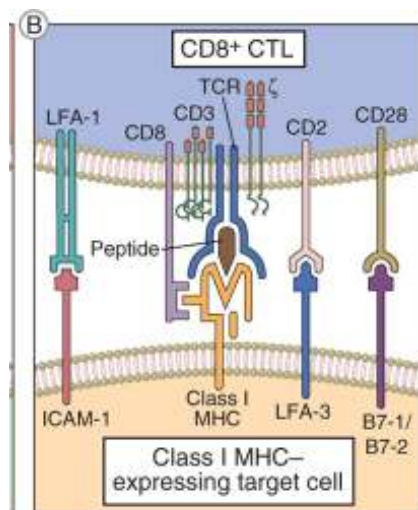


Forelæsningen tager udgangspunkt i recirkulationen af naive T-celler mellem blod og lymfe og mødet med antigen præsenteret af dendritiske celler i lymfeknuderne. Herunder kommer jeg ind på betydningen af co-stimulatoriske molekyler, klonal ekspansion med uddifferentiering af Th1, Th2 og Th17-celler, samt cytotoxiske T-celler, ændring af kemokinreceptorer/-adhærencemolekyler, og migration til inflammærede områder. Også afslutningen af immunresponsen berøres med apoptose og dannelse af hukommelses-T-celler (CD45RO+/RA-). Influenza anvendes som model for et antiviralt CD8 respons (tetramerdata præsenteres). Cytokinprofiler for de forskellige T-celle subsets gennemgås. Hvis tiden tillader det berøres også HLA-polymorfi og HLA-restriktion

Læseforslag: Abbas kap. 9 og 11

Kap. 9 Activation of T lymphocytes



Det handler om T-celle aktivering hvor den naive T-celle møder antigen, præsenteret af antigen præsenterende celler (APC) (dendritiske celle) med klasse I eller II MHC molekyler og bliver aktiveret. Dette resulterer i proliferation og differentiering af T-celler til effektor og memory T-celler, der netop er specifikke for det pågældende antigen.

Det hele starter med, at antigenet krydser gennem den epitheliale barriere og bliver fanget af immature dendritiske celler og bliver transporteret til lymfeknuder. De antigener der når ind til blodbanen, bliver fanget af dendritiske celler i blodet eller i milten. Hvis disse antigener er associeret med "pathogen-associated molecular pattern"

ligander til Toll-like receptors, bliver dendritisk cellen aktiveret og udtrykker costimulatorer f.eks. B7 proteiner på celleoverfladen. De internaliserer antigenet i vesikler, begynder at mature og migrerer til T-celle zone af sekundære lymfoid organer f.eks. lymfeknuder. Både T-celler og dendritiske celler bliver drevet til T-celle zone pga. kemokiner der aktiverer deres overfladiske CCR7 kemokine receptorer.

Dendritiske celler præsenterer antigener på MHC molekyler og også udtrykker costimulatorer i form af B7, der afgiver signalet til naive T-celler's costimulatorer, CD28. T-cellen hermed aktiveres. Signalet gennem antigen receptorer og gennem costimulatorer inducerer også sekretion af cytokiner, interleukin-2, der bidrager med autokrine signaler til at aktivere T-celler og stimulerer differentiering af T-celler til effektor og memory celler. Nogle af T-celler herefter træder ind i blodbanen, mens de andre bliver i lymfoid organer og hjælper B-celler til at differentiere til antistof-secernerende plasmaceller.

Effektor T-celler kan migrere hvor som helst hvor der er infektion/inflammation. Her møder de igen antigener som de er specifikke for og eliminerer dem. Effektor CD4 T-celler secernerer cytokiner der aktiverer makrofager til at dræbe fagocytærede mikroorganismer. Nogle effektor T-hjælpere bliver i lymfoid organer og hjælper B-celler til at differentiere sig der udskiller antistoffer, der binder sig til antigener.

