

Corso di Immunologia - III anno  
Prof. Paolini

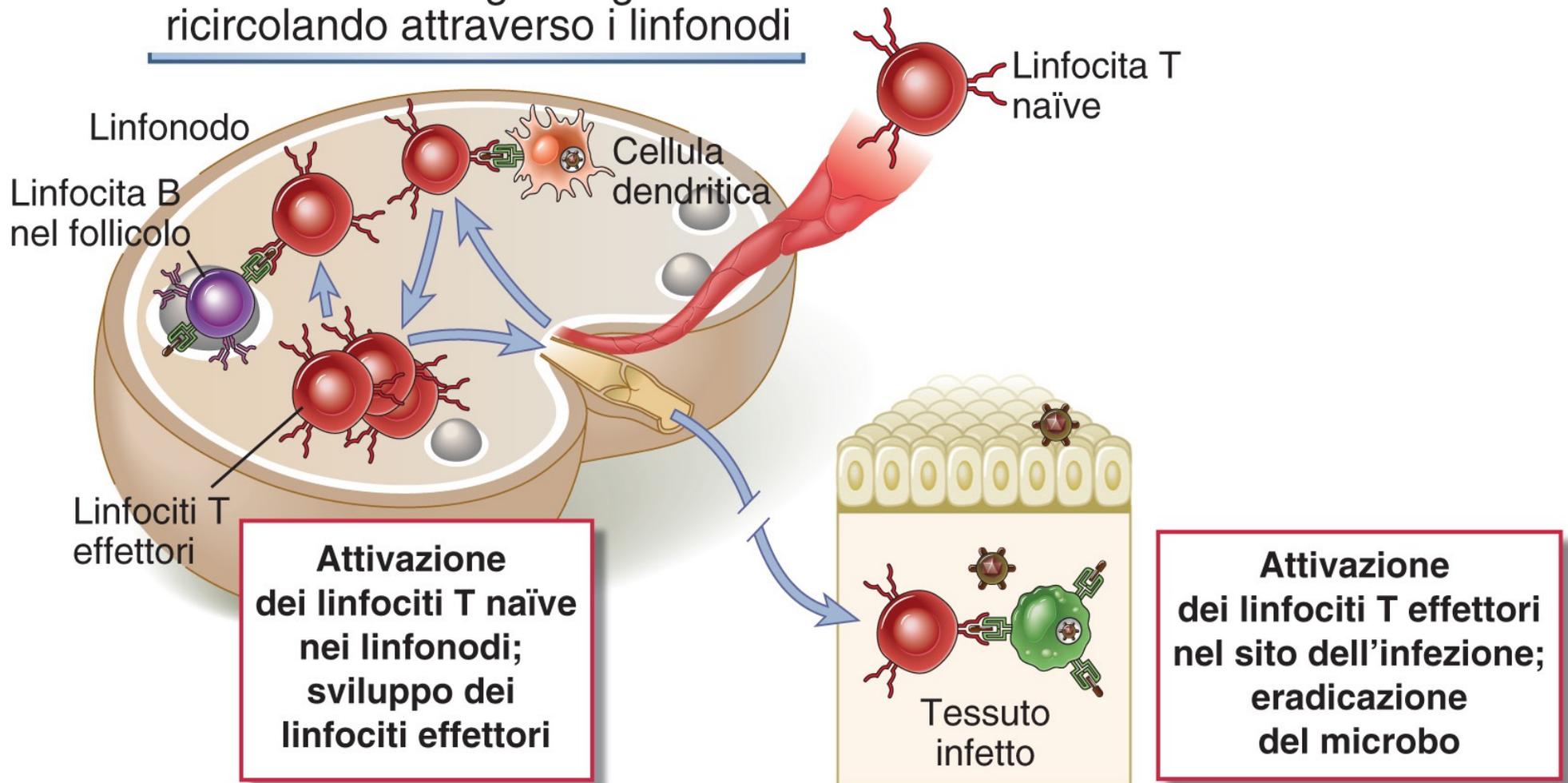
Lezione 26/10/2023

“L'attivazione dei linfociti T”

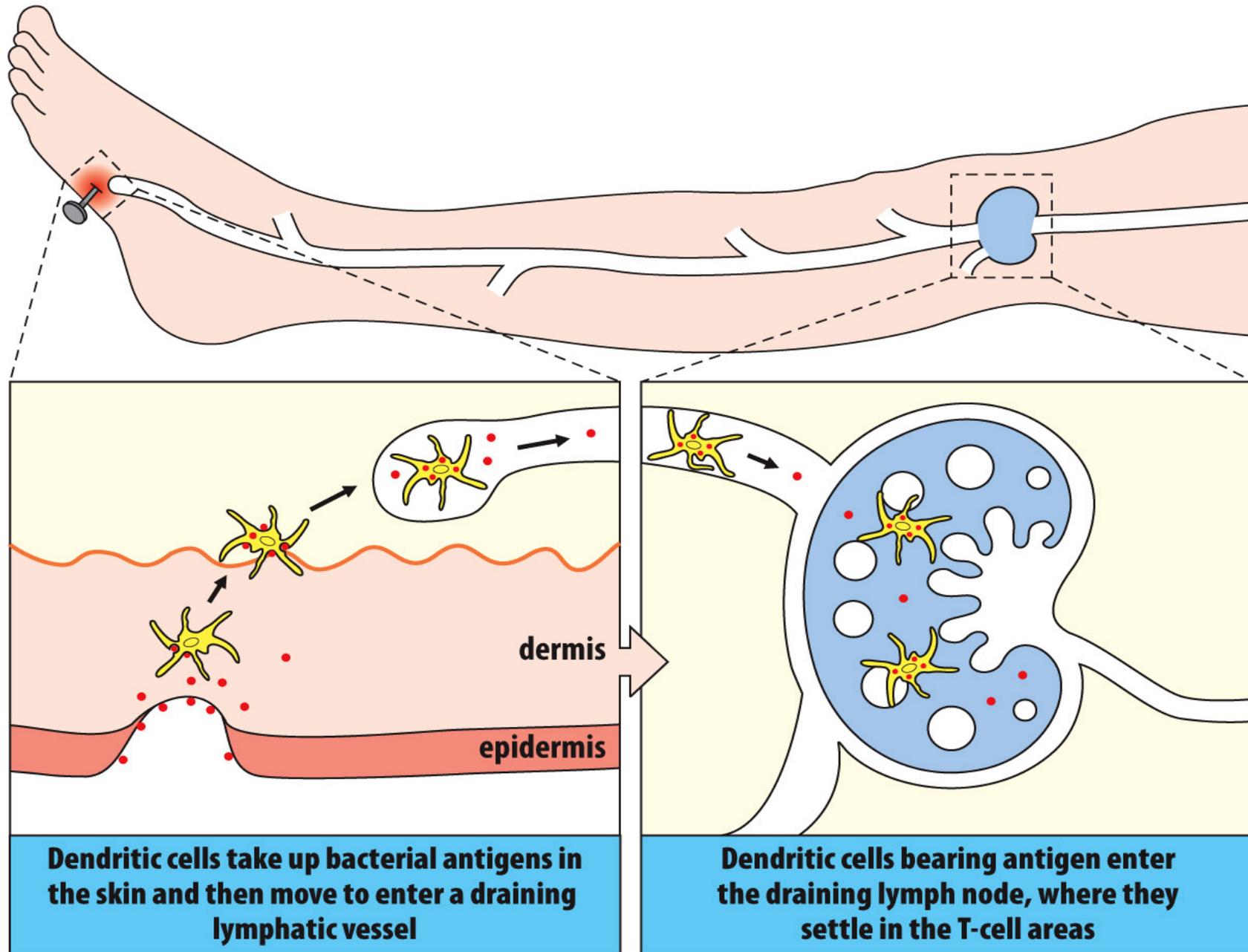
Il materiale presente in questo documento viene distribuito esclusivamente ad uso interno e per scopi didattici.

# L'ATTIVAZIONE DEI LINFOCITI T naive e effettori

I linfociti T naive  
individuano gli antigeni  
ricircolando attraverso i linfonodi

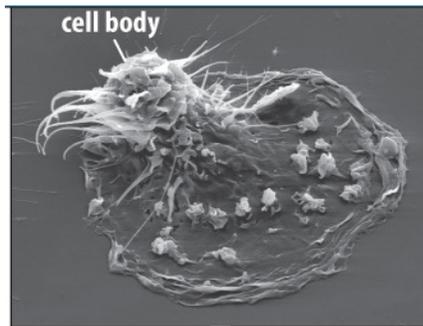


Le cellule dendritiche captano l'antigene presente nei tessuti, migrano nei linfonodi drenanti e presentano gli antigeni alle cellule T vergini



# Durante il viaggio fino ai linfonodi maturano cambiando forma, fenotipo e funzioni

## DC immatura



**Cellula dendritica immatura**

Cattura dell'antigene

++

– o bassa

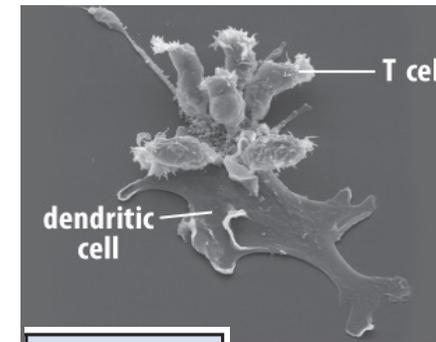
~10 ore

~10<sup>6</sup>

*Segnali derivati dai patogeni*



## DC matura



**Cellula dendritica matura**

Presentazione dell'antigene ai linfociti T

–

++

>100 ore

~7 × 10<sup>6</sup>

Funzione principale

Espressione dei recettori per l'Fc e dei recettori per il mannosio

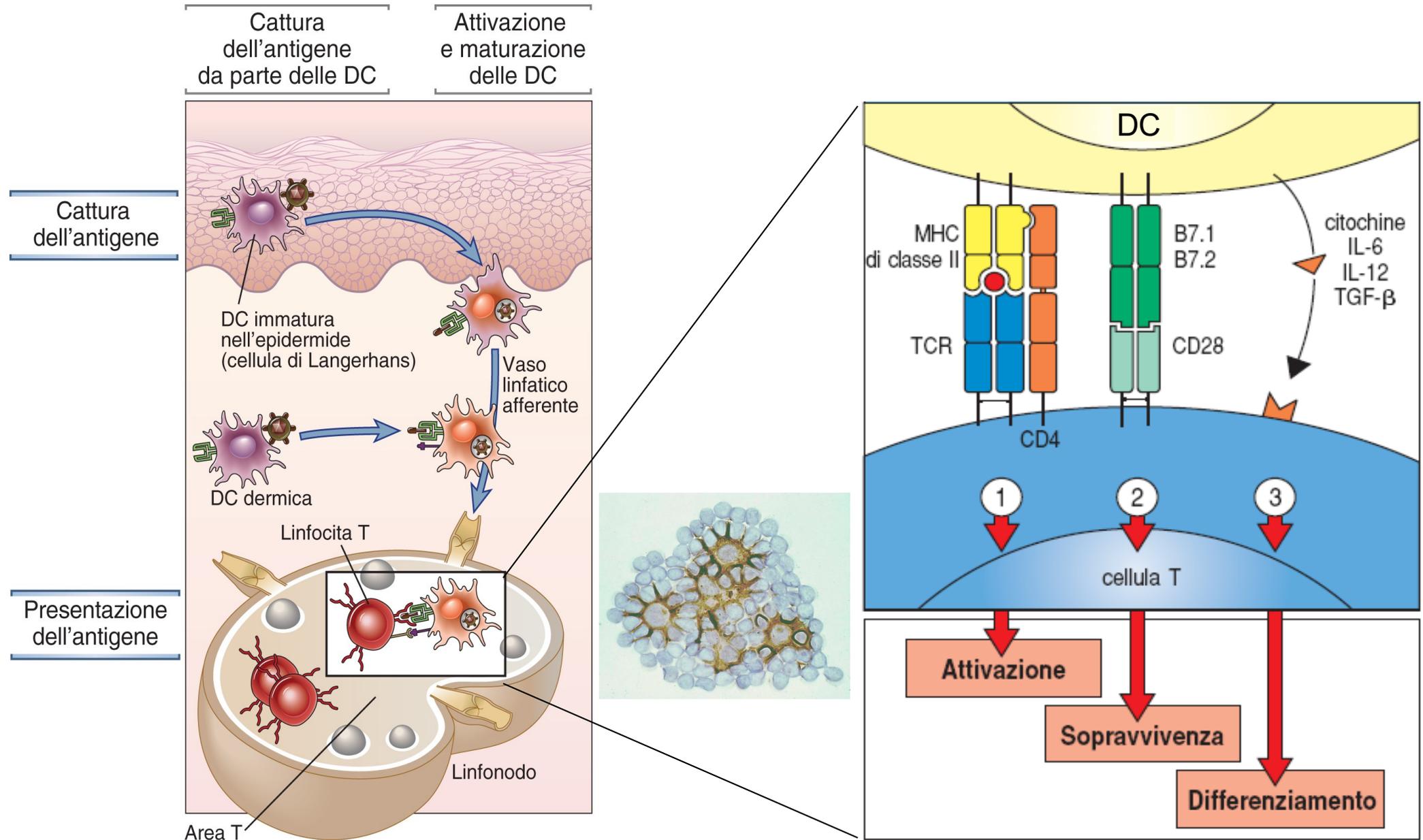
Espressione delle molecole coinvolte nell'attivazione dei linfociti T: B7, ICAM-1, IL-12

Molecole MHC di classe II

Emivita

Numero di molecole di superficie

# Le DC mature forniscono ai linfociti T **naive** tutti i segnali di cui hanno bisogno per diventare linfociti effettori

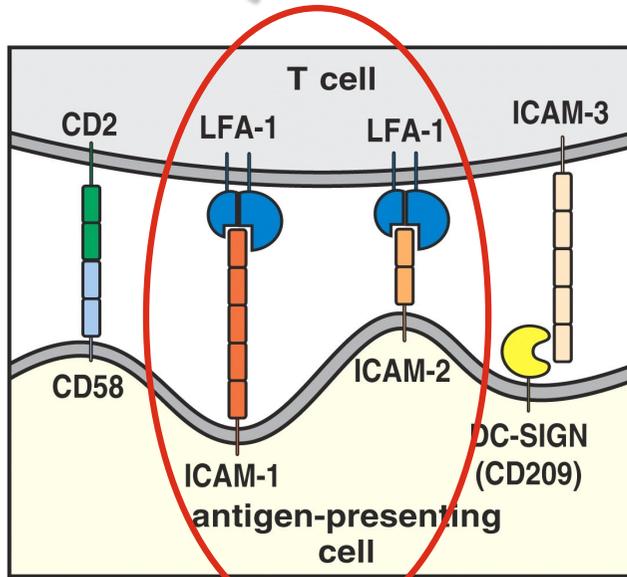


**Come comunicare? Incominciando a toccarsi**

**Molecole d'Adesione InterCellulare (ICAM) della superfamiglia delle immunoglobuline che legano le integrine**

Nella zona di contatto tra APC e linfocita T si localizzano le molecole coinvolte nella propagazione del segnale

# LFA-1 (CD11a/CD18)

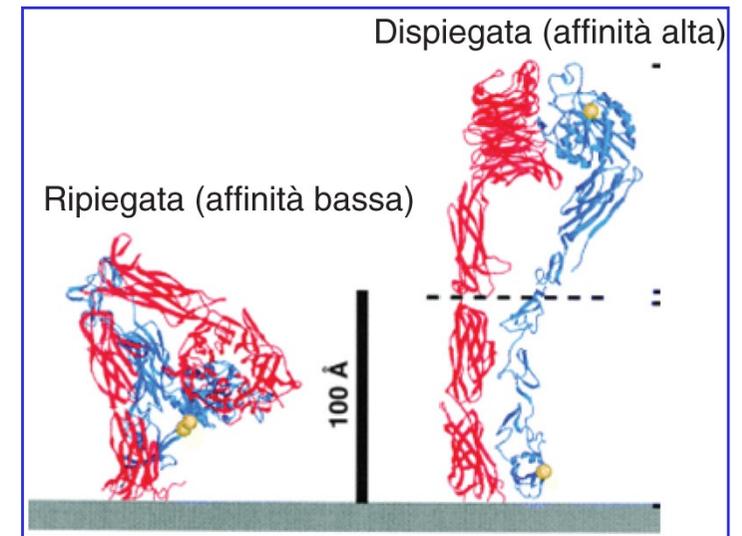
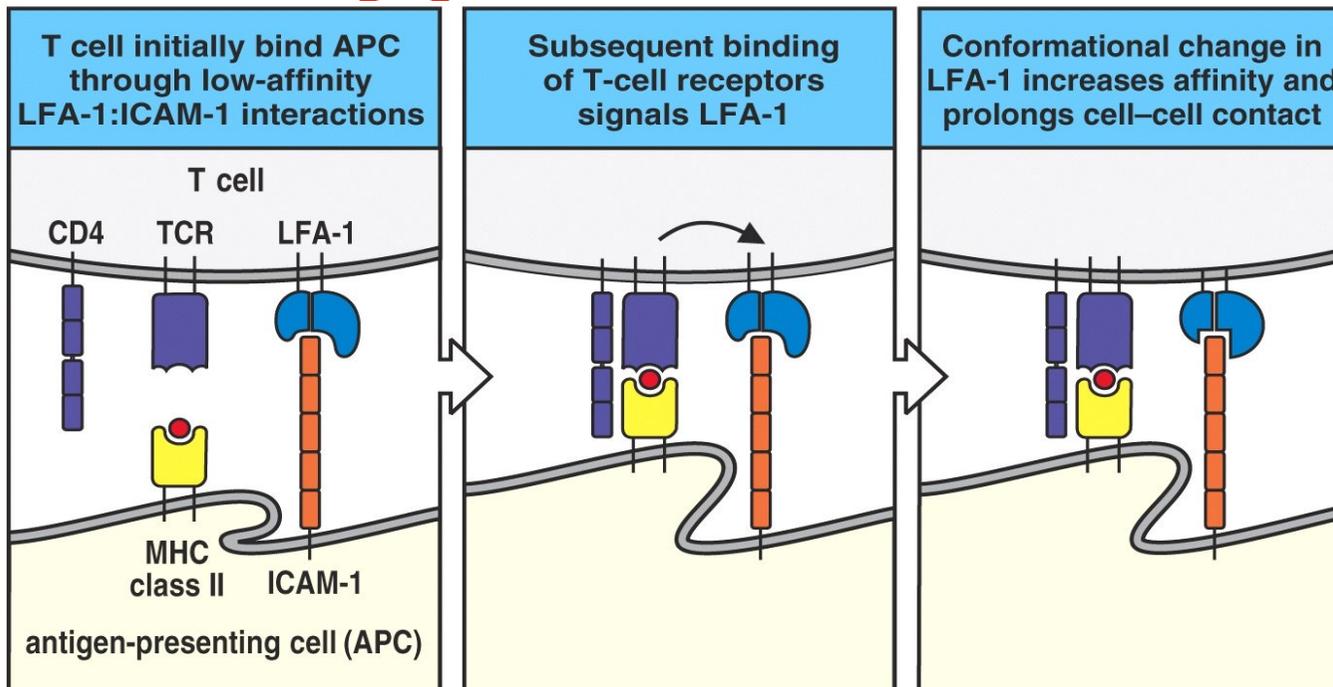


-Appartiene alla famiglia delle integrine

-I suoi ligandi sono ICAM-1 e 2 espressi dalle cellule APC ed endoteliali

-E' responsabile dell'adesione tra:

- linfocita T/APC
- linfocita citotossico/cellula bersaglio
- leucociti/endotelio



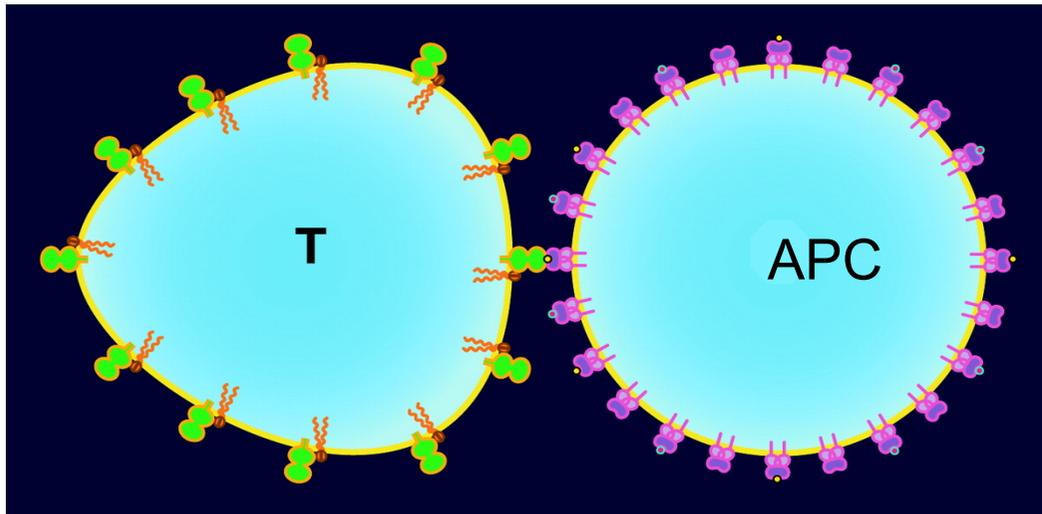
L'affinità di LFA-1 per i suoi ligandi è regolata dal riconoscimento dell'antigene!

