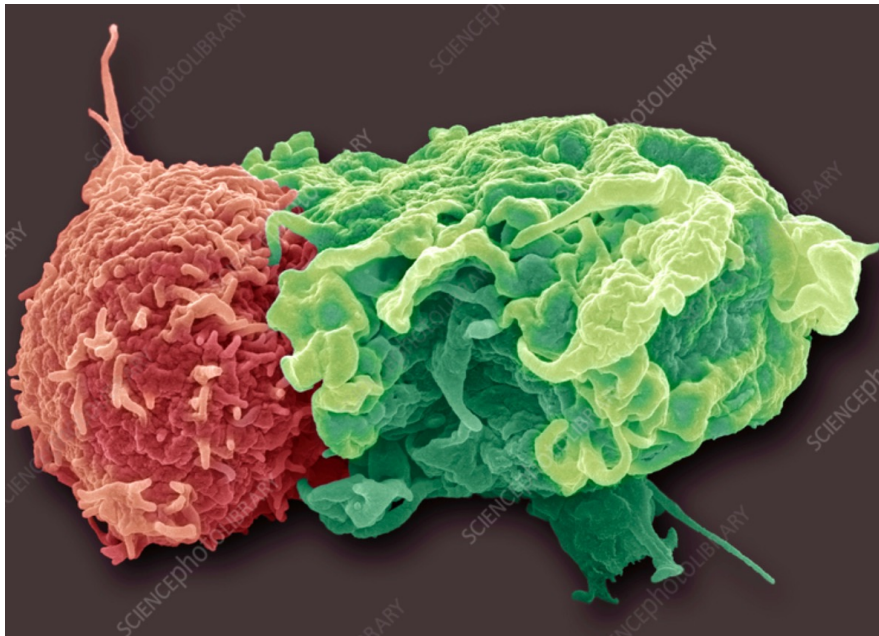


Processazione e presentazione degli antigeni riconosciuti dai linfociti T

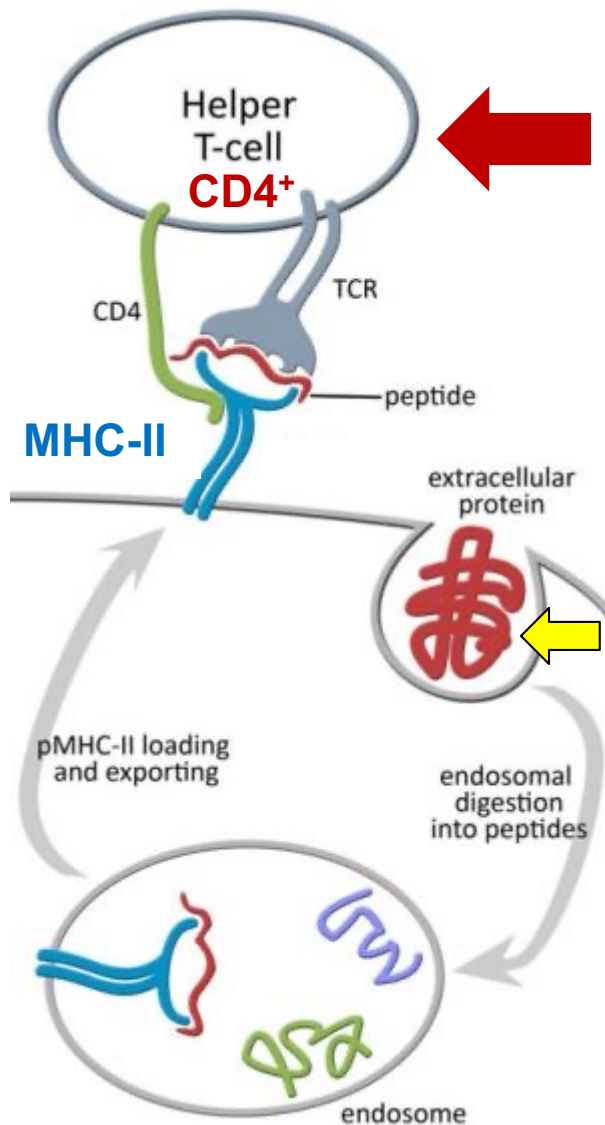
**(Funzioni del complesso maggiore
di istocompatibilità MHC)**



Linfociti T

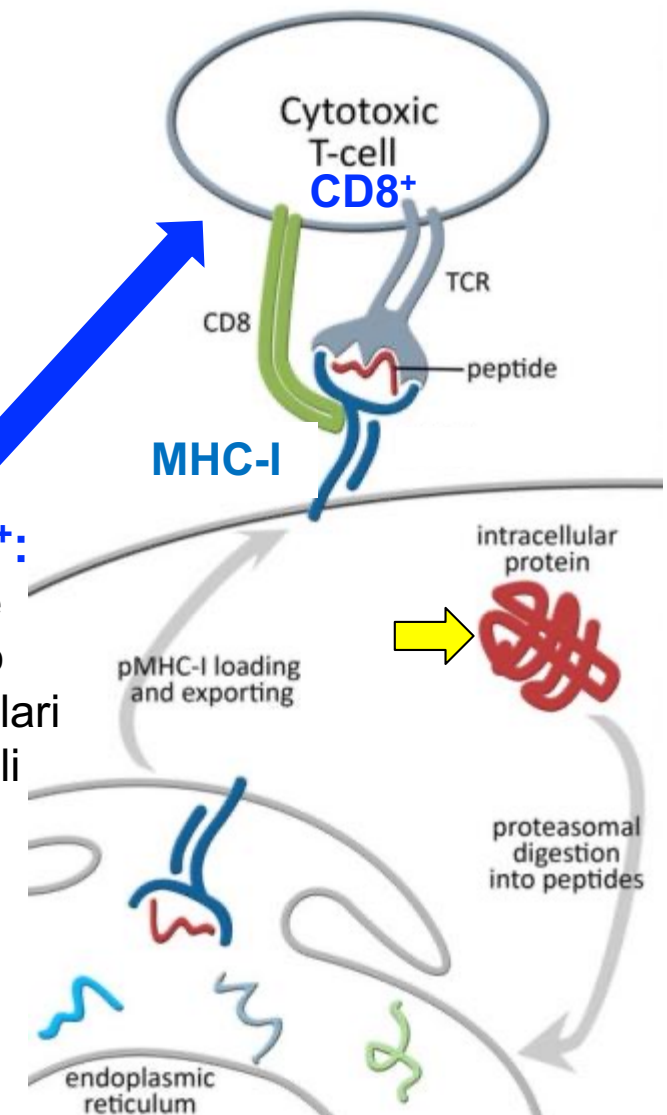
Ruolo chiave nelle risposte immuni specifiche agli antigeni proteici

I linfociti T riconoscono l'antigene tramite un recettore (**TCR**) che a differenza del BCR non riconosce le proteine in forma solubile, ma i **peptidi associati alle molecole MHC** espresse sulla superficie delle **cellule presentanti l'antigene** o **APC** (cellule dendritiche, macrofagi e linfociti B)

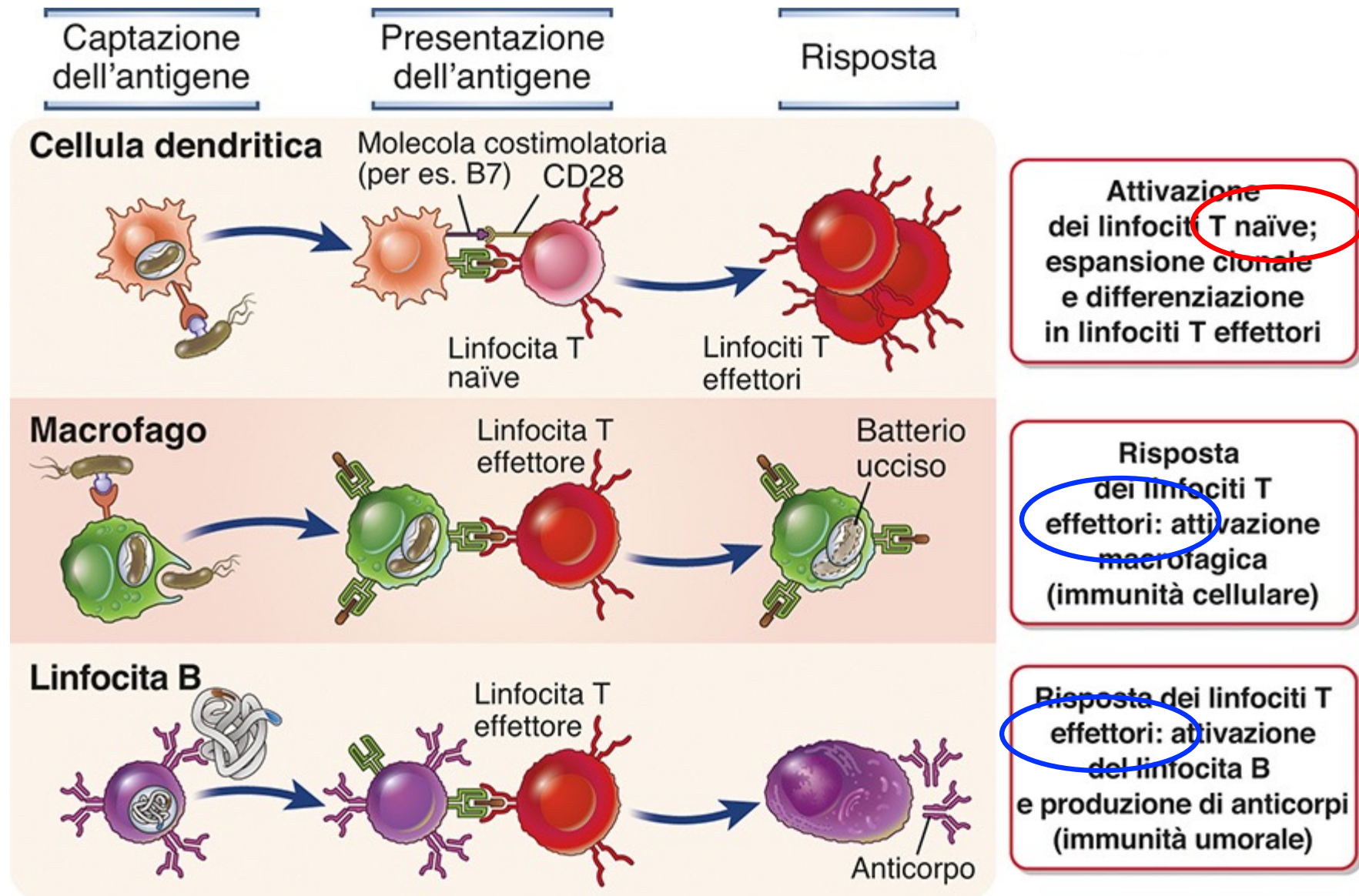


Linfociti T CD4⁺: implicati nelle risposte cellulo-mediate (es. **attivazione dei macrofagi**) e umorali (**stimolano l'attivazione dei linfociti B e la produzione degli anticorpi**)

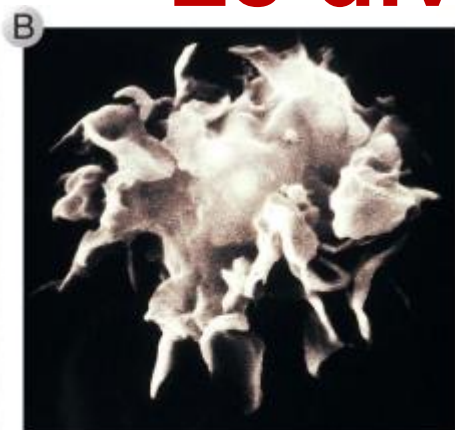
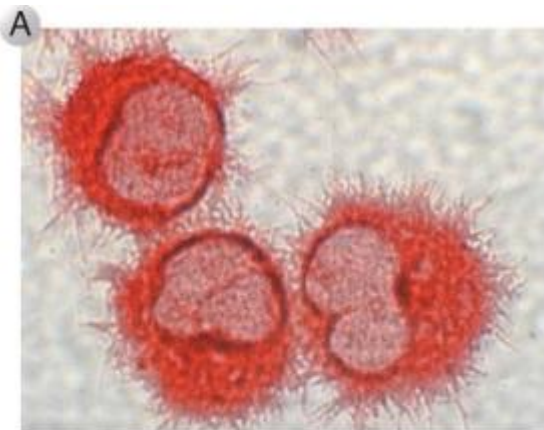
Linfociti T CD8⁺: uccidono le cellule infettate da virus o patogeni intracellulari e le cellule tumorali (**citotossicità**)



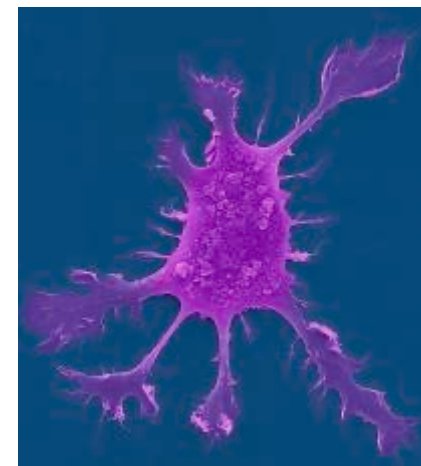
L'attivazione dei linfociti T richiede la presentazione dell'antigene (Ag) da parte della APC (antigen presenting cell)



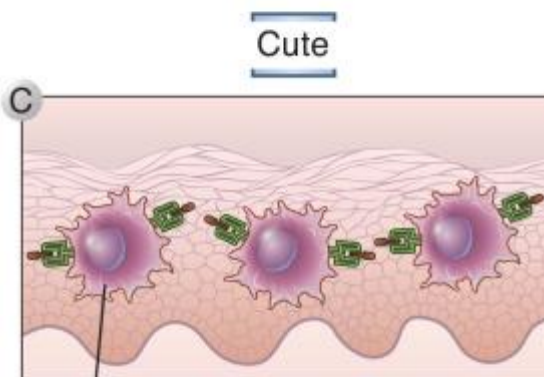
Le diverse APC



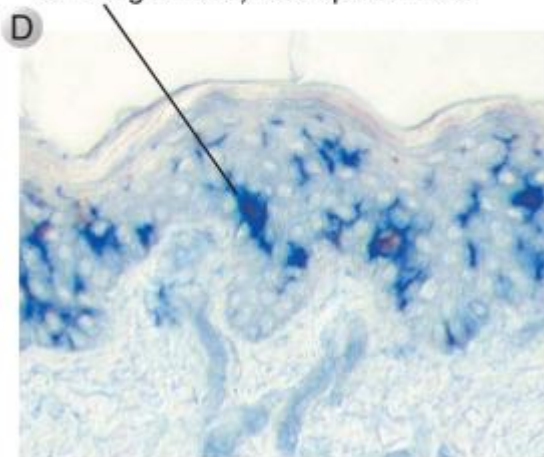
Cellule dendritiche (DC) sono APC **professionali**, specializzate nella cattura e presentazione degli Ag ai linfociti T naive



DC umana



Cellula dendritica (cellula di Langerhans) nell'epidermide



A, B Cellule dendritiche da precursori midollari

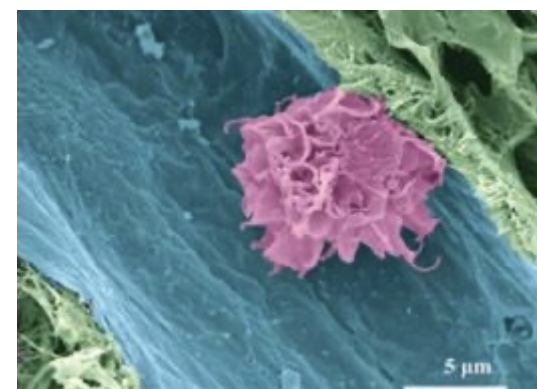
C, D Cellule dendritiche dell'epidermide o cellule di Langerhans

Altre cellule APC:

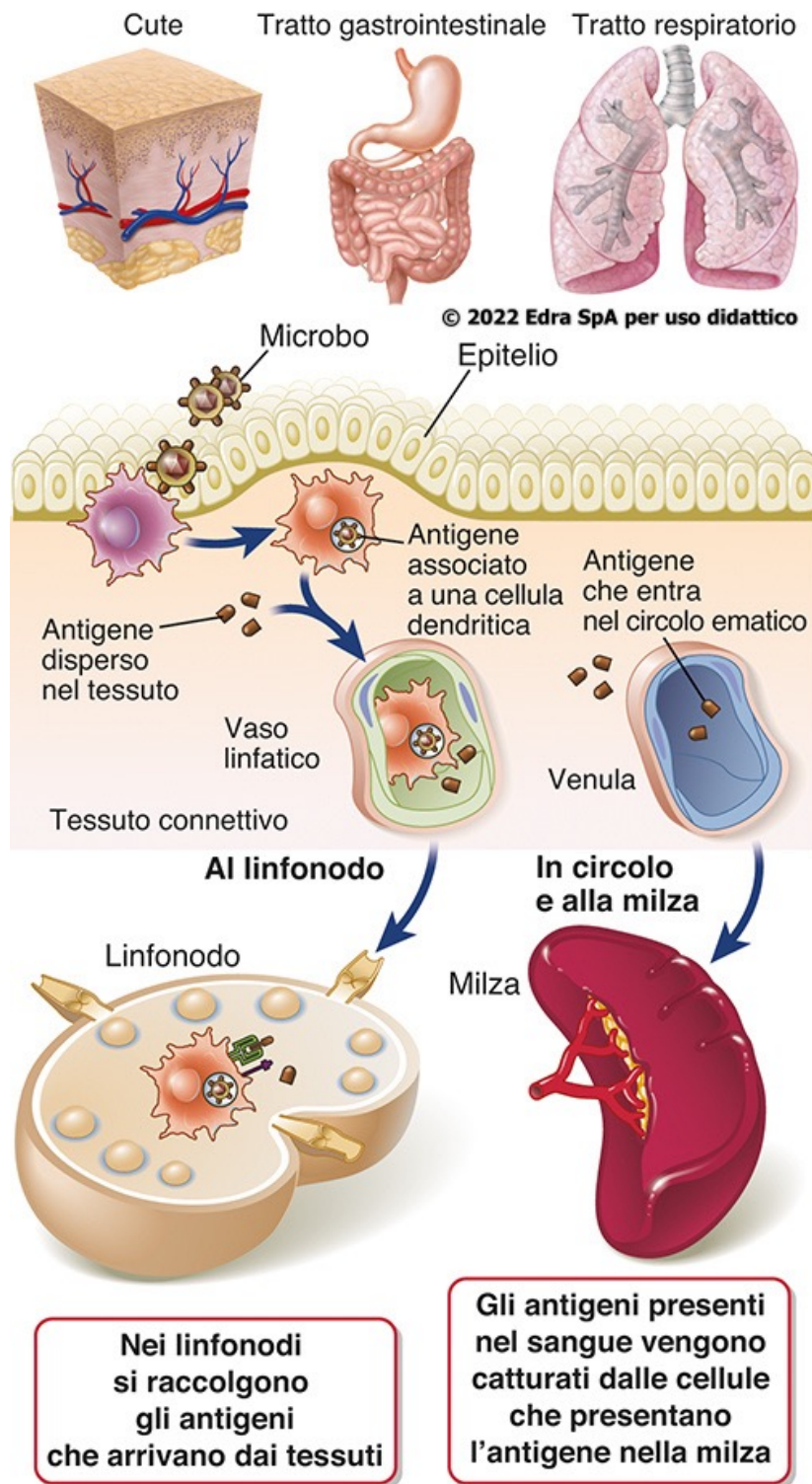
Macrofagi

Linfociti B

Cellule endoteliali,
epiteliali e mesenchimali



Cellula di Langerhans in un vaso linfatico del derma

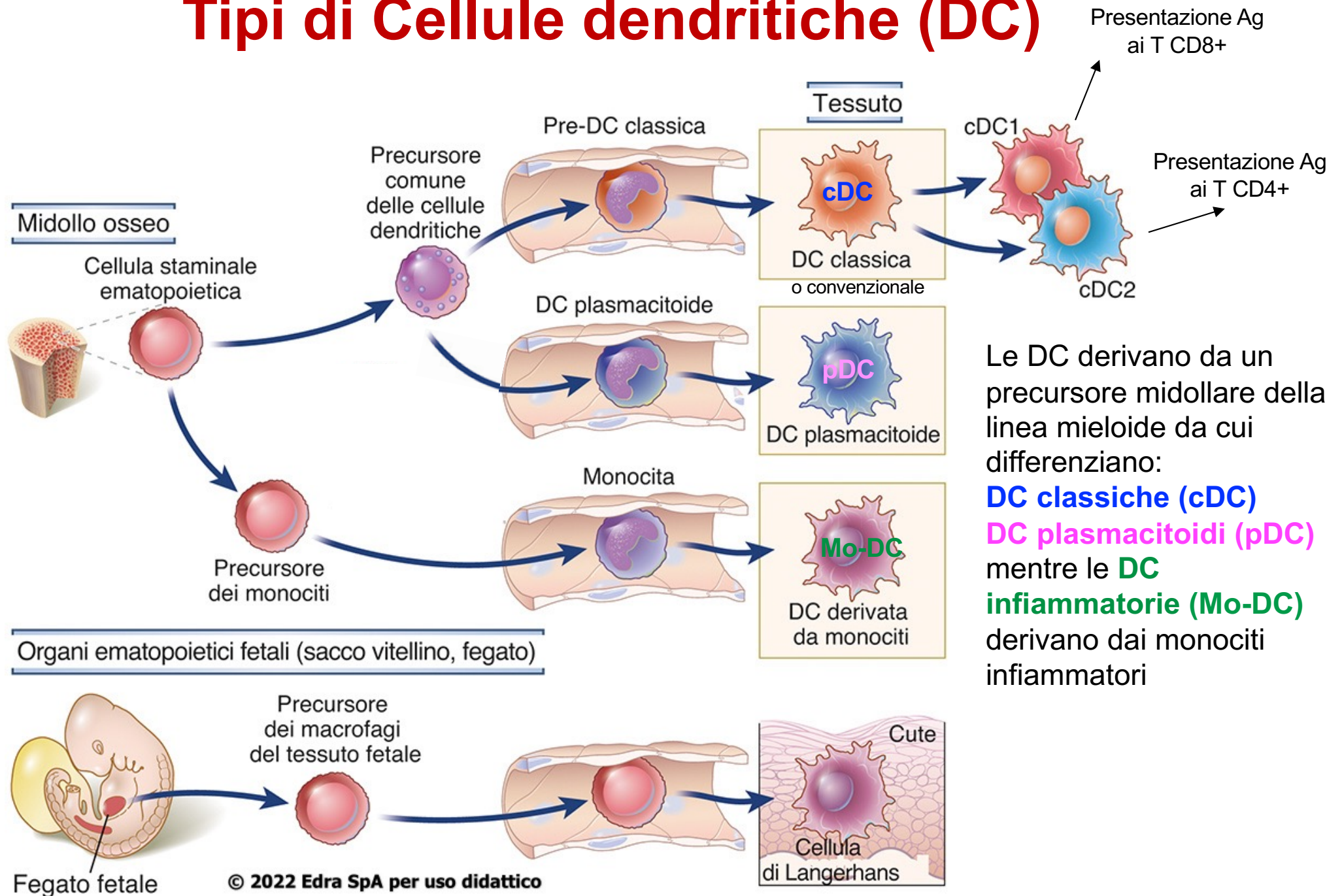


Le cellule dendritiche (DC) sono APC professionali

Gli antigeni (Ag) microbici penetrano attraverso la cute o le mucose del tratto gastrointestinale, respiratorio e urogenitale dove sono catturati dalle cellule dendritiche (DC) residenti e trasportati ai linfonodi regionali tramite il circolo linfatico (linfonodi periferici).

Gli Ag che entrano nel circolo ematico sono catturati dalle cellule che presentano gli Ag nella milza.

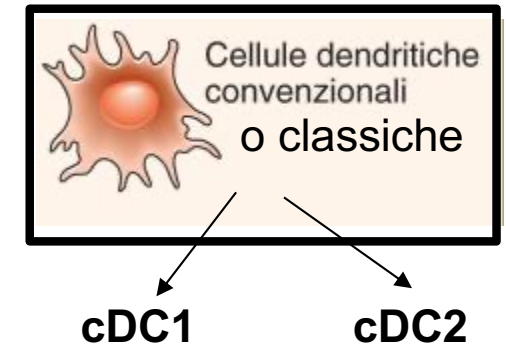
Tipi di Cellule dendritiche (DC)



Sottopopolazioni cellule dendritiche

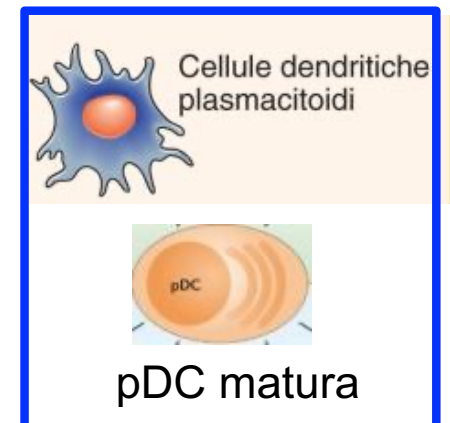
Dendritiche convenzionali: precursore mieloide comune

- Funzioni: **attivazione linfociti T nei confronti di diversi microbi**
- Si dividono** in **cDC1** (attivazione dei linfociti T CD8+ e cross-presentazione) e **cDC2** (presentazione antigeni extracellulari ai linfociti T CD4+)
- Popolazione di DC prevalente negli epiteli e organi linfoidi
- Marcatori di superficie: CD11c e CD11b
- Fattori di crescita: GM-CSF e Flt3L
- Elevati livelli di **TLRs membranari e endosomiali**, soprattutto TLR4, 5 e 8
- Citochine prodotte: **TNF, IL-1 e IL-6**

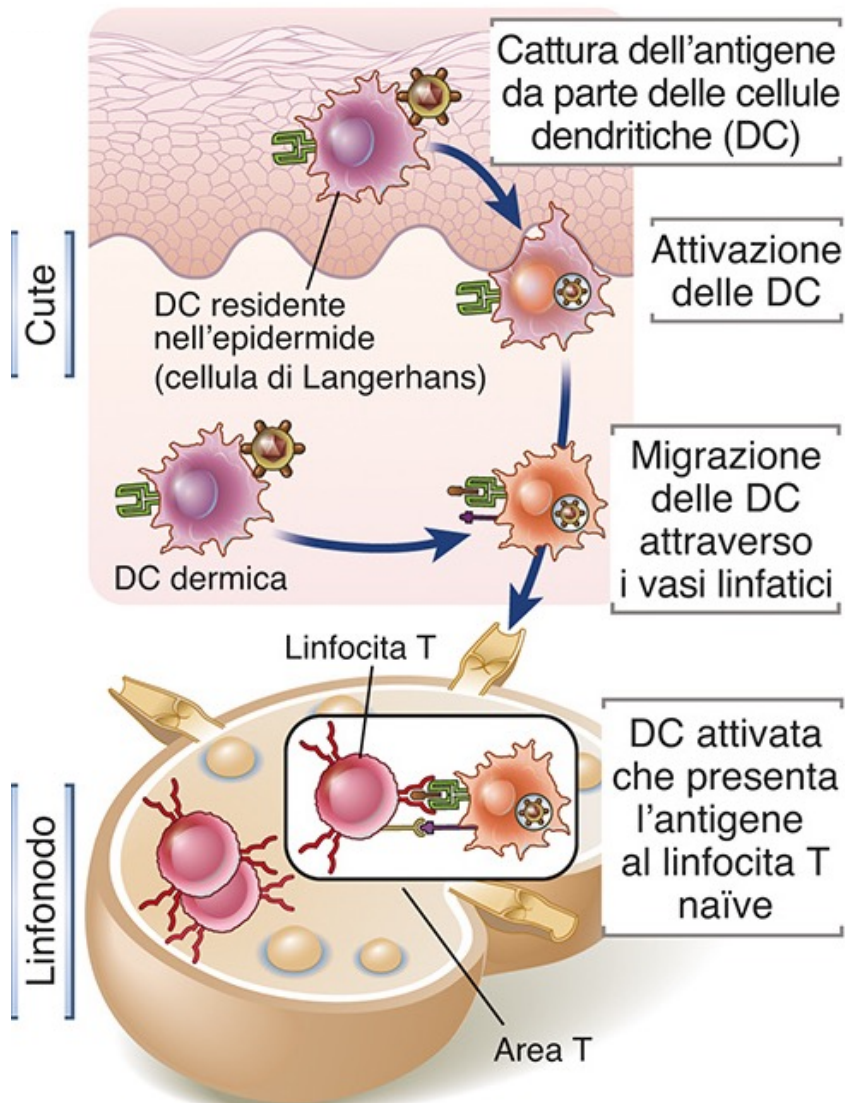


Dendritiche plasmacitoidi: precursore mieloide comune

- Funzioni: **immunità innata e attivazione linfociti T contro virus**
- Popolazione presente nel sangue e poco rappresentate negli organi linfoidi
- Marcatori di superficie: CD11c (bassissima), CD11b (negativo) e B220(CD45R)
- Elevati **TLRs endosomiali** soprattutto TLR7 (ssRNA) e TLR9 (CpG non metilate)
- Citochine prodotte: **IFN α e IFN β**



Cattura e presentazione dell'antigene da parte delle cellule dendritiche



DC
Immatura

DC
Matura

Dendritica immatura:

- Captazione dell'Ag tramite recettori specifici o per macro- /micro-pinocitosi
- Prodotti microbici (TLR) e citochine (TNF) attivano le DC e le fanno maturare
- Perdita adesività all'epitelio e migrazione
- Espressione CCR7 e migrazione nel linfonodo (CCL19 e CCL21) in particolare nella zona T (paracorticale)

Dendritica matura:

- Presentazione Ag ai linfociti T naïve

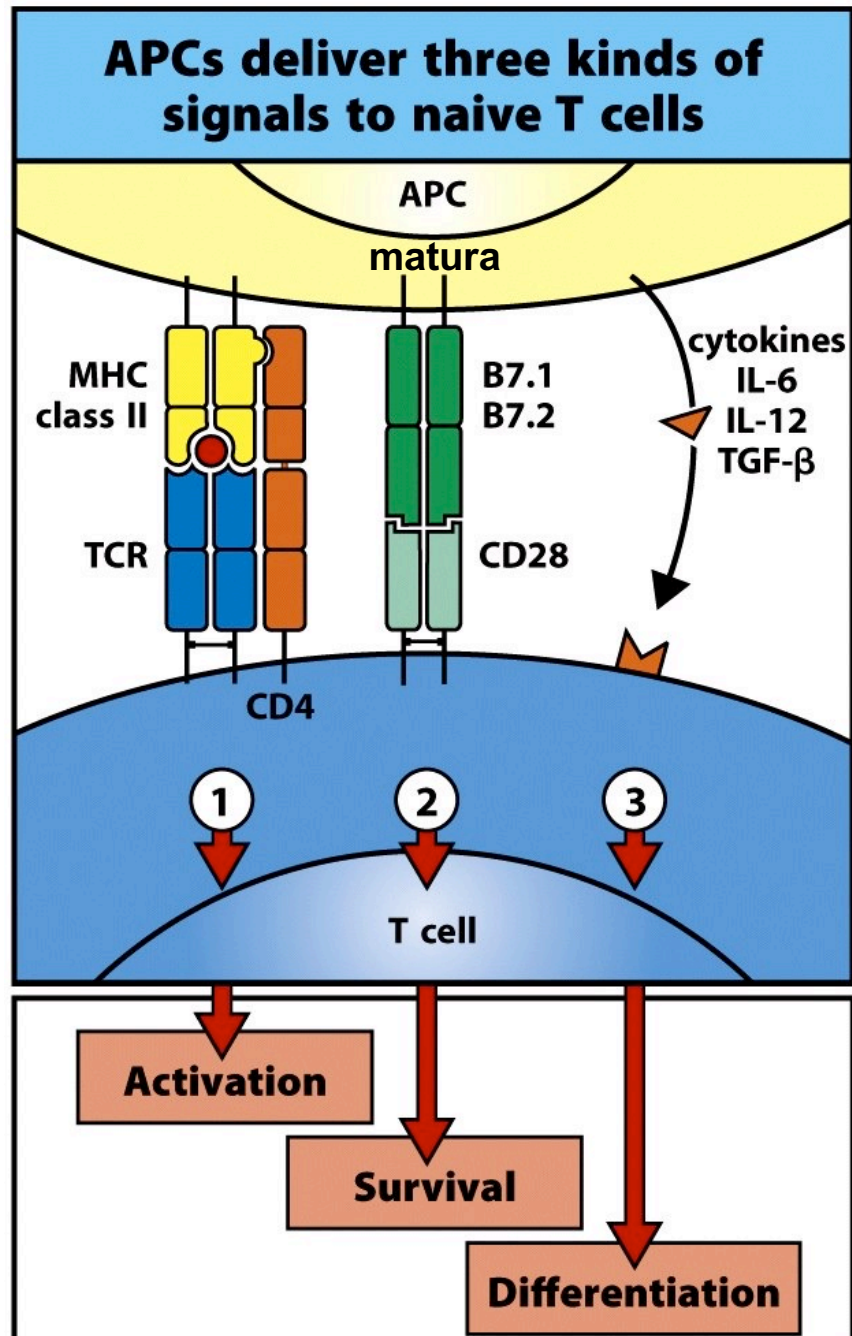
Fenotipo cellule dendritiche

DC Immatura: cattura Ag

DC Matura: presentazione Ag ai linfociti T

	DC Immatura	DC matura
	Cellule dendritiche resting che risiedono nei tessuti	Cellula dendritica attivata
Funzione principale nell'attivazione dei linfociti T	Cattura dell'antigene	Presentazione dell'antigene ai linfociti T
Espressione dei recettori per l'Fc e dei recettori per il mannosio	++	—
Espressione delle molecole coinvolte nell'attivazione dei linfociti T: B7, ICAM-1, IL-12	— o bassa	++
Molecole MHC di classe II		
Emivita	~10 h	>100 h
Numero di molecole di superficie	~10 ⁶	~7 x 10 ⁶

Segnali che attivano i linfociti T naive



1. Riconoscimento dell'antigene (segnale 1)
2. Costimolazione (segnale 2)
3. Citochine (segnale 3)

Sono segnali necessari per indurre proliferazione dei linfociti T naive e differenziamento in linfociti T effettori e di memoria

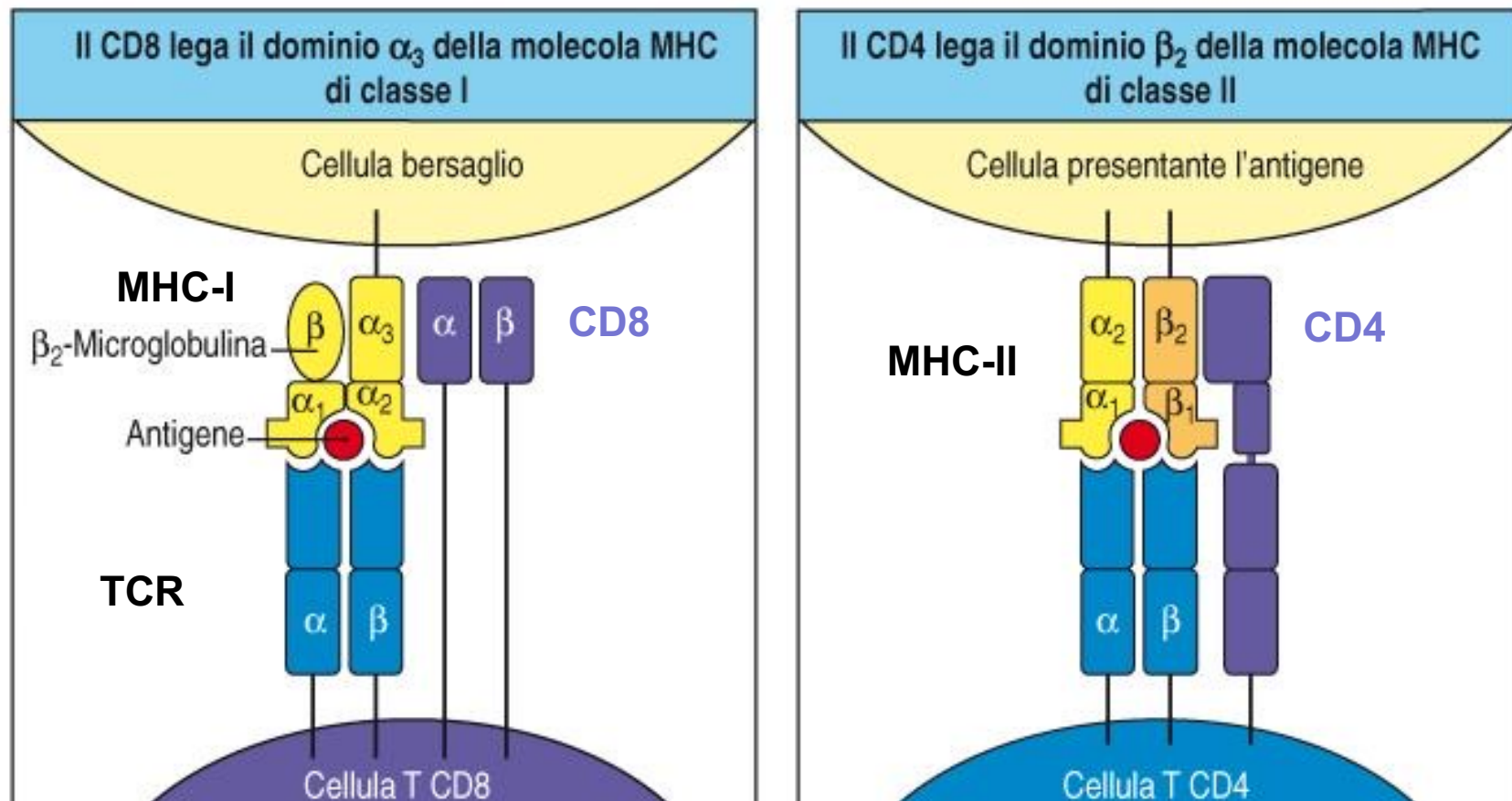
Caratteristiche delle varie APC

Tipo cellulare	Molecole MHC II	Molecole costimolatorie (B7.1 e B7.2)	Funzione
Cellule dendritiche	Costitutiva: aumenta con maturazione e IFN- γ	Costitutiva: aumenta con maturazione, IFN- γ e CD40/CD40L	Priming delle risposte dei T naive
Macrofagi	Bassa: inducibile da IFN- γ e CD40/CD40L	Indotta da TLR , IFN- γ e CD40/CD40L	Fase effettrice risposta immune
Linfociti B	Costitutiva: aumenta con IL-4	Indotta da CD40/CD40L (linfociti T) e BCR	Presentazione ai T CD4+ nelle risposte umorali
Cellule endoteliali	Costitutiva nell'uomo, aumenta con IFN-γ	Bassa; forse inducibile	Attivazione T effettori nel sito infezione e organi trapiantati
Cellule epiteliali e mesenchimali	Inducibile da IFN-γ	Nessuna	Nessuna

