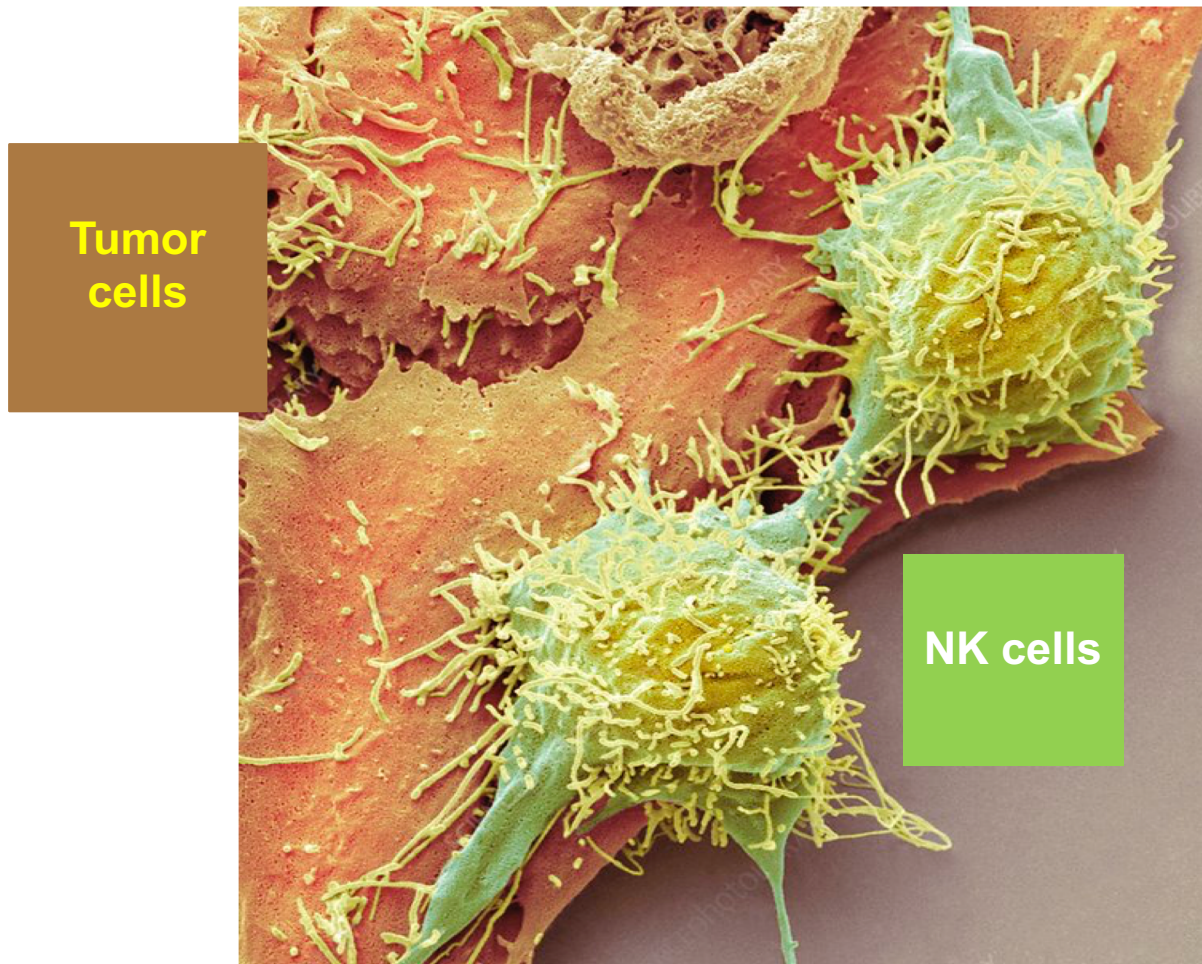
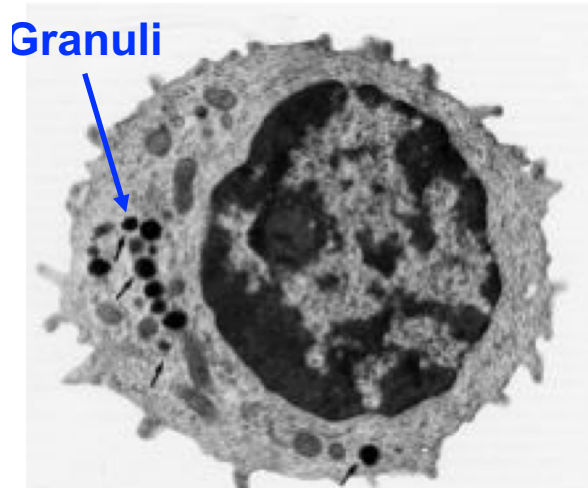


Le cellule Natural Killer (NK cells)



Grandi linfociti granulari



CD16+ CD56+ TCR/CD3-

-Rare nei linfonodi ma ben rappresentate in alcuni tessuti: fegato, polmone, utero gravido, milza, midollo e in piccola parte nel timo

Attività nei siti infiammatori:

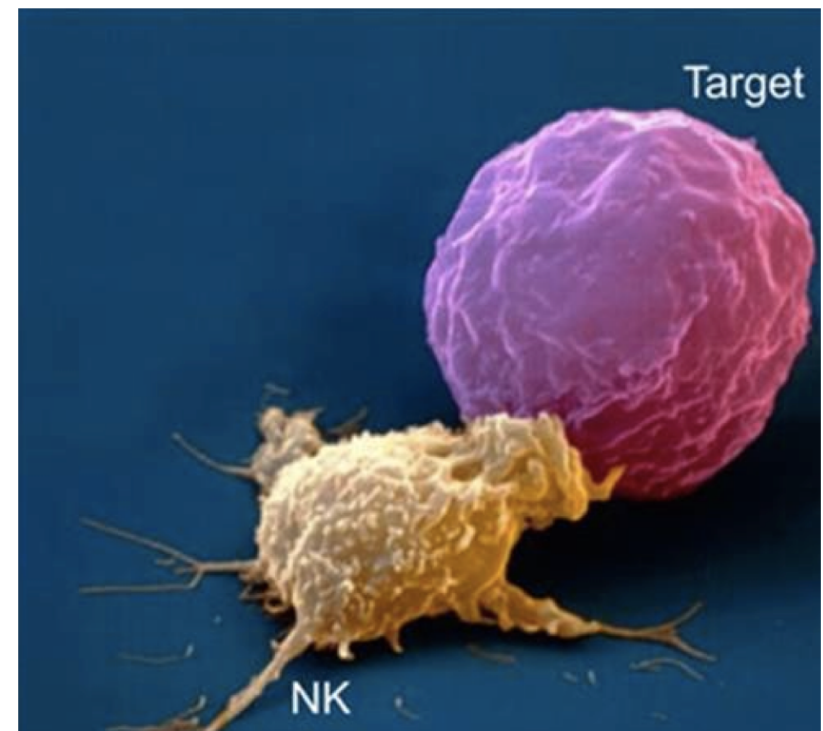
- Uccisione cellule infettate
- Rigetto dei trapianti
- Uccisione cellule tumorali e metastatiche

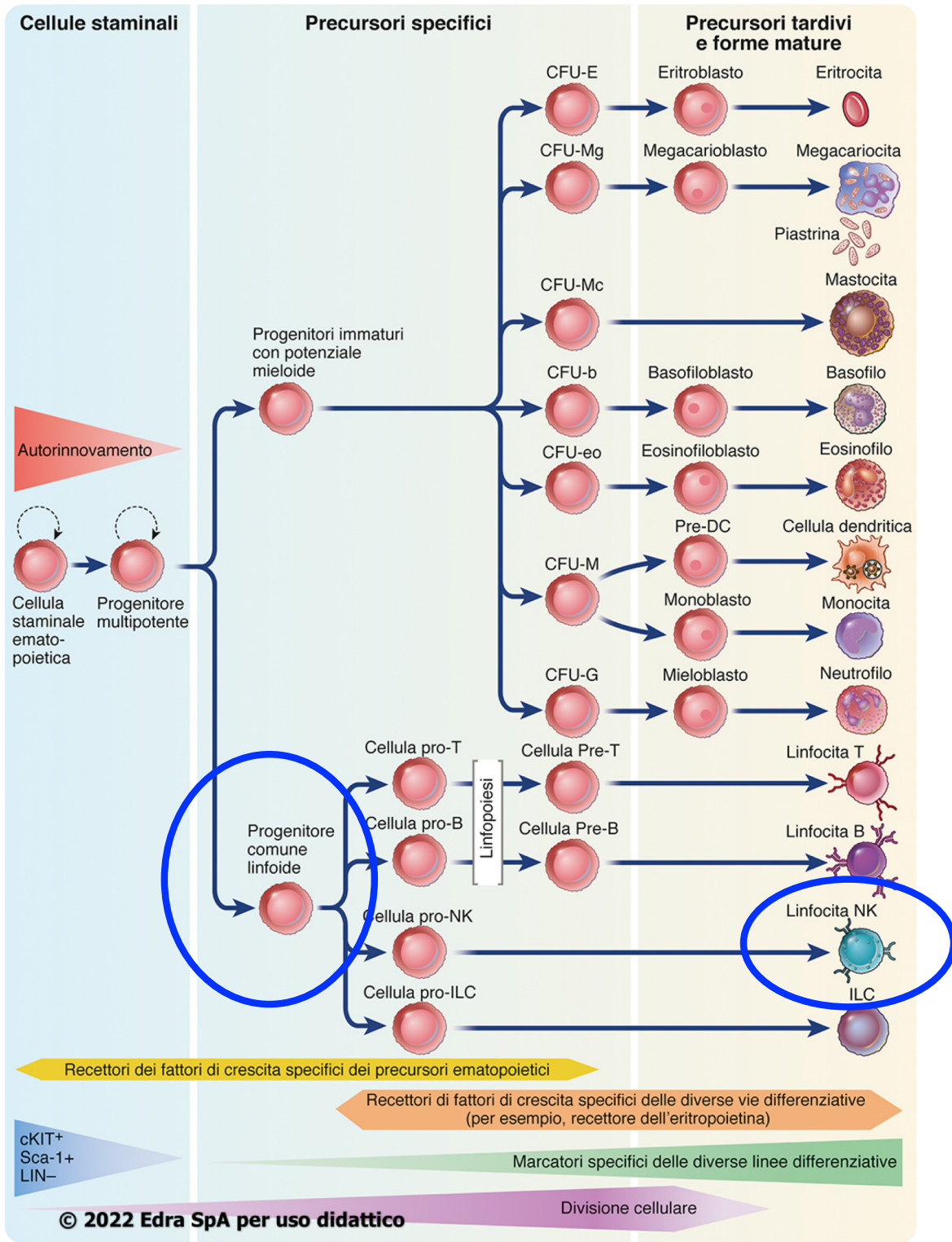
Fonte di IFN γ : potenziamento attività macrofagica e differenziamento Th1

Cellule Natural Killer (NK)

Cellule linfoidi innate (ILC)

- Riconoscono e uccidono cellule infettate da virus e batteri, danneggiate o trasformate.
- Originano dal midollo osseo dal **progenitore comune linfoide**
- Cellule circolanti nel sangue periferico e nella milza (**5-15% delle cellule mononucleate del sangue periferico**).





Ematopoiesi

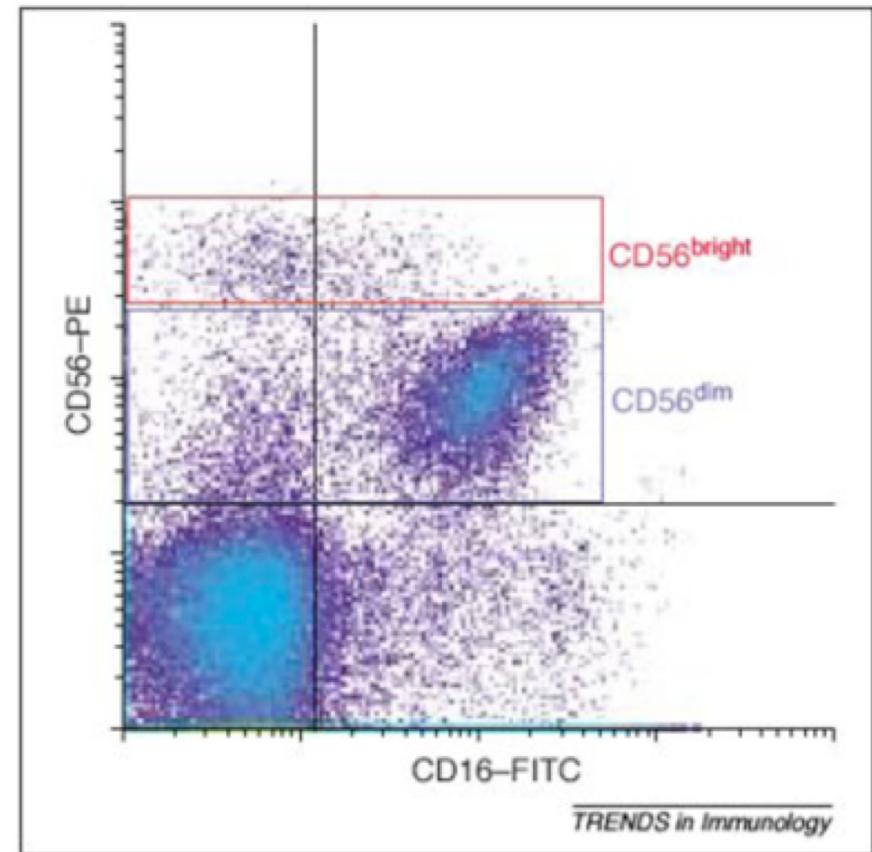
Questo albero ematopoietico illustra lo sviluppo dei principali stipiti cellulari del sangue



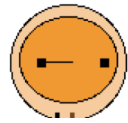
Tutte le cellule del sangue derivano da una cellula staminale ematopoietica comune midollare (multipotente) e capace di autorinnovarsi.

