

Corso di Immunologia - III anno
Prof. Paolini

Lezione 19/11/2024

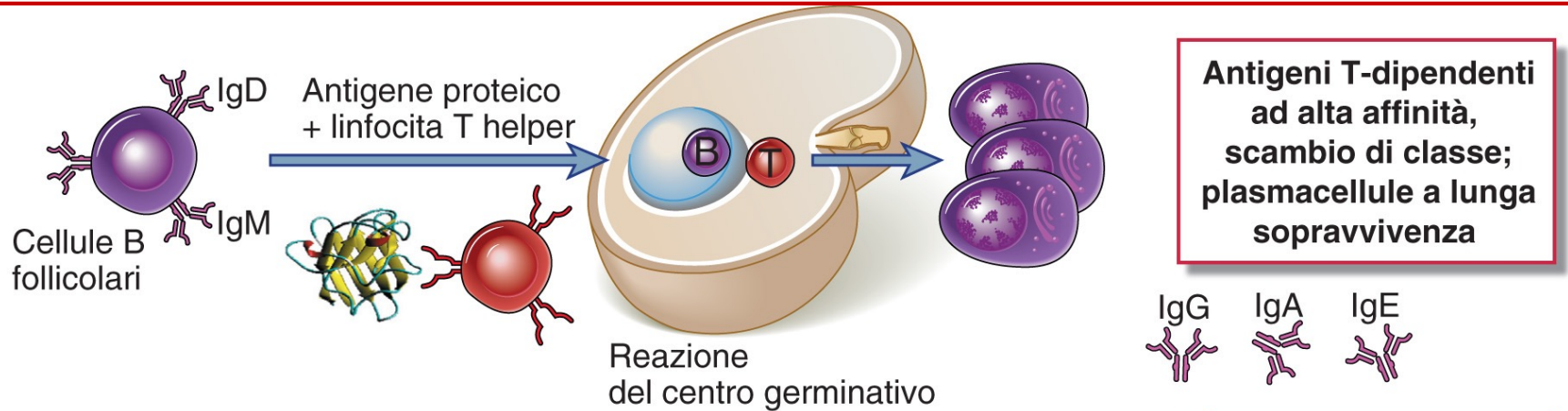
"L'attivazione dei linfociti B"

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

Le diverse popolazioni di linfociti B si attivano in risposta ad antigeni diversi

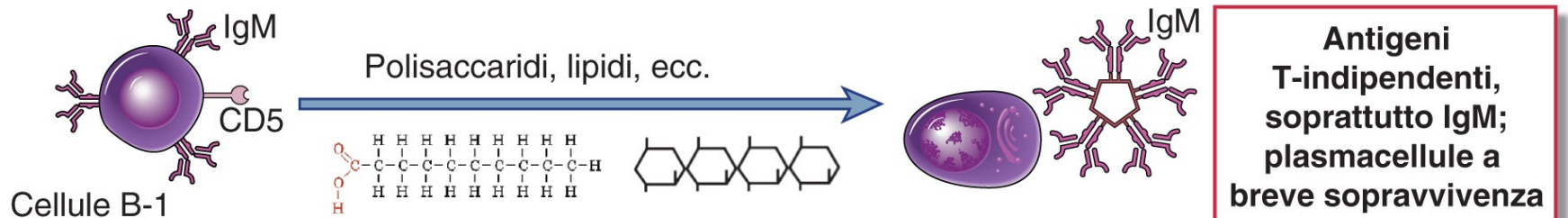
B-2

Milza,
altri organi
linfoidi

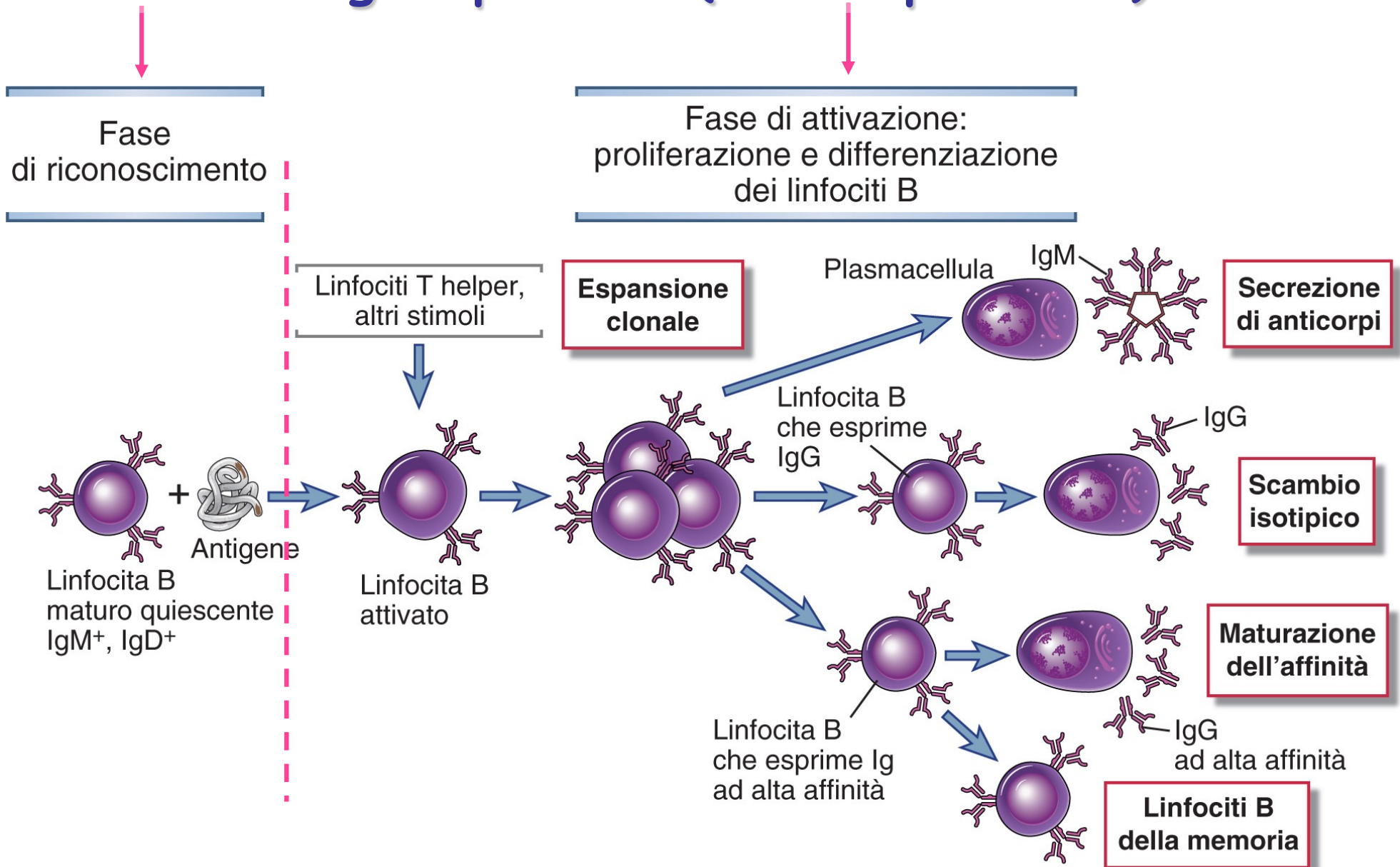


B-1

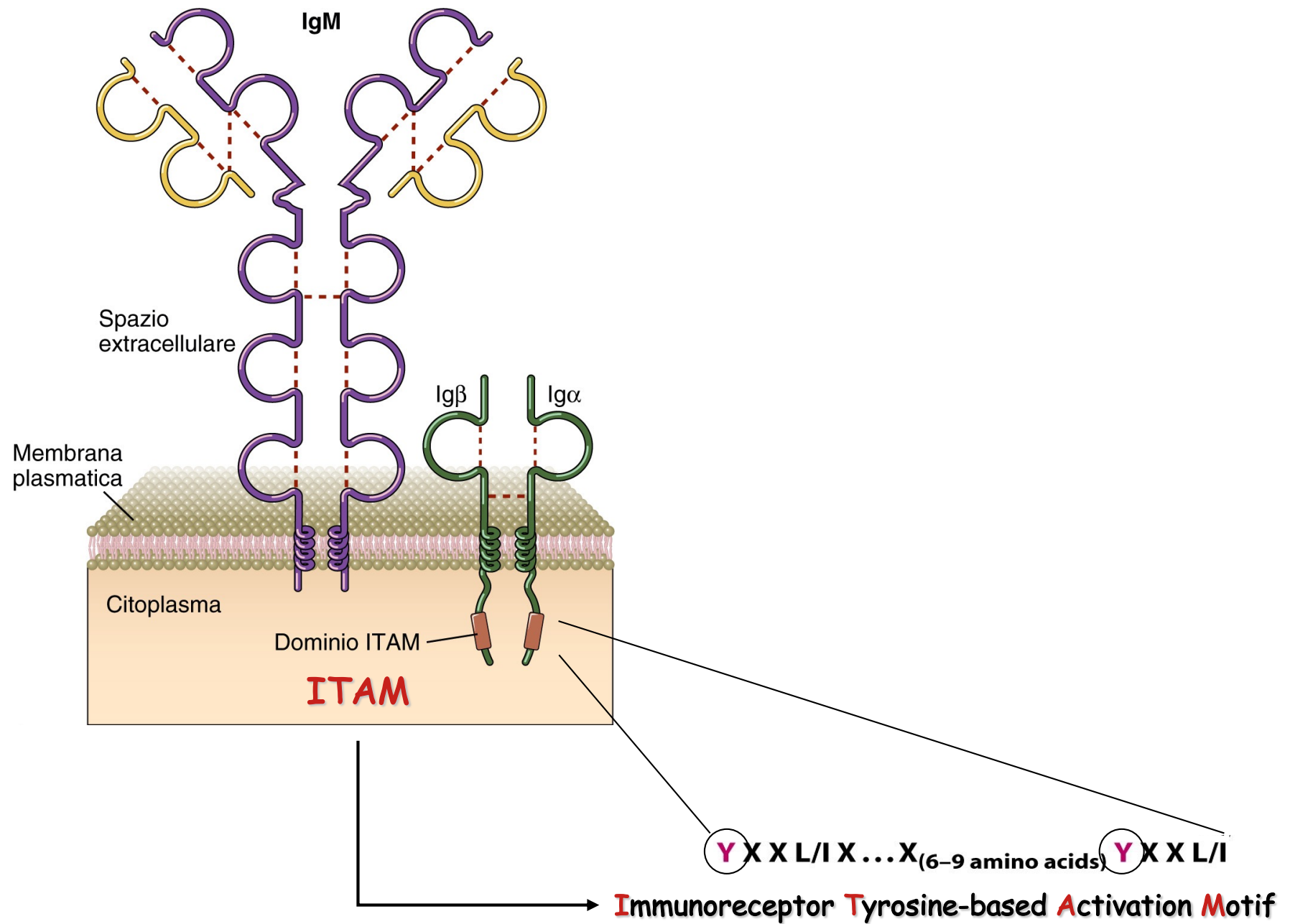
Tessuti mucosi,
cavità peritoneale



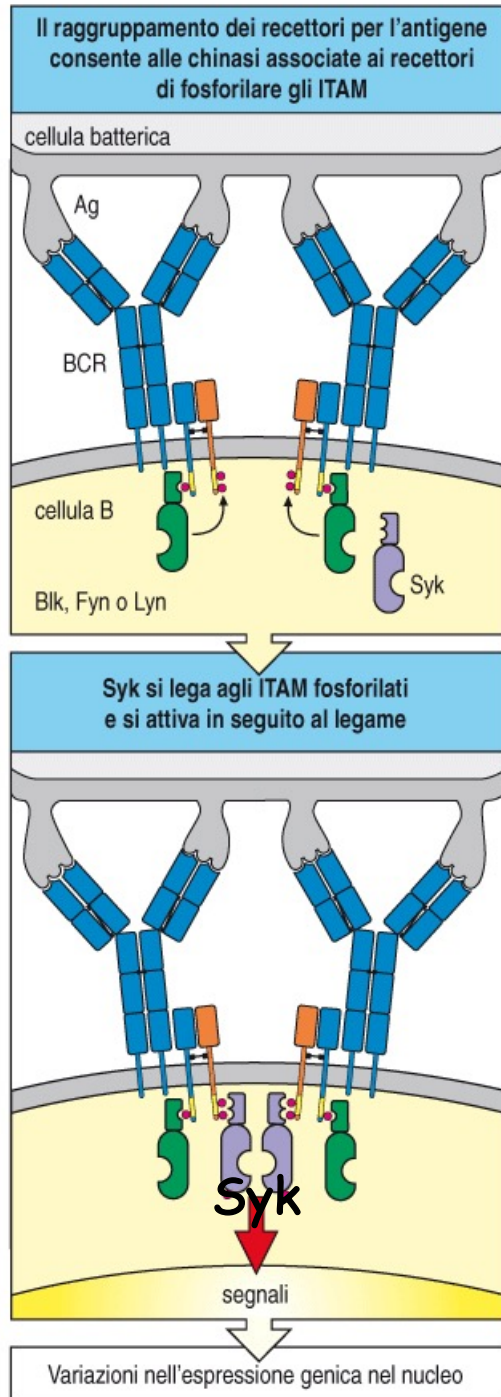
Le fasi della risposta immunitaria umorale ad antigeni proteici (timo-dipendenti)



B CELL RECEPTOR (BCR)



Le fasi iniziali della trasduzione del segnale mediato dal BCR



1. Chinasi della famiglia Src

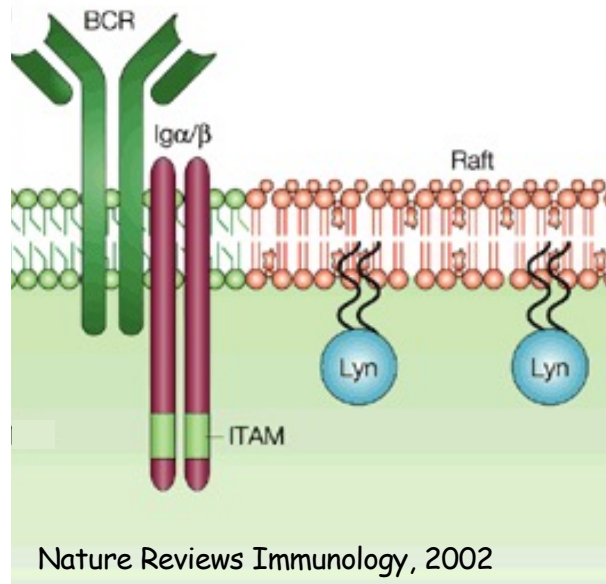
Fyn e Lyn



2. Chinasi della famiglia ZAP70

Syk

L'aggregazione del BCR induce la rilocalizzazione del complesso recettoriale nei raft lipidici



Nei linfociti B resting il BCR è escluso dai raft, mentre la chinasi Lyn è concentrata nei raft ma inattiva

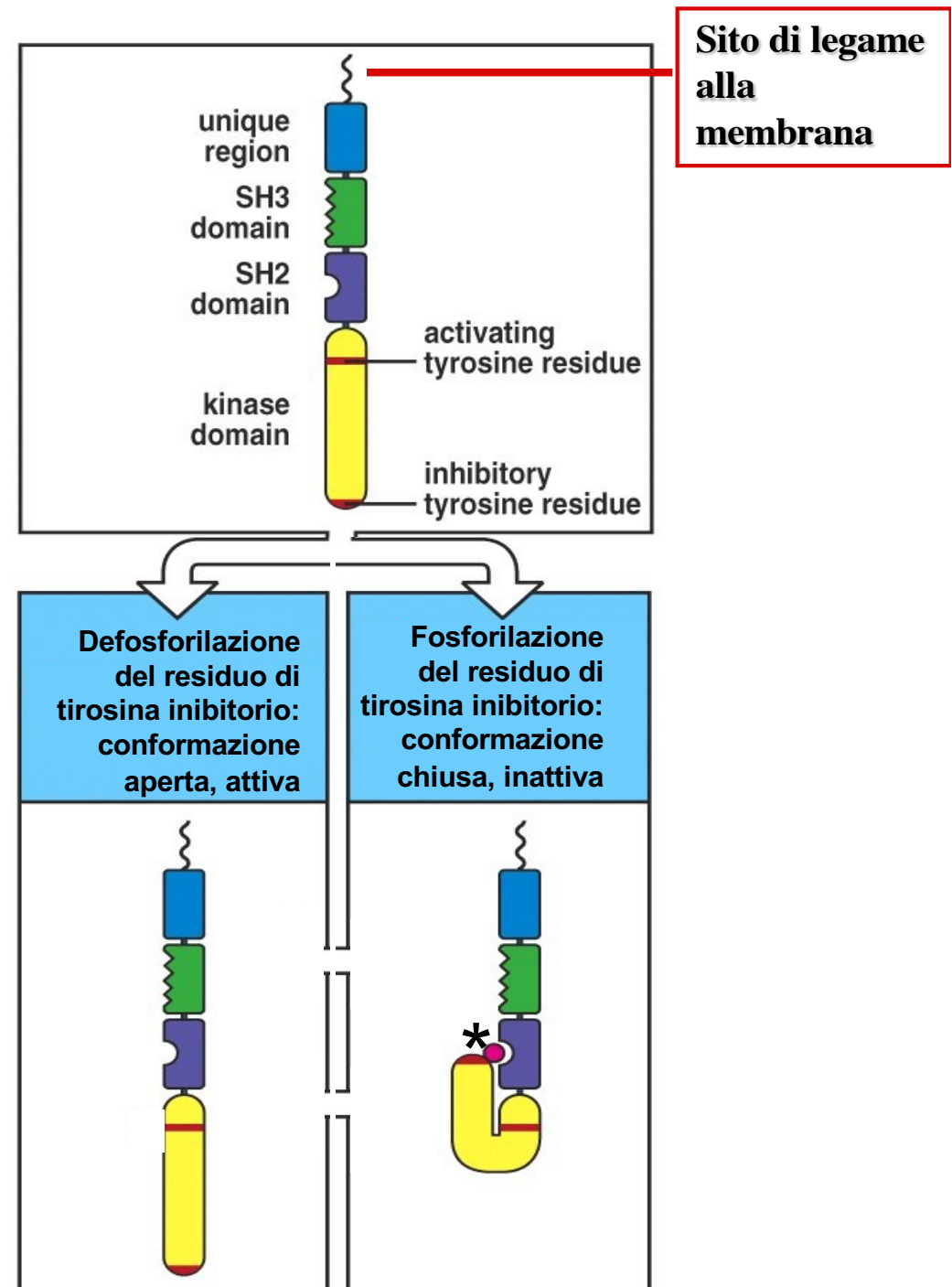
Lyn appartiene alla famiglia delle tirosino chinasi Src

