

# Rozvoj adaptivní imunitní reakce

Jiří Litzman

# ROZPOZNÁVÁNÍ PATOGENŮ A ABNORMÁLNÍCH BUNĚK POMOCÍ:

- POVRCHOVÝCH RECEPTORŮ
- “ROZPUSTNÝCH RECEPTORŮ”

# Rozpoznávání cizorodých struktur imunitním systémem

Vrozená imunita:

receptory rozeznávající molekulární  
signaturu (PAMPs) – „*pattern  
recognition receptors*“ (PRR)

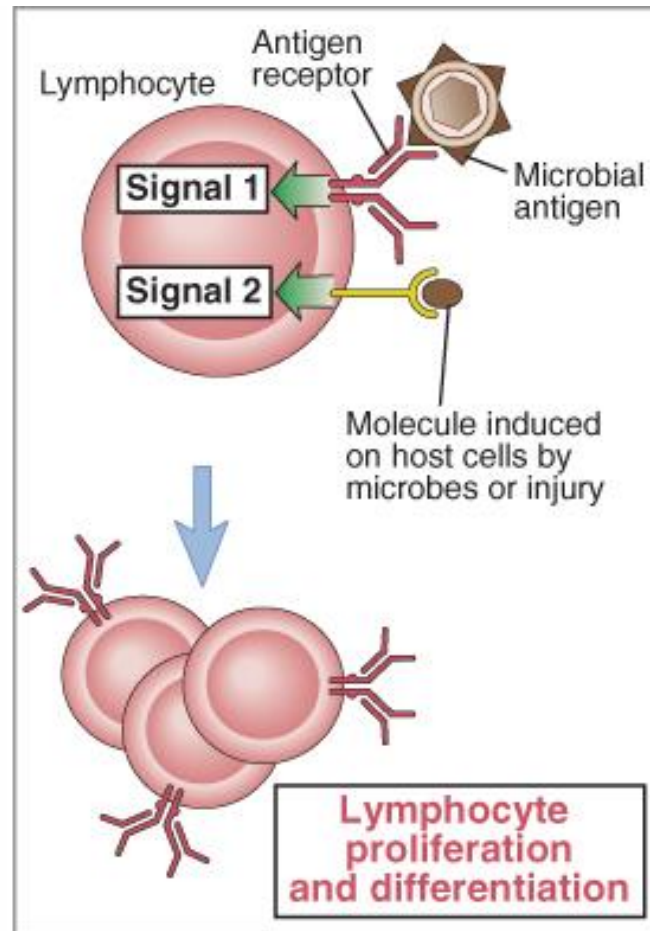
Adaptivní imunita:

molekuly MHC I. a II. třídy (HLA)  
receptory lymfocytů T (TCR)  
receptory lymfocytů B (BCR)

# ADAPTIVNÍ SYSTÉM:

- Je založen na obrovském repertoáru klonů B- and T-lymfocytů, z nichž každý nese poněkud odlišné receptory (BCR resp. TCR)
- “Rozpustné receptory” adaptivního systému jsou protilátky (= rozpustné BCR)
- Systém je “anticipační”, klonální, “marnotratný”
- Klonální receptory vznikají hlavně přeskupováním genových fragmentů a somatickými mutacemi.

# Pro stimulaci lymfocytů jsou vždy nutné nejméně 2 signály



ZÁKLADNÍ SPOJENÍ MEZI  
PŘIROZENÝM A ADAPTIVNÍM  
SYSTÉMEM PŘEDSTAVUJÍ :

DENDRITICKÉ  
BUŇKY

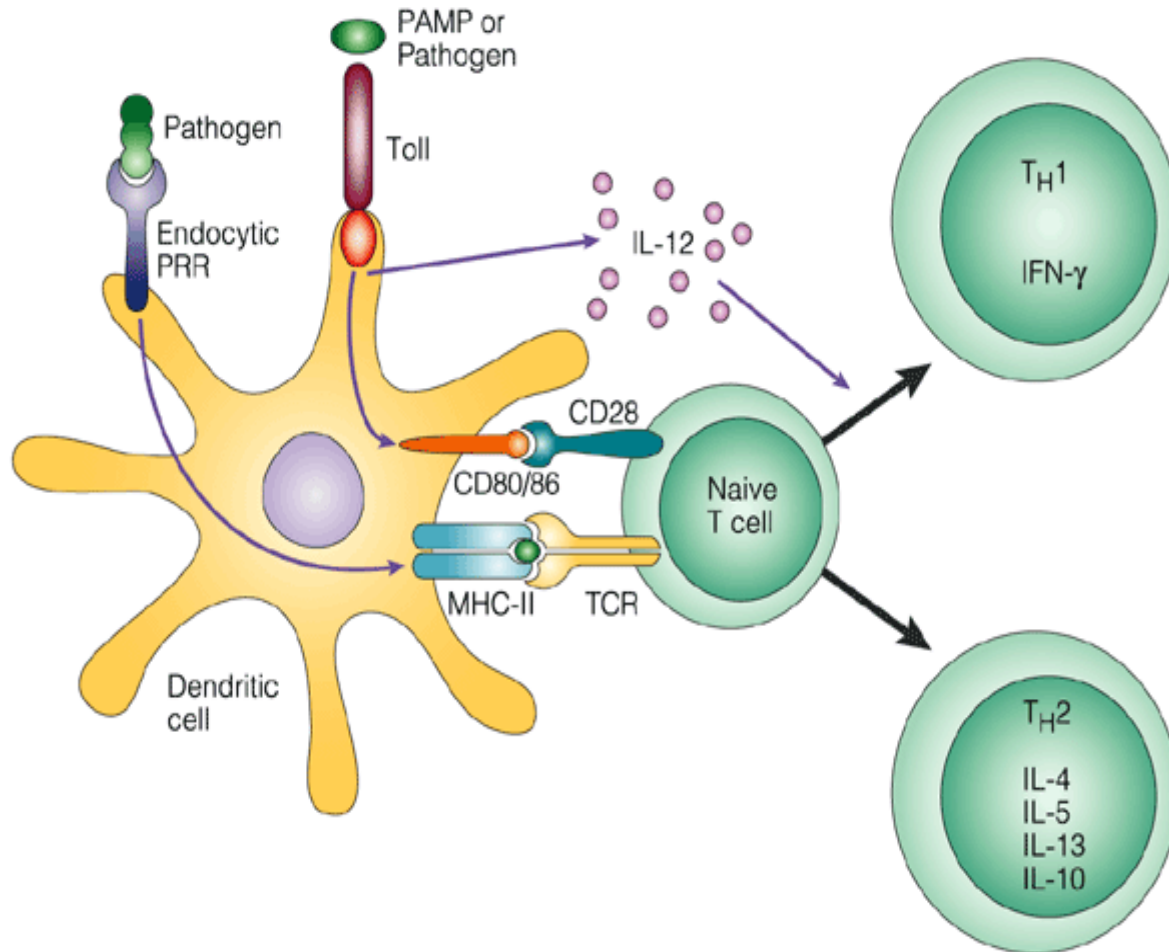
DENDRITICKÉ BUŇKY MUSÍ  
BÝT PRE-STIMULOVÁNY

SIGNÁLY

NEBEZPEČÍ

ABY BYLY SCHOPNY  
AKTIVOVAT T LYMFOCYTY

# PAMP jsou důležité v aktivaci dendritických buněk





# Aktivace buněk specifického imunitního systému

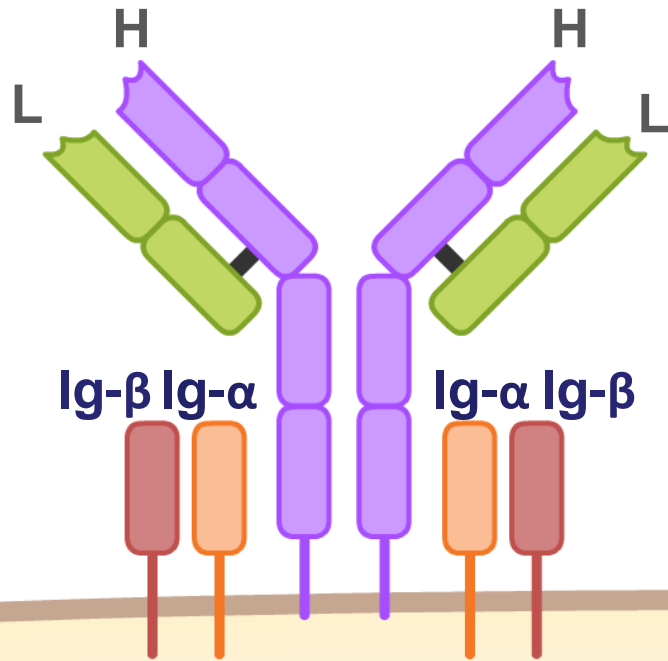
- B-lymfocyty – vazba nativního antigenu na B-buněčný receptor (BCR) + pro další vývoj jsou nutné další signály. Uplatňují se konformační i lineární epitopy.

Rozdílná je aktivace u T-dependentních a T-independentních antigenů.

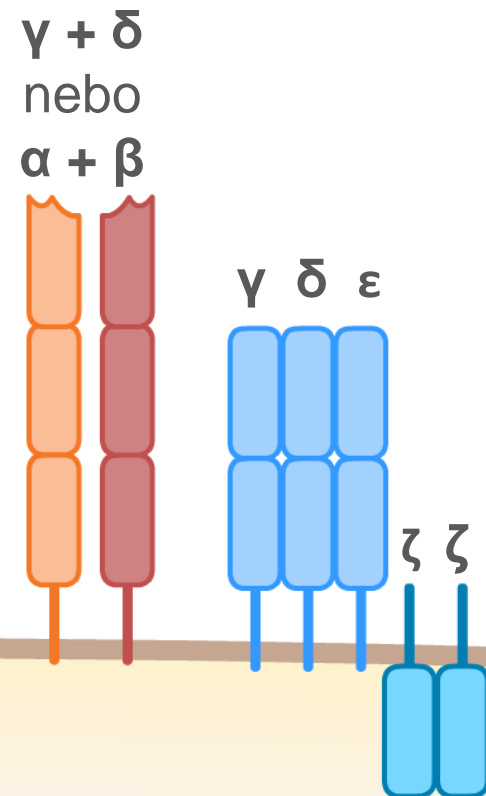
- T-lymfocyty- antigen musí být degradován a navázán na molekuly HLA. Uplatňují se lineární epitopy. Až tento komplex simuluje T-buněčný receptor (TCR) + jsou nutné další kostimulační signály.

