

HLA - systém

Marcela Vlková

Hlavní histokompatibilní komplex

- Jedná se o genetický systém, který je primárně zodpovědný za **rozeznávání vlastního od cizorodého (Major Histocompatibility Complex)**. U člověka je hlavním histokompatibilním systémem komplex **HLA (Human Leucocyte Antigen)** – rozsáhlý komplex genů, které determinují povrchové molekuly (Ag) umístěné v plazmatické membráně buněk.

HLA

- Antigeny se chovají jako **transplantační**, tzn. že jsou příčinou odhojení tkáně při inkompatibilních transplantacích
- HLA systém je homologický s lokusem H-2 u myši (systém, na kterém byl poprvé objeven princip histokompatibility) a je lokalizovaný v určitém úseku krátkého raménka chromosomu 6
- Obsahuje geny pro histokompatibilní antigeny, složky komplementu a pravděpodobně i Ir-geny (immune response genes, geny zodpovědné za intenzitu imunitní odpovědi)

Funkce HLA-systému

- Hlavní fyziologickou funkcí molekul MHC je předkládat antigeny nebo jejich fragmenty buňkám imunitního systému, především T-lymfocytům
- Prezentace antigenu je prvním předpokladem pro rozvoj imunitní reakce a tím obrany proti napadení mikroorganismy

HLA komplexy

- Známe 5 HLA komplexů:
 - HLA – A, HLA – B, HLA – C, HLA – D, HLA – DR
 - D-region related – ve vztahu k oblasti D
- Každý z nich má množství alel
 - dnes známo nejméně 20 alel pro HLA – A,
 - 40 alel pro HLA – B,
 - 8 a více pro zbylé tři
- Sada HLA genů na jednom chromosomu tvoří **haplotyp**,
- Jedinec má tedy dva haplotypy (od každého z rodičů) a v každém 5 determinantů.

Polymorfismus HLA- systému

- Pro každý z genů HLA I. a II. třídy existuje mnohotná alelie: pro 1 lokus existují více jak 2 alternativní alely
- Alelní formy molekul MHC se liší ve struktuře vazebného místa a tím i schopností vázat peptidy.
- Polymorfismus zde představuje selekční výhodu související se základní rolí molekul MHC, tj. prezentace antigenu

Izotypy HLA

- HLA I. třídy – klasické (HLA-A, HLA-B, HLA-C)
- HLA I. třídy – neklasické (HLA-E, HLA-F, HLA-G, CD1)
 - geny pro tyto molekuly jsou lokalizovány mimo MHC x funkční podobnost)
- HLA II. třídy – (HLA-DR, HLA – DP, HLA-DQ)

