

ATTIVAZIONE

LINFOCITI T

E

IMMUNITA' CELLULO-MEDIATA

ATTIVAZIONE DEI LINFOCITI T

MECCANISMI MOLECOLARI

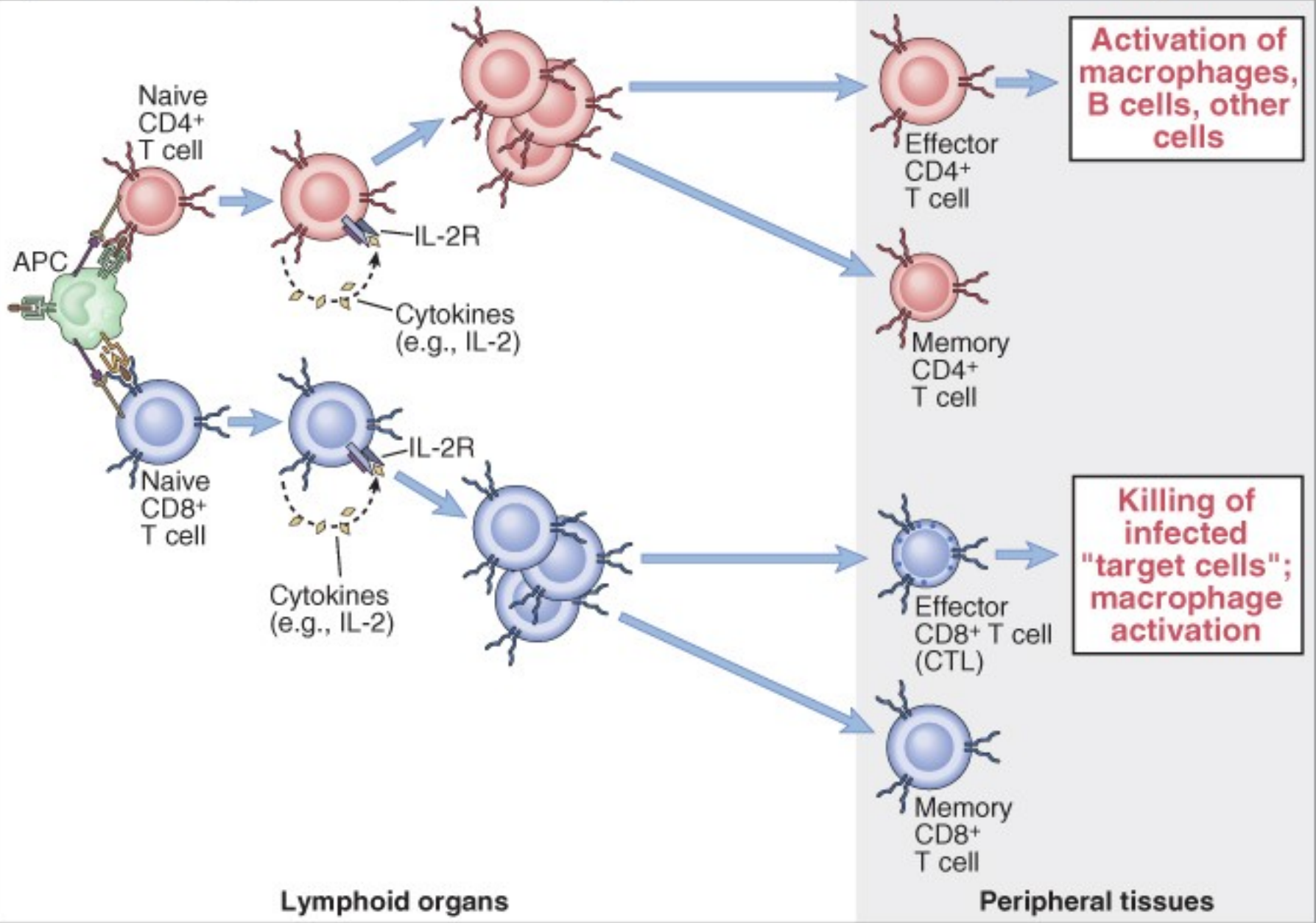
Antigen recognition

Activation

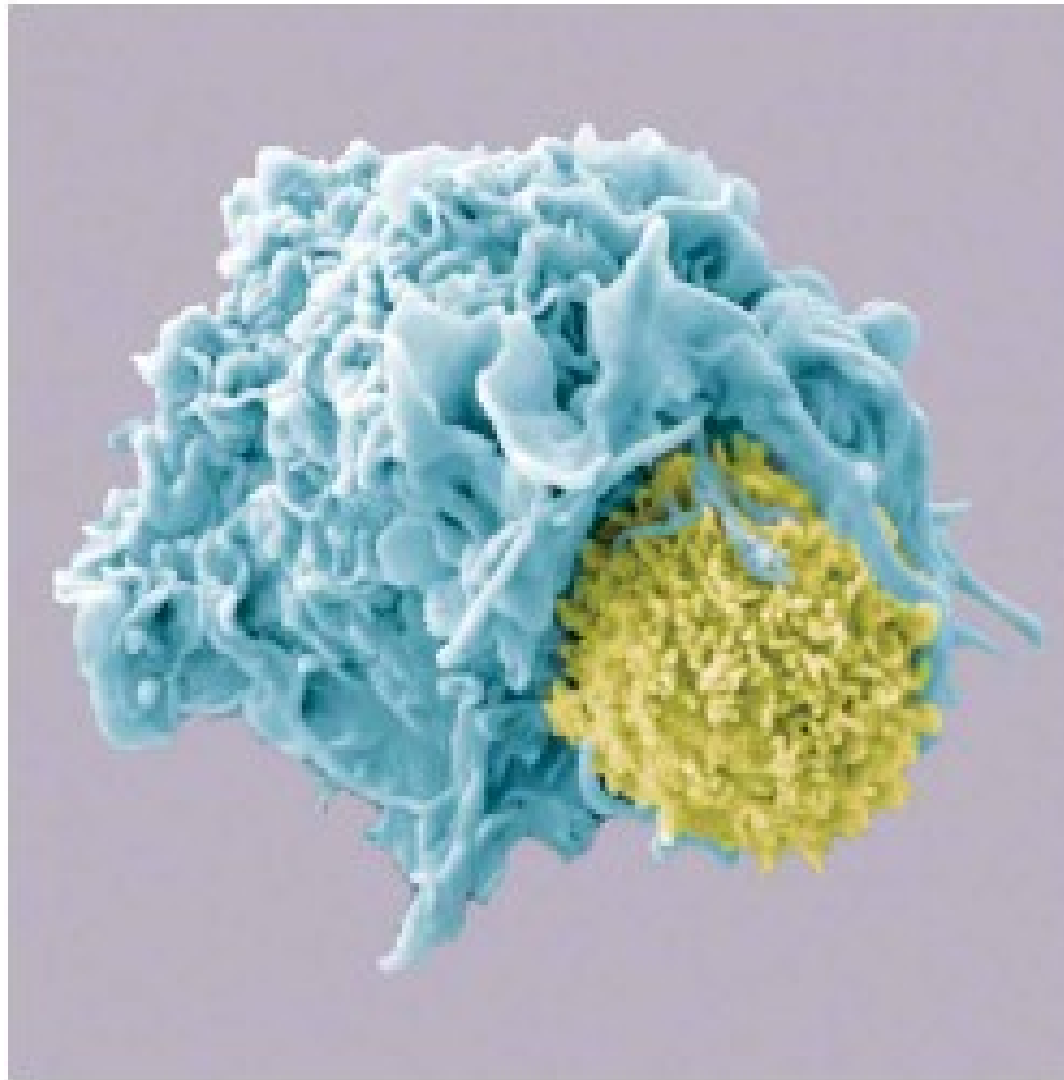
Clonal expansion

Differentiation

Effector functions



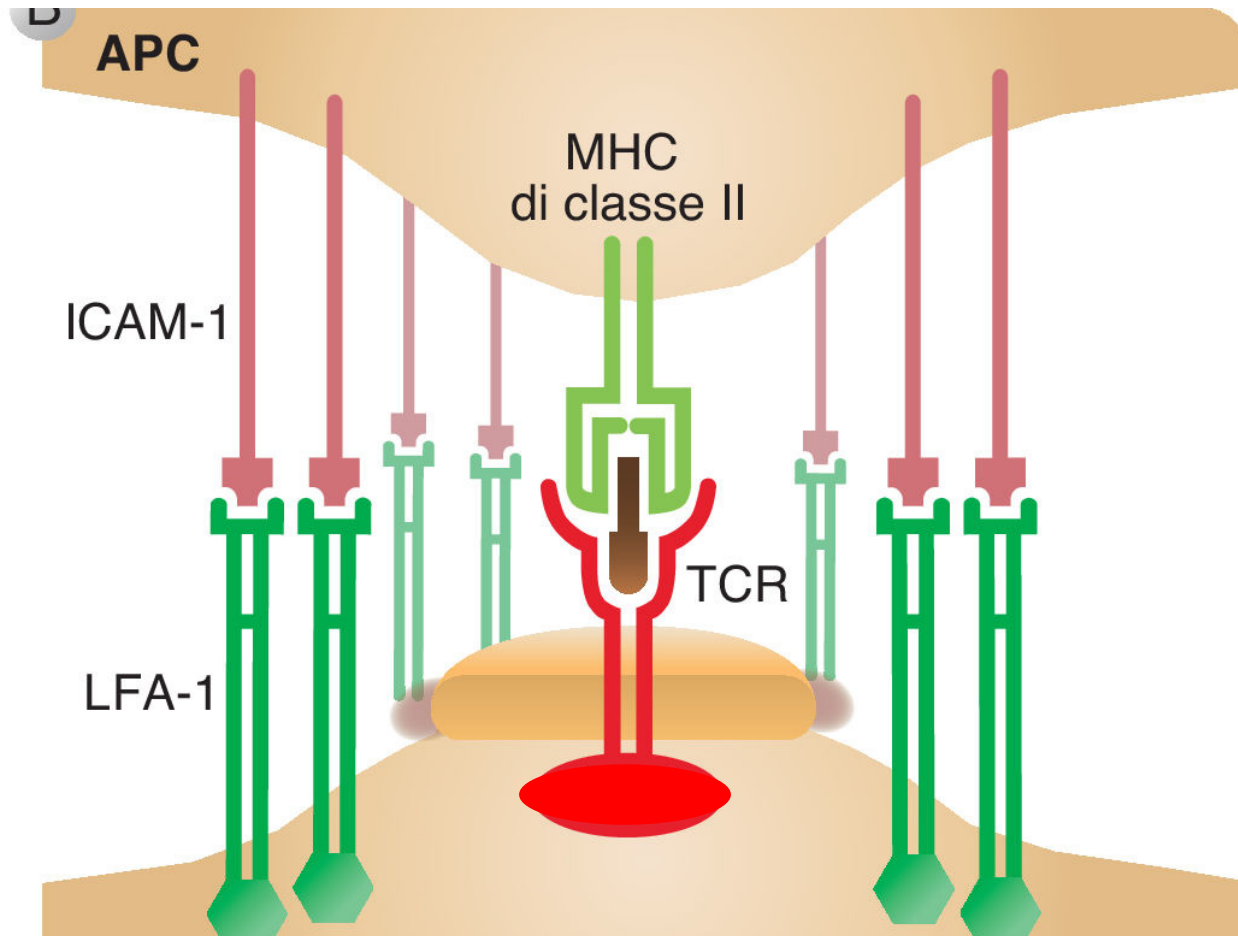
