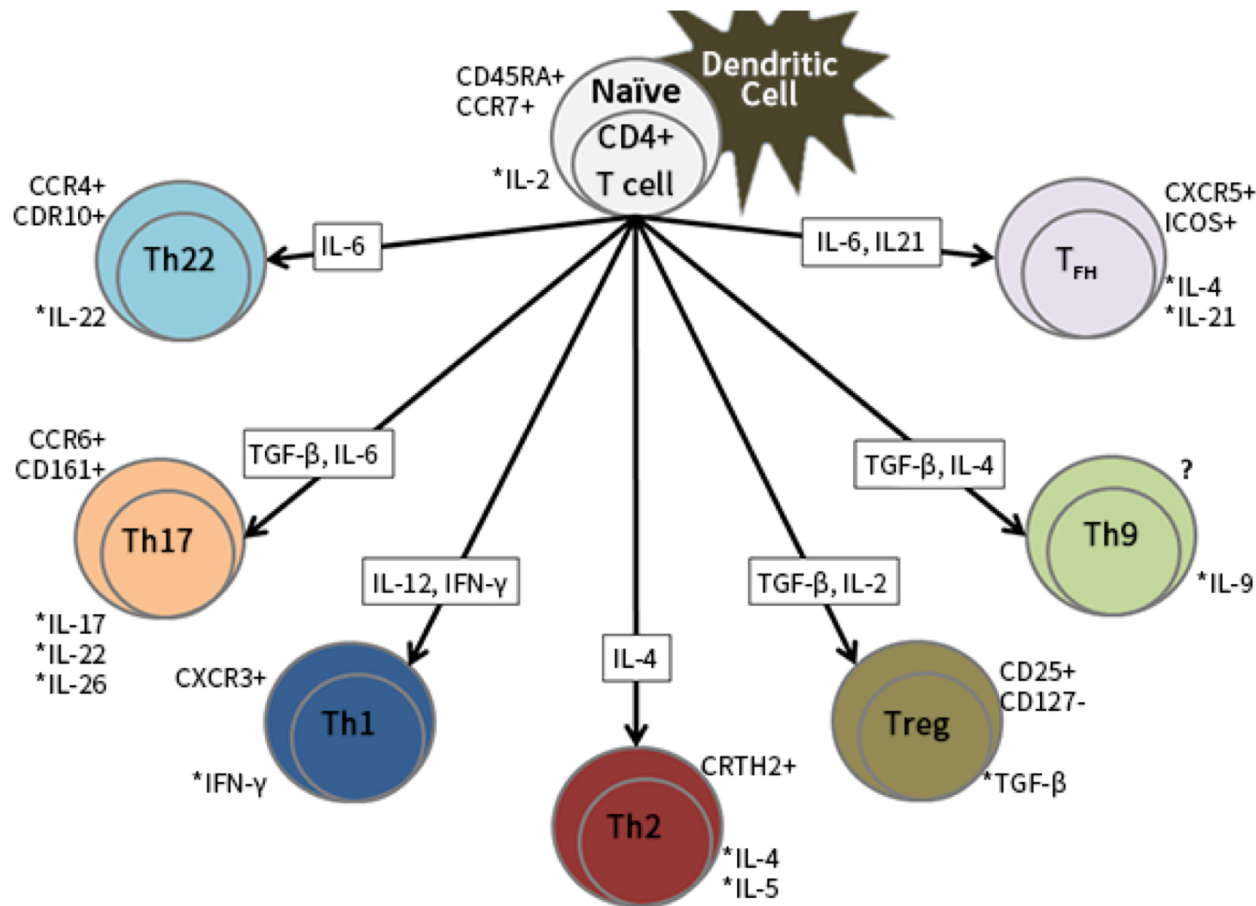


Codice OPIS 2024-25

5BFXX9D8

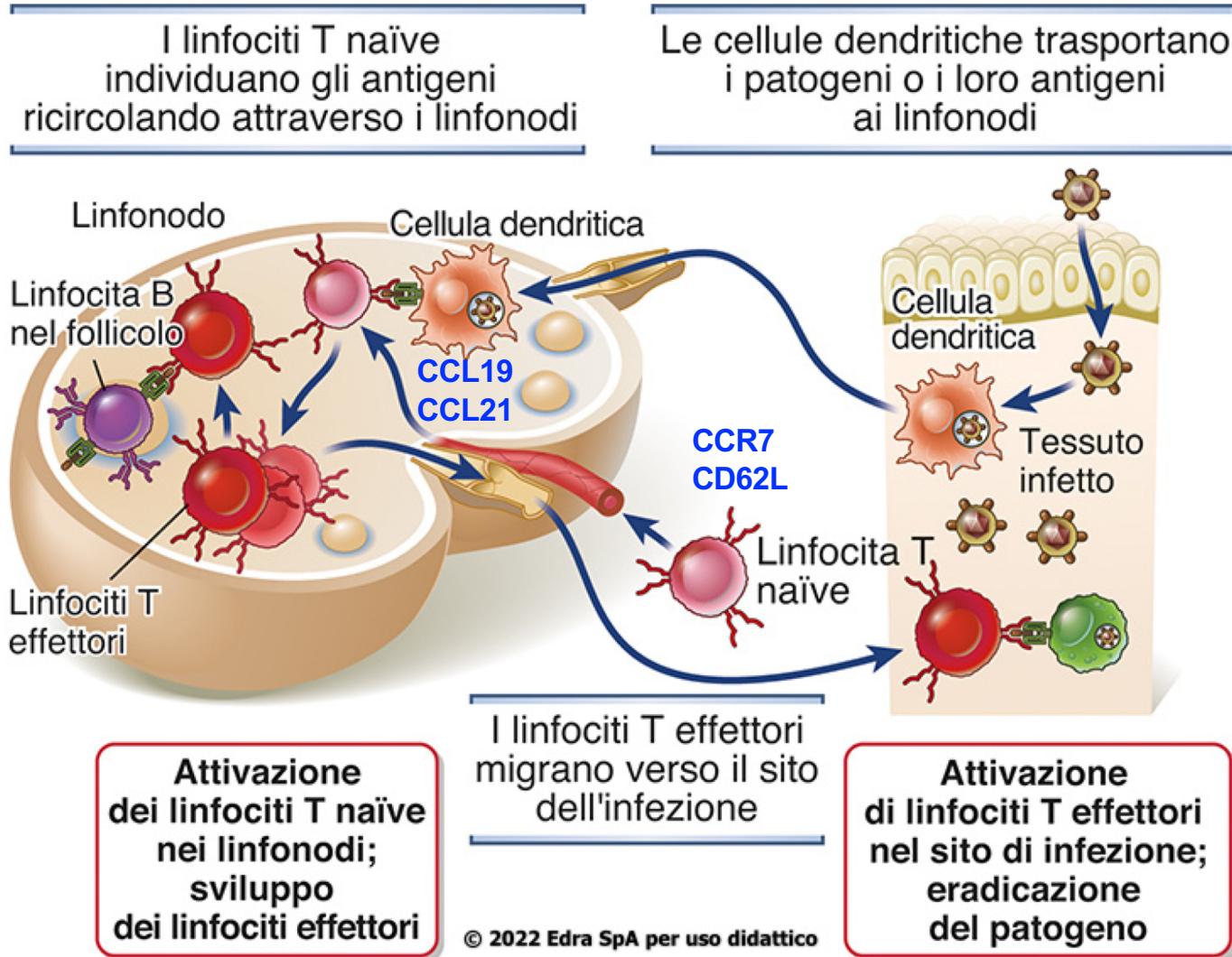
**MECCANISMI CELLULARI E MOLECOLARI
DELLA RISPOSTA IMMUNE (1047783)**

SCIENZE BIOLOGICHE (30857)



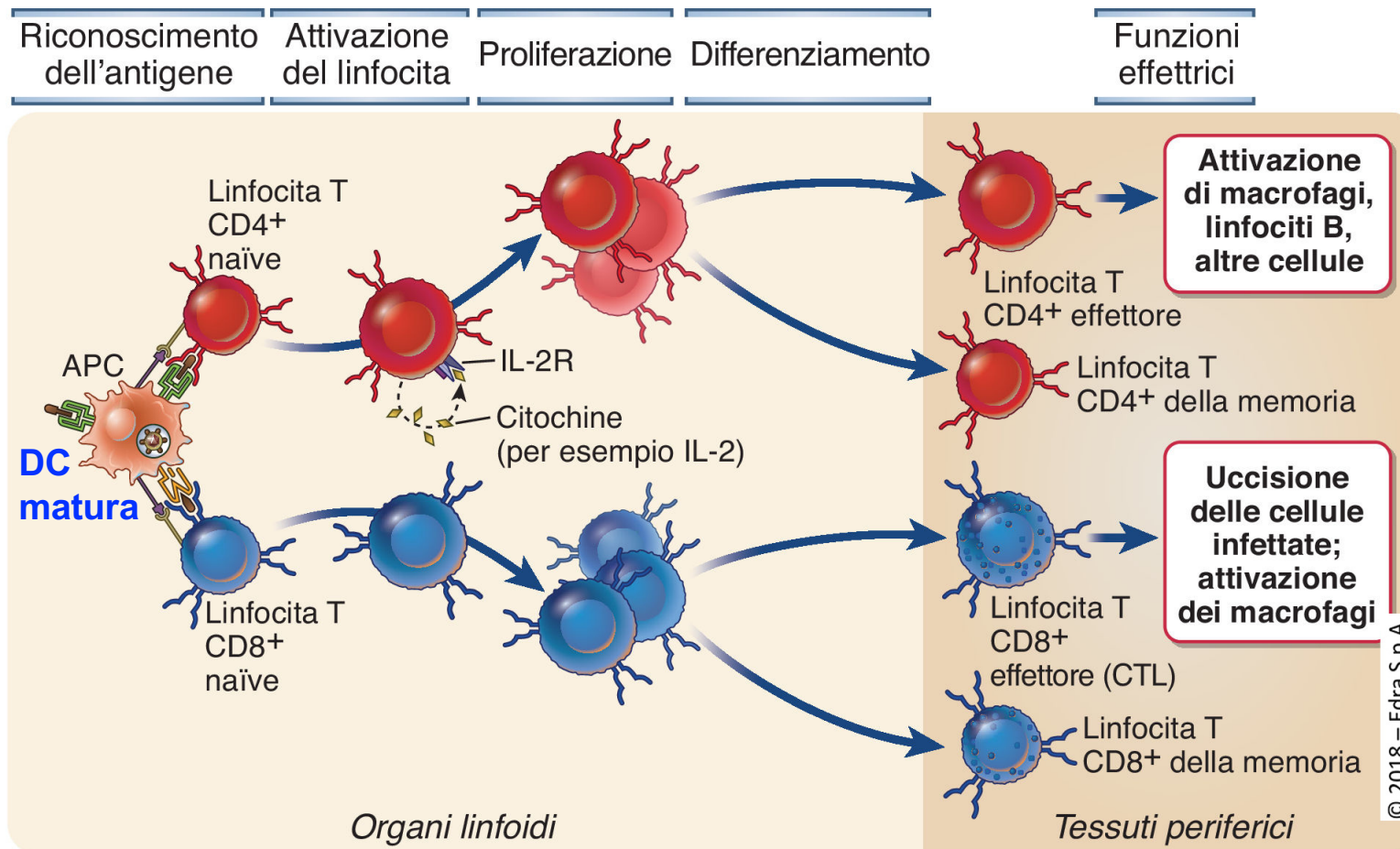
**Differenziamento dei linfociti T
e specificità delle
risposte immunitarie cellulo-mediate**

Attivazione dei linfociti T



Attivazione dei linfociti T naïve ed effettori. Le cellule dendritiche trasportano gli antigeni ai linfonodi dove vengono riconosciuti dai linfociti T naïve. I linfociti T attivati si differenziano in **linfociti effettori** e possono **rimanere negli organi linfoidi** per stimolare, a loro volta, l'attivazione dei linfociti B, oppure **migrare nei siti di infezione**, dove i linfociti effettori vengono stimolati nuovamente dagli antigeni e svolgono le loro funzioni effettrici, tra cui l'attivazione dei macrofagi.

Attivazione linfociti T



Sequenza dei fenomeni coinvolti nella risposta dei linfociti T. Il riconoscimento dell'antigene da parte dei linfociti T attiva la secrezione di citochine (per esempio l'IL-2), specialmente da parte dei linfociti T CD4+. Tali citochine, agendo in modo autocrino, inducono l'espansione clonale e il differenziamento dei linfociti T in cellule effettrici o della memoria. Nella fase effettrice della risposta, i linfociti T CD4+ effettrici rispondono all'antigene producendo citochine dotate di numerose funzioni, quali il reclutamento e l'attivazione dei leucociti e l'attivazione dei linfociti B.

I meccanismi effettrici dei linfociti CD8+ citotossici (CTL) consistono nell'eliminare le cellule infettate e nel produrre citochine infiammatorie.

Regolazione dell'espressione IL-2 e IL-2R

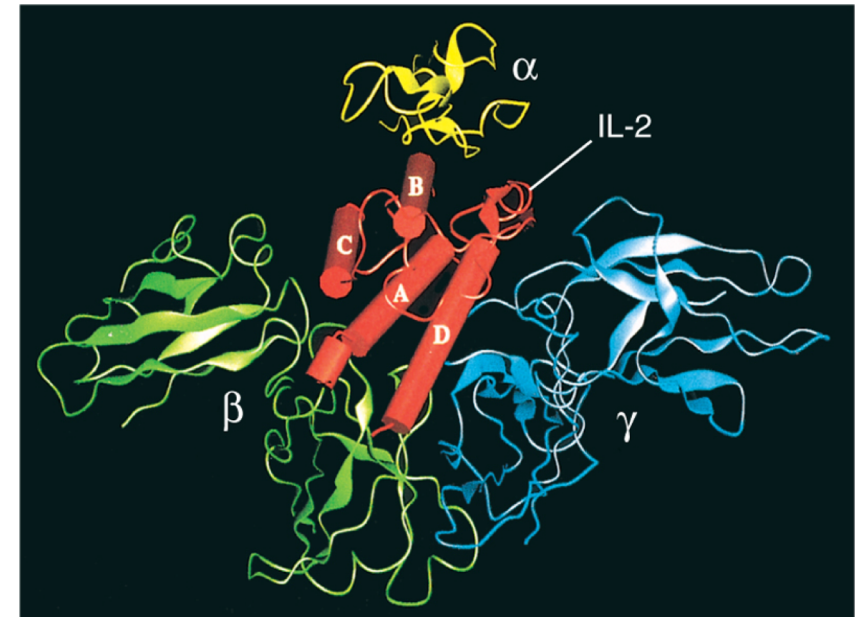
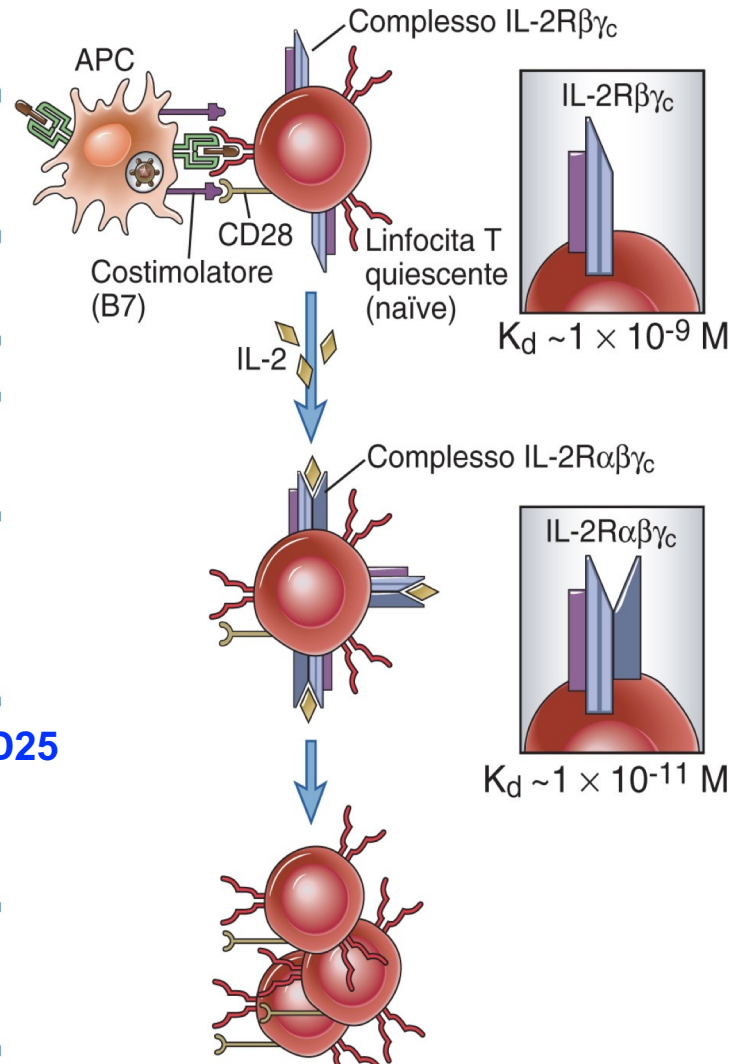
Attivazione dei linfociti T da parte dell'antigene e di molecole costimolatorie

Secrezione di IL-2

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

Catena α del IL2R o CD25

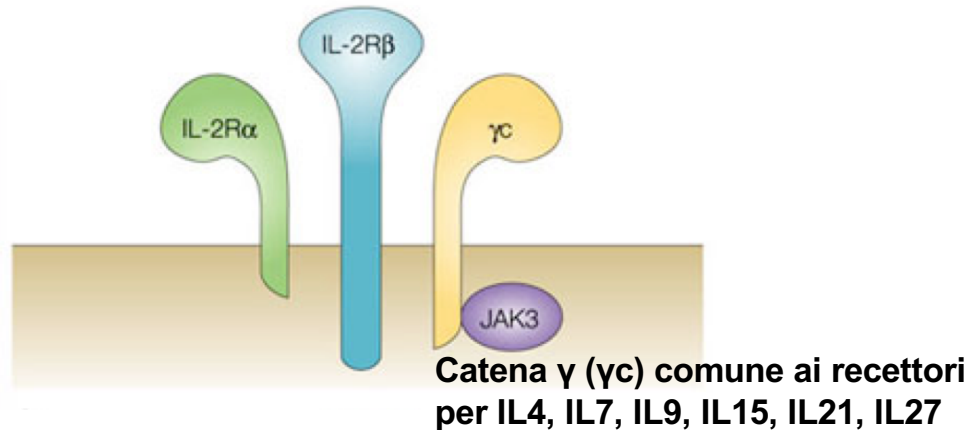
Proliferazione dei linfociti T indotta da IL-2



