

ЛЕКЦИЯ 3

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВРОЖДЕННОГО ИММУННОГО ОТВЕТА

ЧАСТЬ 2

Q: КАК КЛЕТКИ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА ОТЛИЧАЮТ «СВОЕ» ОТ
«ЧУЖОЕ»?

Q: КАК КЛЕТКИ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА ОТЛИЧАЮТ «СВОЕ» ОТ «ЧУЖОЕ»?

A: С помощью паттерн-распознающих рецепторов



Несигнальные рецепторы макрофагов
– для связывания и интернализации (перемещение внутрь клетки) патогена

Сигнальные – после взаимодействия рецептора с лигандом на мембране клетки запускается каскад **внутриклеточных** реакций, приводящий к активации внутриклеточных белков (ферментов, напр.) или к транскрипции новых генов.

Сигнальные мембранные рецепторы

```
graph LR; A[Сигнальные мембранные рецепторы] --> B[Имеют сигнальные мотивы в цитоплазматическом «хвосте»]; A --> C[Не имеют сигнальных мотивов в цитоплазматическом «хвосте», передача сигнала через G-белок];
```

Имеют сигнальные мотивы в цитоплазматическом «хвосте»

Не имеют сигнальных мотивов в цитоплазматическом «хвосте», передача сигнала через G-белок

ПАТТЕРН-РАСПОЗНАЮЩИЕ МОЛЕКУЛЫ

Рецепторы со специфичностью к поверхности патогена, распознают рисунок повторяющихся структурных последовательностей (**нет у организма!**) и запускают (или усиливают) фагоцитоз.

Mannan-binding lectin (MBL)

Растворимые

Collectin family, рецепторы системы комплемента, распознают углеводные остатки бактерий в правильной ориентации и на правильном расстоянии, комплекс патоген-рецептор

C1q

связывается с фагоцитами через их рецепторы к патогену или к комплексу.

Поверхностные

Macrophage mannose receptor

- лектин, распознает сахара (маннозу и фукозу) бактерий и вирусов (HIV), не имеет сигнальных свойств

Scavenger receptors

мусорщики/ чистильщики

- трансмембранные молекулы, связывают гликопротеины низкой плотности, структурно разнообразны, участвуют в элиминации патогенов и отработанных клеток организма (эритроциты)

Toll-like receptors - мембранные сигнальные рецепторы

Цитоплазматические

NOD-like receptors - цитоплазматические сигнальные рецепторы

Четыре типа паттерн-распознающих рецепторов:

1. «Растворимые» рецепторы плазмы крови – *белки системы комплемента, инициаторы активации этой системы*
2. Мембранные рецепторы фагоцитоза – стимулируют поглощение патогенов, которые распознаются этими рецепторами - *маннозный рецептор макрофагов, дектин-1, scavenger рецепторы, рецепторы к комплементу.*
3. Связанные с мембраной сигнальные рецепторы (signaling receptors)
Toll-like receptors (TLRs)
4. Цитоплазматические сигнальные рецепторы
NOD-like receptors (*NLRs*)

РЕЦЕПТОРЫ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА

Сравнение характеристик паттерн-распознающих рецепторов врожденного иммунитета и антиген-специфичных рецепторов врожденного иммунитета

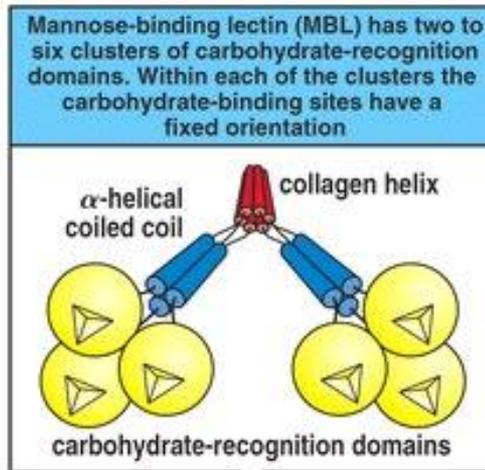
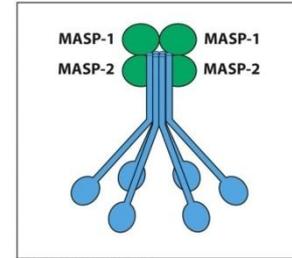
Общее — отличают «свое» от «чужое», **НО** имеются различия:

Receptor characteristic	Innate immunity	Adaptive immunity
Specificity inherited in the genome	Yes	No
Expressed by all cells of a particular type (eg, macrophages)	Yes	No
Triggers immediate response	Yes	No
Recognizes broad classes of pathogen	Yes	No
Interacts with a range of molecular structures of a given type	Yes	No
Encoded in multiple gene segments	No	Yes
Requires gene rearrangement	No	Yes
Clonal distribution	No	Yes
Able to discriminate between even closely related molecular structures	No	Yes

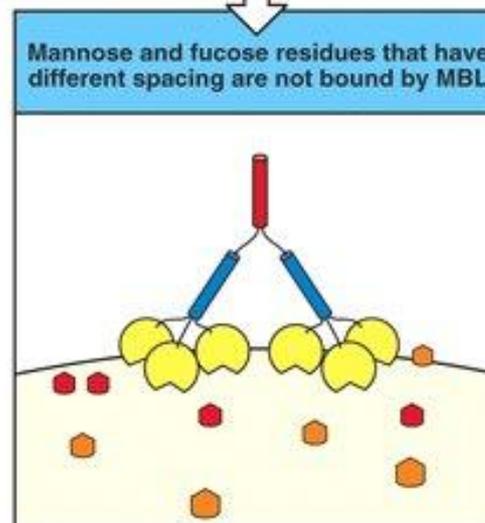
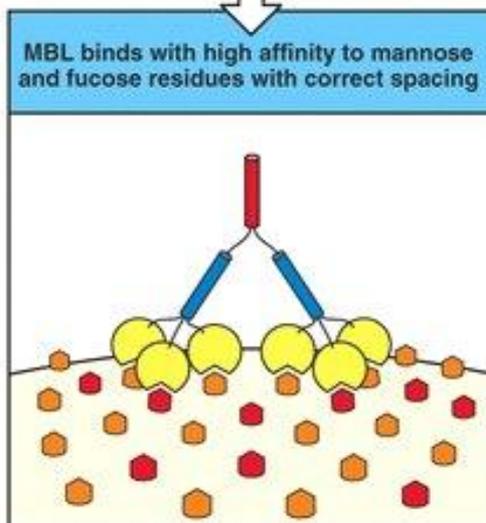
Figure 2-10 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Как работают pattern-recognition molecules?

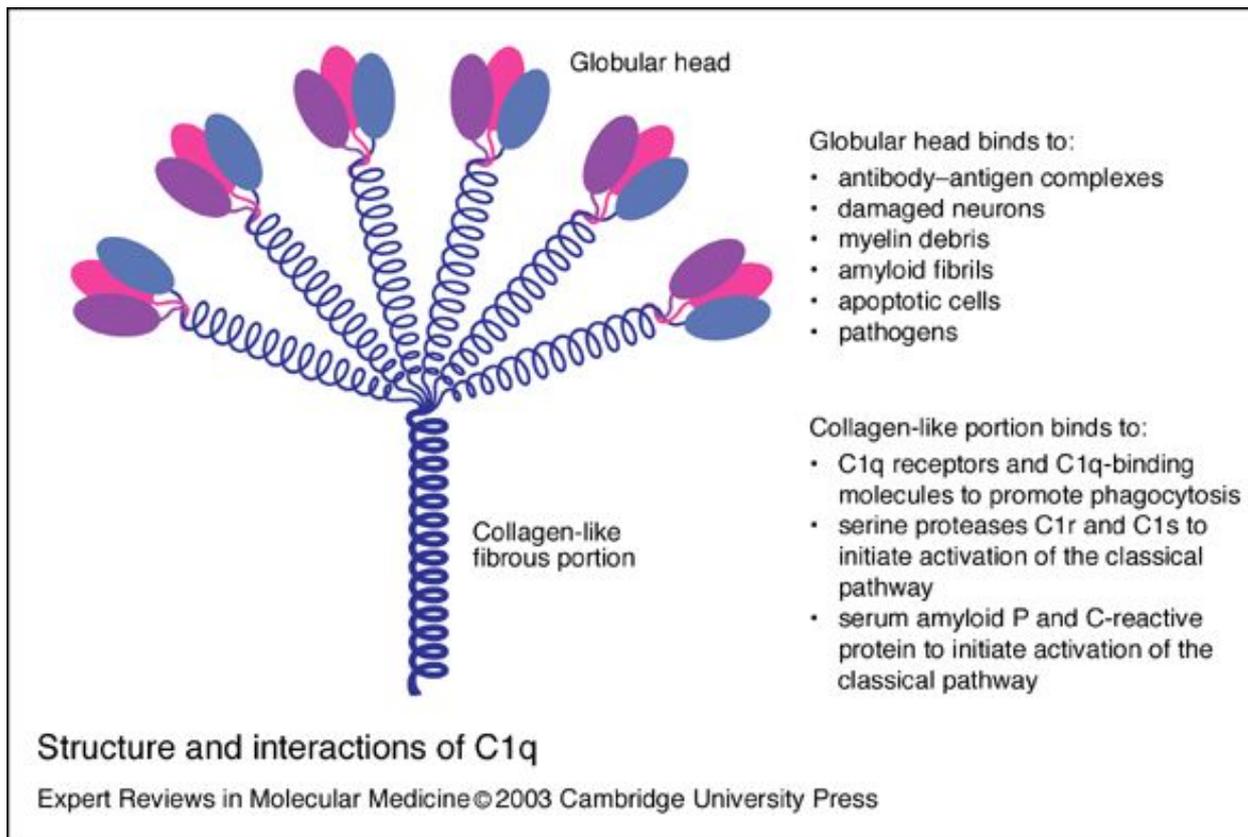
«Растворимые» рецепторы плазмы крови



- MBL распознает маннозу и фукозу бактерий в правильном положении и на правильном расстоянии и активирует систему комплемента по лектиновому пути.

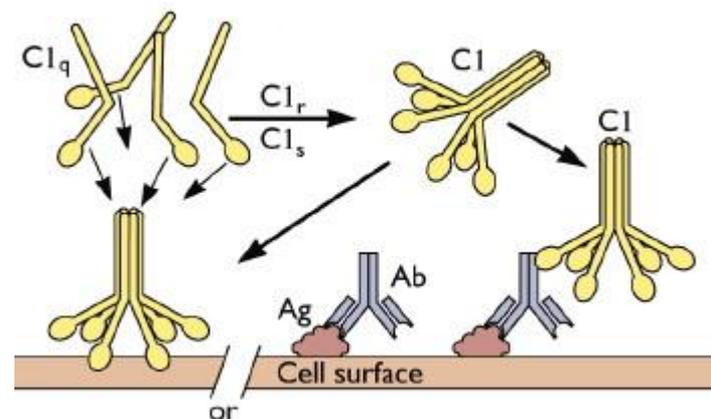


В мембранах клеток позвоночных эти сахара прикрыты другими сахарами и недоступны для MBL



Структура C1q – сенсора комплекса C1, который инициирует классический путь активации комплемента

- C1q может связываться с патогеном напрямую или через молекулы IgM или IgG, связавшиеся с патогеном.
- Для активация C1r необходимом связывание, по крайней мере двух, из шести сенсорных головок C1q.



Мембранные рецепторы фагоцитоза – для эффективного захвата патогена, не имеют сигнальных свойств

Процесс фагоцитоза начинается со связывания патогена с паттерн-распознающими рецепторами на поверхности макрофага. Эти рецепторы служат для узнавания патогена, его последующего перемещения внутрь клетки (интернализация) в составе фагосомы и дальнейшего разрушения в фаголизосоме.