La sinapsi immunologica



Olivier Schwartz, Science Photo Library

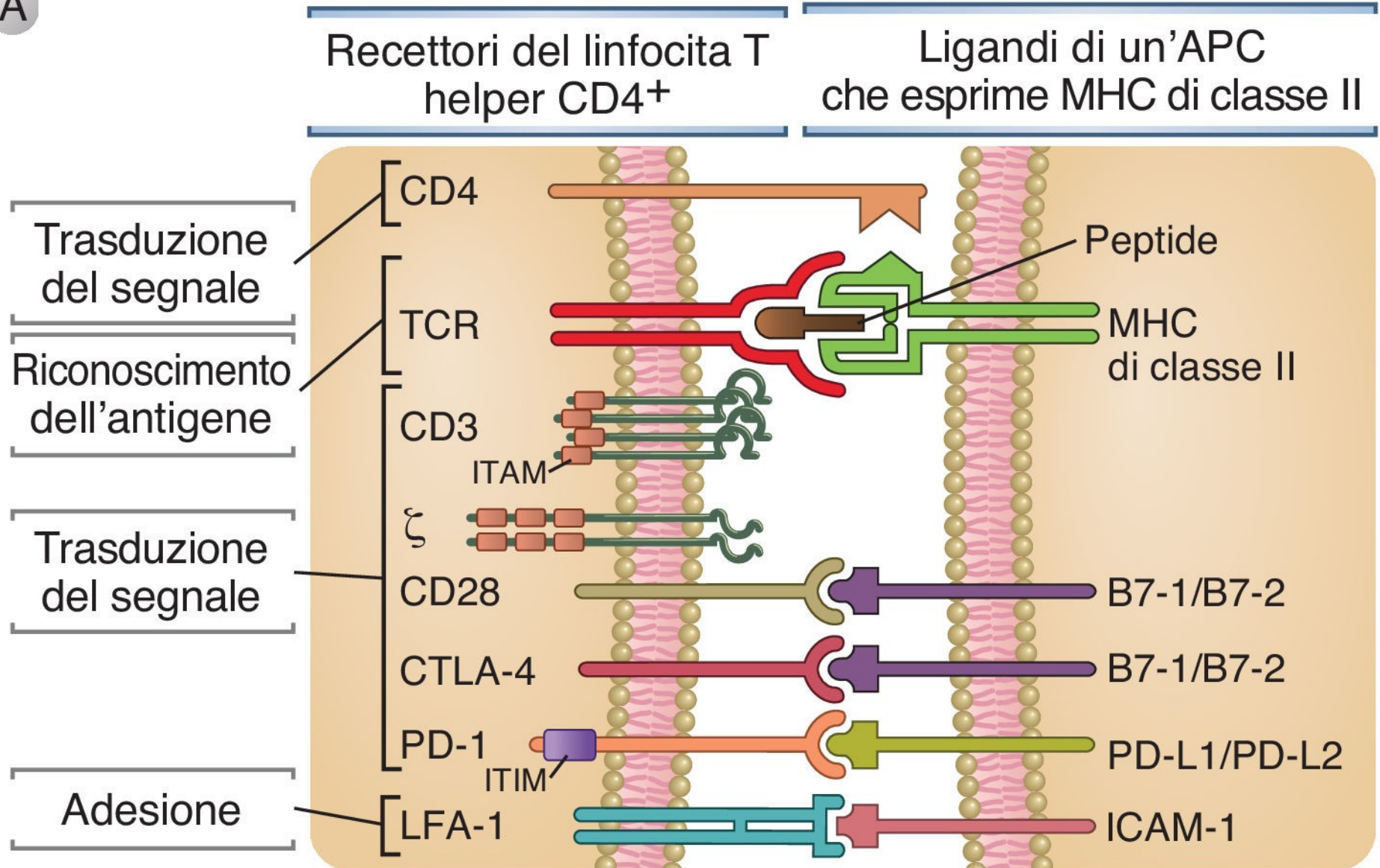
A dendritic cell and a T cell interacting.

La sinapsi immunologica



MOLECOLE COINVOLTE NELL'ATTIVAZIONE DEI LINFOCITI T

A

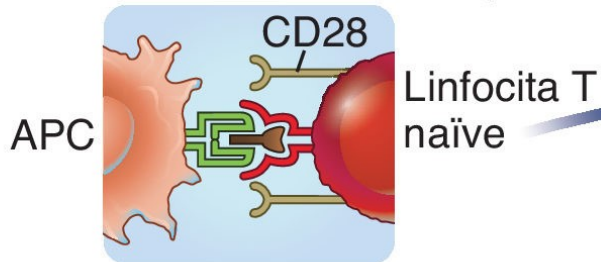


Attivazione dei linfociti T: il ruolo di CD28

Riconoscimento dell'antigene

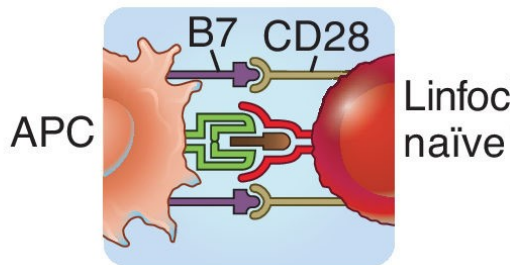
Risposta T

- A APC a riposo (che manca di molecole costimolatorie)



Nessuna
risposta
o tolleranza

- B Microbi e risposte innate aumentano l'espressione delle molecole costimolatorie delle APC



