ответе, секреции цитокинов, которые оказывают влияние на другие клетки иммунной системы.

Основные характеристики гуморального и клеточного иммунитета

Гуморальный иммунитет

Опосредован антителами

Клетки-эффекторы — В-лимфоциты

Пассивный иммунитет
формируется при введении
сыворотки

Основа антибактериального
иммунитета

Клеточный иммунитет

Опосредован клетками

Клетки-эффекторы — Т-лимфоциты

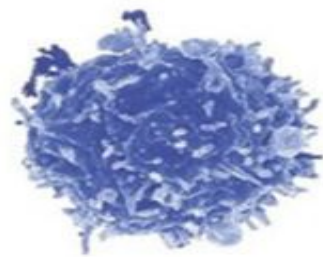
Пассивный иммунитет
формируется при введении
лимфоцитов

Основа противовирусного,
противоопухолевого,
противогрибкового иммунитета

Т - лимфоциты

Т-лимфоциты образуют три основные субпопуляции:

- 1) Т-киллеры, или цитотоксические Т-лимфоциты, CTL (от англ. killer — убийца) осуществляют иммунологический генетический надзор, разрушая мутированные клетки собственного организма, в том числе и опухолевые, и генетически чужеродные клетки трансплантатов. Т-киллеры составляют до 10 % Т-лимфоцитов периферической крови. Именно Т-киллеры своим воздействием вызывают отторжение пересаженных тканей, но это и первая линия защиты организма от опухолевых клеток;
- 2) Т-хелперы (от англ. helper — помощник) организуют иммунный ответ, воздействуя на В-лимфоциты и давая сигнал для синтеза антител против появившегося в организме антигена. Т-хелперы секретируют интерлейкин-2, воздействующий на В-лимфоциты, и γ-интерферон. Их в периферической крови до 60–70 % общего числа Т-лимфоцитов;
- 3) Т-супрессоры ограничивают силу иммунного ответа, контролируют активность Т-киллеров, блокируют деятельность Т-хелперов и В-лимфоцитов, подавляя избыточный синтез антител, которые могут вызывать аутоиммунную реакцию, т. е. обратиться против собственных клеток организма.



Т-лимфоциты

Т- киллеры
(убийцы)
NK

**Клеточный
иммунитет**

Т-супрессоры
(угнетатели)
Ts

Блокируют
реакции В-
лимфоцитов

Т- хелперы
(помощники)
Th

Помогают В-
лимфоцитам
превратиться в
плазматические

клетки

Th0-лимфоциты

- Поверхностный маркер – CD3, CD4 (рецептор к МНС II).
- Происхождение – из клеток- предшественников в тимусе.
- Основные медиаторы – IL-2, IL-4, IFN- γ .
- Роль в иммунном ответе – первичное распознавание антигена и превращение в Th1 или Th2.

Th1-лимфоциты

- Поверхностный маркер – CD4, LAG-3 (антиген суперсемейства иммуноглобулин-подобных молекул).
- Происхождение – из Th0.
- Основные медиаторы – IL-2, TNF- α , IFN- γ .
- Роль в иммунном ответе – стимуляция макрофагов при хроническом воспалении (реакции ГЗТ), торможение функций Th2.

CD4 (Т-

лимфоциты- хелперы)

Представитель суперсемейства Ig , содержащий во внеклеточной части 4 домена. Ig-подобный характер первых двух с N-конца доменов подтвержден рентгеноструктурным анализом.

Домены 3 и 4 гомологичны доменам 1 и 2 CD2 . 6 остатков Cys молекулы формируют три дисульфидные связи. Трансмембранный участок CD4 гомологичен (48%) трансмембранному домену продуктов МНС класса II



Th2-лимфоциты

- Поверхностный маркер – CD4, CD30(семейство рецепторов для TNF- α).
- Происхождение – из Th0.
- Основные медиаторы – IL-4, IL-5, IL-6, IL-10.
- Роль в иммунном ответе – стимуляция В-лимфоцитов и секреции Ig (в т.ч. IgE), торможение функций Th1.

