

Онтогенеза на Т-лимфоцитите. Т-клетъчни маркери и Т- клетъчни субпопулации

Доц. Милена Атанасова, д.б.
Ръководител сектор “Биология”
МУ-Плевен

T - лимфоцити

- Ключова роля за интрацелуларната фаза на отговора към всички потенциално вредни агенти на които сме изложени
- Т-кл отговарят на белтъчни Аг:
Вируси.
Бактерии.
Патогенни вещества.

Клетъчно-медиран имунитет

- Включва асоциирането на Т-кл с антиген-представящата клетка - АРС и молекулите на главния комплекс за тъканна съвместимост - МНС клас I/II
- Контролира вътреклетъчните инфекции
- Активира В-кл или макрофагите, разрушава инфектираните, туморните или трансплантираните клетки
- Подпомага В-кл (Т-зависими В-кл отговори (TH_2))

Т-кл разпознават Аг – само ако са асоциирани с МНС молекули

- Т- клетките разпознават къси пептидни фрагменти свързани с мембранни гликопротеинови молекули на главния комплекс за тъканна съвместимост (Major Histocompatibility Complex - МНС)
- Комплексът МНС/пептид се използва от APC за да представи Аг на Т-кл

Главни етапи в развитието на лимфоцитите

Експресия на рецептор за Аг

```
graph TD; A[Експресия на рецептор за Аг] --> B[Тестиране за толерантност към собствени Аг (към свое)]; B --> C[Активиране от Аг]; C --> D[Диференциация];
```

Тестиране за толерантност
към собствени Аг (към свое)

Активиране от Аг

Диференциация

Хемопоеза

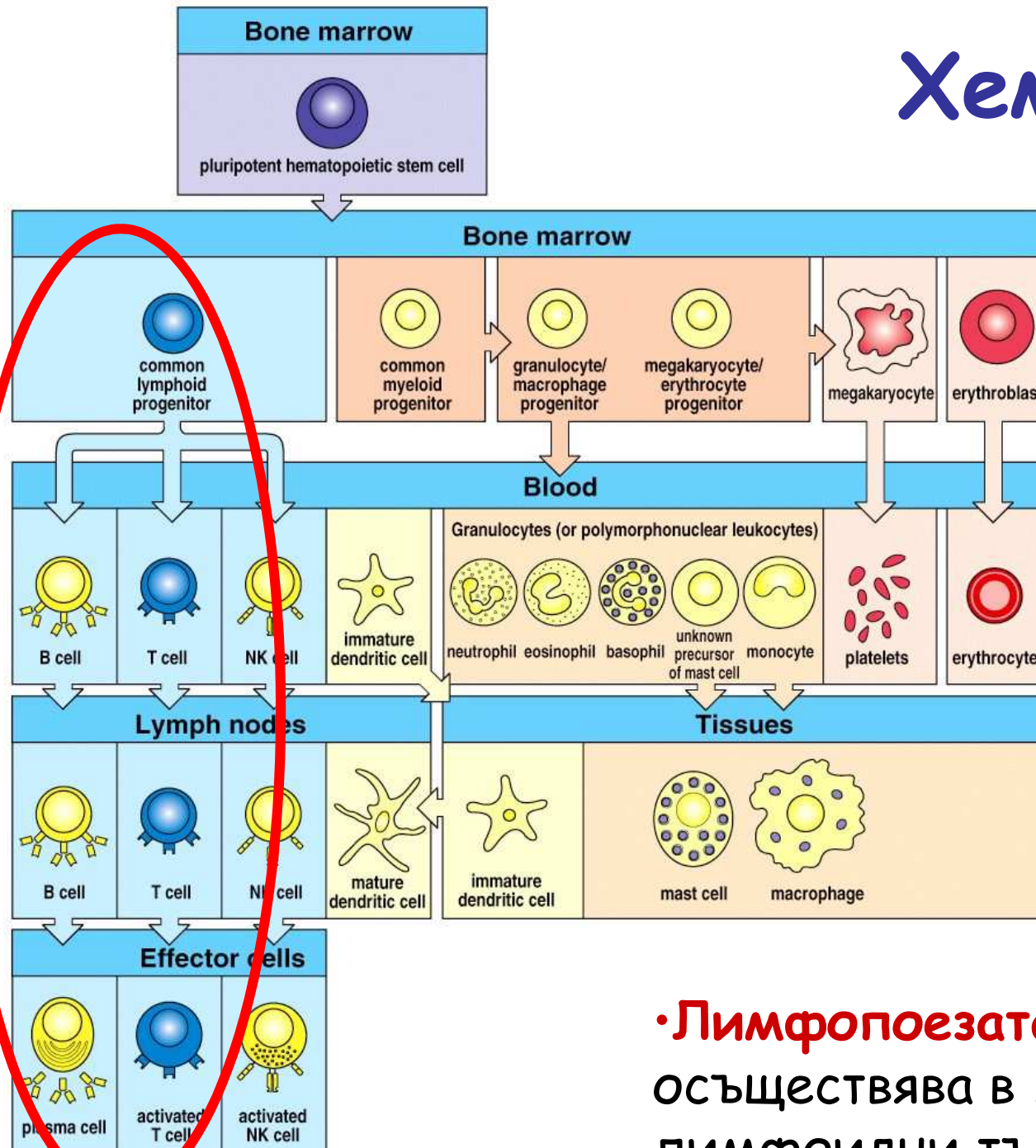


Figure 1-3 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

• Лимфопоезата се осъществява в централните лимфоидни тъкани

Развитие на Т клетките

Експресия на рецептор за Аг - TcR



Тестиране за толерантност
към собствени Аг (към свое)



Активиране от Аг



Диференциация

Развитие на Т клетките в тимуса

- Всички Т-клетки произхождат от хемопоетични стволови клетки в костния мозък.
- Мигрират към тимуса и се делят, като формират голяма популация незрели **двойно негативни тимоцити** - CD4 и CD8 отрицателни
- Формират своите **антиген-специфични рецептори (TcR)** чрез генно пренареждане, подобно на пренареждането при В-лимфоцитите
- Впоследствие се превръщат в **двойно позитивни** - придобиват CD4 и CD8 (CD4+CD8+)
- По-късно стават **единично позитивни** (CD4+CD8- или CD4-CD8+), напускат тимуса и мигрират в периферни тъкани