IL2: proteina globulare (14-17 kD) con 4 domini ad α -elica

- **Prodotta dai linfociti T CD4⁺ (CD8⁺)** in seguito al riconoscimento dei complessi **peptide-MHC II** (MHC I) e **CD28/B7**
- Produzione transitoria con picco di secrezione intorno alle **8-12 ore**
- Secreta a livello della **sinapsi immunologica** dove vanno anche a concentrarsi i recettori
- Stimolazione **autocrina** e **paracrina**

Trasduzione del segnale via IL-2R

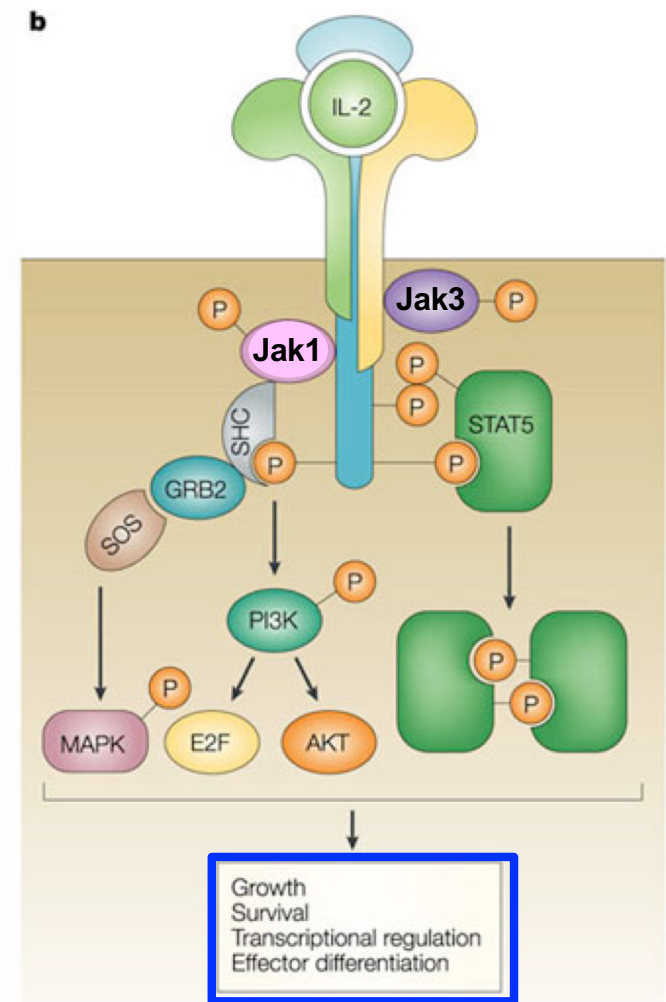


The high-affinity interleukin-2 receptor (IL-2R) consists of **three subunits**:

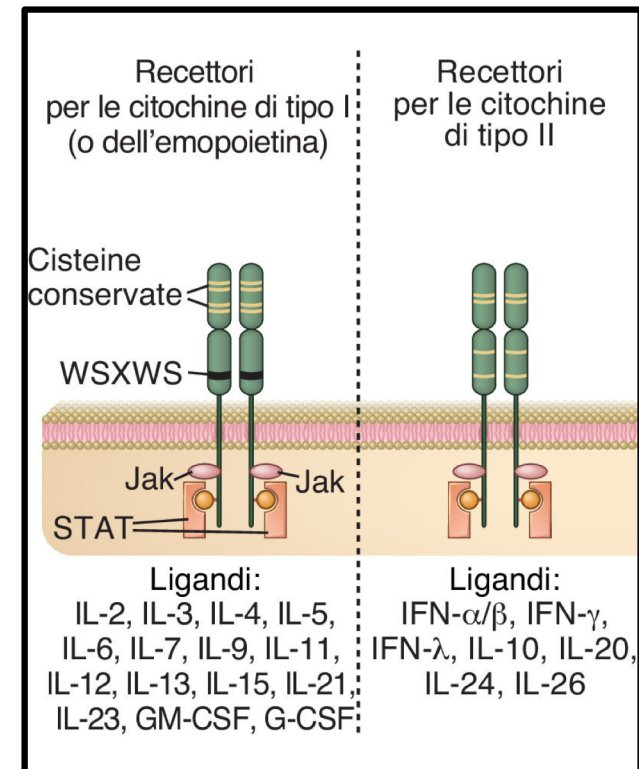
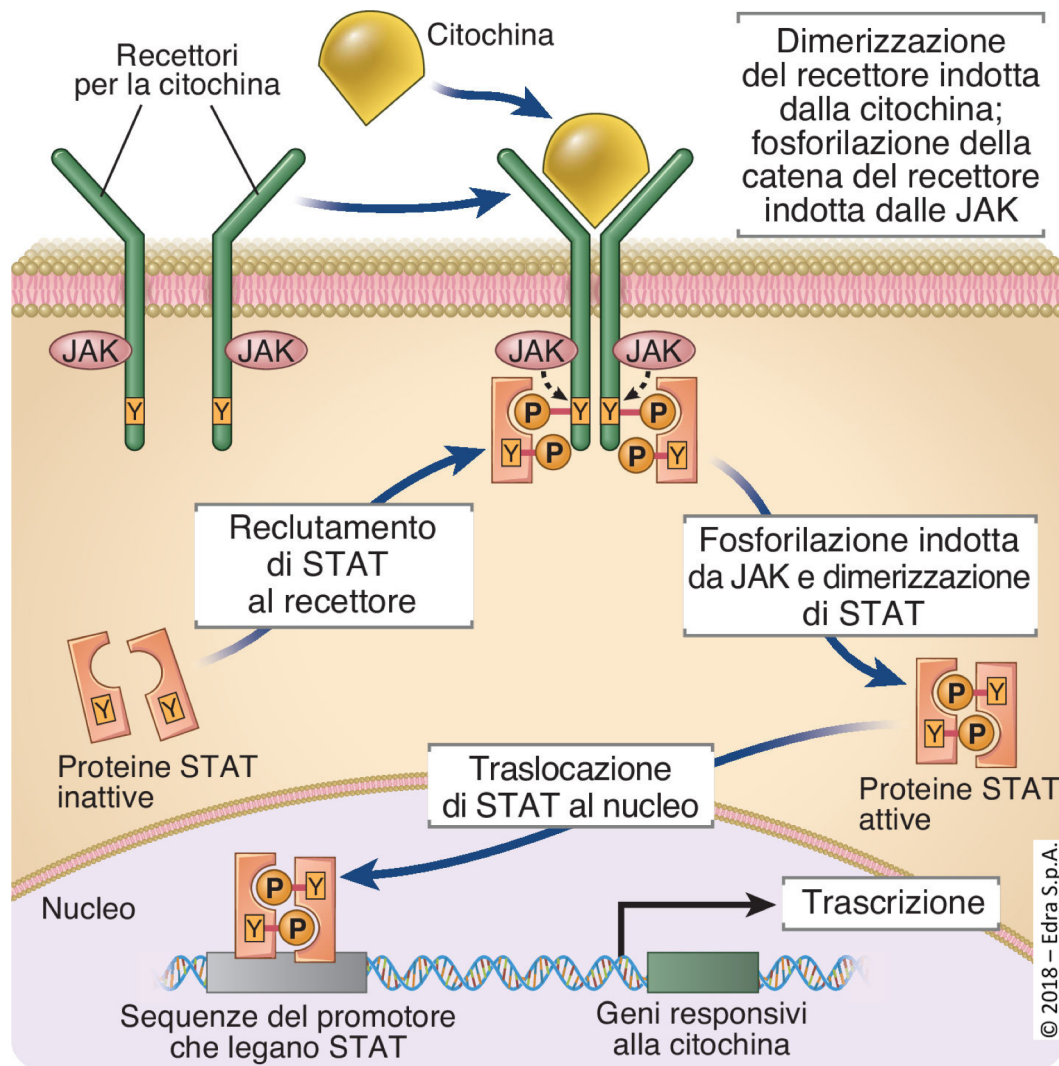
1. the **α -chain** of the IL-2R (IL-2R α ; also known as CD25),
2. the **β -chain** of the IL-2R (IL-2R β ; also known as CD122)
3. the common cytokine-receptor **γ -chain** (γ c; also known as CD132).

It is thought that in the absence of IL-2, these subunits are not pre-assembled on the surface of an IL-2R-expressing T cell.

The **binding of IL-2** to **IL-2R α** drives the association of this subunit with **IL-2R β** and the **γ c** to form a stable heterotrimer, which then leads to the initiation of signal transduction. JAK3 molecules that are associated with the γ c, and JAK1 molecules that are associated with IL-2R β , phosphorylate key tyrosine residues in the cytoplasmic tail of IL-2R β , the γ c and the JAK molecules themselves. This amplifies the association of these tyrosine kinases and induces the association of the adaptor SHC (SRC-homology-2-domain-containing transforming protein C), and STAT5 with the cytoplasmic tail of IL-2R β . The complexed SHC allows activation of the mitogen-activated protein kinase (MAPK)- and phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)-AKT-signalling pathways. Tyrosine residues in STAT5 are also phosphorylated, leading to the dimerization of STAT5 and its translocation to the nucleus where it regulates STAT5-responsive genes. GRB2, growth-factor-receptor-bound protein 2; SOS, son of sevenless homologue.



Meccanismi di trasduzione dei recettori per citochine di tipo I e II : la via JAK/STAT

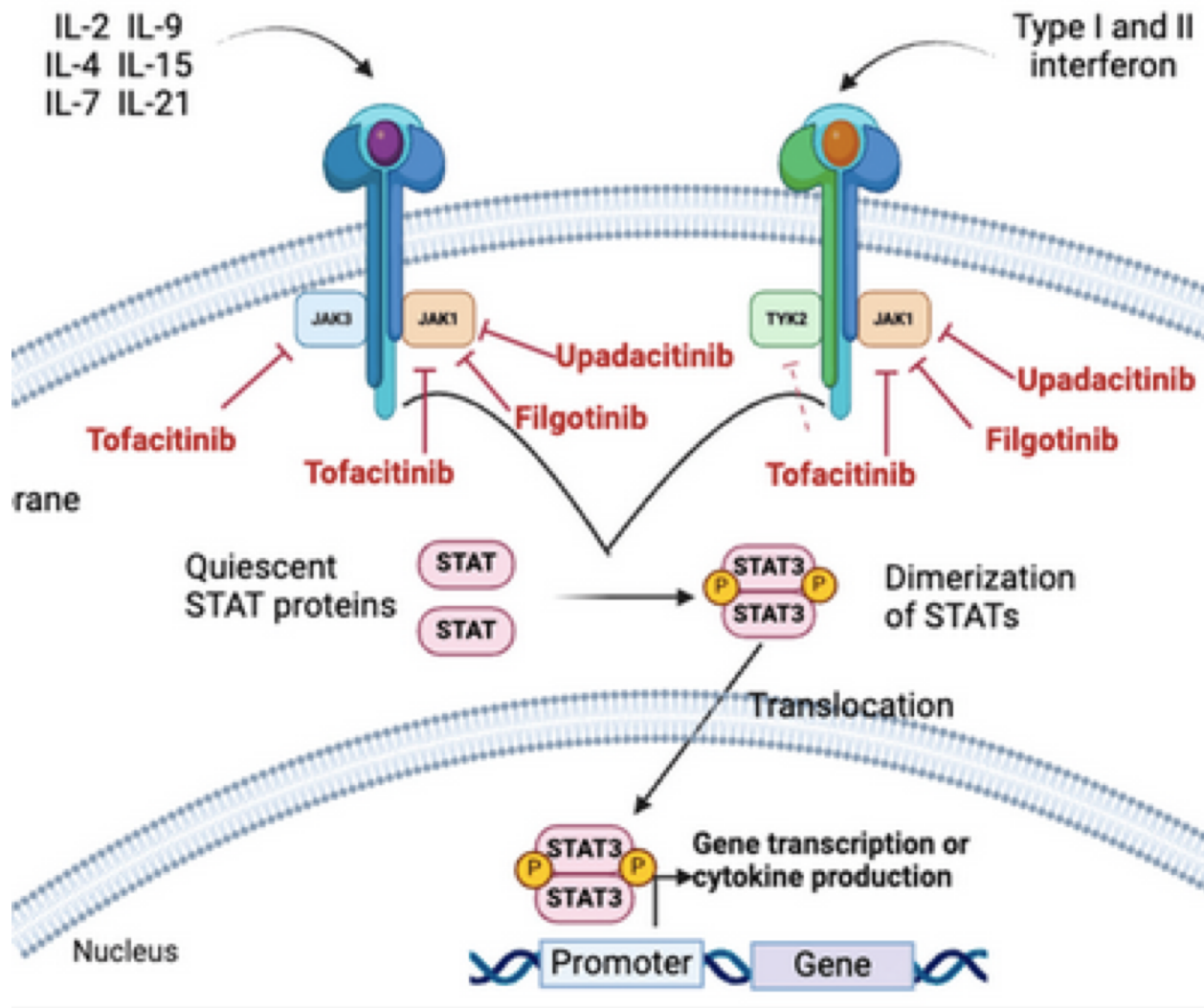


JAK (Janus activated kinase; **tyr chinasi**): **Jak 1, 2, 3 e Tyk2**

STAT (signal transducer and activator of transcription; **fattori di trascrizione**):

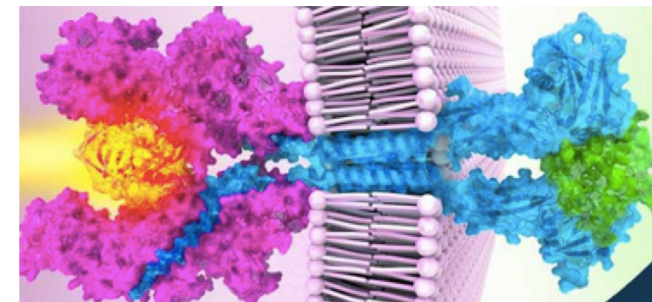
STAT 1, 2, 3, 4, 5a, 5b e 6

Gli inibitori di JAK nella terapia di numerose malattie

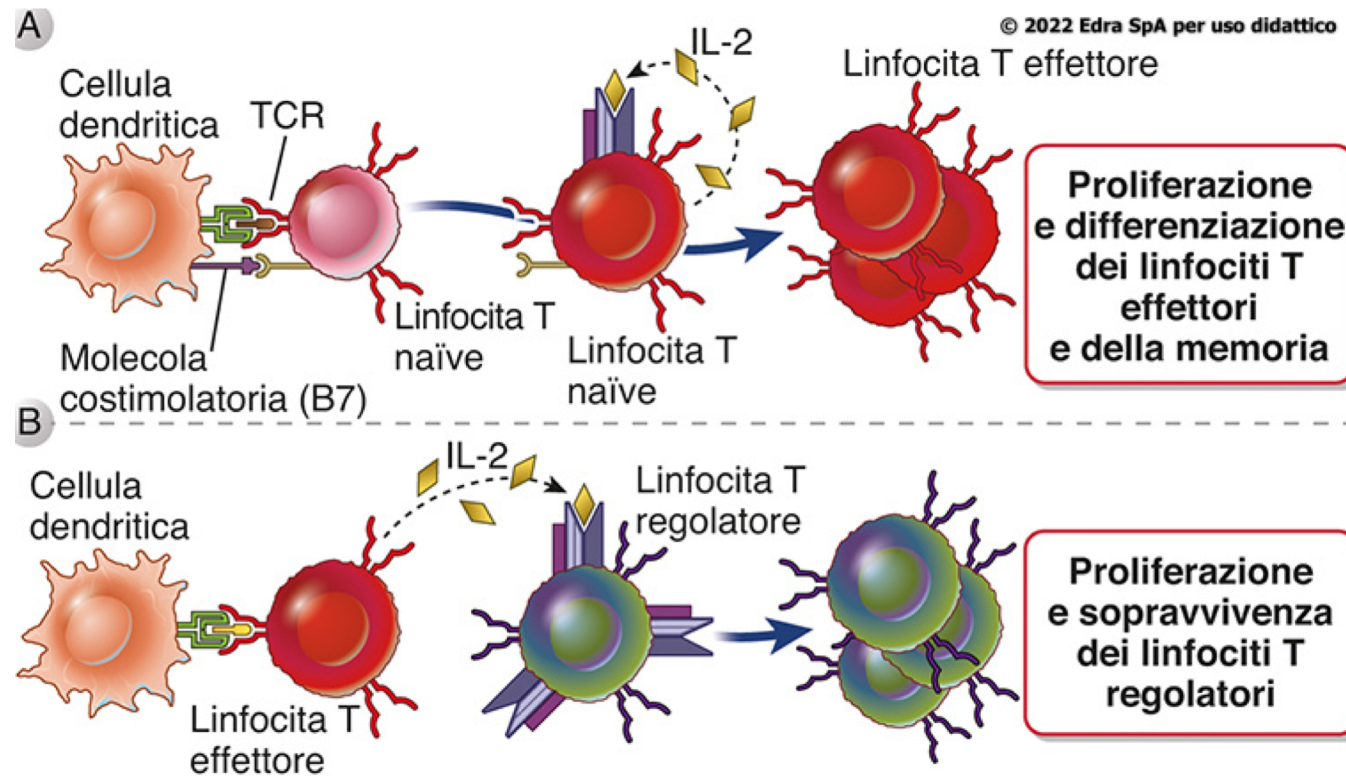


Gli inibitori di JAK sono utilizzati per trattare le seguenti patologie immuno-mediate (disturbi infiammatori cronici):

- Artrite reumatoide,
- Artrite psoriasica,
- Artrite idiopatica giovanile,
- Spondiloartrite assiale,
- Colite ulcerosa,
- Dermatite atopica
- Alopecia areata.



