






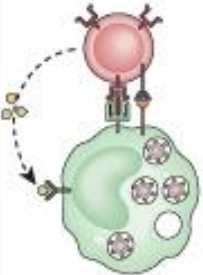



Mechanismy specifické buněčné imunity

Jiří Litzman

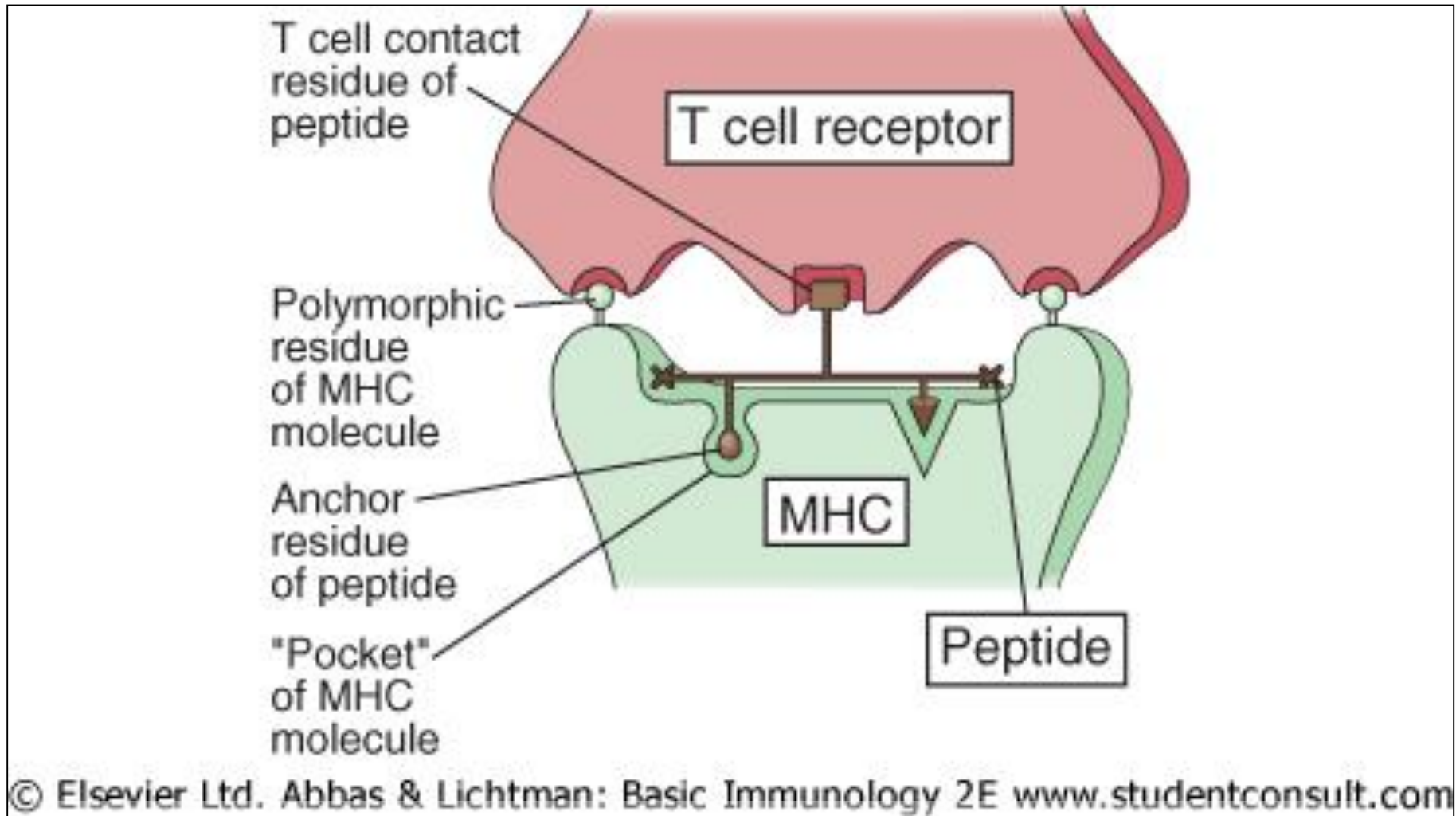
Dvě větve adaptivní imunity

	Humoral immunity	Cell-mediated immunity	
Microbe	 <p>Extracellular microbes</p>	 <p>Phagocytosed microbes in macrophage</p>	 <p>Intracellular microbes (e.g., viruses) replicating within infected cell</p>
Responding lymphocytes	 <p>B lymphocyte</p>	 <p>Helper T lymphocyte</p>	 <p>Cytolytic T lymphocyte</p>
Effector mechanism	 <p>Secreted antibody</p>		
Functions	<p>Block infections and eliminate extracellular microbes</p>	<p>Activate macrophages to kill phagocytosed microbes</p>	<p>Kill infected cells and eliminate reservoirs of infection</p>

Aktivace T-lymfocytů

- T-lymfocyty mohou být stimulován pouze komplexy antigen-HLA.
- HLA antigeny musí být stejné, jaké má příslušný konkrétní jedinec = fenomén HLA restrikce.

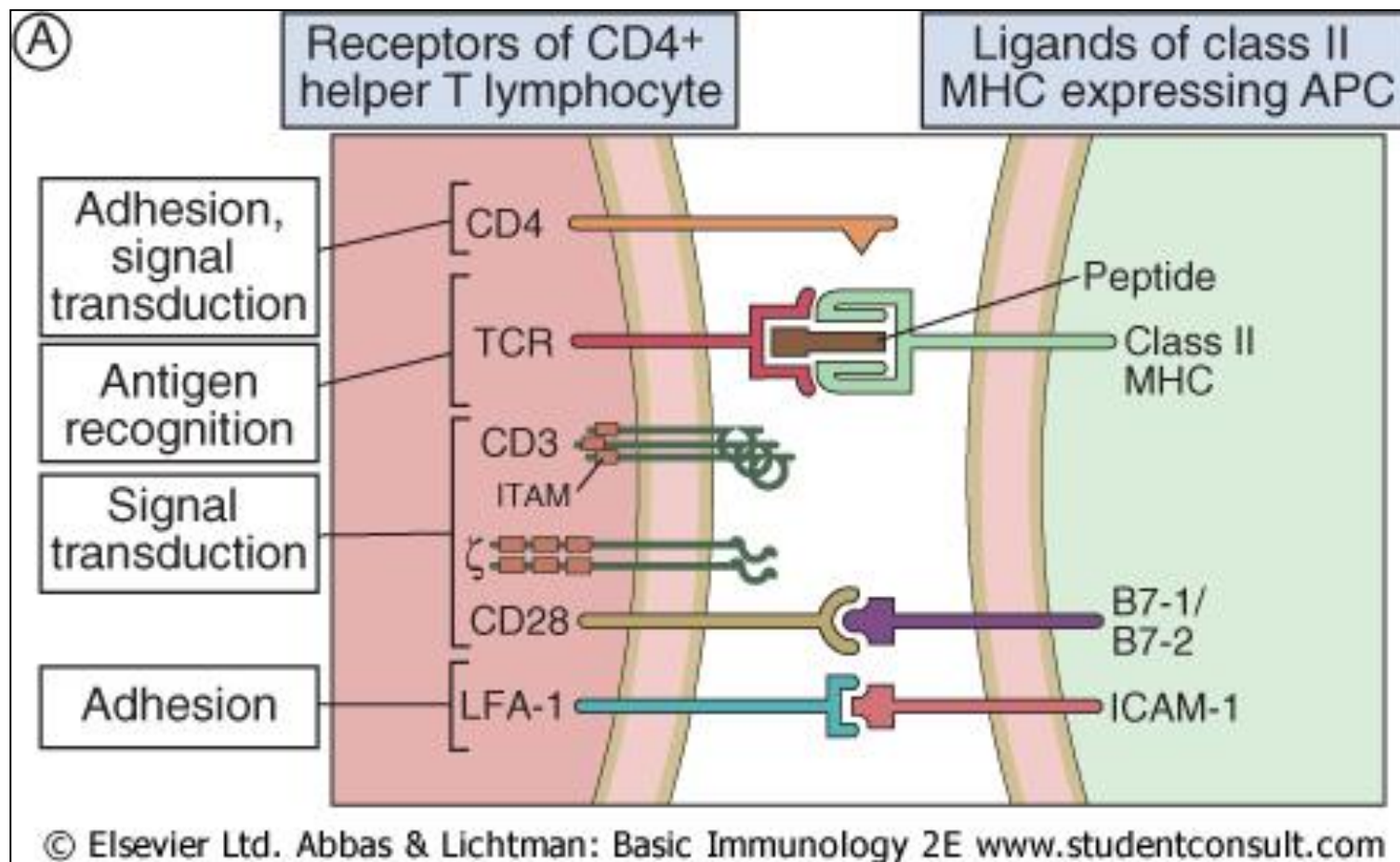
Interakce mezi TCR a komplexem HLA-polypeptid



Povrchové struktury T-lymfocytů

- T-buněčný receptor (TCR):
 - Variabilní řetězce α/β nebo γ/δ
 - Součástí je molekula CD3 – tato část je zodpovědná za další přenos signálu.
- Koreceptory CD4 a CD8 zajišťují vazbu na molekuly HLA I nebo HLA II
- Pro aktivaci T-lymfocytů jdou důležité i kostimulační molekuly (nejdůležitější je CD28), též zajišťují přenos signálu
- Adhezivní molekuly (např LFA-1) – především vazbu s antigen-prezentujícími buňkami

Povrchové struktury T-lymfocytů a jejich ligandy



Thymová výchova T-lymfocytů

- Pozitivní selekce thymocytů reagujících s nízkou afinitou s HLA antigeny na povrchu antigen-prezentujících buněk. Probíhá v kortikální oblasti. Zajišťuje přežití jen těch thymocytů, které později rozpoznají komplex antigen-HLA.
- Negativní selekce – apoptózou hynou thymocyty reagující s vysokou afinitou s komplexem HLA-autoantigeny. Probíhá zejména v subkortikální oblasti thymu. Zajišťuje odstranění autoreaktivních klonů.
- V průběhu obou procesů hyne více než 85% thymocytů.