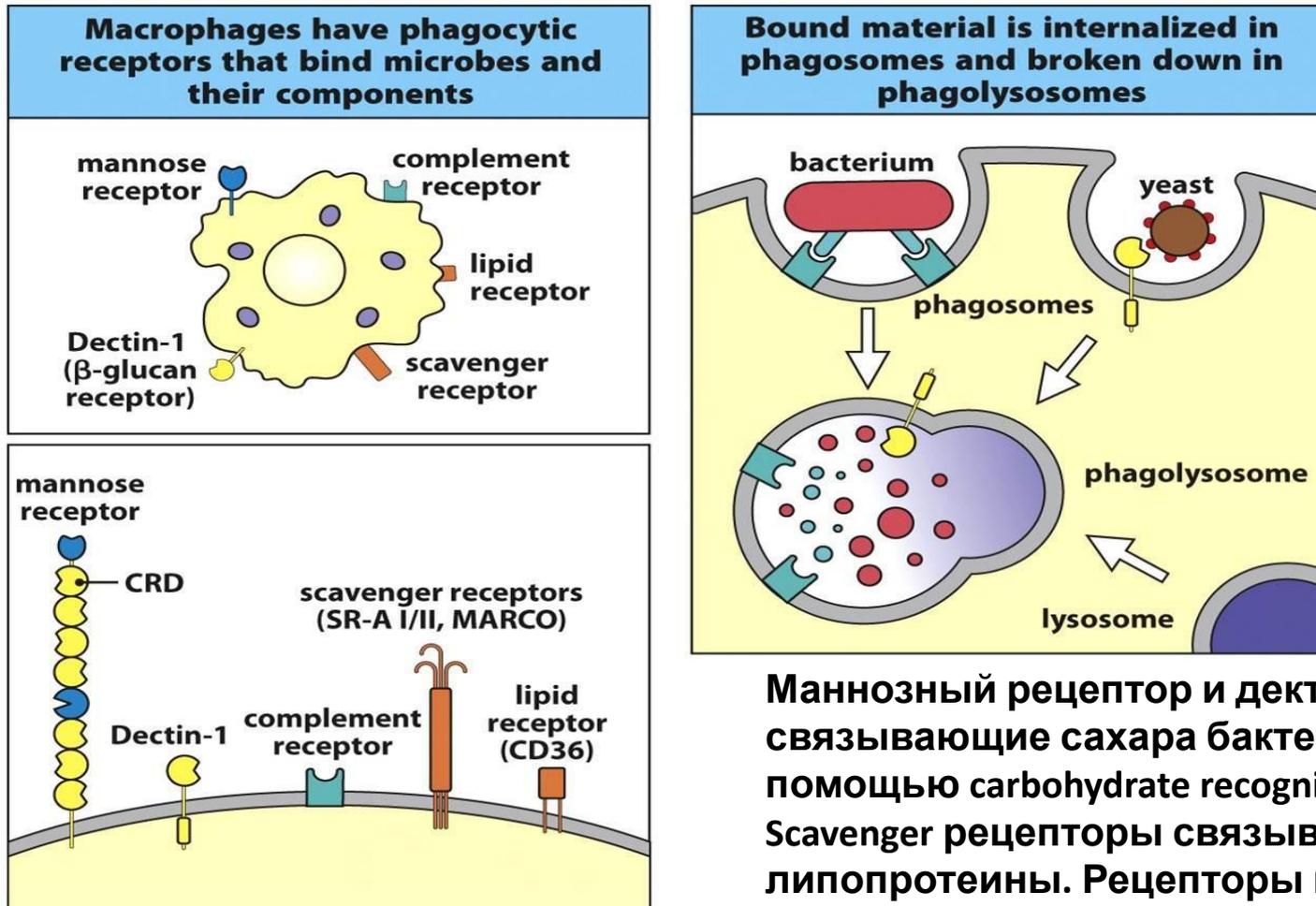
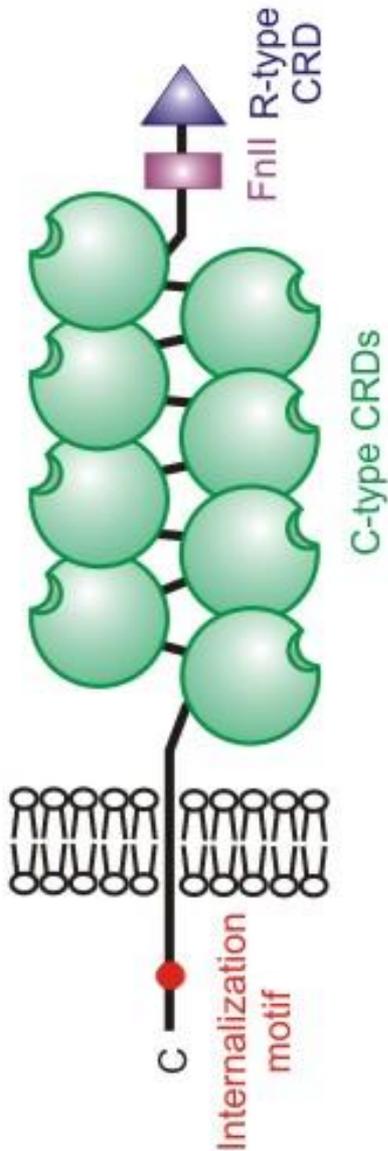


Figure 3.2 Janeway's Immunobiology, 8ed. (© Garland Science 2012)

Маннозный рецептор и дектин-1 – лектины связывающие сахара бактерий и грибов с помощью carbohydrate recognition domain (CRD). Scavenger рецепторы связывают липиды и липопротеины. Рецепторы к комплементу связывают опсонизированных микробов.

Macrophage mannose receptor



Трансмембранный белок макрофагов и дендритных клеток, лектин, распознает сахара (маннозу и фукозу) бактерий и вирусов (HIV), не имеет сигнальных свойств, после распознавания и связывания с патогеном, рецептор интернализует патоген и доставляет его в лизосомы для деградации

РЕЦЕПТОРЫ КОМПЛЕМЕНТА (CRs)

Наиболее важны в
индукции
фагоцитоза
опсонизированн
ых бактерий

Усиливает активацию В-
клеток (связь
врожденного и
приобретенного ответ),
рецептор к вирусу
Эпштейна-Барра

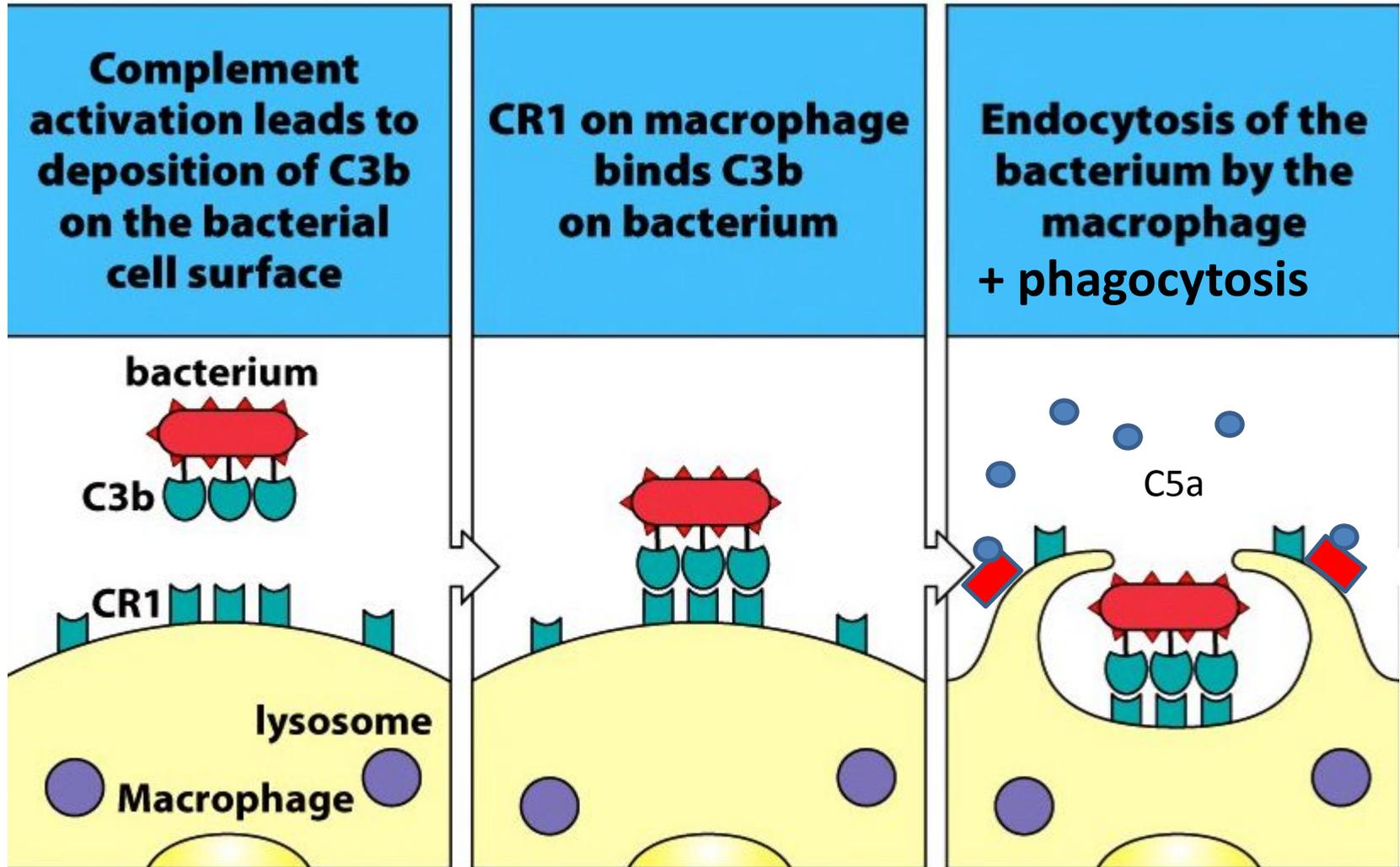
Интегрины

Рецепторы к
анафилатоксинам,
усиливают воспалительный
процесс

Receptor	Specificity	Functions	Cell types
CR1 (CD35)	C3b, C4b iC3b	Promotes C3b and C4b decay Stimulates phagocytosis Erythrocyte transport of immune complexes	Erythrocytes, macrophages, monocytes, polymorphonuclear leukocytes, B cells, FDC
CR2 (CD21)	C3d, iC3b, C3dg Epstein- Barr virus	Part of B-cell co-receptor Epstein-Barr virus receptor	B cells, FDC
CR3 (CD11b/ CD18)	iC3b	Stimulates phagocytosis	Macrophages, monocytes, polymorphonuclear leukocytes, FDC
CR4 (gp150, 95) (CD11c/ CD18)	iC3b	Stimulates phagocytosis	Macrophages, monocytes, polymorphonuclear leukocytes, dendritic cells
C5a receptor	C5a	Binding of C5a activates G protein	Endothelial cells, mast cells, phagocytes
C3a receptor	C3a	Binding of C3a activates G protein	Endothelial cells, mast cells, phagocytes

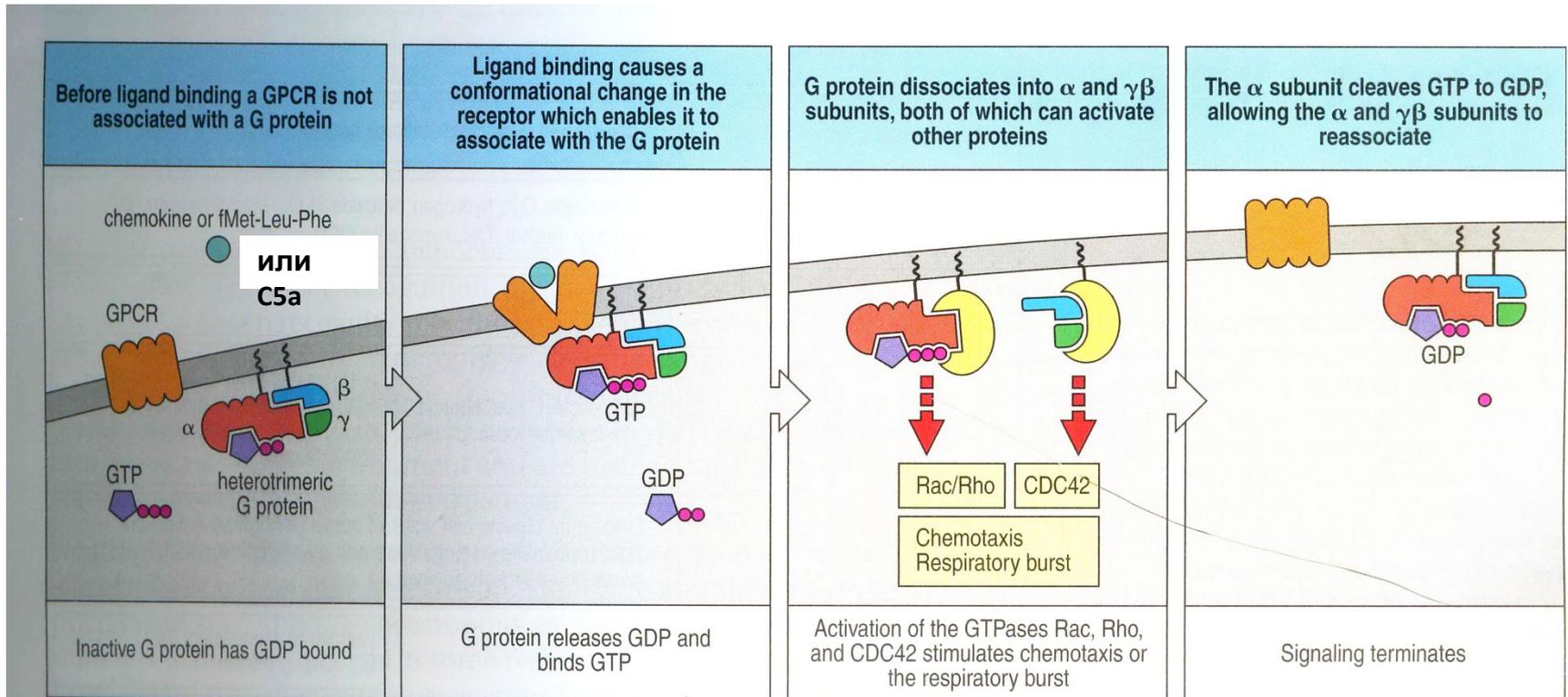
C3b и iC3b (продукт гидролиза C3b) – центральная роль в опсонизации и разрушении внеклеточных патогенов

Для эффективного фагоцитоза бактерий, опсонизированных C3b, необходимы не только рецепторы к комплементу CR1, но и присутствие анафилотоксина C5a и рецептора к C5a



C5a рецептор – это рецептор, сопряжённый с G-белком, (англ. *G-protein-coupled receptors, GPCRs*)

GPCRs - Рецепторы фагоцитов, сопряжённые с G-белком, усиливают внутриклеточную элиминацию патогена.



GPCRs –эволюционно древнее семейство белков, состоящих из 7 сегментов, пронизывающих мембрану. Не имеют цитоплазматических «хвостов» с сигнальными последовательностями, **передачу сигнала осуществляют через G-белок**. fMet-Leu-Phe рецептор принадлежит к GPCRs (формилметионин – только у прокариотов). Распознавание GPCR патогена или анафилатоксина 5a приводит к ассоциации рецептора с G – белком, к активации G-белка, к запуску различных сигнальных путей, в результате которых появляются высокоактивные вещества с окислительной антимикробной активностью (окись азота, реактивные формы кислорода - H_2O_2 , свободные радикалы кислорода

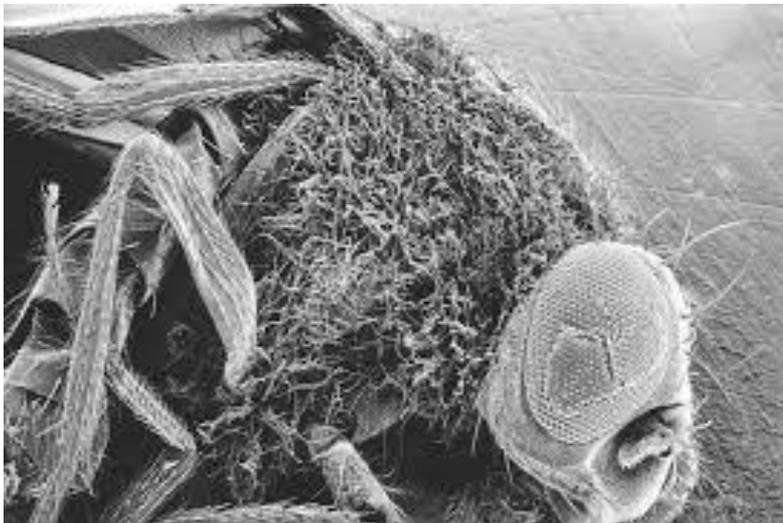
Toll-like receptors (mammals)

Семейство рецепторов, эволюционно древнее, консервативное, появилось до разделения животных и растений.