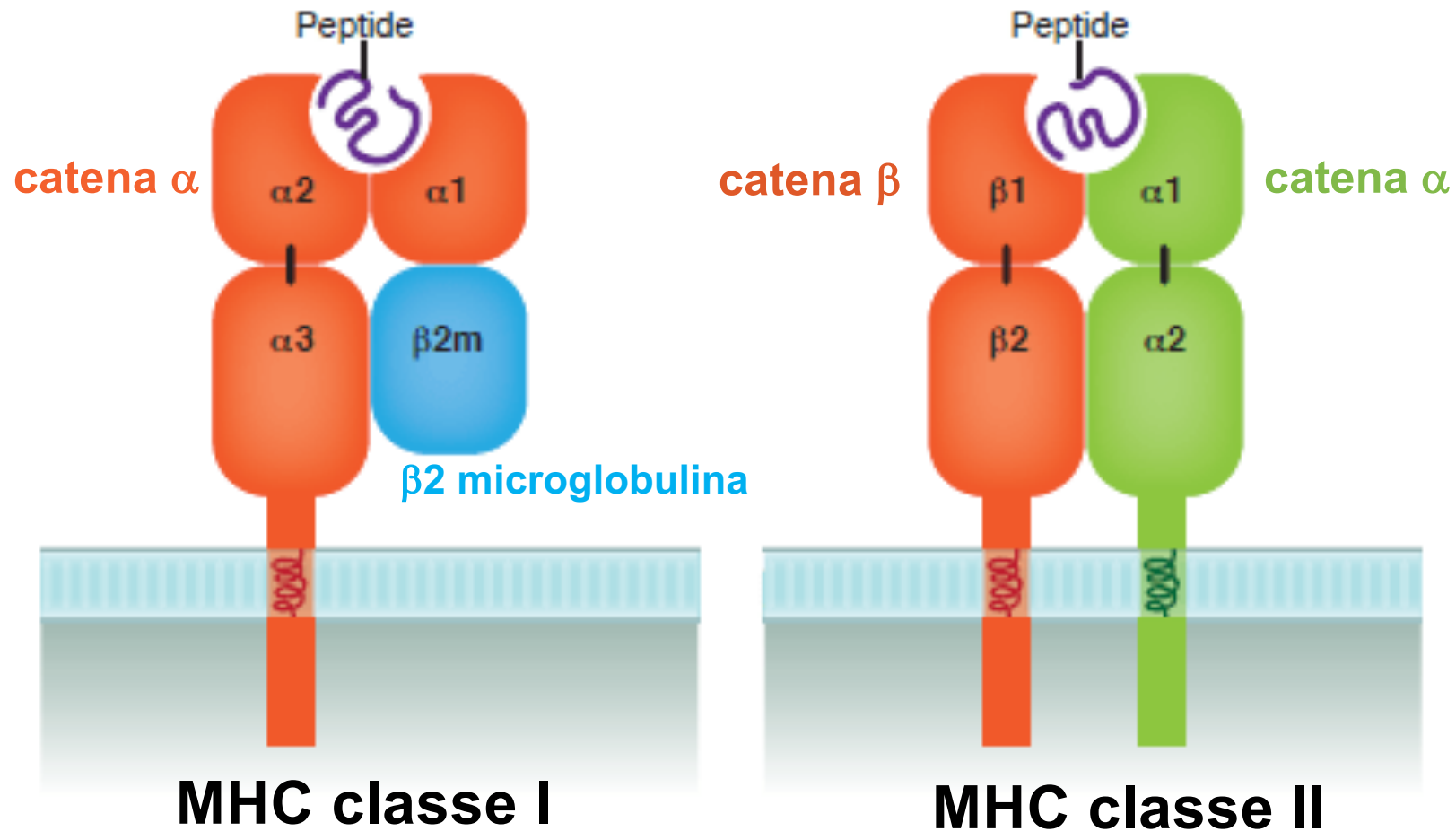
B7.1 =CD80
B7.2 =CD86

Linfociti T: il riconoscimento dell'Ag

- Le cellule dendritiche convenzionali funzionano come cellule presentanti l'Ag (APC), catturano l'Ag proteico nei tessuti e lo trasportano ai linfonodi per presentarlo ai linfociti T naive.
- I linfociti T CD4⁺ o CD8⁺ riconoscono l'Ag sotto forma di **peptidi associati** alle molecole del maggior complesso di istocompatibilità **MHC** (chiamato **HLA nell'uomo**) **di classe II o I**, rispettivamente, espressi sulle APC.
- Il recettore T per l'Ag (**TCR**) riconosce peptidi lineari, corti, associati alle **MHC**

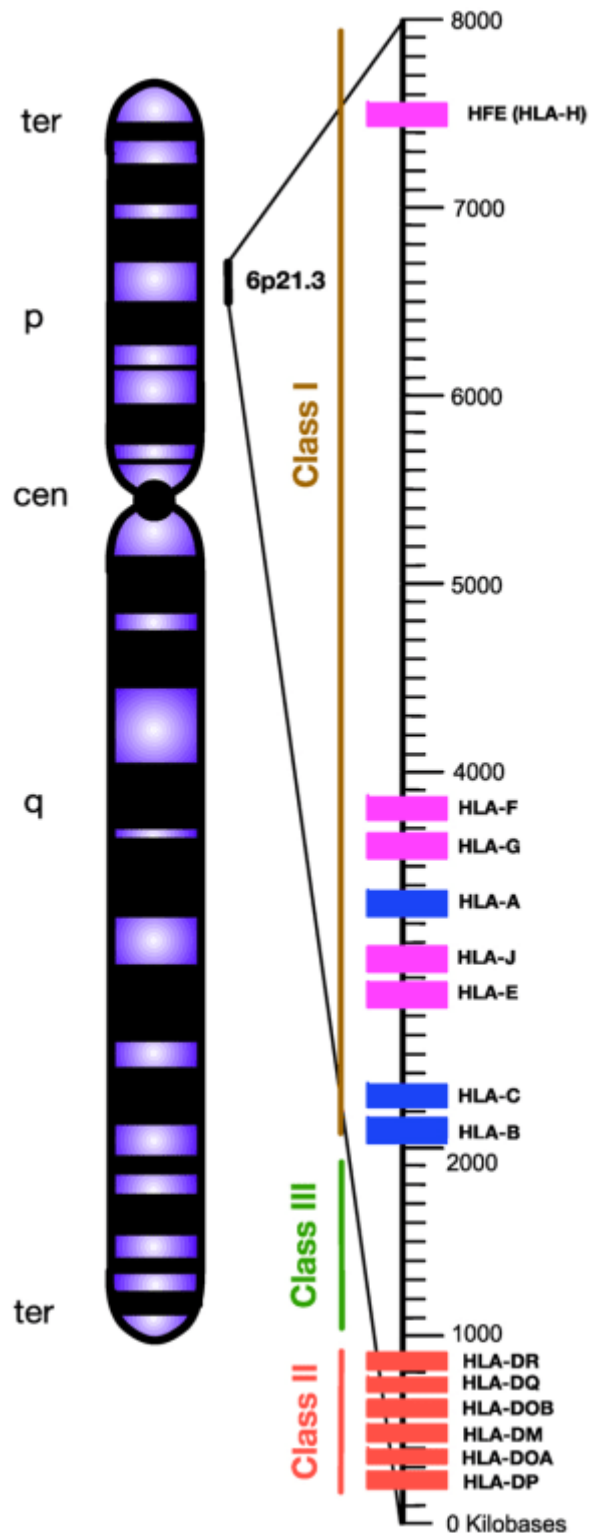


Struttura schematica delle molecole di MHC di classe I e II



La catena α (polimorfa) e la β_2 microglobulina (monomorfa) sono associate non covalentemente

La catena α e la catena β entrambe polimorfe sono associate non covalentemente



Disposizione dei geni HLA (MHC umano) sul braccio corto del cromosoma 6

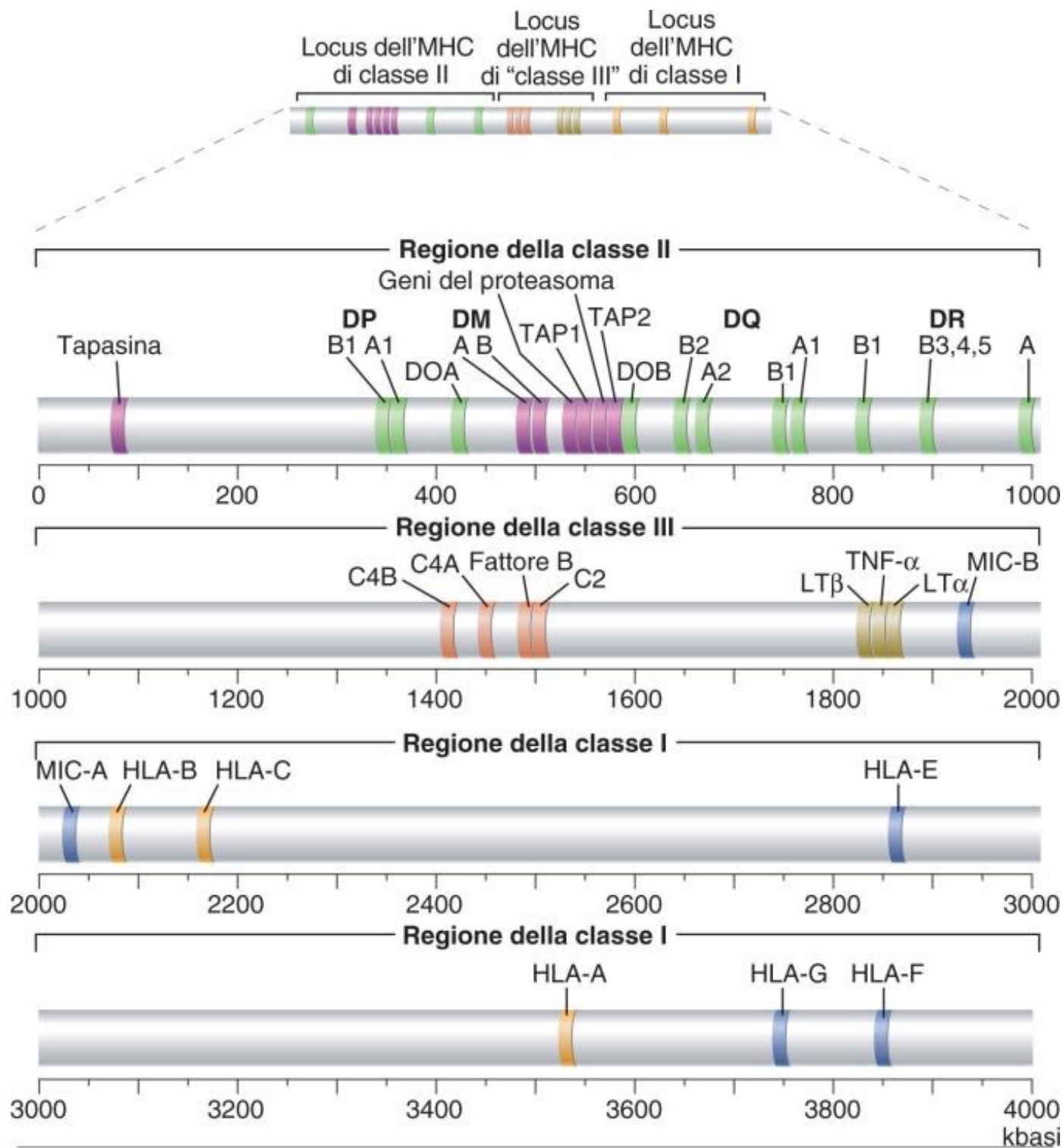
Diagramma semplificato della posizione e dell'organizzazione dei geni dell'antigene leucocitario umano (HLA) sul cromosoma 6 umano.

L'HLA di classe I comprende i loci **HLA-Ia "classici"** e **HLA-Ib "non classici"**, differenziati rispettivamente in blu e rosa.

L'HLA di classe II è codificato da vari loci HLA-II contrassegnati in rosso.

A differenza dell'HLA di classe I e II, la regione HLA di classe III non codifica per gli HLA. Questa regione densamente compatta codifica invece per varie molecole infiammatorie, il complemento e le proteine da shock termico.

Telomero, ter; braccio p, braccio corto; braccio q, braccio lungo; Centromero, cen.



Mapa del locus genico MHC nell'uomo (Chr 6)

Nomenclatura alleli:
Es. **HLA-A*0201**
sottotipo 1 dell'allele
HLA-A2

HLA-DRB1*0101
sottotipo 1 dell'allele
DR1 del gene **B1**

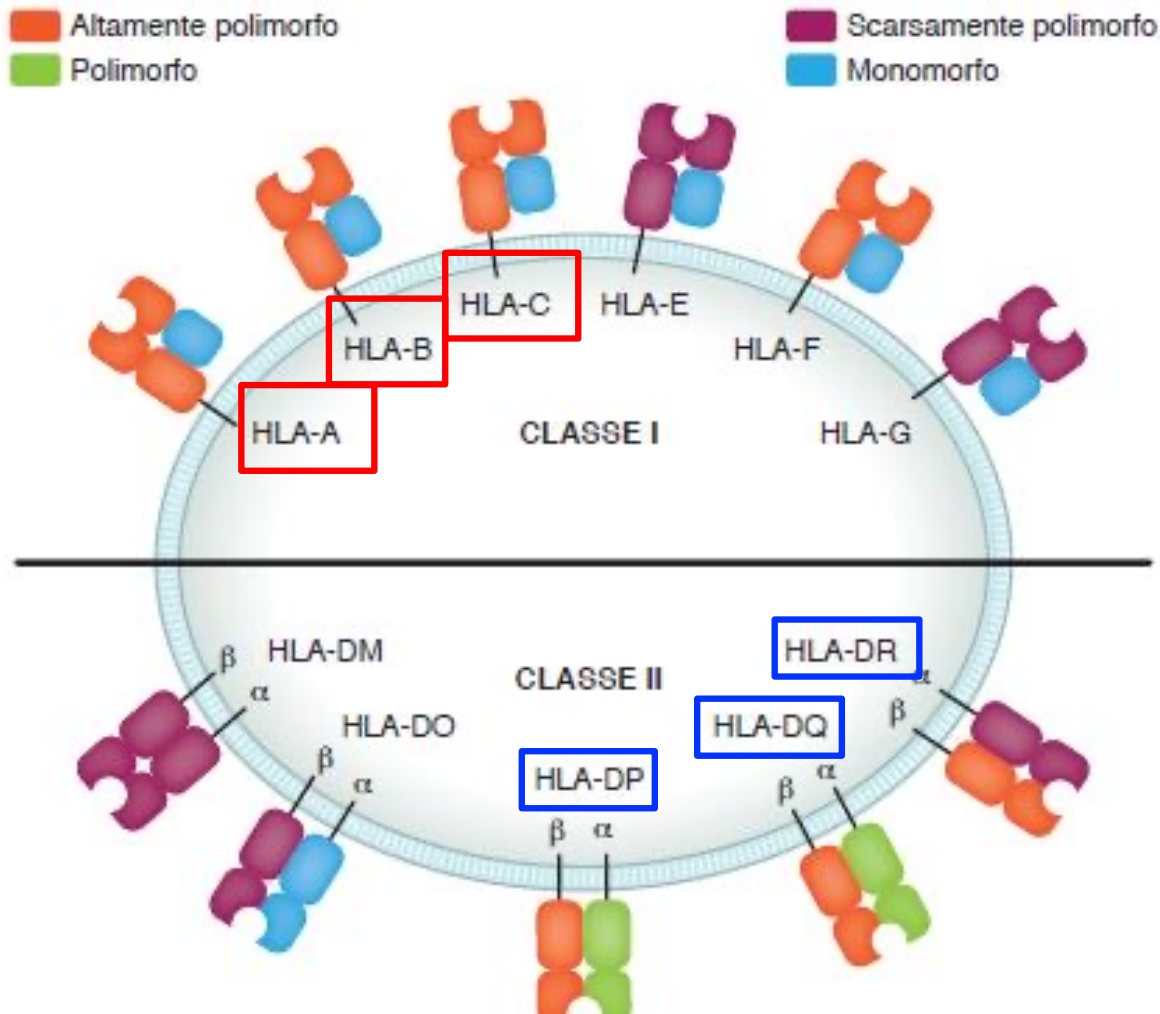
HLA-DRB1*0401
sottotipo 1 dell'allele
DR4 del gene **B1**

Locus genico MHC

(Major histocompatibility complex)

Nell'uomo denominato **HLA (Human Leukocyte antigen)**, contiene geni altamente polimorfi che codificano per le molecole di classe I e di classe II i cui prodotti sono omologhi ma strutturalmente distinti ed espressi da un gran numero di cellule diverse

