

Il centro germinativo

Attivazione e migrazione dei linfociti B nel centro germinativo



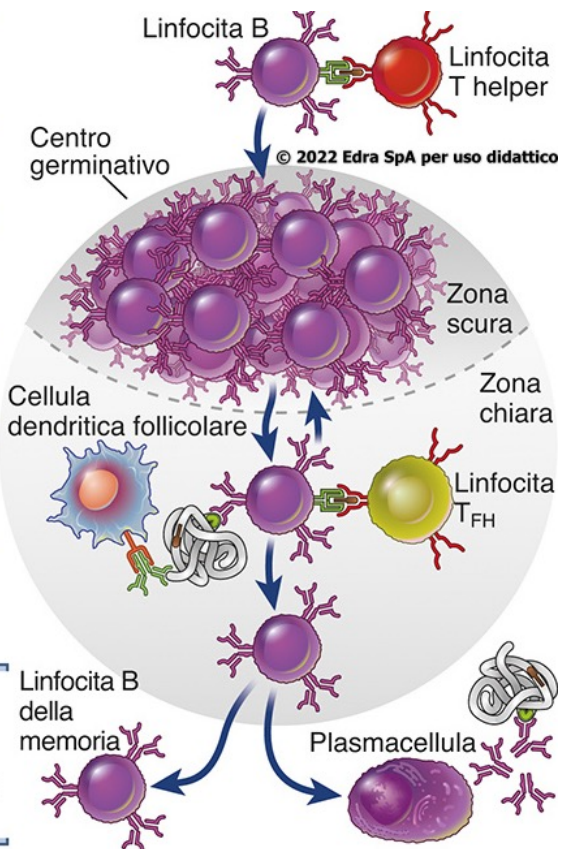
Proliferazione e ipermutazione somatica dei linfociti B



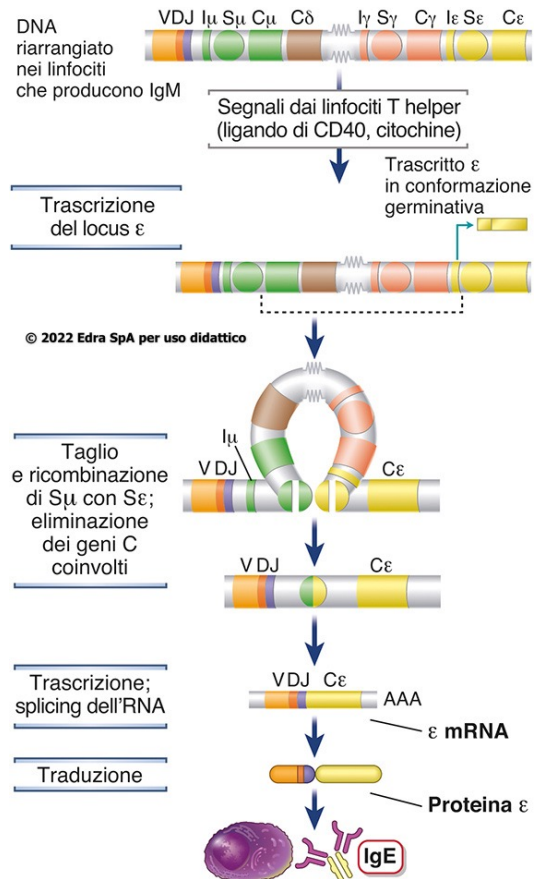
Selezione dei linfociti B ad alta affinità; scambio di classe



Fuoriuscita di cellule B della memoria e di cellule B che producono anticorpi con alta affinità



Commutazione di classe/switch isotipico/della catena pesante

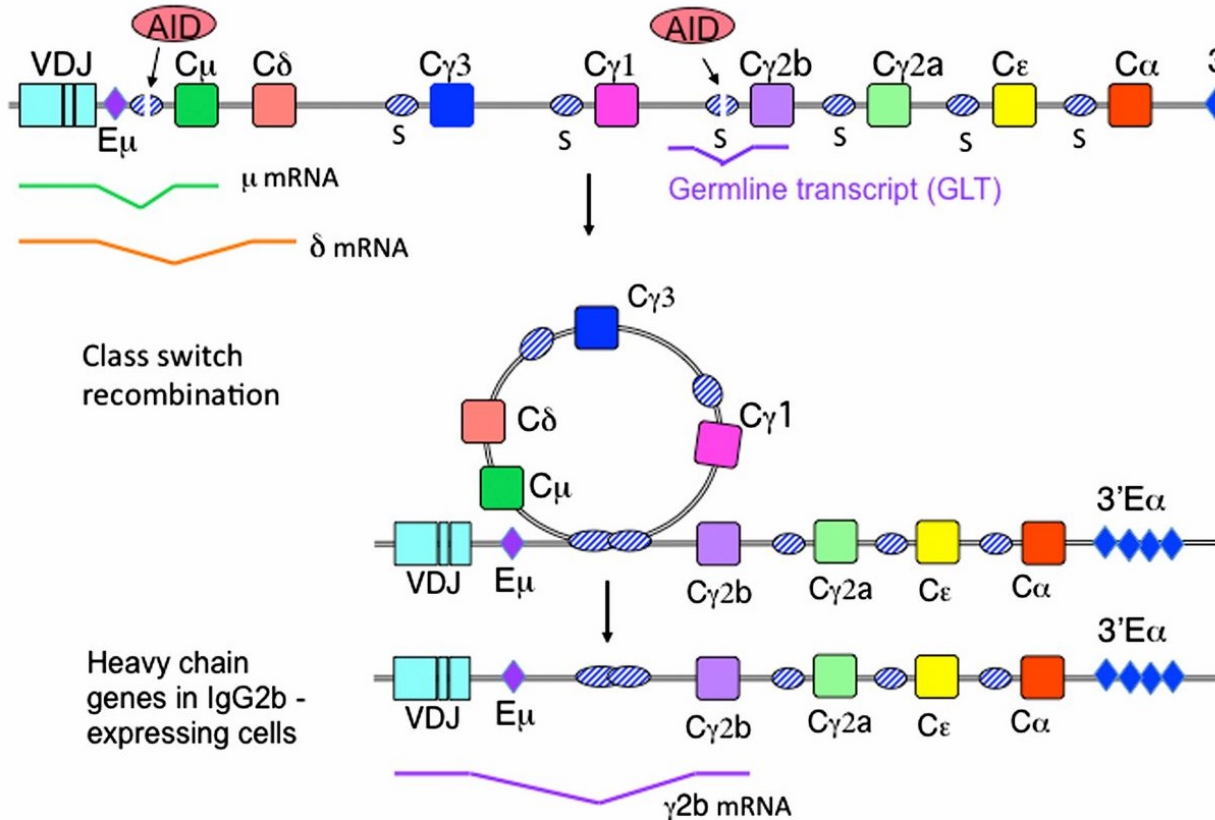


Lo scambio isotipico permette al linfocita B di modificare la regione costante della catena pesante dell'immunoglobulina mantenendo la stessa porzione variabile e quindi la specificità dell'anticorpo.