CD8 (Т- лимфоциты- супрессоры)

Представляет собой гетеродимер, каждая цепь которого включает один иммуноглобулинподобный домен и достаточно длинный, связанный с мембраной участок цепи, подверженный значительным конформационным изменениям



НК-клетки

В кооперации с цитокинами оказывают неспецифическую цитотоксичность

против инфицированных вирусом клеток, стареющих и опухолевых клеток.

НК-клетки убивают клетки-мишени на основе лектинового распознавания или антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ).

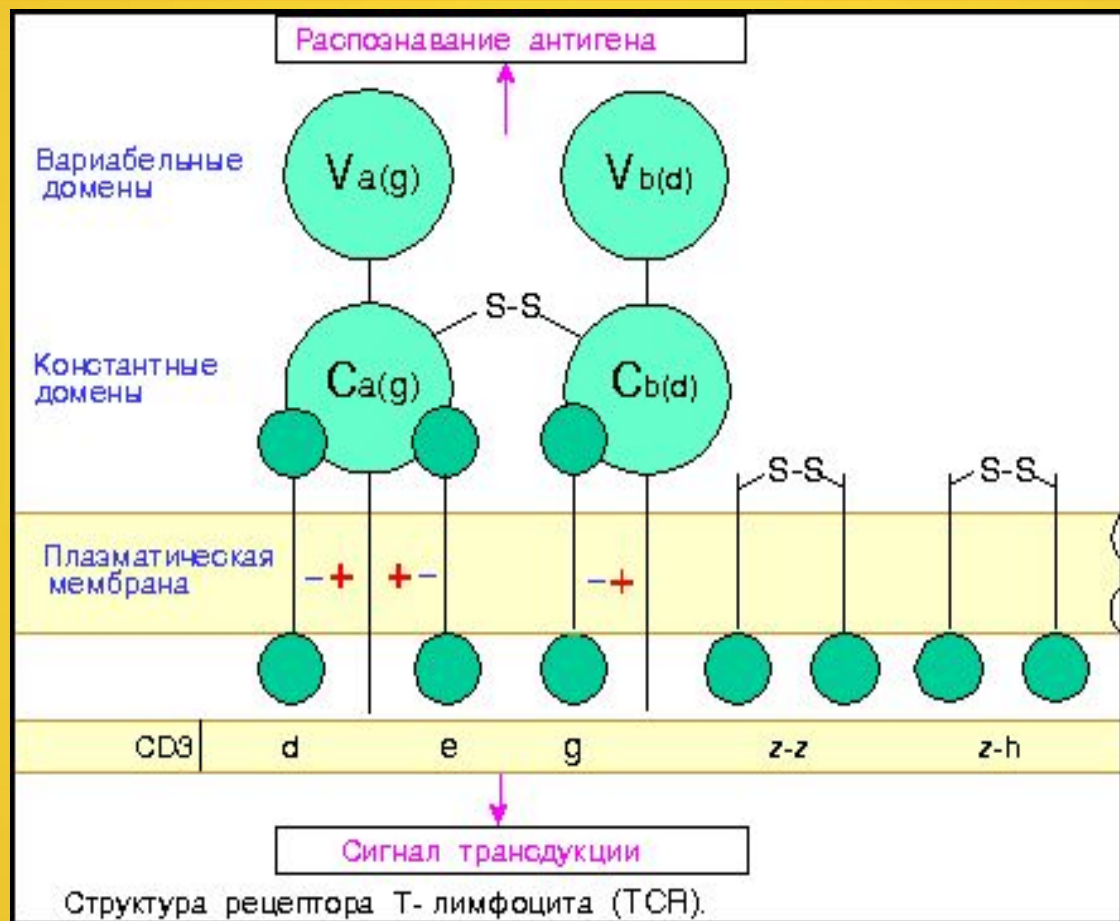
НК-клетки убивают клетки-мишени, которые (в какой-либо момент) не экспрессируют МНС I.

