

Corso di Immunologia - III anno
Prof. Paolini

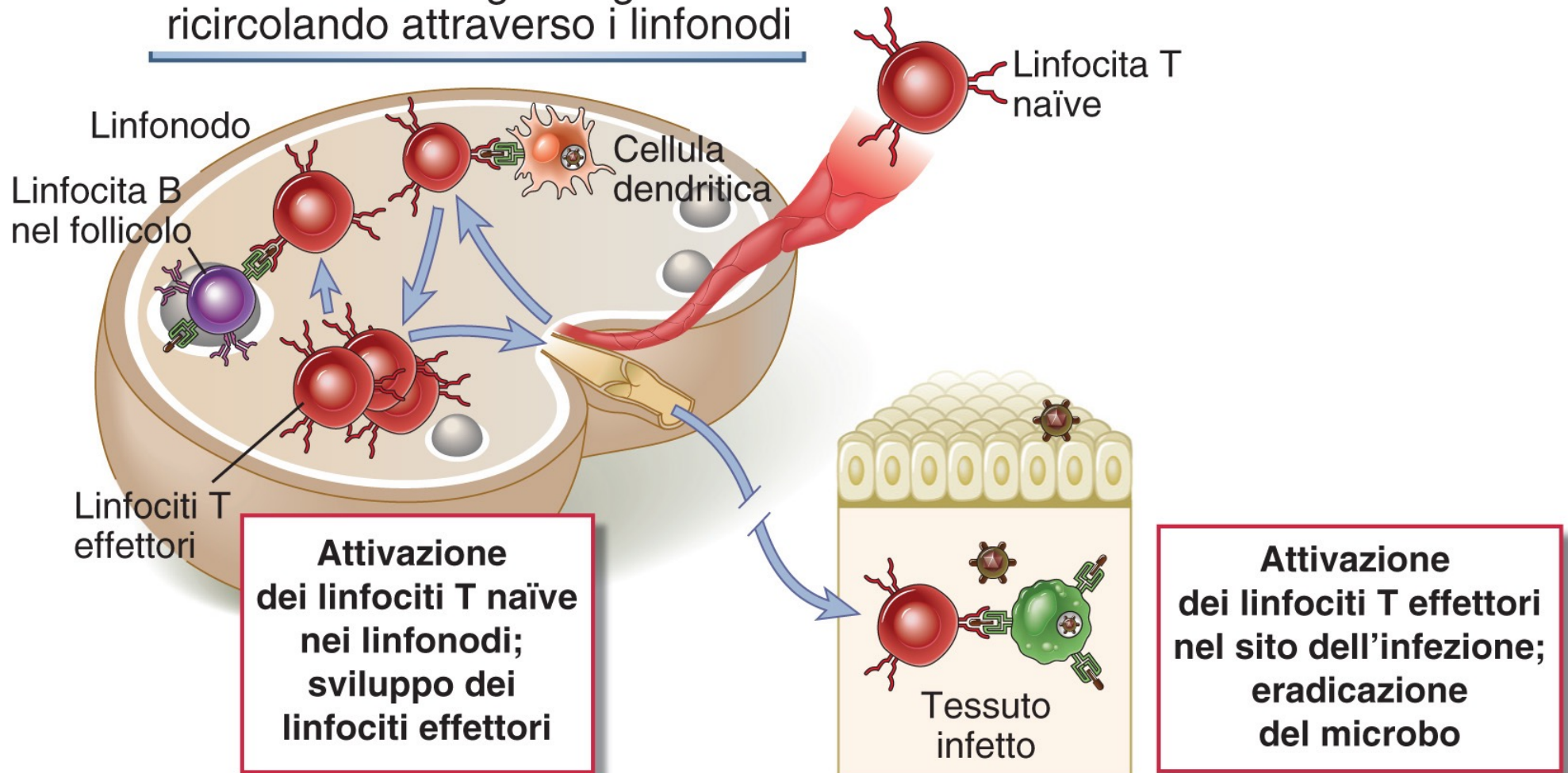
Lezione 29/10/2024

"L'attivazione dei linfociti T"

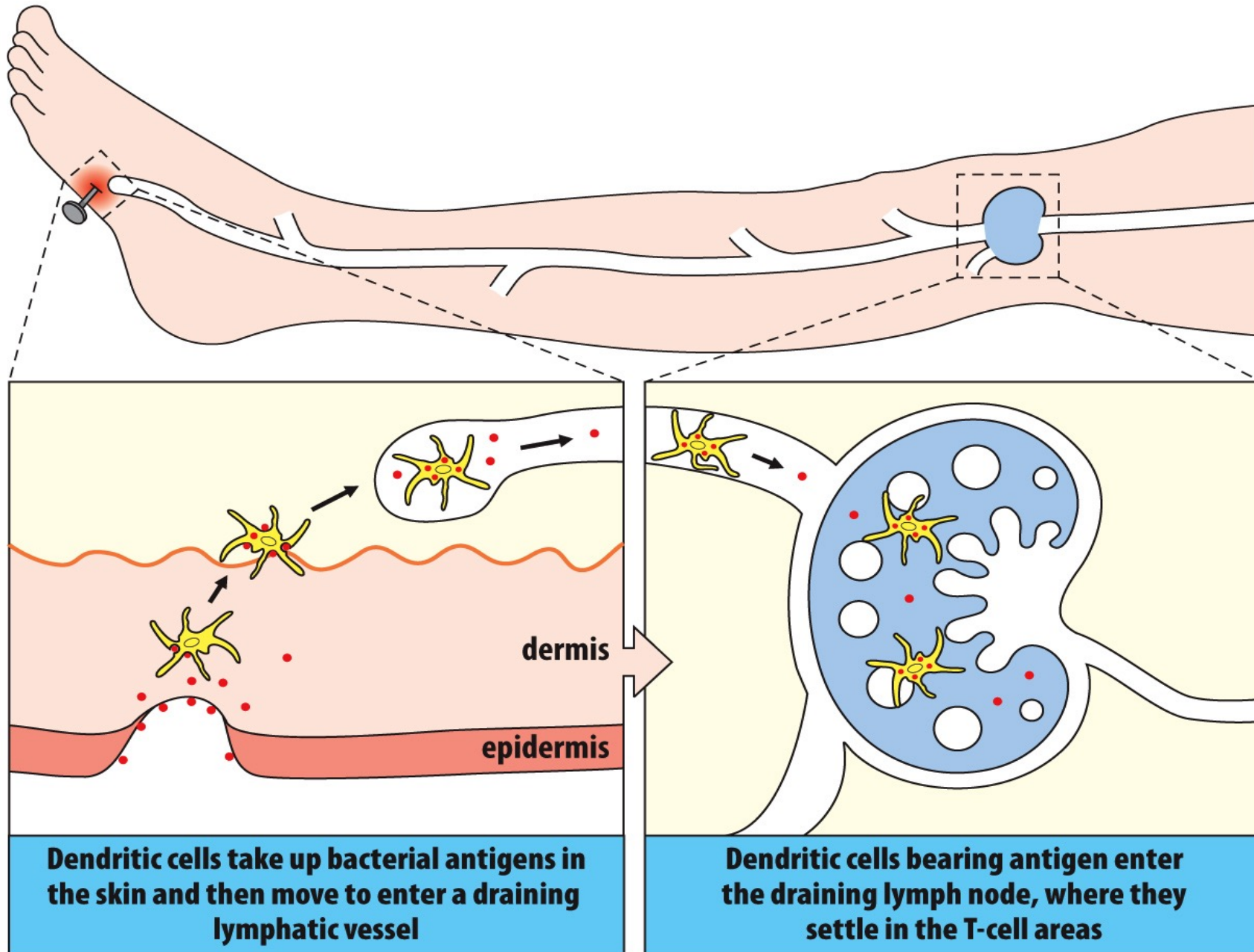
Il materiale presente in questo documento viene distribuito esclusivamente ad uso interno e per scopi didattici.

L'ATTIVAZIONE DEI LINFOCITI T naive e effettori

I linfociti T naive
individuano gli antigeni
ricircolando attraverso i linfonodi

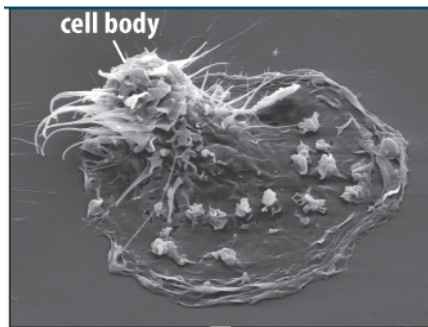


Le cellule dendritiche captano l'antigene presente nei tessuti, migrano nei linfonodi drenanti e presentano gli antigeni alle cellule T vergini



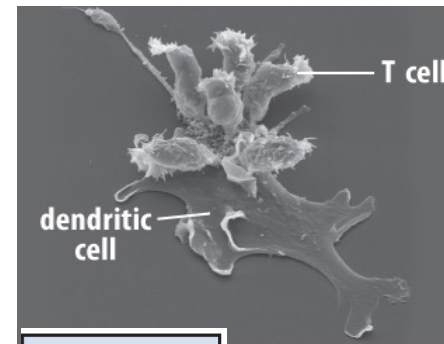
Durante il viaggio fino ai linfonodi maturano cambiando forma, fenotipo e funzioni

DC immatura



Cellula dendritica immatura

DC matura



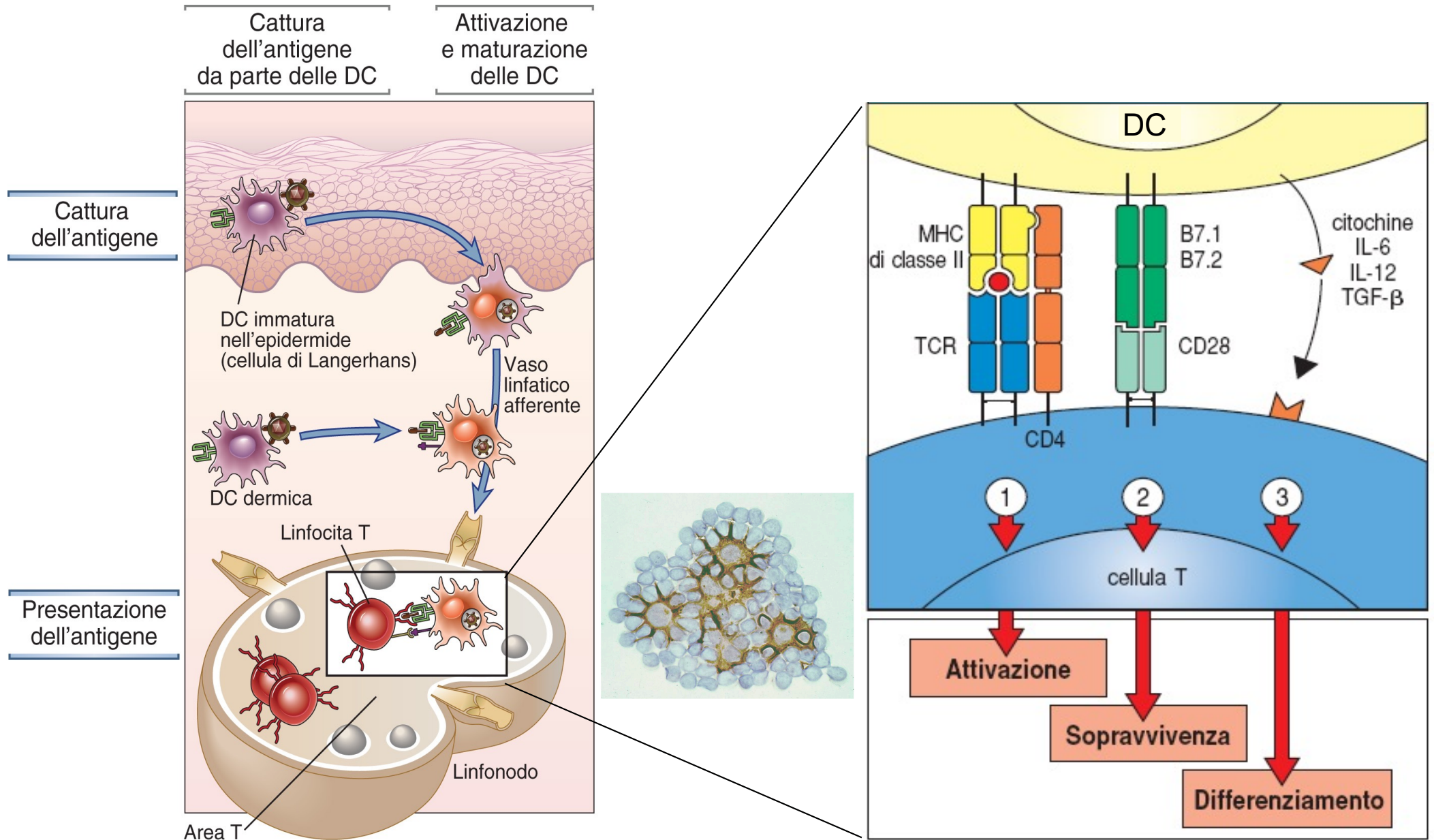
Cellula dendritica matura

Segnali derivati dai patogeni



Cellula dendritica immatura	Funzione principale	Cellula dendritica matura
Cattura dell'antigene		Presentazione dell'antigene ai linfociti T
++	Espressione dei recettori per l'Fc e dei recettori per il mannosio	-
- o bassa	Espressione delle molecole coinvolte nell'attivazione dei linfociti T: B7, ICAM-1, IL-12	++
~10 ore	Molecole MHC di classe II	>100 ore
~10 ⁶	Emivita	
	Numero di molecole di superficie	~7 × 10 ⁶

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

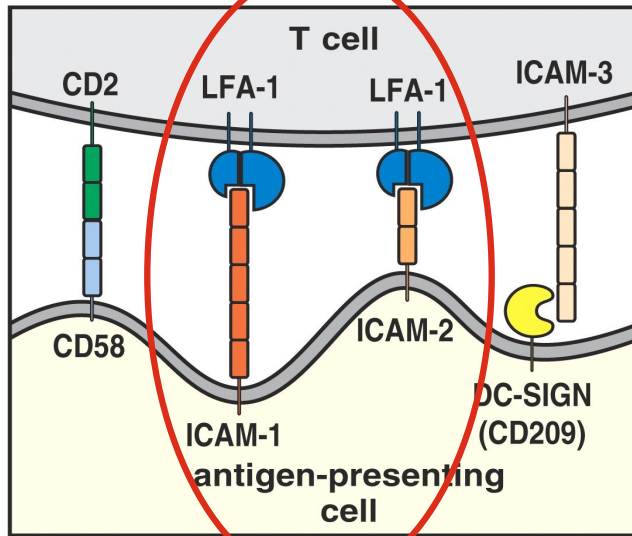


Come comunicare? Incominciando a toccarsi

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)

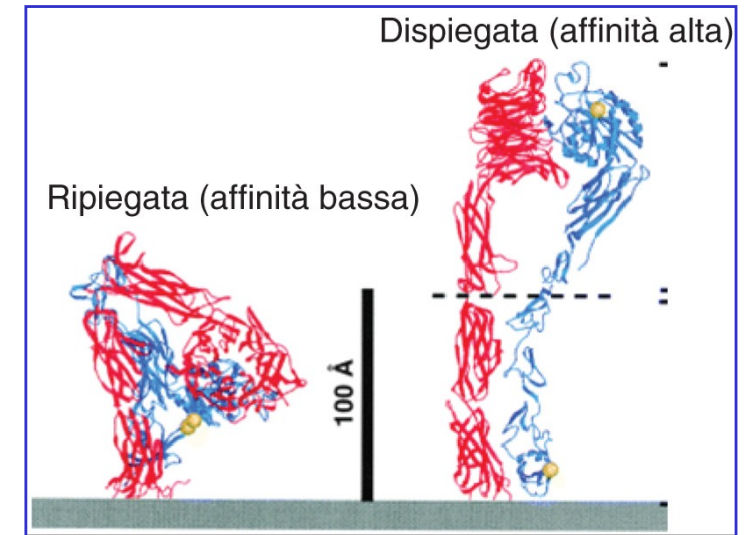
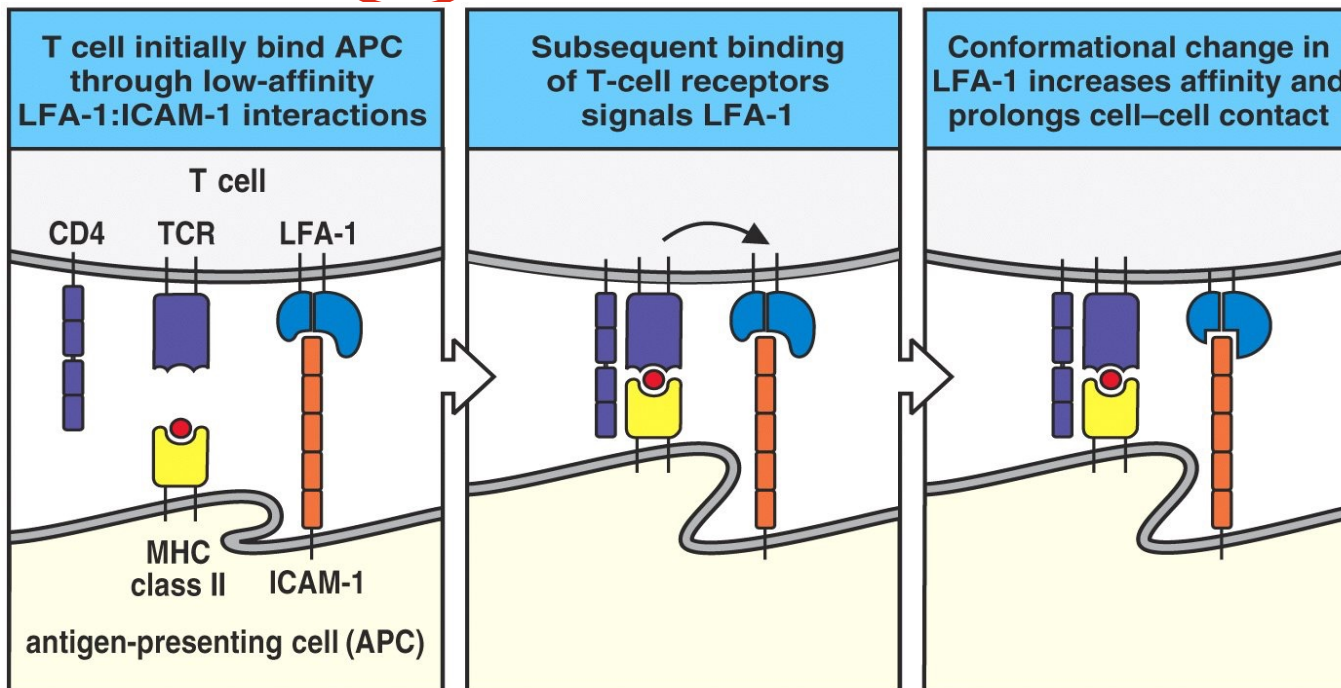


-Appartiene alla famiglia delle integrine

-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



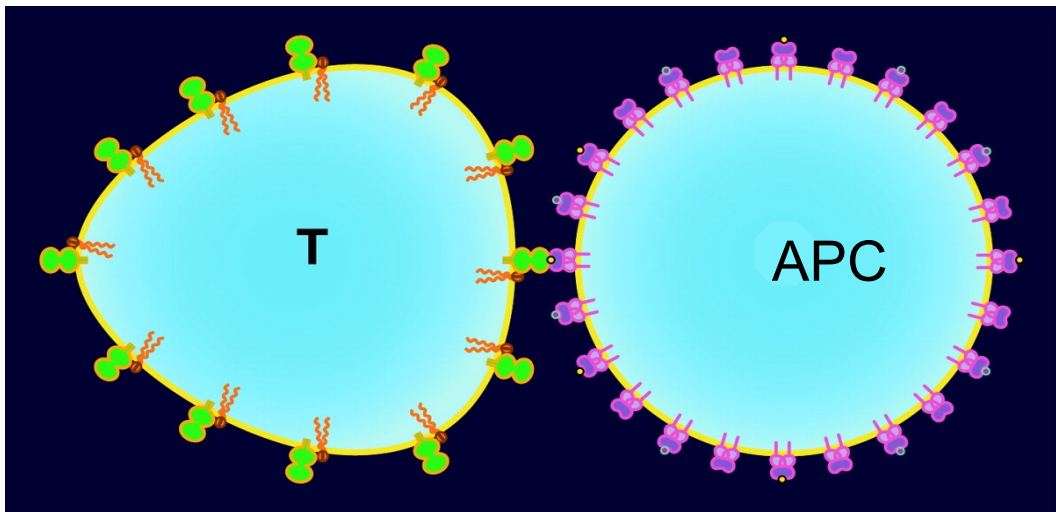
L'affinità di LFA-1 per i suoi ligandi è regolata dal riconoscimento dell'antigene!