Развитие на Т клетките в тимуса

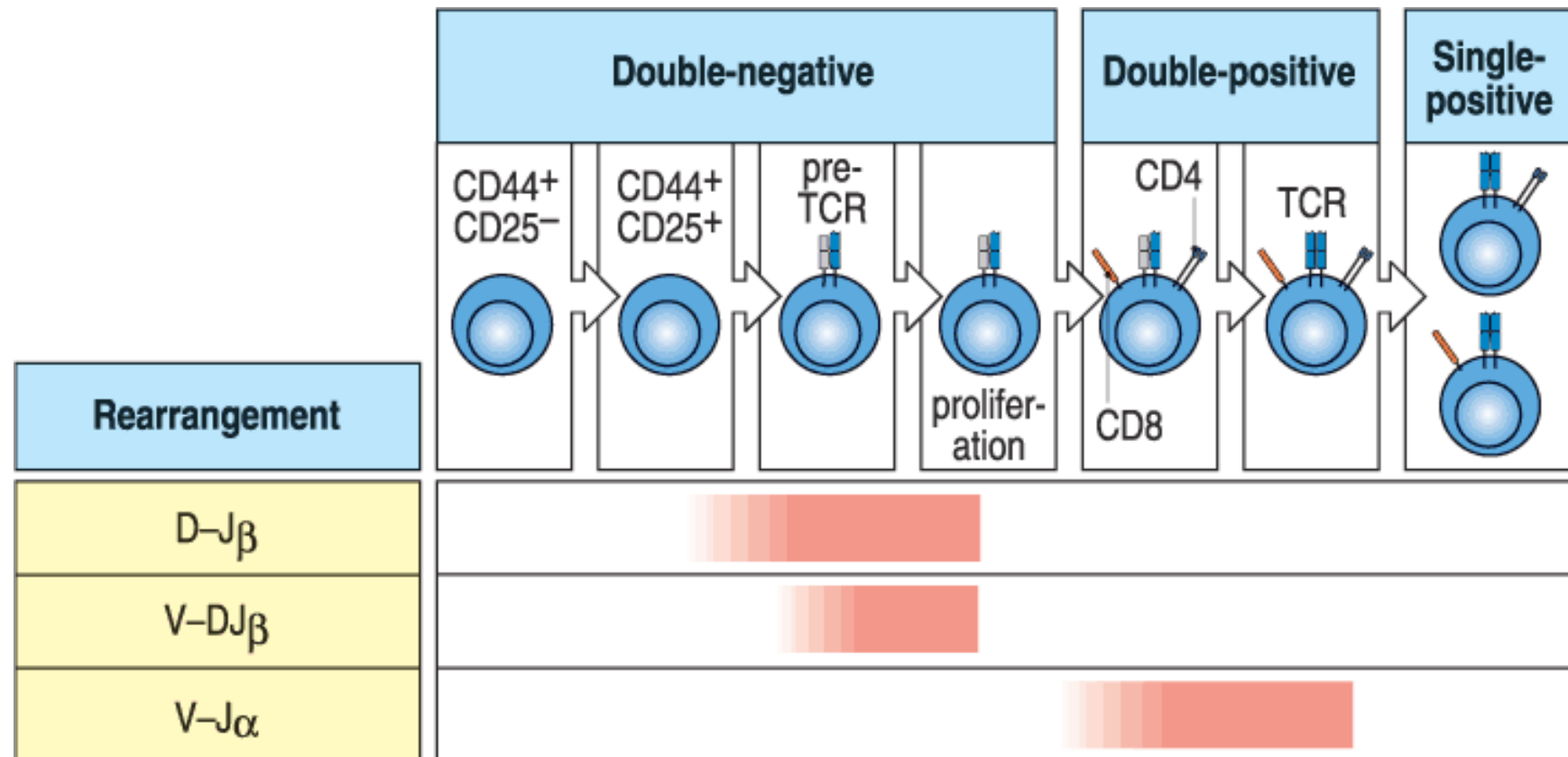
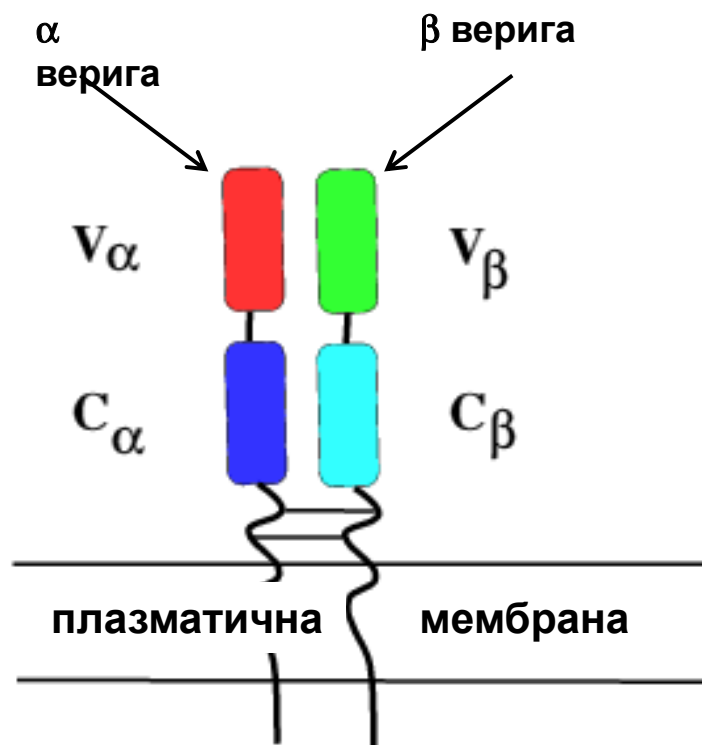


Fig 7.12 part 1 of 2 © 2001 Garland Science

Т-кл рецептор (TcR)



Повечето Т кл са $\alpha\beta$.

ТсR не може да свърже нативен (самостоятелна молекула) Аг!

Корецепторни молекули

- Могат да са CD4 или CD8 (**CD - Cluster of determination**).
- Разделят Т-кл популация на CD4+ или CD8+.
- Свързват се с епитопи върху APC (CD4 с МНС клас II, CD8 с МНС I) - Повече за това в следващата лекция!!!.
- Функционират като адхезионни молекули
- Участват в сигналната трансдукция.

Корецепторни молекули

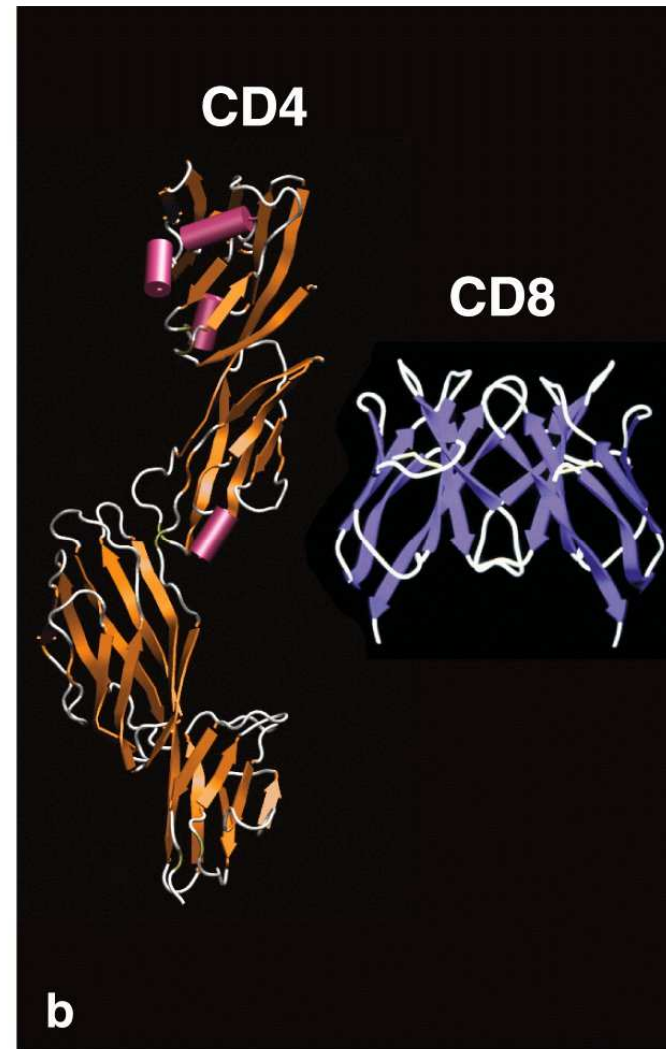
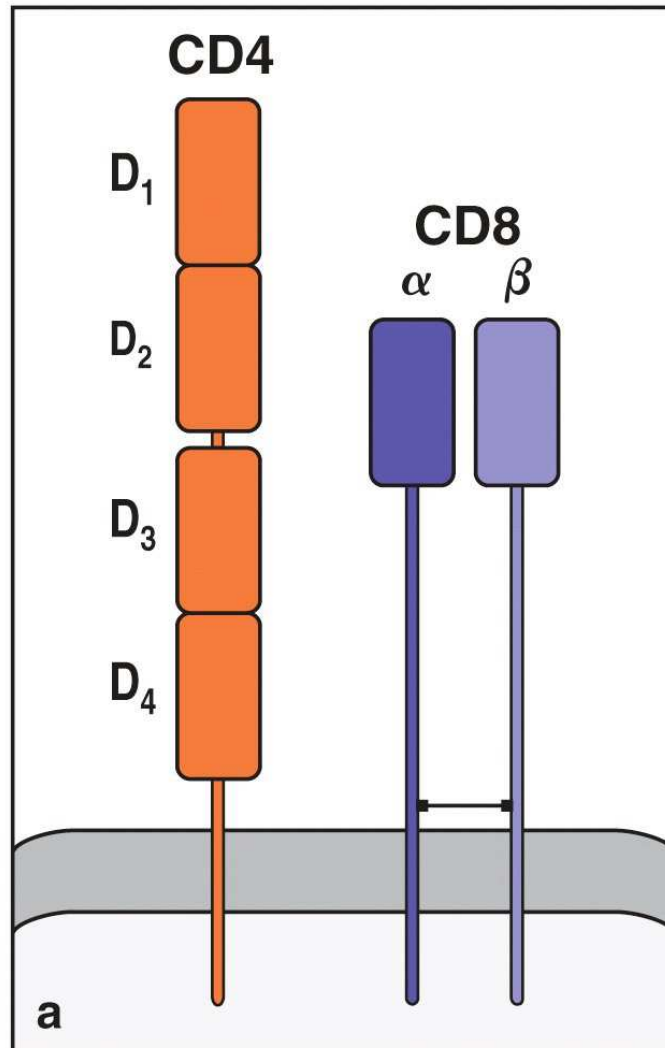
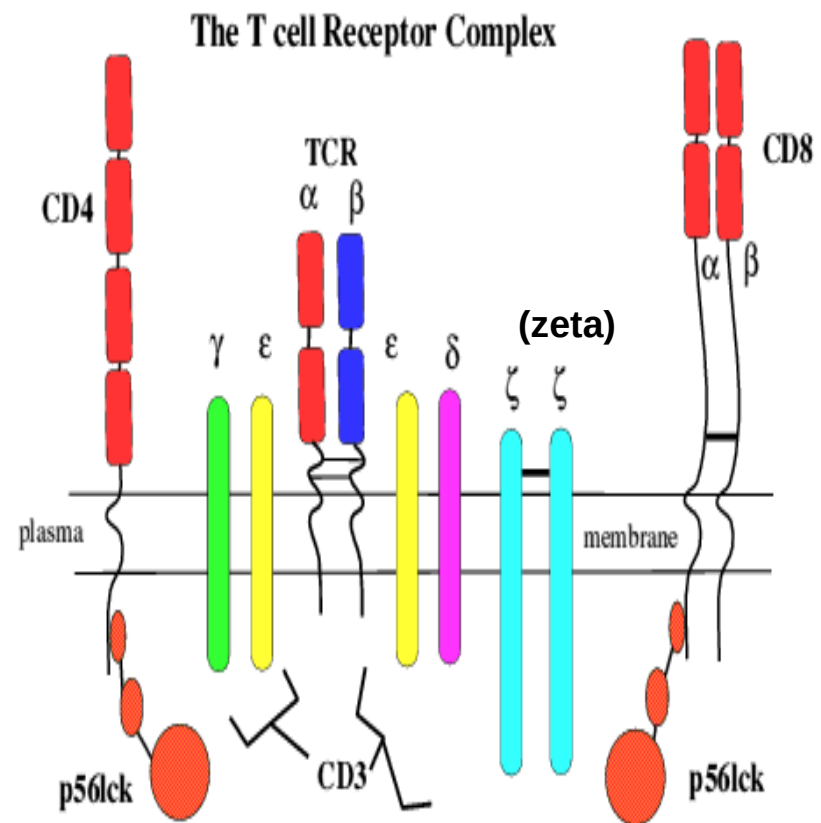