Come comunicare? Incominciando a toccarsi

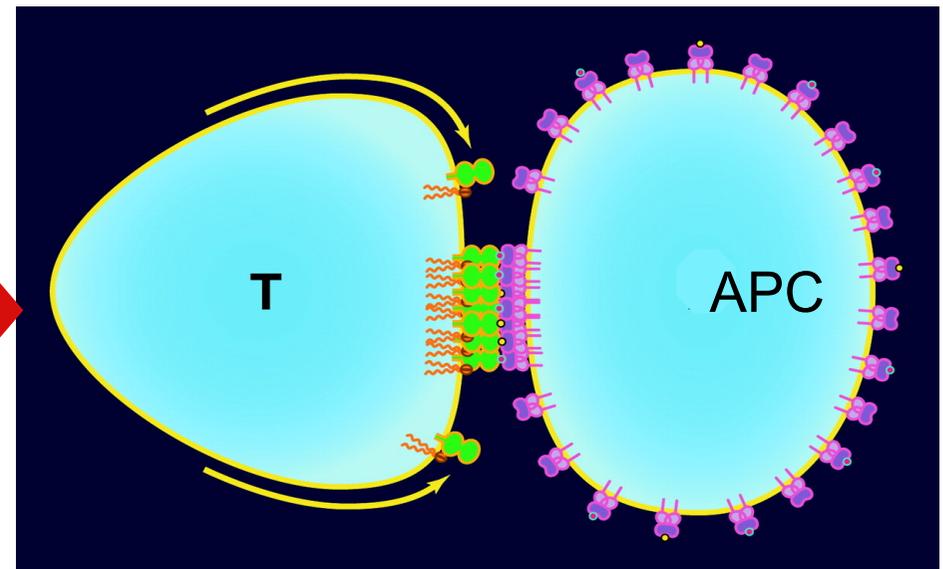
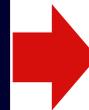
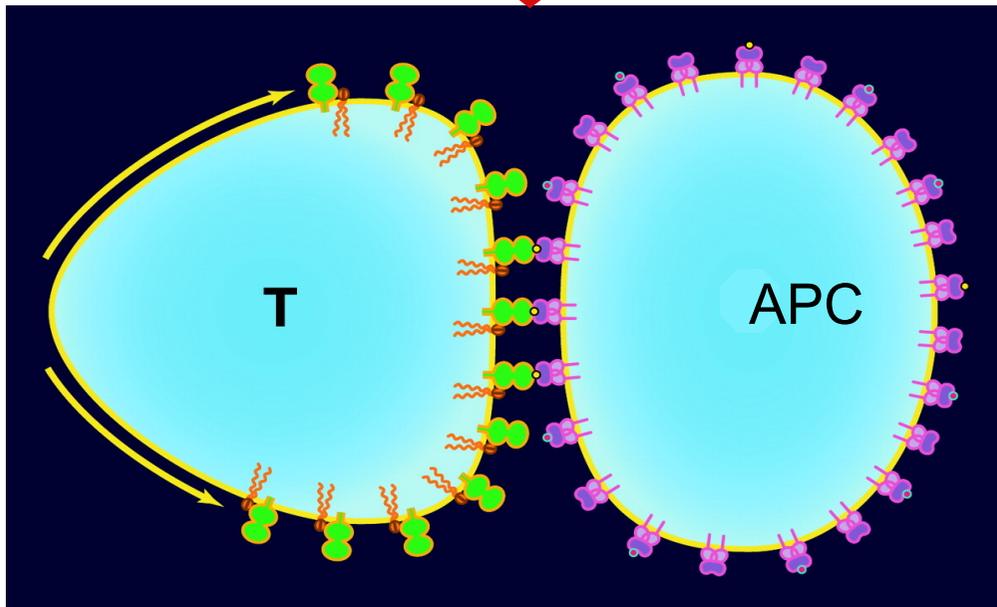
Molecole d'adesione intracellulare (ICAM) della superfamiglia delle immunoglobuline che legano l'integrine

**Nella zona di contatto tra APC e linfocita T si localizzano le molecole coinvolte nella propagazione del segnale**

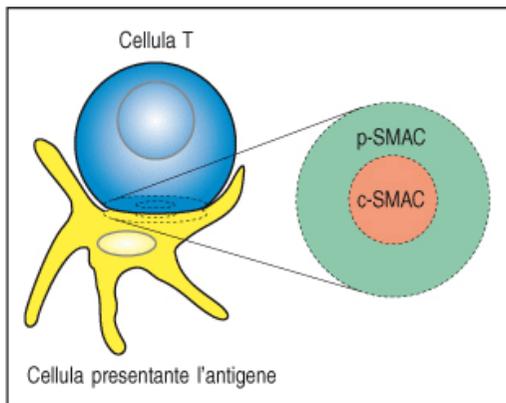
# Il riconoscimento dell'antigene induce il reclutamento del TCR nel sito contatto tra il linfocita T e l'APC



Dopo aver interagito con il complesso MHC-peptide il TCR trasloca in un micro dominio della membrana (**LIPID RAFT**) ricco in colesterolo, acidi grassi insaturi, sfingomieline e glicosfingolipidi



# La sinapsi immunologica

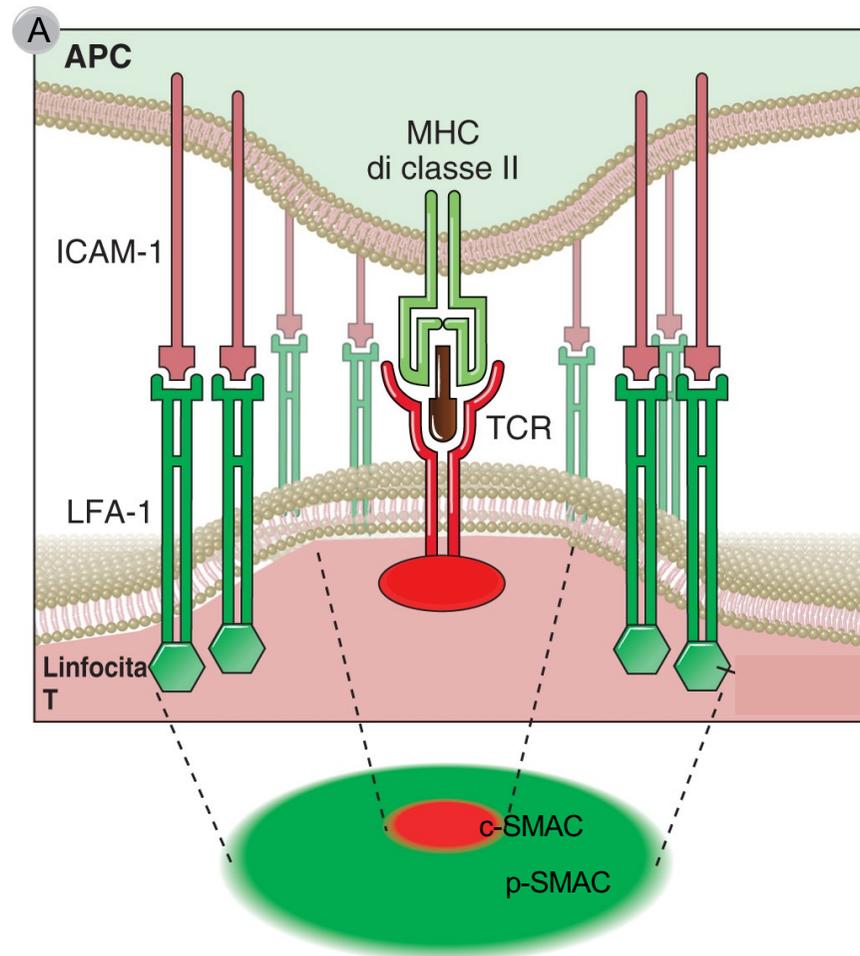


La regione di contatto del linfocita T con l'APC è chiamata

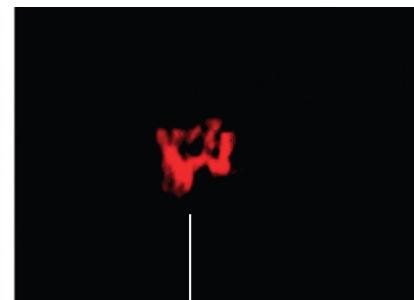
**sinapsi immunologica**

Nella sinapsi tutte le proteine che interagiscono tra loro formano una struttura nota come Complesso di Adesione SopraMolecolare

**SMAC** = SupraMolecular Activation Cluster



LFA-1



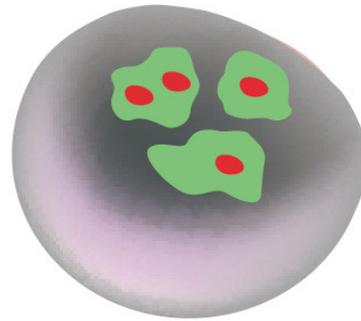
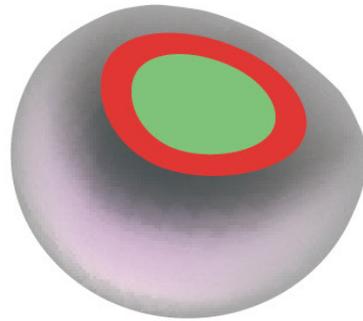
TCR



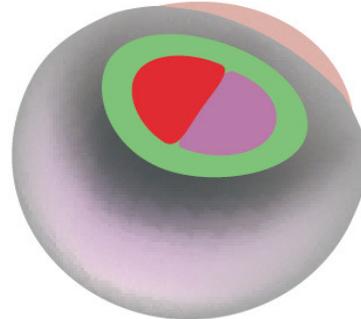
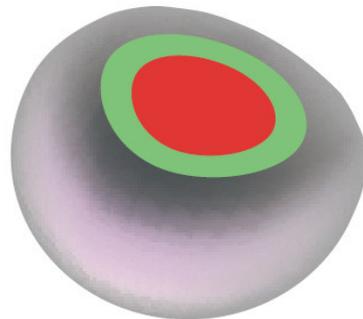
# The immunological synapse in different types of T cell interactions

Helper T cell

Cytolytic T cell

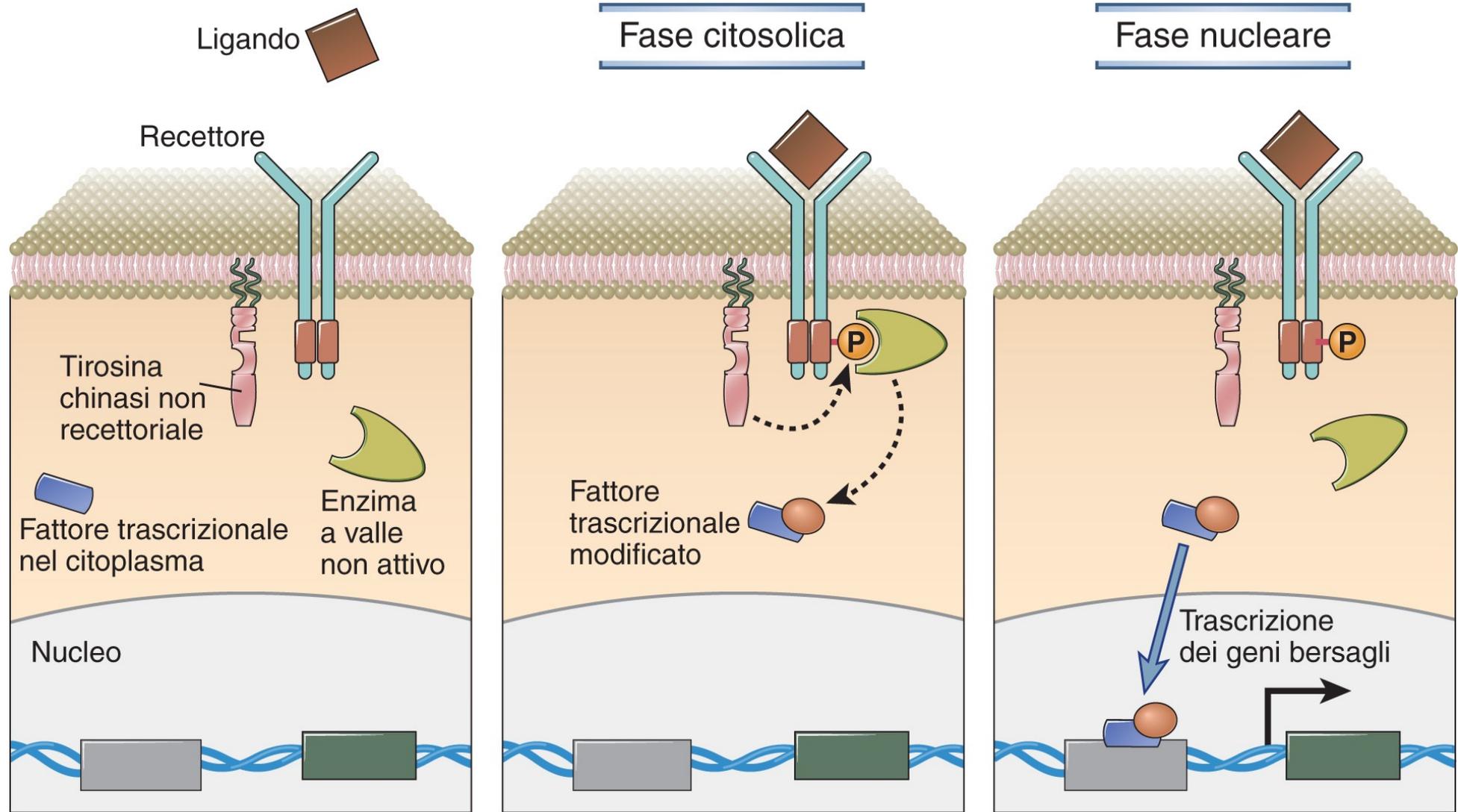


Time

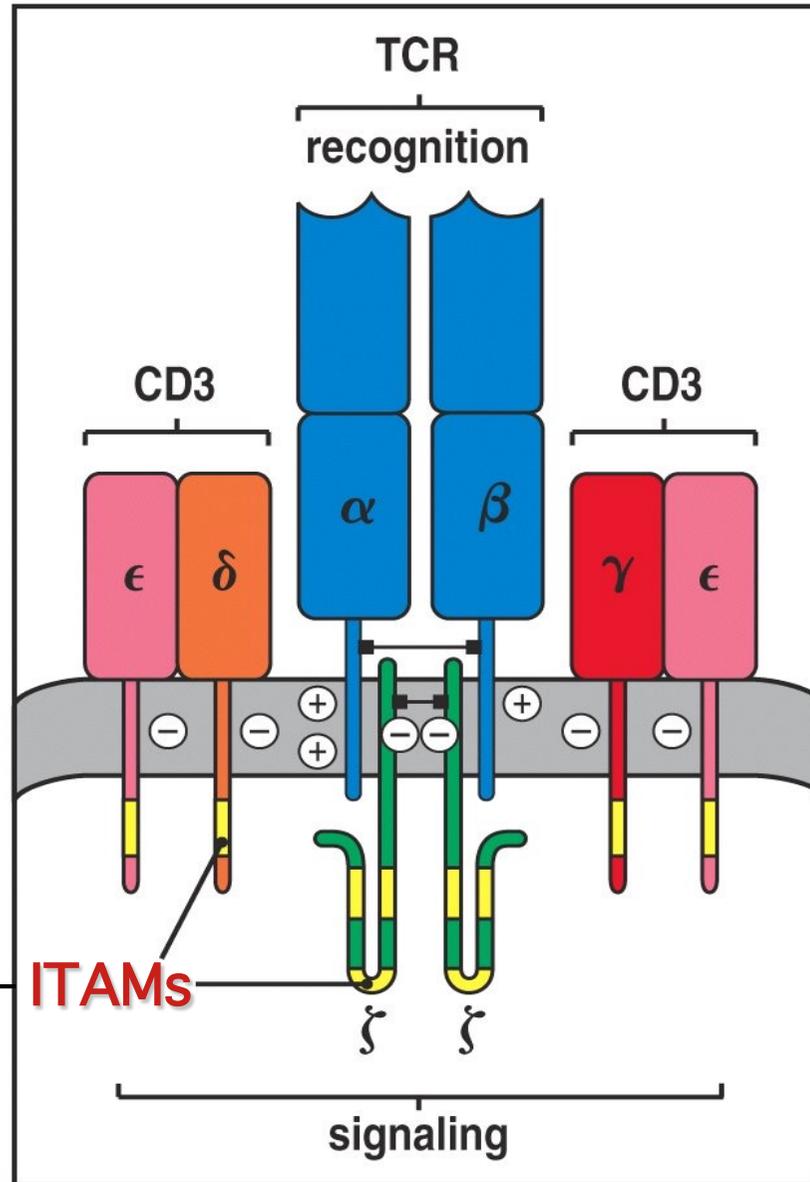


- TCR
- LFA-1/talin
- lytic granules

# La trasduzione del segnale da parte di recettori di membrana prevede una fase citosolica e una nucleare



# Nei linfociti T il TCR è associato al complesso CD3/ $\zeta\zeta$ responsabile della trasduzione del segnale



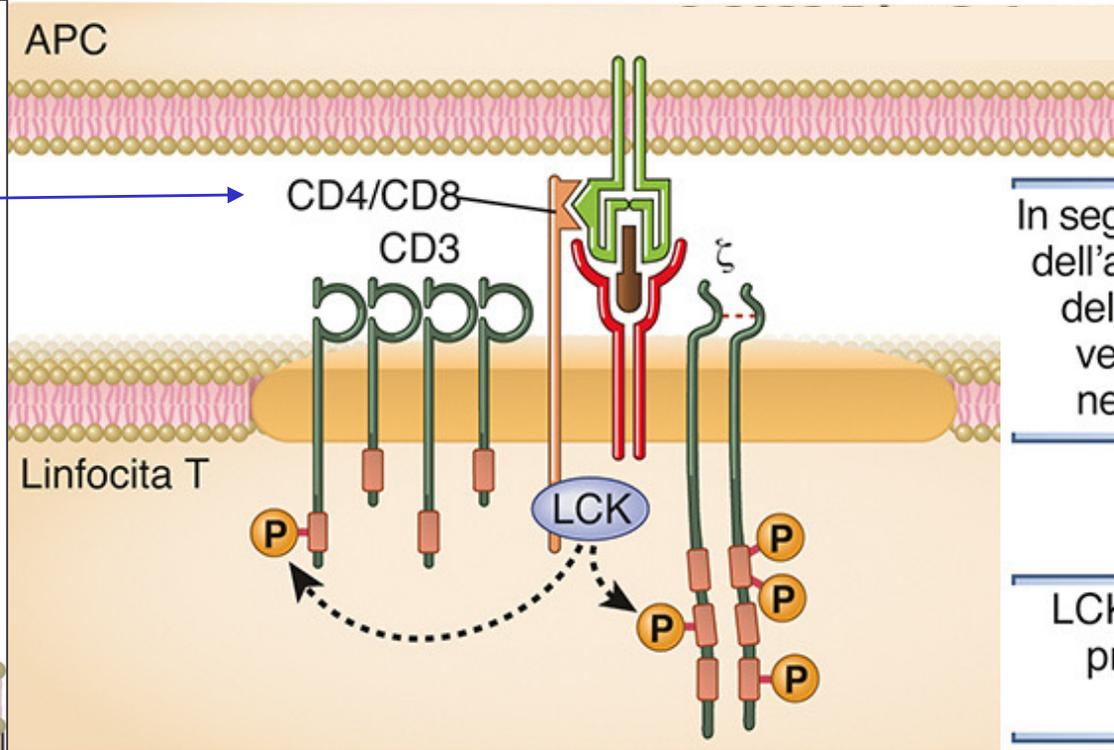
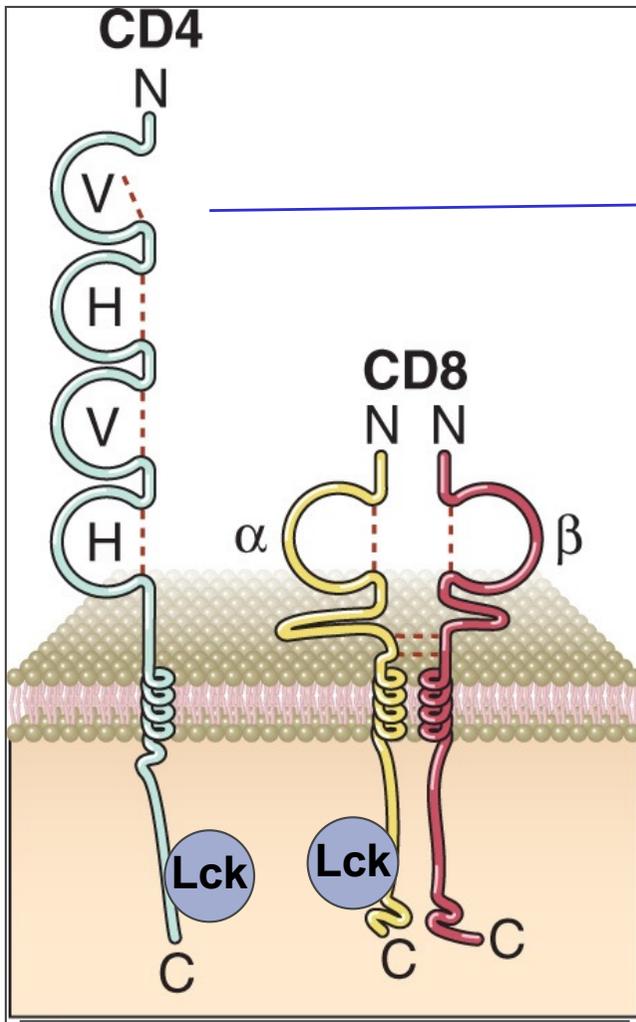
ITAM motif:

**YxxL/IxxxxxxYxxL/I**

Sito di legame per  
proteine contenenti SH2

Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif

# CD4 e CD8 partecipano agli eventi precoci di trasduzione del segnale = consentono l'attivazione della tirosino chinasi Lck



In seguito al riconoscimento dell'antigene il complesso del TCR e i corecettori vengono raggruppati nei raft di membrana

LCK fosforila le tirosine presenti nelle ITAM della catena ζ

## Lck appartiene alla famiglia delle tirosino chinasi Src

SH3: lega peptidi ricchi di residui di prolina  
SH2: lega residui di tirosina fosforilati

La loro attività è regolata da residui di tirosina presenti nel dominio chinasi

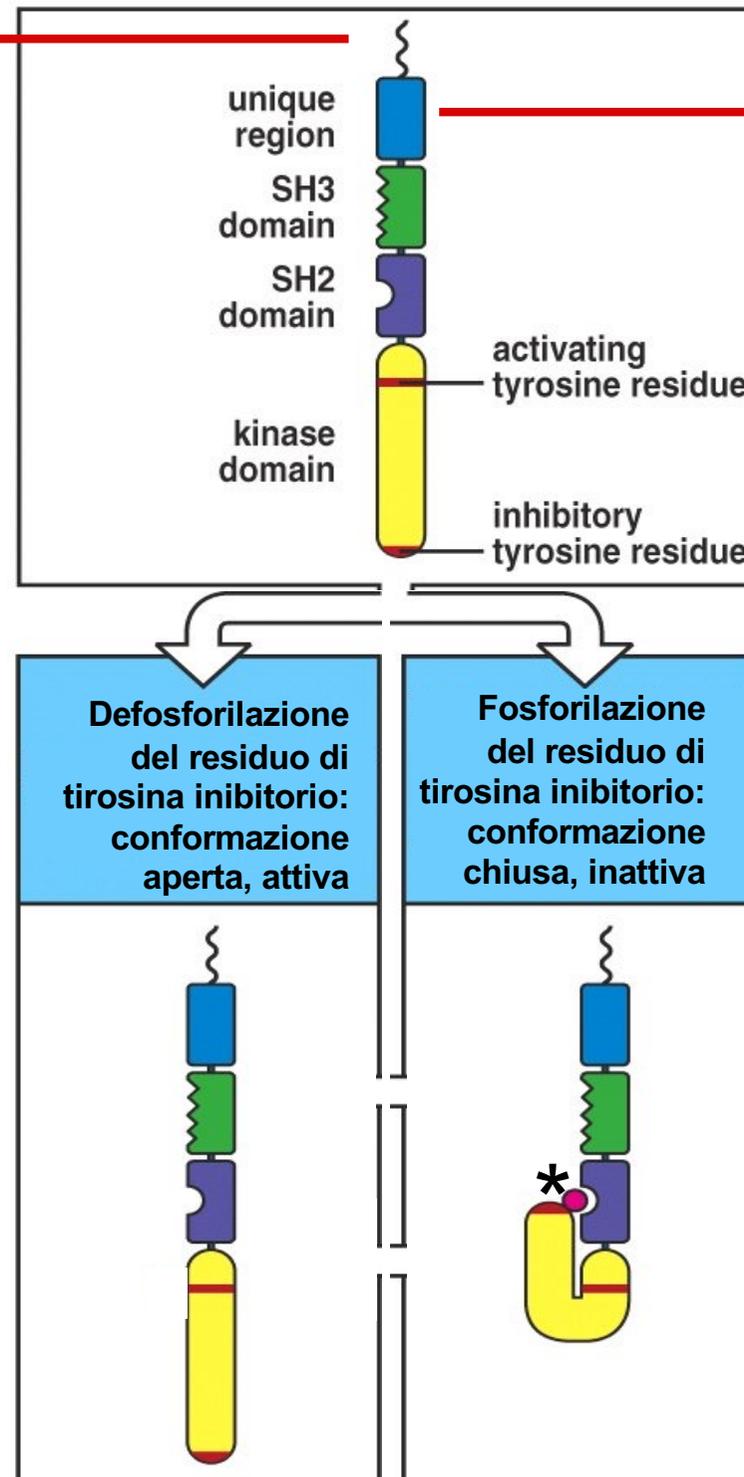
Gli enzimi responsabili degli eventi di fosforilazione/defosforilazione del residuo inibitorio sono:

Csk= tirosino chinasi

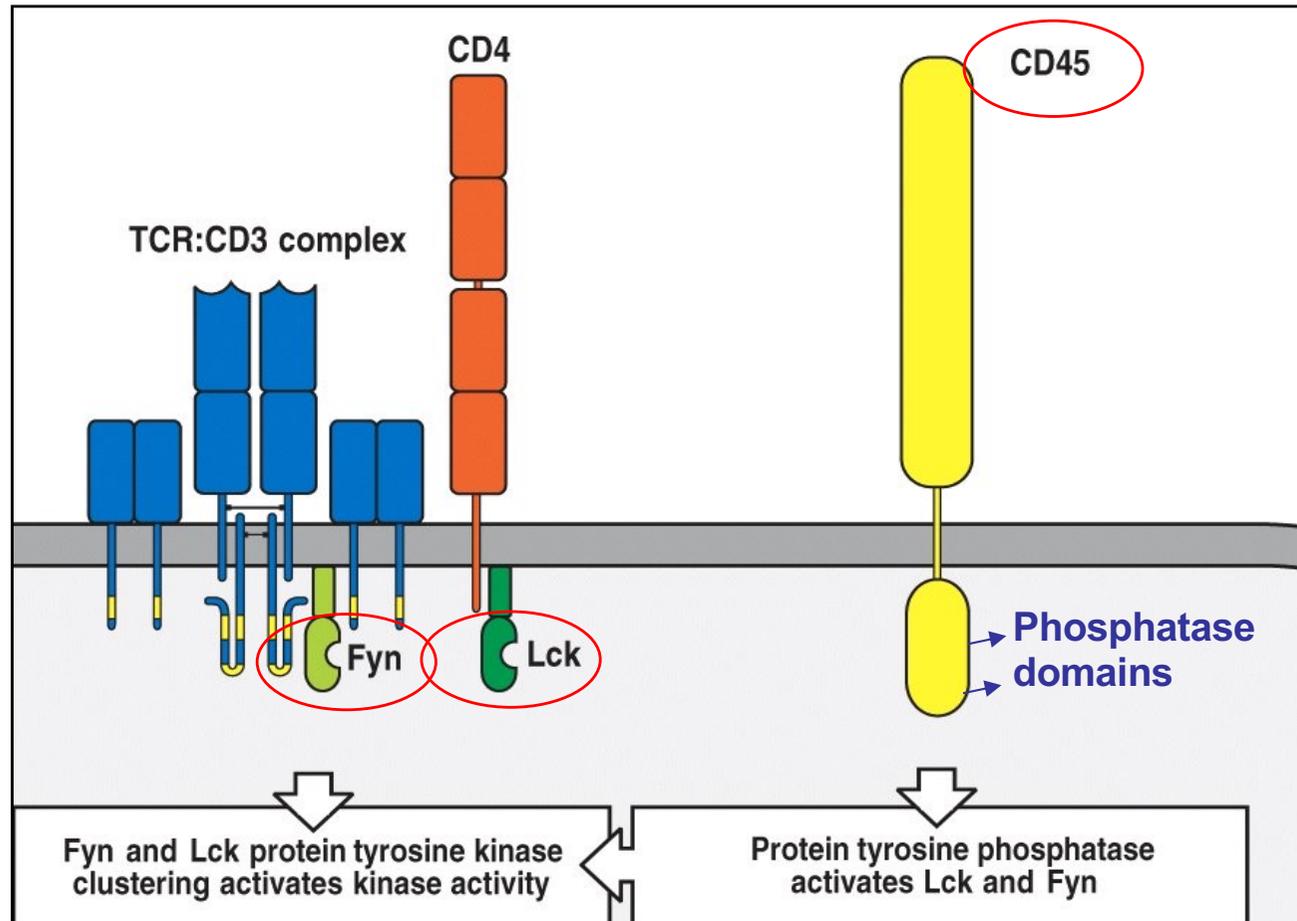
CD45= tirosino fosfatasi

Sito di legame alla membrana

Sito di legame ai corecettori CD4/CD8

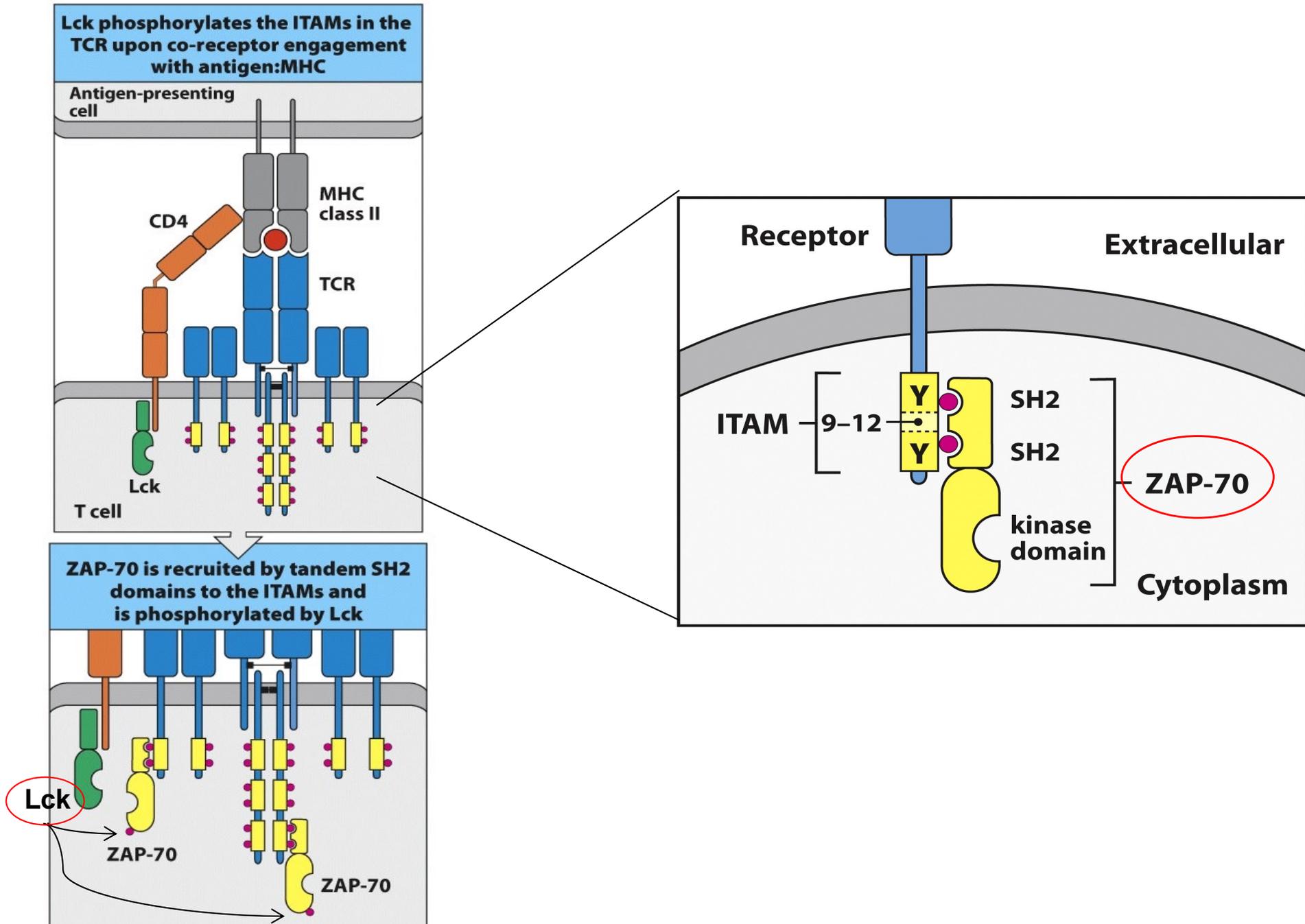


# Proteino chinasi e fosfatasi sono coinvolte nell'attivazione dei linfociti T

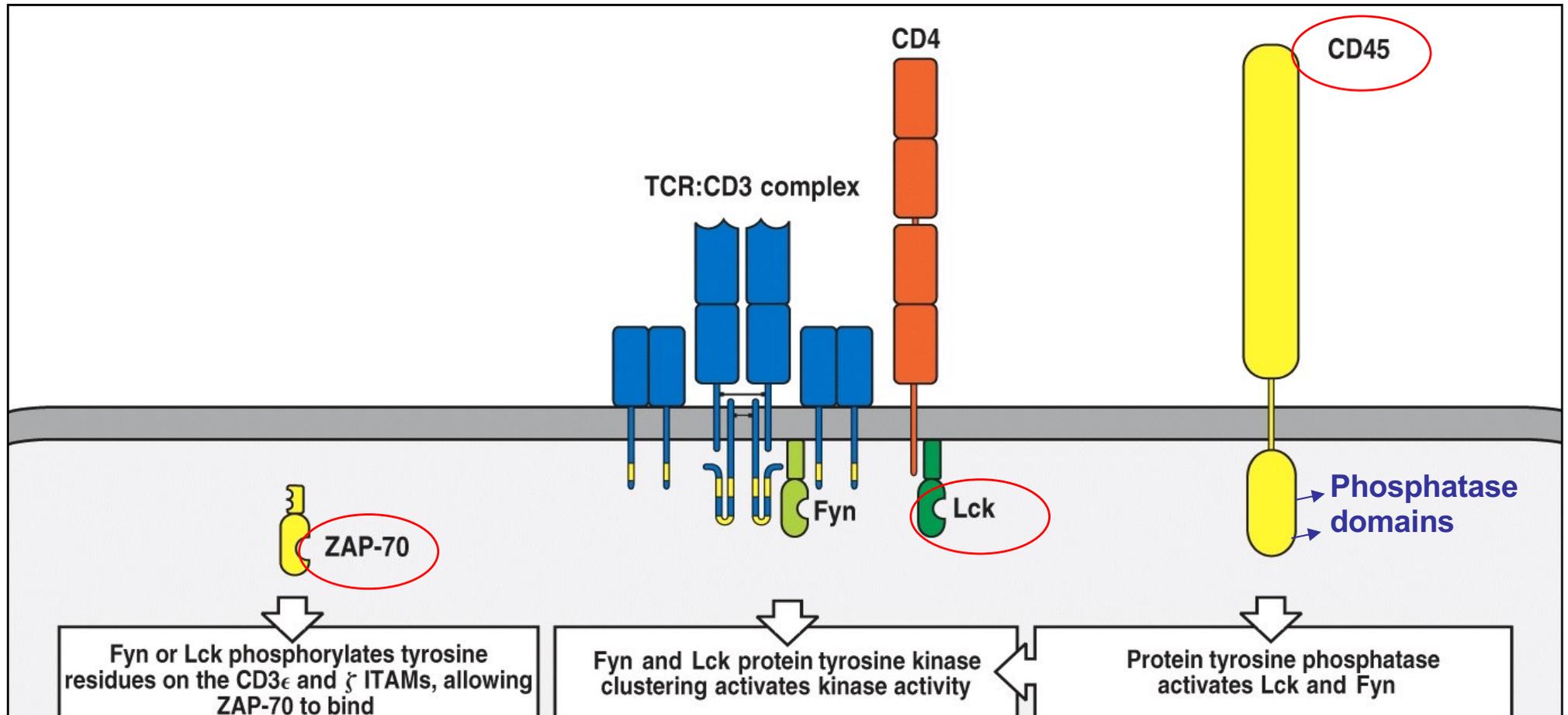


**CD45 = L-CA = Leukocyte Common Antigen**

# Eventi di attivazione prossimali alla membrana

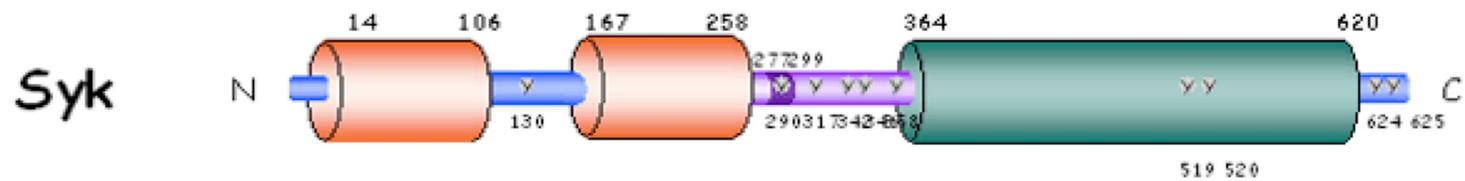


# Principali enzimi coinvolti nell'attivazione dei linfociti T

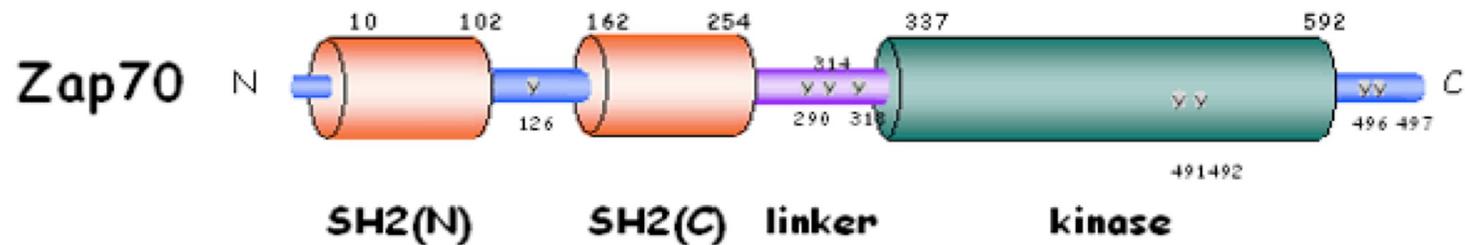


# Structure of the related Syk and Zap-70 tyrosine kinases

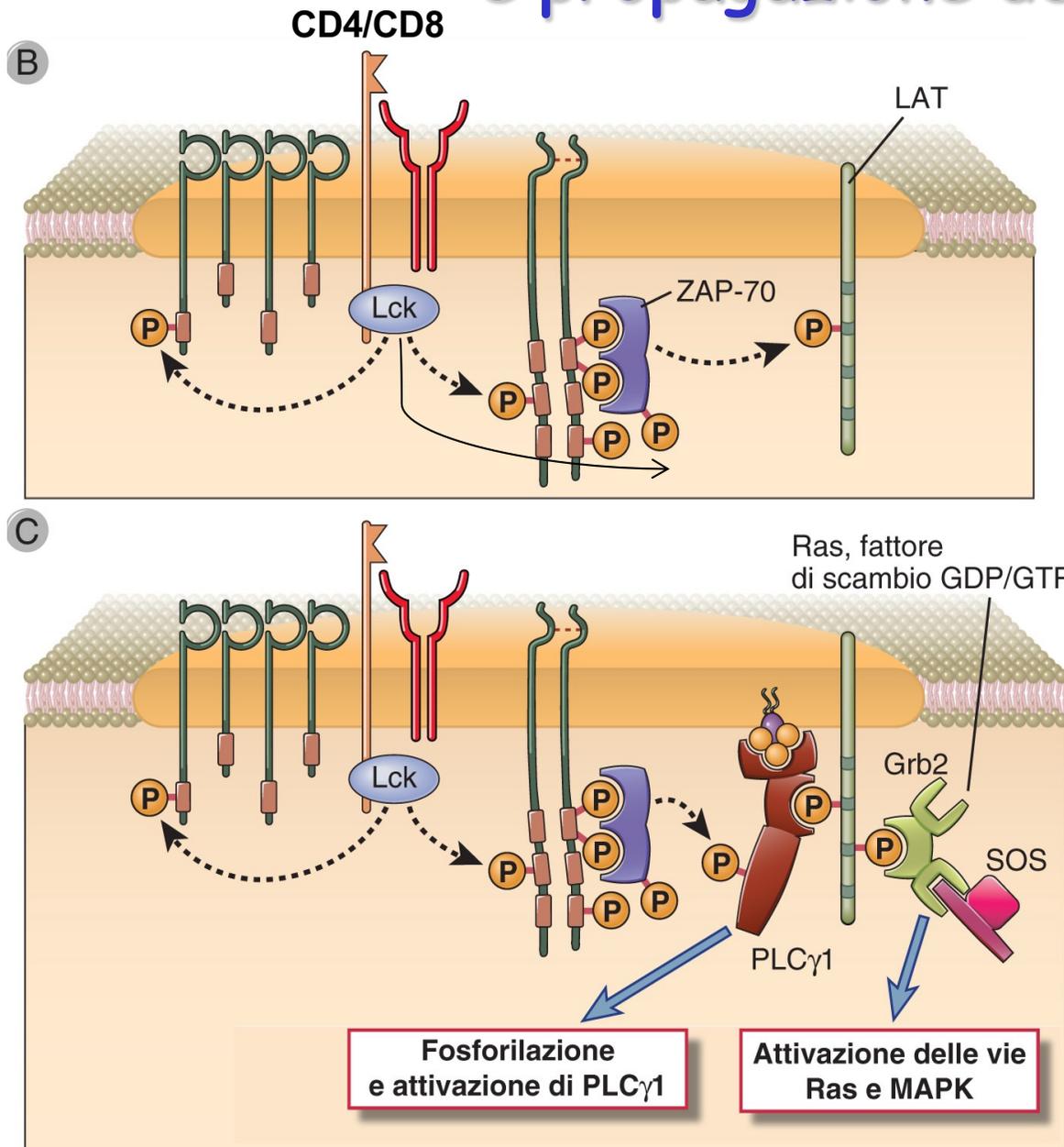
B cells and mast cells



T cells



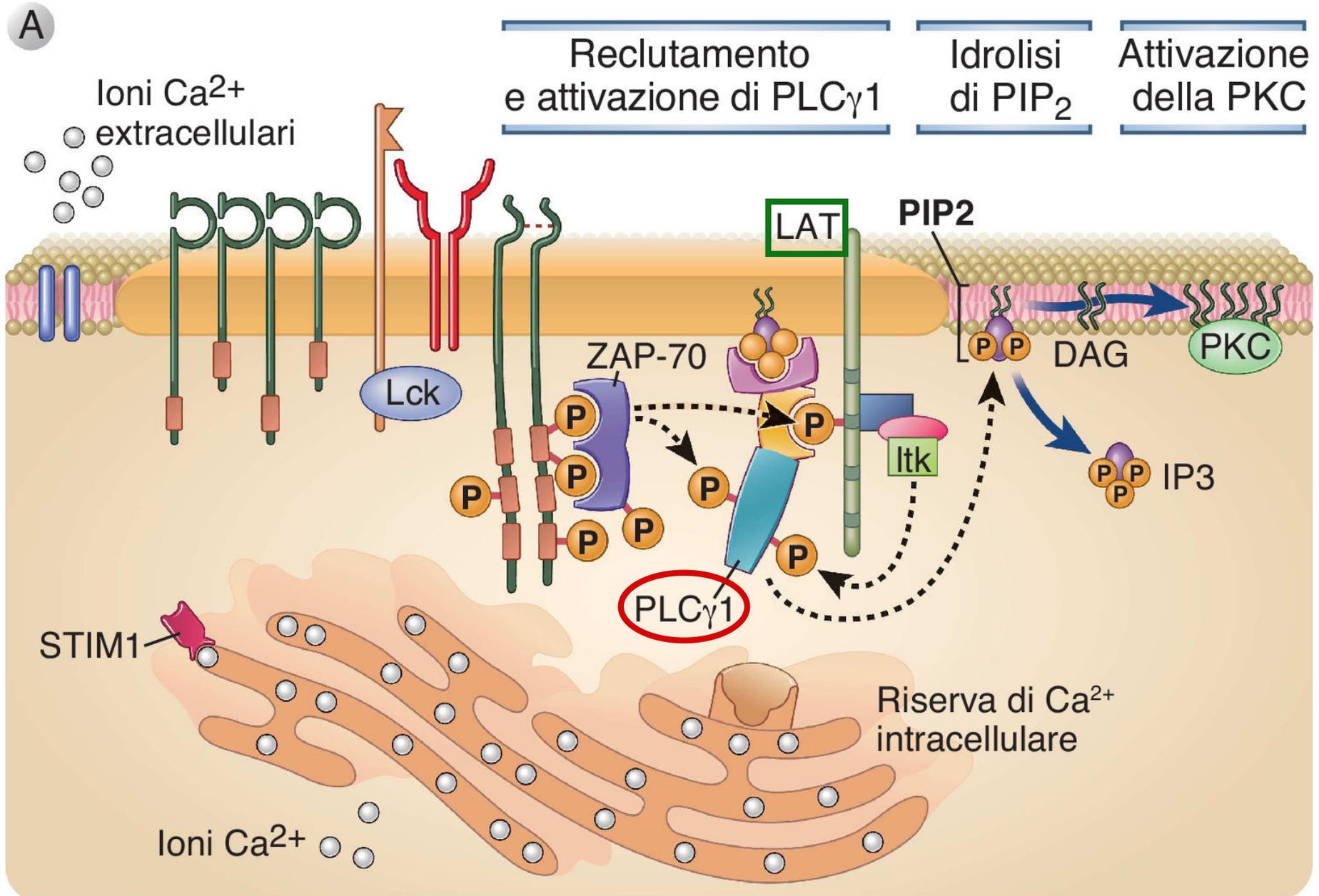
# Attivazione della tirosino-chinasi citoplasmatica ZAP-70 e propagazione del segnale



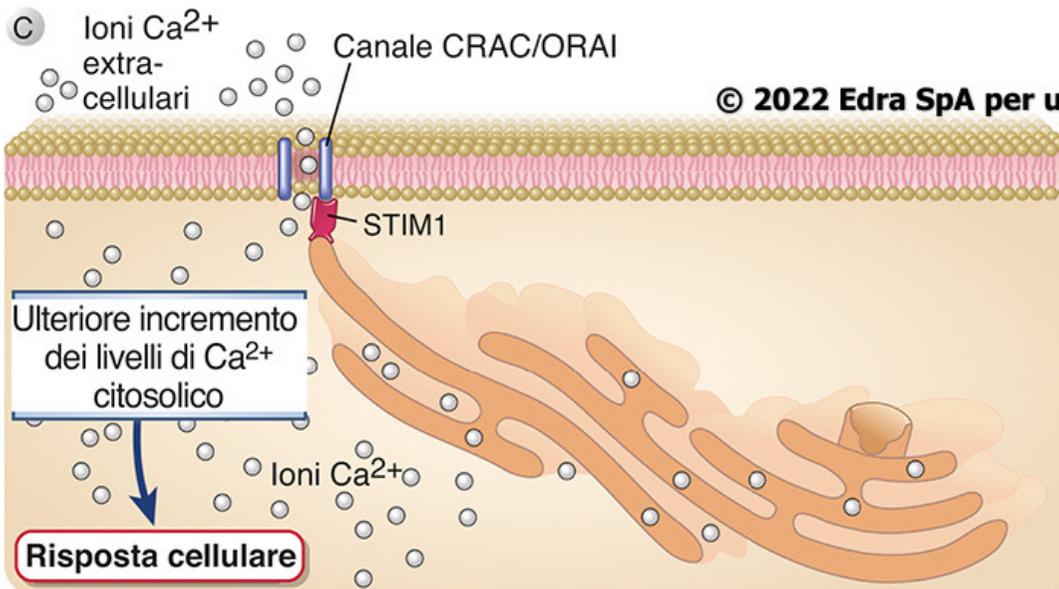
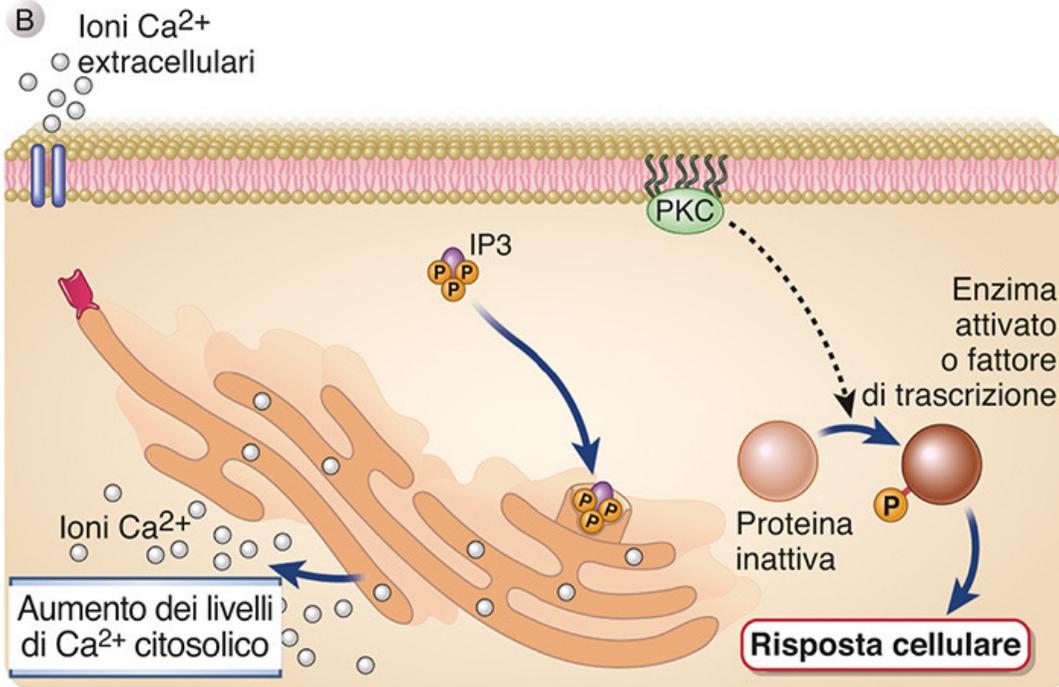
ZAP-70 si lega alle fosfotirosine della catena  $\zeta$  e fosforila le proteine adattatrici, come LAT

Le proteine adattatrici e i complessi enzimatici vengono reclutati in corrispondenza della membrana: sono attivate molteplici vie di trasmissione del segnale

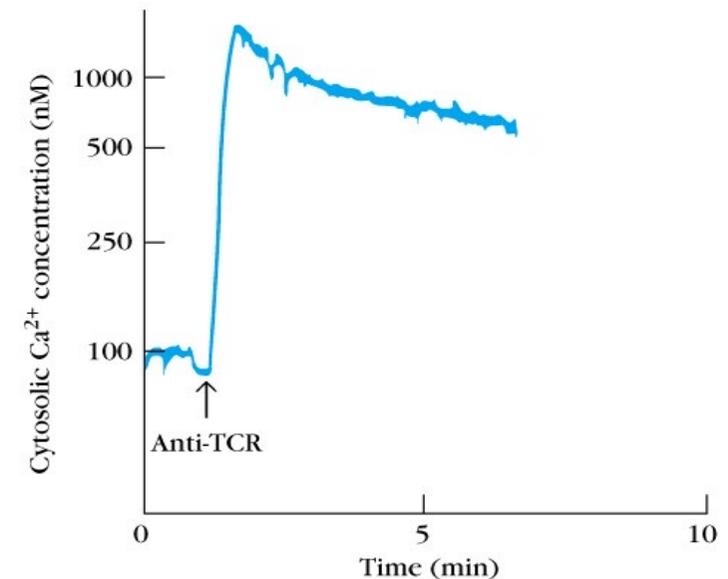
# Meccanismi di attivazione a valle di PLC $\gamma$ : il metabolismo degli inositoli



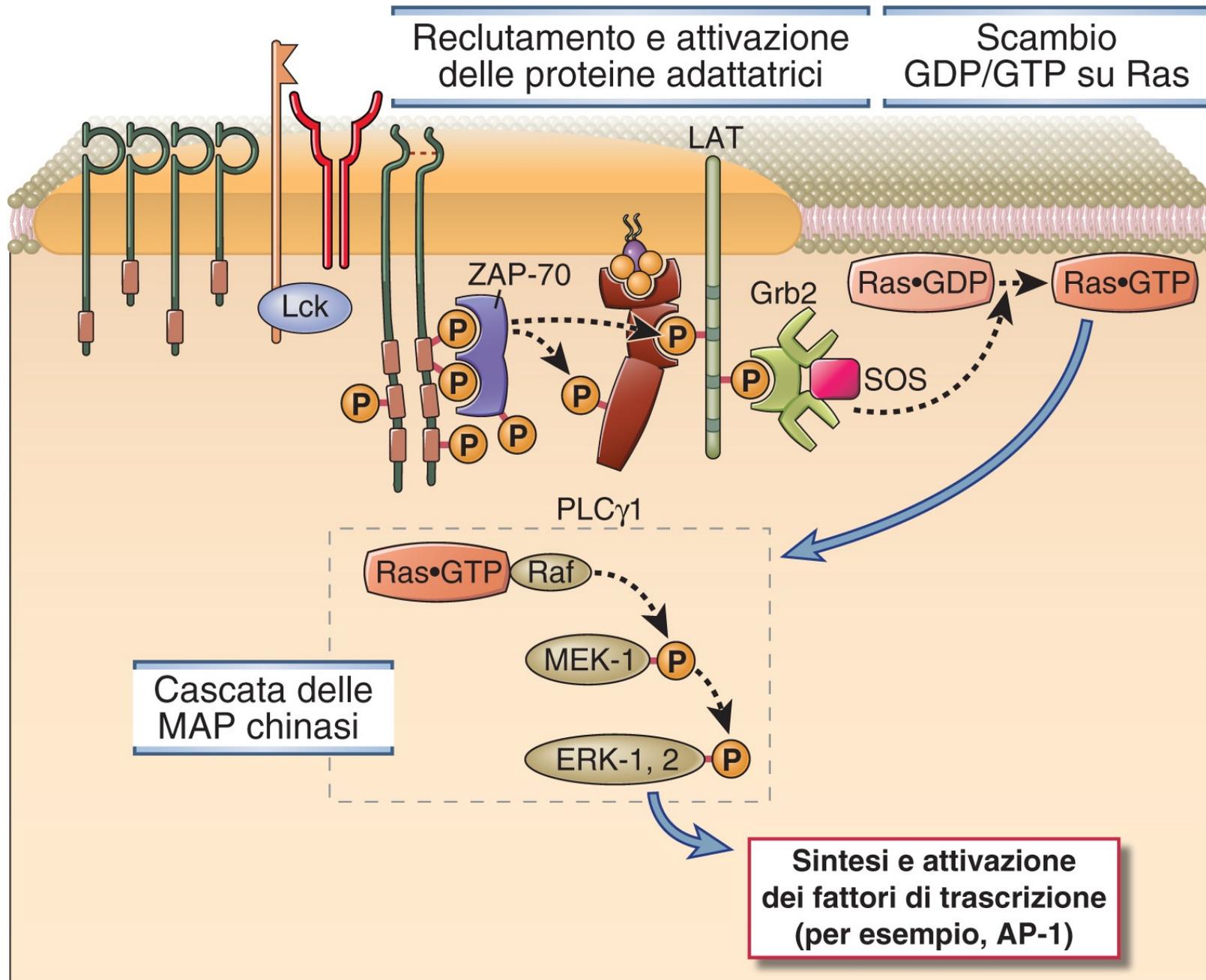
# Meccanismi di attivazione a valle di $PLC\gamma$ : l'aumento di calcio citosolico e l'attivazione delle PKC



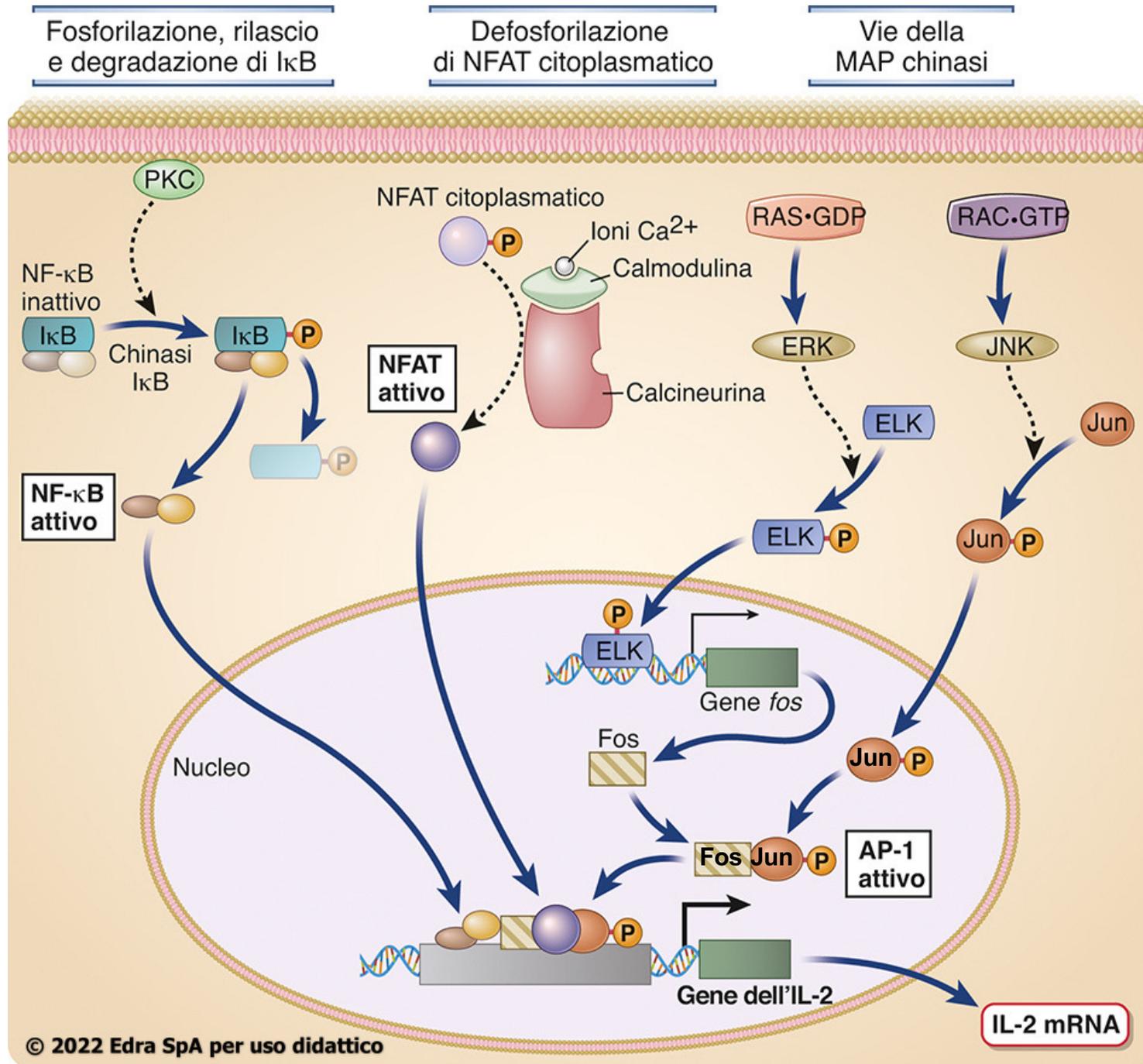
**A rapid augmentation of cytosolic  $Ca^{2+}$  concentration is one of the earliest activation events upon antigen recognition**



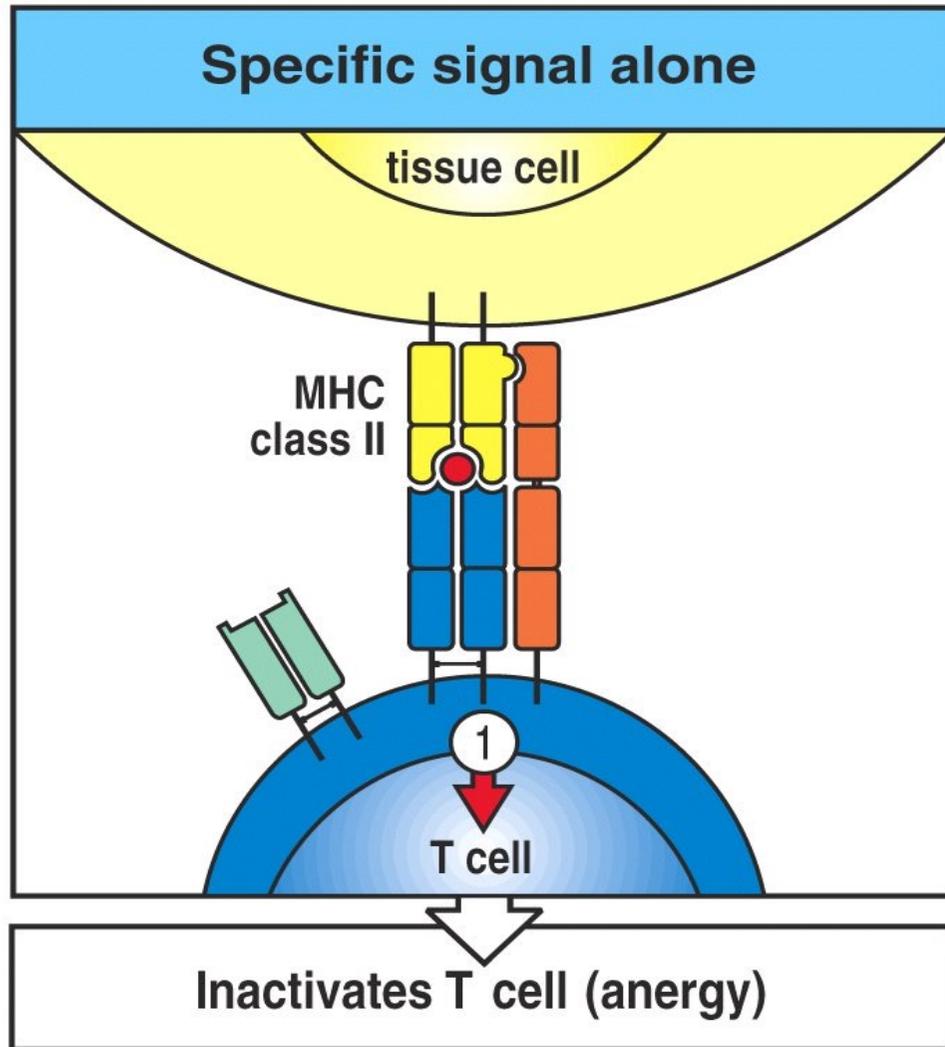
# La via di RAS e delle MAP chinasi nell'attivazione dei linfociti T



# Queste vie attivano diversi fattori trascrizionali



Non basta il primo segnale ad attivare il linfocita T vergine.....