Ruolo chiave: **presentare antigeni peptidici ai linfociti T**



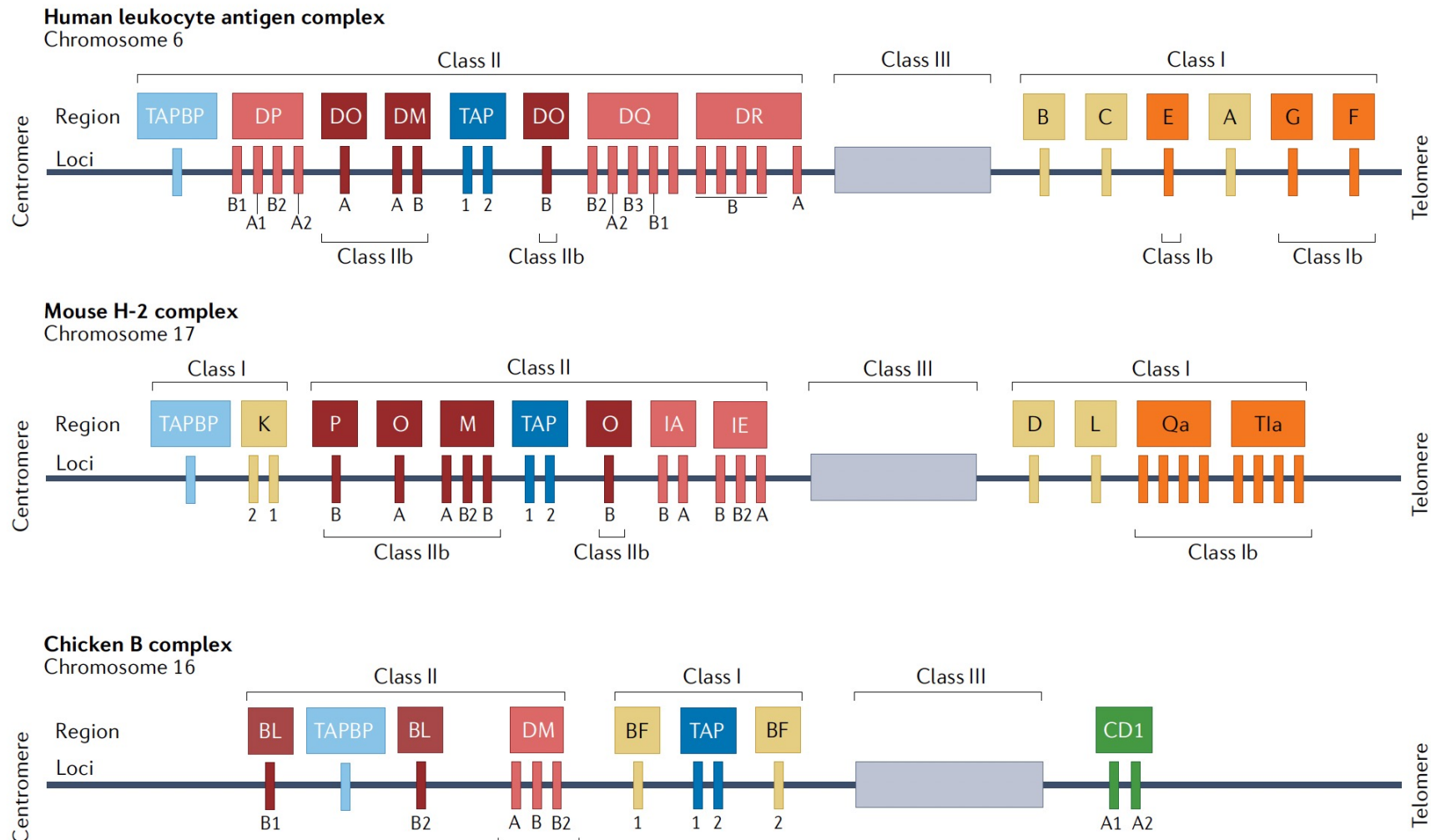
Classe I:

HLA-A, B e C presentano peptidi ai linfociti T CD8+;
HLA-E, F, G sono ligandi per recettori NK inibitori e attivatori

Classe II:

HLA-DP, DQ e DR presentano peptidi ai linfociti T CD4+

Mappa schematica semplificata del complesso MHC negli esseri umani, nei topi e nei polli



Sono mostrati i principali geni del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC), inclusi i geni classici di classe I, Ib, II, IIb e III. Sono inclusi anche i geni per il trasportatore associato alla processazione dell'antigene (TAP) e per la tapasina (nota anche come proteina legante la TAP (TAPBP)).

Polimorfismo allelico dell'MHC

I geni MHC sono tra i **più polimorfici** nel genoma.

Sono espressi in modo **codominante**: entrambi gli alleli MHC ereditati dai genitori sono espressi

HLA-A, B e C altamente polimorfici presentano i peptidi ai **Linfociti T CD8⁺**

HLA-DP, DQ e DR altamente polimorfici (soprattutto i geni per la catena β) presentano i peptidi ai **Linfociti T CD4⁺**

Polimorfismo HLA		
Classe MHC	Locus HLA	Numero di allotipi
MHC di classe I	A	1939
	B	2577
	C	1595
	E	6
	F	4
	G	16
MHC di classe II	DMA	4
	DMB	7
	DOA	3
	DOB	5
	DPA1	17
	DPB1	286
	DQA1	32
	DQB1	399
	DRA	2
	DRB1	1158
	DRB3	46
	DRB4	8
	DRB5	17

Distribuzione tissutale delle molecole MHC

Tissue	MHC class I	MHC class II
Lymphoid tissues		
T cells	+++	+
B cells	+++	+++
Macrophages	+++	++
Dendritic cells	+++	+++
Epithelial cells of the thymus	+	+++
Other nucleated cells		
Neutrophils	+++	-
Hepatocytes	+	-
Kidney	+	-
Brain	+	- +
Non-nucleated cells		
Red blood cells	-	-

MHC classe I:

molecole espresse su tutte le cellule nucleate

MHC classe II:

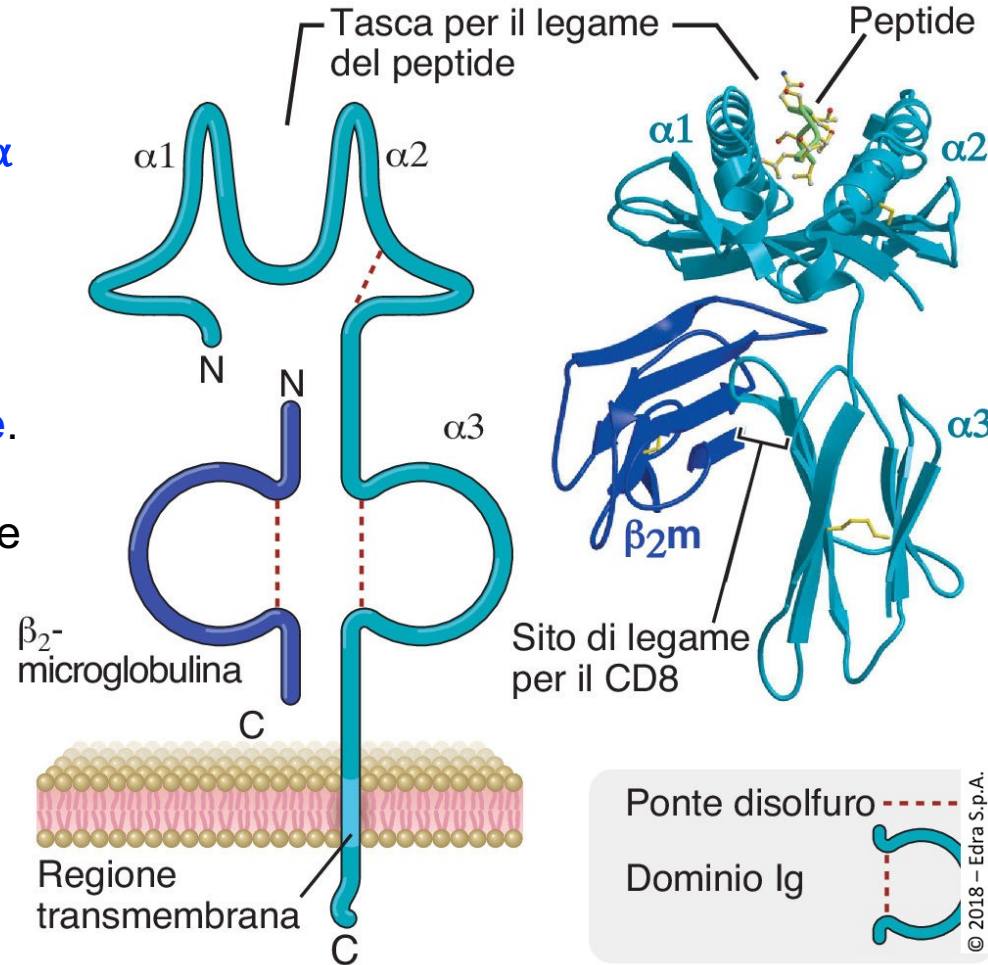
molecole espresse principalmente sulle cellule presentanti l'antigene (APC)

Struttura delle molecole MHC di classe I

Processazione e presentazione dell'antigene da parte delle molecole MHC di classe I

Struttura delle molecole MHC di classe I

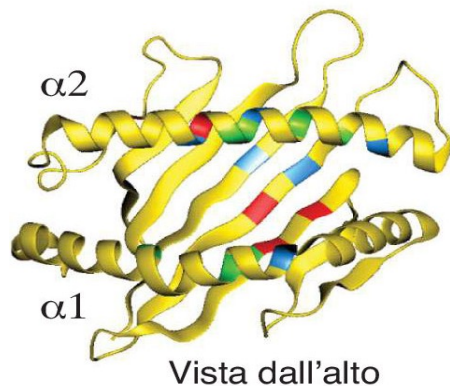
Complesso trimetrico costituito da una **catena α** polimorfica (catena pesante) legata non covalentemente alla **β 2-microglobulina** (non polimorfica) e dal **peptide**. La tasca è chiusa ed i peptidi sono generalmente tra 8 e 12 aa (comunemente 9 aa).



Tasca di legame chiusa: peptide 8-12
--Domini α 1 e α 2

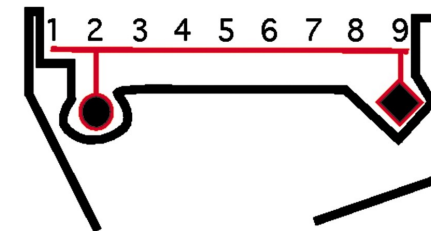
--Pavimento di foglietti β sormontato da 2 α eliche

Dominio α 3 Ig-like coinvolto nel **legame al corecettore CD8** ed in parte anche β 2-microglobulina e dominio α 2



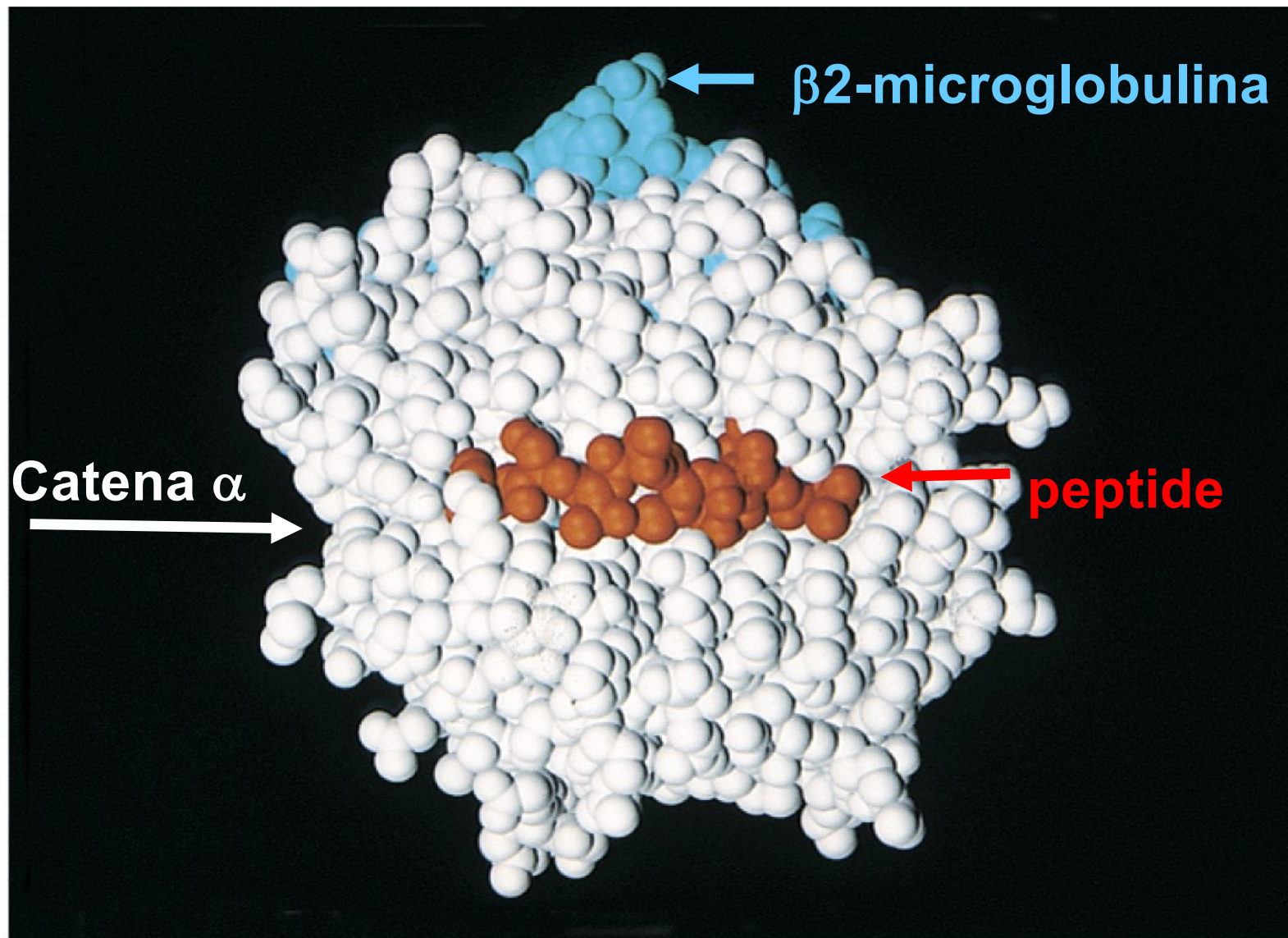
La maggiore variabilità è indicata da questi colori (in ordine decrescente)

I residui polimorfici sono localizzati nella tasca di legame per il peptide costituita dai domini α 1 e α 2



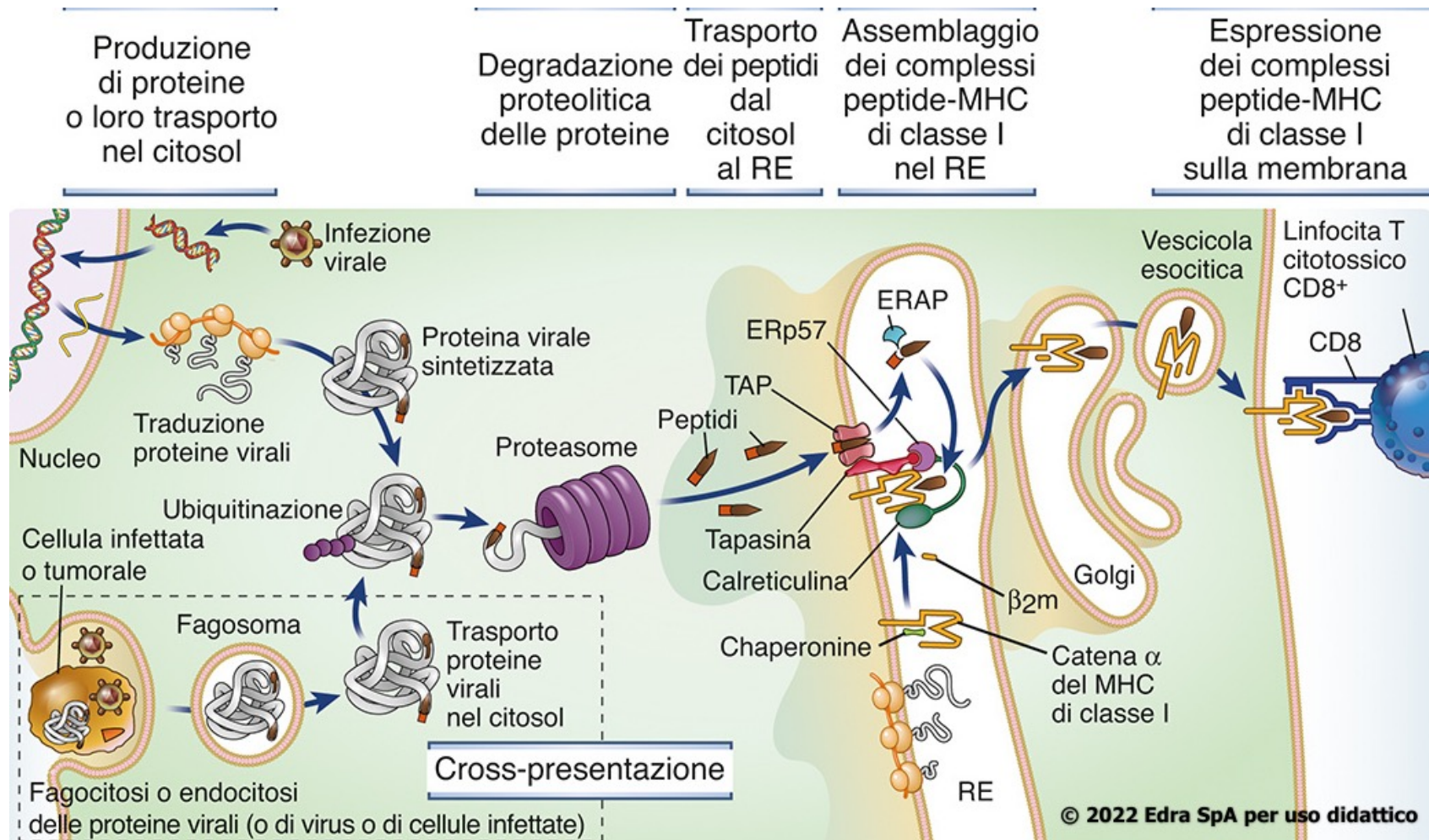
In rosso il peptide in una visione laterale. I residui aa 2 e 9 rappresentano le posizioni àncora.