Figure 3-15 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

TCR комплекс

- TCR α и β се експресират върху Т клетъчната повърхност със CD3 и две идентични ζ (zeta) вериги.
- CD3 се състои от 3 различни полипептида. Винаги се намират в асоциация с TCR, не варират.
- CD3 и ζ не свързват Аг, а участват в сигналната трансдукция

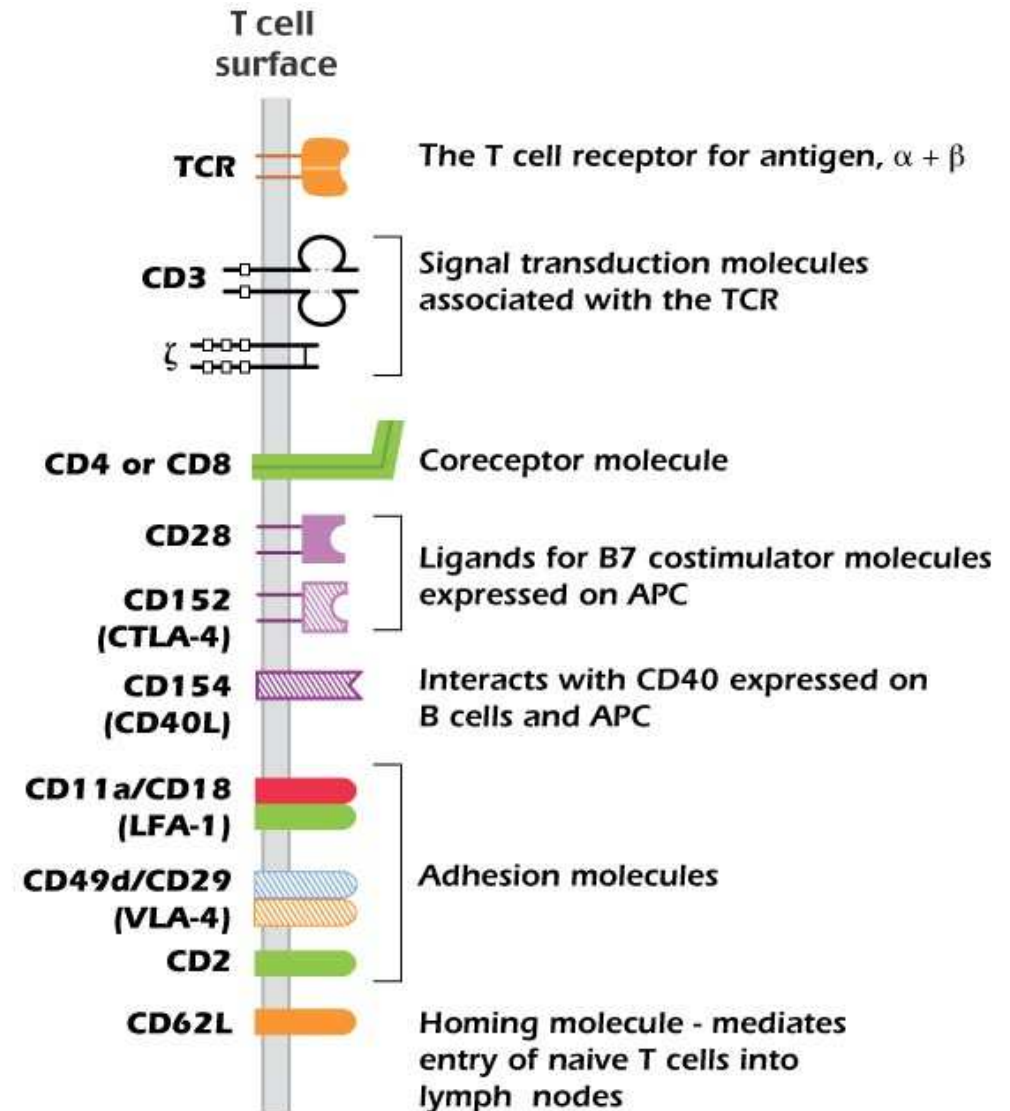
TCR комплекс



Зрелите Т кл. Експресират или CD4 или CD8. Не смесвайте белтъчните вериги γ и δ на CD3 с TCR вериги в рецептора за Аг върху $\gamma\delta$ Т клетките!!!!

Други костимулаторни лиганди върху Т-л

- Костимулаторни лиган
Осигуряват втори сигнал за кл активация
- Адхезионни молекули.
Заздравяват свързването на към APC.
- Хоуминг молекули.
Медиират навлизането на наивните Т-л към лимфнит възли
- Гама/делта Т-кл.
Алтернативни TcR.

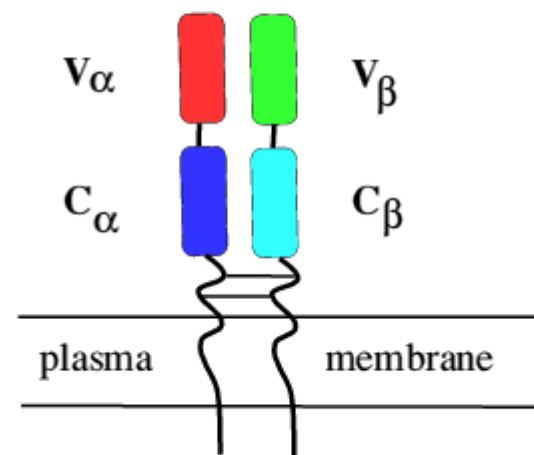


Експресия на рецептор за Аг - TcR

T-клетъчен рецептор

- Хетеродимер, съставен от α и β или γ и δ полипептидни вериги
- Аминокиселинен анализ показва сходство с доменната структура на Ig. Всяка верига има вариабилен и константен домен (съответно $V\alpha$ и $C\alpha$, $V\beta$ и $C\beta$)
- Вариабилните домени на α и β или γ и δ заедно формират антиген свързваща бразда

The T cell Receptor



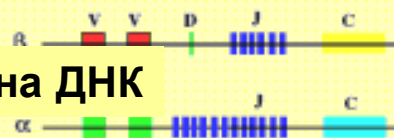
Тренареждане на гените за TcR

протимоцит

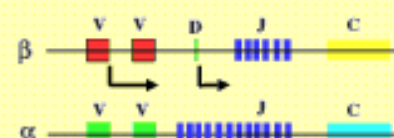


незряла Т кл

Зародишна ДНК

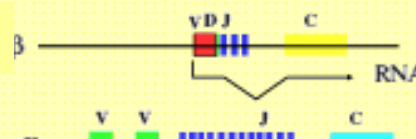


D - J_β
V - DJ_β

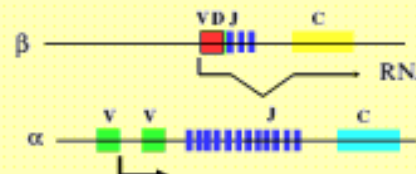


β верига

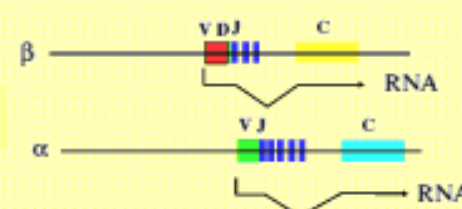
β chain
rearrangement stops
CD4 CD8 expression
turned ON



V - DJ_α



α
верига
αβ димер



Гени за TcR

- α и γ веригите са съставени от V и J сегменти. β и δ от V, D и J сегменти.
- β (6 хромозома) и γ (7 хромозома) се намират върху различни хромозоми. Локуси α и δ се намират върху 14 хромозома.
- Много повече V_α и V_β гени отколкото V_γ и V_δ .