Effektor CD8 T-celle, CTLs, dræber inficeret celler og tumor celler, der bliver præsenteret af MHC klasse I. Memory T-celler er specifikke celler der husker de antigener, som organismen bliver syge af, og ved samme antigeneksponeringen kan respondere hurtigere og kraftigere, når det gælder bekæmpelse af antigenet.

Aktiveringen af memory celler er kun afhængige af antigen-receptoren, TCR. Costimulatorer er ikke nødvendige.

Efter bekæmpelse af antigenet, går immunsystemet tilbage i hvilefasen. Mere end 95 % af de aktiverede CD8 T-celler dør af apoptosis, da normalt er det antigenet, costimulatorer og cytokiner, der bidrager med overlevelsessstimuli til T-celler under inflammationen.

Aktiveringen af CD4 T-celler kræver genkendelse af antigenet og costimulation i det samme lymfoidt organ og på samme tid, hvor ekstracellulært antigenet bliver præsenteret af dendritiske cellen i associeret med MHC klasse II.

Naive T-celler migrerer fra blod til lymfoid organer, fra et lymfoid organ til det næste og tilbage til blodet, indtil de møder et antigen, som de udtrykker specifikke receptorer for. Antigenet bliver transporteret til lymfoid organer via lymfedrænage og til milten via blodet.

Ved præsentation af antigenet sker der T-celle proliferation medieret af T-celler selv, hvor de secernerer deres egne cytokiner, interleukin-2, og udtrykker receptorer for disse cytokiner. Det kaldes klonal expansion. Før antigen aktivering er frekvensen af T-celler specifik for antigen 1 til 10^5 - 10^6 lymfocytter. Efter antigen aktivering er den øget til 1 til 100-1000 celler.

Effektor CD4 T-celler er karakteriseret ved deres evne til at udtrykke overfladiske molekyler der aktiverer andre celler (B lymfocytter, makrofager og dendritiske celler) og secernerer flere forskellige cytokiner der er involveret i funktion af disse celler.

Aktiveringen af CD8 T-celler kræver også genkendelse af antigenet. Aktiveringen hjælpes også ved costimulatorer på dendritiske celler, B7-1 og B7-2 der binder sig på CD28 på T-cellens overflade eller signaler fra T-hjælpeceller.

Antigenet findes i cytosolen af en celle, der ikke er antigen præsenterende celle. Derfor skal antigenet have adgang til MHC klasse I af dendritiske celler. Dendritiske celler har en bestemt evne til at fange antigenet af virus eller tumorceller og præsenterer dem for CD8 T-celler. Fuld aktivering kræver hjælp fra CD4, der fungerer som det andet signal. CD4 T-hjælpeceller producerer cytokiner, der stimulerer CD8 differentiering. Aktiveret CD4 udtrykker CD40 ligand, der binder sig til CD40 på antigen præsenterende celle og aktiverer dem til at blive mere efficient til at stimulere differentiering af CD8.

Hvis CD8 T-celler genkender antigen og costimulatorer på dendritiske celler, behøves T-hjælpeceller ikke. CD8 vil være fuld aktiv her. Effekten af T-hjælpecelle ser mere ud til at være at differentiere CD8 i funktionelle memory celler.

Før antigen aktivering er frekvensen af CD8 T-celler 1 til 10^5 til 10^6 lymfocytter, mens efter antigen aktivering øget den helt op til 1 til 10 lymfocytter. Flere cytokiner spiller en rolle i forbindelse med klonal expansion. De er IL-12, IL-15 og IL-7. En rolle af IL-2 i klonal expansion er ikke helt klart hos CD8 T-celler.

Differentieringen fører til dannelse af effektor CTLs der har funktion at dræbe fremmede mikroorganismer. Selve differentieringen involverer mange ting. Der sker dannelse af membranbundne cytoplasmatiske granula der indeholder proteiner inkl. perforin og granzymes, der har funktion at dræbe mikroorganismer. Differentierede CTL's secernerer også cytokiner, IFN- γ , lymfotoksin og TNF, hvis funktion er at aktivere fagocytter og inducerer inflammationen.