Lo scambio di classe è un processo di ricombinazione in cui la regione del DNA che codifica per la regione costante della catena pesante della immunoglobulina viene tagliata e ricombinata in modo tale per cui l'esone VDJ che codifica per la regione V viene posto accanto ad una regione costante più a valle ed il DNA interposto eliminato

Lo scambio isotipico è regolato dalle citochine prodotte dai linfociti T helper follicolari e dalla interazione CD40 (espresso sui linfociti B) con il CD40 ligando (CD40L) espresso dai linfociti Tfh attivati. Lo scambio isotipico verso le IgE richiede la citochina IL-4.

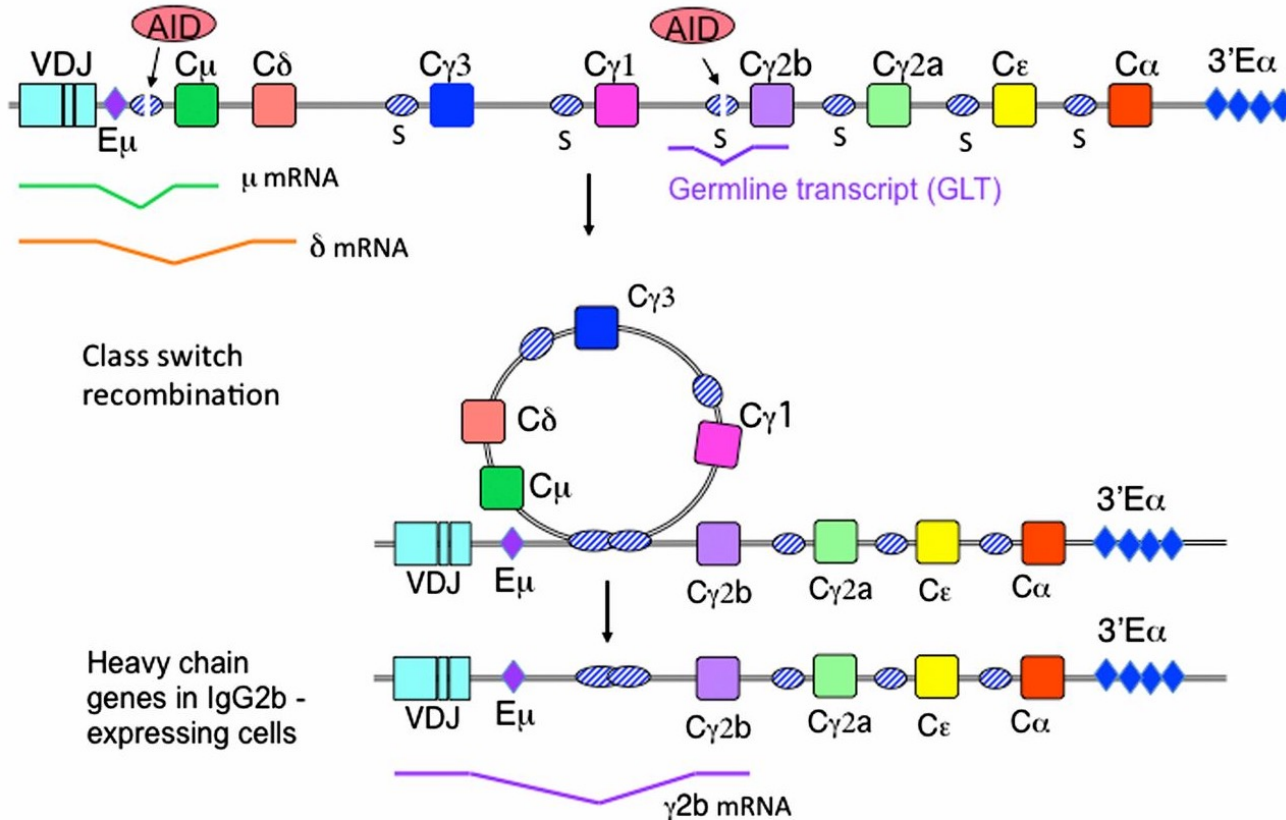
Heavy chain genes in IgM expressing cells



Nello scambio isotipico gli eventi di ricombinazione coinvolgono sequenze nucleotidiche che sono presenti al 5' di ogni locus C_H che sono definite switch regions.

Queste sequenze presentano un esone I (iniziatore della trascrizione) preceduto da una regione promotrice. Affinchè possa avvenire la ricombinazione fra le sequenze di switch è necessario che avvenga la trascrizione delle sequenze I-S-C. Tali trascritti germinativi non sono tradotti in proteine.

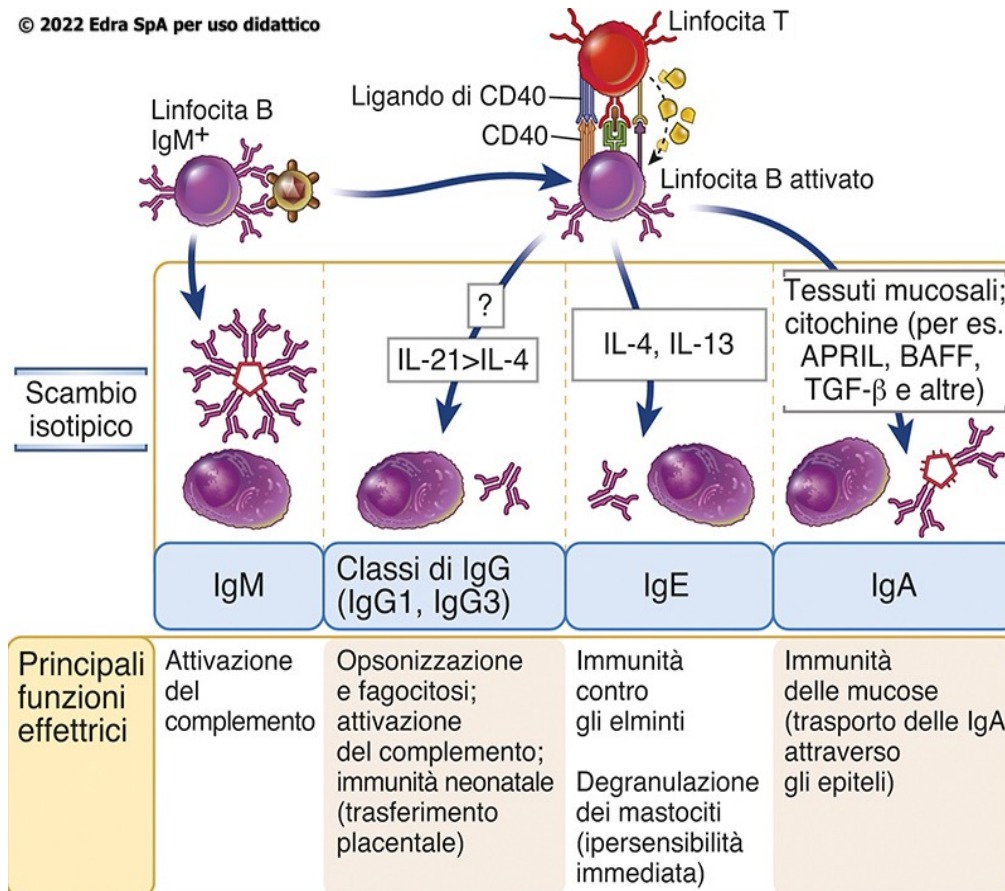
Heavy chain genes in IgM expressing cells



I trascritti germinativi sono presenti a livello del locus μ che del locus della catena pesante coinvolta nello scambio isotipico. I trascritti germinativi permettono la formazione di catene ibride DNA-RNA con un filamento di DNA lasciando libero l'altro filamento sul quale agirà l'enzima AID (activation induced deaminase) responsabile dello scambio isotipico. L'interazione fra CD40 e CD40L induce l'espressione di AID.