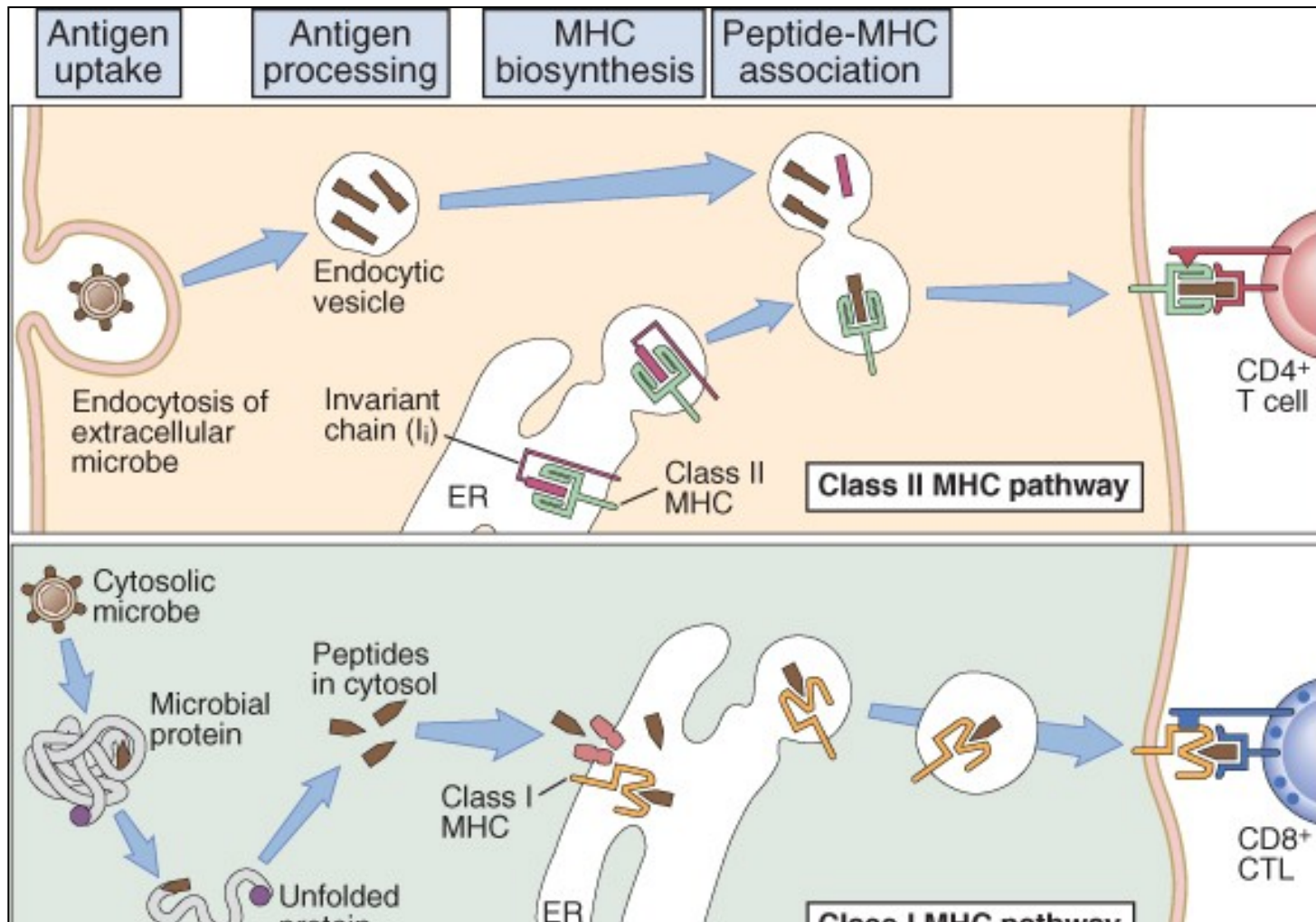
HLA antigeny

- HLA – I
 - Exprese na všech jaderných buňkách
 - Prezentace antigenu CD8+ T lymfocytům
 - Prezentované antigeny jsou produktem buněčné proteosyntézy
- HLA-II
 - Prezentace na APC
 - Antigeny předkládány CD4+ T lymfocytům
 - Antigeny jsou exogenního původu

Prezentace Ag

- HLA I. třídy – krátké peptidy (9 AK) z proteinů degradovaných v cytoplasmě buňky proteazomem, rozpoznávány cytotoxickými CD8+T-lymfocyty
- HLA II. Třídy – peptidy (15-30 AK) z fagocytovaných částic zpracovaných v endozomech – pomocné CD4+ T lymfocyty
- Extrémní polymorfismus – vazba širokého spektra nejrůznějších antigenních peptidů

Vazba antigenu na HLA-I a HLA-II antigeny



HLA I. třídy

- Exprese na všech jaderných buňkách
 - Nejvíce: buňky IS
 - Méně: epitelie, hepatocyty, trombocyty, ledviny, CNS
 - **Nejsou na erytrocytech**
- Exprese není konstitutivní, mění se působením cytokinů – INF
- Indukce cytotoxické imunitní odpovědi
- Rozdíly v expresi = imunobiologické důsledky (buňka IS x hepatocyt x erytrocyt)

Molekula HLA I. třídy

- Transmembránový glykoprotein, heterodimer, řetězce strukturně podobné imunoglobulinům
 - Alfa řetězec – membránově vázaný
 - Beta-2 mikroglobulin – navázaný na alfa, shodný pro všechny molekuly HLA, kódovaný na 15.chromosomu