Selve funktional CTLs kræver antigen-genkendelse til at aktivere respons, cytokiner interleukin-12 til proliferation og differentieringen til CTLs og samarbejde med CD4 T-hjælpeceller til at generere specielt memory celler.

Udtryk af costimulatorer er reguleret og sørger for at T lymfocytter respons er initieret på den rette tid og sted. Udtryk af costimulatorer er øget ved mikroorganismer, der binder sig til Toll-like receptorer og af cytokiner såsom INF- γ produceret ved det medfødte immunrespons til mikroorganismer. Antigen genkendelse af T-celler i konjunktion med CD28 aktiveringen inducerer ekspresion af CD40 ligand på aktiverede T-celler. Bindingen mellem CD40L på T-celler og CD40 på APC er også med til at øge udtryk af B7 costimulator på APC samt sekretion af cytokiner der aktiverer T-celler. Dendritiske celler er de celler, der udtrykker de højeste niveauer af B7, og er den mest potente APC til at stimulere naive T-celler.

Tidligere effektor og memory T-celler er mindre afhængige af costimulatorer. F.eks. differentieringen af CD8 T-celler har brug for costimulatorer, men effektor CD8 T-celler dræber andre celler, der ikke udtrykker costimulatorer.

En af de største funktioner af B7:CD28 er at generere regulatoriske T-celler. De er i stand til at undertrykke funktion af effektor T-celler. CD28 signaleringen øger produktion af IL-2, der er vækst faktor. Det sker i forbindelse med kombination af transskription og stabiliseringen af IL-2 messenger RNA. CD28 fremmer også overlevelse af T-celler ved at øge udtryk af anti-apoptotisk protein Bcl-x.

Der findes et andet protein, ICOs = inducible costimulator, der er homolog til CD28 og også induceret på T celle efter aktiveringen. Den er vigtige til at stimulere produktion af IL-10.

Et andet protein, CTLA-4 er også homolog til CD28, binder sig til B7 og er udtrykt på T-celler. Deres funktion er omvendt. De er med til at hæmme T-celle respons og spiller en rolle i tolerance.

T-celle signaleringen aktiverer transskription af gener, der er stille i naive T-celler og hvis produkter medierer respons og funktion af aktiverede T-celler. Den tidligste biokemiske respons består af clustering af coreceptorer med antigen receptorer og tyrosin fosforyleringen af immunreceptor tyrosin-baseret antiverende motif (ITAM) tyrosin enheder. TCR har ikke intrinsik enzymatisk aktivitet, men den er associeret med CD3 kompleks og ζ proteiner der binder enzymer og indeholder ITAMs. Fosforyleringen af ITAM tyrosin initierer signal transduktion og aktiveringen af tyrosin kinase, som til gengæld fosforylerer tyrosin enheder på andre adaptor proteiner.

Signaler fra antigenreceptor aktiverer en del vigtige biokemiske pathway der er Ras-MAP kinase pathway, protein kinase C (PKC) pathway og calcium-calcineurin pathway.

Aktivitet af kinase i T-celle aktiveringen kan reguleres af proteinet tyrosin fosfatase.

Cytokiner er produceret til at mediere og regulere en immunrespons mod mikroorganismer og andre antigener. De syntetiseres først når de skal bruges. De virker lokalt (auto- og parakrint) eller systemisk (endokrint). De binder til receptorer på overfladen af den celle de skal virke på, ændrer i gen-ekspressionen af nye proteiner, cytoskelet reorganisering, apoptose.

Alle cytokin receptorer består af et eller flere transmembrane proteiner. Den ekstracellulære del står for cytokin binding. Den intracellulære del er ansvarlig for signalering. Receptorerne er klassificeret i familier baseret på struktur og signaleringsmekanismer.

