



IMMUNOLÓGIAI ÉS  
BIOTECHNOLÓGIAI  
INTÉZET



# 9. Praktikum: Humorale Immunantwort

Grundlagen der Immunologie

Universität Pécs, Klinisches Zentrum  
Institut für Immunologie und Biotechnologie  
Pécs, 2023.

# Hauptstadien der adaptiven Immunantwort

**Antigenerkennung**



**Aktivierung, Differenzierung**



**Effektorfunktionen**

# Die entzündliche und spezifische Immunantwort ist örtlich und zeitlich getrennt

2.

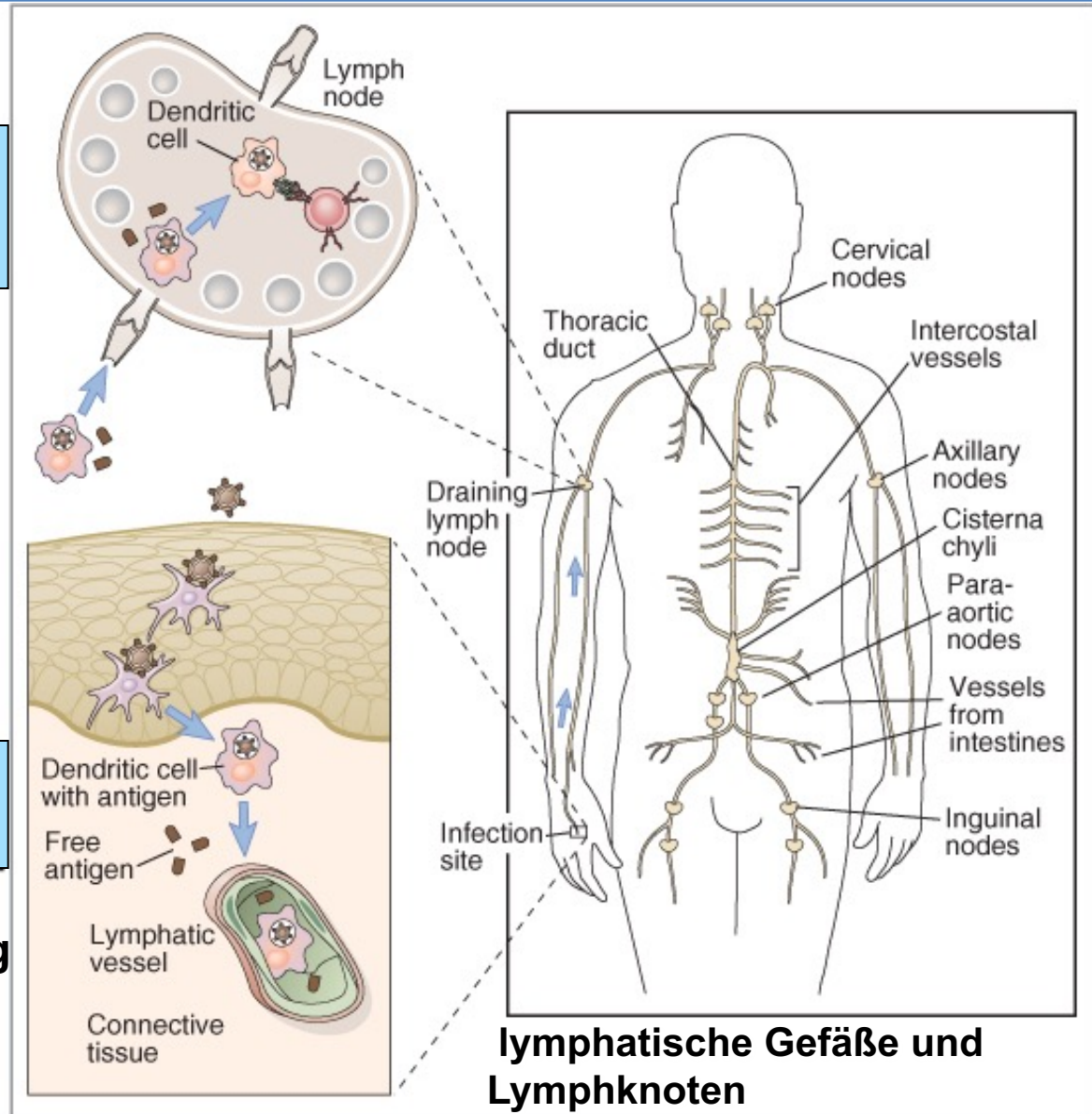
Antigen-  
presentation und  
T-Zell-  
aktivierung



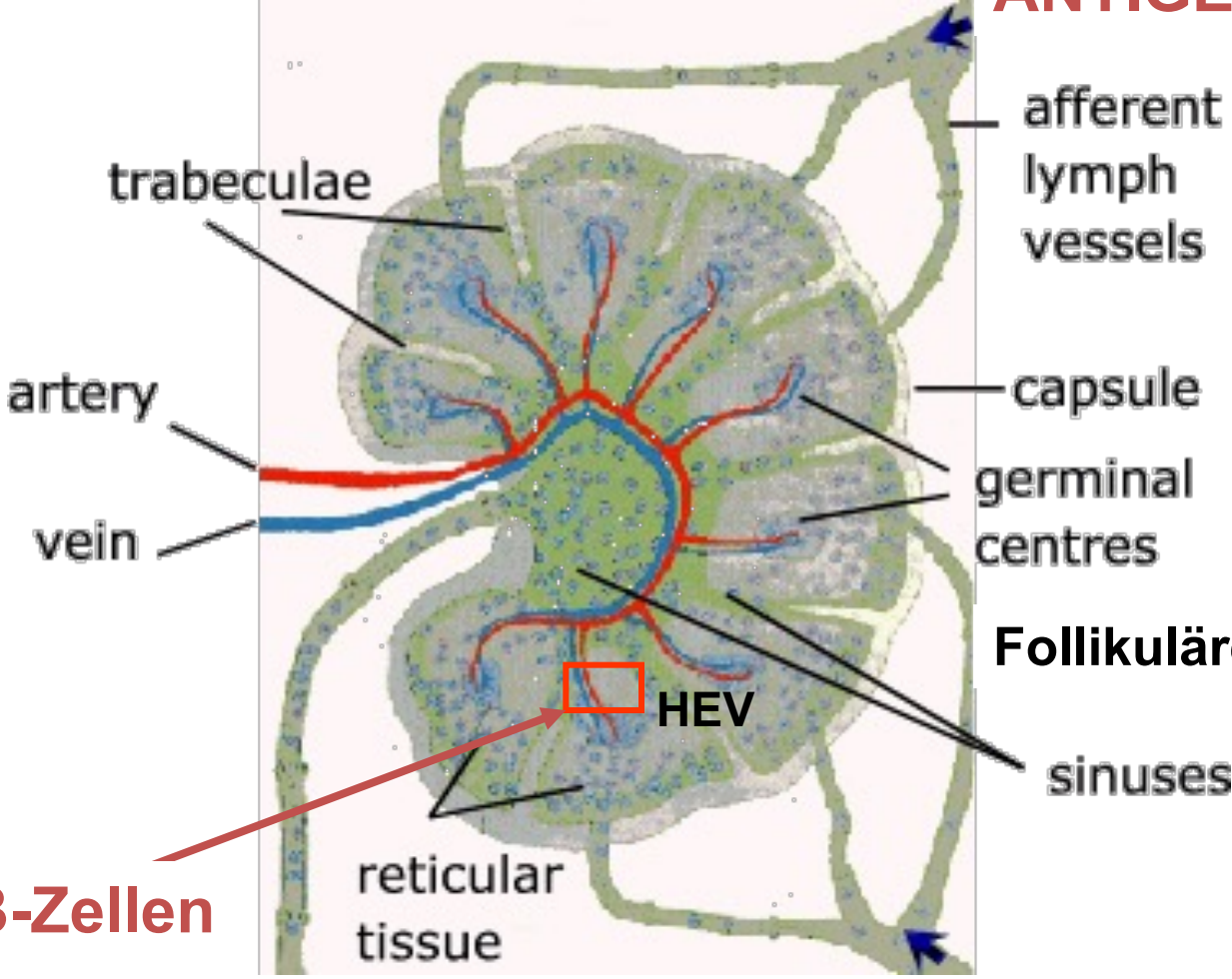
1.

Antigen-  
aufnahme und  
Transport

**Entzündung**



**ANTIGEN**



**Folikulärer Abschnitt**

**T- und B-Zellen**

**Parafolikulärer Abschnitt**



# Antigentransport in die sekundären lymphatischen Organe / Gewebe

Dendritische Zelle – **prozessiertes Antigen**

1. Peripherie – Antigenaufnahme + Prozessierung
2. Wanderung in die T-Zell-Zone der sekundären lymphatischen Organe / Gewebe (afferente Lymphgefäße)
3. Antigenpräsentierung auf MHC-II für T-Zelle in den sekundären lymphatischen Organen / Geweben (Lymphknoten, Milz)

**Natives Antigen** - gelangt mit Lymphe in die umliegenden Lymphknoten  
- mit Blut in die Milz

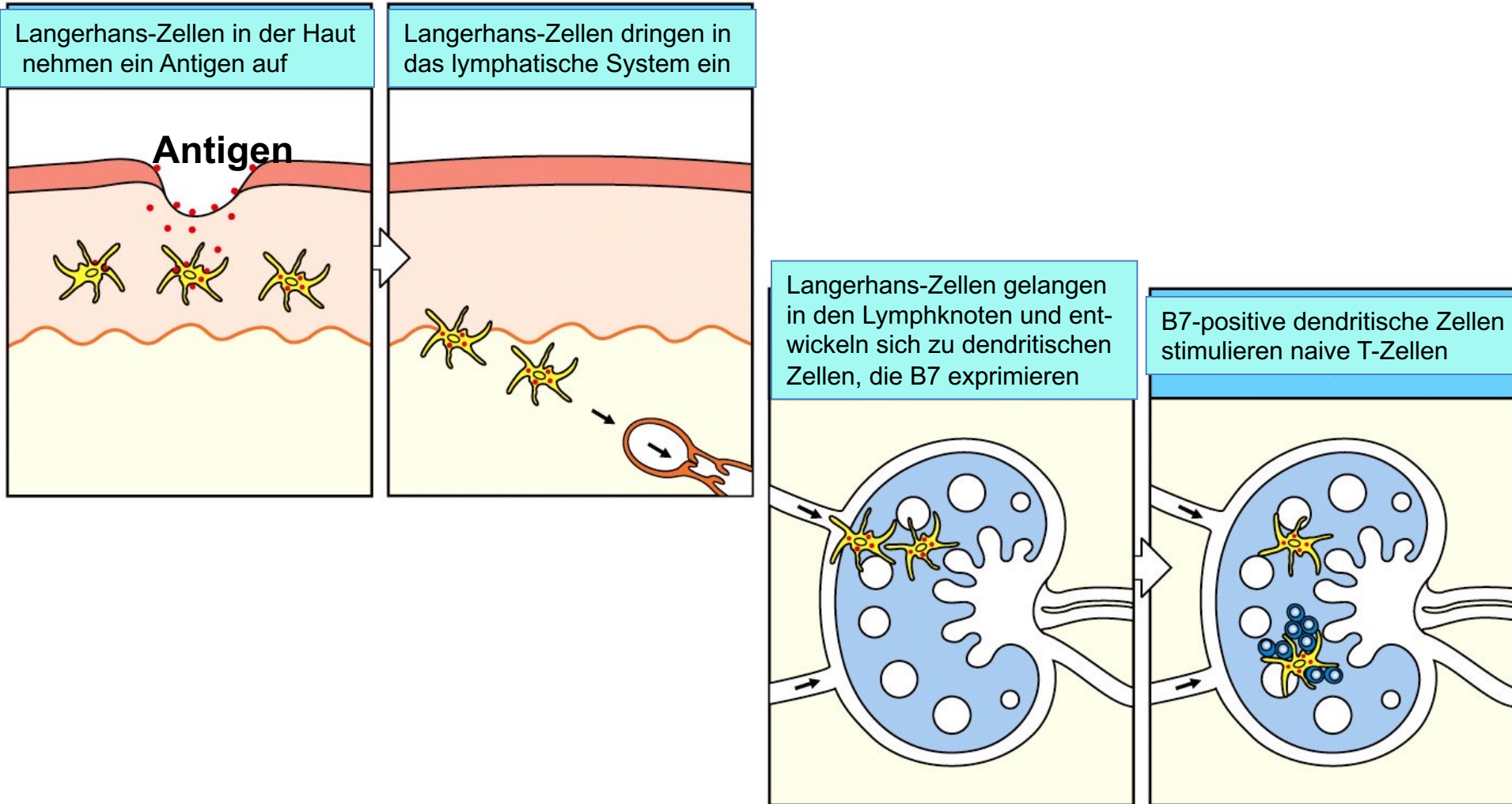
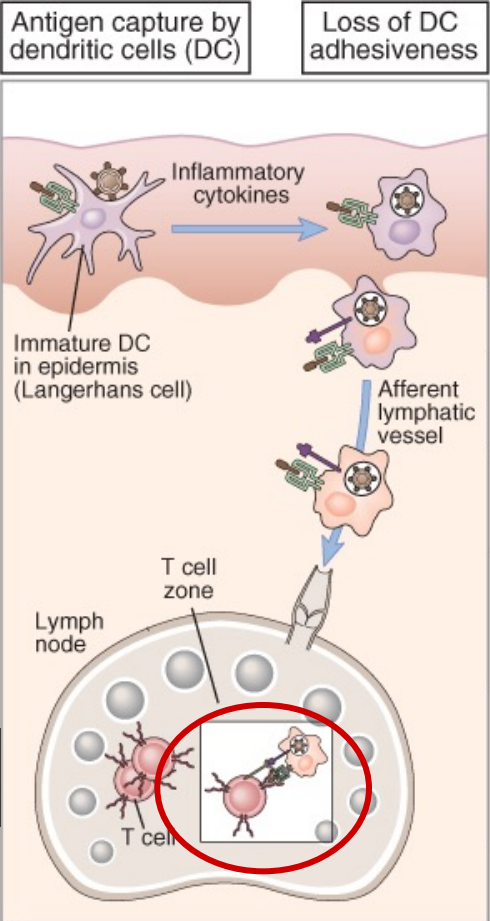


Figure 8-15 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Rolle der dendritischen Zellen

**Antigen-sammlung**



**Antigen-präsentation**

Migration of DC

Maturation of migrating DC

Mature dendritic cell presenting antigen to naive T cell

**Reifung:**

MHC-II  
B7  
ICAM  
IL-12



FcR  
MannoseR  
TLR



**Antigenpräsentierung (APC)**

	Immature dendritic cell	Mature dendritic cell
Principal function	Antigen capture	Antigen presentation to T cells
Expression of Fc receptors, mannose receptors	++	-
Expression of molecules involved in T cell activation: B7, ICAM-1, IL-12	- or low	++
Class II MHC molecules		
Half-life on surface	~10 hr	>100 hr
Number of surface molecules	~10 <sup>6</sup>	~7 x 10 <sup>6</sup>