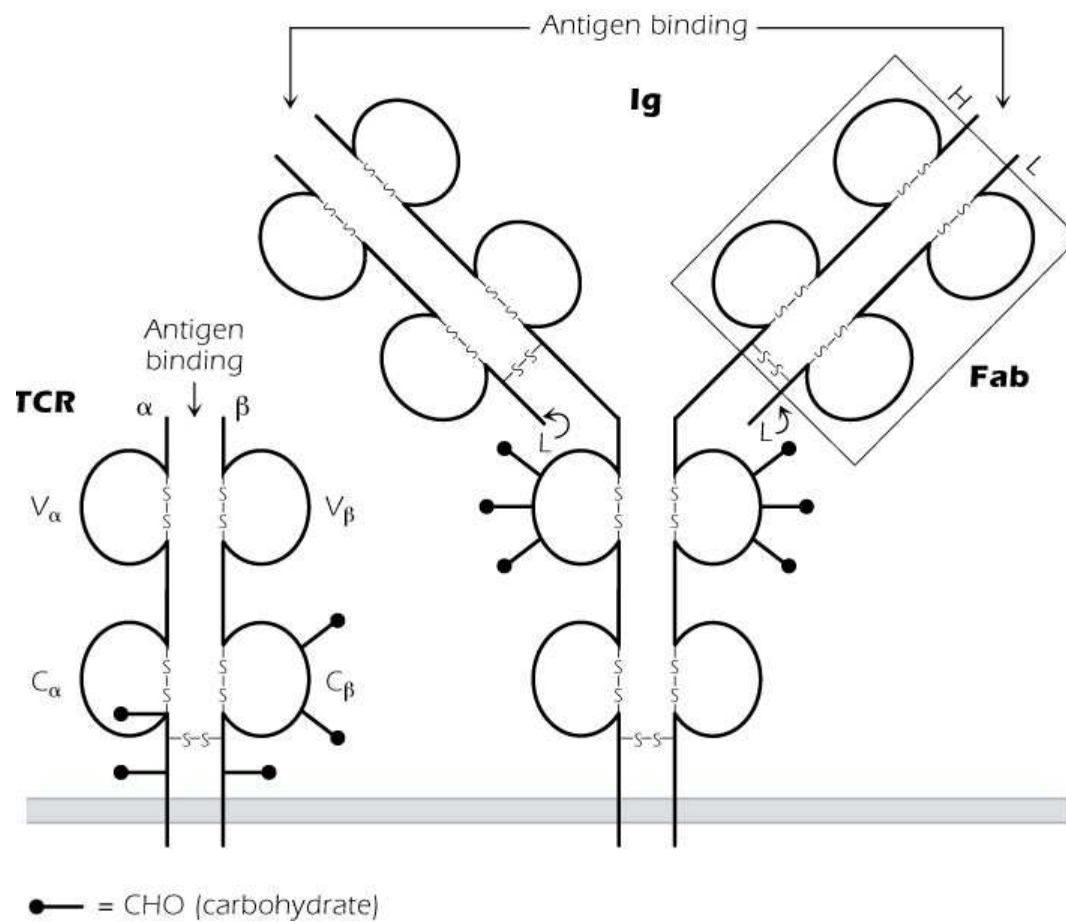
TcR разнообразие

- Рекомбинази и свързващ сегменти свързват VJ или VDJ сегментите, като генерират специфичност във вариабилния участък на TcR.

TcR вариабилността се генерира от няколко механизма:

- Множество V гени в зародишната линия.
- Случайно комбиниране на генните сегменти.
- Вариабилност в свързващите места.

TcR Ig сравнение



TcR Ig сравнение

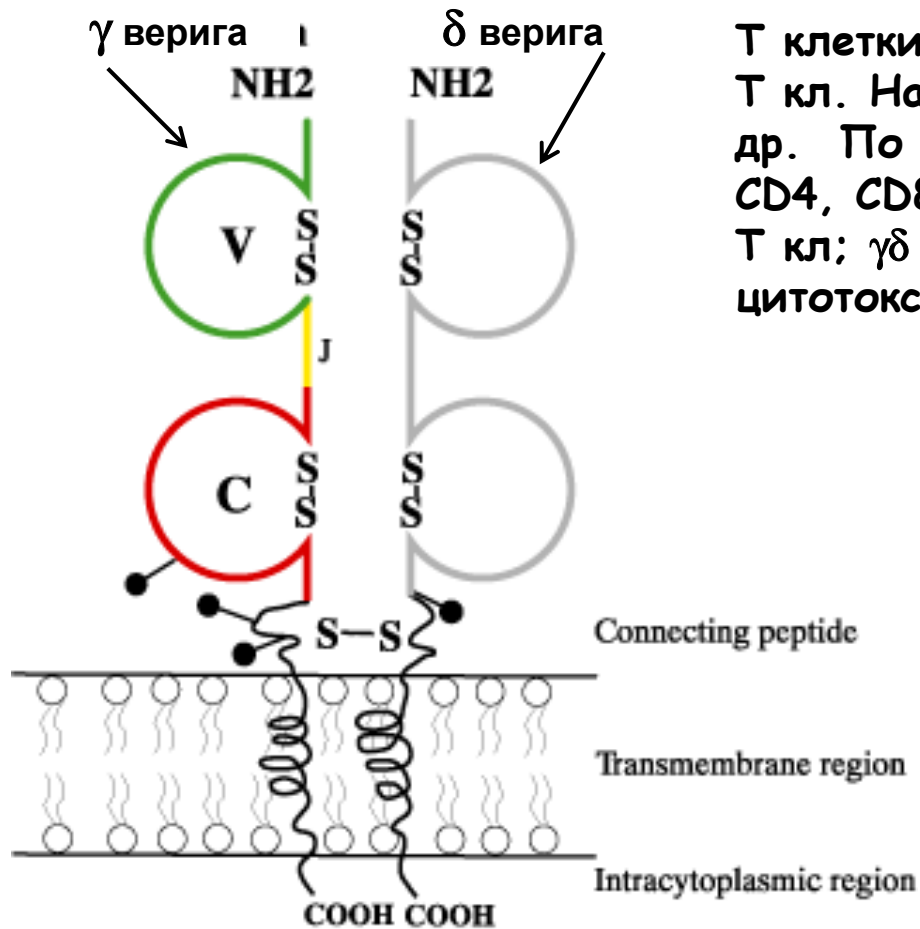
Прилики.

- Всяка верига се състои от вариабилни (V) и константни (C) участъци.
- Всеки V и C участък се нагъва и формира домени.
- V участъка съдържа хипервариабилен или комплементарност определящи сегменти (CDR's 1, 2, 3).