Origine e differenziamento

- **Progenitore linfoide comune** del midollo osseo **CD34⁺/c-kit⁺/Flt3⁺**
- **Necessitano del microambiente midollare per completare la maturazione.**
- Lo stroma produce i fattori di crescita: **stem cell factor/ligando di c-kit (SCF)** e **Flt3L** che agiscono nelle prime fasi di sviluppo.
- **IL-15** trasforma il precursore NK intermedio in una cellula NK funzionale

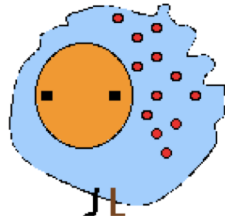


Linfocita T



CD3+

Cellula NK

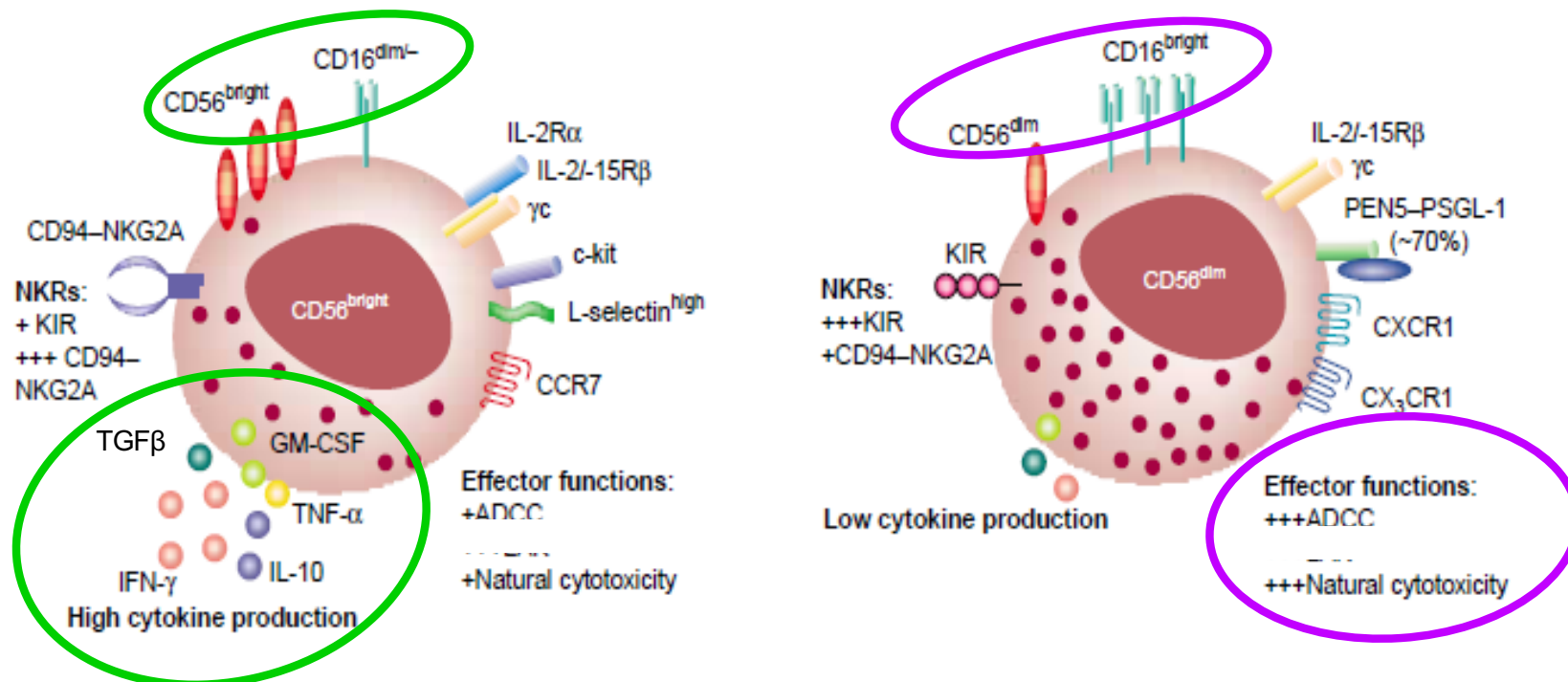


CD56+CD16+

Cellule NK

A differenza dei linfociti T e B non esprimono recettori antigene-specifici come il TCR o il BCR derivati da riarrangiamento somatico.

- L'attivazione è finemente regolata da segnali trasmessi da recettori attivatori ed inibitori e potenziata dalle citochine.
- L'attivazione tramite recettori attivatori induce le funzioni effettrici (lisi citotossica, produzione di citochine).

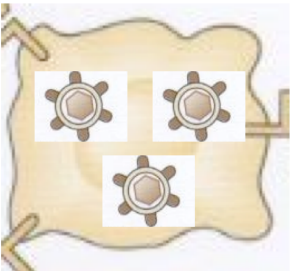


CD56 e CD16 sono i marcatori caratteristici che identificano due subset diversi di cellule NK con funzioni effettrici distinte

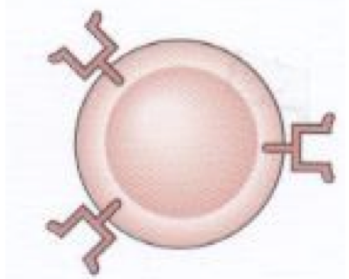
Citochine importanti per le cellule NK



Macrofago e DC
(DC plasmacitoidi)



cellula infettata da virus



linfocita T

IL-15 (importante per lo sviluppo delle NK cells)

IL-12

IL-18

IFN α/β

IL-2

cellula NK
diversi subsets

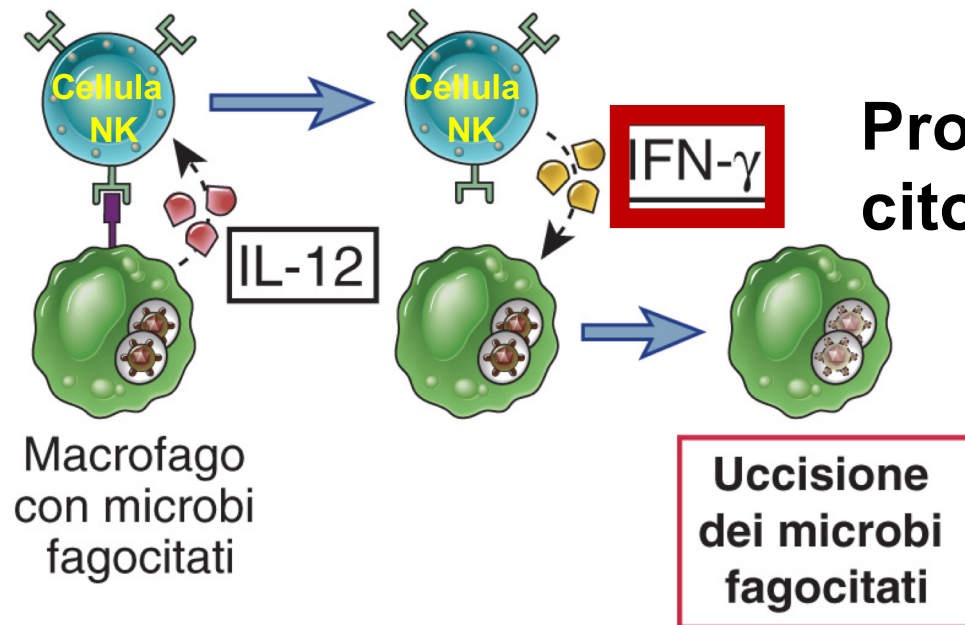
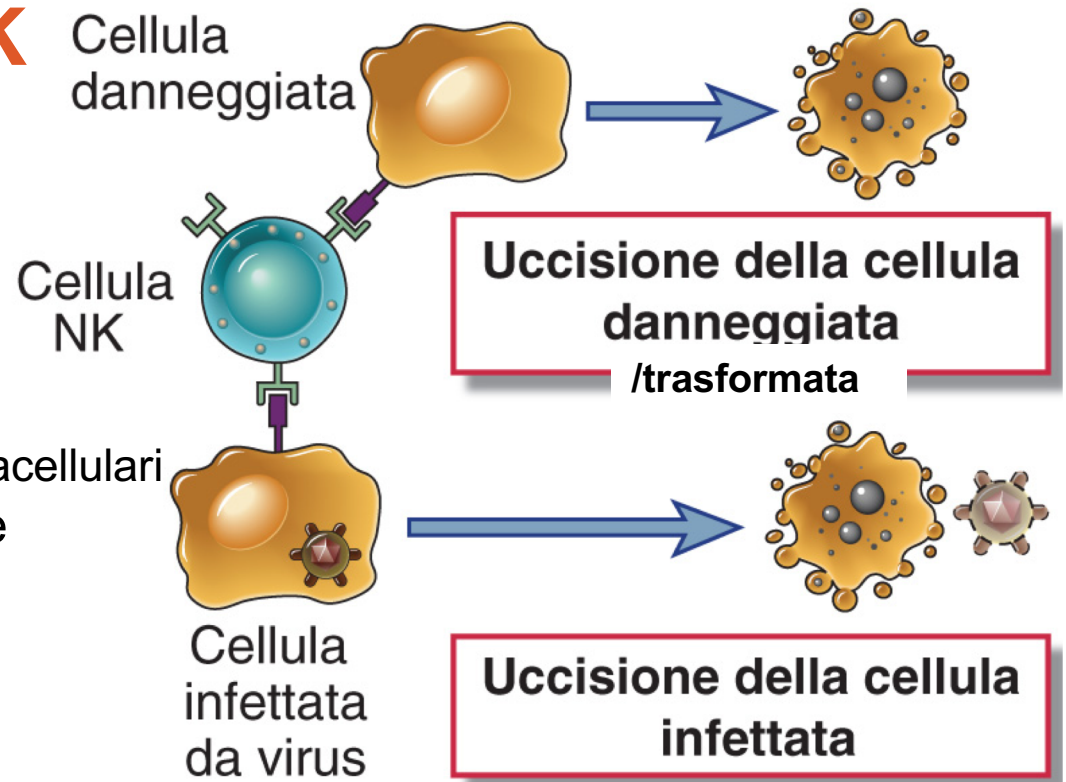
- proliferazione
- citotossicit 
- IFN γ** e TNF α
- GM-CSF
- MIP1 α e MIP1 β
- TGF- β
- chemochine

Funzioni delle cellule NK

Azione citotossica

Bersagli:

- Cellule tumorali
- Cellule infettate dai virus o batteri intracellulari
- Cellule normali danneggiate/stressate
- Cellule ricoperte da IgG1 e IgG3



Produzione di citochine

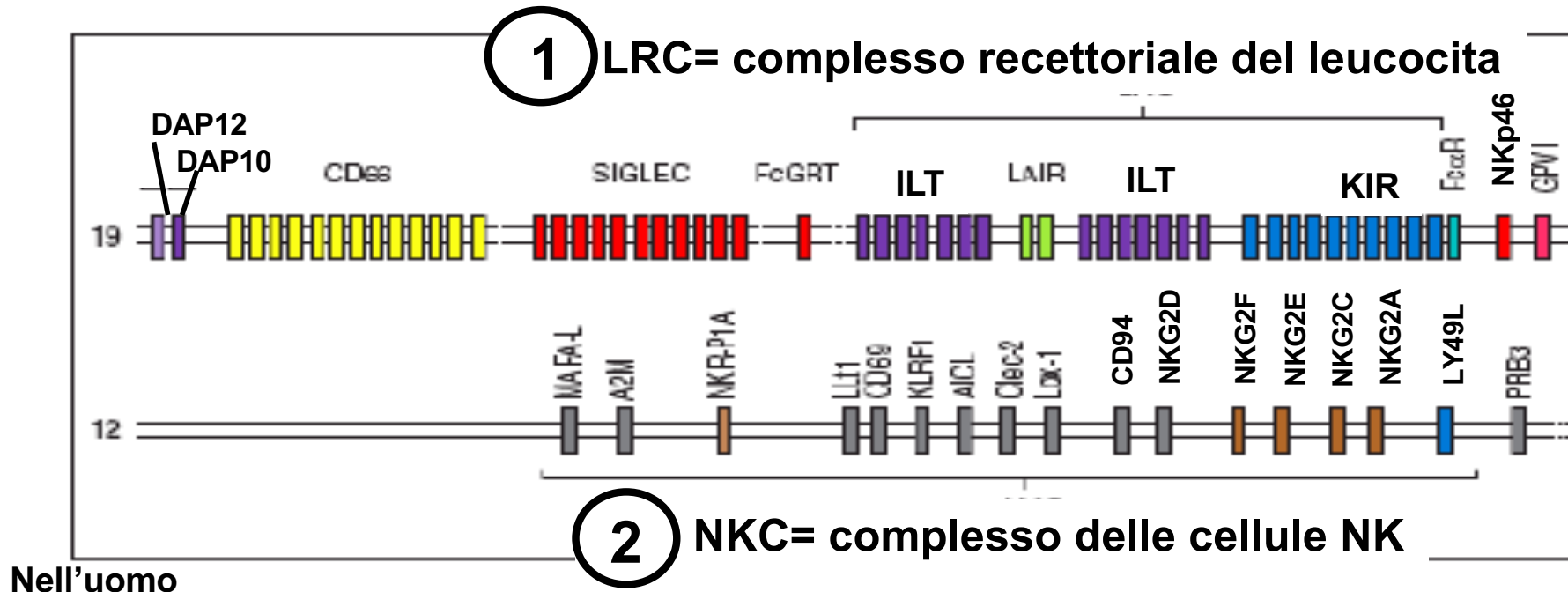
I recettori attivatori ed inibitori delle NK (*germline* ma polimorfici)

Recettori attivatori: Riconoscono molecole espresse sulle cellule infettate, alterate (es. tumorali) → **attivano la citotossicità**