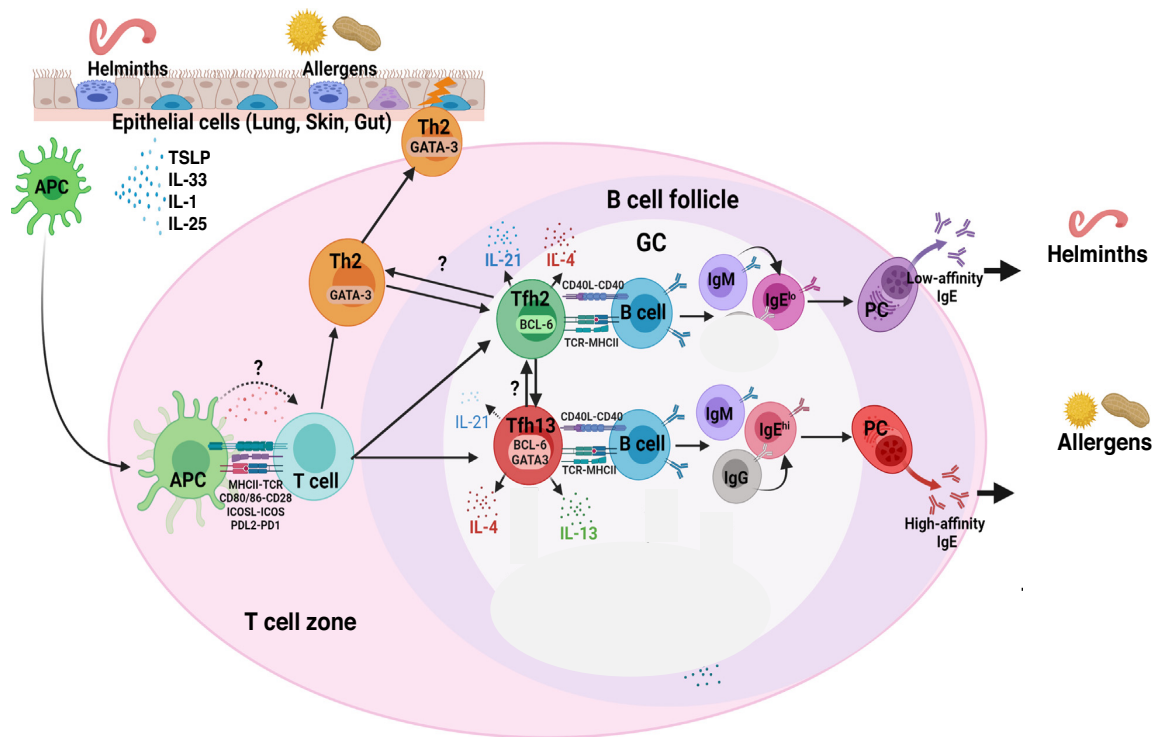
Ruolo delle citochine nello switch isotipico

© 2022 Edra SpA per uso didattico



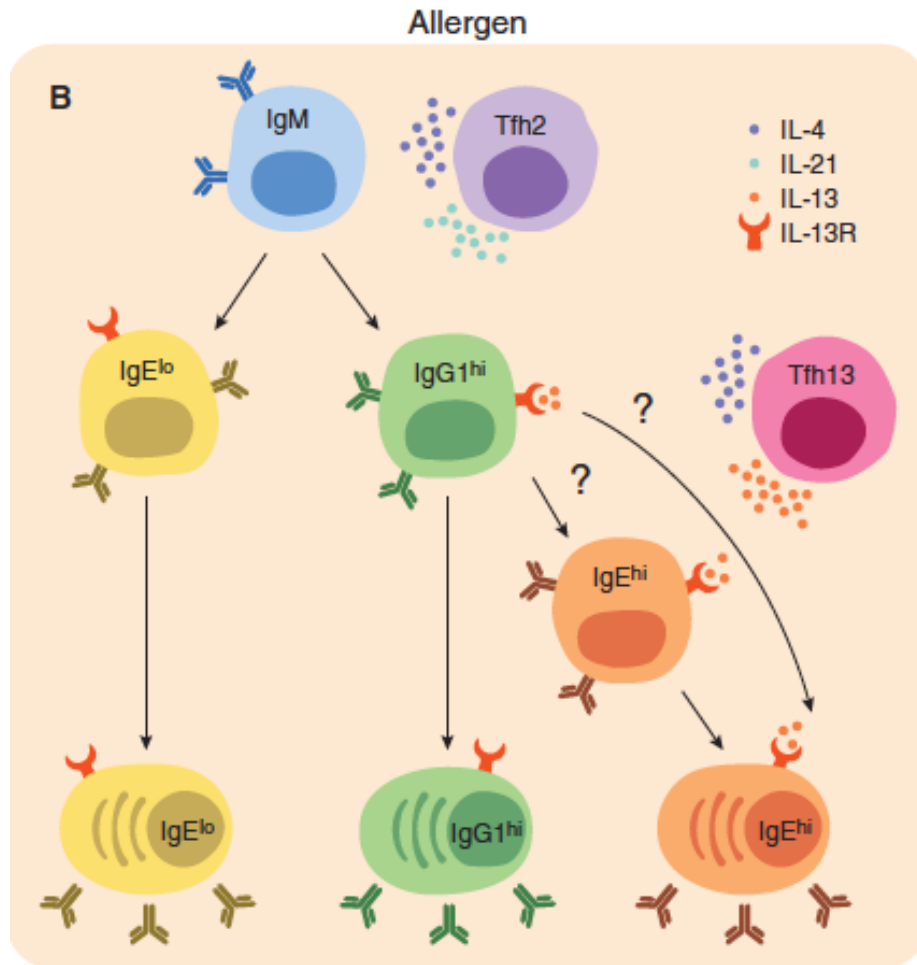
Le citochine avviano lo scambio di classe attivando la trascrizione dei trascritti germinativi. In particolare l'IL-4 e l'IL-13 promuovono lo switch isotipico da IgM a IgE.

I linfociti Thelper follicolari allergene specifici inducono i linfociti B a produrre IgE specifiche per l'allergene



Studi recenti hanno dimostrato che la produzione di IgE da parte dei linfociti B anche in risposte fisiologiche come quelle verso gli elminti richiede le Tfh produttrici IL-4 denominate Tfh2. Le IgE prodotte in risposta a allergeni hanno una alta affinità che invece sono raramente prodotte nelle risposte fisiologiche.