# Für die T-Zell-Aktivierung werden zwei Signale gebraucht:

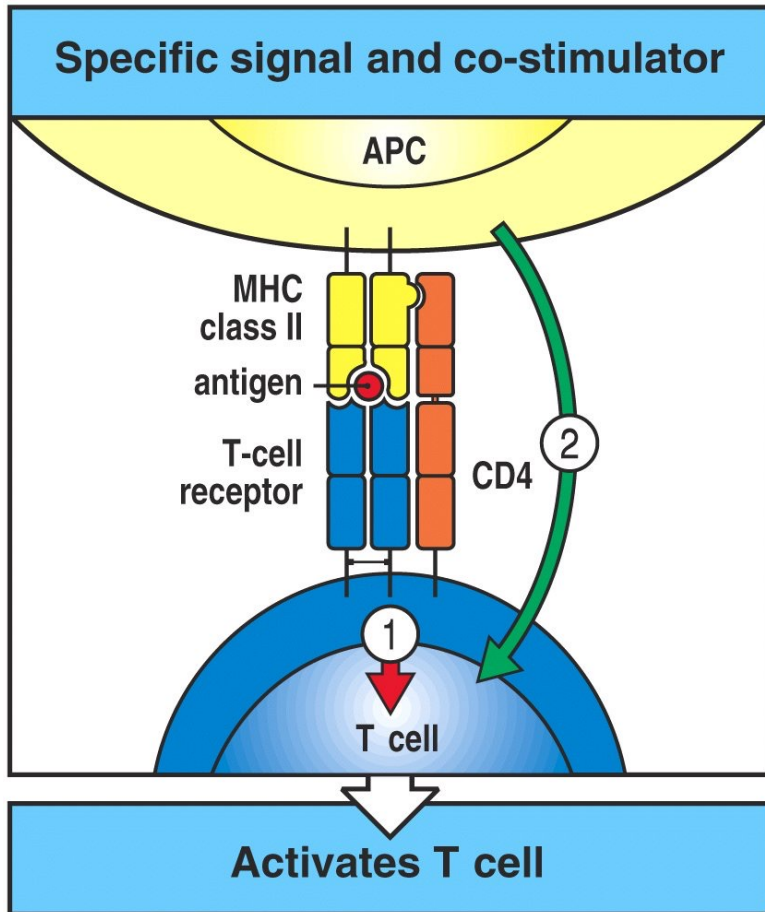


Figure 8-10 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

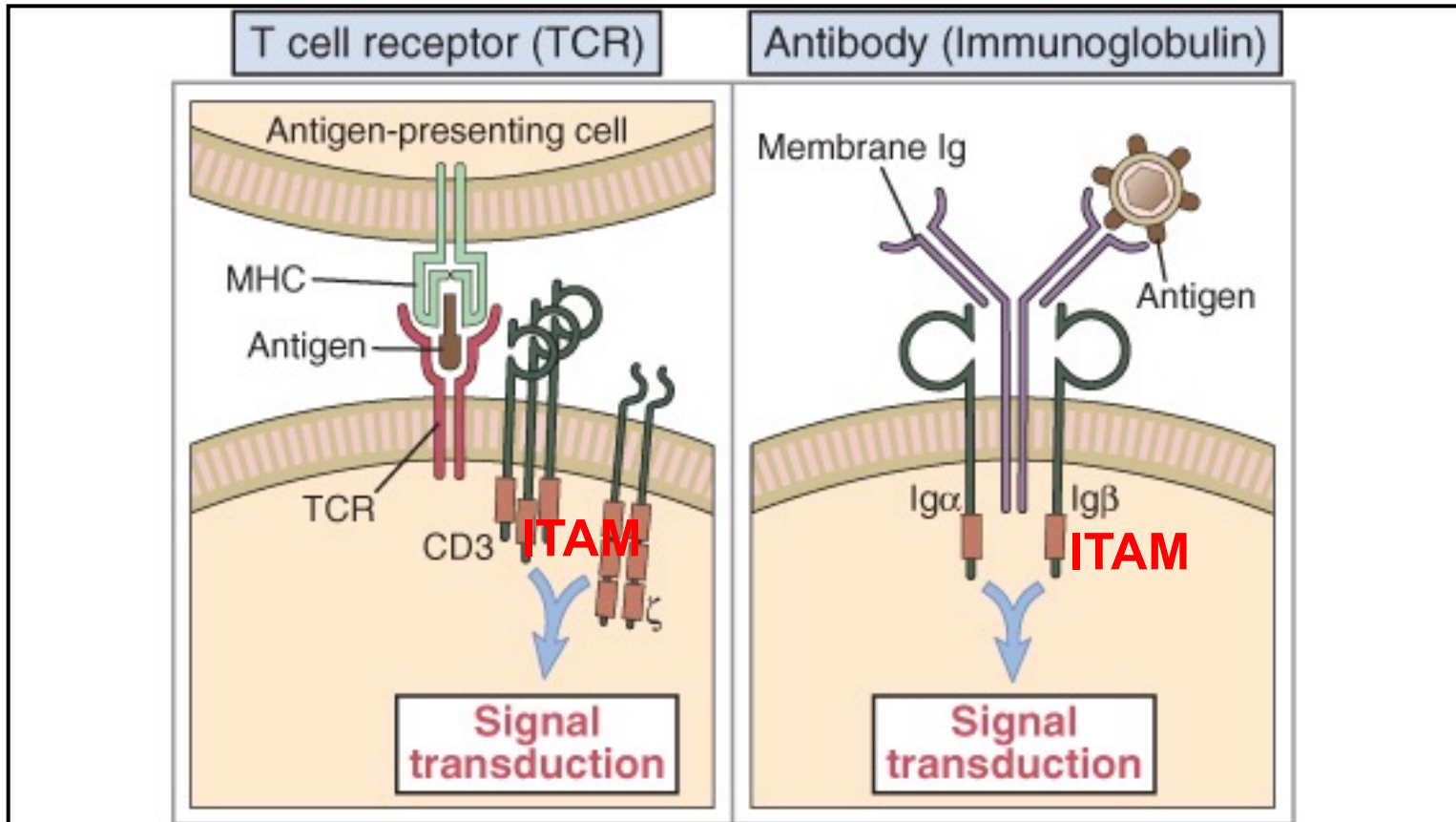
1. **Signal:** vom TcR-CD3-Komplex  
**Antigen-spezifisch**
2. **Signal:** **Ko-Stimulierungs**signal  
durch CD28 - B7-Wechselwirkung

nicht Antigen-spezifisch

T-Zell-Aktivierung  
und Proliferation

Effektor- und  
Gedächtnis-T-Zellen

# Die Antigen-Erkennung und Signaltransduktion werden durch verschiedene Polypeptidketten koordiniert (zusätzliche Moleküle)



© Elsevier 2005. Abbas & Lichtman: Cellular and Molecular Immunology 5e www.studentconsult.com

**ITAM: Immunorezeptor Tyrosin reich Aktivierung Motiven**

# Zeitlicher Verlauf von Genexpression der aktivierten Th-Zellen

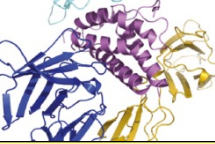
Gene product	Function	Time mRNA expression begins	Location	Ratio of activated to nonactivated cells
<b>Sofortige</b>				
c-Fos	Protooncogene; nuclear-binding protein	15 min	Nucleus	> 100
c-Jun	Cellular oncogene; transcription factor	15–20 min	Nucleus	?
NF-AT	Transcription factor	20 min	Nucleus	50
c-Myc	Cellular oncogene	30 min	Nucleus	20
NF-κB	Transcription factor	30 min	Nucleus	> 10
<b>Frühe</b>				
IFN-γ	Cytokine	30 min	Secreted	> 100
IL-2	Cytokine	45 min	Secreted	> 1000
Insulin receptor	Hormone receptor	1 h	Cell membrane	3
IL-3	Cytokine	1–2 h	Secreted	> 100
TGF-β	Cytokine	<2 h	Secreted	> 10
IL-2 receptor (p55)	Cytokine receptor	2 h	Cell membrane	> 50
TNF-β	Cytokine	1–3 h	Secreted	> 100
Cyclin	Cell-cycle protein	4–6 h	Cytoplasmic	> 10
IL-4	Cytokine	<6 h	Secreted	> 100
IL-5	Cytokine	<6 h	Secreted	> 100
IL-6	Cytokine	<6 h	Secreted	> 100
c-Myb	Protooncogene	16 h	Nucleus	100
GM-CSF	Cytokine	20 h	Secreted	?
<b>Späte</b>				
HLA-DR	Class II MHC molecule	3–5 days	Cell membrane	10
VLA-4	Adhesion molecule	4 days	Cell membrane	> 100
VLA-1, VLA-2, VLA-3, VLA-5	Adhesion molecules	7–14 days	Cell membrane	> 100, ?, ?, ?

SOURCE: Adapted from G Crabtree, *Science* 243:357.

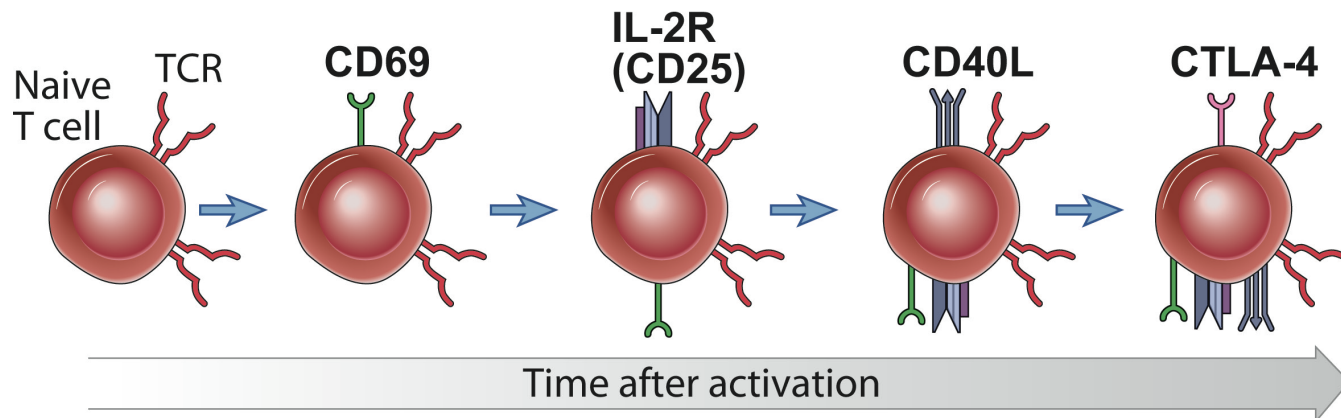
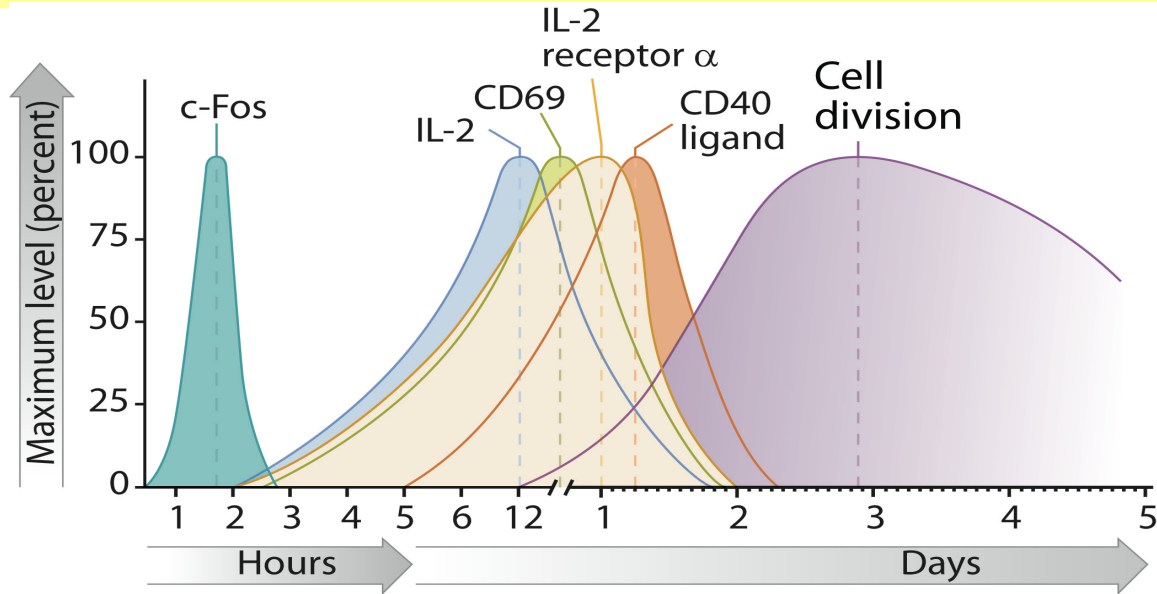
# Hauptfolge der T Zellaktivierung

- 1. *Klonale Vermehrung (Expansion)*** – IL-2-vermittelte autokrine signaling; CD25
- 2. *Peripherische T helper Zelldifferenzierung/polarisation*** – verschiedene funktionelle Subgruppen auf Grund ihre Zytokinproduktion → Regulation der Immunantwort
- 3. *CTLA-4 Expression*** – stoppt Aktivierung





# Exprimierung Moleküle nach T-Zellaktivierung



Hauptfolge der T Zellaktivierung 1.

***KLONALE VERMEHRUNG (EXPANSION)***

# Funktionelle Folge von Th-Zell-Aktivierung 1.: IL-2-induzierte Proliferation – CD25 (IL2R $\alpha$ )

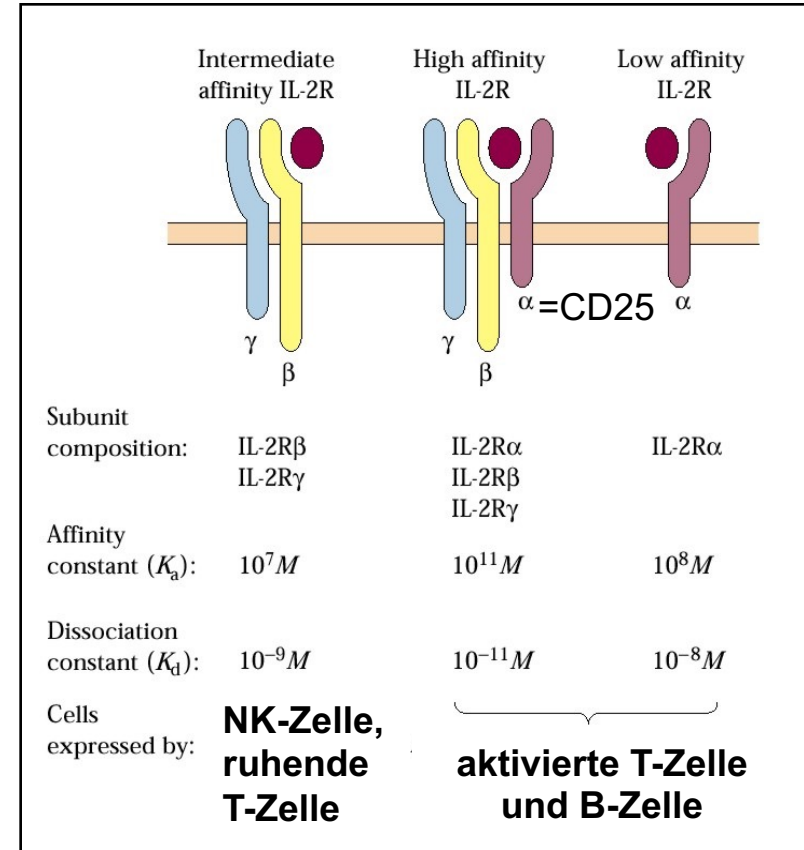
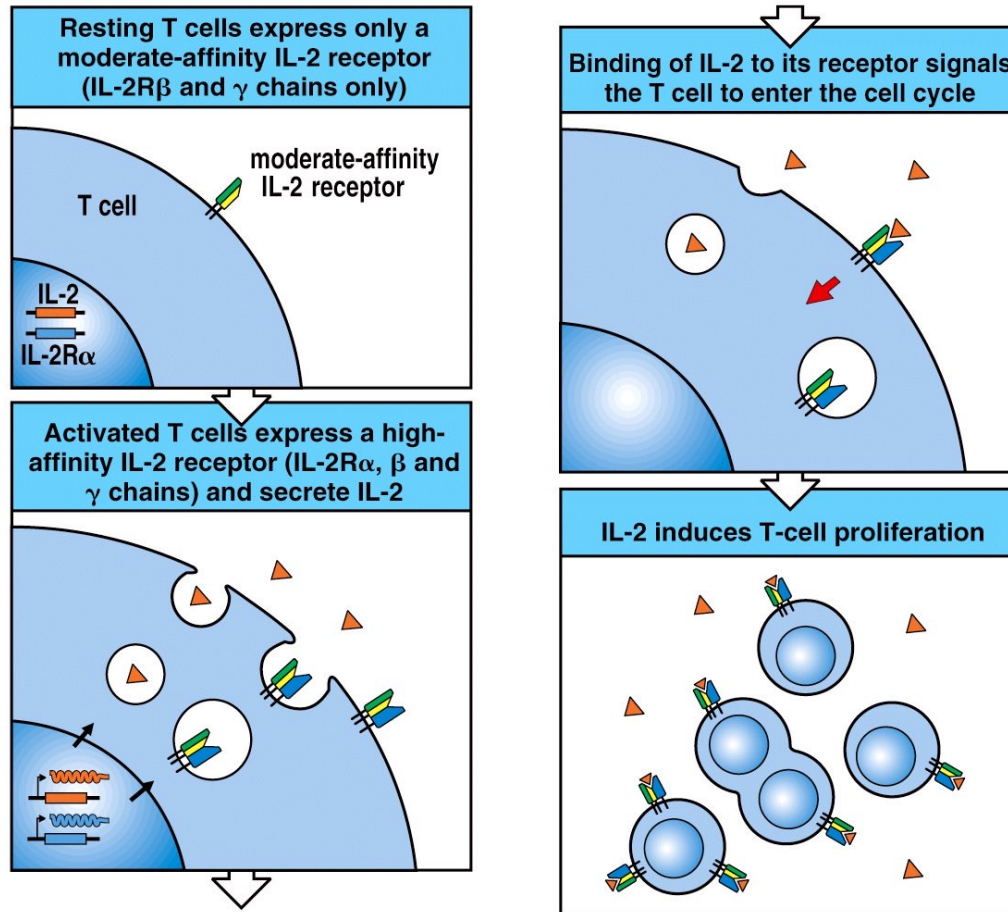


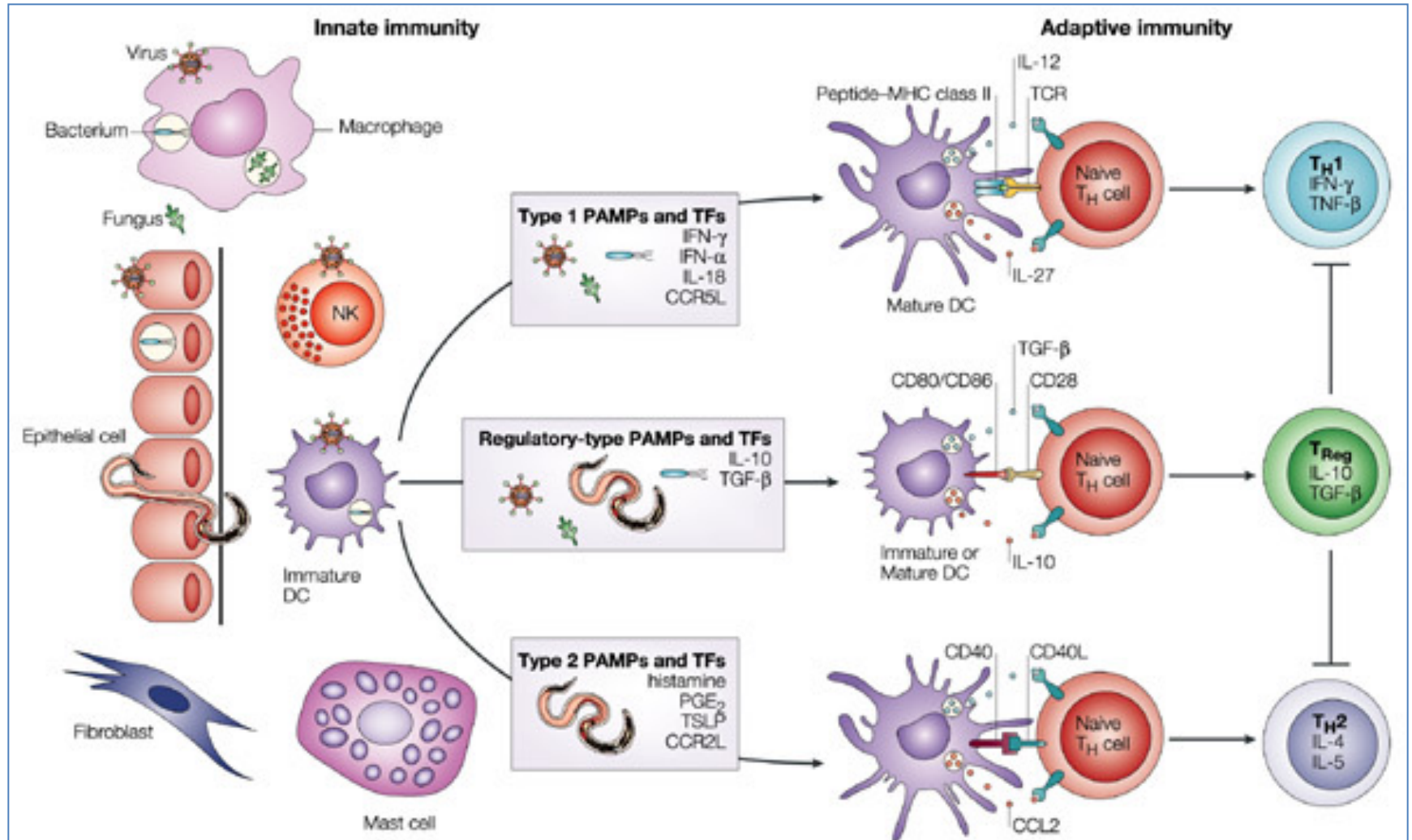
Figure 8-20 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

**IL-2: autokriner Wachstumsfaktor für aktivierte Lymphozyten**

Hauptfolge der T Zellaktivierung 2.