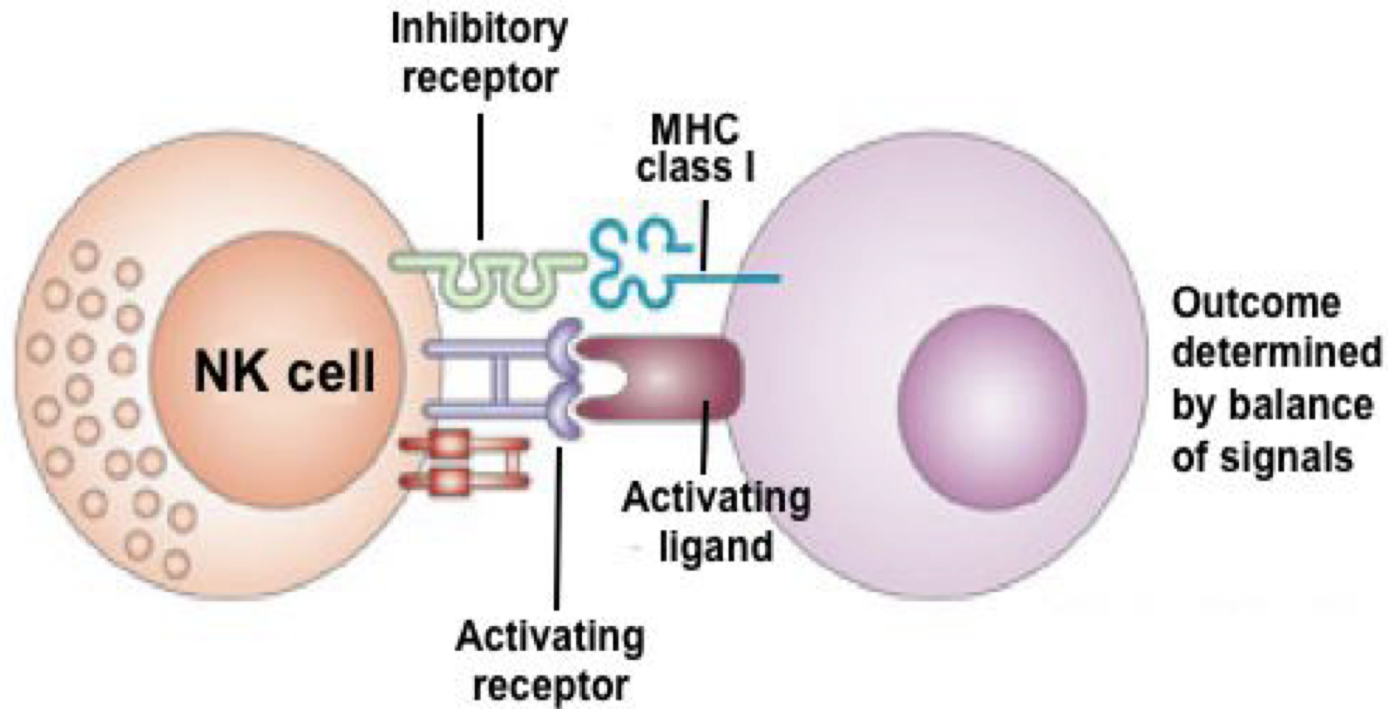
Recettori inibitori: Riconoscono le molecole **MHC di classe I self** → **bloccano la citotossicità**. (Le cellule infettate o alterate hanno livelli bassi di espressione delle molecole MHC di classe I)

L'integrazione dei segnali attivatori e inibitori determinerà se una NK lisa o meno la cellula bersaglio

Geni che codificano per i recettori NK appartengono a due famiglie:



La risposta delle cellule NK è regolata dall'integrazione di segnali derivanti dai recettori attivatori ed inibitori



La specificità delle NK è basata sul riconoscimento del:

- missing self
- self alterato/self modificato

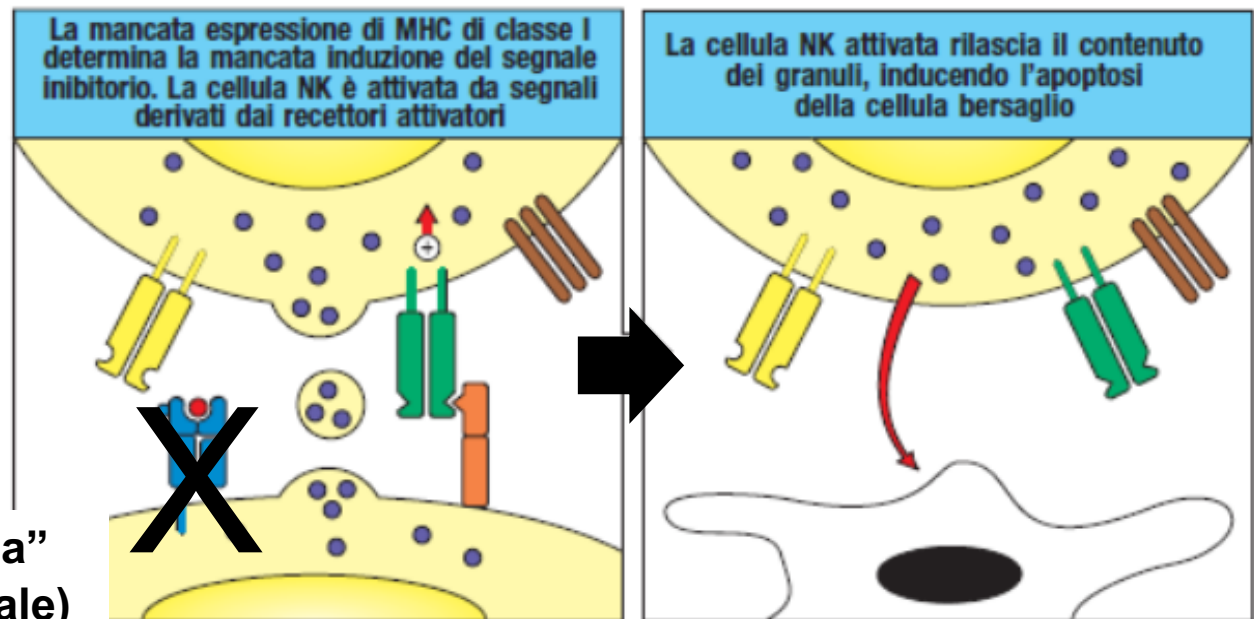
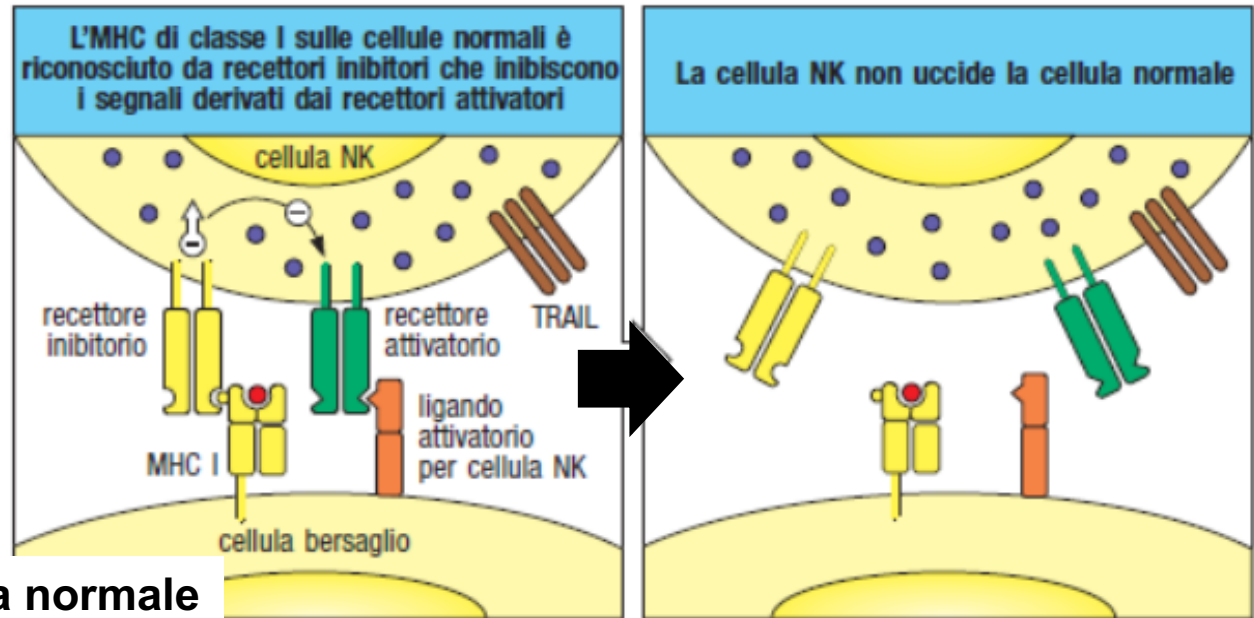
Riconoscimento delle cellule “anomale” da parte delle cellule NK

Teoria del “missing self” di Klas Kärre è alla base del meccanismo di attivazione delle cellule NK

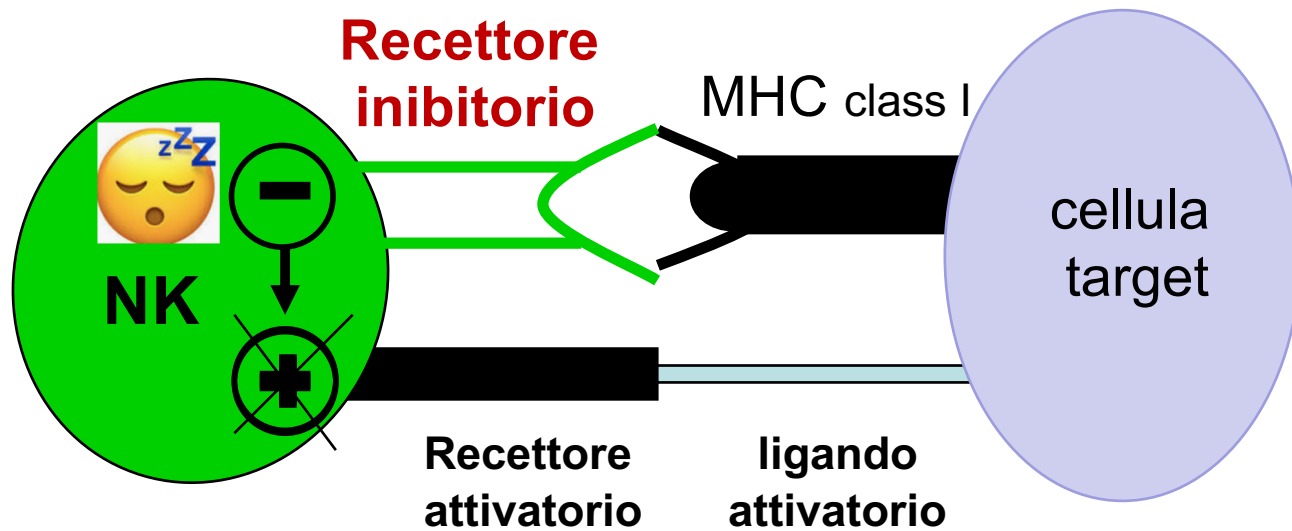


Klas Kärre
in the laboratory at the Karolinska
Institute in 1983.

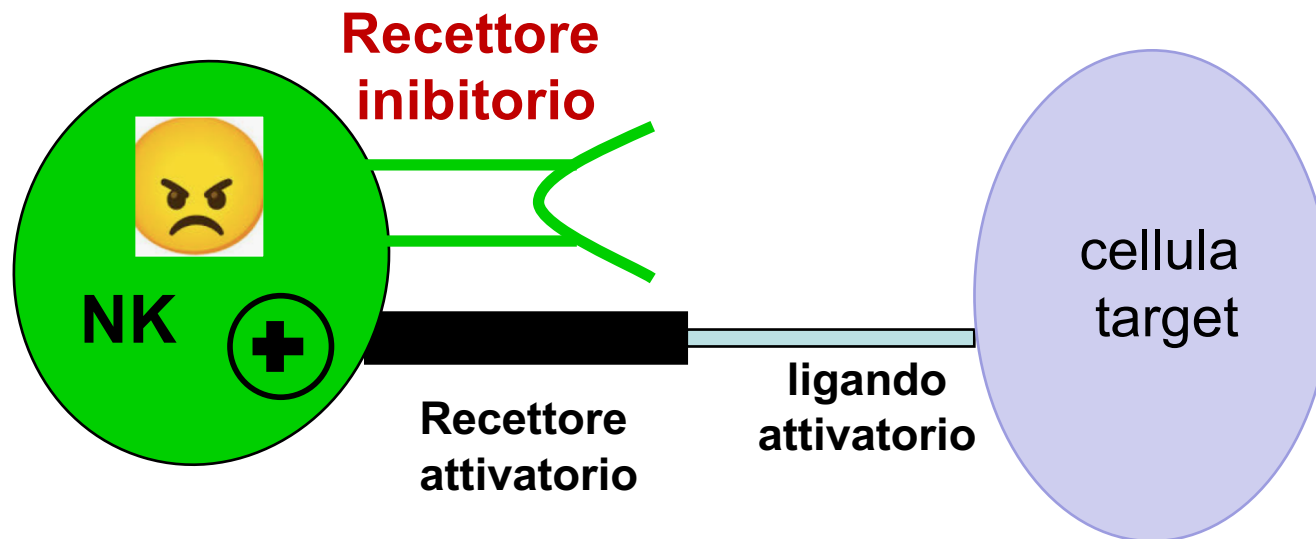
Cellula normale



Come agiscono i recettori inibitori delle cellule NK



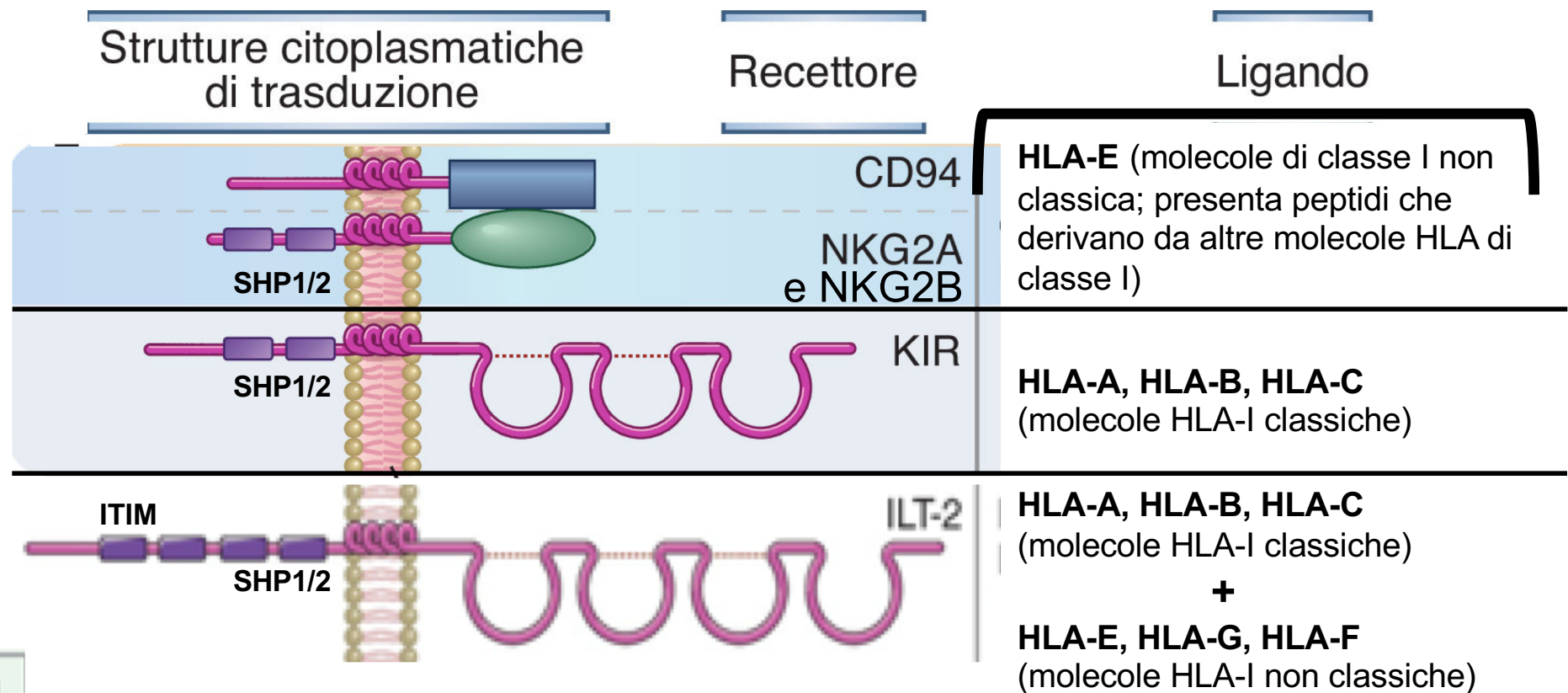
Inibizione
Non c'è lisi
della
cellula target