Modello dell'induzione di IgE durante l'esposizione all'allergene

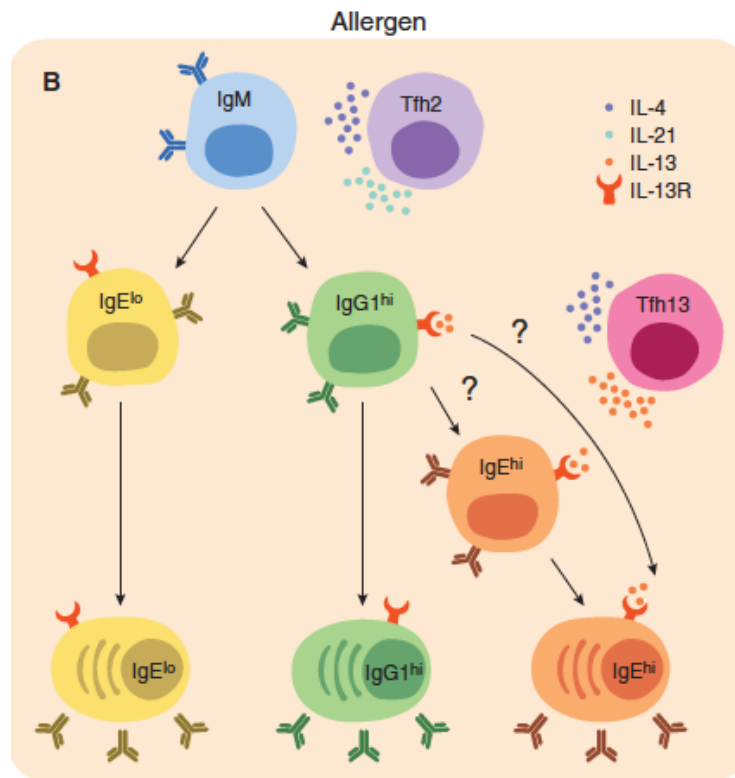


Durante la fase di sensibilizzazione all'allergene (modelli animali con allergeni inalati o ingeriti) sono indotte Tfh2 in grado di produrre IL-4.

Più recentemente è stata identificata in questi modelli ma anche nell'uomo una popolazione di Tfh produttori IL-4 e IL-13 ed esprimenti GATA3 e BCL6 denominata Tfh13.

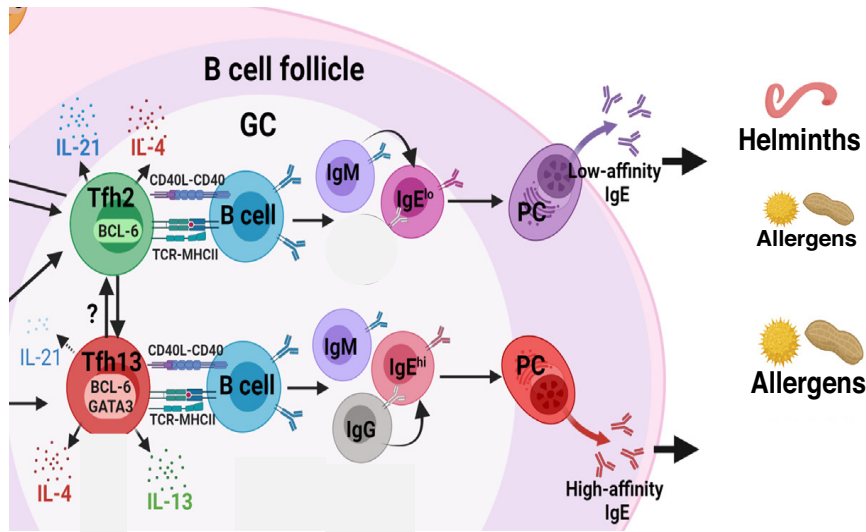
La perdita di tali cellule nel modello murino determina un difetto nella induzione di IgE allergene specifiche. Attualmente è stato proposto che le Tfh2 mediano lo switch verso IgE a bassa affinità mentre le Tfh13 mediano lo switch verso le IgE ad alta affinità.

Modello dell'induzione di IgE durante l'esposizione all'allergene



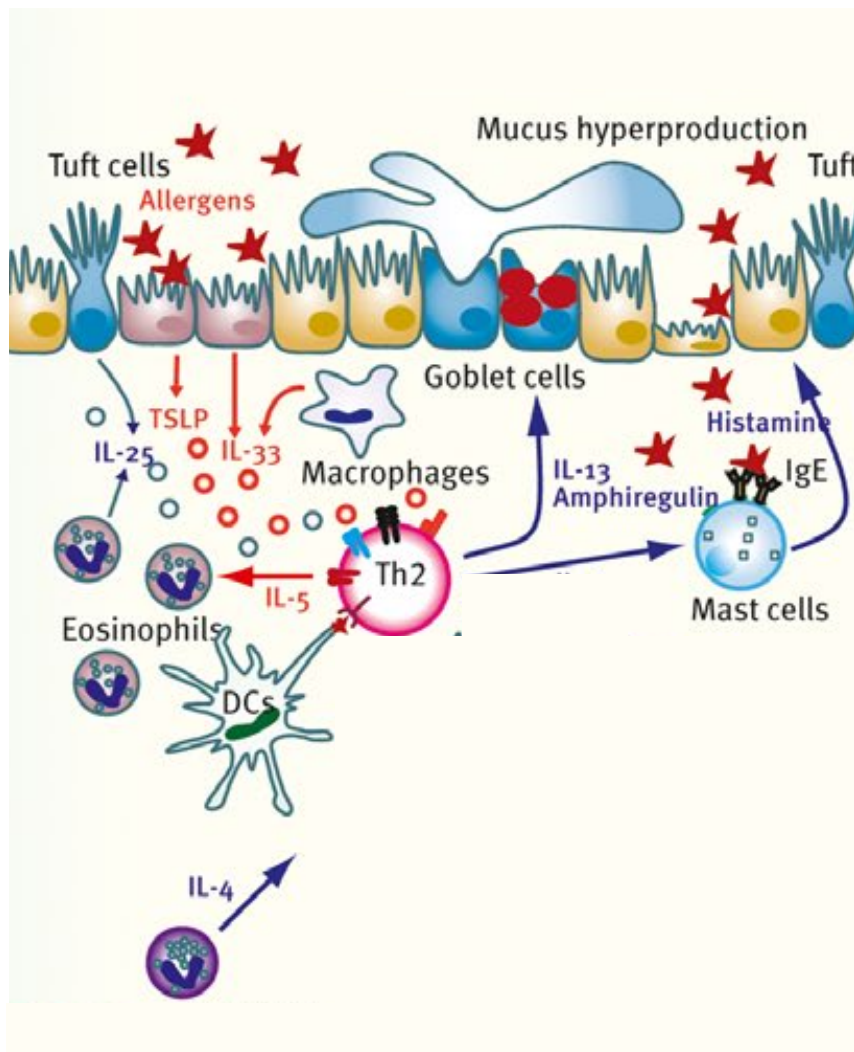
Mentre l'IL-4 media lo switch dell'immunoglobulina diretto da IgM a IgE, l'IL-13 potrebbe essere coinvolta nello switch sequenziale da IgG1 a IgE. Lo switch sequenziale IgG → IgE determina la generazione di IgE ad alta affinità che sono indotte dagli allergeni.