... sono necessari **due segnali indipendenti**

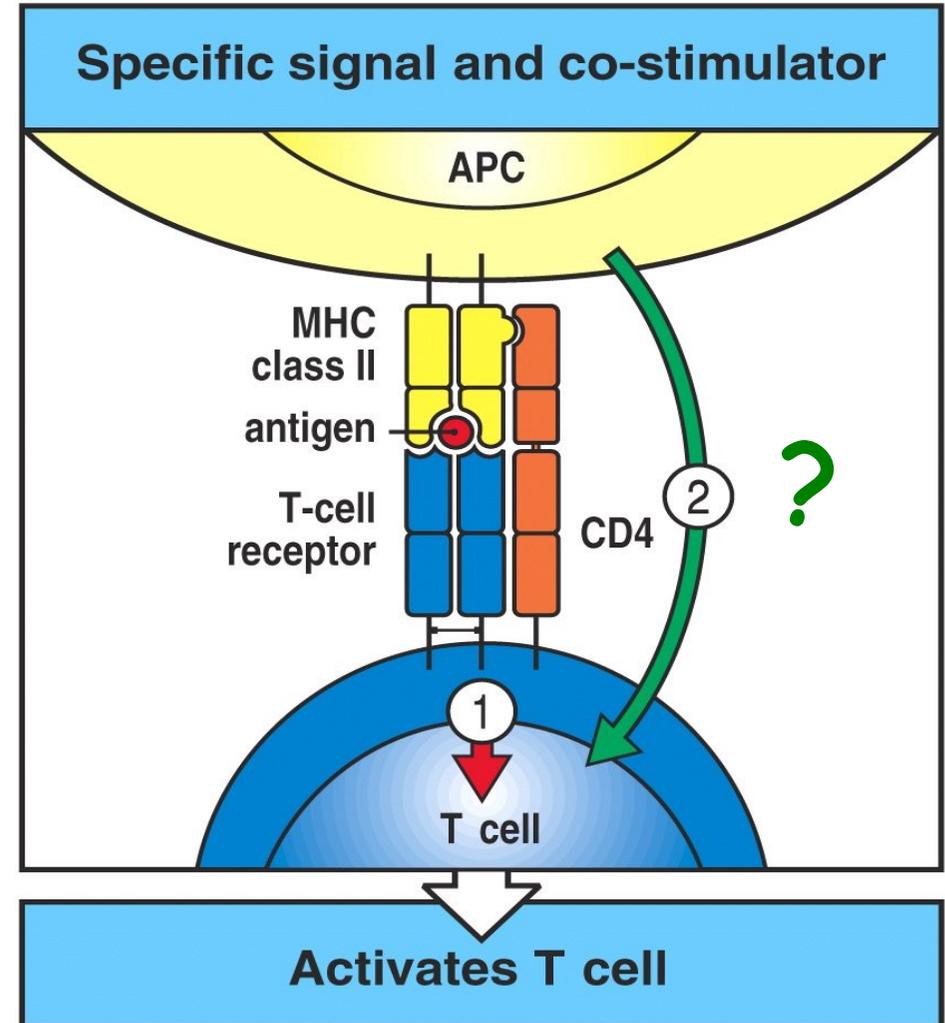


Figure 8-10 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# In cosa consiste il secondo segnale?

INTERAZIONI TRA MOLECOLE  
DI MEMBRANA

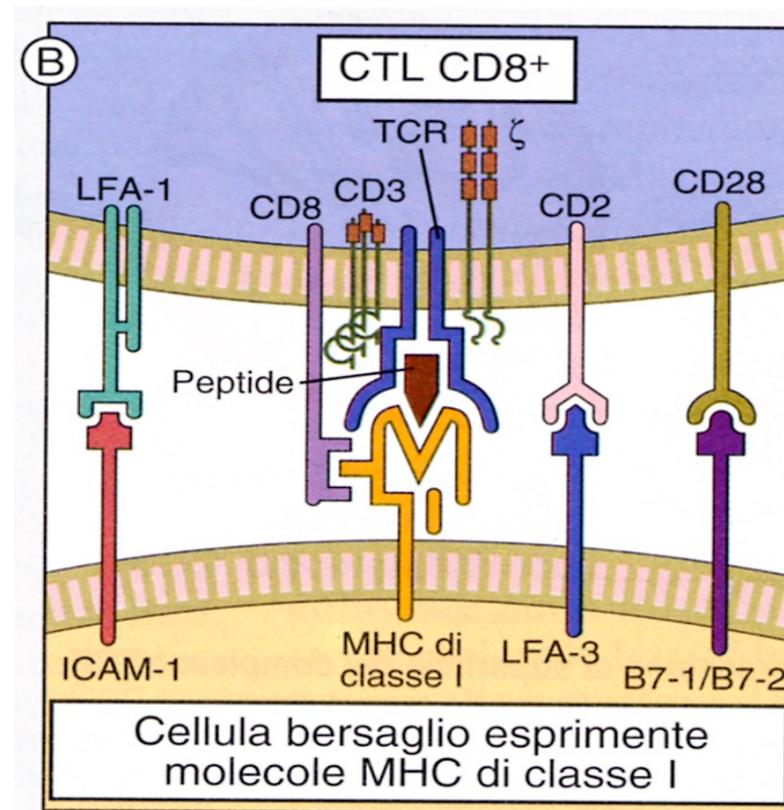
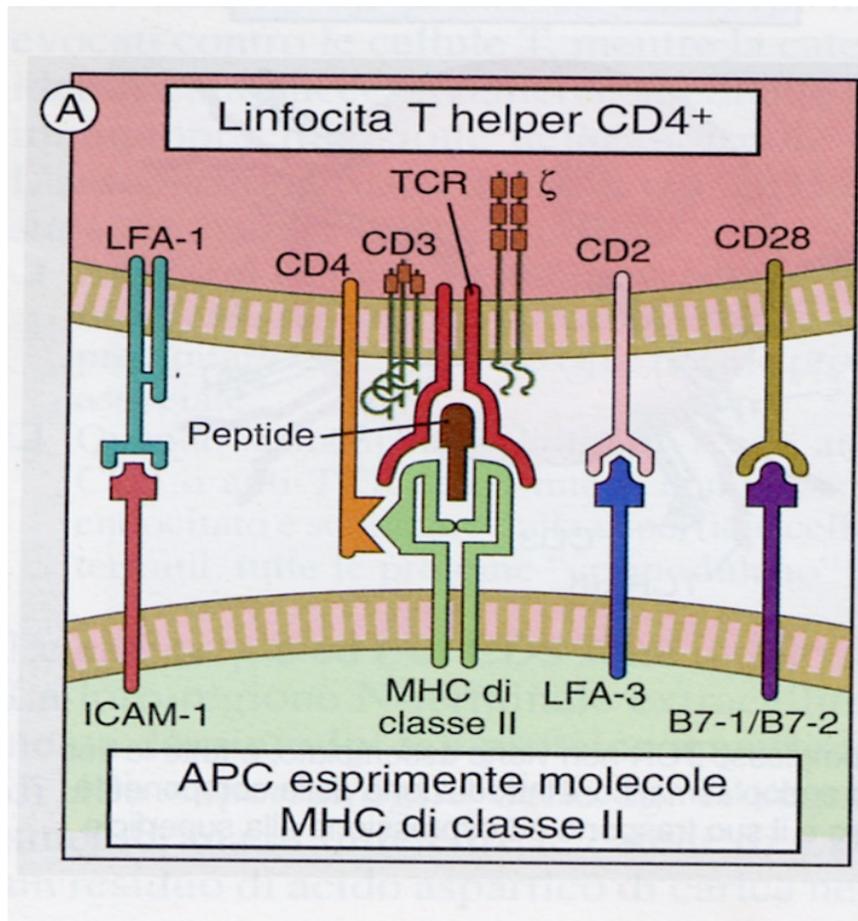
ligandi espressi dalle APC



recettori espressi dai linfociti T

- Consente la piena attivazione dei linfociti T
- Limita la possibilità che il riconoscimento dell'antigene su cellule non "professioniste" possa indurre una risposta contro il self (tolleranza periferica)
- Genera una risposta immunitaria appropriata, focalizzandola verso il non self aggressivo

## Il 2° segnale: Le molecole accessorie dei linfociti T



- Le molecole **ACCESSORIE** sono **NON POLIMORFICHE** ed **INVARIANTI**
- Agiscono aumentando l'interazione (**ADESIONE**) tra linfociti T e APC e generano segnali di **COSTIMOLAZIONE**
- L'espressione e la funzione delle molecole **ACCESSORIE** è regolata nel **TEMPO** e nello **SPAZIO**

# La principale molecola costimolatoria dei linfociti T è il

## CD28

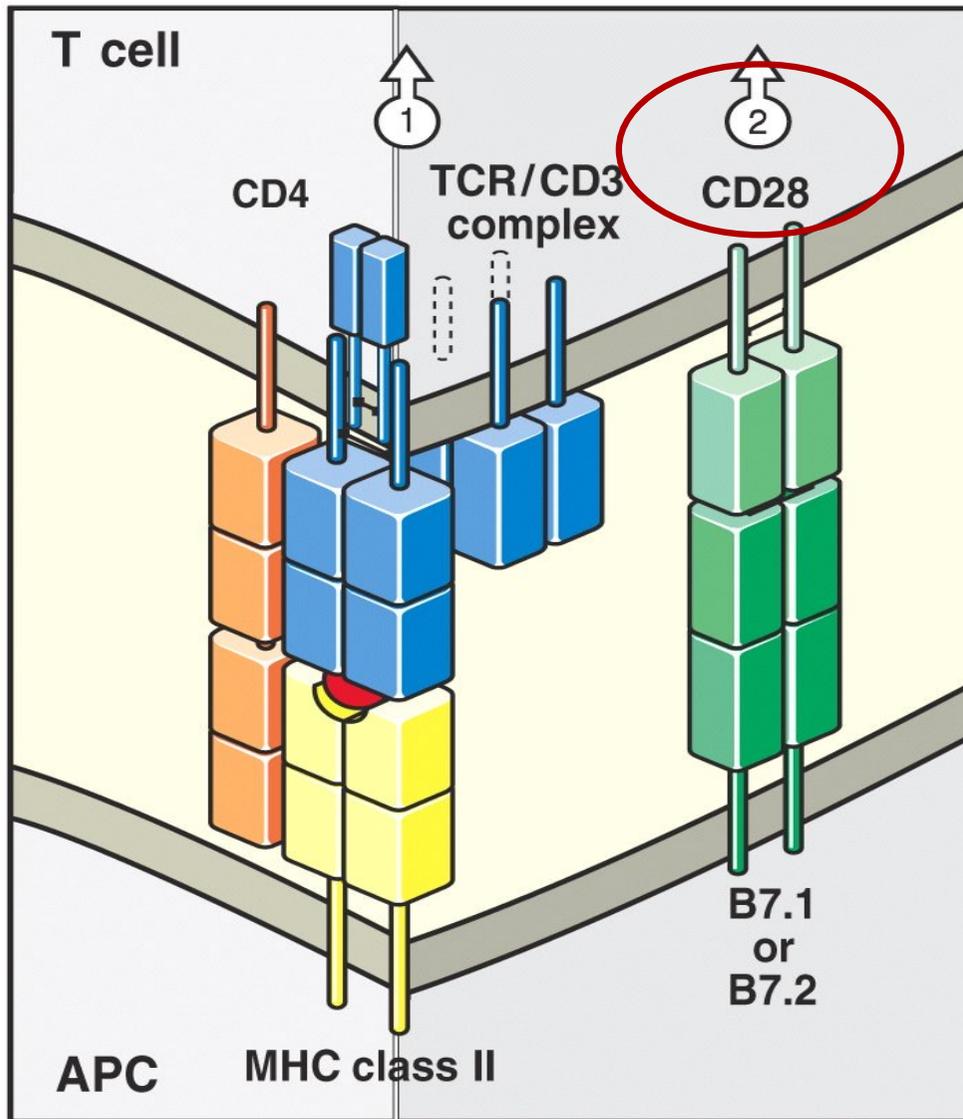


Figure 8-11 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

E' espresso costitutivamente da tutti i linfociti T CD4<sup>+</sup> e dal 50% dei linfociti T CD8<sup>+</sup>

Lega B7.1 (CD80) e B7.2 (CD86) espressi costitutivamente da cellule dendritiche mature e dopo attivazione da linfociti B e macrofagi

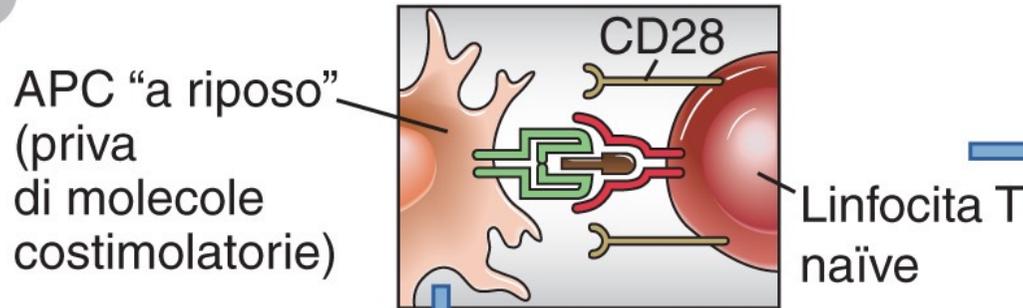
E' in grado di trasdurre il secondo segnale richiesto per la piena attivazione del linfocita T vergine