Vývoj lymfocytů v thymu

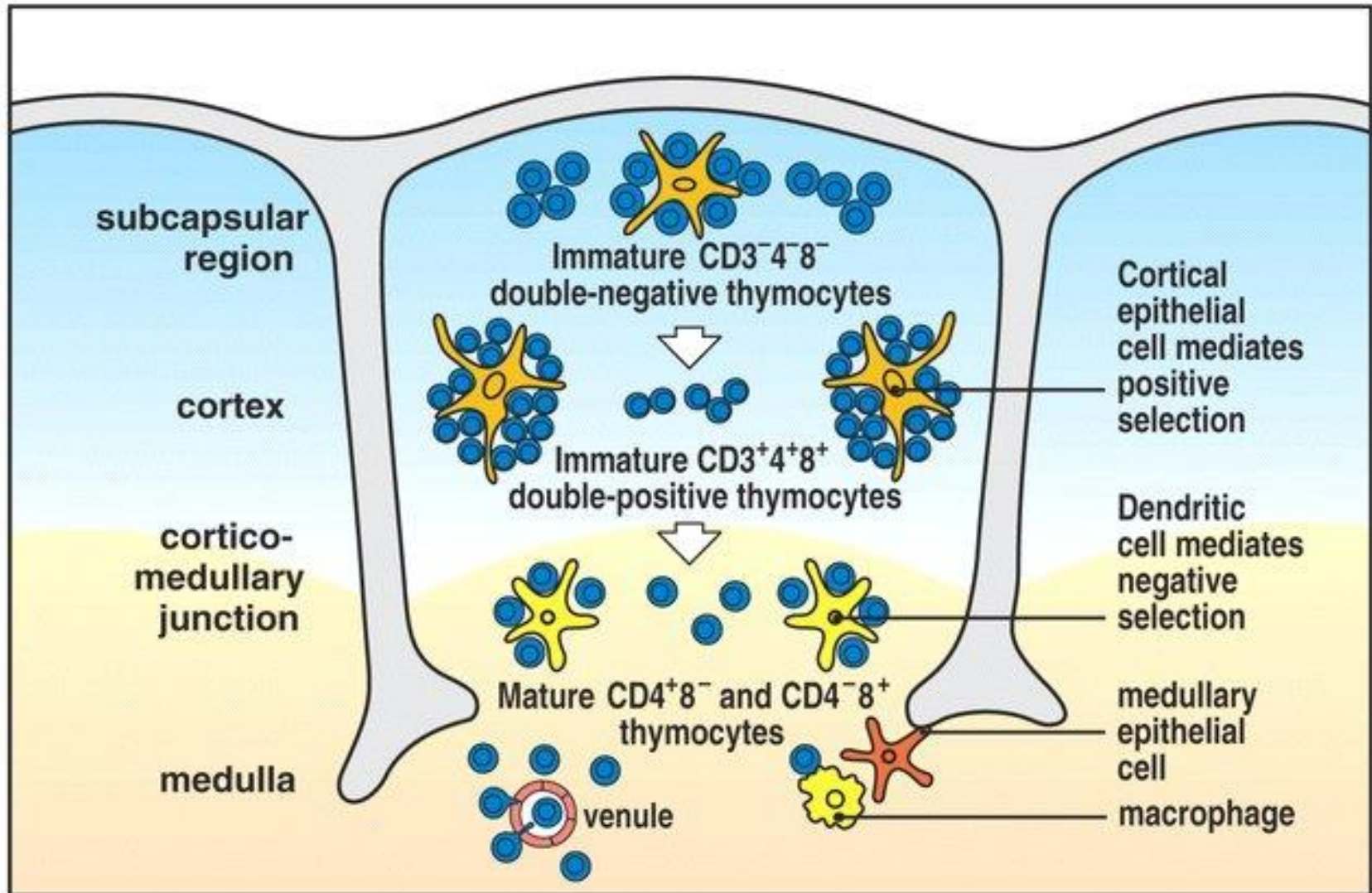


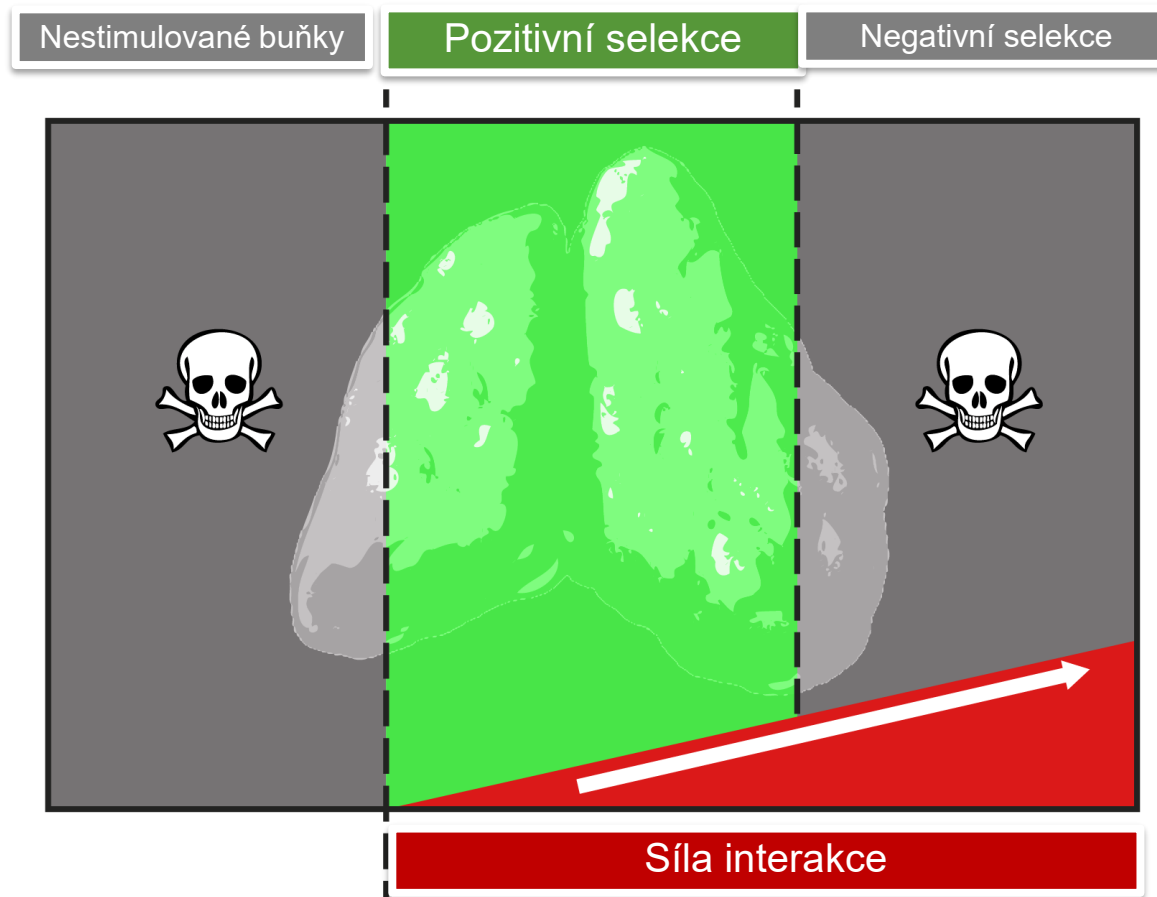
Figure 5-13 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

Význam produktu genu AIRE (Autoimmune regulator)

- Transkripční faktor, v thymu vede k expresi genů kódujících řadu proteinů periferních orgánů.
- Exprese autoantigenů na HLA molekulách vede k negativní selekci autoimunních T-lymfocytů
- Deficit vede ke vzniku řady autoimunitních chorob (endokrinní žlázy, játra, žaludek), protilátky proti IL-17 vedou k deficitu Th17 a následné mukokutánní kandidiáze (tzv. APECED syndrom).