# Antigen-specific receptors T- a B- lymfocytů

B cell receptor - BCR



T-cell receptor - TCR

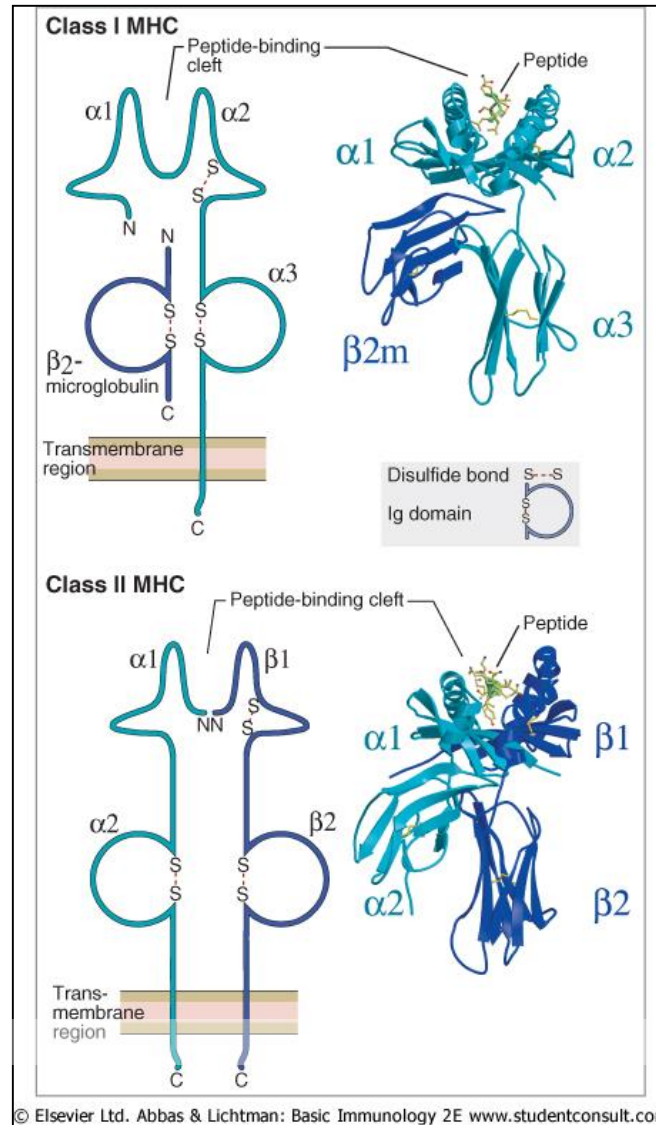


# T-RECEPTORY (TCR)

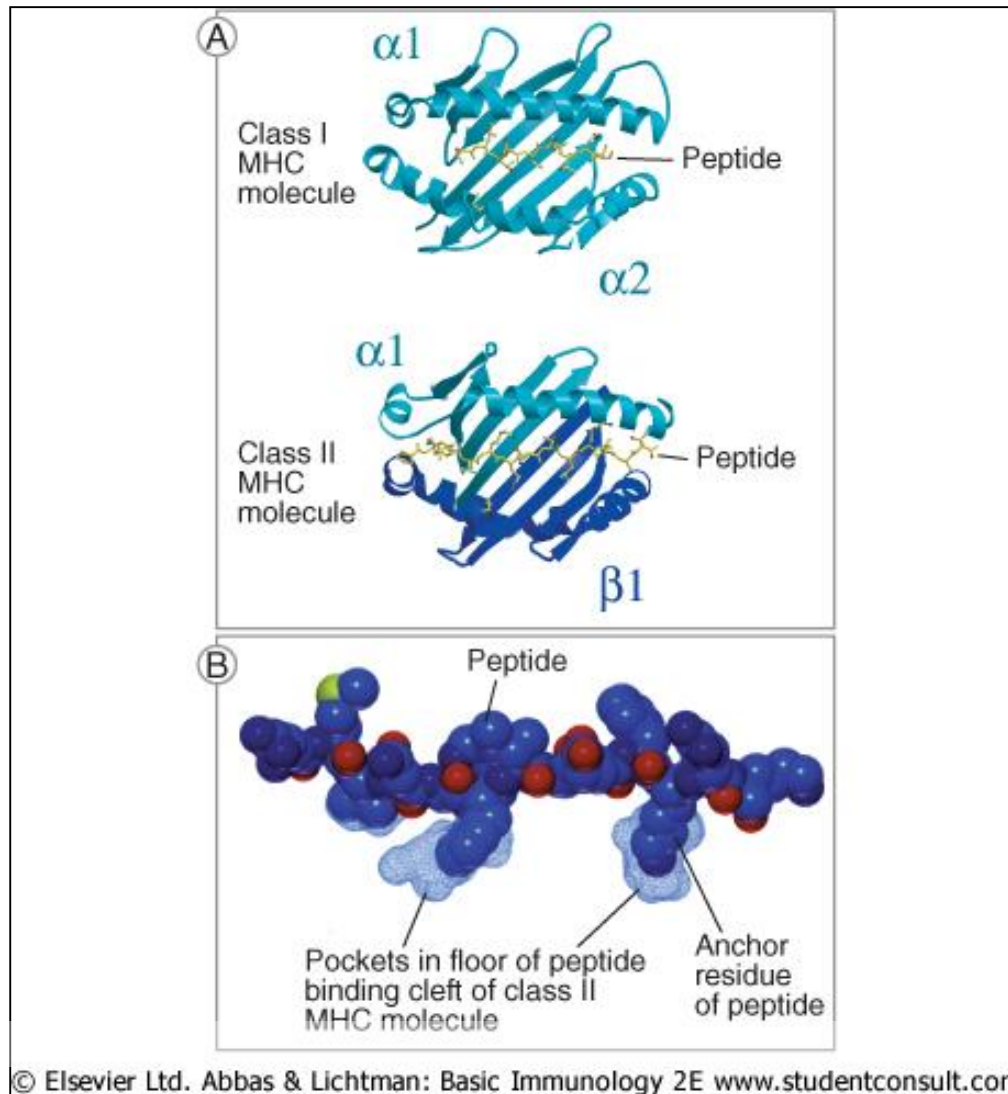
ROZEZNÁVAJÍ HLAVNĚ KOMPLEXY  
MHC-PROTEINŮ S PEPTIDY NA  
POVRCHU JINÝCH BUNĚK

ÚČEL: DETEKCE BUNĚK  
INFIKOVANÝCH “SKRYTÝMI”  
INTRACELULÁRNÍMI PARAZITY (např.  
VIRY)

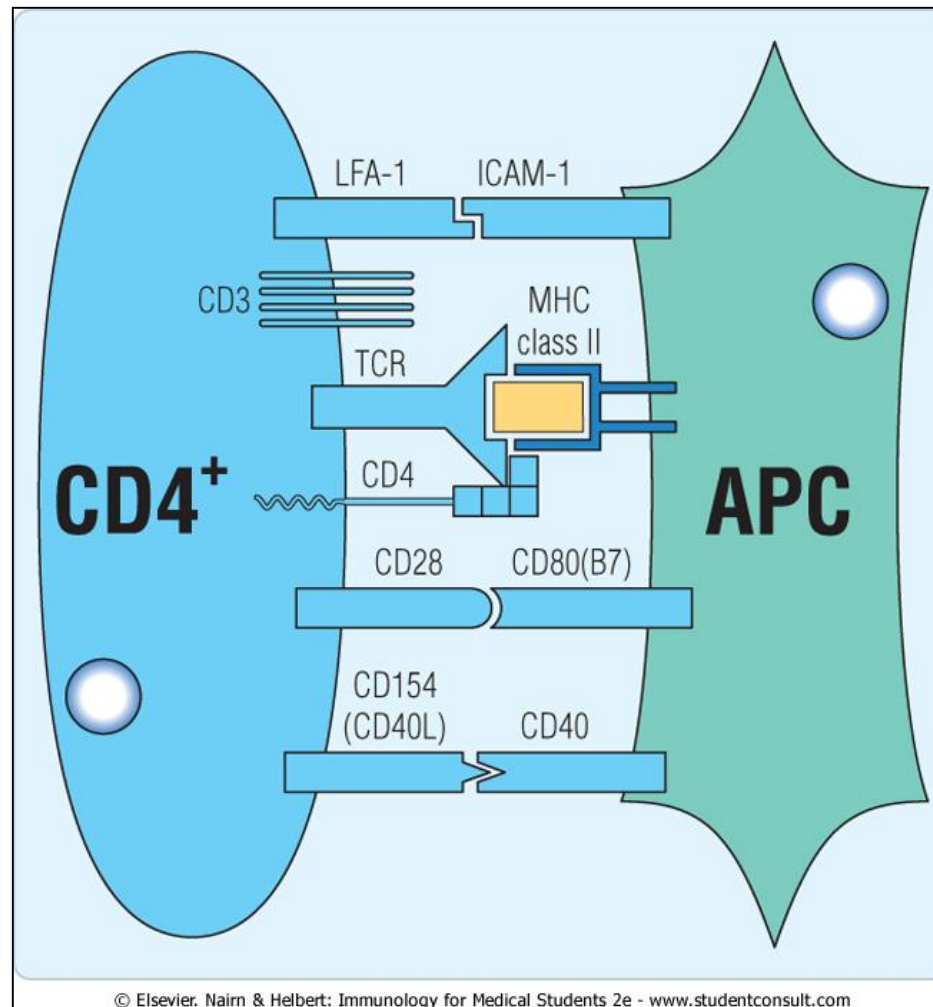
# Molekuly HLA první a druhé třídy



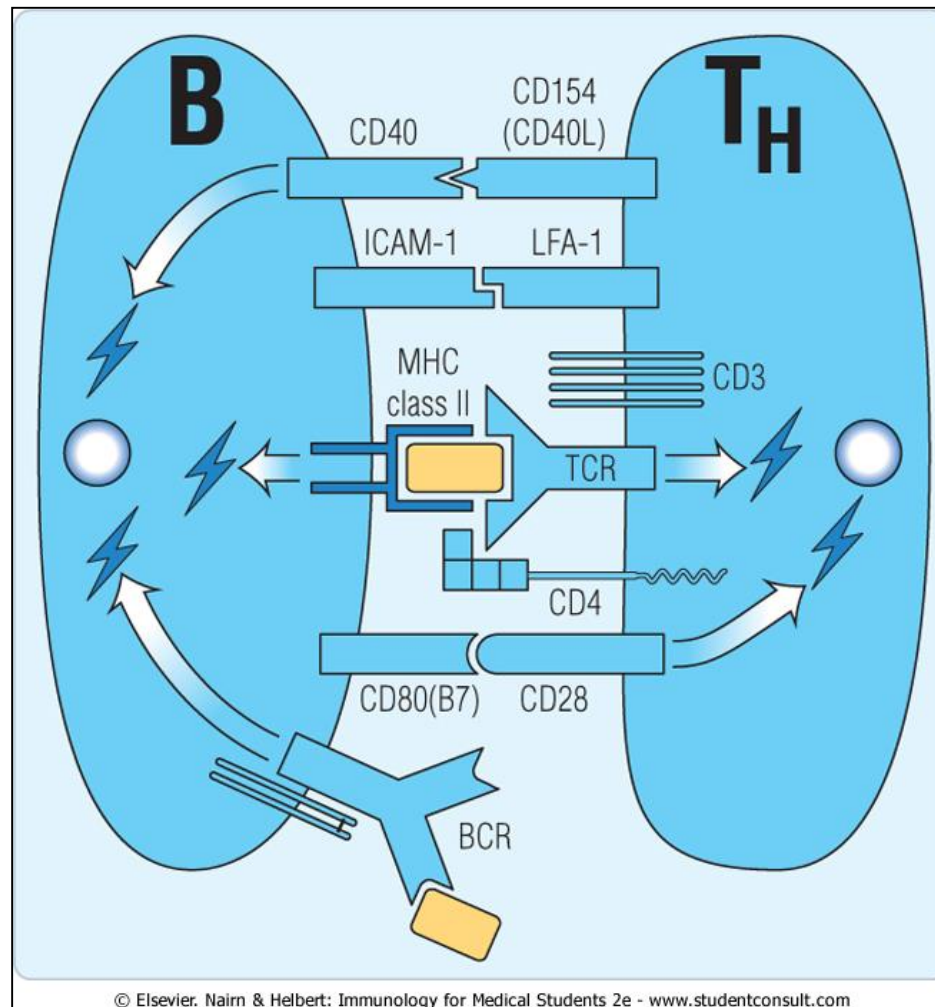
# Vazba peptidů na HLA molekuly



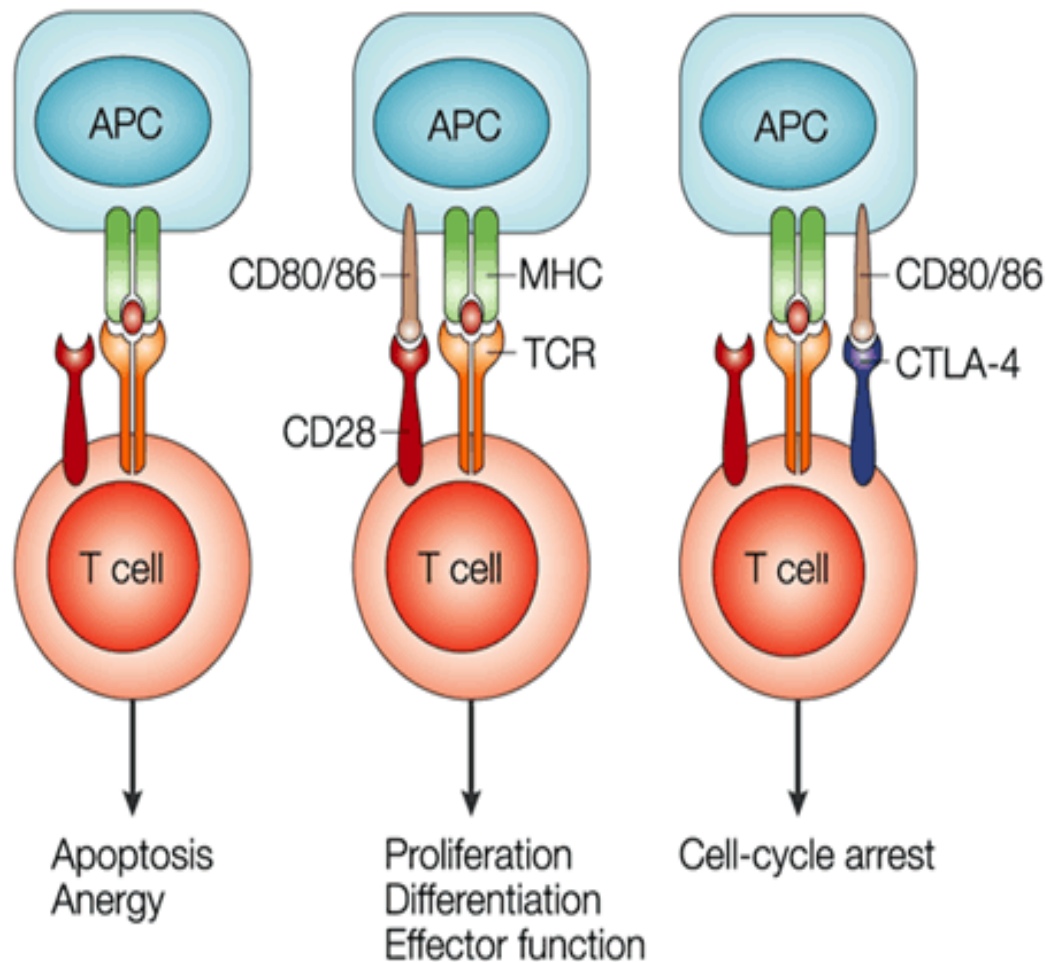
# Kostimulační molekuly při aktivaci T-lymfocyту antigen prezentující buňkou