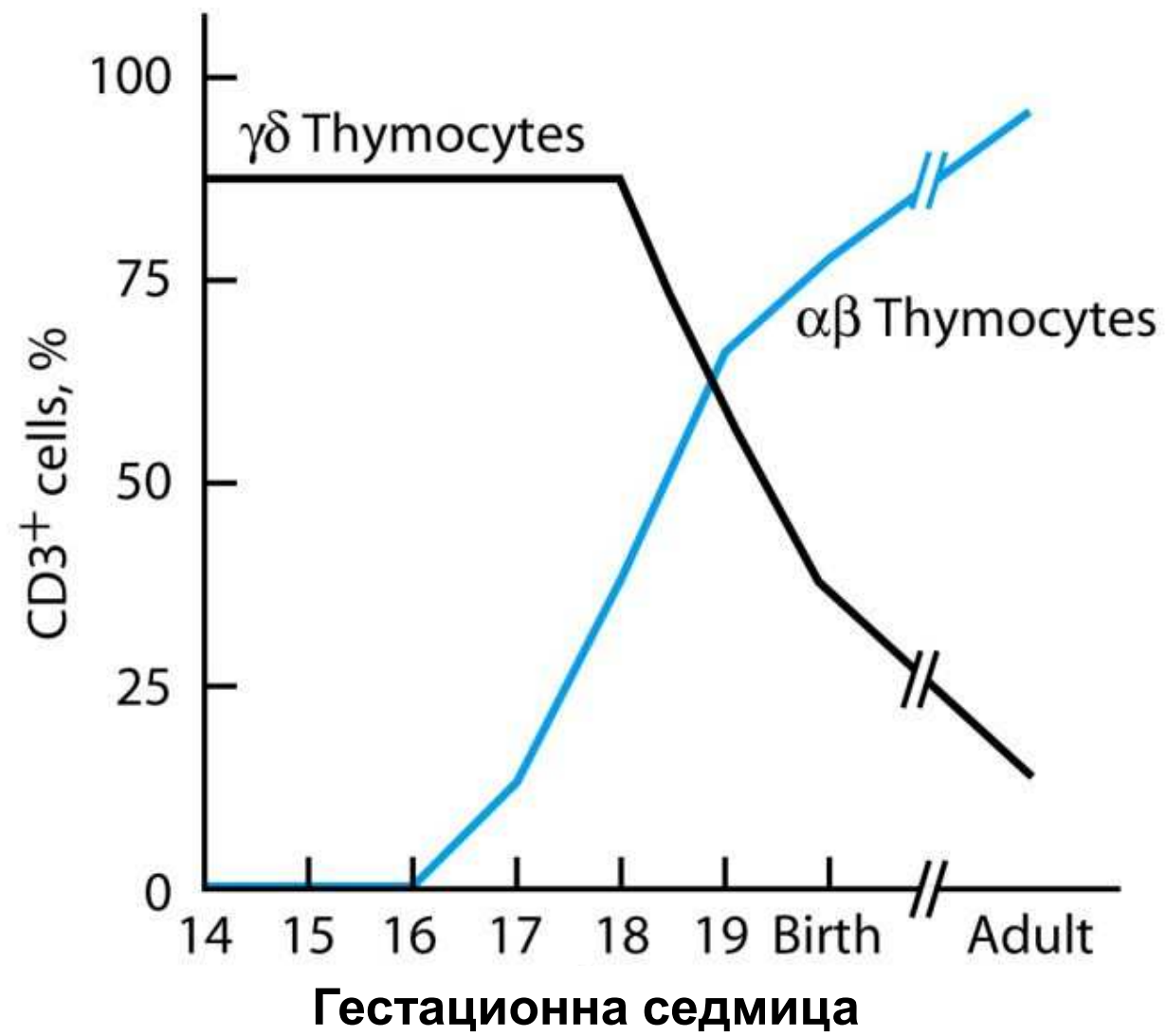
Разлики

- Валентност и конформация
- Антигенно разпознаване
- Секреция на рецептора
- TCR не се променя по време на отговора към антигена, антитяловите молекули могат да променят афинитета си на свързване към Ag

$\gamma\delta$ TcR



Т клетки са този тип рецептори се наричат $\gamma\delta$ Т кл. Намират се в кожата, дебелото черво, и др. По повърхността им не се наблюдават CD4, CD8 маркери, които са характерни за $\alpha\beta$ Т кл; $\gamma\delta$ Т клетките често проявяват свойството цитотоксичност.



γδ Т-лимфоцити

- По-малката част от Т-кл популация
- Свързват топлинно-шокови протеини и непептидни лиганди
 - Микобактерийни липидни антигени
 - Фосфорилирани лиганди
- Не са рестриктирани от класическите МНС I или МНС II молекули
- Могат да свързват свободен Аг

Селекция на Т-лимфоцитите в тимуса

Експресия на рецептор за Аг



Тестиране за толерантност
към собствени Аг (към свое)

- Около 98% от тимоцитите загиват в тимуса по време на развитието си в резултат на два вида селекция - положителна и отрицателна
- Само 2% оцеляват след селекцията и се превръщат в зрели имунокомпетентни Т-лимфоцити.

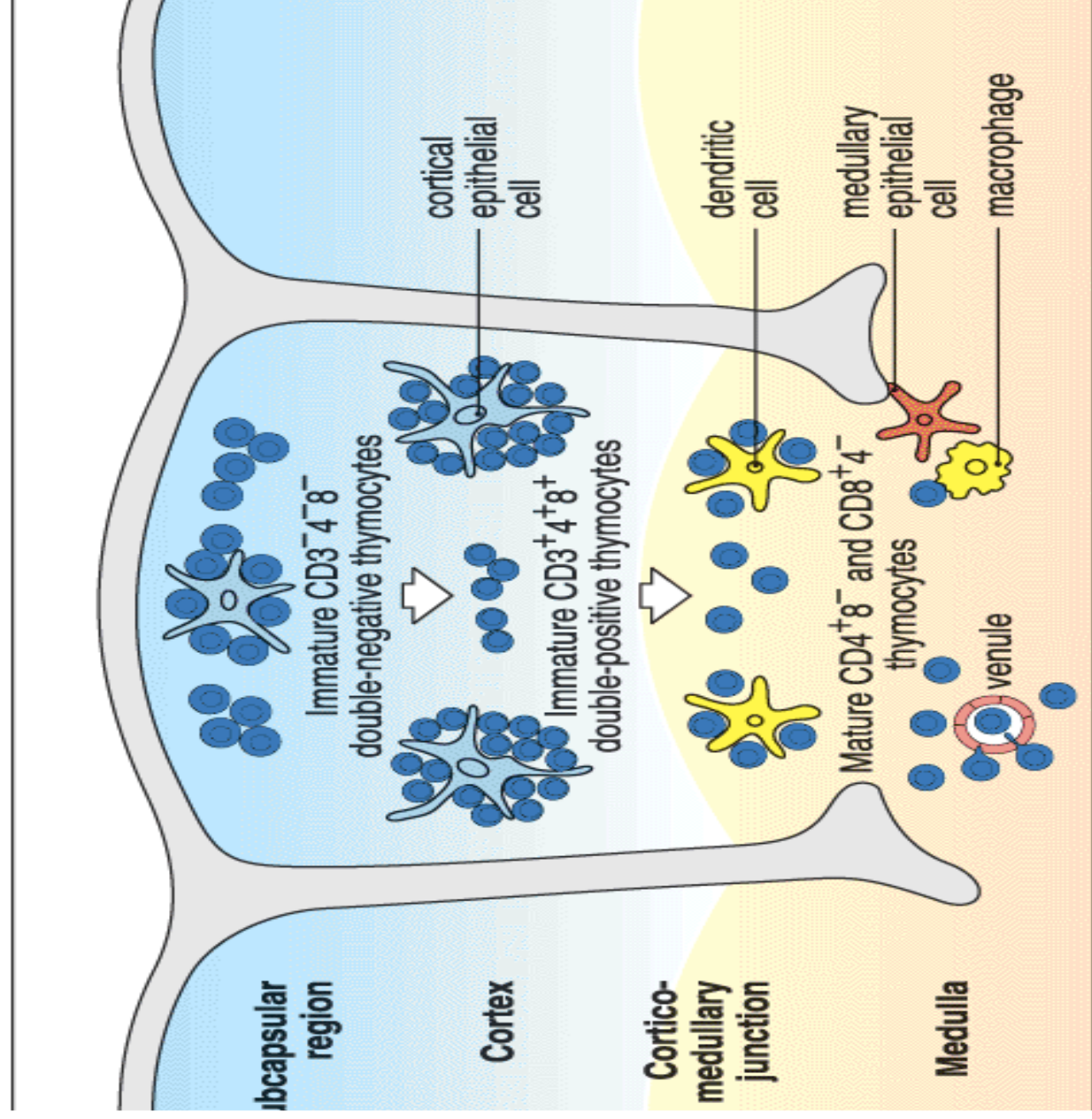
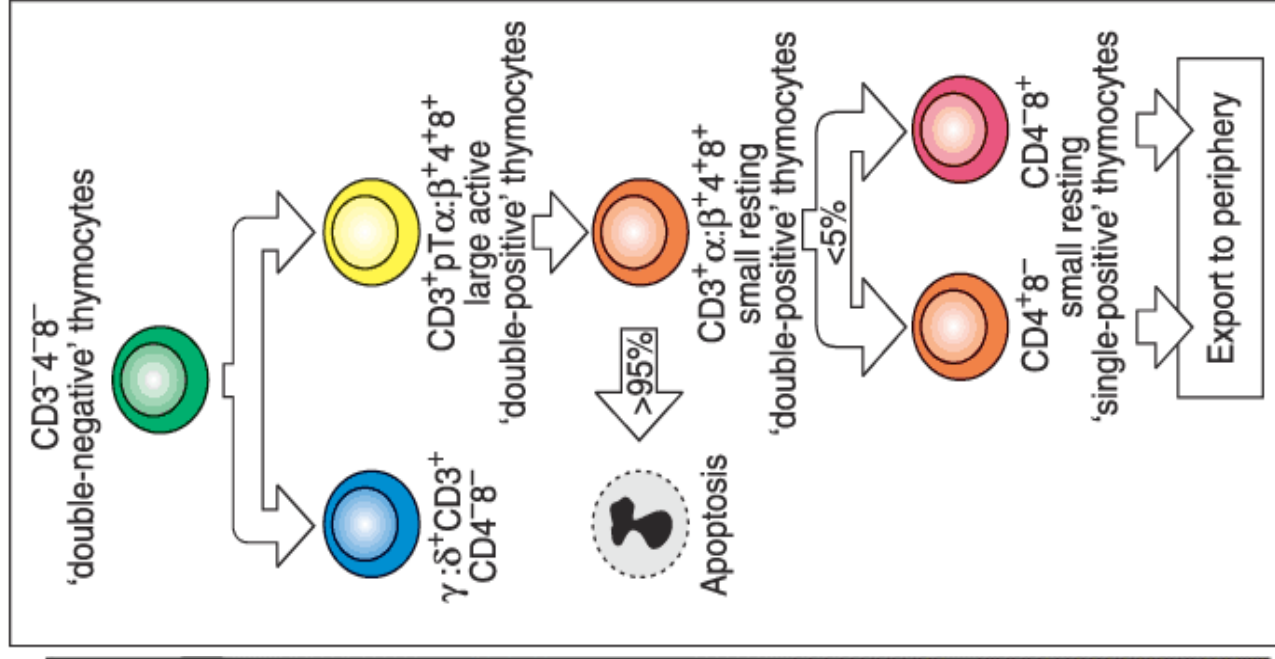