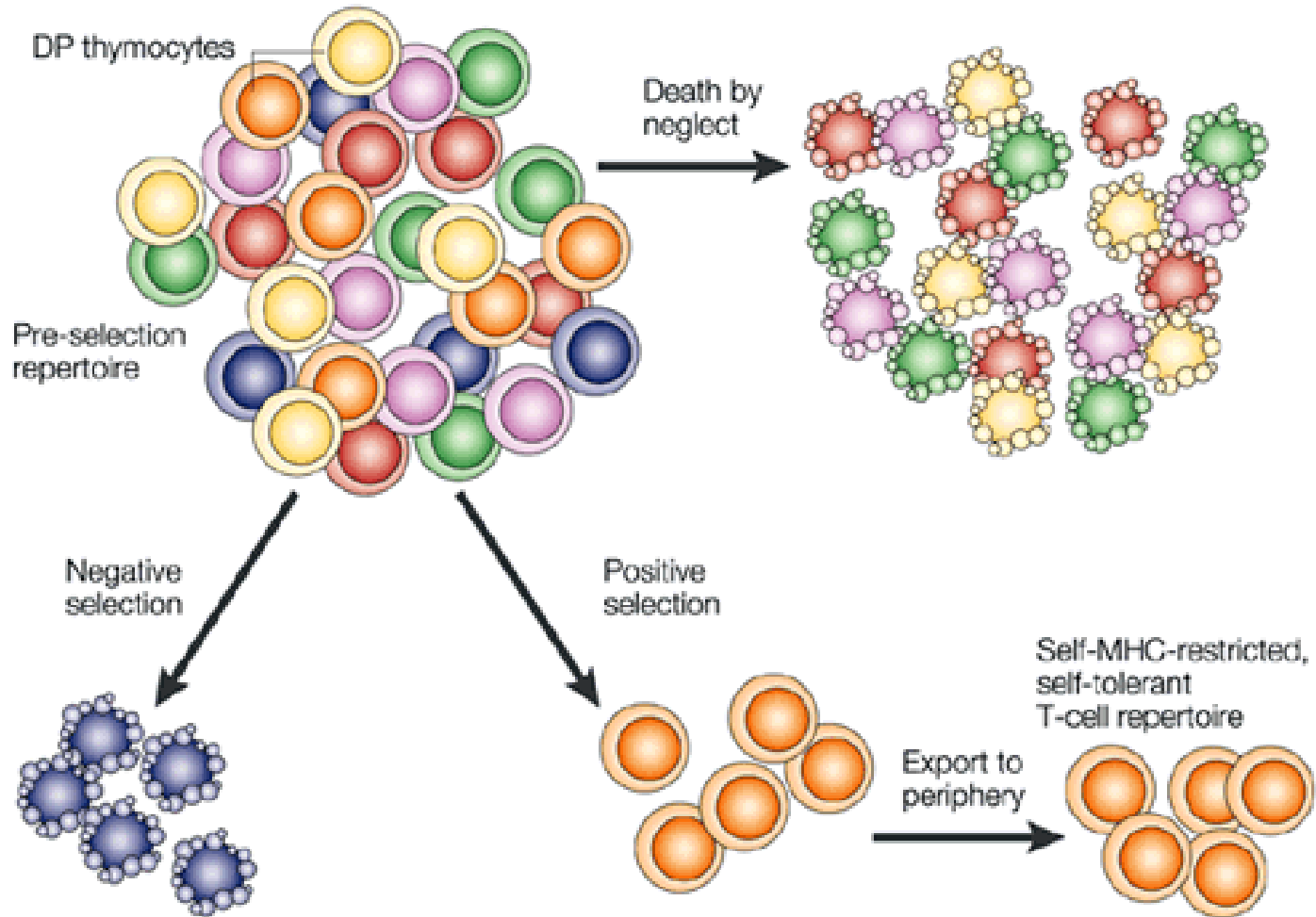


Význam síly interakce TCR a APC v thymu na další osud lymfocytu

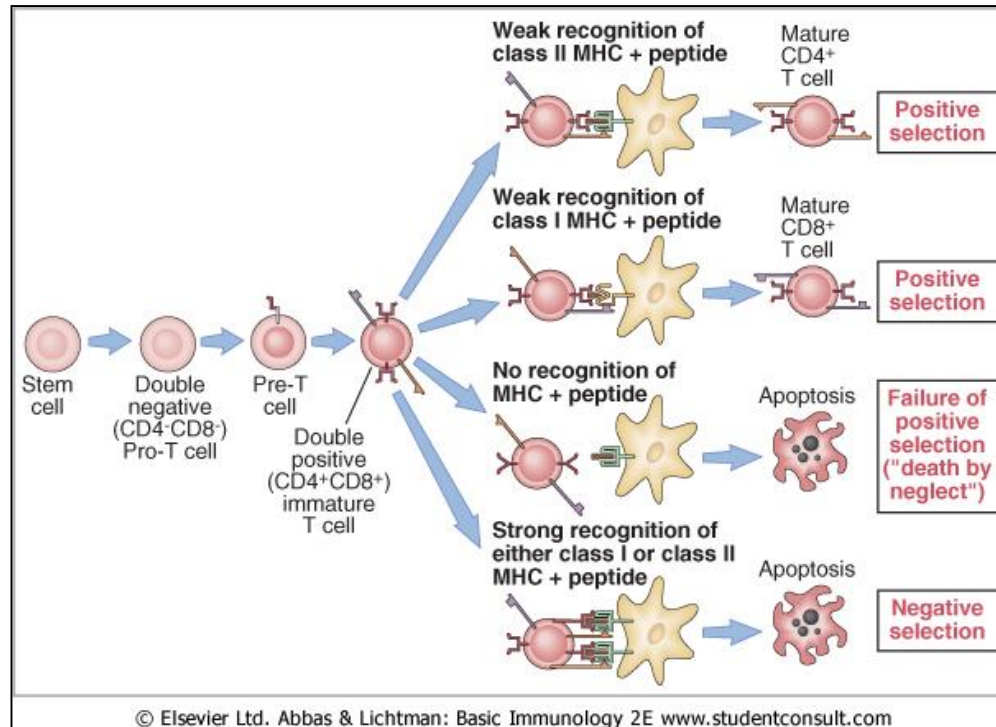


 buňky zahynou

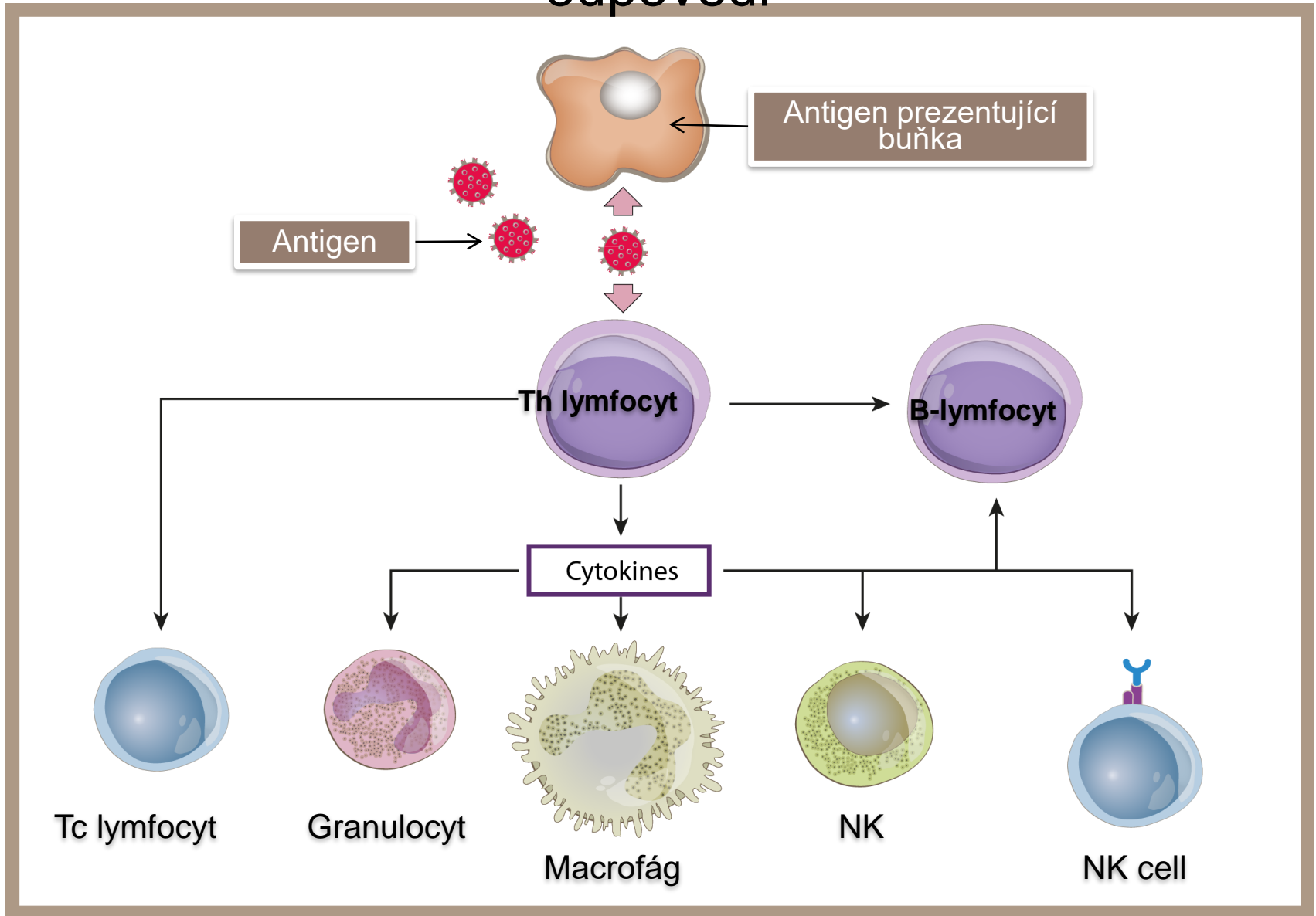
Možný osud T-lymfocytů v thymu



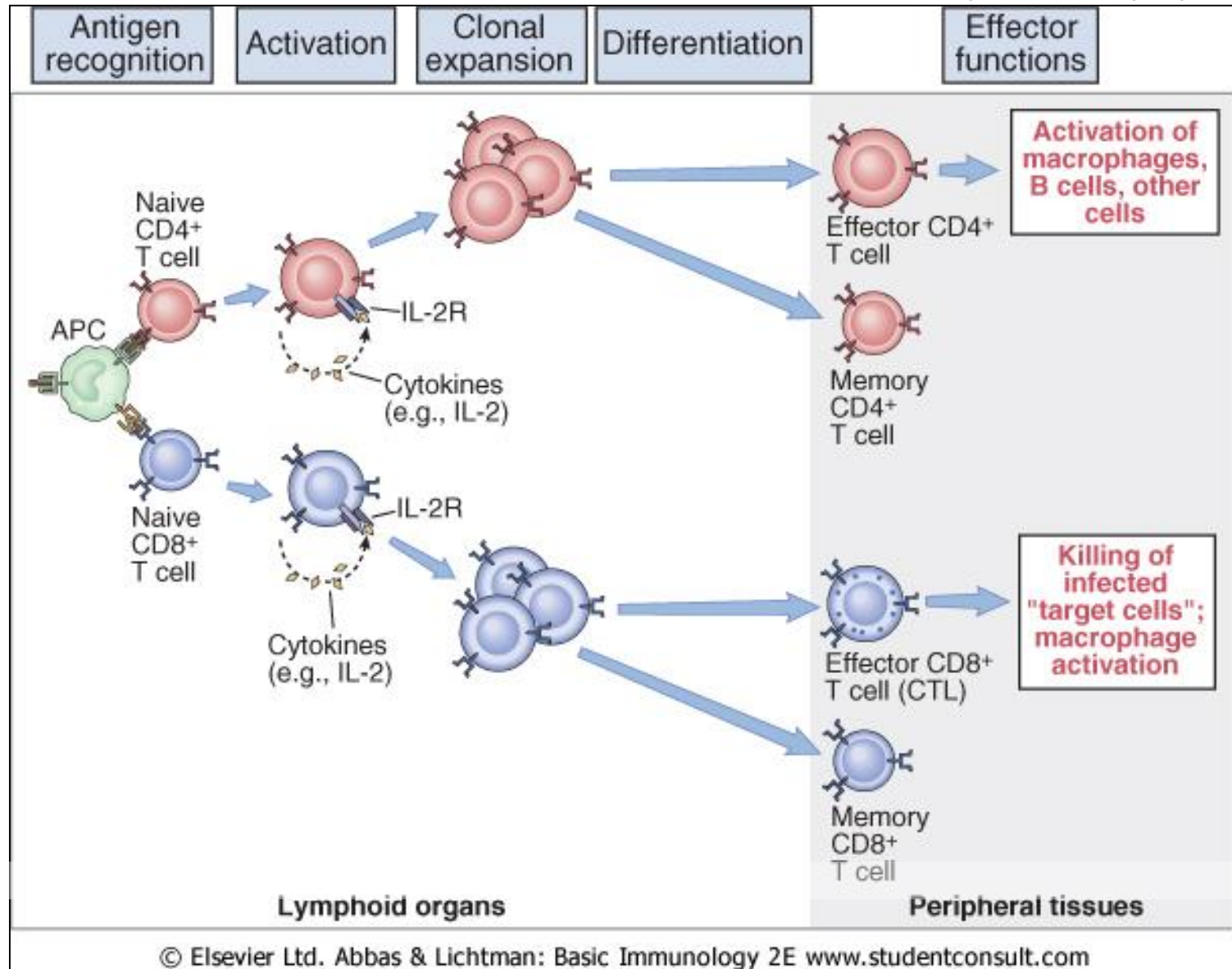
Thymová výchova T-lymfocytů



T lymfocyty – centrální role v řízení imunitní odpovědi



Klonálně-selekční teorie platí i pro T-lymfocyty



Charakteristika lymfocytů pomocí povrchových antigenů

- CD antigeny – jedná se o antigeny exprimované na povrchu leukocytů.
- V současné době je známo více než 400 takových znaků.
- CD3⁺ – všechny T-lymfocyty.
- CD3⁺CD4⁺ – pomocné a většina regulačních T-lymfocytů.
- CD3⁺CD8⁺ – především cytotoxické T-lymfocyty.
- Klasickými povrchovými znaky není možné odlišit Th1, Th2, Th 17 lymfocyty - ty rozlišujeme pomocí typické produkce cytokinů (většinou intracytoplasmatický průkaz).
- CD19⁺ - B-lymfocyty.
- CD16⁺/CD56⁺(CD3⁻) - NK buňky.
- Vyšetřováno pomocí průtokové cytometrie.

Základní subpopulace T-lymfocytů

- Cytotoxické T-lymfocyty (CD8+): zabíjejí cílové buňky. Rozeznávají komplex HLA-I-antigenní polypeptid.
- Pomocné T-lymfocyty (CD4+): produkcí pomocných signálů umožňují aktivaci a diferenciaci B-lymfocytů a aktivaci makrofágů. Rozeznávají komplex HLA-II-antigenní polypeptid.
- Regulační T-lymfocyty (CD4+): účastní se udržování imunitní tolerance

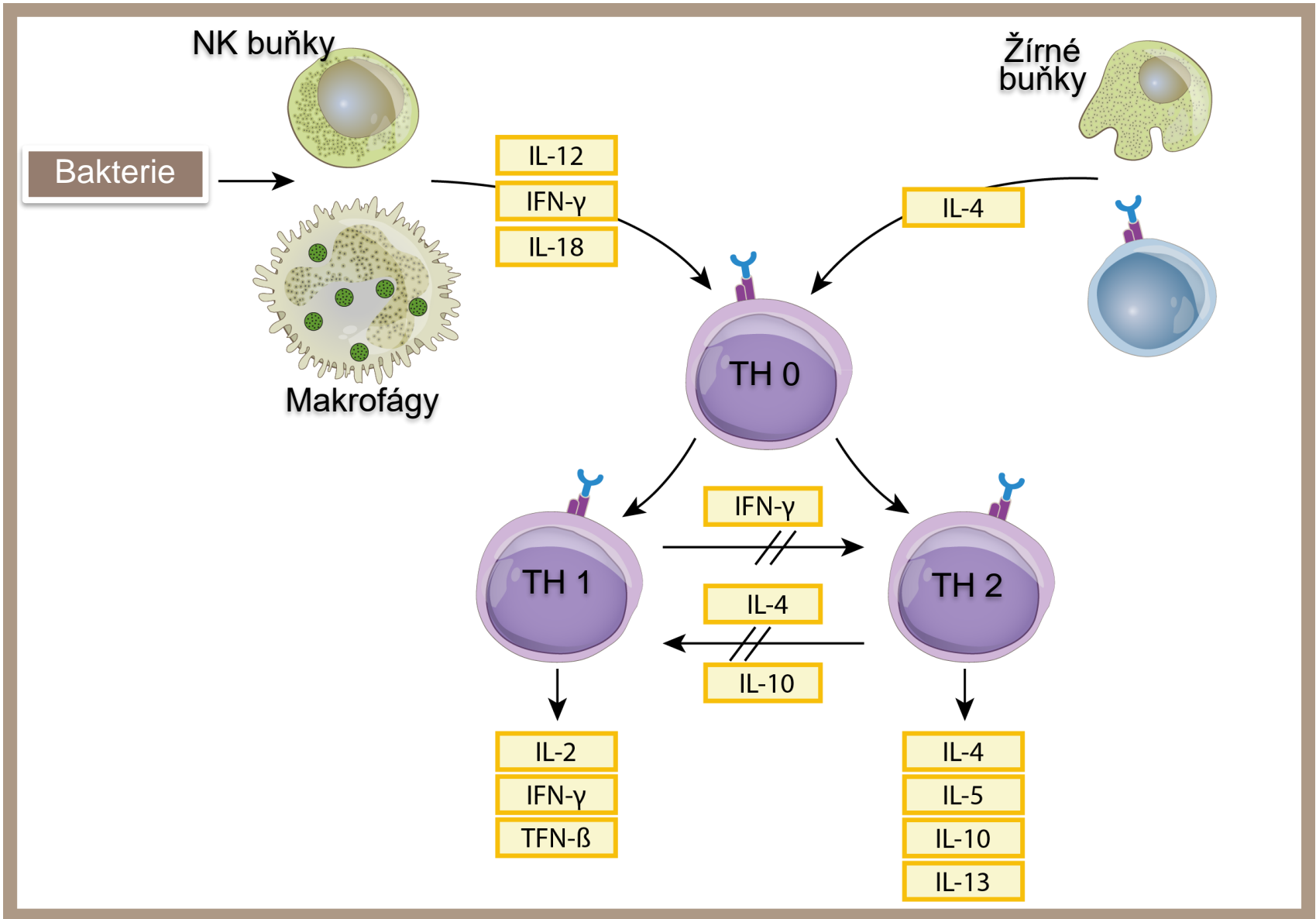
Subpopulace T_h lymfocytů

- **T_h1 lymfocyty**
 - Produkce IFN- γ , IL-2, IL-3,
 - Stimulují funkci makrofágů, působí prozánětlivě
 - Účast v patogenezi např. roztroušené mozkomíšní sklerózy
- **T_h2 lymfocyty**
 - Produkce IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13
 - Stimulují produkci protilátek, včetně IgE
 - Účast v patogenezi např. atopických chorob
- **T_h17 lymfocyty**
 - Produkce IL-17
 - Důležité v obraně proti infekcím.
 - Hrají důležitou roli při chronických zánětlivých procesech.