Produzione di IgE nella fase di sensibilizzazione



Nella fase di sensibilizzazione sono generate sia Tfh2 che Tfh13. Queste ultime sono unicamente indotte nelle condizioni allergiche.

I linfociti Th2 mediano la risposta infiammatoria nelle reazioni allergiche

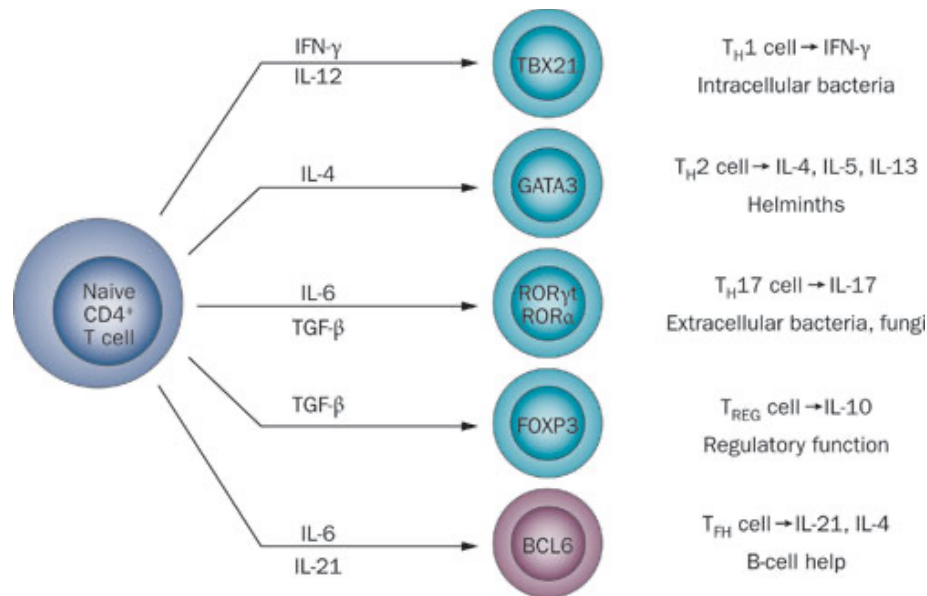


L'infiammazione allergica è caratterizzata dalle malattie allergiche quali l'asma, le rinosinuiti, la dermatite atopica.

L'infiammazione allergica è caratterizzata dal reclutamento di eosinofili, linfociti Th2, iperproduzione di muco e iperreattività bronchiale.

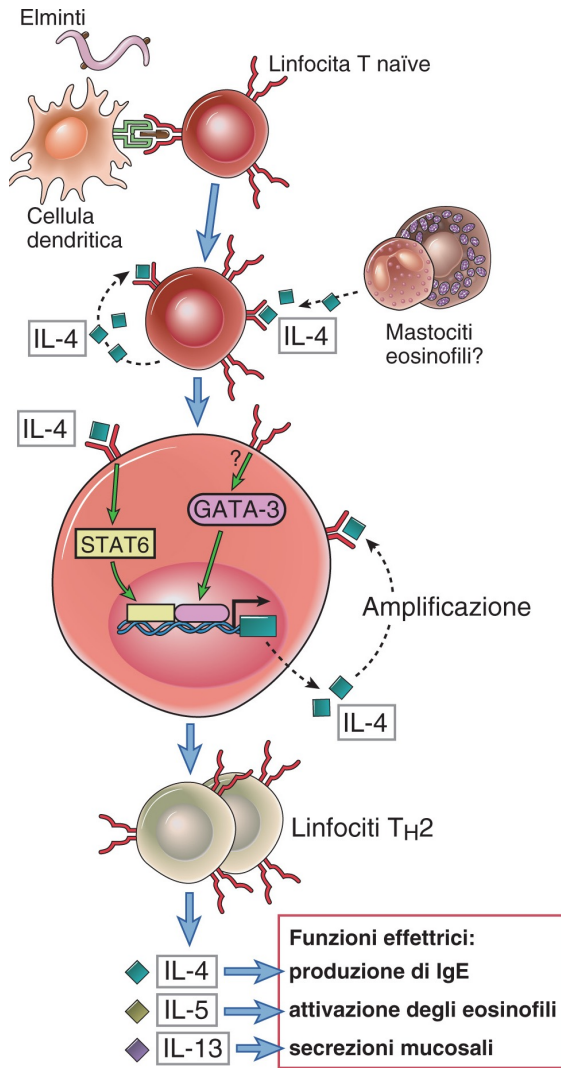
I linfociti Th2 attraverso la produzione delle citochine IL-4, IL-5, IL-13 mediano tali processi.

Figure 1 The CD4⁺ T cell development paradigm



Il differenziamento dei linfociti T naive in Th2 richiede il riconoscimento dell'antigene presentato dalle DC e la presenza di IL-4.

Il differenziamento dei Th2

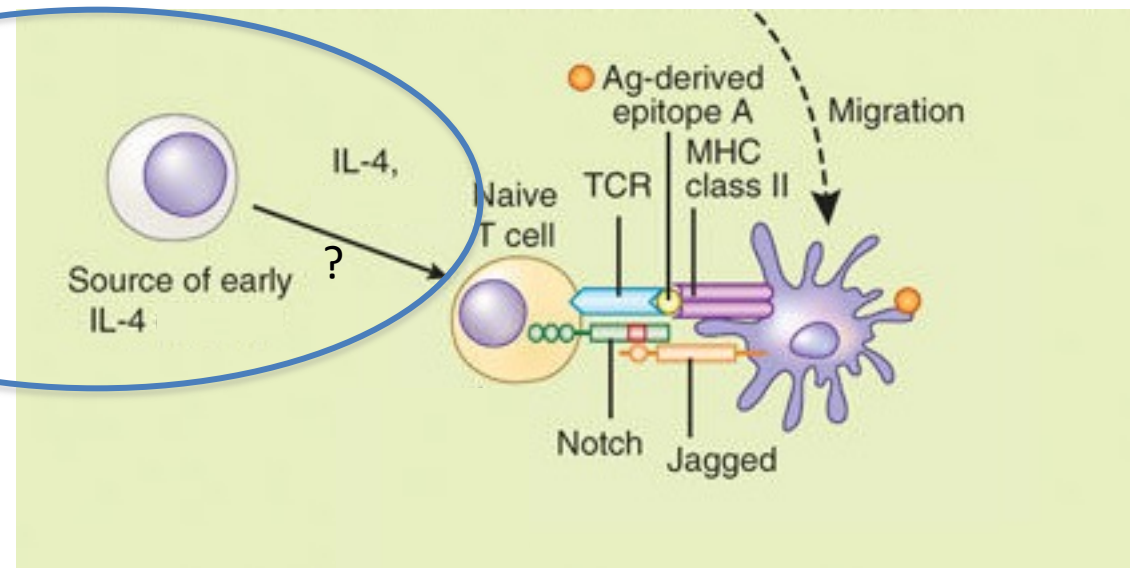


I linfociti Th2 si sviluppano dai linfociti T naïve in seguito al riconoscimento del complesso MHC+peptide espresso dalle cellule dendritiche in presenza di IL-4.