Цитотоксическое действие НК-клеток сходно с действием цитотоксических лимфоцитов. При соединении НК-клетки с Fc-фрагментом

Механизм действия Т-хелперов и Т-киллеров



Схема Т-клеточного рецептора (TCR)



В становлении и развитии клеточного иммунитета различают три фазы:

- распознавание антигена;
- образование эффекторных клеток и клеток памяти;
- эффекторную, обусловленную действием клеток-эффекторов или синтезируемых ими медиаторов.

Презен тация

Презентация (представление антигена Т-лимфоцитам) осуществляется в результате поглощения антигена антигенпрезентирующей клеткой (АПК), расщепления его внутри клетки ферментами, связывания образующихся антигенных пептидов с молекулами МНС ("загрузка" антигенных пептидов в желобки собственных молекул МНС I, II класса) и выхода их на поверхность клетки для представления (presentation) Т-лимфоцитам.

Главный комплекс гистосовместимости

Главный комплекс гистосовместимости (Major Histocompatibility Complex (МНС), Human Leukocyte Antigen (HLA)) – обширное семейство генов, играющих центральную роль во многих иммунологических процессах, обеспечивающих кодирование трансплантационных антигенов, а также регуляцию иммунных реакций на обычные антигены.

Структура HLA I класса

Антигены I класса являются мембранными гликопротеинами, состоящими из двух частей:

- гликозилированной полипептидной тяжелой цепи с молекулярной массой 44000
- β 2-микроглобулина с молекулярной массой 12000.

МНС I класса

- Экспрессия на всех ядерных клетках;
- Распознаются ТкР цитотоксических Т- лимфоцитов;
- CD8 – рецептор к МНС I;
- Основные подклассы HLA-A, B, C;
- Презентация вирусных и цитоплазматических антигенов.

Структура HLA II класса

Молекулы HLA II класса также являются гликопротеинами, но состоят из двух нековалентно соединенных цепей α и β с молекулярной массой 34000 и 29000 соответственно.