# Kostimlační signály při interakci T-B- lymfocyt

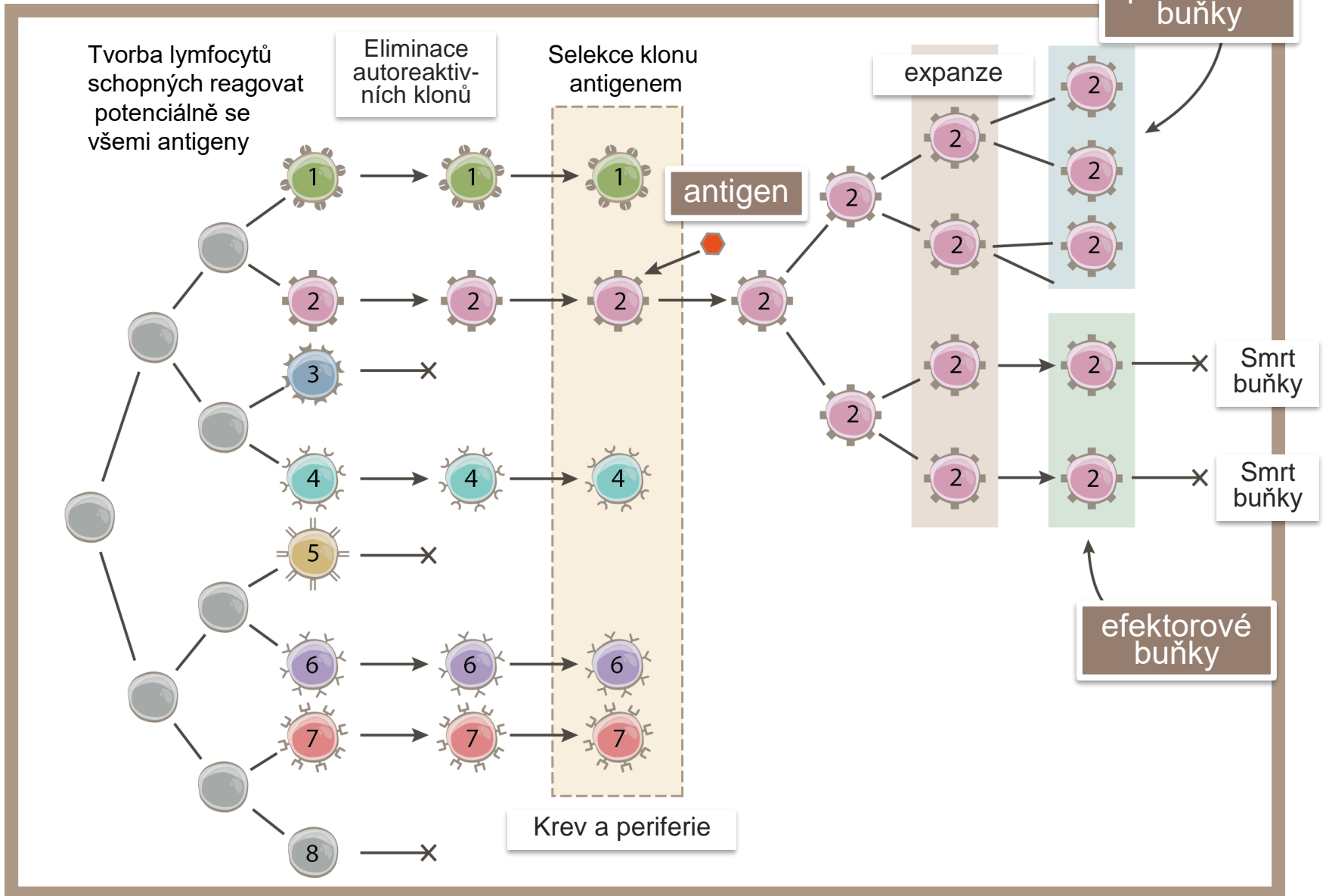


Pouze některé signály vedou k stimulaci T-lymfocytů a následné aktivaci a proliferaci





# Klonálně selekční teorie



# Klonálně selekční teorie

F.M. Burnet, 1957

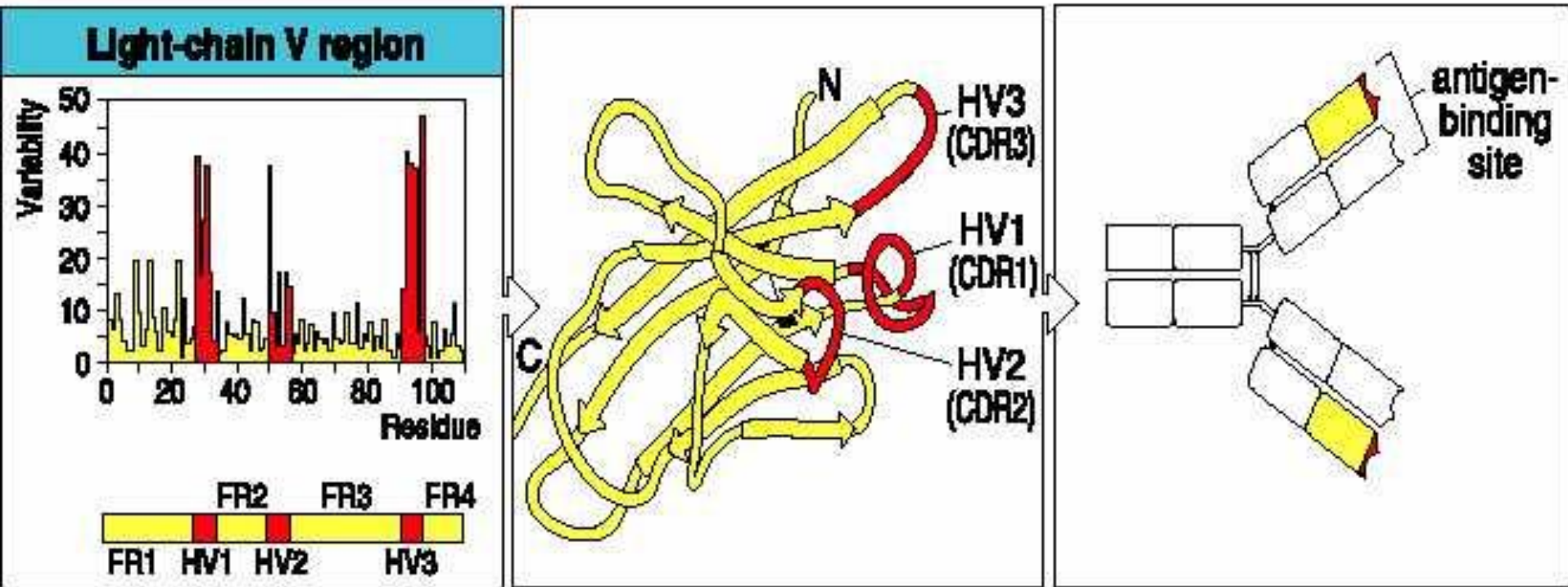
- V průběhu vývoje každého jedince dochází k vývoji buněk se specifickými vazebnými místy pro různé epitopy, přičemž každá buňka reaguje pouze s jedním epitopem.
- Během vývoje (zejména intrauterinního) dochází k eliminaci autoreaktivních lymfocytů (zakázané klony, „forbidden clones“), čímž vzniká pool buněk schopných reagovat na cizorodé antigeny.
- Dojde-li k reakci epitopu s příslušným receptorem, dochází k proliferaci daného buněčného klonu. (tj k **selekcí klonu**)
- Po opakovaném dělení dosáhnou buňky stadia terminálně diferencovaných buněk (např. plazmatická buňka), ty se již dále nedělí.
- U části stimulovaných a proliferujících buněk k terminální diferenciaci nedojde, přetrvávají v těle jako buňky paměťové.

# Z historie imunologie

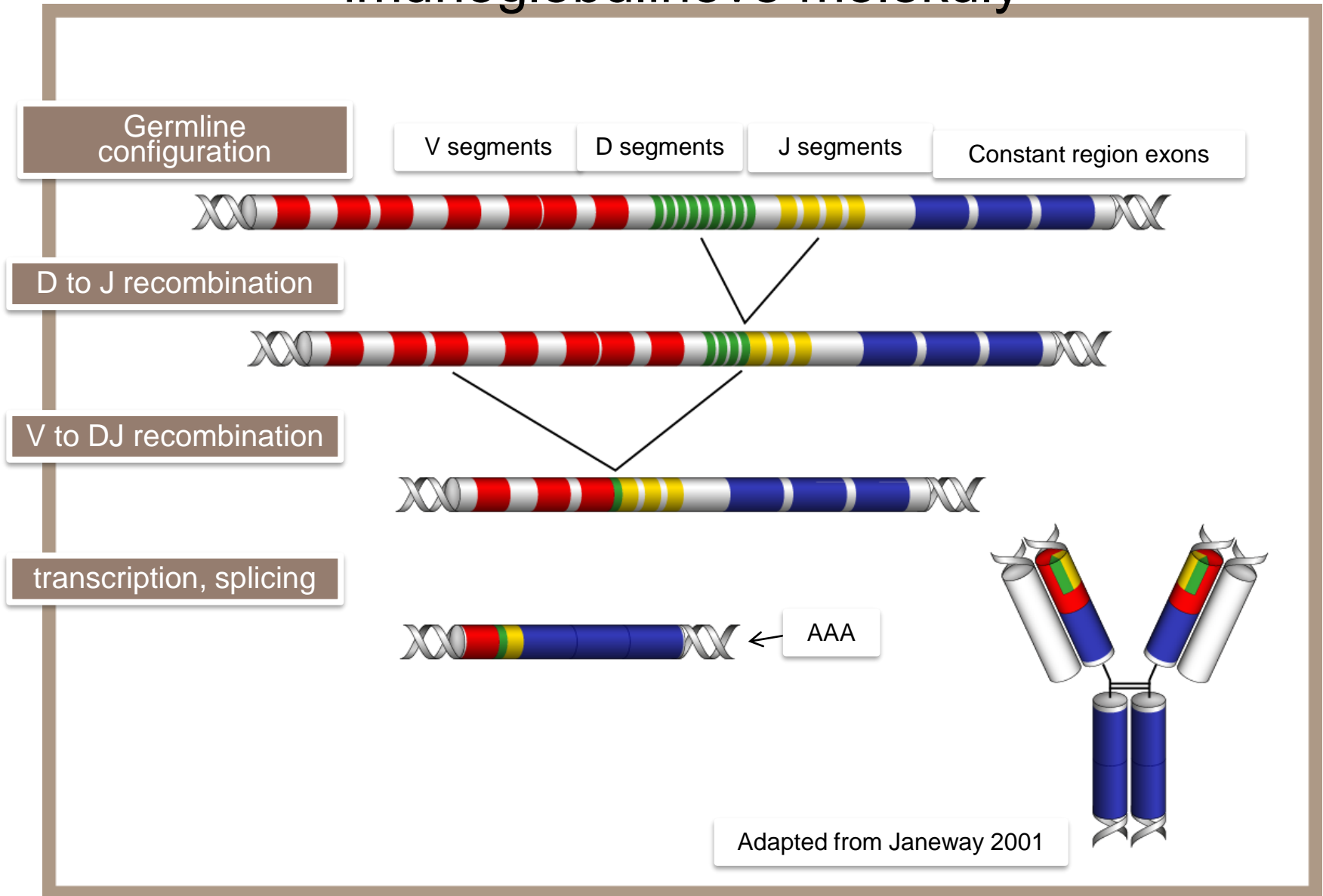
- **Klonálně selekční teorie: 1957**
- Objeven význam brzlíku v imunitním systému -1961
- Rozdělení lymfocytů na T- a B- 1965
- Objev funkce thymu a dichotomie imunitního systému -1969
- **Selekce lymfocytů při vývoji v thymu - 1975**
- Organizace genů pro imunoglobuliny 1978-1980