Attività biologiche dell'IL-2

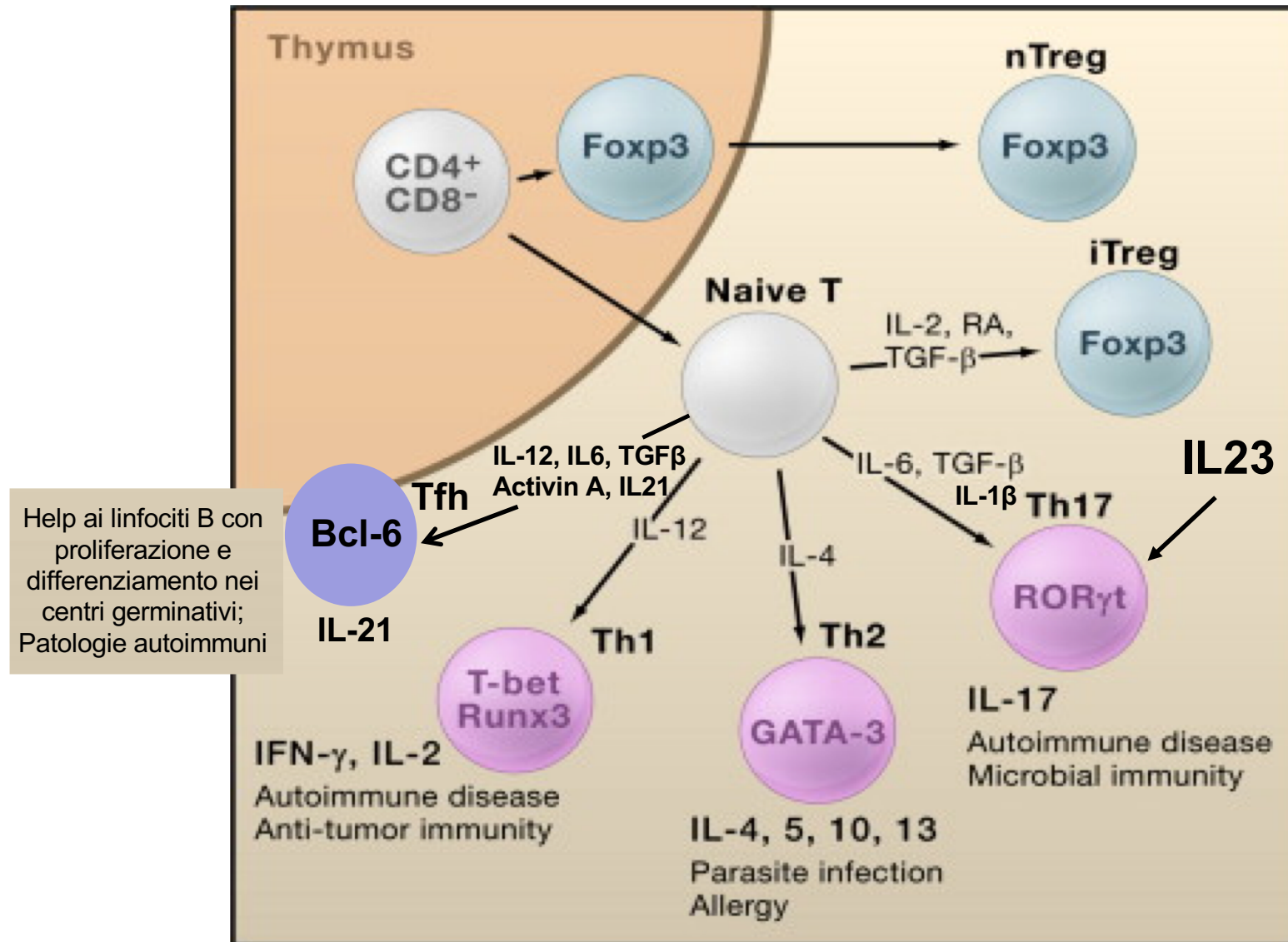


➤ Proliferazione, sopravvivenza e differenziamento dei linfociti T:

- espressione delle **ciclina** e **degradazione di p27** (entrata in fase S);
- espressione **Bcl-2**;
- aumenta la produzione di citochine effettrici (es. **IFN- γ** e **IL-4**)

➤ Sopravvivenza e funzione dei linfociti T regolatori (T_{reg}): che esprimono il **CD25** in maniera costitutiva

Il differenziamento dei linfociti T CD4+ 'naive' a cellule effettrici con funzioni distinte è indotto da condizioni specifiche

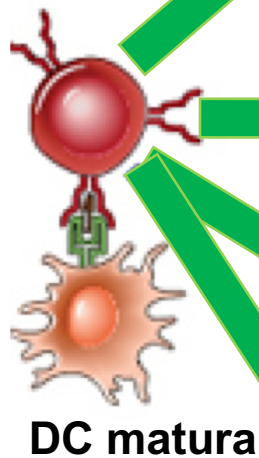


Differentiation of Naive CD4+ T Cells into Tregs or Effector T Cells. Cytokines and transcription factors that promote the differentiation of naive T cells into Tregs or effector T cells are shown. The transcription factors T-bet and Runx3, GATA3, ROR γ t or Bcl-6 are required for the differentiation of naive T cells into Th1, Th2, Th17 or Thf cells, respectively. nTreg, natural Treg; iTreg, induced Treg; RA, retinoic acid.

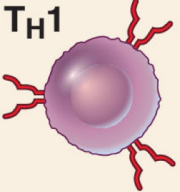
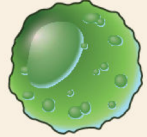
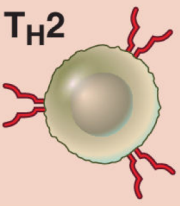

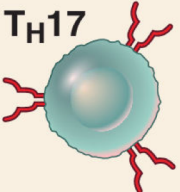
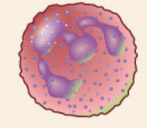
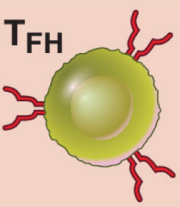
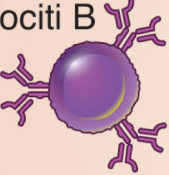
Differenziamento linfociti T CD4⁺

Sottopopolazioni di linfociti T CD4⁺: T_H1, T_H2, T_H17 e T_{FH}

Linfocita T CD4⁺ naive

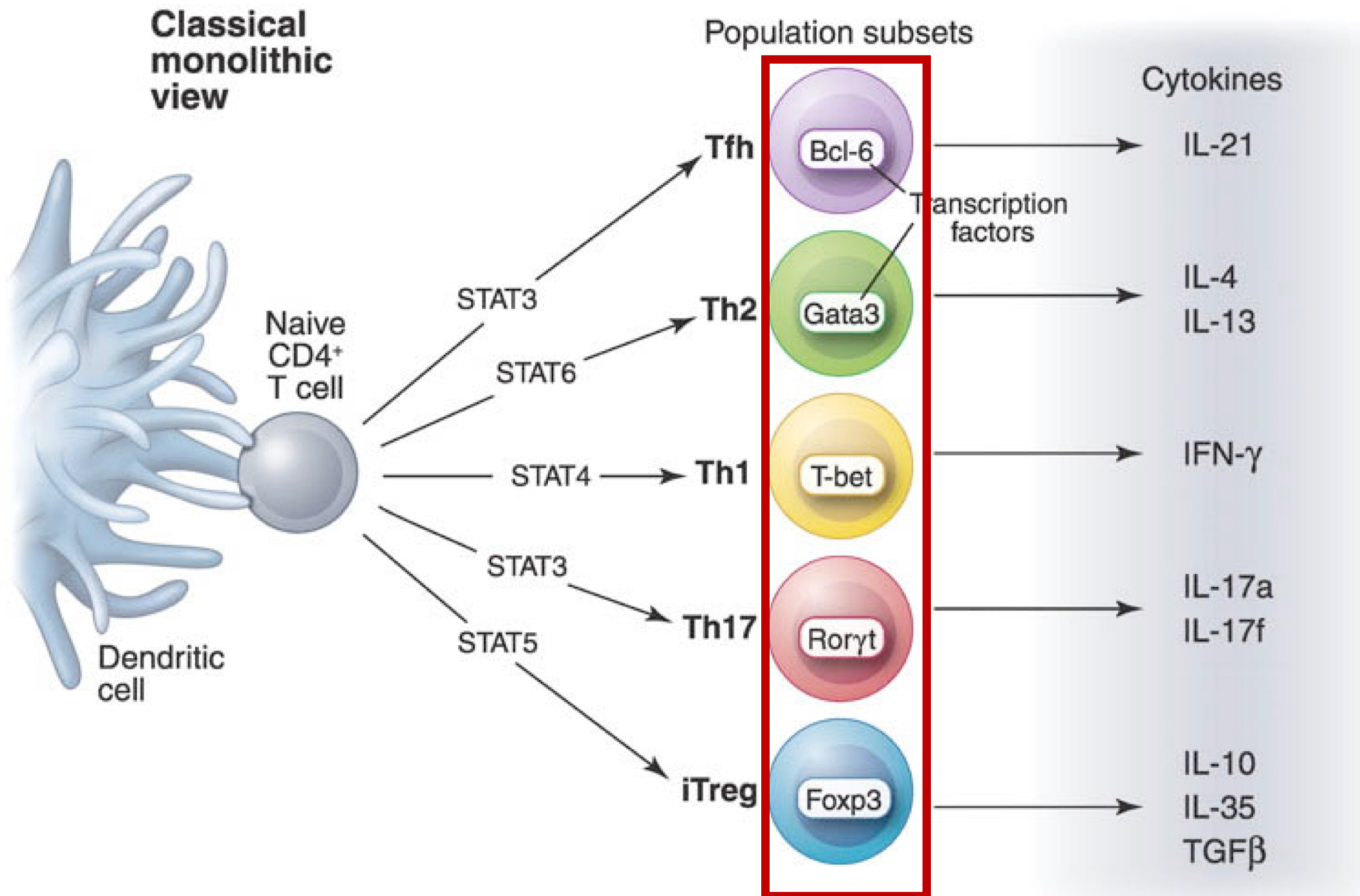


DC matura

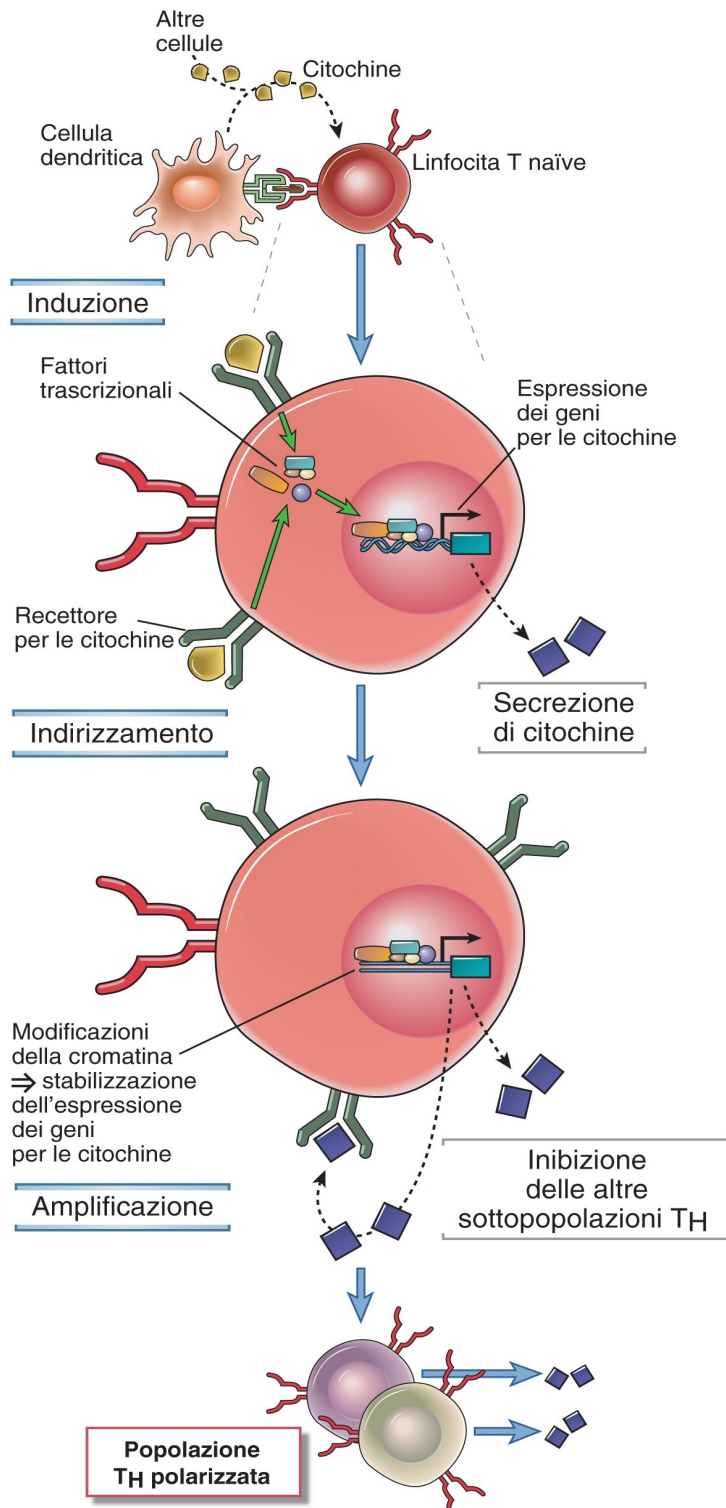
Linfociti T effettori	Citochine caratteristiche	Principali cellule bersaglio	Principali reazioni immunitarie	Difesa contro	Ruolo in patologia
 T_H1	IFN- γ	 Macrofagi	Attivazione dei macrofagi (M1)	Patogeni intracellulari	Autoimmunità; infiammazione cronica
 T_H2	IL-4 IL-5 IL-13	 Eosinofili	Attivazione degli eosinofili e dei mastociti; attivazione alternativa dei macrofagi (M2)	Elminti	Allergia
 T_H17	IL-17 IL-22	 Neutrofili	Reclutamento e attivazione dei neutrofili	Batteri extracellulari e funghi	Autoimmunità; infiammazione
 T_{FH}	IL-21 (e IFN- γ o IL-4)	 Linfociti B	Produzione di anticorpi	Patogeni extracellulari	Autoimmunità (autoanticorpi)

Help ai linfociti B con proliferazione e differenziamento nei centri germinativi; induzione della maturazione dell'affinità degli anticorpi e scambio dell'isotipo

Fattori di trascrizione specifici (master regulators) dei subsets linfocitari T CD4+



Differenziamento o polarizzazione dei T helper



- 1. Induzione:** attivazione di fattori trascrizionali importanti per l'espressione dei geni delle citochine caratteristiche (ruolo del **TCR/CD28** e **citochine** prodotte nel microambiente circostante)
- 2. Indirizzamento (*commitment*):** modificazioni epigenetiche irreversibili dei geni espressi
- 3. Amplificazione:** le citochine prodotte promuovono lo sviluppo di una specifica popolazione Th **inibendo il differenziamento delle altre sottopopolazioni**

Linfociti T_H1

Indotti da **virus** e **batteri intracellulari** (**micobatteri** e **Listeria**) o **parassiti** come **Leishmania** che infettano macrofagi e DC.

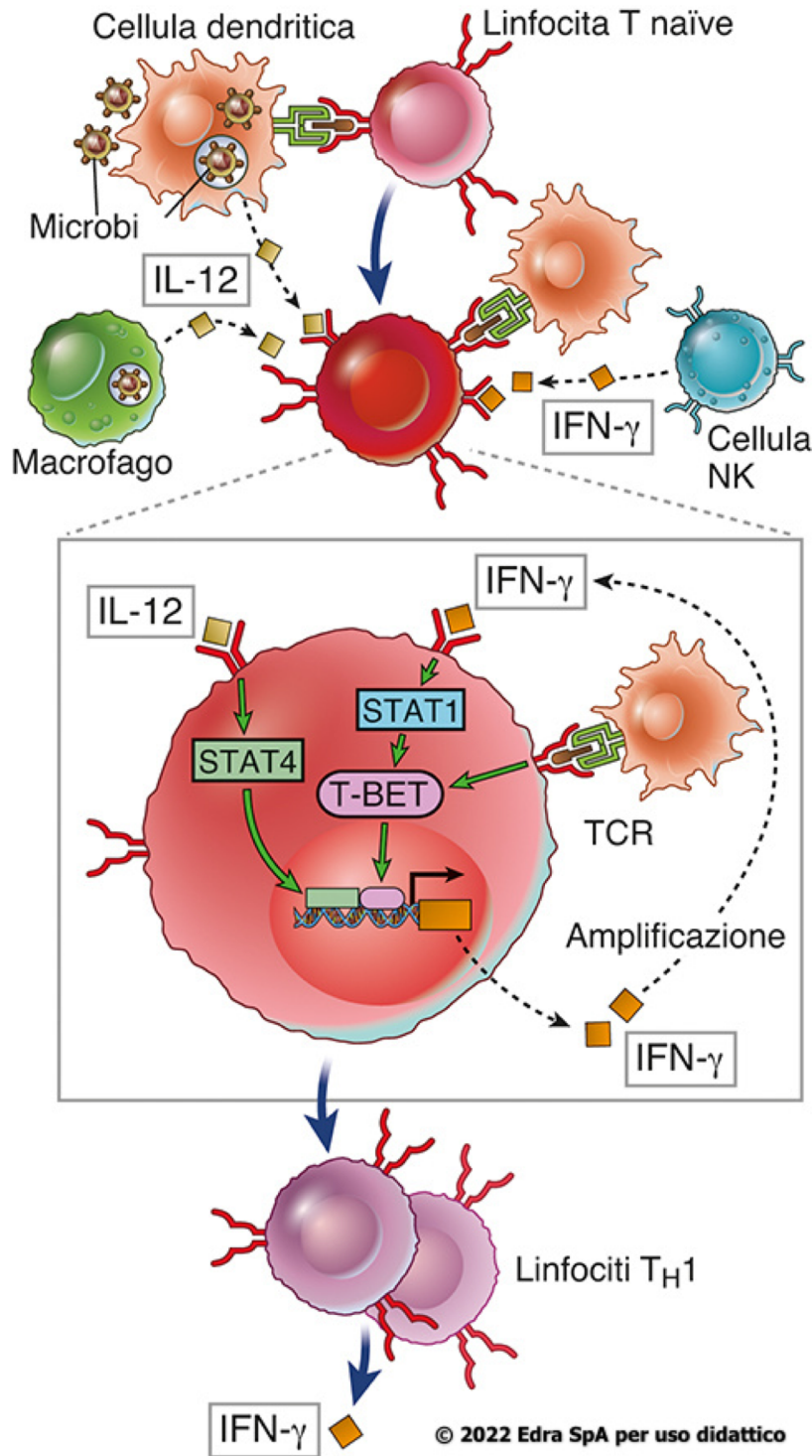
Citochine differenzianti: IL12, IFN- γ , IFN tipo I e IL18