Linfocita T
naïve

Linfociti T
effettori

IL-2

Sopravvivenza,
proliferazione
e differenziament
dei linfociti T

CD80

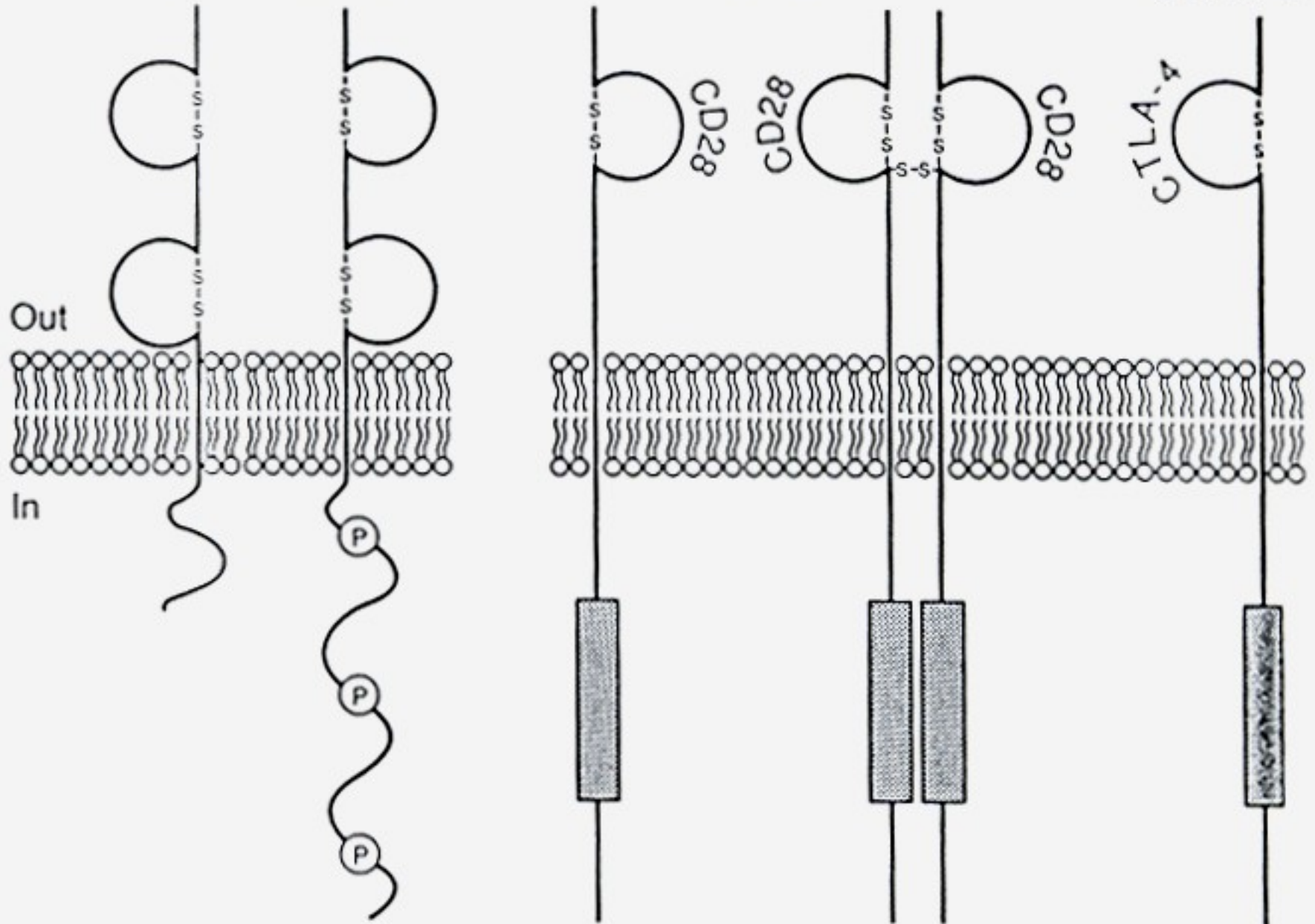
B7-1

B7-2

CD86

CD28

CTLA-4



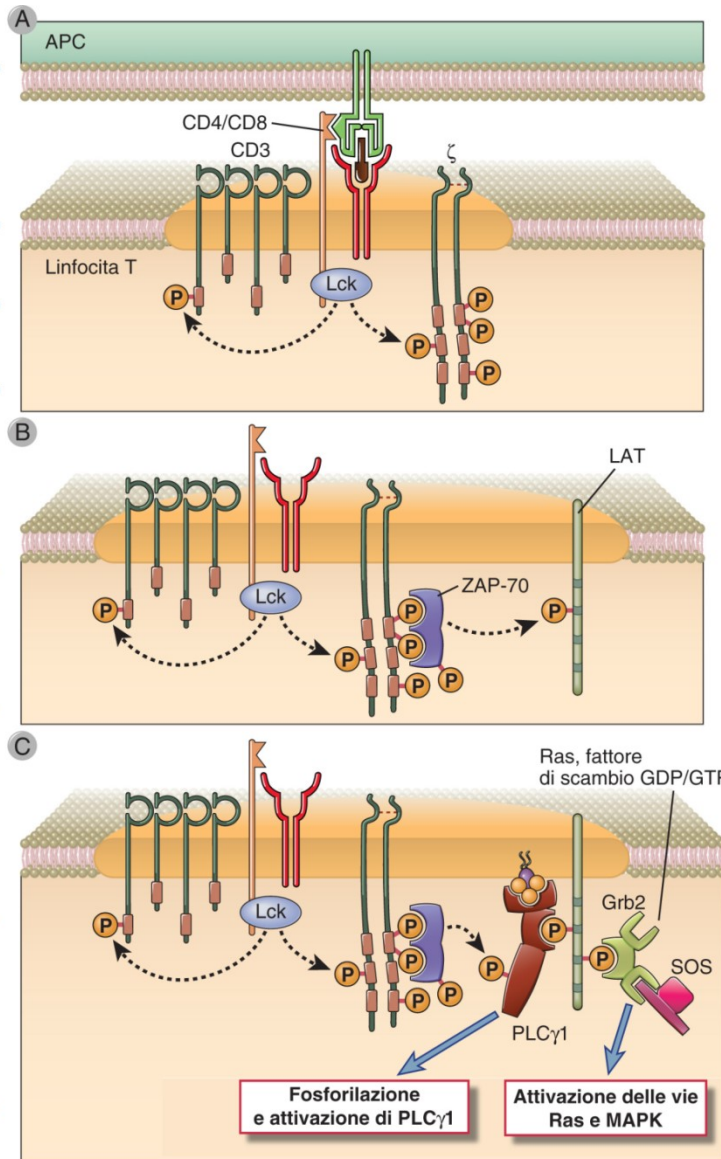
Attivazione dei linfociti T

In seguito al riconoscimento dell'antigene il complesso del TCR e i corecettori vengono raggruppati nei raft di membrana

Lck fosforila le tirosine presenti nelle ITAM della catena ζ

ZAP-70 si lega alle fosfotirosine della catena ζ e fosforila le proteine adattatrici, come LAT

Le proteine adattatrici e i complessi enzimatici vengono reclutati in corrispondenza della membrana: sono attivate molteplici vie di trasmissione del segnale



An early event in TCR activation is phosphorylation of immunoreceptor tyrosine-based activation motifs (ITAMs) on the cytosolic side of the TCR/CD3 complex by lymphocyte protein tyrosine kinase (Lck).