NON c'è inibizione
Lisi
della cellula target

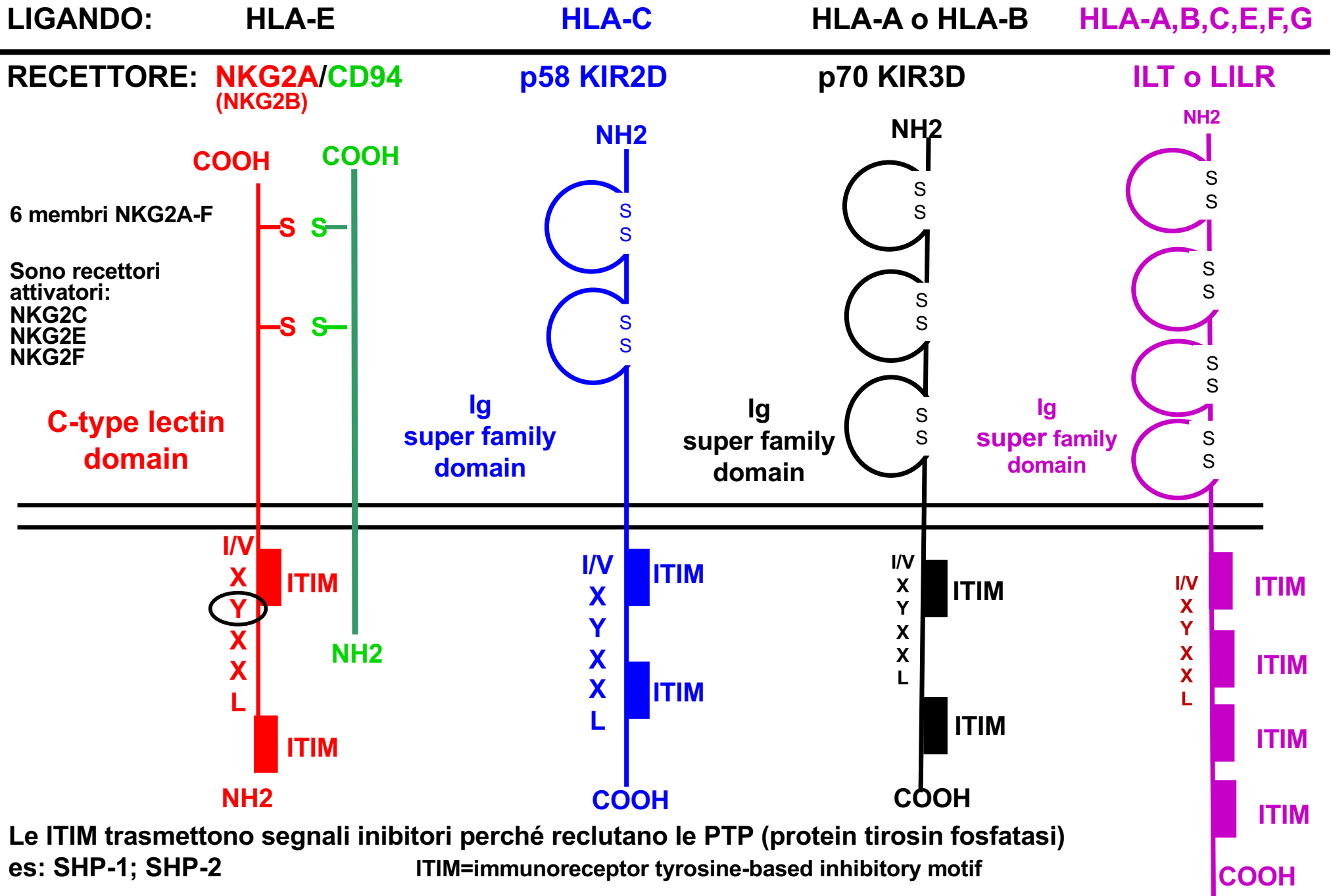
Recettori NK inibitori

- **NKG2A e B:** Recettore lectinico di tipo C che si accoppia a CD94 (non polimorfico)
- **KIR:** Recettore immunoglobulinico (2-3 domini Ig) Killer cell Ig-like receptors
- **ILT o LIR:** Recettore immunoglobulinico (4 domini Ig) Ig-like transcripts



ITIM= immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif;
motivi inibitori contenenti **Tyr** → **pTyr reclutano fosfatasi**

Recettori NK inibitori



Le ITIM trasmettono segnali inibitori perché reclutano le PTP (protein tirosin fosfatasi)
 es: SHP-1; SHP-2
 ITIM=immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif

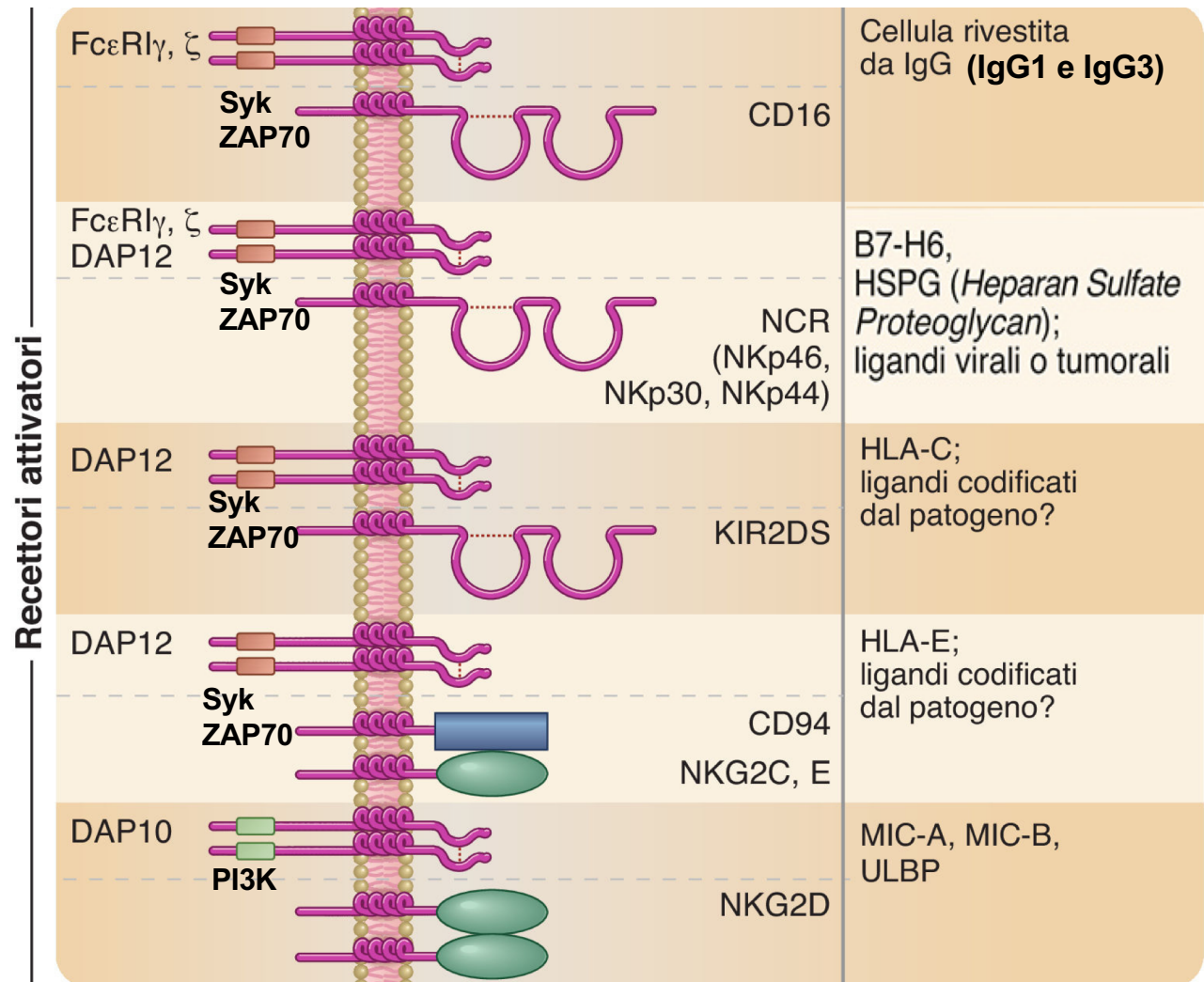
Recettori NK attivatori

- **CD16** o Fc γ RIII
- **NCR**: recettori di citotossicit  naturale
- **NKG2D**: Lectina di tipo C
- **NKG2C** ed **E** Lectine di tipo C simili a NKG2A



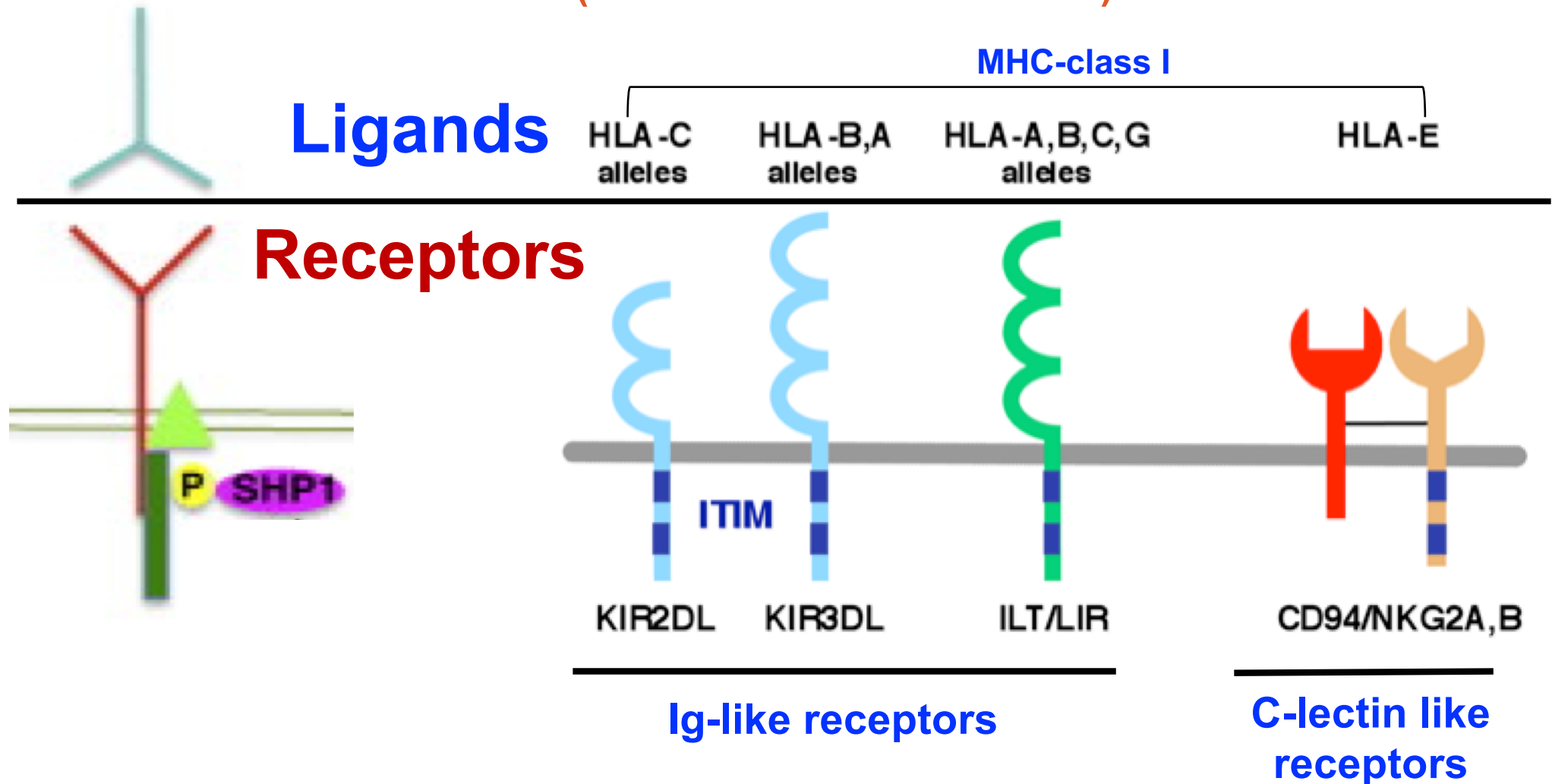
ITAM= motivi attivatori contenenti **Tyr**→**pTyr** reclutano **chinasi** (immunoreceptor tyrosine based activating motif)