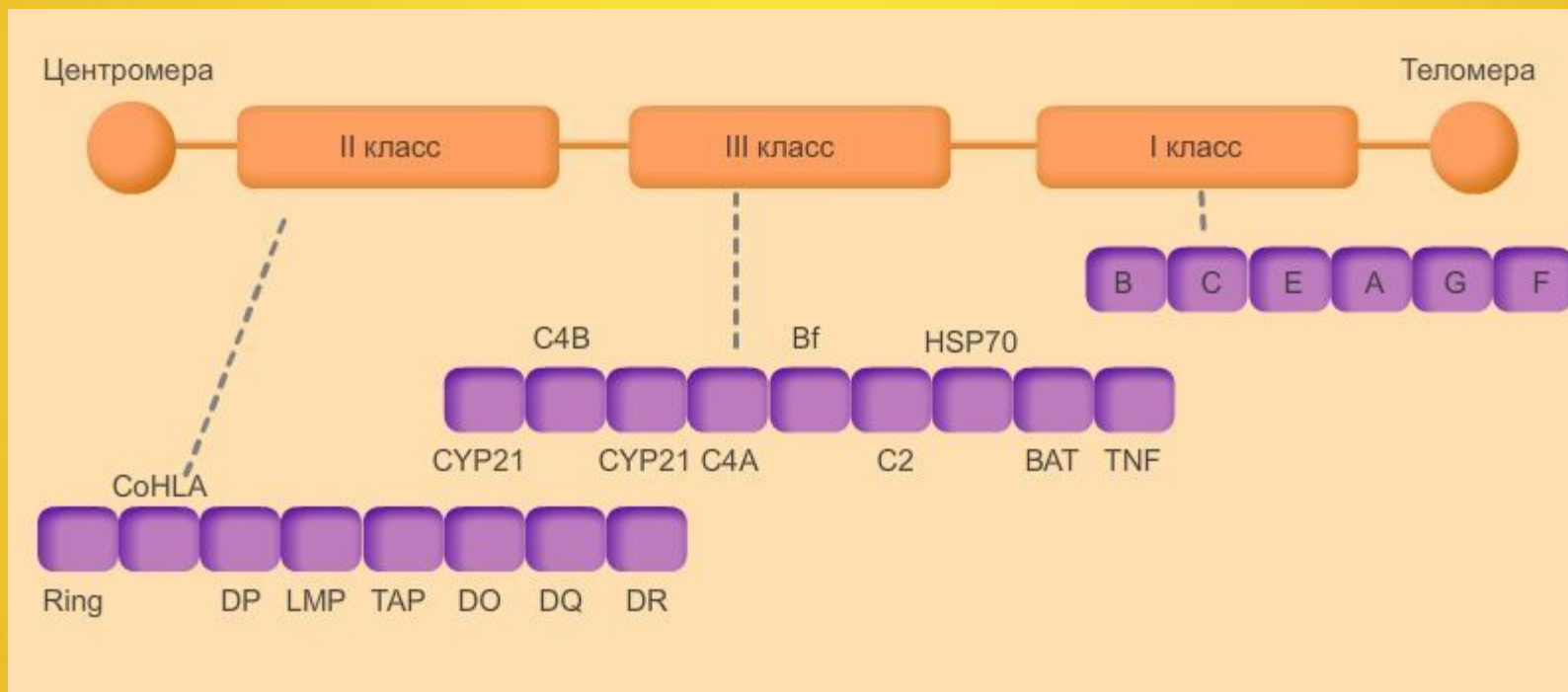
МНС II класса

- Экспрессия на некоторых клетках, в основном на антиген-
- презентирующих клетках распознаются ТкР Т-хелперов;
- CD4 – рецептор к МНС II ;
- Основные подклассы HLA-DR, DP, DQ;
- Презентация бактериальных антигенов.

Классификация генов HLA:

- гены гистосовместимости класса I,
- гены гистосовместимости класса II,
- гены гистосовместимости класса III.

Гены главного гистосовместимого комплекса



Свойства HLA. Полиморфизм генов главного комплекса гистосовместимости (МНС)

- Полигенная система.
- Полиморфизм.
- Кодоминантность.

Клиническая значимость HLA

Трансплантология.

Гены HLA связаны с предрасположенностью к определенным заболеваниям.

Описано более 200 заболеваний с повышенной экспрессией того или иного антигена.

Нормальное развитие плода обусловлено степенью антигенного различия родителей.

Антигенпредставляющие клетки

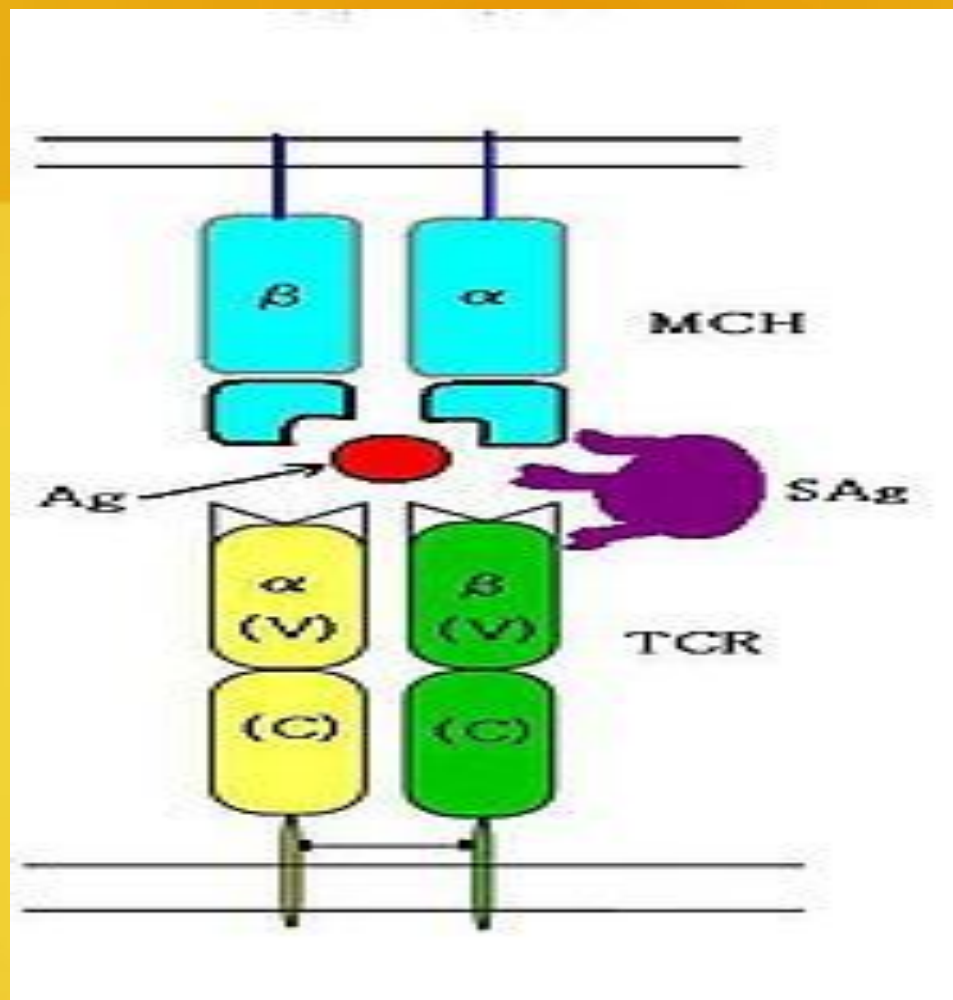
- Молекулы МНС контролируют иммунный ответ.
- Профессиональные Аг-представляющие клетки.
- Дендритные клетки.