HLA I. třídy vznik

- Vznik Ag fragmentů pro vazbu na HLA I.
 - Protein + ubikvitin
 - Štěpení v proteazomu
 - Membránovými peptidovými pumpami (TAP) do endoplazmatického retikula (ER)
- V ER: syntéza řetězců HLA I. + vazba fragmentů na HLA I.
- Cestou přes Golgiho aparát na povrch buňky

Molekula HLA II.třídy

- Transmembránový heterodimer, řetězce alfa+beta – oba ukotveny v membráně
- Vazbné místo pro Ag je otevřené – vazba delších peptidů (15-35 AK)
- Hustě exprimovány na buňkách předkládajících antigen : makrofágy, monocyty, dendritické b., B-ly
- Slabá exprese na T-ly
- **Jiné buňky molekuly HLA II.tř. nenesou**

- **Vazba peptidů na HLA II.tř.**
- Molekuly HLA II.tř. vážou **exogenní Ag** – peptidové fragmenty pohlcených proteinů
 - Endocytóza + lysozomy...endozomy...Ag fragmenty
- Syntéza řetězců HLA II. V ER+ vazba na invariantní řetězec (Ii)...přes Golgiho a. do endozómu
- Oddělení Ii a vazba peptidu
- Vystavení na povrchu buňky

Genová organizace HLA systému

- HLA vysoce polymorfní = každý člověk nese na povrchu svých buněk unikátní sestavu molekul HLA I. a II.
- Molekuly HLA kódovány na krátkém raménku 6.chromosomu = HLA komplex
- Geny se člení do 3 tříd: HLA I., HLA II., HLA III.

- Geny HLA I. – 20 genů
 - Klasické: HLA-A, -B, -C.....kódují alfa řetězce HLA I.tř
 - HLA-E, -F, -G....jejich produkty inhibují aktivitu NK buněk
- Geny HLA II.
 - Tři páry genů HLA-DR, -DP, -DQ....kódují alfa+beta řetězce HLA II.tř.
 - LMP2, LMP7....bílkoviny štěpící proteiny pro HLA I.tř.
 - TAP...membránové transportéry
- (Geny HLA III. – C4, C2, TNFalfa....)