YxxM: reclutano subunit  p85 della **PI3K**



I recettori inibitori delle NK

(riconoscono MHC-class I)

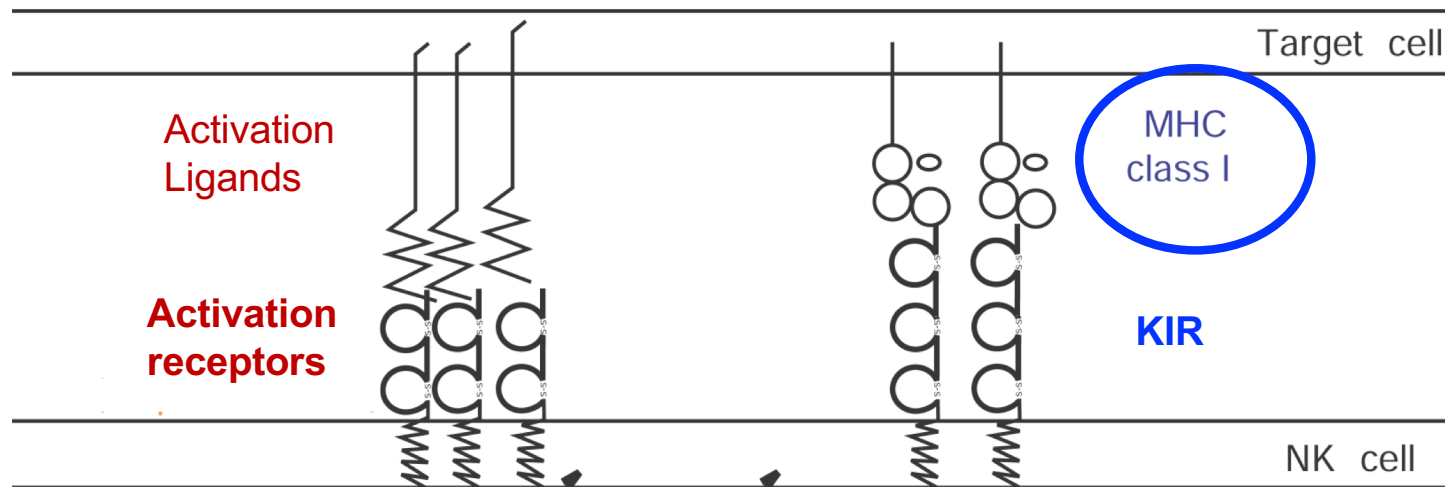


Le ITIM trasmettono segnali inibitori perché, dopo fosforilazione delle Tyr ad opera delle chinasi della famiglia Src, reclutano PTP (protein tirosin fosfatasi) quali SHP-1 e SHP-2

ITIM=immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif

SHP-1=Src Homology Region 2 Domain-containing Phosphatase 1

L'attività delle NK è normalmente inibita dal riconoscimento delle molecole MHC-I self



I **recettori attivatori** sono associati a catene contenenti **ITAM** che reclutano proteine tirosin-chinasi

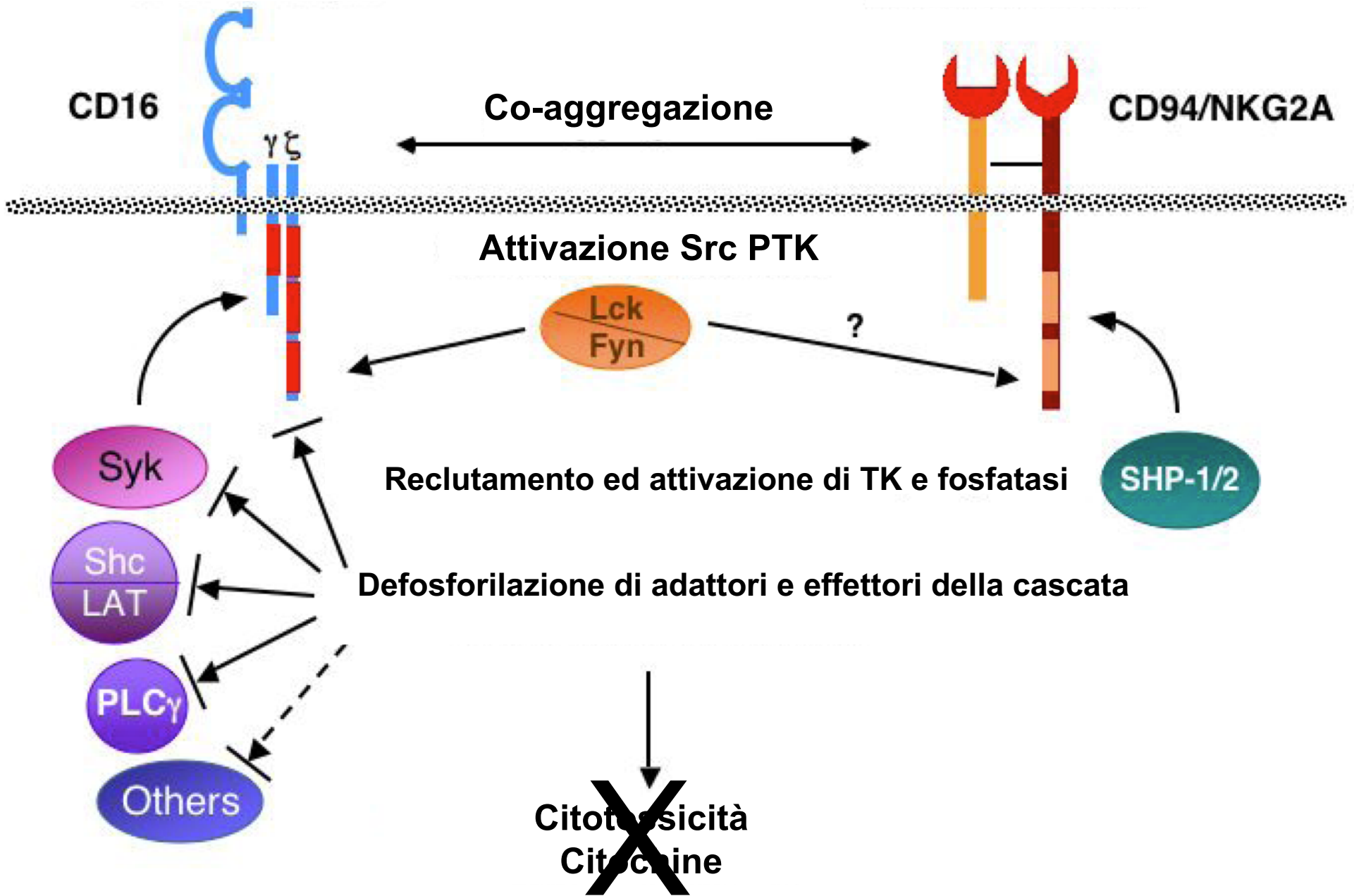
I recettori inibitori (es. **KIR, ILT e NKG2A,B**) contengono nel dominio intracitoplasmatico sequenze **ITIM** con Tyr che dopo fosforilazione legano i domini **SH2 di Tyr fosfatasi tipo SHP-1/2**

Tyrosine phosphorylated substrates
 ↓
 Cellular activation
 Cytolysis
 Cytokine production

SHP-1/2: sono Tyr fosfatasi che tramite i domini SH2 legano le ITIM con Tyr fosforilate e vengono reclutate in membrana e attivate

mDAP12	AETESPYQELQGG-RPEVYSDLNTQRQY
mFcεRIγ	EKADAVYTG LNTR-SQETYETLKHEKPP
mTCRζ1	QDPNQLYNE LNLG-RREEYDVLEKKRAR
mTCRζ2	NPQEGVYNALQKDKMAEAYSEIGTKGER
mTCRζ3	KGHDGLYQGLSTA-TKDTYDALJMWTLA

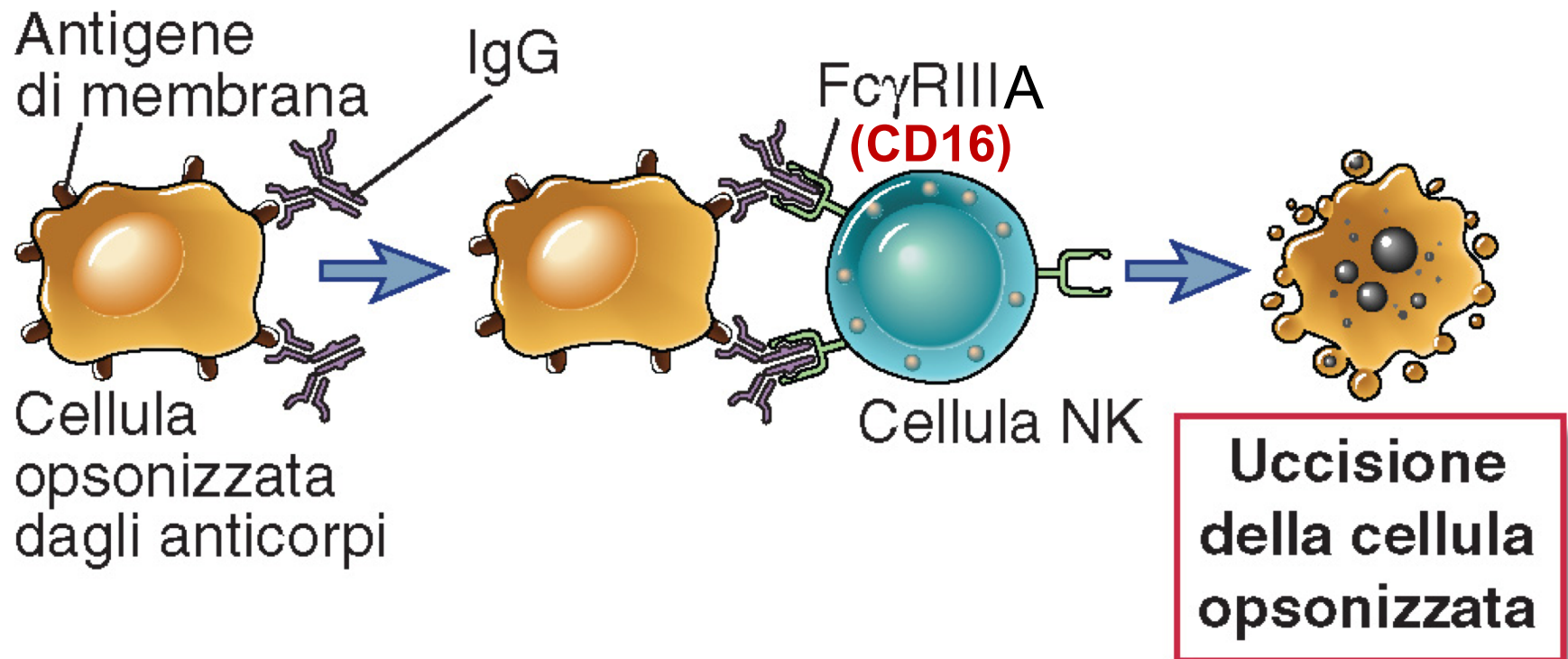
Meccanismo di inibizione mediato da MHC-I



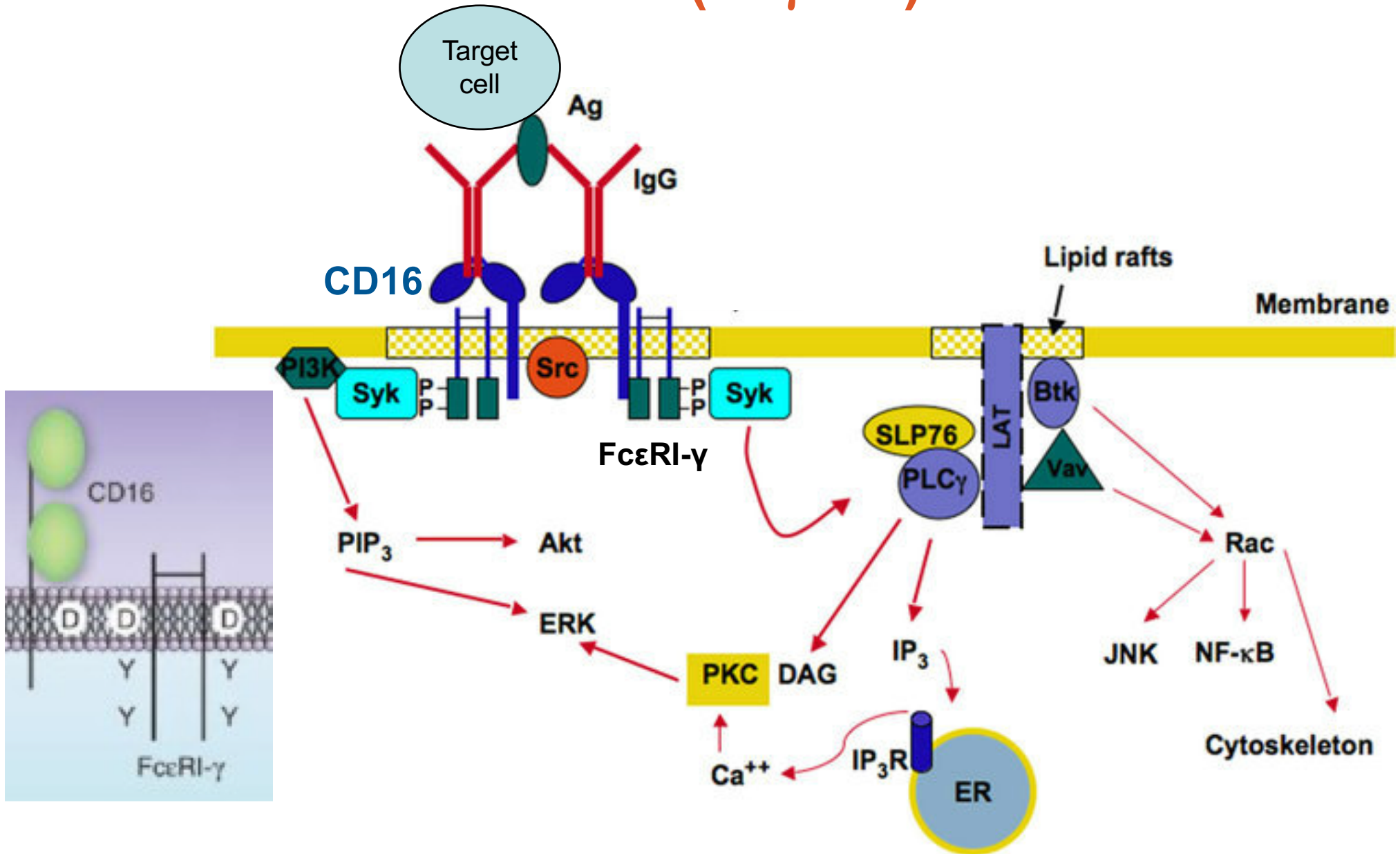
Recettore attivatorio CD16 induce l'ADCC (citotossicità cellulare mediata da anticorpi) meccanismo di lisi di cellule bersaglio infettate