# Funzioni delle molecole costimolatorie

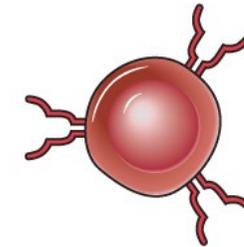
Riconoscimento dell'antigene

Risposta T

A

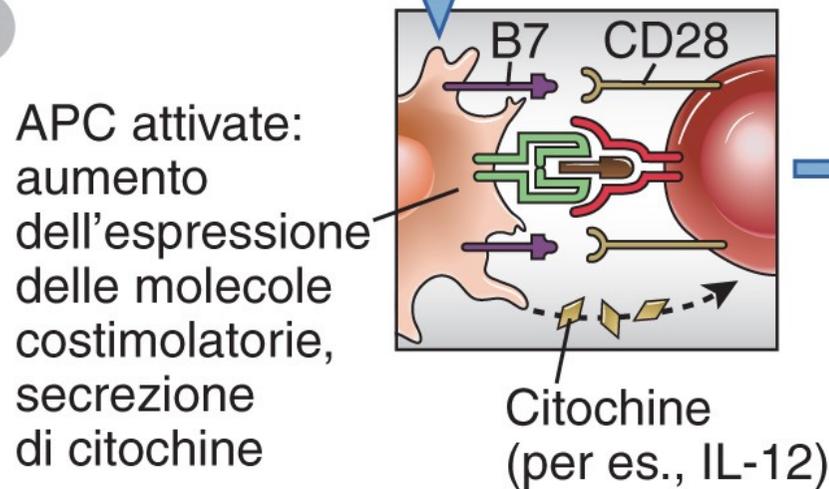


Attivazione delle APC da parte dei microbi, risposta immunitaria innata



**Nessuna risposta o anergia**

B

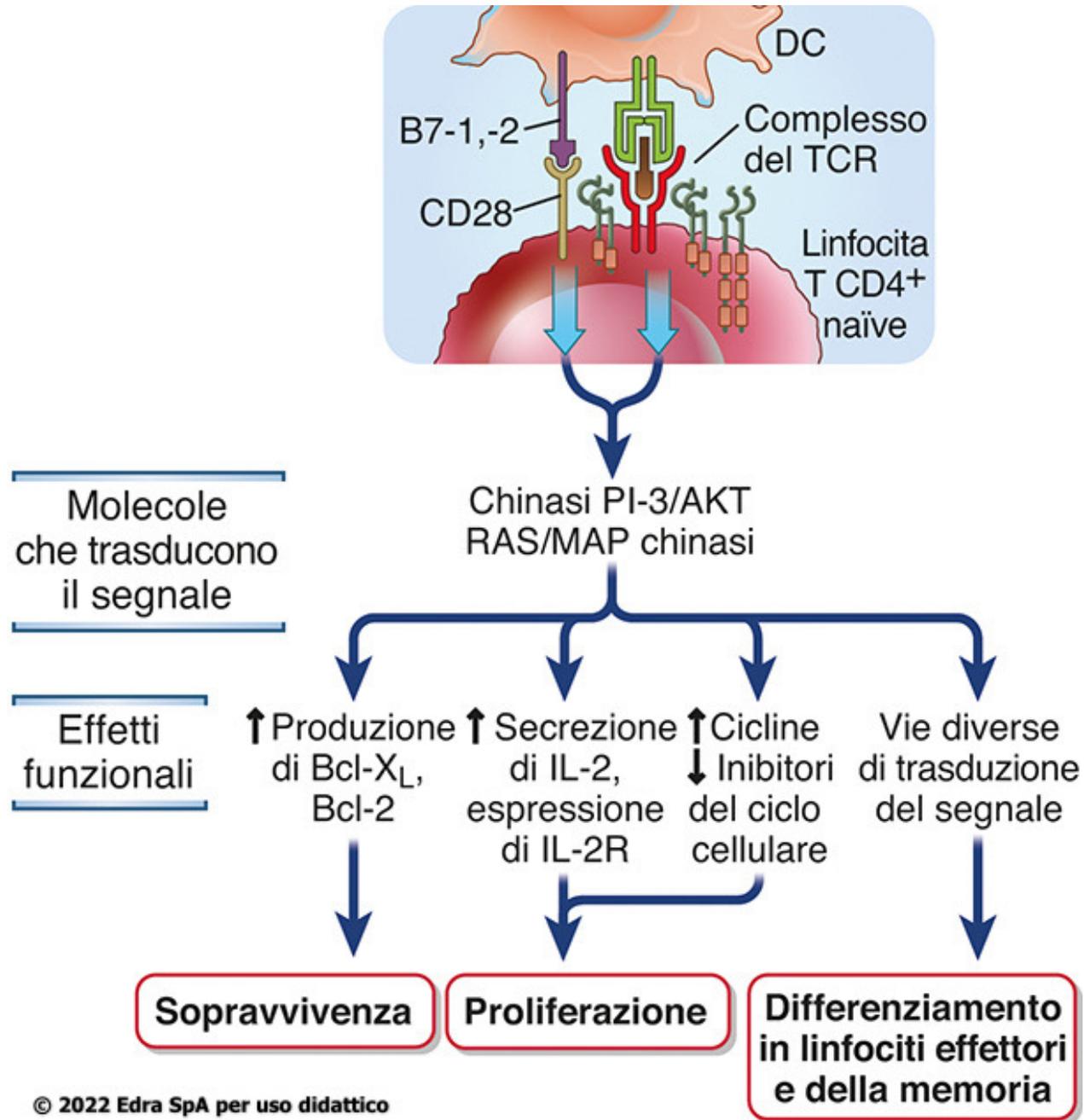


Linfociti T effettori

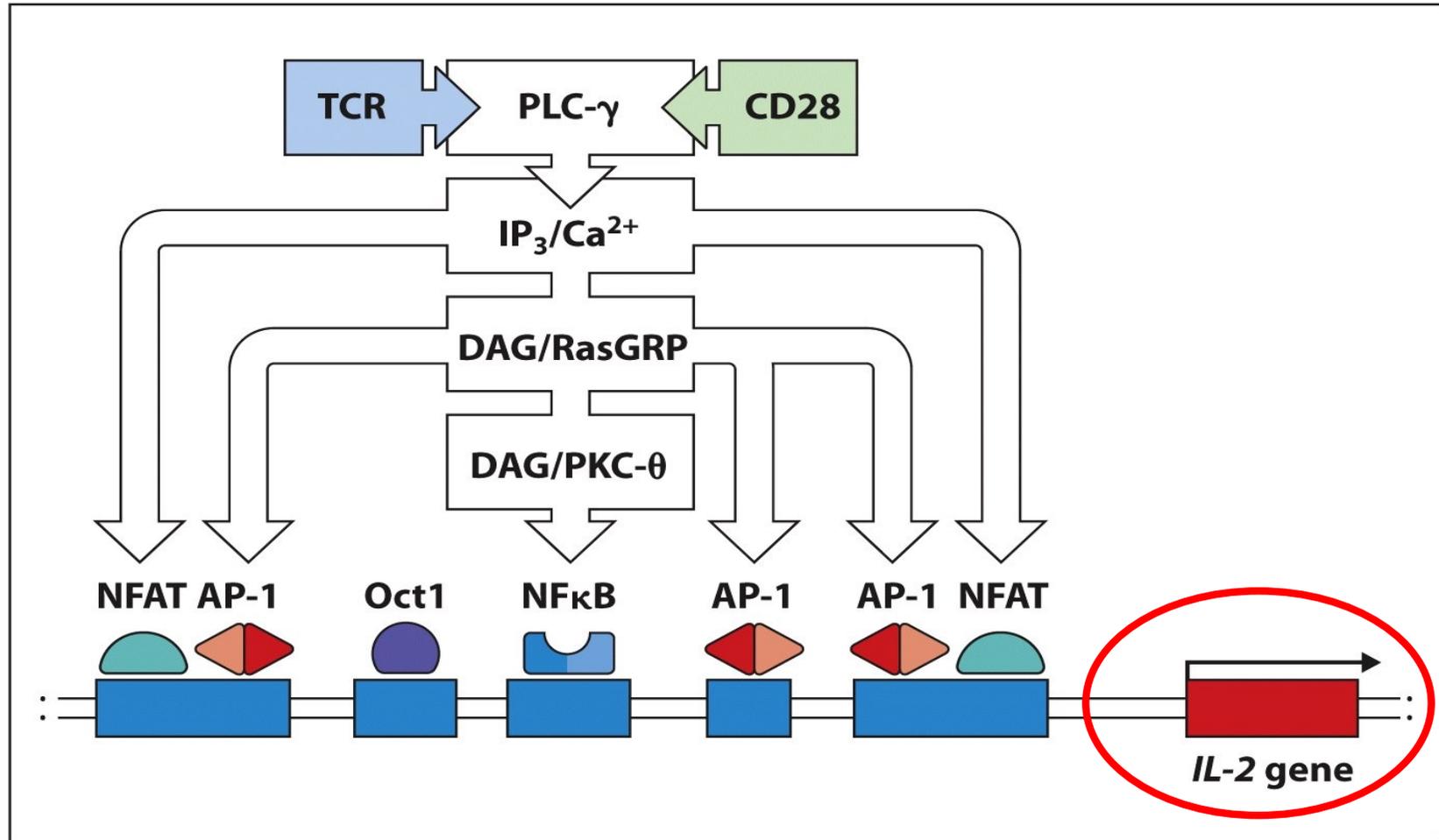
IL-2

**Sopravvivenza, proliferazione e differenziamento dei linfociti T**

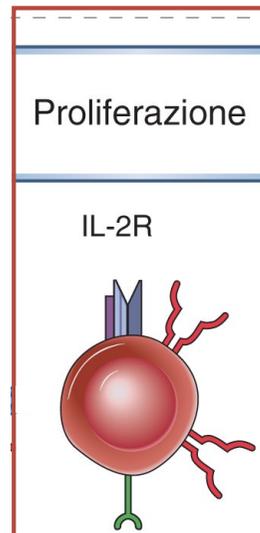
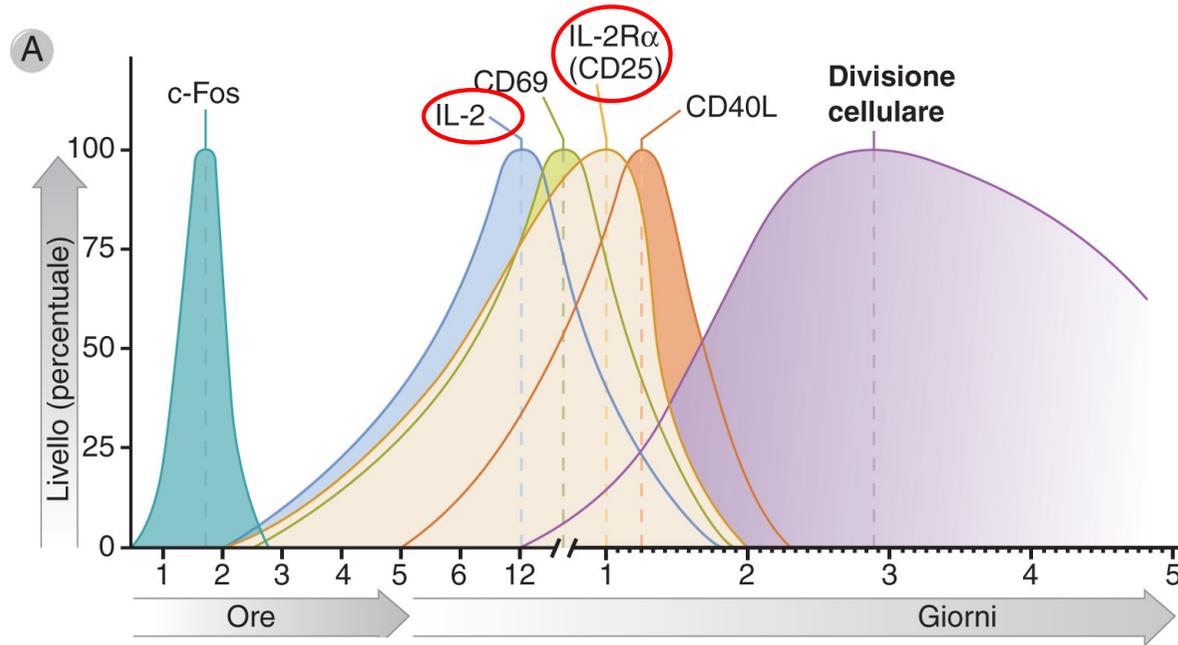
# Principali segnali innescati dal CD28



Il segnale trasdotto dal CD28 amplifica il primo segnale aumentando i livelli di trascrizione del gene per l'**IL-2**



# La piena attivazione dei LINFOCITI T naive induce precocemente l'espressione di molti geni



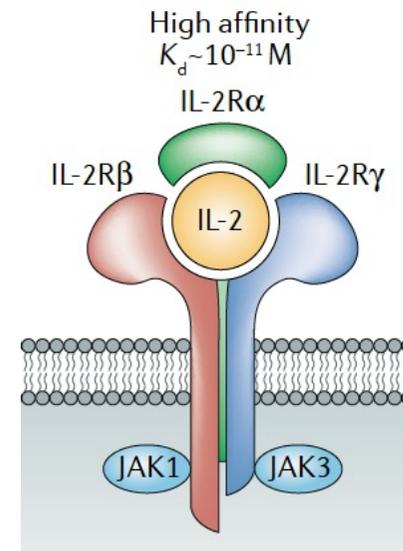
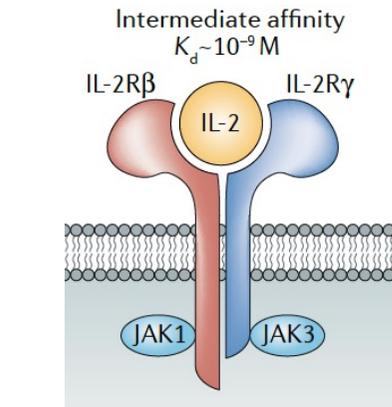
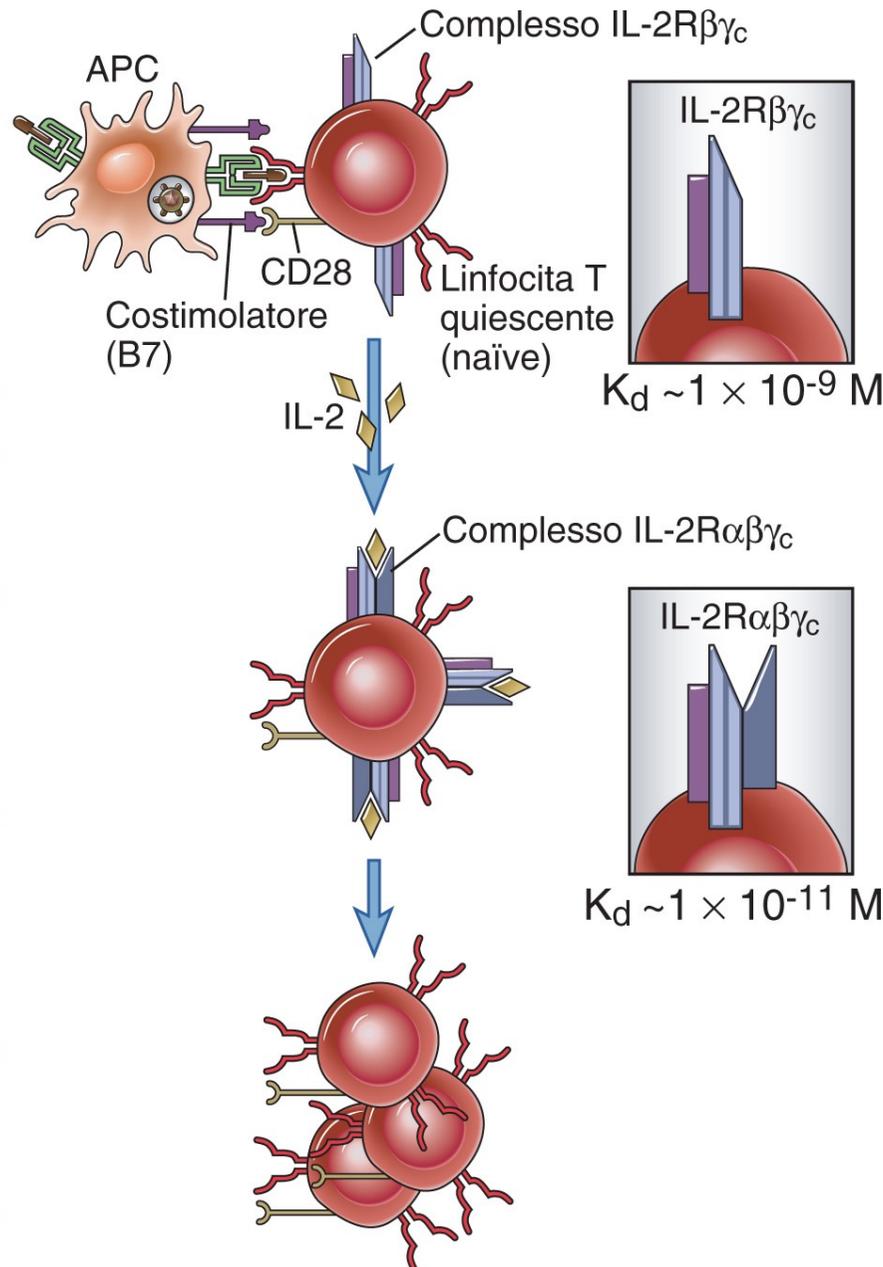
# L'espressione del recettore per IL-2 ad alta affinità ( $\alpha\beta\gamma$ ) è altamente regolata: solo i linfociti T attivati possono proliferare!

Attivazione dei linfociti T da parte dell'antigene e di molecole costimolatorie

Secrezione di IL-2

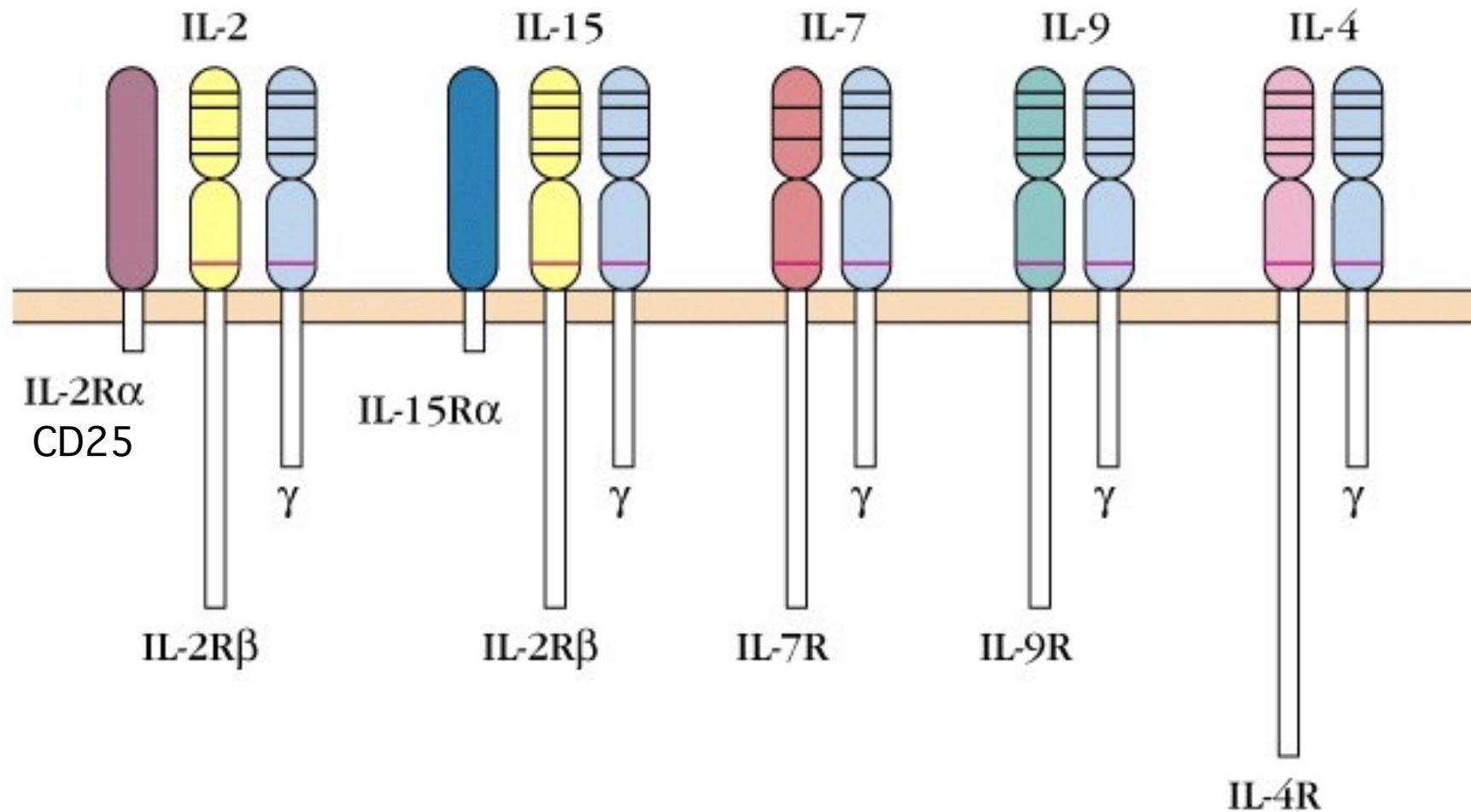
Espressione della catena IL-2R $\alpha$ ; formazione del complesso IL-2R $\alpha\beta\gamma$  ad alta affinità

Proliferazione dei linfociti T indotta da IL-2

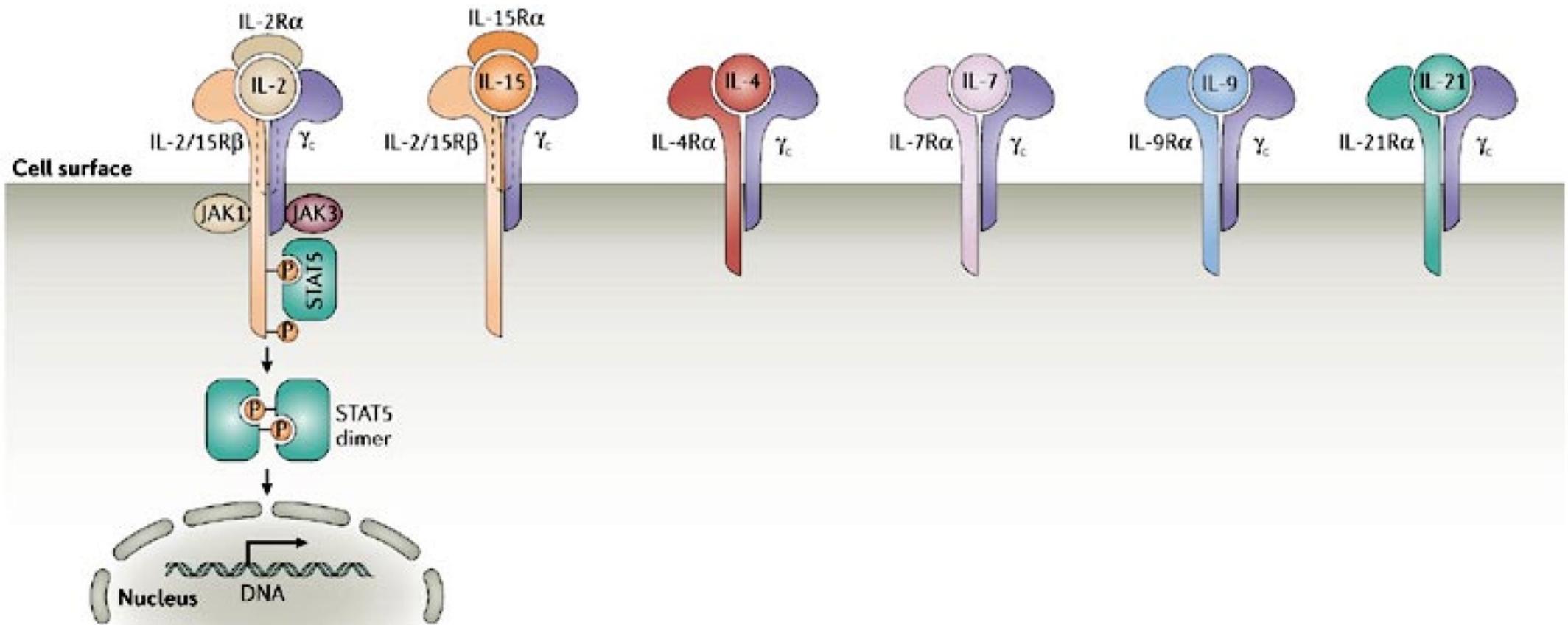


## La famiglia dei recettori per IL-2

(c) IL-2 receptor subfamily (common  $\gamma$  subunit)



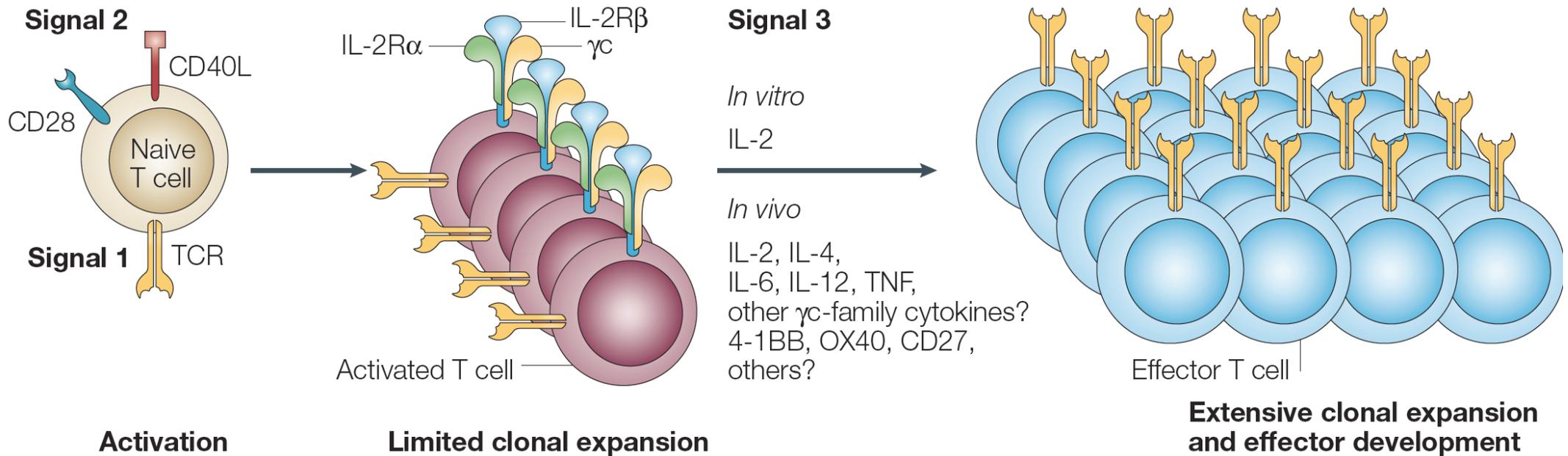
# The structure and signalling pathways of the common cytokine-receptor gamma-chain family of receptors.