IL12 \rightarrow STAT4 \rightarrow T-bet e IFN- γ

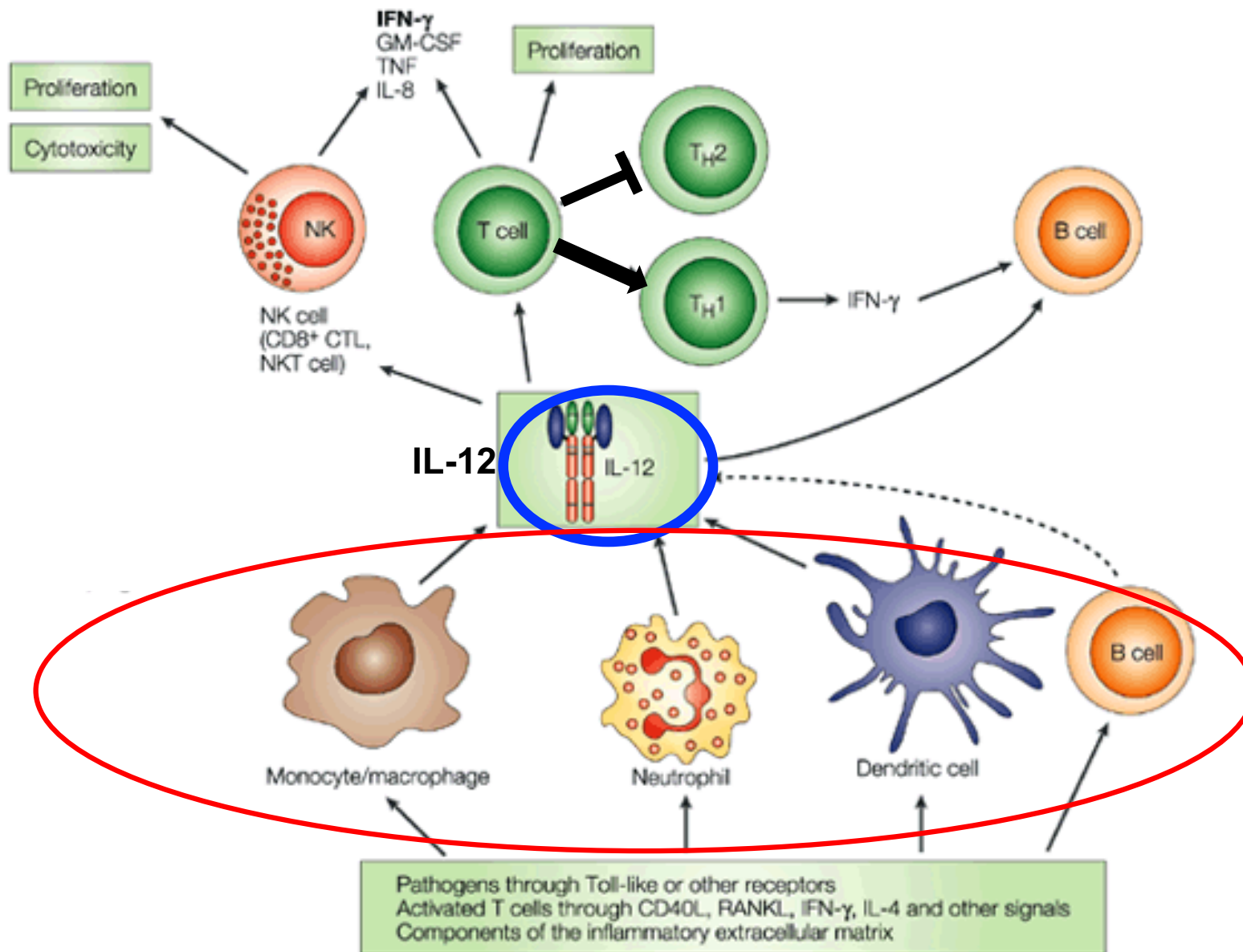
IFN- γ \rightarrow STAT1 \rightarrow T-bet

T-bet: fattore di trascrizione della famiglia T-box

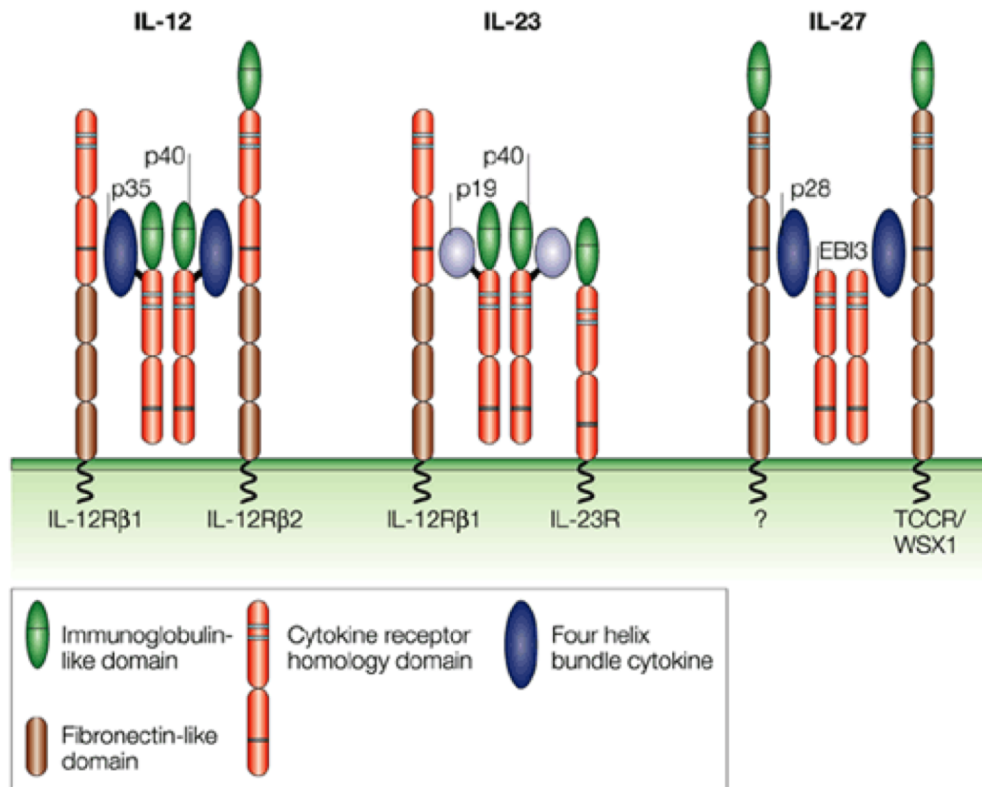
Coinvolti nella patogenesi di malattie infiammatorie croniche ed autoimmuni (Diabete di tipo I, psoriasi, sclerosi multipla, malattie infiammatorie croniche dell'intestino)



IL-12 nel differenziamento Th1

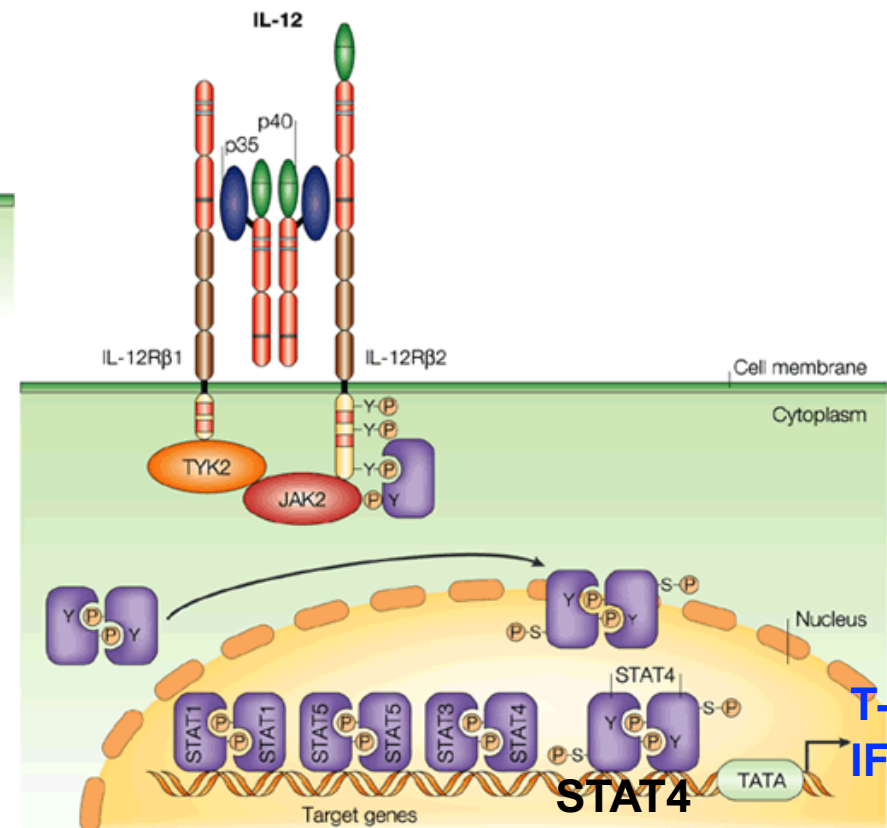


IL12: citochina di tipo I,
eterodimero **p35 e p40**



Nature Reviews | Immunology

IL12R (Recettore di tipo I)



Nature Reviews | Immunology

I linfociti Th1 producono IFN γ

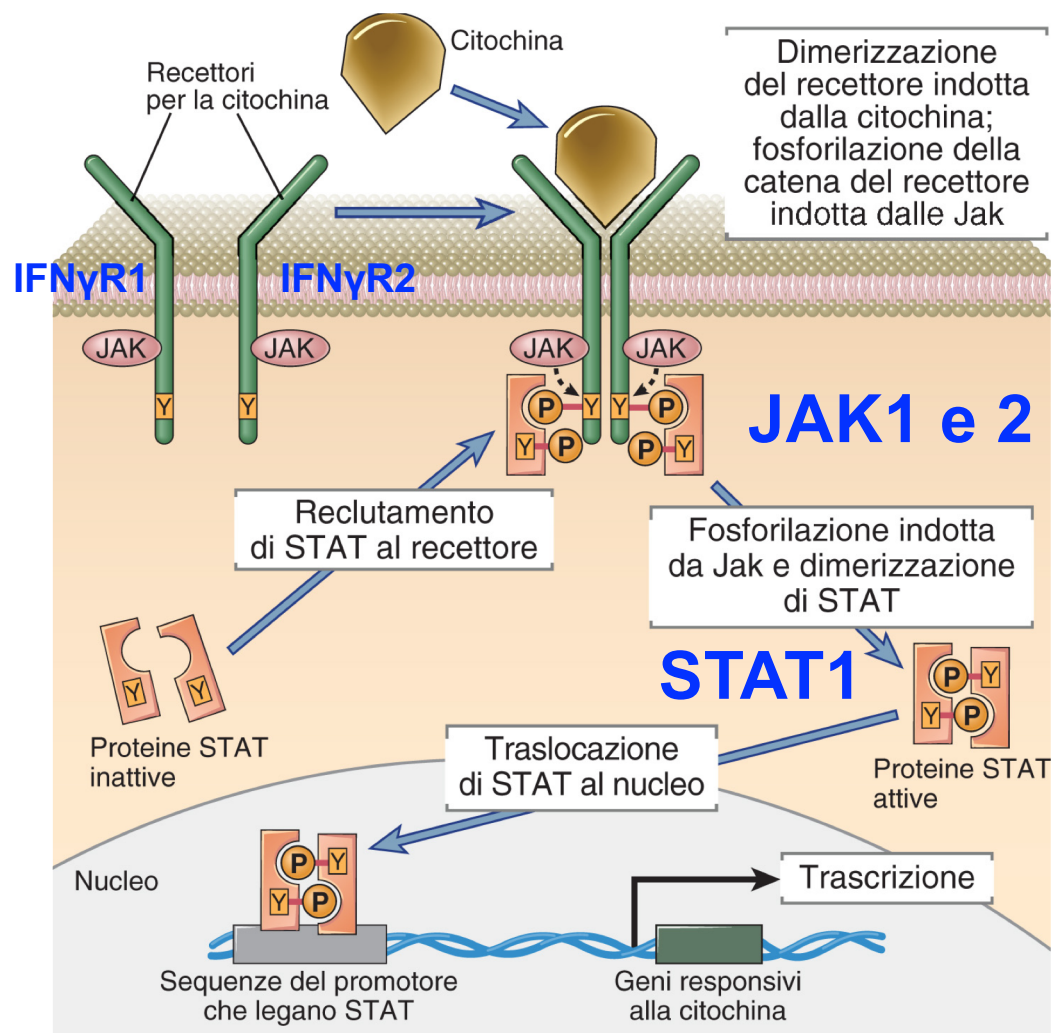
IFN γ è una citochina prodotta anche da:
Linfociti T CD8⁺
Cellule NK

Il recettore è costituito dalle catene
IFN γ R1 e IFN γ R2 che
eterodimerizzano quando IFN γ si
lega ed attivano
Jak1 e 2.

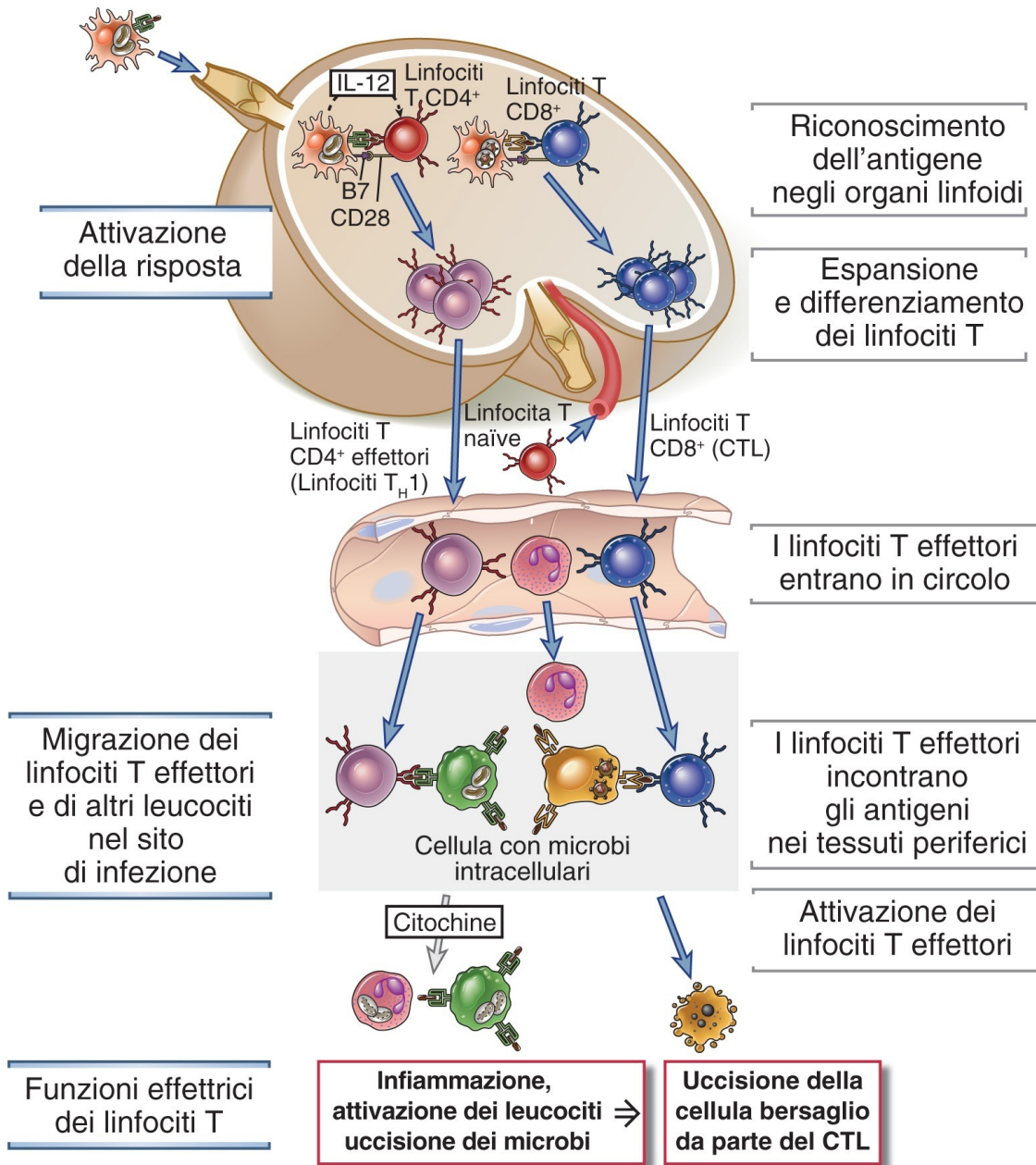
STAT1 è reclutato, fosforilato,
dimerizza e trasloca nel nucleo.