Fig 7.11 © 2001 Garland Science

Положителна селекция

- В кортекса на тимуса двойно положителните Т-л трябва да разпознаят и свържат „свои“ МНС клас I и клас II молекули, представени от кортикалните епителни клетки. Оцеляват само клетките, които се свържат ефективно с МНС. Това предотвратява тяхната апоптоза. Останалите несвързали се с МНС загиват в резултат на апоптоза.
- Това е рестрикция на избраните Т-л да разпознават антигена само в комбинация със собствени МНС молекули или **положителна селекция**

Т-кл развитие: Положительна селекция

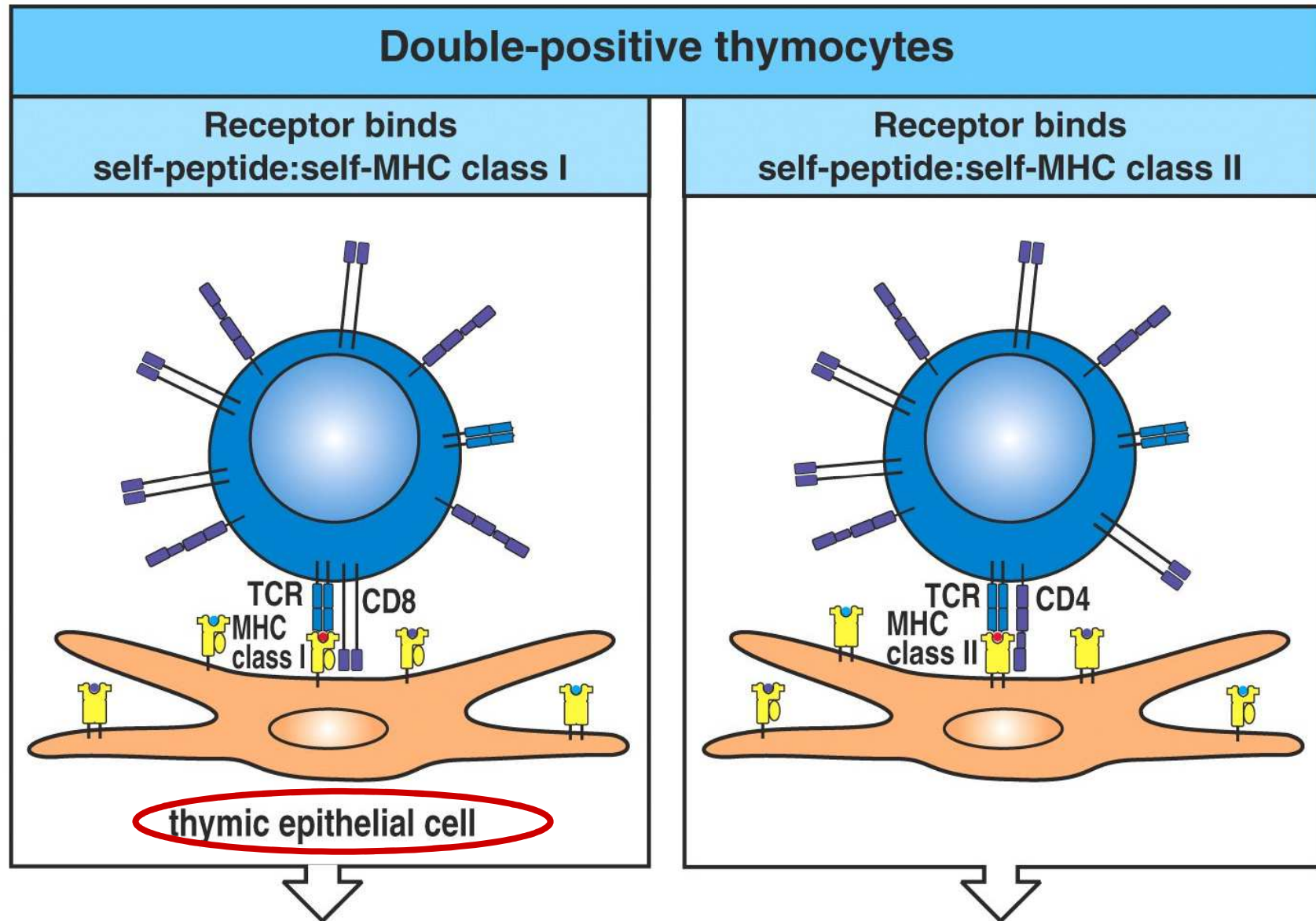


Figure 5-12 part 1 of 2 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

Отрицателна селекция

- Осъществява се при придвижването от кортекса в медулата, където Т-л се превръщат в единично позитивни $CD4+CD8-$ или $CD4-CD8+$. На границата между двете структури контактуват с дендритни клетки и макрофаги от костно-мозъчен произход.
- Т-л, които разпознават свои собствени пептиди, представени от свои собствени МНС, биват елиминирани чрез апоптоза или се довеждат до състояние на анергия (ареактивност)
- Тимусът съдържа повече наивни (незрели, преди среща с Аг) Т-л в по-млада възраст. По време на средната възраст всяка година тимусът се свива с около 3% и съответно продукцията на наивни Т-л намалява при по-възрастните индивиди