***PERIPHERISCHE T HELFER  
ZELLDIFFERENZIERUNG/POLARISATION***

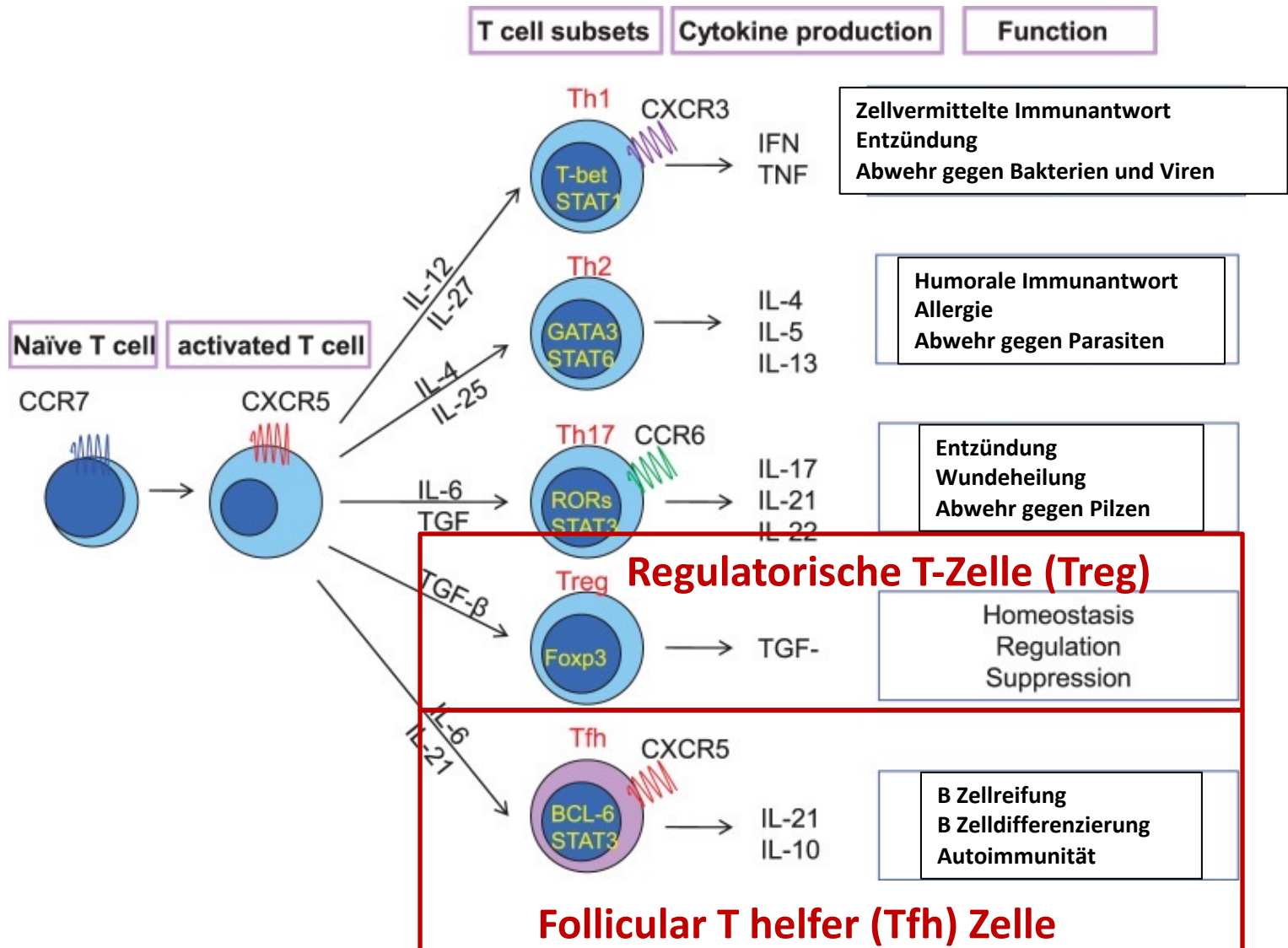
# Dendritische Zellen polarisieren das Immunantwort



**PAMP: Pathogen assoziierte molekulare Mustern**

TF: tissue Faktor (cytokine)

# T-Zell-Polarisierung



**Regulatorische T-Zelle (Treg)**

**Follicular T helper (Tfh) Zelle**

Hauptfolge der T Zellaktivierung 3.

***CTLA-4 EXPRESSION***



# Rolle der CD28 und CTLA-4 Molekülen in T Zellaktivierung

## CD28 (naive T Zelle) - Aktivierung

## CTLA-4 (aktivierte T Zelle) - Inhibition

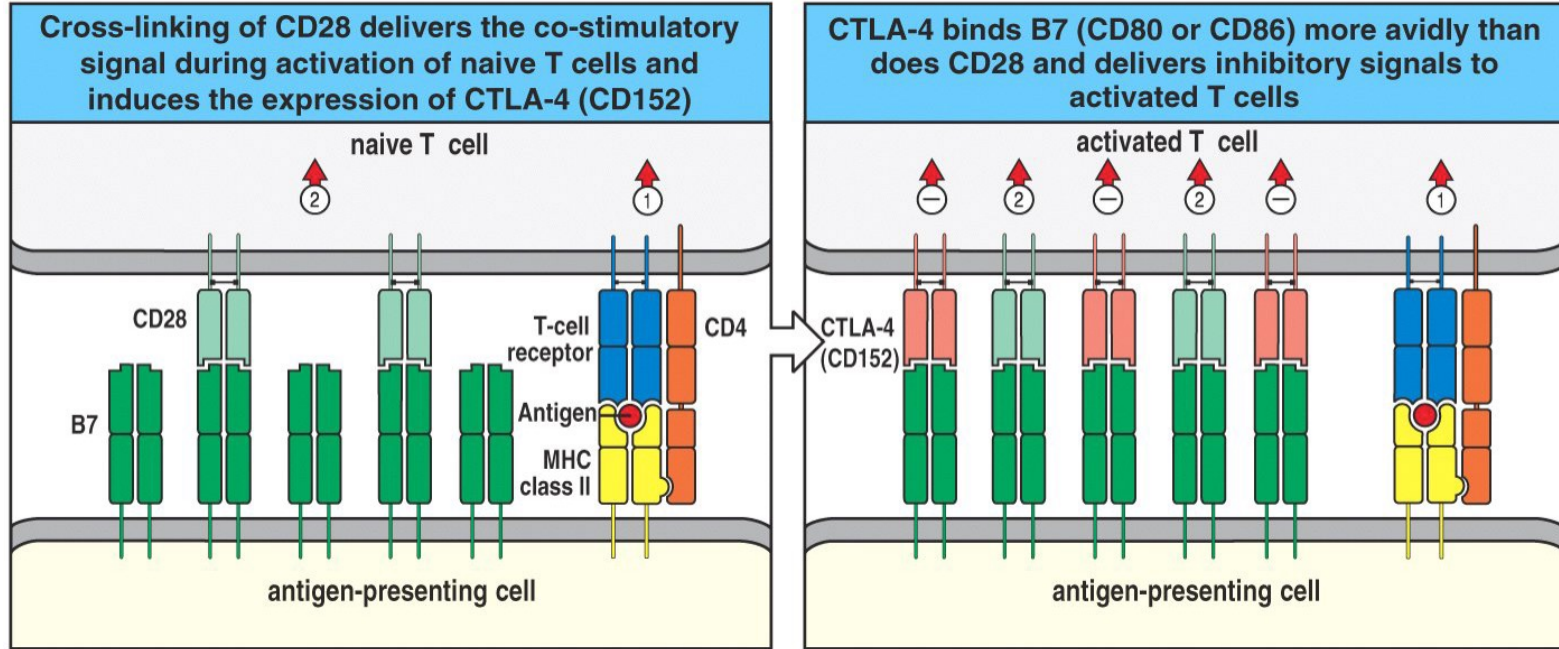
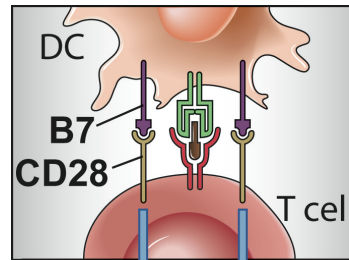


Figure 8-12 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

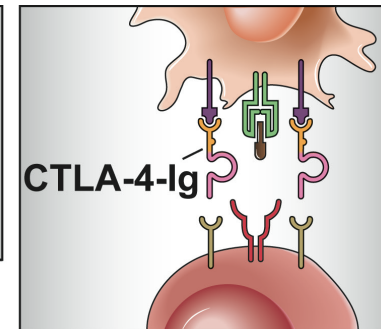
**CTLA-4 bindet B7 mit höherer Affinität als CD28.**

### Therapeutische Möglichkeit:

Inhibition der abnormale T Zell aktivierung in autoimmun Krankheiten

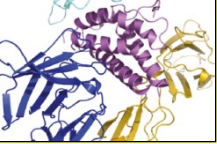


**Activation**



**Costimulatory blockade**

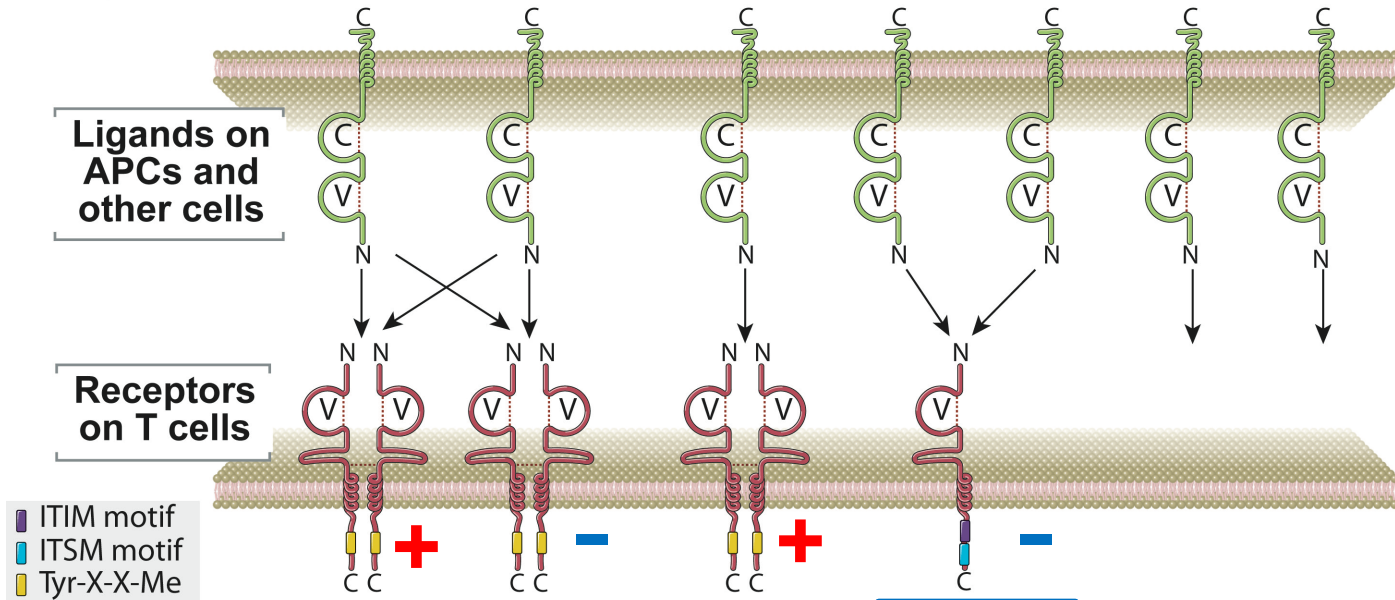
**CTLA-4-Ig**  
(Abatacept)  
Rheumatoid Arthritis (RA)  
Behandlung



# B7 und CD28 Familien

## APC

Expression	DCs, Macs, B cells	DCs, Macs, B cells	DCs; Macs, B cells	Many cell types	DCs; Macs, B cells	DCs; other cells	DCs; other cells
Name	<b>B7-1 (CD80)</b>	<b>B7-2 (CD86)</b>	<b>ICOS-L (CD275)</b>	<b>PD-L1 (B7-H1, CD274)</b>	<b>PD-L2 (B7-DC, CD273)</b>	<b>B7-H3</b>	<b>B7-H4</b>

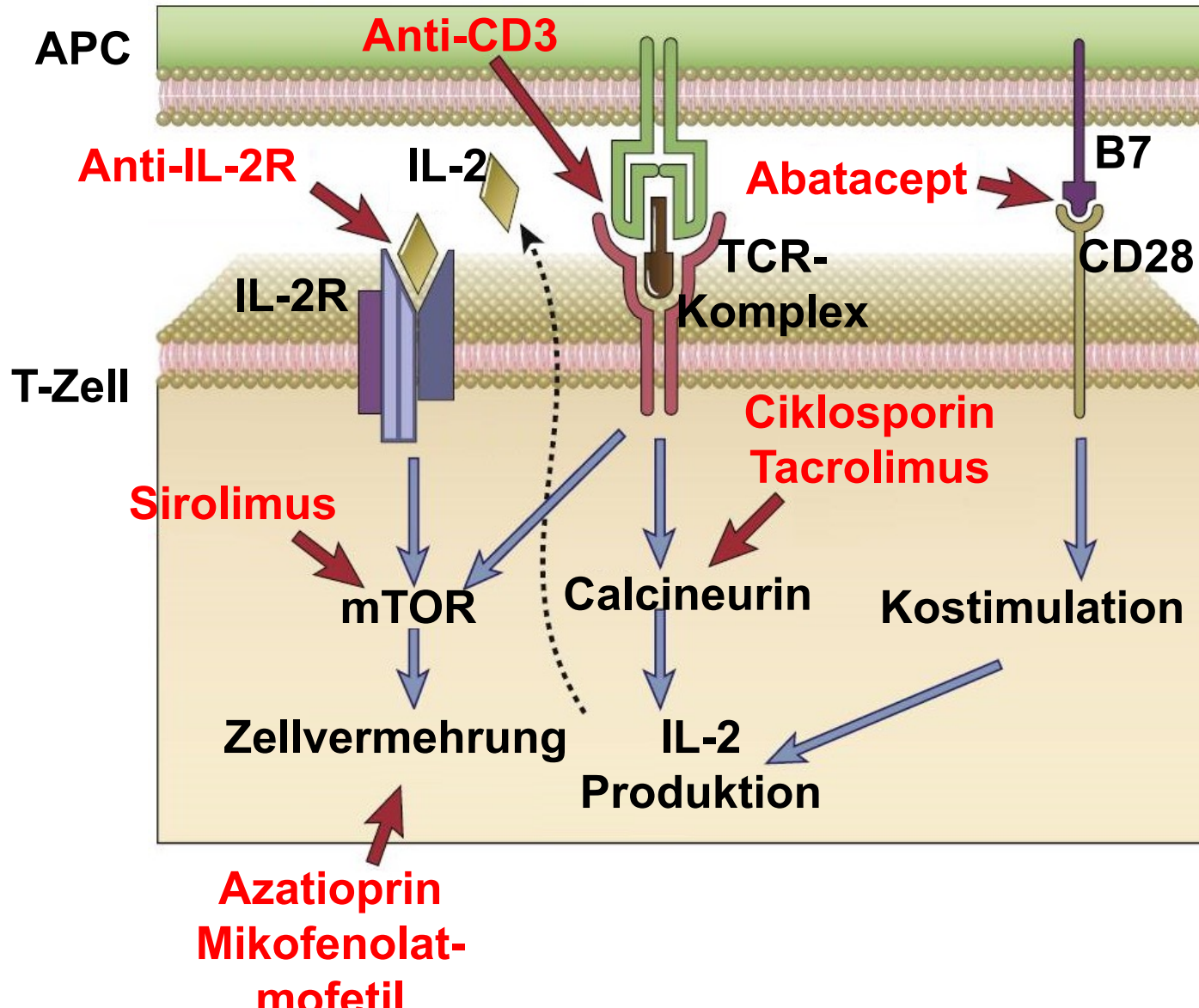


Name	<b>CD28</b>	<b>CTLA-4</b>	<b>ICOS</b>	<b>PD-1</b>	?	?
Expression	T cells	T cells; (activated)	T cells; (activated)	T cells, B cells, myeloid cells; (activated)		
Major function	Costimulation of naive T cells; generation of Treg	Neg. regulation of immune responses; self-tolerance	Costimulation of effector T cells and Treg; generation of T <sub>FH</sub>	Neg. regulation of T cells	?	Neg. regulation of T cells