Tra i geni Indotti da STAT1:
-CXCR3 (ligandi: CXCL9, 10 e 11)

-CCR5 (ligandi: (MIP1 α e β ;
RANTES ovvero CCL3, 4 e 5)



T_H1 e reclutamento nei siti infiammatori

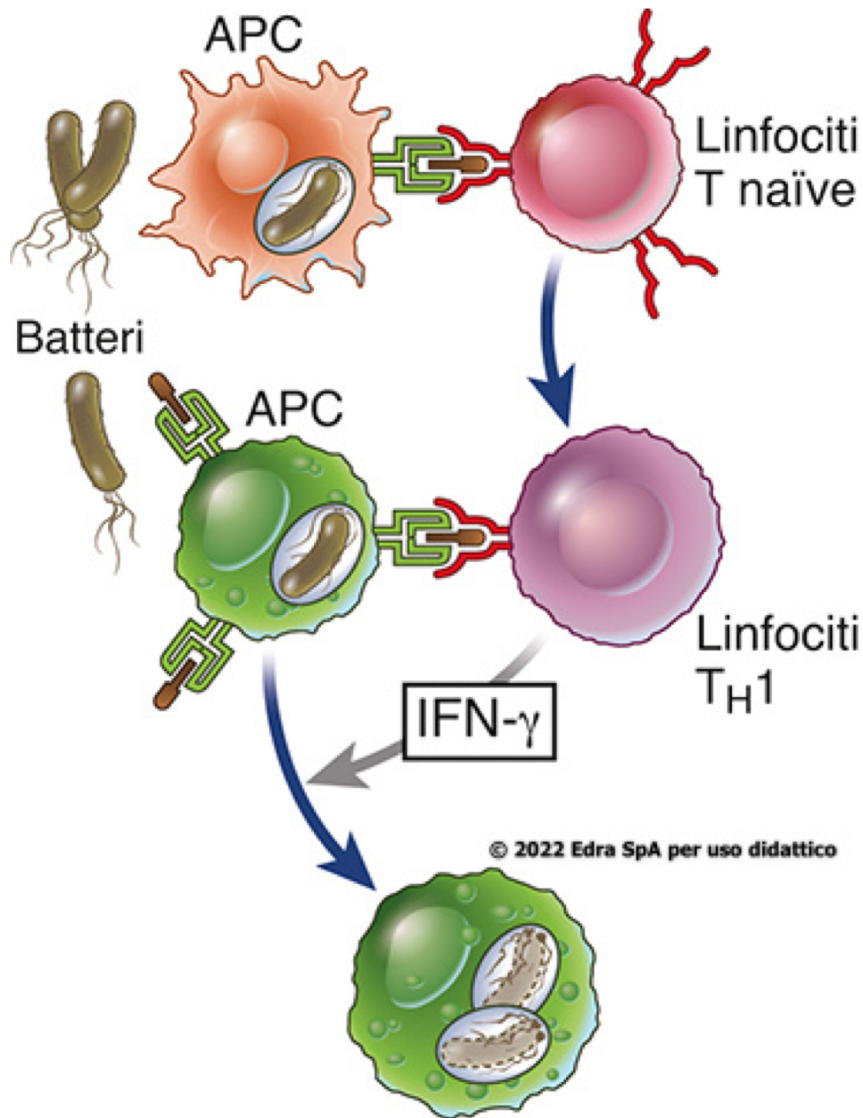


- **Reclutamento:** La produzione delle chemochine:

CXCL9, 10, 11 (ligandi di CXCR3) e MIP1 α e β ; RANTES (ligandi di CCR5) da parte di macrofagi, NK e cellule endoteliali (**forte risposta innata**) recluta i T_H1 (non i T_H2) che esprimono CXCR3 e CCR5 che vengono così richiamati nel sito infiammatorio.

- **Extravasazione** e permanenza nel sito infiammato perchè VLA-4, VLA-5 legano la fibronectina e CD44 lega l'acido ialuronico nella matrice extracellulare.

Funzioni dei T_H1



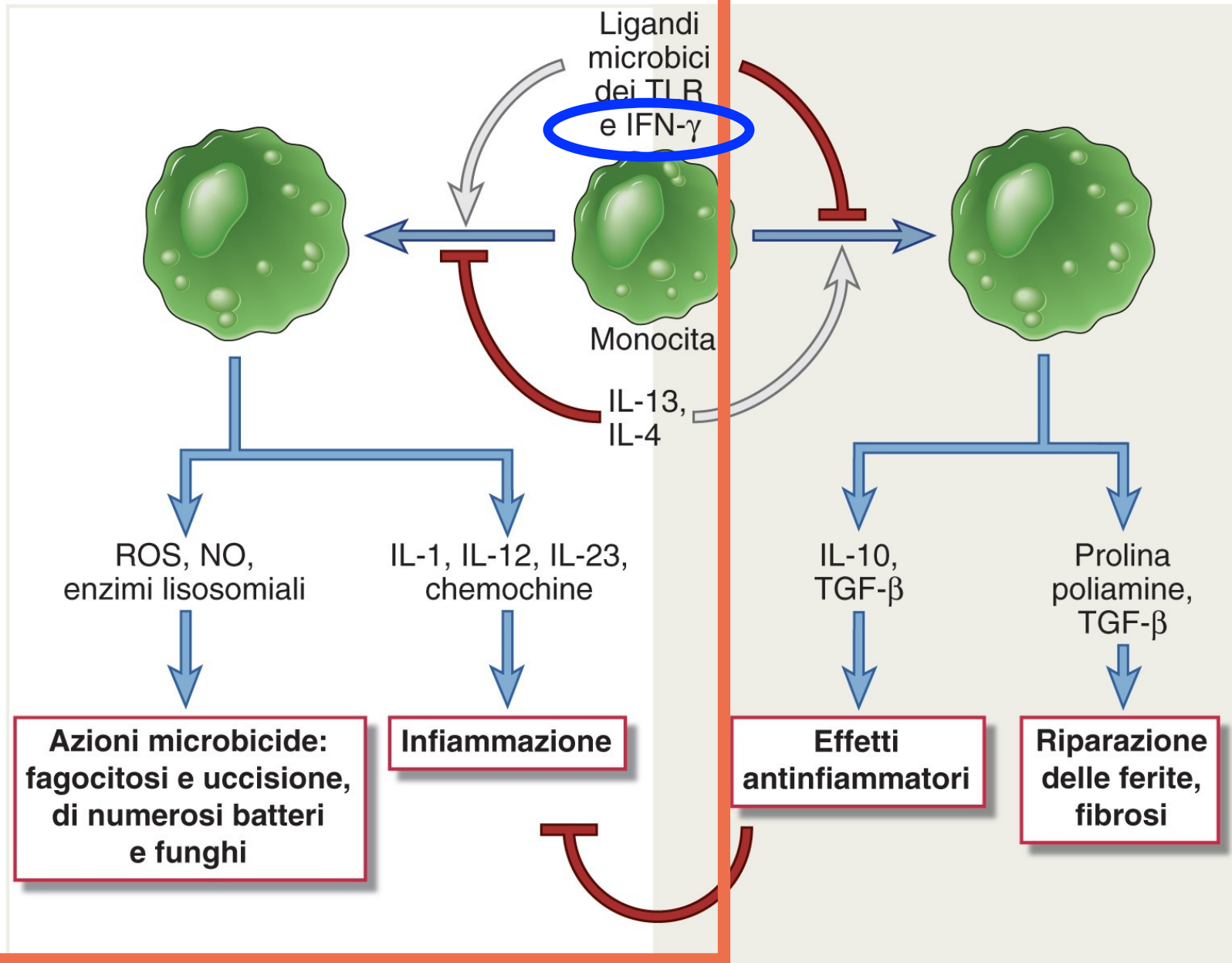
**Attivazione classica
dei macrofagi (potenziamento
dell'attività microbica)**

IFN-γ:

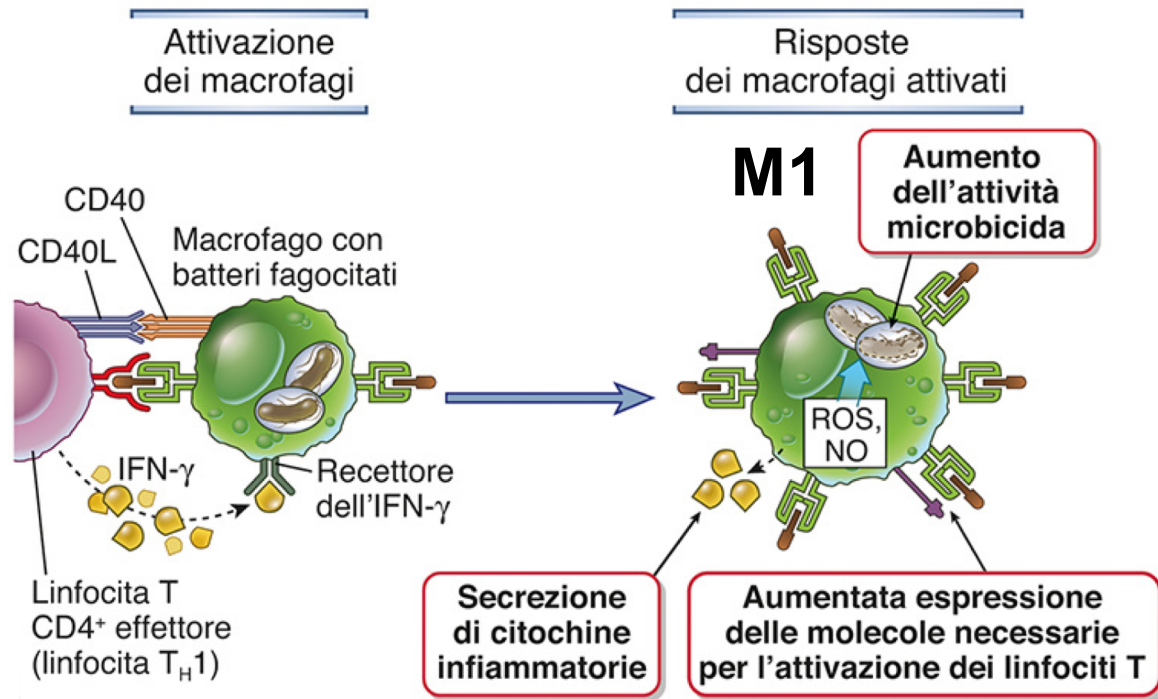
- induce **attivazione classica dei macrofagi (M1)** che eliminano i microbi fagocitati
- induce macrofagi e DC a produrre citochine e chemochine che amplificano la risposta infiammatoria (TNF-α; IL-6)
- promuove differenziazione dei linfociti T CD4+ a Th1 inibendo lo sviluppo dei Th2 e Th17
- stimola l'espressione di molecole coinvolte nella presentazione antigenica (MHC; B7 e subunità del proteasoma)

Attivazione classica
dei macrofagi (M1)

Attivazione alternativa
dei macrofagi (M2)



Attivazione classica dei macrofagi da parte dei T_H1



Risposta dei macrofagi	Ruolo nell'immunità cellulo-mediata
Produzione di ossido nitrico, produzione di enzimi lisosomiali, specie reattive dell'ossigeno	Uccisione dei microbi nei fagolisosomi (funzione effettrice dei macrofagi)
Secrezione delle citochine (TNF, IL-1, IL-12) e delle chemochine	TNF, IL-1, chemochine: reclutamento dei leucociti (infiammazione) IL-12: differenziazione dei linfociti T _H 1, produzione dell'IFN-γ
Aumentata espressione delle molecole costimolatorie B7, delle molecole MHC	Aumentata attivazione dei linfociti T (amplificazione della risposta T)

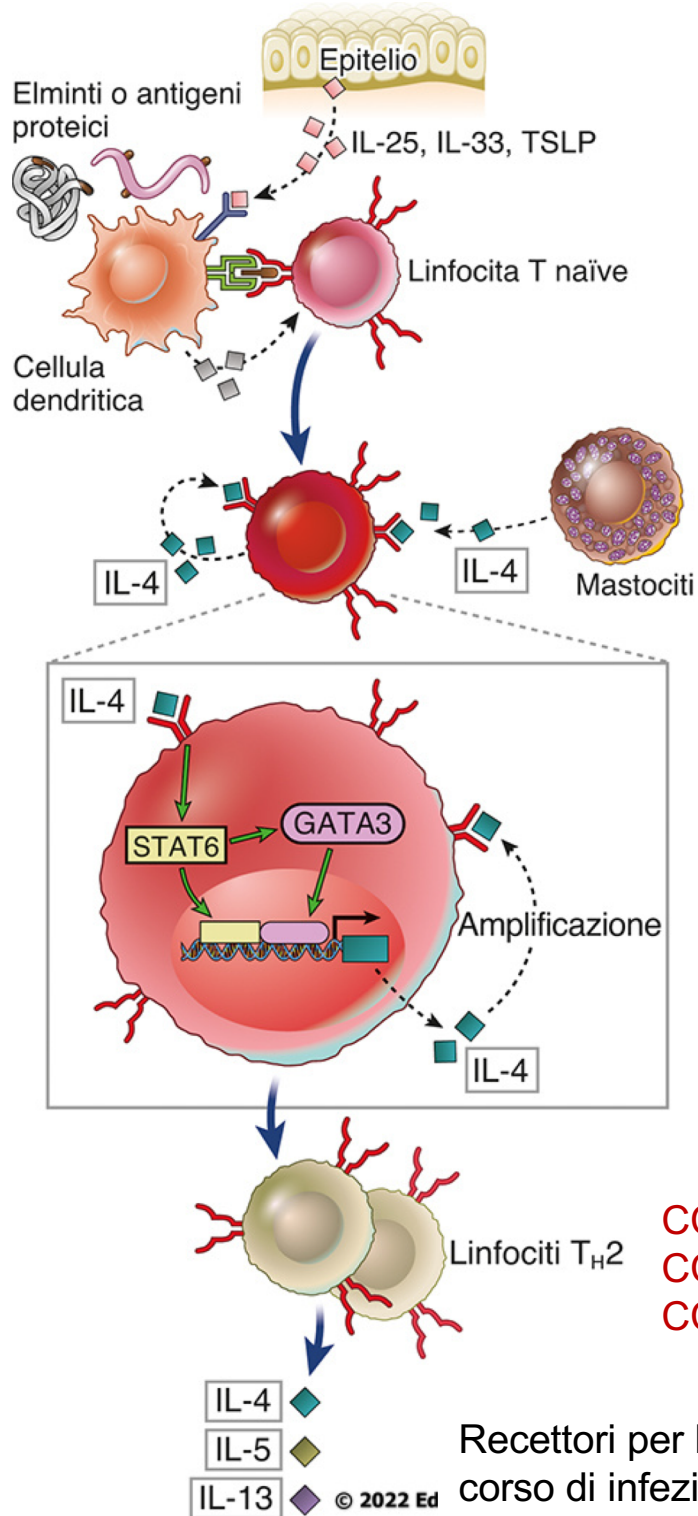
Linfociti T_H2

Indotti da **elminti** o **allergeni**

IL-4 → **STAT6** → **GATA3**

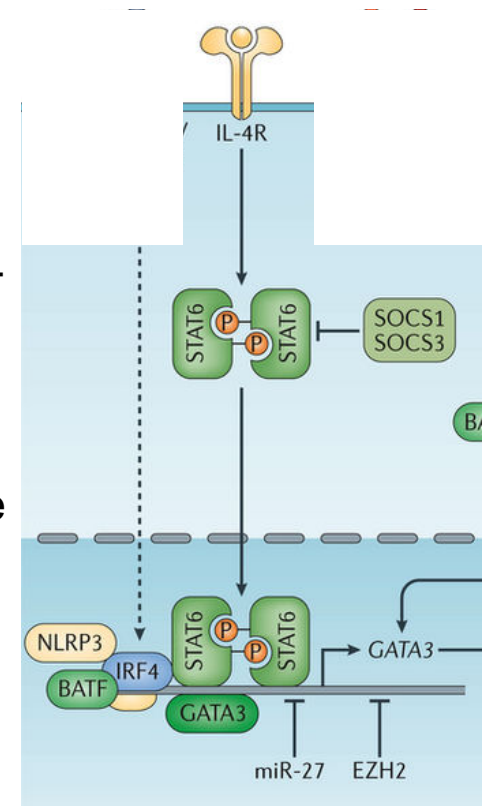
GATA3 → **IL-4, IL-5, IL-13**

GATA3 inibisce l'espressione del IL-12R e perciò blocca il differenziamento a T_H1 e la produzione di IFN- γ

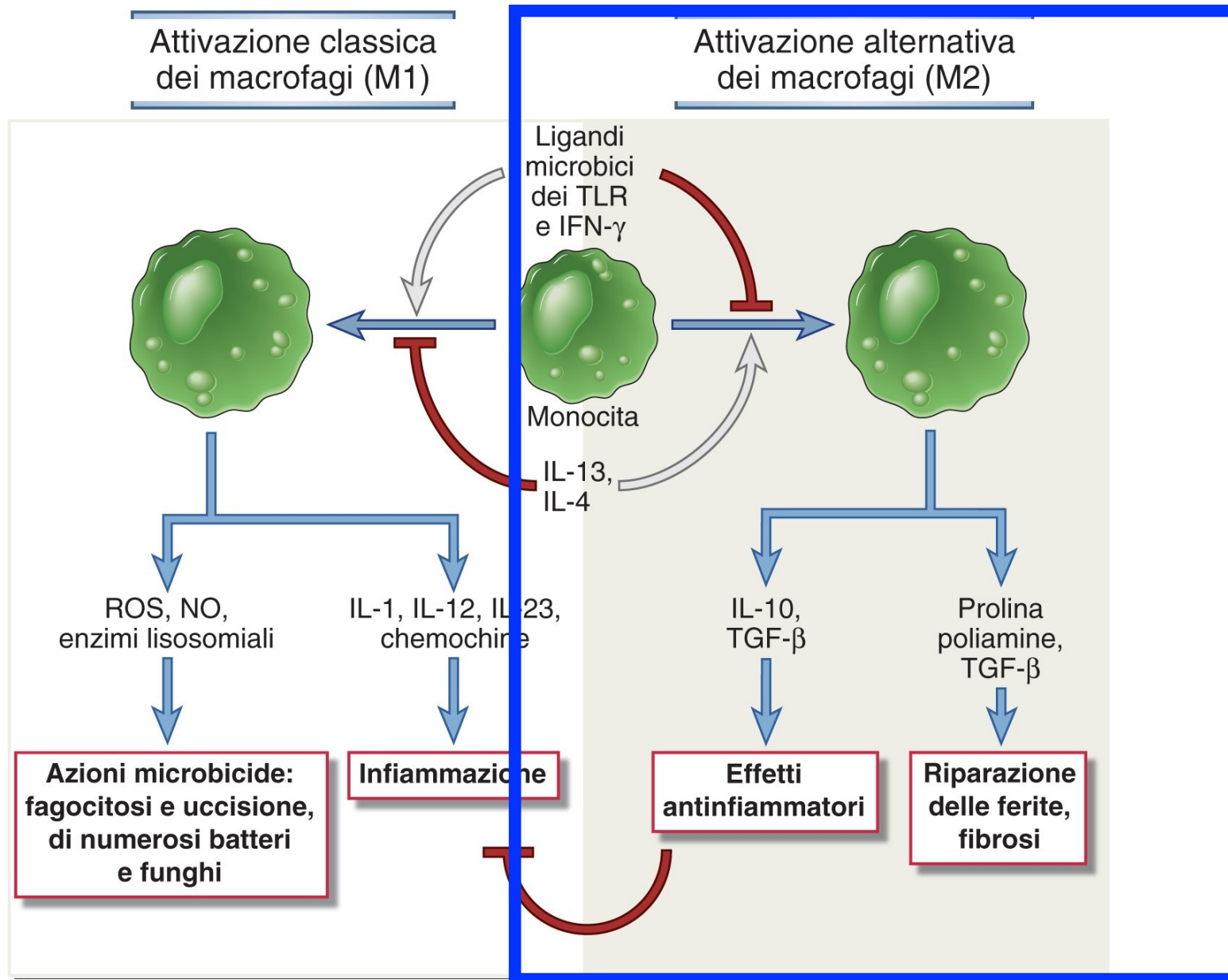


Recettori per le chemochine espresse da mucose in corso di infezioni da elminti o durante reazioni allergiche