Дендритные клетки

- миелоидные (ДК1) происходят из моноцитов;
- лимфоидные (ДК2) происходят от общей лимфоидной клетки предшественницы.

Суперантиген

-Это антиген, способный вызывать массовую неспецифическую активацию Т-лимфоцитов. Все известные на сегодняшний день суперантигены имеют белковую природу и являются продуктами патогенных микроорганизмов (бактерий, микоплазм) и вирусов.



Принцип действия суперантигена.

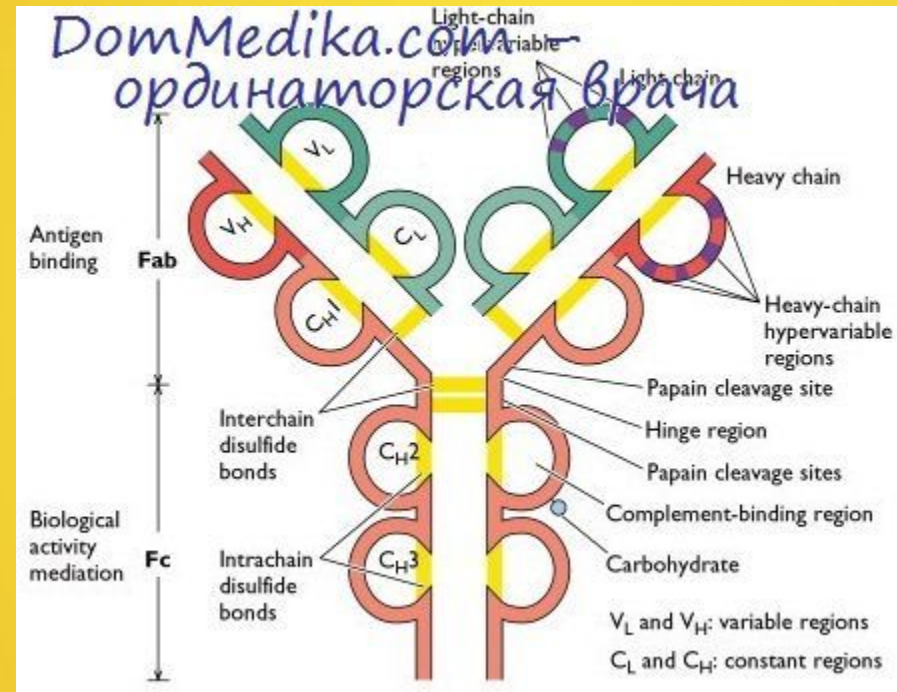
MHC — молекула главного комплекса гистосовместимости II класса;
Ag — процессированный антиген; SAg — суперантиген; TCR — Т-клеточный рецептор

Цитокины

Цитокины — небольшие белки (8-80 кДа), действующие аутокринно или паракринно.