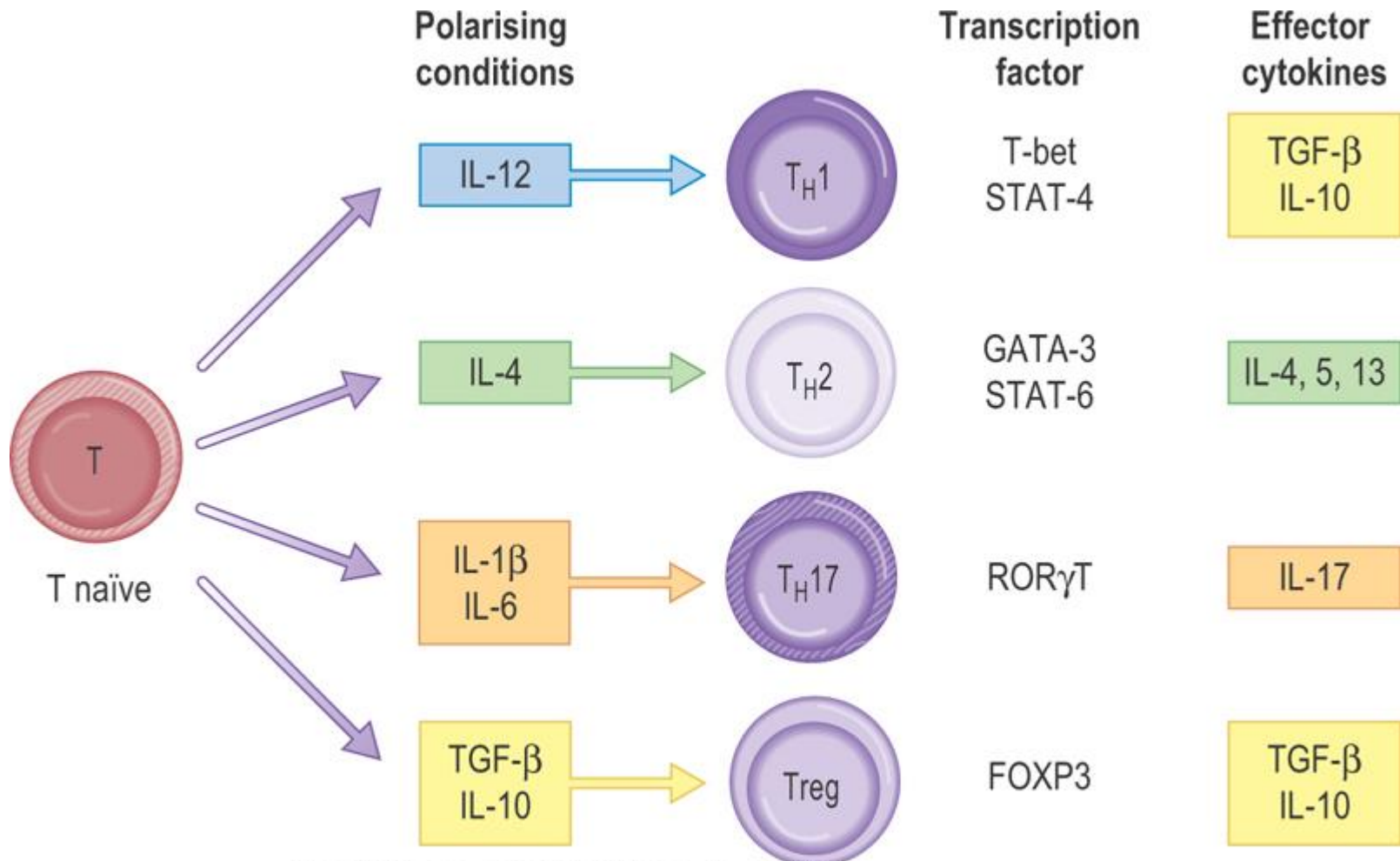
Další subpopulace

- **T_h9 lymfocyty**
 - Produkují hlavně IL-9
 - Hrají roli při alergických a autoimunitních chorobách, v protinádorové imunitě
- **T_h22 lymfocyty**
 - Produkce IL-22 a TNF-alfa, ale ne IFN-gamma, IL-4, nebo IL-17.
 - Účast hlavně v kožních zánětlivých procesech (psoriáza) s dalšími subepitelálními tkáněmi (alergické fenomény). Význam při hojení ran.
- **T_h25 lymfocyty**
- **T_{fh} lymfocyty**
 - Nacházejí se především v lymfoidních foliklech
 - Vysoká exprese CXCR5, CD40L
 - Pomoc B-lymfocytům
 - Tvorba IL-21, IL-4

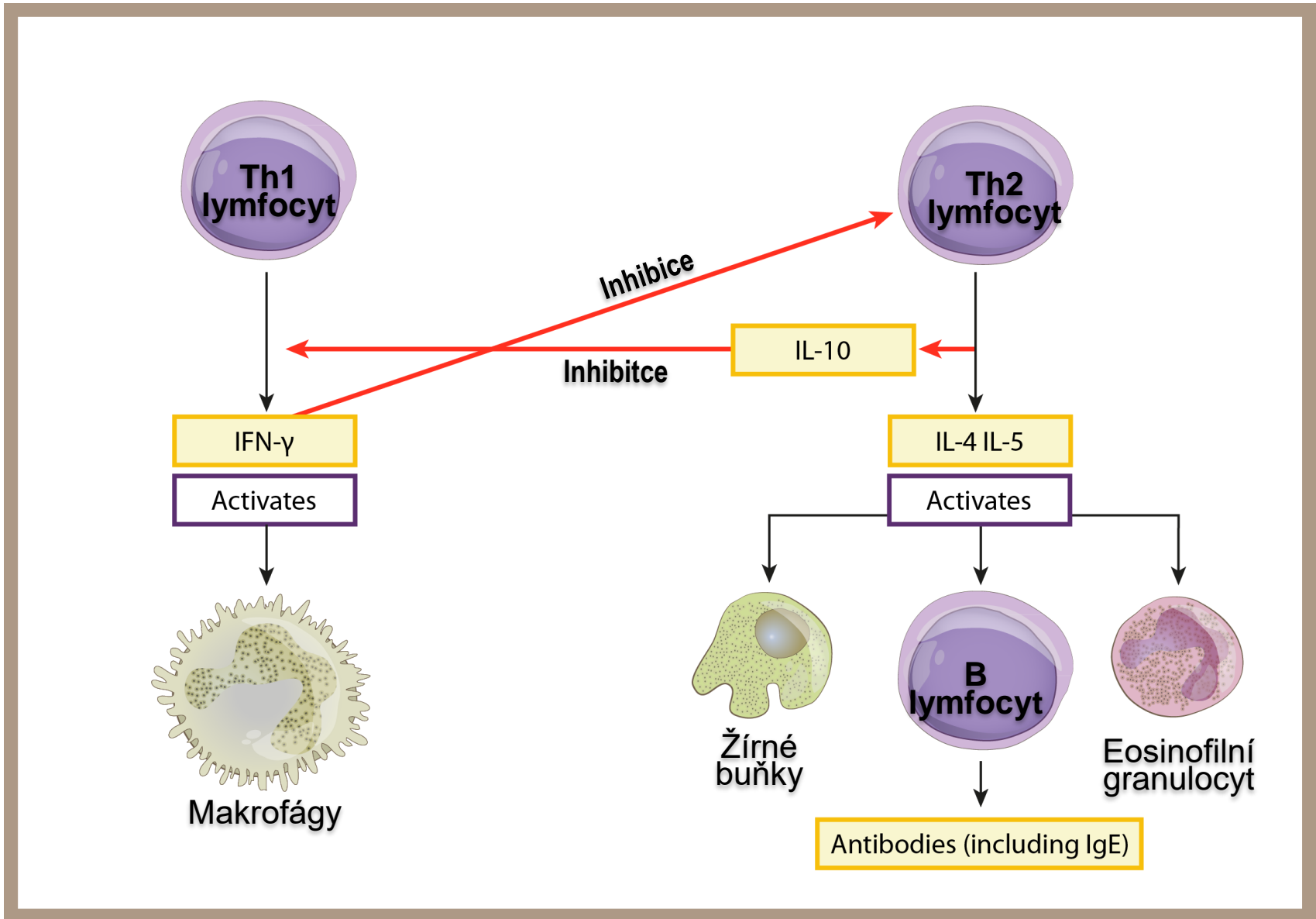
Vývoj TH1 a TH2 lymfocytů



O tom, kam se bude vyvíjet Th0 lymfocyt rozhoduje cytokinové prostředí



Funkce Th1 and Th2 lymfocytů

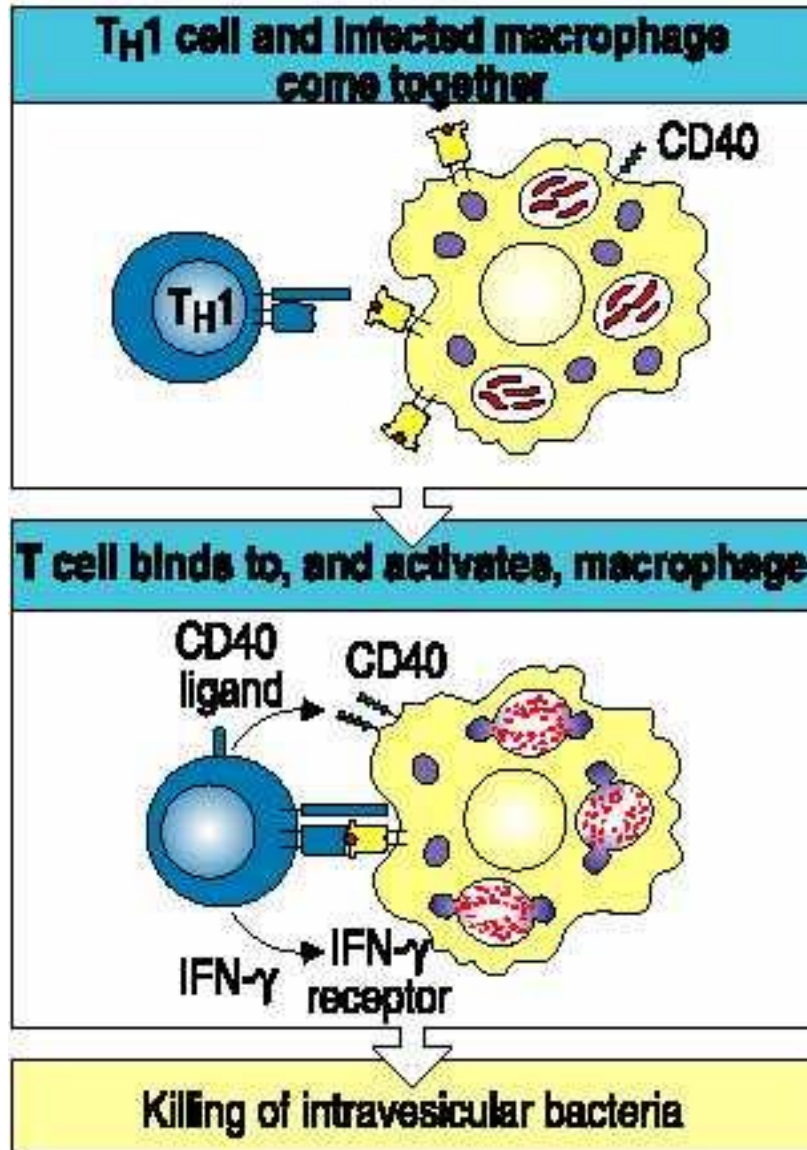


T_h1 lymfocyty

- Produkují zejména IFN- γ , IL-2, IL-3.
- Diferencují se pod vlivem IL-12, IL-18, IFN- γ
- Působí prozánětlivě, stimulují funkci makrofágů.
- Snad se spolupodílejí se na patogenezi autoimunitní thyreoiditidy, roztroušené mozkomíšní sklerózy.
- Produkci IFN- γ , tlumí funkci T_h2 lymfocytů.
- Hrají důležitou roli v akutní rejekci štěpu.

Funkce Th1 buněk

Figure 6.27

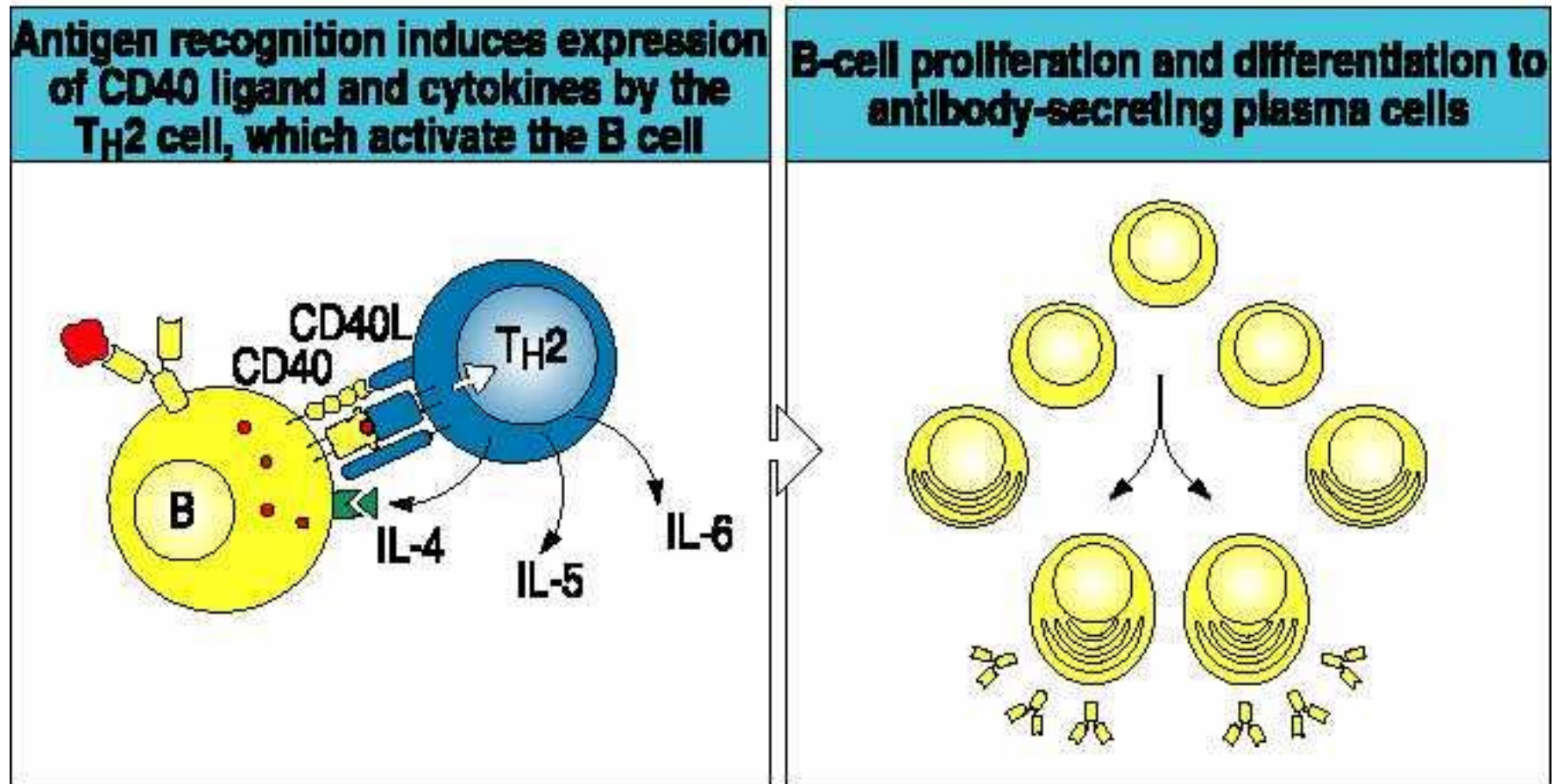


T_h2 lymfocyty

- Produkují zejména IL-3, IL-4, IL-5, IL-10.
- Diferencují se pod vlivem IL-4
- Stimulují tvorbu protilátek.
- Spolupodílejí se na patogenezi atopických chorob.
- Jejich predominance se objevuje během těhotenství.
- Produkci IL-10 a IL-4 tlumí funkci T_h1 lymfocytů.

