

Immunológia alapjai (Fogász)

9.-10. előadás

Az immunglobulinok genetikája. Az antigén felismerő-receptor gének felépítése és expressziója.

Primer B sejt differenciálódás

Centrális (thymus) T sejt fejlődés

Dr. Boldizsár Ferenc

A lymphoid vonal sejtjei

Veleszületett lymphoid sejt (ILC)



NINCS ANTIGÉN-FELISMERŐ RECEPTORA

Lymphocyta



Morfológiailag nincs különbség!

ANTIGÉN-FELISMERÉSRE KÉPES RECEPTORRAL RENDELKEZIK

TERMÉSZETES

ES



γδ T-sejt



B1 B-sejt

LYMPHOCYTÁK



T-sejt (CD3+)



B-sejt (CD19+)

(CD19+)



αβ T-sejt



B2 B-sejt

ADAPTÍV

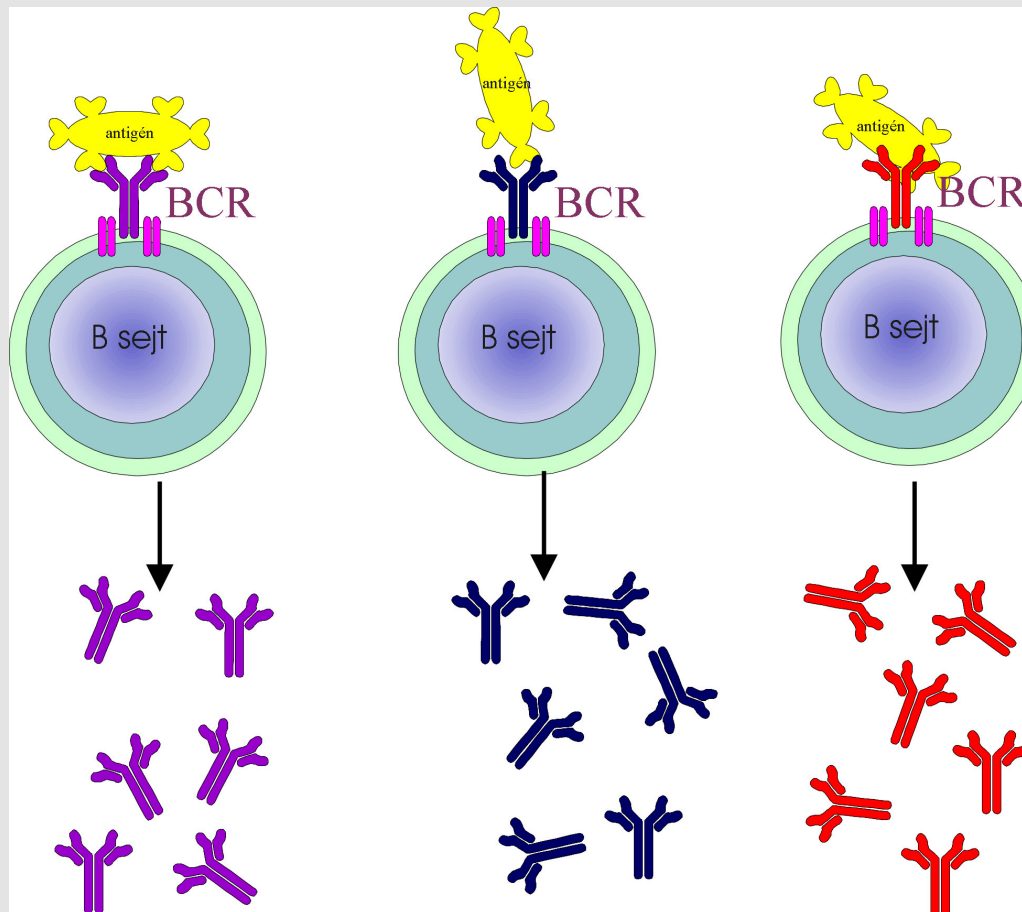


Helper T-sejt (CD4+)



Cytotoxicus T-sejt (CD8+)

Antitestek – B sejt repertoár: 10^{11}



Tonegawa (Nobel díj:1987)

A B sejtek érésük során az immunglobulin gének átrendeződnek és szomatikus hypermutáción esnek át.

A nagy repertoárhoz képest viszonylag kevés Ig V gén öröklődik.

A lymphocyta differenciáció célja

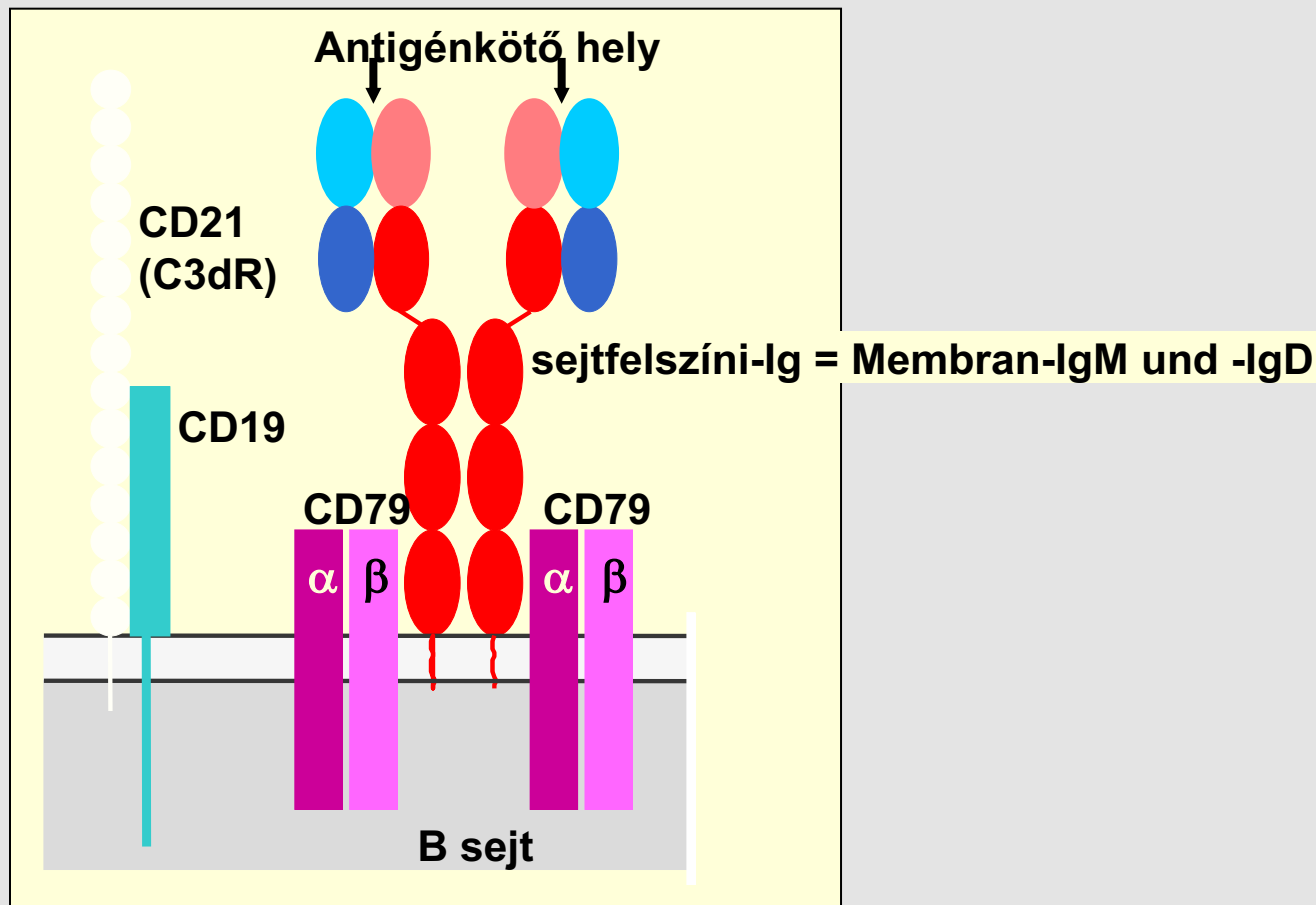
- Különböző specificitású antigén receptorok expressziója.
- B- és T sejt repertoár kialakítása = az antigén felismerő receptorok száma: 10^9 - 10^{11} BcR, 10^{15} - 10^{16} TcR;

„Lymphocyta képzés = Kesztyűgyár” – Jan Klein.

Az immunrendszer előre megtermeli a különböző antigén receptorokkal rendelkező lymphocytákat, aztán az antigén „választja ki” a megfelelő specificitású molekulákat. Tehát az immunrendszer minden lehetséges antigén molekulára fel van készítve.

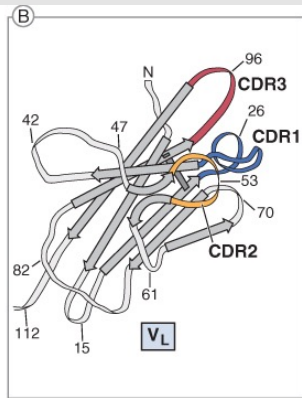
A B- és T sejt receptor termelés genetikai háttere az **immunglobulin- és a T sejt receptor gének átrendeződése a lymphocyta előalakokban.**

B sejt receptor (BcR) = sejtfelszíni Ig

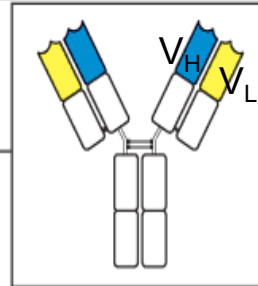


Minden egyes B sejt kizárólag egyetlen specificitású antitestet (BcR) tud termelni.

Az immunglobulinok antigén kötő helye hipervariábilis (CDR) régiókat tartalmaz



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



V = Fab

C = Fc

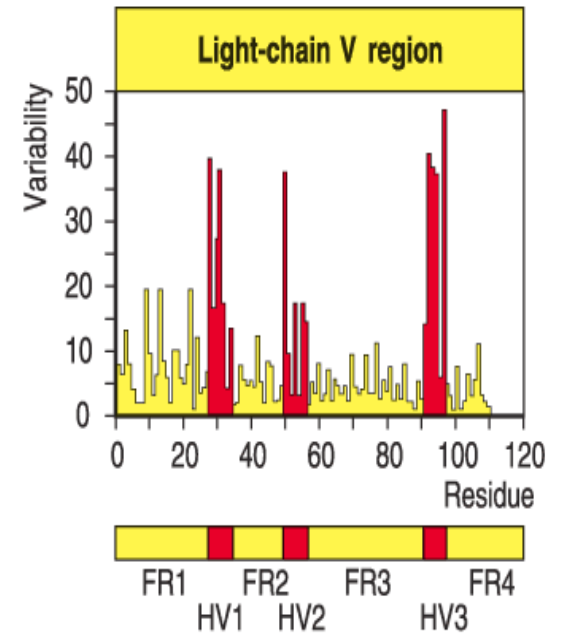
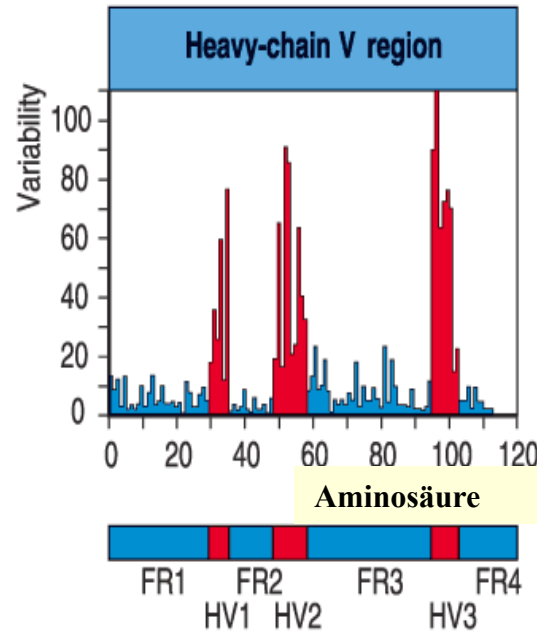
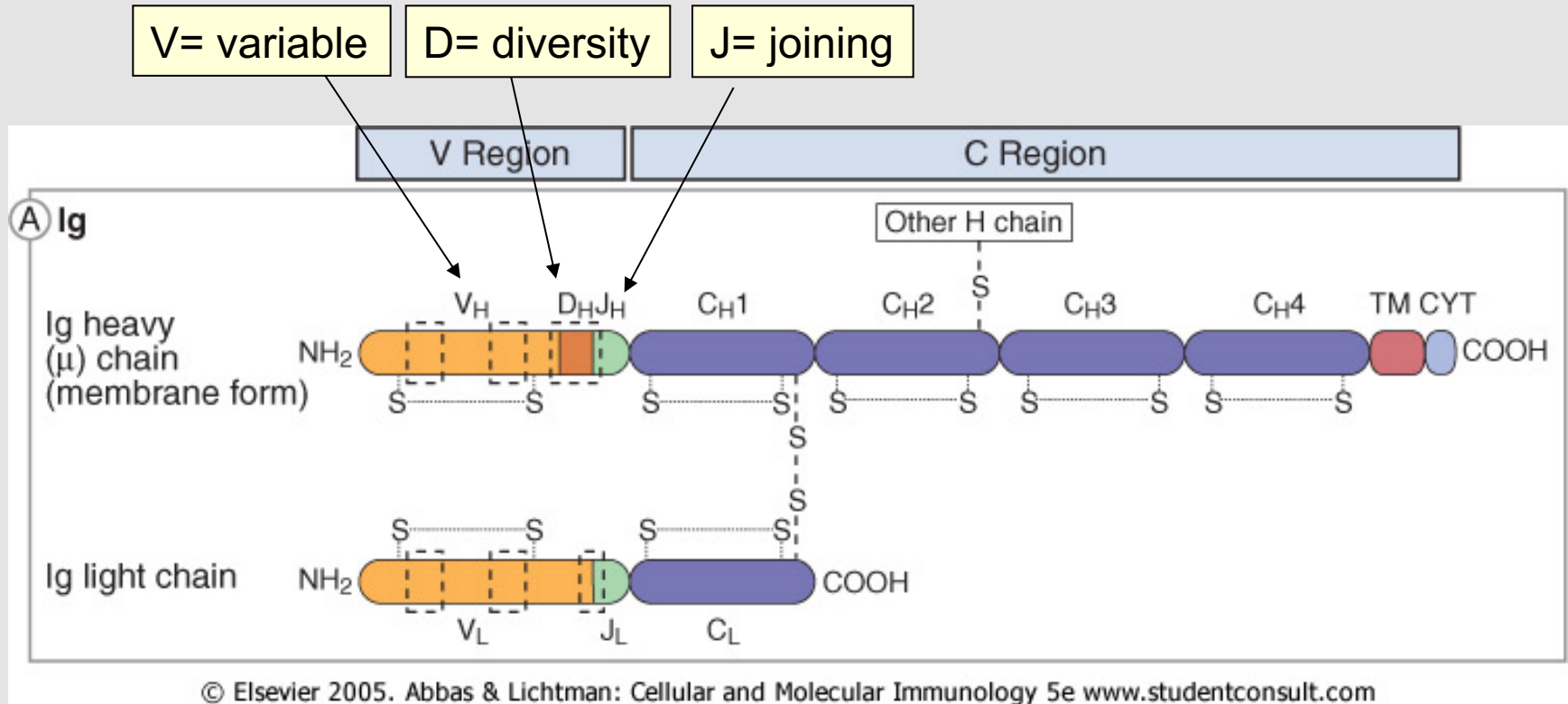


Fig 3.6 © 2001 Garland Science

Az Ig nehéz- és könnyű láncok doménjei



- Ahogy a **variábilis (V)** úgy a **konstans (C) Doméneket** a nehéz és a könnyű láncban különböző **Génsegmentumok** kódolják.
- A könnyű és nehéz láncok polipeptid láncai különböző kromoszómákon kódolódnak.