## T-Zelle

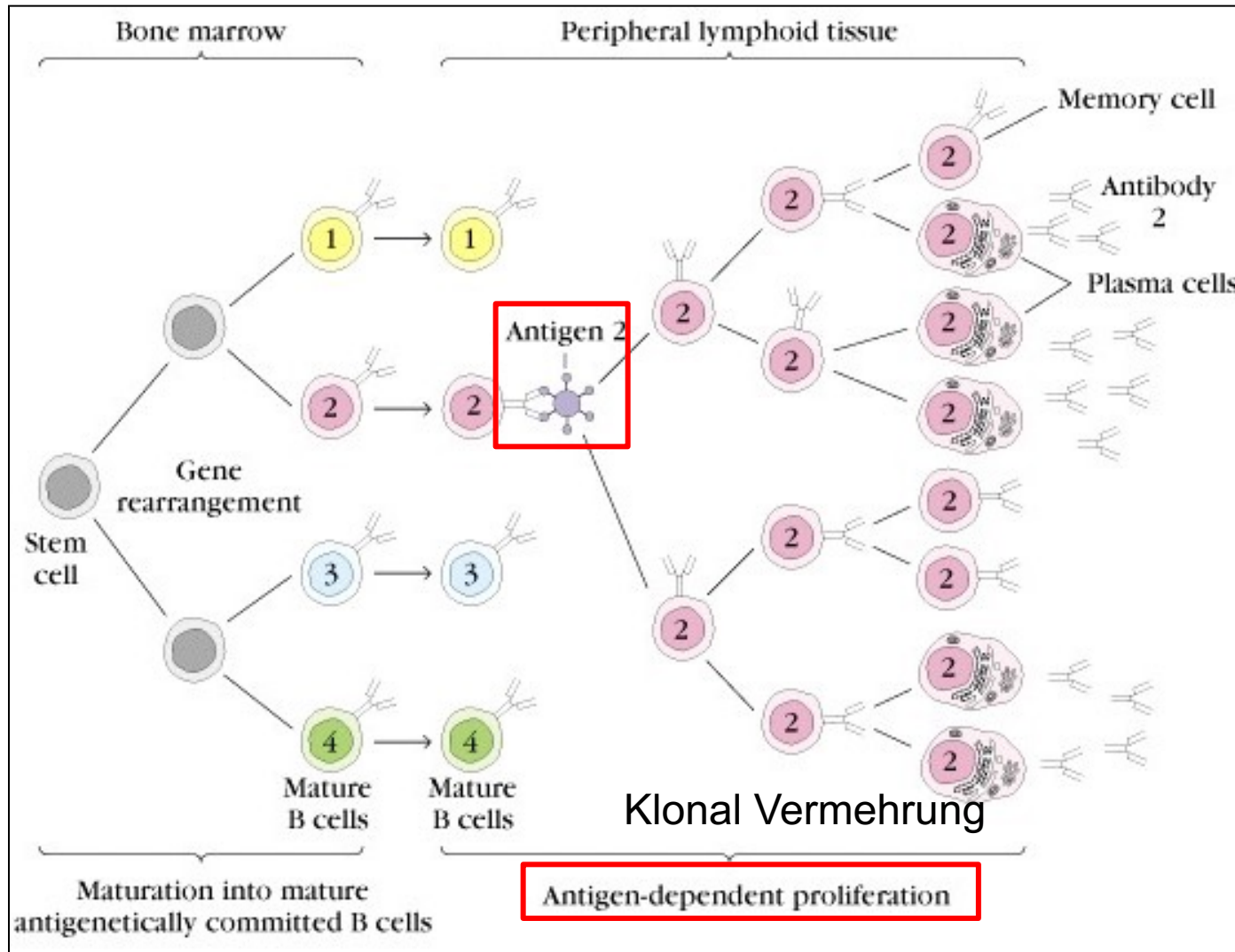
Fig. 9-5

# Möglichkeiten in der Hemmung von T-Zellen



# Peripherale B Lymphozytendifferenzierung

Primäre (Zentrale) und Peripherale Lymphozytendifferenzierung

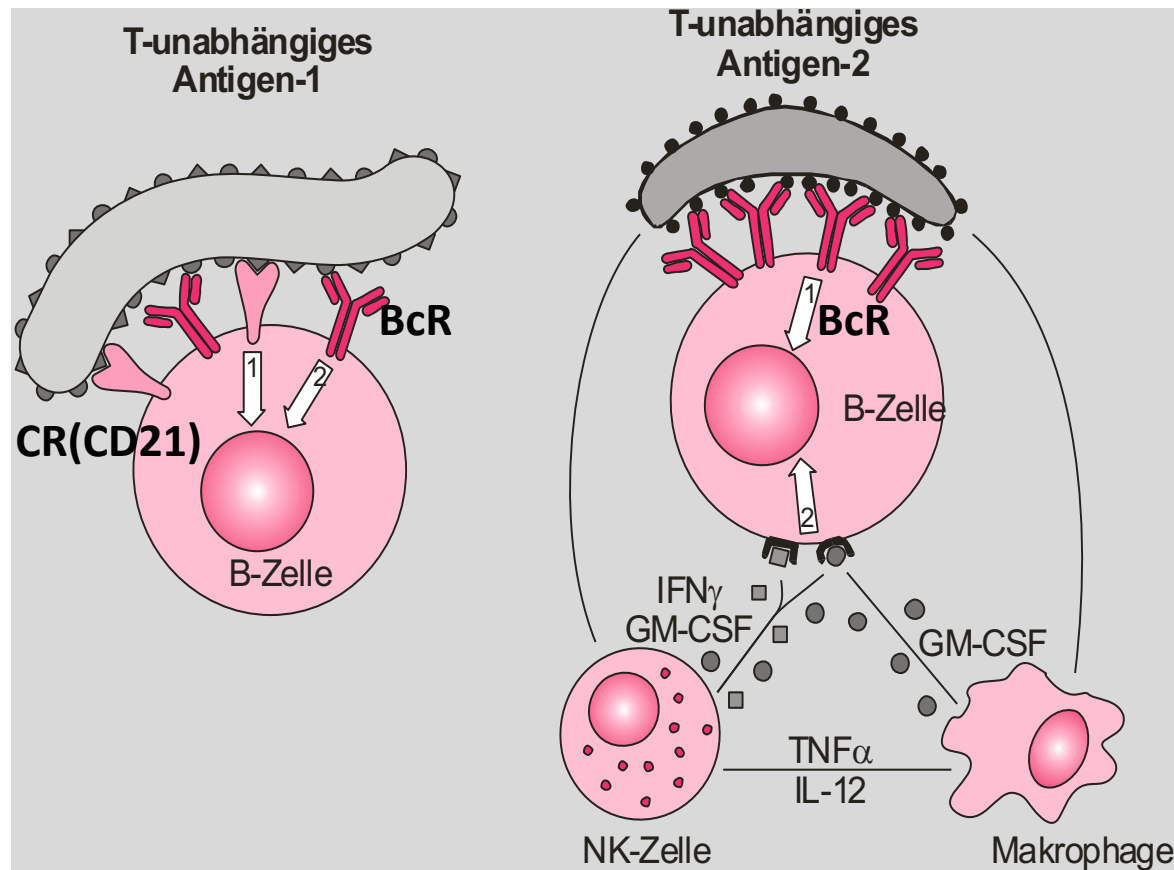


# Eigenschaften der T-Zell-abhängigen und unabhängigen Antigene

Typ:	T-abhängig	T-unabhängig
Chemisch	Proteine: verschiedene Epitope	Polymere: mit mehreren identischen Epitopen
Molekül:	Peptide: aus 5-6 Aminosäuren	Polysaccharide, Glycolipide, Nukleinsäure
Antikörperantwort in athymischen Mäusen	keine	vorhanden
Isotypen- Klassenwechsel	Ja (IgG, IgA, IgE)	Meistens kein (IgM)→ natürliche Antikörper
Affinitätsreifung	Ja	Keine
Gedächtnis-B-Zellen	Ja	Keine
Sekundäre Antwort	Ja	Keine

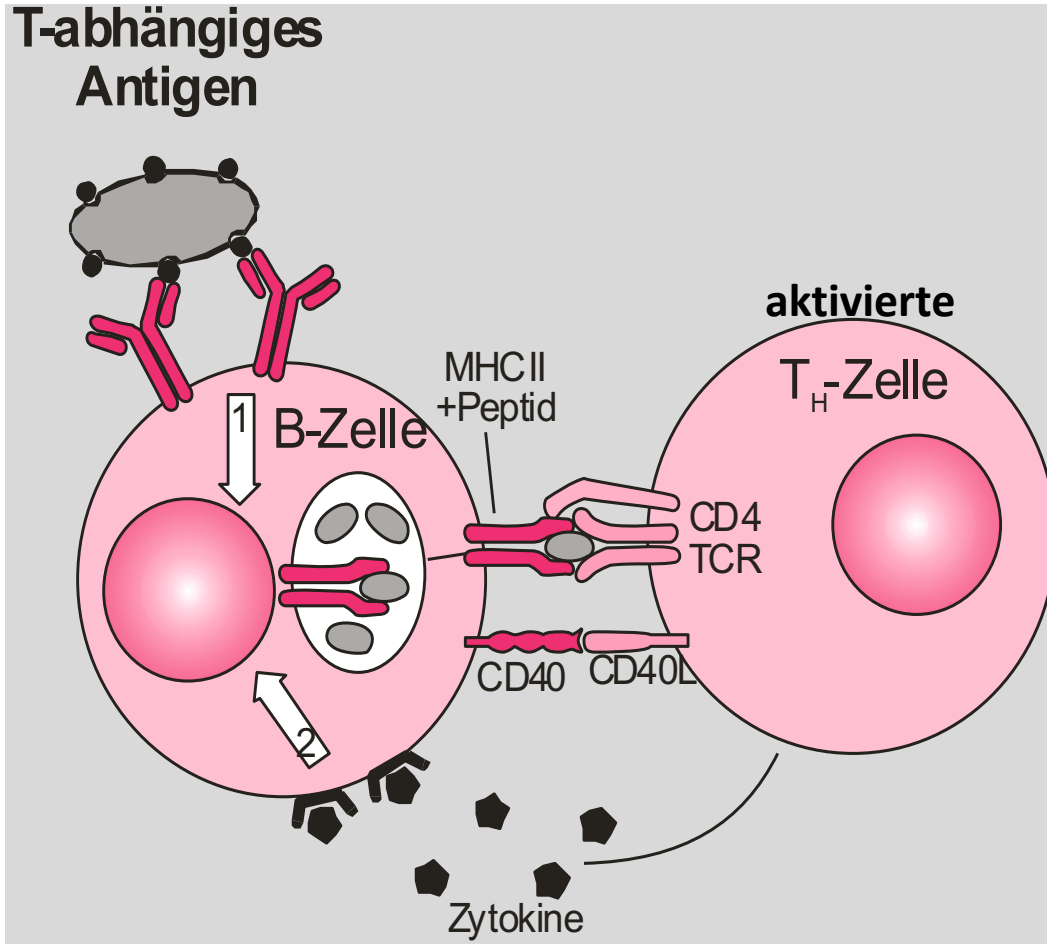


# B-Zell-Aktivierung durch T-unabhängige (TI) Antigene



**B1- und Marginalzonen-B-Zellen:** in der Milz; lang-lebende; IgM > IgG;  
(IgM++/IgD+, CD21++, CD23+/-)

# B-Zell-Aktivierung durch T-abhängige (TD) Antigene



Für B2-Zell-Aktivierung sind zwei Signale nötig:

1. von Antigenrezeptor
2. von T-Helfer-Zellen



# Beginn der Signaltransduktion im B-Zelle

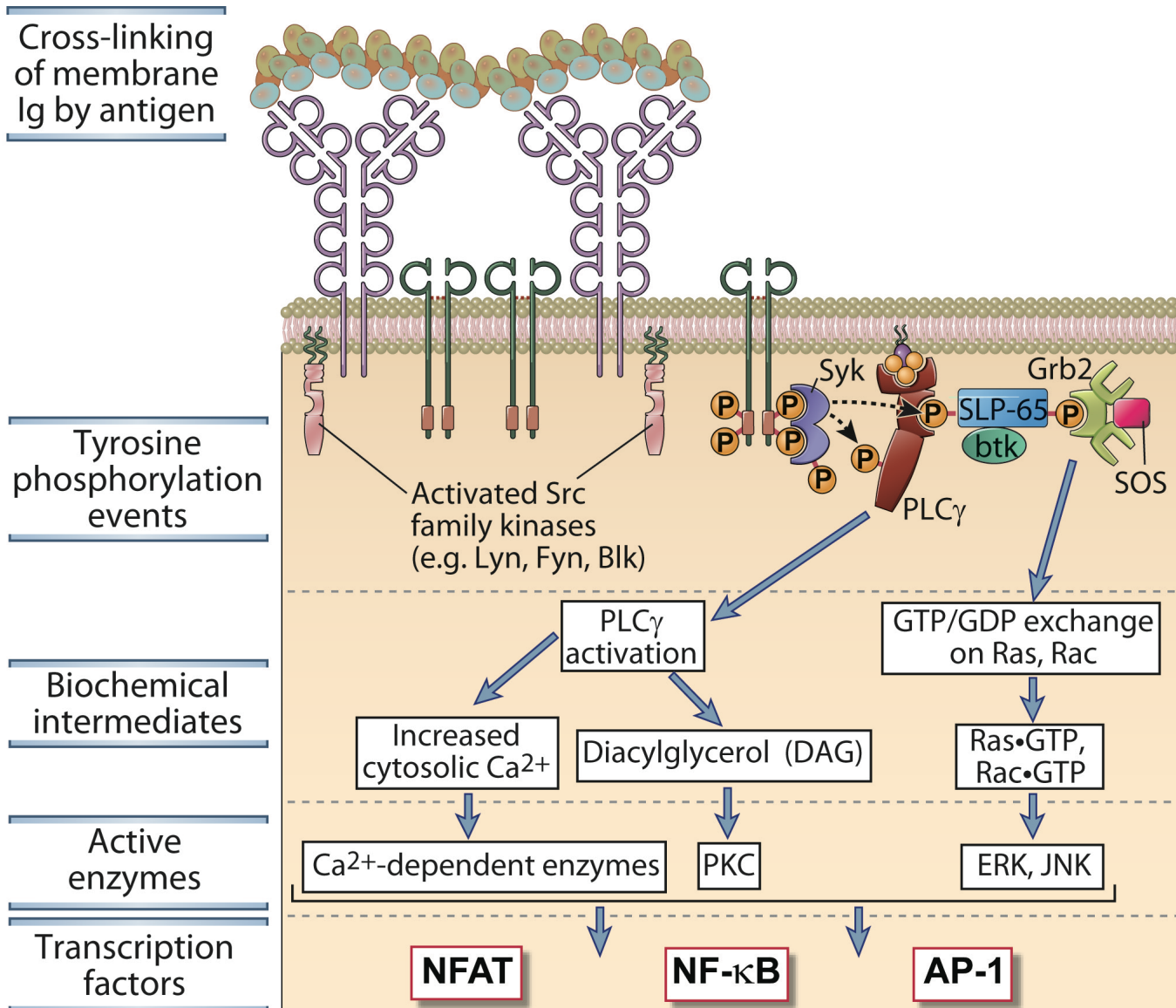


Fig. 7-19

# Beginn der Signaltransduktion im B-Zelle 2.

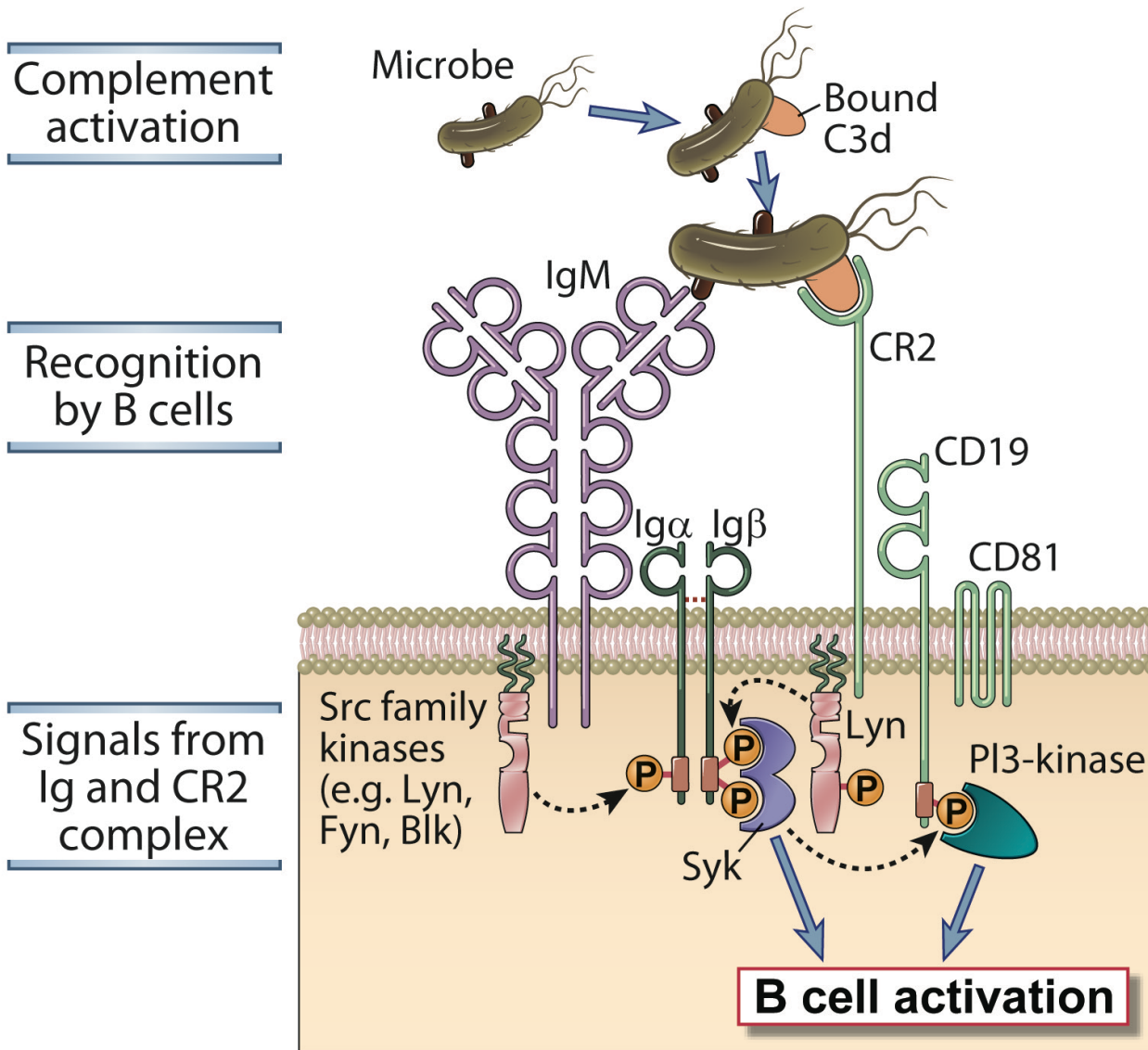


Fig. 7-20

# Internalisierung des Antigen-BcR-Signal- Komplexes: B-Zellen agieren als APC

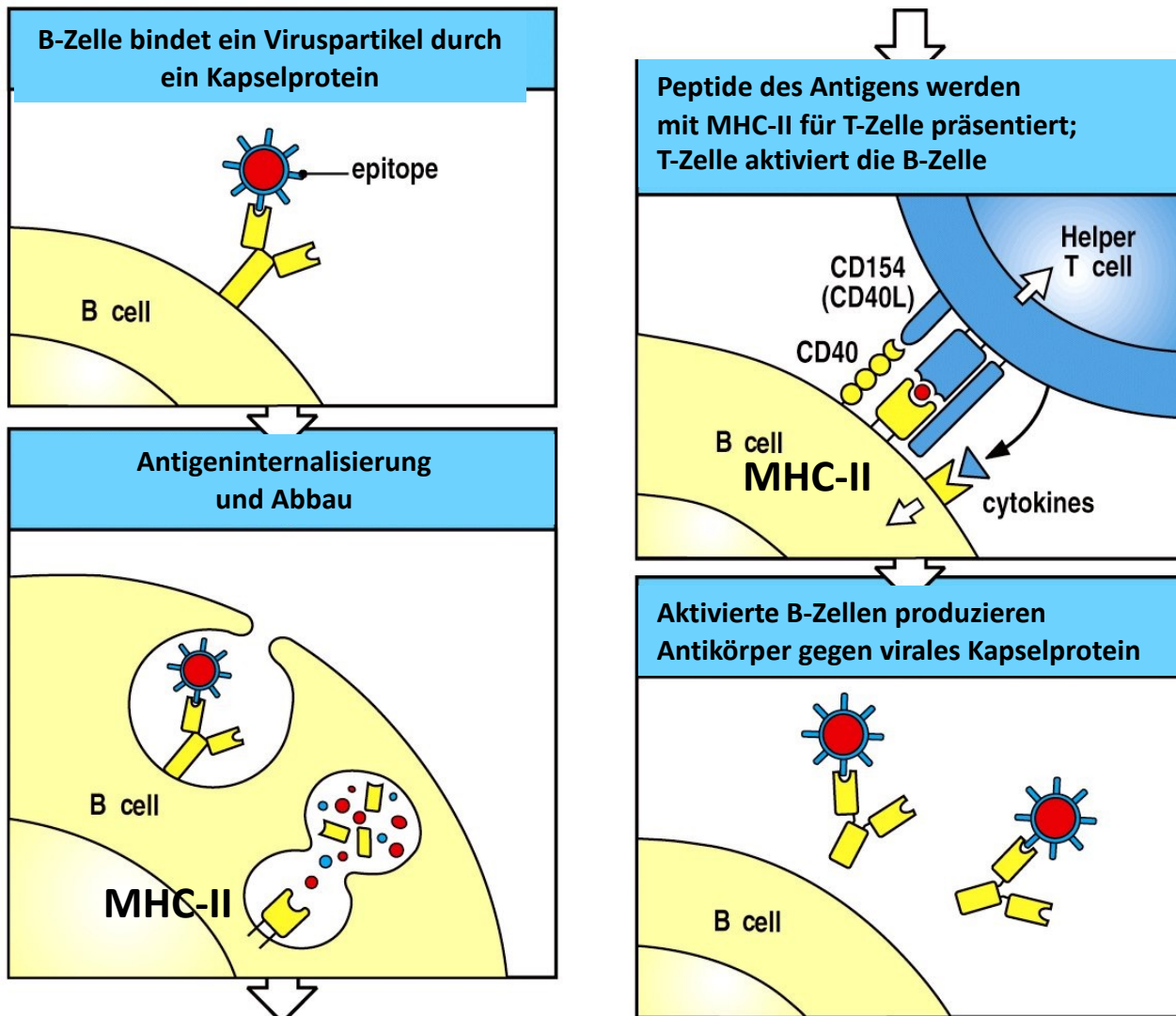


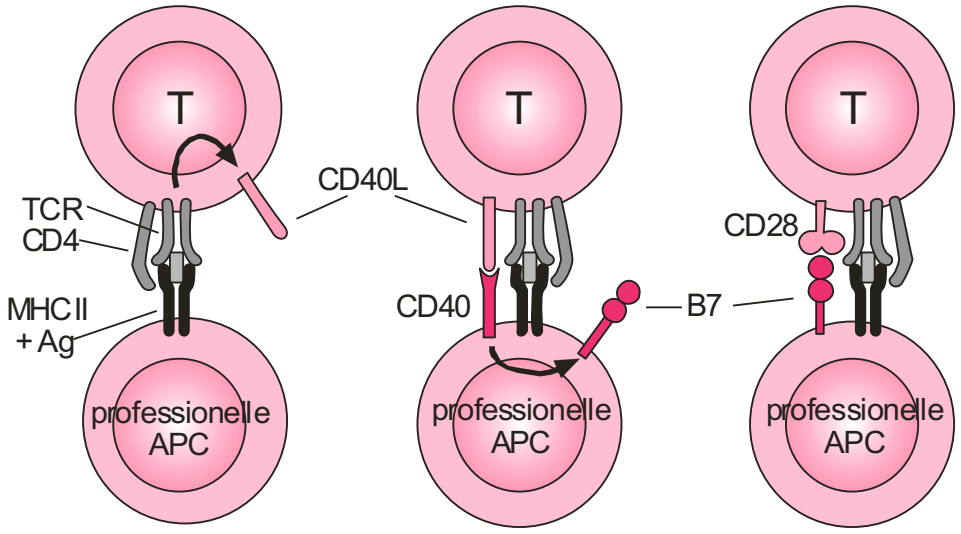
Figure 9-3 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Die Wechselwirkung zwischen Th- und B-Zellen (APC) induziert die Expression der Korezeptoren: CD40L auf T-Lymphozyten, B7 auf APC-Zellen

**Kontakt-abhängige Signale:**

<b>B-Zelle(APC)</b>		<b>T-Zelle</b>
B7(CD80/86)*	-	CD28
CD40	-	CD40L*

**→ *Exprimierung der Zytokinrezeptoren***



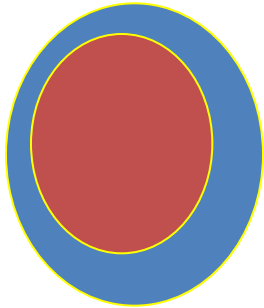
**Signale der von Helfer-T-Zellen stammenden Zytokine:**

IL-2, IL-4, IL-5

**→ *Proliferation und Differenzierung***

# Die B Zell Aktivierung führt zu Folikulärer oder extrafollikulärer Weg:

T/B-Zonegrenze



Aktivierte B-Zelle

## 1. Extrafollikulärer Weg:

(Bildung eines Primärfokus)

*Ergebnis: Plasmoblast*

**Kurzlebende Plasmazellen**

## 2. Follikulärer Weg:

(Keimzentrumreaktion)

Bcl-6 ↑ : Blimp-1 Hemmung

PAX-5: XBP-1 Hemmung

*Ergebnis: Centroblast*

**Kurzlebende Plasmazellen**

**Gedächtniss B-Zellen**



# 1. Entstehung des Primärfokus= Extrafollikuläre-Reaktion

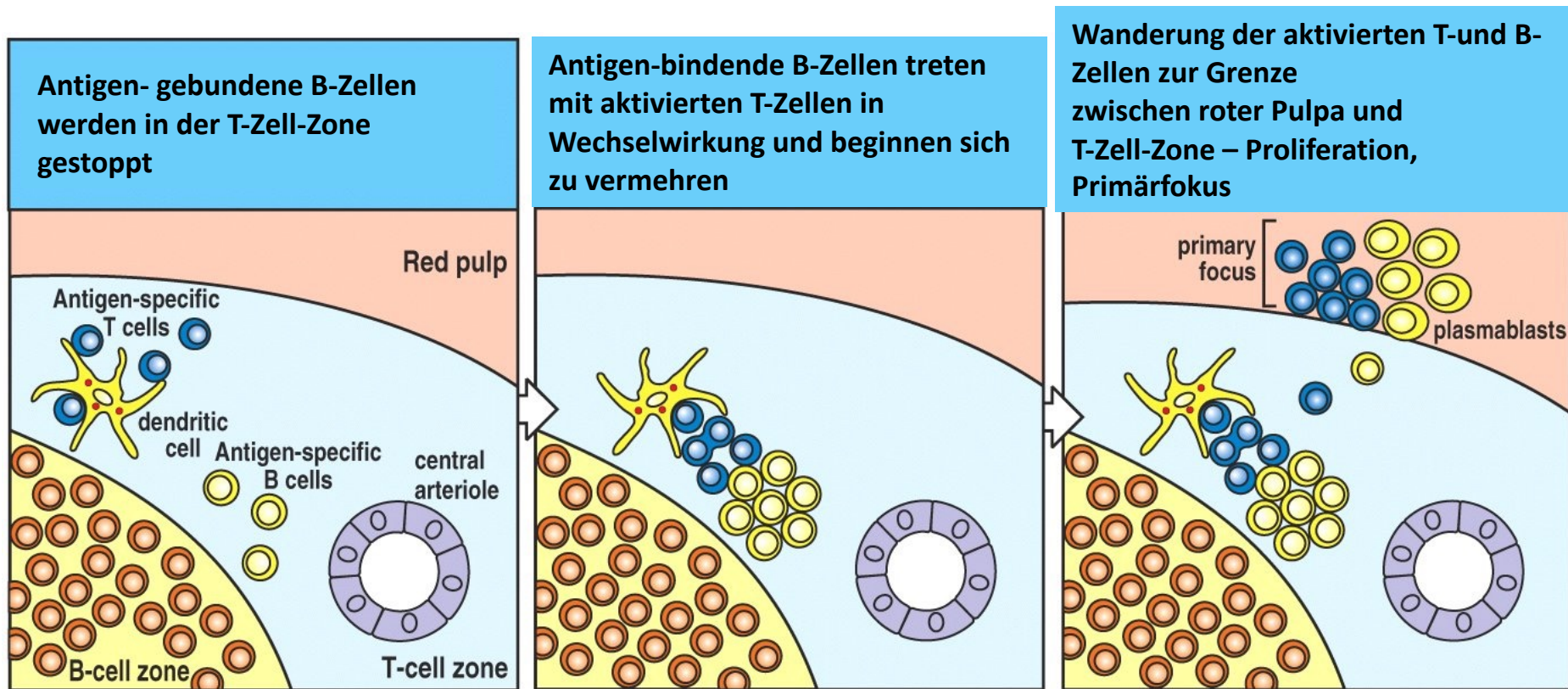


Figure 9-9 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Die Primärfocusbildung findet statt in der marginale Zone verbindende Kanäle der Milz (T-Zell Zone/rote Pulpa Grenze) oder in den parafollikulären Zonen der Lymphknoten. Als Ergebnis **kurzlebende IgM-sezernierende Plasmazellen** entstehen.

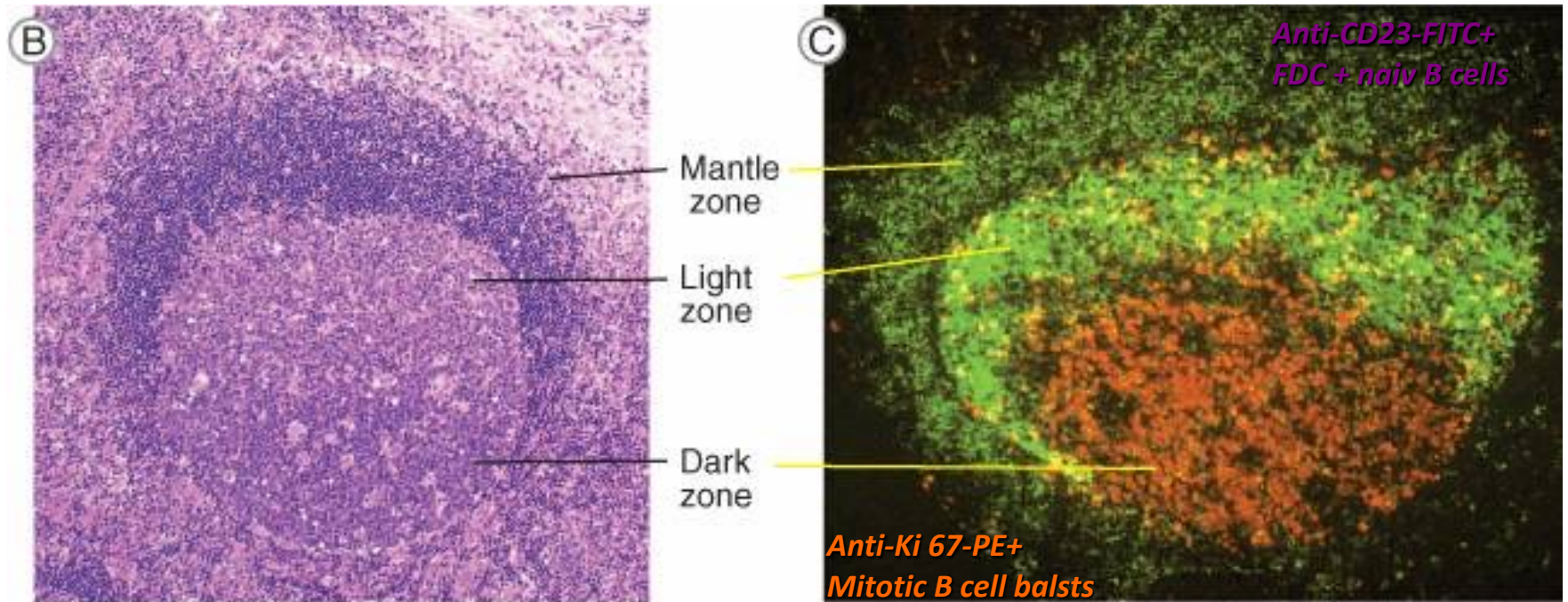
Die Primärfocusbildung ist eine **schnelle Antwort (2-3 Tage)**, und sichert eine **erste Abwehr gegenüber dem stimulierenden Antigen**

## 2. Keimzentrum-Reaktion:

- **Hauptsächlich proliferierende B-Zellen (Zentroblasten, Zentrozyten), ~10 % T-Zellen, follikuläre dendritische Zellen (FDZ)**
- **Proliferation**
- **Affinitätsreifung - somatische Hypermutation – V-Gene**
- **Isotypenwechsel – C-Gene der schweren Kette**



# Sekundärfollikel mit Keimzentrum



© Elsevier 2005. Abbas & Lichtman: Cellular and Molecular Immunology 5e www.studentconsult.com

**Dunkle Zone: Zentroblasten** → intensive Vermehrung - **somatische Hypermuation**

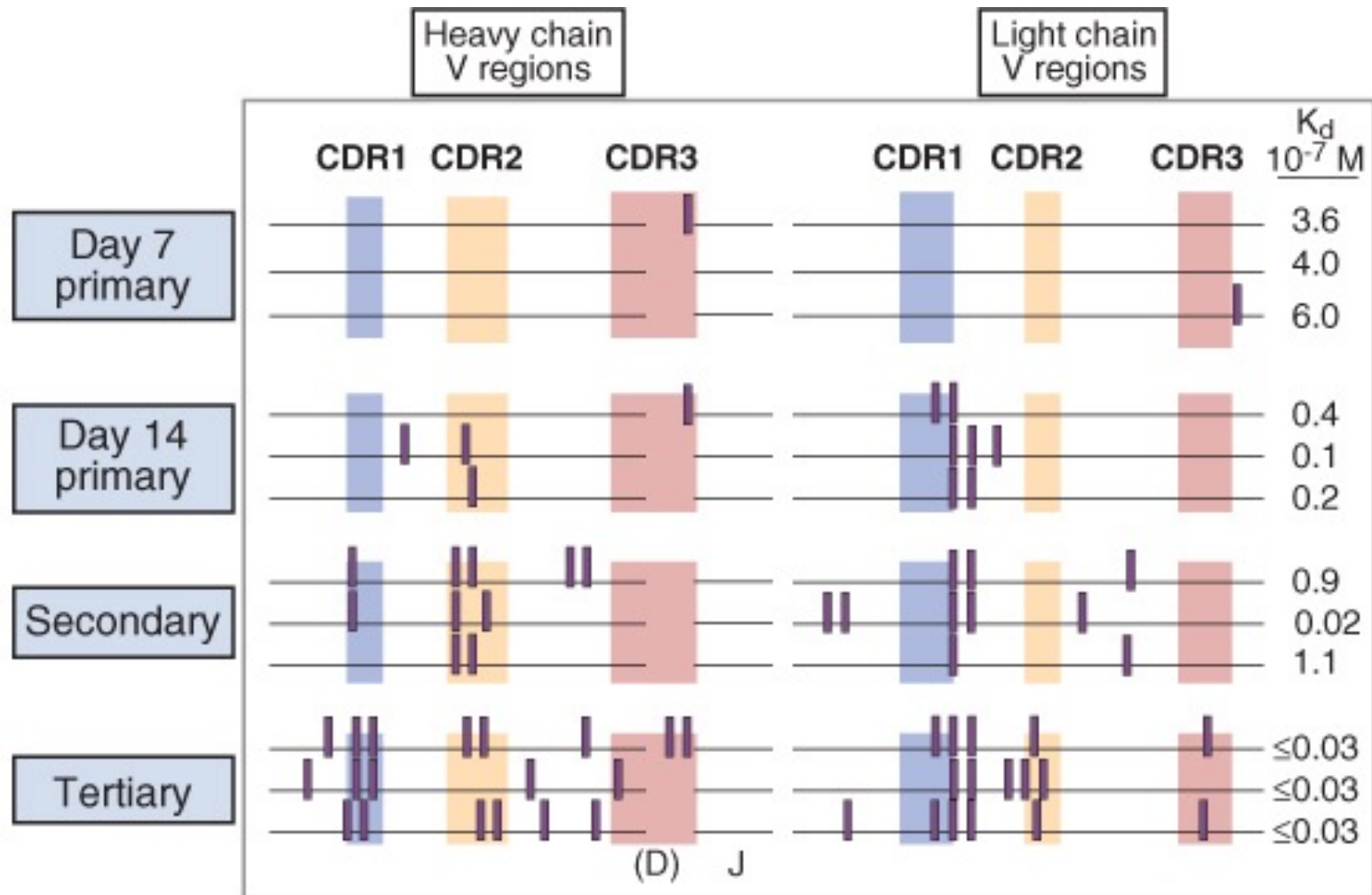
**Helle Zone: Zentrozyten** → verminderte Vermehrung - **Affinitätsreifung**

# Bildung von Keimzentren-B-Zellen

## Dunkle Zone: Zentroblasten

- Intensive Proliferation (6-8 Stunden)
- Zelloberflächen-Ig expression senkt
- **Somatische Hypermutation** passiert in der V-Region der Ig Genen: Punktmutationen mit hoher Frequenz (1/1000 Basen/Teilung) führt zu der Veränderung von einigen Aminosäuren in der hypervariable Region der Ig Molekül, das kann die BcR- Affinität beeinflussen.