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

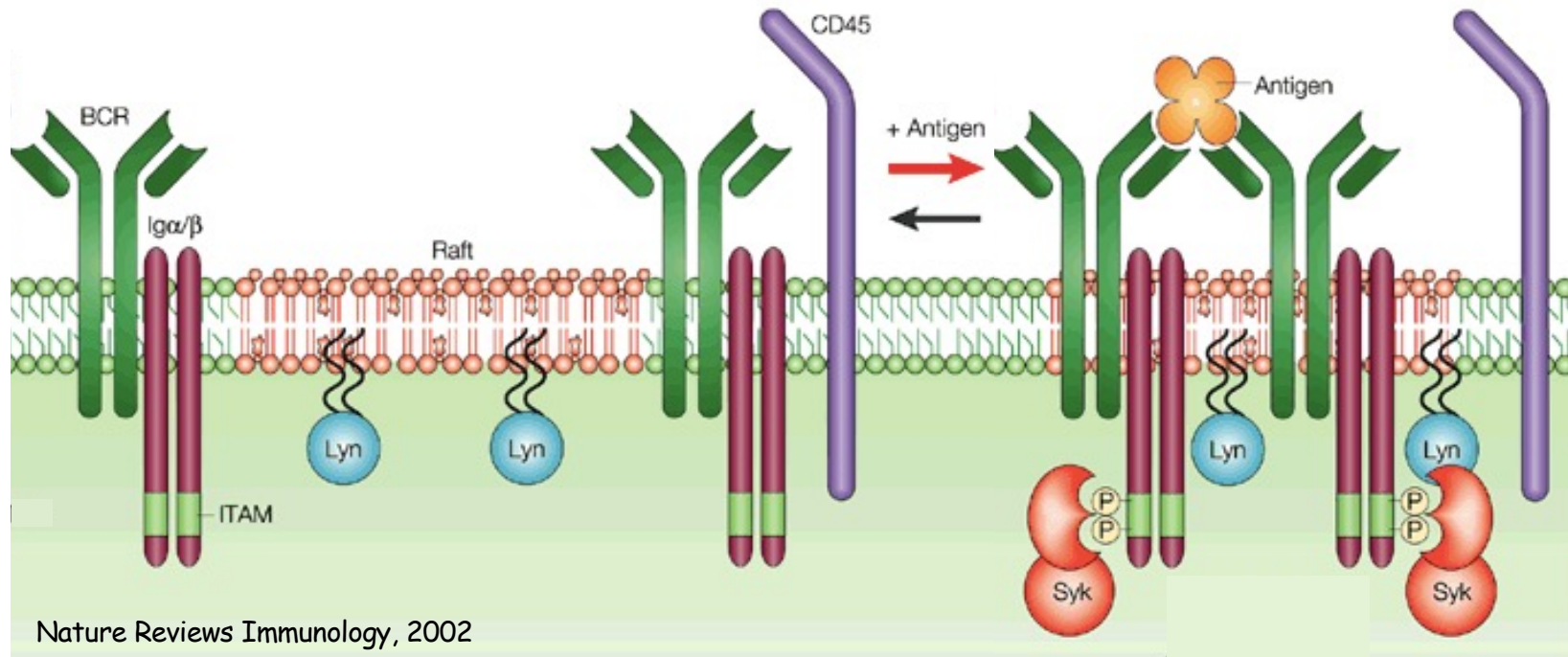
La loro attività è regolata da residui di tirosina presenti nel dominio chinamico

L'enzima responsabile degli eventi di defosforilazione del residuo inibitorio è:

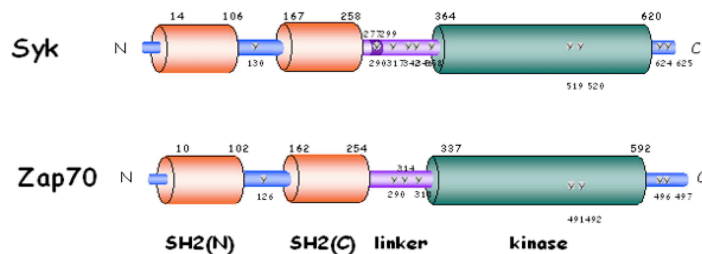
CD45= tirosino fosfatasi



L'aggregazione del BCR induce la rilocalizzazione del complesso recettoriale nei raft lipidici

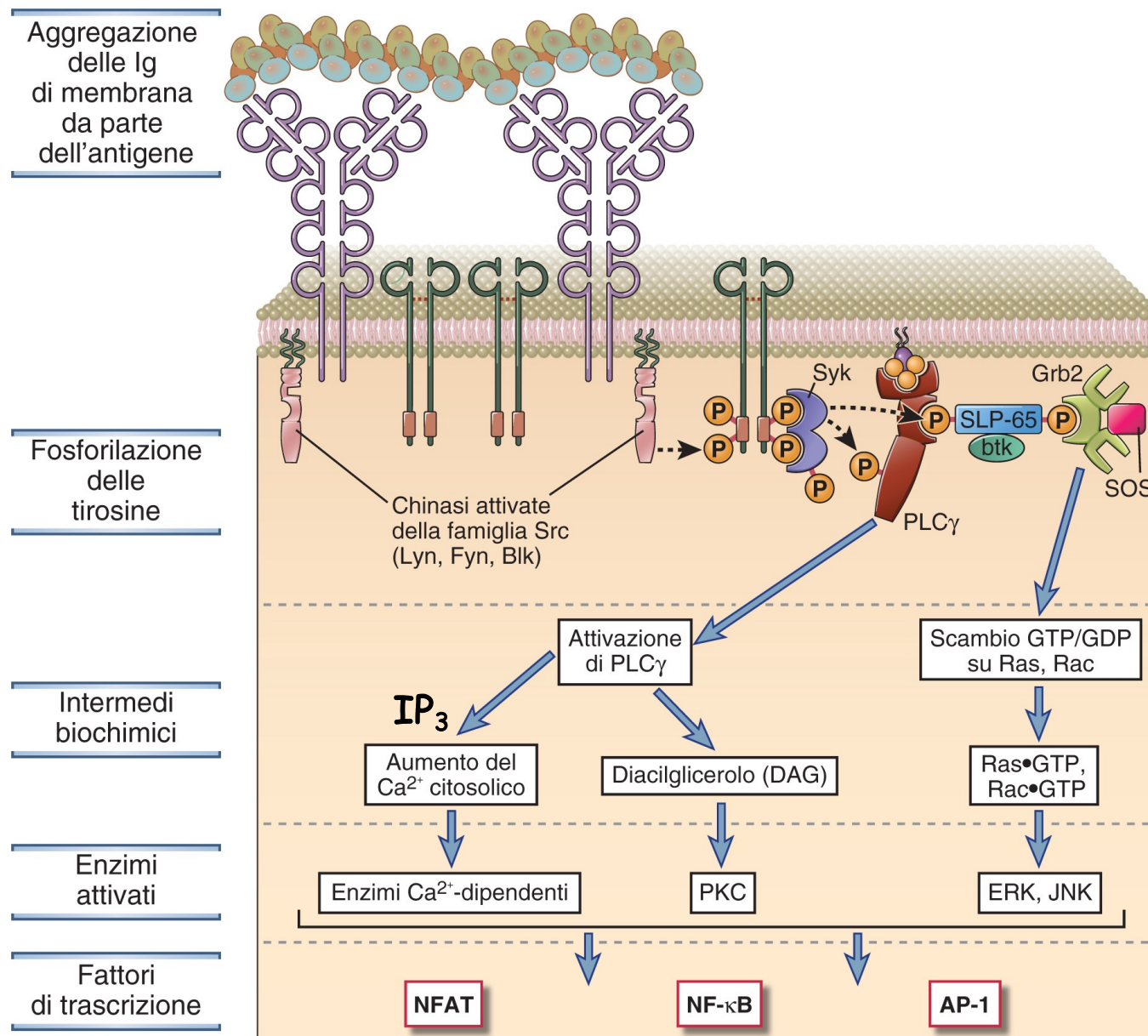


Nei linfociti B resting il BCR è escluso dai raft, mentre la chinasi Lyn è concentrata nei raft ma inattiva

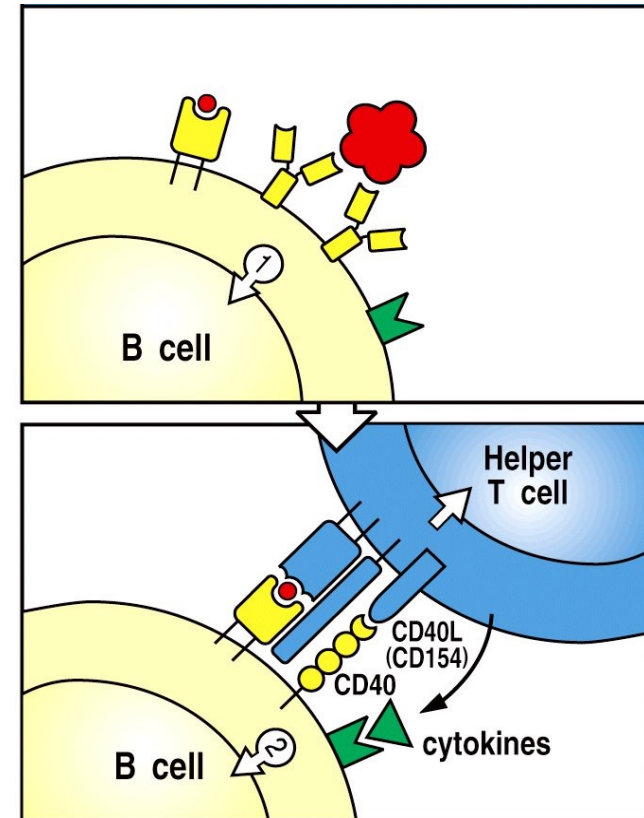
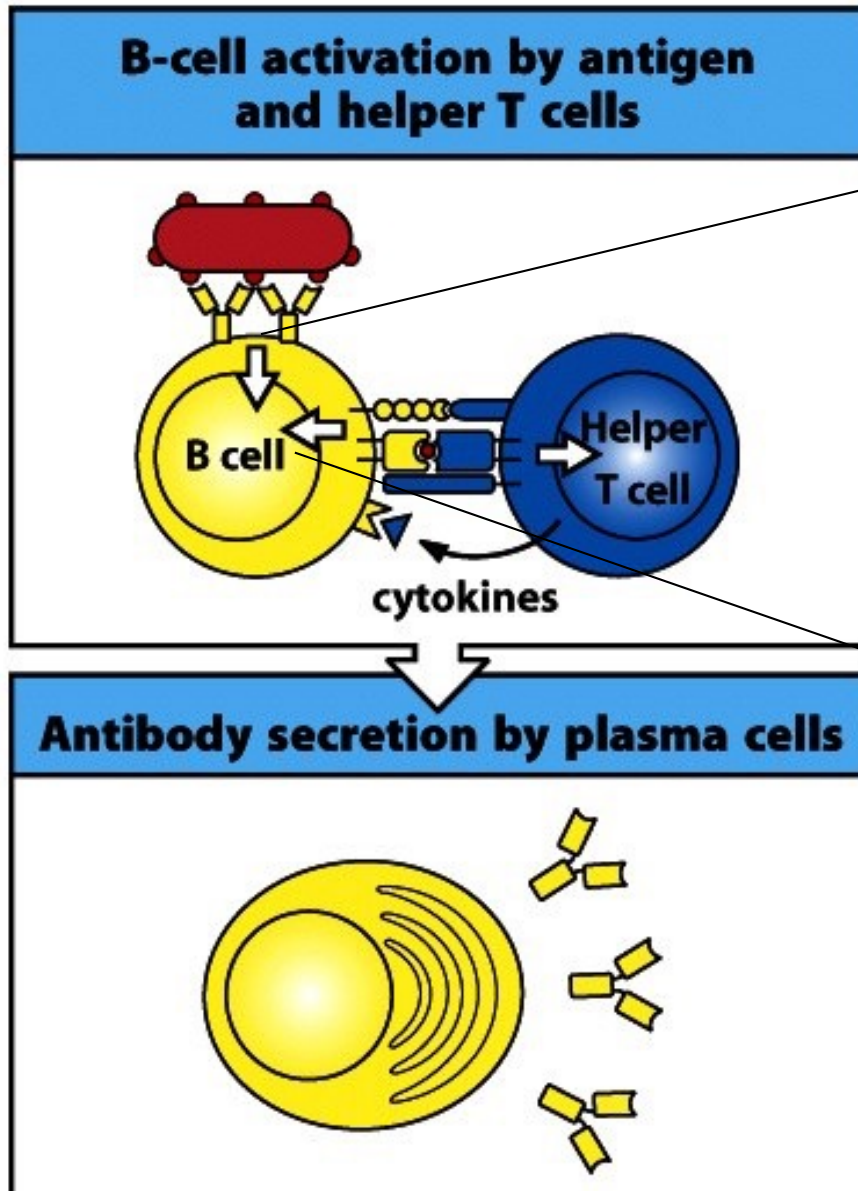


Dopo aggregazione il complesso BCR trasloca nei raft e viene fosforilato in tirosina da Lyn. Il motivo ITAM fosforilato recluta la chinasi Syk

LE VIE DI TRASDUZIONE DEI SEGNALI GENERATI DAL BCR PORTANO ALL'ATTIVAZIONE DI FATTORI TRASCRIZZIONALI

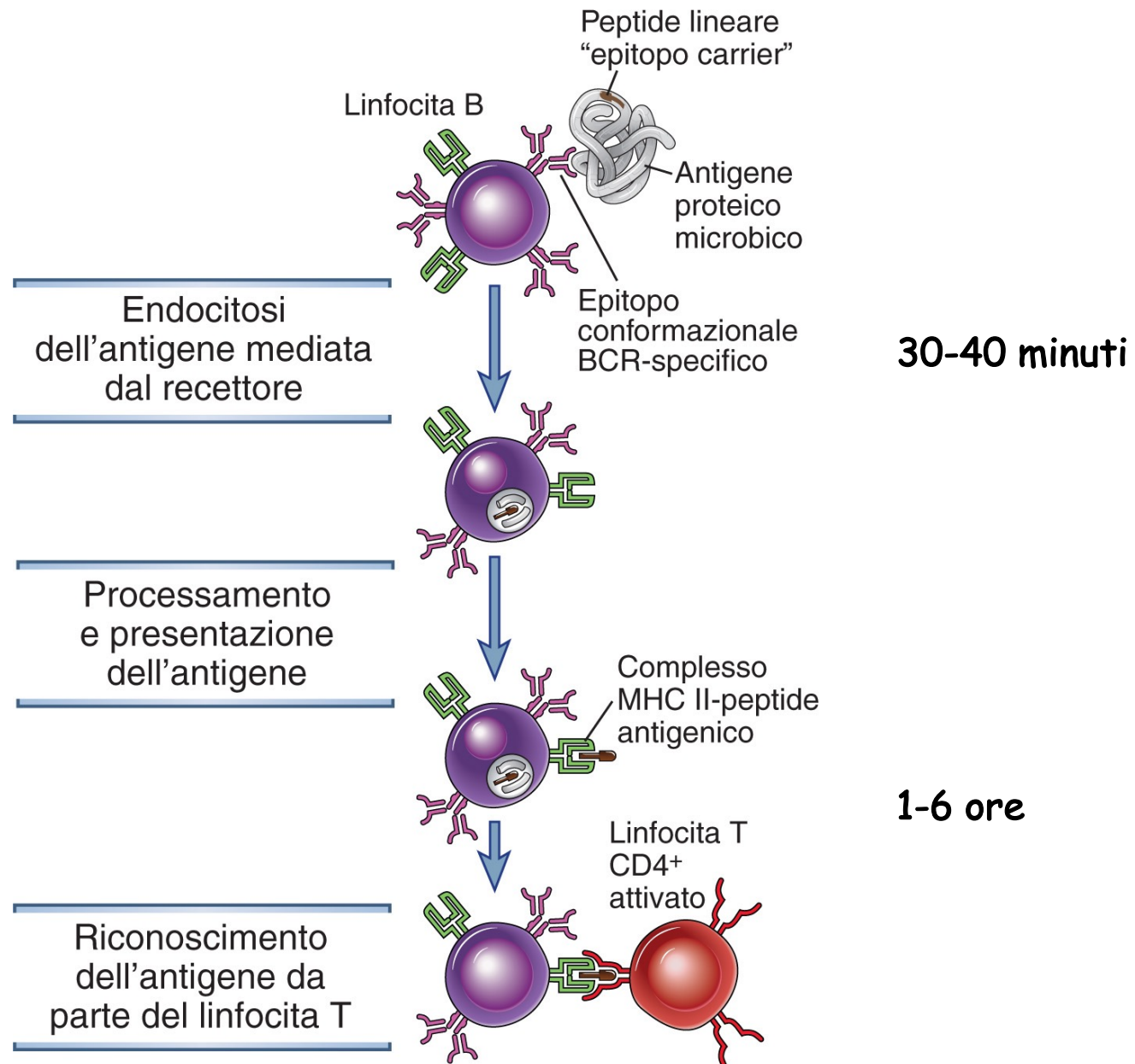


La risposta anticorpale ad un antigene proteico



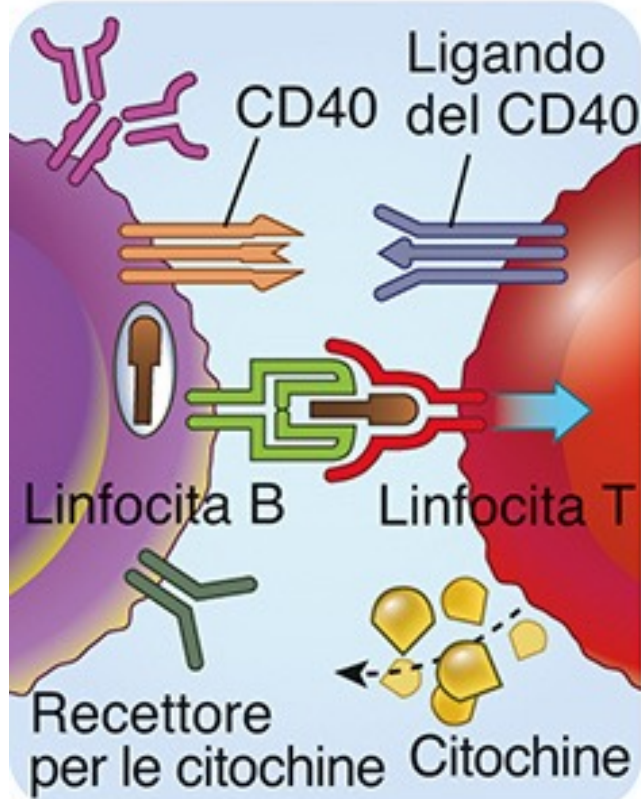
sono richiesti due segnali per la piena attivazione dei linfociti B!