Az immunglobulin könnyű és nehéz lánc gének felépítése

V-Régió:

V = Variable

D = Diversity

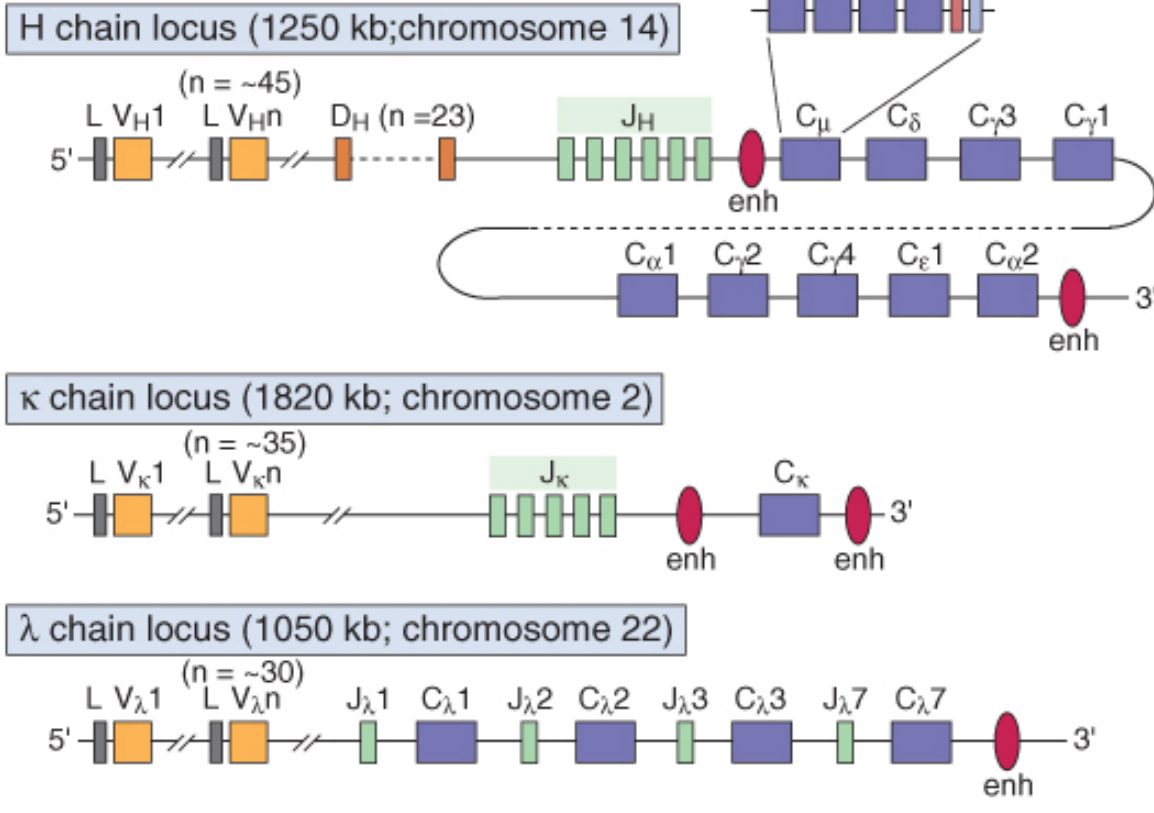
J = Joining

Génszegmensek

C-Régió:

C = Konstans

Génszegmensek



Cμ - IgM

Cδ - IgD

Cγ - IgG

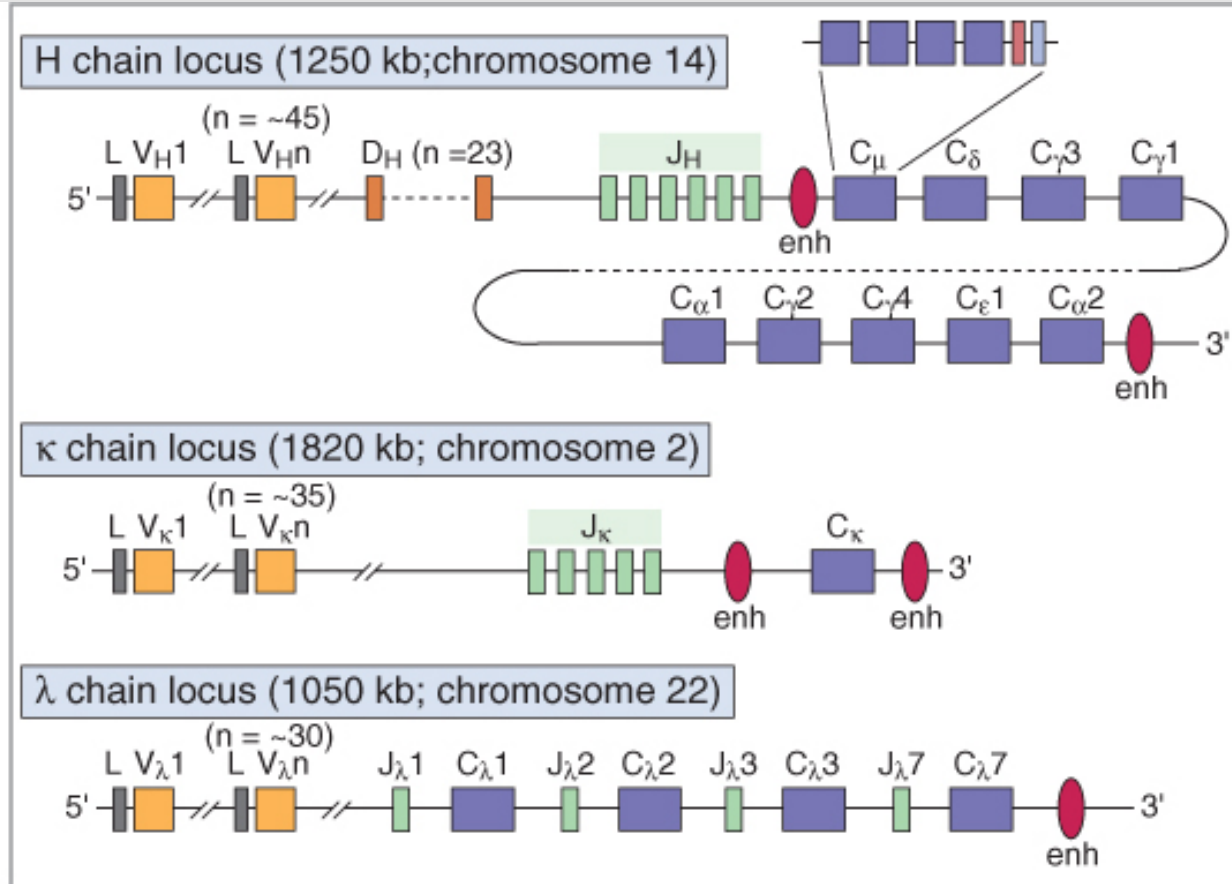
Cα - IgA

Cε - IgE

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

Csírvonal-DNS → az immunglobulin gének nem átrendeződött állapota.

Csírvonal DNS: A V-D-J-Génszegmentumok száma



V - : 45
 D - : 23
 J - : 6
 C - (8):
 C_μ, C_δ, C_{γ1-4},
 C_α, C_ε

V - : 35
 J - : 5
 C - : 1

V - : 30
 J - : 4
 C - : 4

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

A csírvonal DNS szomatikus rekombináció során átrendeződik
 = **Génátrendeződés**

Az Ig génátrendeződés folyamata

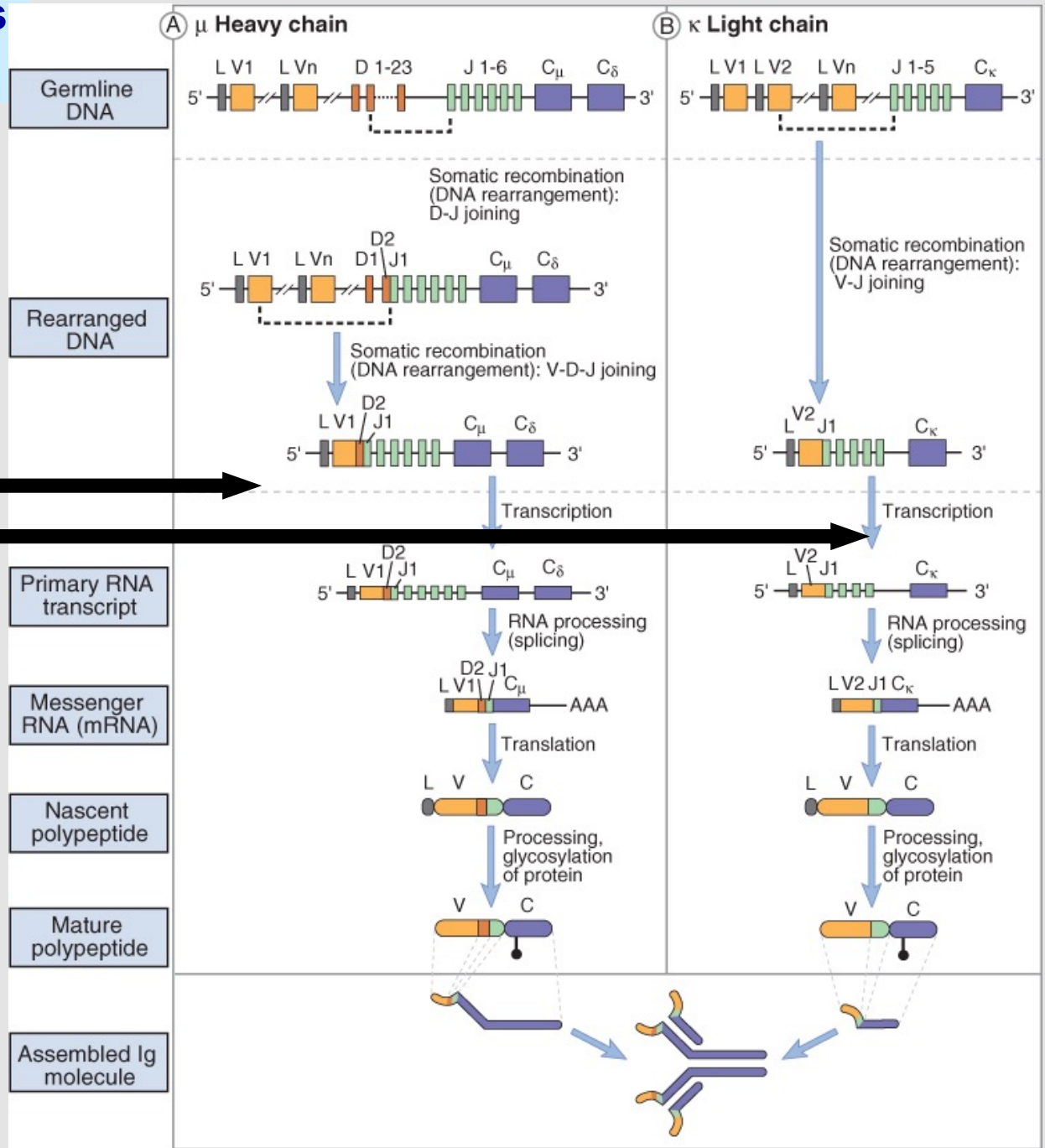
Allél kizárás:

az egyik **nehéz lánc** allél sikeres (produktív) átrendeződése gátolja a másik kromoszómán található H lánc lókuszt rekombinációját

Izotípus kizárás:

α K könnyű lánc allél produktív átrendeződése gátolja a λ gén rekombinációját

Minden egyes B sejt kizárólag egyetlen specifitású antitestet (BcR) tud termelni.



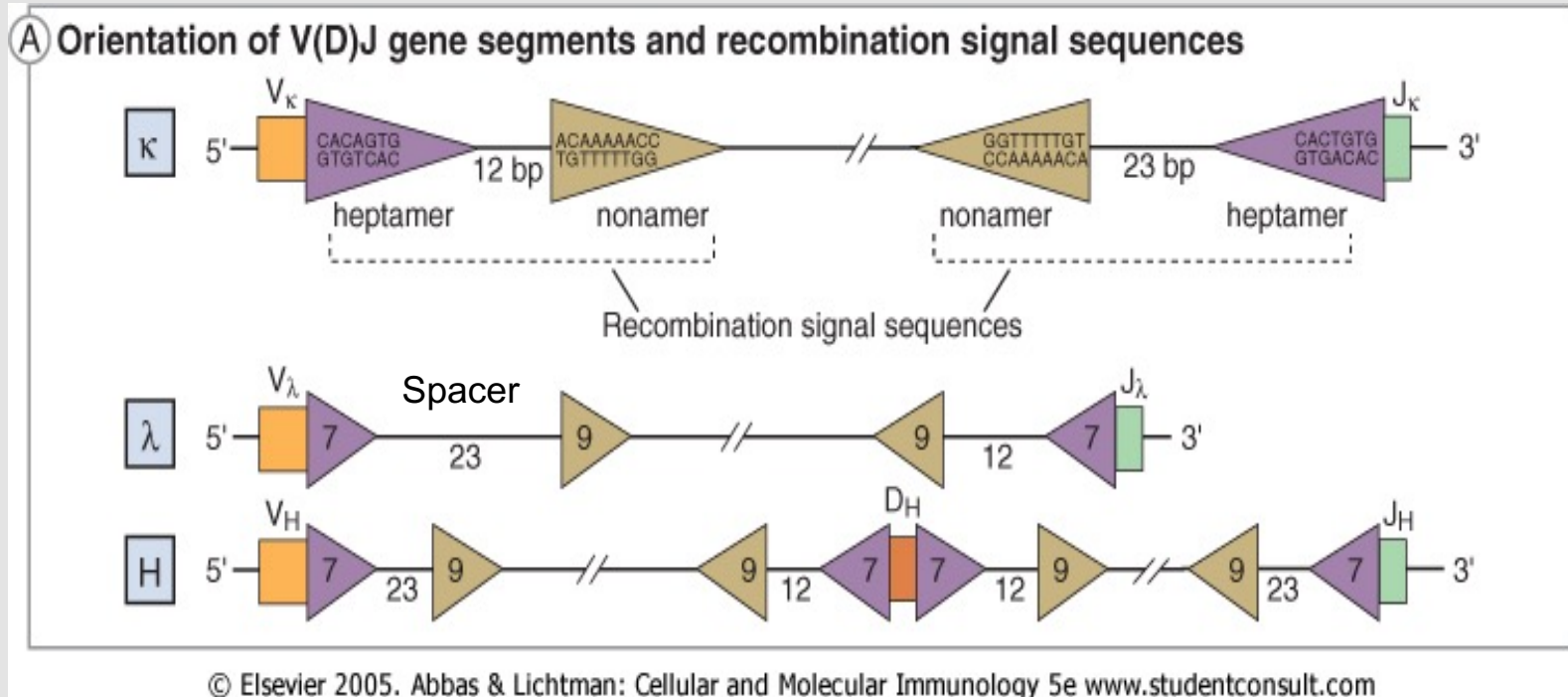
A génátrendeződés molekuláris mechanizmusa

1. hurok képződés
2. DNS vágás - Deléció
3. a szabad DNS végek ligációja

Résztevő enzimek:

- VDJ-Rekombináz: **RAG1 és -2**
- Heteromér proteinkomplex: **DNS-Ligáz, DNA-PK, Artemis-Protein**
- Terminális Deoxynukleotidyl-Transzferáz (TdT): →
N-Nukleotid-beépítés – véletlenszerű Nukleotid beépítés

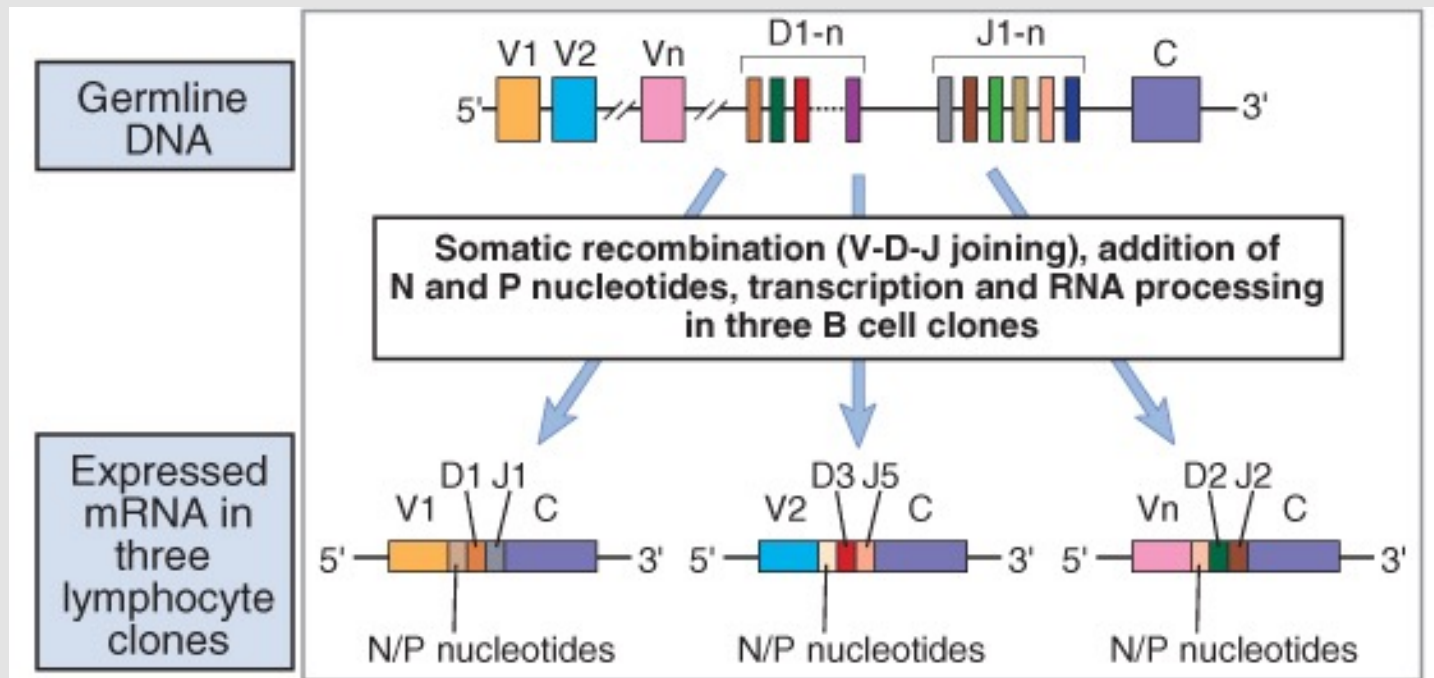
A génszegmentumok átrendeződésének 12/23-bázispár szabálya:



Rekombinációs-Szignál-Szekvenciák (RSS):

egy konzervált heptamer és nonamer szekvenciákból állnak, amiket nem konzervált 12 vagy 23 bp hosszú spacer szekvenciák választanak el.