- Интерлейкины.
- Интерфероны.
- Колониестимулирующие факторы.
- Факторы некроза опухолей.
- Хемокины.

Т- клеточна



Цитотоксичность Т- и NK- лимфоцитов

Внутриклеточно локализованные возбудители, в основном вирусы.

CD8+, NK-клетки, иногда клетки миелоидного ряда CD8+.

Презентация через МНС I (для CD8

Секреция IL-2, TNF- α , IFN- γ

Результат – лизис инфицированной клетки (ферментативное повреждение

– перфорин, гранзимы;

либо передача сигнала к апоптозу при непосредственном контакте или через цитокины)

Эффекторные механизмы

- Цитотоксическое действие Т-клеток CD8⁺ или NK-лимфоцитов
- Активация макрофагов, регулируемая Th1
- Синтез антител, стимулируемый Th2

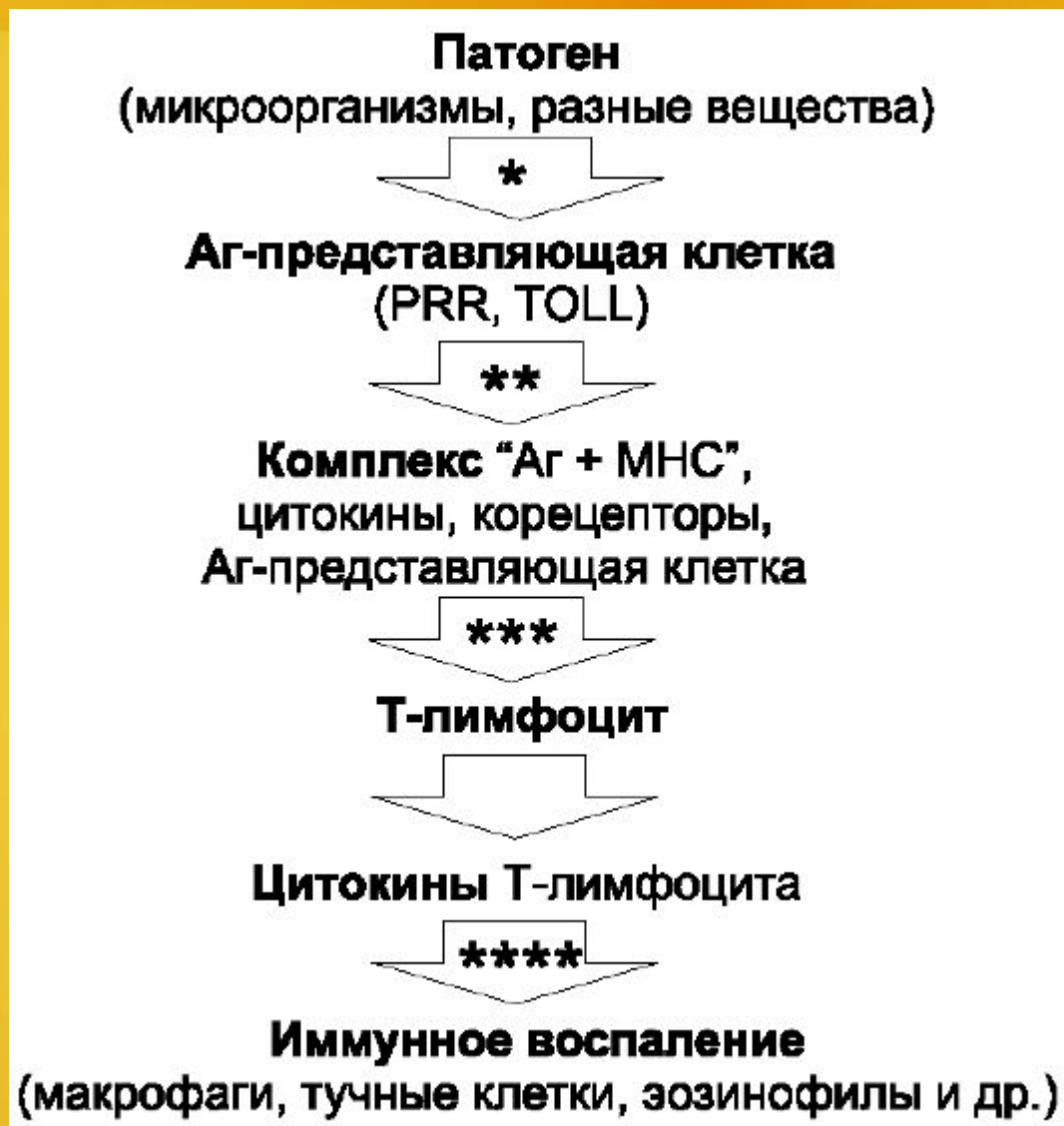
Факторы, определяющие иммунное отклонение