The CD45 receptor tyrosine phosphatase modulates the phosphorylation and activation of Lck and other Src family tyrosine kinases

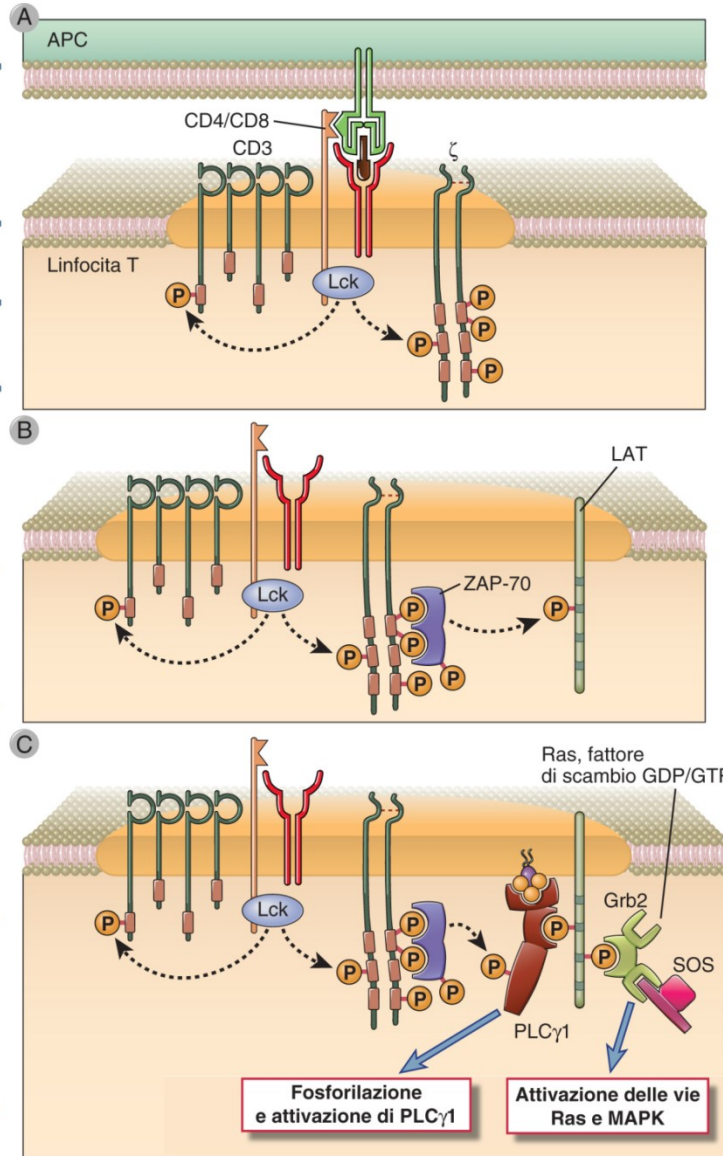
Attivazione dei linfociti T

In seguito al riconoscimento dell'antigene il complesso del TCR e i corecettori vengono raggruppati nei raft di membrana

Lck fosforila le tirosine presenti nelle ITAM della catena ζ

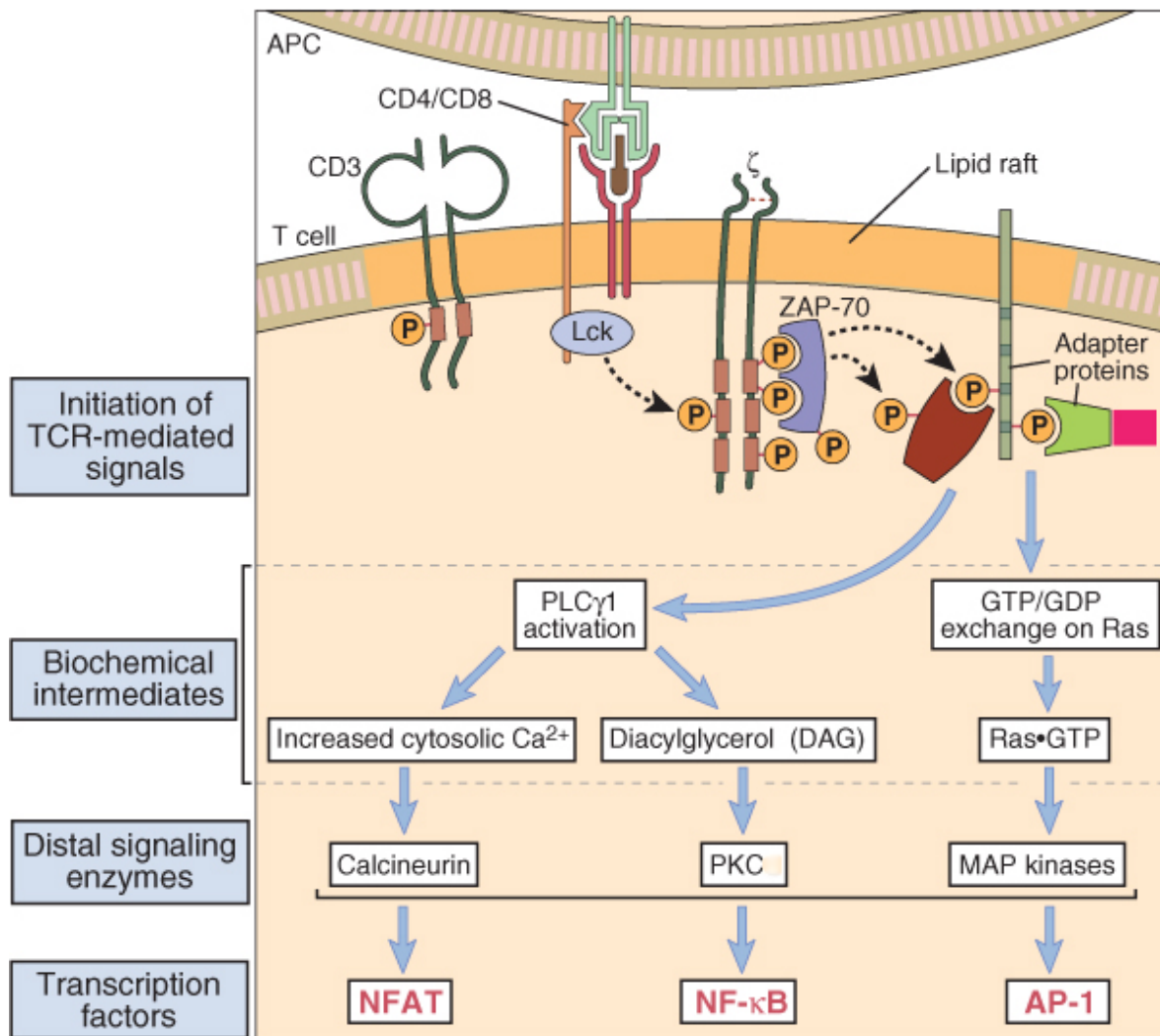
ZAP-70 si lega alle fosfotirosine della catena ζ e fosforila le proteine adattatrici, come LAT