I linfociti B processano e presentano l'antigene ai linfociti T helper

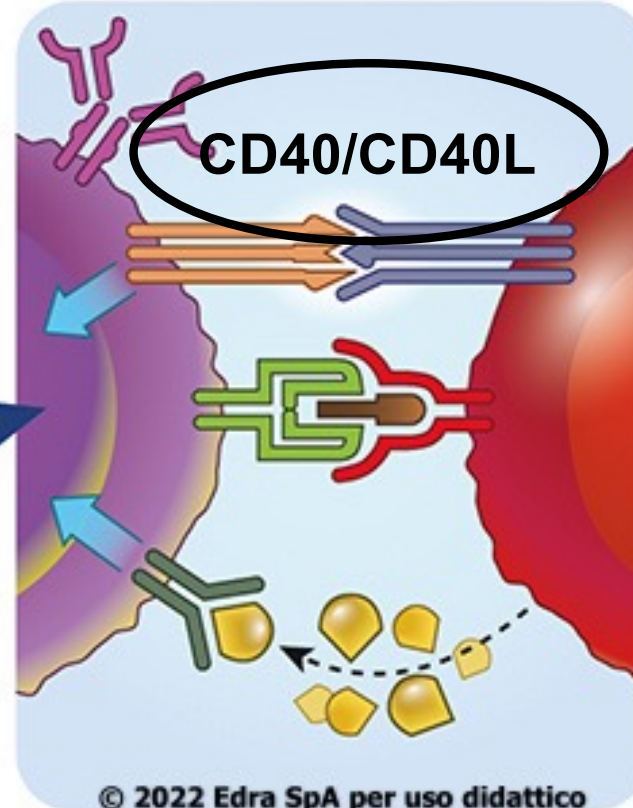


I linfociti T helper forniscono il secondo segnale al linfocita B

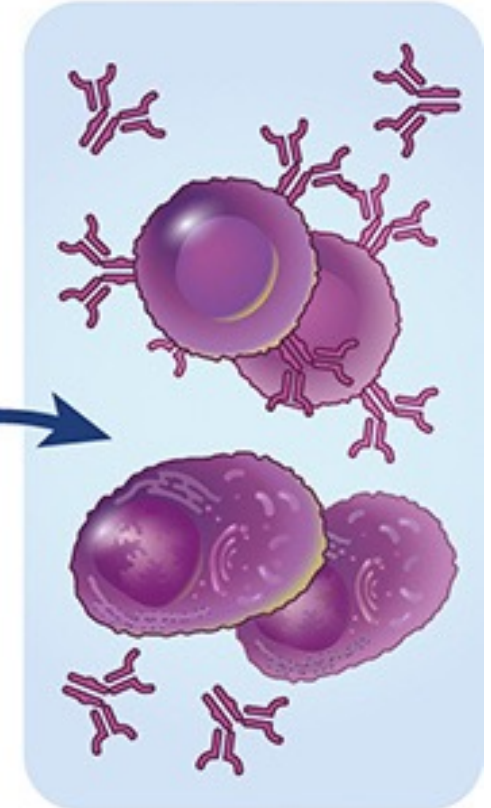
I linfociti T helper attivati esprimono CD40L e secernono citochine



I linfociti B vengono attivati dall'ingaggio di CD40 e dalle citochine

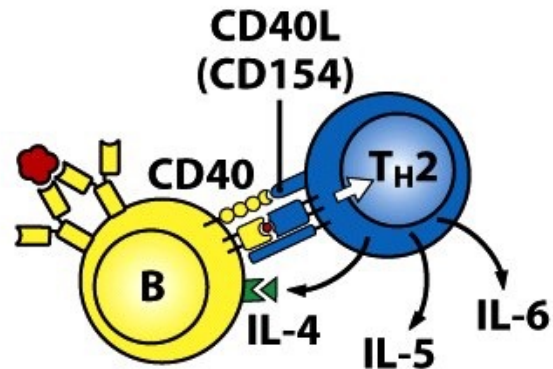


Proliferazione e differenziazione del linfocita B

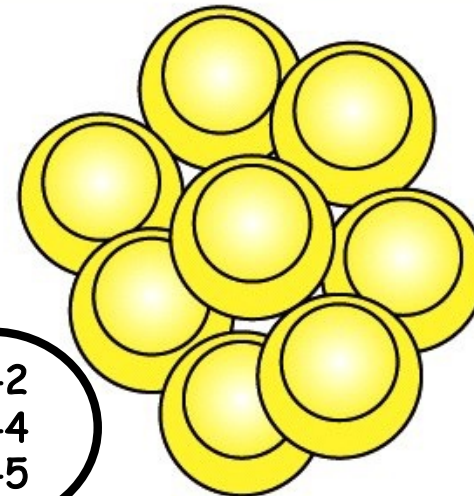


Il segnale del CD40 e le citochine promuovono la proliferazione dei linfociti B

Antigen recognition induces expression of effector molecules by the T cell, which activates the B cell



B-cell proliferation



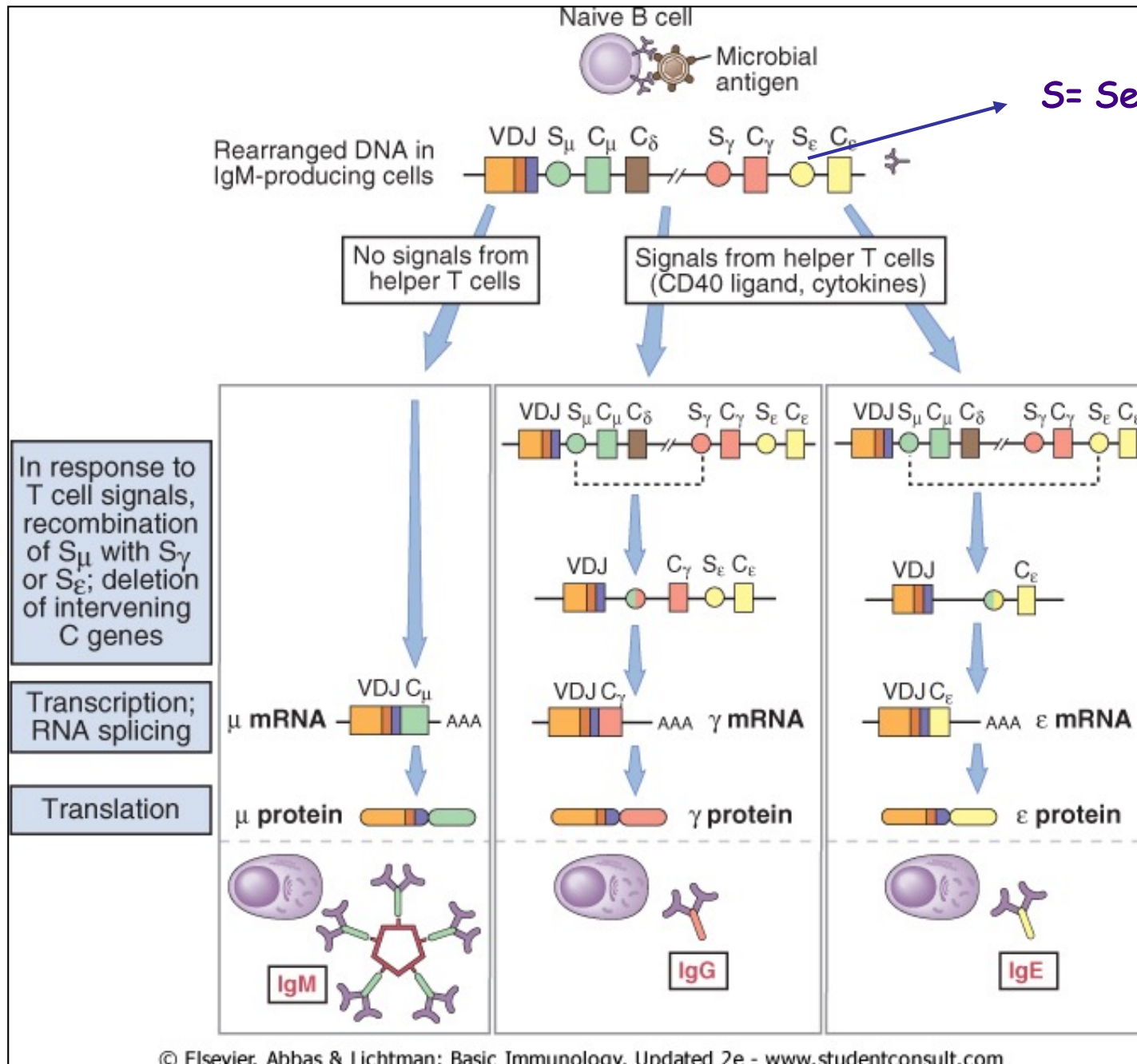
LE CITOCHINE SVOLGONO DUE FUNZIONI PRINCIPALI NELLA RISPOSTA ANTICORPALE

- 1° forniscono dei circuiti di amplificazione potenziando la proliferazione dei linfociti B
- 2° regolano lo scambio isotipico

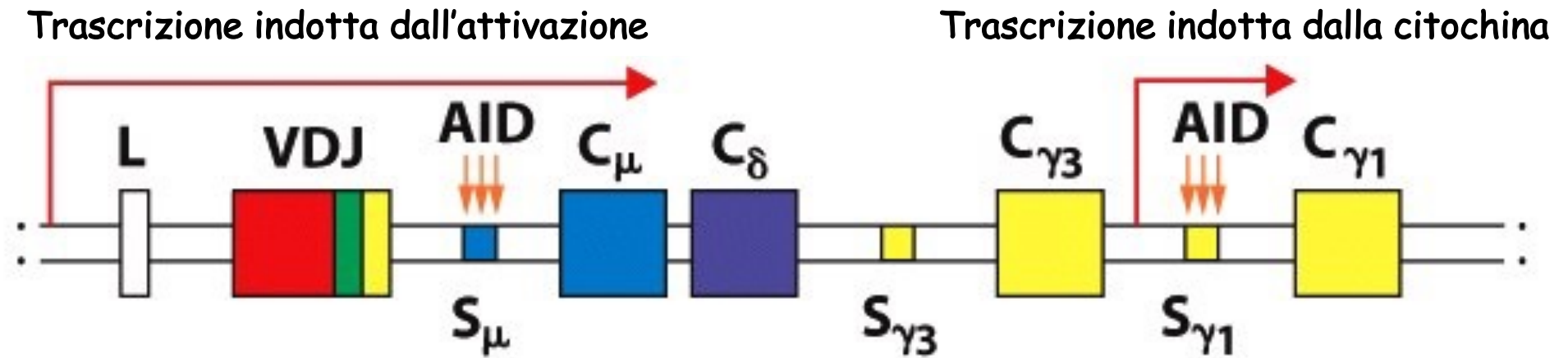
Lo scambio isotipico: ricombinazione dei geni C delle catene pesanti

S= Sequenze di scambio

Lo scambio isotipico è regolato da eventi di ricombinazione promossi da sequenze di scambio (S)

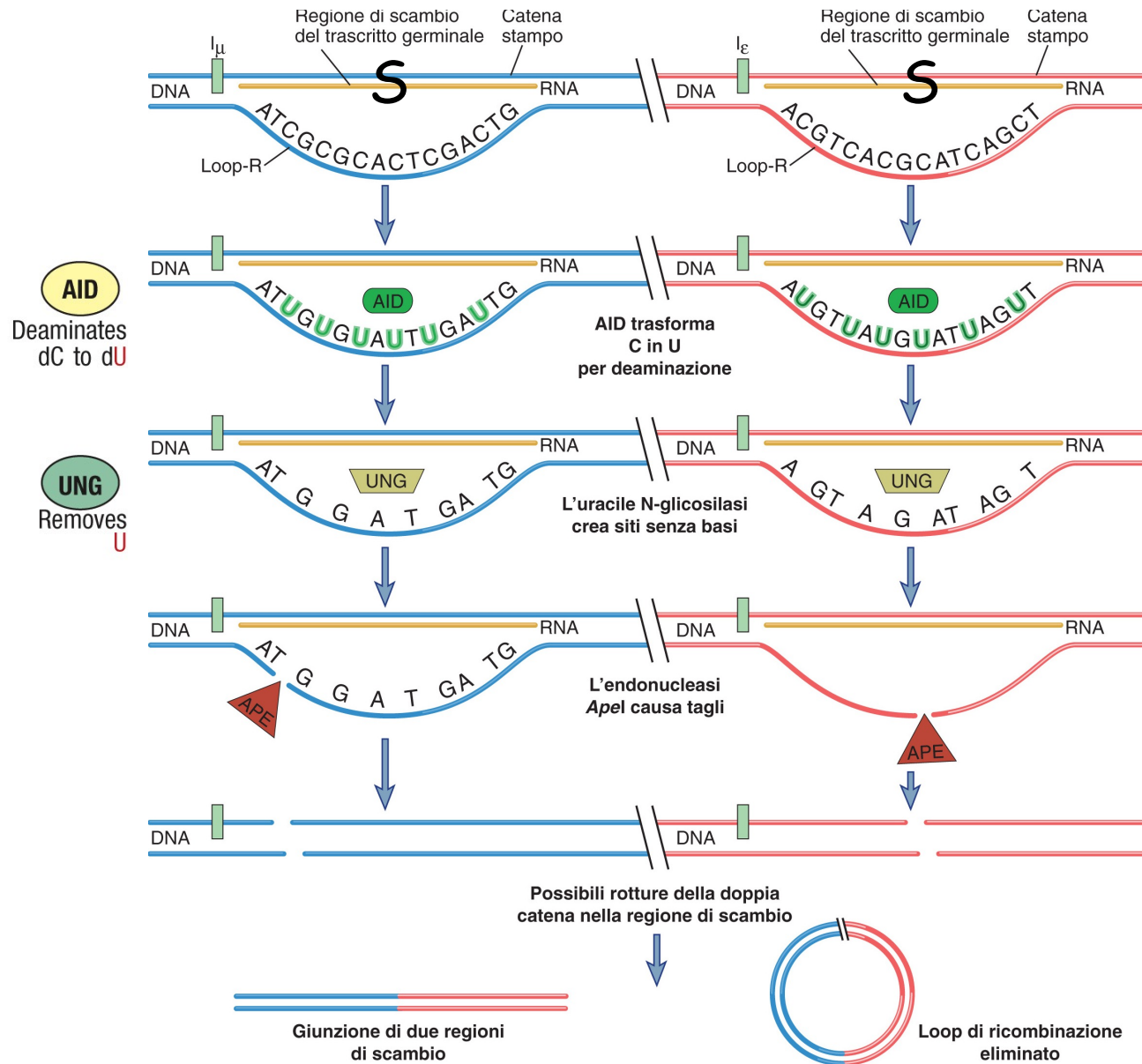


Le regioni S (1-10kb) contengono numerose sequenze di DNA ricche di CG ripetute in tandem e si trovano a monte di ogni gene C tranne del gene C δ



La trascrizione rende accessibili le regioni S all'enzima AID (Activation Induced Deaminase)

MECCANISMO D'AZIONE DI AID (Activation-Induced Deaminase)



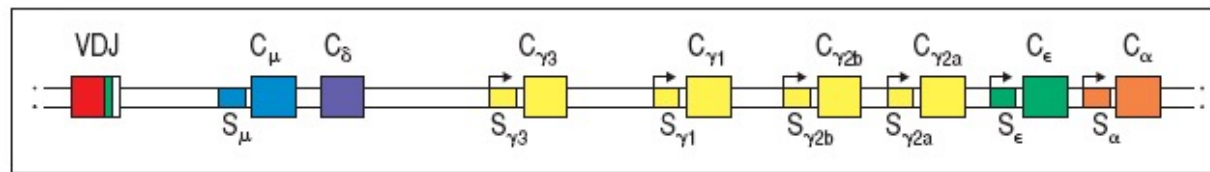
A monte della regione S inizia la trascrizione e si formano anse di DNA a singola catena a livello delle quali può agire **AID**

AID catalizza la deaminazione della Citosina in Uracile

UNG (Uracile N-Glicosilasi) Rimuove l'Uracile generando siti privi di basi azotate..

..riconosciuti dall'endonucleasi **APE** che genera dei tagli

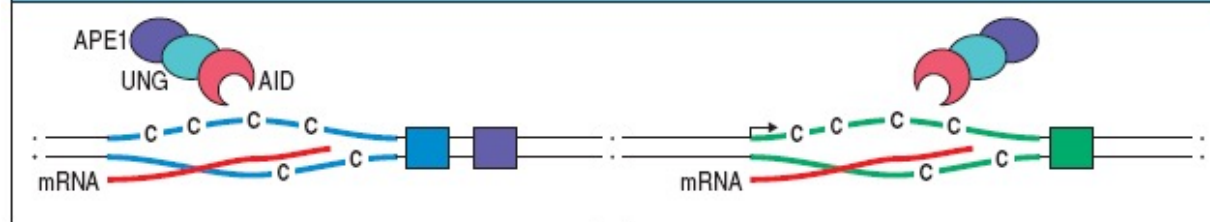
Dopo il distacco della polimerasi **AID**, **UNG** e **APE** creano tagli anche sul secondo filamento



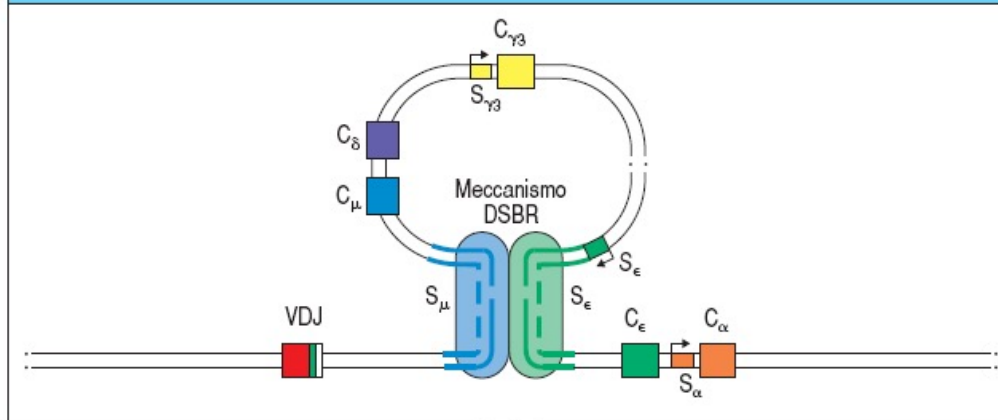
La trascrizione nella regione di scambio è iniziata dall'attivazione del promotore a monte



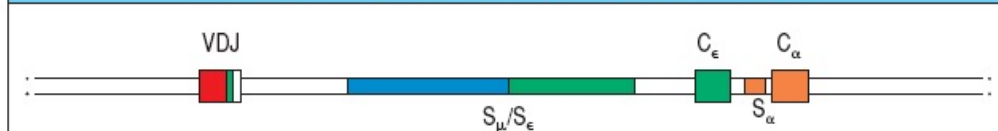
AID, UNG, e APE1 introducono intaccature in gruppi su entrambi i filamenti di DNA



Il meccanismo DSBR unisce le due regioni di scambio e taglia le sequenze interposte