L'IL-4 agisce sui linfociti T helper attivando il fattore di trascrizione STAT6.

STAT6 attivato insieme ai segnali generati dal TCR induce l'espressione del fattore trascrizionale GATA-3. GATA-3 è il principale regolatore del differenziamento dei linfociti Th2 attivando la trascrizione dei geni che codificano per le citochine IL-4, IL-5 e IL-13.

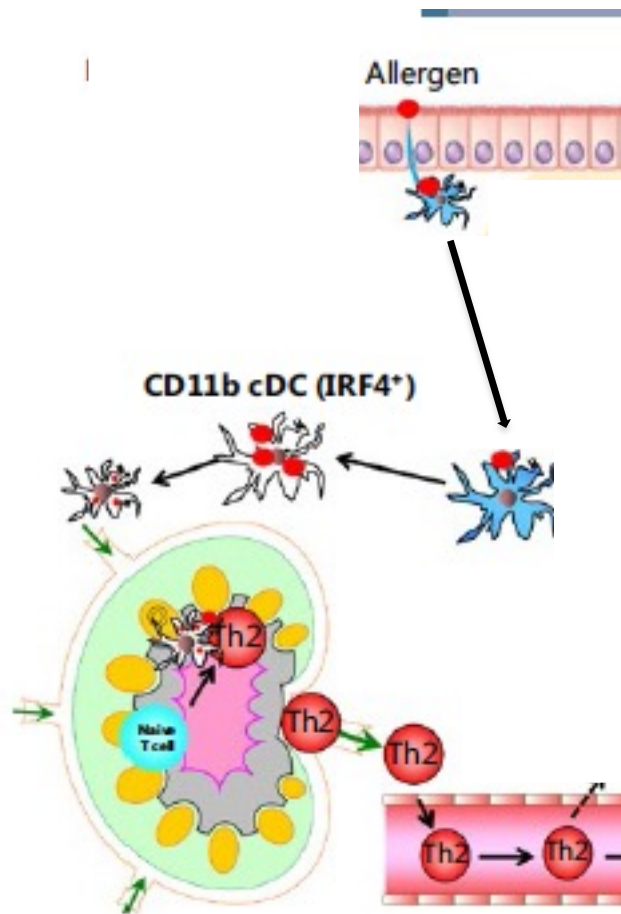
Perché gli allergeni inducono il differenziamento dei linfociti Th naive in Th2?



Il differenziamento dei linfociti T naive in Th2 richiede il riconoscimento dell'antigene presentato dalle DC e la presenza di IL-4.

Ad oggi ancora non è nota la popolazione cellulare responsabile della produzione di IL-4.

Particolari sottopopolazioni di cellule dendritiche convenzionali potrebbero essere responsabile del differenziamento dei Th2 nelle reazioni allergiche



Studi nel topo hanno dimostrato che il differenziamento dei linfociti Th2 specifici per allergeni dell'acaro della polvere è mediata dalla sottopopolazione di DC convenzionali cDC CD11b+.

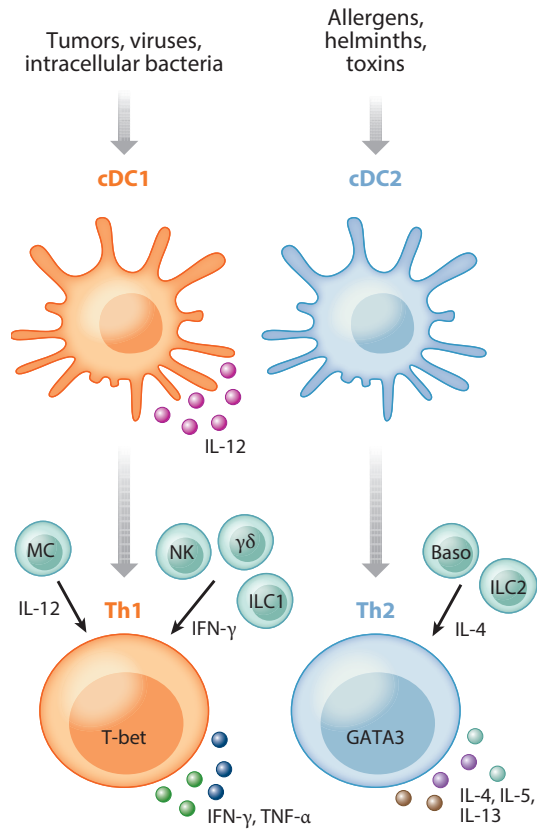
In tale modello sperimentale è stato dimostrato che in seguito ad esposizione all'allergene queste cellule sono le uniche in grado di migrare nei linfonodi e di indurre risposte Th2.

Popolazioni di cellule dendritiche

DC subset	DC type	CD8 α	CD103	CD205	EPCAM (CD326)	CD11b	B220 or CD45RA	DC-SIGN	Langerin (CD207)	Antigen presentation	Major cytokine produced
CD8 α ⁺ DCs	Lymphoid-resident DCs	+	low	+	-	+	-	-	+/-	Cross-presentation on MHC class I; expression of cystatin C	IL-12p70, IFN λ
CD4 ⁺ DCs	Lymphoid-resident DCs	-	-	-	-	+	-	-	-	Presentation on MHC class II	
DN DCs	Lymphoid-resident DCs	-	-	-	-	+	-	-	-	Presentation on MHC class II	
CD11b ⁺ DCs	Migratory DCs	-	+/-	+	-	+	-	ND	-	Presentation on MHC class II	
CD103 ⁺ DCs • Lung • Intestine	Migratory DCs	- -	+ +	++ -	+/- -	- +	- -	- -	+ -	Cross-presentation on MHC class I	
Langerhans cells	Migratory DCs	-	-	++	+	+	-	-	++	Presentation of self antigens for tolerance induction	IL-10
Monocyte-derived DCs	Induced by inflammation	-	-	-	-	+	-	+	-	Cross-presentation	TNF

Le DC CD11b⁺ sono una sottopopolazione di cellule dendritiche convenzionali migratorie che risiedono nei tessuti quali polmoni e intestino insieme alle cDC CD103⁺. Funzionalmente queste cellule si distinguono in quanto mentre le CD103⁺ sono specializzate nella cross-presentation degli antigeni virali esogeni, le CD11b⁺ sono specializzate nella presentazione degli antigeni esogeni ai linfociti T CD4⁺.