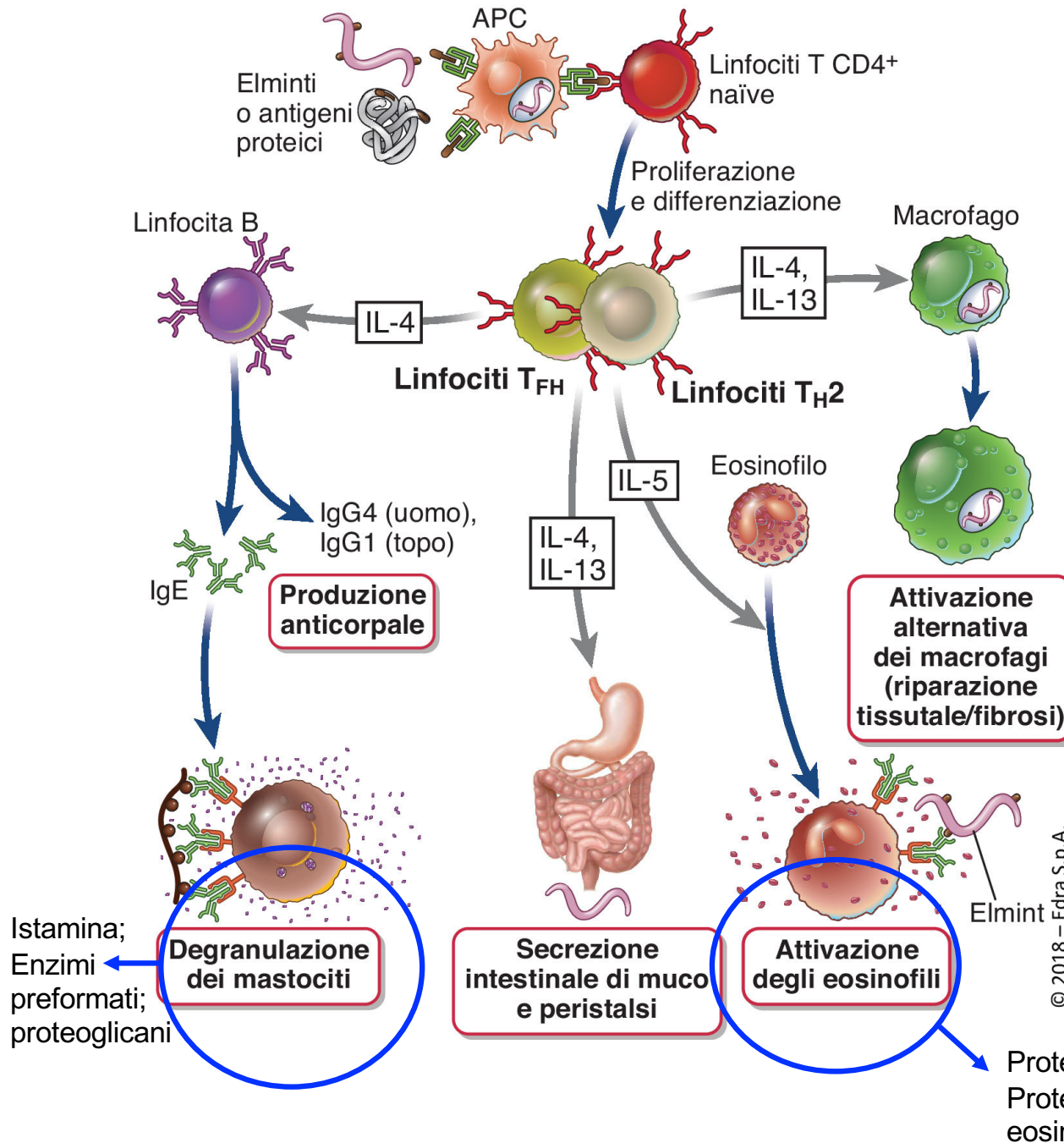
- **IL-4R**: Recettore di tipo I con catena γ comune (γ_c)
- Trasduzione via JAK/STAT con **JAK1 e 3** e **STAT6**
- **STAT6** promuove la trascrizione di **GATA3**, che collabora con **STAT5** (attivato da IL-2) per trascrivere i geni per **IL-4, IL-5, IL-13**



Linfociti T_H2 inducono l'attivazione alternativa dei macrofagi (M2)



I linfociti T_H2

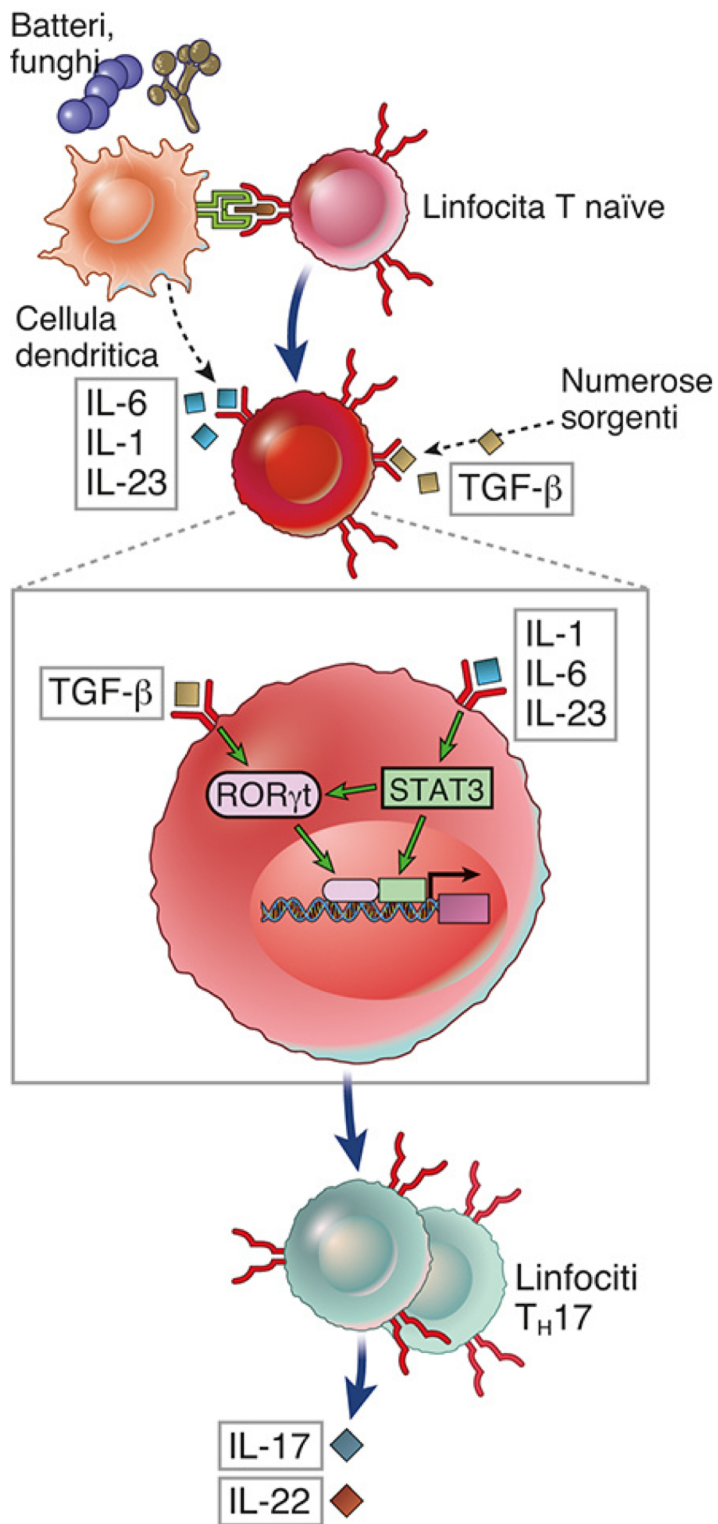


I linfociti T CD4+ naive Th2 dopo essersi differenziati in Th2 secernono IL-4, IL-5 e IL-13. L'IL-4 (e IL-13) che agiscono sui linfociti B per stimolare la produzione di anticorpi, quali le IgE, che si legano ai mastociti e agli eosinofili. Negli organi linfoidi, il principale supporto alla produzione di anticorpi è fornito dalle cellule T helper follicolari Tfh che producono citochine Th2 e non dalle cellule Th2 classiche. L'IL-5 attiva gli eosinofili, una risposta importante per la difesa contro le infezioni da elminti. L'IL-4 e IL-13, coinvolte nell'immunità a livello delle barriere mucose, causano l'attivazione dei macrofagi attraverso la via alternativa e inibiscono l'attivazione classica contrastando l'azione dei linfociti Th1.

Linfociti T_H2

producono IL4, IL5 e IL13

- Sono coinvolti nelle risposte alle infezioni da elminti o nelle infiammazioni allergiche (**mucose**)
- **Attivano gli eosinofili:** IL-5 stimola la proliferazione e la differenziazione degli eosinofili che sono indotti a degranulare (es. nell'immunità contro gli elminti rilasciano la proteina basica e la proteina cationica maggiore)
- **Attivazione mastociti:** IL-4 stimola lo switch a IgE che induce direttamente il rilascio di amine vasoattive (**istamina**), **TNF, IL-1, IL-6** etc
- **Immunità di barriera:** IL-13 stimola la produzione di muco, IL-4 stimola la peristalsi intestinale
- **Attivazione alternativa dei macrofagi (M2)** che producono **TGF-β, IL-10** e **PDG** → rimodellamento e riparazione tissutale con stimolazione di produzione di collagene (fibrosi)



Differenziamento dei T_H17

T_H17 stimolati da citochine proinfiammatorie prodotte da DC attivate da batteri extracellulari e funghi (**IL-6, IL-1**) o dalla fagocitosi di corpi apoptotici

IL-6, IL-1 in presenza di **TGF- β** importanti per il differenziamento

IL-21 per proliferazione/amplificazione

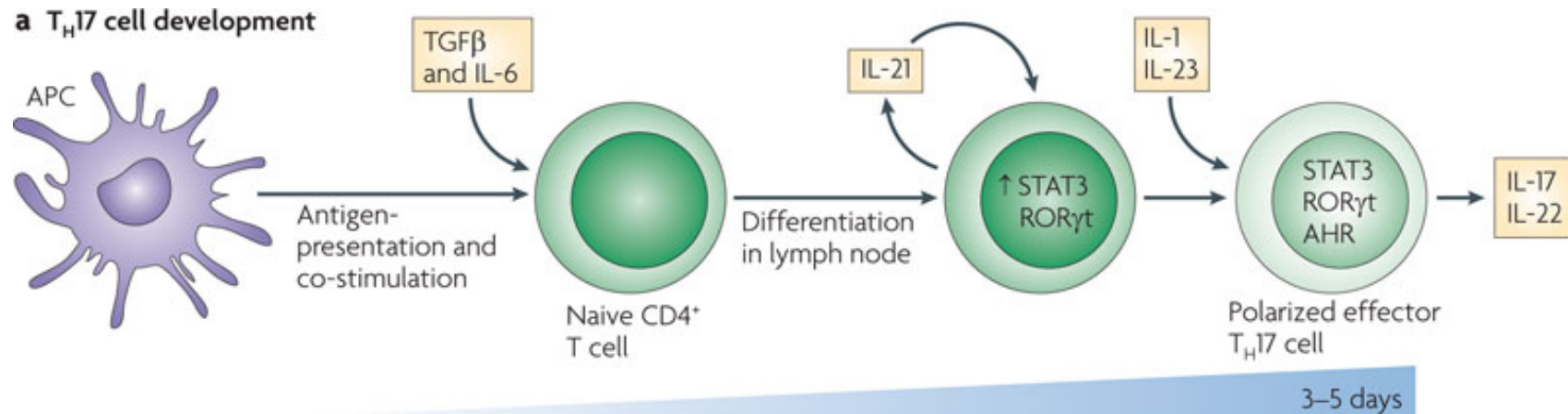
IL-23 coinvolta nella proliferazione e mantenimento

ROR γ (TGF- β) e **STAT3** (IL-6 e IL-21) importanti per la generazione dei Th17

Sindrome di Giobbe: mutazioni di STAT3
 → no T_H17 → aumentata sensibilità ad infezioni batteriche e fungine

IFN- γ (T_H1) e **IL-4** (T_H2) **inibiscono** il differenziamento dei T_H17

I linfociti T_H17



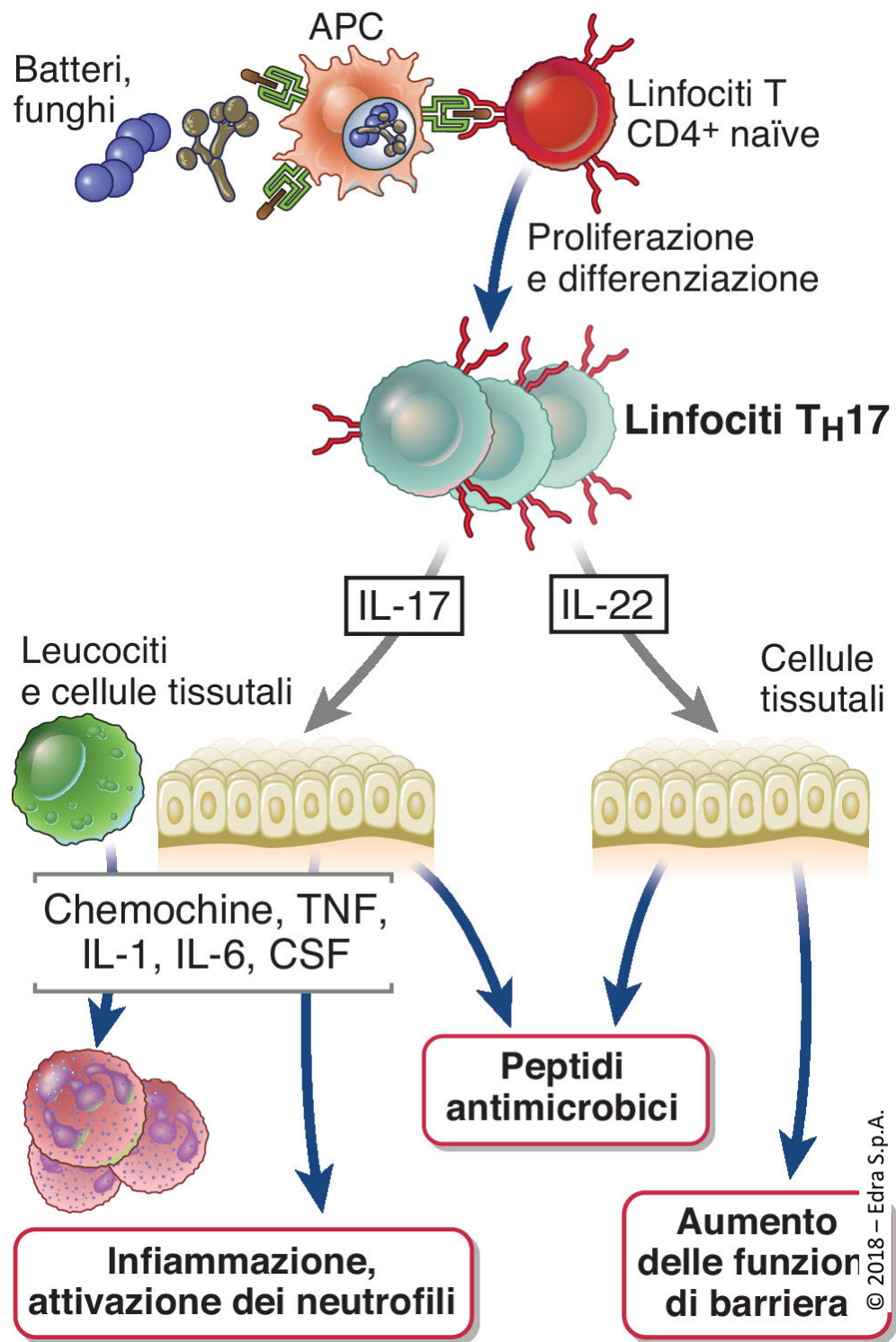
Famiglia di sei membri: IL-17A-F, la **IL17A** è quella principalmente coinvolta nelle funzioni dei T_H17

IL-17A:

1. Stimola produzione di **G-CSF** e di **GM-CSF** e di **IL-8/CXCL8** → aumenta la generazione e il reclutamento dei **neutrofil**
2. Stimola la produzione di **TNFα**, **IL1** e **IL6** → infiammazione

IL-22:

1. Stimola le cellule epiteliali a produrre peptidi anti-microbici (**defensine** e **catelicidine**) e ne aumenta la proliferazione e sopravvivenza e capacità di rinnovamento