У *Dr.melanogaster* рецепторы семейства **Toll**:

- у эмбрионов контролируют правильное дорзо-вентральное развитие
 - у взрослых мух запускают продукцию анти-грибковых или анти-бактериальных пептидов в ответ на патоген (открыто в 1996г.).
- У растений есть белки, напоминающие лиганд-связывающую часть TLRs, стимулируют наработку анти-микробных пептидов

Неконтролируемый рост гифов обычно слабого патогена *Aspergillus fumigatus* у Toll-дефицитной дрозофилы



Toll-like receptors (mammals)

- У человека - 10 рецепторов в этом семействе **Toll-like receptors (TLRs)**. Экспрессия – моноциты/ макрофаги, дендритные клетки, нейтрофилы, базофилы, эозинофилы, тучные клетки, НК-клетки, Т-клетки, В-клетки. Основная задача **Toll-like receptors** - исследовать **внеклеточный матрикс** и сигнализировать о появлении патогена, индуцировать и усилить врожденный иммунный ответ на патоген, а также стимулировать Th1/Th2 адаптивный иммунный ответ.

Нобелевская премия 2011 г. по физиологии и медицине за открытие **Toll и TLRs** и за исследование их роли как молекулярных сенсоров инфекции, активирующих врожденный иммунный ответ

- Распознают патоген-ассоциированный молекулярный паттерн, в основном, бактериальные паттерны – повторяющиеся последовательности белков, сахаров, липидов, которых нет у животных . Некоторые TLRs распознают свои лиганды в ассоциации с другими TLRs (гетеродимер TLR2/TLR6, гомодимер TLR4) или другими молекулами (CD14, MD2, например), помогающими **узнавать лиганд**

Паттерны патогенов, которые распознают

TLRs:

Липотейхоевая кислота – Gram+ бактерии

Липополисахарид (LPS) – Gram- бактерии

СрG- метилированный динуклеотид цитозин-гуанин - ДНК бактерий

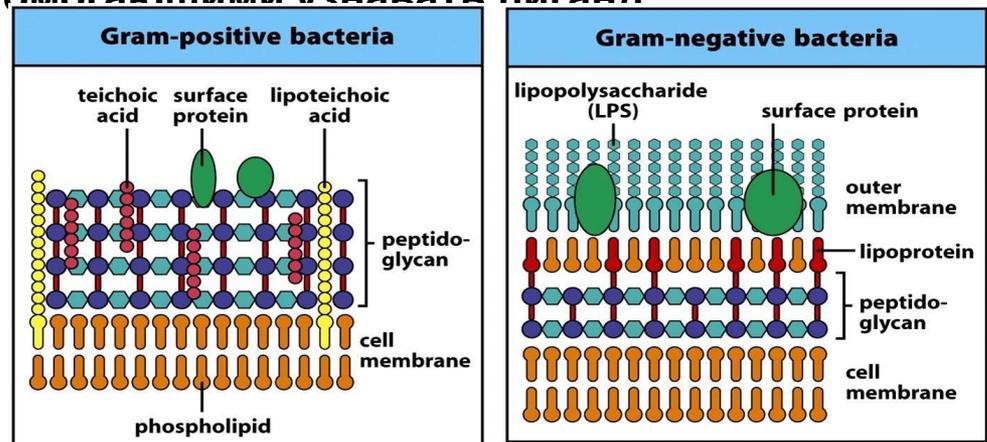
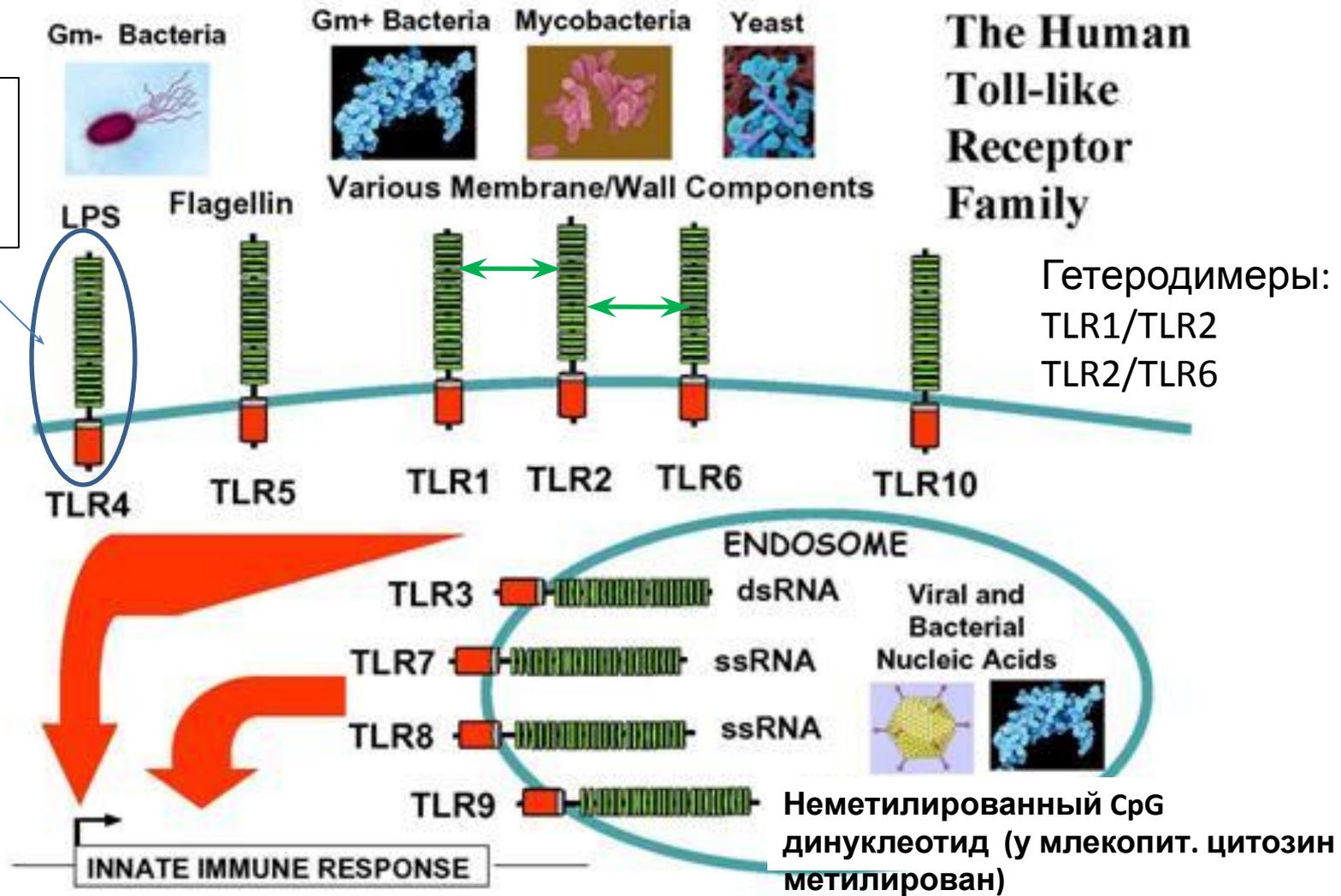
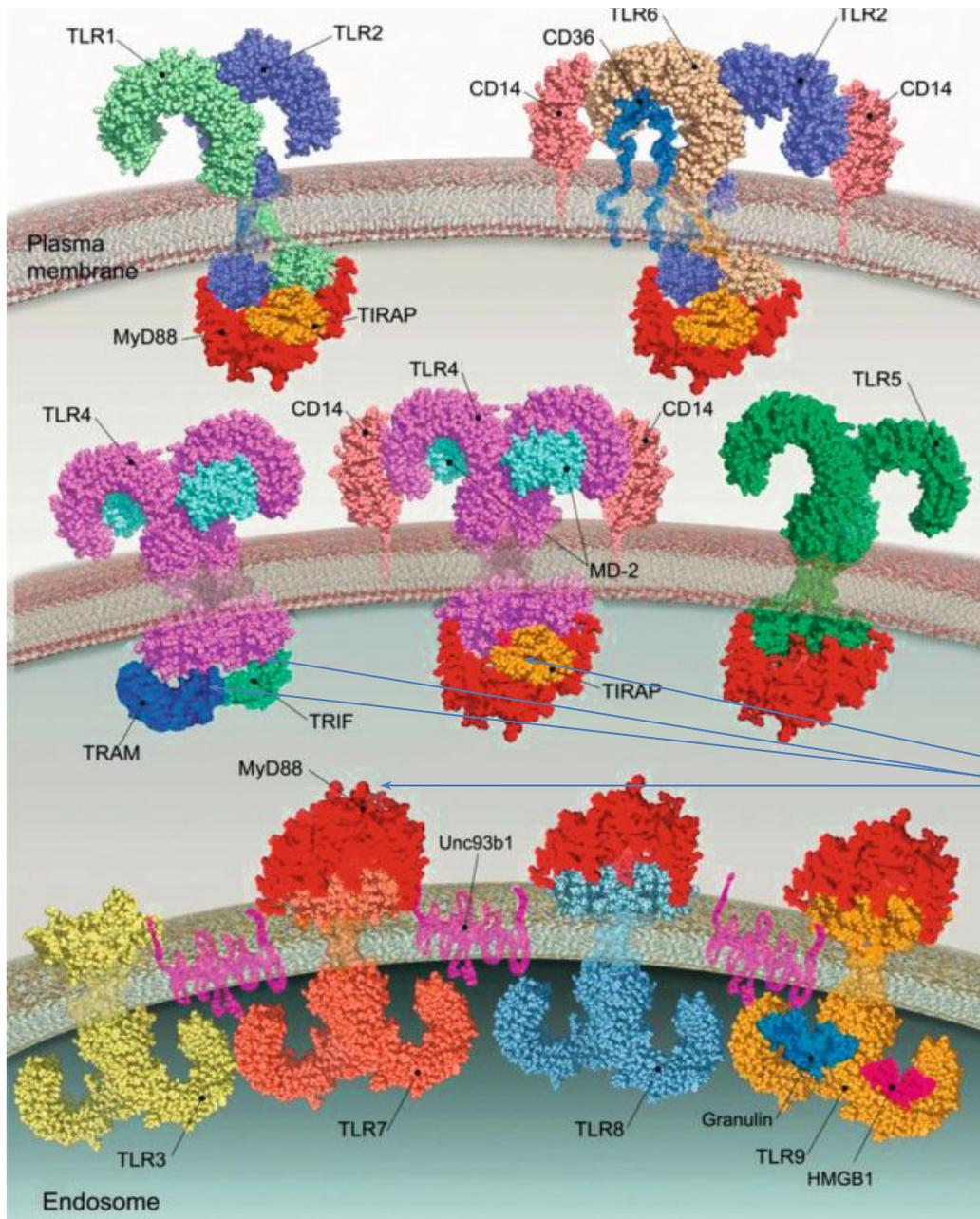


Figure 2-14 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Наиболее важный TLR в распознавании и Gm- бактерий



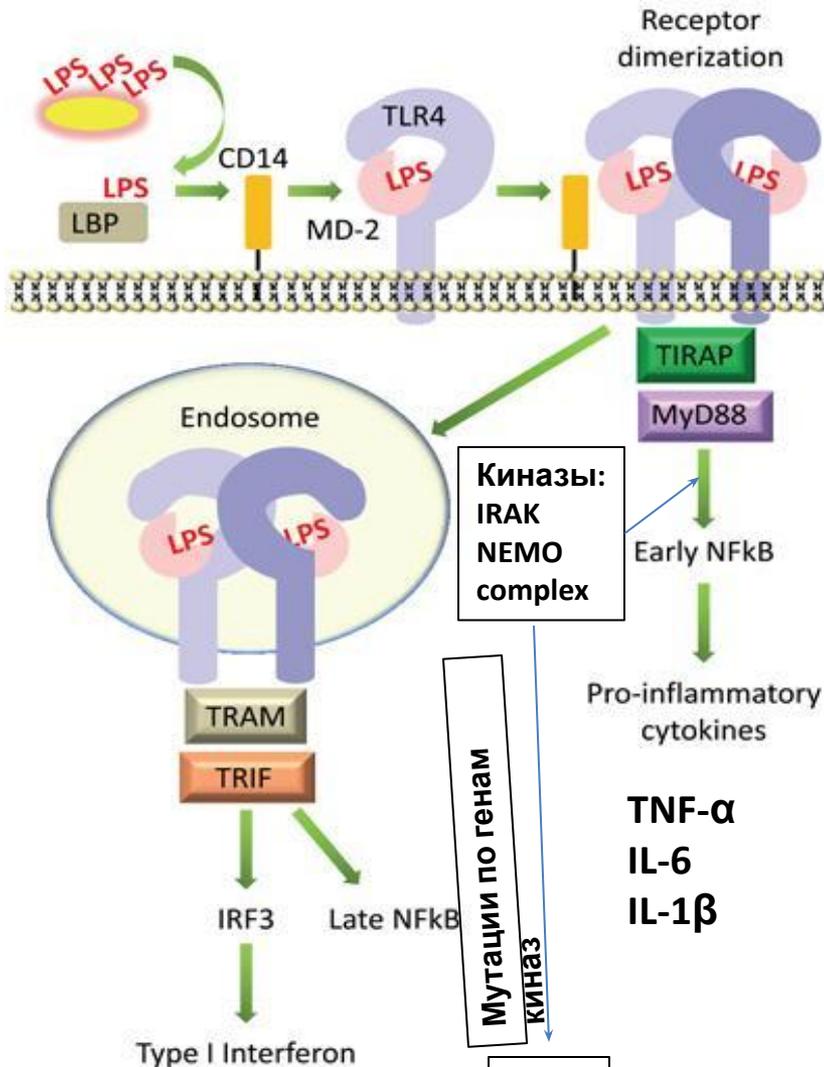
TLRs клеточной поверхности (1, 2, 4, 5, 6 и 10) распознают, в основном, бактериальные продукты. TLRs с внутриклеточной экспрессией на мембранах эндосом (3, 7, 8 and 9) распознают нуклеиновые кислоты вирусов и бактерий, попавших внутрь или путем эндоцитоза или фагоцитозом умирающих клеток с внутриклеточной инфекцией.