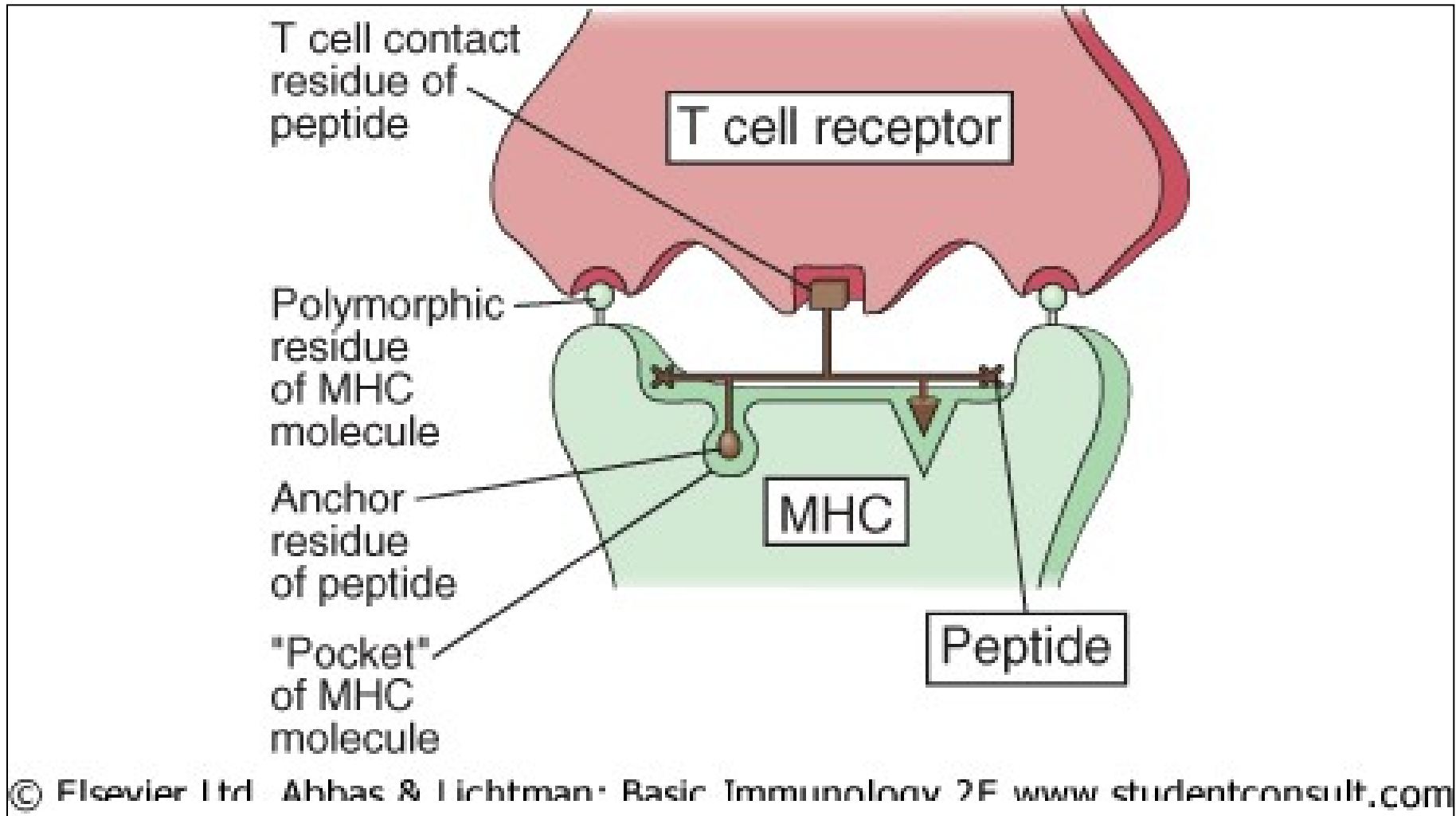
Neklasické HLA I. třídy

- Vyskytují se jen na některých buňkách
- Vazba na různé ligandy
- HLA- E, G –rozeznávány inhibičními receptory NK buněk
- CD1 (CD1a-e) váže mikrobiální lipidy a hydrofobní Ag, popř. organismu vlastní glykolipidy (CD1d)
 - Jsou rozeznávány NKT buňkami

Funkce MHC proteinů

- Prezentace antigenů T lymfocytům
- HLA I - Vazba peptidových fragmentů proteinů produkovaných buňkou
- HLA II- Vazba peptidových fragmentů proteinů pohlčených buňkou
- Jsou vystaveny na povrchu buňky
- Jsou rozeznávány TCR receptory T lymfocytů



Interakce TCR-polypeptid-HLA molekula



T-lymfocyty rozpoznávají

- cizí antigeny v komplexu s vlastními molekulami MHC, což vede k imunitní reakci
- vlastní antigeny v komplexu s vlastními molekulami MHC, což vede k toleranci
- cizí molekuly MHC (transplantační reakce)

TABLE 6–5 Comparative Features of Class I and Class II MHC Pathways of Antigen Processing and Presentation

| Feature | Class I MHC Pathway | Class II MHC Pathway |
|--|--|--|
| Composition of stable peptide-MHC complex | Polymorphic α chain, β_2 -microglobulin, peptide Peptide  α β_2 -microglobulin | Polymorphic α and β chains, peptide Peptide  α β |
| Types of APCs | All nucleated cells | Dendritic cells, mononuclear phagocytes, B lymphocytes; endothelial cells, thymic epithelium |
| Responsive T cells | CD8 ⁺ T cells | CD4 ⁺ T cells |
| Source of protein antigens | Cytosolic proteins (mostly synthesized in the cell; may enter cytosol from phagosomes) | Endosomal and lysosomal proteins (mostly internalized from extracellular environment) |
| Enzymes responsible for peptide loading of MHC | Cytosolic proteasome | Endosomal and lysosomal proteases (e.g., cathepsins) |
| Site of peptide loading of MHC | Endoplasmic reticulum | Specialized vesicular compartment |
| Molecules involved in transport of peptides and loading of MHC molecules | Chaperones, TAP in ER | Chaperones in ER; invariant chain in ER, Golgi and MIIC/CIIV; DM |

APC, antigen-presenting cell; CIIV, class II vesicle; ER, endoplasmic reticulum; MHC, major histocompatibility complex; MIIC, MHC class II compartment; TAP, transporter associated with antigen processing.