Съдбата на
ТИМОЦИТИТЕ
ЗАВИСИ ОТ
ВЪЗПРИЕМАНИТЕ
СИГНАЛИ

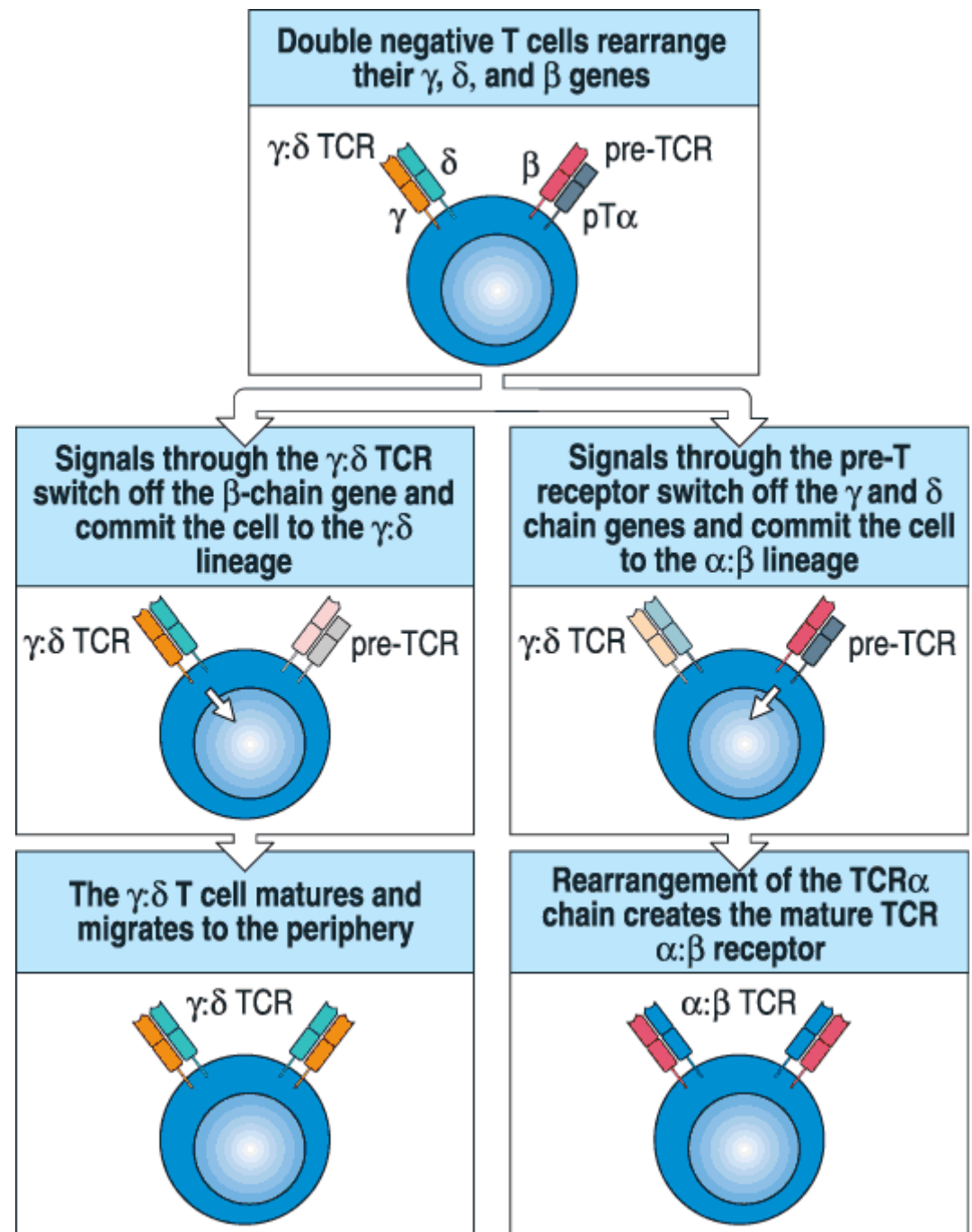


Fig 7.20 © 2001 Garland Science

Парадокс на узряването

- Теоретично положителната и отрицателната селекция трябва да унищожават всички развиващи се Т-л. Първият етап унищожава всички Т-кл, които не взаимодействат със собствени МНС, а вторият етап на негативна селекция елиминира клетките, които взаимодействат със собствени Аг. Възниква въпросът как изобщо имаме имунитет?
- Два модела обясняват това:
- 1. Хипотеза за **разликите в авидността** – силата на сигнала определя съдбата на Т-кл. Афинитета на ТсR за комплекса МНС-пептид и плътността на комплекса е източник на силата на сигнала, въз основа на който на свой ред зависи изхода за Т-л.

Парадокс на узряването

- 2. Хипотеза за **разликата в сигналите** – сигналите се трансформират по различен начин на всеки етап
- Естеството на сигнала от рецептора, вместо броят на свързаните рецептори отличава положителната от отрицателната селекция. Според тази хипотеза:
- МНС-собствен пептид, който предизвиква **непълнен сигнал** за активация довежда до положителна селекция
- МНС-собствен пептид, който предизвиква **пълнен сигнал** за активация довежда до отрицателна селекция

Активиране на Т клетките от Аг

Експресия на рецептор за Аг - TcR

```
graph TD; A[Експресия на рецептор за Аг - TcR] --> B[Тестиране за толерантност към собствени Аг (към свое)]; B --> C[Активиране от Аг];
```

Тестиране за толерантност
към собствени Аг (към свое)

Активиране от Аг

T-кл развитие: активация от Аг

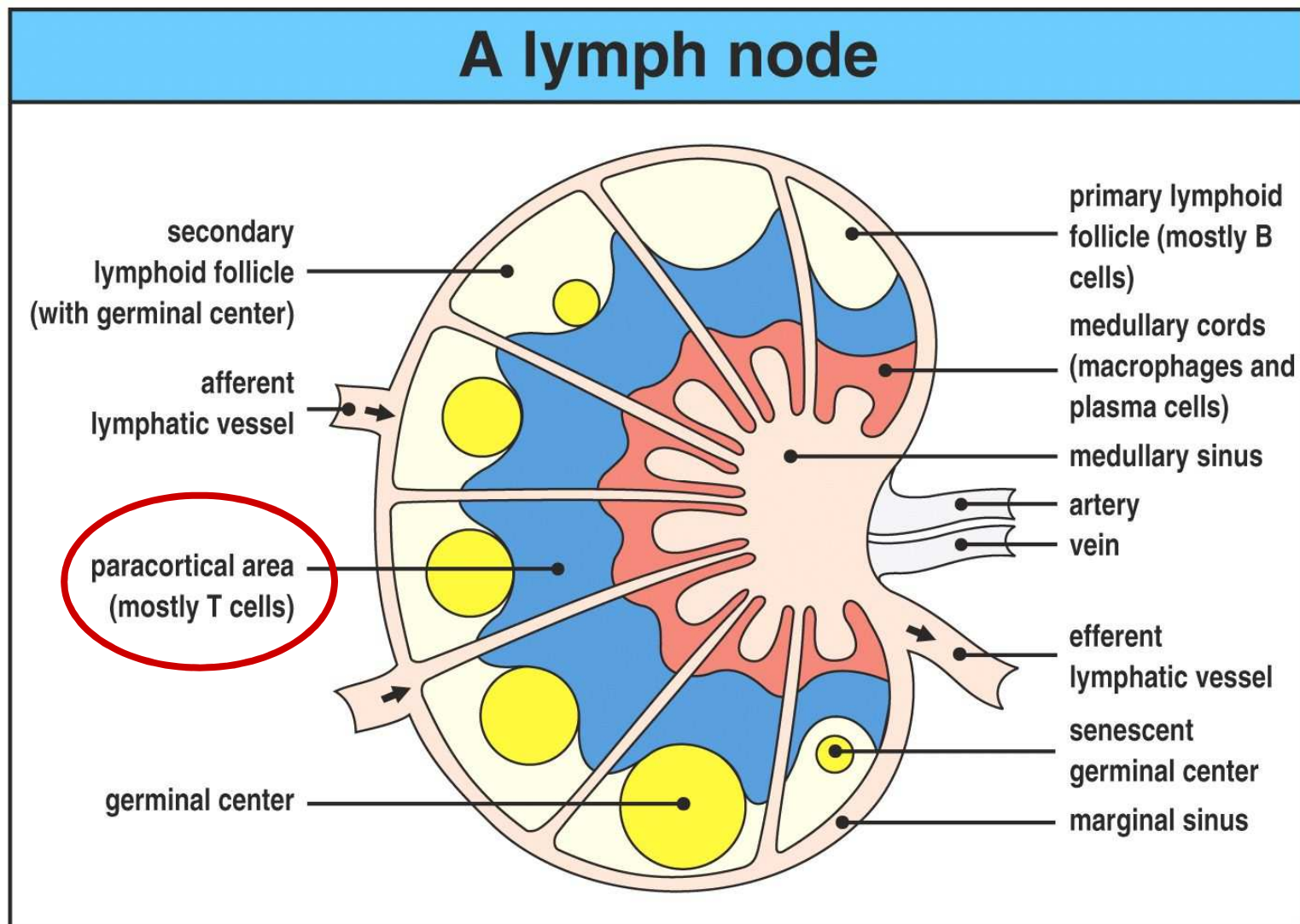


Figure 1-8 part 1 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Т-кл развитие: активация от Аг

- Както и В-л, автореактивните Т кл могат да бъдат елиминирани и в периферията чрез:
 - Активационно-индуцирана апоптоза
 - Анергия

Диференциация Т клетките

Експресия на рецептор за Аг - TcR

```
graph TD; A[Експресия на рецептор за Аг - TcR] --> B[Тестиране за толерантност към собствени Аг (към свое)]; B --> C[Активиране от Аг]; C --> D[Диференциация];
```

Тестиране за толерантност
към собствени Аг (към свое)