JAK1 = Janus kinase 1

STAT5 = Signal Transducer and Activator of Transcription 5

# Generazione di linfociti T effettori

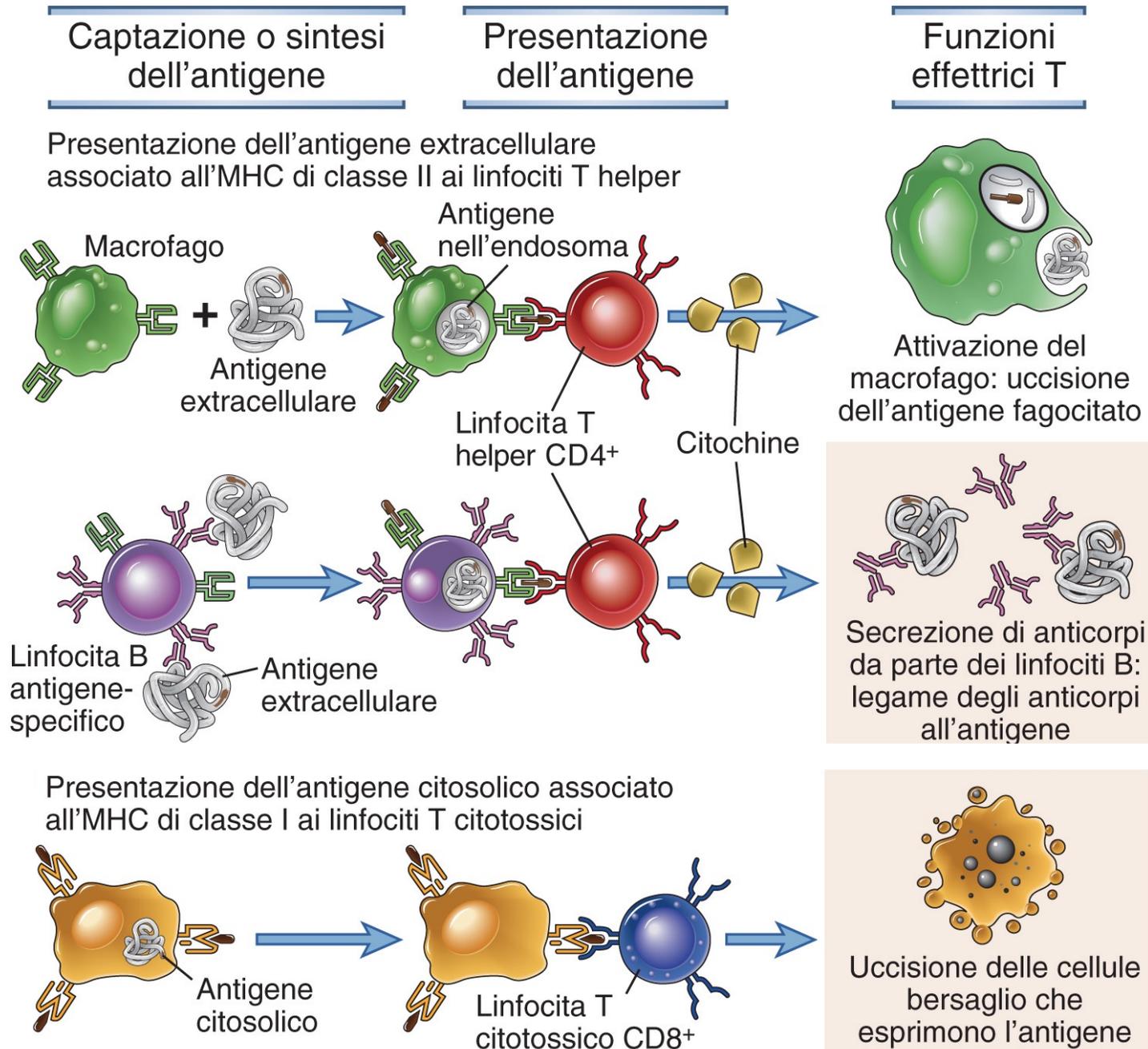


Nature Reviews Immunology, 2004

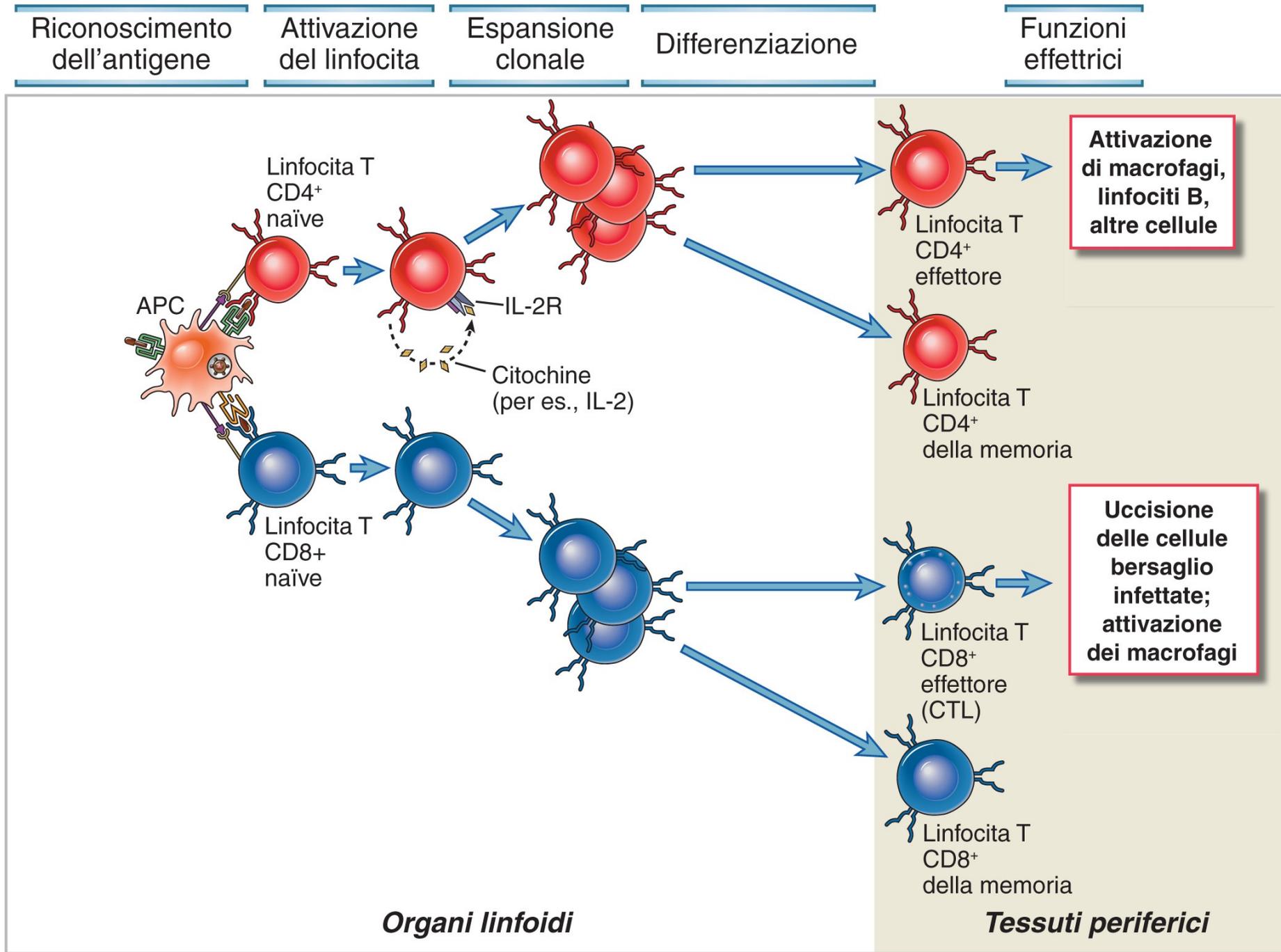
# Linfociti naive ed effettori differiscono fenotipicamente e funzionalmente

<b>Property</b>	<b>Naive T cells</b>	<b>Effector T cells</b>
<b>Cell adhesion molecules (CD2 and LFA-1)</b>	<b>Low</b>	<b>High</b>
<b>Trafficking patterns</b>	<b>HEVs* in secondary lymphoid tissue</b>	<b>Tertiary lymphoid tissues; inflammatory sites</b>
<b>Costimulatory signal (CD28-B7 interaction)</b>	<b>Required for activation</b>	<b>Not required for activation</b>

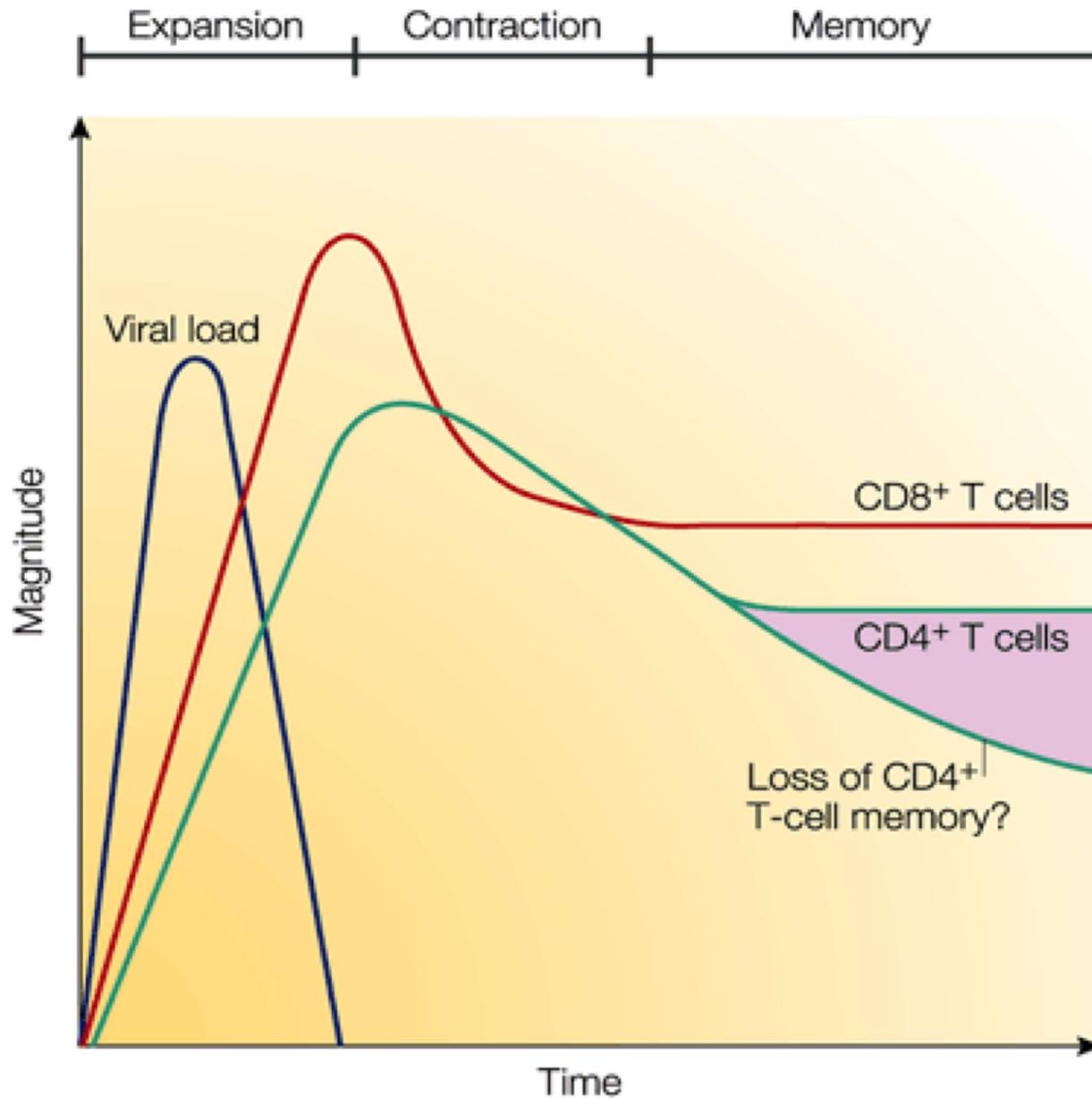
# I linfociti T effettori riconoscono nuovamente l'antigene: eradicazione dell'infezione



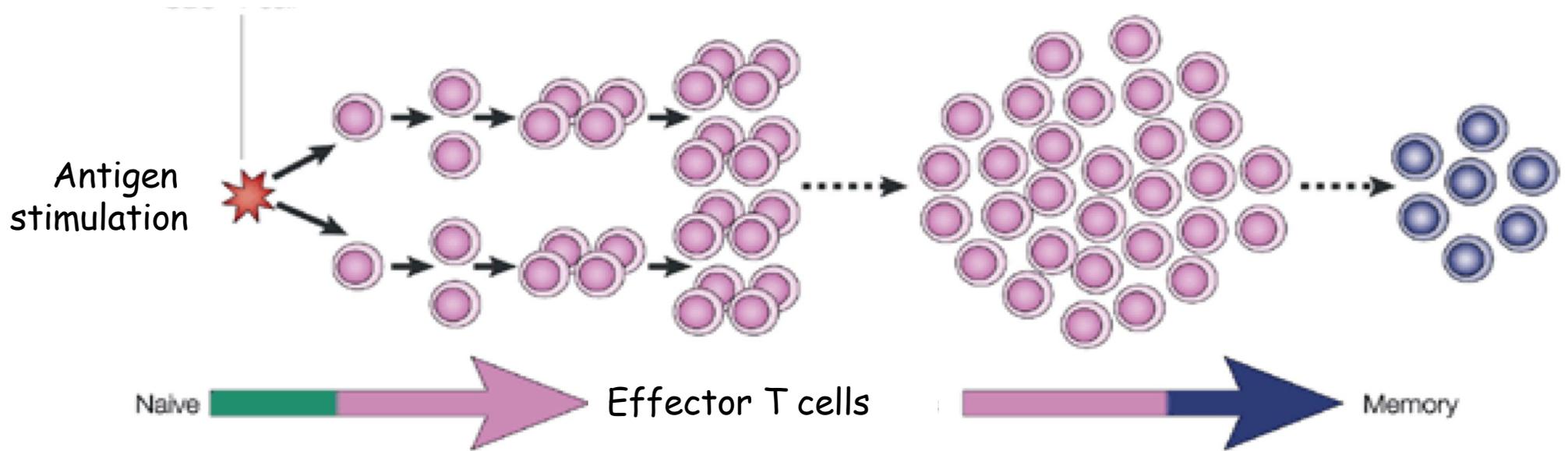
# L'ATTIVAZIONE DEI LINFOCITI T



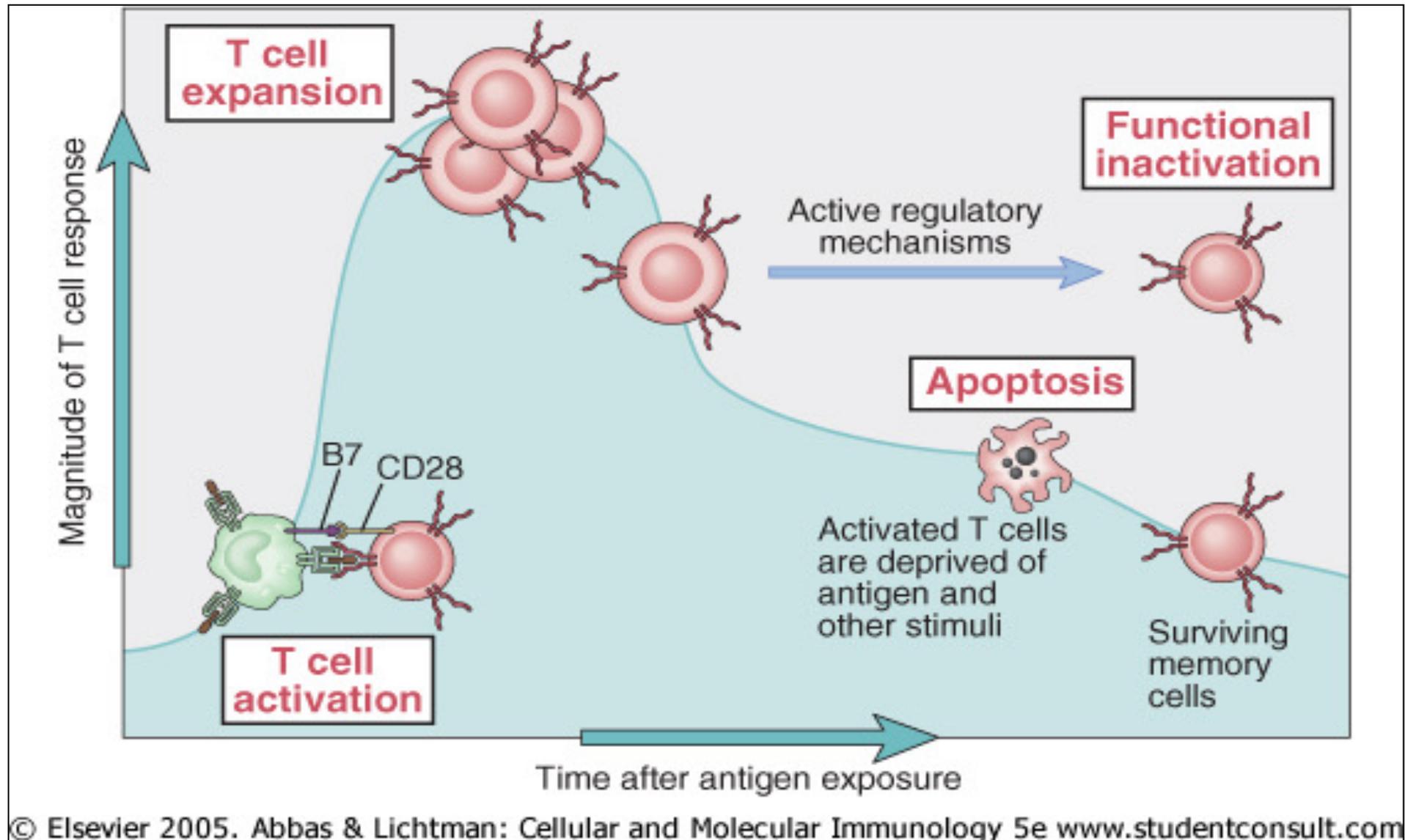
# The three phases of the T-cell immune response (expansion, contraction and memory)