Charakteristika interakcí mezi MHC a peptidy

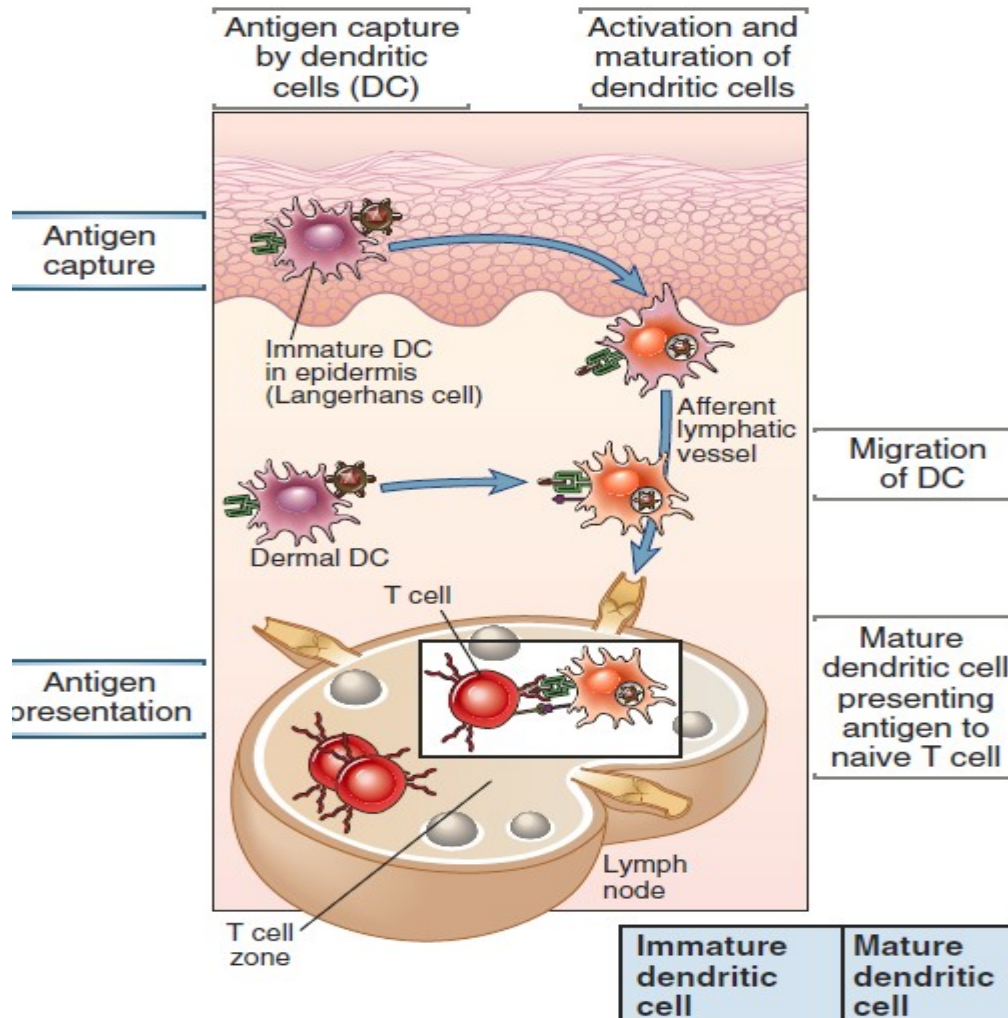
- MHC molekuly neodlišují peptidy vlastní a cizí
- MHC molekuly vážou řadu strukturálně podobných peptidů (**x** TCR-epitop)
- Vazba je nekovalentní, ligand pro MHC I sestává z 8-11 aminokyselin, pro MHC II cca z 10-30

Vztah antigenů HLA k chorobám

- Choroby s imunologickou patogenezí (např. autoimunitní, jako revmatoidní artritida, juvenilní diabetes, celiakie..)
- Choroby s etiopatogenezí nejasnou (psoriasis vulgaris, m. Bechterev)
- Choroby, u nichž se imunopatogenetický mechanismus neuplatňuje (narkolepsie, idiopatická hemochromatóza, adrenogenitální syndrom)