Pro tvorbu protilátek B-lymfocyty je nutná pomoc Th2 buněk

Figure 6.30

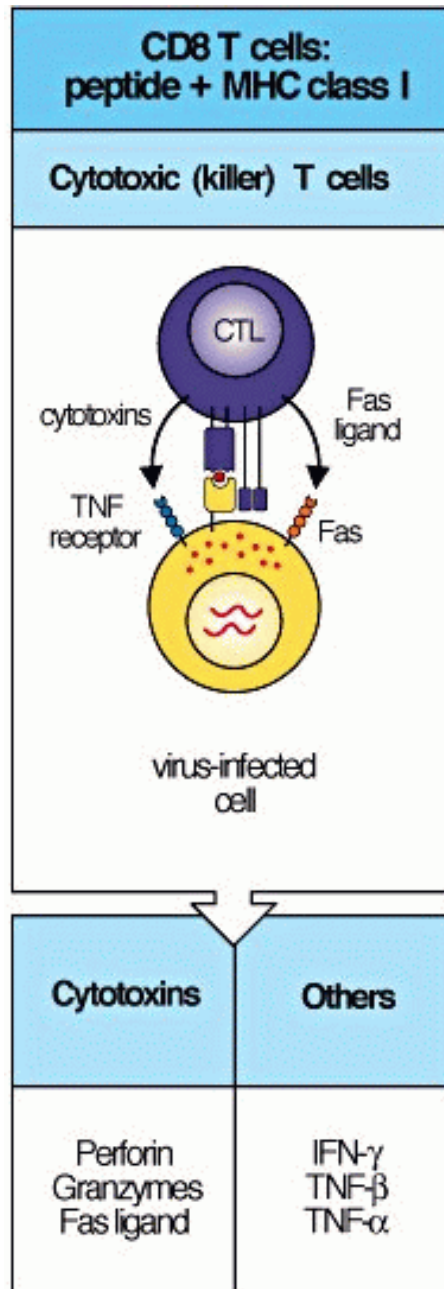


T_h17 lymfocyty

- Vznikají z antigenem-stimulovaných T-lymfocytů v prostředí TGFβ a IL-6. Důležitou roli hraje i IL-23.
- Produkuji IL-17A , IL-17F, IL-21 a IL-22.
- Mají význam v obraně proti extracelulárním patogenům.
- Patogeneticky se uplatňují při chronických zánětlivých procesech a vzniku některých autoimunitních chorob (?Crohnova choroba, ?Rvmatoidní artritida).

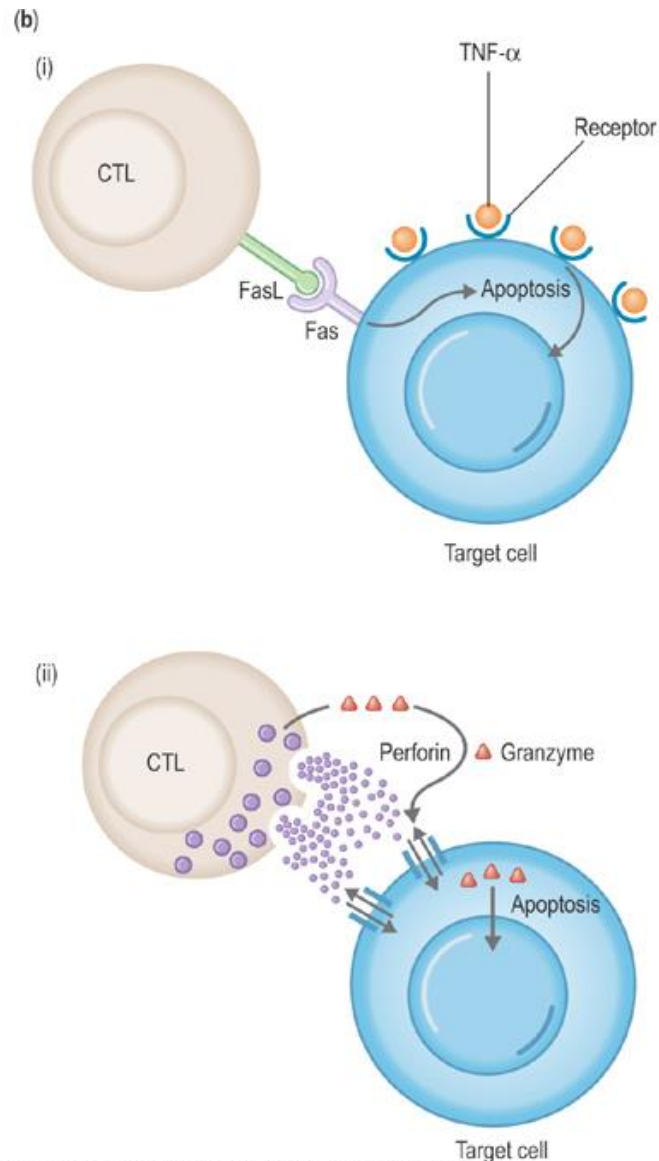
Cytotoxické T-lymfocyty

- Jsou CD8+
- Rozeznávají cizorodý antigen prezentovaný na HLA-I antigenech.
- Cytotoxicky působí perforin, dále různé mechanismy indukující apoptózu cílové buňky (granzymy, FasL, lymfotoxin).
- Jsou i důležitými producenty cytokinů (Tc1 a Tc2 buňky)



Cytotoxická funkce
CD8+ T lymfocytů

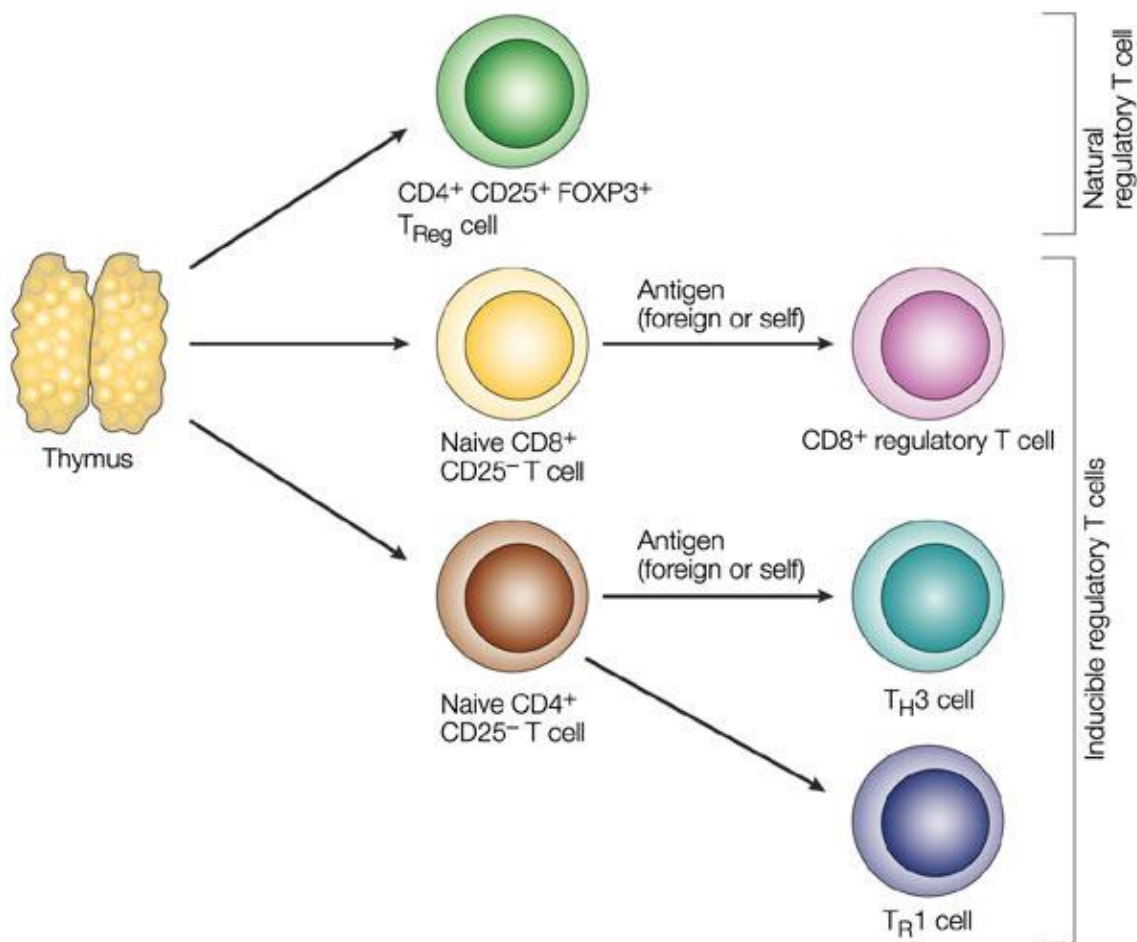
Cytotoxický efekt CD8+ lymfocytů



Cytotoxická granula

Protein in lytic granules of cytotoxic T cells	Actions on target cells
Perforin	Polymerizes to form a pore in target membrane
Granzymes	Serine proteases, which activate apoptosis once in the cytoplasm of the target cell