La regione costante selezionata è ora posta vicino alla regione VDJ



MECCANISMI MOLECOLARI dello SCAMBIO ISOTIPICO

Further rearrangement may occur

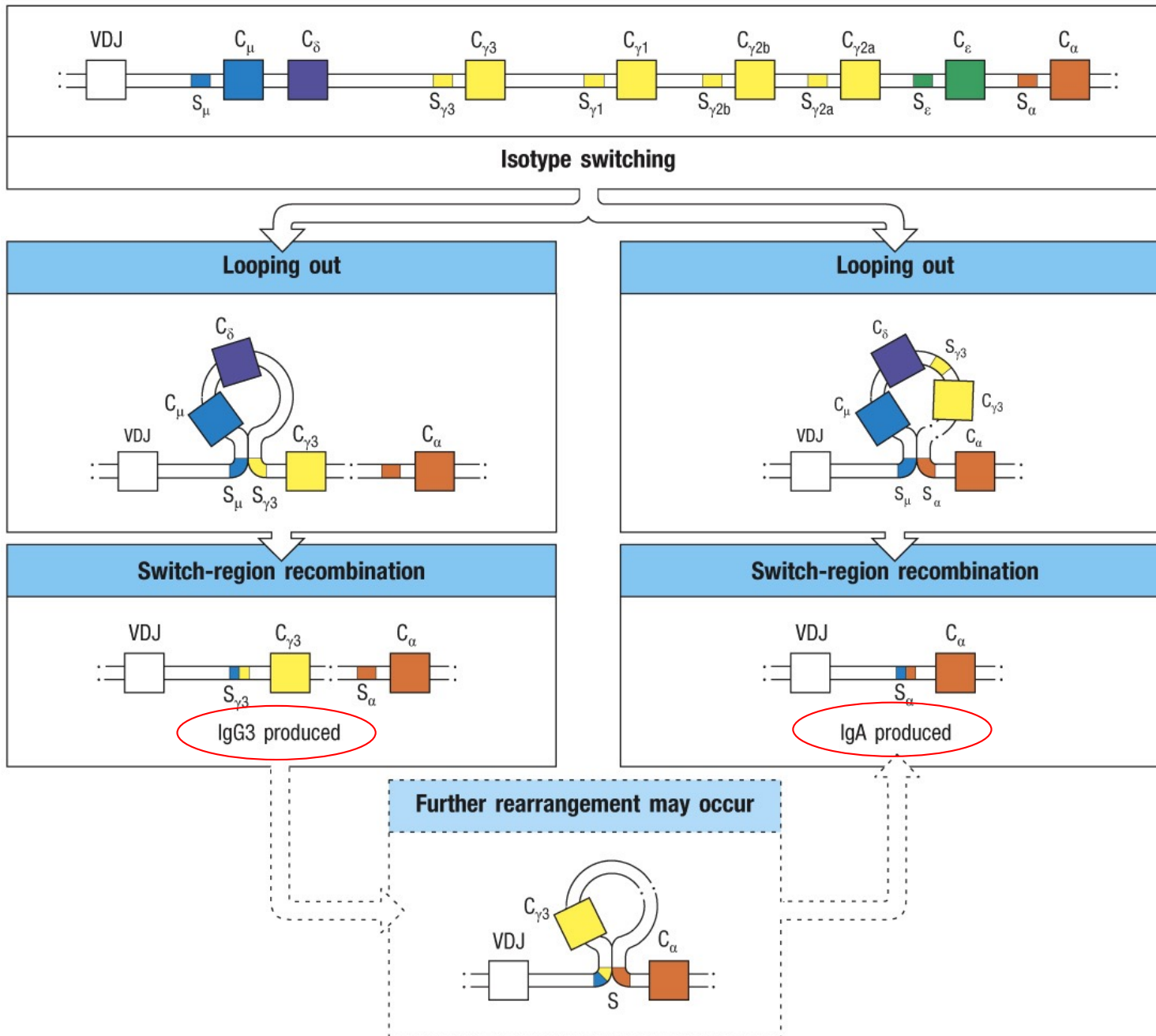
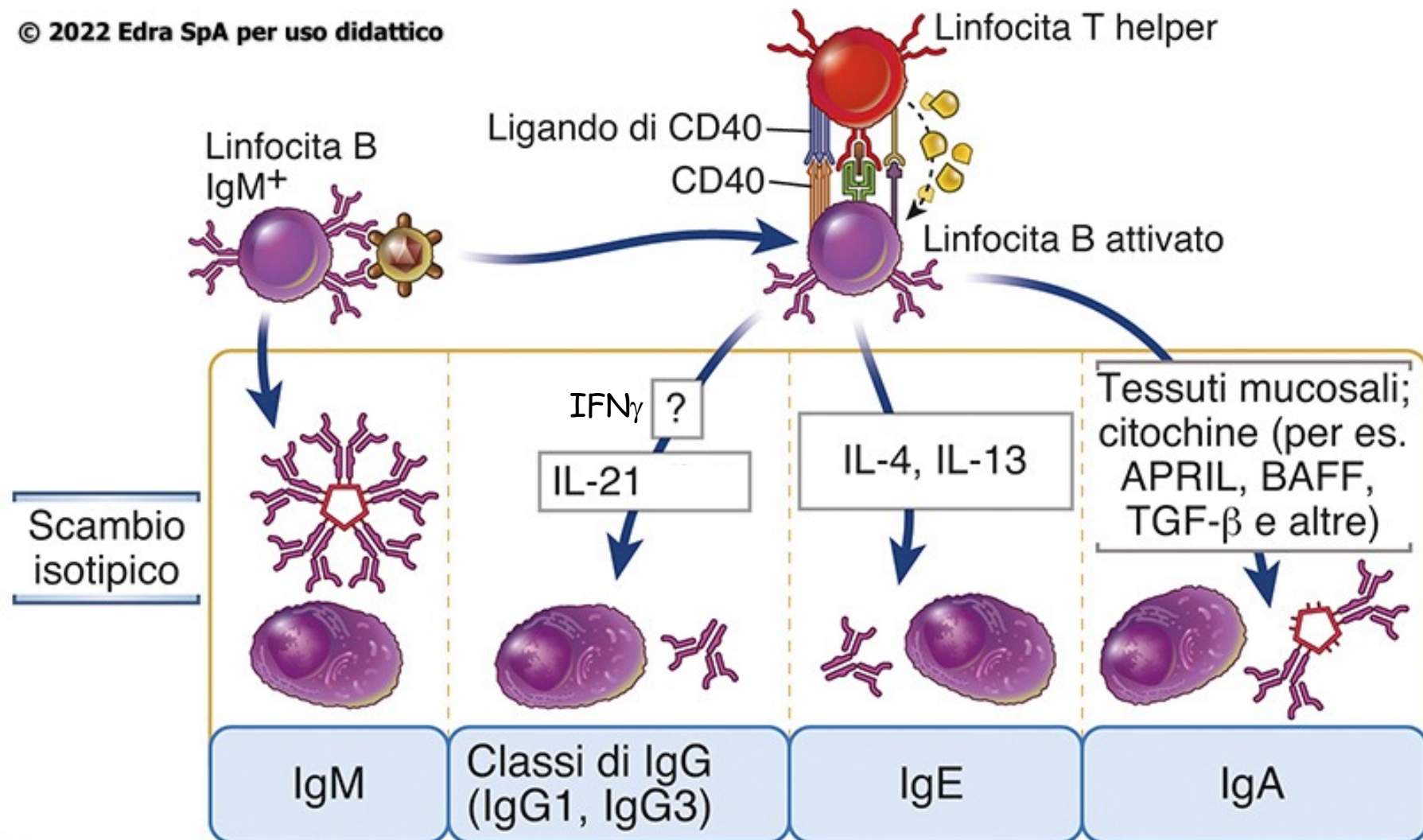


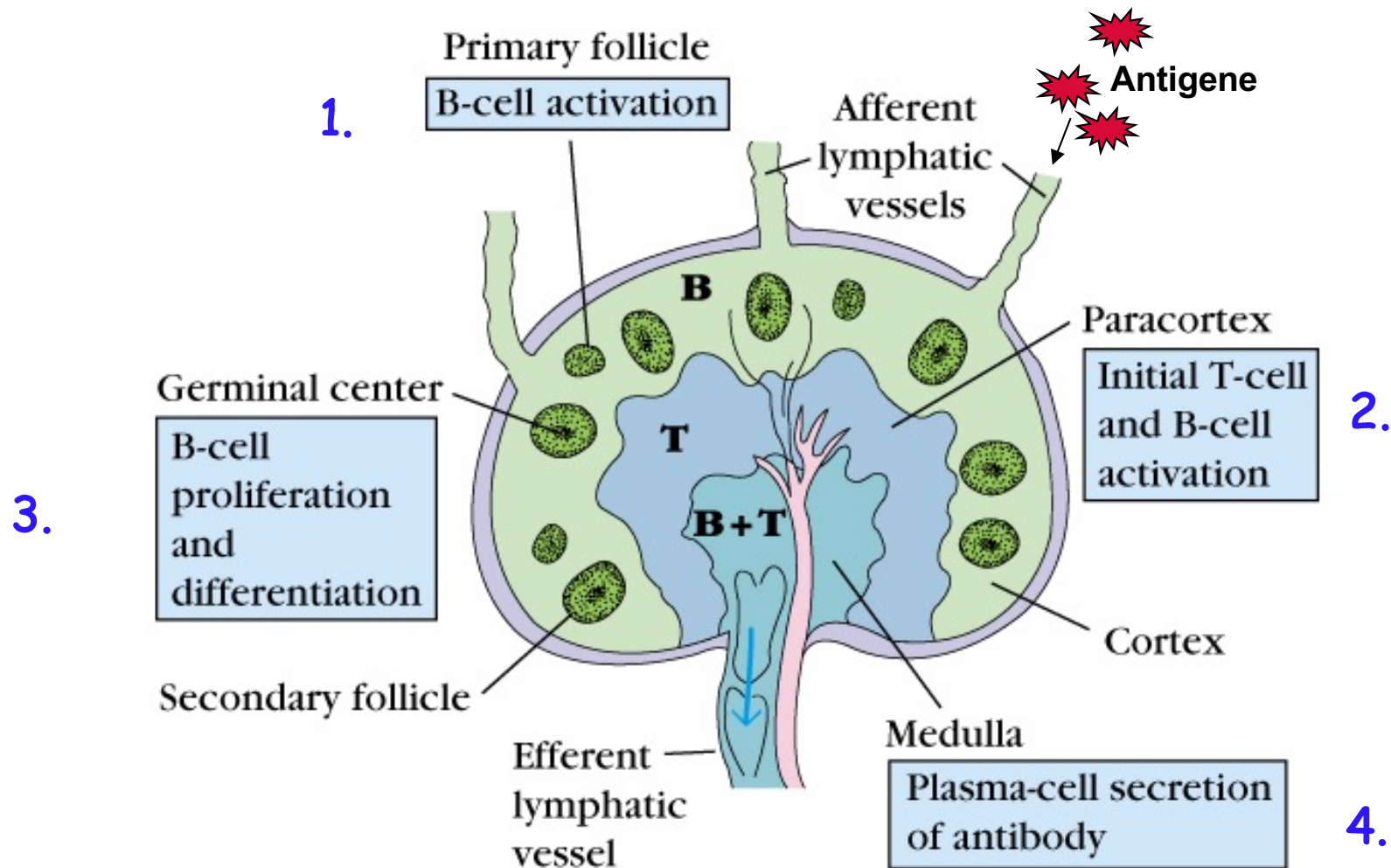
Figure 2.2 Case Studies in Immunology, 7th ed. (© Garland Science 2016)

Scambio isotipico delle catene pesanti delle immunoglobuline

© 2022 Edra SpA per uso didattico

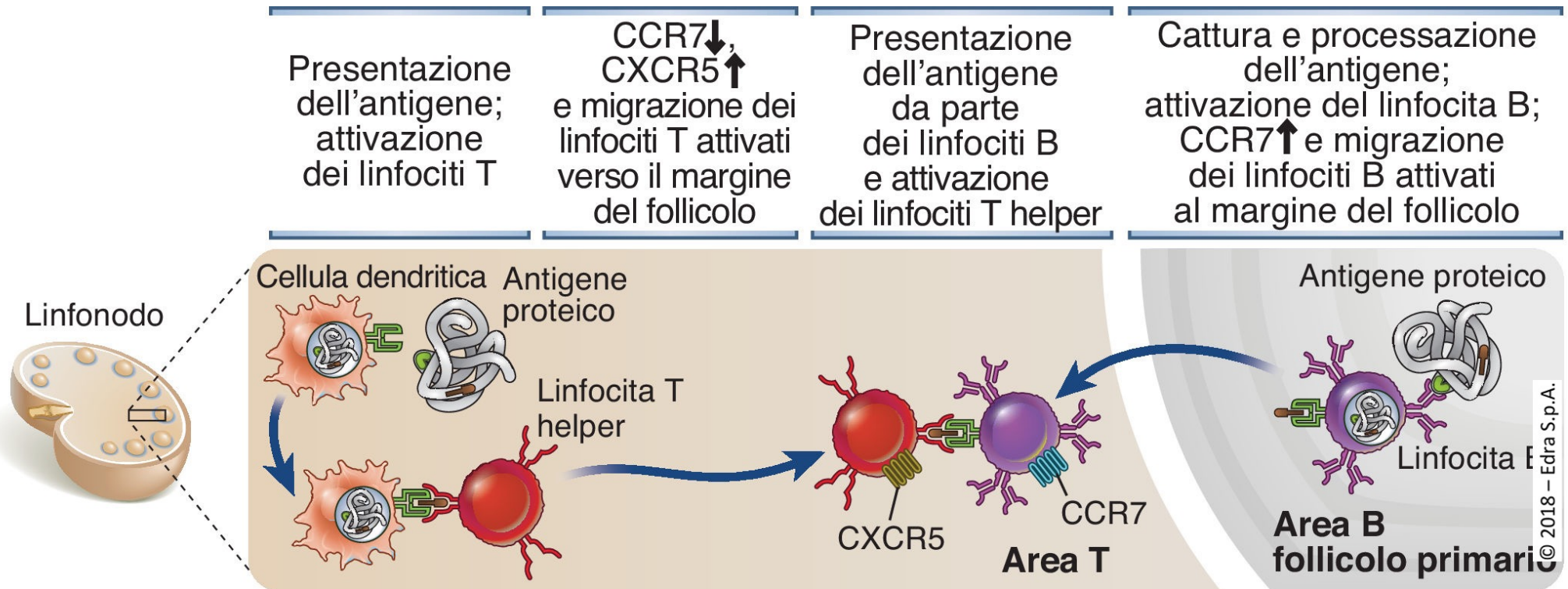


Rappresentazione schematica di un linfonodo



- **CCR7** è il recettore espresso dai T e lega le chemochine CCL19 e CCL21
- **CXCR5** è il recettore espresso dai B e lega la chemochina CXCL13

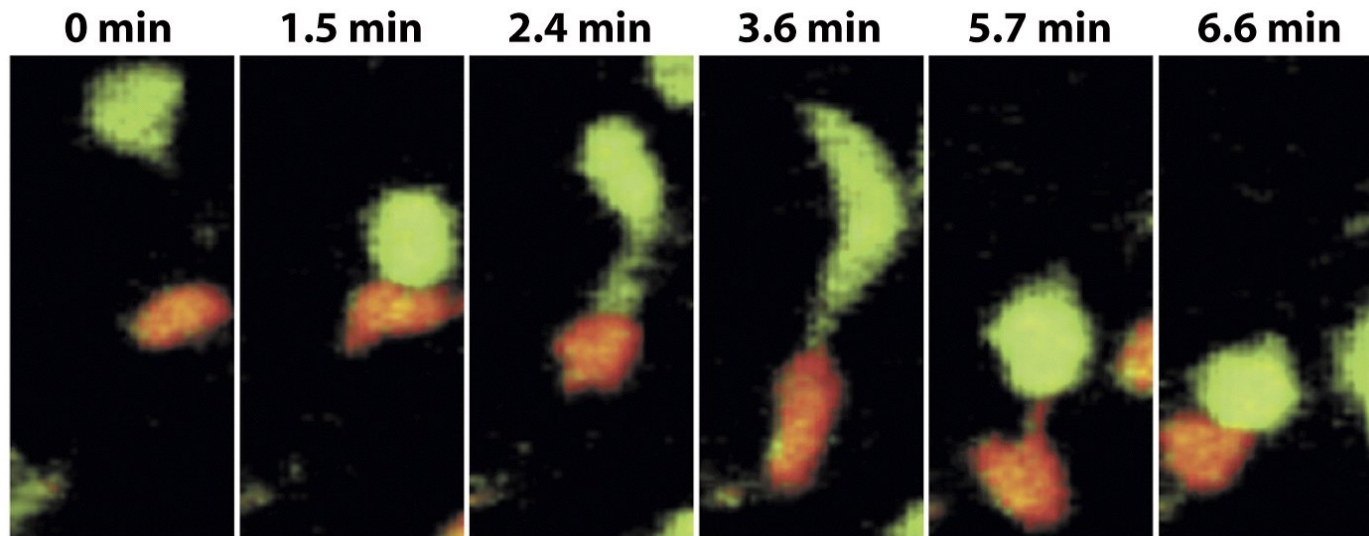
I linfociti T e B attivati dal riconoscimento dell'antigene proteico si incontrano nella zona di confine ...



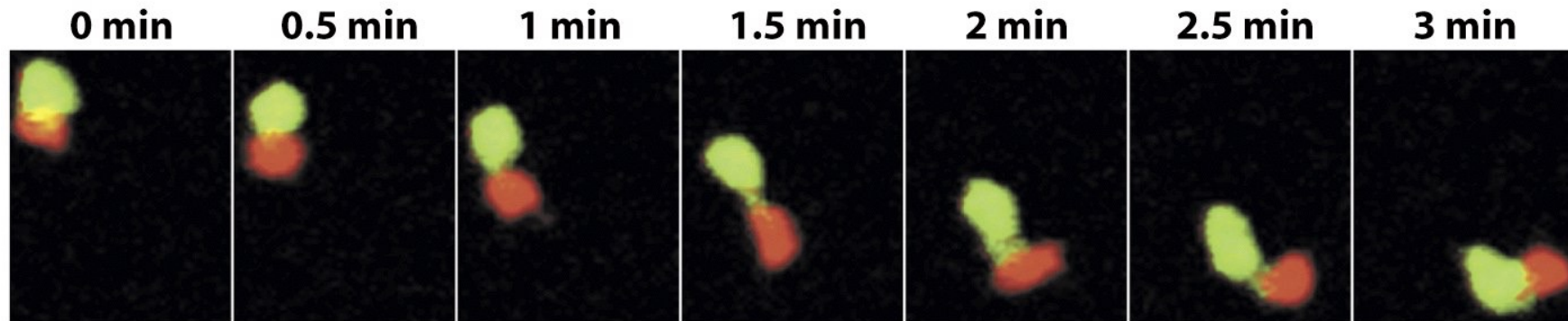
... e si scambiano informazioni reciproche che le rendono competenti a svolgere al meglio le loro funzioni effettrici