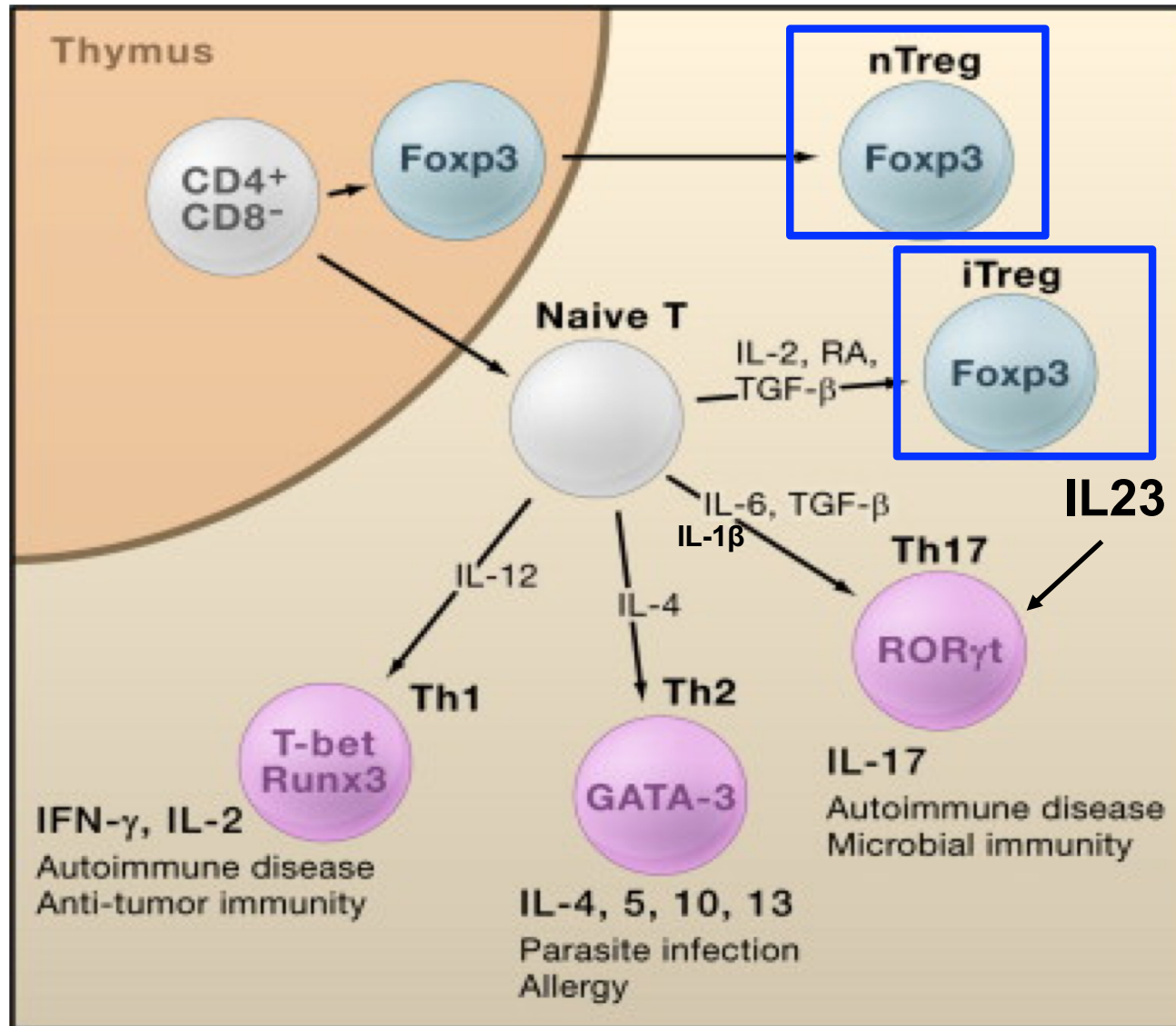


Funzioni dei T_H17

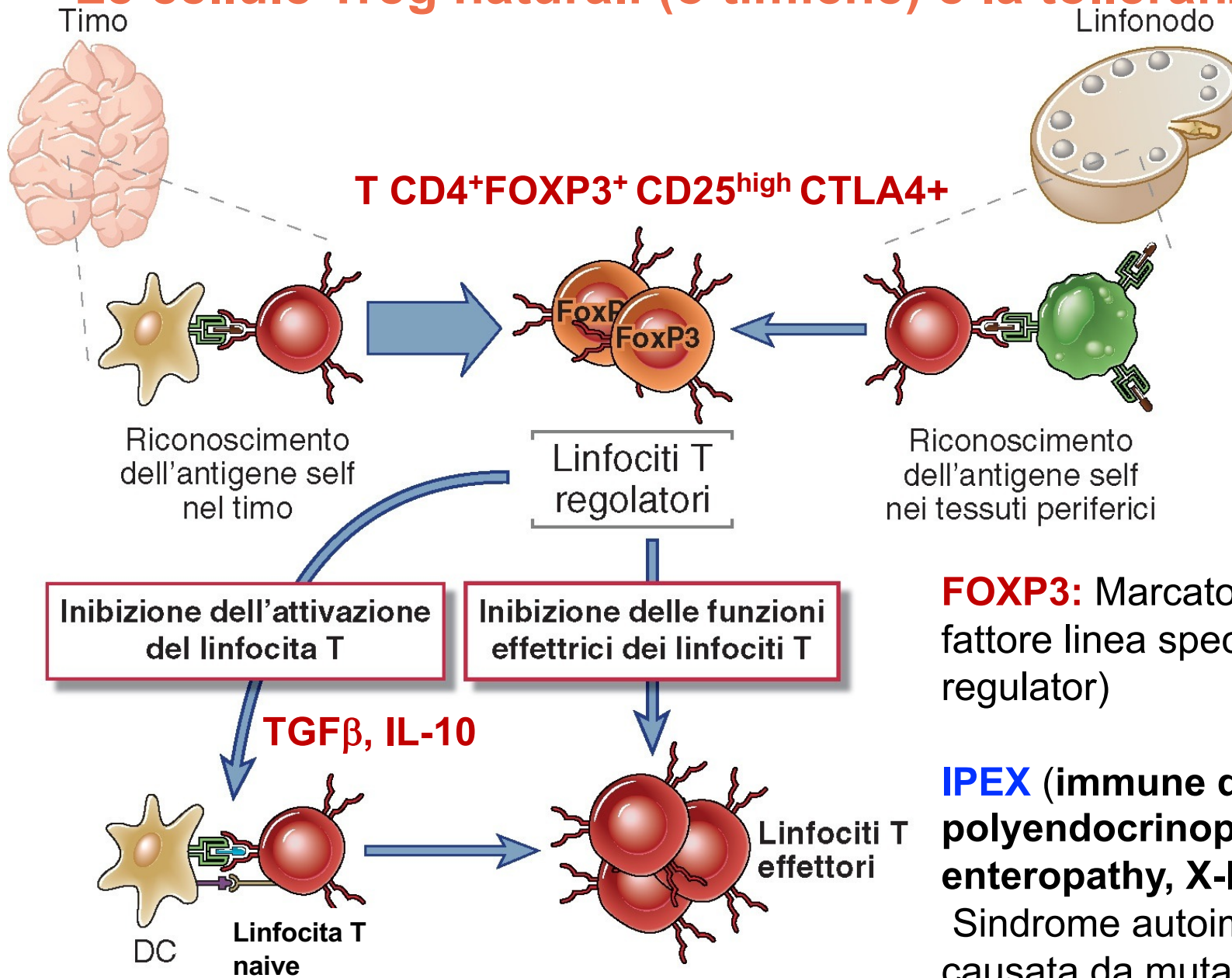
- Difesa contro batteri extracellulari e funghi inducendo infiammazione soprattutto neutrofilica.
- Neutrofili fagocitano ed eliminano i batteri extracellulari ed i funghi.
- I Th17 esprimono **CCR6** che lega **CCL20** prodotta dai **macrofagi attivati da batteri e funghi** e vengono reclutati nell'intestino

Patogenesi di malattie infiammatorie croniche ed autoimmuni: malattie infiammatorie intestinali, psoriasi, artrite reumatoide e sclerosi multipla

Differenziamento delle cellule T regolatorie (Treg)



Le cellule Treg naturali (o timiche) e la tolleranza periferica

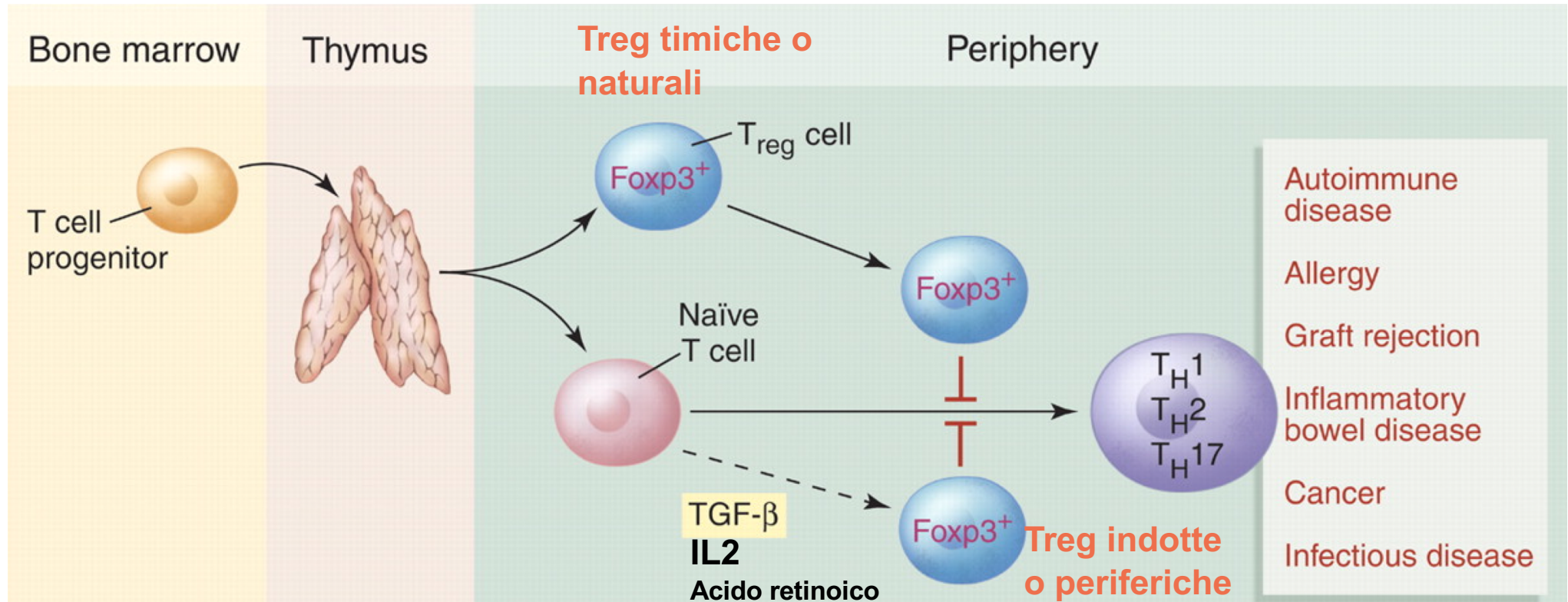


FOXP3: Marcatore T_{reg} fattore linea specifico (master regulator)

IPEX (immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked).

Sindrome autoimmune sistemica causata da mutazioni di FOXP3 il cui gene mappa sul cromosoma X.

Origine e differenziazione delle cellule Treg



- I linfociti T reg possono originare dal timo (**Treg naturali**) e sono linfociti T CD4⁺ CD25⁺ FOXP3⁺ che riconoscono Ag self o generarsi in periferia negli organi linfoidi secondari (**Treg indotte**) da linfociti T CD4⁺ in particolari condizioni immunomodulatorie e di presentazione subottimale dell'antigene.

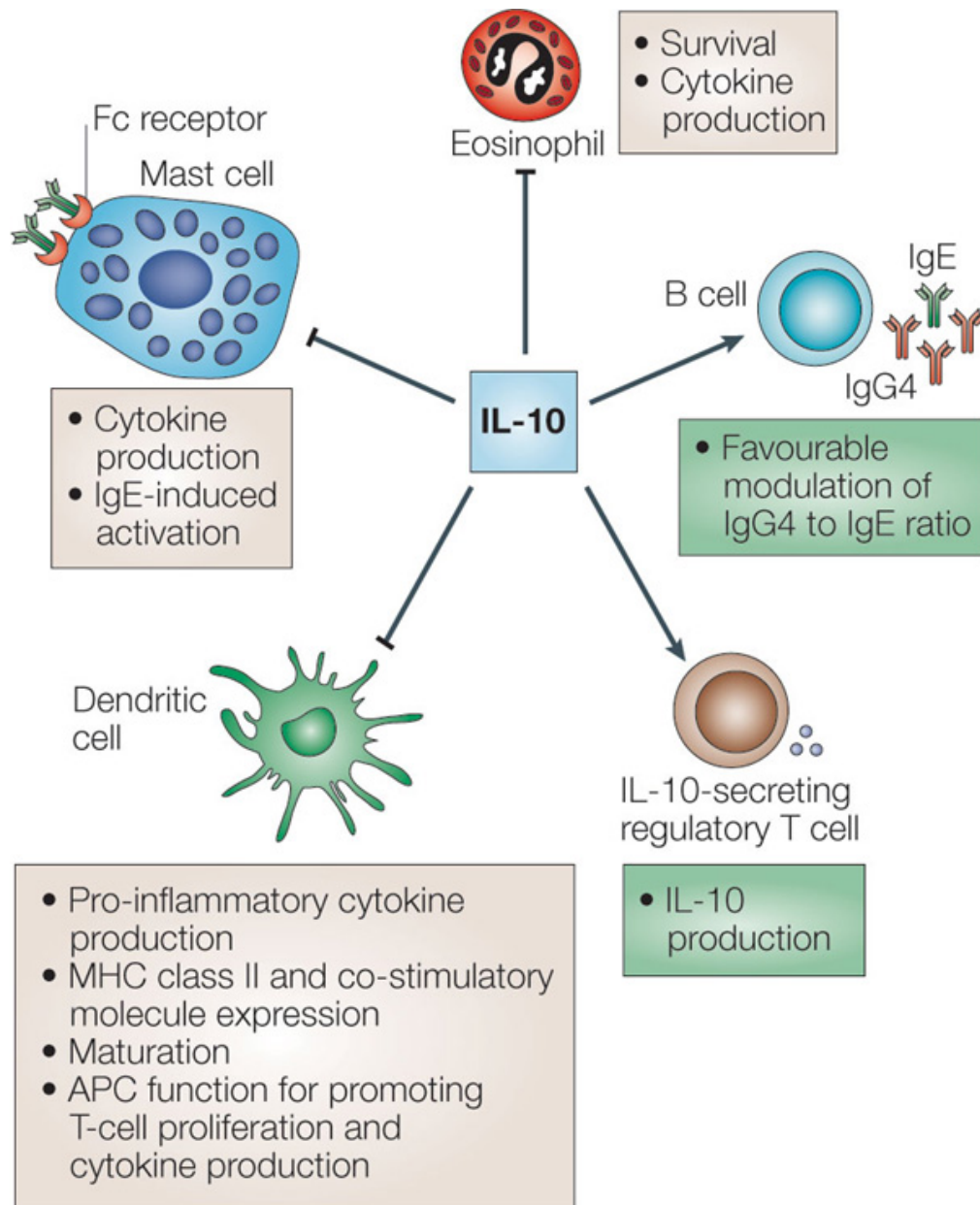
-TGFβ ed **IL-2** sono responsabili della loro generazione. **TGF-β** e **IL-2** cooperano per indurre la trascrizione di **FOXP3** che è il master regulator dei Treg.