Vi har ca. 1 milliard/L T-lymfocytter. En voksen har omkring 1.5 kg lymfoidt væv indeholdende af størrelsesordenen 5×10^{11} lymfocytter med en egenvægt på omkring 300 g. % vis kan man finde i følgende organer:

- 15 % i milten
- 11 % i thymus
- 11 % i knoglemarven
- 11 % slimhinde-associeret i gastrointestinalkanalen
- 6 % knyttet til nedre luftveje
- Det er værd at bemærke at blodet kun rummer 2 % af lymfocytter.
- 3 % i huden (0,5 %) og i blæren og genetaliers slimhinder.

Lymfeknuderne modtager 1 % af minutvolumen. Efter 1 time har 50 % blodets lymfocytter passeret en lymfeknude. Ca. 50 % af lymfocytter er recirkulerende og ca. 50 % af dem forlader blodet ved hver passage.

Naive T-celler, som ikke møder deres antigen, forbliver i lymfeknuden i et døgn. Dernæst returnerer de til blodet (drevet mod en sphingosin-1-fosfat (S1p)-gradient).

De naive T-celler udtrykker L-selektin (CD62L) og CCR7 og integrinerne LFA-1 og VLA-4. HEV udtrykker sialomuciner og kemokinerne er CCL19 og CCL21.

Kemokinreceptorerne bestemmer hvor hhv. T- og B-cellerne går hen.

T-celler: CCR7 binder CCL19 og CCL21.

B-celler: CXCR5 som binder CXCL13 (folliklerne).

I milten er organiseringen anden, men det er de samme signaler der styrer organiseringen:

T-celler: CCR7 binder CCL19 og CCL21 (periarteriolære skede)

B-celler: CXCR5 binder CXCL13 (follikler).

S1P1 hæmmes af IFN α og IFN β hvorved lymfocytterne ikke forlader lymfeknuden i et par døgn

Kap 11 Immunological Tolerance

Immunologisk tolerance betyder manglende evne til at respondere på antigenet. Den er vigtig for af forskellige grunde.

- Immunologisk tolerance er antigen specifik.
- Raske individer er tolerante overfor sine egne antigener, fordi lymfocytter der genkender selv-antigener enten er dræbt eller inaktiverede eller de har fået ændret deres specificitet.
- Nogle antigener af mikroorganismer og tumorceller kan hæmme immunrespons ved at inducere tolerance i specifikke lymfocytter.

- Interaktion mellem immature lymfocytter og selv-antigener i generative lymfoide organer resulterer i enten apoptose af celler (kaldet klonal deletion), ændrer deres receptorer og ikke genkender selv-antigener (receptor editing) eller nogle CD4 T-celler differentieres til regulatoriske T-celler, der migrerer til perifere og forhindrer respons til selv-antigener. Både klonal deletion og receptor editing repræsenterer mekanismer af negativ selektion under lymfocyt udviklingen.
- Klonal deletion er forskellige B-celle og T-celle populationer.

T-celler selekteres i første omgang efter deres evne til at genkende selv MHC præsenteret af epitheiale celler i cortex af thymus (**positiv selektion**). Celler der ikke genkender selv MHC udvikles aldrig til videre til dobbelt positive T-celler og dør efter 3-4 dage. T-celler som reagerer på selvantigener præsenteret af dendritiske celler og makrofager i den corticomedullære zone, undergår apoptose (**negativ selektion**). Negativ selektion af udvikling af lymfocytter er en vigtig mekanisme til at vedligeholde tolerance overfor mange af selv-antigener. Dette kaldes for central tolerance.

Fejl i selv-tolerance kan føre til autoimmune sygdomme.

I fravær af costimulation resulterer det ingen respons, når mature CD4 T-celler møder antigenet. Det kaldes for anergi. Anergiske celler viser en blokering i TCR-induceret signal transduktion. Når T-celler genkender selv-antigenet, må de optage inhibitoriske receptorer af CD28 familie, hvis funktionen er at hæmme T-celle respons og dermed inducerer tolerance. De bedst kendte er CTLA-4 og PD-1. CTLA-4 konkurrerer med B7 og ekskluderer CD28 fra site af T-celle genkendelse. CTLA-4 bliver udtrykt efter 3-4 dages T-celle aktivering.