Come comunicare? Incominciando a toccarsi

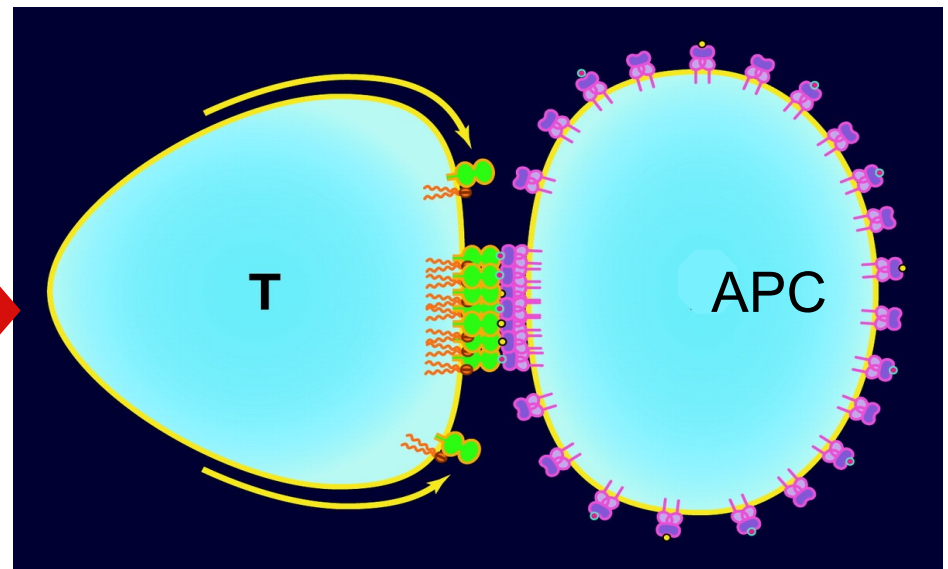
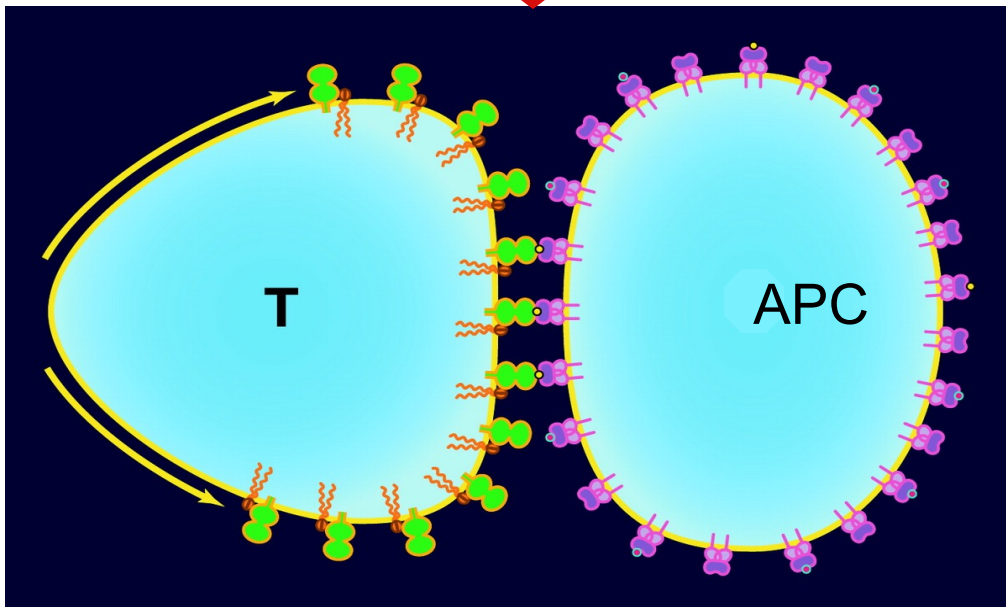
Molecole d'adesione intracellulare (ICAM) della superfamiglia delle immunoglobuline che legano l'integrine

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

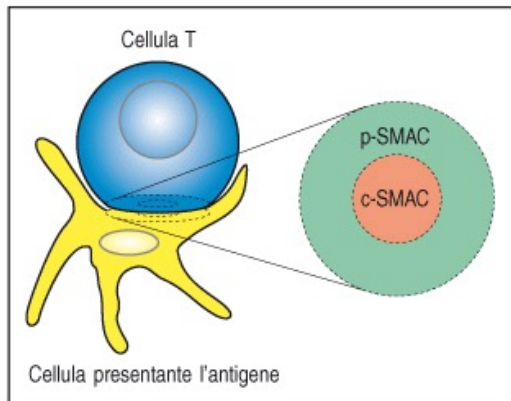
Il riconoscimento dell'antigene induce il reclutamento del TCR nel sito contatto tra il linfocita T e l'APC



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

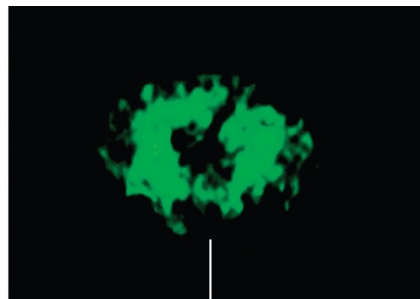
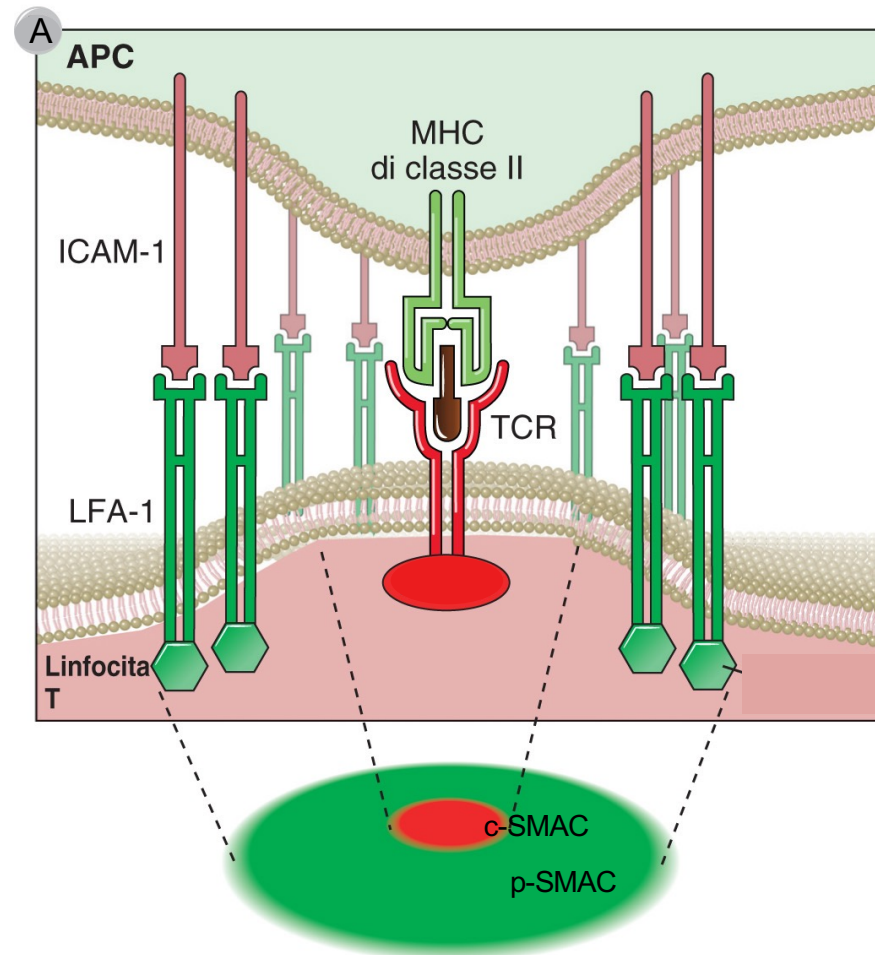


La regione di contatto del linfocita T con l'APC è chiamata

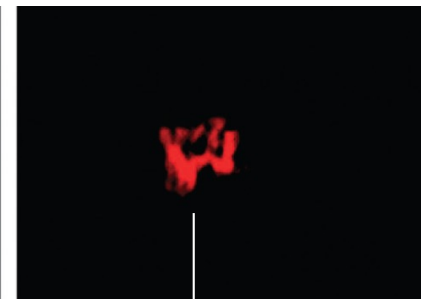
sinapsi immunologica

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

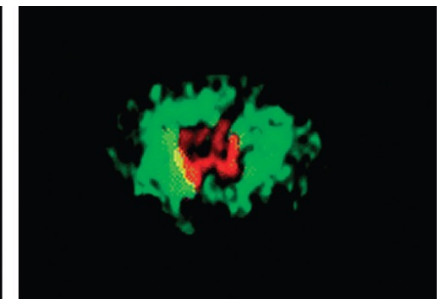
SMAC = SupraMolecular Activation Cluster



LFA-1



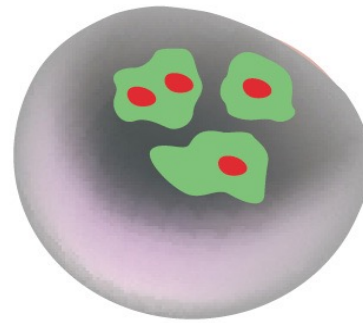
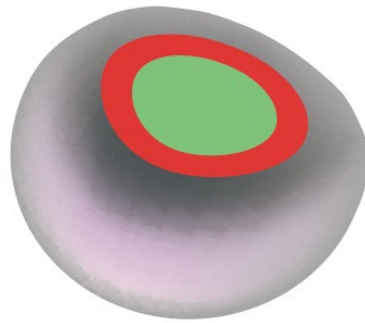
TCR



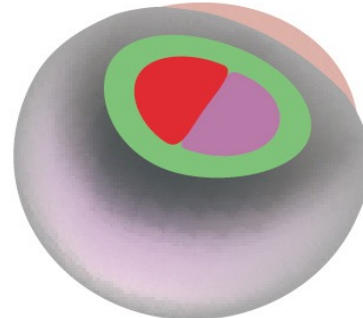
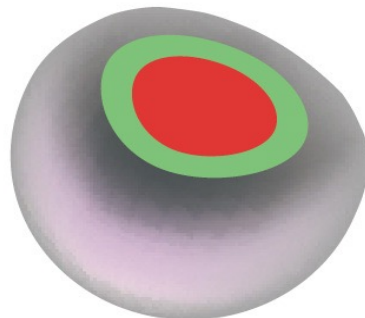
The immunological synapse in different types of T cell interactions