Le proteine adattatrici e i complessi enzimatici vengono reclutati in corrispondenza della membrana: sono attivate molteplici vie di trasmissione del segnale



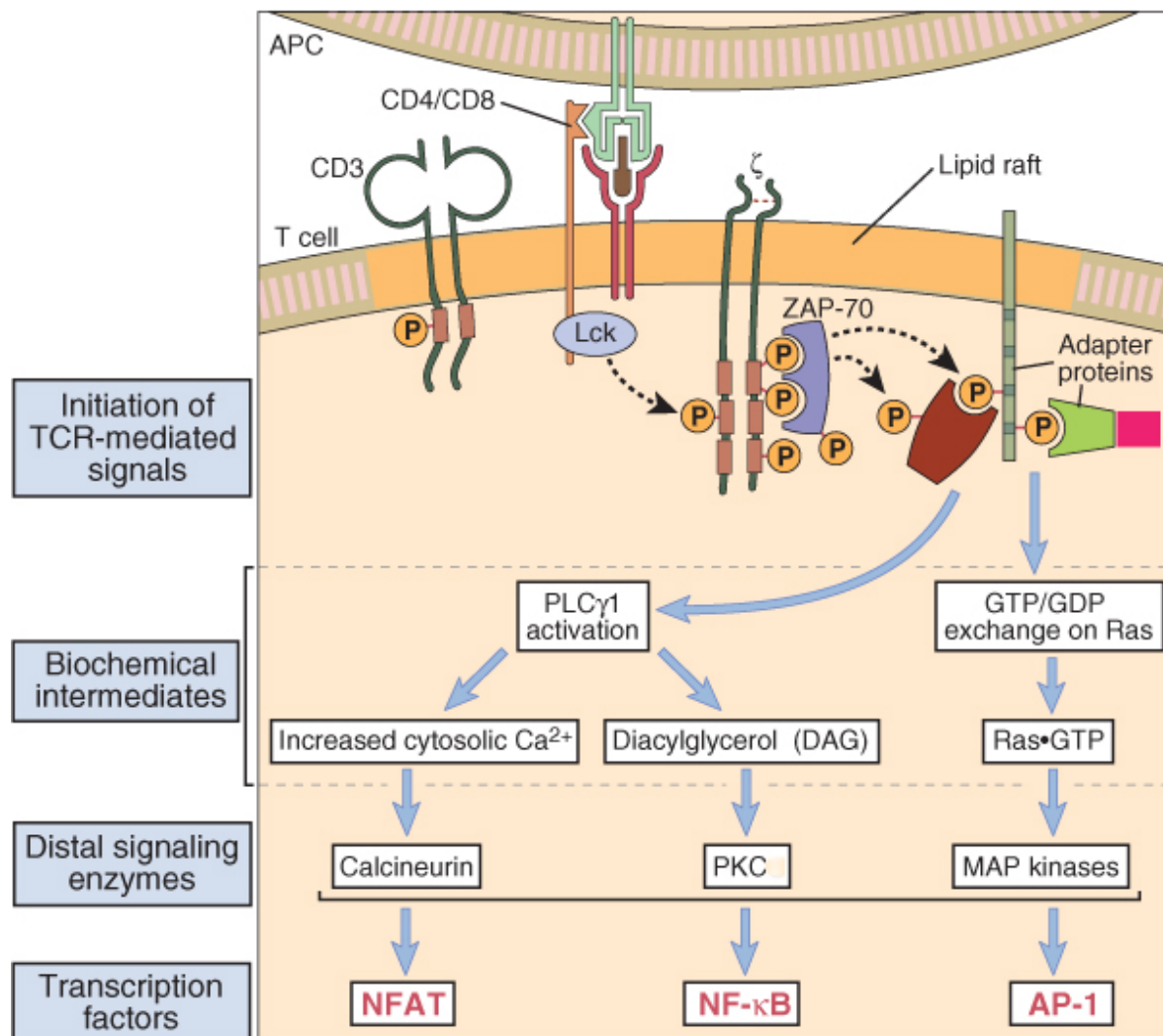
Zeta-chain associated protein kinase (Zap-70) is recruited to the TCR/CD3 complex where it becomes activated, promoting recruitment and phosphorylation of downstream adaptor or scaffold proteins.

Phosphorylation of SLP-76 by Zap-70 promotes recruitment of Vav (a guanine nucleotide exchange factor), the adaptor proteins NCK and GADS, and an inducible T cell kinase (Itk).