# Variabilní oblast imunoglobulinové molekuly

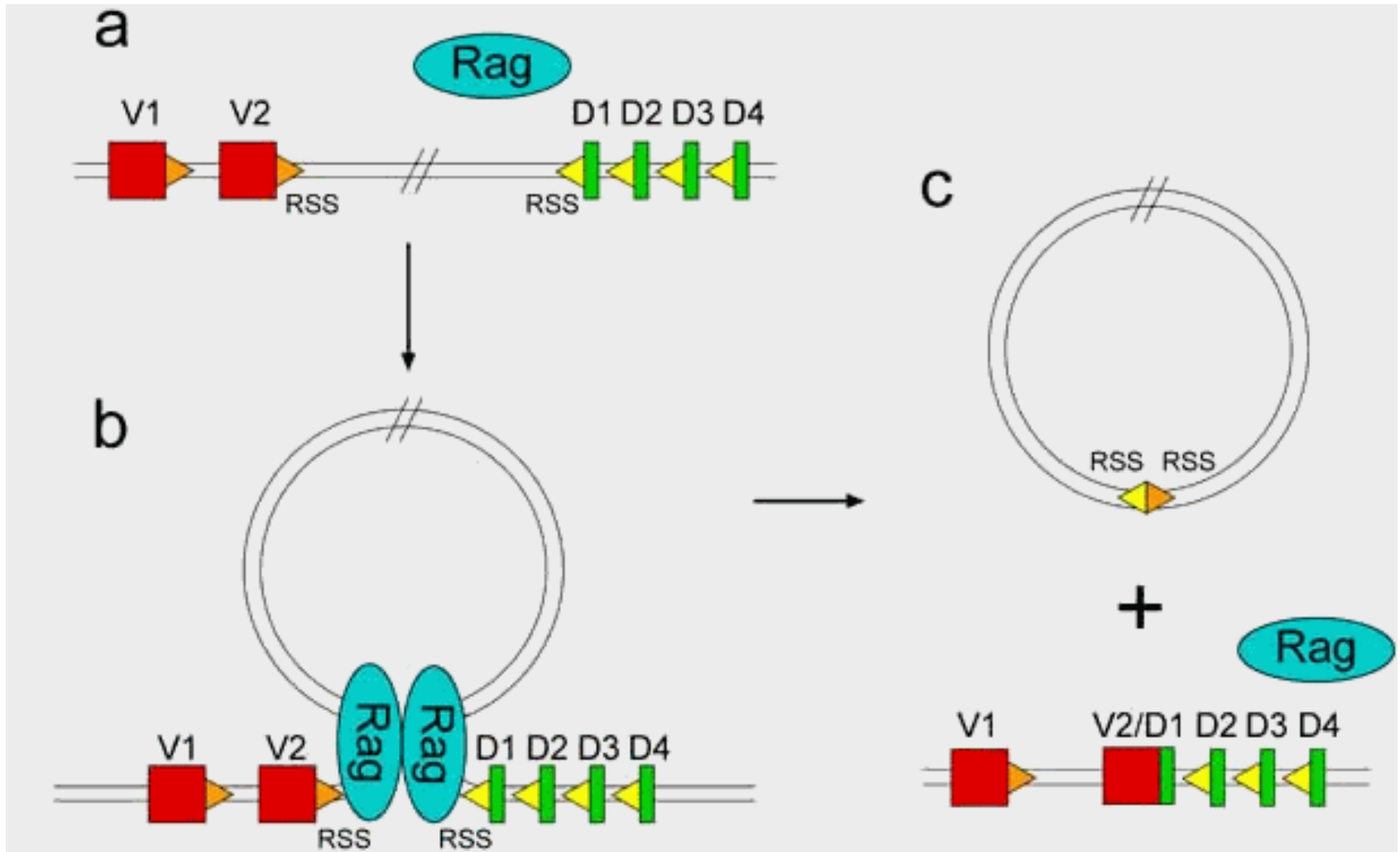
Figure 2.7



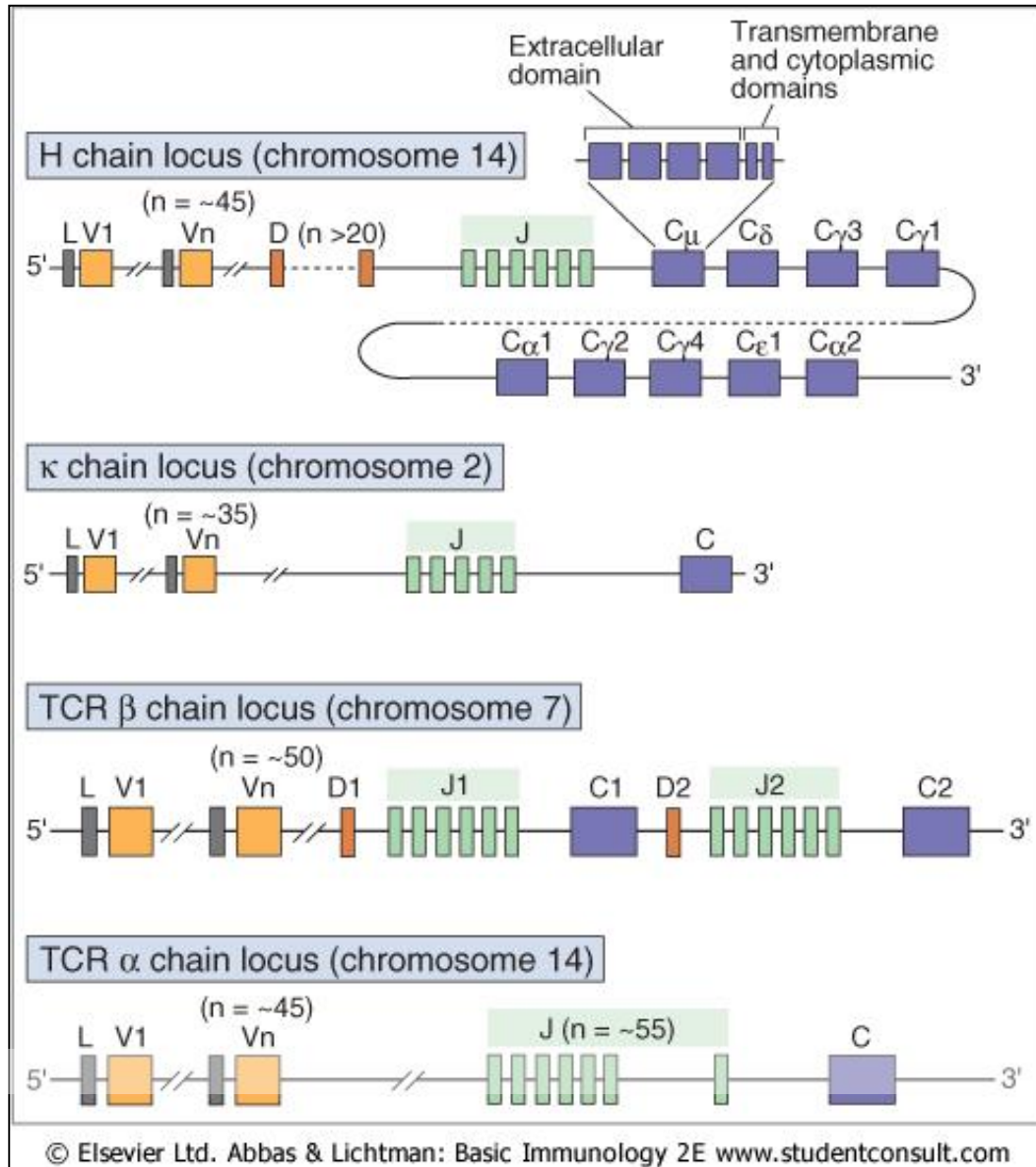
# VDJ rekombinace při vzniku variabilního místa imunoglobulinové molekuly



# Mechanismus VDJ rekombinace



## Vznik variabilních oblastí T- a B- buněčných receptorů



# Variabilní část imunoglobulinové molekuly

## teoretický počet variant

Segment (počet genů)	IgH	IgK	Igλ
V	~ 100	~ 70	~ 30
D	~ 50	—	—
J	9	5	9

Variabilita pro těžký řetězec:  $100 \times 50 \times 9 = 45\,000$  variant,

Lehký řetězec (IgK a Igλ):  $70 \times 5 + 30 \times 9 = 620$  variant;

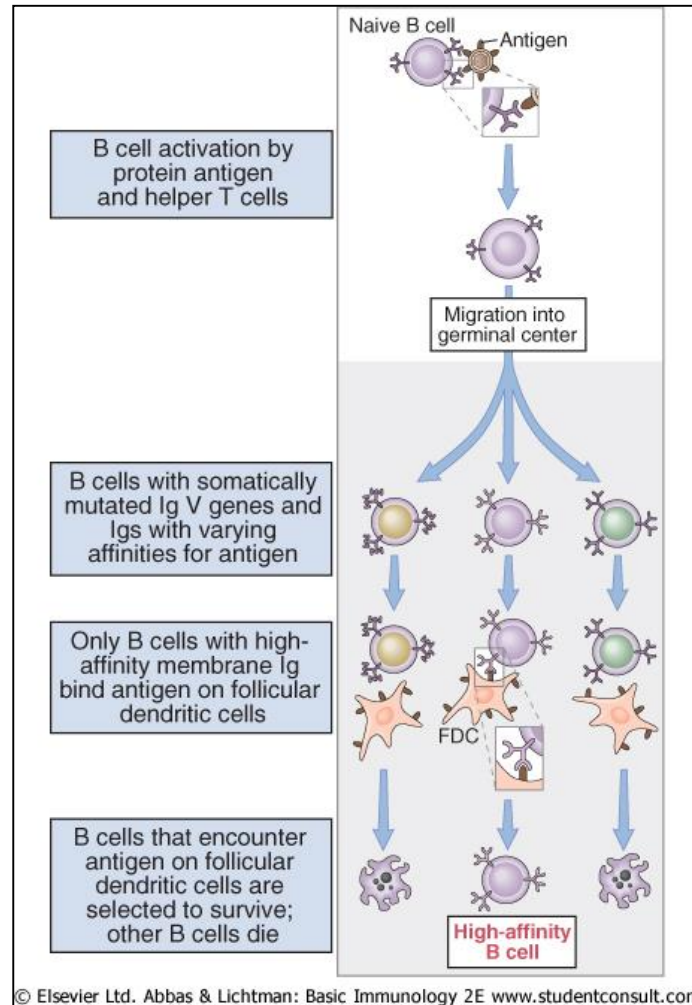
Protože tyto lze mezi sebou libovolně kombinovat, výsledný teoretický možných kvartérních struktur variabilní části molekuly imunoglobulinu je  $45\,000 \times 620 = 27\,900\,000$ .



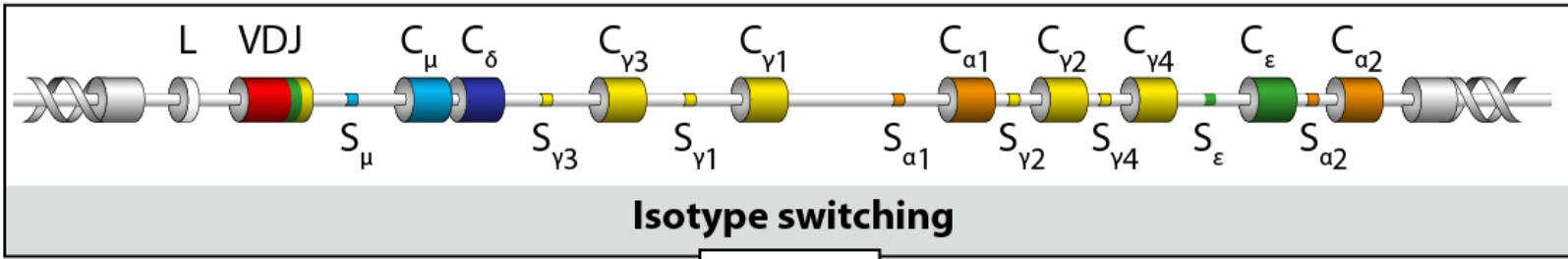
# Somatické hypermutace

- Probíhají u aktivovaných B-lymfocytech v germinálních centrech sekundárních lymfatických orgánů (tj po proběhlé antigenní stimulaci).
- Proces je indukován enzymem AID (activation-induced deaminase).
- Frekvence mutací je až  $10^6$  x větší než v jiných oblastech genomu.
- Prezentace antigenů na folikulárních dendritických buňkách B-lymfocytům vede k následné selekci klonů s nejvyšší afinitou k antigenu – celkově proces označujeme jako afinitní maturace.