TLRs активируются после взаимодействия со своим лигандом. Лиганд заставляет их образовывать гомо- и гетеродимеры. После димеризации их цитоплазматические домены (TIR) сближаются и запускается сигнальный путь.

Белки-адаптеры, начинают внутриклеточный сигнальный путь

Как Toll-like receptor 4 (TLR4) индуцирует врожденный и адаптивный иммунный ответ. TLR4 – ключевой элемент иммунного ответа на Gram-отрицательные бактерии



Бактериальный липополисахарид (LPS)-*Salmonella*, связывается с циркулирующим белком плазмы LPS-binding protein (LBP). Комплекс LPS-LBP с с помощью двух ко-рецепторов (CD14 и MD-2) связывается с TLR-4 на поверхности макрофагов, TLR-4 димеризуется и активирует сигнальный путь, приводящий к активации транскрипционного фактора NFκB, который активирует экспрессию генов про-воспалительных цитокинов. Другой сигнальный путь индуцируется после интернализации комплекса TLR4-LPS и заключение его в эндосому и приводит к активации транскрипционного фактора IRF3 (interferon regulatory factor) и экспрессии интерферонов 1 типа (IFN-α/β). Результат – быстрая элиминация патогена после его интернализации (врожденный ответ) и стимуляция адаптивного иммунного ответа, направленного против того же антигена, через **цитокины и хемокины**. Пациенты TLR4negative - сепсис от Gram-отрицательных бактерий. Но: гиперпродукция

По этому пути работают

Мутации по генам

ВЗ
К

киназ

Киназы:
IRAK
NEMO
complex

Early NFκB

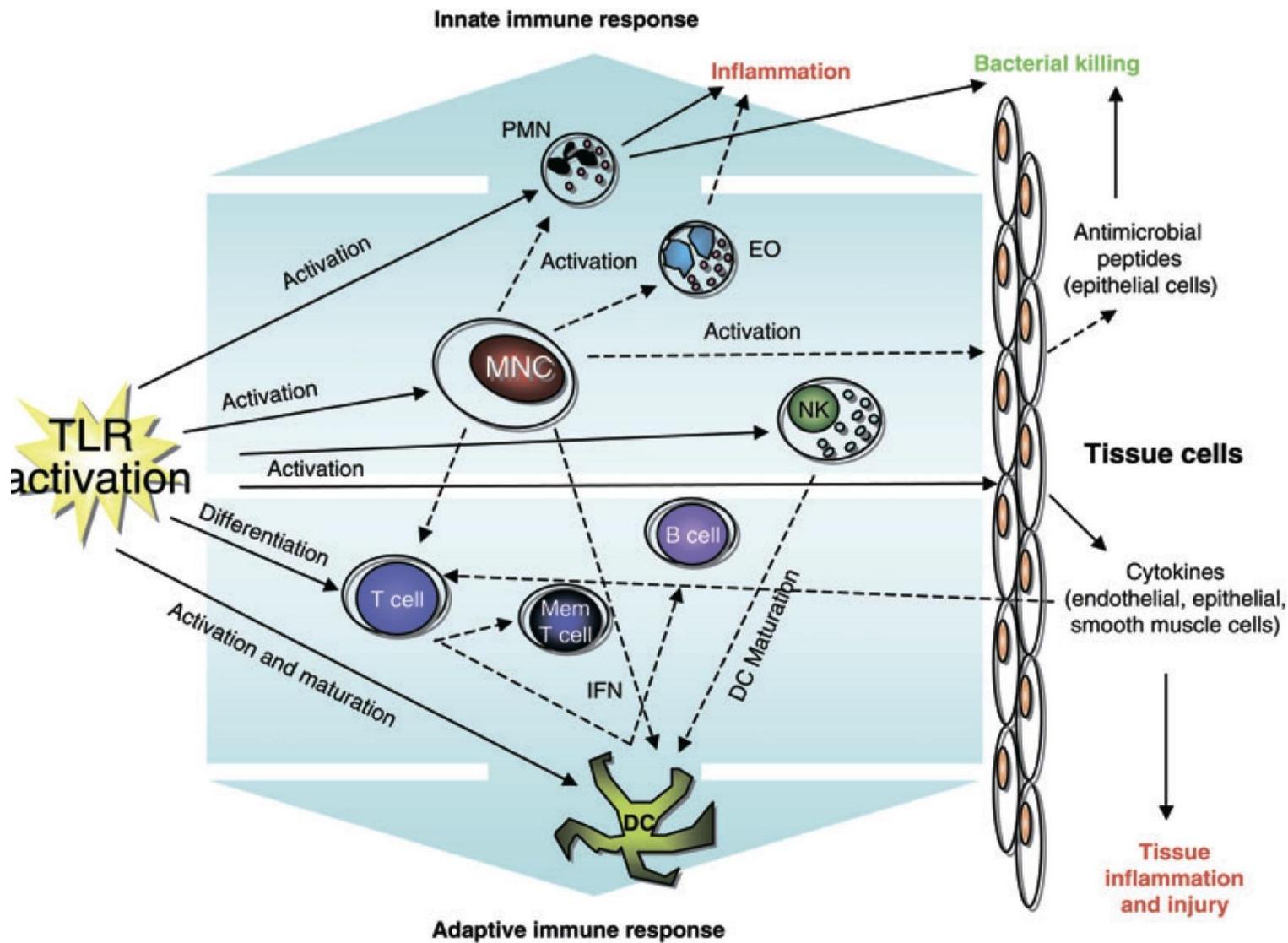
Pro-inflammatory
cytokines

TNF-α
IL-6
IL-1β

IRF3 Late NFκB

Type I Interferon

TLRs активируют целый ряд процессов врожденного и приобретенного ИММУННОГО ОТВЕТА



Цитоплазматические сигнальные рецепторы NOD-like receptors (*NLRs*)

Цитоплазматические сенсоры микробных продуктов, очень древнее семейство врожденного иммунитета, гомологи есть у растений. Распознают компоненты бактериальной стенки: NOD1 и NOD2 распознают пептидогликаны бактерий. Основное место экспрессии: NOD1-эпителиальные клетки (там нет TLRs), макрофаги, дендритные клетки, NOD2 – клетки Панета, где регулирует выработку дефензинов

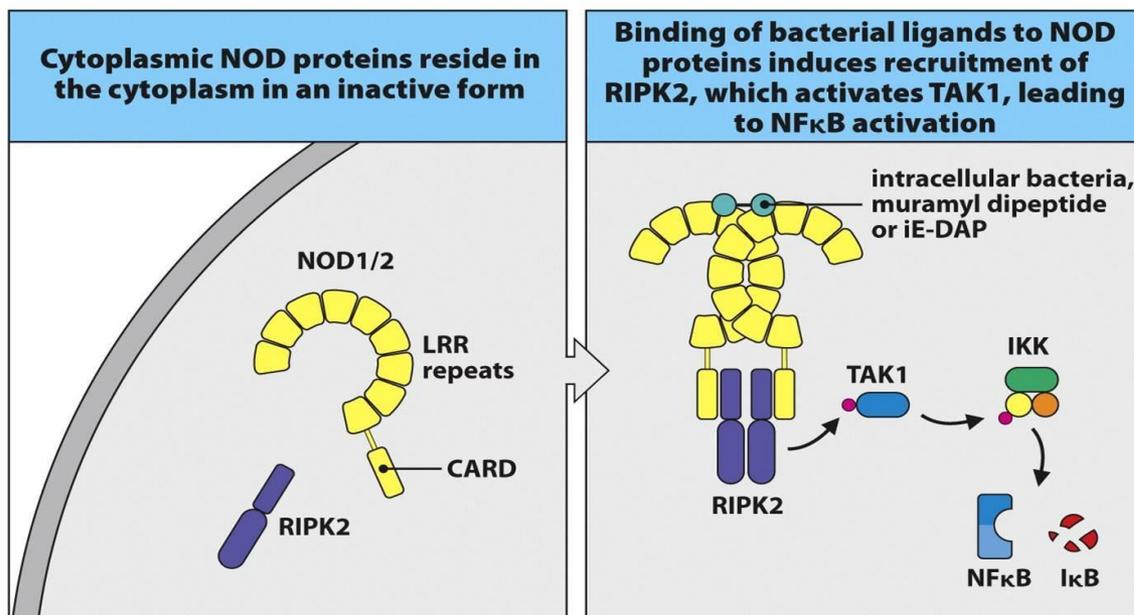
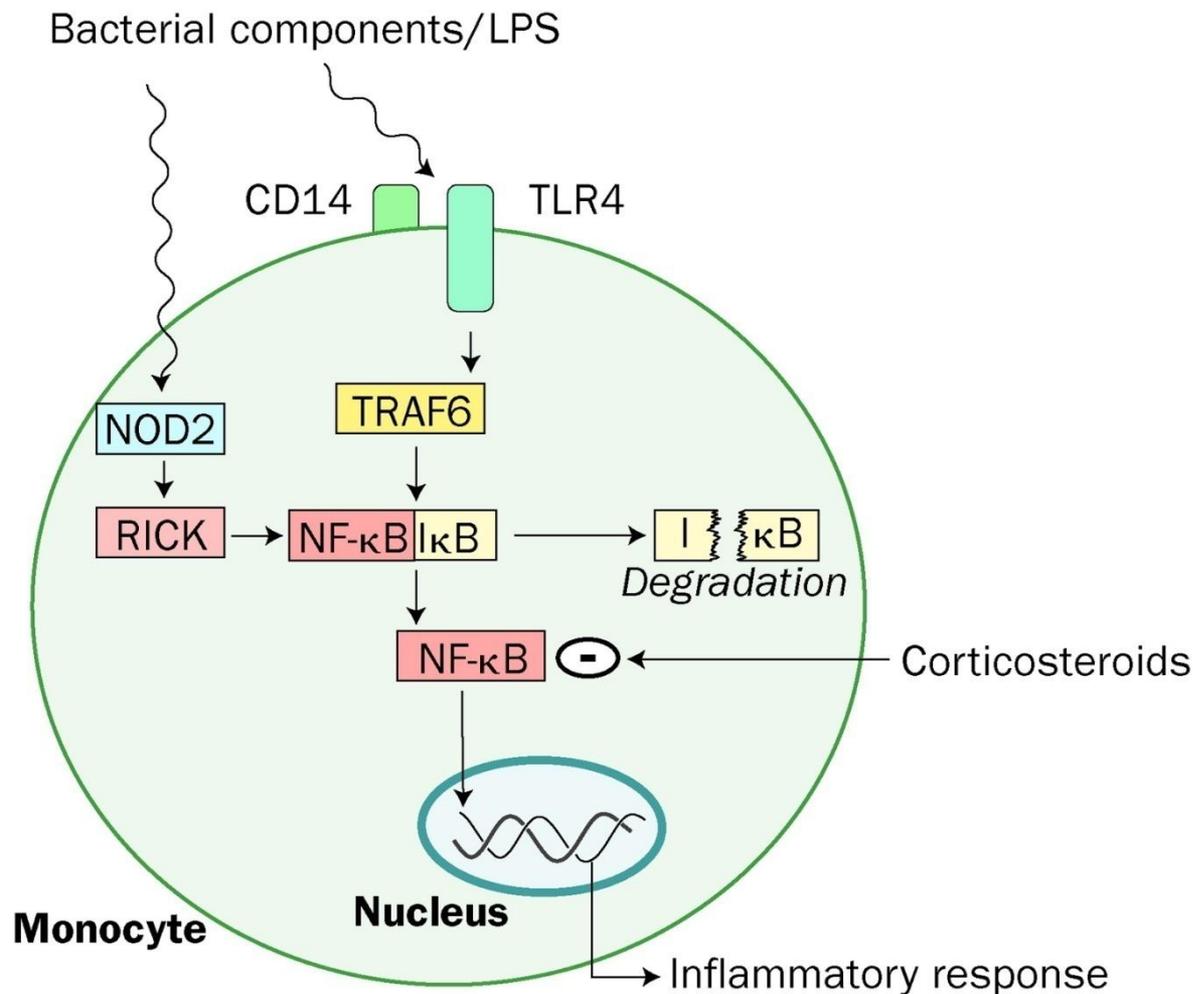


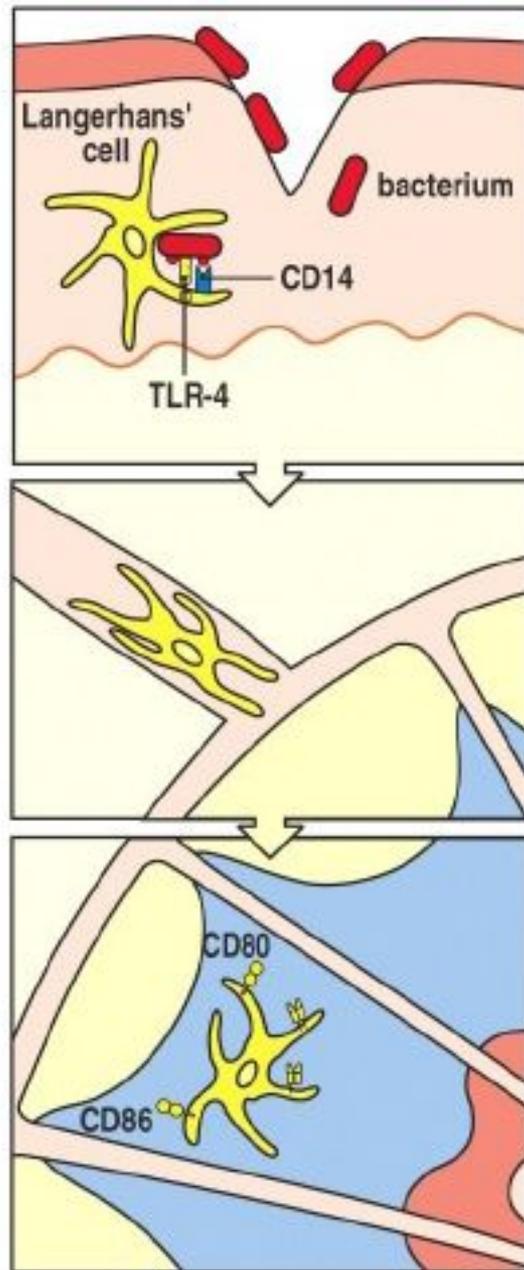
Figure 3.15 Janeway's Immunobiology, 8ed. (© Garland Science 2012)

RIPK2, TAK1, IKK – протеинкиназы, последовательно фосфорилируют и т.о. активируют друг друга и в результате активируют транскрипционный фактор NFκB

Мутация в домене LRR белка NOD2 – неспособность активировать NFκB – неспособность вырабатывать дефензины в кишечнике – одна из причин болезни Крона (одна из разновидностей ВЗК – воспалительного заболевания кишечника)

Макрофаги используют как мембранные, так и цитоплазматические сигнальные рецепторы для активации воспаления





Активация Toll-like receptors на макрофагах и дендритных клетках не только активирует экспрессию **ЦИТОКИНОВ И ХЕМОКИНОВ**, усиливающих врожденный и инициирующих адаптивный ответ, но и запускает экспрессию **КО-СТИМУЛИРУЮЩИХ МОЛЕКУЛ** необходимых для индукции адаптивного иммунного ответа.