© Elsevier 2005. Abbas & Lichtman: Cellular and Molecular Immunology 5e www.studentconsult.com

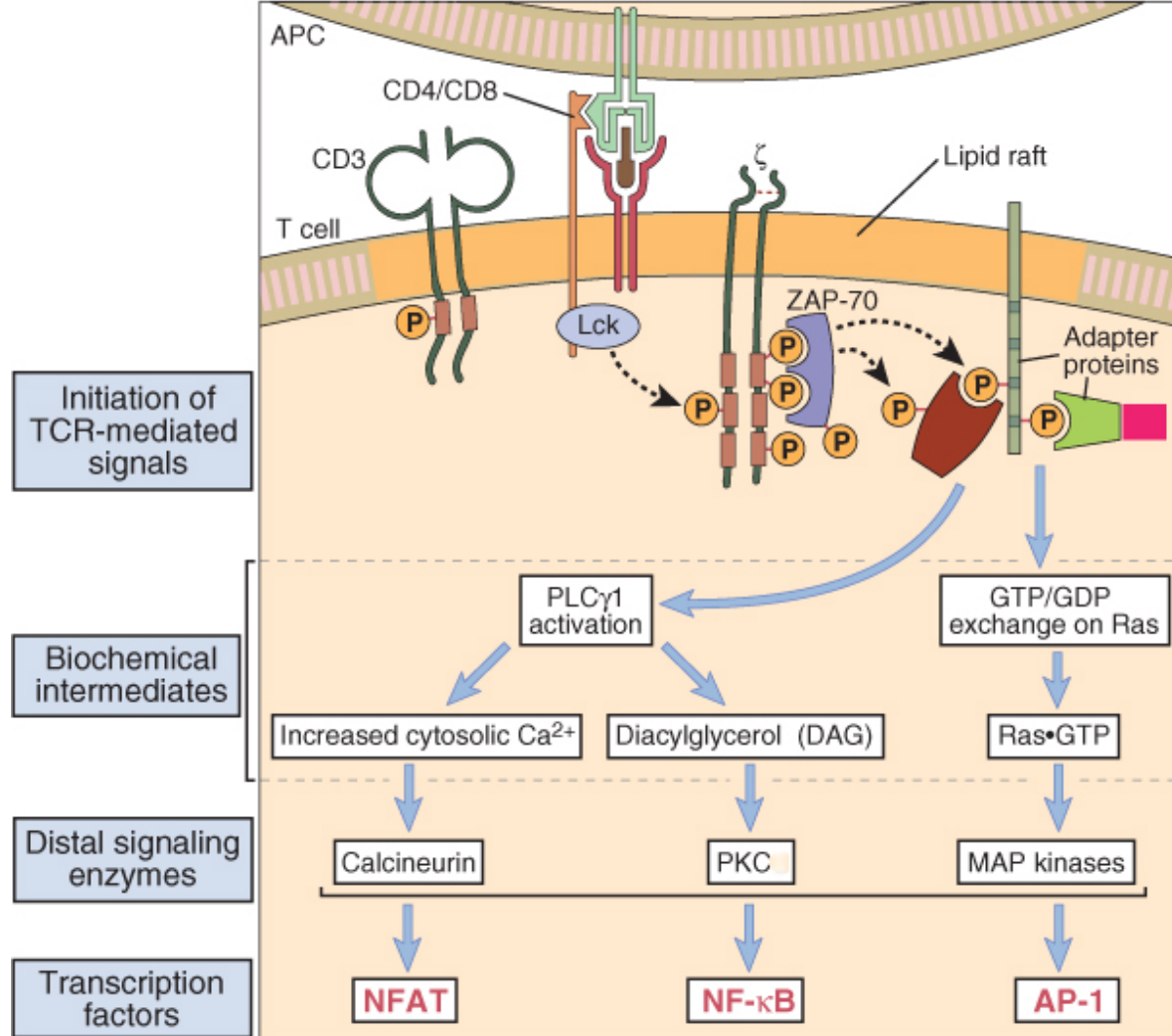
Phosphorylation of phospholipase C γ 1 (PLC γ 1) by Itk results in the hydrolysis of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP₂) to produce the second messengers diacylglycerol (DAG) and inositol trisphosphate (IP₃).



© Elsevier 2005. Abbas & Lichtman: Cellular and Molecular Immunology 5e www.studentconsult.com

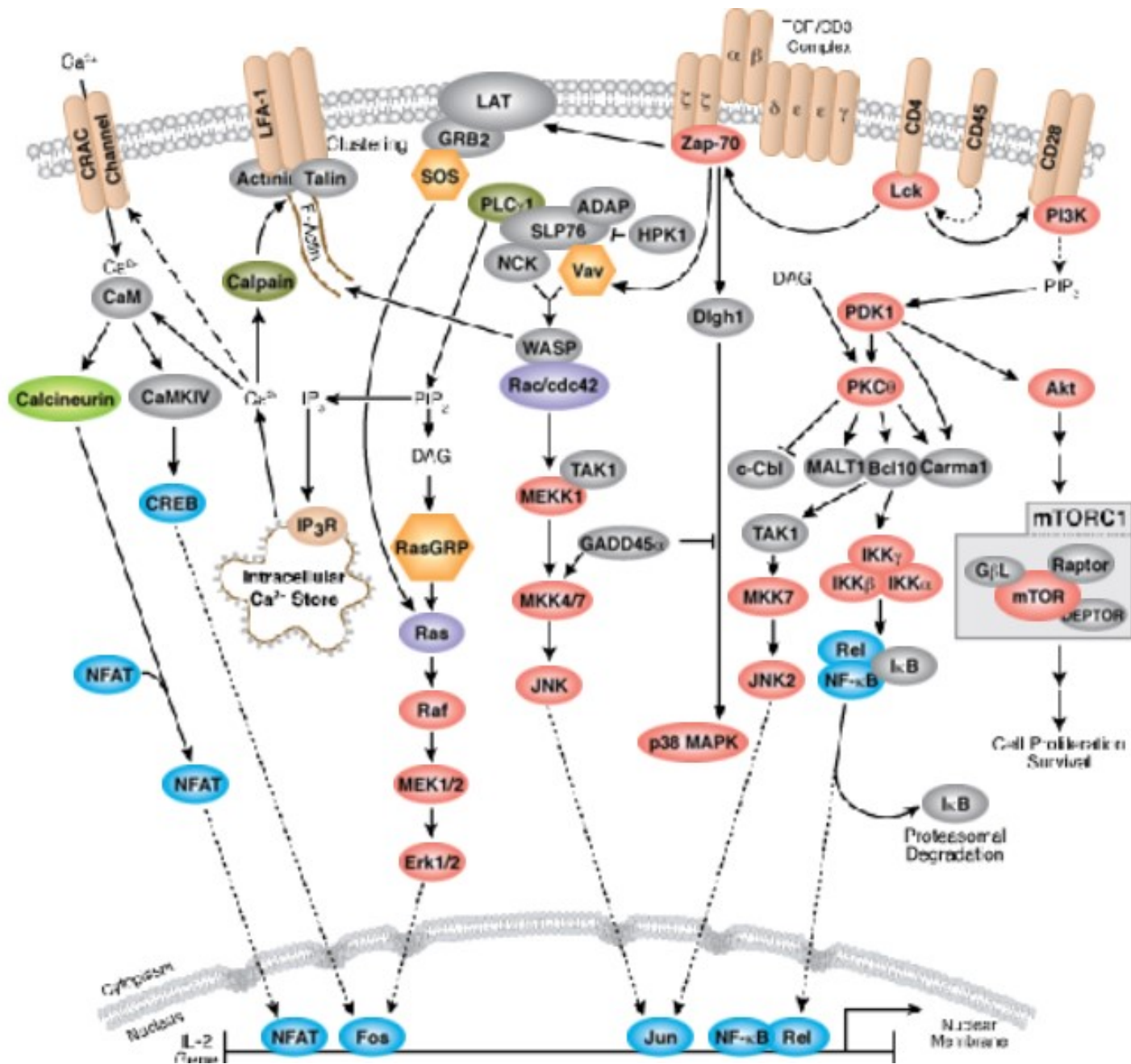
DAG activates PKCθ and the MAPK/Erk pathways, both promoting transcription factor NF-κB activation.