Možné příčiny: HLA antigen je znakem přítomnosti patognostického genu, HLA antigeny jsou receptory pro mikroby, fenomen molekulárního mimikry a zkřížená reaktivita

Cesty antigenů



Presentace antigenů lymfocytům T

- T-lymfocyty poznávají antigeny pouze ve formě peptidových fragmentů vázaných na MHC I nebo II.
- HLA antigeny musí být stejné, jako má příslušný konkrétní jedinec (*Fenomen MHC-restrikce*).
- Antigen musí být nejdříve v buňkách „zpracován“ (*processing*)-nativní protein je proteolyticky degradován na peptidy, které se (intracelulárně) váží na molekuly MHC. Tento komplex se dostává na buněčnou membránu, kde je schopen reagovat s TCR.
- T-lymfocyty jsou schopny poznávat i lipidové a glykolipidové struktury: je to populace NK-T, která poznává tyto antigeny „neklasickými molekulami MHC“ – CD1
- *Imunogennost proteinových antigenů je určena schopností buněk předkládajících antigen vytvořit peptidy, které se budou vázat na vlastní molekuly MHC.*

Antigen prezentující buňky

- Dendritické buňky
- Monocyty, makrofágy
- B-lymfocyty
- Presentují antigen pomocí MHC (major histocompatibility complex)
- U lidí se označují jako HLA (human leukocyte antigen)

Buňky předkládající antigen

- **APC** (Antigen-presenting Cells)...monocyty/makrofágy, B-lymfocyty, dendritické buňky
- **Makrofágy** – ve všech tkáních těla
 - Diferenciace v kostní dřeni – myeloidní řada – monocyty (CD14+HLADR+) – do periferní krve
 - Změna exprese povrchových znaků – do tkání – makrofág: identifikuje nebezpečné podněty, vystavuje endogenní(HLA I.) i exogenní(HLA II.) antigeny....aktivace T-lymfocytů

- **Dendritické buňky (DC)** – informace z počátku 70.let, studium umožněno až po kultivaci v laboratořích (mono z PK, prekurzory z KD)
 - Diferenciace z pluripotentních kmenových buněk (CD34+)
 - Lymfoidní větev (CD11c-)
 - Myeloidní větev (CD11c+)
 - Nejúčinnější APC, žijí 2-3 dny
 - V organismu ve dvou formách
 - Nezralé
 - zralé

- **Nezralé dendritické buňky** – rozhraní organismus x okolní prostředí (kůže, sliznice), pohlcují téměř všechno ze svého okolí
 - Není přítomen patogen: fagocytují odumřelé buňky – vystavují na svém povrchu, nemají kostimulační CD znaky (CD80-CD86-CD40-).... **neaktivují** T-lymfocyty – zajišťují autotoleranci
 - Je přítomen patogen nebo zánětlivé cytokiny: dendritická b. začne dozrávat

- **Zralé dendritické buňky** – přesun ze sliznic a kůže do lymfoidních tkání (uzliny)
 - Přestávají fagocytovat
 - Vystavují na svém povrchu fragmenty pohlcených patogenů
 - Exprimují kostimulační a adhezivní molekuly: CD80+CD86+CD40+
 - Poskytují T-lymfocytům 2.signál.... klonální expanze a efektorová aktivita T-ly

- Použití dendritických buněk v terapii nádorových onemocnění
 - Rozdíl zralé x nezralé.....indukce: imunitní odpovědi x imunitní tolerance
 - Izolace monocytů z PK
 - Kultivace s růstovými faktory...nezralé dendritické b.
 - Nezralé DC + nádorový Ag...vyzrávání
 - Problém = nádorový Ag

- Funkce APC:
 - Spojují nespecifickou a specifickou imunitní reakci
 - Aktivují T-lymfocyty
 - Navozují imunitní odpověď vůči
 - Virům
 - Bakteriím
 - Nádorovým buňkám
 - Navozují toleranci vůči
 - Vlastním antigenům
 - transplantátu