In vivo formation and movement of B (red) and T helper (green) cells

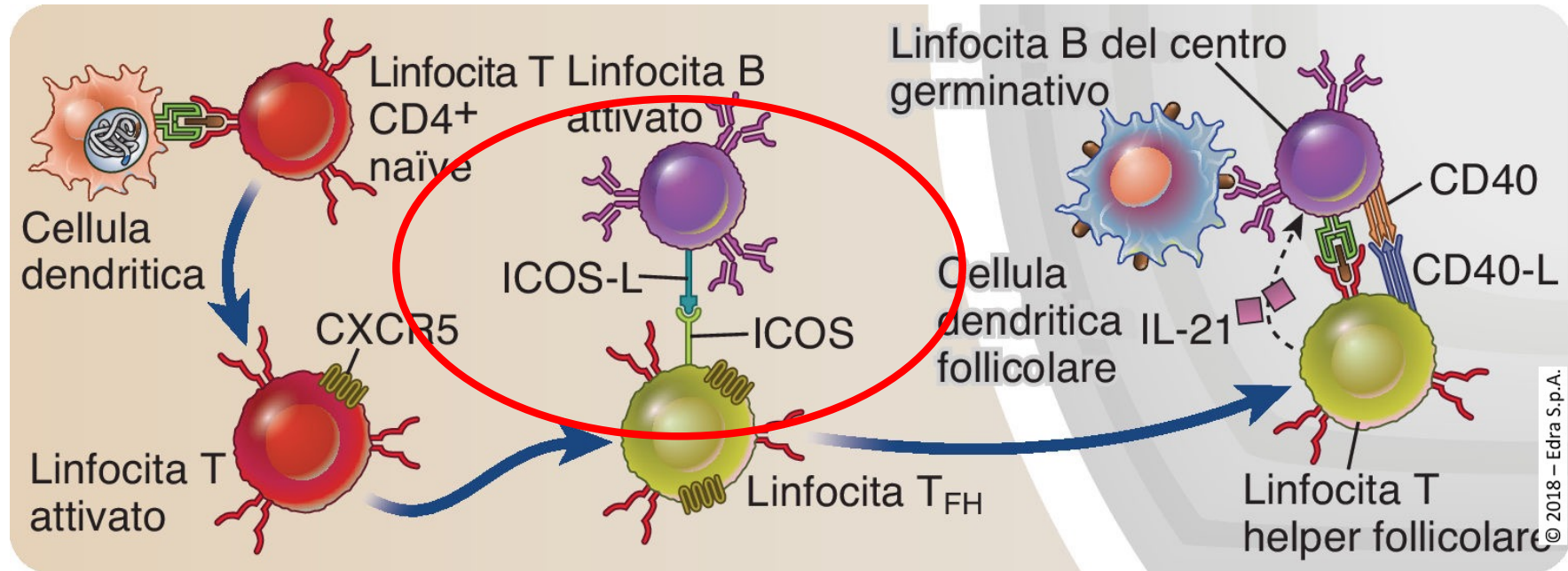
In vivo formation of T-B conjugate



In vivo movement of T-B conjugate

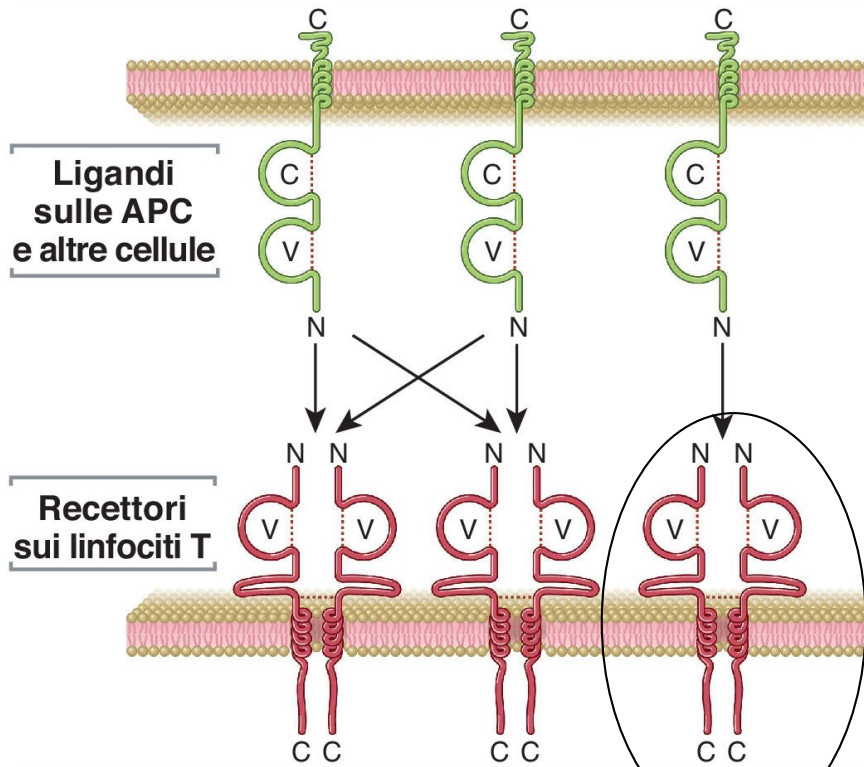


Il differenziamento in linfociti T helper follicolari richiede un segnale co-stimolatorio indotto dal recettore ICOS



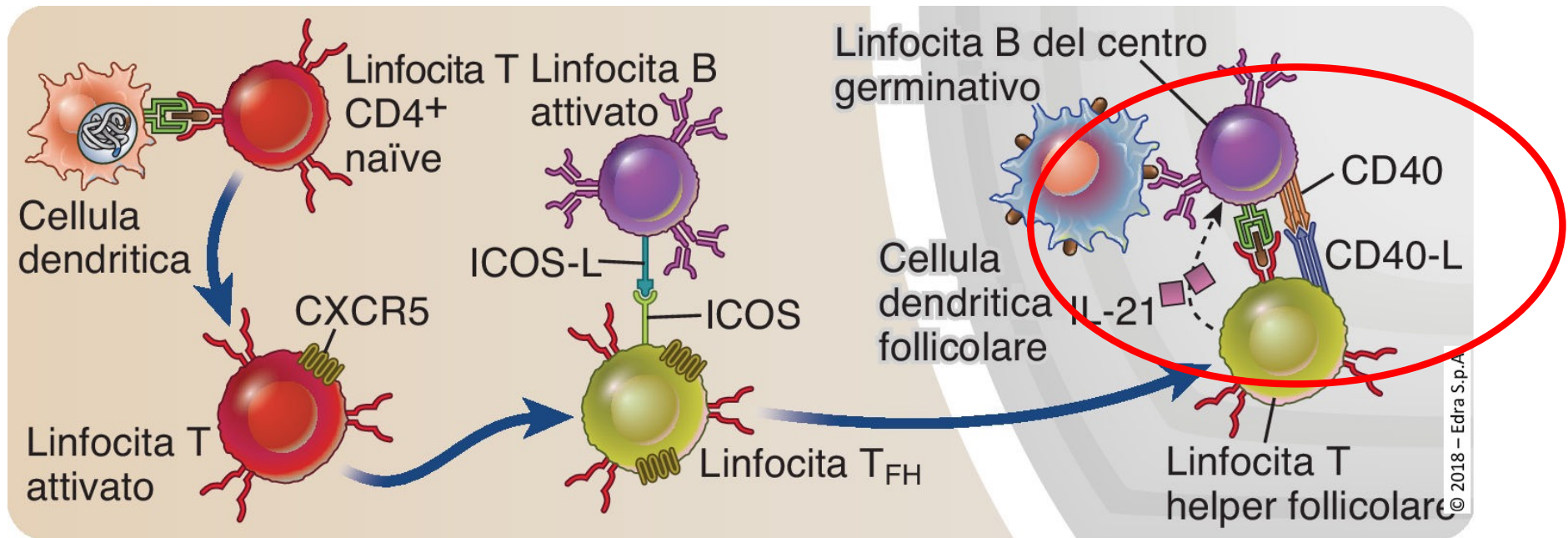
ICOS è un recettore co-stimolatorio dei linfociti T che appartiene alla stessa famiglia del CD28

Espressione	DC; macrofagi, linfociti B	DC; macrofagi, linfociti B, altre cellule	
Nome	B7-1 (CD80)	B7-2 (CD86)	ICOS-L (CD275)



Nome	CD28	CTLA-4	ICOS
Espressione sui linfociti T	Linfociti T naïve	Linfociti T regolatori e T linfociti attivati	Linfociti T attivati; linfociti T helper follicolari (T _{FH})
Funzione principale	Attivazione linfociti T naïve; attivazione della risposta immunitaria	Inibizione attivazione linfociti T	Generazione di linfociti T helper follicolari

I coniugati T/B migrano insieme all'interno del follicolo e la loro cooperazione continua



I segnali indotti da CD40 e da IL-21 sono necessari per la formazione del centro germinativo, un microambiente specializzato per la produzione di anticorpi ad alta affinità

CONSEGUENZE FUNZIONALI DEL SEGNALE TRASDOTTO NEI LINFOCITI B DAL CD40

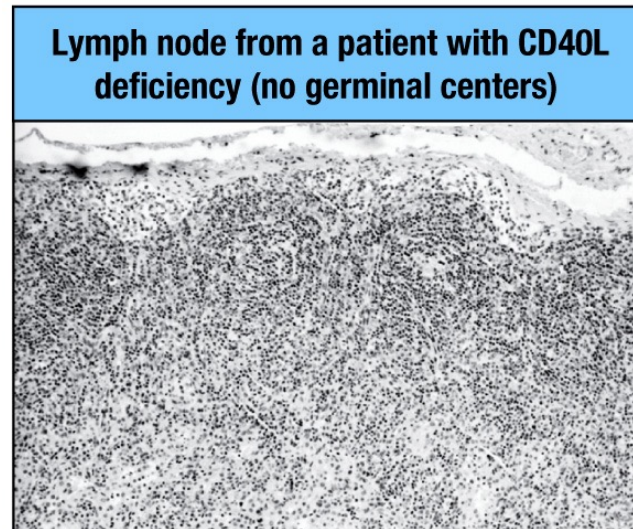
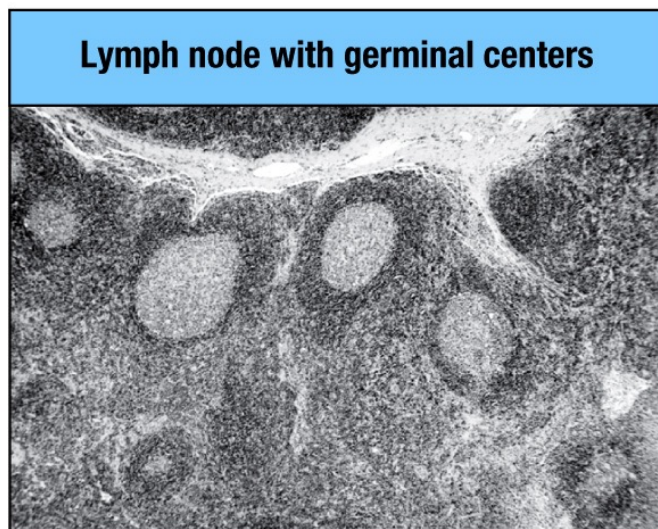
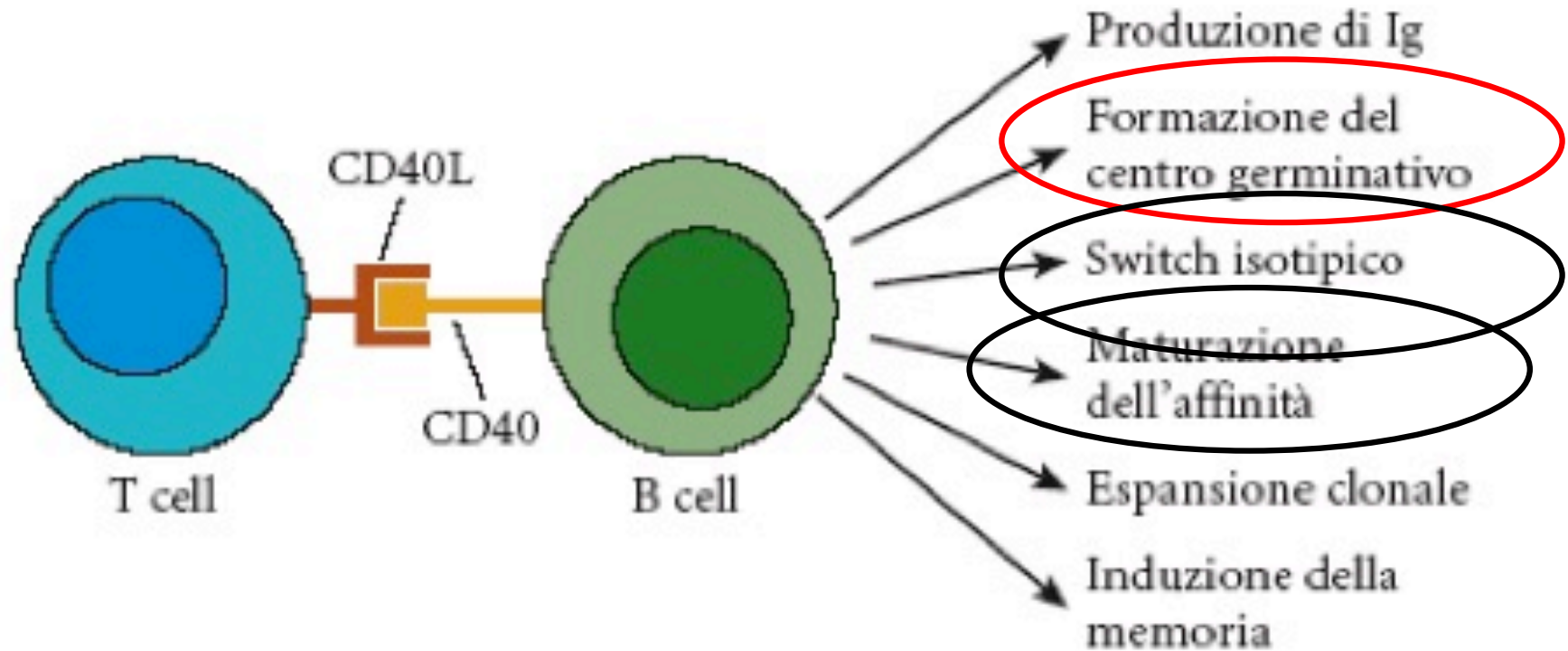


Figure 2.6 Case Studies in Immunology, 7th ed. (© Garland Science 2016)

IL CENTRO GERMINATIVO

Attivazione e migrazione dei linfociti B nel centro germinativo



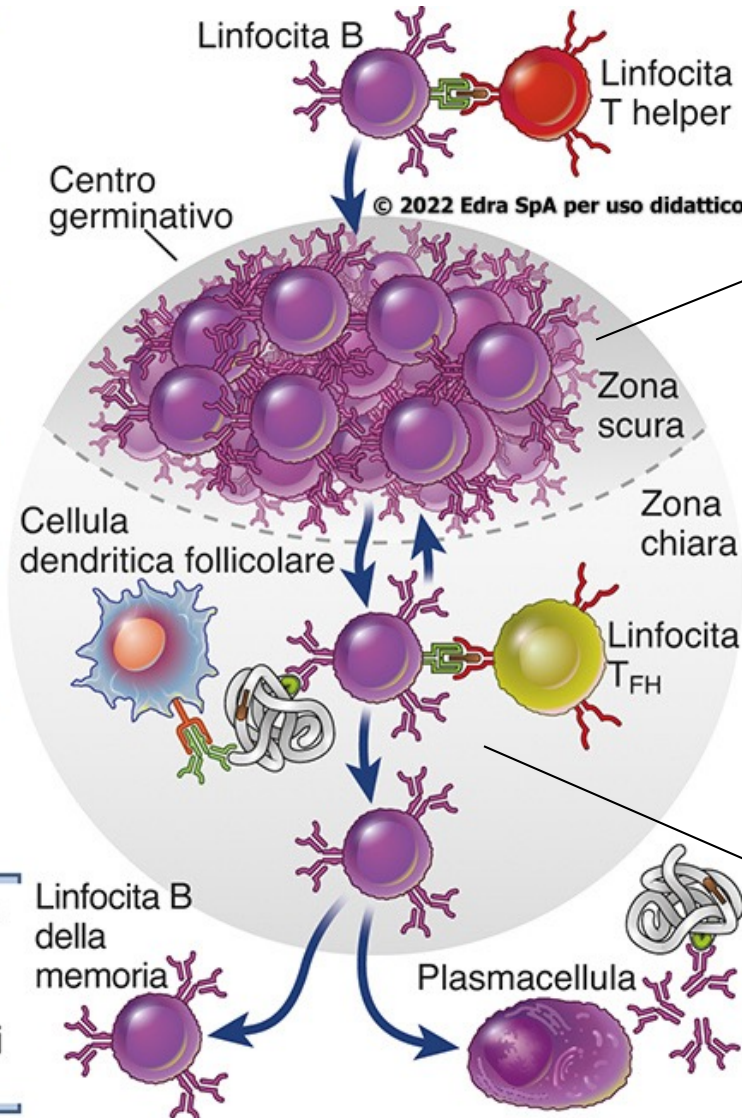
Proliferazione e ipermutazione somatica dei linfociti B



Selezione dei linfociti B ad alta affinità; scambio di classe

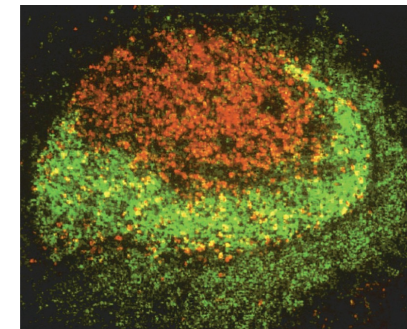


Fuoriuscita di cellule B della memoria e di cellule B che producono anticorpi con alta affinità