Активиране от Аг

Диференциация

Т клетъчно развитие: диференциация

- Активираните Т-кл претърпяват клонална експанзия (намножаване на активирания от Аг клон)
- Диференцират се в ефекторни или паметни клетки
 - Цитотоксични Т-л
 - Помощни Т-л (Th1, Th2)
 - Клетки на паметта Т-л

CD8+ Цитотоксични Т-кл

- CD8+, MHC клас I-рестриктирани разпознават вирус-инфектирани клетки
- Убиват инфектираните клетки директно, чрез индуциране на апоптоза
- Участват в унищожаването на трансплантирани чужди клетки и туморни клетки
- Клетките убивани от CTL се наричат **прицелни** клетки

Функция на CD8+ цитотоксичните Т-кл

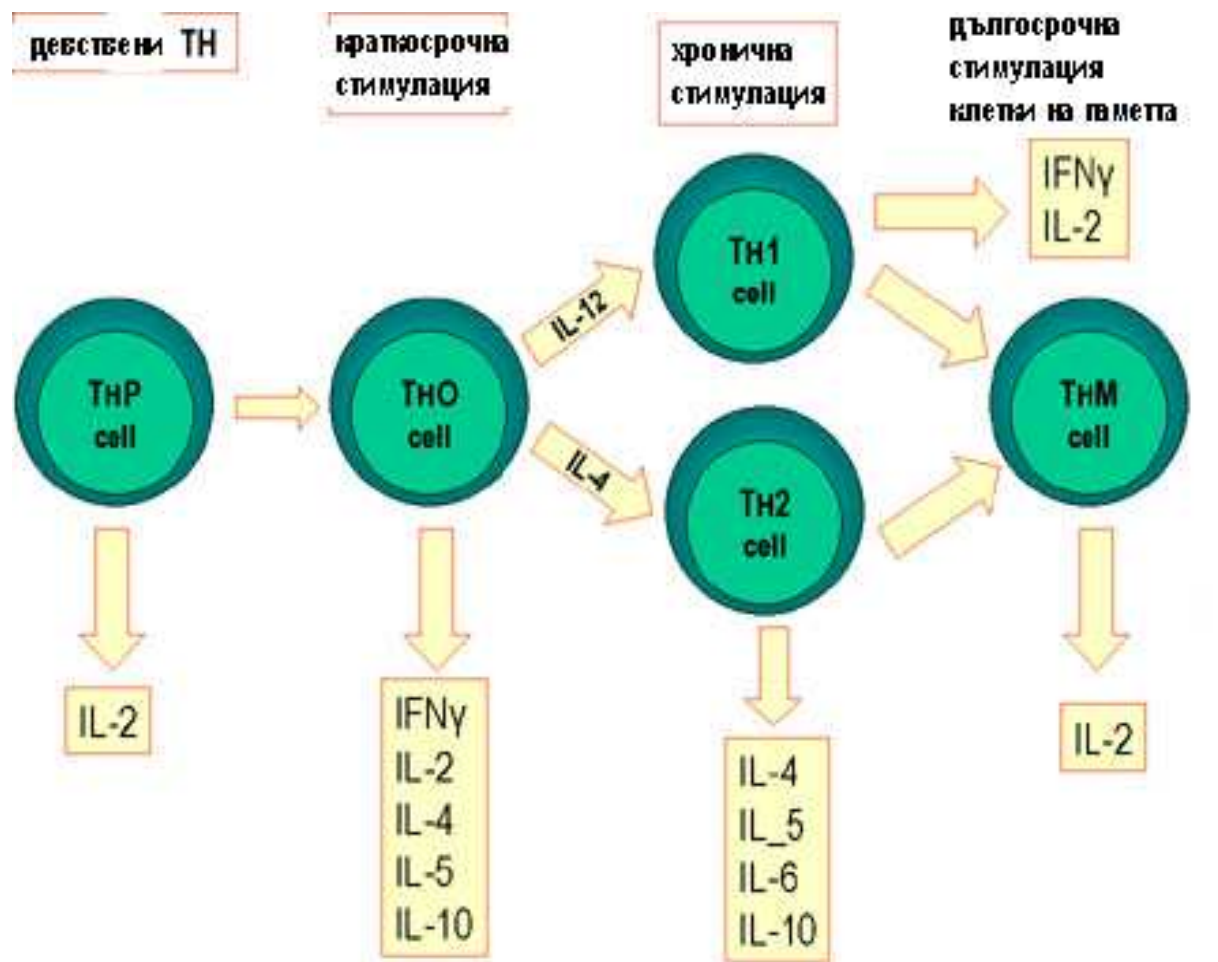
- Убиват чрез инжектиране на **перфорини** в инфектираните клетки
- Втори механизъм, използван от TCL е лизиране на клетката от литични ензими – **гранзими**
- Клетъчната мембрана се лизира и прицелната клетка умира от апоптоза
- След като TCL се справи с една прицелна клетка, тя се отделя от нея и е готова да атакува друга прицелна клетка

CD4+ помощни Т-кл

- Активират се от екзогенни Аг.
- Екзогенните Аг се представят от APC
- CD4+ взаимодейства с МНС клас II.
- APC са фагоцитиращи макрофаги и дендритни клетки, а също и В-кл
- Освобождават цитокини, които привличат други клетки в мястото на взаимодействие
- CD4+ кл участват в отговора срещу почти всички белтъчни Аг

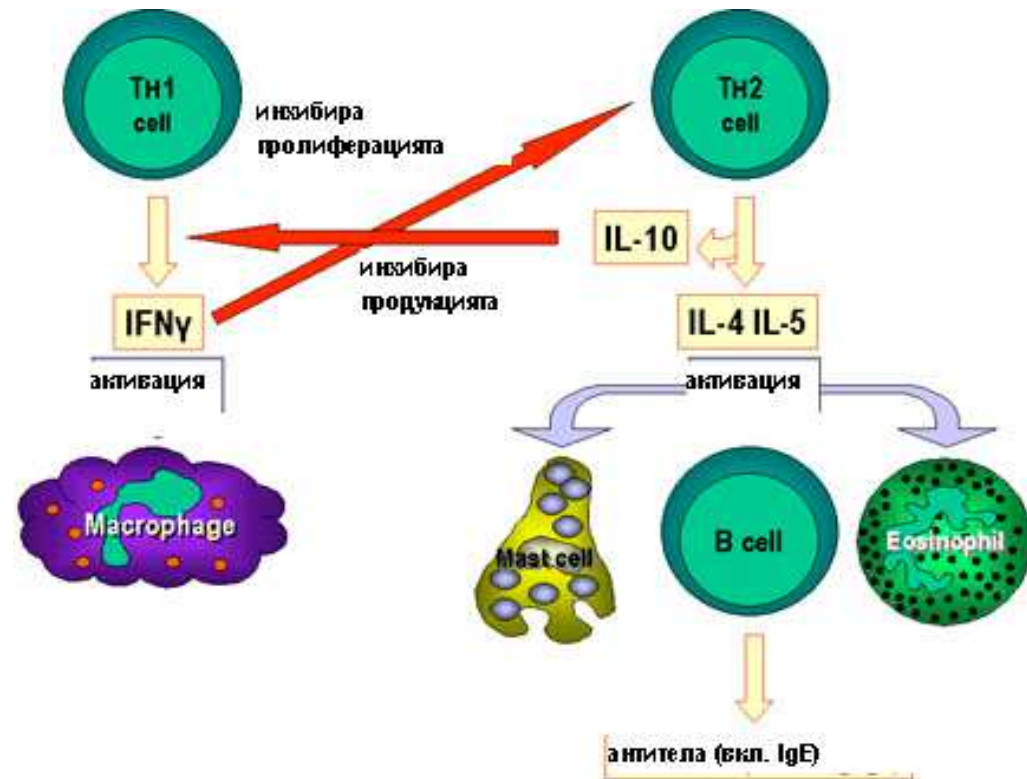
Субпопулации на Th клетки

- Разделянето им се базира на цитокиновия профил на клетката
 - Th0
 - Th1
 - Th2
- Диференциация, определена от цитокините
 - Зависи от вида на антигена
 - IL-4 - Th2 клетки
 - IL-12 - Th1 клетки



Субпопулации Th клетки

- Th1 цитокини
 - Активират макрофагите
 - Поколение от Tc
- Th2 цитокини
 - Активират В лимфоцити
 - Активират гранулоцити



Субпопулации Th клетки

- Регулация
 - Антиген
 - $\text{INF-}\gamma$ инхибира пролиферацията на Th2 клетки
 - IL-10 инхибира продукцията на $\text{INF-}\gamma$