-Le cellule Treg sopprimono le risposte linfocitarie e l'attivazione di cellule dell'immunità innata attraverso la produzione di **TGF-β** e **di IL10** e mediante altri meccanismi

Attività biologiche del TGF- β : citochina immunosoppressiva

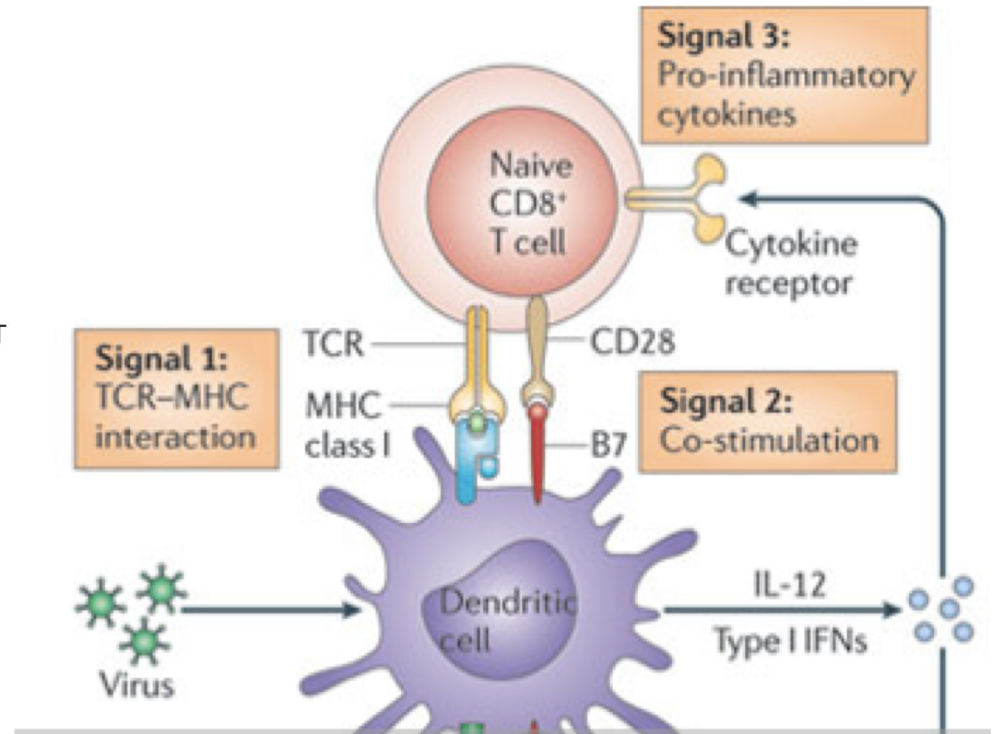
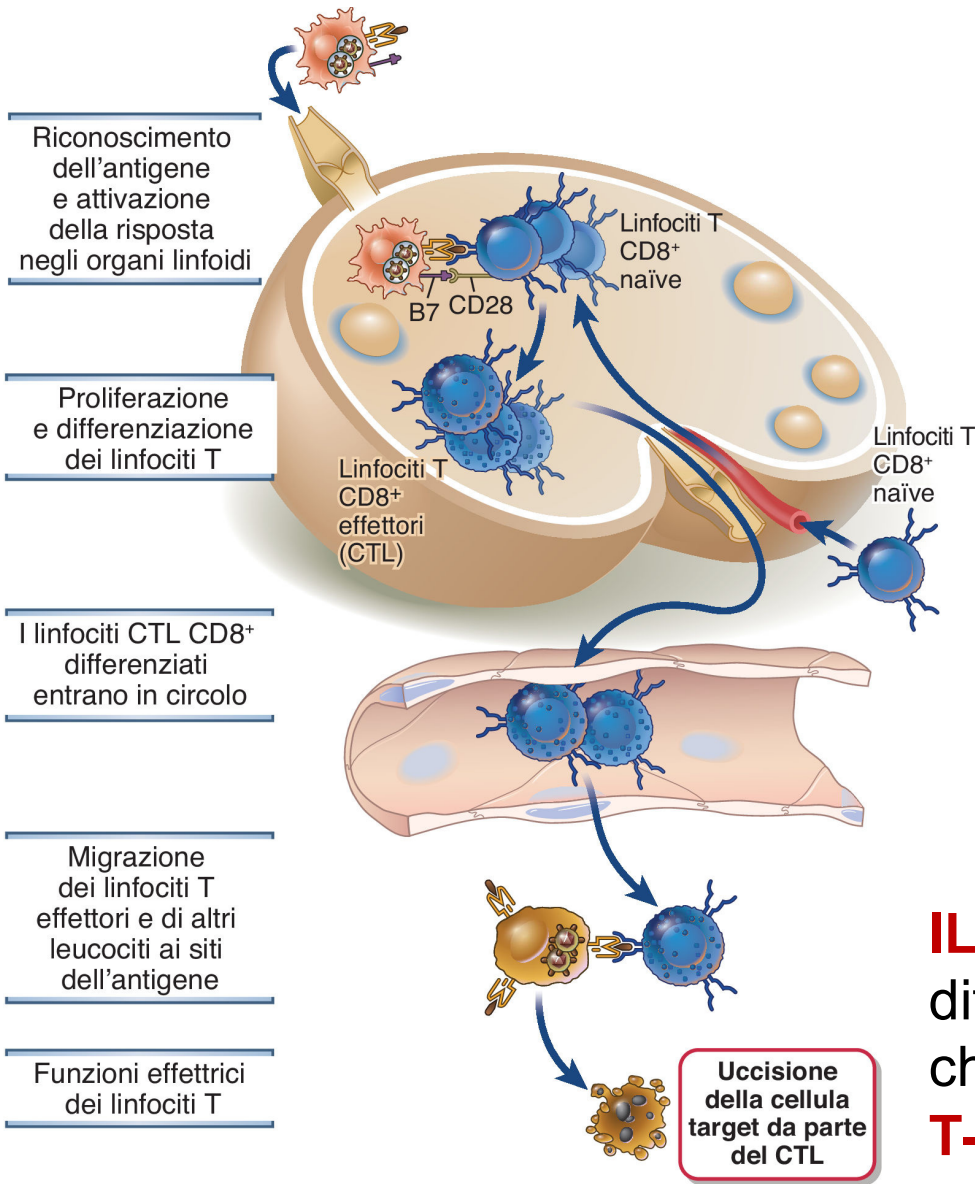
- Inibisce la proliferazione e le funzioni effettrici dei linfociti Th1 e Th2
- Inibisce l'attivazione dei macrofagi, neutrofili e cellule endoteliali
- Induce il differenziamento e la proliferazione dei Treg
- In associazione a IL-6 o IL-1 promuove lo sviluppo dei linfociti Th17
- Induce lo switch dell'isotipo verso le IgA (immunità mucosale)
- Favorisce i processi di riparazione tissutale in seguito a danno; infatti stimola i macrofagi ed i fibroblasti a sintetizzare collagene ed enzimi per il rimodellamento tissutale
- Favorisce l'angiogenesi

IL-10: citochina con funzioni immunosoppressive



- **Inibizione produzione IL-12:** Agisce soprattutto sui macrofagi attivati e cellule dendritiche inibendo la produzione di IL-12 e quindi **inibisce il differenziamento Th1** e la produzione di IFN- γ
- **Inibizione espressione molecole costimolatorie e delle molecole MHC-II:** inibizione attivazione linfociti T CD4⁺

Differenziamento linfociti T CD8⁺



IL-12 e IFN di tipo I promuovono il differenziamento dei CD8⁺ citotossici: che esprimono come master regulators **T-bet** e **eomesodermina**

Attività citotossica dei linfociti T CD8+

Lisi della cellula bersaglio

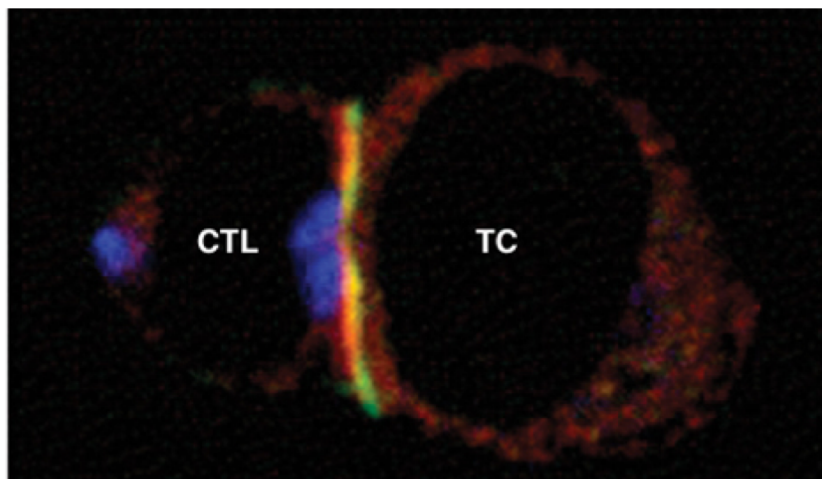
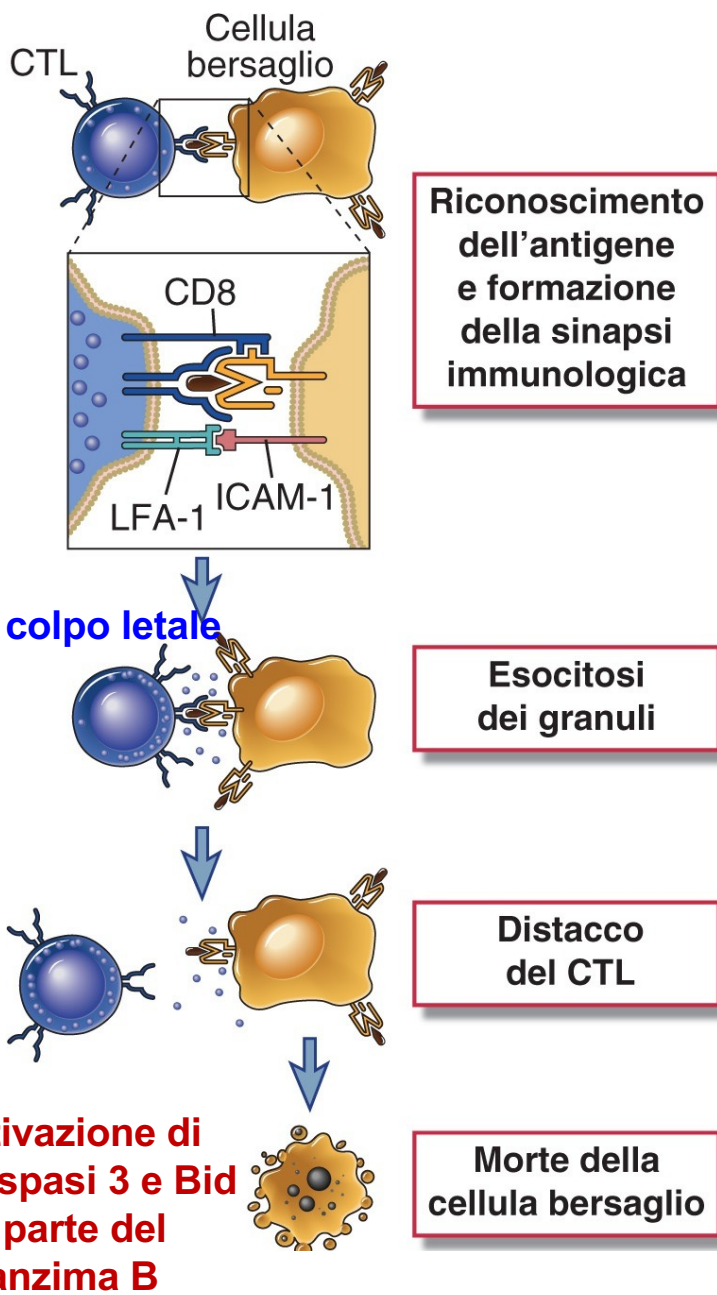


Immagine di microscopia confocale di una sinapsi immunologica tra CTL e cellula target (TC) :
In blu la catepsina B contenuta in un granulo secretorio; In verde LFA1; in rosso la talina

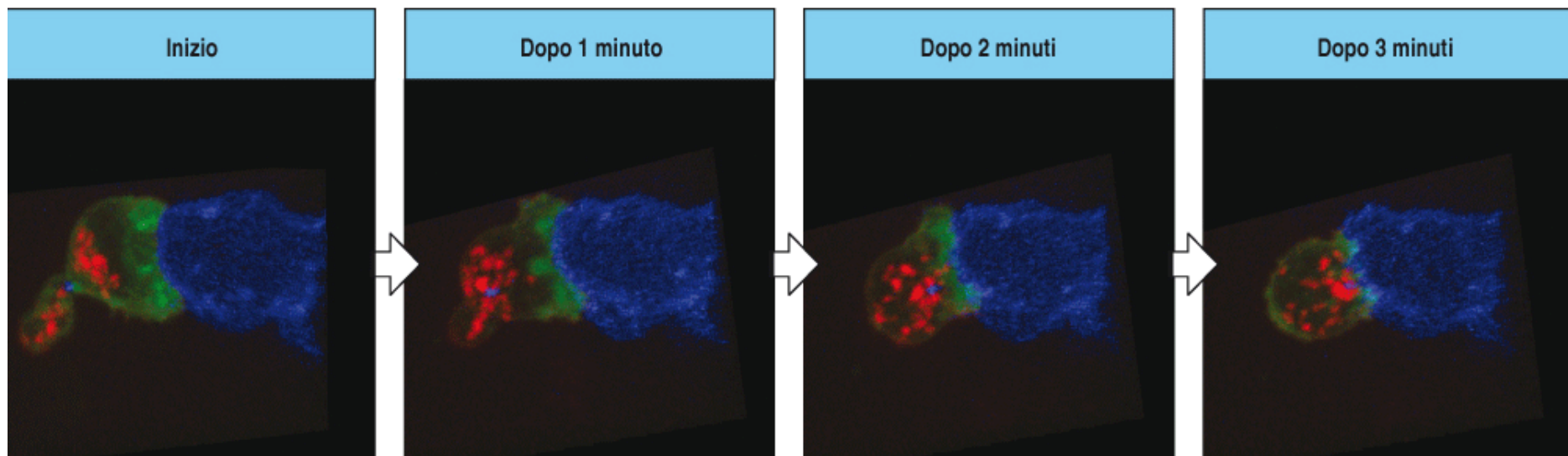
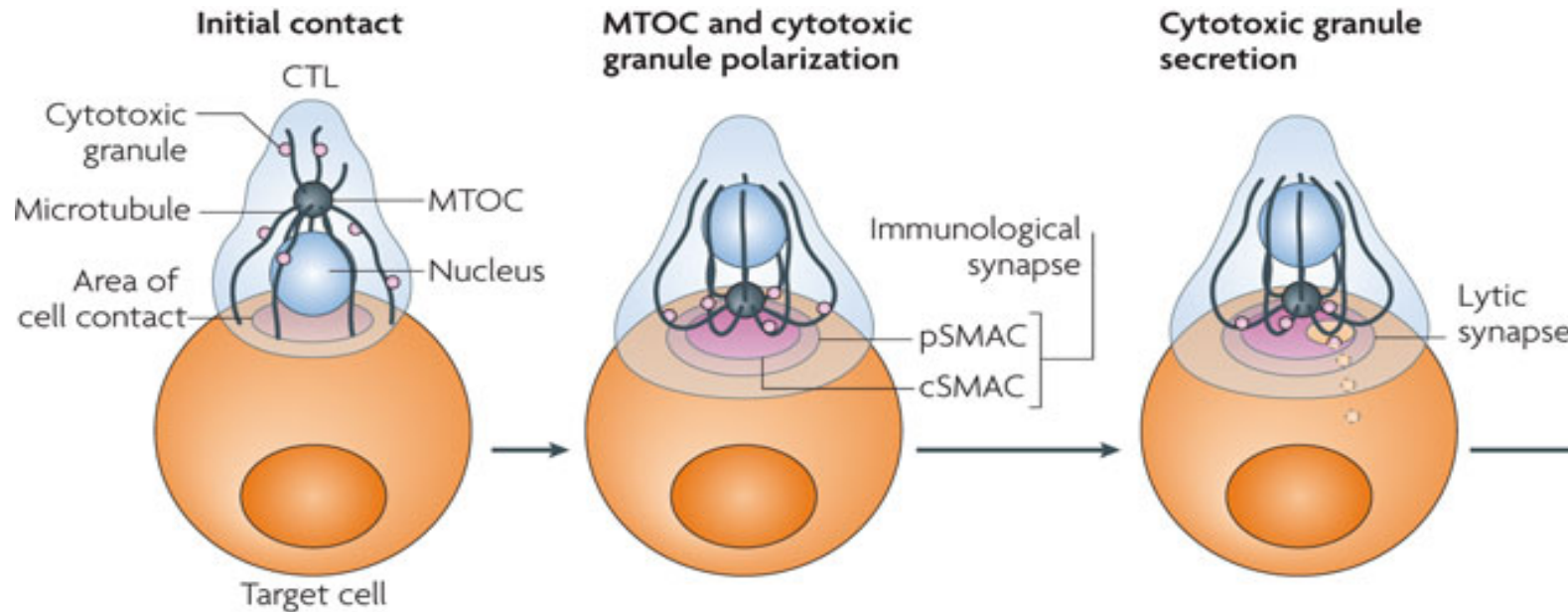
I Granuli contengono:

Granzimi A, B e C: serin-proteasi che tagliano le proteine dopo un residuo di acido aspartico

Perforine: molecola omologa alla componente C9 del complemento che altera la struttura della membrana

Serglicina: proteoglicano solfato che assembla i complessi perforina/granzimi

Formazione della sinapsi immunologica e lisi della cellula bersaglio

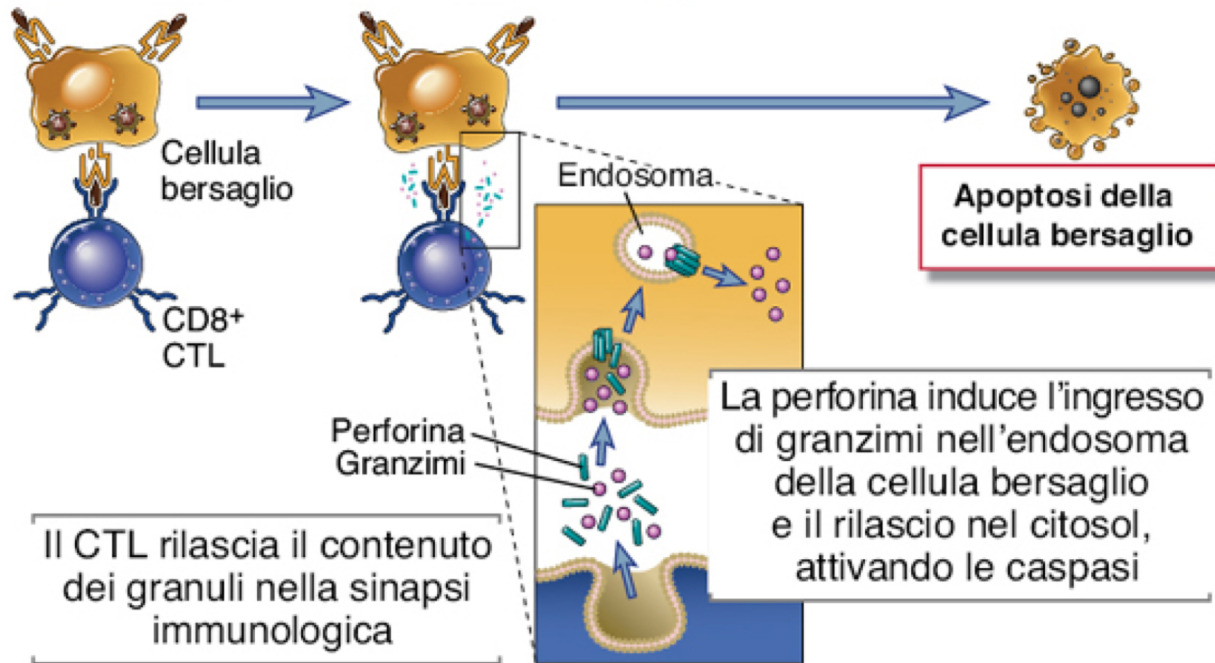


■ Cellula bersaglio ■ perforine ■ actina

Meccanismi di citotossicità

I CTL possono uccidere la cellula bersaglio mediante due meccanismi distinti

1. meccanismo mediato da perforina/granzima B



2. meccanismo mediato da Fas/FasL