Centroblasti
si dividono ogni 6-12 ore

Un linfocita B → 5000 cellule in < 5g



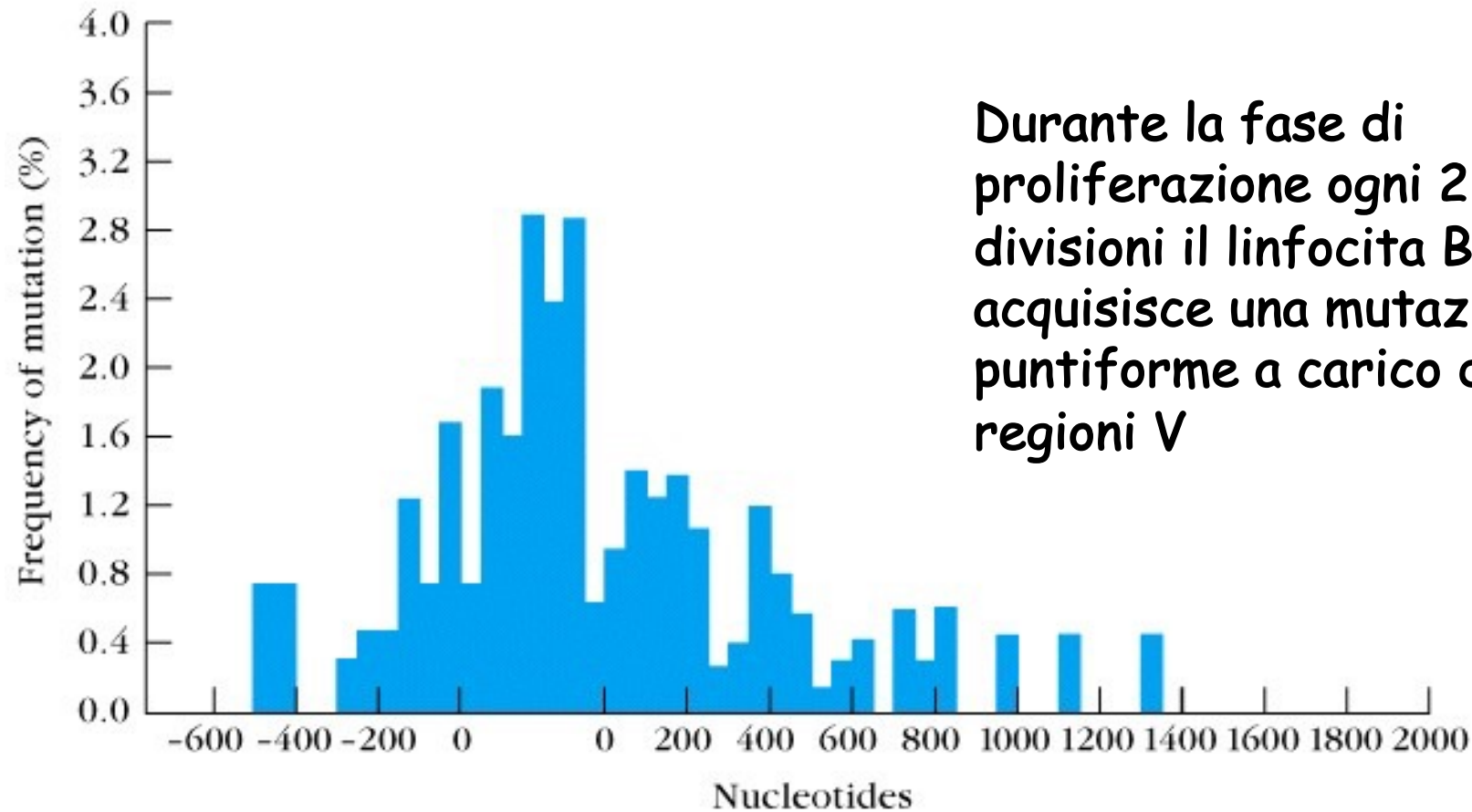
Centroblasti

Centroцити

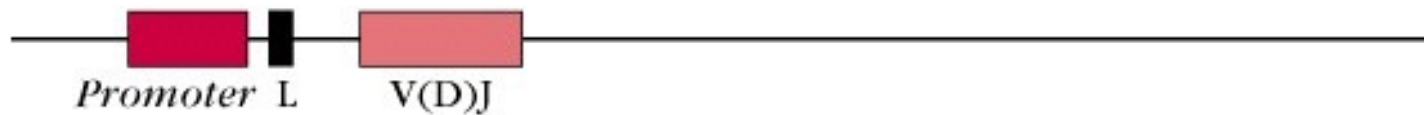
Cellule dendritiche Follicolar (FDC)i

Centroцити

L'IPERMUTAZIONE SOMATICA



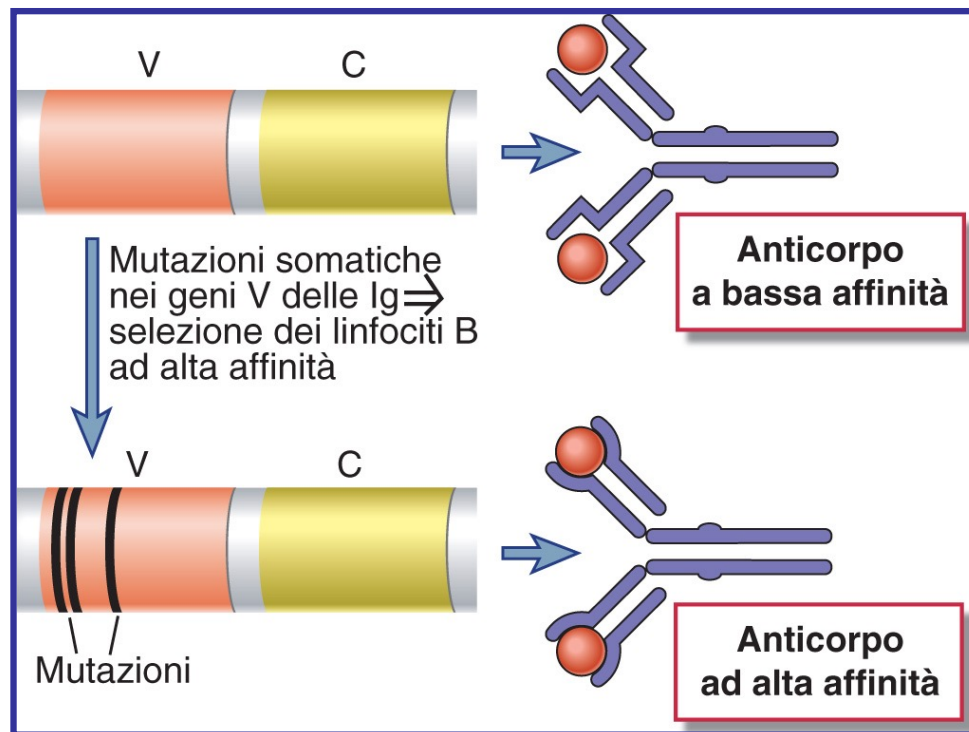
Durante la fase di proliferazione ogni 2 divisioni il linfocita B acquisisce una mutazione puntiforme a carico delle regioni V



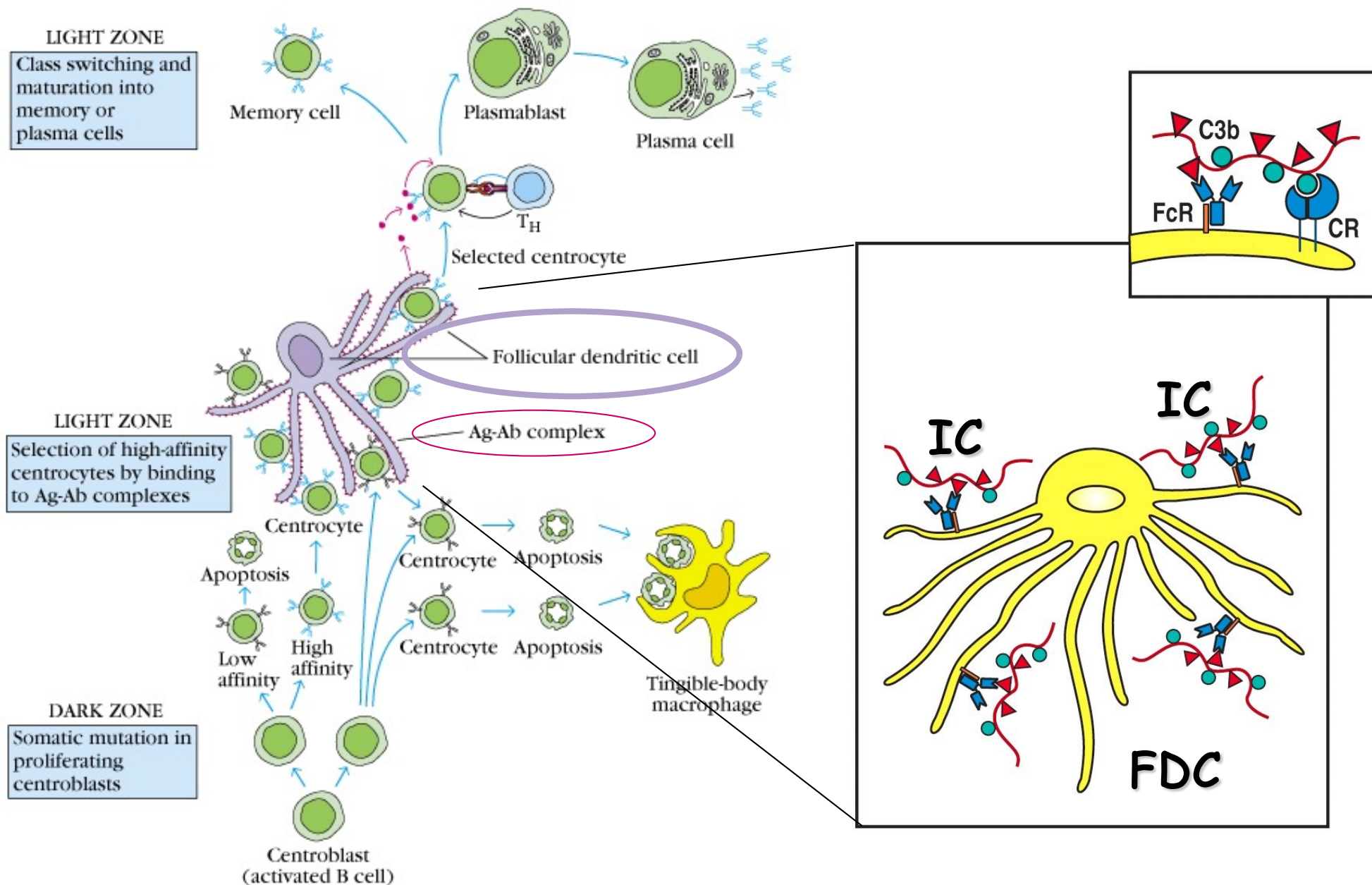
Le mutazioni sono più numerose nelle regioni CDR !

L'IPERMUTAZIONE SOMATICA

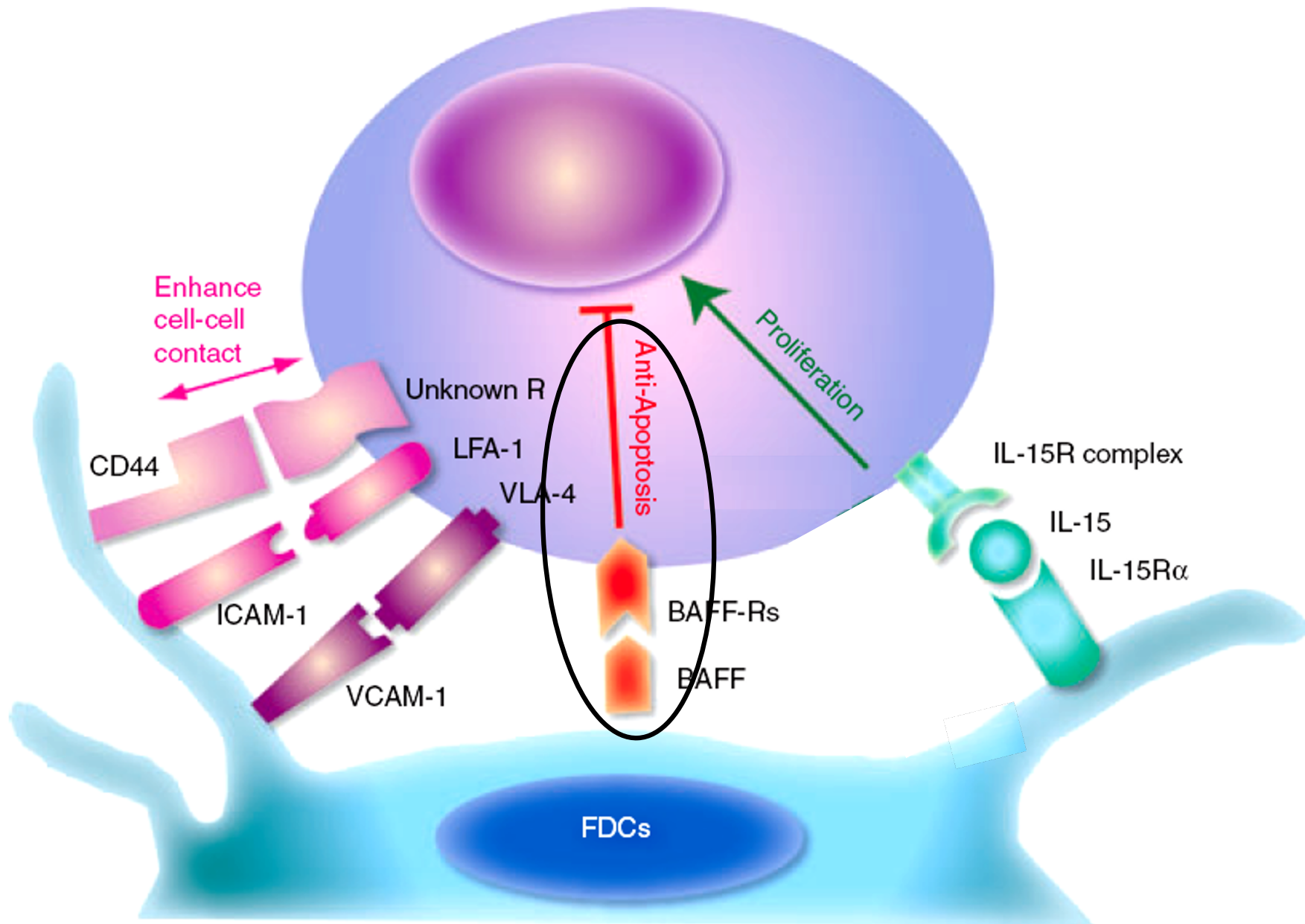
- Avviene durante le divisioni mitotiche del linfocita B attivato dall'antigene (centroblasta)
- Le mutazioni non sono distribuite in maniera casuale, ma concentrate nei geni riarrangiati V(D)J
- Il risultato è la formazione di centrociti con recettori dotati di affinità diverse per l'antigene
- Tra questi verranno selezionati quelli più affini per l'antigene (maturazione dell'affinità)



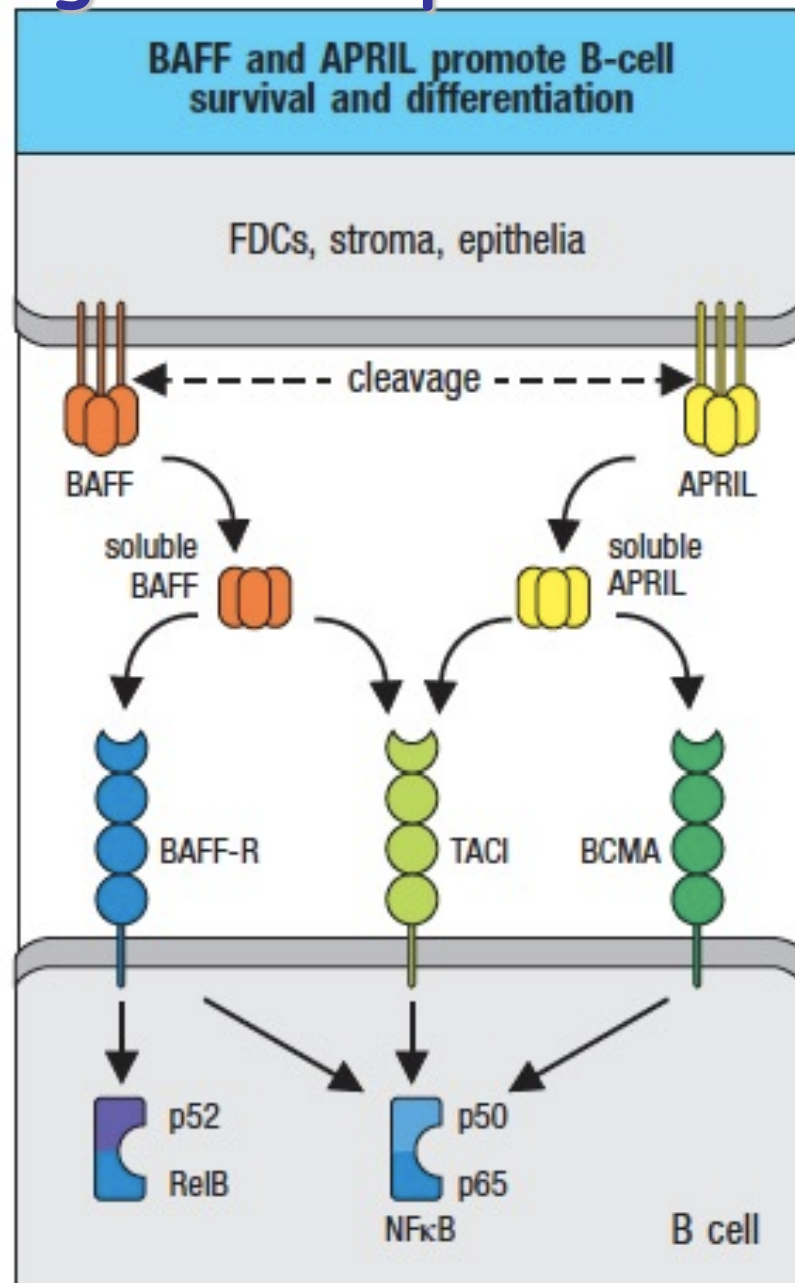
Le cellule dendritiche follicolari selezionano i linfociti B ad alta affinità = maturazione dell'affinità



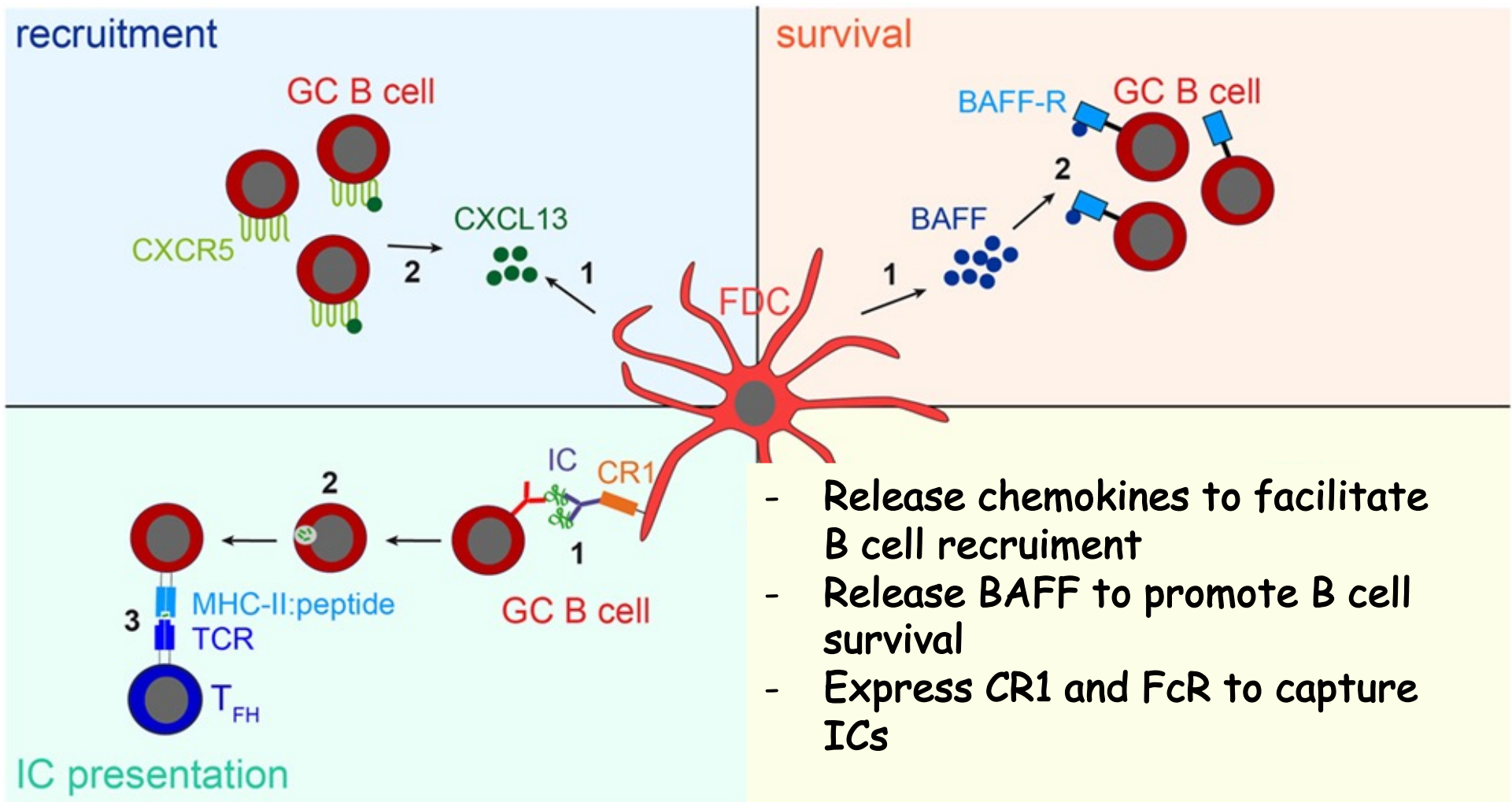
Le cellule follicolari dendritiche (FDC) promuovono la proliferazione e la sopravvivenza dei linfociti B selezionati