Nehéz lánc génátrendeződés 3 Pro-B-sejtben



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

véletlenszerű átrendeződés



Diverzitás

T sejt receptor

T sejt
típusok:

1. $\alpha\beta$ TcR+
2. $\gamma\delta$ TcR+

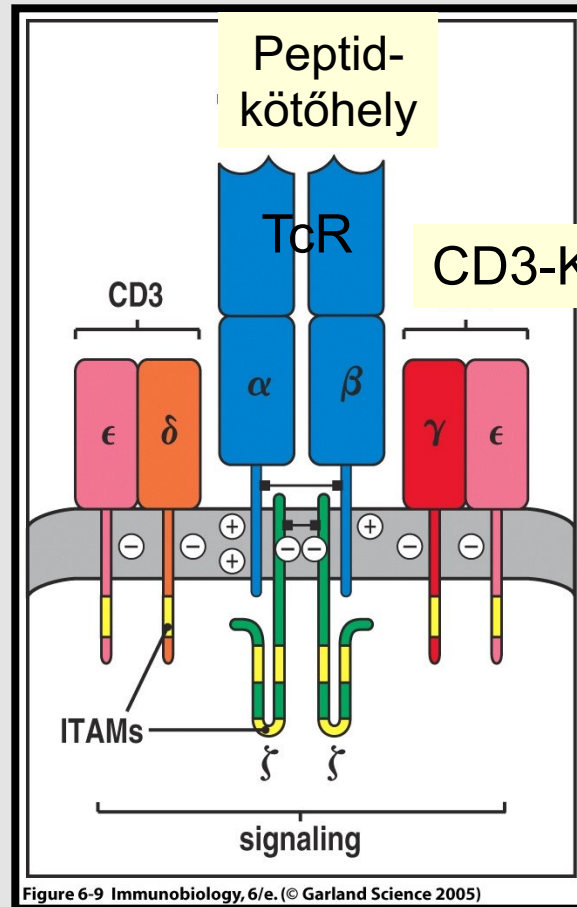
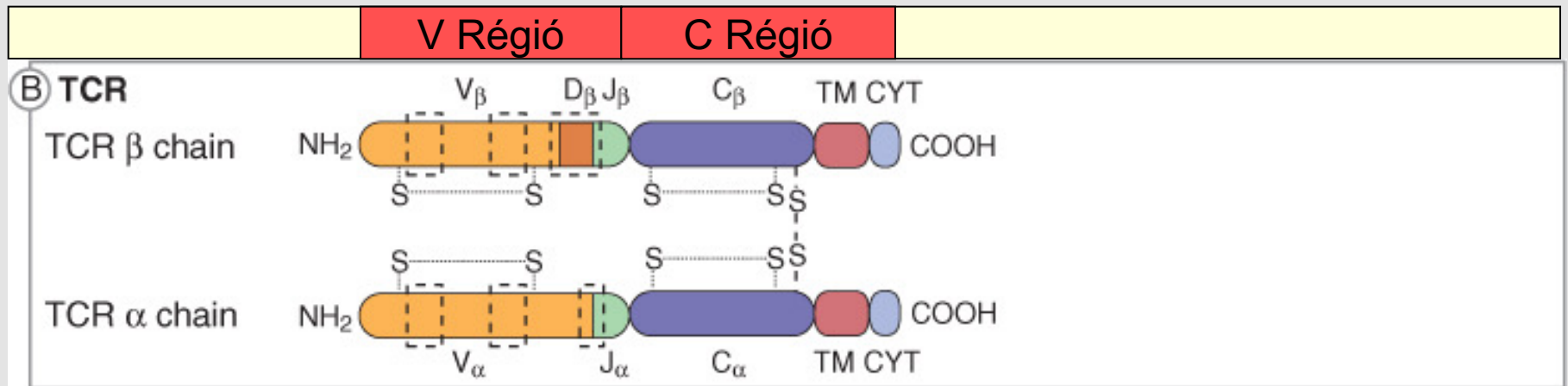
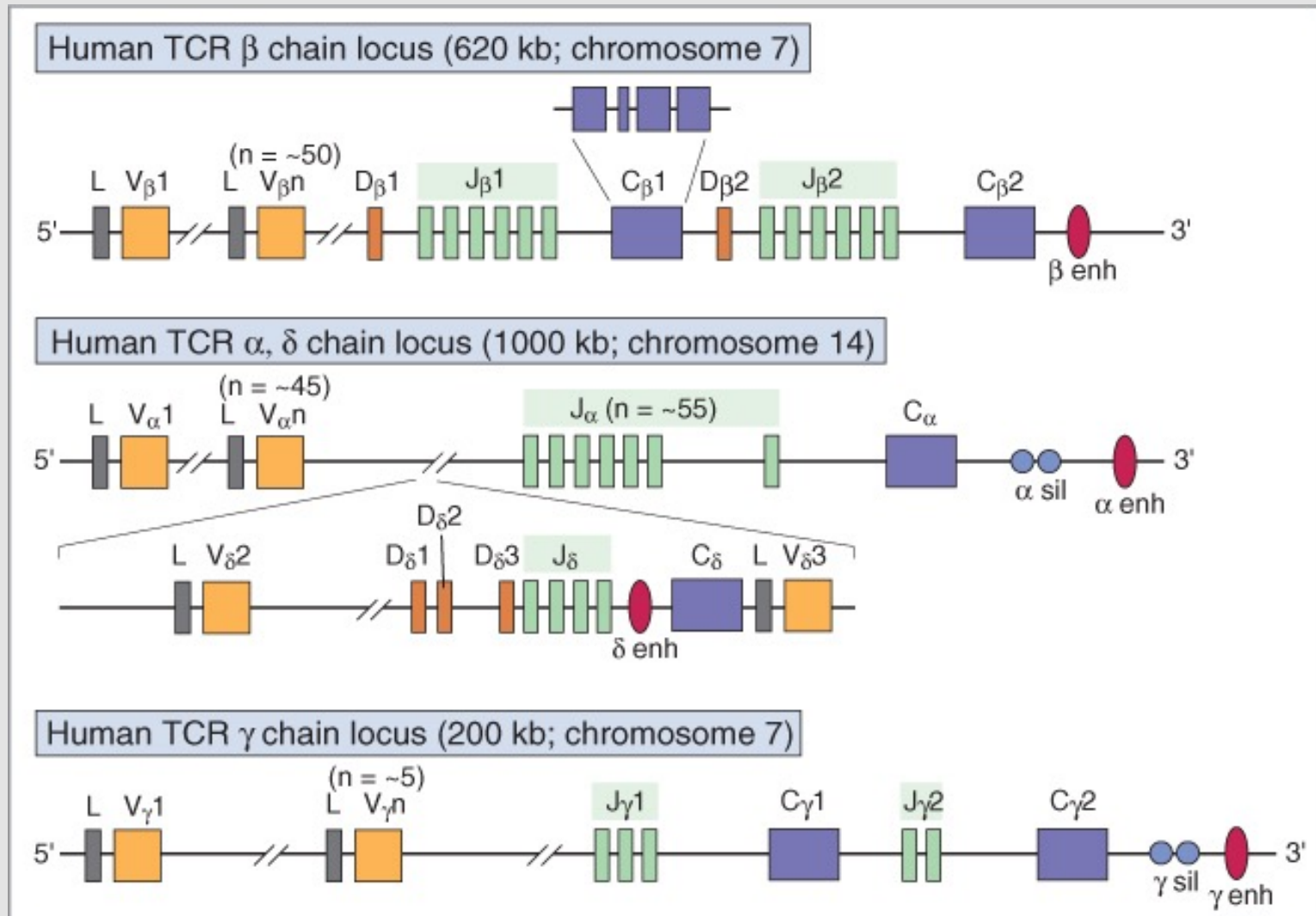


Figure 6-9 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

A TcR $\alpha\beta$ -láncok doménjei

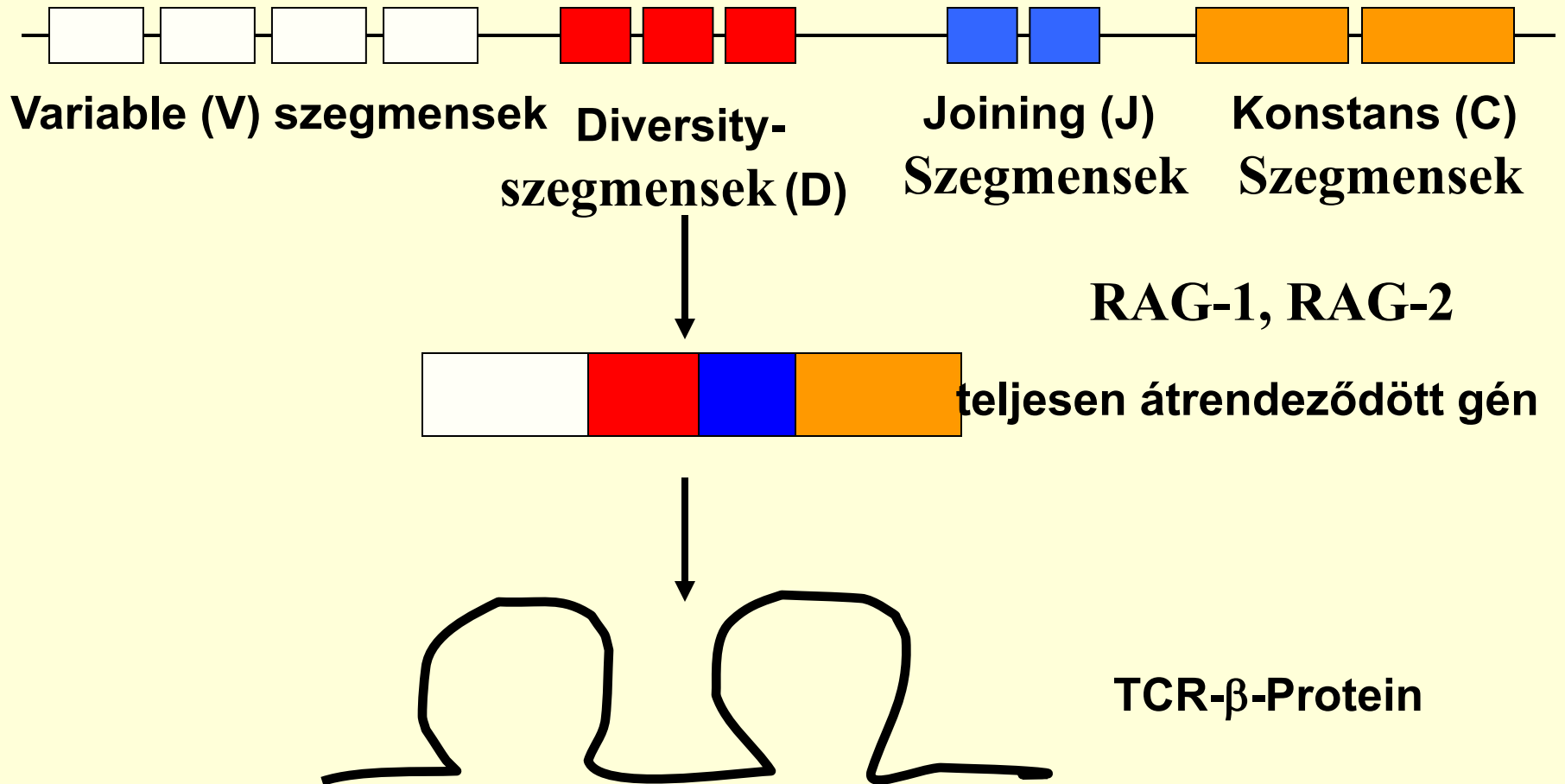


TcR-Gének – Csíravonal-DNS



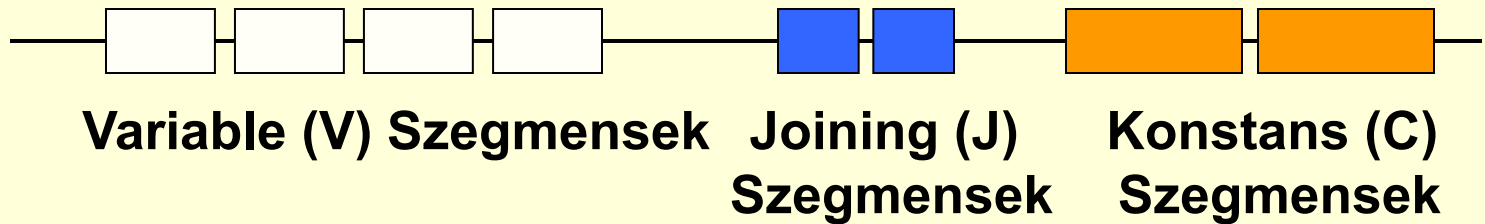
TcR génátrendeződés I

TcR- β -Ketten-Gen

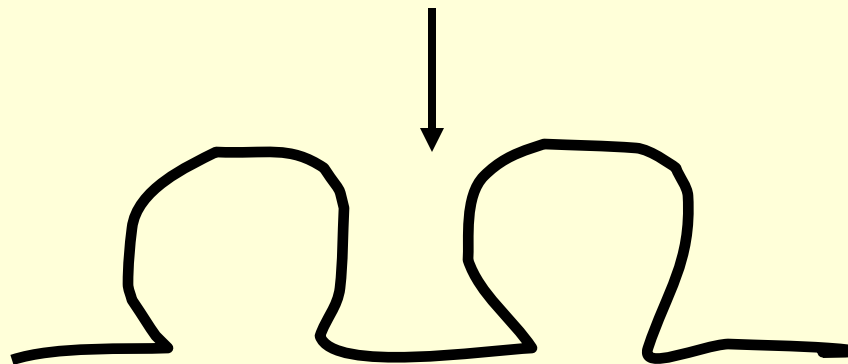


TcR génátrendeződés II

TcR- α -lánc



1. β / γ átrendeződés
2. α / δ átrendeződés



TCR- α -Protein

TcR-Diverzität

Tabelle 23. Faktoren, die an der Entstehung der TCR-Diversität beteiligt sind

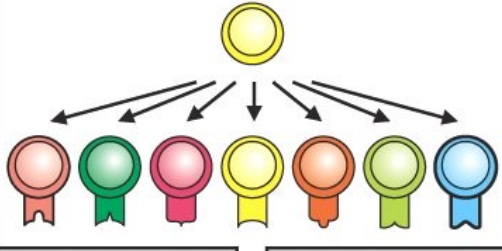
	<i>TCR</i> $\alpha\beta$		<i>TCR</i> $\gamma\delta$	
	α	β	γ	δ
<i>V-Gensegmente</i>	100	25	7	10
<i>D-Gensegmente</i>	0	2	0	2
<i>Offene Leseraster</i> <i>N-Region-Diversität</i>	0 V-J	viele V-D D-J	0 V-J	viele V-D1 D1-D2 D1-J
<i>J-Gensegmente</i>	50	12	2	2
<i>Kombinatorische</i> <i>Diversität der</i> <i>V-Region</i>	2500		70	
<i>Vollständiges</i> <i>Repertoire</i>	10^{15}		10^{16}	

A diverzitás kialakulása

- **A V- D- és J-szegmensek nagy száma és szabad rekombinációja**
- **TdT**
- **Az alegységek szabad kapcsolódása**
(IgH / IgL, TcR α / β vagy γ / δ).