MHC class I



Visione dall'alto della tasca di legame per il peptide

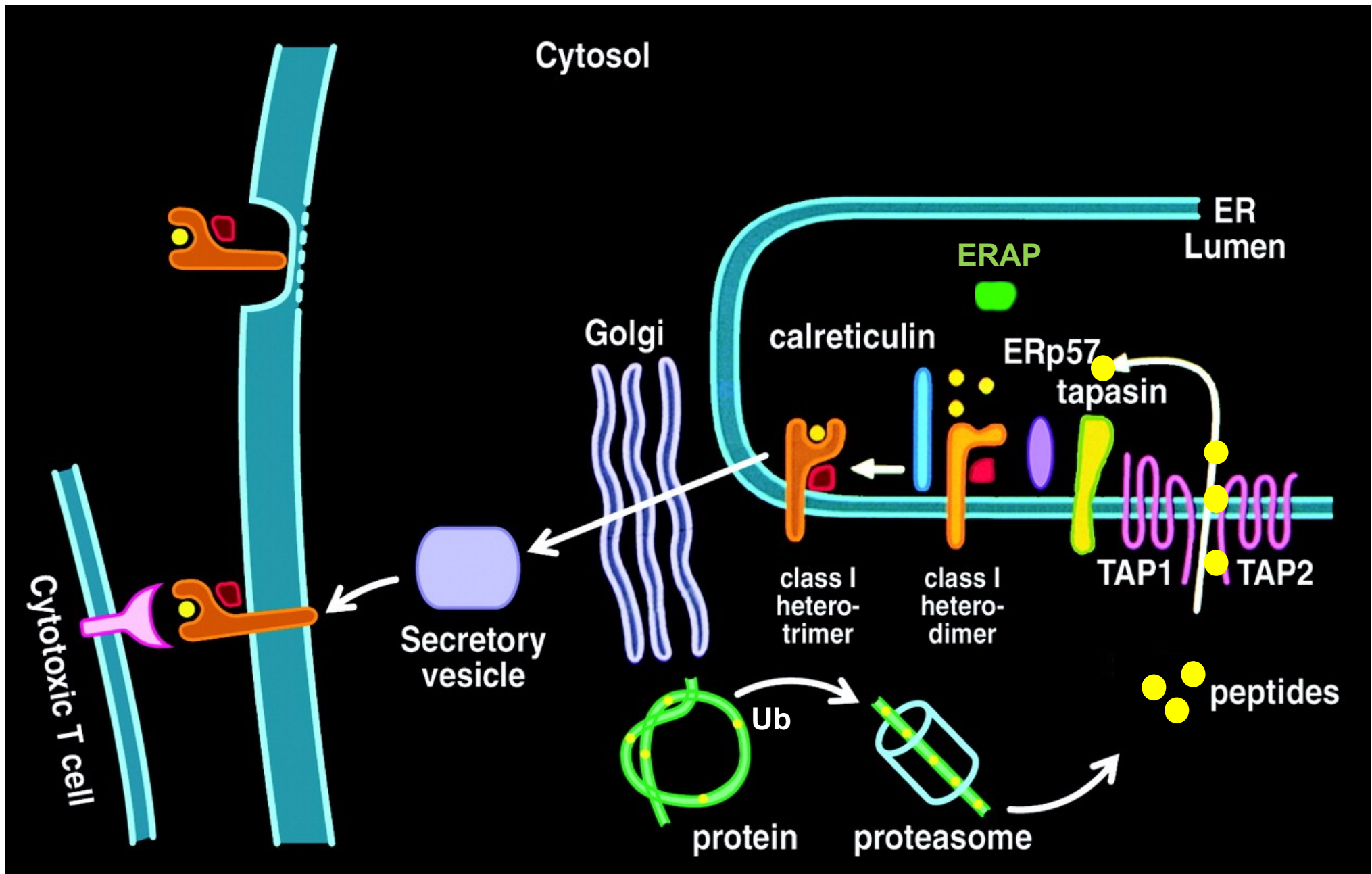
Le molecole MHC I presentano peptidi derivati dalla processazione di proteine da parte del proteasoma nel citosol



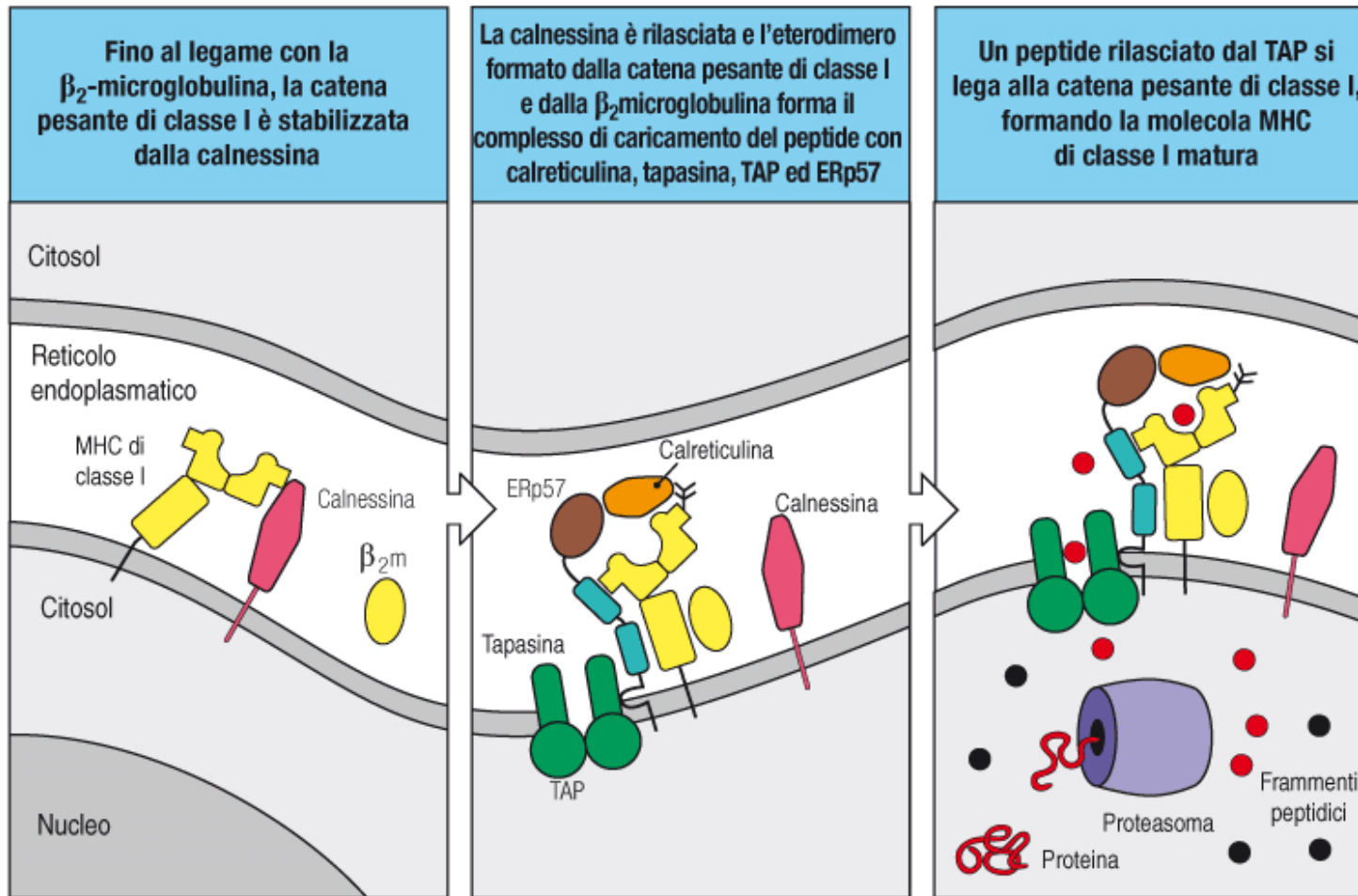
I peptidi presentati da MHC-I derivano da:

- Proteine di virus e batteri intracellulari
- Proteine mutate o iper-espresse (tumori)
- Antigeni di patogeni endocitati che però fuoriescono dagli endosomi (*Listeria monocytogenes*)

Trasporto ed assemblaggio nelle molecole MHC di classe I



I peptidi si associano all'MHC I nel RE

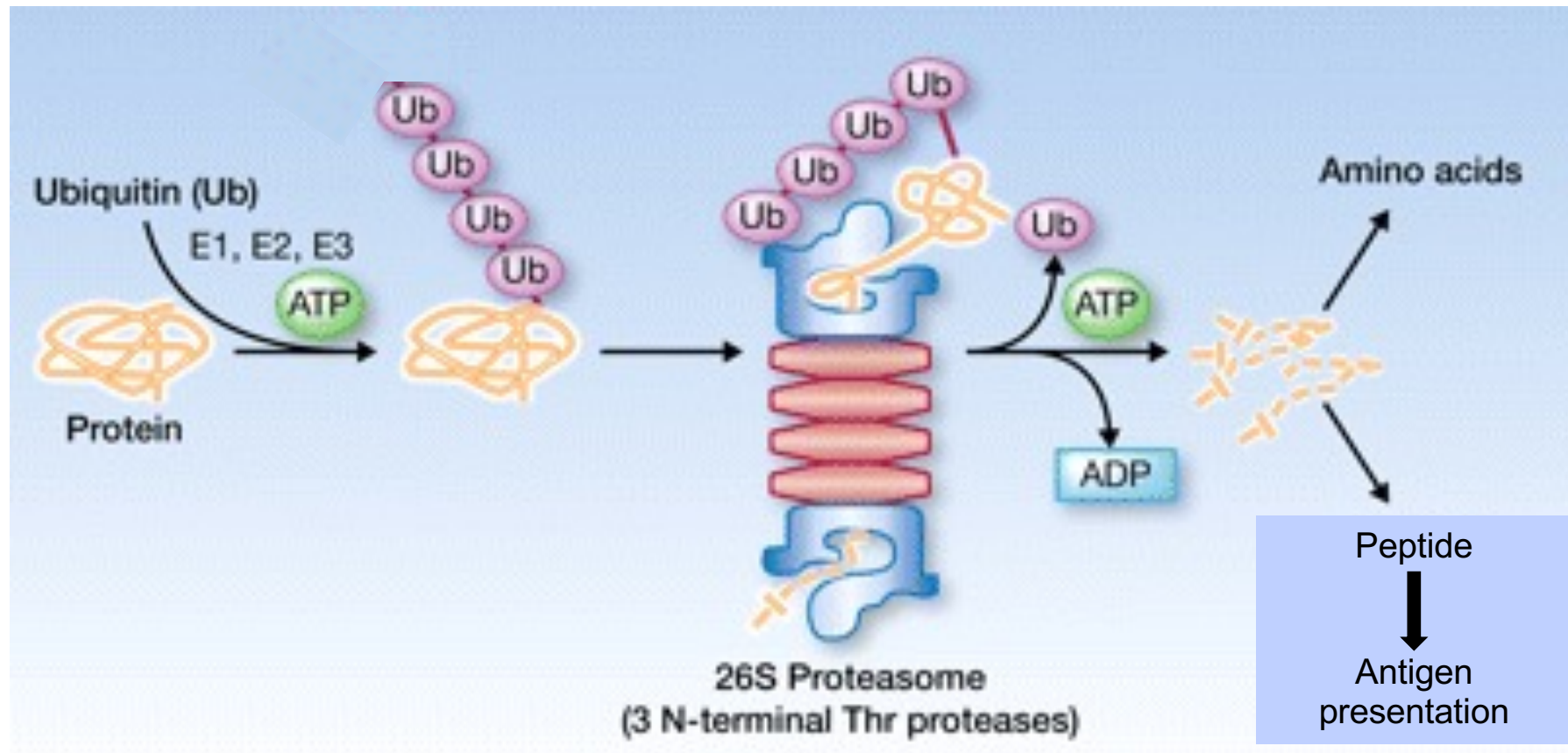


Calnexina e Calreticulina (chaperoni):

Proteine Ca^{2+} -dipendente che interagiscono con la catena α stabilizzando le MHC I nel RE fino a completo ripiegamento (lo stesso processo riguarda le MHC II, TCR e Ab).

Tapasina: proteina legata ai TAP e alle molecole MHC I → fa da ponte tra l'MHC I e i TAP per favorire il caricamento del peptide; è parte del "**peptide loading complex**"

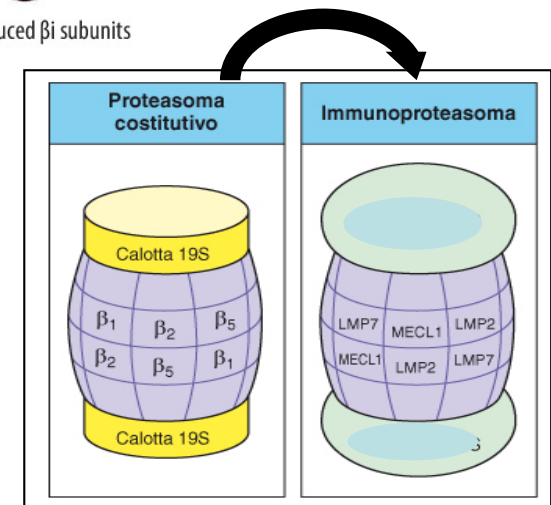
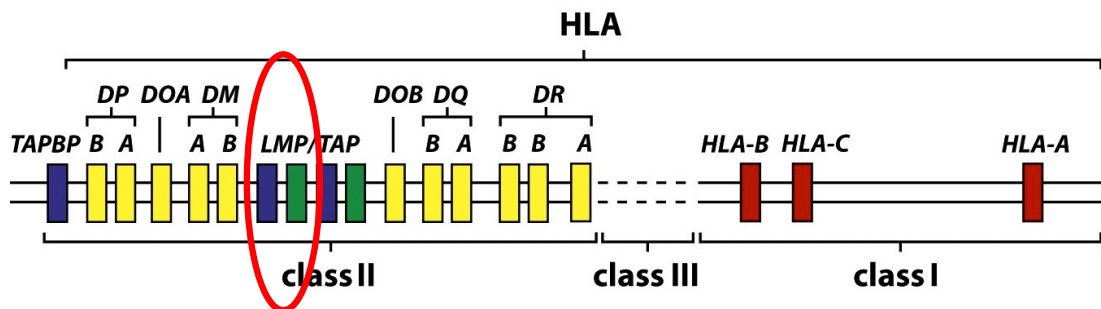
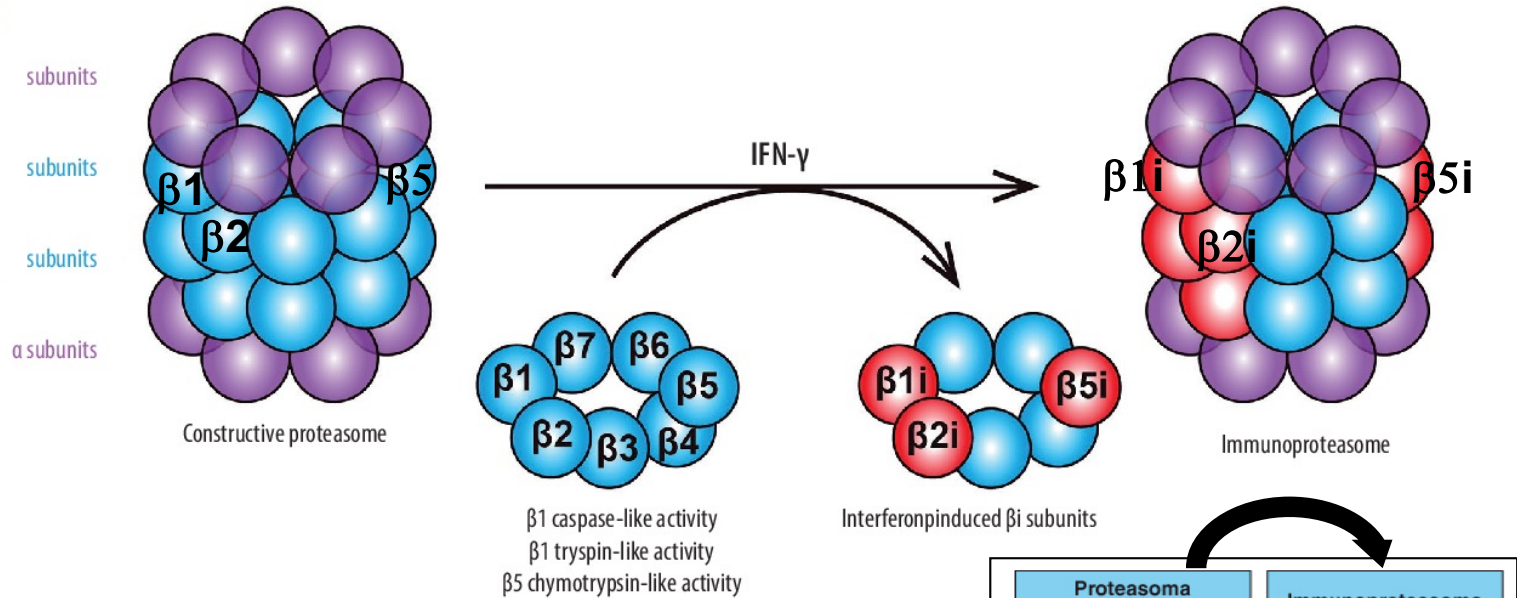
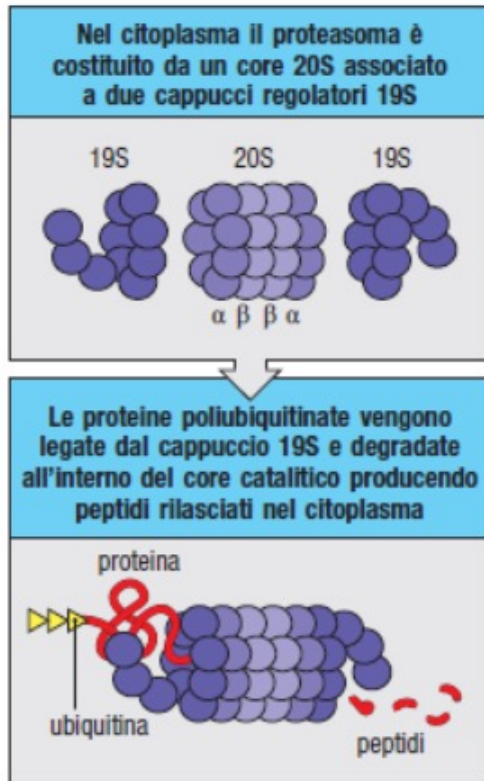
Fasi dell'ubiquitinazione e degradazione



Immunoproteosoma

- Complesso enzimatico di grandi dimensioni (**28 subunità**)
- 4 anelli di 7 subunità (20-30 kDa).
- Subunità **$\beta 1$, $\beta 2$ e $\beta 5$ interne** con attività proteolitica.