Helper T cell

Cytolytic T cell

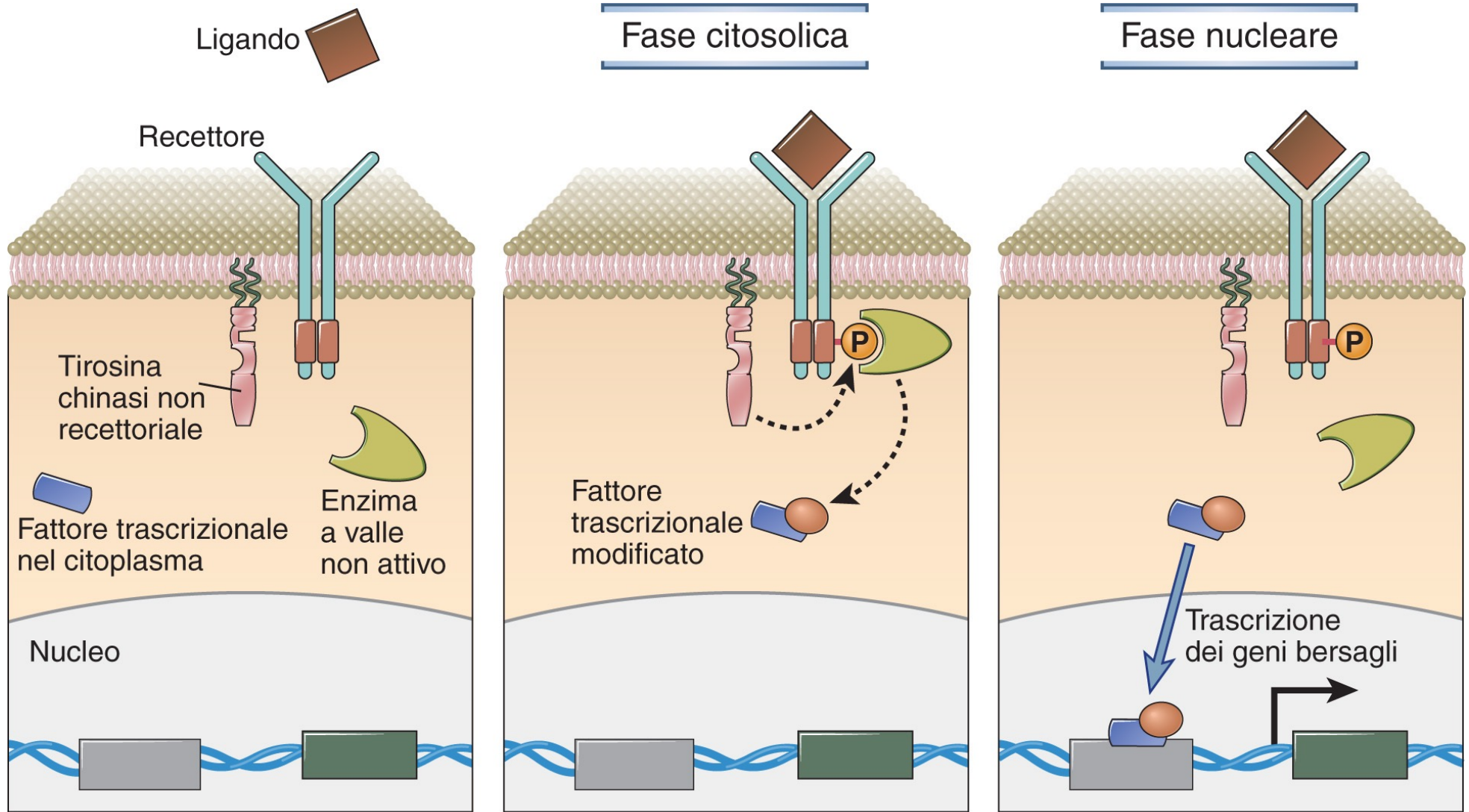


Time

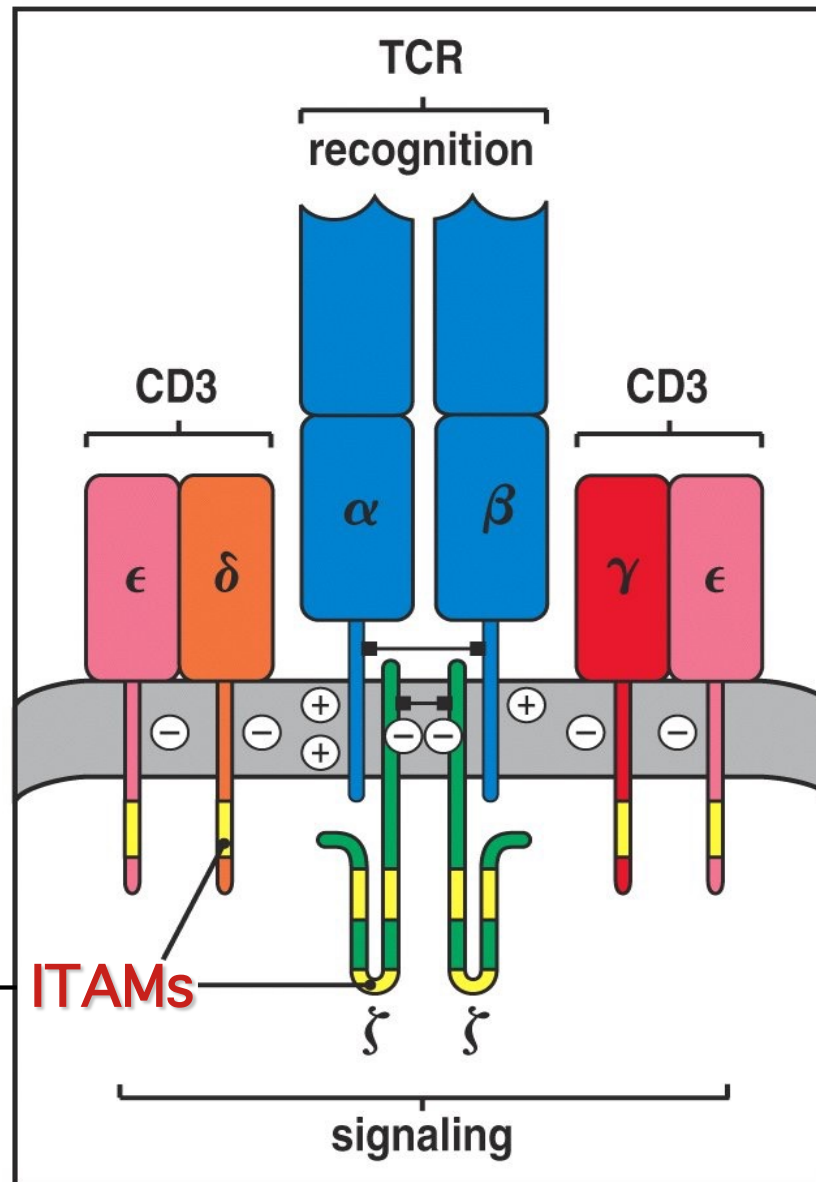


- TCR
- LFA-1/talin
- lytic granules

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



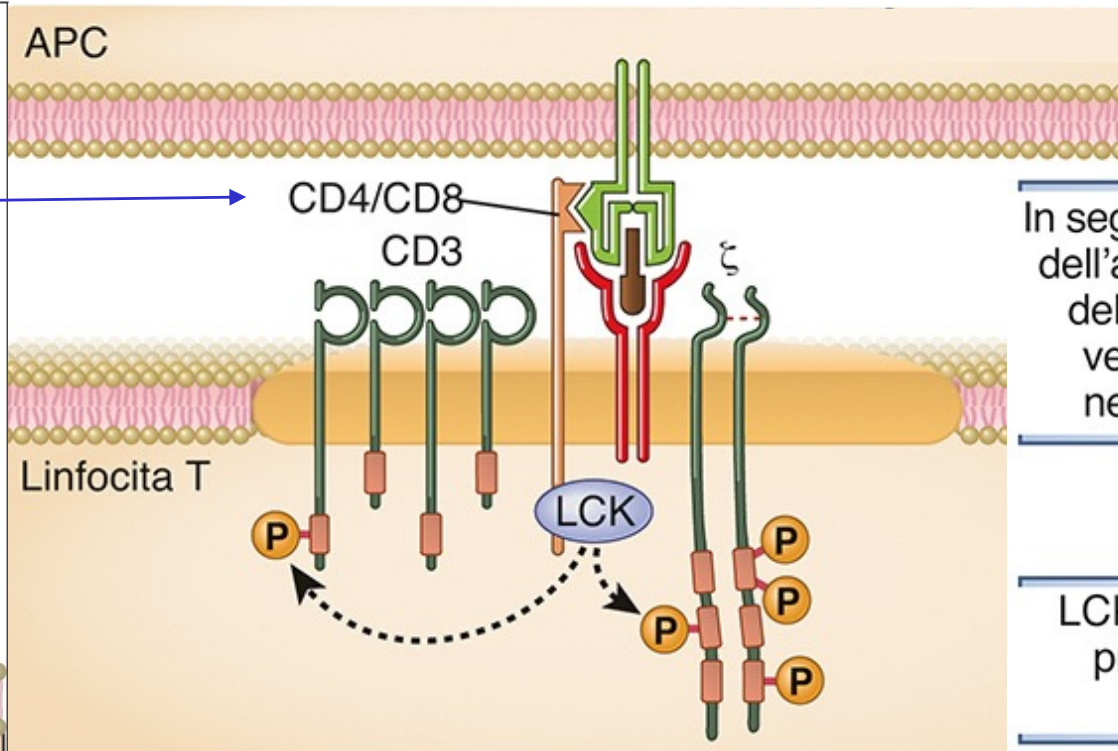
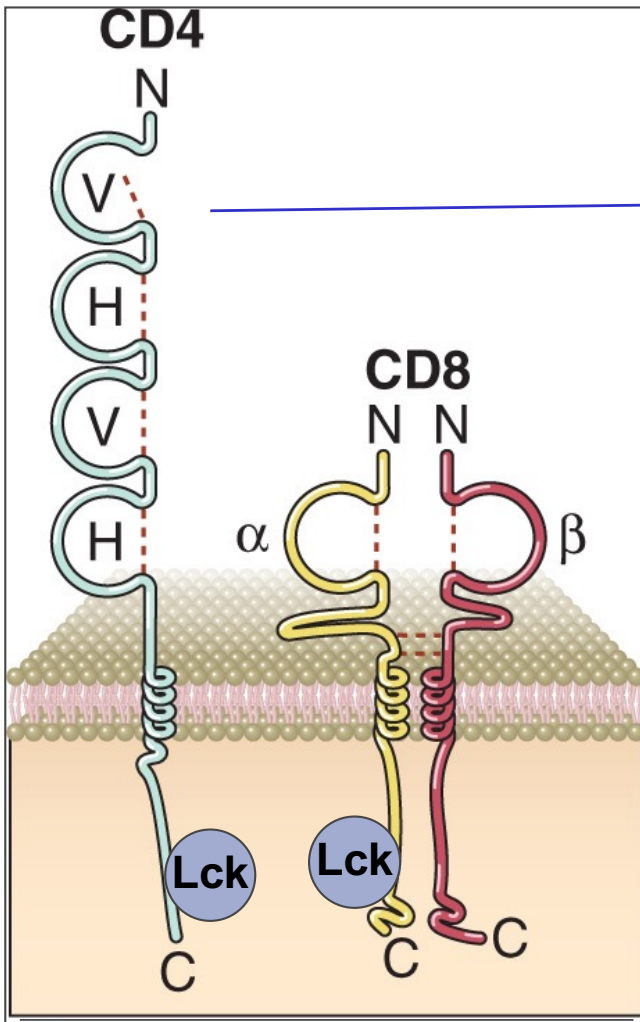
ITAM motif:

YxxL/xxxxxxYxxL/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

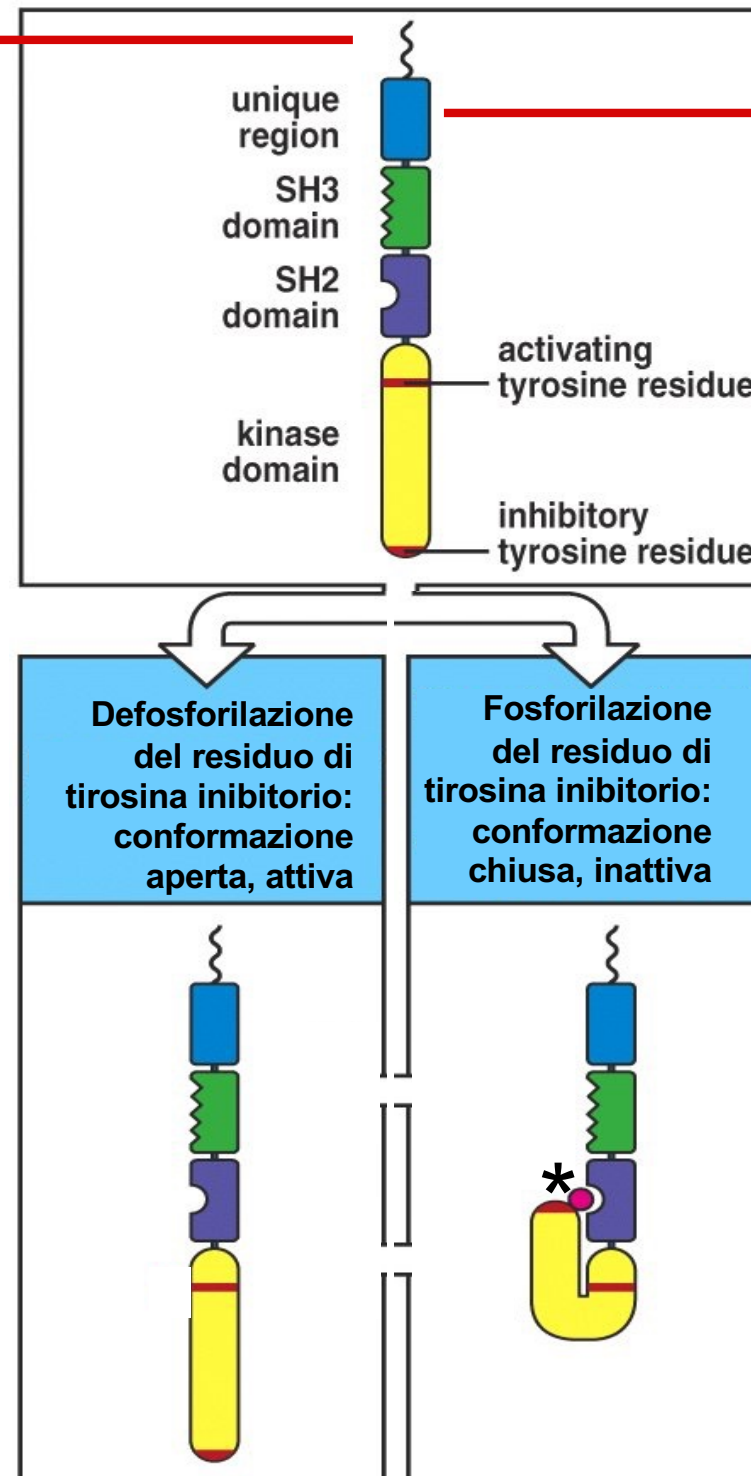
Gli enzimi responsabili degli eventi di fosforilazione/defosforilazione del residuo inibitorio sono:

Csk= tirosino chinasi

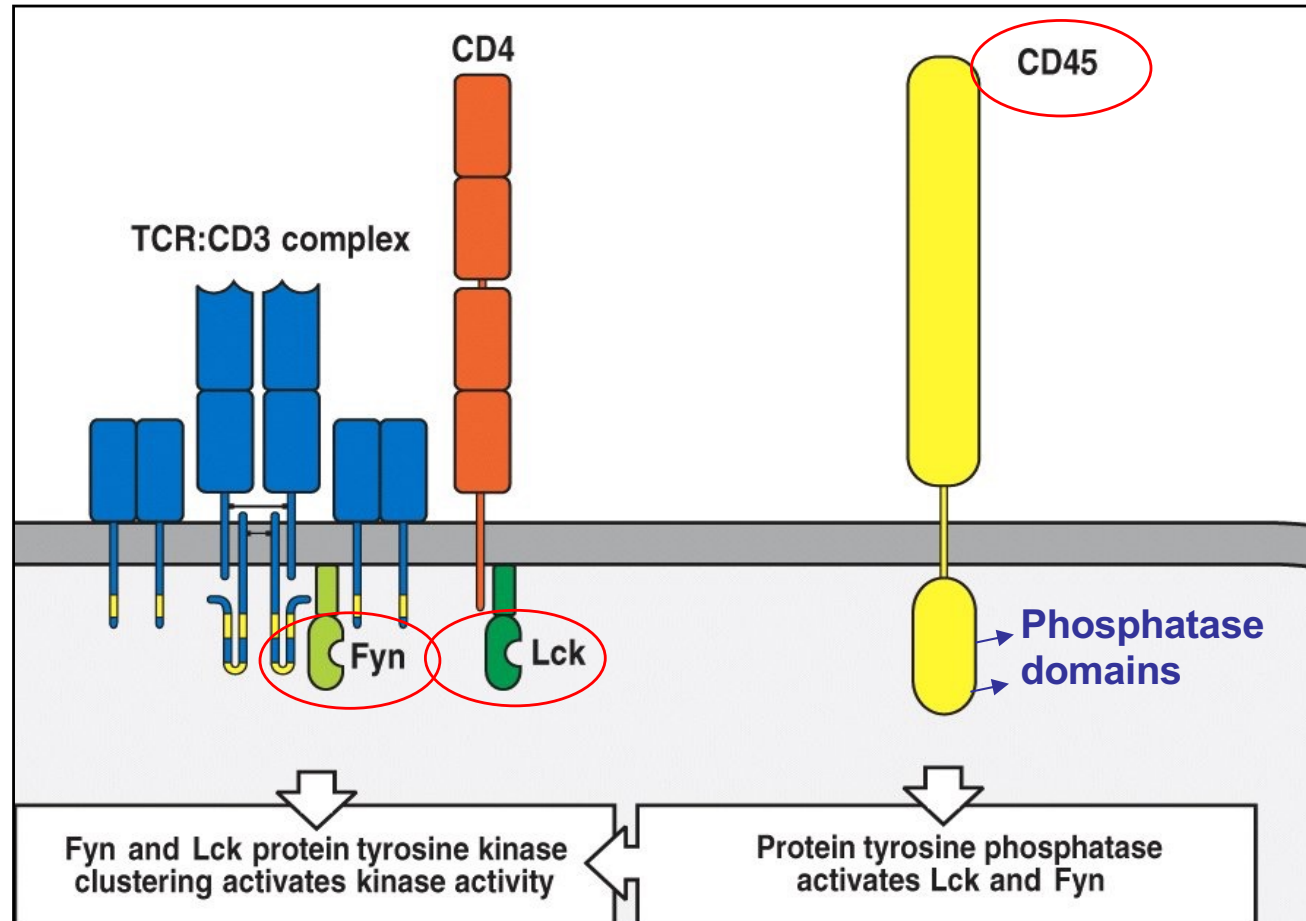
CD45= tirosino fosfatasi

Sito di legame alla membrana

Sito di legame ai corecettori CD4/CD8

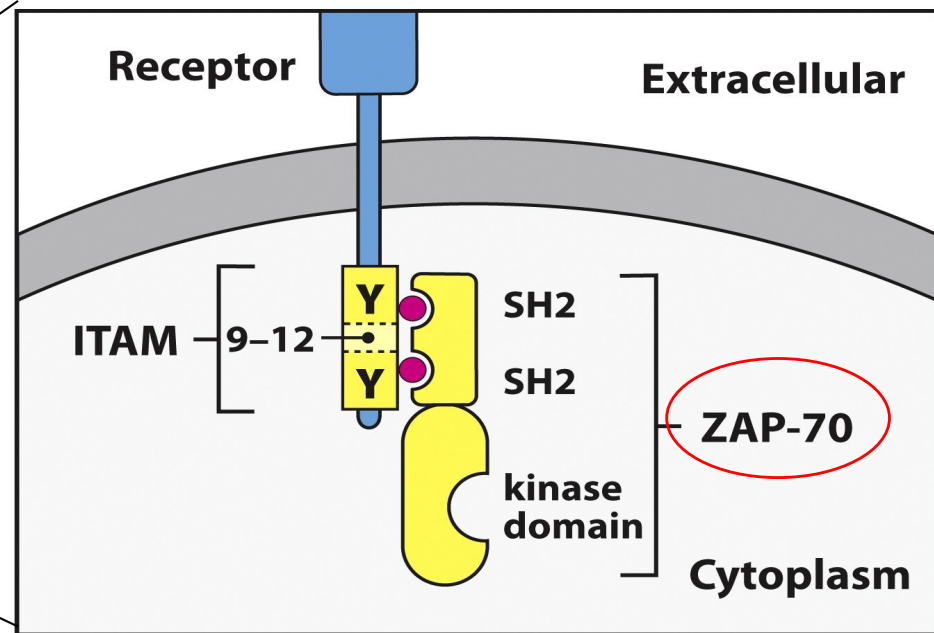
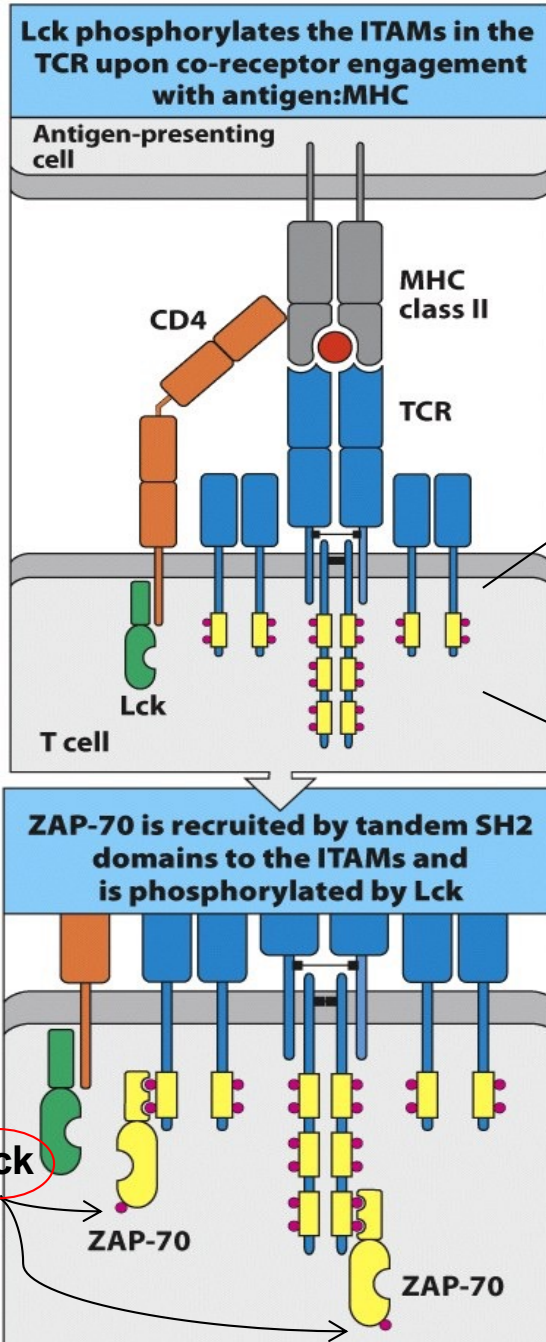