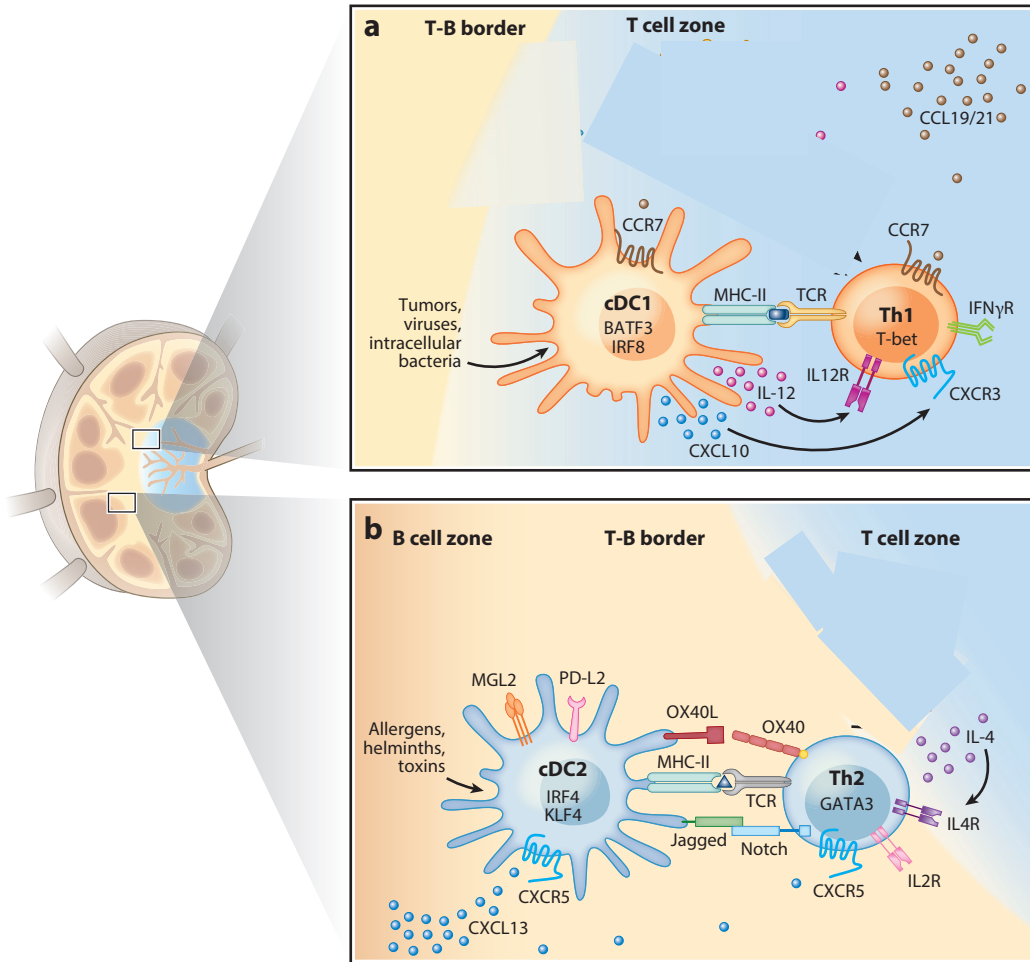
Sottopopolazioni di cellule dendritiche convenzionali



cDC1 (CD8+, CD103+) = DC migratorie o residenti negli organi linfoidi. Il loro sviluppo dipende dai fattori di trascrizione IRF8, Batf3. Hanno una maggiore capacità di cross-presentare gli antigeni. Attivano i linfociti T CD8+. Producono IL-12.

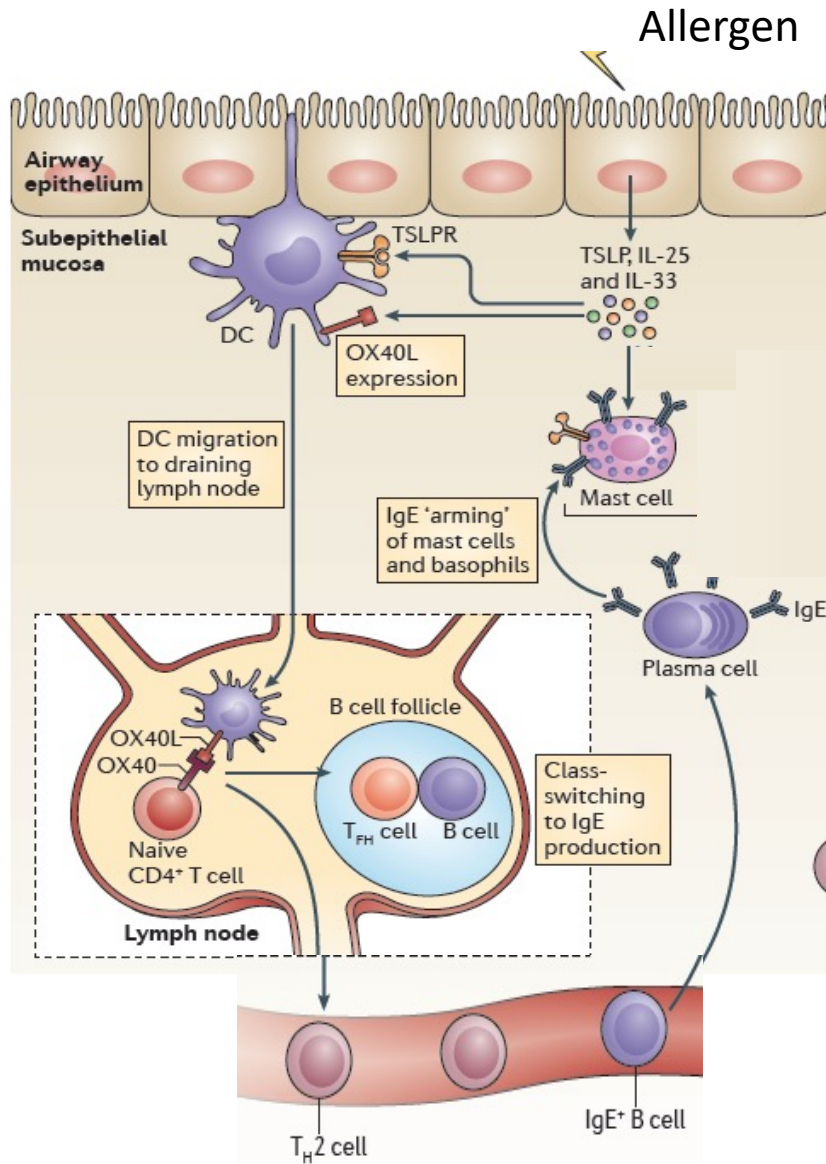
cDC2 (CD11b+)= DC migratorie o residenti. Il loro sviluppo dipende dal fattore trascrizionale IRF4. attivano i linfociti T CD4+.