Cellula effettrice= NK

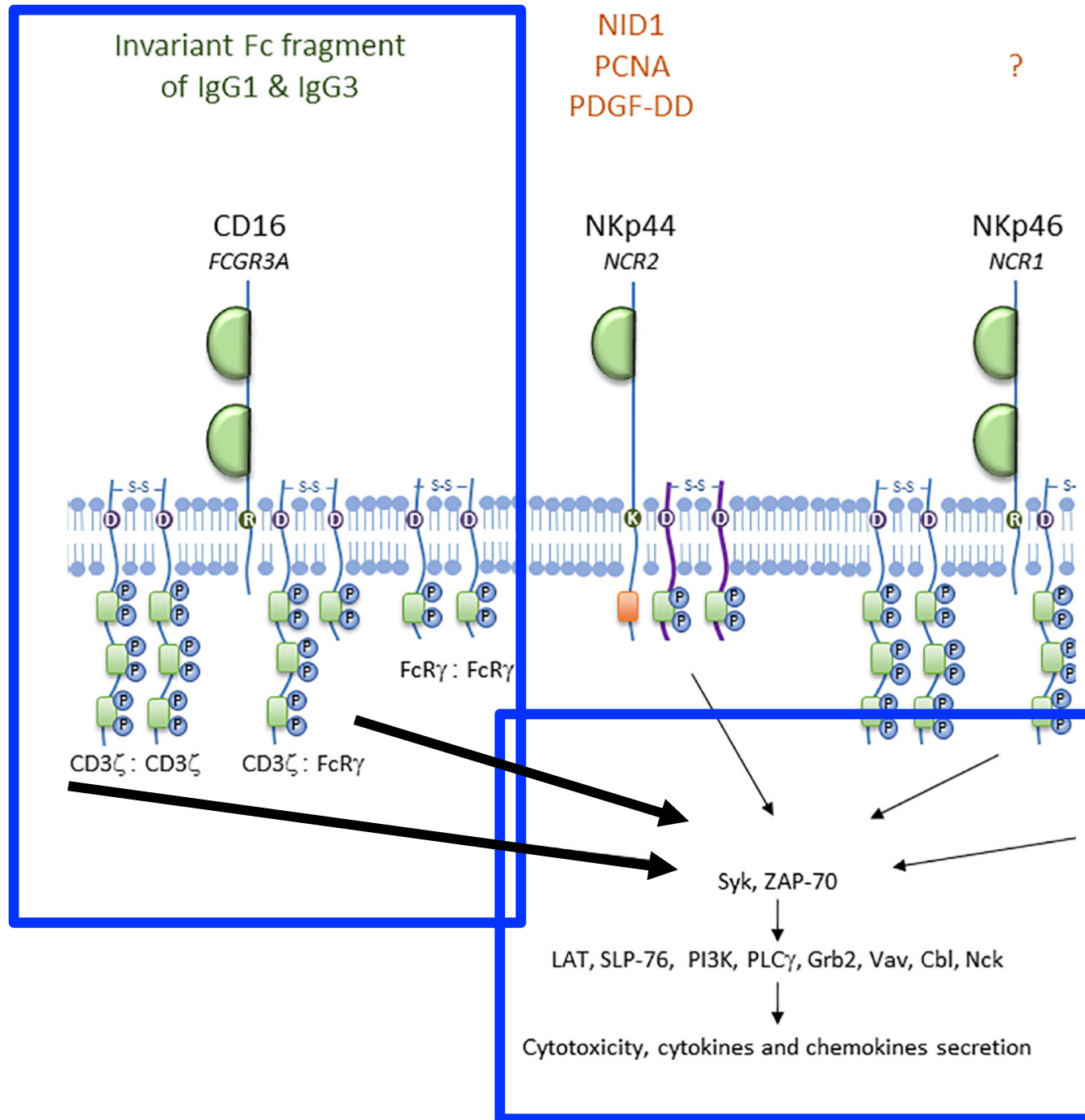
Cellula bersaglio=cellula opsonizzata da IgG1 e IgG3



Segnali di attivazione indotti dal CD16 (Fc γ RIII)



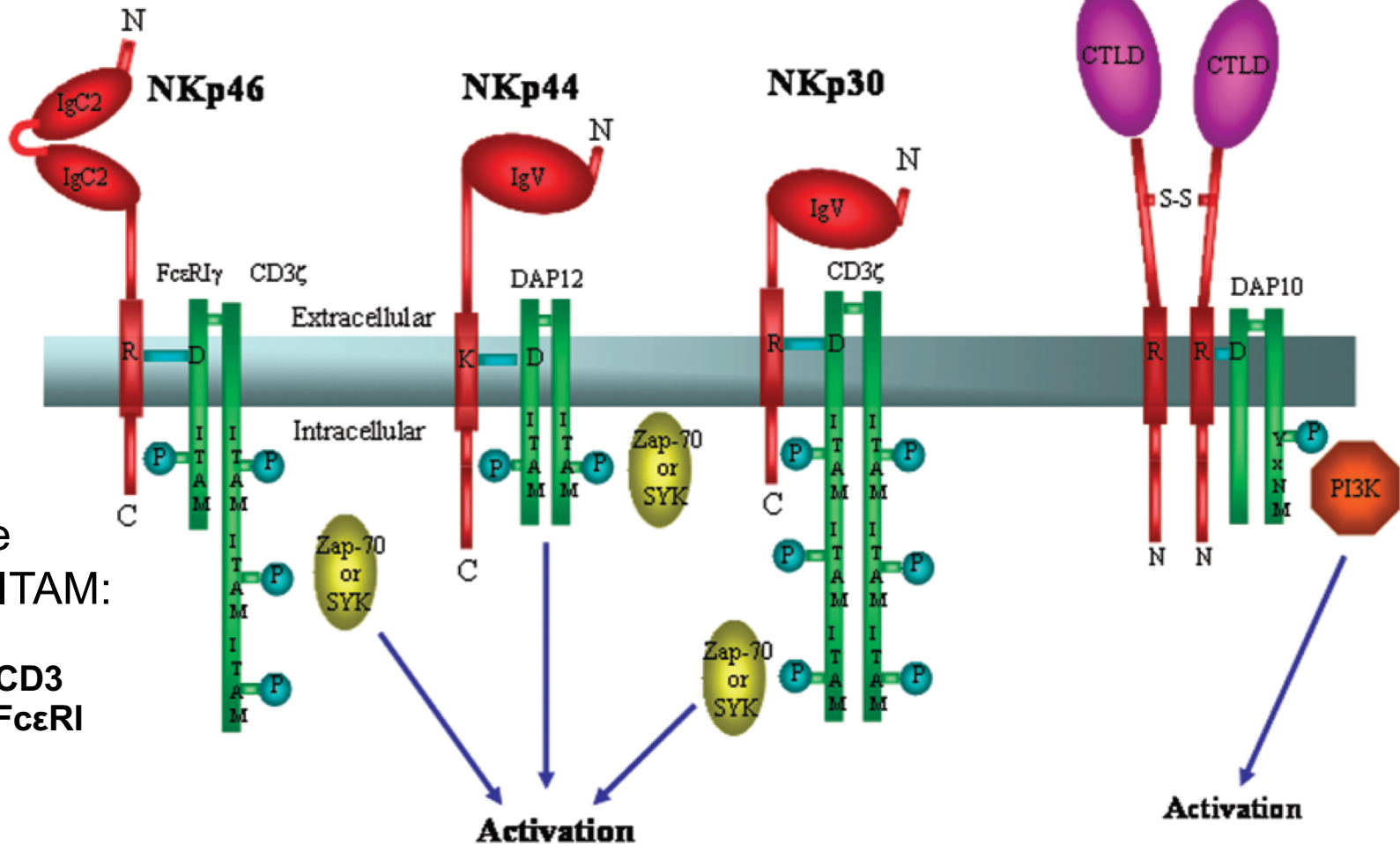
Segnali di attivazione indotti dal CD16 (Fc γ RIII)



Recettori attivatori e signaling domains

Recettore lectinico tipo C

Recettori di citotossicità naturale (NCR)



Catene per l'attivazione contenenti ITAM:

- DAP12
- catena ζ del CD3
- catena γ del Fc ϵ RI

- o YxxM
- DAP10

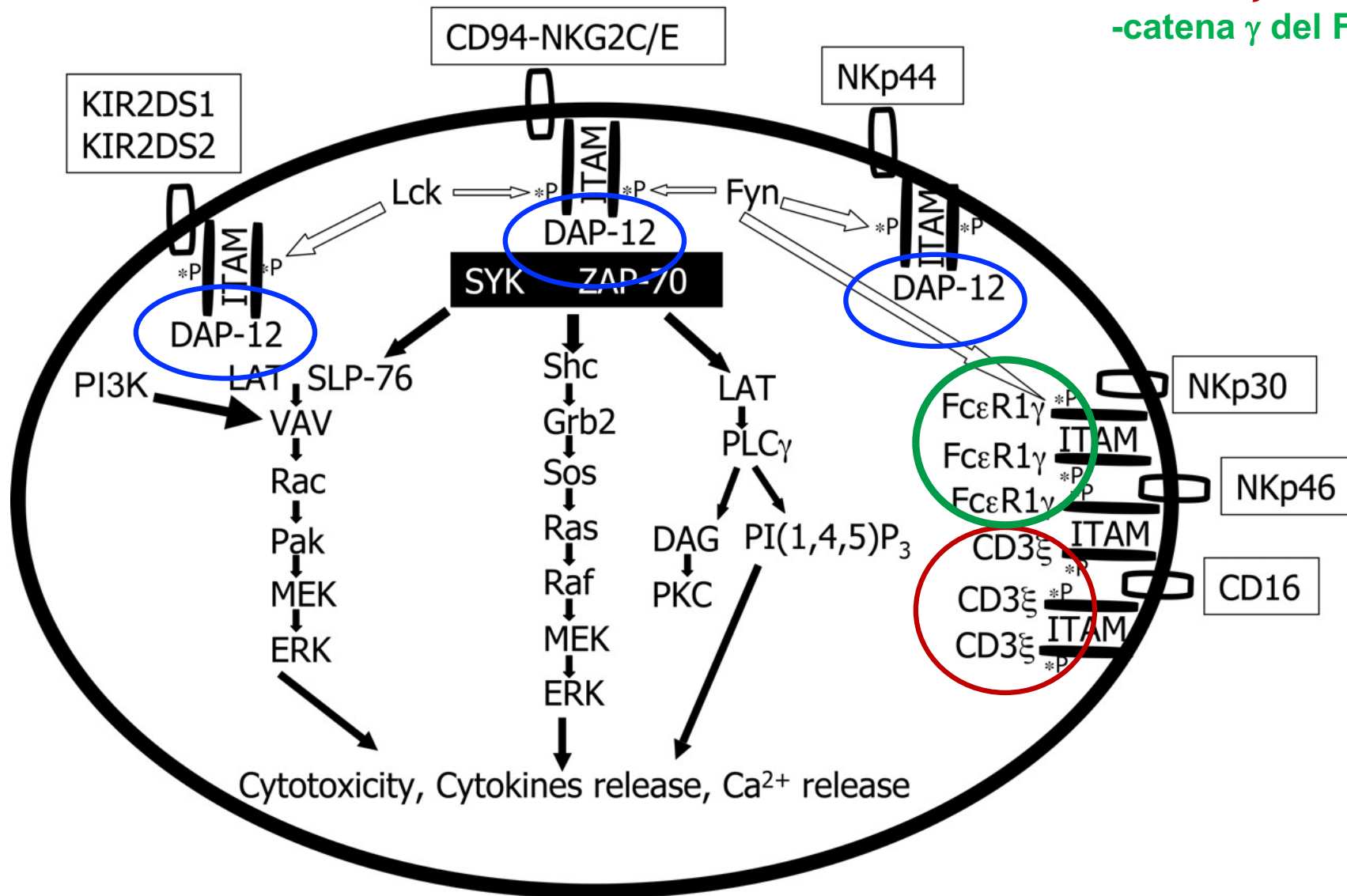
Recettori attivatori basati su ITAM

Catene per l'attivazione contenenti ITAM:

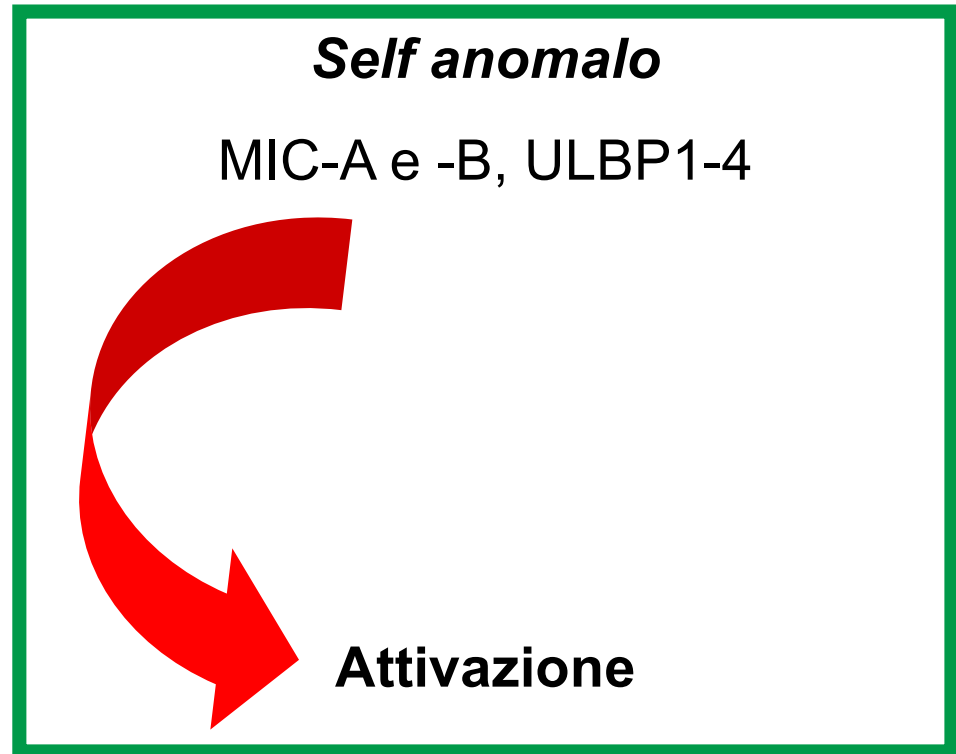
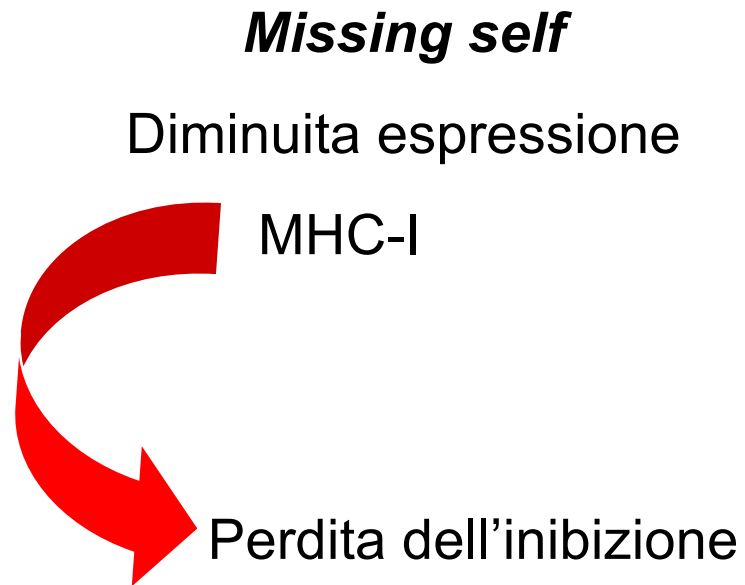
-DAP12

-catena ζ del CD3

-catena γ del Fc ϵ RI



Attivazione delle NK



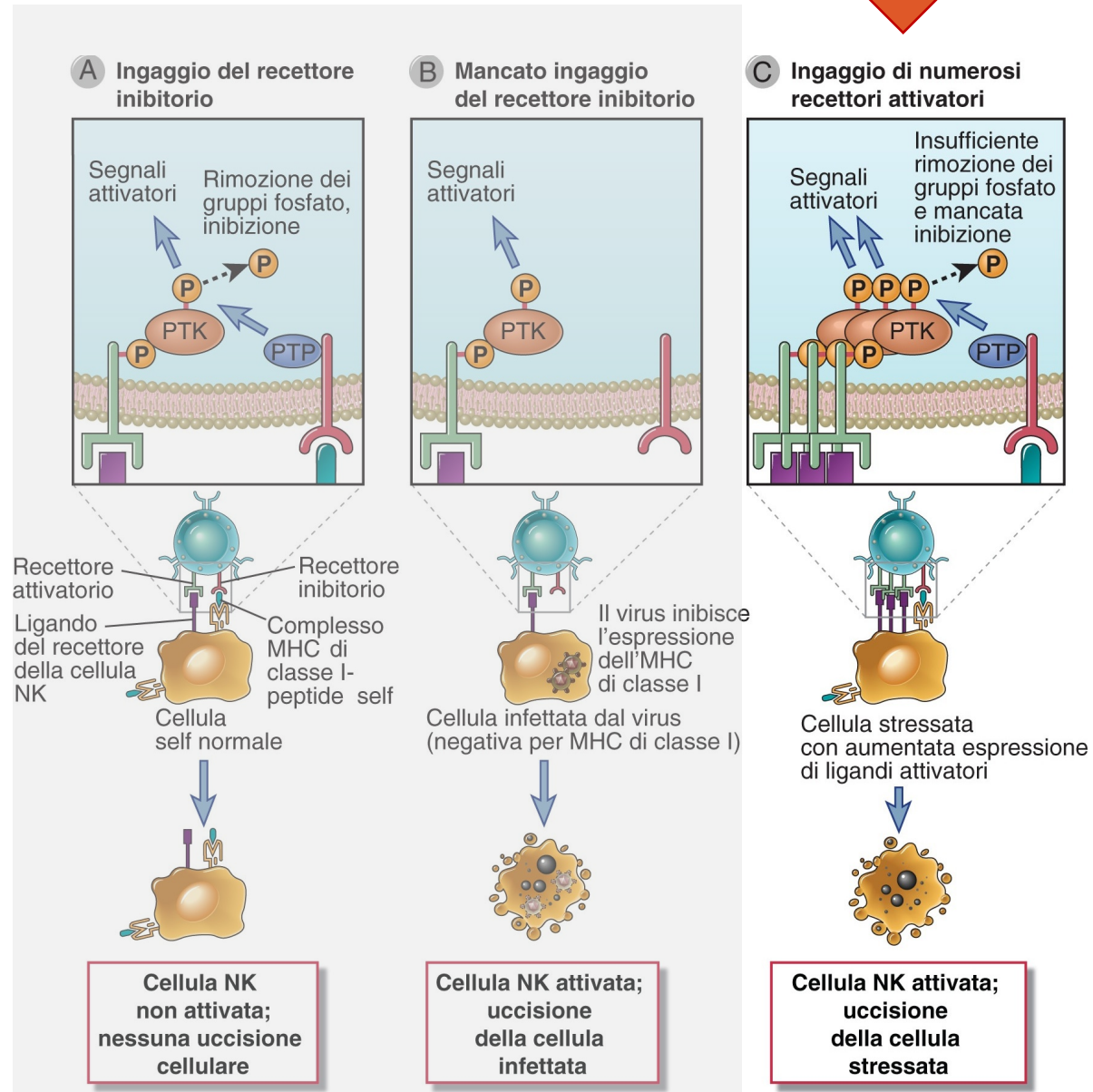
Attivazione della cellula NK da parte di molecole indotte da stress/infezione/trasformazione

(sono ingaggiati numerosi recettori attivatori)

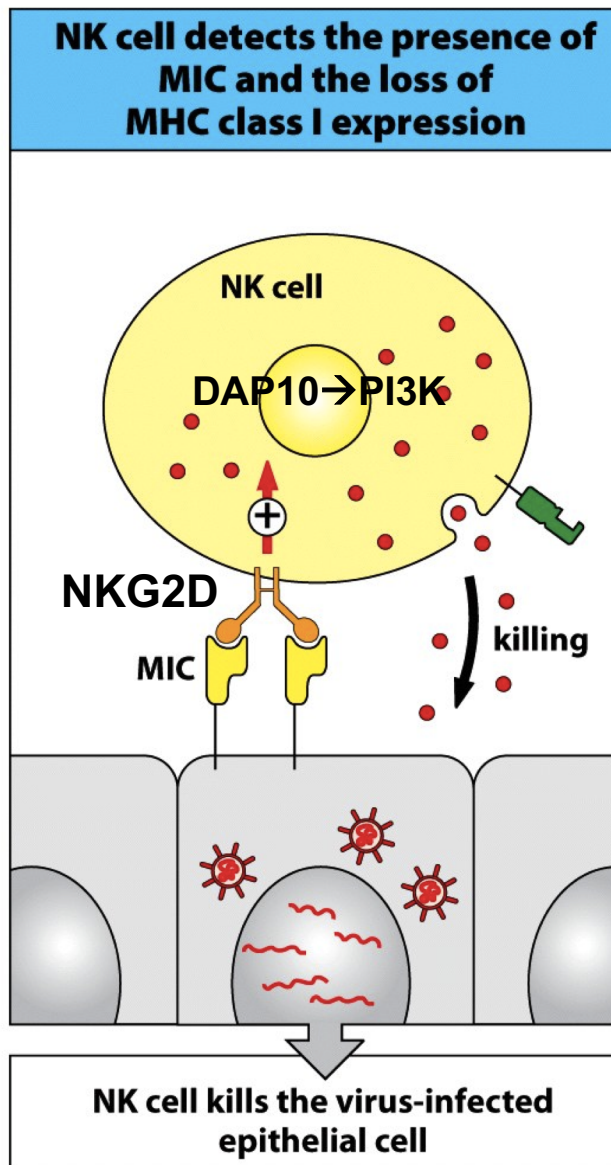
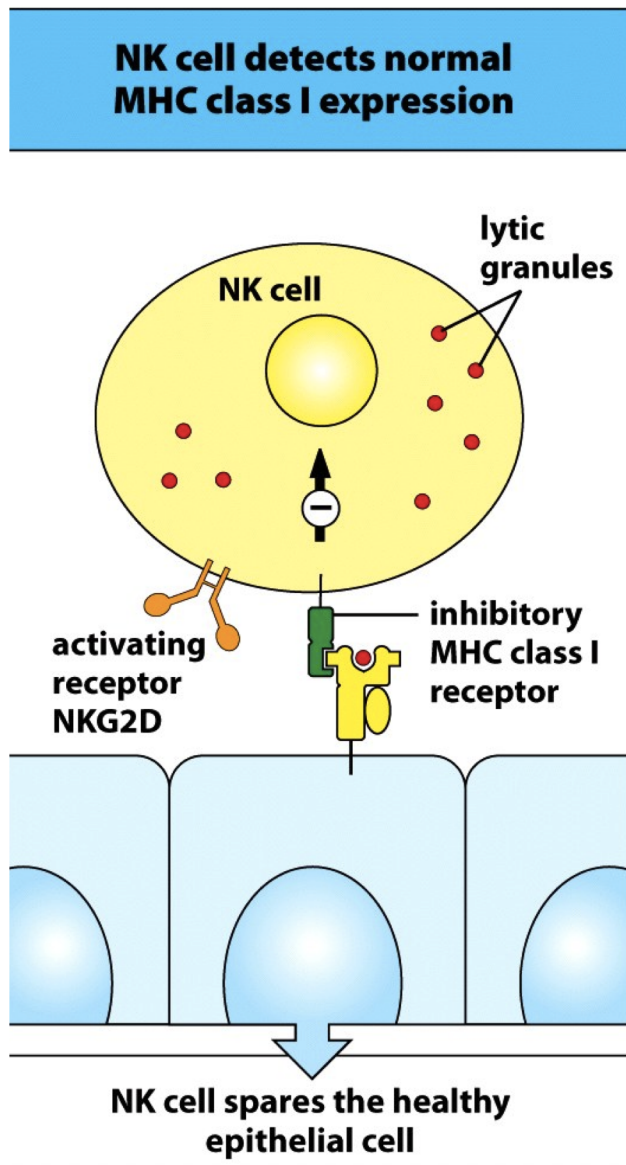


PTK: protein-tirosin chinasi

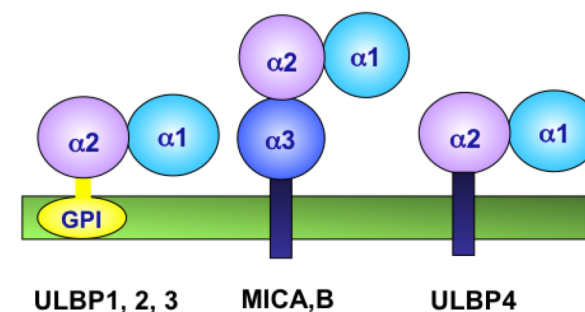
PTP: protein-tirosin fosfatasi



Recettore attivatorio NKG2D e ligandi MIC-A e -B e ULBP(1-4)

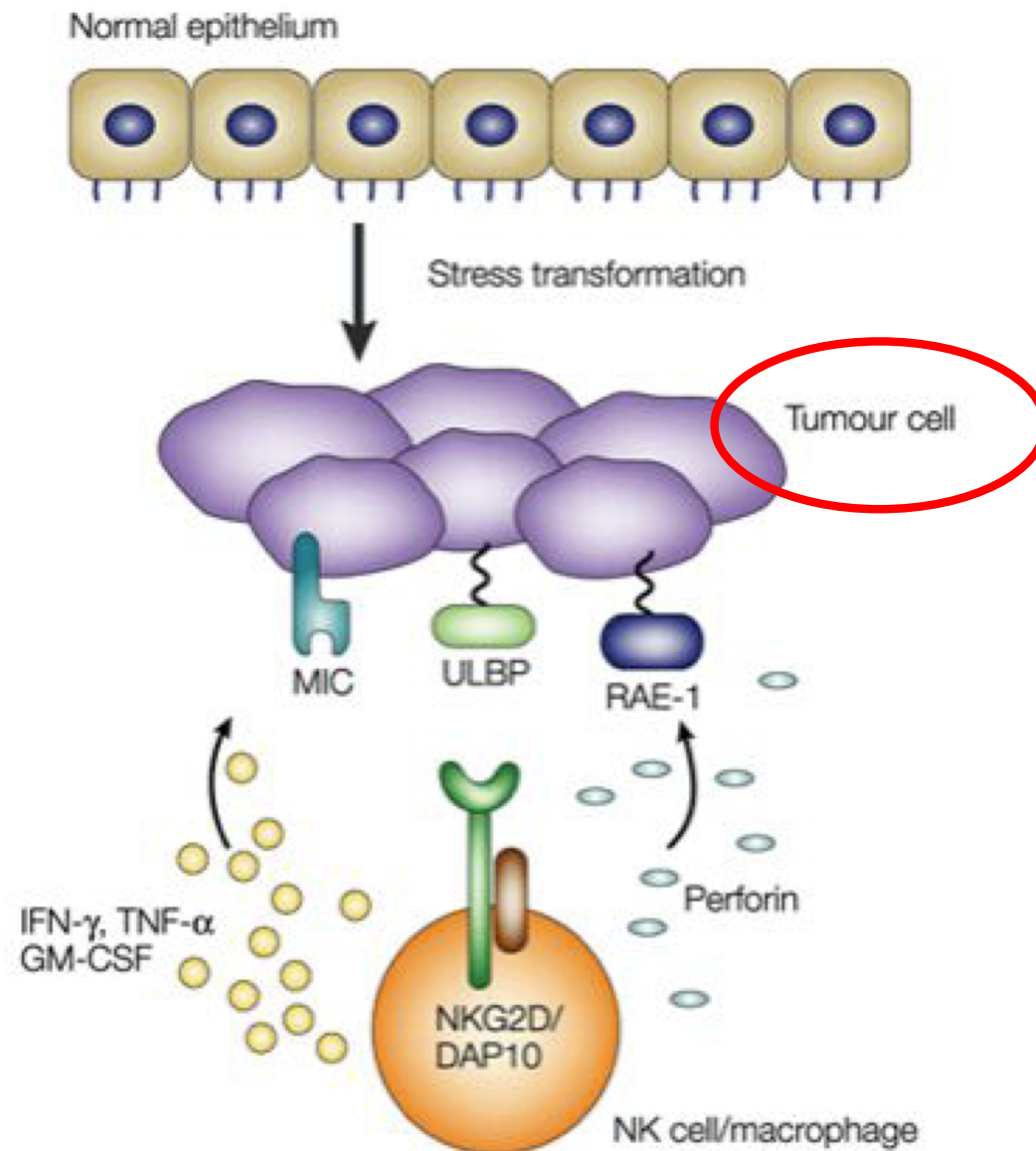


I ligandi di NKG2D sono espressi dalle cellule in risposta alle infezioni, allo stress cellulare, metabolico, al danno al DNA o in caso di trasformazione neoplastica