Le cellule dendritiche follicolari forniscono segnali di sopravvivenza

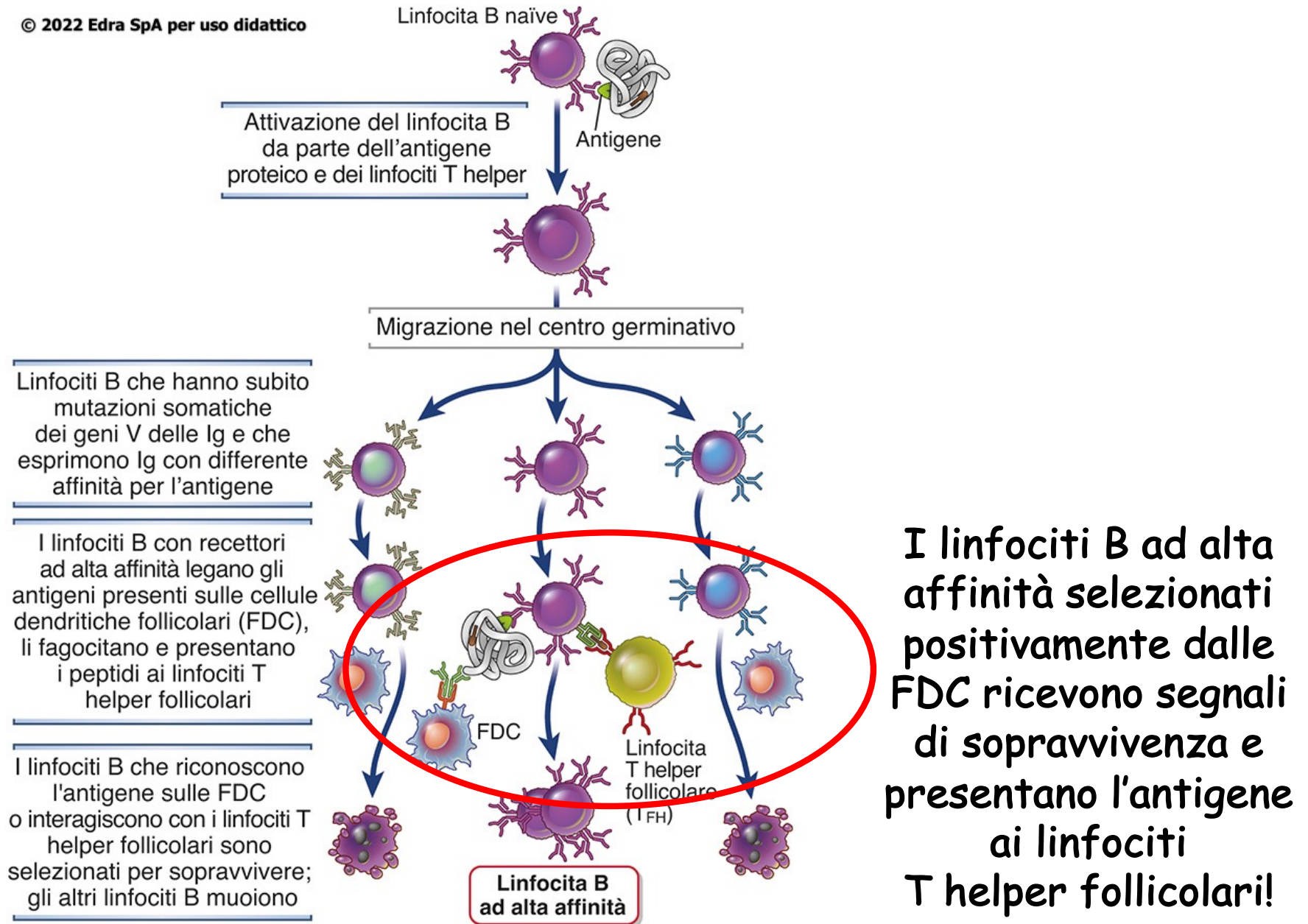


FDC influence on B cell differentiation

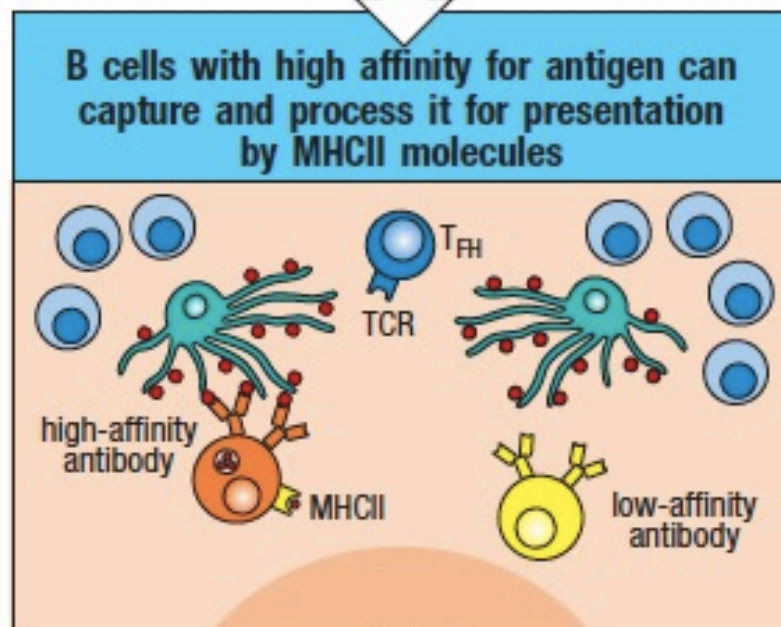
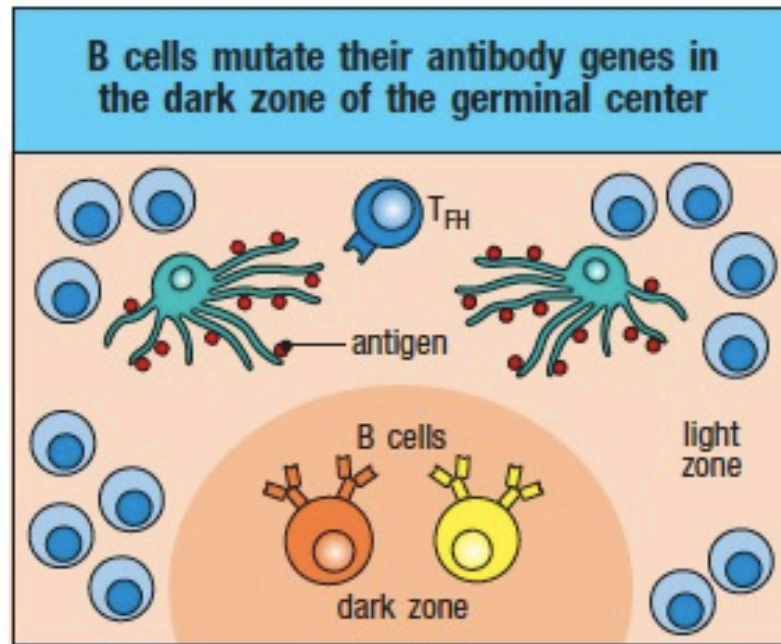


I linfociti T_{FH} partecipano alla selezione positiva dei linfociti B ad alta affinità

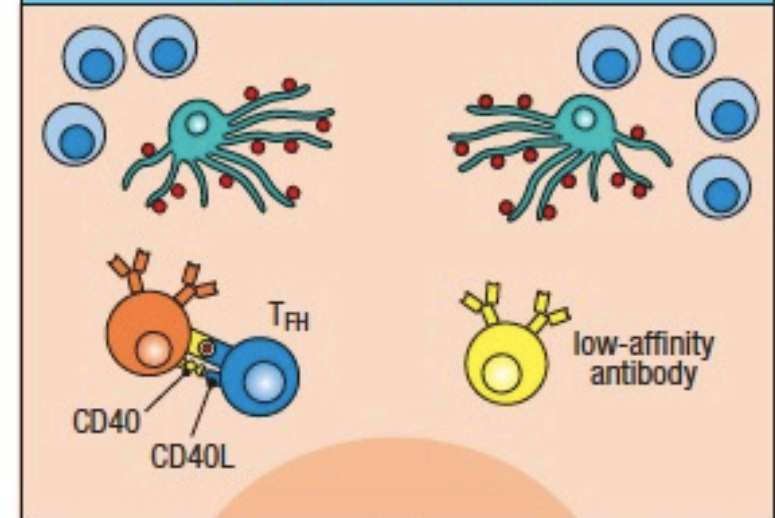
© 2022 Edra SpA per uso didattico



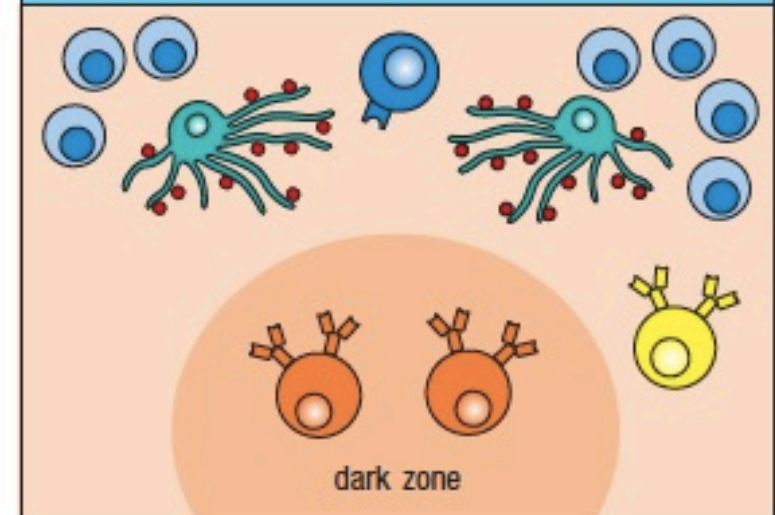
La maturazione dell'affinità è il risultato di ripetuti eventi di mutazione e selezione



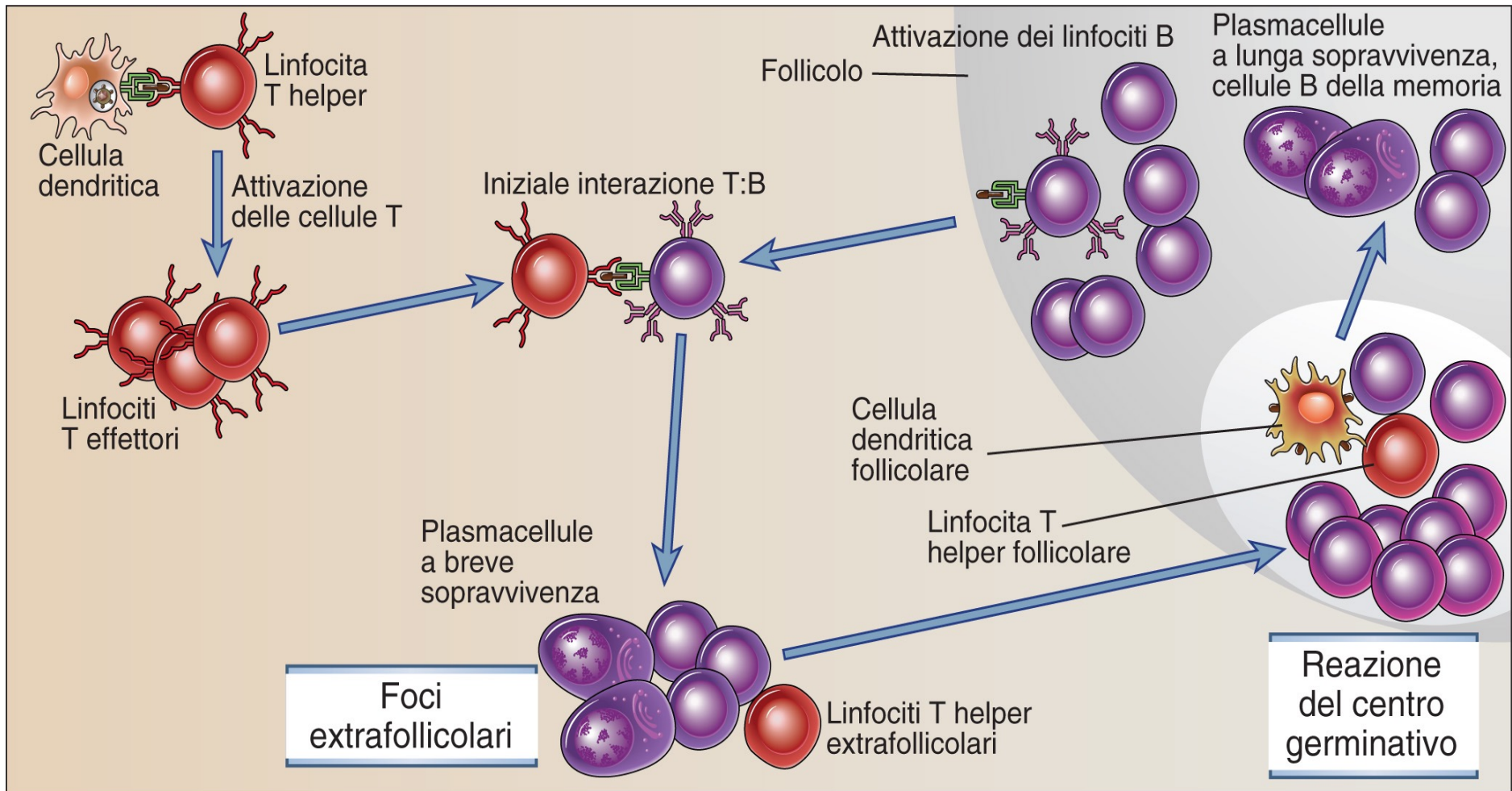
B cells that can present antigens to T_{FH} cells will receive survival and mitogenic signals via CD40 and cytokines



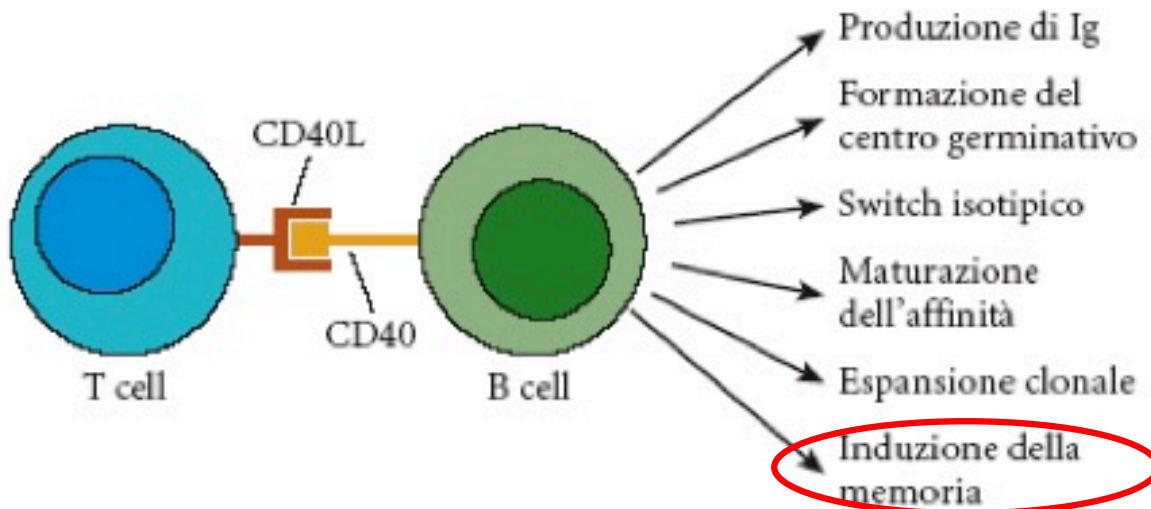
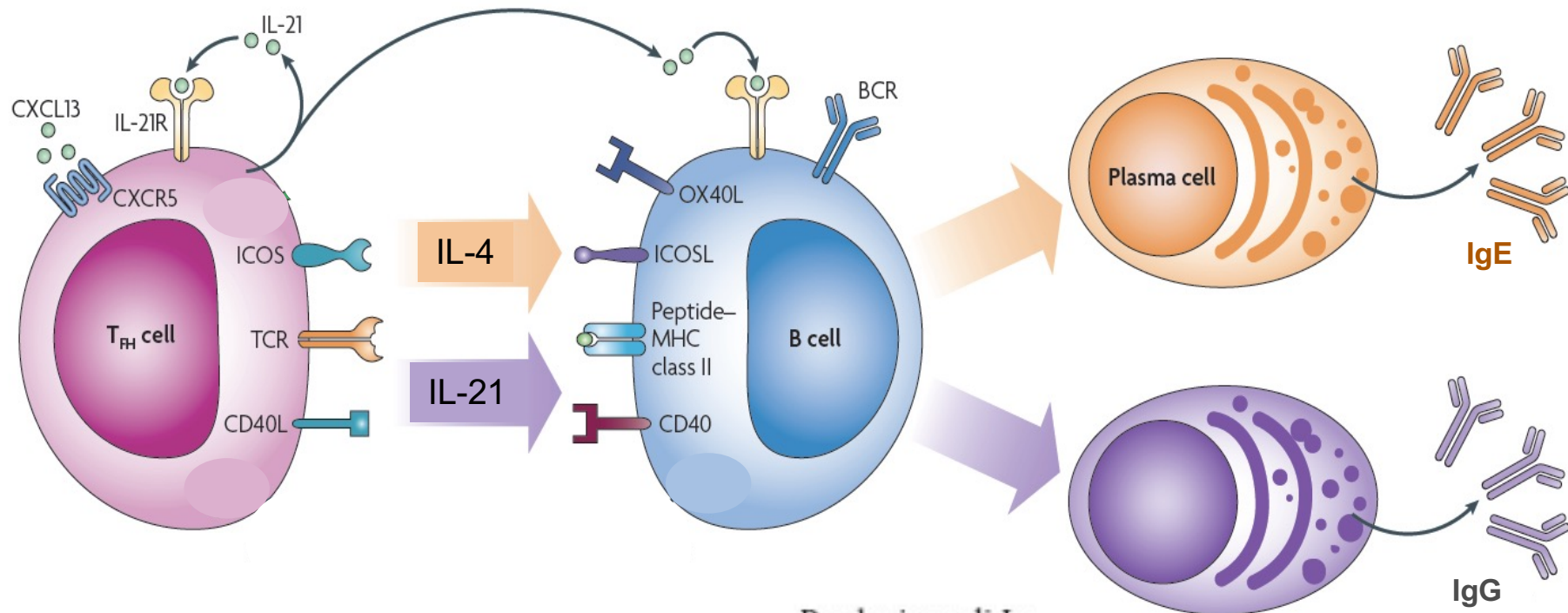
B cells that receive help from T_{FH} cells can reenter the dark zone to undergo additional mutations



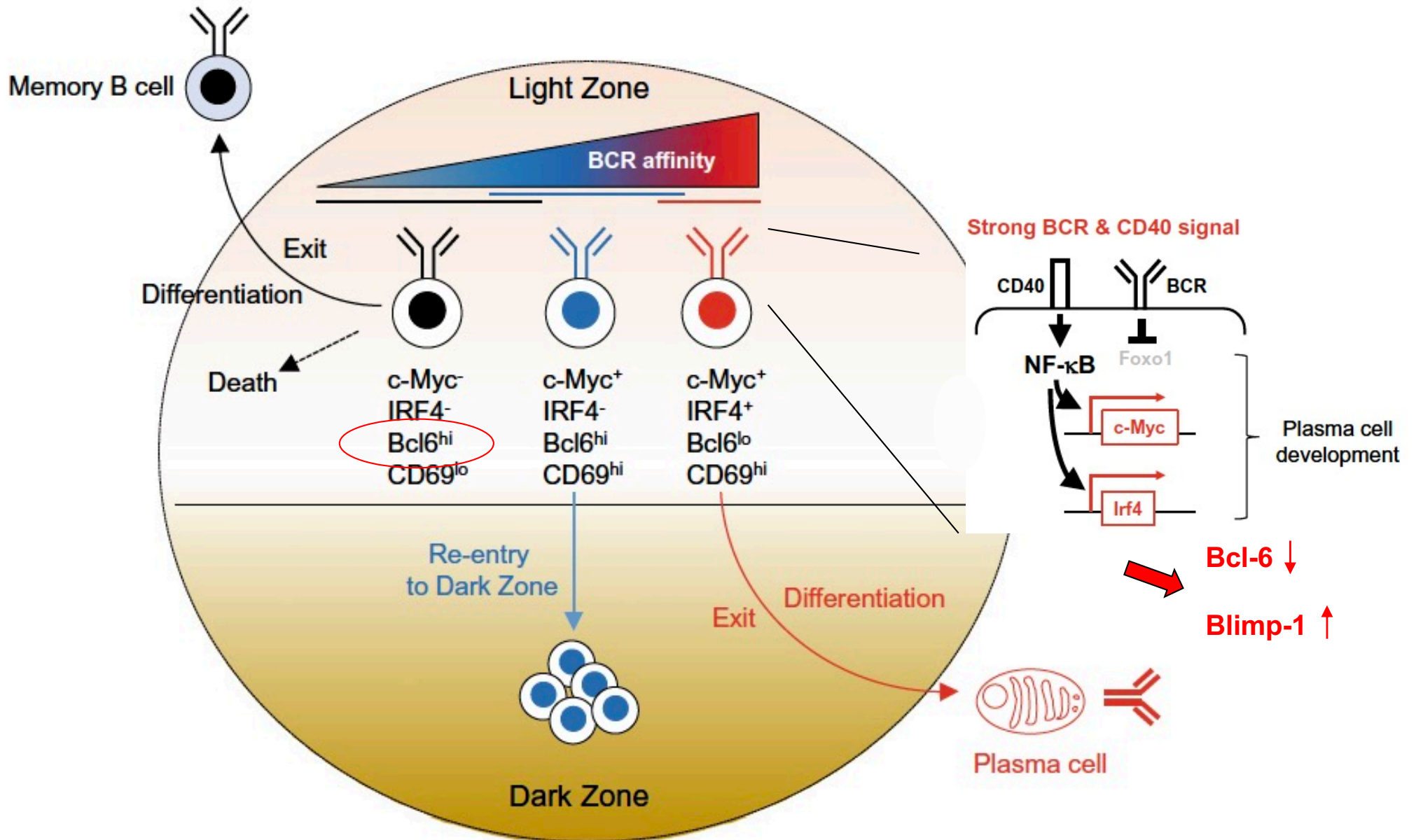
Eventi precoci e tardivi della risposta anticorpale timo dipendente