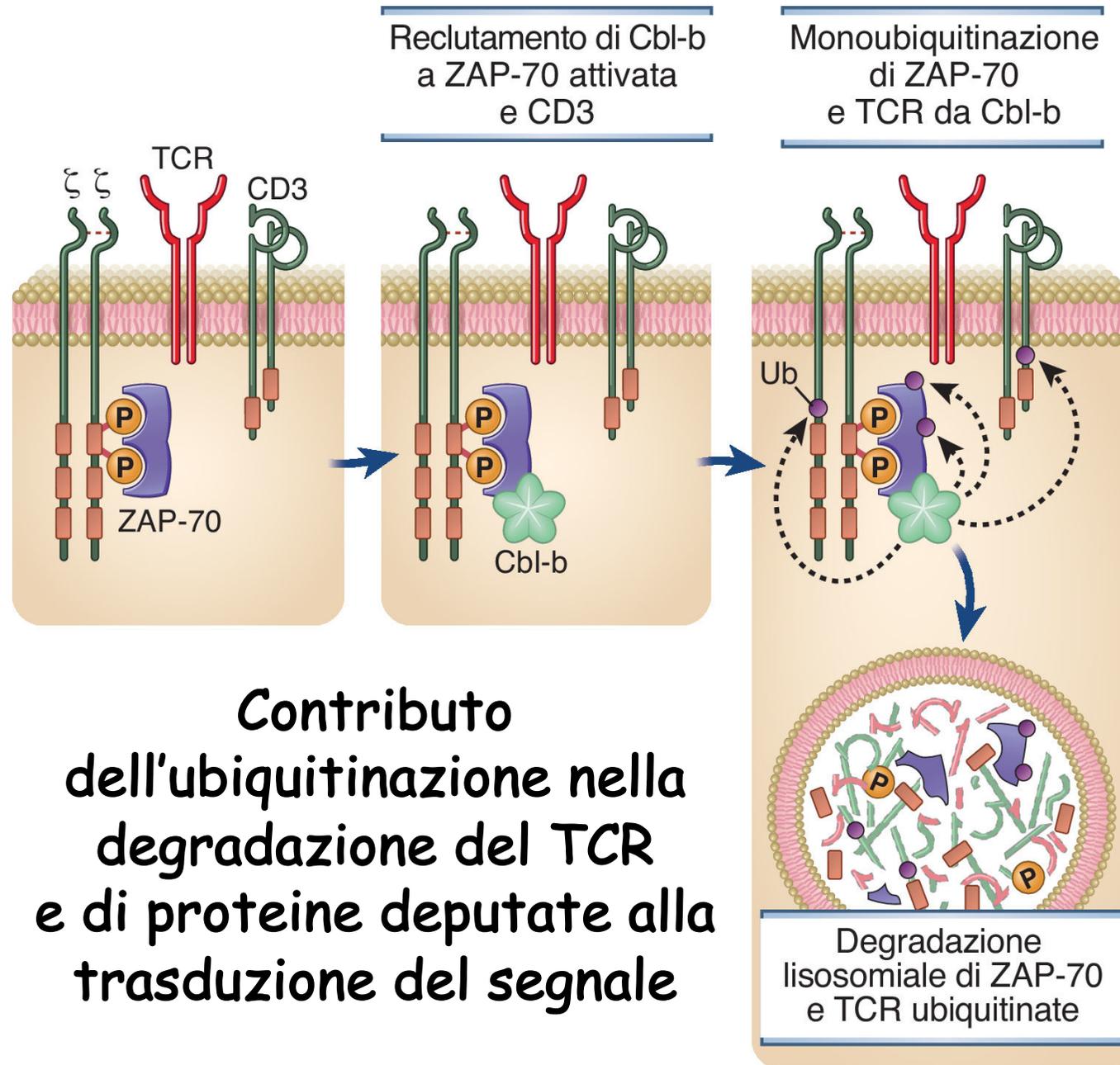
# Development of effector and memory T cells



# SEGNALI NEGATIVI INATTIVANO O UCCIDONO I LINFOCITI T EFFETTORI

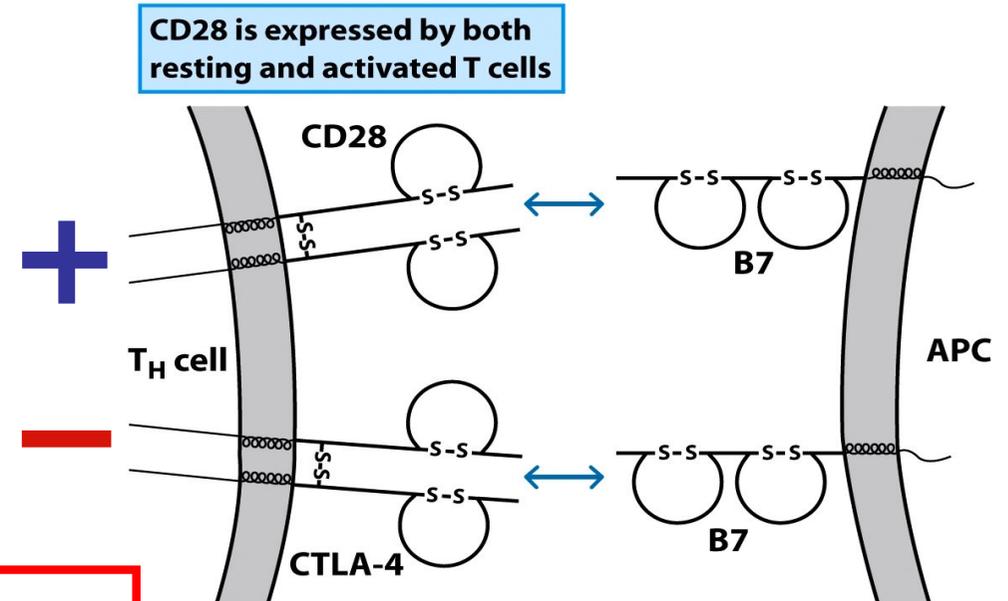
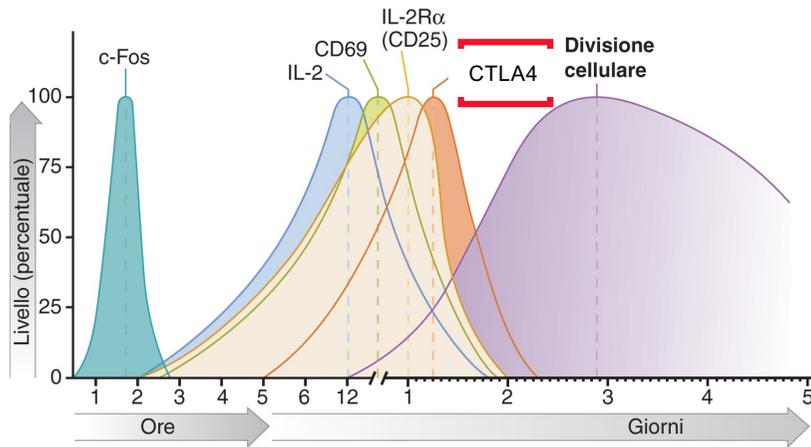


# Lo spegnimento del segnale T specifico: ruolo dell'ubiquitina ligasi Cbl e dell'ubiquitinazione



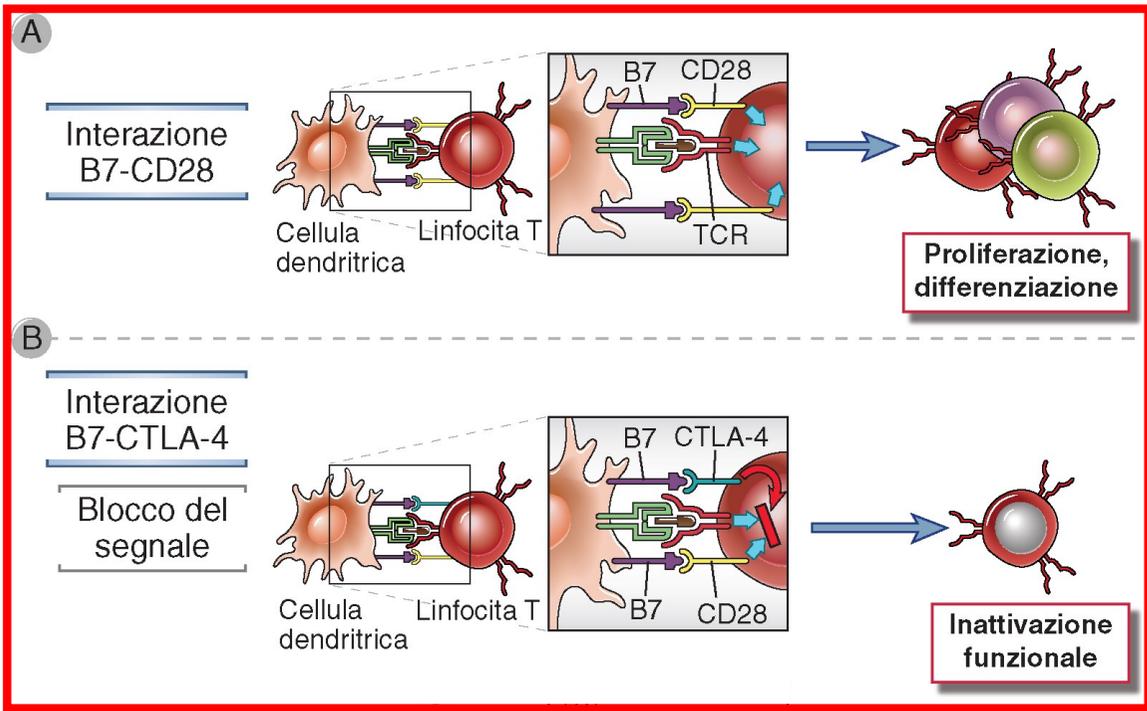
**Contributo  
dell'ubiquitinazione nella  
degradazione del TCR  
e di proteine deputate alla  
trasduzione del segnale**

# L'attivazione dei linfociti T naive induce l'espressione del recettore inibitorio **CTLA4**



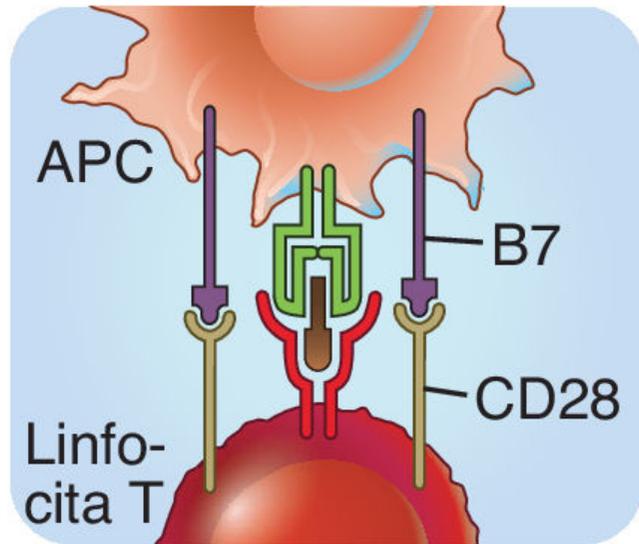
CD28 is expressed by both resting and activated T cells

CTLA-4 is expressed on activated T cells

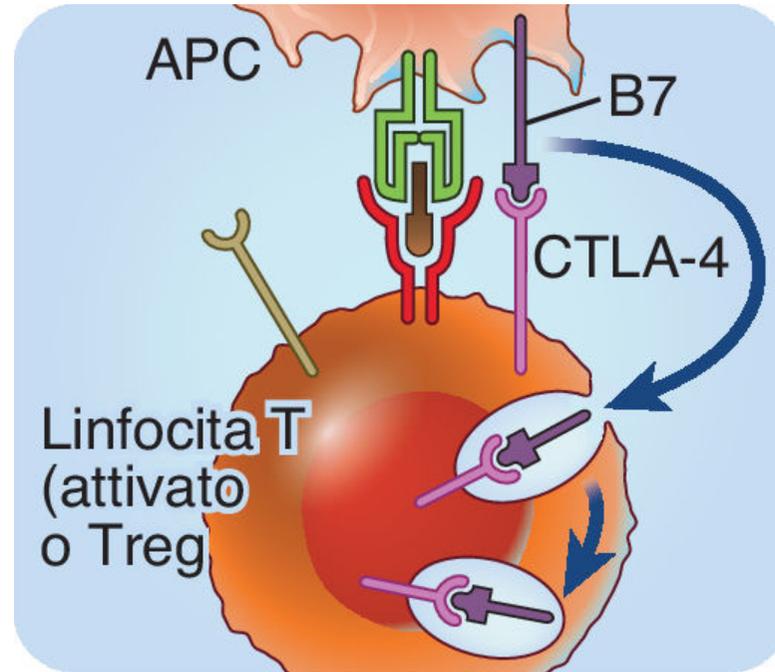


- Il **CTLA4** lega gli stessi ligandi del CD28, ma con un'affinità 20 volte maggiore
- Trasduce segnali inibitori responsabili dell'inattivazione funzionale dei linfociti T

# CTLA-4 competitively inhibits B7-CD28 engagement



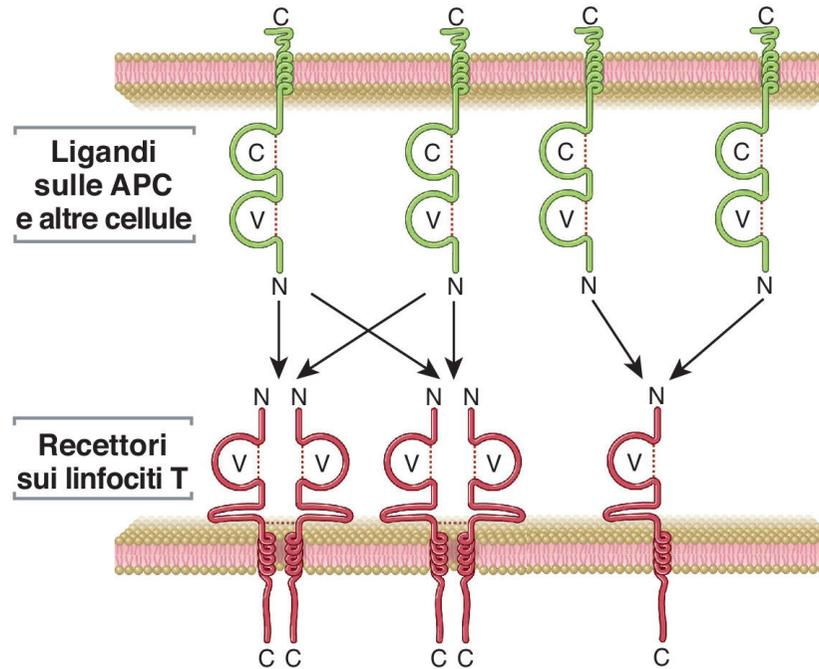
**Costimolazione ⇒  
attivazione  
linfocita T**



**CTLA-4 blocca  
e rimuove B7 ⇒  
mancanza  
costimolazione ⇒  
assenza risposta  
del linfocita T**

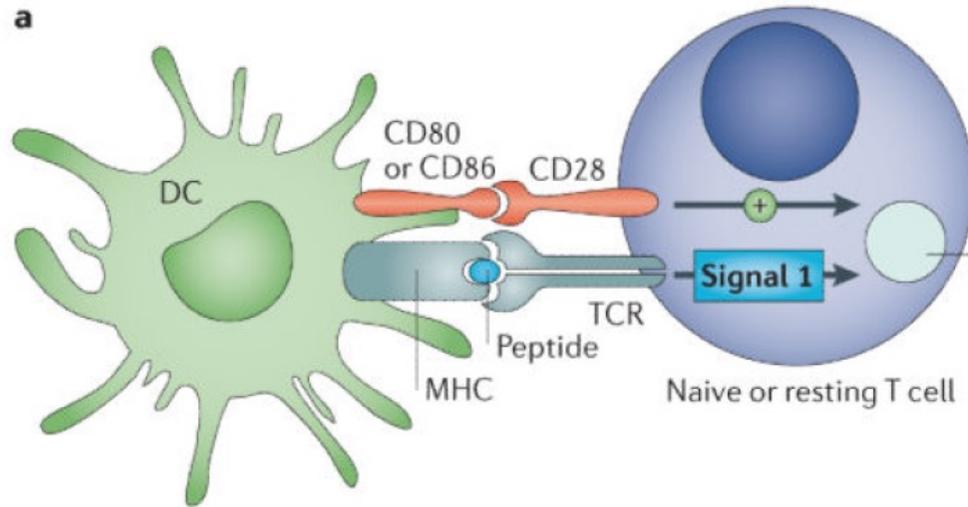
# I principali membri della famiglia B7 e CD28

<b>Espressione</b>	DC; macrofagi, linfociti B		DC; macrofagi, linfociti B; cellule endoteliali epiteliali e tumorali (solo PD-L1)	
<b>Nome</b>	<b>B7-1 (CD80)</b>	<b>B7-2 (CD86)</b>	<b>PD-L1 (B7-H1, CD274)</b>	<b>PD-L2 (B7-DC, CD273)</b>



<b>Nome</b>	<b>CD28</b>	<b>CTLA-4</b>	<b>PD-1</b>
<b>Espressione sui linfociti T</b>	Linfociti T naïve	Linfociti T regolatori e T linfociti attivati	Linfociti T attivati
<b>Funzione principale</b>	Attivazione linfociti T naïve; attivazione della risposta immunitaria	Inibizione attivazione linfociti T	Inibizione dell'attivazione T linfocitaria (soprattutto dei linfociti T effettori)

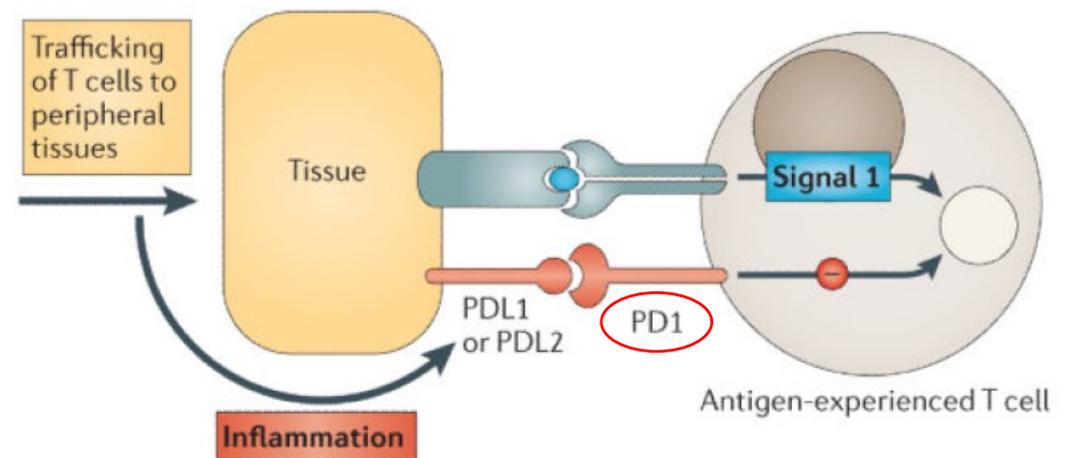
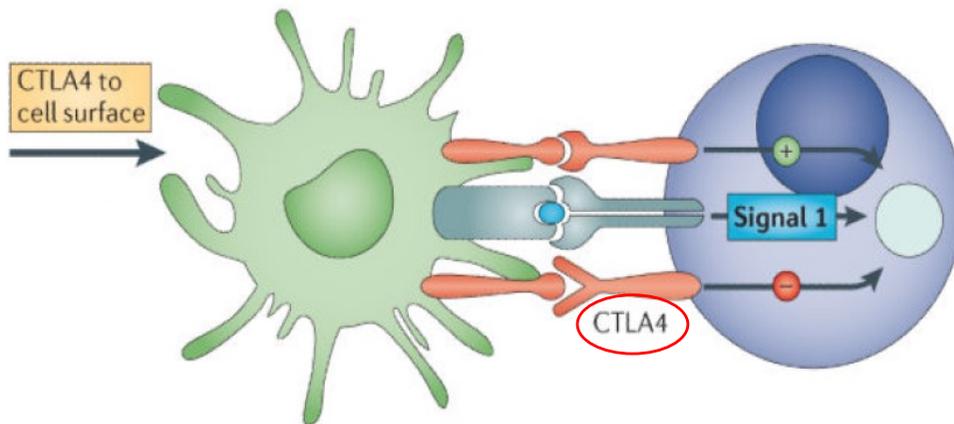
# Major functions of selected B7-CD28 family members



**CD28-B7:** initiation of immune responses

**CTLA-4-B7:** inhibits early T cell responses in lymphoid organs

**PD-1:PD-L1,2:** inhibits effector T cell responses in peripheral tissues



# Funzioni inibitorie di CTLA-4 e PD-1

	<u>CTLA-4</u>	<u>PD-1</u>
Sito d'azione	Organi linfoidi	Tessuti periferici
Fase di inibizione della risposta	Fase di attivazione iniziale	Fase effettrice
Segnali inibiti	Costimolazione del CD28 (riduzione dei livelli di B7)	Stimolazione cronica
Sottopopolazione linfocitaria inibita	CD4+ and CD8+	CD8+ > CD4+

# Lo spegnimento del segnale T specifico: ruolo dei linfociti di regolatori (T reg)