Disse mekanismer kaldes for perifere tolerance.

Dendritiske celler der normalt er i hvile fase, udtrykker få eller næsten ingen costimulatorer. Sådan APC præsenterer konstant selv-antigener uden at aktivere signaler og de T-celler der genkender disse antigener, bliver anergiske.

Regulatoriske T-lymfocytter (CD25) er en del af CD4 T-celler, der differentieres under udviklingen fra immature CD4 T-celler og hvis funktion er at undertrykke immunrespons og bevarer selv-tolerance. Størstedelen af disse T-celler udtrykker højt niveau af IL-2 receptorer α kæde men ingen andre markører af aktivering. Generation og overlevelse af regulatoriske T-celler er afhængige af cytokiner TGF- β og IL-2 og costimulation af B7:CD28. En transskriptionsfaktor kaldet FoxP3 er vigtigt for udvikling og funktion af regulatoriske T-celler.

Dette kaldes central tolerance.

T-celler der kan genkende selv-antigener uden costimulation, aktiverer en pro-apoptotisk protein Bim, resulterende i apoptose af mitokondriel pathway. I en normal lymfocyt respons, signaler fra TCR, costimulatorer og vækstfaktor stimulerer udtrykket af anti-apoptotisk protein af Bcl-2 familie og disse proteiner fremmer celle overlevelse og proliferation. Bim er medlem af Bcl-2 familie. Bim bliver aktiveret af selv-antigener genkendelse i fravær af costimulation og vækstfaktorer og aktiverer effektor proteiner der trigger død via mitokondriel pathway.

CD4 T-celler udtrykker død-receptor kaldet Fas og dens ligand er Fas ligand. Fas er medlem af tumor nekrose faktor (TNF) receptor familie og FasL er homolog til cytokine TNF. Når T-celler er konstant aktiveret, er FasL udtrykt på celle overfladen og den binder sig til Fas på samme eller en anden T-celle. Dette aktiverer en kaskade af intracellulære cystein proteaser kaldet kaspaser, der resulterer af apoptotisk død af celler.

CD8 T-celler udtrykker ikke Fas død receptorer.

Bindingen mellem TCR på CD8 T-celler og antigenet har afgørende betydning for selektion. I begge tilfælde med antigen med for svag eller for stærk binding til TCR kan føre til apoptose.

Immature B-celler, der kan genkende selv-antigener med høj affinitet i knoglemarven, enten ændrer deres specificitet eller bliver fjernet via apoptose (central tolerance). B-celler kan reaktivere RAG1 og RAG2 gener og udtrykke et nyt immunoglobulin (Ig) letkæde og erhverve en ny specificitet. Denne proces kaldes for receptor editing. Hvis receptor editing fejler, kan de fjernes via apoptose. Svagere genkendelse af selv-antigener fører til funktionel inaktivering (anergi) (perifere tolerance).

Mature B-celler der genkender selv-antigener i perifere væv i fravær af T-celler enten bliver anergiske og dør via apoptose. B-celler, der møder selv-antigener er mindre i stand til at migrere til follikler ned de normale naive B-celler. dette mindsker udtrykket af CXCR5, kemokine receptor, der normalt bringer de naive B-celler til follikler. B-celler der ikke modtager et overlevelsessignal fra follikler, dør efter et par dage.

Andre mekanismer der spiller en rolle i B-celle tolerance er den inhibitoriske receptor FcγRII, fosfatase-associerede ITIM-indeholdende protein Cd22 og nogle tyrosin kinaser.

Vigtige begreber:

Autotolerance: manglende evne hos lymfocytter til at respondere på selvantigen.

Central tolerance: tolerance udvikling hos immature lymfocytter i den centrale lymfoide organer

Perifer tolerance: tolerance udvikling hos mature lymfocytter i de perifere væv