# Selekce B-lymocyťů s nejvyšší afinitou k antigenu v germinálních centrech

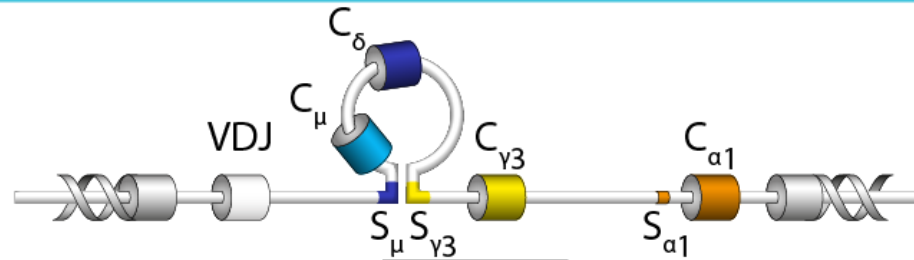


# Izotypový přesmyk

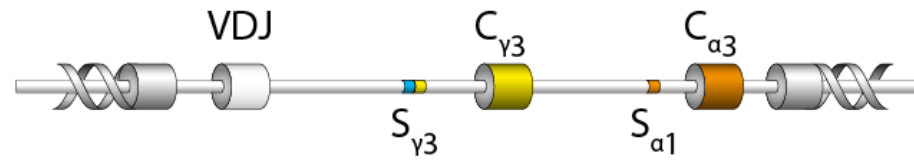


**Isotype switching**

**Looping out**

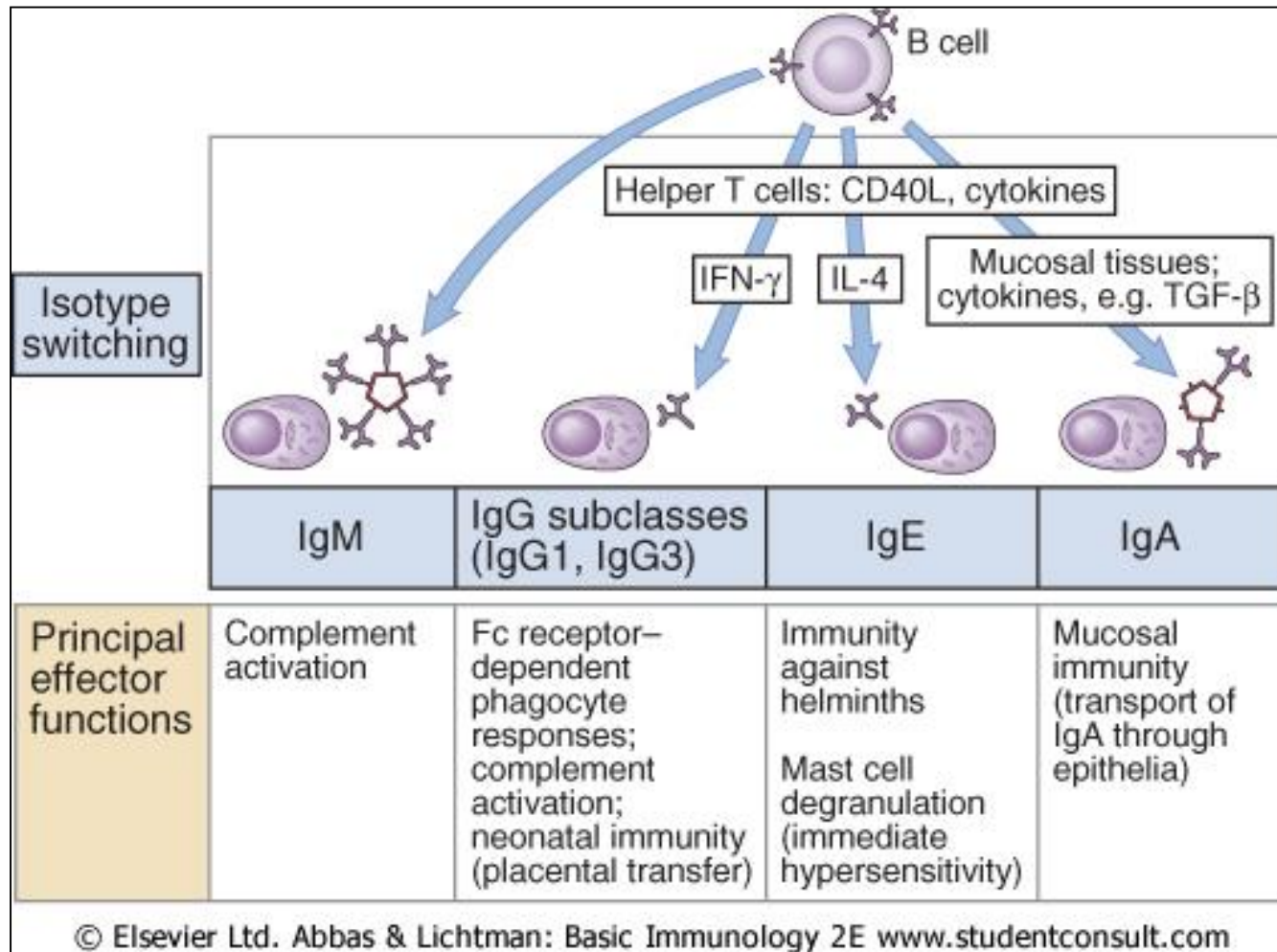


**Switch region recombination**



IgG3 produced

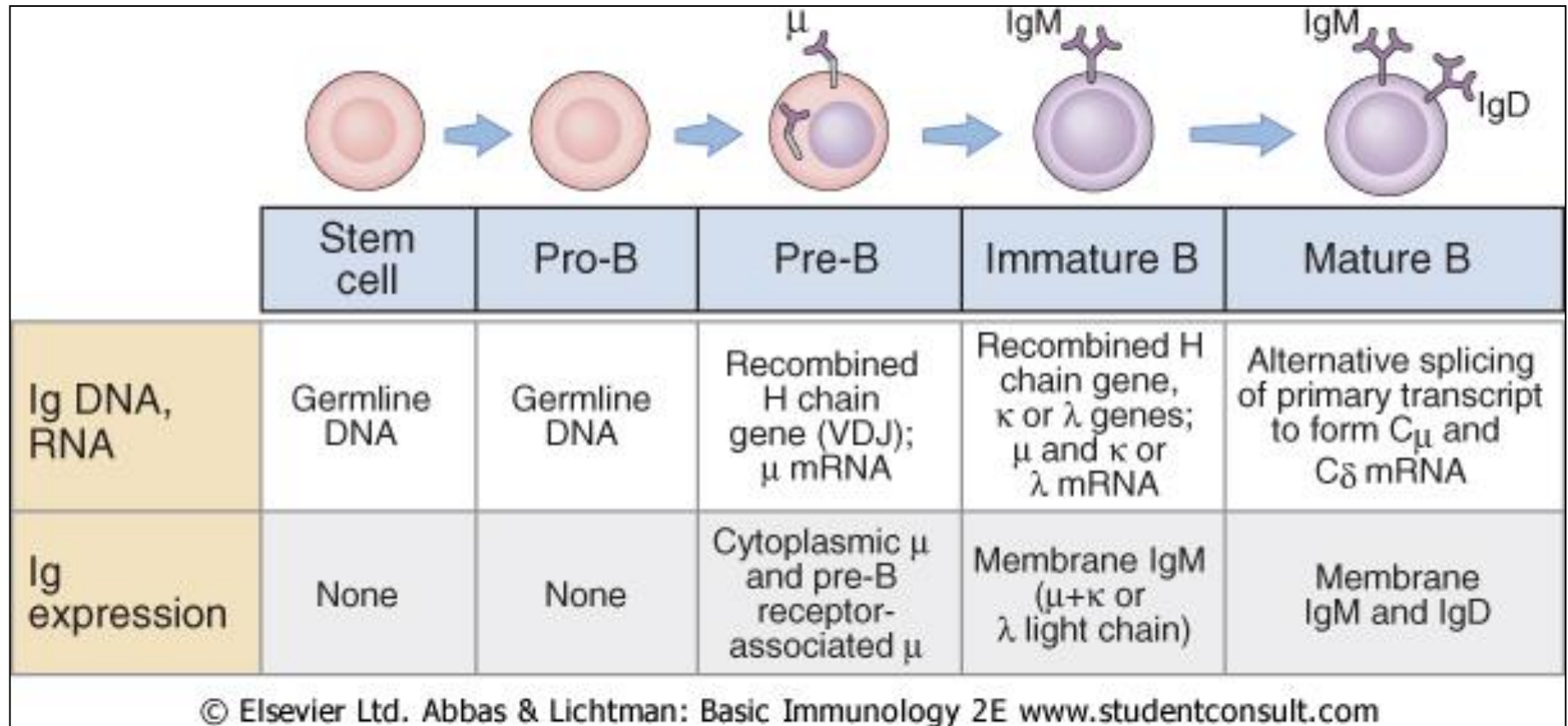
# Izotypový přesmyk závisí na cytokinovém prostředí a stimulaci Th lymfocyty



# Vývoj B-lymfocytů v kostní dřeni

- **Kmenová buňka:** bez povrchových znaků B-linie, bez přeskupování imunoglobulinových řetězců
- **Pro-B lymfocyt** – dochází k procesu vyštěpování v oblasti těžkých řetězců, exprese některých povrchových znaků B-lymfocytů (např. CD19), imunoglobulinové řetězce nejsou prokazatelné ani cytoplasmaticky.
- **Pre-B-lymfocyty** – došlo k ukončení VDJ rekombinace těžkých řetězců,  $\mu$  řetězec je prokazatelný intracytoplasmaticky. Na povrchu se objevuje pre-B receptor – složený z  $\mu$  řetězce a náhraních (surrogát) řetězců V-preB a  $\lambda 5$ . Přenos signálu tímto receptorem je podmínkou dalšího vývoje B-lymfocytů.
- **Nezralý B-lymfocyt** – došlo k přeskupení lehkých řetězců (V-J), na povrchu je B-cell receptor – monomerní IgM
- **Zralý B-lymfocyt** – má na povrchu receptory IgM a IgD