Proteino chinasi e fosfatasi sono coinvolte nell'attivazione dei linfociti T

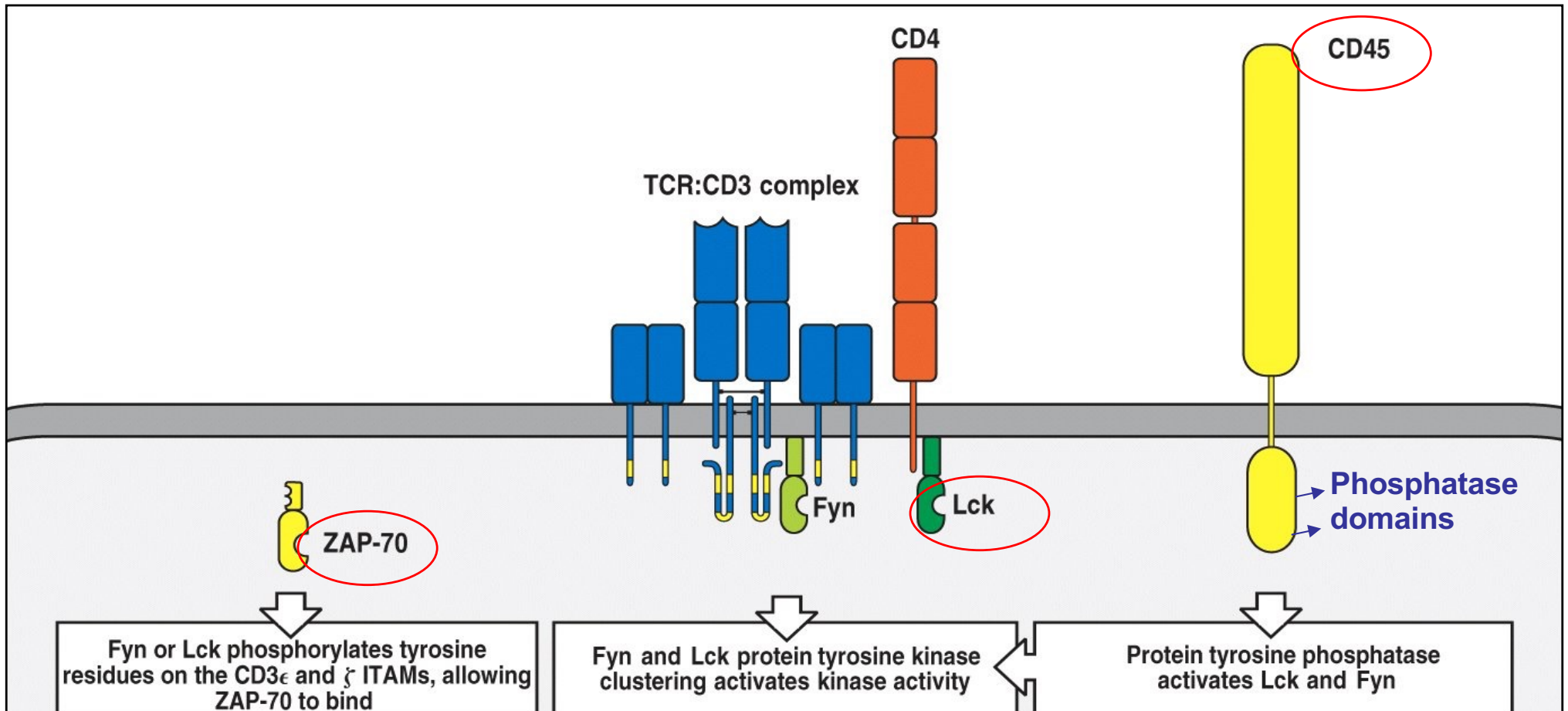


CD45 = L-CA = Leukocyte Common Antigen

Eventi di attivazione prossimali alla membrana

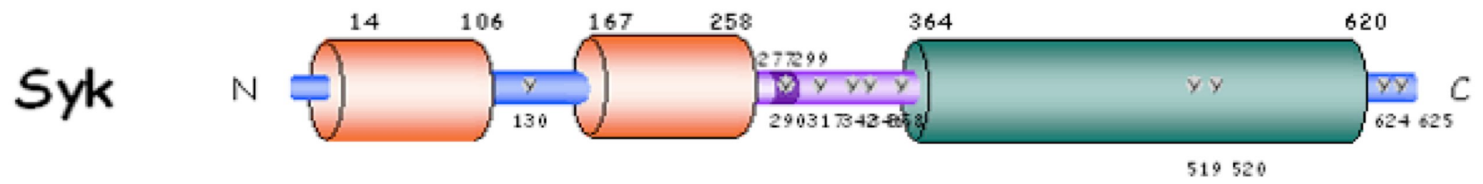


Principali enzimi coinvolti nell'attivazione dei linfociti T

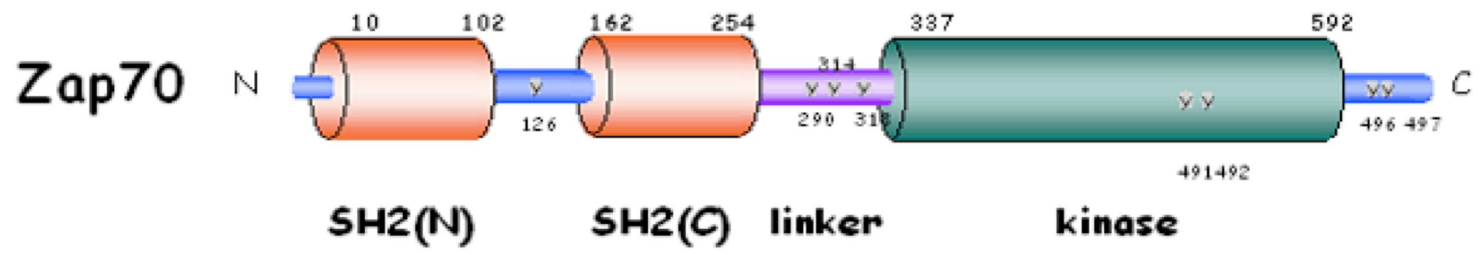


Structure of the related Syk and Zap-70 tyrosine kinases

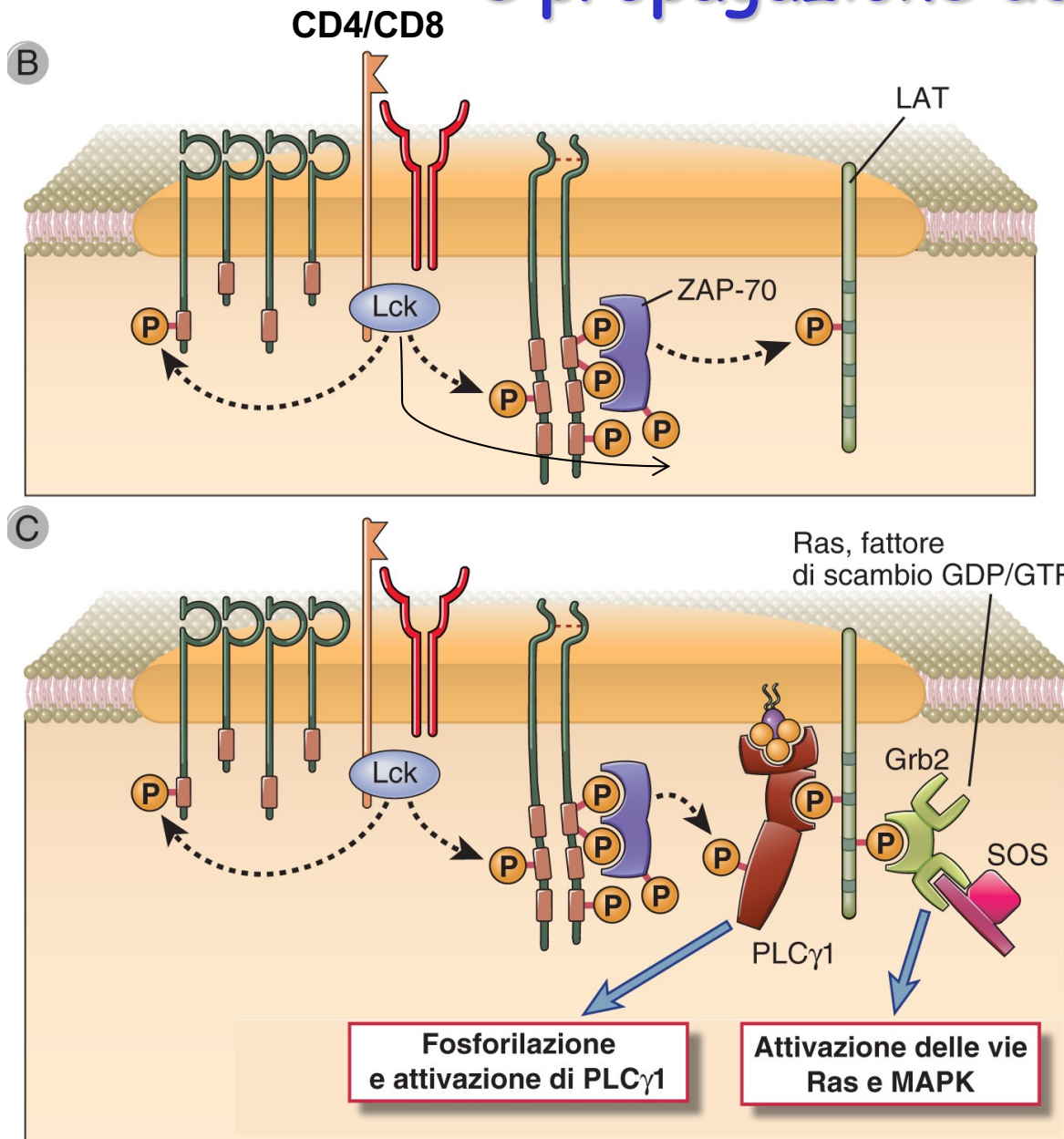
B cells and mast cells



T cells



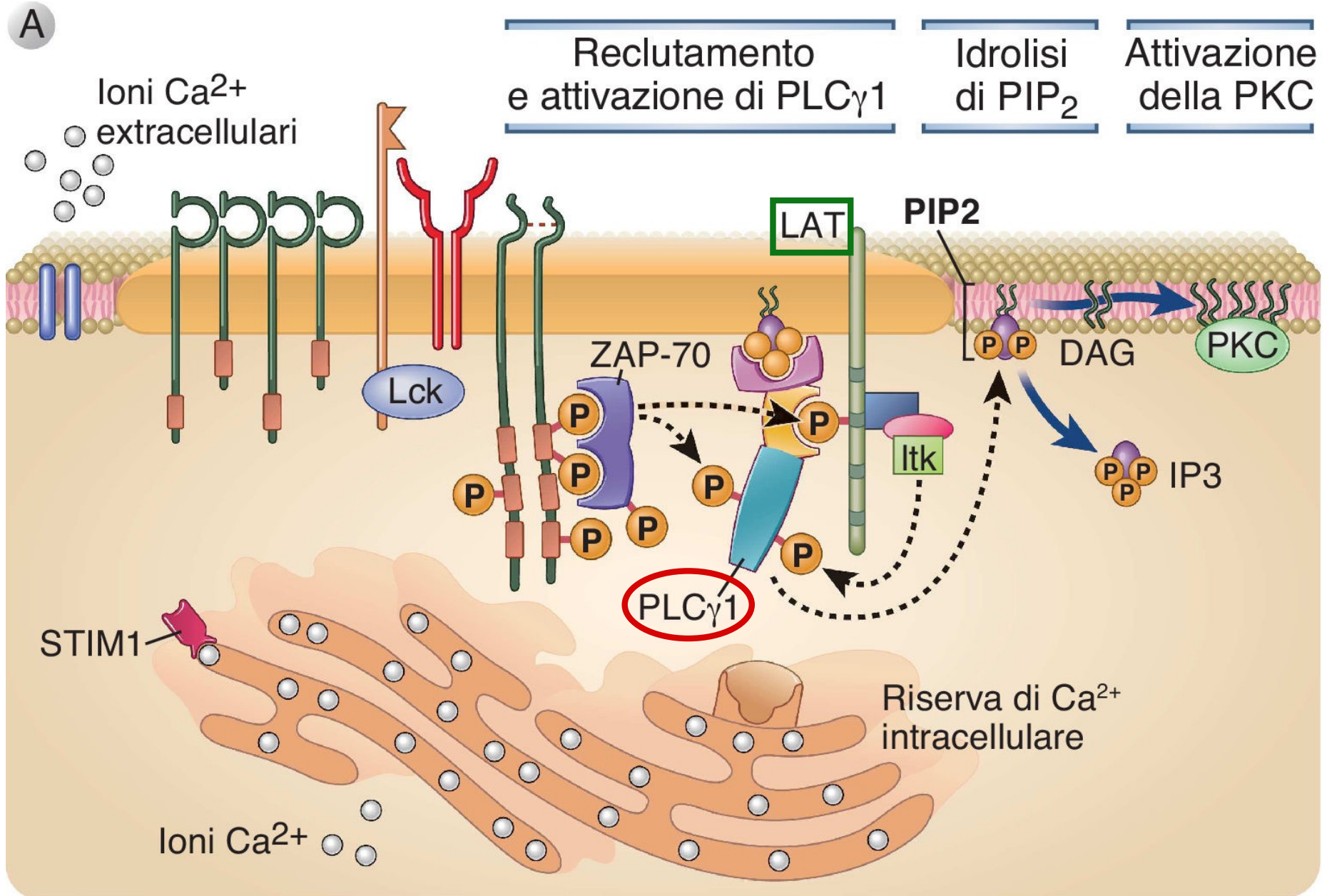
Attivazione della tirosino-chinasi citoplasmatica ZAP-70 e propagazione del segnale



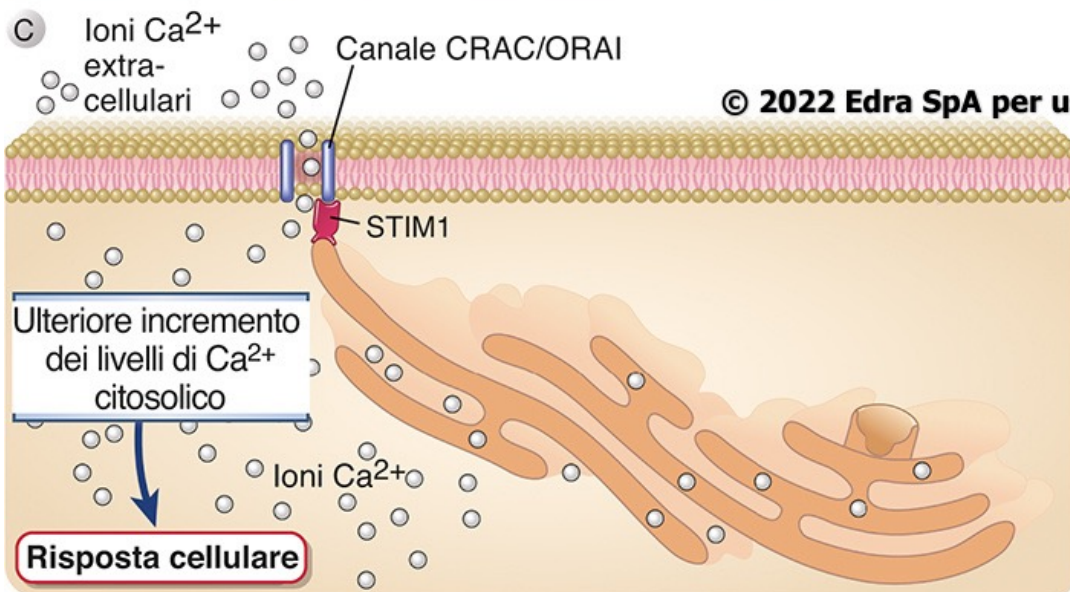
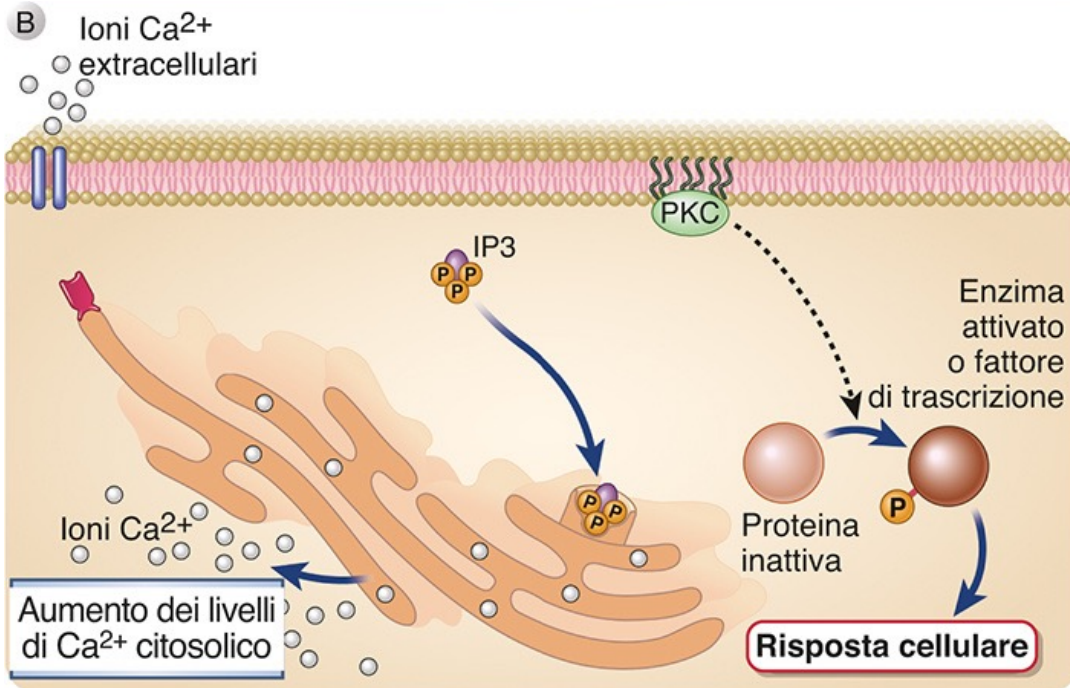
ZAP-70 si lega alle fosfotirosine della catena ζ e fosforila le proteine adattatrici, come LAT

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

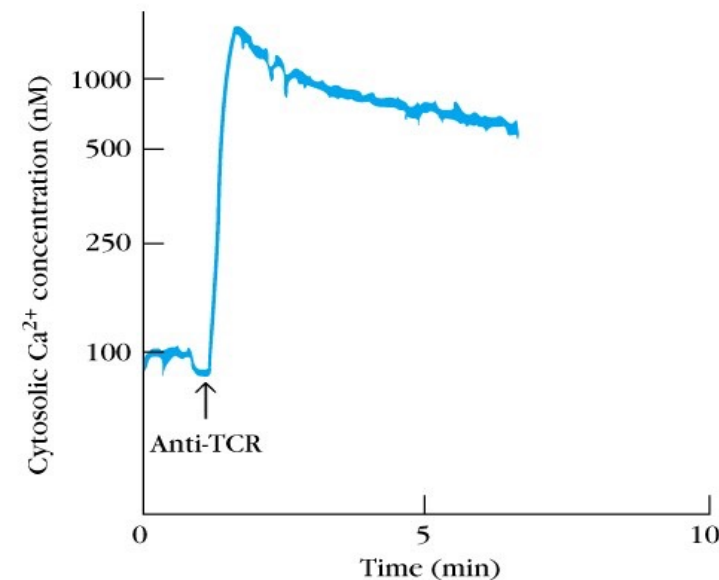
Meccanismi di attivazione a valle di PLC γ : il metabolismo degli inositoli



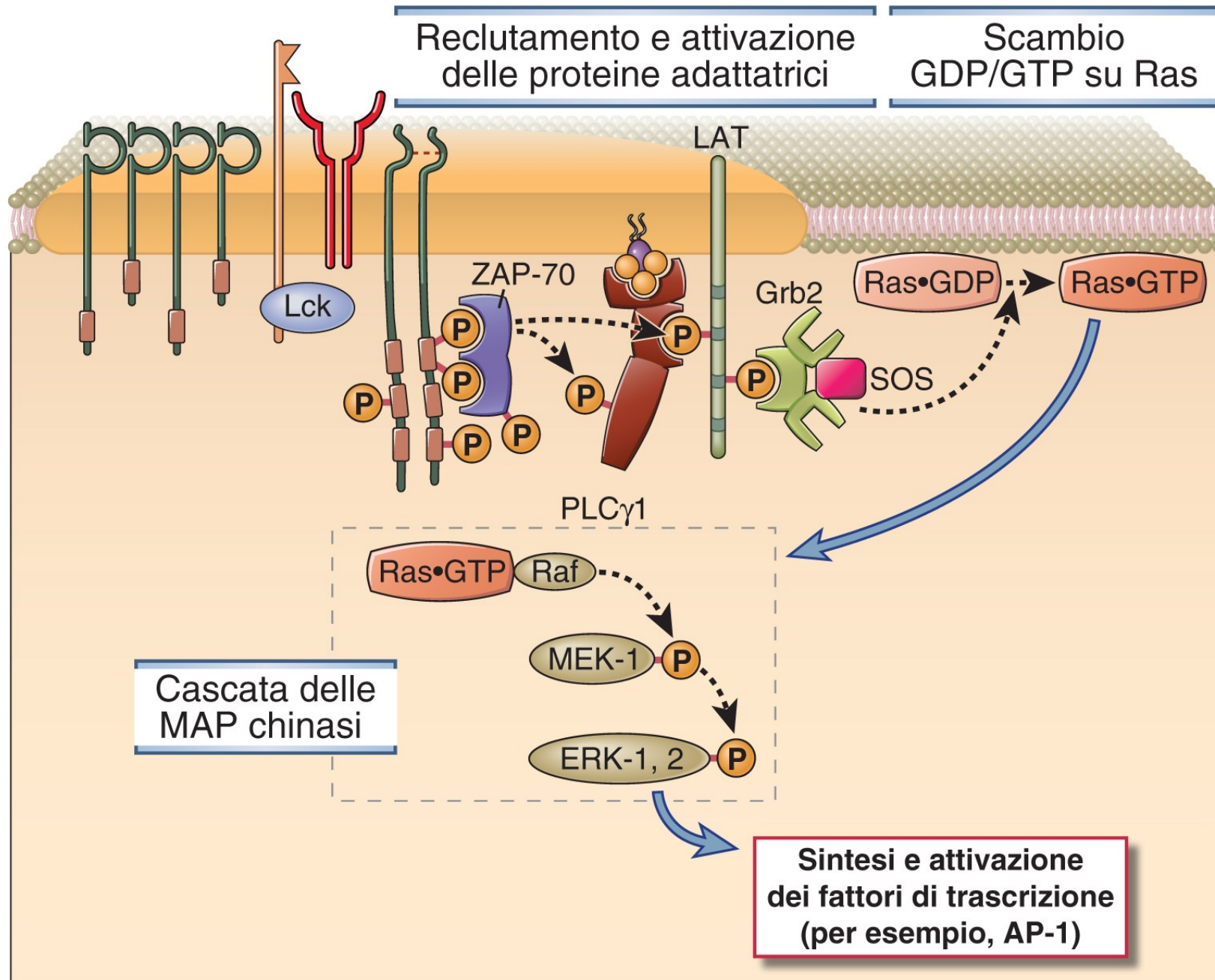
Meccanismi di attivazione a valle di PLC γ : l'aumento di calcio citosolico e l'attivazione delle PKC