Бактериальный LPS через TLR4 сигнальный путь в клетках Лангерганса стимулируют наработку TNF- α и запускают экспрессию **КО-СТИМУЛИРУЮЩИХ РЕЦЕПТОРОВ CD80 и CD86**. Клетки теряют способность к фагоцитозу и пиноцитозу, теряют оседлость, начинают мигрировать из кожи в лимфоузел (под влиянием TNF- α), увеличивают экспрессию молекул МНС, начинают экспрессировать ко-стимулирующие рецепторы CD80 и CD86, которые вместе с комплексом АГ-МНС необходимы для эффективной активации CD4+Т-клеток – необходимого звена адаптивного иммунитета. Адьюванты – субстанции, обладающие ко-стимулирующей активностью на иммунный ответ и вводимые при иммунизации совместно с **БЕЛКОВЫМ АГ** для усиления его иммуногенности.

- Полный адьювант Фрейнда = ланолин+ вазелин+БЦЖ (Mycobacterium bovis)
- Алюминиевые квасцы $Al(OH)_3$

Макрофаги и дендритные клетки, активированные через TLRs и другие рецепторы к патогену, секретируют целый ряд цитокинов, действующих на клетки локально (на себя, на соседей) или на удалении. Первая задача цитокинов – индуцировать воспаление.

Цитокины – короткие белки (около 25kDa), которые секретируются в ответ на активирующие стимулы и после взаимодействия со своим рецептором индуцируют ответ в этих же или других клетках. Цитокины - белки разнообразные по структуре, принадлежащие к разным структурным семействам (семейства гематопэтин, TNF-семейство, семейство хемокинов), включают интерлейкины - IL-1, IL-2, IL-6 и т.д., TNF- α , хемокины.

Хемокины – подкласс цитокинов со свойствами хемоаттрактантов, после взаимодействия со своим рецептором индуцируют движение клетки по направлению к источнику хемокина – **хемотаксис**. Играют центральную роль в траффике лейкоцитов.

Разные классы патогенов активируют разные рецепторы и разные сигнальные пути и вызывают секрецию разного набора цитокинов.

Cytokines of innate immunity.

Cytokine	Principal cell source(s)	Principal cellular targets and biologic effects
Tumor necrosis factor (TNF)	Macrophages, T cells	Endothelial cells: activation (inflammation, coagulation) Neutrophils: activation Hypothalamus: fever Liver: synthesis of acute phase proteins Muscle, fat: catabolism (cachexia) Many cell types: apoptosis
Interleukin (IL-1)	Macrophages, endothelial cells, some epithelial cells	Endothelial cells: activation (inflammation, coagulation) Hypothalamus: fever Liver: synthesis of acute phase proteins
Chemokines IL-8	Macrophages, endothelial cells, T cells, fibroblasts, platelets	Leukocytes: chemotaxis, activation
Interleukin-12 (IL-12)	Macrophages, dendritic cells	NK cells and T cells: IFN- γ synthesis, increased cytolytic activity T cells: T _H 1 differentiation
Interferon- γ (IFN- γ)	NK cells, T lymphocytes	Activation of macrophages Stimulation of some antibody responses
Type I IFNs (IFN- α , IFN- β)	IFN- α : Macrophages IFN- β : Fibroblasts	All cells: anti-viral state, increased class I MHC expression NK cells: activation
Interleukin-10 (IL-10)	Macrophages, T cells (mainly T _H 2)	Macrophages: inhibition of IL-12 production, reduced expression of costimulators and class II MHC molecules
Interleukin-6 (IL-6)	Macrophages, endothelial cells, T cells	Liver: synthesis of acute phase proteins B cells: proliferation of antibody-producing cells
Interleukin-15 (IL-15)	Macrophages, others	NK cells: proliferation T cells: proliferation
Interleukin-18 (IL-18)	Macrophages	NK cells and T cells: IFN- γ synthesis

Table 2

Functions of cytokines. Cytokine action, defined by target cell and primary function.

		Main sources	Target cell	Major function
Cytokines	IL-1	Macrophages, B cells, DCs	B cells, NK cells, T-cells	Pyrogenic, pro-inflammatory, proliferation and differentiation, BM cell proliferation
	IL-2	T cells	Activated T and B cells, NK cells	Proliferation and activation
	IL-3	T cells NK cells	Stem cells	Hematopoietic precursor proliferation and differentiation
	IL-4	Th cells	B cells, T cells macrophages	Proliferation of B and cytotoxic T cells, enhances MHC class II expression, stimulates IgG and IgE production
	IL-5	Th cells	Eosinophils, B-cells	Proliferation and maturation, stimulates IgA and IgM production
	IL-6	Th cells, macrophages, fibroblasts	Activated B-cells, plasma cells	Differentiation into plasma cells IgG production
	IL-7	BM stromal cells, epithelial cells	Stem cells	B and T cell growth factor
	IL-8	Macrophages	Neutrophils	Chemotaxis, pro-inflammatory
	IL-9	T cell	T cell	Growth and proliferation
	IL-10	T cell	B cells, macrophages	Inhibits cytokine production and mononuclear cell function anti-inflammatory
	IL-11	BM stromal cells	B cells	Differentiation, induces acute phase proteins
	IL-12	T cells	NK cells	Activates NK cells
	TNF α	Macrophages Monocytes	Macrophages Tumour cells	Phagocyte cell activation, endotoxic shock Tumour cytotoxicity, cachexia
	TNF β	T-cells	Phagocytes, tumour cells	Chemotactic, phagocytosis, oncostatic, induces other cytokines
Interferons	IFN β	Fibroblasts	Various	Anti-viral, anti-proliferative
	IFN γ	T-cells	Various	Anti-viral, macrophage activation, increases neutrophil and monocyte function, MHC-I and -II expression on cells
	TNF α	Macrophages Monocytes	Macrophages Tumour cells	Phagocyte cell activation, endotoxic shock Tumour cytotoxicity, cachexia
	TNF β	T cells	Phagocytes, tumour cells	Chemotactic, phagocytosis, oncostatic, induces other cytokines
Colony stimulating factors	G-CSF	Fibroblasts, endothelium	Stem cells in BM	Granulocyte production
	GM-CSF	T cells, macrophages, fibroblasts	Stem cells	Granulocyte, monocyte, eosinophil production
	M-CSF	Fibroblast, endothelium	Stem cells	Monocyte production and activation
	Erythropoietin	Fibroblast, endothelium	Stem cells	Red blood cell production
Others	TGF β	T cells and B cells	Activated T and B cells	Inhibit T and B cell proliferation, inhibit haematopoiesis, promote wound healing

Abbreviations: BM, bone marrow; DCs, dendritic cells; G-CSF, granulocyte colony-stimulating factor; M-CSF, macrophage colony-stimulating factor; Th, T helper cells.

ФУНКЦИИ ХЕМОКИНОВ

Хемокины, секретируемые фагоцитами, рекрутируют клетки (моноциты, нейтрофилы, дендритные клетки, а также лимфоциты) из крови к местам инфекции (основная функция). Хемокины принимают участие в миграции лейкоцитов и их дифференцировке, и в ангиогенезе

Результат действия хемокинов (IL-8, например):

1. Изменяют конформацию интегринов (молекул адгезии) на лейкоцитах. Лейкоциты прекращают катиться по сосудам, с помощью молекул адгезии присоединяются к клеткам эндотелия и протискиваются сквозь них, покидая кровяное русло.
2. Направляют движения лейкоцитов в тканях по градиенту хемокина.

Хемокины секретируются разнообразными типами клеток в ответ на бактериальные, вирусные белки или на физическое повреждение клеток.

Хемокины действуют не в одиночку, а совместно с молекулами адгезии и цитокином TNF- α .

Типы хемокинов – CC (два цистеина рядом в N-конце молекулы) и CXC.
Типы рецепторов – CCR и CXCR.

Действуют преимущественно на нейтрофилы

CXC

Два цистеина разделены другой а.к.

Действуют преимущественно на моноциты

CC

Два цистеина вместе в N-конце

Family	Chromosome	Ligand	Receptor	Leukocyte		
CXC	4q13-q21	IL-8	CXCL8	CXCR1	PMN	
	4q21	GCP-2	CXCL6			
	4q12-q13	NAP-2	CXCL7	CXCR2	PMN	
		ENA-78	CXCL5			
	4q21	GRO α	CXCL1	CXCR3	Th1, NK	
		GRO β	CXCL2			
		GRO γ	CXCL3			
		IP-10	CXCL10			
	4q21.2	Mig	CXCL9	CXCR4	Widespread	
	10q11.1	I-TAC	CXCL11			
	10q11.1	SDF-1 $\alpha\beta$	CXCL12	CXCR5	B	
	4q21	BCA-1	CXCL13	CXCR6	T act	
	17p13		CXCL16	Unknown	Mo	
	5q31	BRAK	CXCL14			
	CC	17q 11.2	MCP-1	CCL2	CCR2	Mo, NK, Ba, iDC, Tact, B
			MCP-4	CCL13		
MCP-3			CCL7			
17q12		MCP-2	CCL8	CCR5	Mo, M \emptyset , Th1, T act, NK	
		MIP-1 β	CCL4			
17q11		MIP-1 α	CCL3	CCR1	MO, M \emptyset , iDC, NK	
17q11.2		RANTES	CCL5			
17q12		MPIF-1	CCL23	CCR3	Eo, Ba, Th2, iDC	
17q 11.2		HCC-1	CCL14			
		HCC-2	CCL15			
		HCC-4	CCL16			
17q 21.1		Eotaxin	CCL11	CCR4	iDC, Th2, NK, T skin, Mo	
7q 11.23		Eotaxin-2	CCL24			
		Eotaxin-3	CCL26	CCR6	iDC, T act, B	
16q13		TARC	CCL17			
	MDC	CCL22	CCR7	mDC, M \emptyset , T naïve, T act		
2q33-q37	MIP-3 α	CCL20				
9p13	ELC	CCL19				
	SLC	CCL21				

Хемокины и рецепторы к ним.

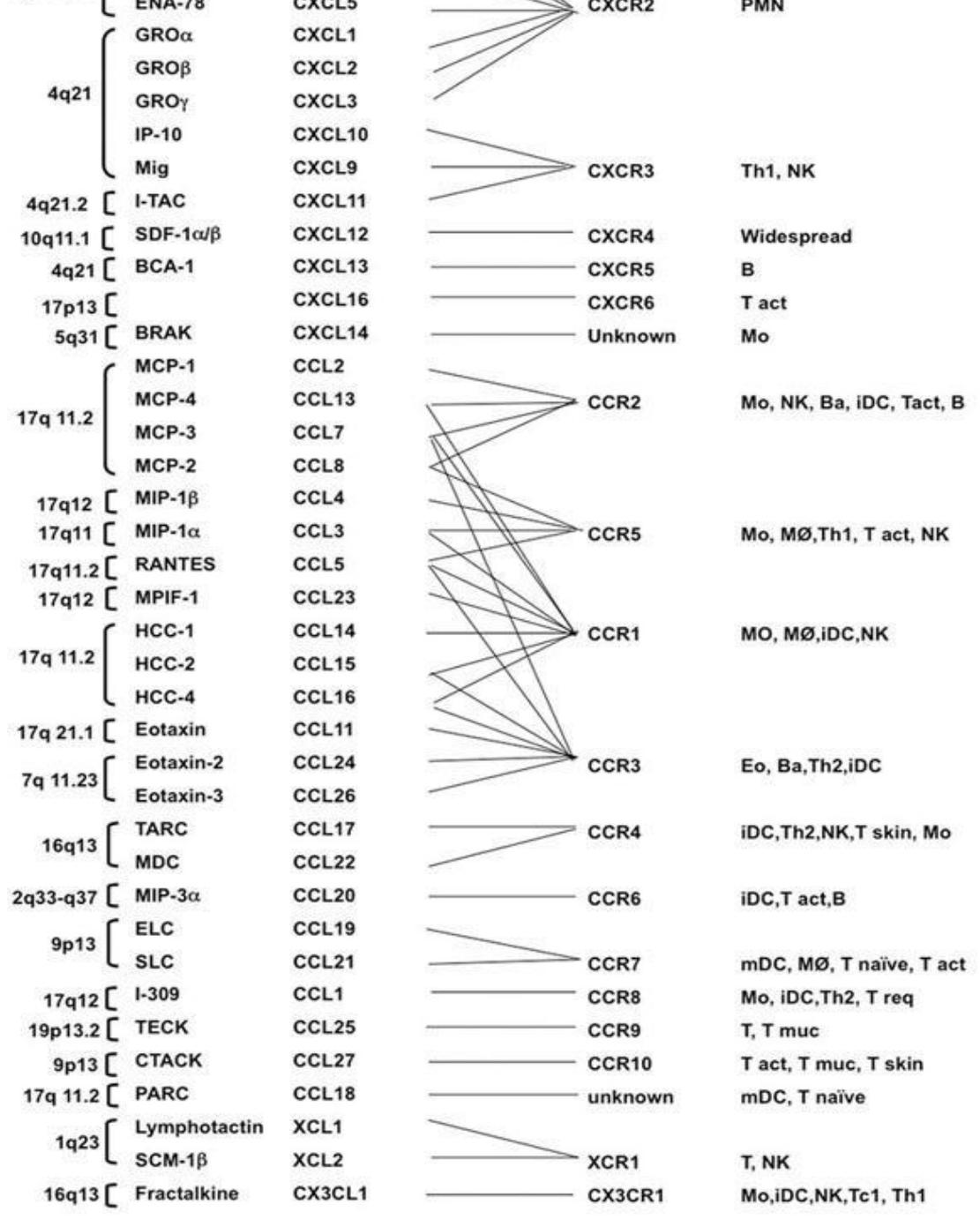
Действуют преимущественно на нейтрофилы
 Действуют преимущественно на моноциты

CXC

CC

XC

CX3C



Хемокины и рецепторы к ним.