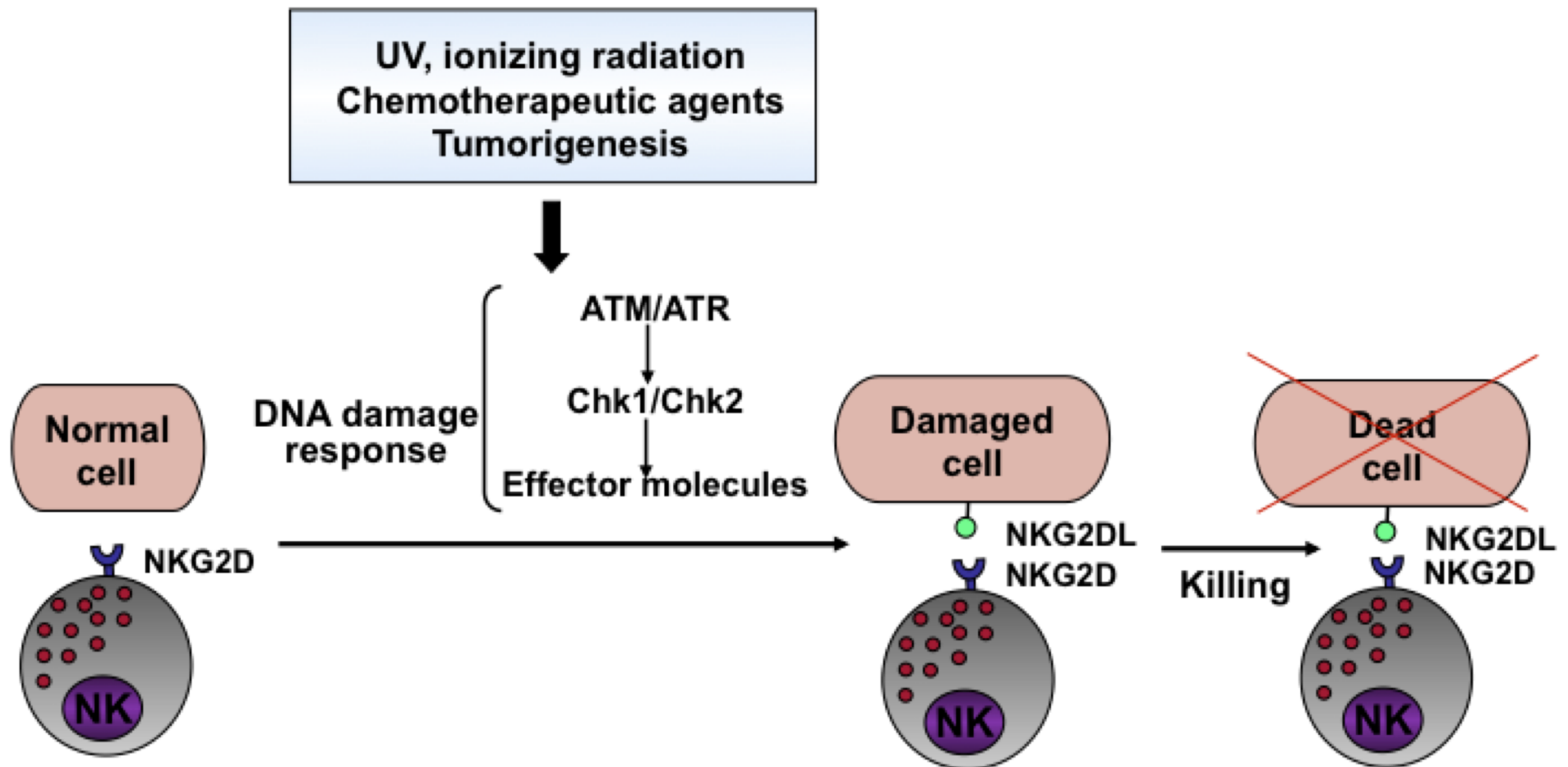


- Espresse a bassi livelli nei tessuti sani
- Simili alle MHC-I ma non associano peptidi o β 2-microglobulina

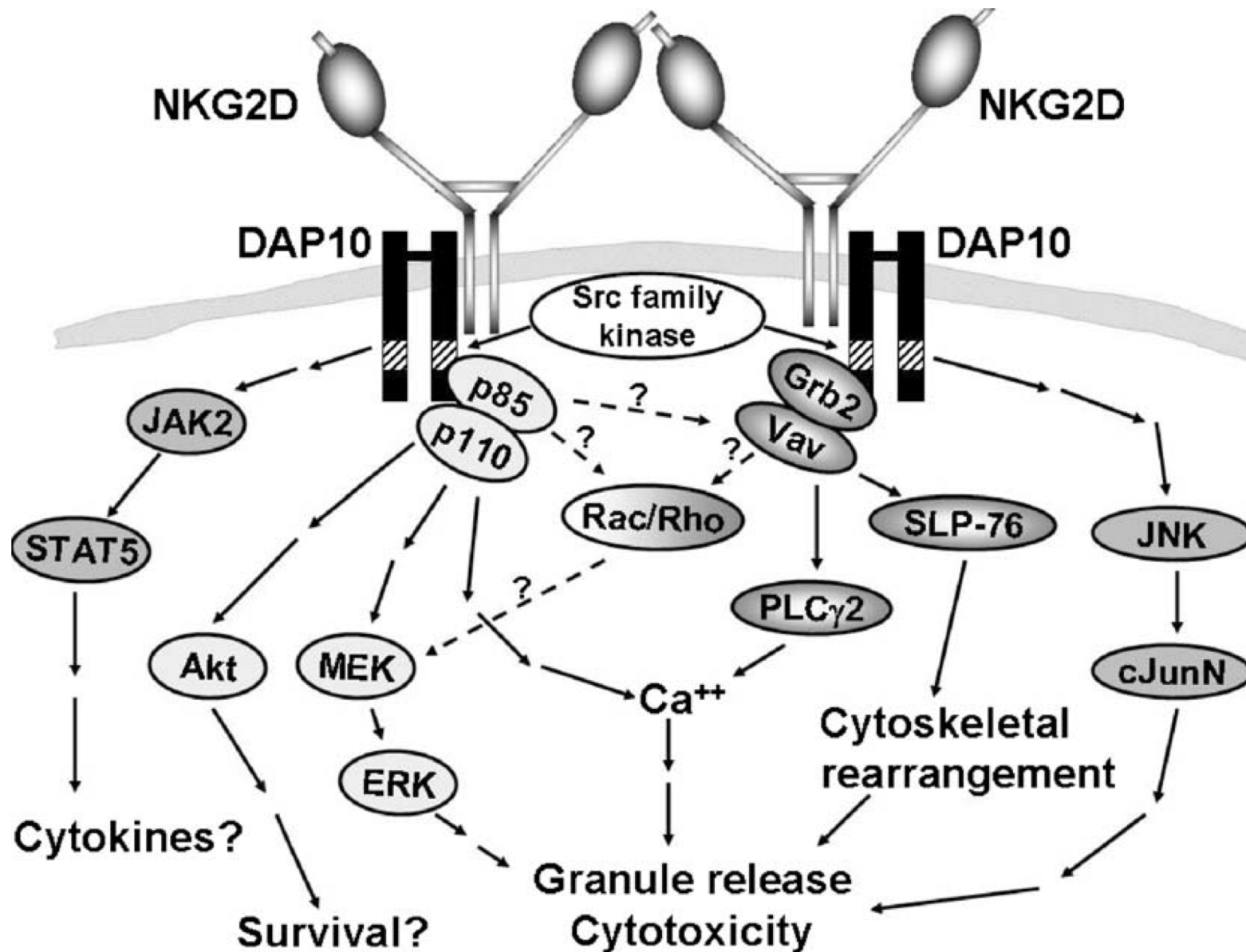
NKG2D riconosce ligandi espressi da cellule alterate



Lo stress genotossico induce i ligandi di NKG2D

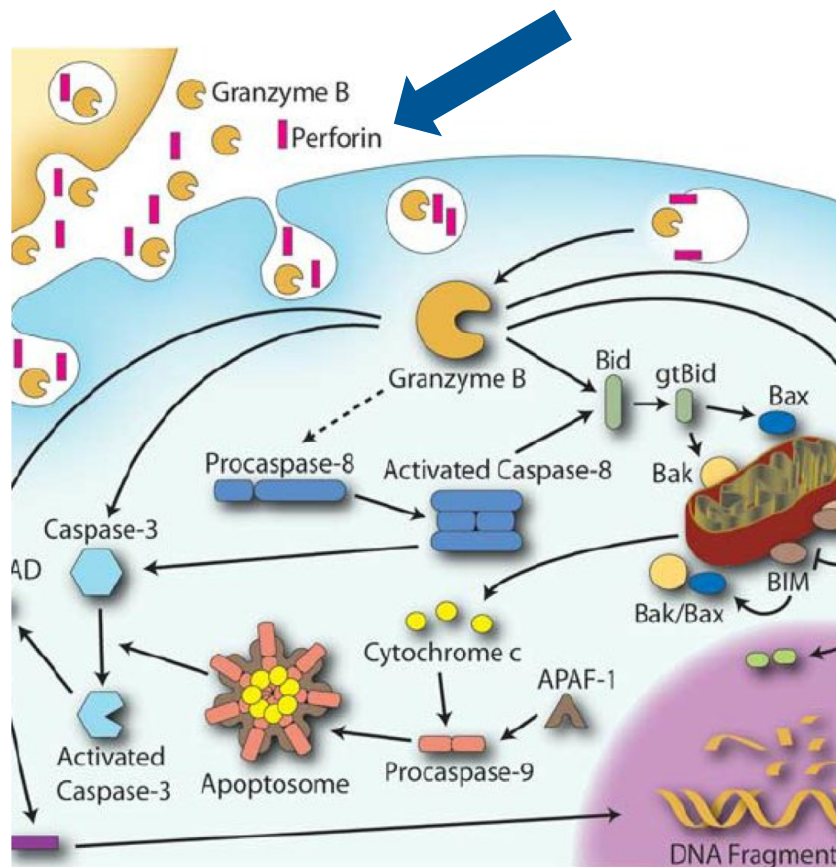


NKG2D signalling



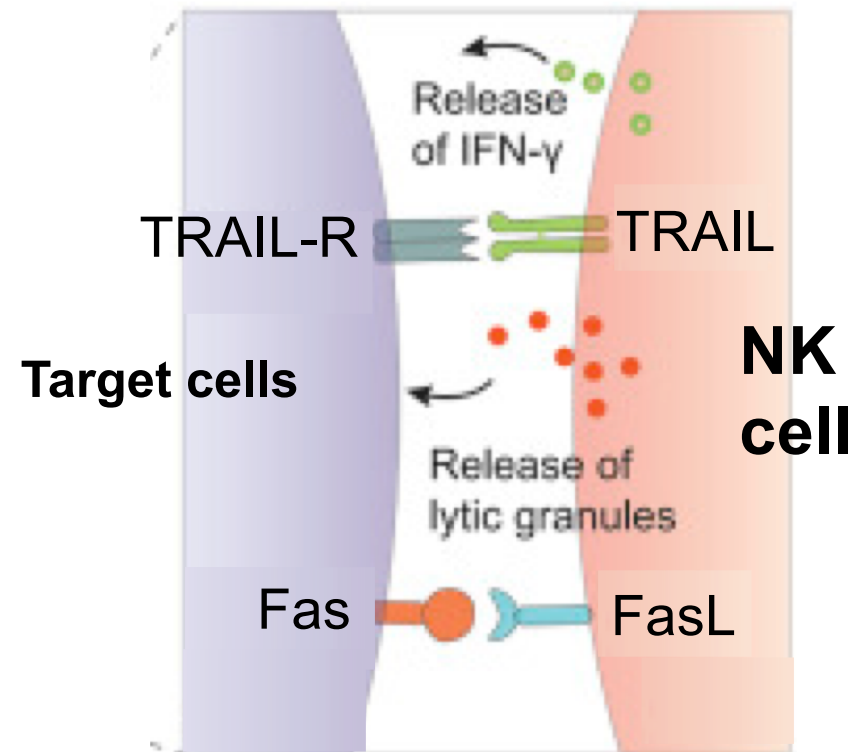
Cellule NK ed i due pathways di morte cellulare della cellula bersaglio

1. Meccanismo mediato da perforine/granzimi



Perforine formano pori nelle membrane. Quando sono endocitate insieme ai granzimi all'interno di vescicole favoriscono il rilascio dei granzimi nel citoplasma.

Granzimi: serin-proteasi che attivano direttamente la **caspasi 3** inducendo **apoptosi**.



2. Meccanismo mediato da Recettori di morte (Fas/FasL o TRAILR/TRAIL)