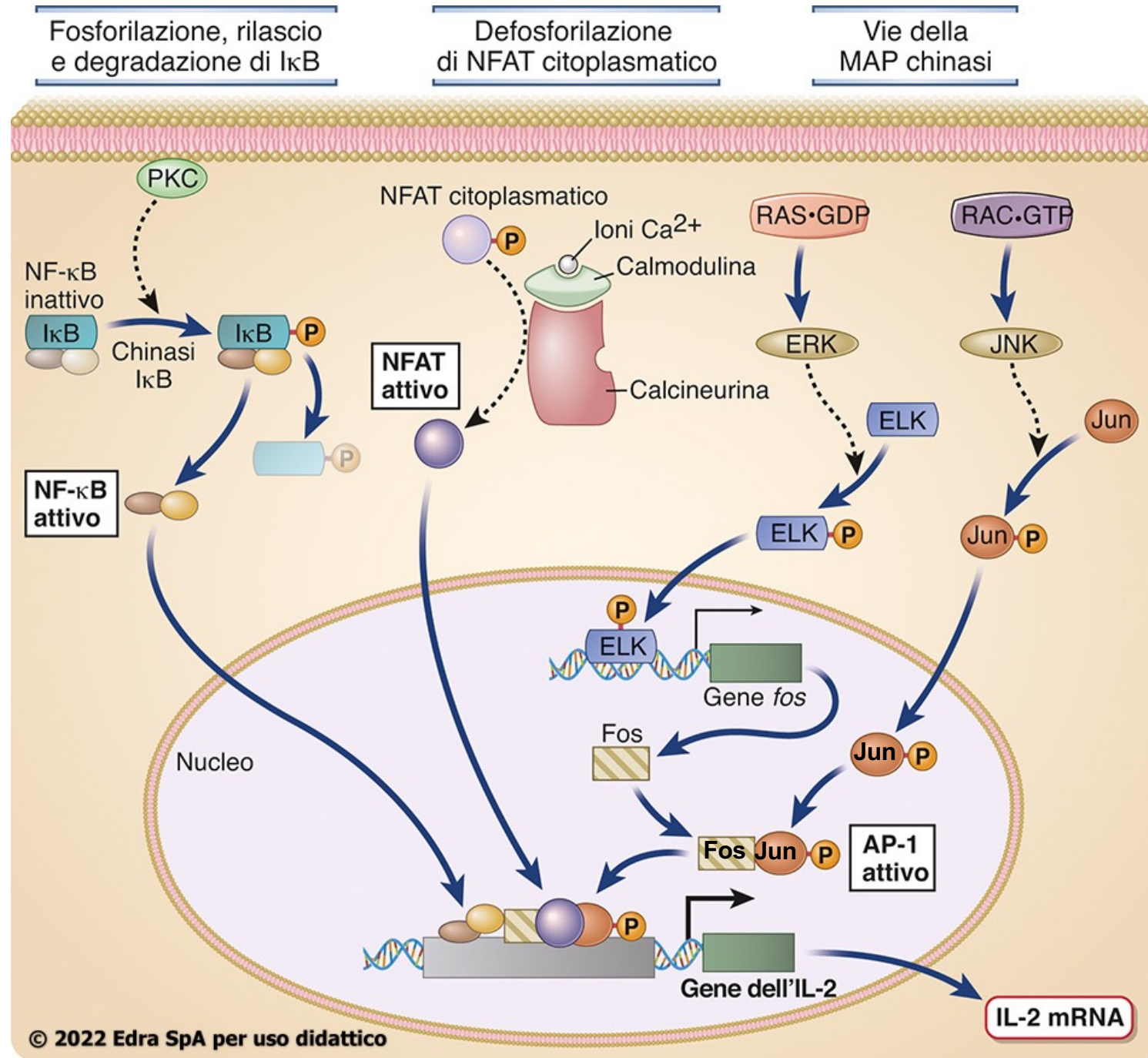
A rapid augmentation of cytosolic Ca^{2+} concentration is one of the earliest activation events upon antigen recognition



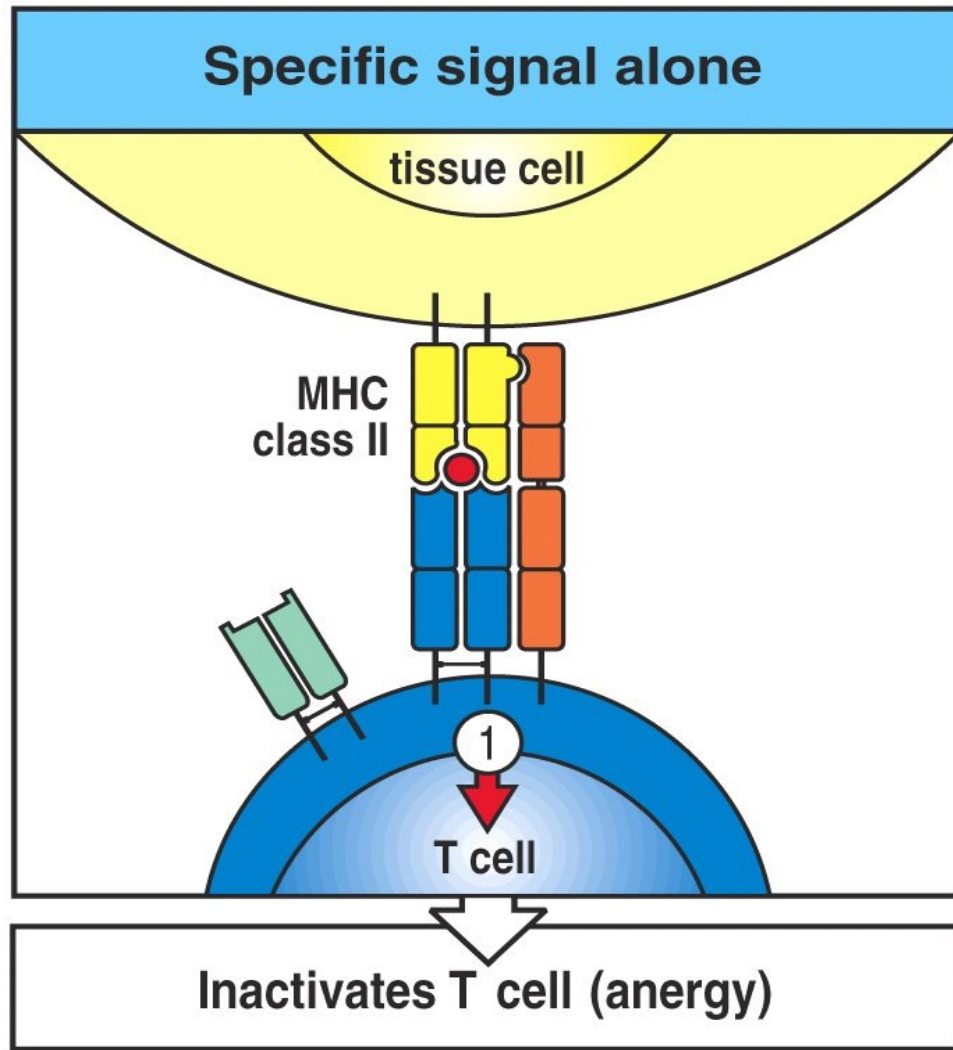
La via di RAS e delle MAP chinasi nell'attivazione dei linfociti T



Queste vie attivano diversi fattori trascrizionali



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



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

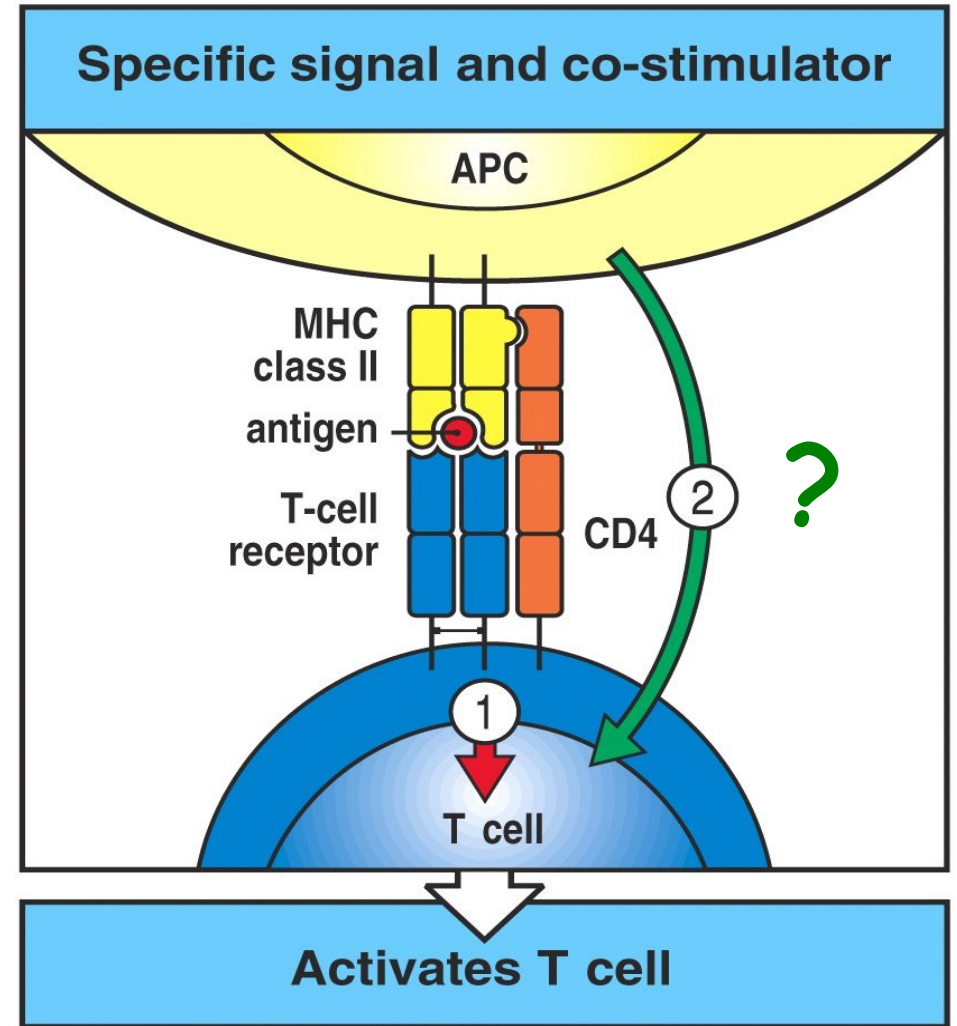


Figure 8-10 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

In cosa consiste il secondo segnale?

INTERAZIONI TRA MOLECOLE
DI MEMBRANA

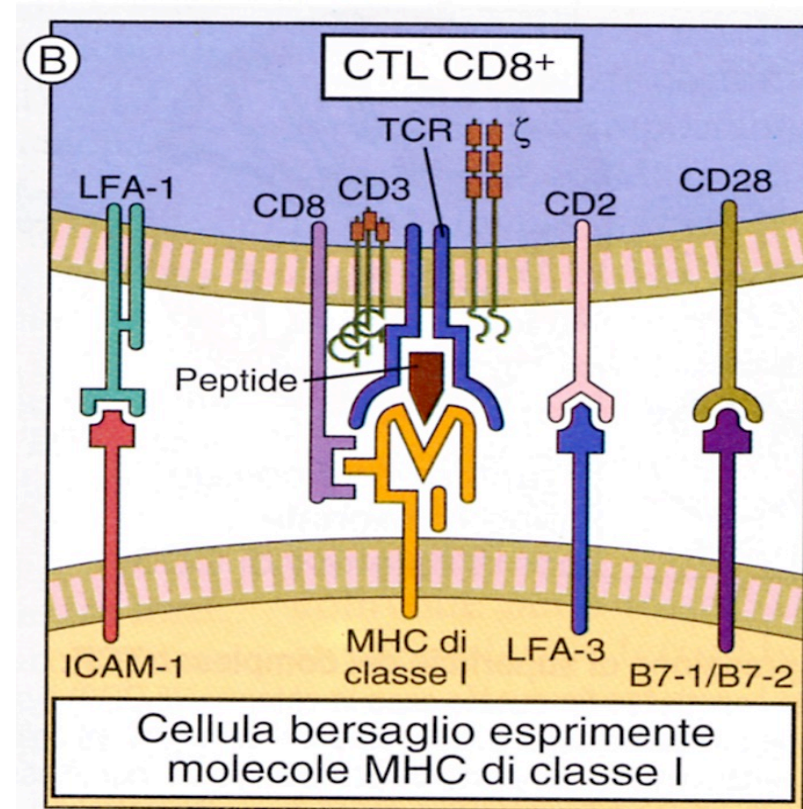
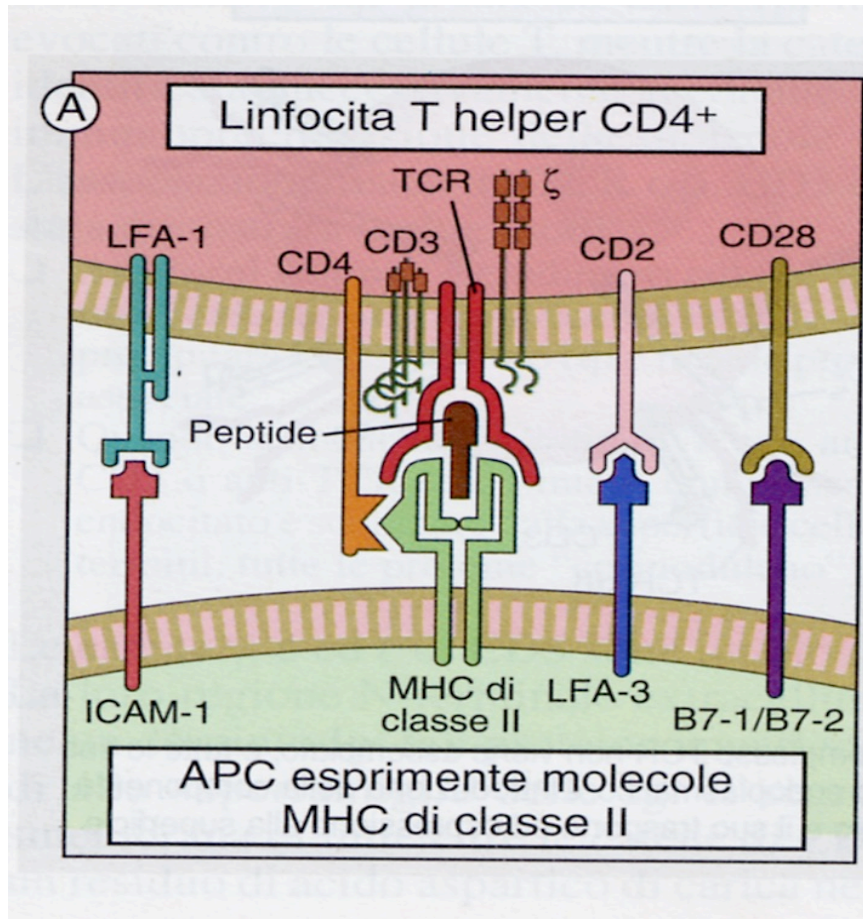
ligandi espressi dalle APC



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

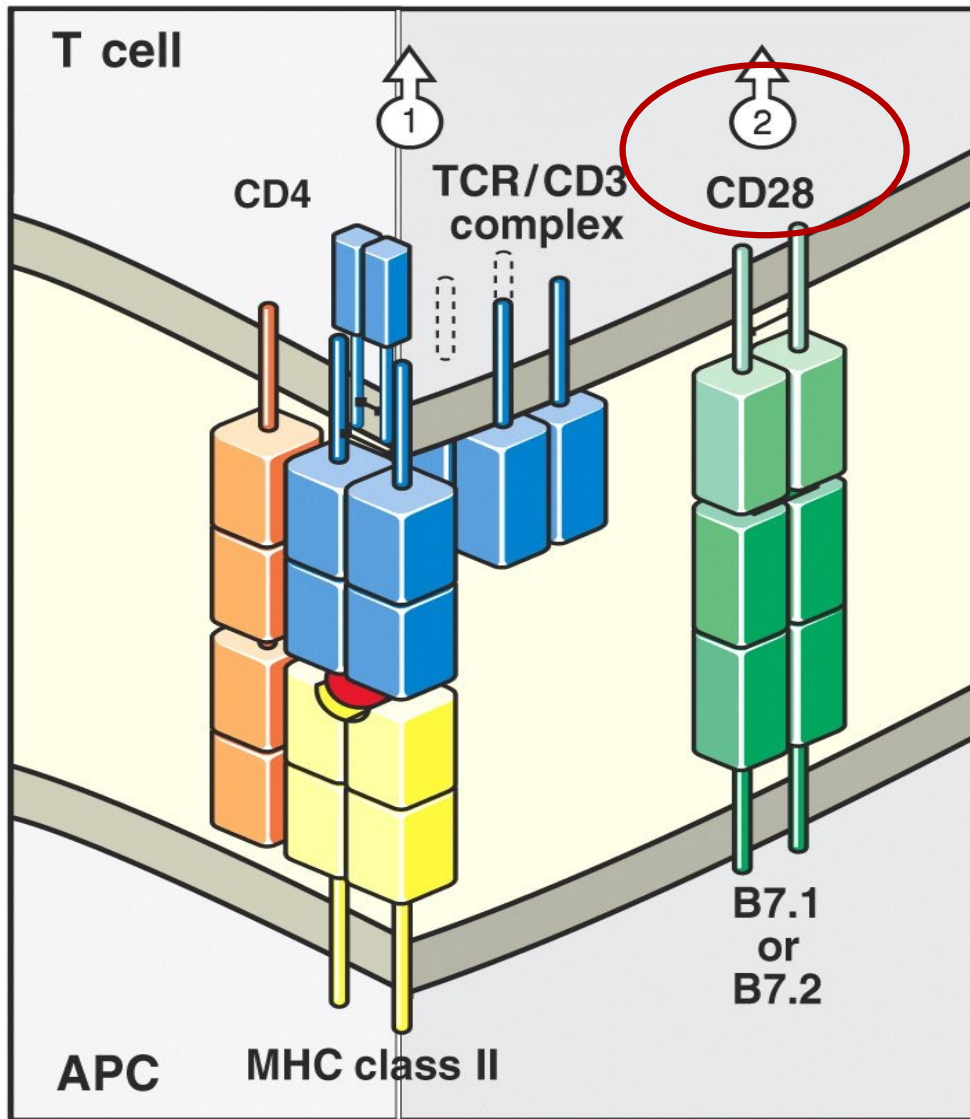
Il 2° segnale: Le molecole accessorie dei linfociti T



- 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



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

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

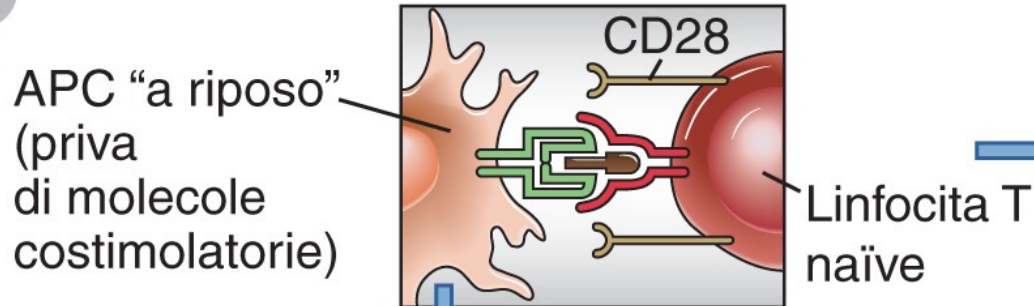
E' in grado di trasdurre il secondo segnale richiesto per la piena attivazione del linfocita T vergine

Funzioni delle molecole costimolatorie

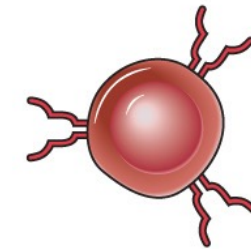
Riconoscimento dell'antigene

Risposta T

A

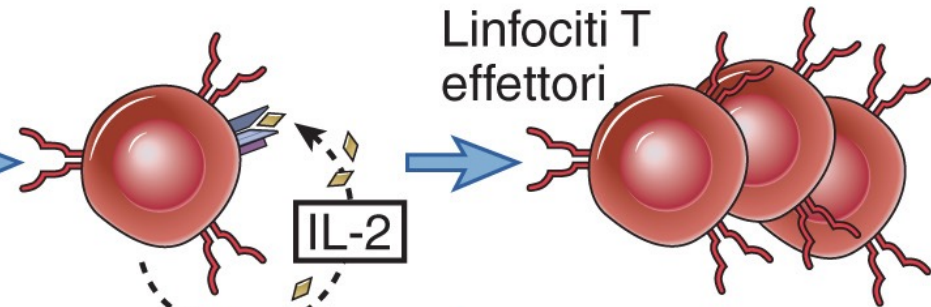
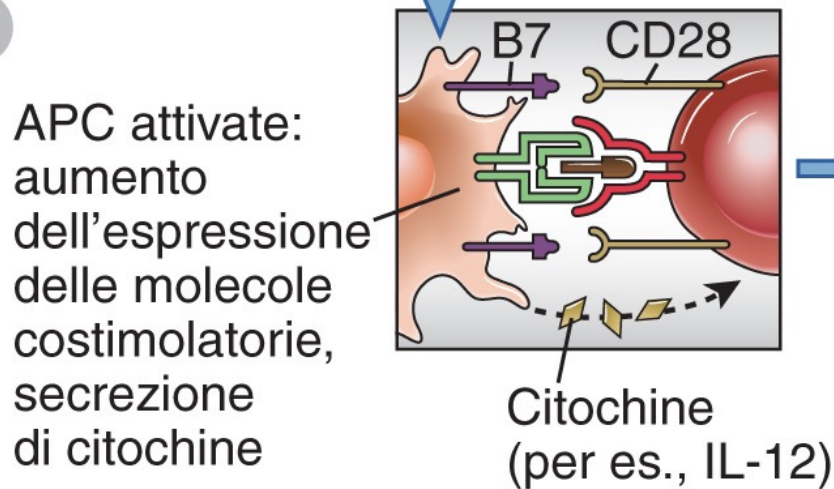