# Genpunktmutationen in Ig-variablen Regionen = somatische Hypermutation



# Keimzentrum-Reaktion: Affinitätsreifung

## Helle Zone: Zentrozyten

- Die Teilung stopt
- Zelloberflächen-Ig expression steigt
- Wechselwirkung zwischen Zentrozyten und FDZ, Helfer-T-Zellen
- **Affinitätsreifung:** Die Selektion der Zentrozyten auf Grund ihrer BcR-Affinität. Die Testung der BcR-Affinität passiert auf Antigenkomplexen die auf Follikuläre dendritische Zellen (FDZ) finden statt.

Zentrozyten mit hohe Affinität überleben

Zentrozyten mit niedrige Affinität Apoptotisieren

## **Ergebnis:**

*Die BcR-Affinität auf überlebenden Zentrozyten ist durchschnittlich erhöht.*

# Follikuläre dendritische Zelle

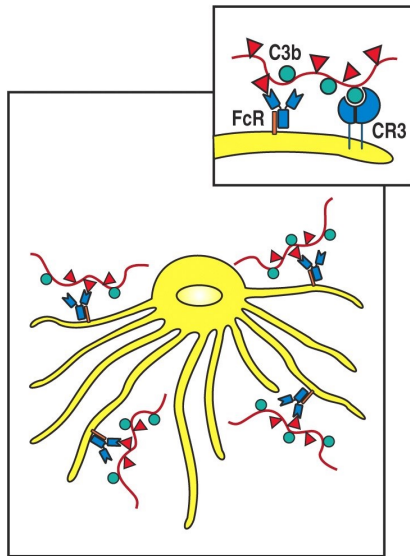
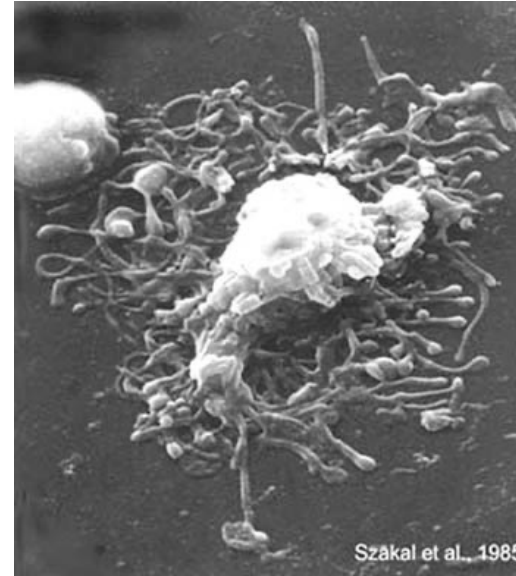


Figure 9-14 part 2 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)



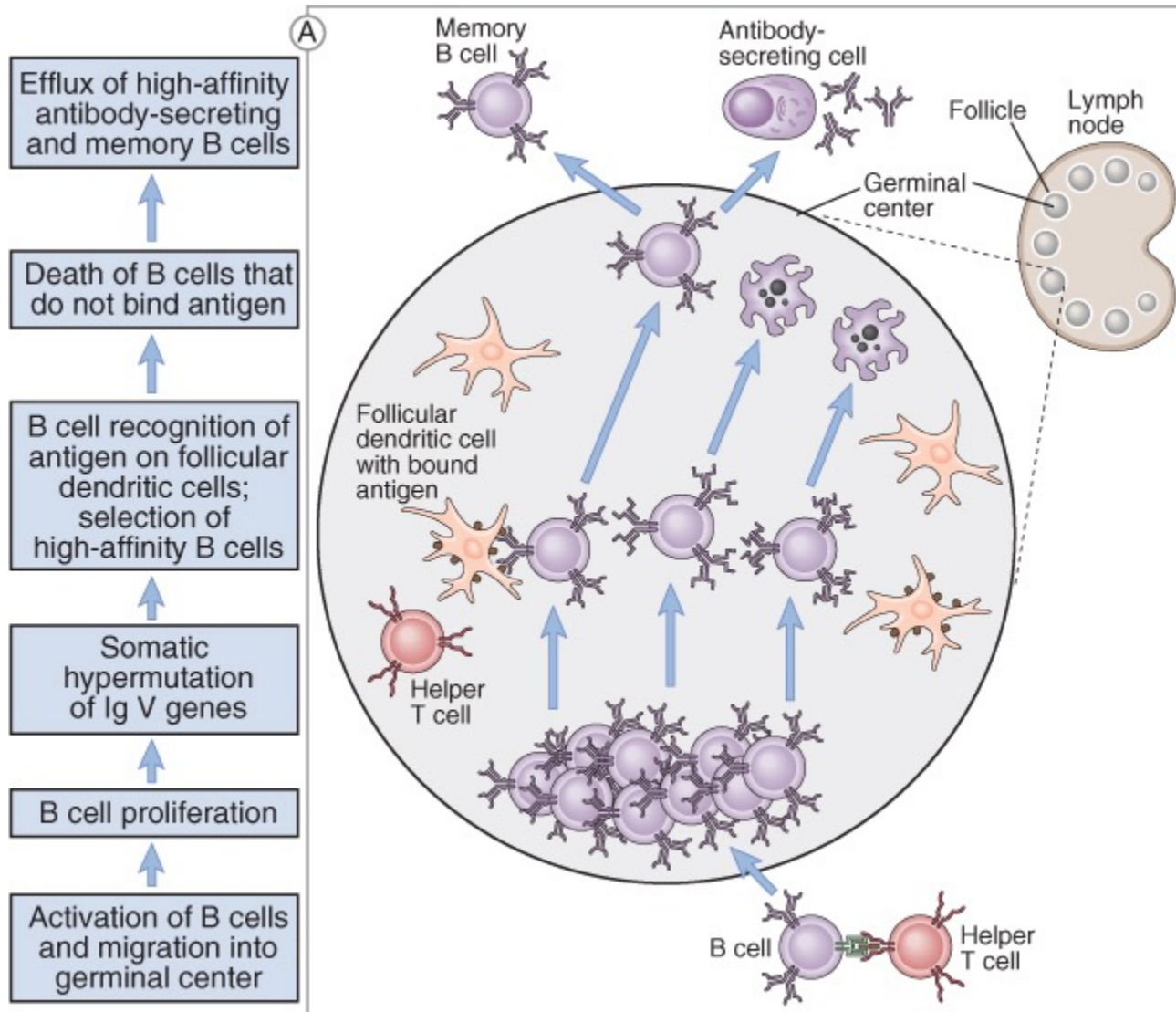
- Nicht-phagozytierend, nicht-adhärenent
- Phenotypenmarker: CD21/35, Fc $\gamma$ R, induzierbares VCAM-1
- CXCL13-Produktion → B-Zellanziehung

## Funktion:

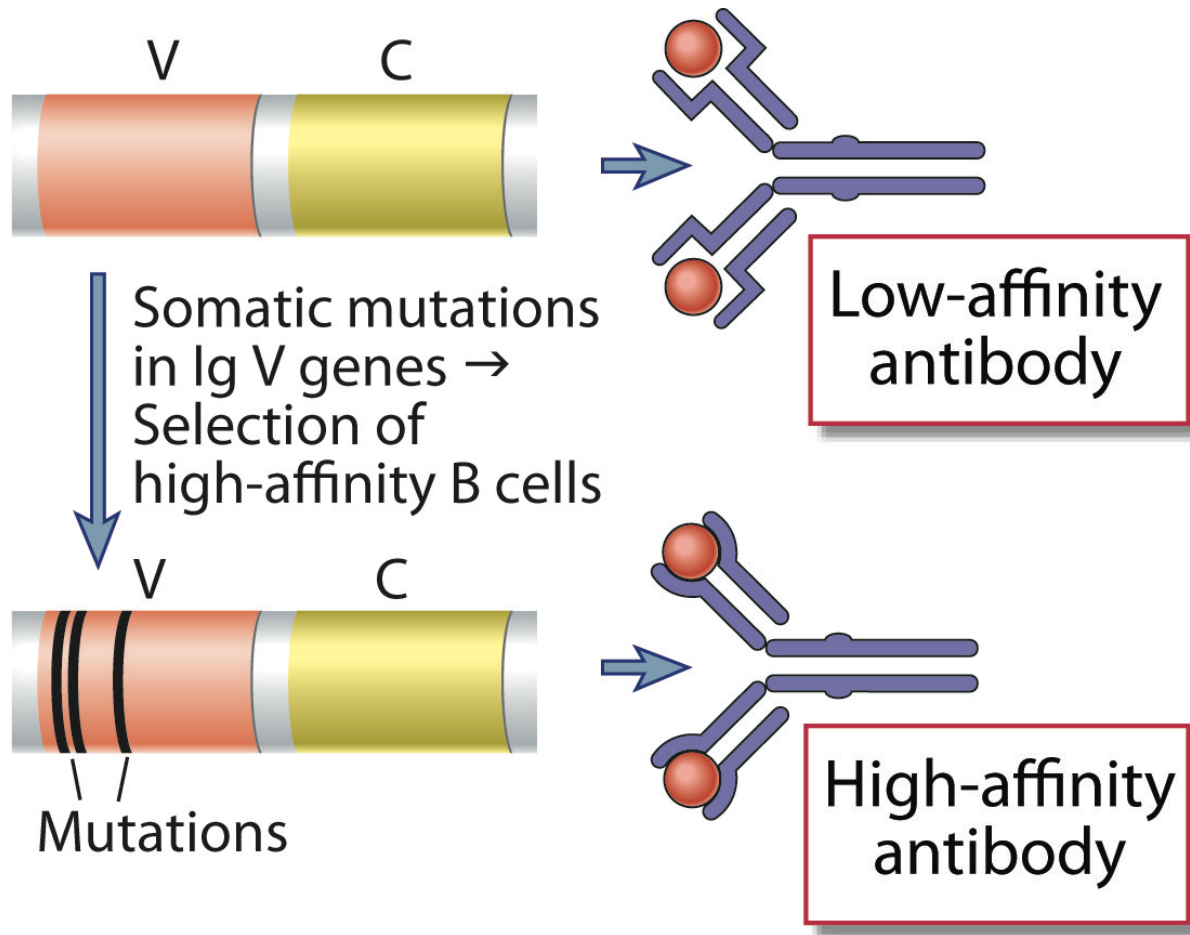
- Lang anhaltende Speicherung der Antigene in Immunkomplexen (*Antikörper/Komplement*) – IKKOSOMA - Zentrozytenbindung
- Zellulärer Vermittler der B-Zell-Selektion in Keimzentrum-Reaktion
- Mögliche Beteiligung im immunologischen Gedächtnis



# Selektion spezifischer B-Zellen



# Somatische Hypermuation der variablen Abschnitte der Ig-Gene → Affinitätsreifung





# Isotypenwechsel

= C-Gene der schweren Kette umwandeln

Mäusliche und menschliche Ig schwere Kette konstante Genregionen:

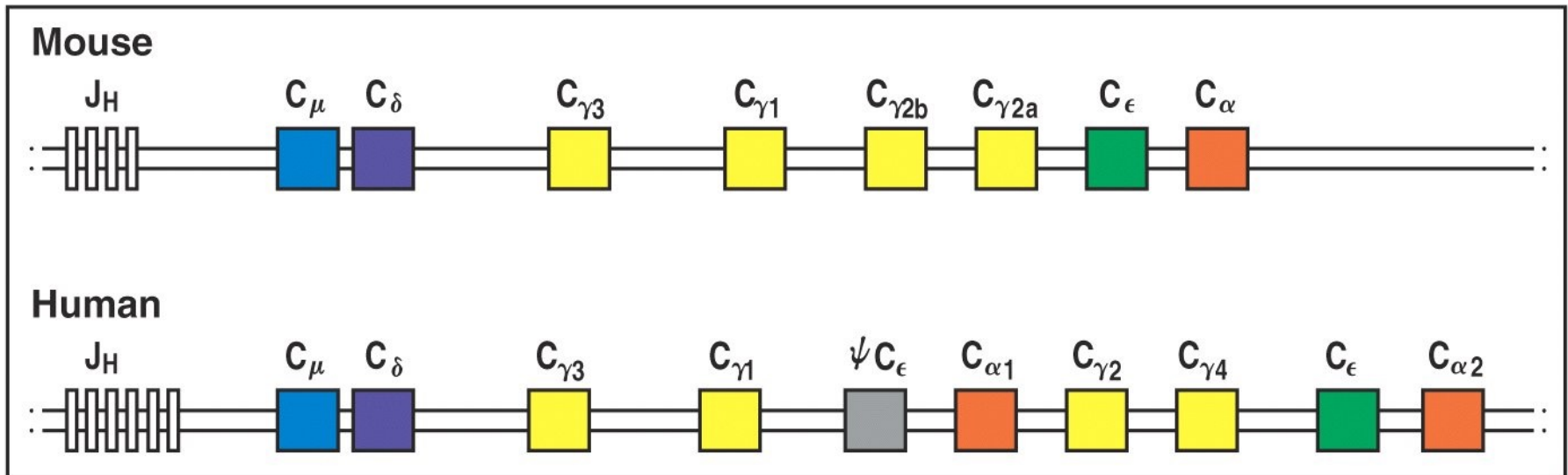


Figure 4-19 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Klassenwechsel-Rekombination

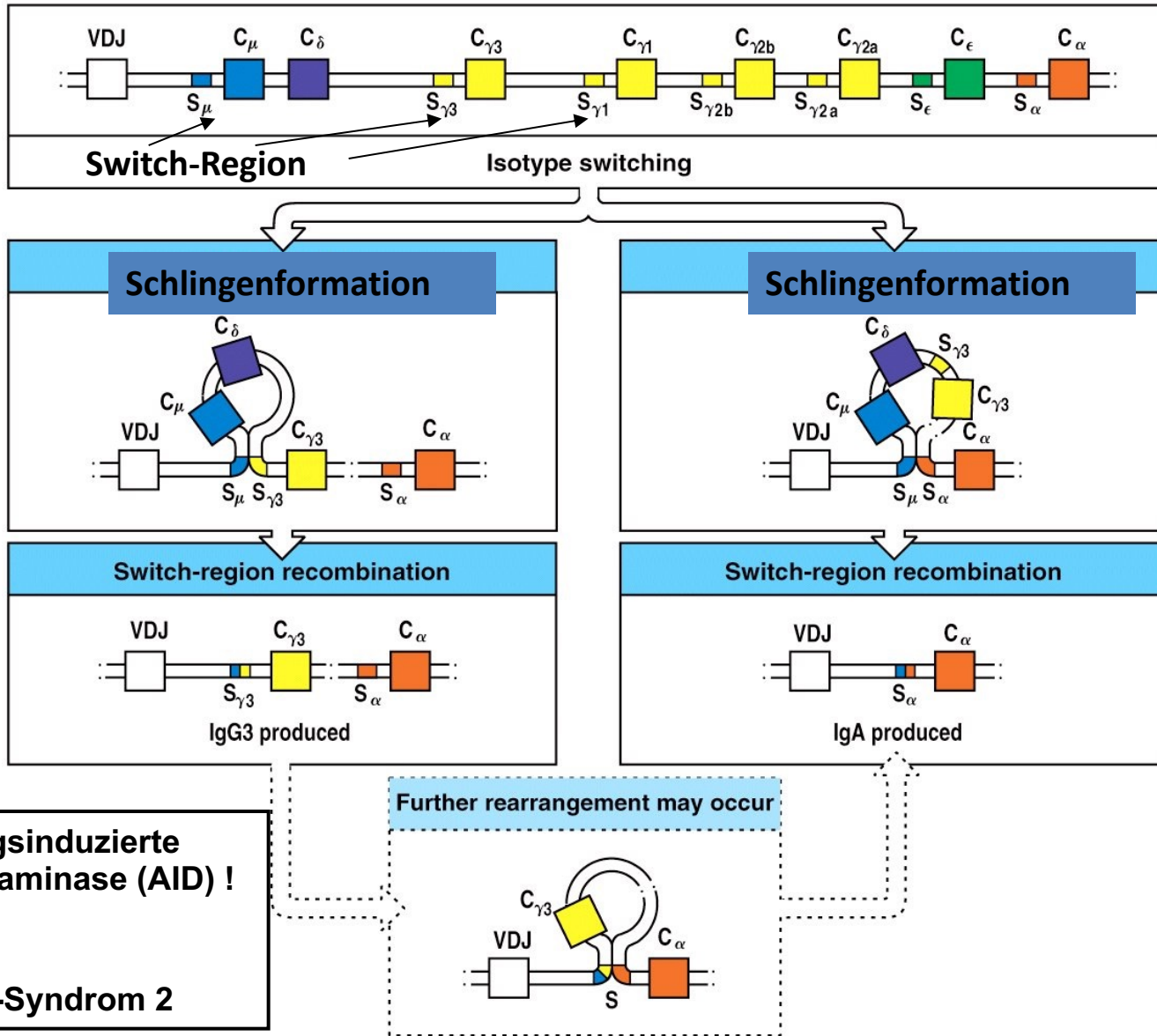


Figure 4-21 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Regulierung des Isotypenwechsels