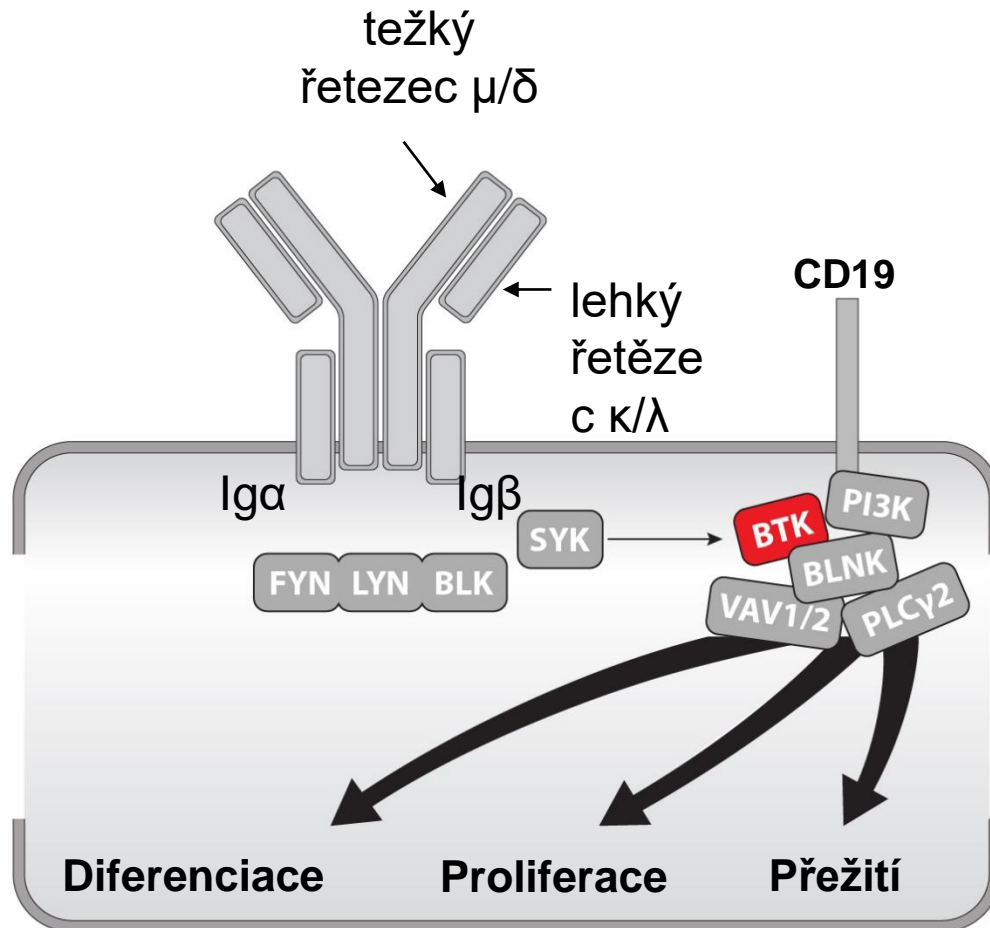
# Vývoj B-lymfocytů v kostní dřeni



# B-buněčný receptor

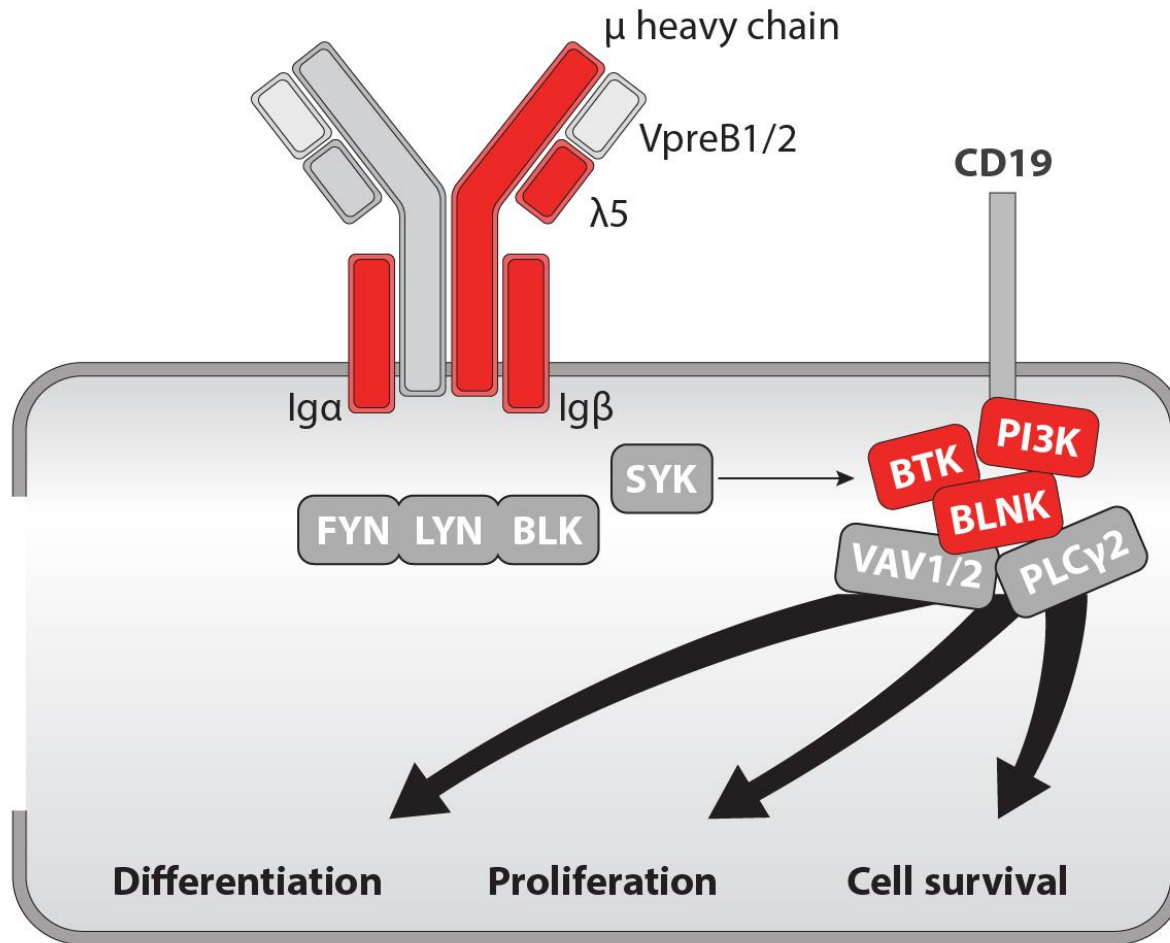
- Skládá se z monomerní molekuly IgM nebo IgD (po izotypovém přesmyku i z dalších isotypů).
- Invariantní řetězce  $Ig\alpha$ ,  $Ig\beta$ .
- Tyrozinkinázy přenášejí signál dovnitř buňky.