Attivazione delle APC da parte dei microbi, risposta immunitaria innata



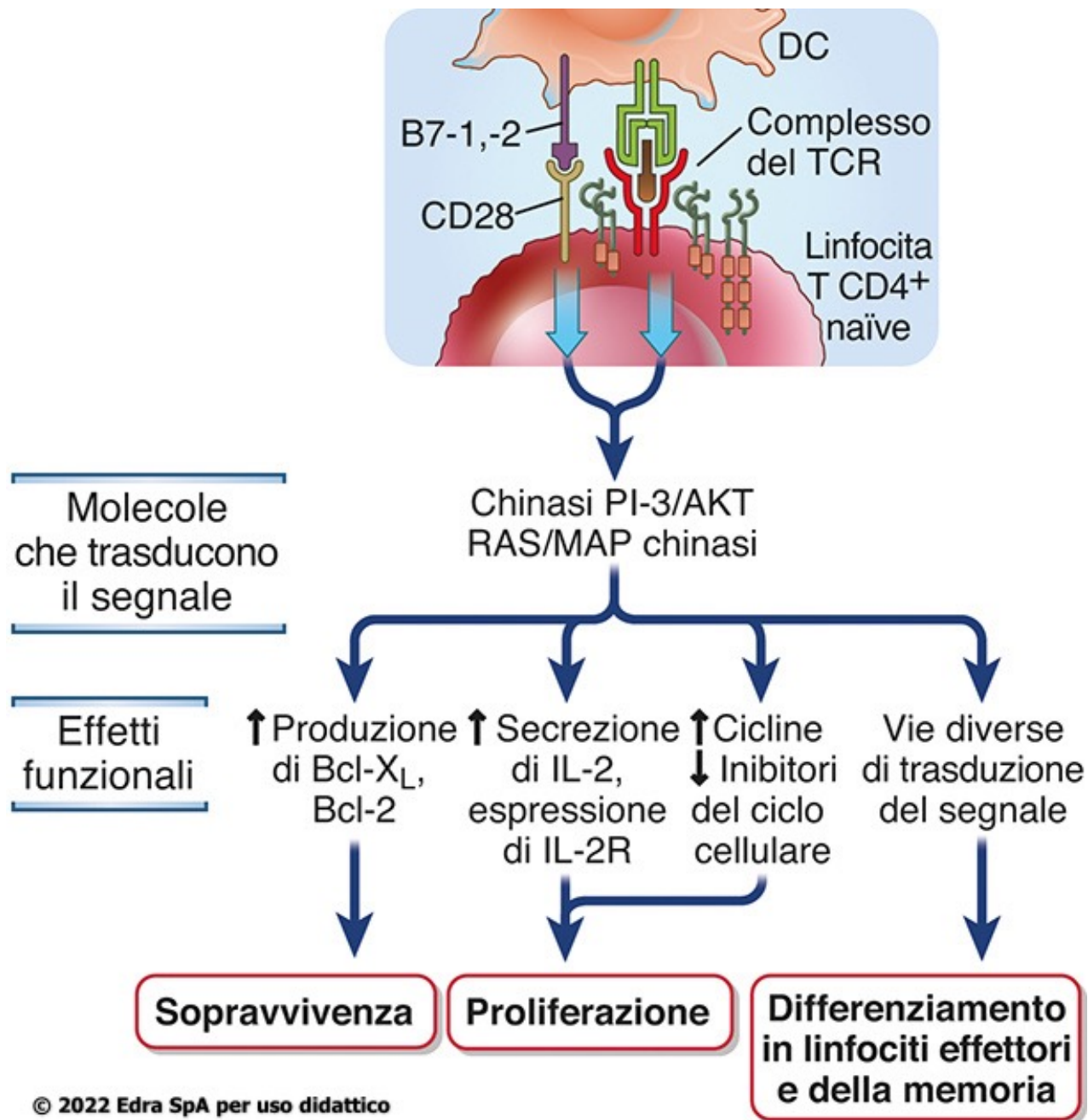
Nessuna risposta o anergia

B

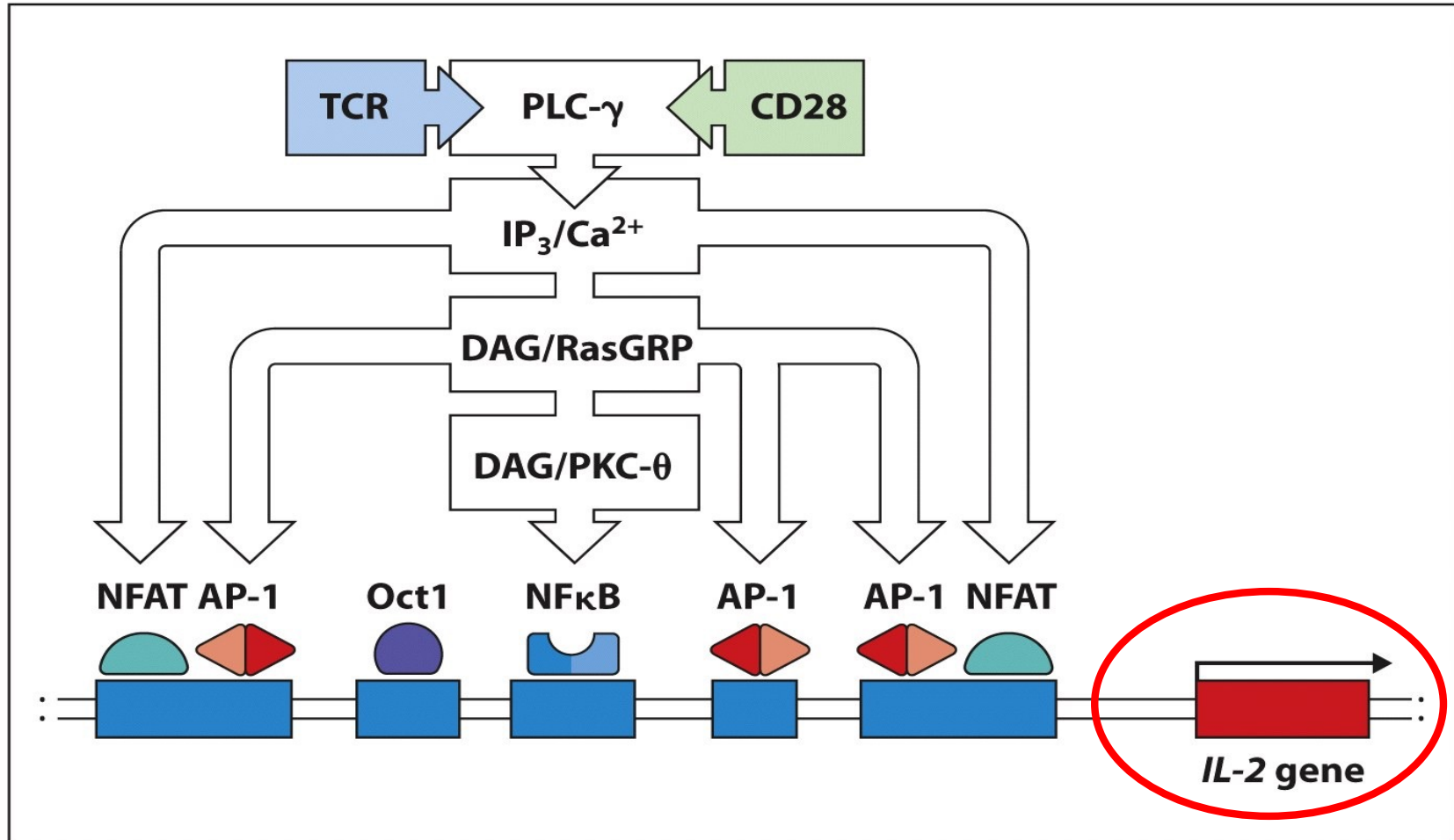


Sopravvivenza, proliferazione e differenziamento dei linfociti T

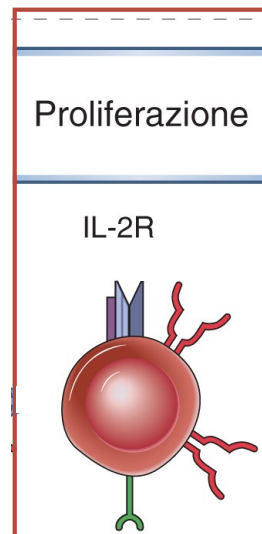
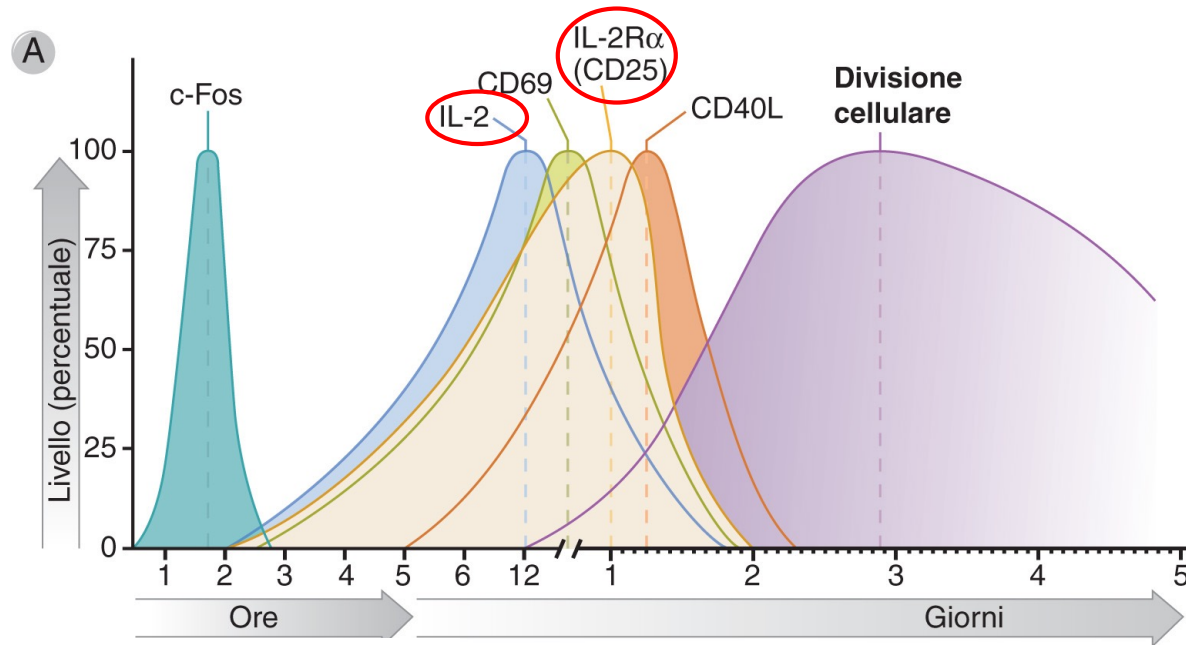
Principali segnali innescati dal CD28



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



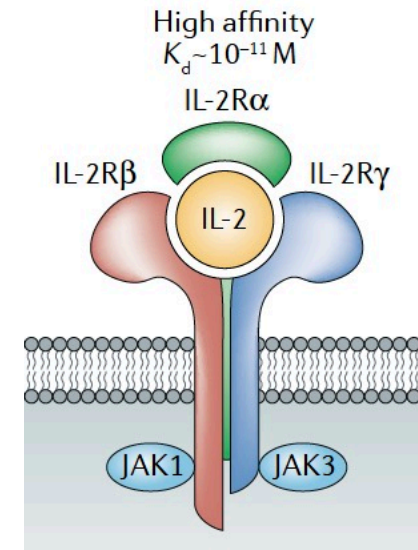
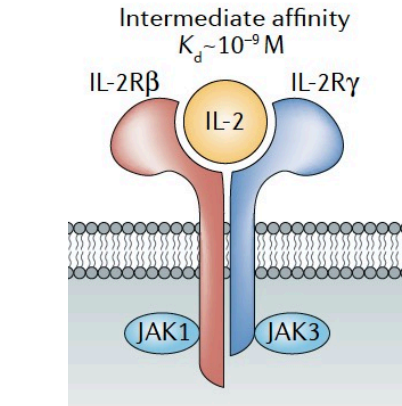
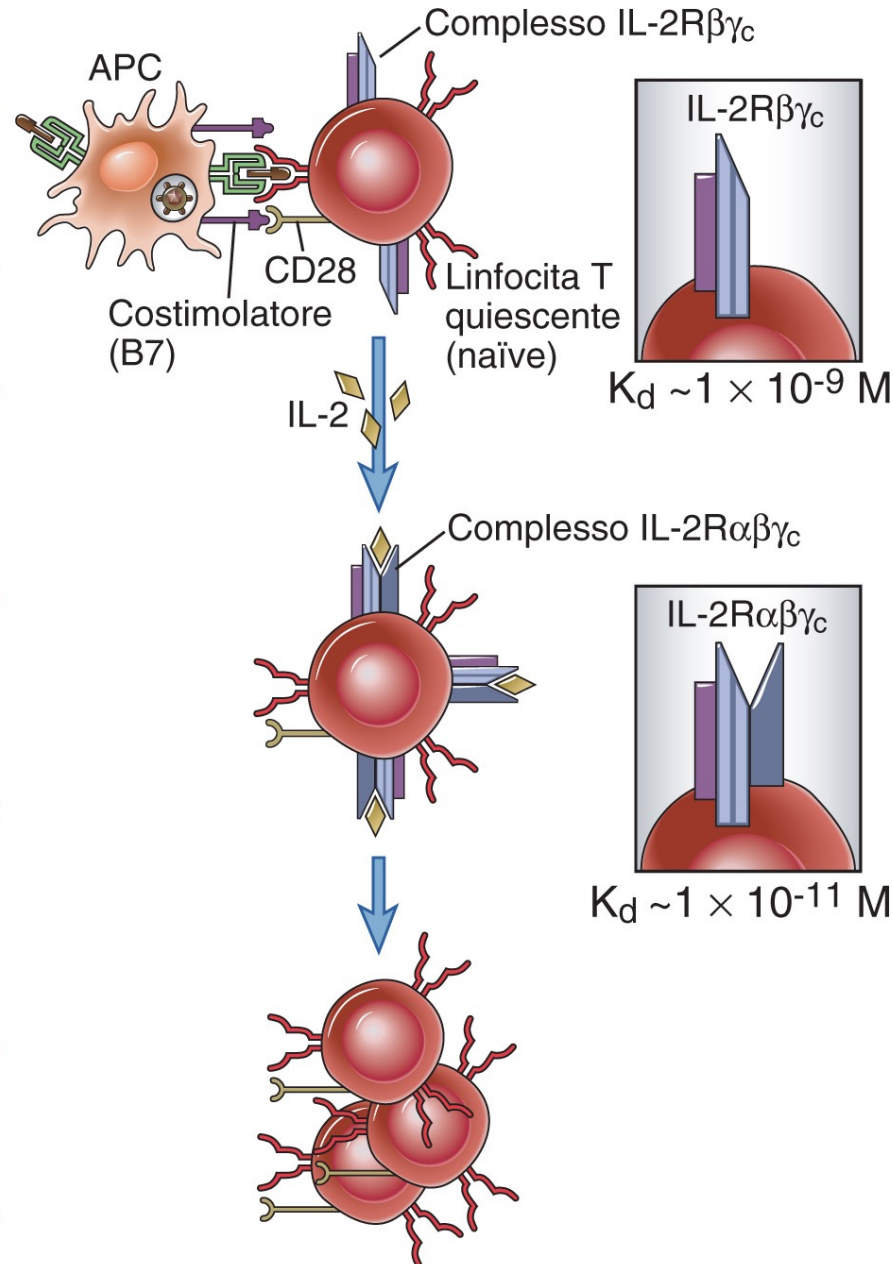
L'espressione del recettore per IL-2 ad alta affinità ($\alpha\beta\gamma$) è altamente regolata: solo i linfociti T attivati possono proliferare!

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

Secrezione di IL-2

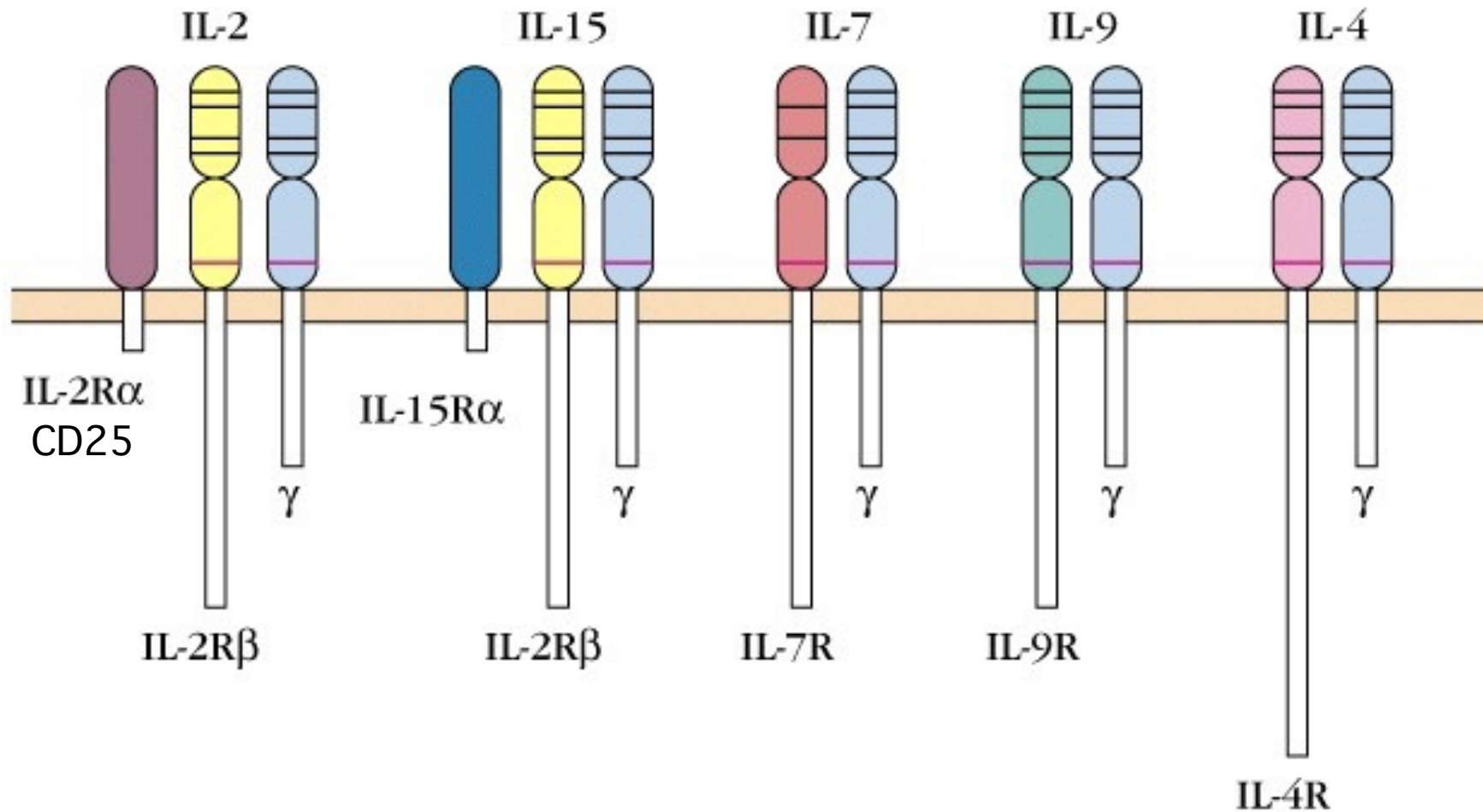
Espressione della catena IL-2R α ; formazione del complesso IL-2R $\alpha\beta\gamma$ ad alta affinità