Lo scambio isotipico inizia nei foci extra-follicolari e prosegue nei CG ad opera dei linfociti_{FH}



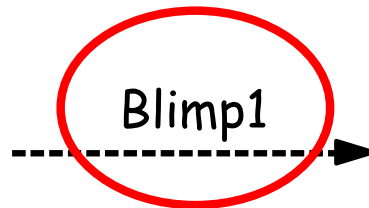
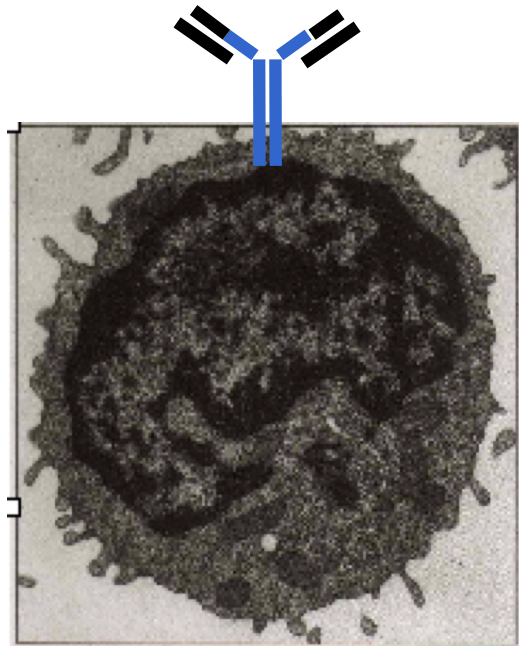
Diversi fattori trascrizionali controllano la formazione di plasmacellule e cellule B della memoria



Il fattore trascrizionale Blimp1 promuove il differenziamento in **plasmacellule**

Linfocita B

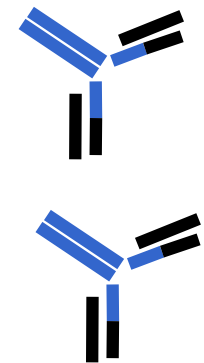
Ig di membrana



Plasmacellule

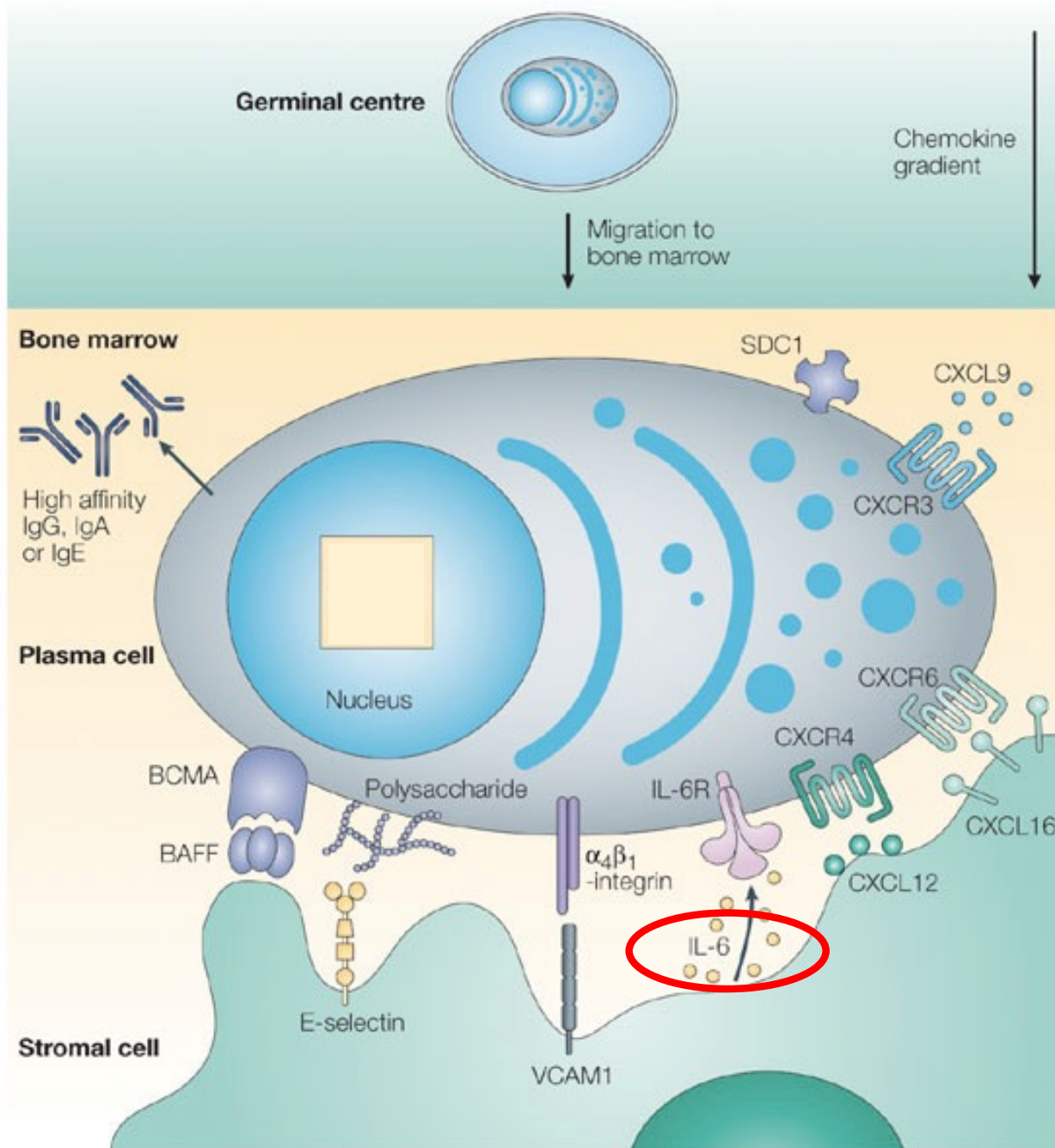


Ig secretoria





BLIMP1 = B-lymphocyte-induced maturation protein 1

Plasmacellule a lunga vita nel midollo osseo



Le plasmacellule perdono l'espressione di CXCR5 e acquisiscono quella del CXCR4 e guidate da chemochine quali CXCL12 raggiungono il midollo osseo dove possono vivere per mesi o anni

Caratteristiche delle plasmacellule

Proprietà						
Intrinseche				Inducibili		
Cellula della linea B	Ig di superficie	MHC di classe II di superficie	Secrezioni ad alta velocità di Ig	Crescita	Ipermutazione somatica	Switch isotipico
 Cellula B a riposo	Si	Si	No	Si	Si	Si
 Plasmacellula	No	No	Si	No	No	No

Caratteristiche dei linfociti B della memoria

TABLE 11-6 Comparison of naive and memory B cells		
Property	Naive B cell	Memory B cell
Membrane markers		
Immunoglobulin	IgM, IgD	IgM, IgD(?), IgG, IgA, IgE
Complement receptor	Low	High
Anatomic location	Spleen	Bone marrow, lymph node, spleen
Life span	Short-lived	May be long-lived
Recirculation	Yes	Yes
Receptor affinity	Lower average affinity	Higher average affinity due to affinity maturation*
Adhesion molecules	Low ICAM-1	High ICAM-1
* Affinity maturation results from somatic mutation during proliferation of centroblasts and subsequent antigen selection of centrocytes bearing high-affinity mlg.		

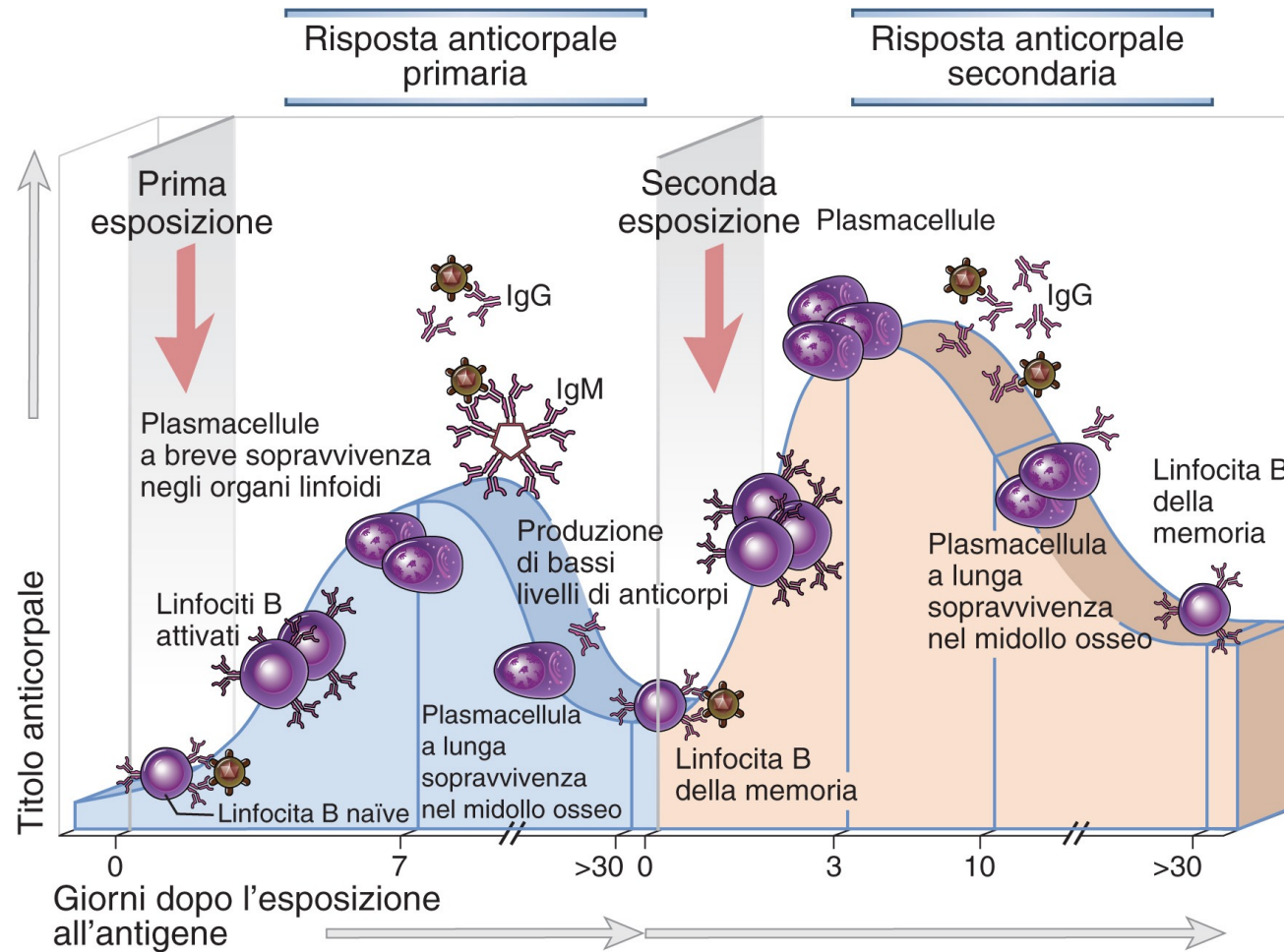
Table 11-6
 Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
 © 2007 W.H. Freeman and Company

**Threshold for
activation**

HIGH

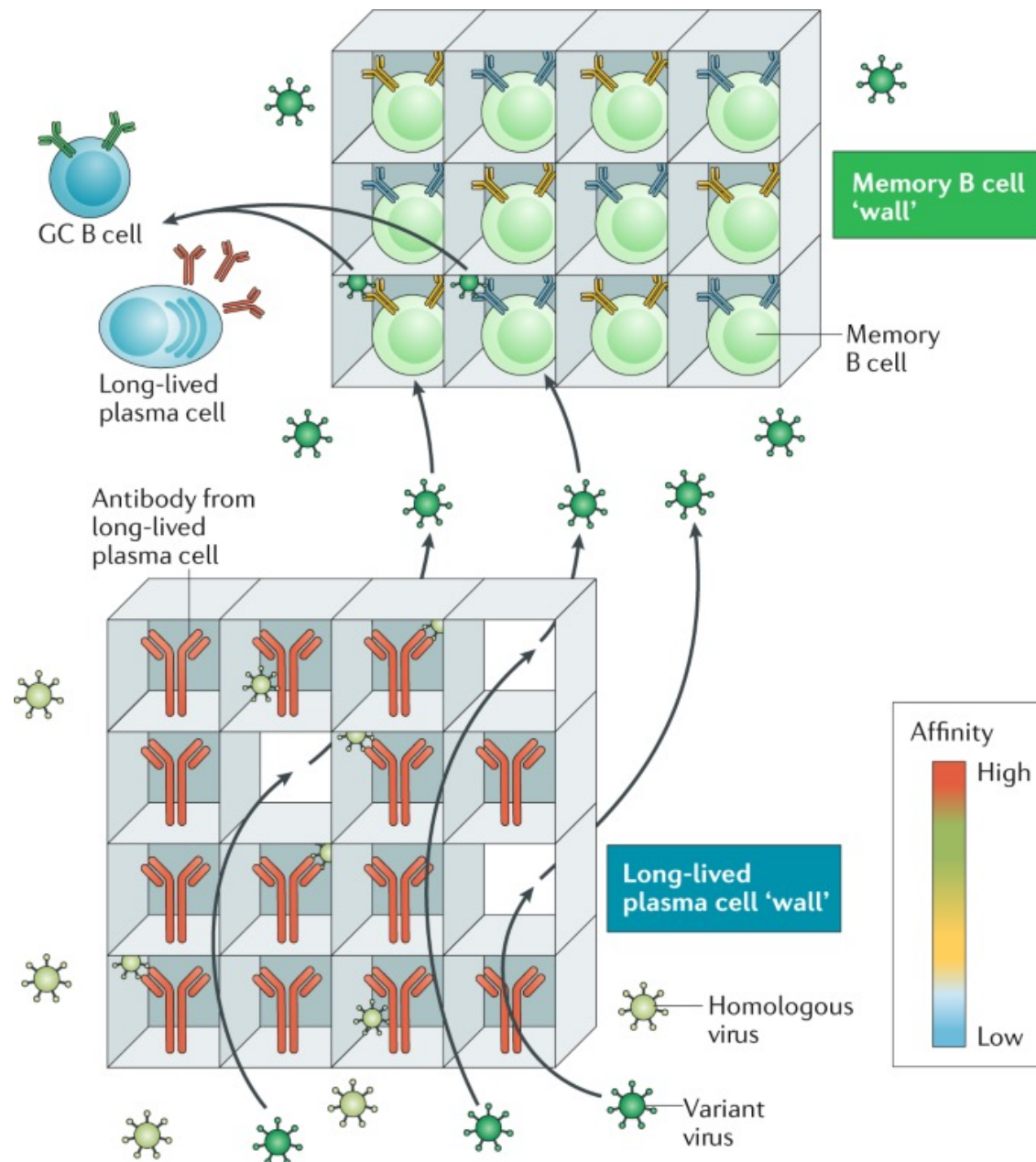
LOW

Le risposte anticorpali primaria e secondaria differiscono qualitativamente e quantitativamente



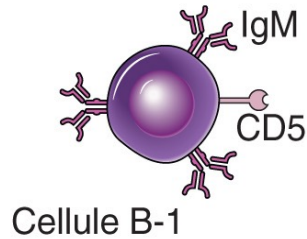
Caratteristica	Risposta primaria	Risposta secondaria
Picco della risposta	Minore	Maggiore
Isotipo anticorpale	Abitualmente IgM > IgG	Aumento relativo delle IgG e, in determinate situazioni, delle IgA o delle IgE
Affinità anticorpale	In genere affinità minore, maggiore variabilità	In genere affinità maggiore (maturazione dell'affinità)

The role of long-lived plasma cells and memory B cells in the secondary response to antigen



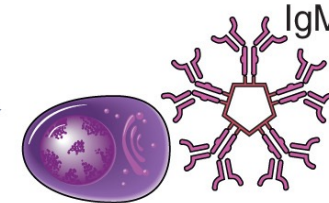
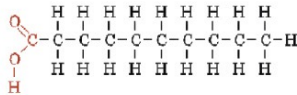
La risposta ad antigeni T indipendenti

B1 Tessuti mucosi, cavità peritoneale

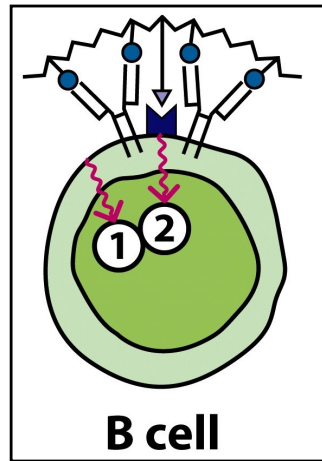
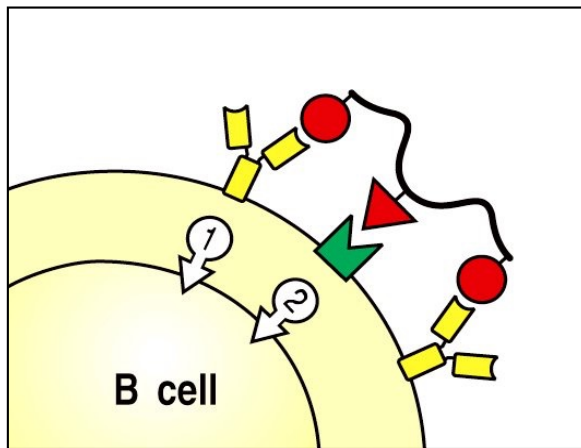


Cellule B-1

Polisaccaridi, lipidi, ecc.



Antigeni T-indipendenti, soprattutto IgM; plasmacellule a breve sopravvivenza



Gli antigeni timo-indipendenti forniscono il 1° e il 2° segnale