КАК ПРОИСХОДИТ МИГРАЦИЯ КЛЕТОК ИЗ КРОВИ В МЕСТА ВОСПАЛЕНИЯ?

КАК ЛЕЙКОЦИТЫ УЗНАЮТ МЕСТА, ГДЕ ИМ МОЖНО МИГРИРОВАТЬ?

- С помощью молекул адгезии.

Молекулы адгезии контролируют взаимодействие между лейкоцитами и эндотелиальными клетками в воспалительном процессе

Four families of adhesion molecules are involved in leukocyte migration

Selectins

E-selectin (endothelium)

P-selectin (endothelium & platelets)

L-selectin (leukocytes)

Ligands are sialylated glycoproteins
(e.g Sialylated Lewis X) which are linked to *mucin-like glycoproteins*: PSGL-1, GlyCAM-1, ESL-1, CD34

Integrins ($\alpha + \beta$ chain)

Heterodimeric molecules

VLA-4 ($\beta 1$ integrin) binds to VCAM-1

LFA1 and MAC1 (CD11/CD18) = $\beta 2$ integrin bind to ICAM

Expressed on leukocytes

Immunoglobulin family

ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1)

VCAM-1 (vascular adhesion molecule 1)

Are expressed on activated endothelium

Ligands are integrins on leukocytes

Mucin-like glycoproteins

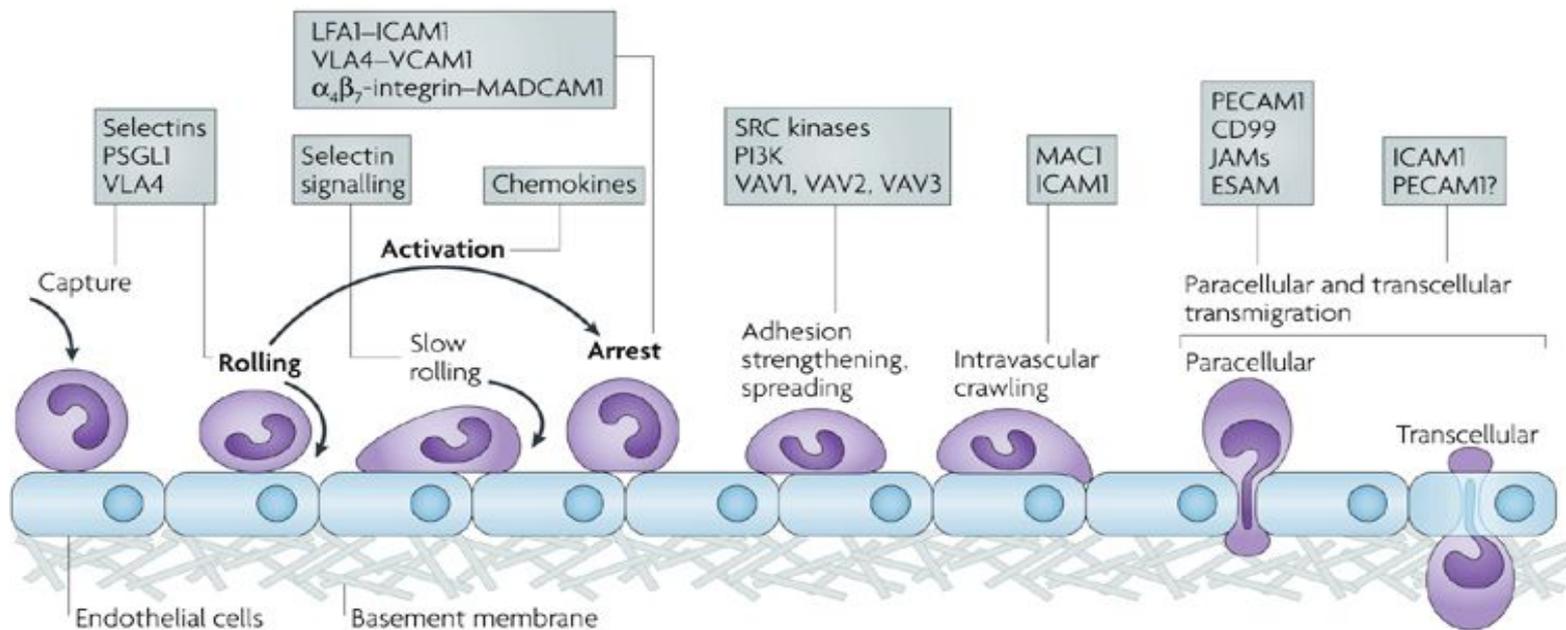
Heparan sulfate (endothelium)

Ligands for CD44 on leukocytes

Как молекулы адгезии контролируют взаимодействие между лейкоцитами и эндотелиальными клетками в воспалительном процессе.

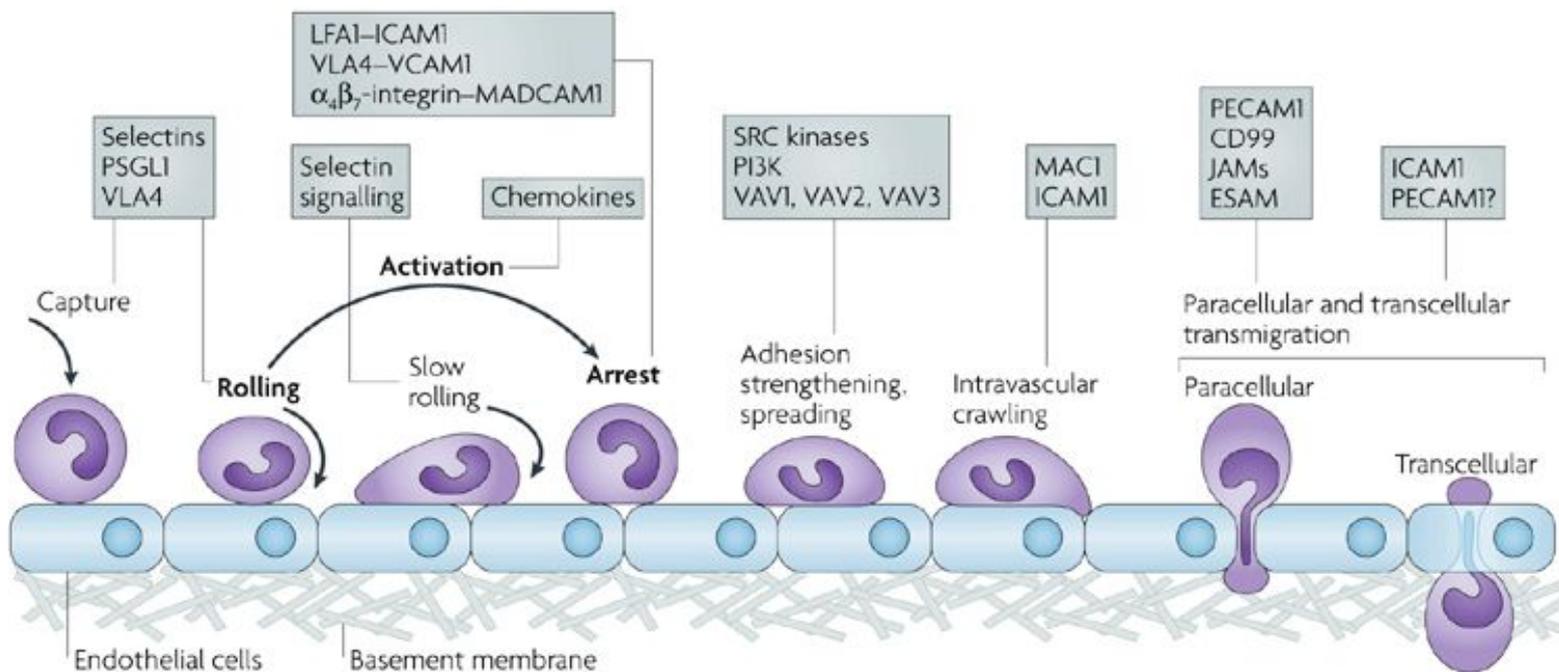
1 step. **C5a** complement fragment, **гистамин** (высвобождается из тучных клеток в ответ на C5a), **TNF- α** макрофагов, **LPS** - активируют клетки сосудистого эндотелия и вызывает появление на них **Selectins (P-selectin, E-selectin)**, которые взаимодействуют со своими лигандами на лейкоцитах. Лейкоцит начинает перекашиваться вдоль стенки сосуда.

2 step. **Intercellular adhesion molecules (ICAMs, суперсемейство иммуноглобулинов)**, **VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1)**, активированные на эндотелии с помощью **TNF- α** макрофагов, взаимодействуют с молекулами семейства **Integrins (LFA-1, Mac-1, VLA-4)** на лейкоцитах и обеспечивают более тесный контакт лейкоцита с эндотелием. Лейкоцит останавливается.

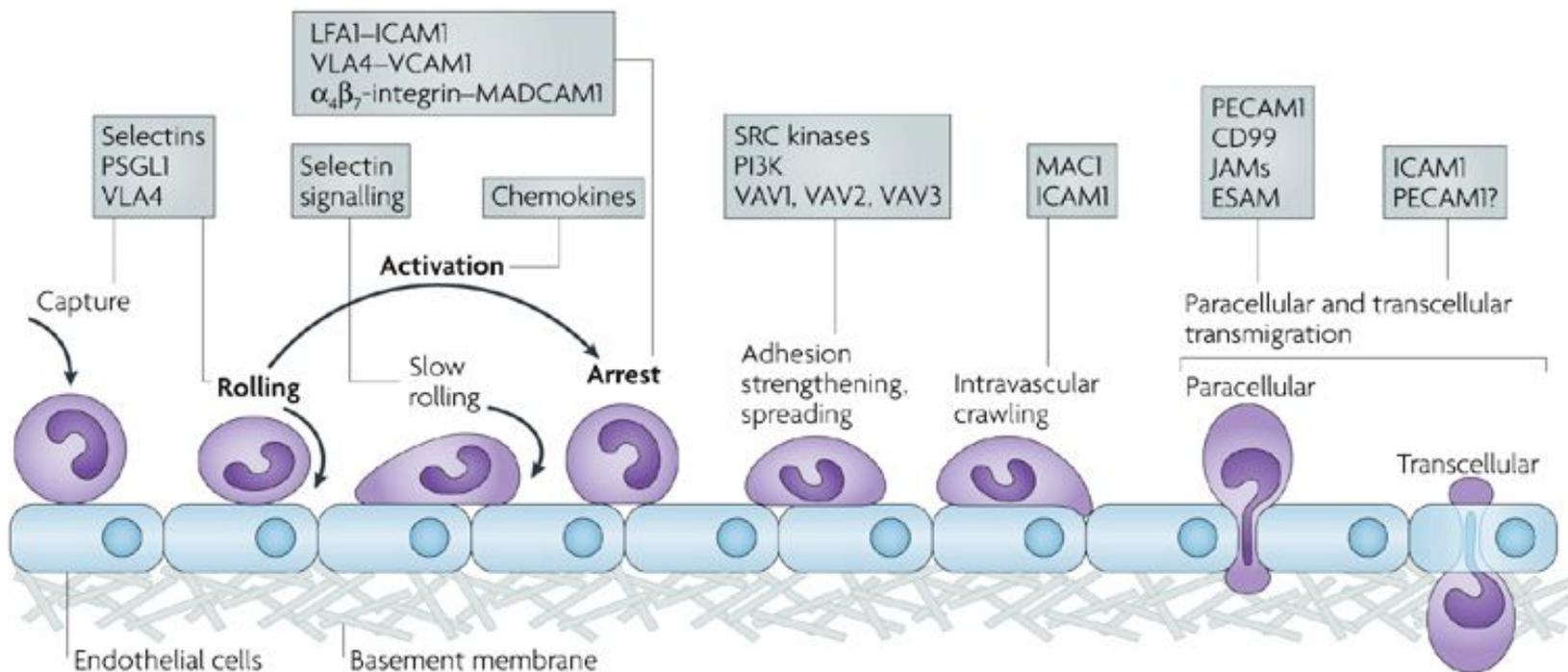


3 step. Лейкоцит начинает «вползать» внутрь сосуда, протискиваясь между клетками эндотелия. Лейкоцитарные интегрины **LFA-1** и **Mac-1**, а также **PECAM1 (CD31)**, который экспрессируется как на лейкоцитах, так и на клетках эндотелия в межклеточных контактах, обеспечивают это вползание. Через базальную мембрану лейкоцит проходит (диапедезиз) с помощью ферментов, растворяющих внеклеточный матрикс базальной мембраны.