Proliferazione dei linfociti T indotta da IL-2

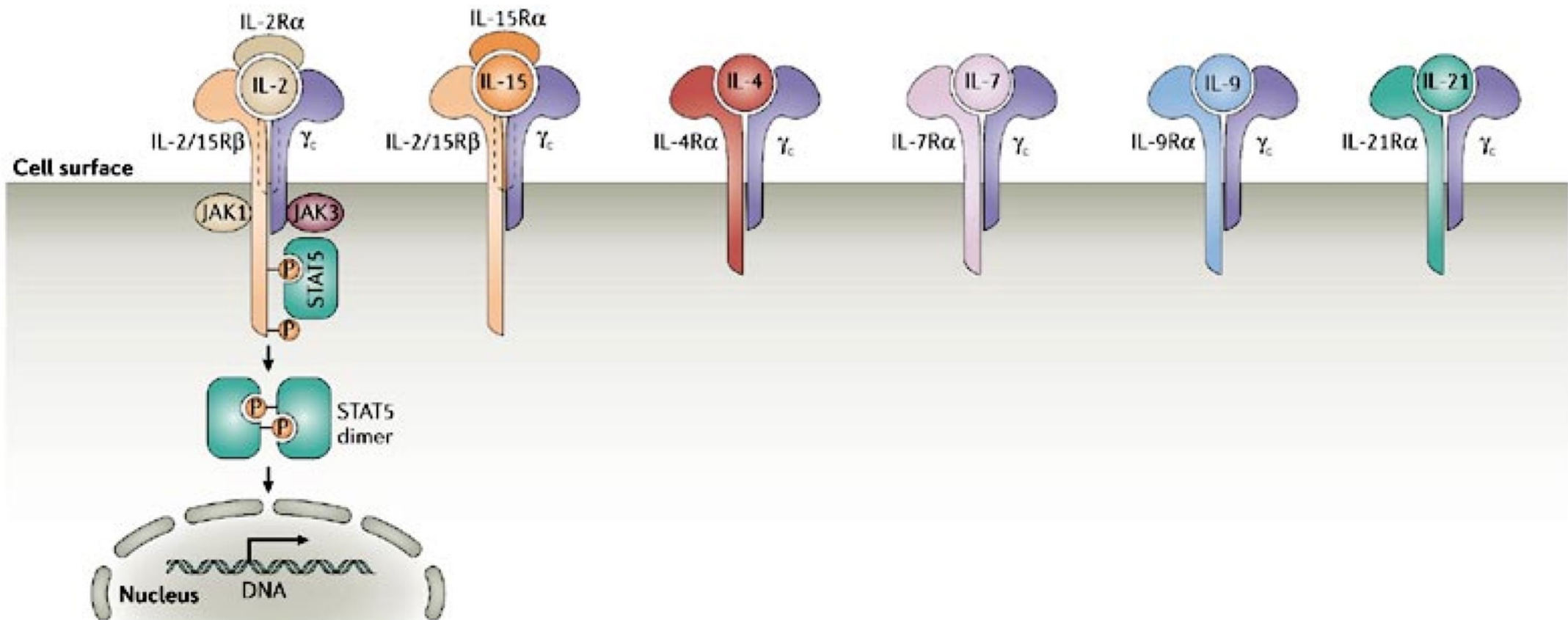


La famiglia dei recettori per IL-2

(c) IL-2 receptor subfamily (common γ subunit)



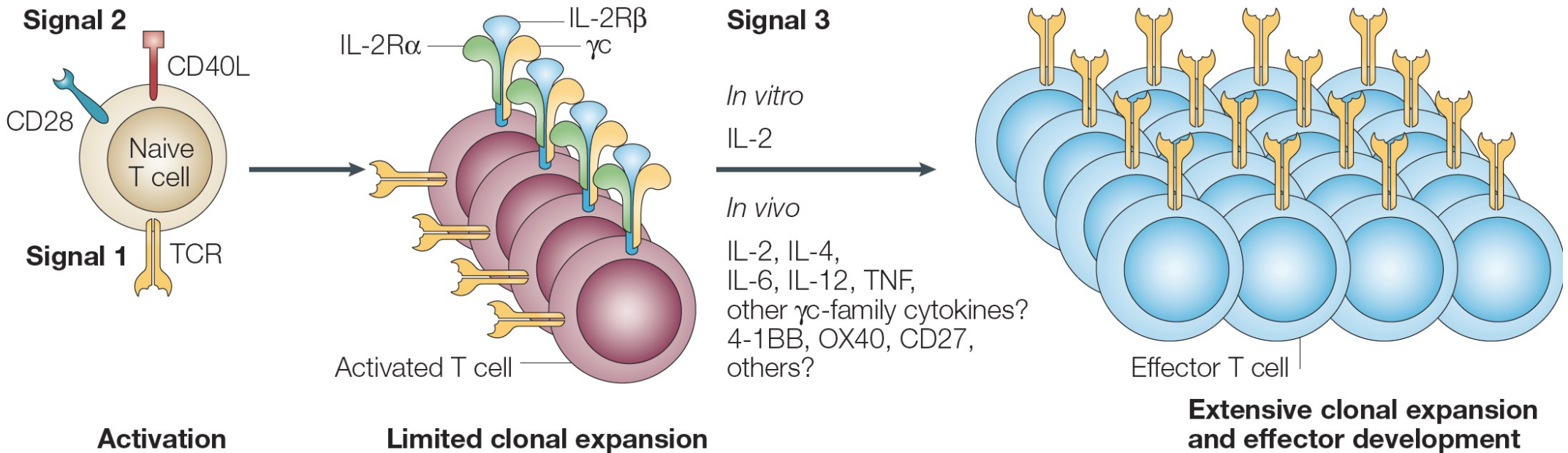
The structure and signalling pathways of the common cytokine-receptor gamma-chain family of receptors.



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

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

L'ATTIVAZIONE DEI LINFOCITI T

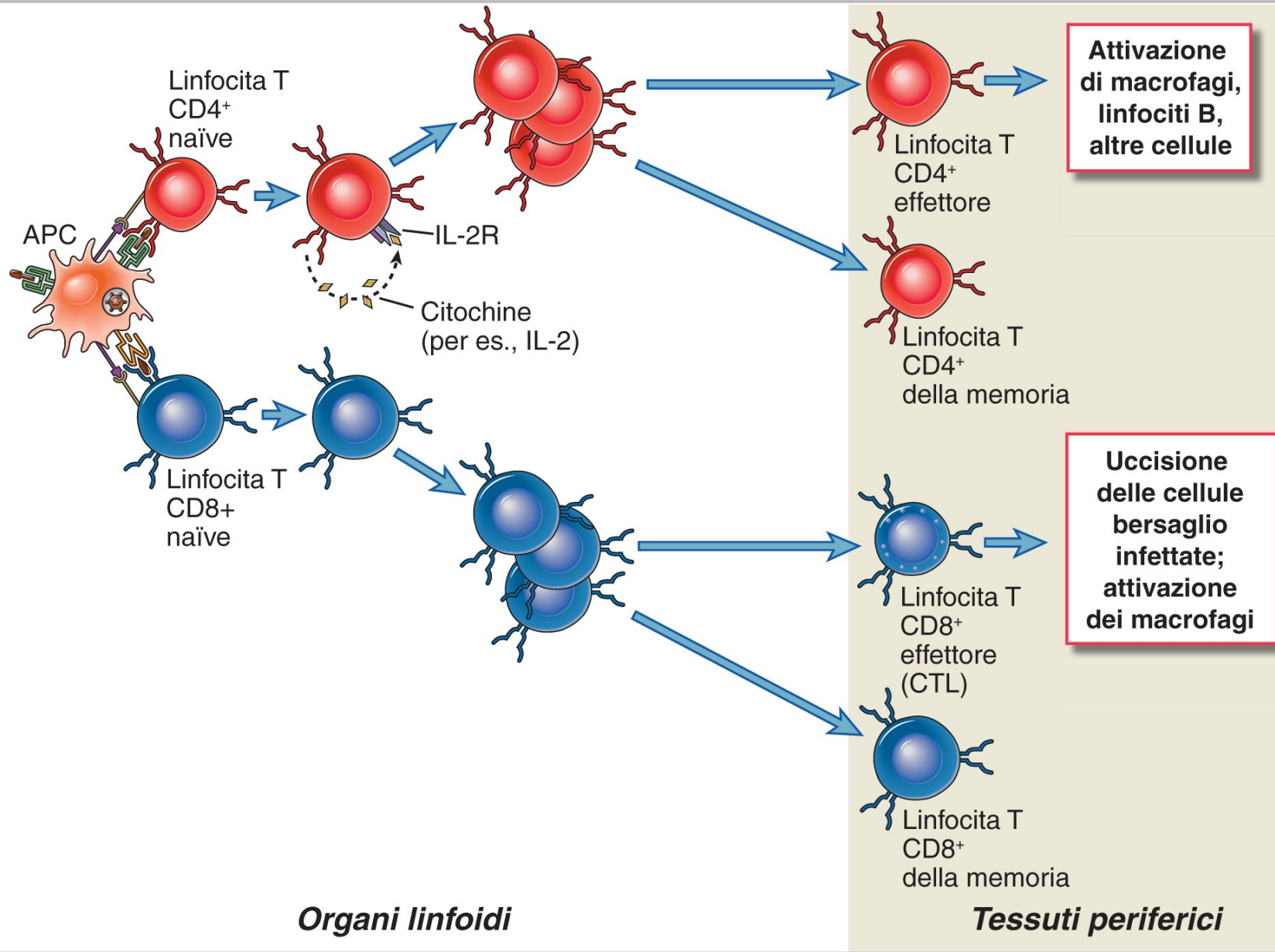
Riconoscimento dell'antigene

Attivazione del linfocita

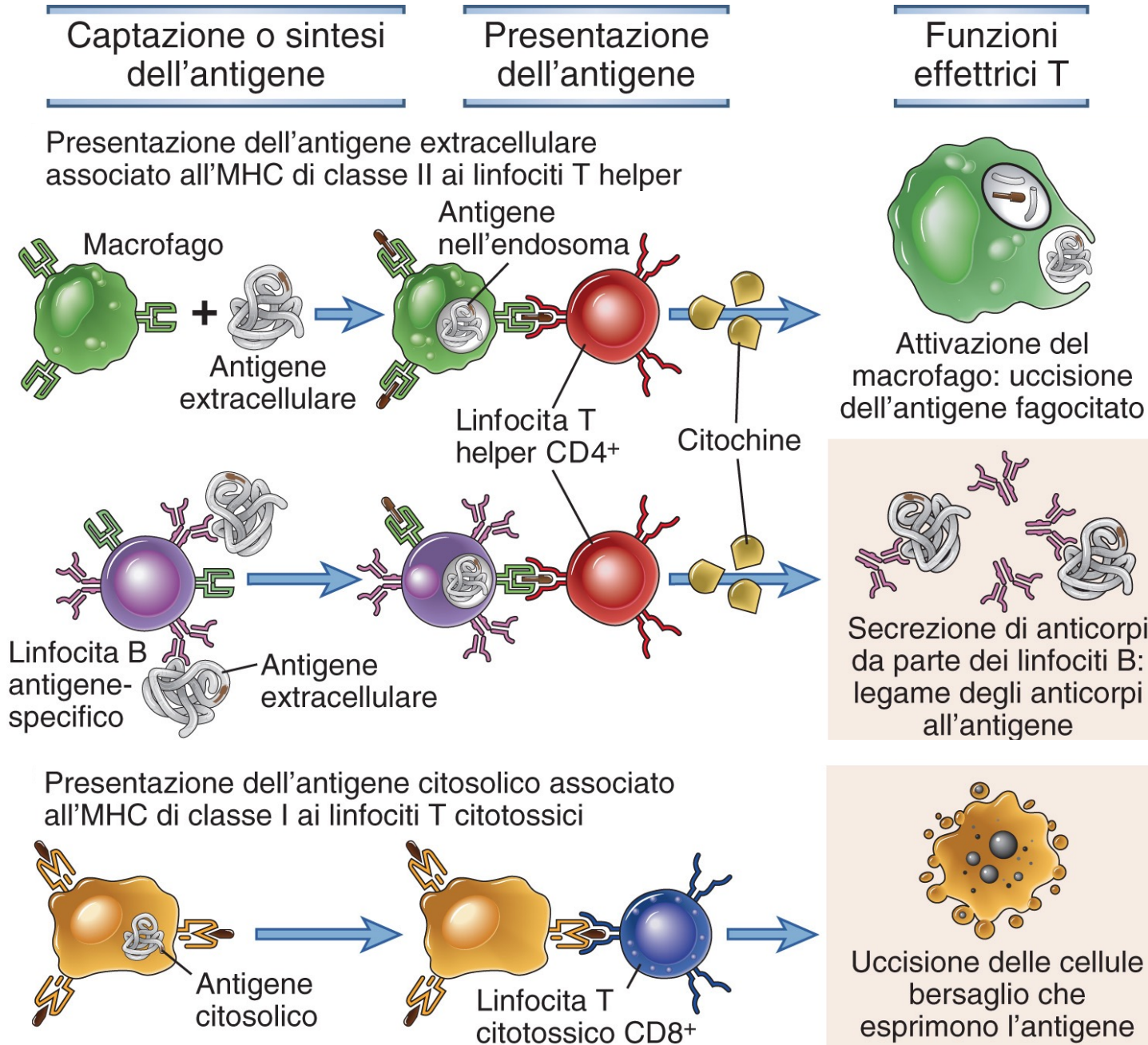
Espansione clonale

Differenziazione

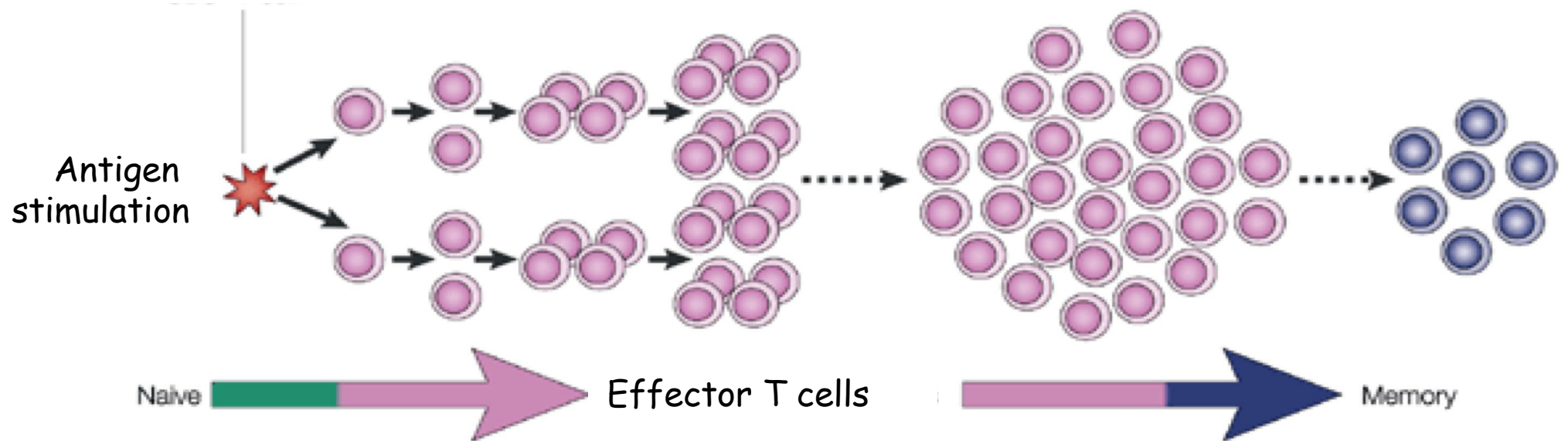
Funzioni effettrici



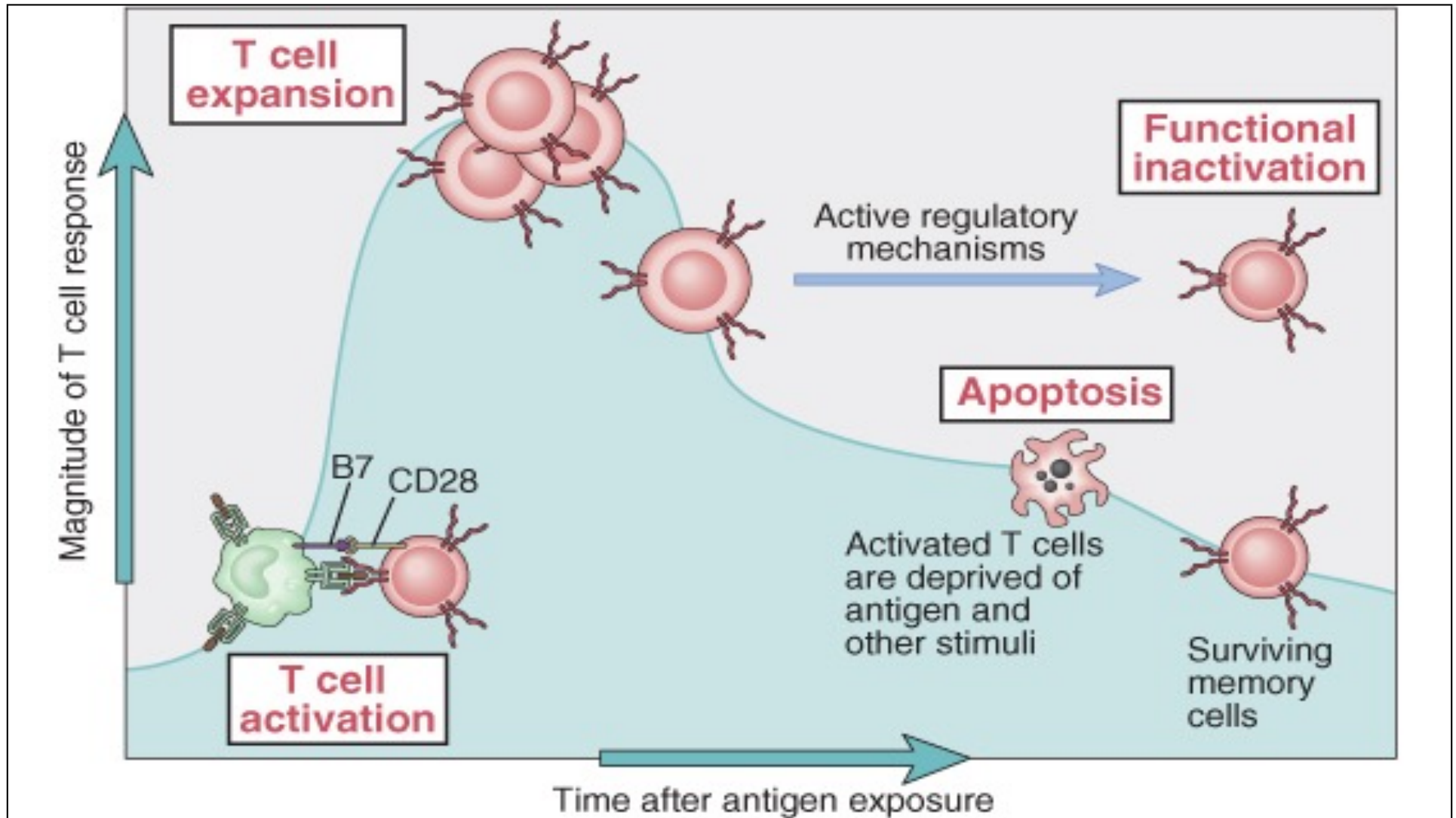
I linfociti T effettori riconoscono nuovamente l'antigene: eradicazione dell'infezione