A lymphocita differenciáció általános jellemzői

A single progenitor cell gives rise to a large number of lymphocytes, each with a different specificity



Proliferáció

Ig- vagy TcR-génátrendeződés
→ Antigénreceptor-expresszió

Removal of potentially self-reactive immature lymphocytes by clonal deletion



Szelekció

Primer nyirokszervek

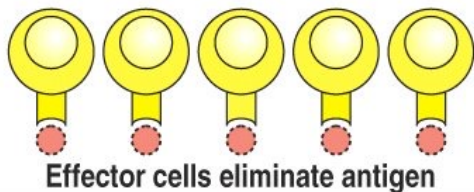
Pool of mature naive lymphocytes



Antigénfelismerés

Perifériás nyirokszervek

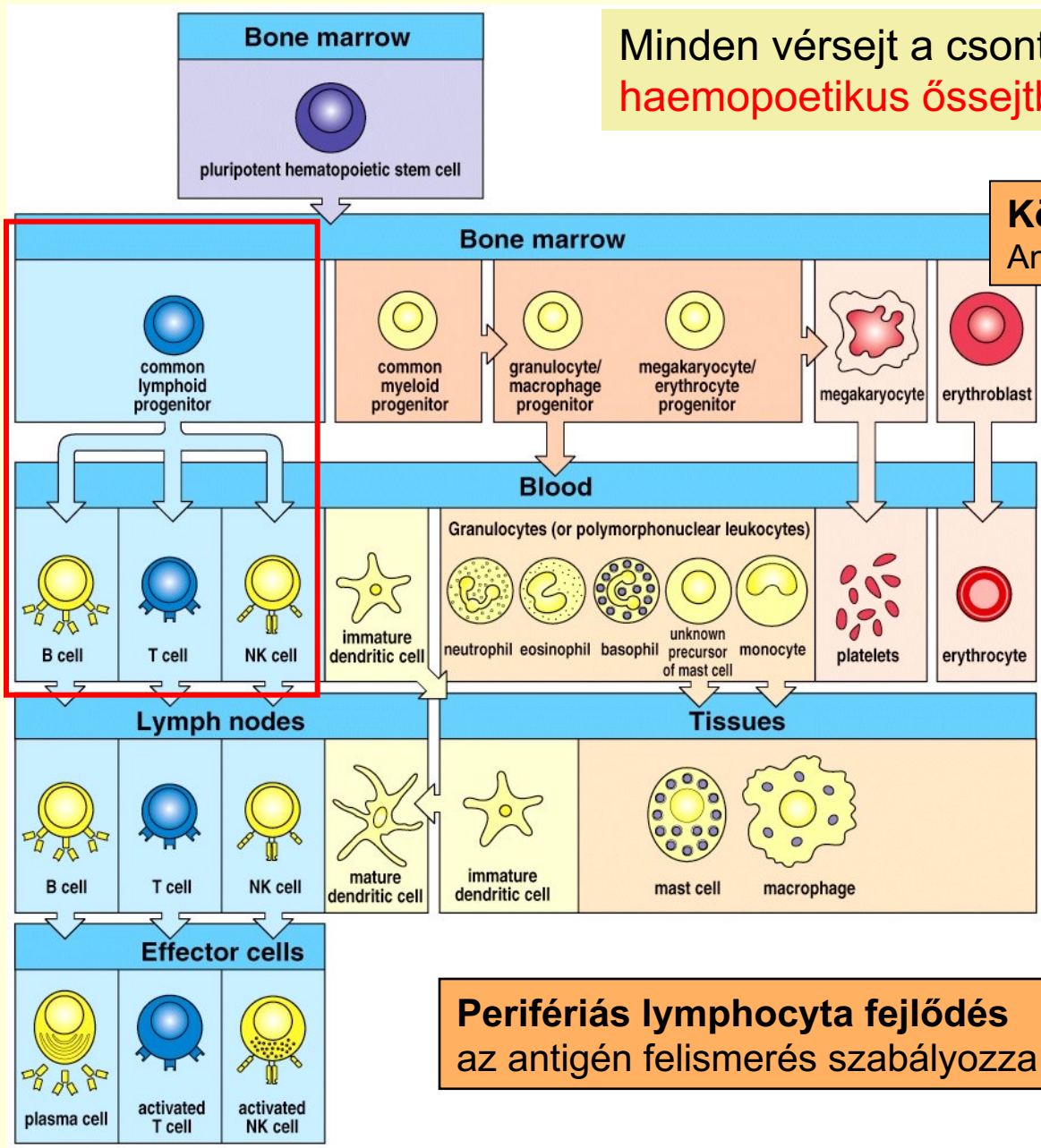
Proliferation and differentiation of activated specific lymphocytes to form a clone of effector cells



Proliferáció

Figure 1-14 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Minden vérsejt a csontvelői **multipotens haemopoetikus őssejt**ből fejlődik ki.



Központi lymphocyta fejlődés
Antigén-független

- ŐSSEJT**
- „Multipotens”= nem elkötelezett
 - önmegújuló képesség
 - CD34+
 - rendszeres osztódás

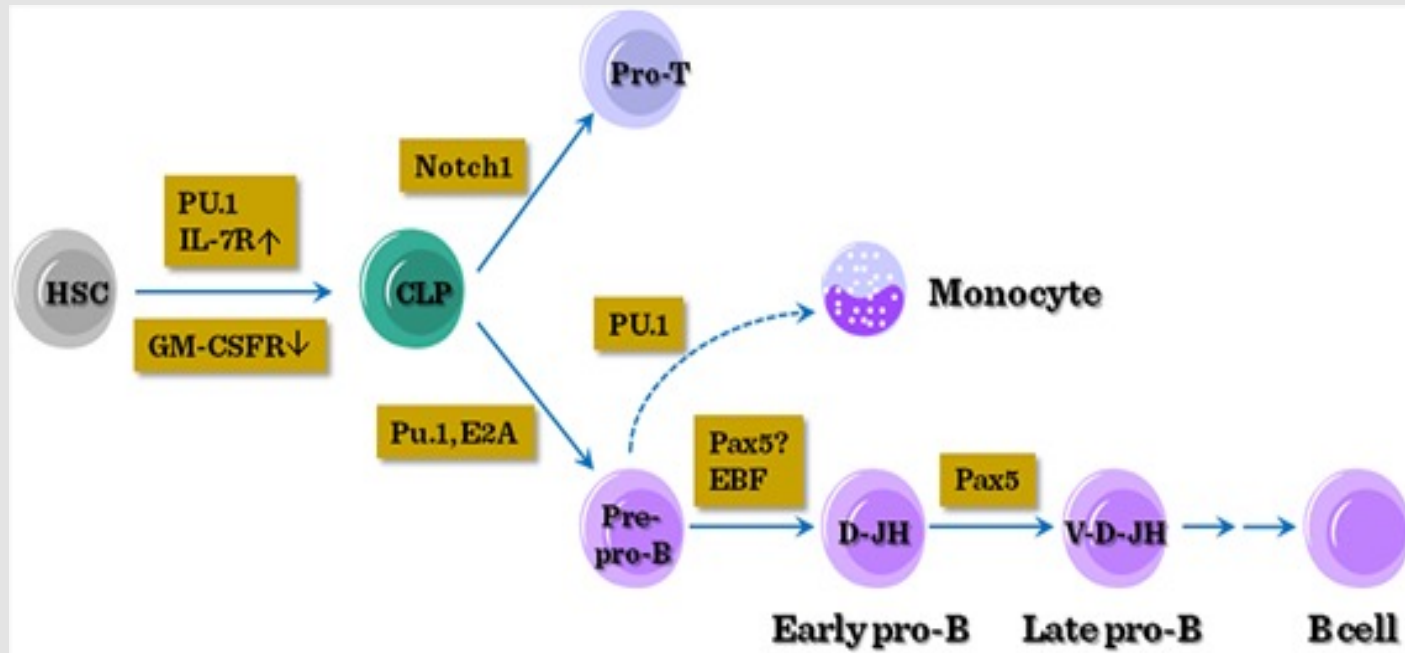
Perifériás lymphocyta fejlődés
az antigén felismerés szabályozza

Figure 1-3 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

A lymphocyta differenciáció általános jellemzői

1. **Proliferáció**
2. **Receptor génátrendeződés:** funkcionális antigénreceptorok kifejeződése a sejtek felszínén
3. **Vándorlás (migráció)** – *Strómasejtek* (adhézió, kemokin termelés)
4. **Szelekció** - a lehetséges autoreaktív sejtek elpusztítása
5. **Apoptózis**

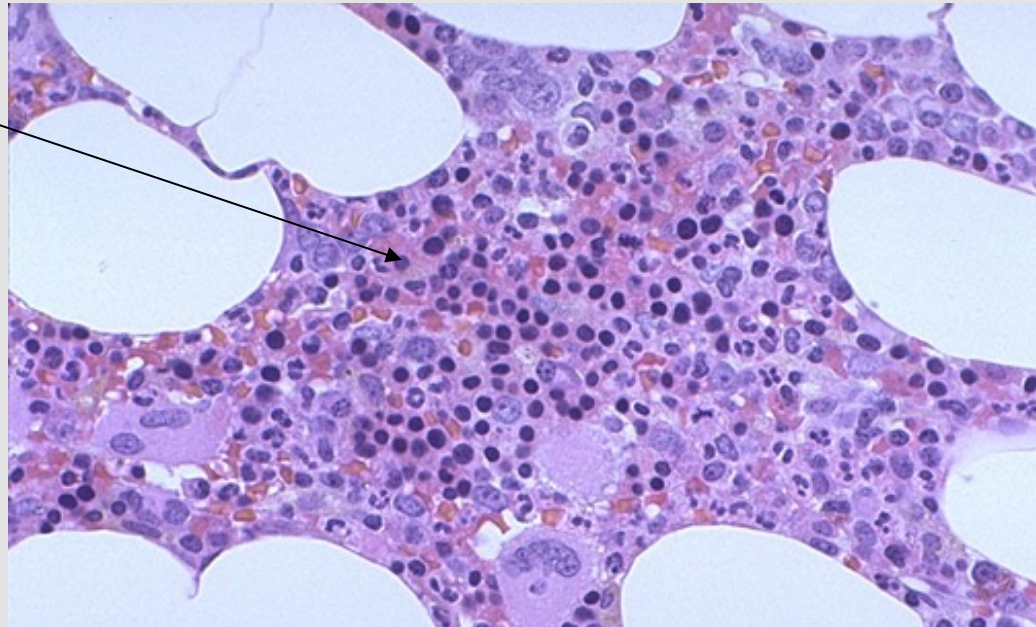
Lymphoid elköteleződés – Transzkripciós faktorok



in: Transdifferentiation and regenerative medicine (Prof. Dr. Péter Balogh, Dr. Péter Engelmann (2011); University of Pécs)

A csontvelői strómasejtek szerepe

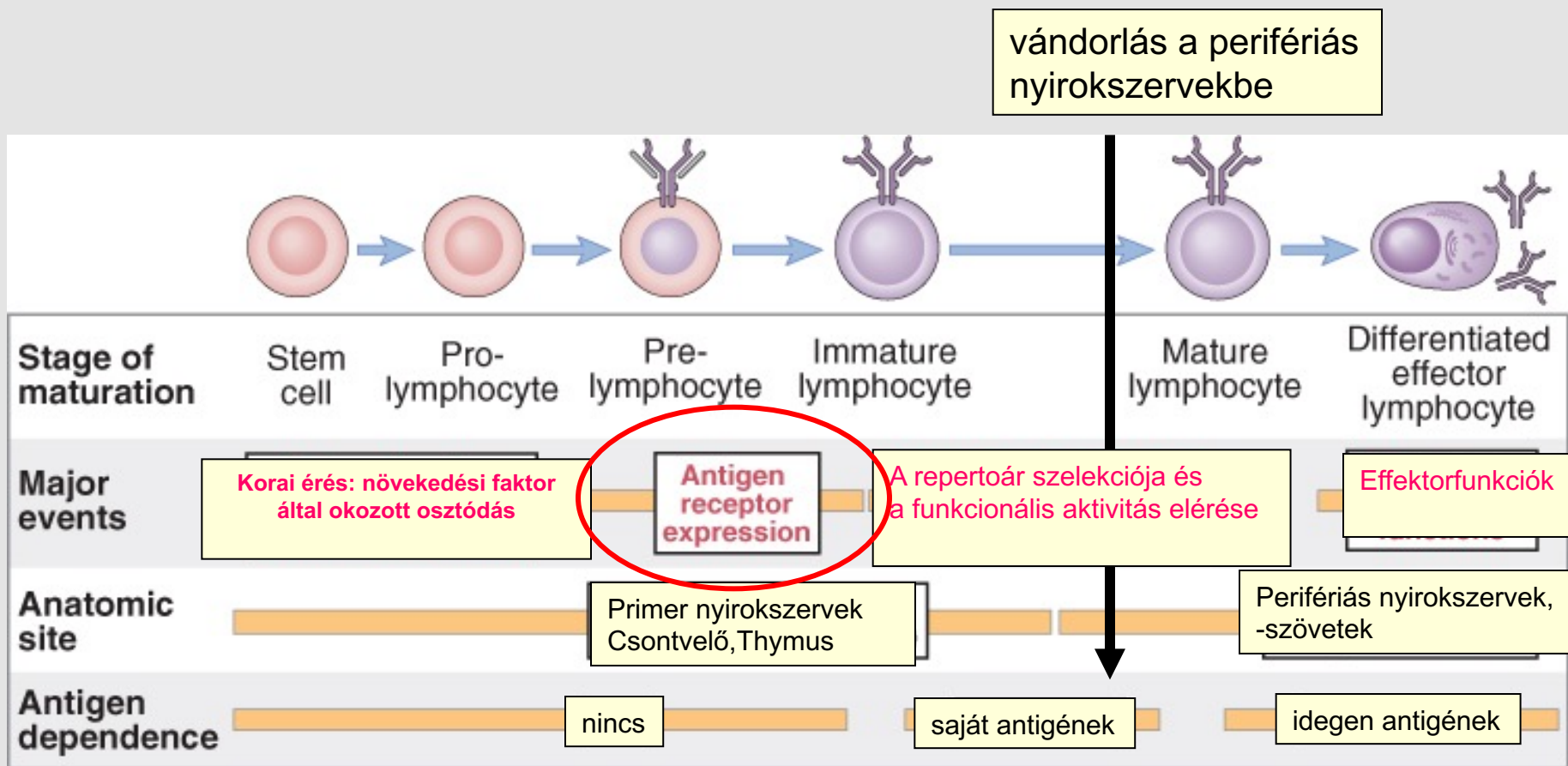
Stróma sejtek



Stróma sejtek:

- nem-lymphoid
- nyúlványok
- adhéziós molekulák (pl. CD44, VCAM-1)
- citokin termelés (pl. IL-7, IL-3, SCF)
- a sejtek differenciációját módosító anyagok termelése (pl. Wnt-faktorok, IL-4, extracelluláris mátrix komponensek)
- kemokin termelés (pl. SDF-1/CXCR4-Ligand)
- szelekciós folyamatok

A lymphocyta érés stádiumai

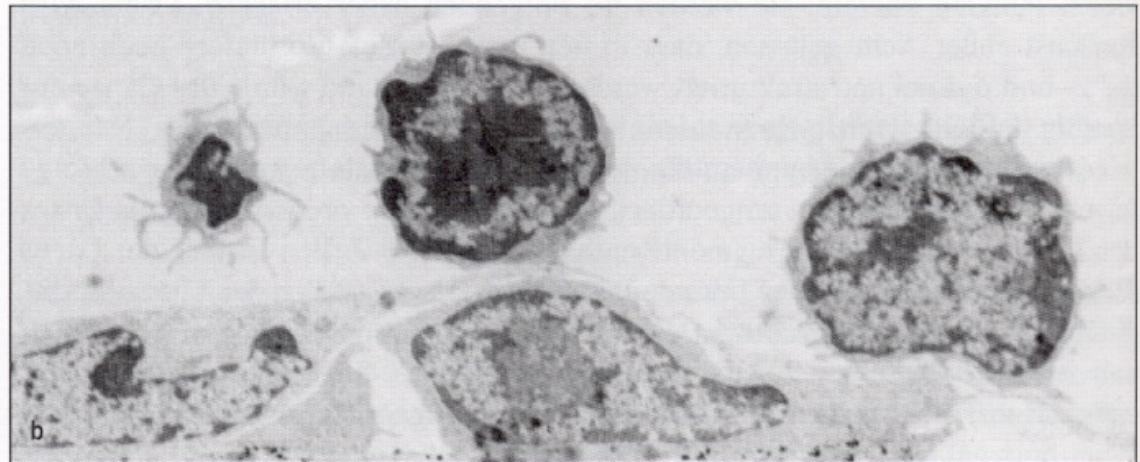
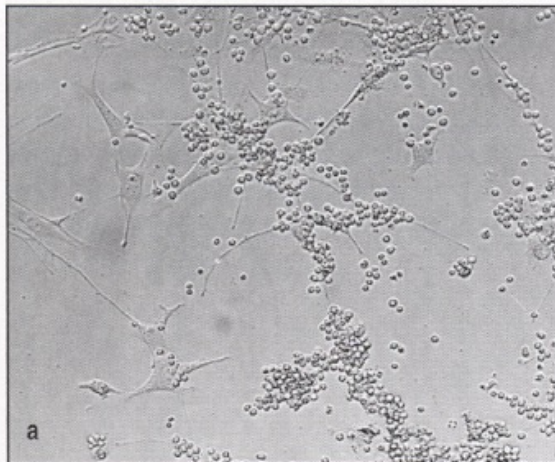
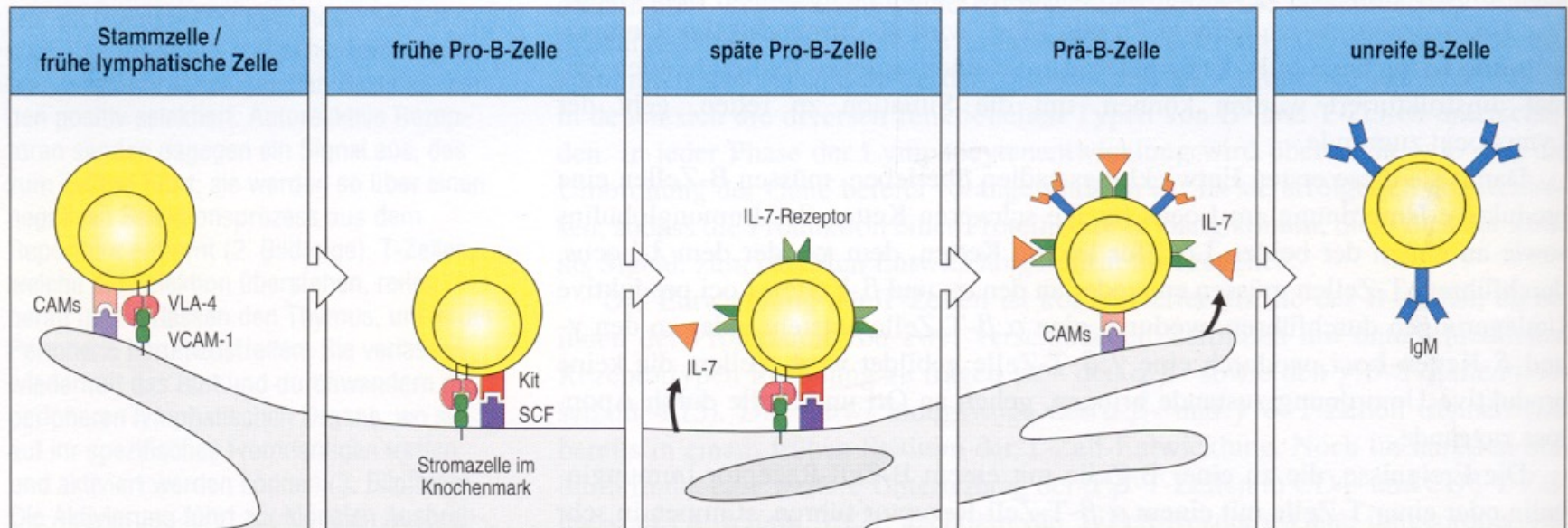


A B sejt fejlődés

1. Centrális: Antigén-független – a csontvelőben

2. Perifériás: az antigén által szabályozott – a másodlagos nyirokszövetekben

Csontvelői strómasejtek



Az őssejtekből az érett B sejtekig tartó fejlődési szakaszokat fenotípus- és genotípus markerek segítségével jellemezhetjük.