Základní typy regulačních T-lymfocytů



T_{reg} lymfocyty

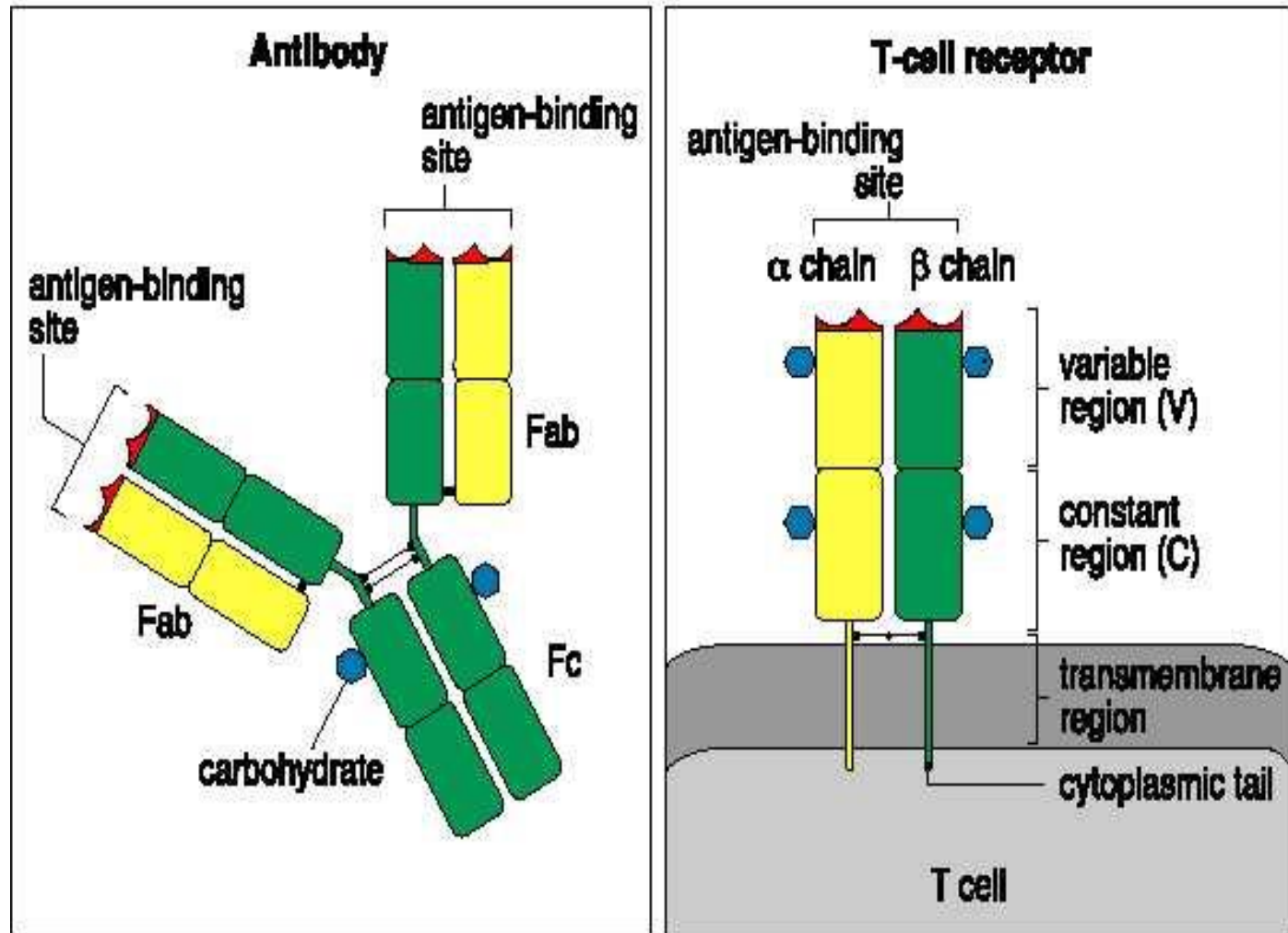
- Samostatná subpopulace přirozeně regulačních buněk.
- Vývoj v thymu, za určitých okolností je možný vývoj i v periférii (indukované T-reg lymfocyty – i T_{reg}).
- Transkripčním faktorem je FOXP3 (možné terapeutické využití, využití při diagnostice)
- Jsou CD4+CD25+.
- Přímo působí na jiné T-lymfocyty prostřednictvím molekuly CTLA-4 a snad i membránovou formou TGF-β.
- Tvoří asi 5-10% CD4+ lymfocytů.
- Zajišťují autoleranci, brání rozvoji autoimunitních chorob.
- Zajišťují ale také „autotoleranci“ nádorových buněk.

TR-1 lymfocyty

- Jedná se o indukované regulační CD4+ buňky.
- Vznikají z aktivovaných T-lymfocytů působením IL-10.
- Produkují vysoké hladiny IL-10, IFN- γ , TGF- β , ne však IL-2.
- Není jasný vztah k obdobným tzv. Th3 buňkám, i-T_{reg}.

T-buněčný receptor

Figure 3.1



$\gamma\delta$ -T-lymfocyty

- Tvoří asi 5% lymfocytů periferní krve, výrazně častěji se objevují např. mezi epiteliiemi.
- Jsou CD3+, CD4-CD8-.
- Mají nízkou antigenní specificitu.
- Thymus není nutný pro jejich vývoj.
- Mohou reagovat s nativními antigeny nebo antigeny předloženými jinými molekulami než HLA (např. HSP).
- Zvýšené počty jsou nacházeny u mykobakteriálních onemocnění, Erlichiozy, listeriózy, některých nádorů a autoimunitních chorob.

Intraepiteliální T-lymfocyty

- TCR typu $\alpha\beta$ i $\gamma\delta$
- Extrathymická diferenciace
- První linie specifické imunitní odpovědi
- Většina je CD8+
- Nízká antigenní specifita TCR

NK-T lymfocyty

- Exprimují $\alpha\beta$ TCR současně ale některé znaky NK buněk.
- Mohou exprimovat antigeny CD4 i CD8, často jsou dvojitě negativní.
- Produkují velká množství cytokinů (hlavně $\text{IFN}\gamma$ a IL-4).
- Zřejmě důležitá role v regulaci imunitní odpovědi – při defektu mohou vznikat autoimunitní choroby

Aktivace T-lymfocytů

Dva typy antigenů podle typů stimulace B-lymfocytů

- T- dependentní: Iniciace odpovědi vyžaduje spolupráci Th lymfocytů, B-lymfocytů a antigen prezentujících buněk (APC). Jedná se o nejčastější typ imunitní odpovědi.
- T-independentní: Pro stimulaci B-lymfocytů nejsou T-lymfocyty (a APC) nutné. Příkladem jsou některé polysacharidy. Dochází k tvorbě pouze IgM (nedochází k izotypovému přesmyku). Nevzniká žádná imunitní paměť.

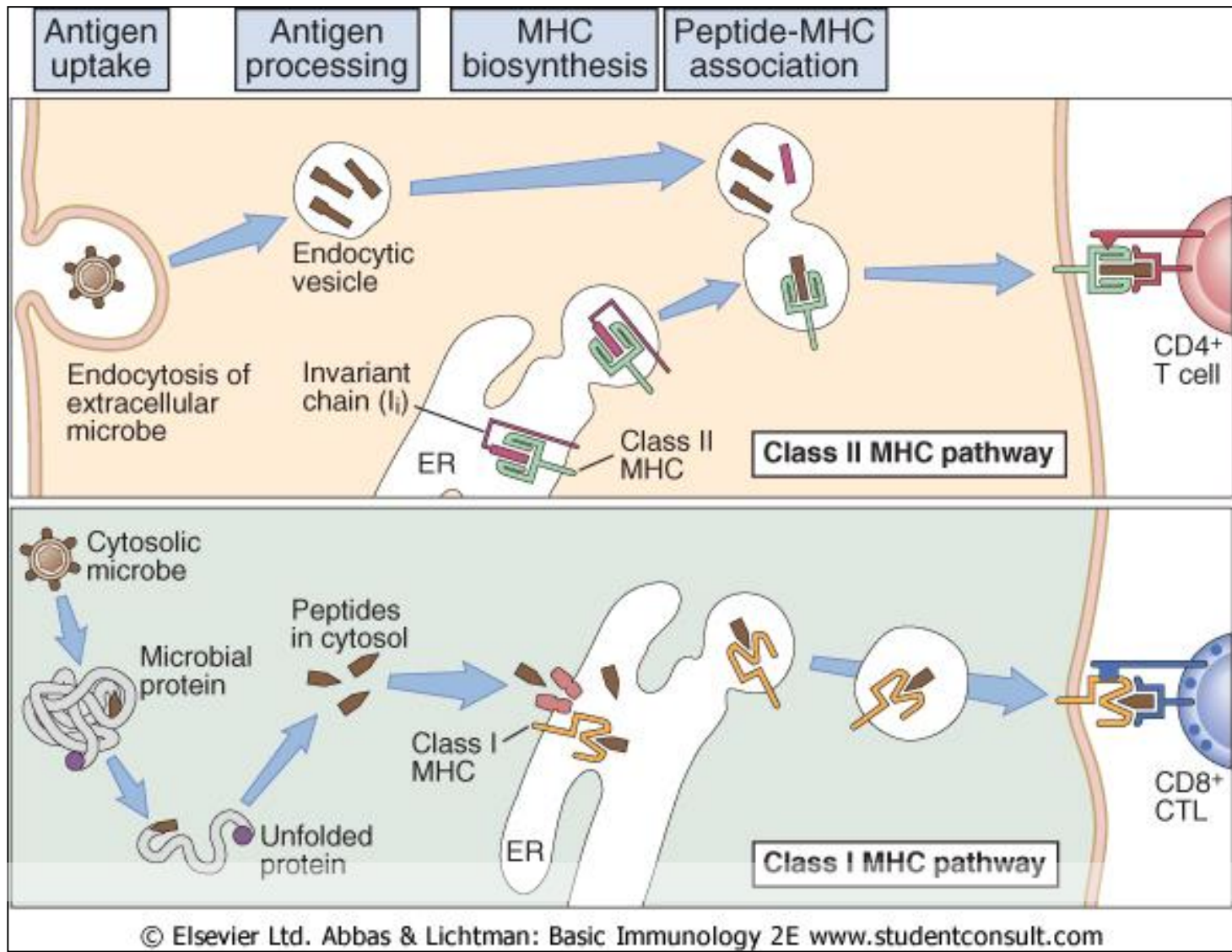
HLA-I antigeny

- Exprimovány na všech jaderných buňkách.
- Prezentují antigeny CD8+ lymfocytům.
- Prezentované antigeny jsou produkty buněčné proteosyntézy.
- Polypeptidové řetězce mají asi 10 aminokyselin.

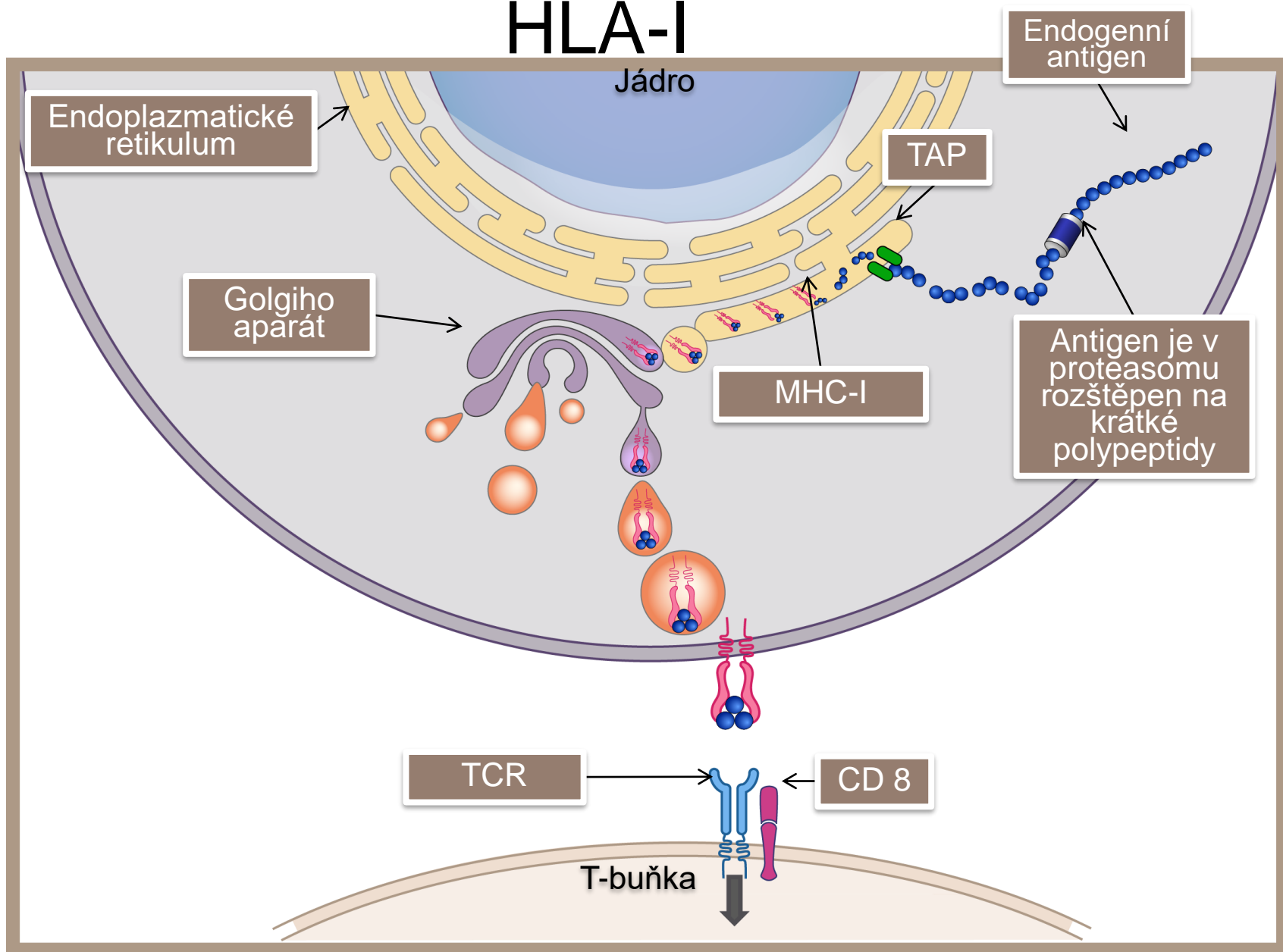
HLA-II antigeny

- Exprimovány na profesionálních antigen-prezentujících buňkách (monocyty a makrofágy, aktivované dendritické buňky, B-lymfocyty)
- Antigeny jsou předkládány CD4+ buňkám
- Antigeny jsou exogenního původu
- Polypeptidové řetězce mají asi 20 aminokyselin