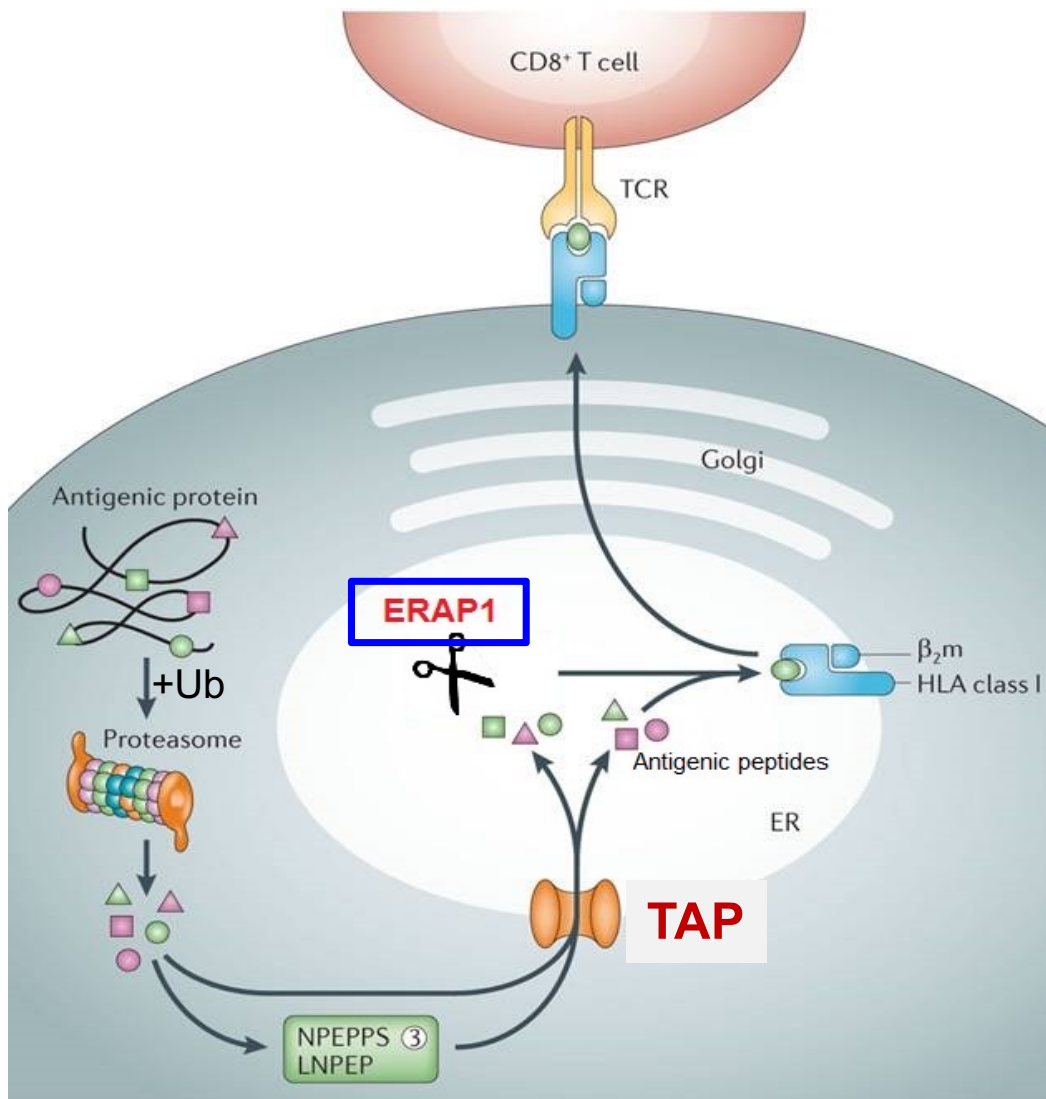
Durante un'infezione in cellule (APC) stimulate da **IFN γ** il proteasoma costitutivo diviene **immunoproteasoma** in quanto le subunità **β** vengono sostituite con le subunità: **LMP2 ($\beta 1i$)**, **MECL1 ($\beta 2i$)** e **LMP7 ($\beta 5i$)** codificate nella regione di classe II del **locus HLA** e più specifiche per la produzione di peptidi in grado di legarsi alle molecole MHC di classe I.



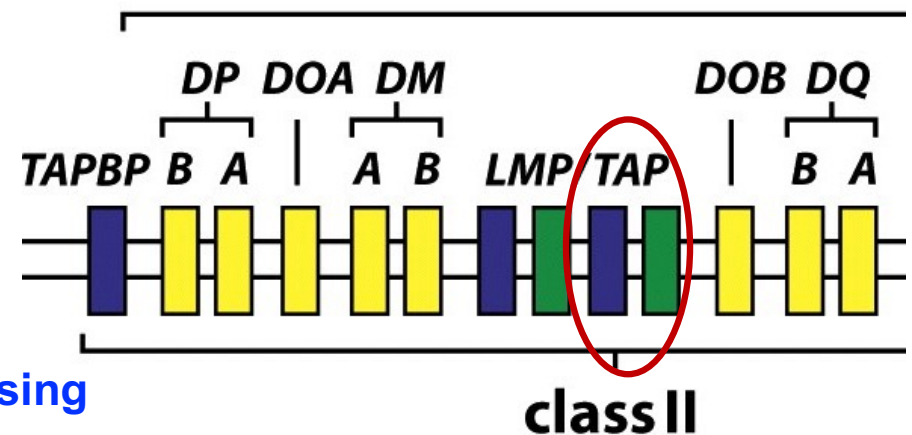
Trasporto peptidi nel RE tramite TAP

TAP è un eterodimero formato da **TAP-1** e **TAP-2**, trasportatori ATP-dipendenti di peptidi di circa 8-13 aa

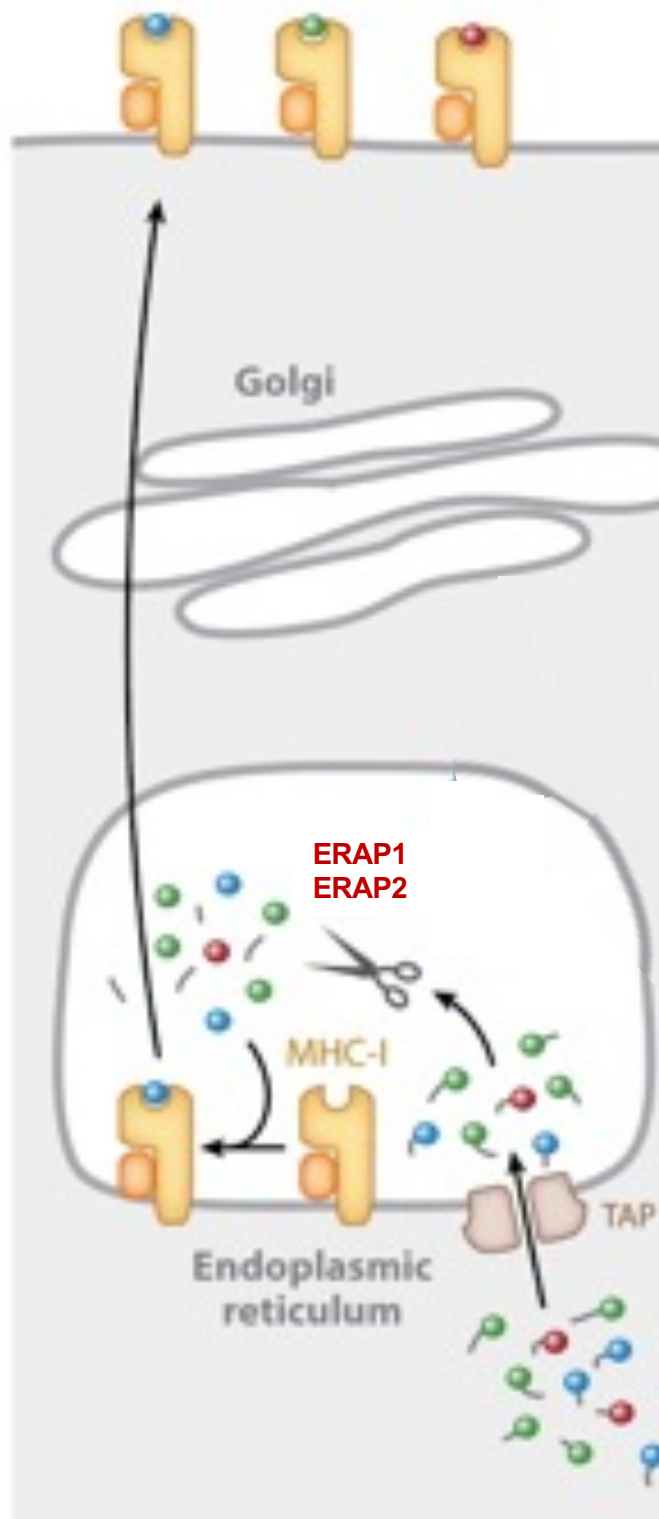
Il legame con i peptidi è cruciale per l'espressione in membrana dell'MHC di classe I. Infatti, il difetto nell'espressione di TAP causa una sindrome da deficit di MHC I in membrana.



Nature Reviews | Genetic

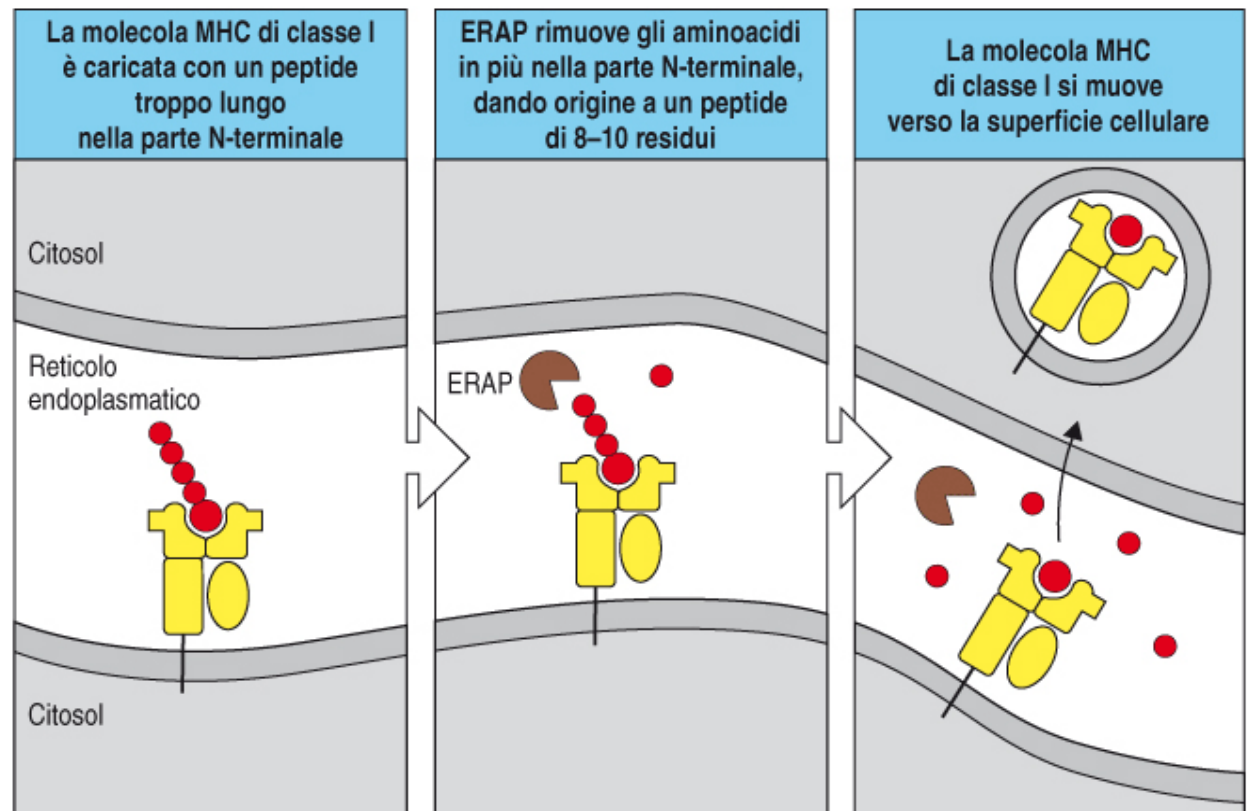


TAP = transporter associated with antigen processing



ERAP1 e ERAP2

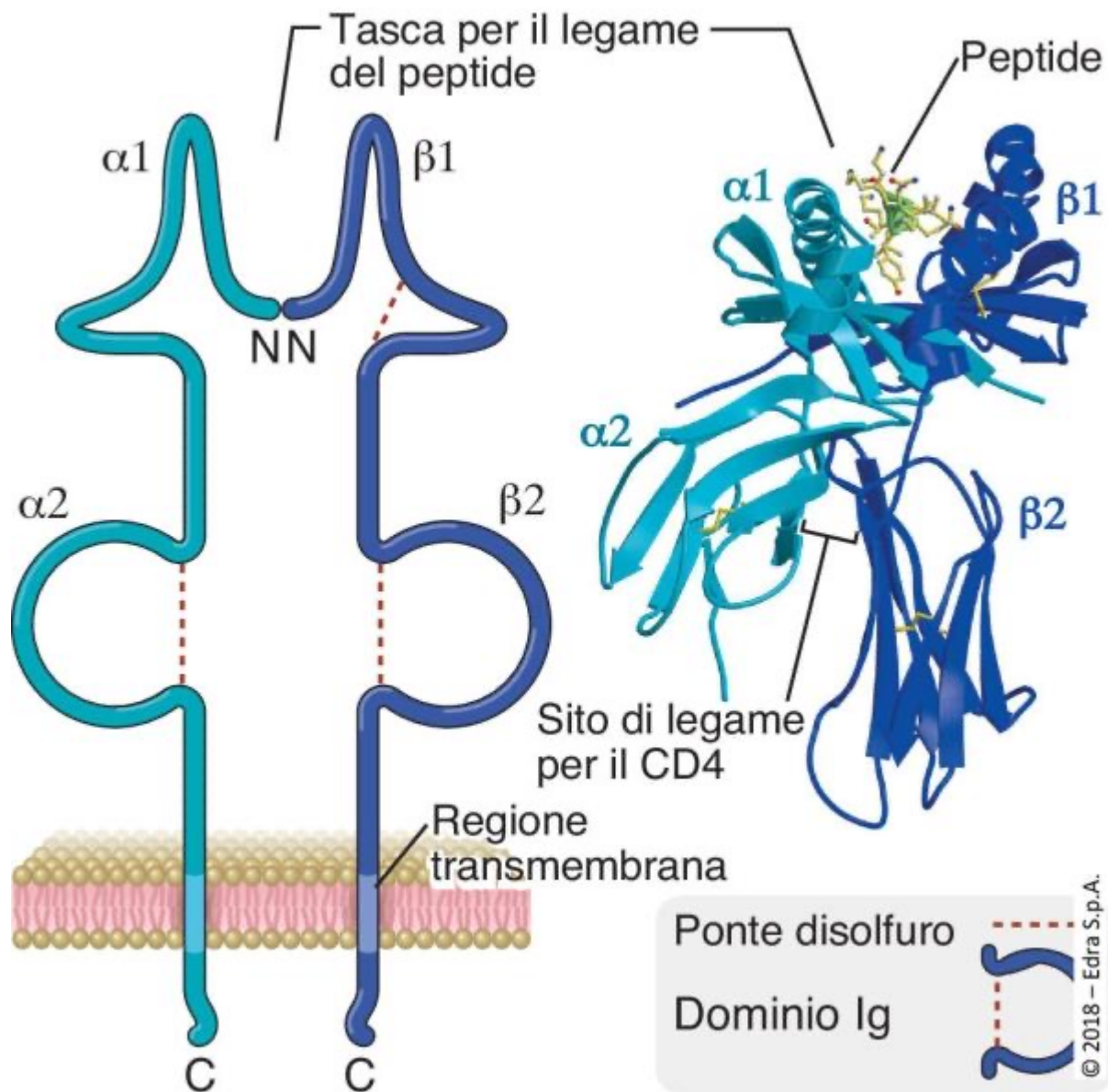
(aminopeptidasi residenti nel RE) rimuovono residui all'N-terminale di peptidi troppo lunghi per essere caricati dalle molecole MHC-I



Struttura delle molecole MHC di classe II

Processazione e presentazione dell'antigene da parte delle molecole MHC di classe II

Struttura delle molecole MHC di classe II

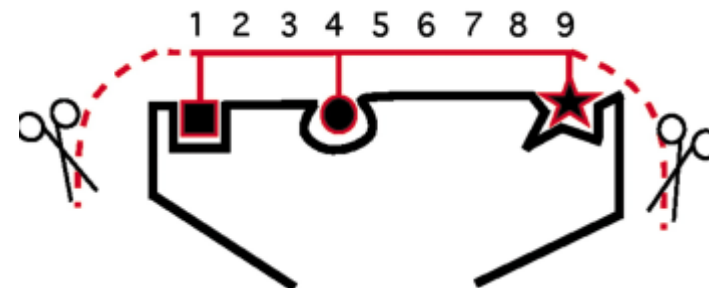


Tasca di legame

Domini $\alpha 1$ e $\beta 1$

Pavimento di foglietti β
delimitato da 2 α eliche.

Tasca aperta: peptide
lungo 10-30 aa

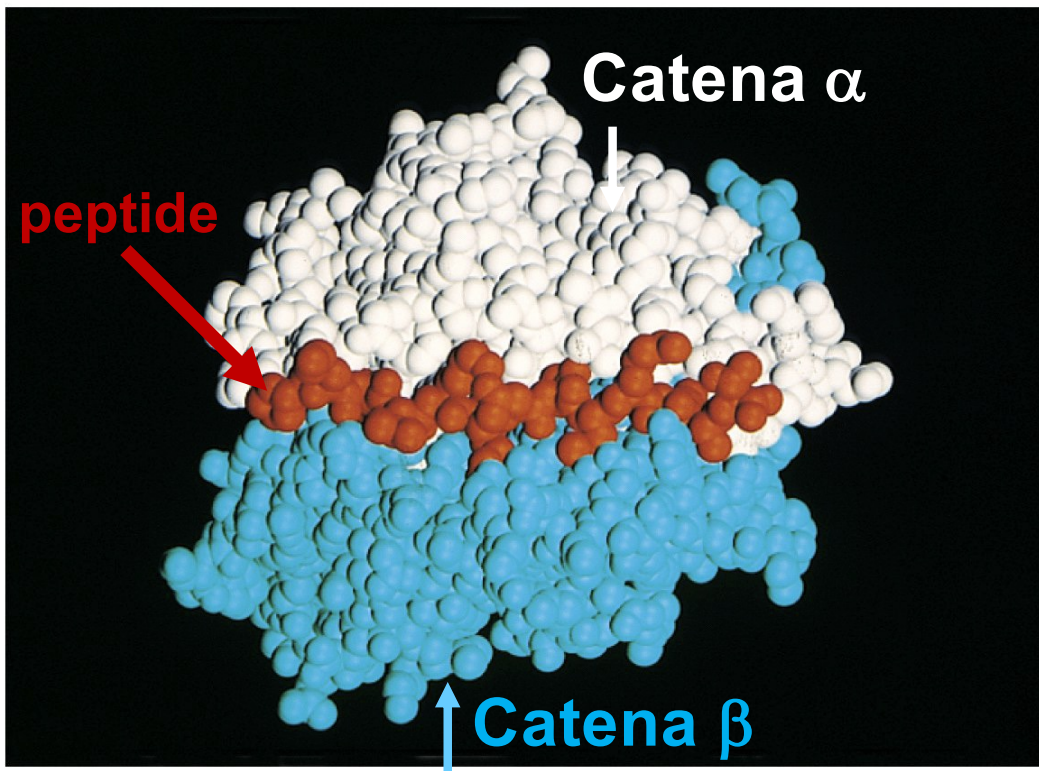


Domini $\alpha 2$ e $\beta 2$ hanno
struttura Ig-like e
contribuiscono entrambi
a **legare il corecettore**
CD4