## Rolle von Zytokinen bei Regulierung des Isotypenwechsels

Cytokines	IgM	IgG3	IgG1	IgG2b	IgG2a	IgE	IgA
IL-4	Inhibits	Inhibits	Induces		Inhibits	Induces	
IL-5							Augments production
IFN- $\gamma$	Inhibits	Induces	Inhibits		Induces	Inhibits	
TGF- $\beta$	Inhibits	Inhibits		Induces			Induces

Figure 9-7 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

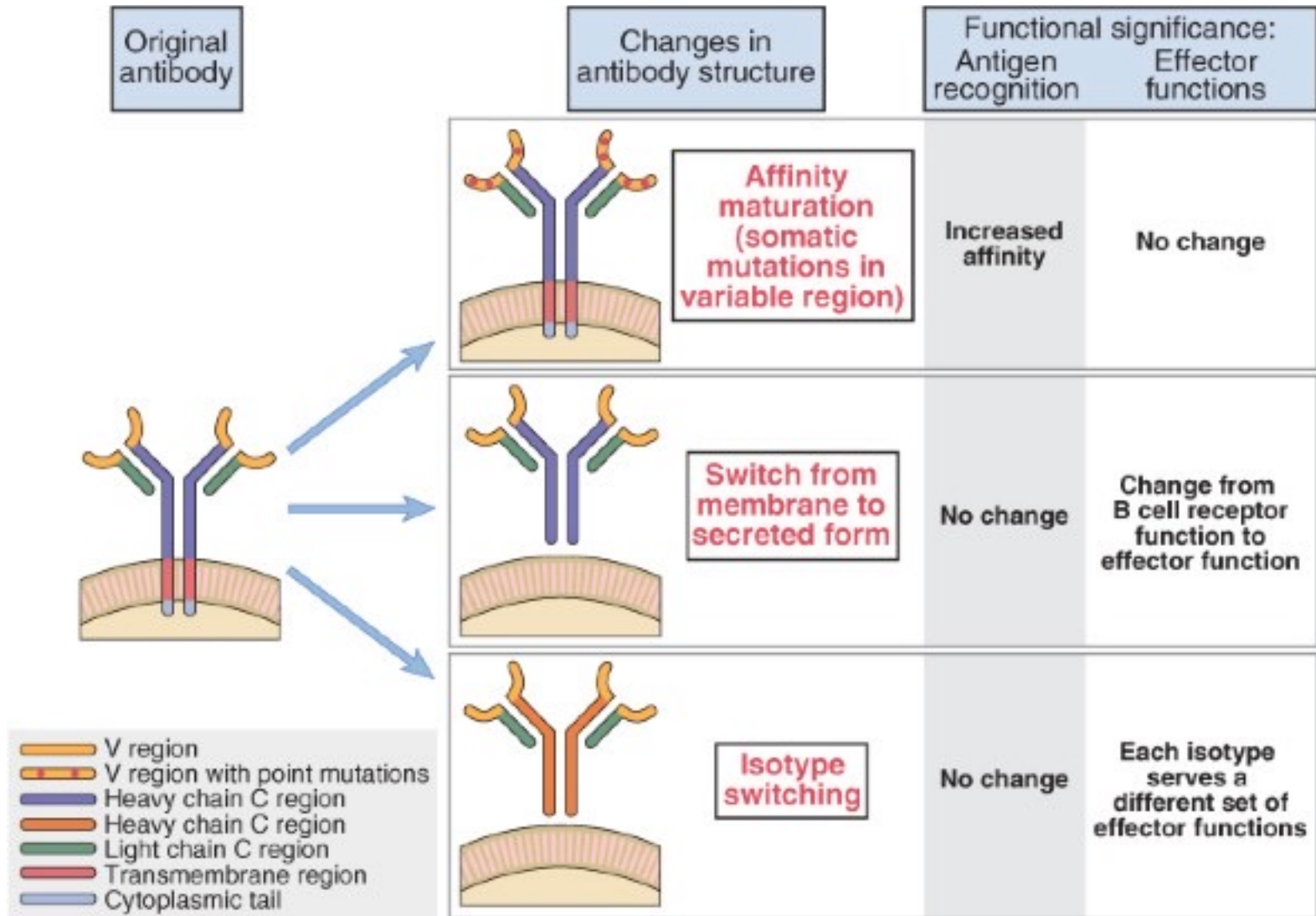
Induktion

Hemmung

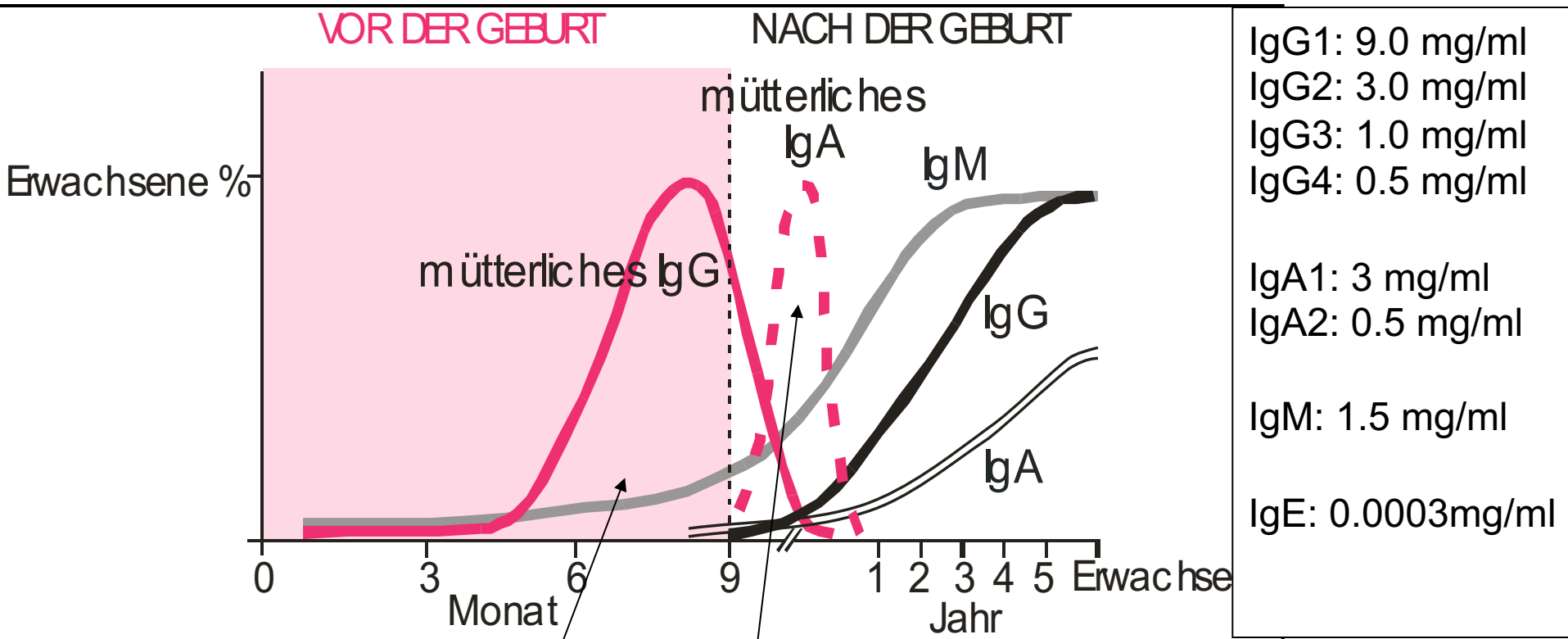
3 Signale:

- Antigen
- Zytokine
- CD40

# Veränderungen der Antikörper Molekül



# Auftreten der Immunglobulinklassen (= Isotypen) im Blut im Laufe der Ontogenese



Durch Plazenta übertretende IgG

Stillzeit

# Charakter der Immunoglobuline

- ***B Zell Rezeptor: monofunktionaler*** Charakter → spezifische Antigenerkennung und –bindung (Fab-abhängige Funktion) und Signaltransduktion (Fc-abhängige Funktion)
- Als sezerniertes Immunglobulin (Antikörper) ***polyfunktionaler*** charakter (Fc-abhängige Funktion)
  1. Aktivierung des Komplementsystems,
  2. Bindung an unterschiedliche immunologische Effektorzellen durch Fc-Rezeptoren, usw.

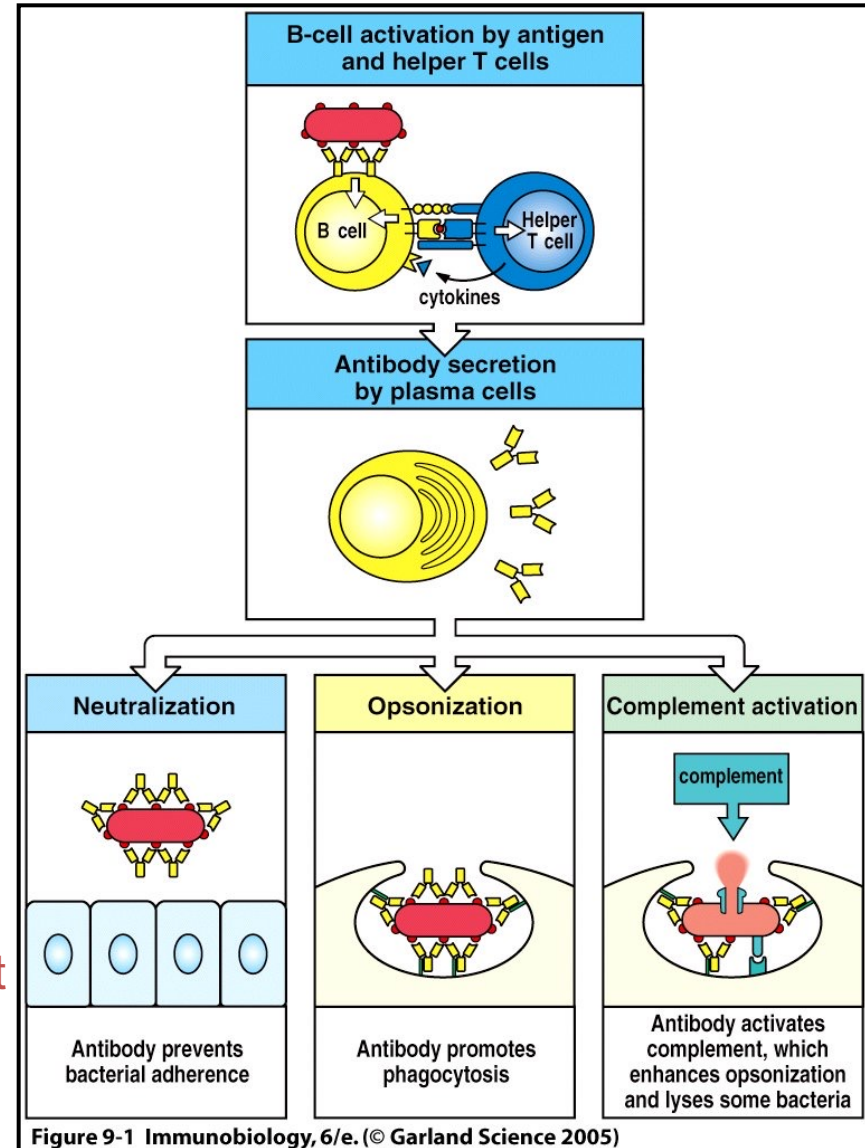
# Funktion der Immunglobulin Klassen

1. Neutralisierung: Antikörper verhindern, dass sich Toxine und Bakterien auf Zelloberflächen festsetzen

2. Opsonisierung: Antikörper fördern Phagozytose (FcR)

3. Aktivierung von Komplement, das die Opsonisierung beschleunigt und einige Bakterien lysiert

4. ADCC: Antikörper -vermittelte Zytotoxizität





# Immunglobulinklassen und ihre Funktionen

Functional activity	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgE
Neutralization	+	-	++	++	++	++	++	-
Opsonization	+	-	+++	*	++	+	+	-
Sensitization for killing by NK cells	-	-	++	-	++	-	-	-
Sensitization of mast cells	-	-	+	-	+	-	-	+++
Activates complement system	+++	-	++	+	+++	-	+	-

Figure 9-19 part 1 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

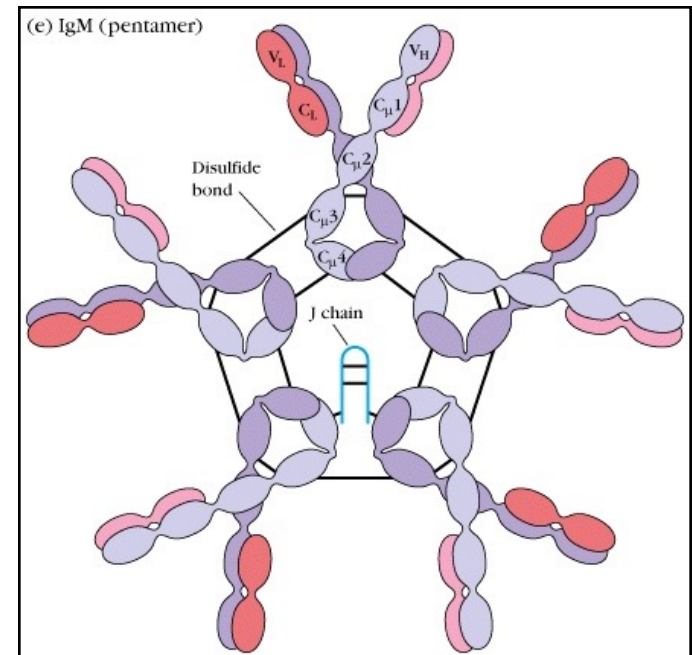
# Funktionen der IgM

**IgM** Mw 900 kD

- **pentamere** Struktur - Blut, Lymphe
- auf der Zelloberfläche: **monomere** Struktur, existiert als **B-Zell-Rezeptor**
- bei der primären Immunantwort zuerst erscheinender Antikörper

Funktion:

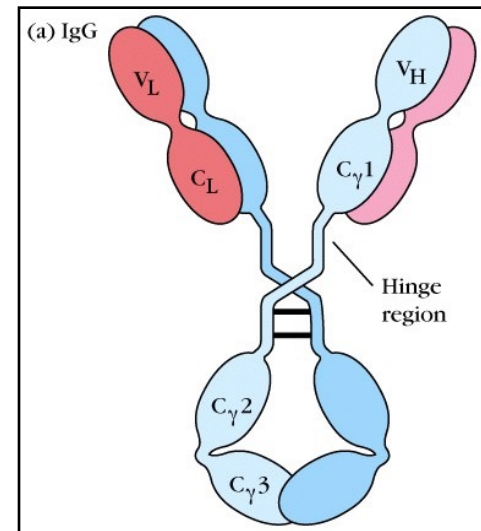
- Neutralisierung (agglutination)
- Komplementaktivierung,
- Schutz der Schleimhäute



# Funktion der IgG-Klasse

## IgG (Mw 150 kD)

- 80% des zirkulierenden Immunglobulins im Blut, der Körperflüssigkeit und der Lymphe.
- die längste Halbwertszeit: ~ 3 Wochen
- Nur IgG mütterlichen Ursprungs können die **Plazenta**wand durchdringen - FcRn
- **Neutralisierung** der Giftstoffe und Viren,
- **Bindung an Fc-Rezeptoren** der **Phagozyten**
- **Komplementaktivierung**
- **Antikörper-abhängige zellvermittelte Zytotoxizität = ADCC**



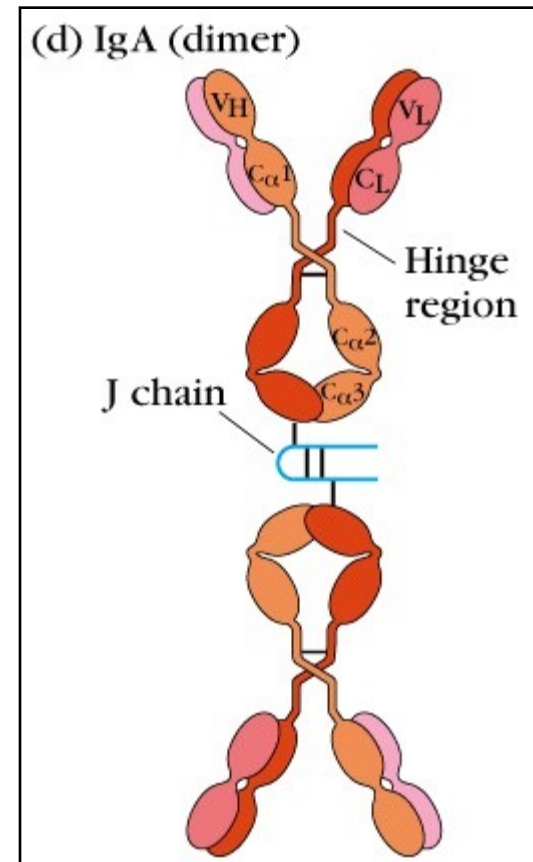
# Funktion der IgA

**IgA** (Mw 150-600 kD,

- Monomere Form in Serum (IgA1 > IgA2) - Blut
- dimere Struktur – sekretorische IgA