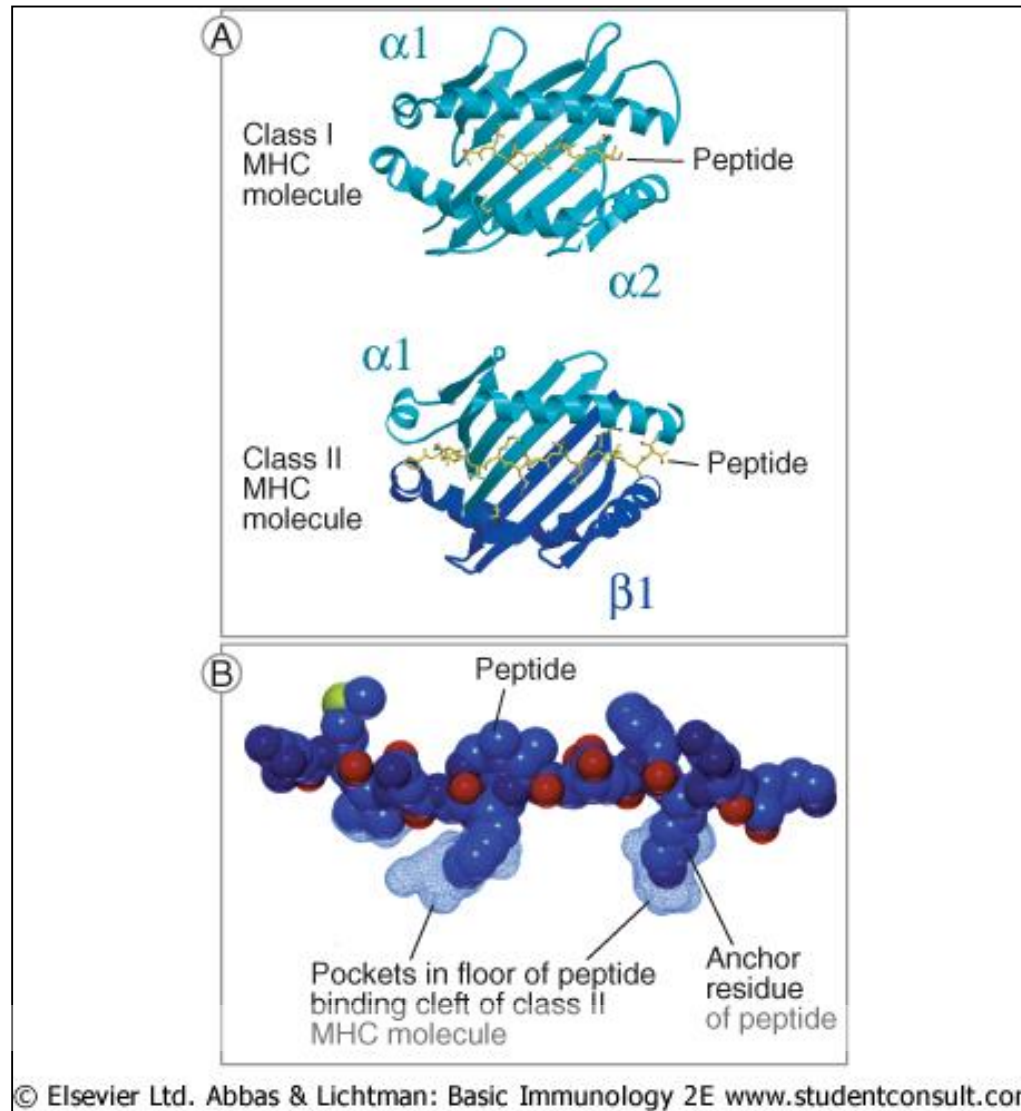
Vazba antigenu na HLA-I a HLA-II antigeny



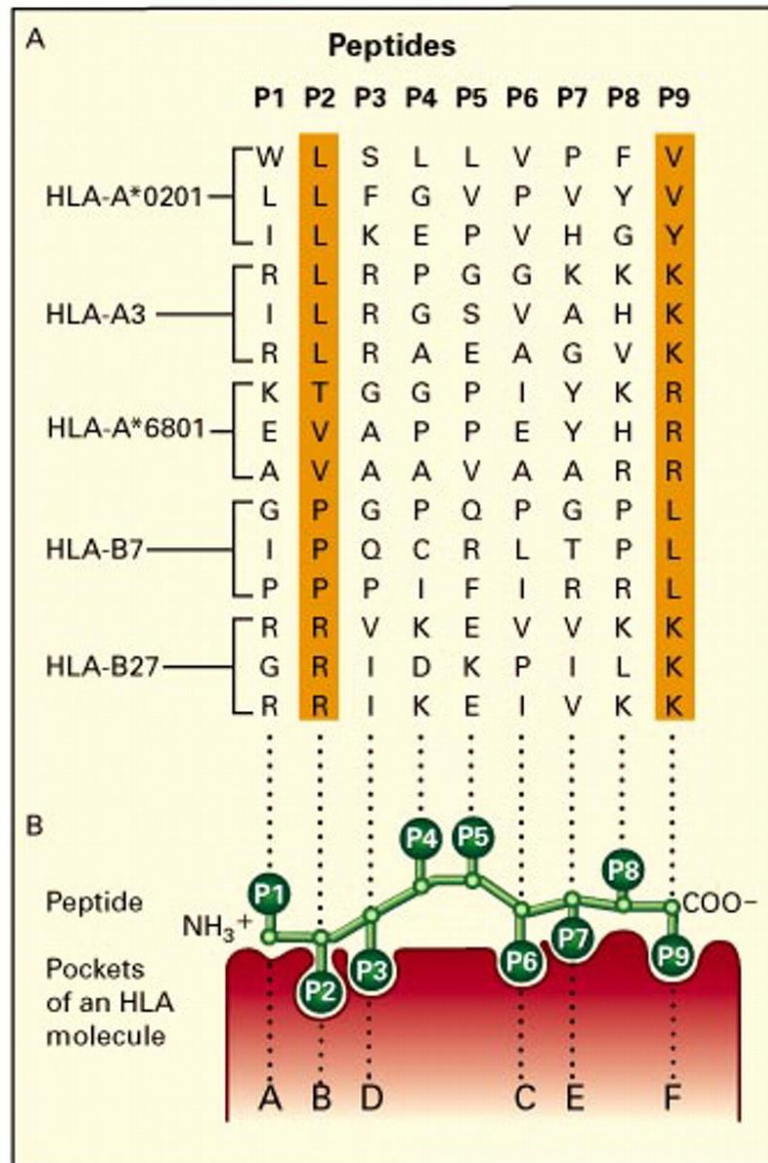
Prezentace endogenních antigenů na HLA-I



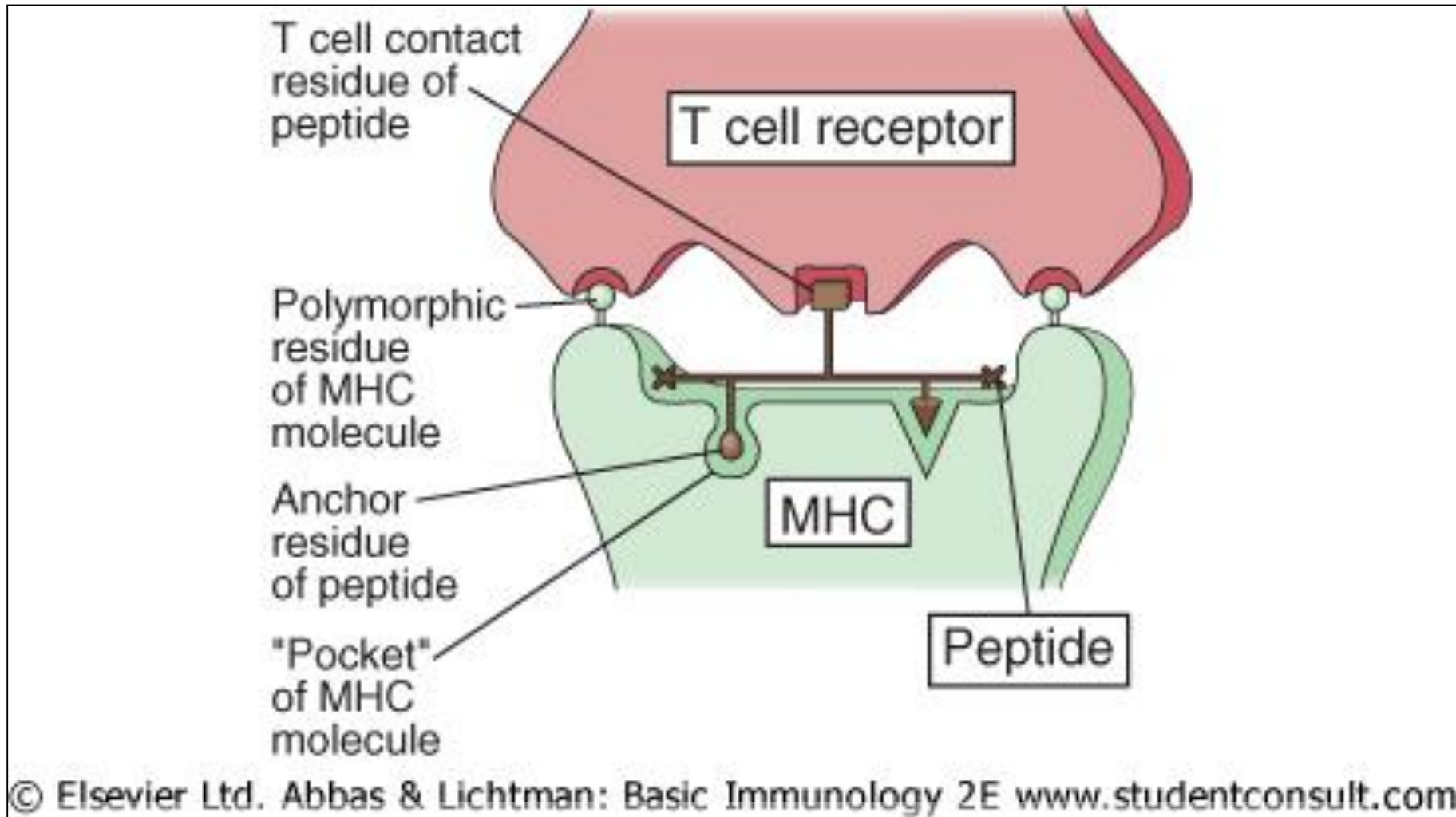
Vazba antigenního polypeptidu na molekulu HLA



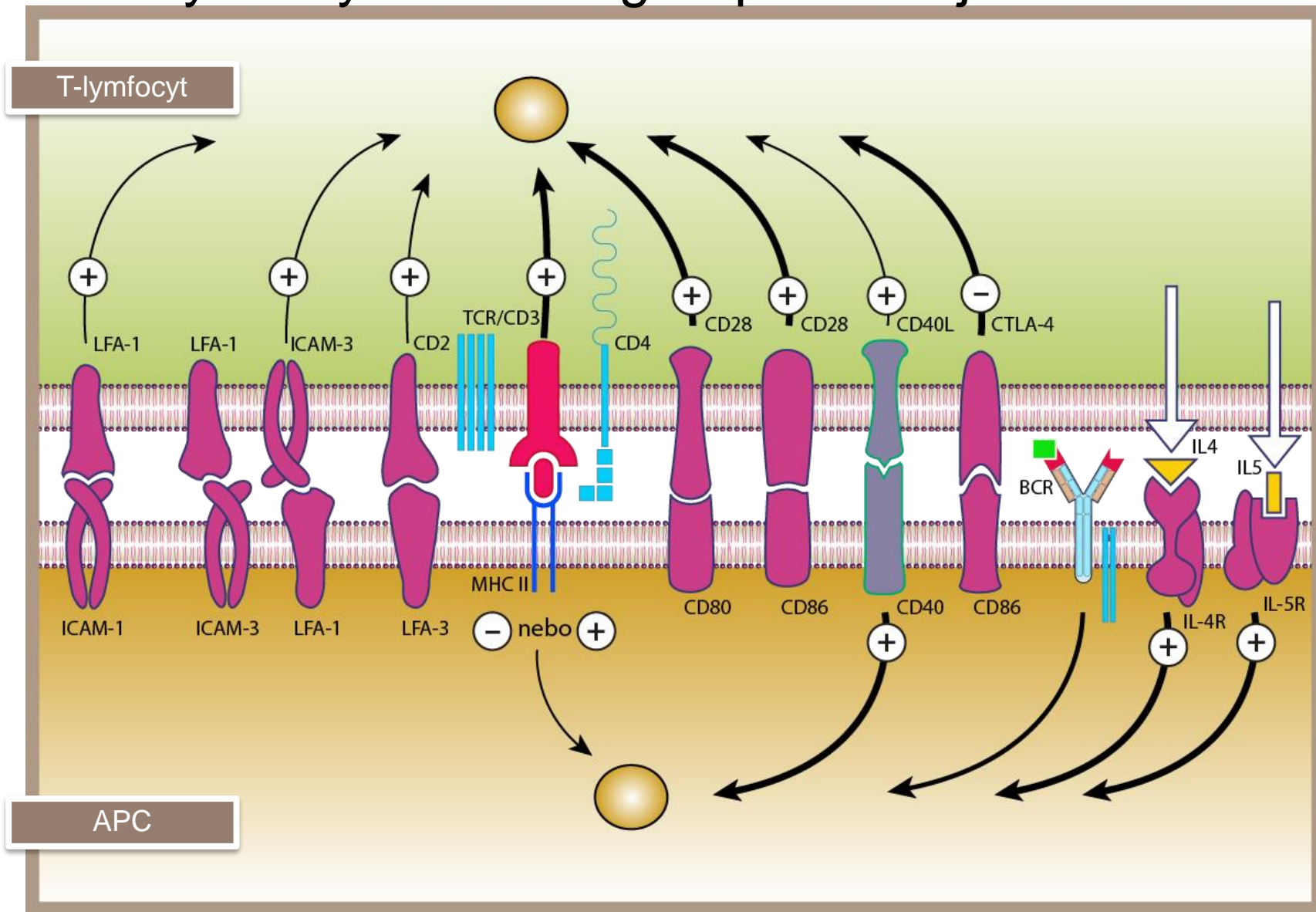
Specificita vazby peptidu na na HLA molekuly