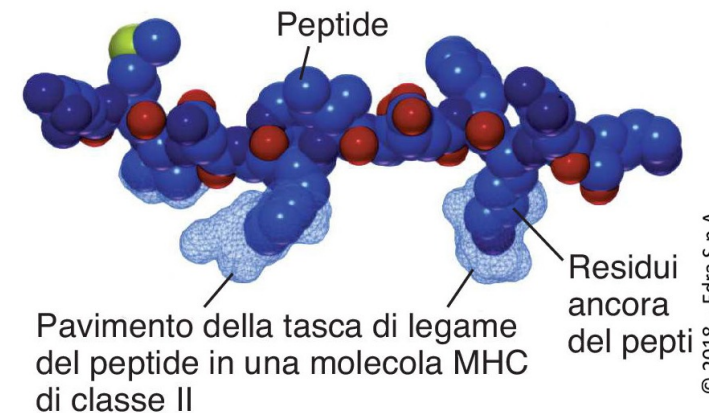
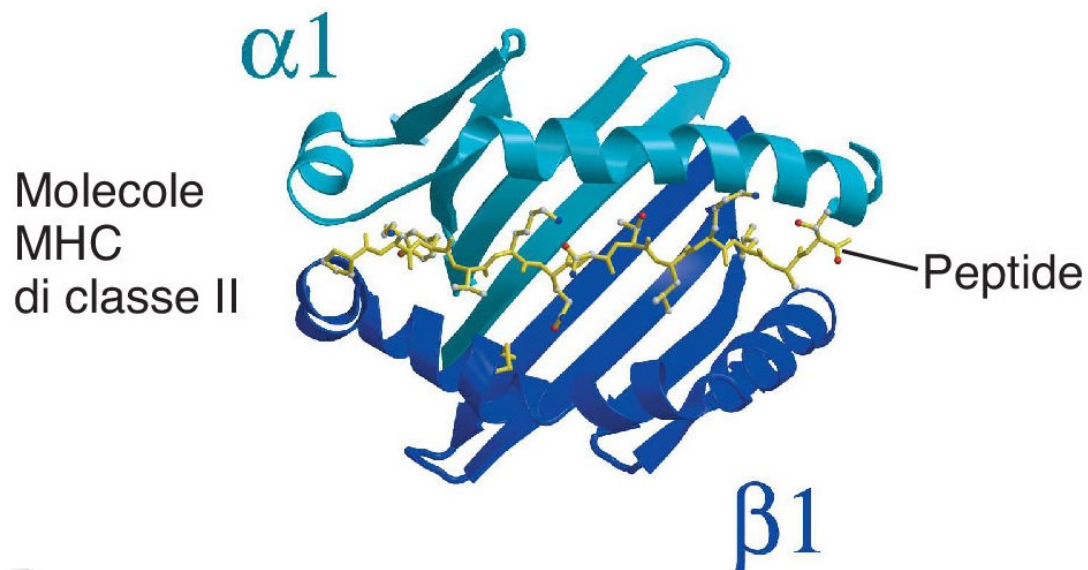
Class II MHC

Legame del peptide alle molecole MHC di classe II

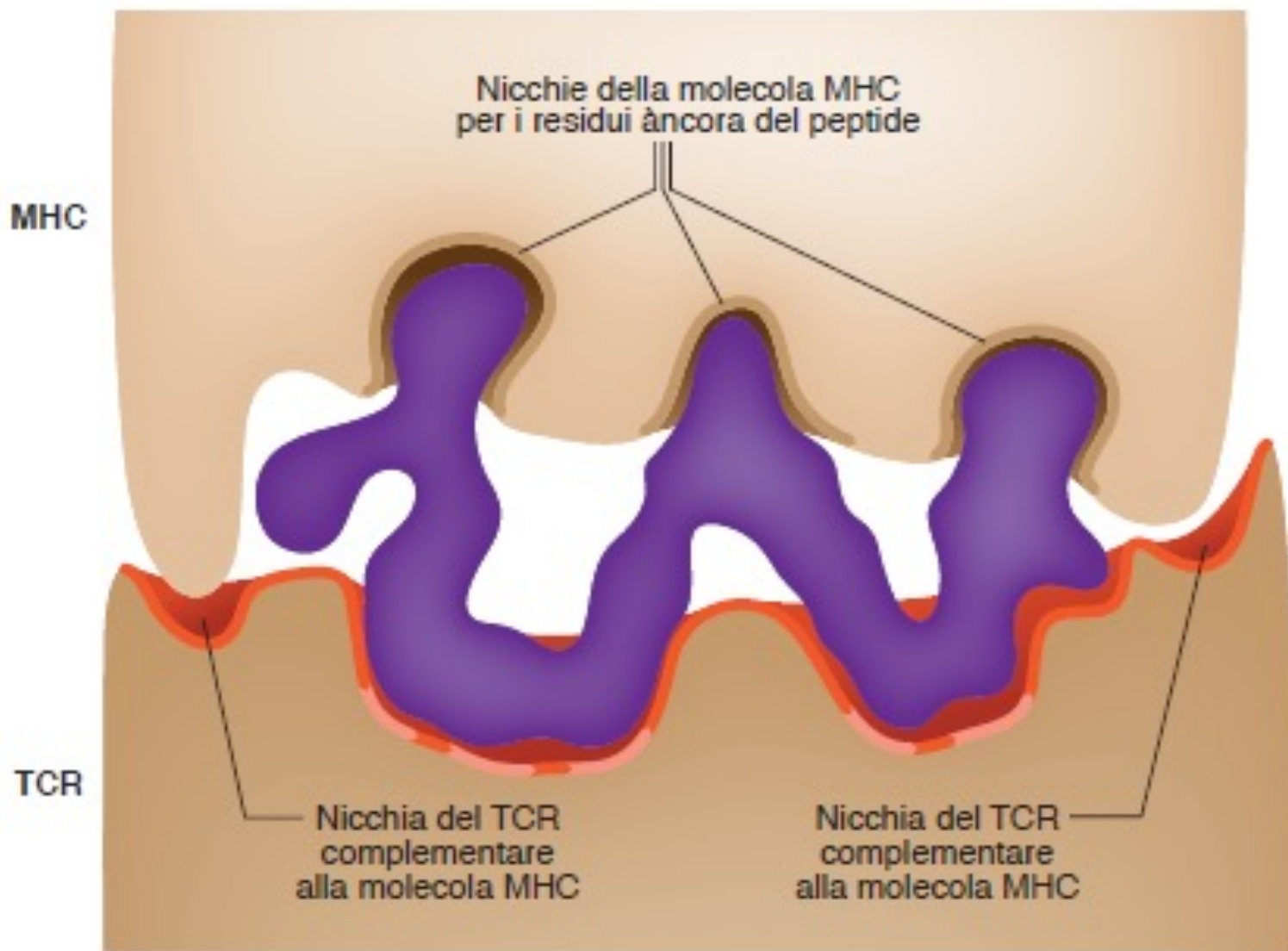
La tasca di legame è aperta permettendo di accogliere peptidi lunghi anche 30 aa



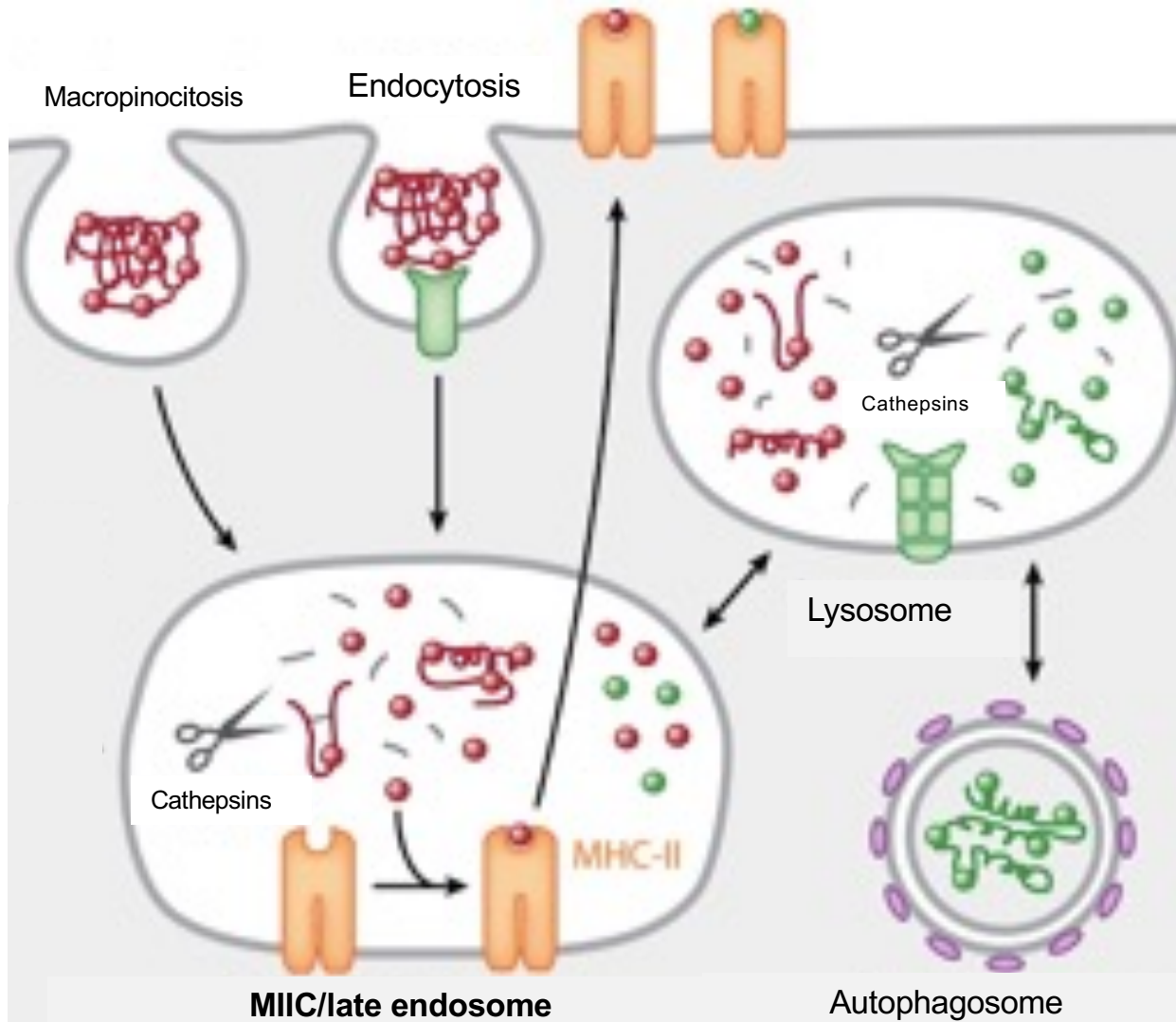
Visione dall'alto della tasca di legame per il peptide



Interazioni tra complesso MHC-peptide e TCR



MHC II presenta peptidi esogeni internalizzati negli endosomi e processati dalle catepsine nelle vescicole endo-lisosomiali



Cellule dendritiche e macrofagi

legano gli antigeni microbici attraverso **recettori di membrana**:

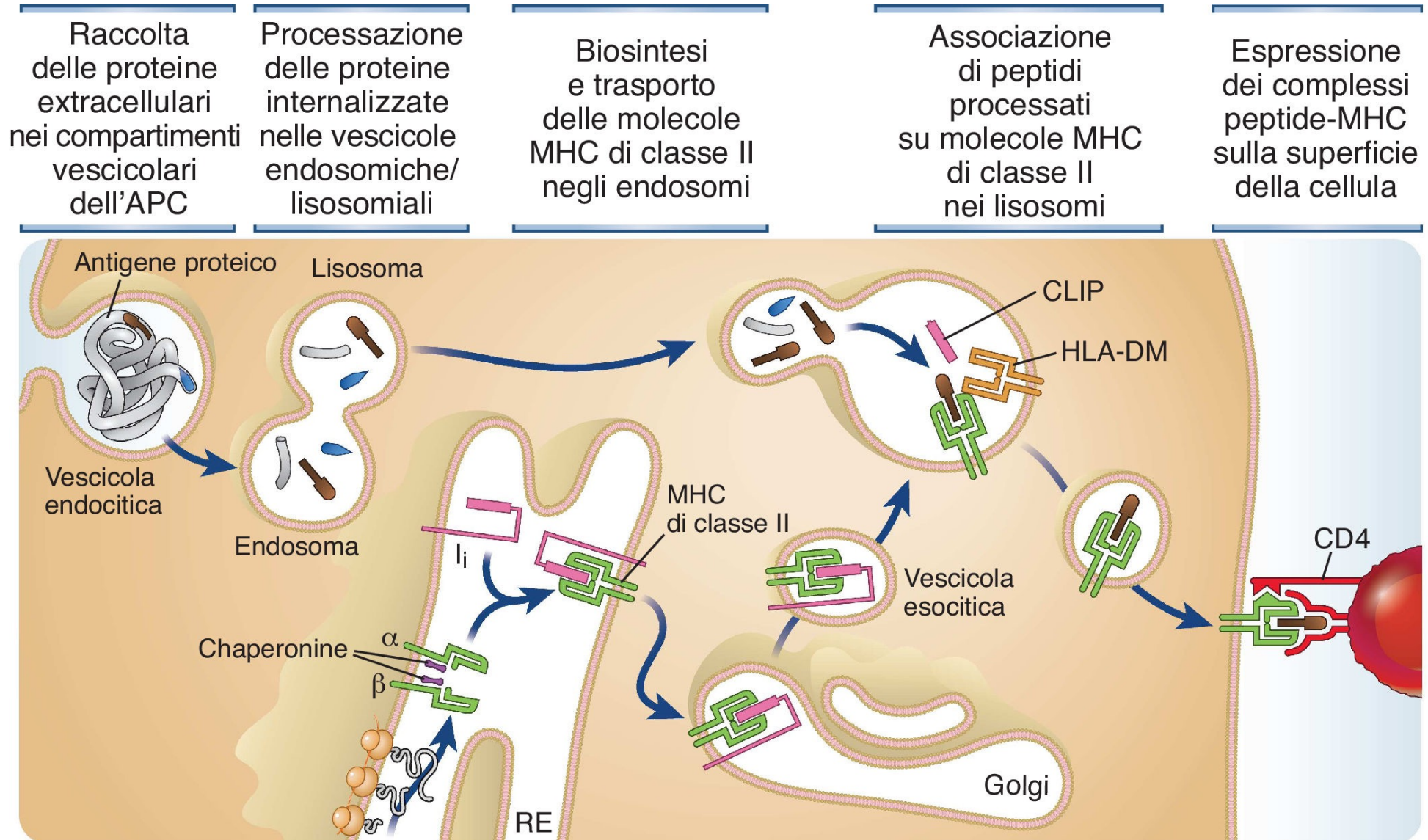
- recettori lectinici,
- recettori scavenger,
- recettori per il mannosio,
- receptori Fc,
- recettori del complemento e li endocitano.

Anche le proteine contenute negli autofagosomi entrano nel compartimento endosomiale dopo fusione delle vescicole

Gli endosomi si fondono con i lisosomi e le proteine vengono degradate dalle **catepsine** presenti negli endo-lisosomi.

Anche le molecole MHC II sono trasportate negli endo-lisosomi dove potranno caricare i peptide antigenici

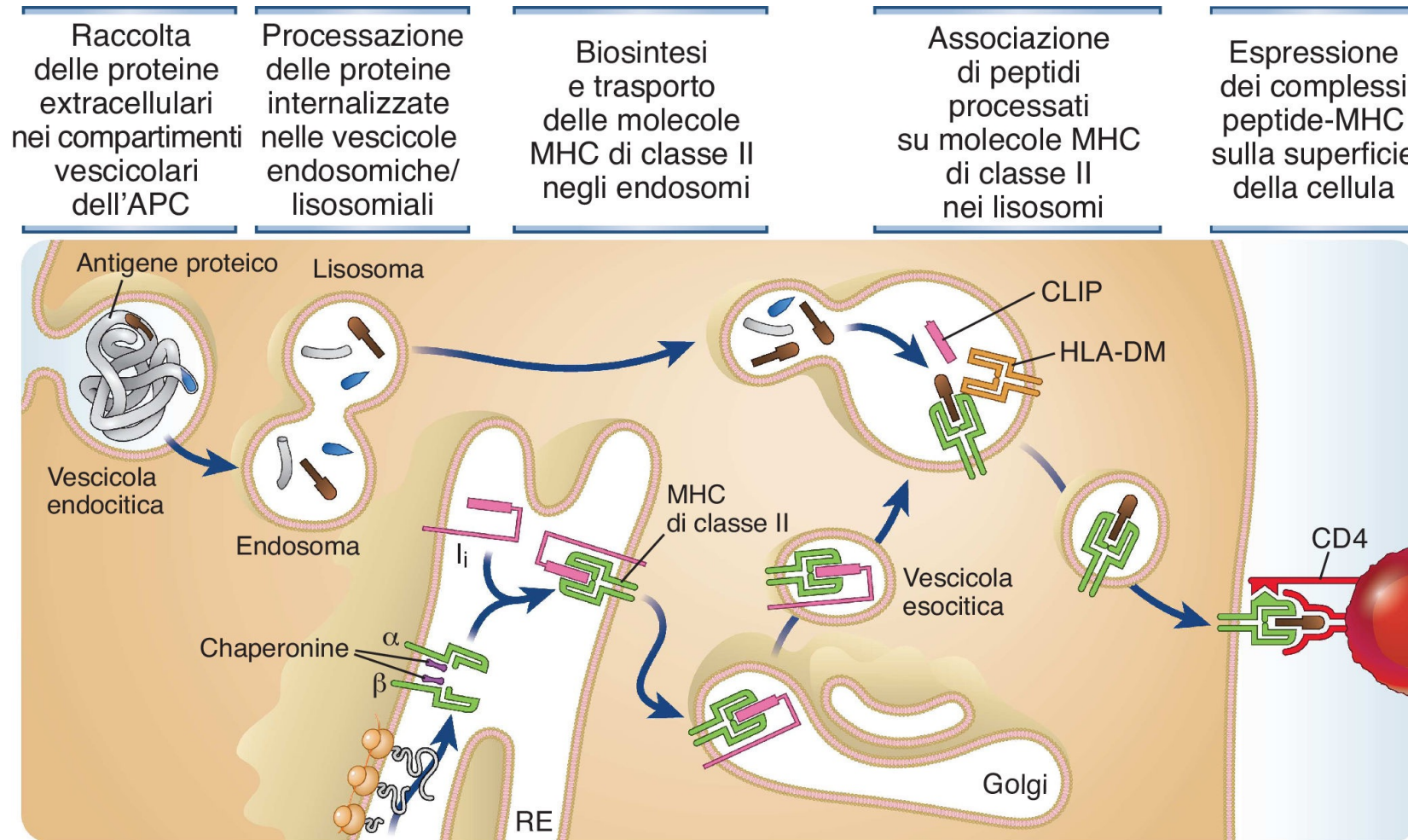
Biosintesi delle molecole di classe II e processazione e presentazione dell'antigene



Gli antigeni provenienti da fonti extracellulari, come gli antigeni batterici, vengono degradati dagli enzimi endo-lisosomiali in peptidi. Questi peptidi si legano alla tasca delle molecole MHC di classe II rimpiazzando il peptide CLIP (class II-associated invariant chain peptide), che è derivato dalla **catena invariante** associata all'MHC di classe II (II). HLA-DM e HLA-DO regolano il processo di caricamento dell'antigene.