Induzione dei Th1 o dei Th2 dalle DC

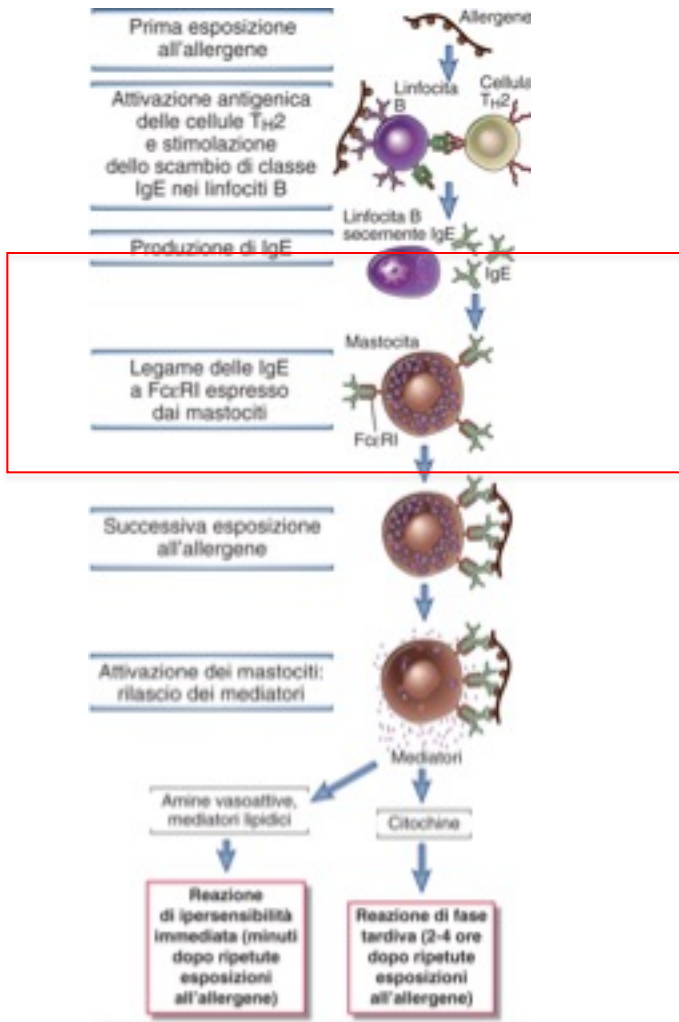


Interazioni a bassa affinità fra il TCR e l'antigene o basse dosi di antigene promuovono lo sviluppo delle risposte Th2. La produzione di basse dosi di IL-4 da parte del linfocita T stesso è sufficiente ad indurre le Th2. La minor produzione di IL-12 da parte delle cDC2 favoriscono lo sviluppo dei Th2.

Segnali inviati dalle cellule epiteliali istruiscono le cellule dendritiche a favorire la polarizzazione dei linfociti T in Th2

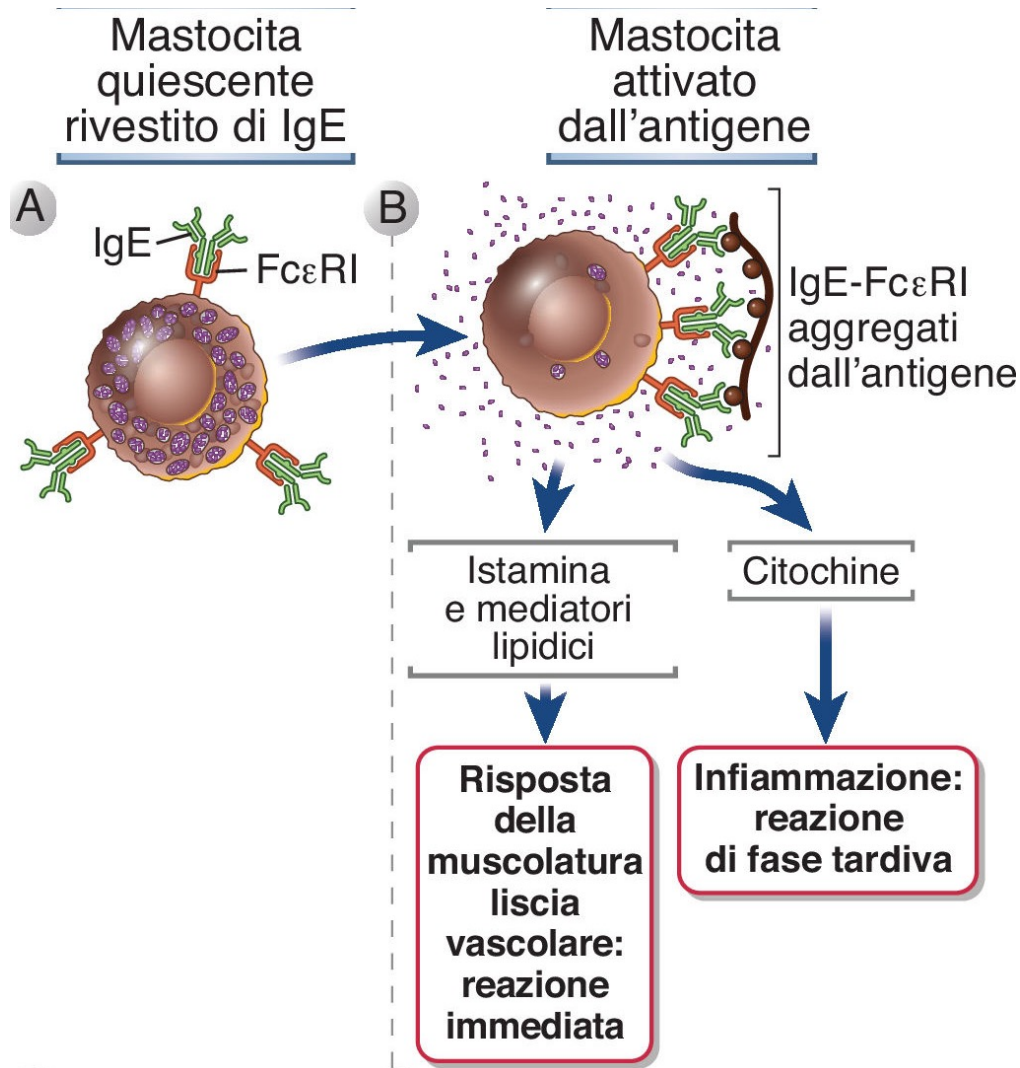


In seguito all'interazione con l'allergene, le cellule epiteliali producono TSLP (thymic stromal lymphopoietin), IL-33, IL-25. Il TSLP media la migrazione e l'attivazione delle cellule dendritiche. Esso induce l'espressione di OX40L sulle cellule dendritiche, inibendo la produzione di IL-12. L'interazione dei linfociti T naive con le DC attivate dall'allergene favorisce lo sviluppo dei linfociti T competenti a produrre IL-4 (Th2).



Le IgE prodotte in seguito alla prima esposizione all'allergene circolano nei fluidi corporei e si legano a recettori ad alta affinità ($Fc\epsilon R1$) per le IgE espressi dai mastociti e dai basofili

L'interazione fra allergene e IgE determina l'attivazione dei mastociti



Il mastocita attivato rilascia mediatori che sono responsabili delle manifestazioni cliniche e patologiche delle reazioni di ipersensibilità di tipo I. La reazione di ipersensibilità di tipo I presenta una fase immediata e una fase tardiva.