# B-cell receptor

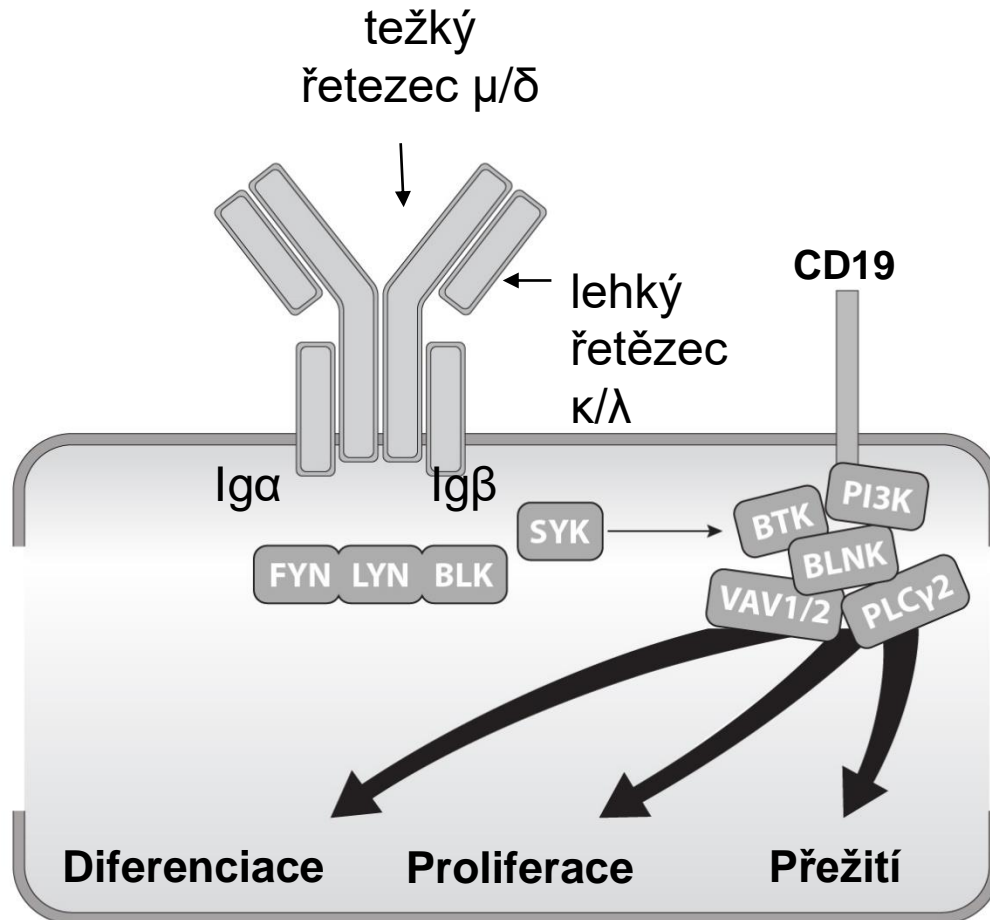




# Pre B-cell receptor



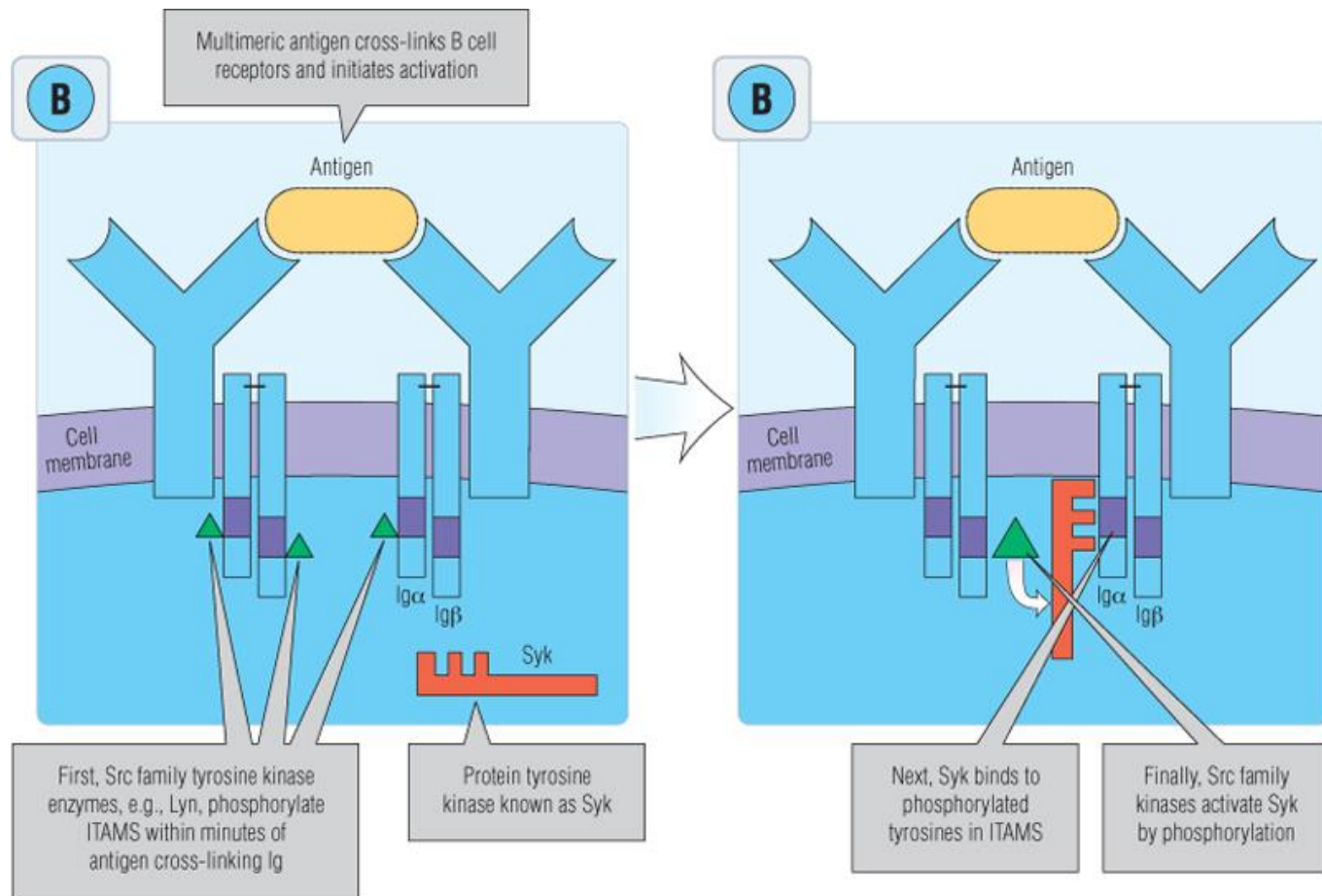
# B-cell receptor



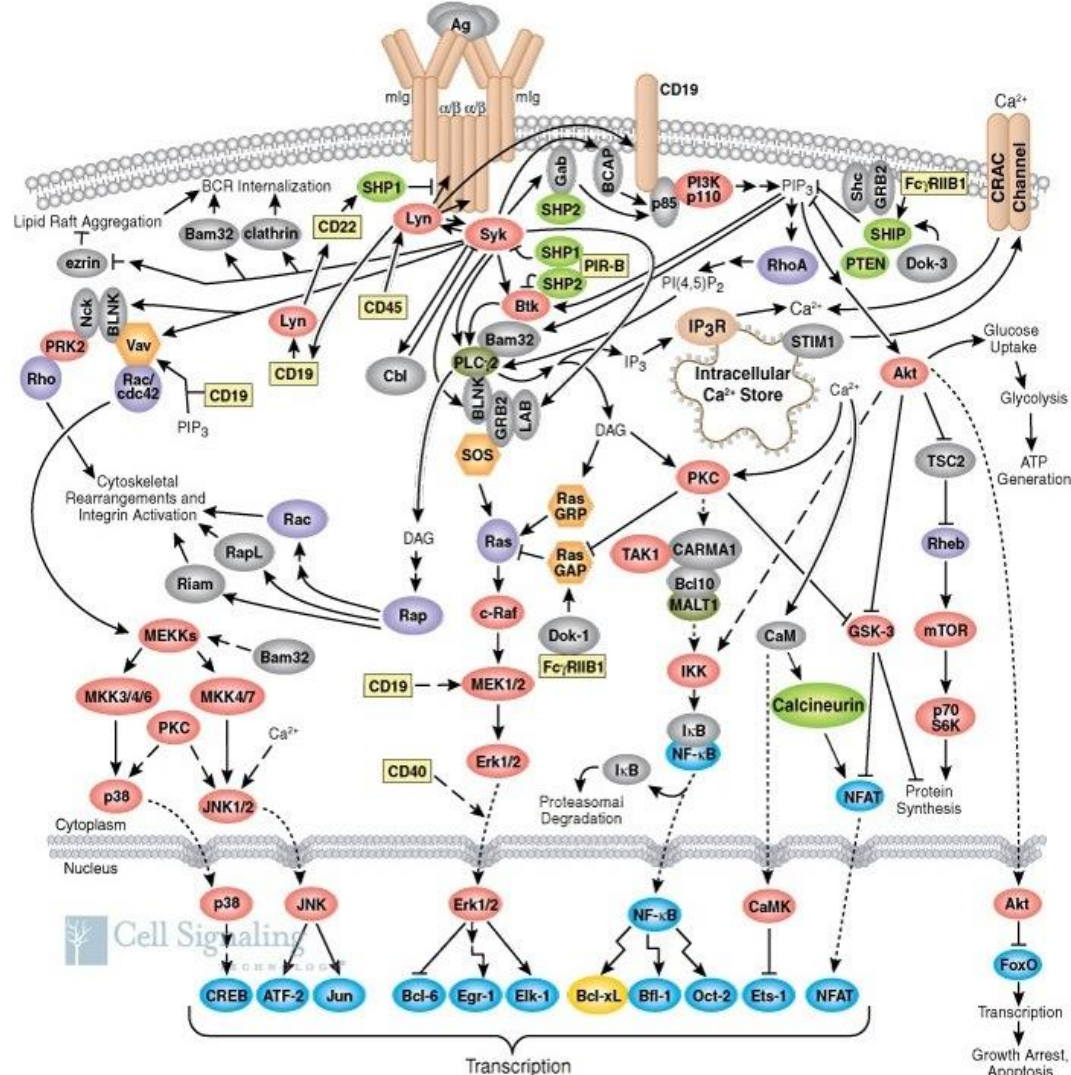
# Brutonova tyrozinkináza (BTK)

- Jedná se o klíčovou tyrozinkinázu v aktivaci, diferenciaci a vývoji B-lymfocytů
- Mutace: X-vázaná (Brutonova) agamaglobulinémie
- Blokátory BTK (např. ibrutinib) se používají k léčbě B-lymfocytárních malignit.

# K aktivaci B-lymfocytů dochází po vzájemné fosforylaci kináz asociovaných s BCR



# Přenos aktivačního signálu v B-lymfocytech



# Primární fáze protilátkové reakce

- Nativní nebo opsonizovaný antigen zachycen folikulárními dendritickými buňkami.
- Stimulace B-lymfocytů v lymfoidních foliklech.
- Současně prezentace antigenů T-lymfocytům v T-zóně – ty postupně migrují na okraj lymfoidních foliklů.
- Vzniklé plazmatické buňky produkují IgM (především v kostní dřeni).

# Sekundární fáze protilátkové reakce

- Probíhá v germinálních centrech sekundárních lymfoidních folikulů.
- Tfh lymfocyty stimulují B-lymfocyty k somatickým hypermutacím a isotypovému přesmyku.
- Dochází k afinitní maturaci B-lymfocytů.
- Značná část B-lymfocytů s nízkou afinitou BCR hyne.

# Dva typy B-lymfocytární odpovědi na antigen

- **T dependentní odpověď**

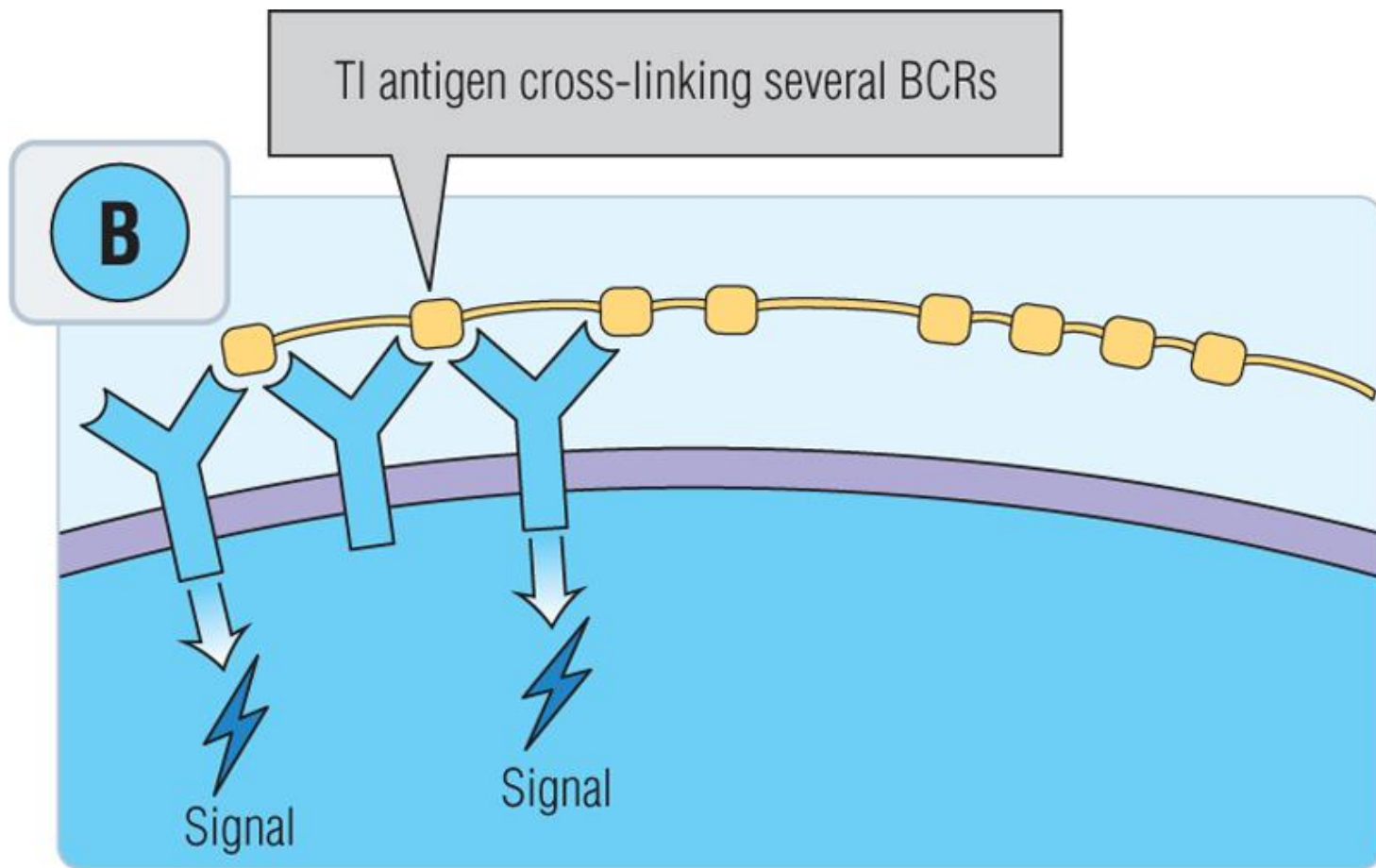
- Jedná se o nejčastější formu protilátkové odpovědi
- Vyžaduje souhru B-lymfocytů, antigen prezentujících buněk (mohou jimi být i B-lymfocyty) a T-lymfocytů.
- Dochází k isotypovému přesmyku, afinitní maturaci, vzniku paměťových buněk.
- Tj. proběhne primární i sekundární fáze protilátkové odpovědi.

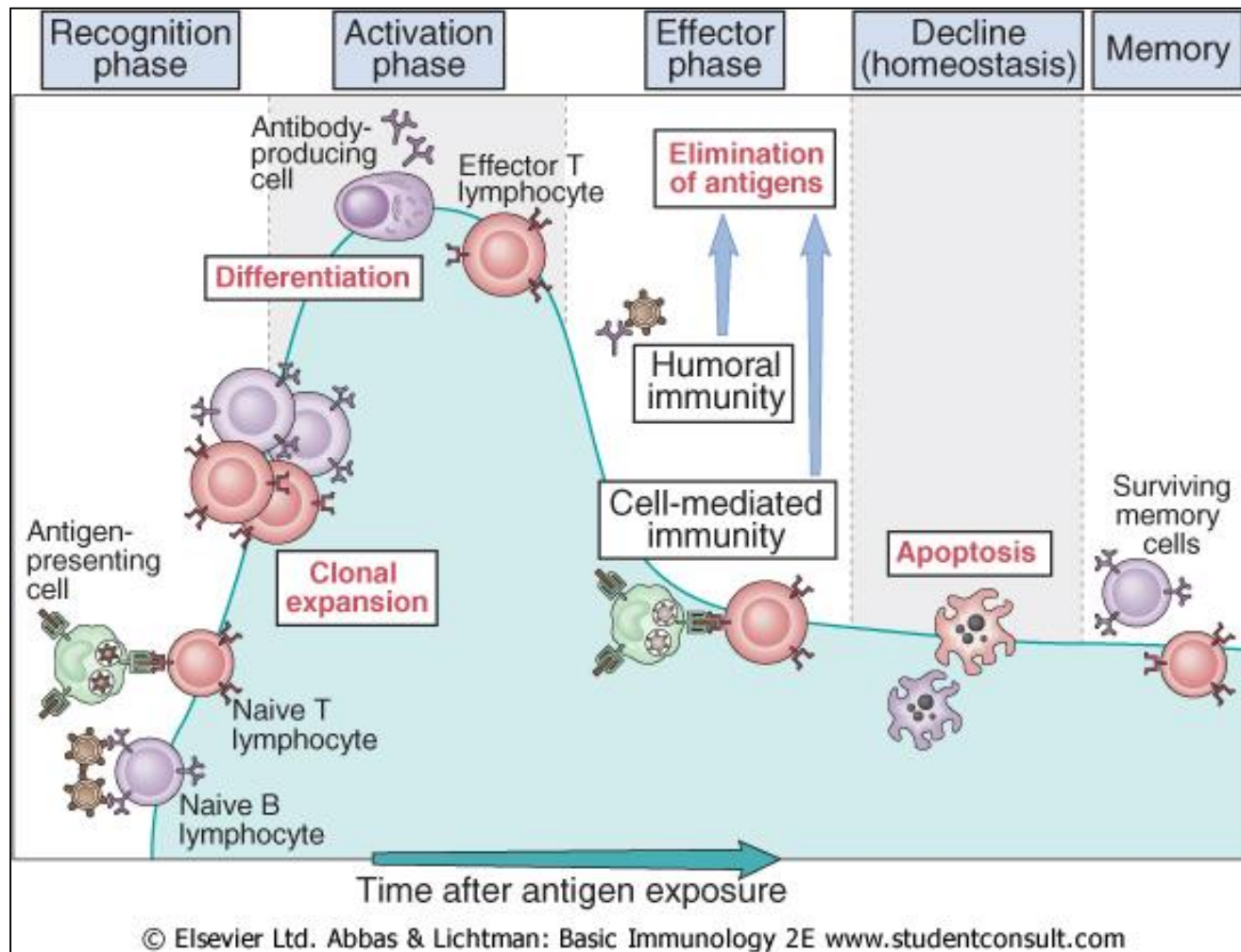
- **T-independentní odpověď**

- Odpověď na antigeny s řadou stejných epitopů – typicky polysacharidové antigeny.
- Nahromadění B-buněčných receptorů (BCR) do jednoho místa vede k vzájemné aktivaci tyrozinkináz a následné aktivaci buňky.
- Tento proces nevyžaduje pomoc T-lymfocytů.
- Vytváří se pouze protilátky třídy IgM (nedochází k izotypovému přesmyku), nedojde k afinitní maturaci, nevytváří se imunitní paměť.
- Tj. proběhne pouze primární fáze protilátkové odpovědi.