Interakce TCR-polypeptid-HLA molekula



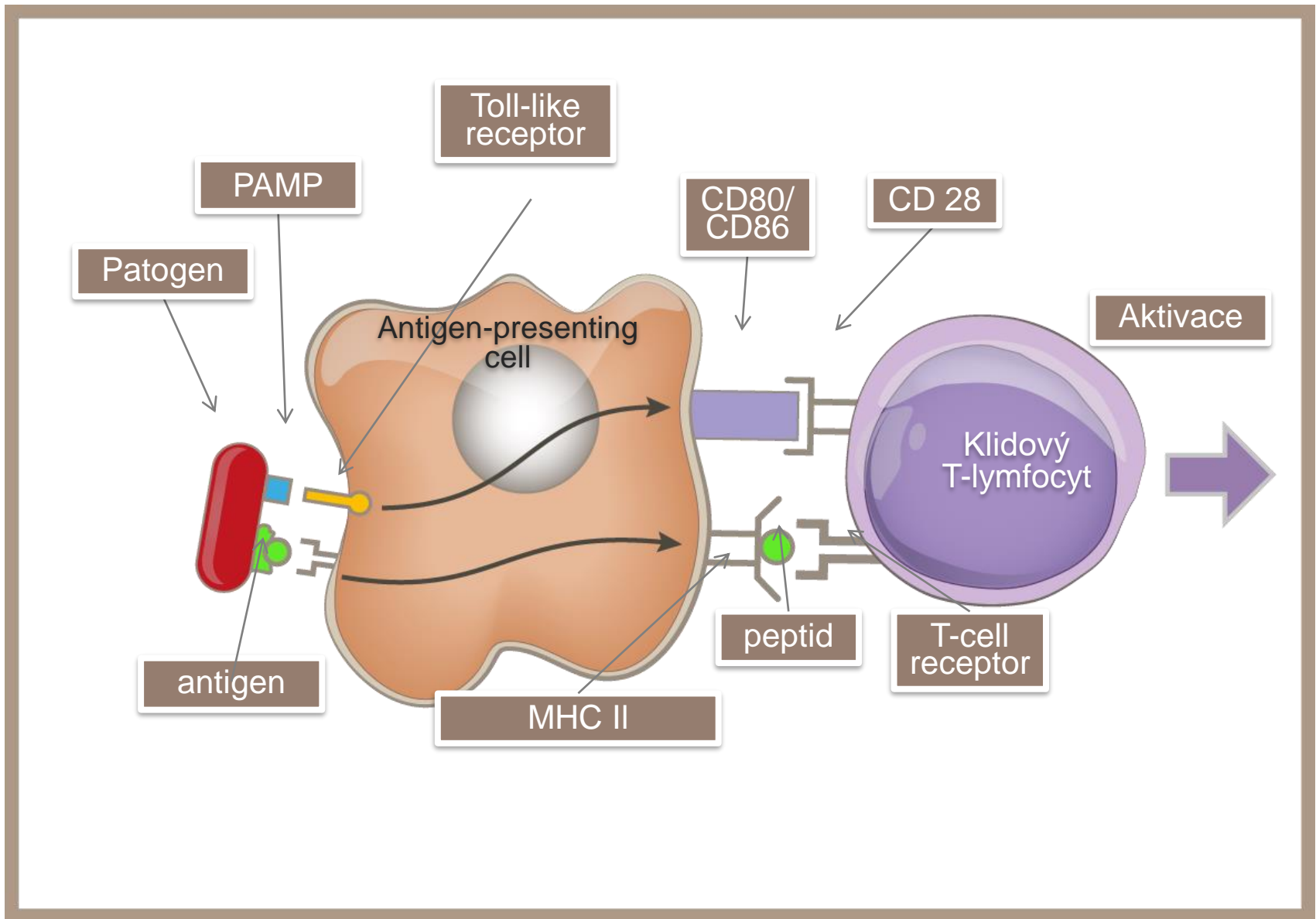
Kostimulační molekuly účastníci se interakce mezi T-lymfocytem a antigen-prezentující buňkou



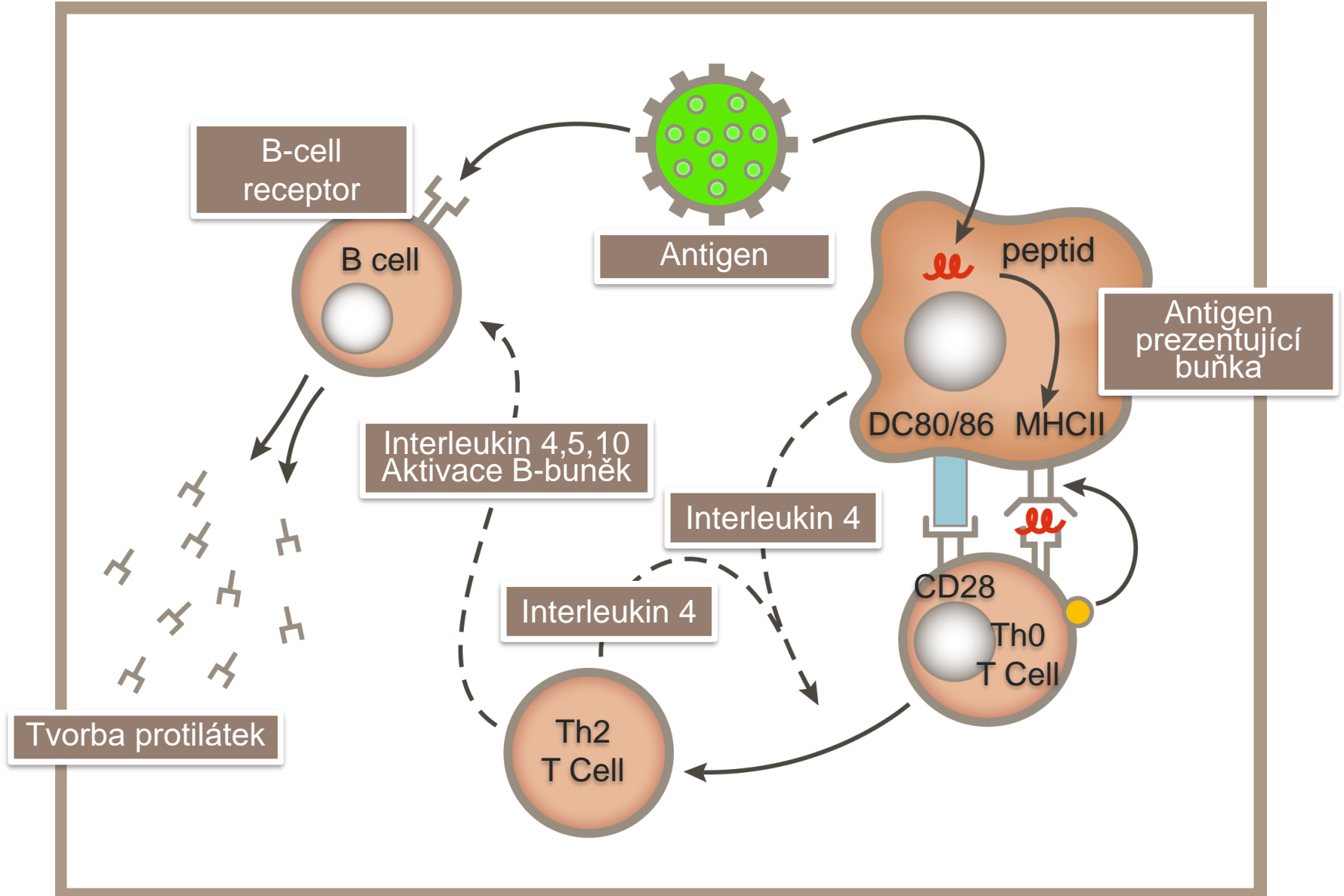
Profesionální antigen-prezentující buňky

- Aktivované dendritické buňky
- Monocyty a makrofágy
- B-lymfocyty

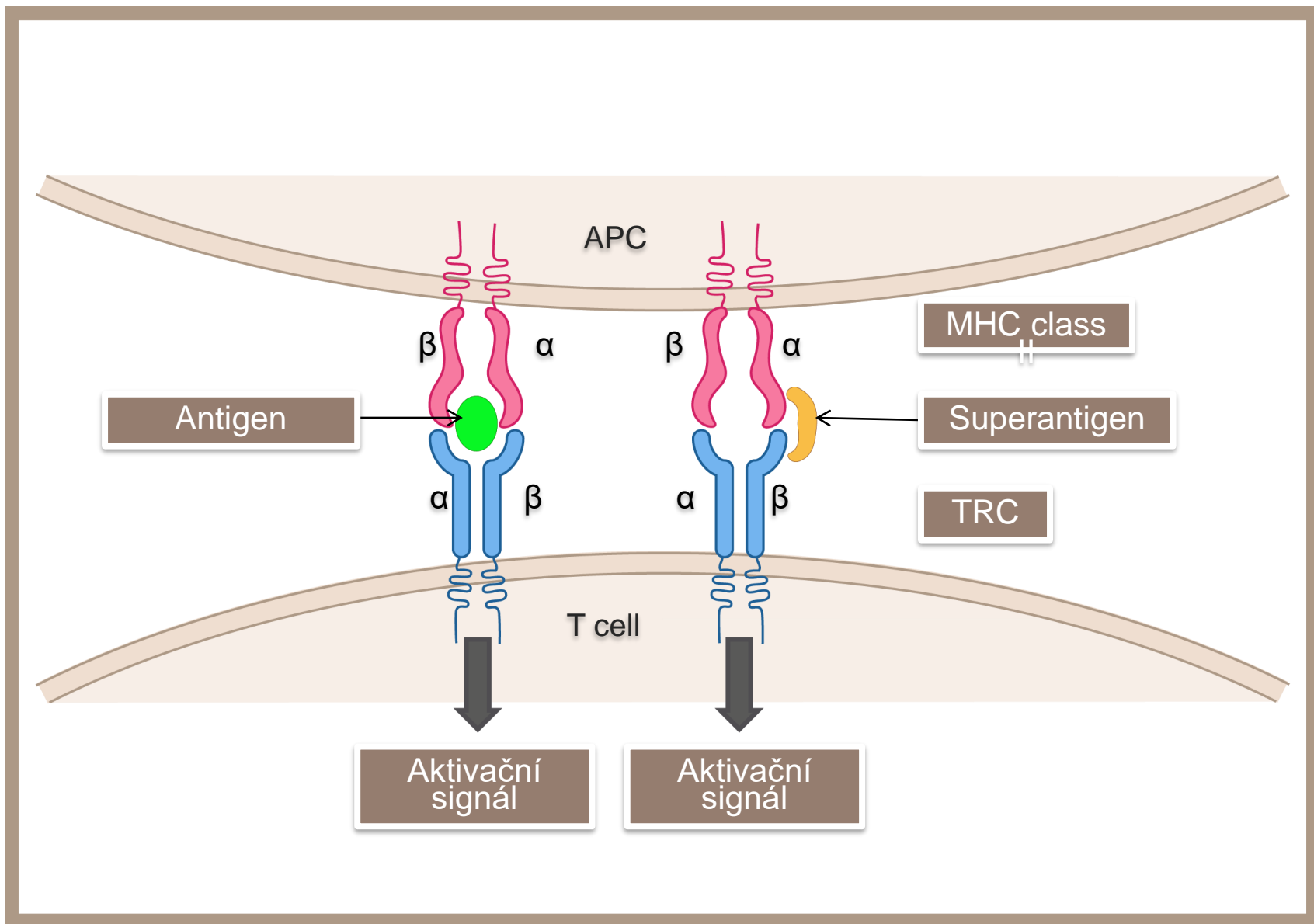
Stimulace T-lymfocyty antigenem je komplexní reakcí vyžadující vždy 2 signály



Aktivace imunitního systému antigenem



Aktivace TCR antigenem a superantigenem



Superantigeny

- Váží se na invariantní oblasti HLA-II antigenů a TCR.
- Následkem vazby je polyklonální stimulace T-lymfocytů bez přítomnosti specifického antigenu.
- Stimulace může vést k indukci autoimunity.
- Velké množství uvolněných cytokinů může způsobit těžké postižení organismu.
- Příklady: stafylokový enterotoxin, erytrogenní toxin streptokoků.