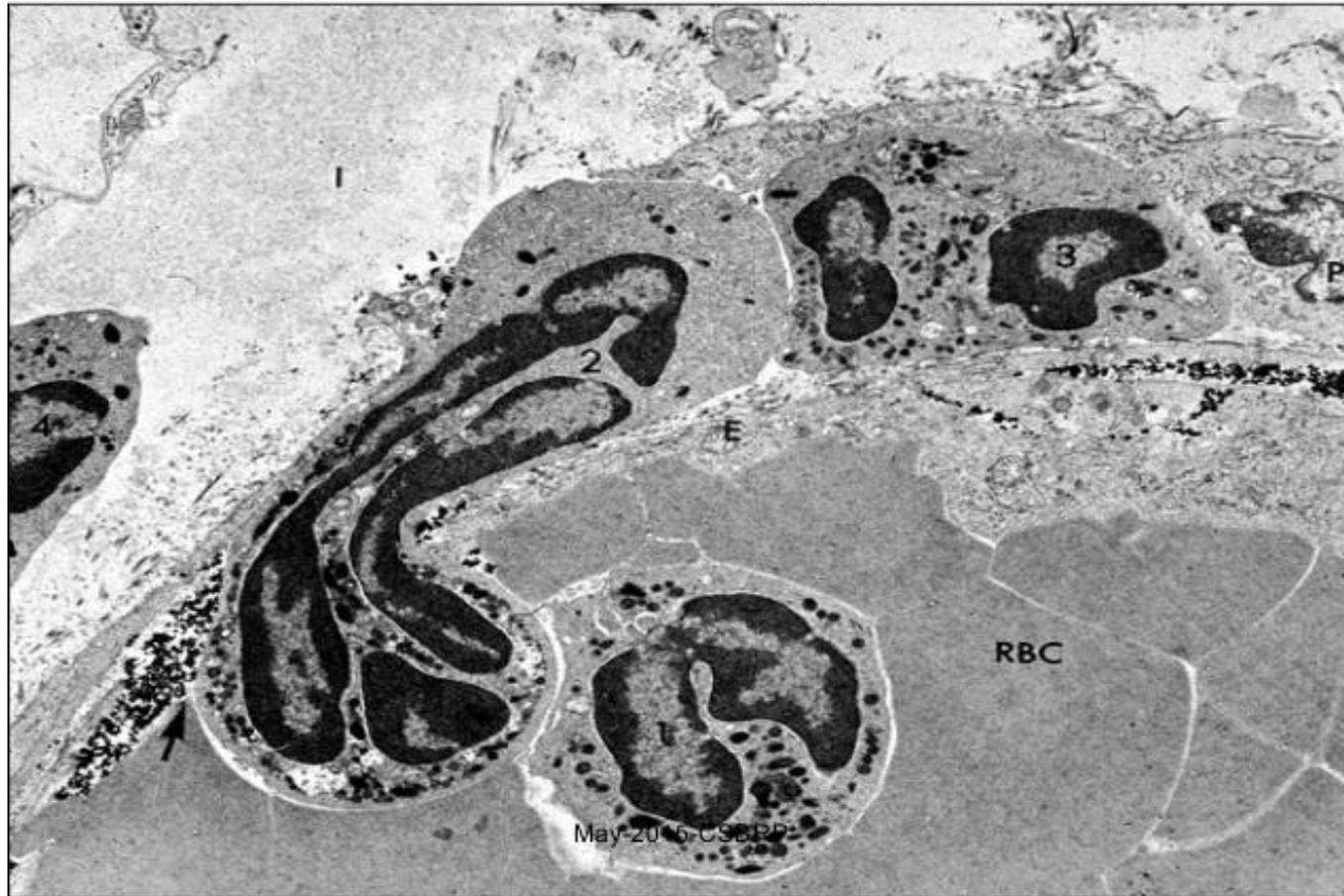
4 step. Миграция лейкоцитов в тканях к месту инфекции под воздействием хемокинов. **IL-8** – главный, связывается с внеклеточным матриксом и обеспечивает градиент концентрации, вдоль которого лейкоциты мигрируют к центру инфекции.



IL-8 продуцируются активированными тканевыми макрофагами, которые первыми прибывают к месту инфекции. Макрофаги с помощью IL-8 и TNF- α рекрутируют из крови нейтрофилы. Нейтрофилы – первая волна клеток, проходящая сквозь стенки кровеносных сосудов, для того чтобы прийти в место воспаления (через 6 часов) → После – моноциты. Нейтропения риск инфекций.

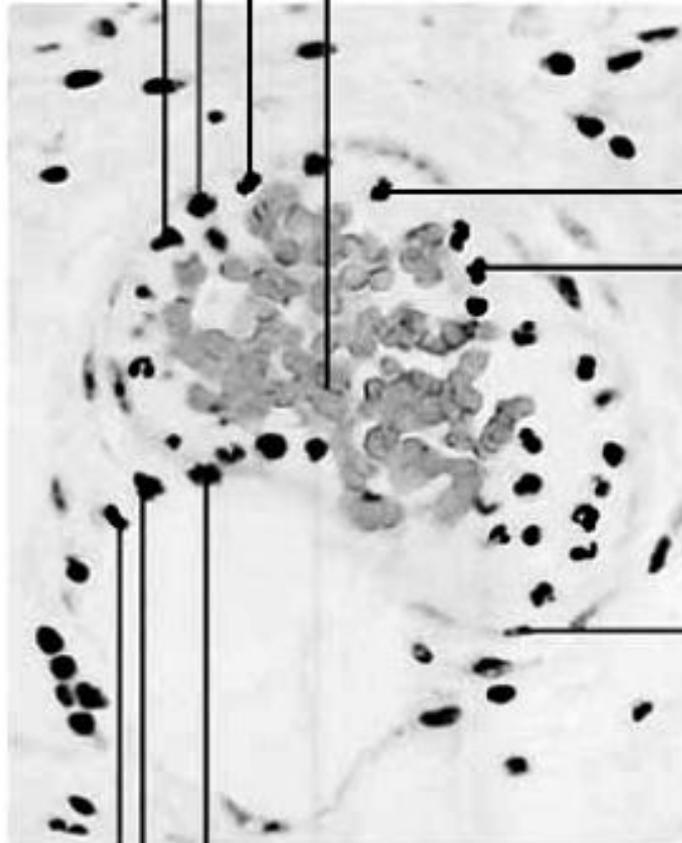


Neutrophil Transendothelial Migration (Diapedesis)



Neutrophils paved to endothelium

Aggregated erythrocytes (rouleau)



Marginating neutrophils

Endothelial cell

Emigrating neutrophils

May-2015-CSBRP

Copyright ©2006 by The McGraw-Hill Companies, Inc.
All rights reserved.

Может ли врожденный иммунный ответ бороться с вирусными инфекциями?

Может ли врожденный иммунный ответ бороться с вирусными инфекциями?

- Может. С помощью интерферонов I типа: IFN- α и IFN- β .
Интерфероны – антивирусные белки; продуцируемые клеткой в ответ на вирусную инфекцию (инфицированной клеткой или неинфицированной) и подавляющие репликацию вируса в неинфицированной клетке.

What are Interferons?

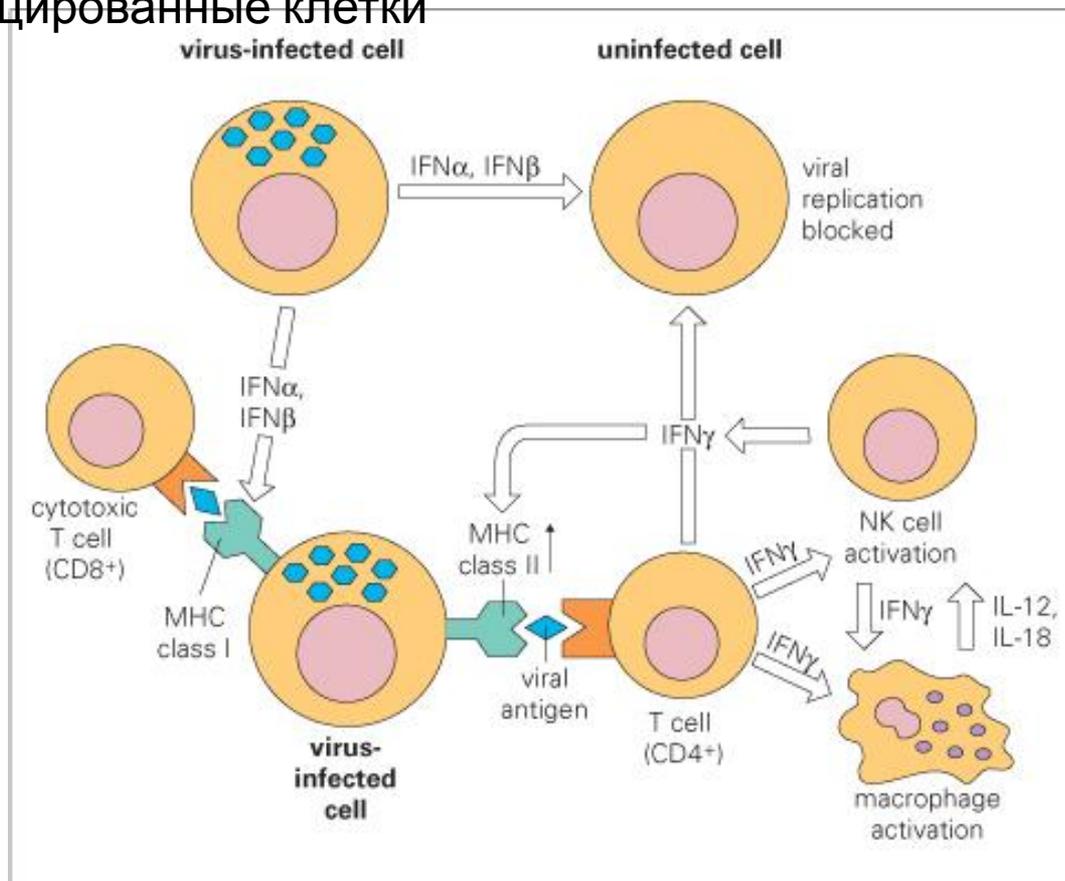
- Interferons are made by cells in response to an appropriate stimulus, and are released into the surrounding medium; they then bind to receptors on target cells and induce transcription of approximately 20-30 genes in the target cells, and this results in an anti-viral state in the target cells.

Какие клетки продуцируют IFN- α и IFN- β ?

-Любой тип клеток может продуцировать IFN- α и IFN- β , но особенно pDC (плазмацитоидные дендритные клетки) – клетки врожденного иммунного ответа

pDC экспрессируют TLR-7 и TLR-9 – эндосомальные сенсоры вирусных РНК и неметилированных CpG участков вирусных ДНК

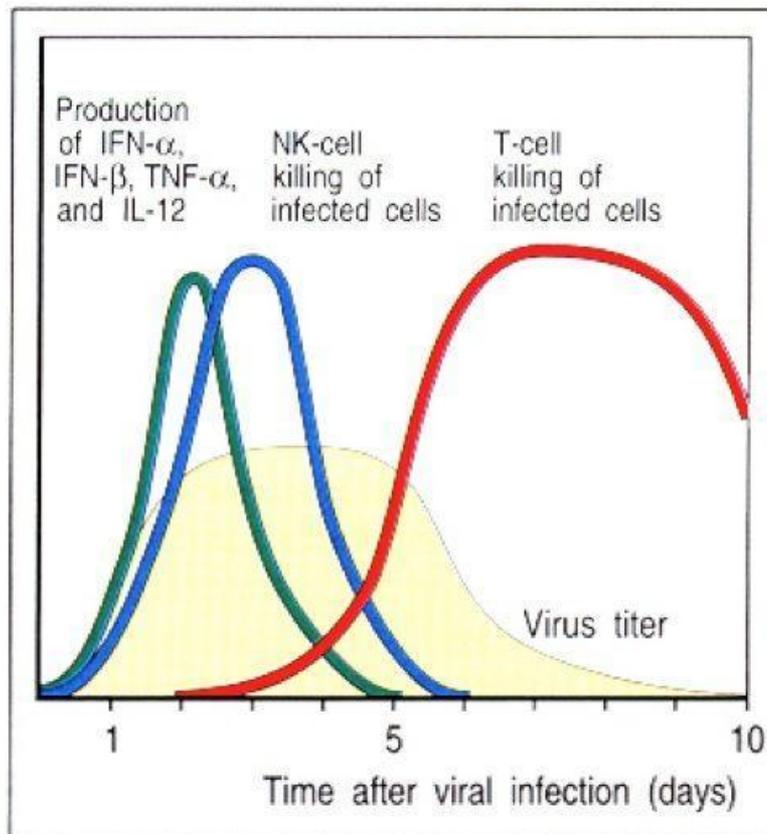
IFN- α и IFN- β : 1) подавляют репликацию вируса в клетках, 2) усиливают экспрессию МНСI и презентацию АГ в инфицированных клетках, облегчая их уничтожение с помощью CD8+ Тклеток (адаптивный ответ), 3) активируют **НК клетки**, которые избирательно убивают инфицированные клетки



NK cells – естественные киллеры.