Csontvelő I: Őssejt > “nagy pre-B sejt”

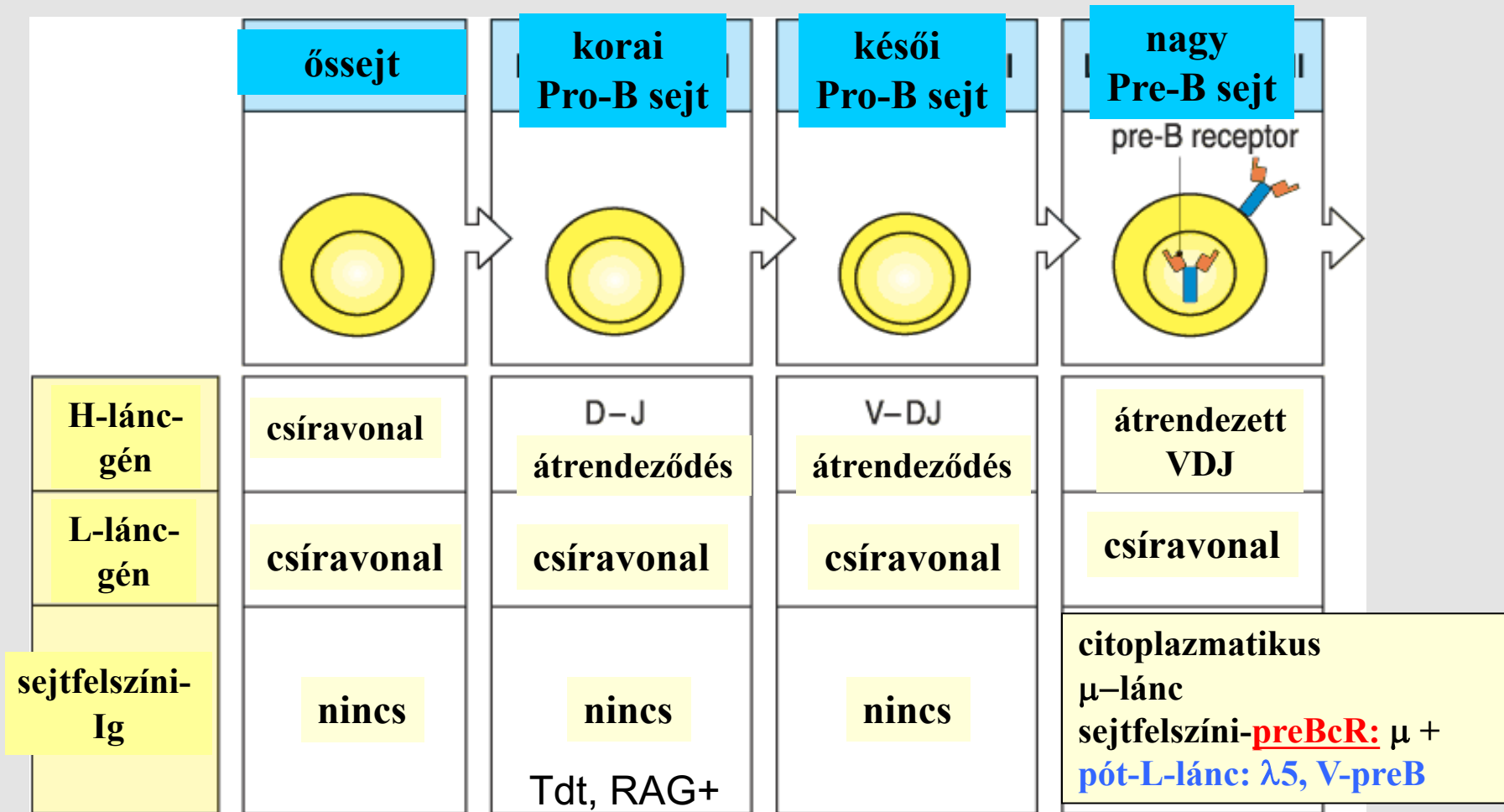


Fig 7.5 part 1 of 2 © 2001 Garland Science

sejtfelszíni
molekulák

c-kit, CD43, CD45 CD34, CD19, CD10, CD20

CD22, CD25

Csontvelő II: “kis pre-B sejt” > “érett B sejt”

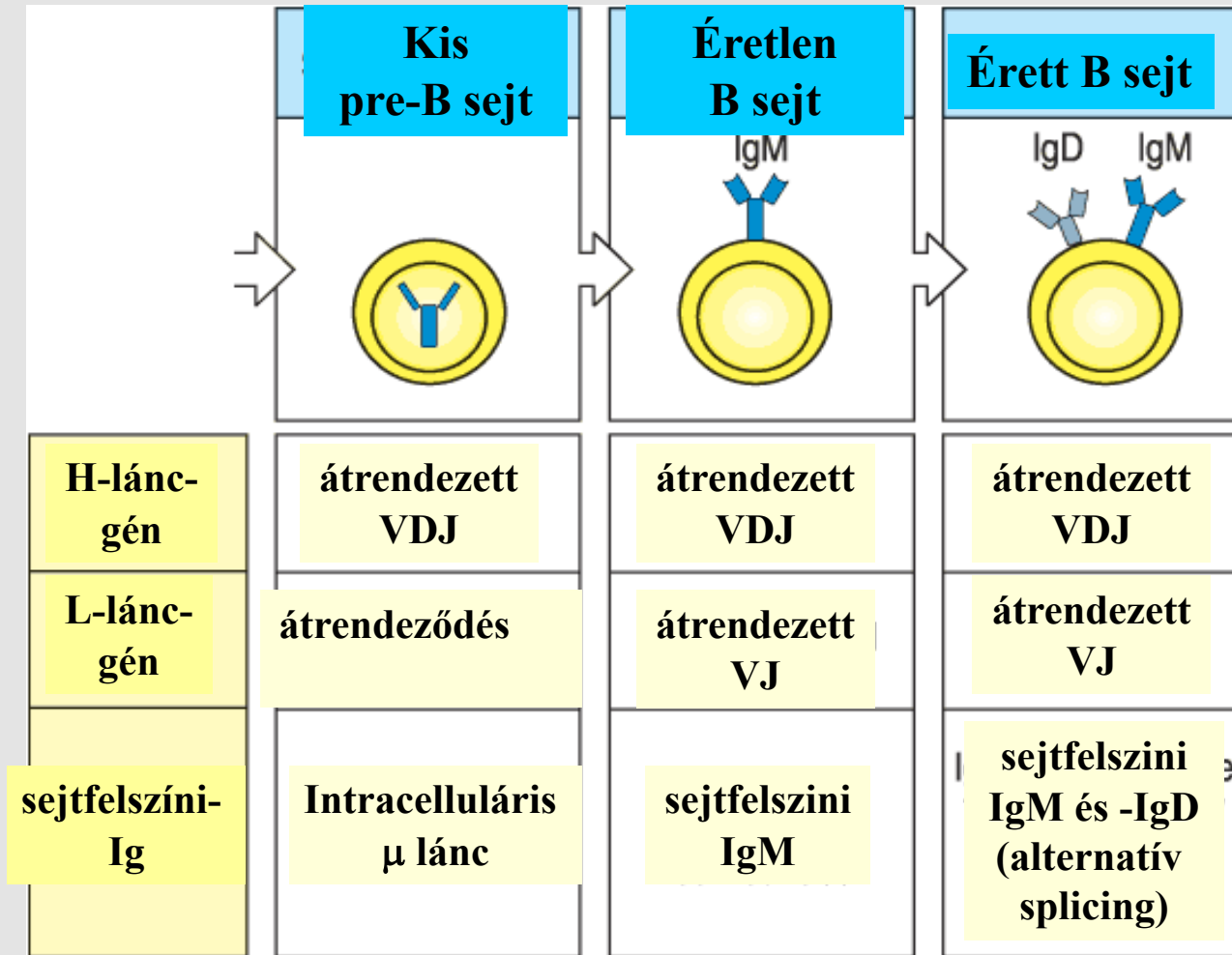


Fig 7.5 part 2 of 2 © 2001 Garland Science

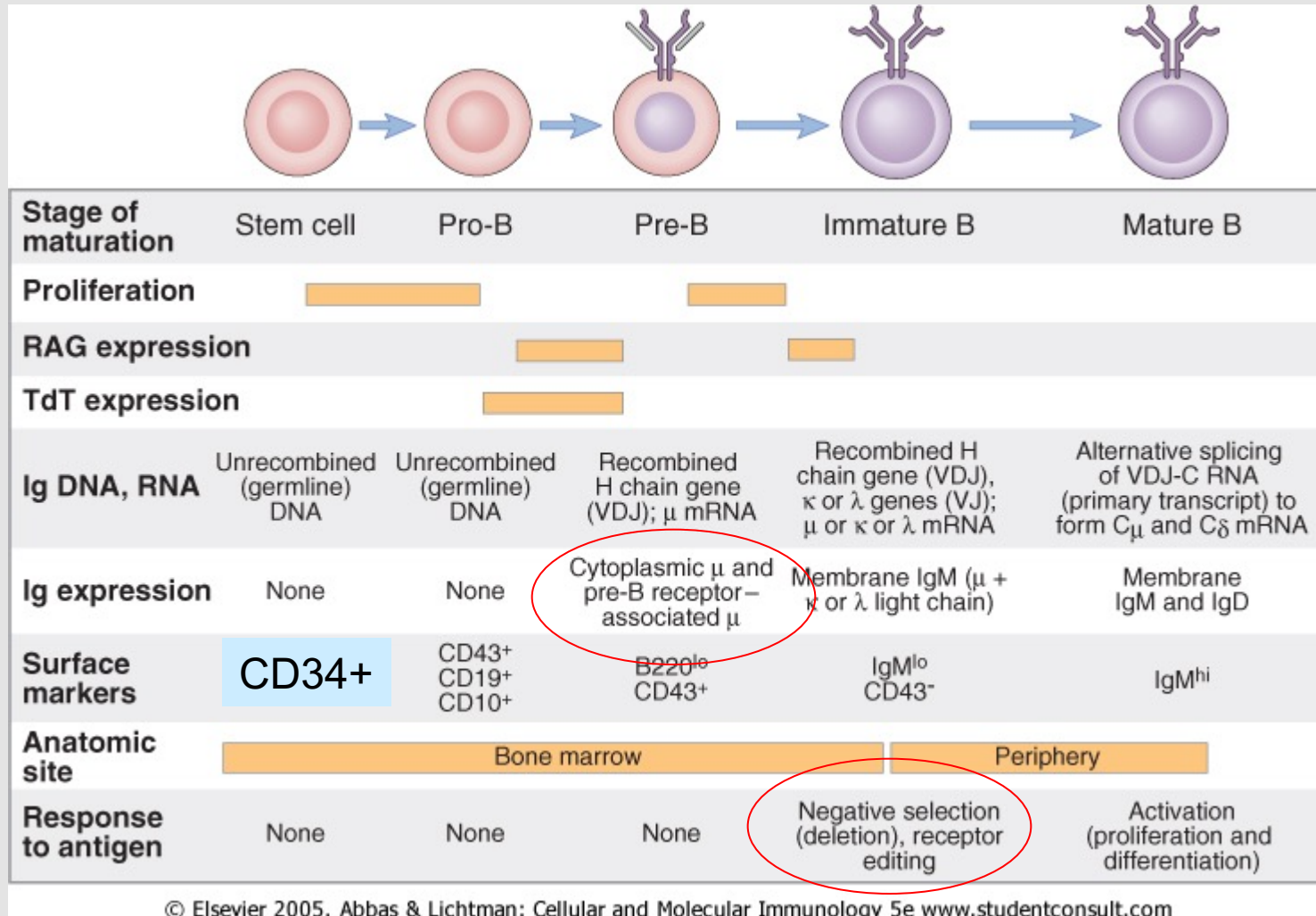
sejtfelszíni molekulák

CD19, CD20

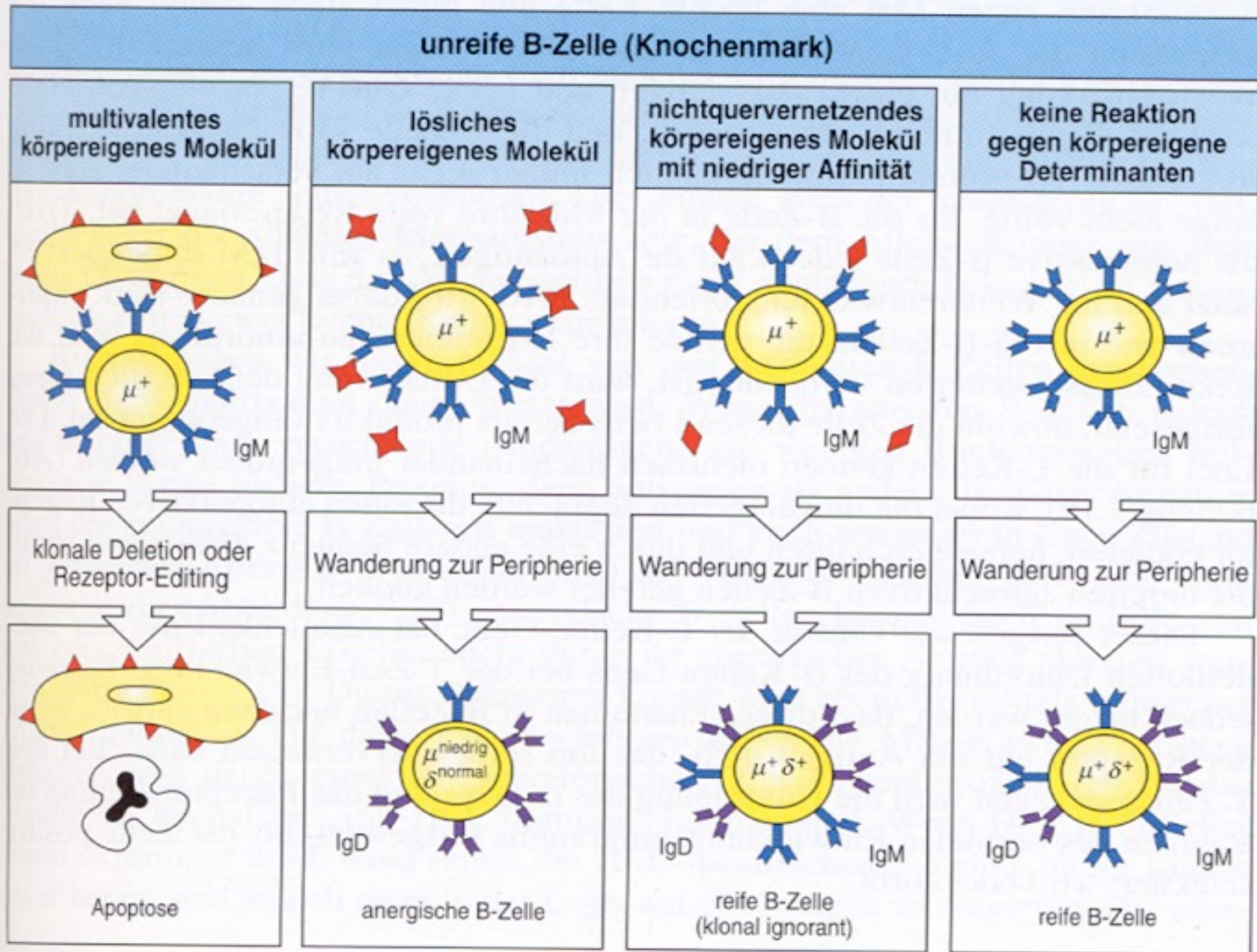
CD25

MHC-II, CD21, CD40

Szelekciós folyamatok a csontvelőben



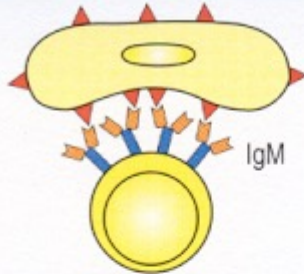
Szelekciós folyamatok a csontvelőben



„Receptor editing“

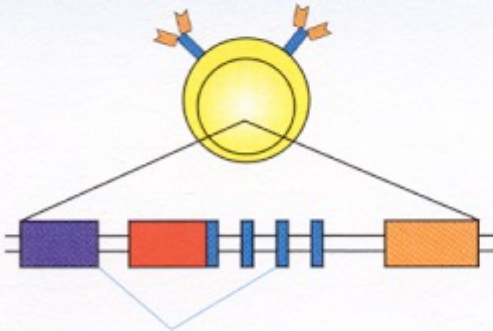
1.

körpereigenes Antigen fest an IgM gebunden



2.