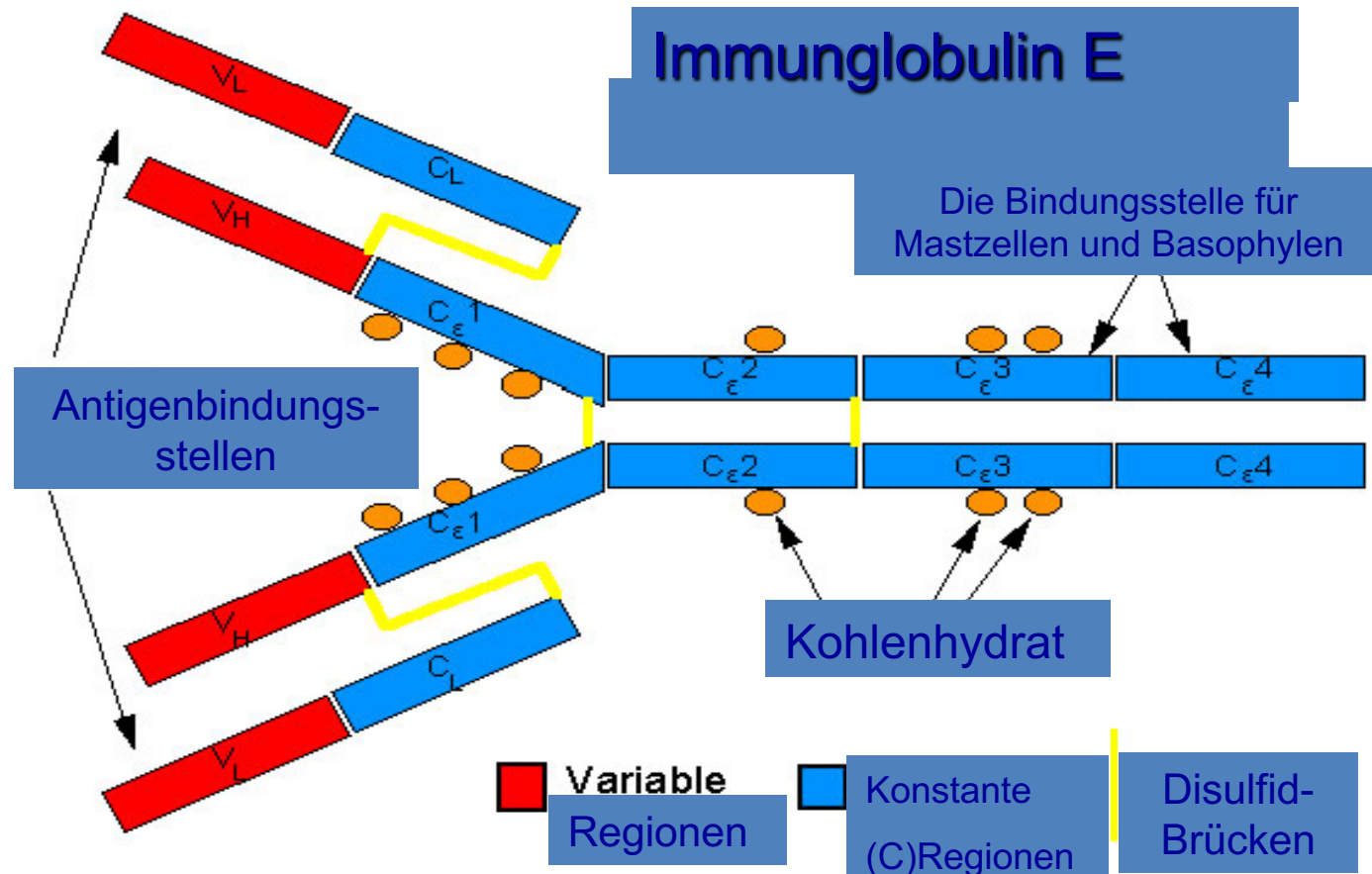
-> **Schleimhaut-Oberfläche**, MALT,  
Muttermilch

- Funktion: Neutralisierung
- Komplementaktivierung
- Fc $\alpha$ R-Bindung → Phagozytose

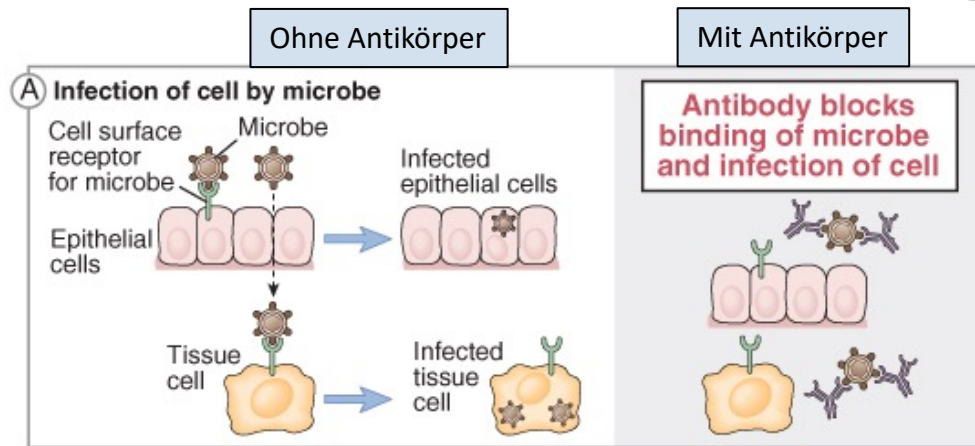


# IgE (Mw 190 kD)

- Blut und Lymphe (bindungsfähig an Basophyle oder Mastzellen)
- Abwehr gegen **Parasiten**
- verursacht **allergische Reaktionen**

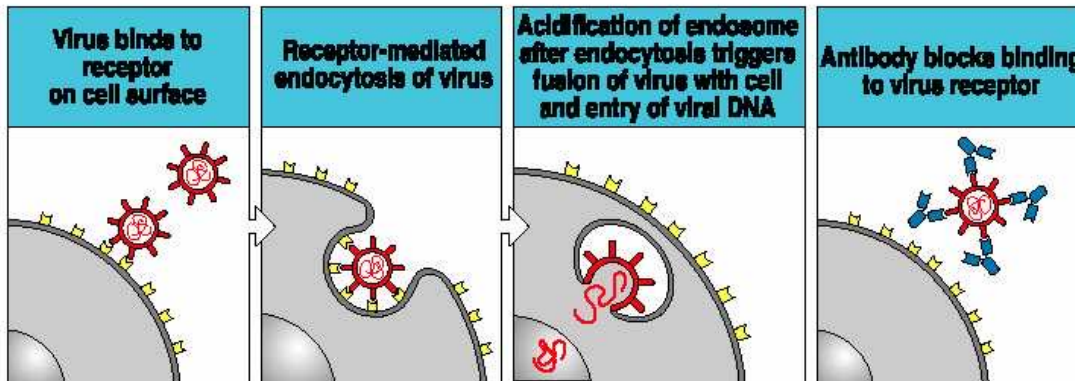


# Neutralisierung



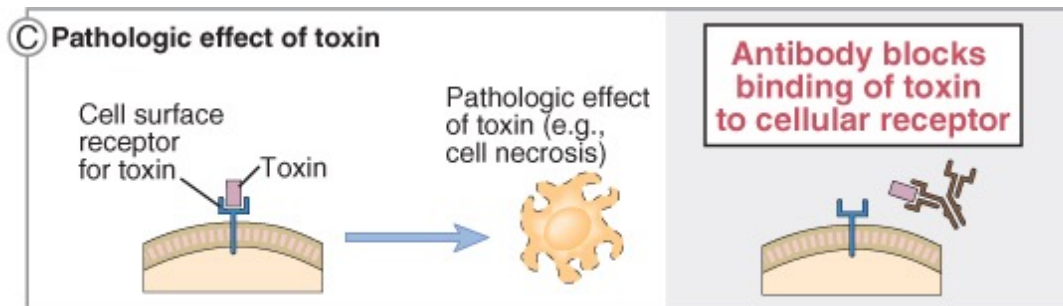
© Elsevier 2005. Abbas & Lichtman: Cellular and Molecular Immunology 5e www.studentconsult.com  
Figure 7.21a

Neutralisierung von Bakterien



© 2000 Garland Publishing/Elsevier Science

Neutralisierung von Viren



Neutralisierung von Toxinen

© Elsevier 2005. Abbas & Lichtman: Cellular and Molecular Immunology 5e www.studentconsult.com



# Fc-Rezeptoren (FcR)

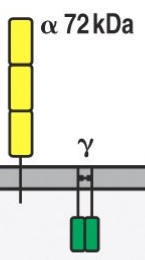
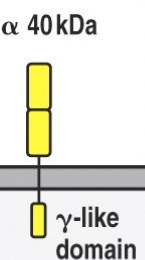
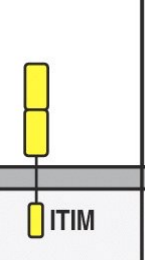
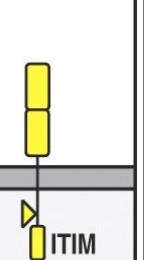
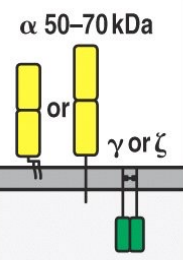
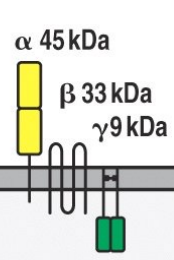
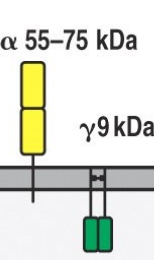
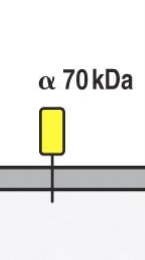
Receptor	FcγRI (CD64)	FcγRII-A (CD32)	FcγRII-B2 (CD32)	FcγRII-B1 (CD32)	FcγRIII (CD16)	FcεRI	FcαRI (CD89)	Fcα/μR
Structure								
Binding	IgG1 $10^8 \text{ M}^{-1}$	IgG1 $2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$	IgG1 $2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$	IgG1 $2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$	IgG1 $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$	IgE $10^{10} \text{ M}^{-1}$	IgA1, IgA2 $10^7 \text{ M}^{-1}$	IgA, IgM $3 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$
Order of affinity	1) IgG1=IgG3 2) IgG4 3) IgG2	1) IgG1 2) IgG3=IgG2* 3) IgG4	1) IgG1=IgG3 2) IgG4 3) IgG2	1) IgG1=IgG3 2) IgG4 3) IgG2	IgG1=IgG3		IgA1=IgA2	1) IgM 2) IgA
Cell type	Macrophages Neutrophils <sup>†</sup> Eosinophils <sup>†</sup> Dendritic cells	Macrophages Neutrophils Eosinophils Platelets Langerhans' cells	Macrophages Neutrophils Eosinophils	B cells Mast cells	NK cells Eosinophils Macrophages Neutrophils Mast cells	Mast cells Eosinophils <sup>†</sup> Basophils	Macrophages Neutrophils Eosinophils <sup>†</sup>	Macrophages B cells
Effect of ligation	Uptake Stimulation Activation of respiratory burst Induction	Uptake Granule release (eosinophils)	Uptake Inhibition of stimulation	No uptake Inhibition of stimulation	<b>ADCC</b> Induction of killing (NK cells)	Secretion of granules	Uptake Induction of killing	Uptake

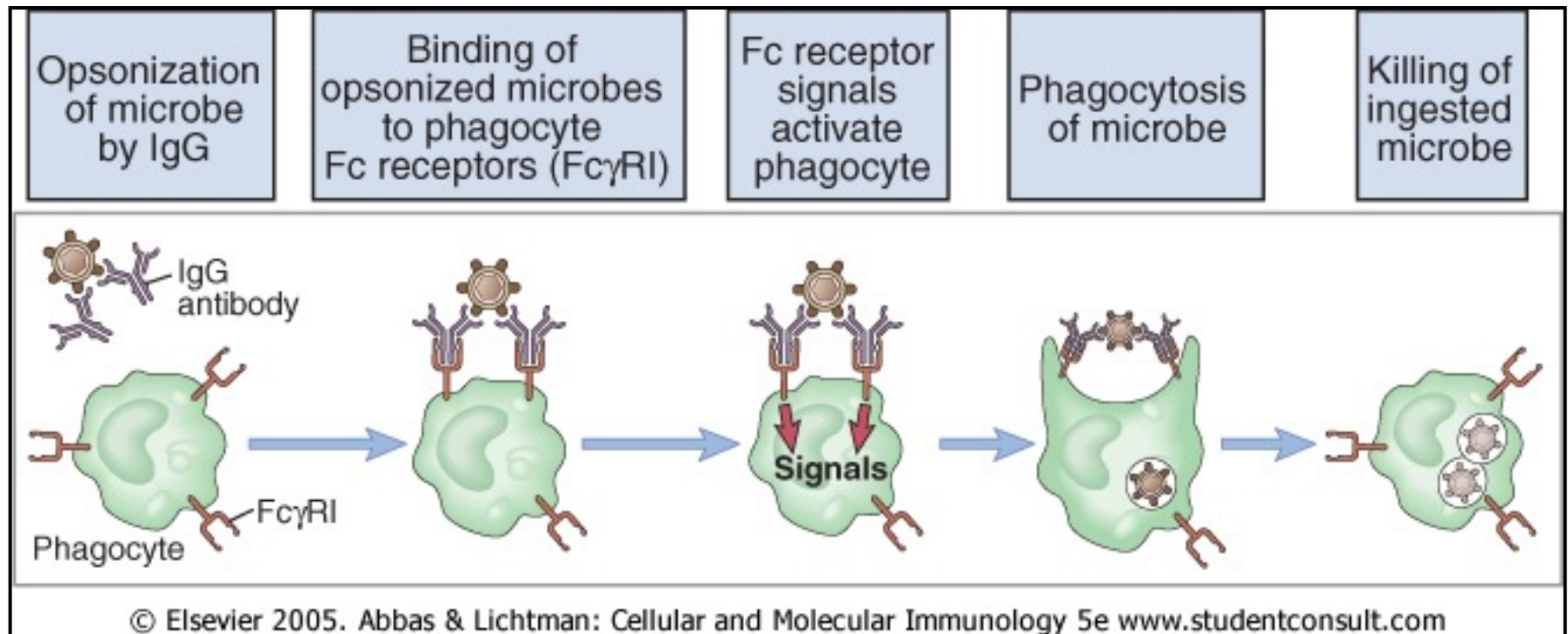
Figure 9-30 part 1 of 2

d Science 2005)

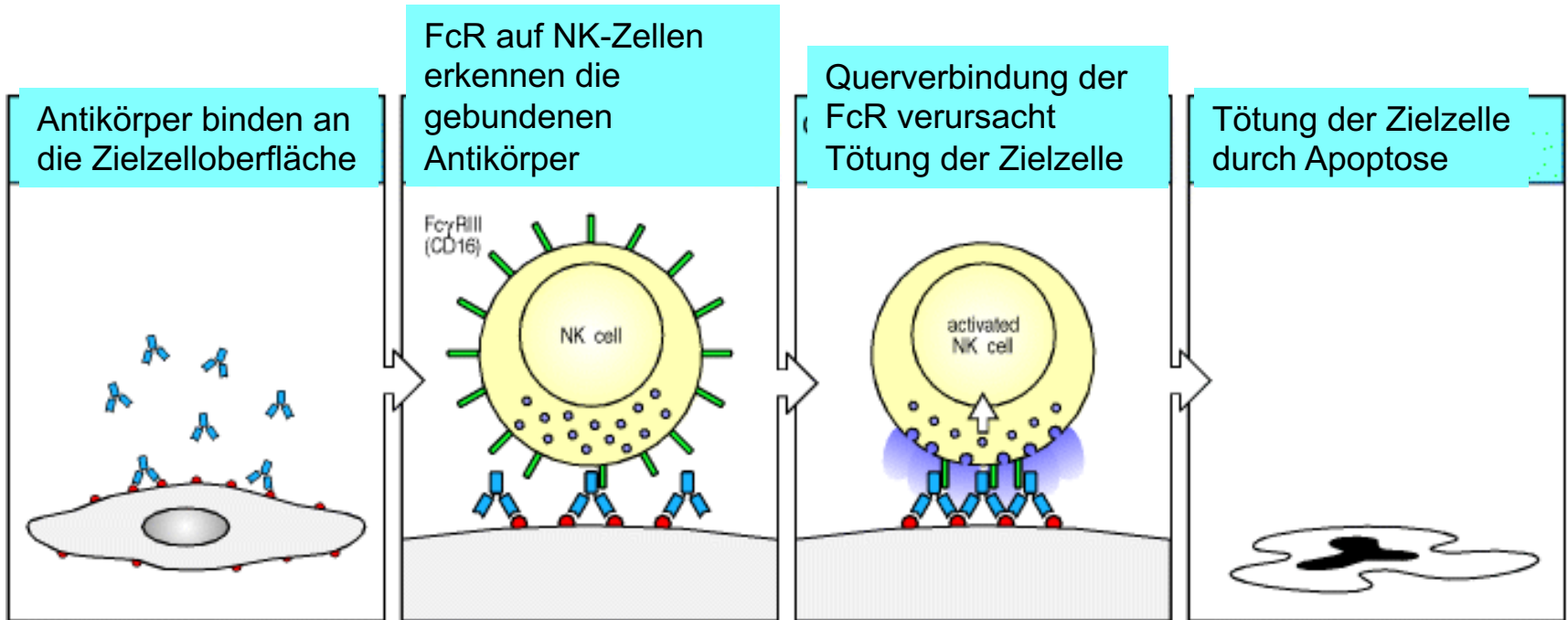
munobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Opsonierte  
Phagozytose

# Opsonisierung und Phagozytose



# IgG-vermittelte antikörperabhängige Zytotoxizität - ADCC



Die opsonisierte Zielzelle bindet an den Fcγ-Rezeptor-III (CD16) der Killerzelle, woraufhin der Rezeptor in die Zelle aktivierende Signale leitet.

→Mediatoren werden aus den Granulen der NK-Zellen freigesetzt, die die Zielzelle abtöten.