- Лимфоидного происхождения, циркулируют в крови, составляют 10% (5%-30%) от лимфоцитов крови и являются третьей по количеству популяцией лимфоцитов после Т- и В-клеток. Фенотип: CD3-**CD56+**(CD16+).
- Не обладают АГ-специфичными рецепторами, но имеют рецепторы, позволяющими отличать инфицированную вирусом или опухолевую клетку от здоровой.
- Имеют цитотоксические гранулы, содержащие перфорин и гранзим В.
- Функция: распознавать и убивать **вирус-зараженные клетки и клетки опухоли** без предварительной иммунизации – поэтому natural killers.
- Активация с помощью интерферонов IFN- α , IFN- β или цитокинов TNF- α , IL-12 приводит к повышению их активности в 2-100 раз.
- Начинают «работать» на ранних стадиях инфекции.
- Работают в двух направлениях :
 - 1) как цитотоксические клетки - через перфорин/гранзим В.
 - 2) через секрецию большого количества IFN- γ после их активации

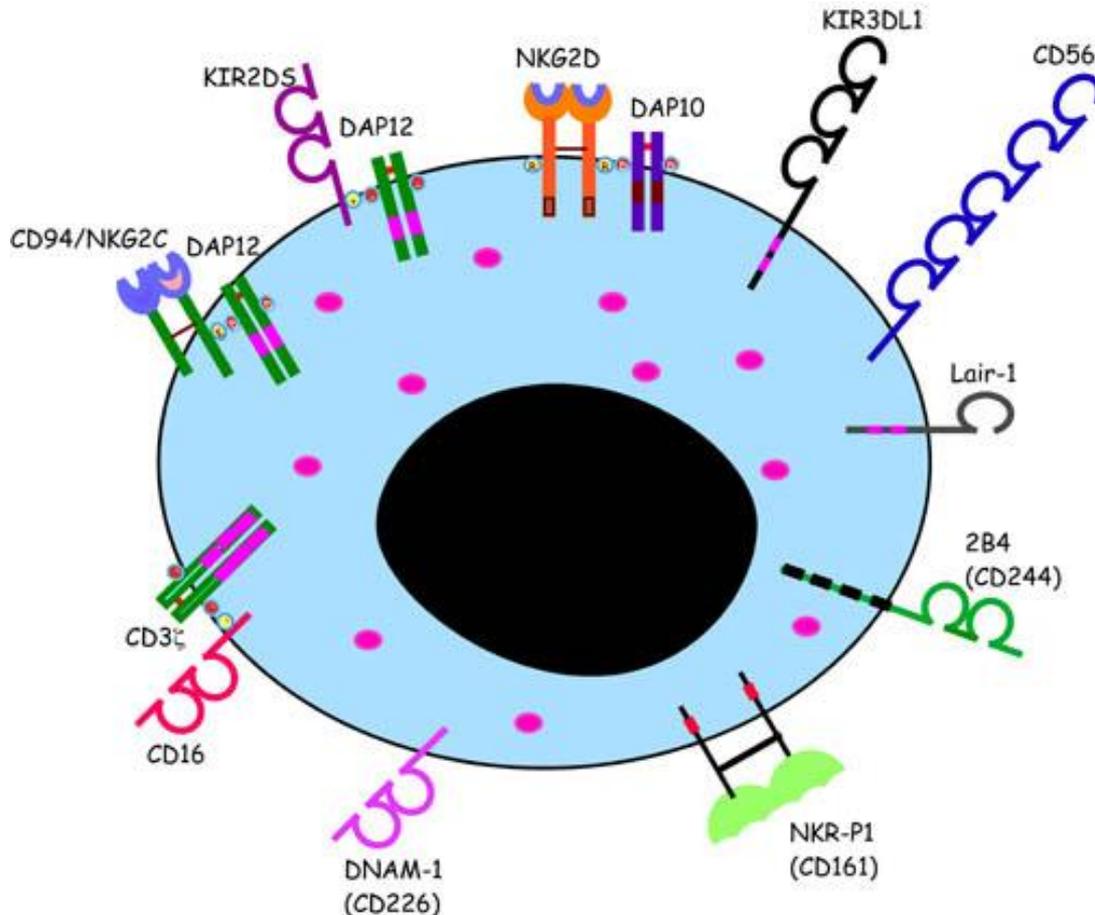
НК клетки начинают функционировать на ранней стадии вирусной инфекции. Активируются с помощью интерферонов IFN- α , IFN- β или цитокинов TNF- α , IL-12. Они сдерживают репликацию вируса, но не элиминируют его совсем. Элиминация вируса – дело CD8+ Т клеток и нейтрализующих антител (В-клетки).



Как НК клетки отличают инфицированные клетки от здоровых?

- Активность НК клеток определяется балансом сигналов от активирующих и ингибирующих рецепторов. Разные наборы активирующих и ингибирующих рецепторов – разные функциональные типы НК клеток.

Рецепторы НК клетки



Ингибирующие рецепторы – ингибируют активацию и уменьшают способность убивать: killer immunoglobulin-like receptors (KIR), the C type lectin receptors (CD94-NKG2A) and leukocyte inhibitory receptors (LIR1, LAIR-1). ИТІМ-мотивы в цитоплазматическом хвосте. Лиганды для некоторых – МНС I. **Активирующие рецепторы** – усиливают способность убивать: часть молекул семейства KIR, natural cytotoxicity receptors (NKp46, NKp44), C type lectin receptors (NKG2D, CD94-NKG2C), and Ig-like receptors (2B4). ИТАМ мотивы в сигнальных субъединицах. Лиганды для NKG2D – молекулы клеточного стресса, сигнал «опасность».

Как NK клетки отличают «свое» от «чужое» и инфицированные и неинфицированные клетки? - Модель «измененное свое».

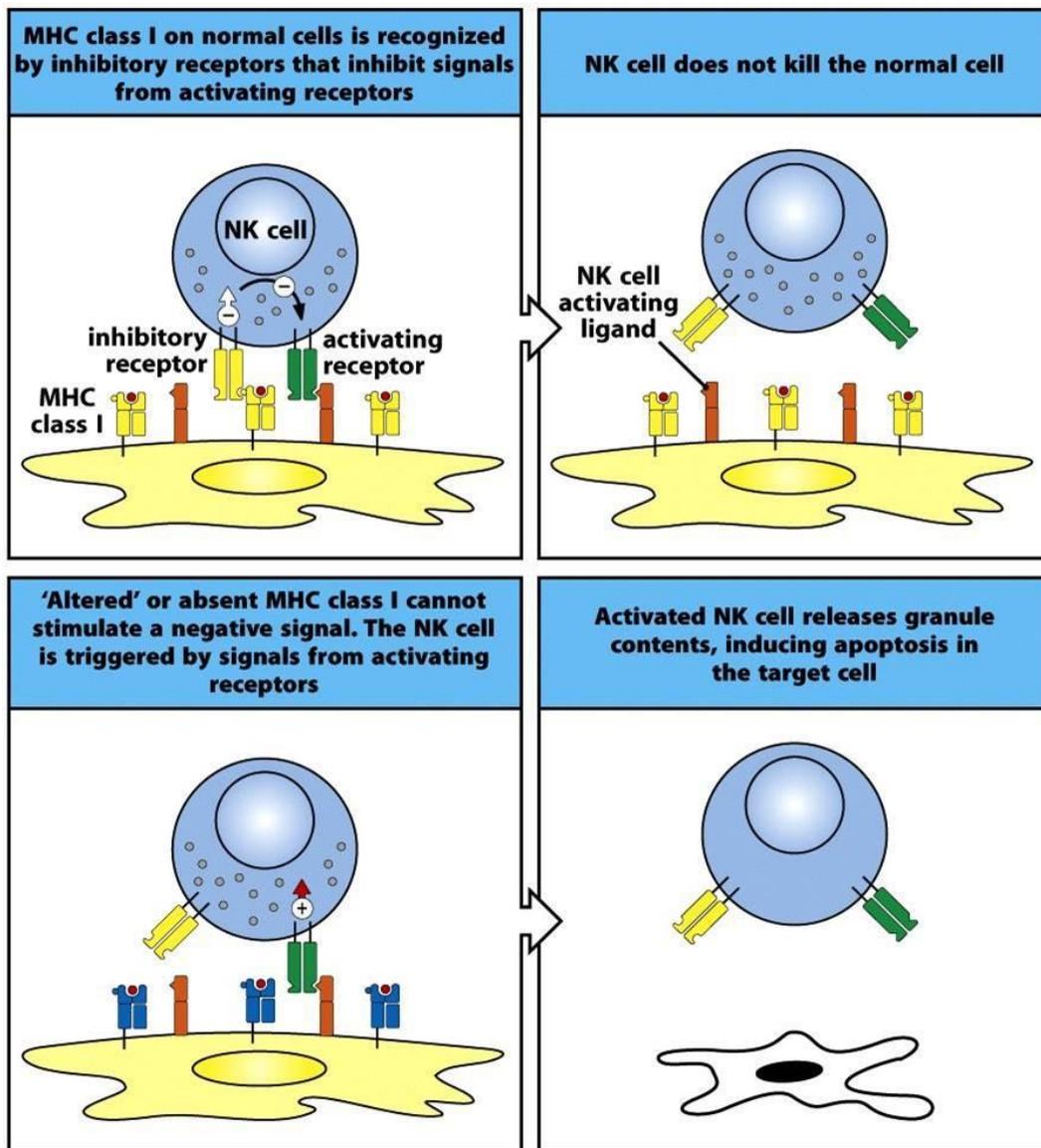


Figure 2-56 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

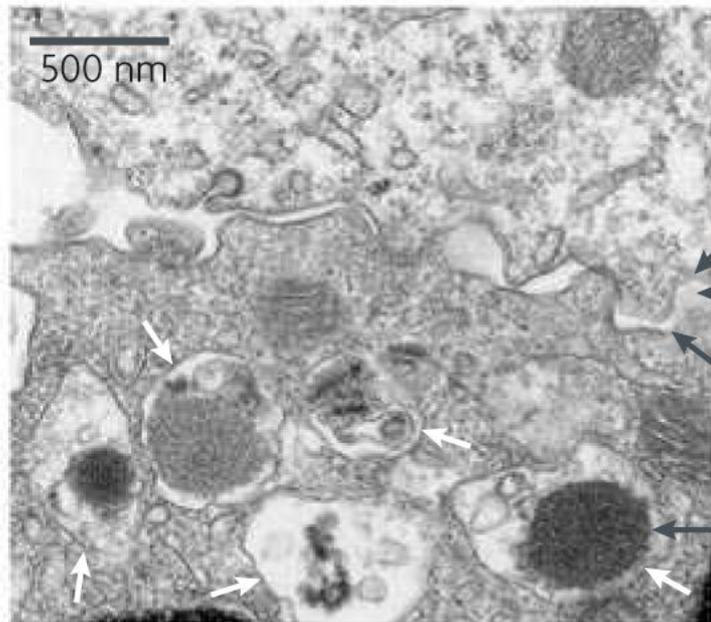
- Если ингибирующие рецепторы NK клетки распознали собственные молекулы МНС I на клетке-мишени и если этот сигнал больше, чем от активирующих рецепторов, это предотвращает активацию – NK клетка не убивает клетку-мишень. Интерфероны увеличивают экспрессию МНС I.

- Если NK клетка не получает сильный сигнал от ингибирующих рецепторов (на инфицированных и опухолевых клетках экспрессия МНС I снижена или изменена АГ), она активируется и убивает

Как НК клетка убивает клетку-мишень?

Между НК клеткой и клеткой-мишенью образуется иммунологический синапс, литические гранулы с перфорином и гранзимом В подходят к синапсу и освобождаются в его пространство, литические агенты проникают сквозь мембрану клетки-мишени и индуцируют в ней апоптоз.

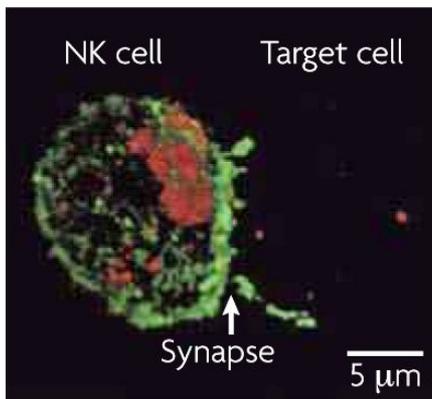
Target cell



Target cell
plasma membrane
Immunological
synapse
NK cell
plasma membrane
Mature lytic
granule

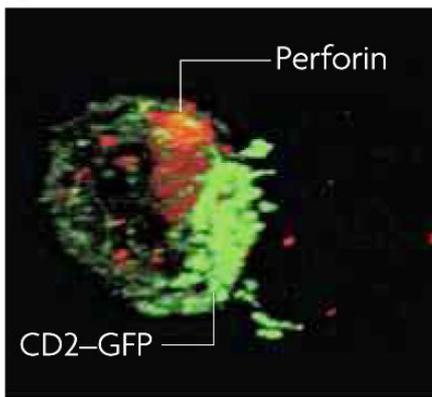
NK cell

Иммунологический синапс – определенный комплекс молекул иммунной клетки, продолжительный по времени, который образуется в месте ее контакта с другой клеткой. Определенные рецепторы собираются вместе в отдельном месте.



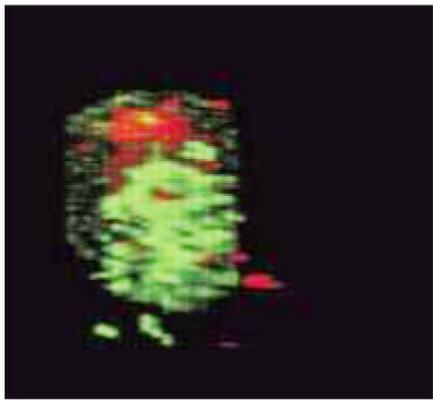
Иммунологический синапс между НК клеткой и клеткой-мишенью. Литические гранулы с перфорином (красный) располагаются в месте контакта, маркированного зеленым (CD2). Распределение CD2 – параллельно распределению актиновых нитей.

3/4 view



Образование иммунологического синапса обеспечивает целевую доставку литических агентов НК клетки в клетку-мишень и предотвращает лизис соседних клеток.

Face on view



γδТ клетки, В1 клетки и natural antibodies – промежуточное звено между адаптивным и врожденным иммунитетом

- Рецепторам γδТ и В-1 клеток характерно ограниченное разнообразие, обусловленное несколькими фиксированными перестройками гена.
- Появляются рано в онтогенезе и в ходе развития иммунного ответа
- Самообновляются на периферии
- Минорная субпопуляция Т клеток - **интраэпителиальные γδТ клетки, АГ-рецептор состоит из γ и δ-цепи** (кожа). Распознают антиген не в комплексе с молекулой МНС, а непосредственно.
- **В-1** клетки в отличие от «нормальных» В клеток несут поверхностный маркер **CD5** (у мыши). Перитонеальная и плевральная полость – основное место локализации В-1 клеток. **В-1** клетки отвечают, в основном, на полисахаридные антигены, не нуждаются в помощи Т-клеток, спонтанно и конститутивно секретируют IgM **natural antibodies**. Эффективно представляют АГ и стимулируют Т-клетки. Играют важную роль в защите организма от бактериальных инфекций.
- **natural antibodies** – гены IgM перестроены, но отсутствует соматический мутагенез  низкая аффинность, ограниченное разнообразие, могут перекрестно реагировать с собственными антигенами.

Цитокины, хемокины, фагоциты и НК-клетки – эффекторные механизмы врожденного иммунного ответа, регулируемого паттерн-распознающими молекулами, - также принимают участие и в адаптивном иммунном ответе. – См. далее.