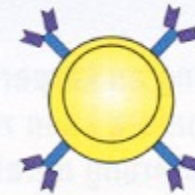
B-Zell-Entwicklung gestoppt, fortgesetzte Umordnung der L-Kette: wenig IgM auf der Zelloberfläche



eine neue Rezeptorspezifität wird exprimiert

3.

eine neue Rezeptorspezifität wird exprimiert

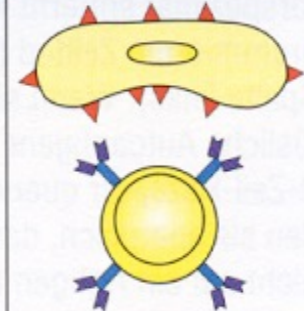


4.

reagiert der neue Rezeptor immer noch gegen körpereigene Determinanten, unterliegt die B-Zelle der Apoptose

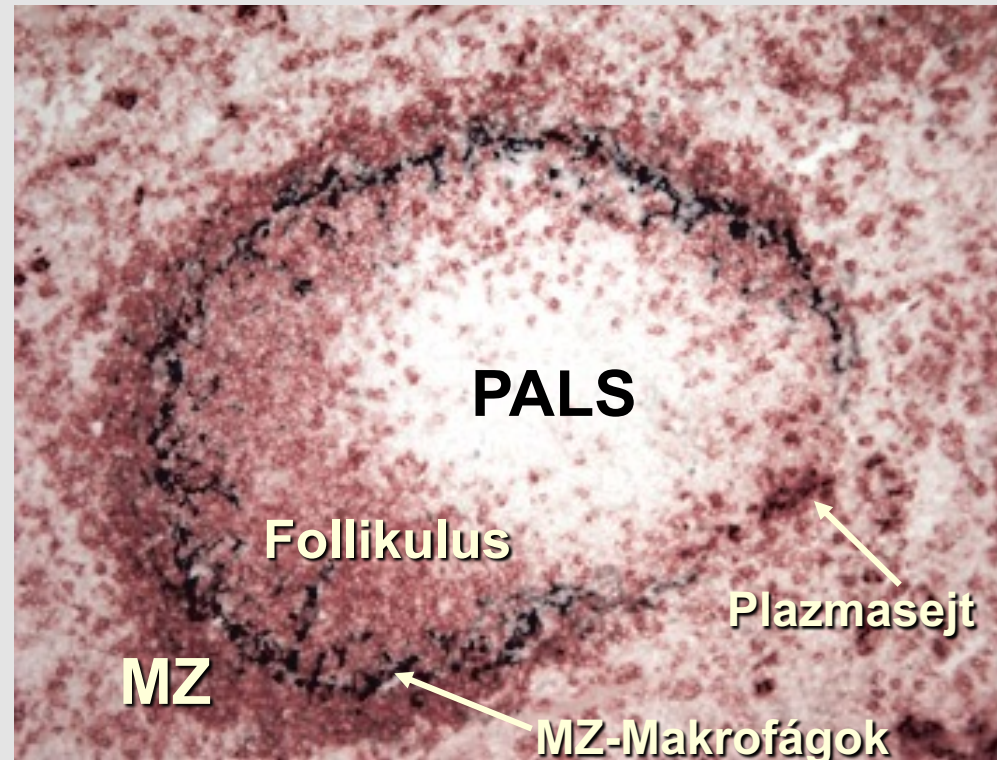


reagiert der neue Rezeptor nicht mehr auf körpereigene Determinanten, wandert die unreife B-Zelle zur Peripherie und reift dort heran



A perifériás B sejt alcsoportok ontogenetikai különbségei

- **Konvencionális follikuláris B sejtek (B2):** (IgM+/IgD++, CD21+, CD23++, recirkuláció)
- **B-1 sejtek:** önmegújító képesség, alacsony affinitású autoantitest termelés, megtelepedés a pleuran ill. peritoneumban, relatív túlsúly újszülöttkorban (és B-CLL); (CD5+, CD43+, IgM++/IgD+)
- **Marginális zóna B sejtek:** a B1 sejtekhez hasonló Ig-fenotípus, differenciálódás a lépben, nincs vándorlás (IgM++/IgD+, CD21++, CD23+/-)

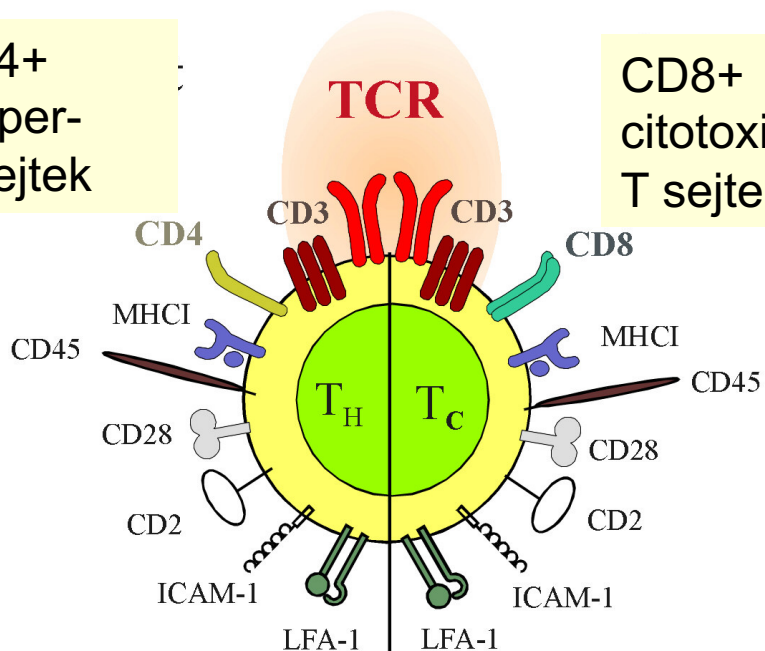


A központi (thymus) T sejt fejlődés

Két különböző T sejt vonal a TcR típus alapján

T lymphociták $\alpha\beta$ TcR-al

CD4+
Helper-
T sejtek



CD8+
citotoxikus
T sejtek

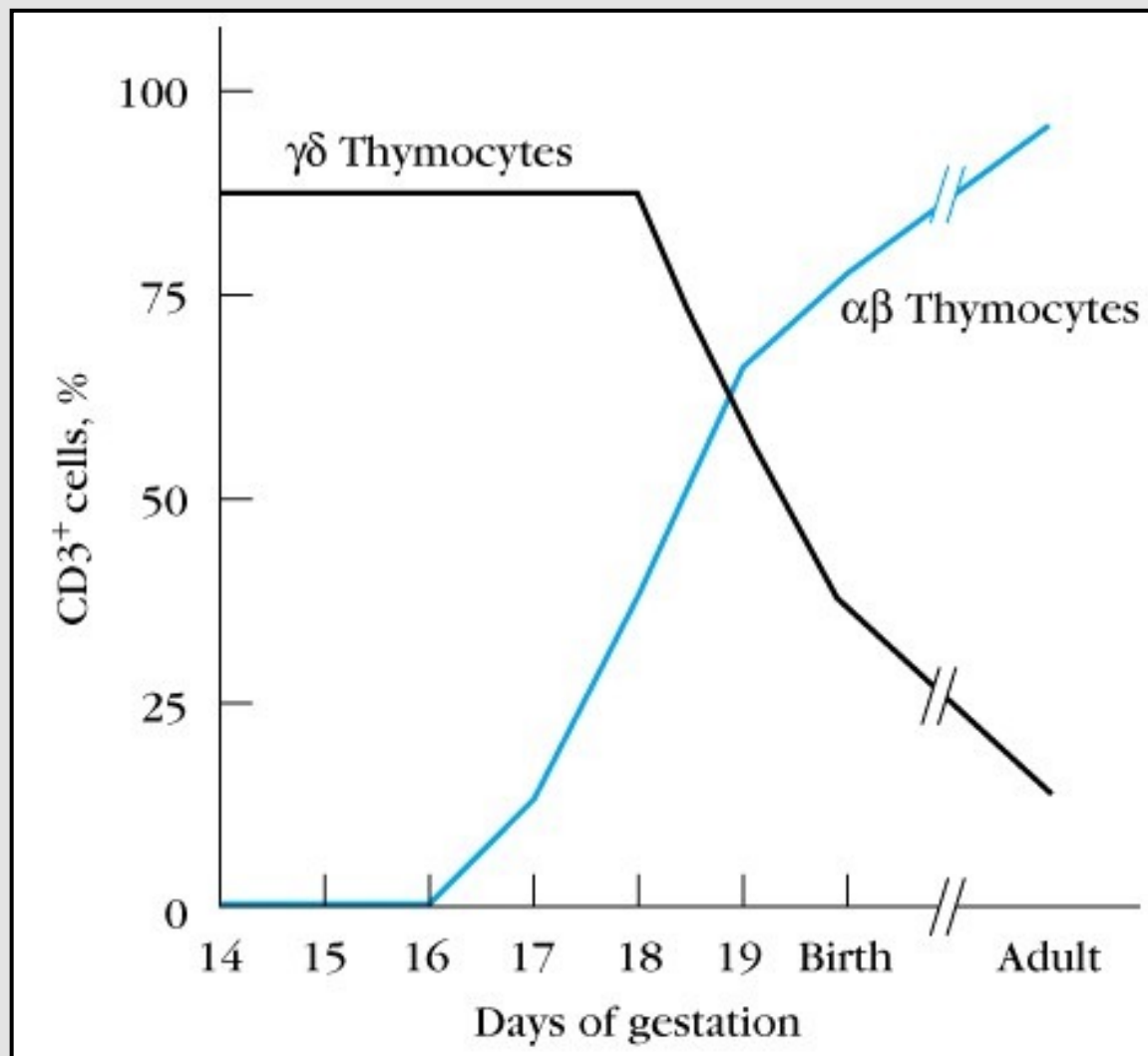
T lymphociták $\gamma\delta$ TcR-al

- CD4-CD8- citotoxikus
T sejtek

Intraepitheliális – alacsony
diverzitású TcR

Limfoid szervek – erősen
diverz receptorok
regulatórikus citokin
termelés

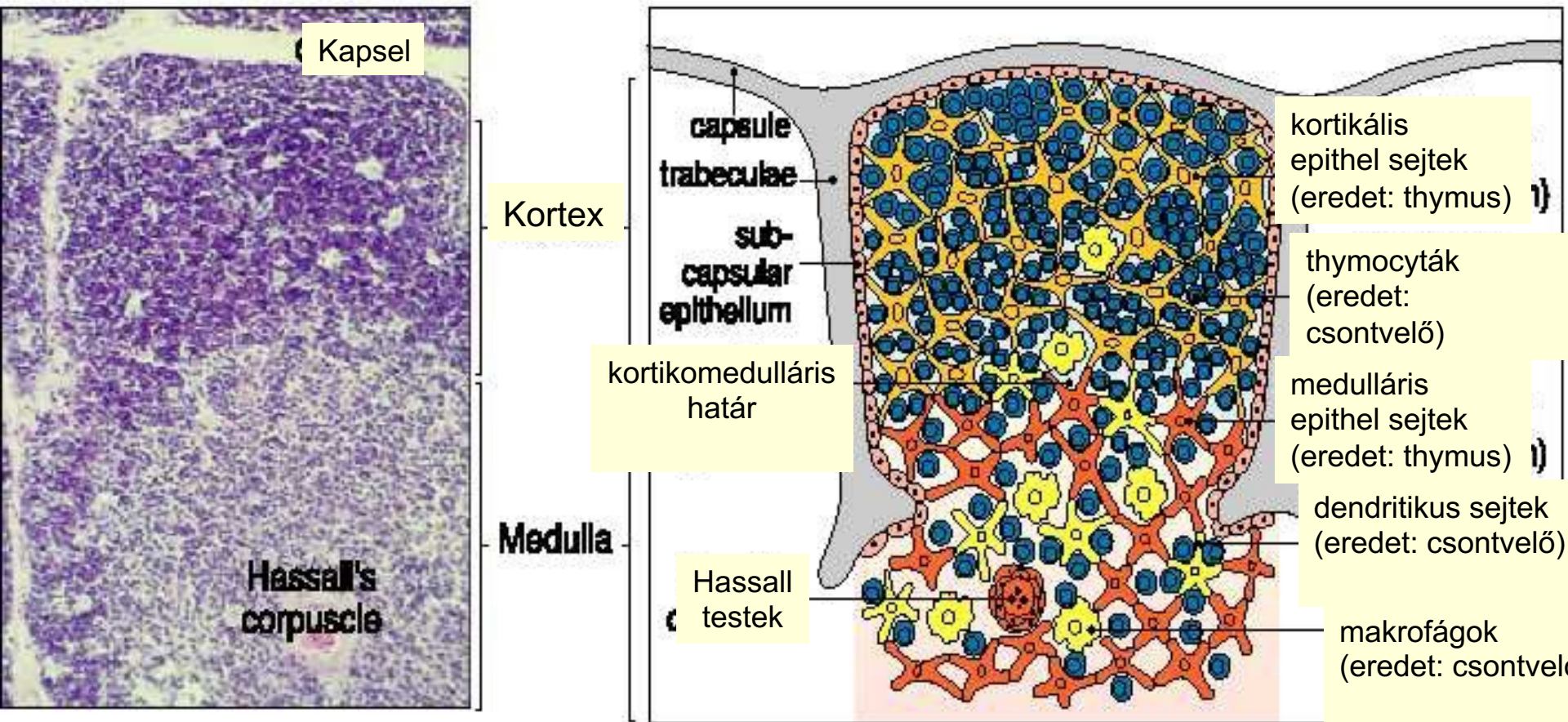
A T sejt csoportok számának alakulása az élet során



az egész repertoár:
TCR α , β : 10^{15}
TCR γ , δ : 10^{16}

A thymus szerkezete

Figure 5.3



A thymus strómasejtek funkciója

Kortikális epithelsejtek:

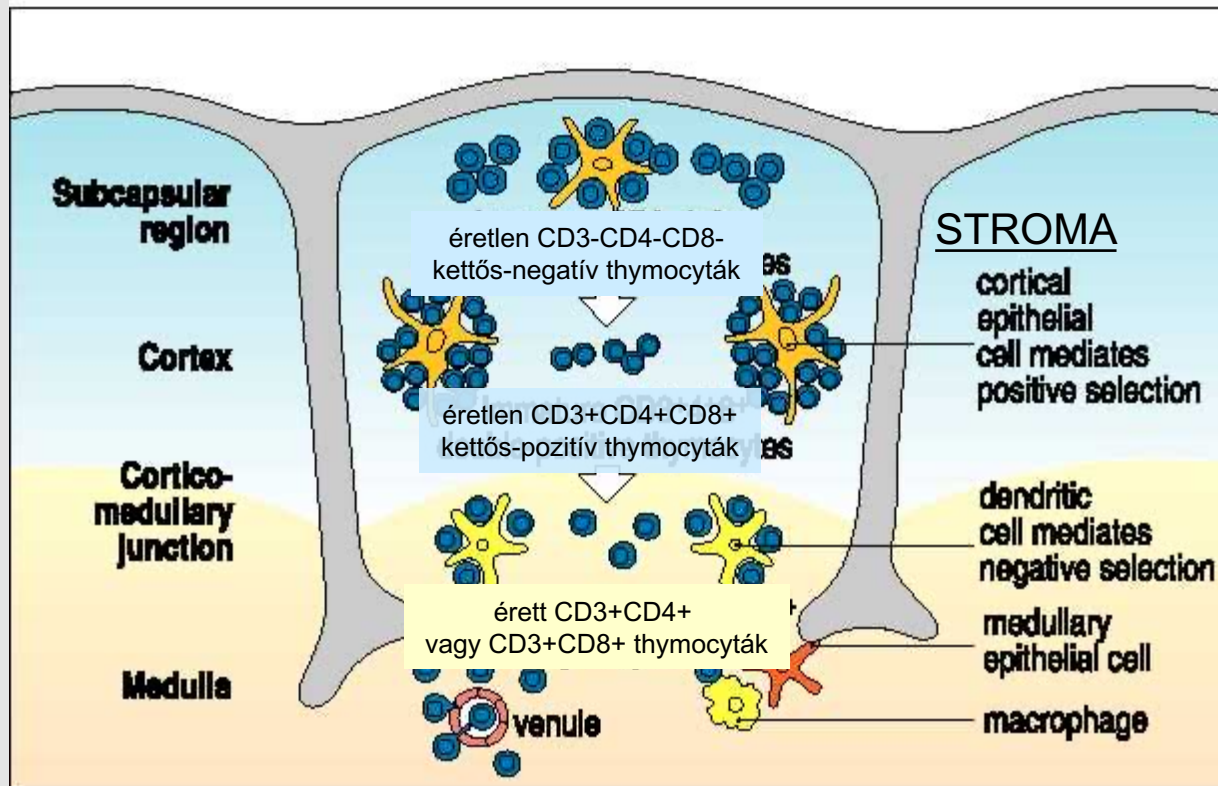
- kemotaktikus jeleket termelnek a hemopoetikus előalakok számára
- túlélési és differenciációs jelek termelése
- saját antigének prezentálása a pozitív szelekcióhoz

Medulláris epithelsejtek, dendritikus sejtek és makrofágok:

- saját antigének prezentációja a negatív szelekcióhoz
- az apoptotikus sejtmaradványok eltakarítása

Thymocyta alcsoportok

Figure 5.14



Thymocyták:

kettős negatív
DN: 2-5 %

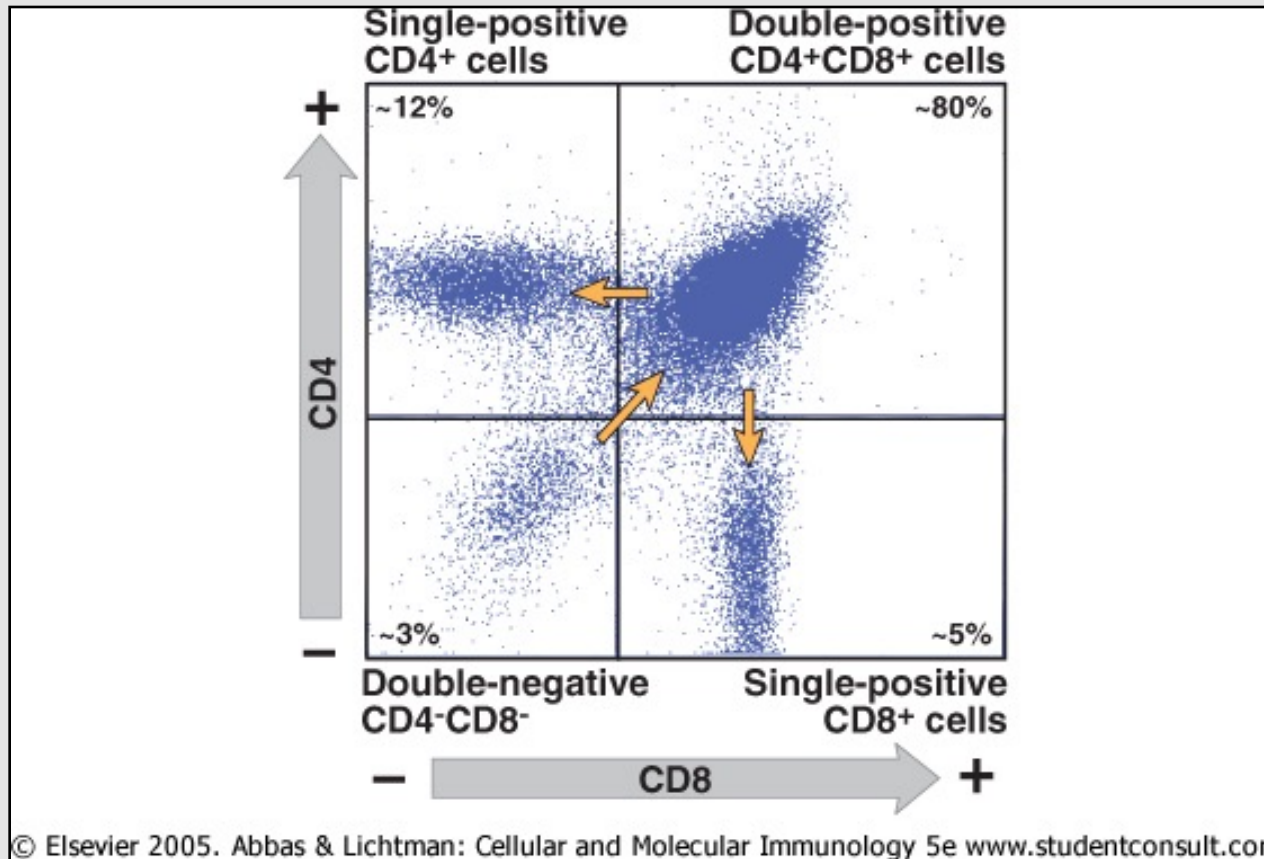
kettős pozitív
DP: 75-80%

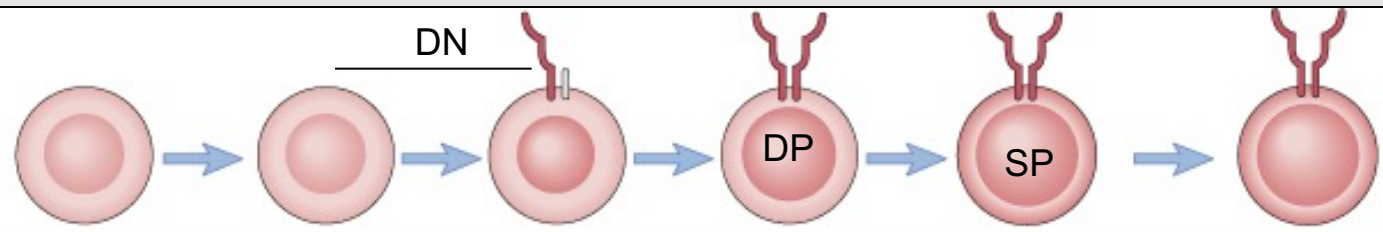
egyszeresen pozitív
CD4 SP: 10-15%
CD8 SP: 5-8%

Fiatal egerekben naponta 5×10^7 T sejt képződik (~25% az összes thymocyának).
A szelekciós folyamatok során a thymocyták ~98 % apoptózissal elpusztul.

$1-2 \times 10^6$ érett T sejt jut ki naponta a perifériára.

Thymocyta alcsoportok





Stage of maturation	Stem cell	Pro-T	Pre-T	Double positive	Single positive (immature T cell)	Naive mature T cell
Proliferation	██████████		██████████			
RAG expression			██████████	██████████		
TdT expression		██████████				
TCR DNA, RNA	Unrecombined (germline) DNA	Unrecombined (germline) DNA	Recombined β chain gene [V(D)J-C]; β chain mRNA	Recombined β, α chain genes [V(D)J-C]; β and α chain mRNA	Recombined β, α chain genes [V(D)J-C]; β and α chain mRNA	Recombined β, α chain genes [V(D)J-C]; β and α chain mRNA
TCR expression	None	None	Pre-T receptor (β chain/pre-T α)	Membrane αβ TCR	Membrane αβ TCR	Membrane αβ TCR
Surface markers	<i>c-kit</i> ⁺ CD44 ⁺ CD34 ⁺ CD25 ⁻	<i>c-kit</i> ⁺ CD44 ⁺ CD25 ⁺ CD5, CD7	<i>c-kit</i> ⁺ CD44 ⁺ CD25 ⁺	CD4 ⁺ CD8 ⁺ TCR/CD3 ^{lo}	CD4 ⁺ CD8 ⁻ or CD4 ⁻ CD8 ⁺ TCR/CD3 ^{hi}	CD4 ⁺ CD8 ⁻ or CD4 ⁻ CD8 ⁺ TCR/CD3 ^{hi}
Anatomic site	Bone marrow	Thymus				Periphery
Response to antigen	None	None	None	Positive and negative selection	Negative selection	Activation (proliferation and differentiation)

A thymocyta érés szabályozása

- **Sejtfelszíni molekulák** – adhéziós molekulák (CD44), CD28 – B7.1/7.2 , Notch – Notch-Ligand-kölcsönhatások, kemokin receptorok
- **Humorális faktorok** – citokinek (IL-7), kemokinek, thymozin, prothymozin- α , thymulin (FTS-Zn), thymopoietin, thymostimulin (TP-1), thymus humorális faktor (THF) és THF-g2, glukokortikoid-hormon (GC)

A strómasejtek szabályozzák a T sejt érését

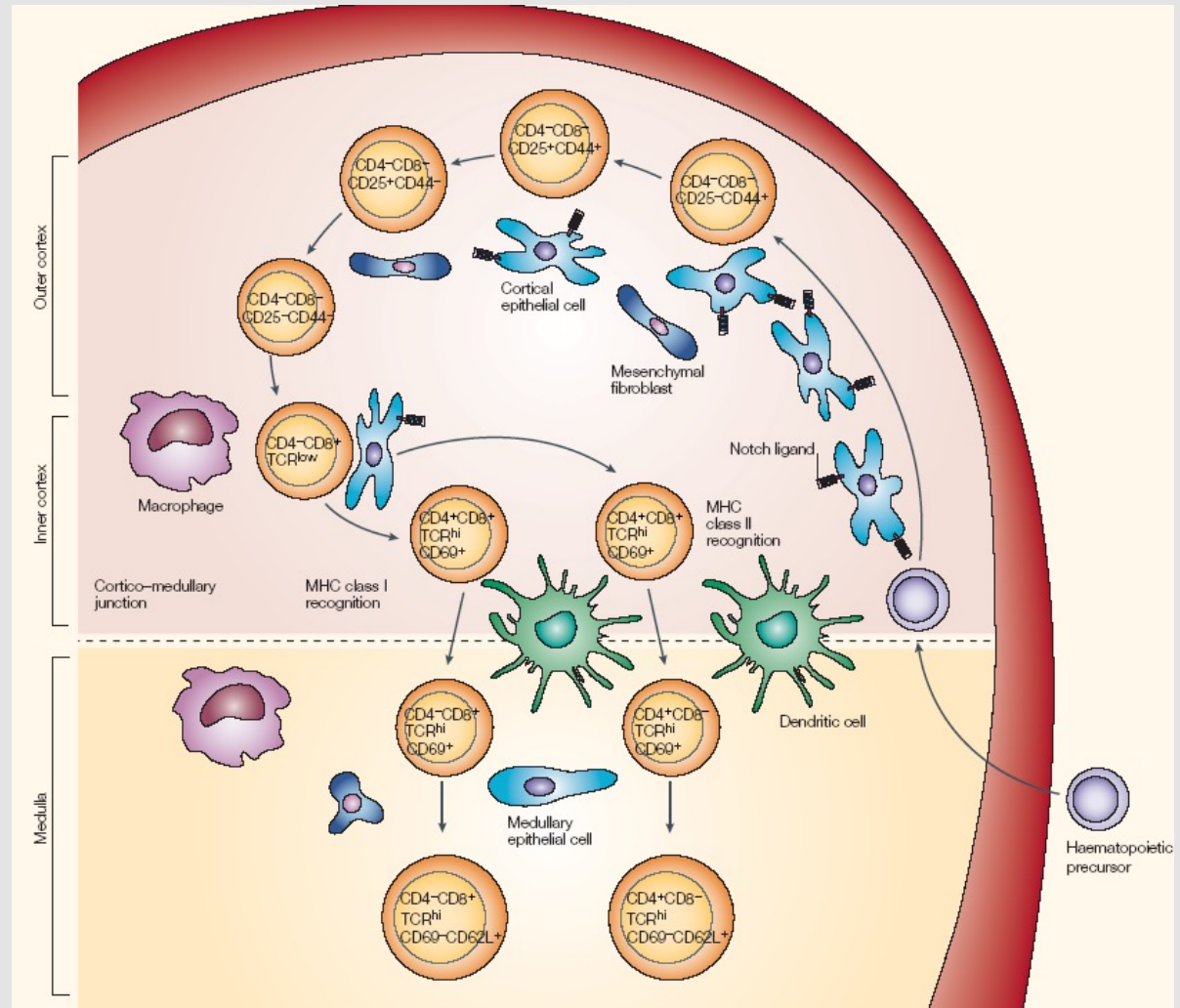
1. Vándorlás:
kemokinek

2. Proliferáció
IL-7

3. Differenciáció

- TcR-génátrendeződés
- fenotípus-változások

4. Szelekció
Apoptózis



FOXP1: - Thymusepithel sejt differenciáció, Bőrsejtek
- Hiánya: "Nude egér" (T sejt hiány & szőr hiánya)

Thymus szelekciós folyamatok

Pozitív szelekció:

Epithel sejtek – DP-thymocyták kölcsönhatása a thymus kortexben

Azok a DP sejtek, amik képesek saját MHC-molekulákat felismerni túlélnek.

→ **MHC-RESTRIKCIÓ**

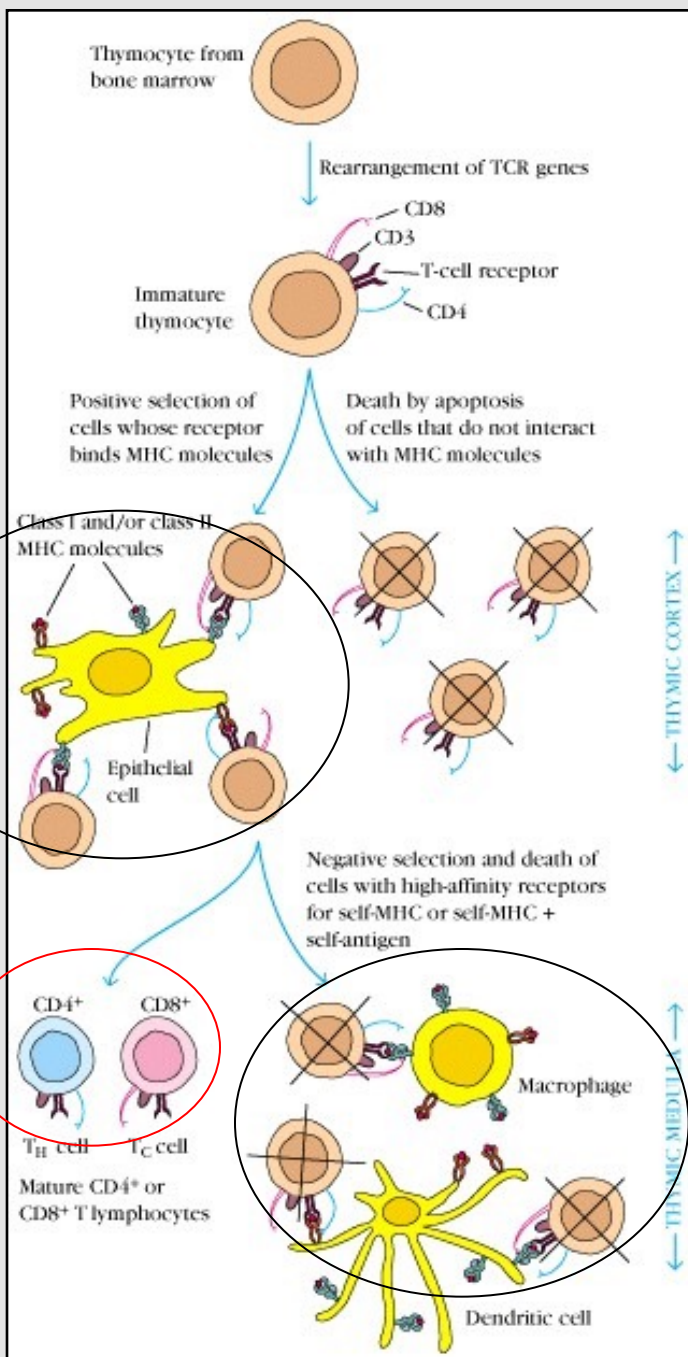
Negatív szelekció:

APC (Makrofág vagy DC) – DP-thymocyták kölcsönhatás a thymus medullában

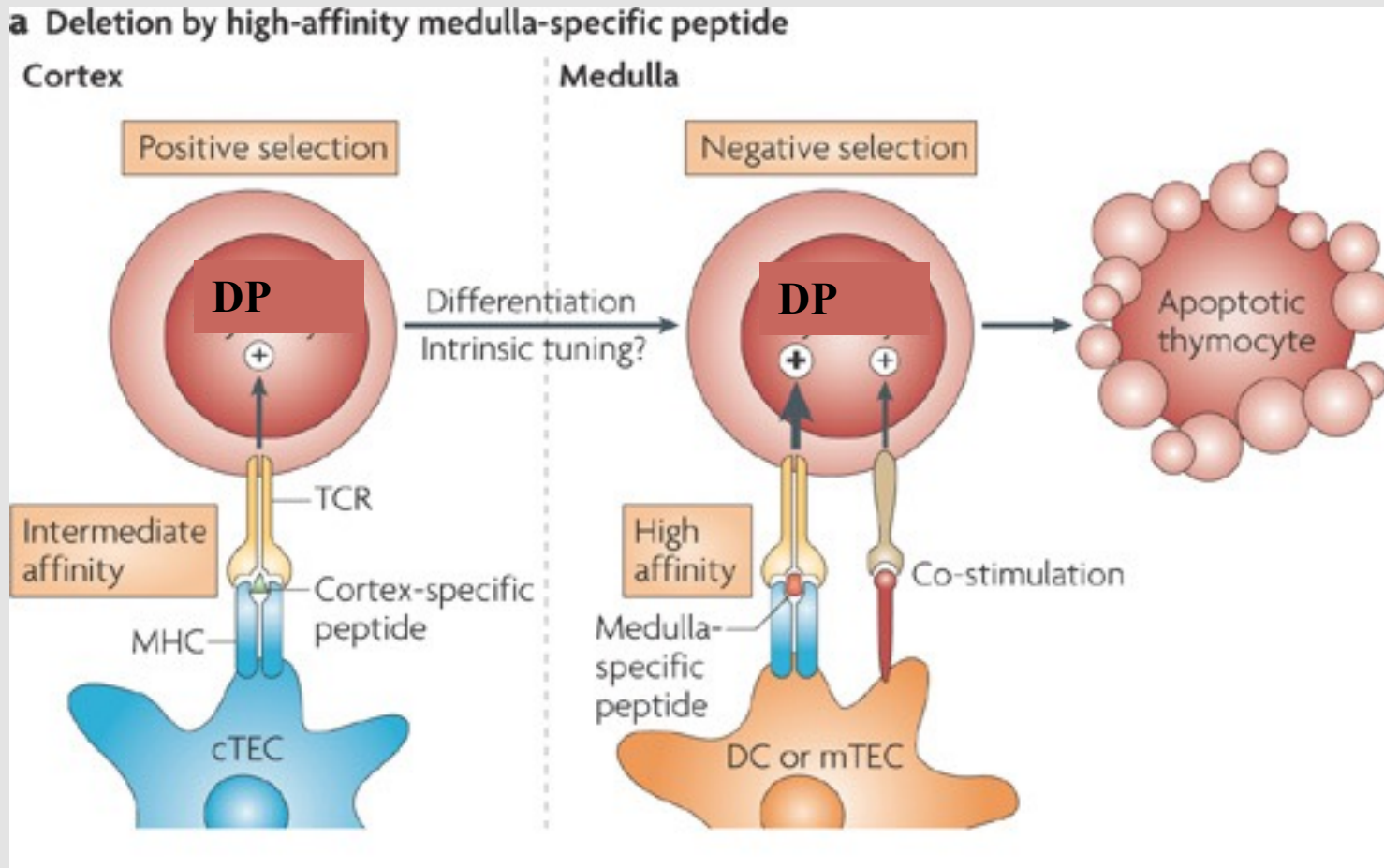
Azon sejtek apoptózisa, amelyek TcR-al saját antigénekhez kötődnek nagy affinitással

→ **TOLERANCIA**

Differenciáció érett T sejtekké

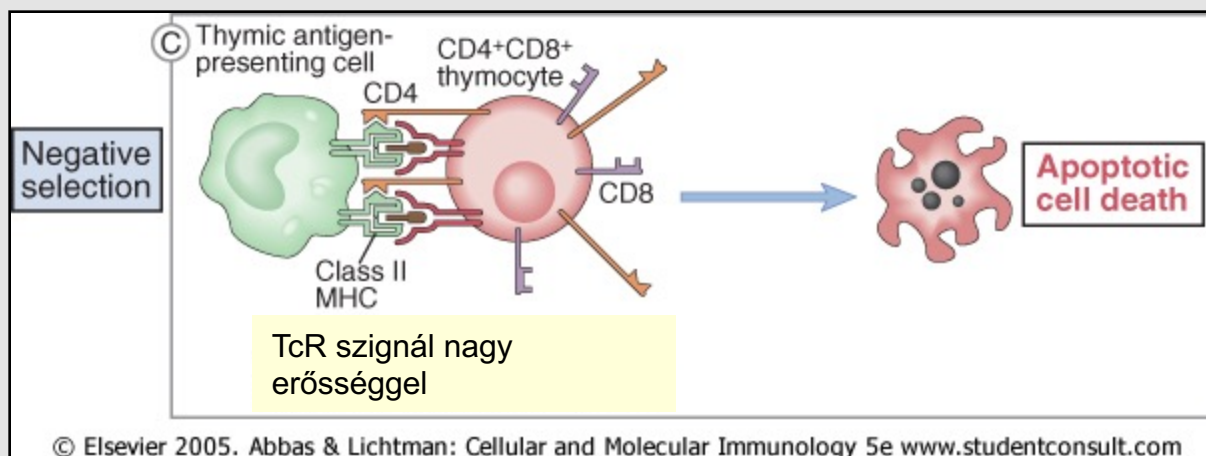
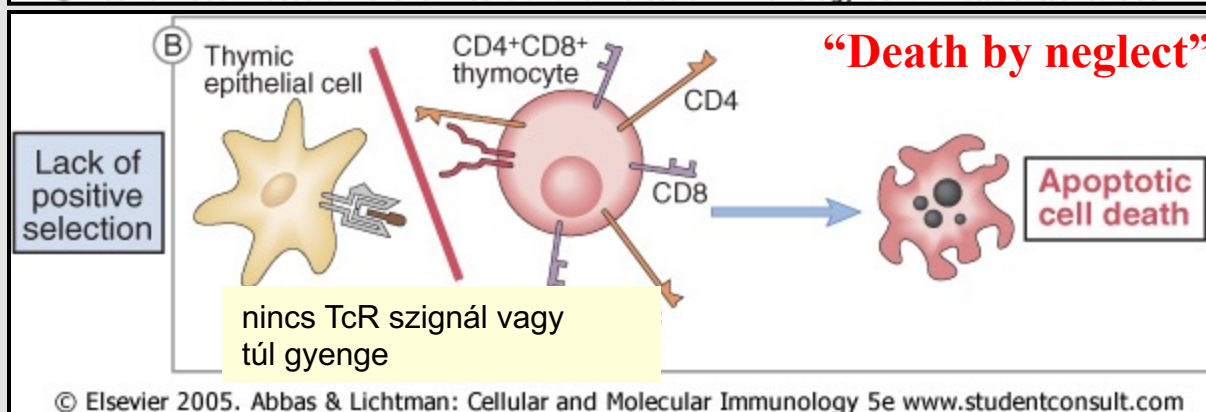
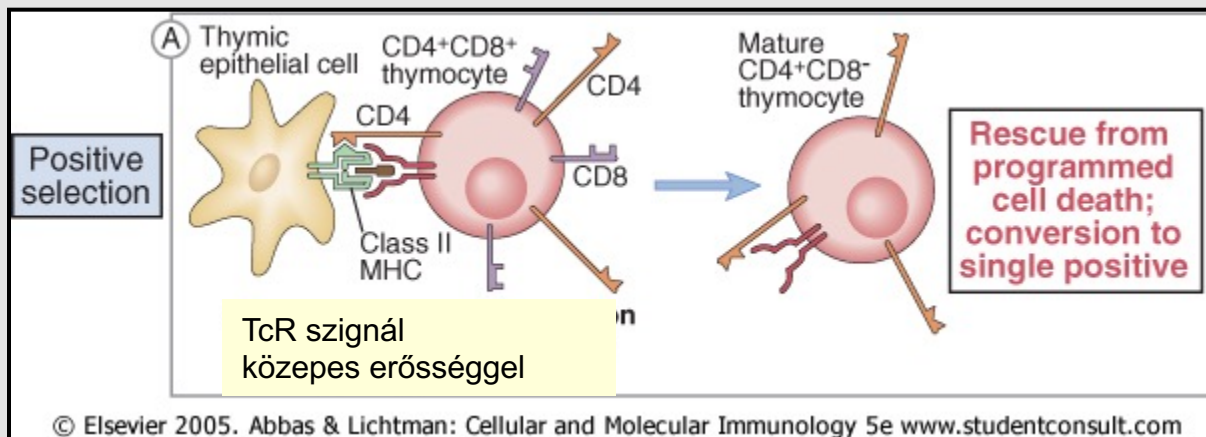


A pozitív / negatív szelekció affinitás modellje

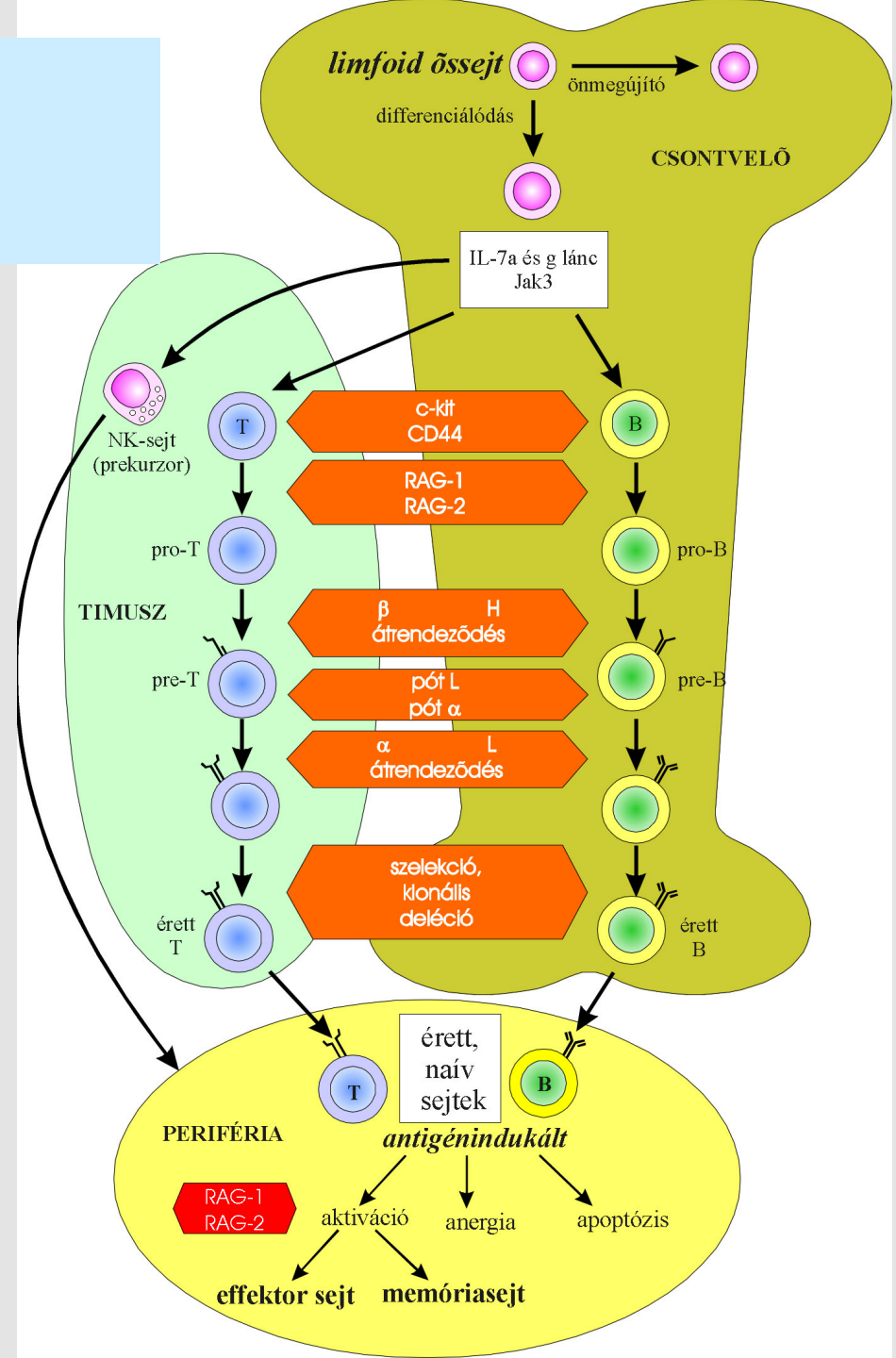


AIRE (=Autoimmune regulator):

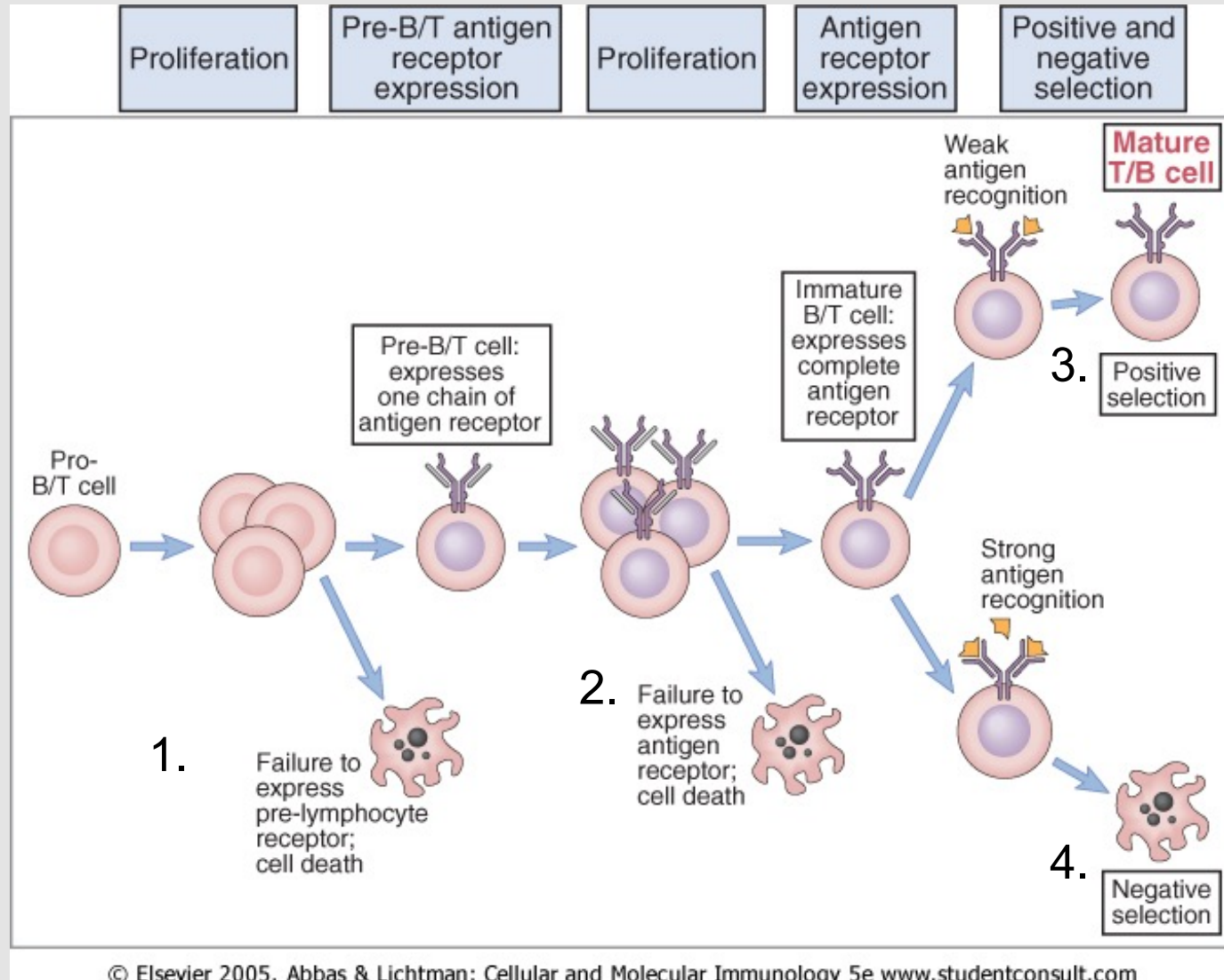
- “Promiszkus” génexpresszió az epithel sejtekben (thymuson kívüli antigének expressziója)
- Hiánya: multiplex autoimmun betegségek kialakulása



A B- és T sejt érés hasonlóságai



„Ellenőrző pontok” a központi B/T-lymphocyta érésben



Köszönjük a figyelmet!