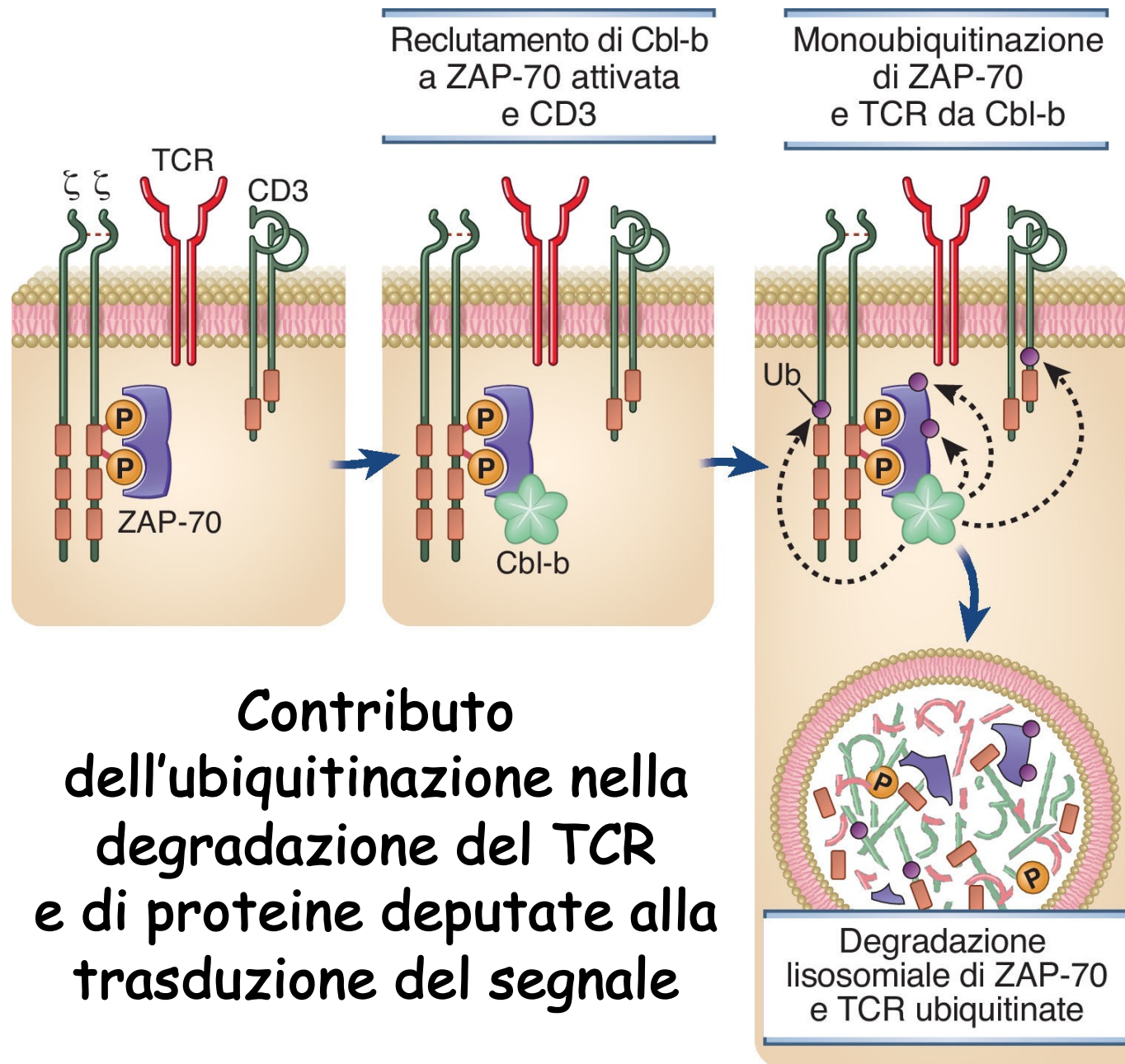
Development of effector and memory T cells



SEGNALI NEGATIVI INATTIVANO O UCCIDONO I LINFOCITI T EFFETTORI



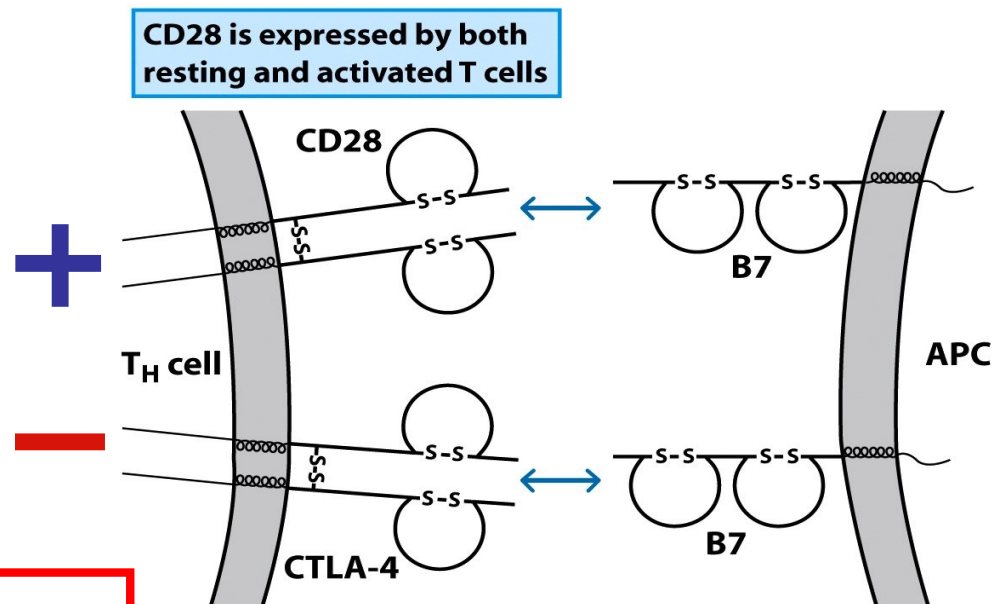
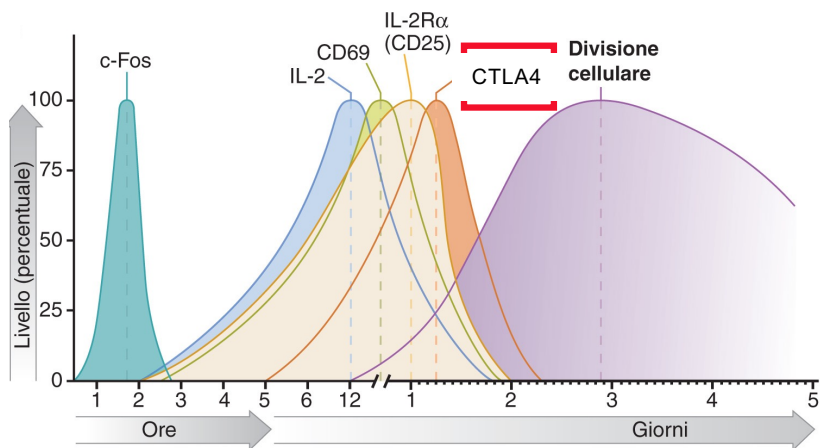
Lo spegnimento del segnale T specifico: ruolo dell'ubiquitina ligasi Cbl e dell'ubiquitinazione



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

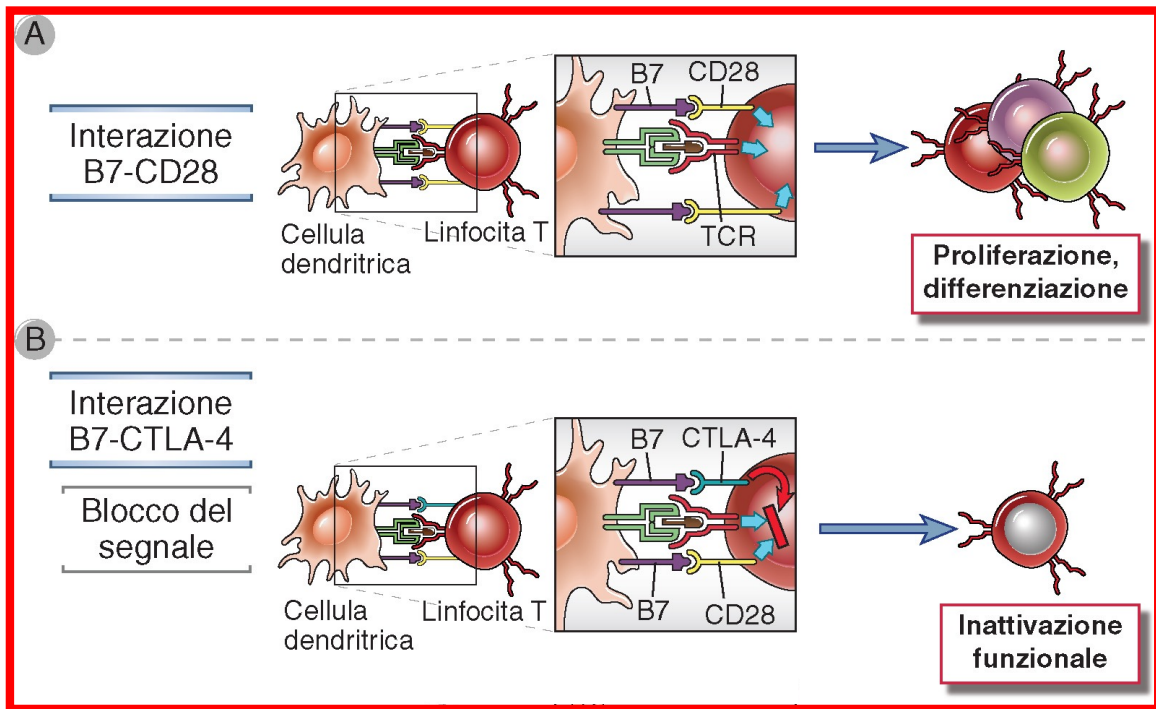
Degradazione
lisosomiale di ZAP-70
e TCR ubiquitinate

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



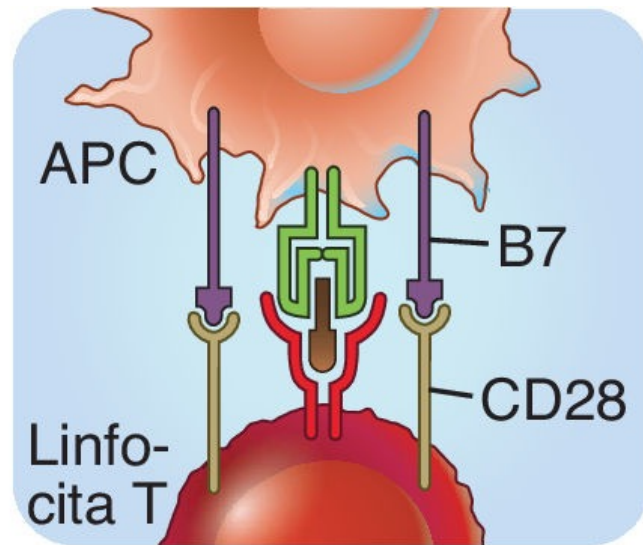
CD28 is expressed by both resting and activated T cells

CTLA-4 is expressed on activated T cells

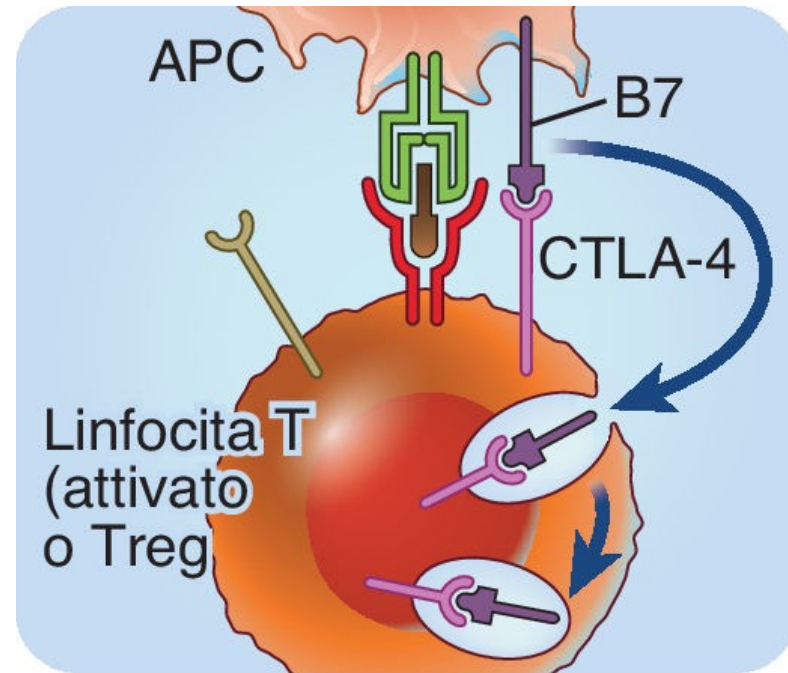


- Il **CTLA4** lega gli stessi ligandi del CD28, ma con un'affinità 20 volte maggiore
- Trasduce segnali inibitori responsabili dell'inattivazione funzionale dei linfociti T

CTLA-4 competitively inhibits B7-CD28 engagement



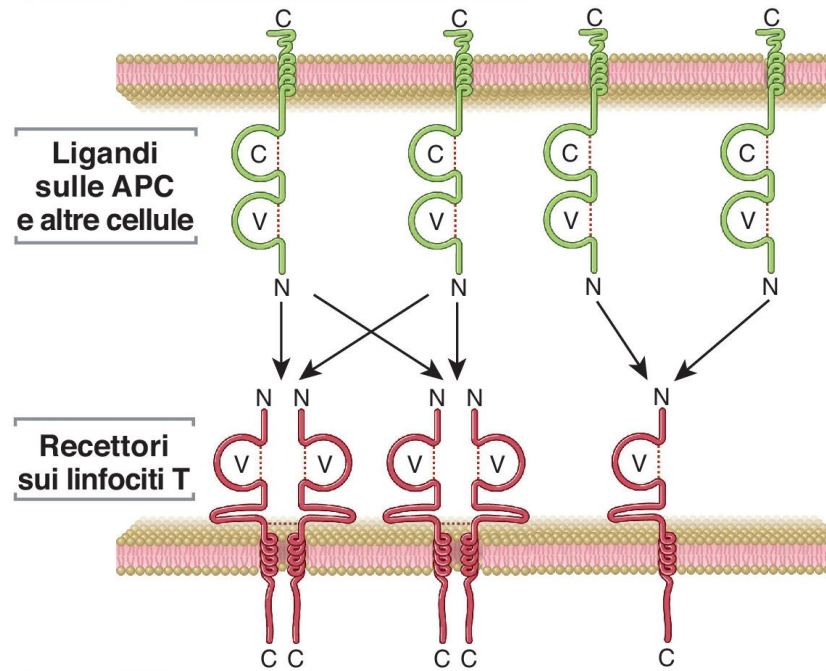
**Costimolazione ⇒
attivazione
linfocita T**



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

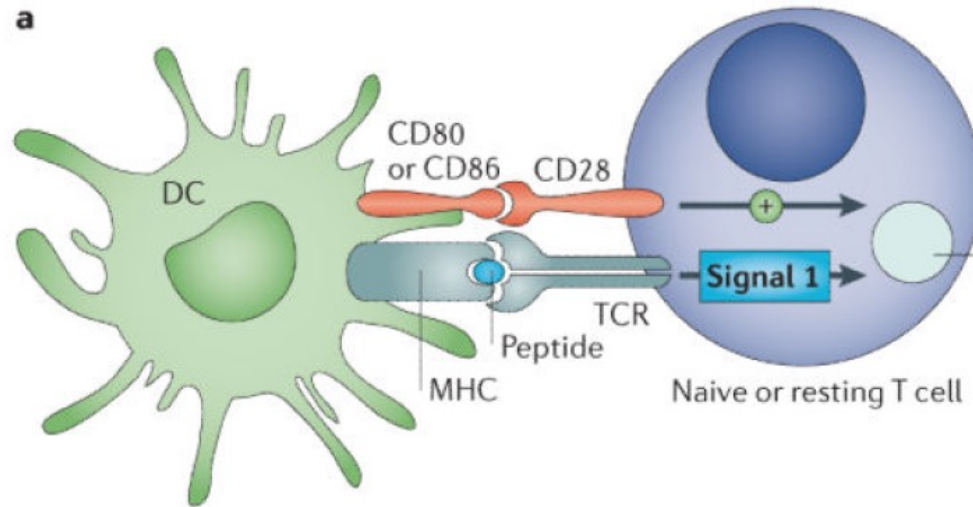
I principali membri della famiglia B7 e CD28

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



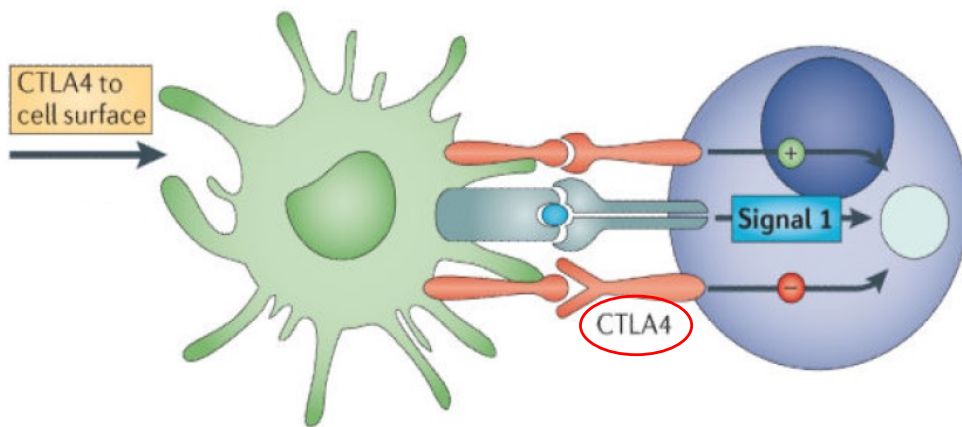
Nome	CD28	CTLA-4	PD-1
Espressione sui linfociti T	Linfociti T naïve	Linfociti T regolatori e T linfociti attivati	Linfociti T attivati
Funzione principale	Attivazione linfociti T naïve; attivazione della risposta immunitaria	Inibizione attivazione linfociti T	Inibizione dell'attivazione T linfocitaria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

Major functions of selected B7-CD28 family members

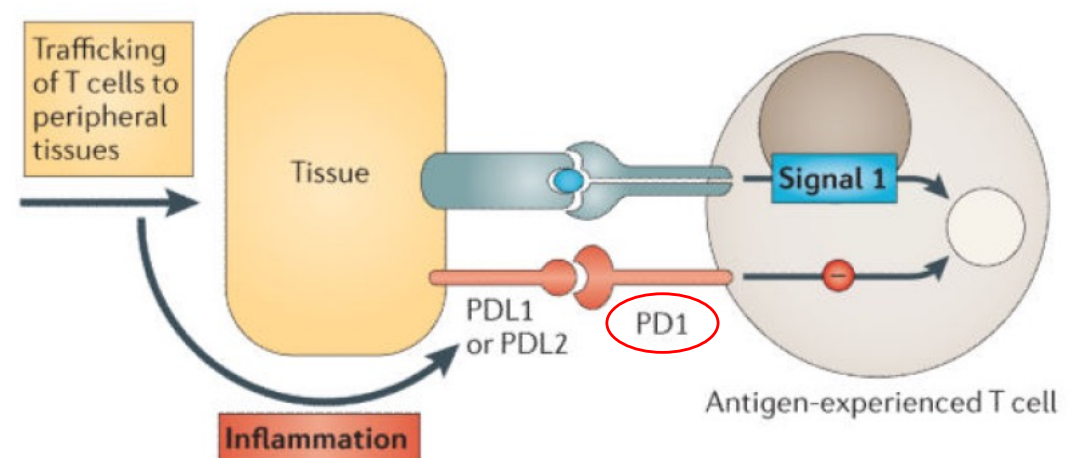


CD28-B7: initiation of immune responses

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)