Иммунное воспаление типа I

Интерфероны

Иммунное воспаление типа II

Характер активации АПК зависит от биохимических характеристик и дозы патогена, его биологических свойств и путей попадания в организм. Получается следующая последовательность событий:



Методы клеточного иммунитета

1. Оценка функциональной активности Т-лимфоцитов.

Этот тест основан на способности Т-лимфоцитов пролиферировать в ответ на стимуляцию неспецифическим митогеном (субстанциями, названными так из-за способности вызывать митозы в лимфоцитах) и продуцировать интерлейкины (ИЛ-1 и ИЛ-2).

Необходимо отметить, что раньше пролиферативную активность лимфоцитов оценивали по количеству бластов (бласттрансформация) и митозов, появляющихся в стимулированной митогеном культуре, в настоящее время — используя радиоактивную метку и ее подсчет на сцинтилляционном счетчике.

2. Оценка системы натуральных киллеров.

Для этого используется цитотоксический тест, в котором клетками-мишенями чаще всего служит линия клеток К-562, меченная ³H-уридином. Тестируемые лимфоциты вносят в культуру К-562, инкубируют в присутствии РНКазы, а затем оценивают уровень радиоактивного уридина, высвободившегося из лизированных клеток-мишеней.

Для выявления аутоантител используют рутинные серологические реакции, среди которых особое место занимает реакция связывания комплемента. Она относится к сложным серологическим реакциям, в которых, кроме антигена и антитела, участвует гемолитическая система, с помощью которой выявляется результат реакции. Реакция протекает в две фазы: первая — взаимодействие антигена и антитела с участием комплемента; вторая — выявление степени связывания комплемента, что достигается добавлением гемолитической системы (эритроциты + гемолитическая сыворотка).

3. Определение количества Т-лимфоцитов, Т-хелперов, Т-супрессоров и лимфоцитов-киллеров.

Проводится с помощью иммунофлюоресцентного метода и моноклональных антител к поверхностным рецепторам этих клеток: CD3+ все Т-лимфоциты, CD4+-хелперы, CD8+-супрессоры, CD16+-киллеры. До недавнего времени для количественной характеристики Т-лимфоцитов и их подклассов (хелперов, супрессоров, киллеров) использовался тест розеткообразования, т.е. способность лимфоцитов формировать розетки с эритроцитами барана. Однако в настоящее время этот тест утрачивает свое значение, уступая место менее сложному и более специфичному иммунофлюоресцентному методу с использованием моноклональных антител к поверхностным рецепторам лимфоцитов. Упоминание здесь о тестах розеткообразования обусловлено тем, что некоторые результаты, о которых речь пойдет далее, получены с их помощью.

4. Реакция связывания комплемента.

Она относится к сложным серологическим реакциям, в которых, кроме антигена и антитела, участвует гемолитическая система, с помощью которой выявляется результат реакции.

Реакция протекает в две фазы:

первая — взаимодействие антигена и антитела с участием комплемента;

вторая — выявление степени связывания комплемента, что достигается добавлением гемолитической системы (эритроциты + гемолитическая сыворотка).

Спасибо за внимание!