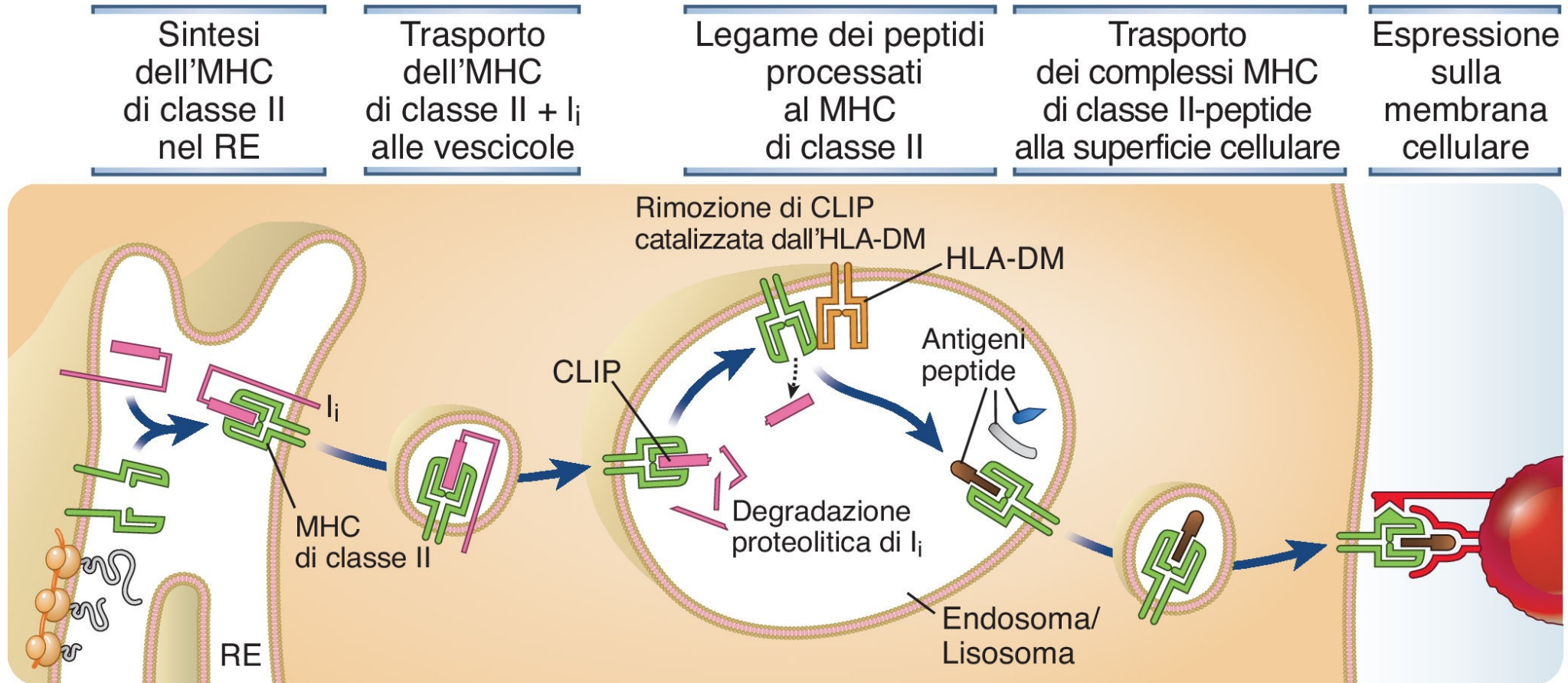


Le molecole MHC II si formano nel RE dove si associano con una catena invariante (Ii) e vengono trasportate negli endo-lisosomi



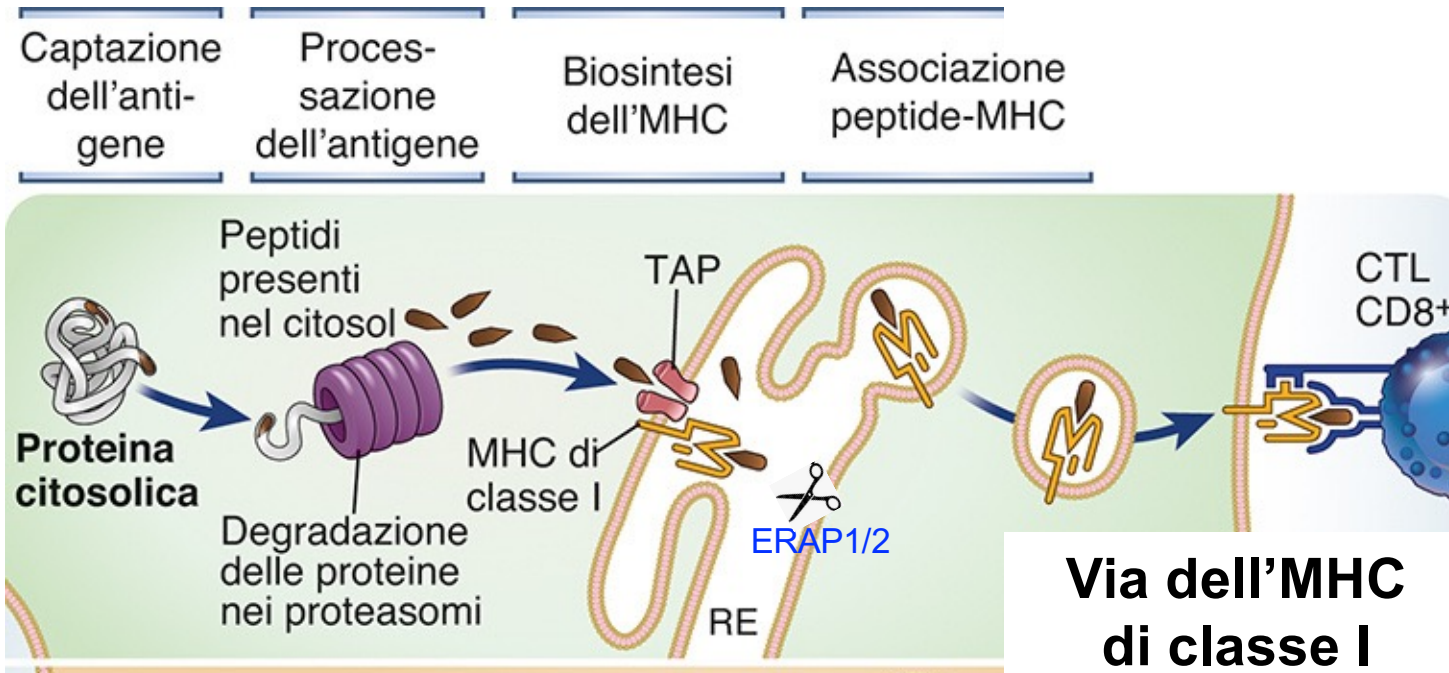
1. Chaperoni come la **calnexina** e la **calreticulina** favoriscono l'assemblaggio delle catene α e β e il legame con la catena invariante **Ii** (che lega MHC II bloccando la tasca di legame ed impedendo nel RE che MHC II leghi peptidi endogeni)
2. Le MHC II vengono trasportate dal RE al Golgi e poi in vescicole che si fondono con endo-lisosomi

I complessi MHC/catena invariante dal RE sono trasportati nel Golgi ed infine negli endo-lisosomi

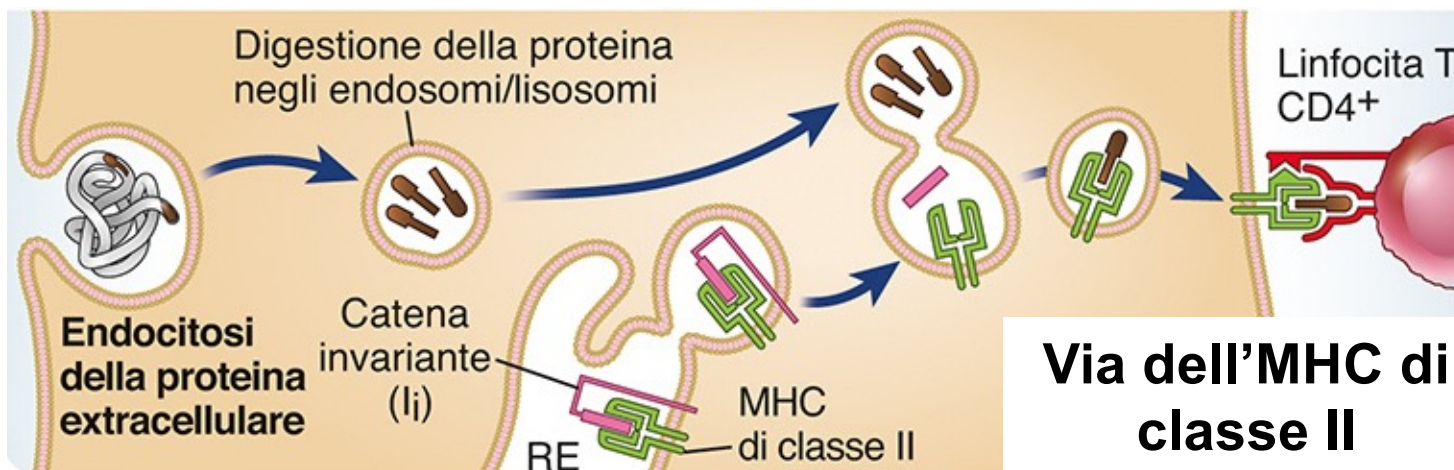


- Negli endo-lisosomi la catena invariante viene tagliata dalle catepsine: formazione del **CLIP**
- Le molecole **HLA-DM** aiutano la rimozione di **CLIP**
- Le molecole MHC II **legano i peptidi**
- I complessi peptide/MHC II **vengono trasportati in membrana**

Vie di processazione e presentazione dell'antigene a confronto

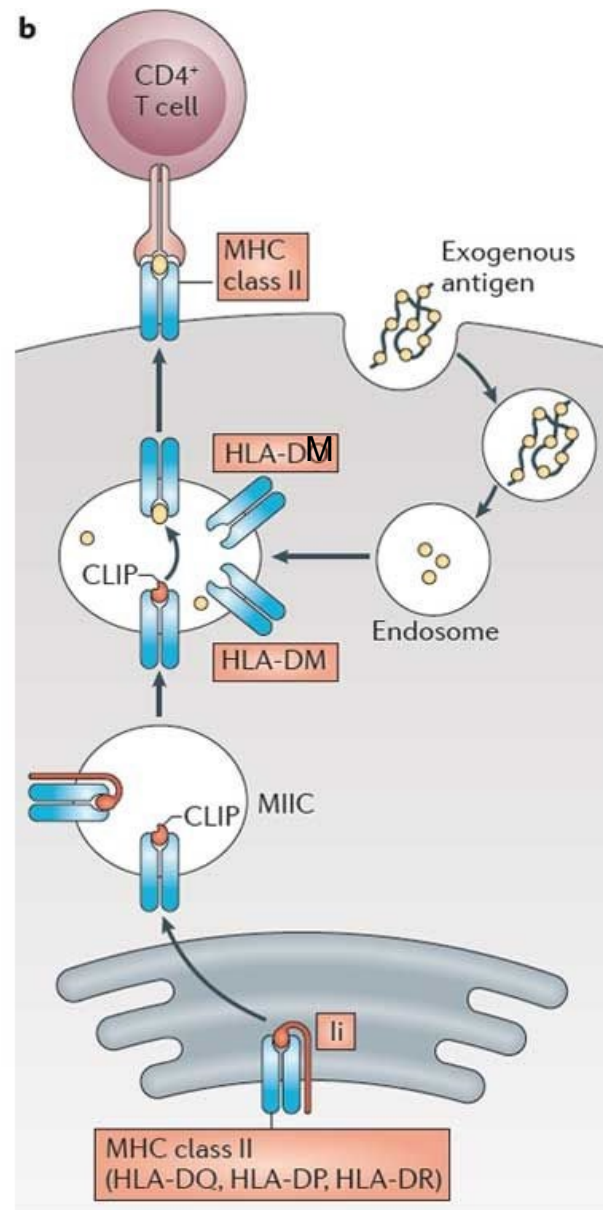
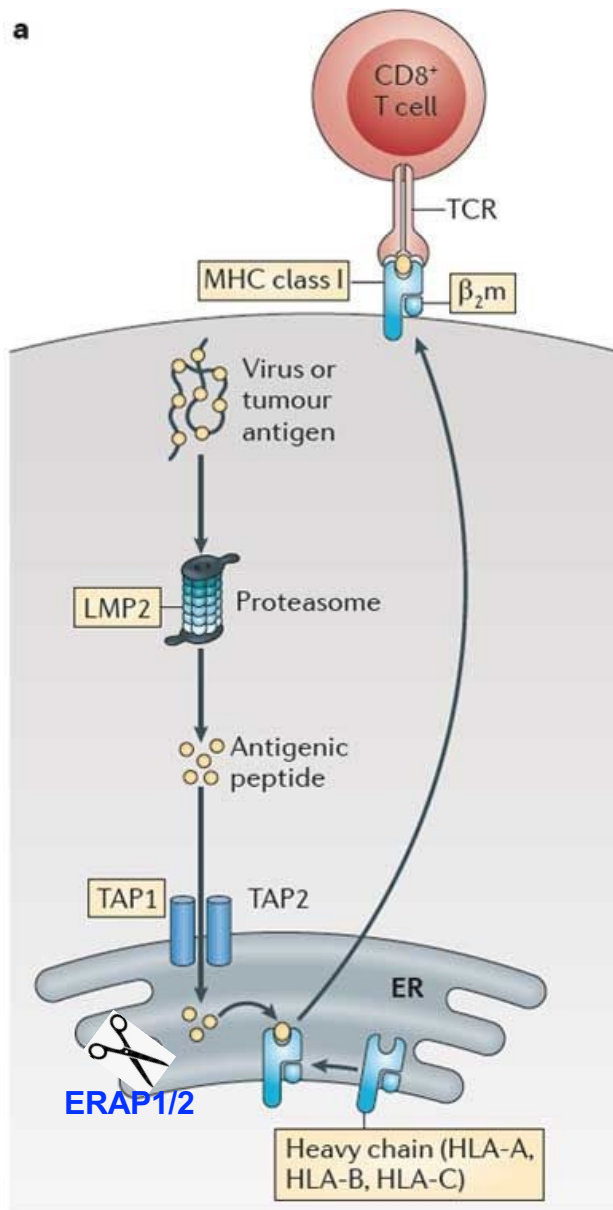


Nella via dell'MHC di classe I, gli antigeni proteici sono ubiquitinati e processati dal proteasoma nel citosol. I peptidi sono poi trasportati dai TAP nel RE dove si associano all'MHC di classe I dopo ulteriore taglio da parte delle ERAP.



Nella via dell'MHC di classe II, gli antigeni proteici extracellulari sono degradati (da catepsine) nei compartimenti endolisosomiali dove i peptidi possono legarsi alle MHC di classe II.

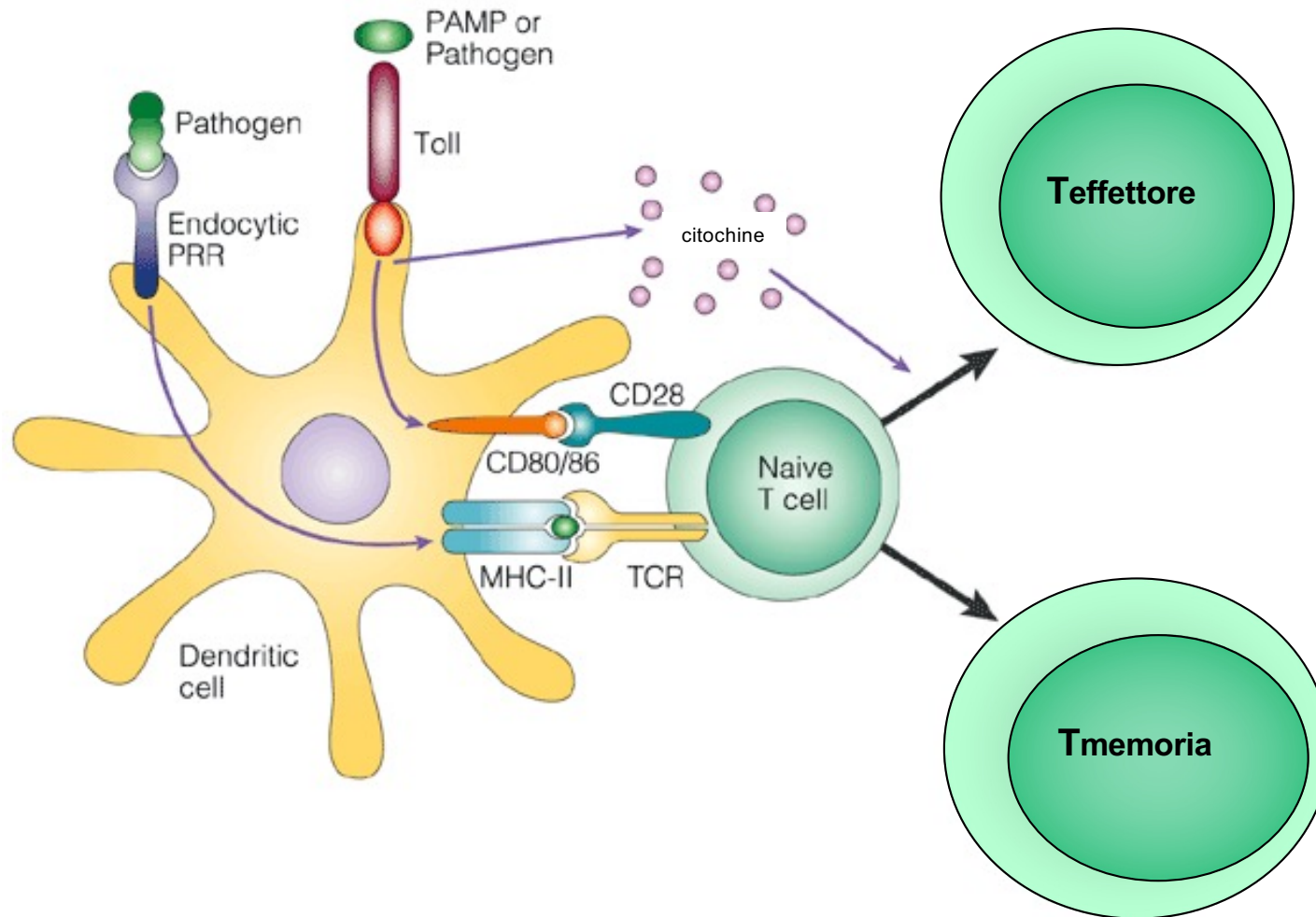
The MHC class I and MHC class II antigen-presentation pathways



a | Intracellular antigens, such as virus or tumour antigens, are processed into peptides by the immunoproteasome, which is composed of multiple subunits. Peptides are transported into the endoplasmic reticulum (ER), where they are loaded into the groove of the MHC class I complex, which is composed of a heavy chain and β_2 -microglobulin (β_2m). MHC class I complexes present antigens on the cell surface to CD8⁺ T cells.

b | Antigens from extracellular sources, such as bacterial antigens, are processed by endo-lysosomal enzymes into peptides. These peptides bind to the groove of the MHC class II complex by displacing the class II-associated invariant chain peptide (CLIP), which is derived from the MHC class II-associated invariant chain (Ii). HLA-DM regulate the antigen-loading process. The MHC class II complex presents antigens to CD4⁺ T cells. MIIC, MHC class II compartment; TAP, transporter associated with antigen processing; TCR, T cell receptor.

Riconoscimento dell'antigene da parte dei linfociti T naive



Segnali richiesti per l'attivazione e la proliferazione di un linfociti T naive e per il differenziamento in linfocita T effetore e della memoria.

Priming dei linfociti T CD8+ naive

a Antigen-specific responses