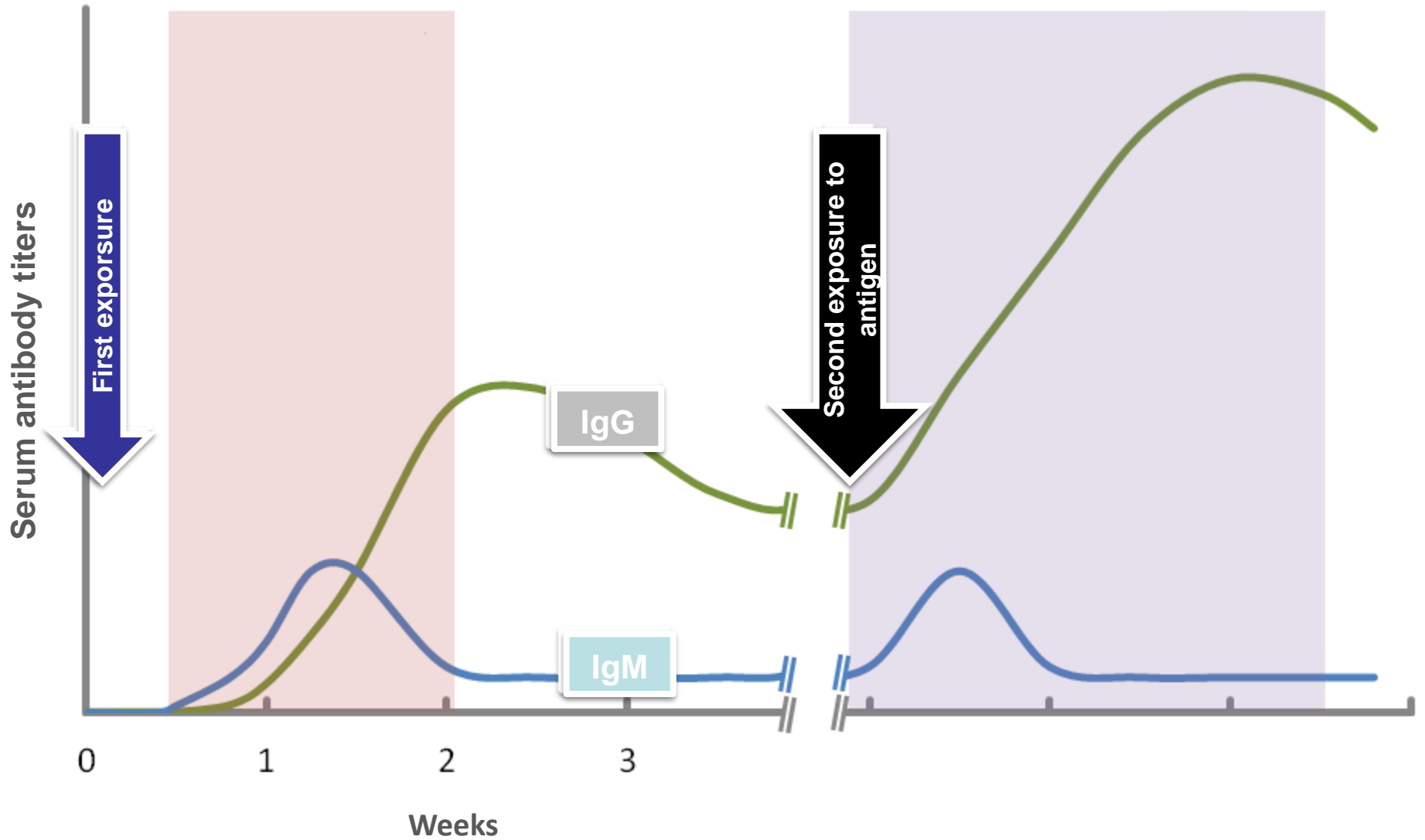


# Aktivace B-lymfocytů při T-independentní odpovědi

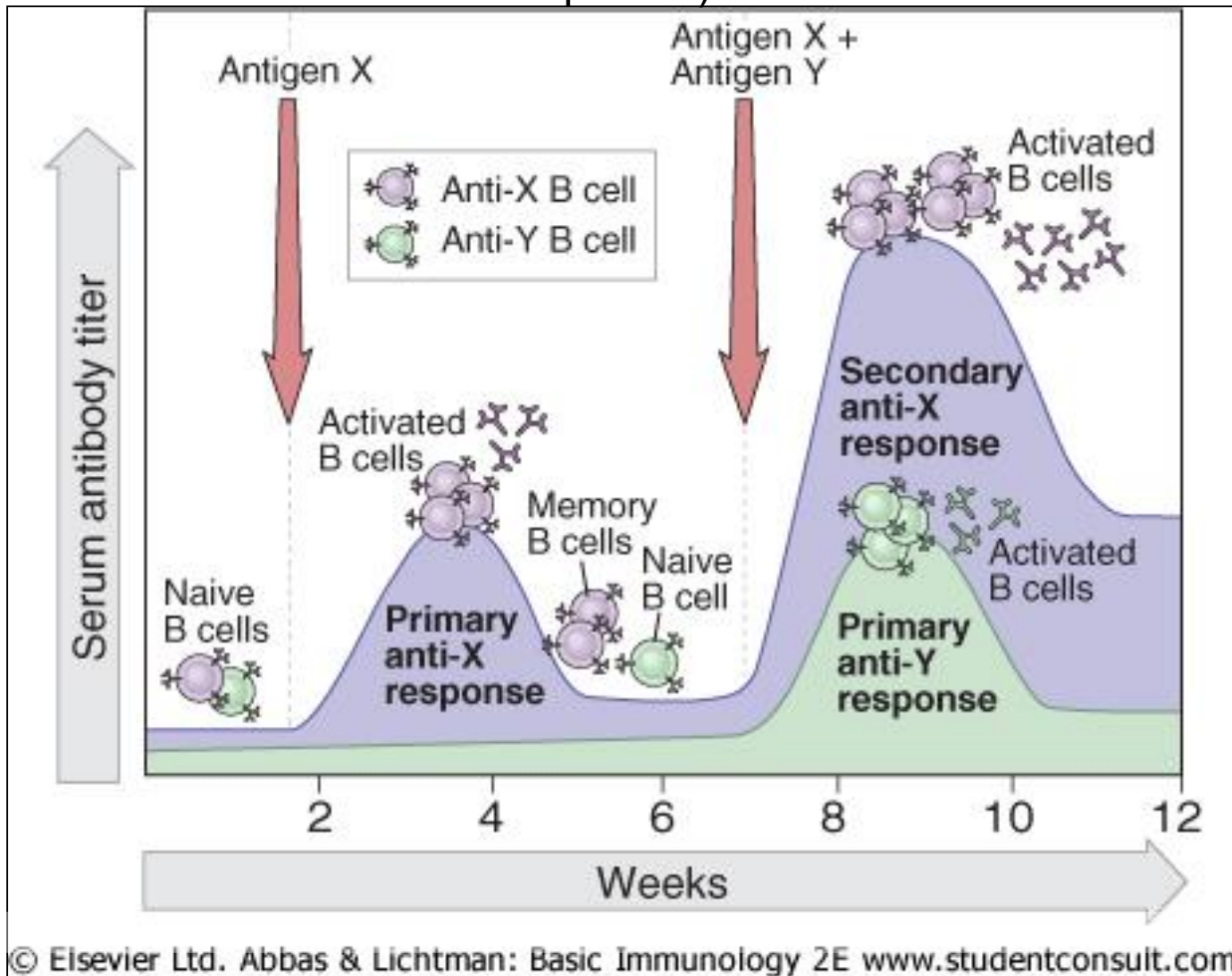




# Imunitní odpověď po prvním a opakovaném setkání se s antigenem



Imunitní odpověď po prvním a opakovaném setkání se s antigenem (“primární a sekundární imunitní odpověď”)



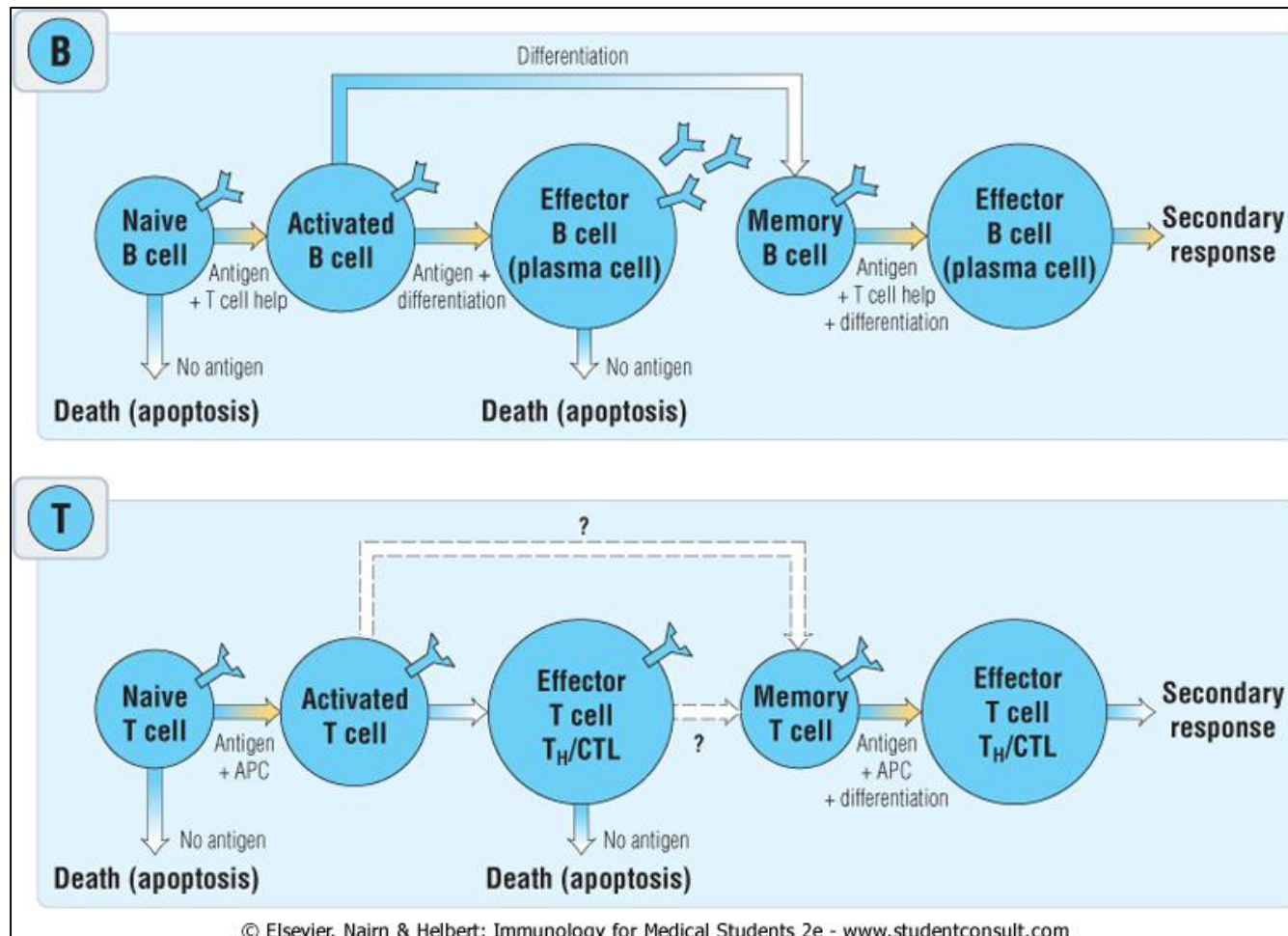
# Imunologická paměť

- Je jedním z charakteristických rysů adaptivní imunity.
- Je založena na existenci dlouho žijících, antigen-specifických paměťových T- a B-lymfocytů.
- Tyto buňky jsou v případě opakované antigenní stimulace schopny rychlé proliferace a terminální diferenciaci v efektorové buněčné formy.
- Výsledkem je rychlejší, rozsáhlejší a efektivnější odpověď po opakovaném setkání se s antigenem.

# Terminálně diferencované buňky adaptivní imunity

- B-lymfocyty → plazmatické buňky
- T-lymfocyty → efektorové formy  
pomocných a cytotoxických T-lymfocytů

# Vznik efektorových a paměťových buněk v T- a B- lymfocytární linii



# Biologické funkce imunoglobulinových molekul

- Aktivace komplementového systému (IgG, IgM)
- Opsonizace (zejména IgG)
- Neutralizace antigenů (IgG, IgA, IgM)
- Zábřana adherence (IgA, IgG)
- Aglutinace, precipitace (IgG, IgM)
- Degranulace žírných buněk (IgE)
- Imunoregulace (zejména IgG)



# Osud antigenu v organismu a iniciace imunitní odpovědi

# Způsob rozvinutí imunitní reakce závisí řadě faktorů

- Typ antigenu – chemické složení, rozdílná indukce imunitní odpovědi u T-dependentních a T-independentních antigenů.
- Místě vstupu antigenu – vstup cestou MALT, kůží, vznik antigenu přímo v těle (např. virové partikule).
- Faktu, jedná-li se o reakci prvotní či opakovanou.