IP3 triggers the release of Ca²⁺ from the ER, which promotes entry of extracellular Ca²⁺ into cells through calcium release-activated Ca²⁺ (CRAC) channels.

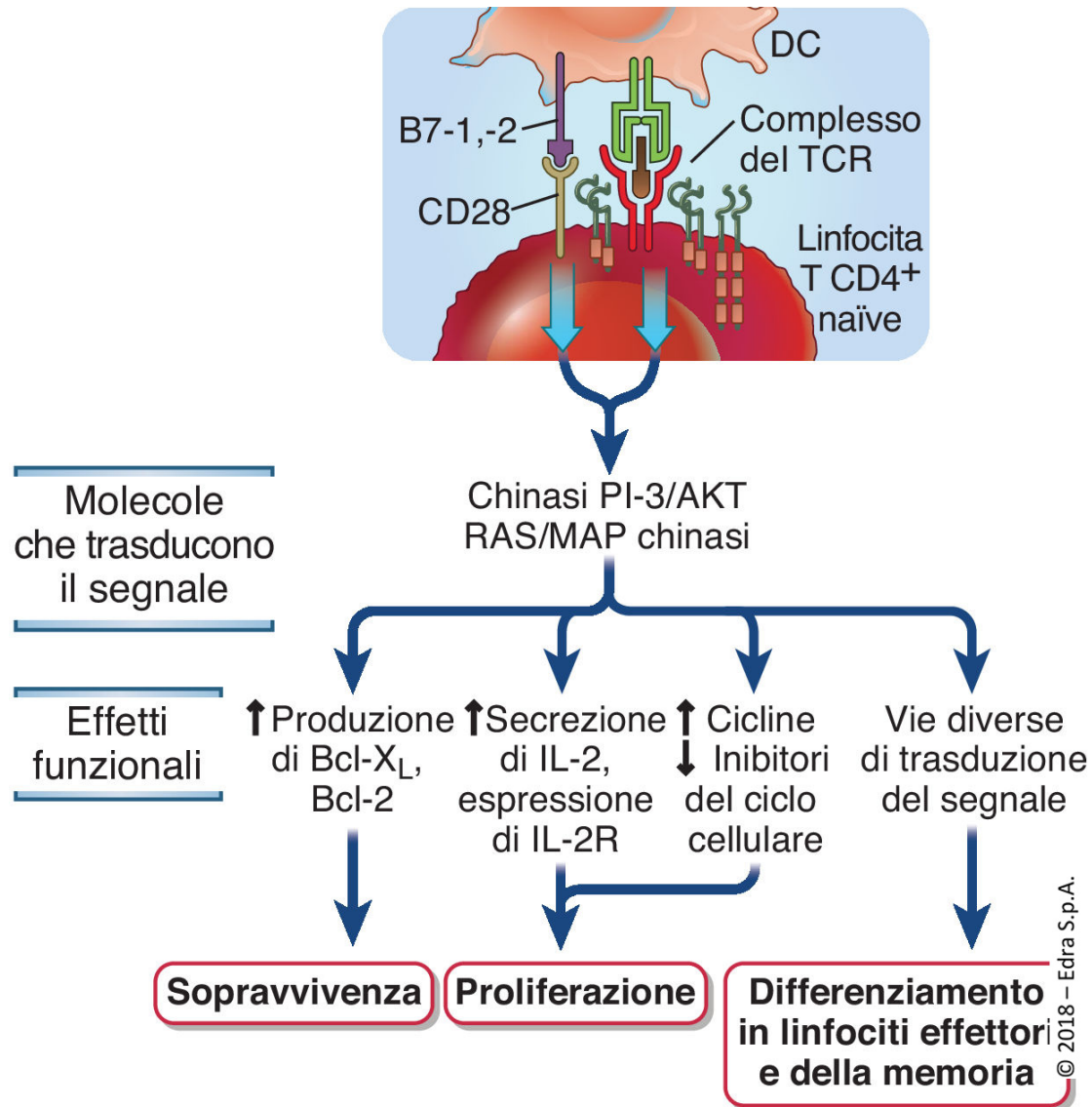


© Elsevier 2005. Abbas & Lichtman: Cellular and Molecular Immunology 5e www.studentconsult.com

Calcium-bound **calmodulin** (Ca²⁺/CaM) activates the phosphatase **calcineurin**, which promotes IL-2 gene transcription through the transcription factor **NFAT**.



Vie di trasduzione del segnale

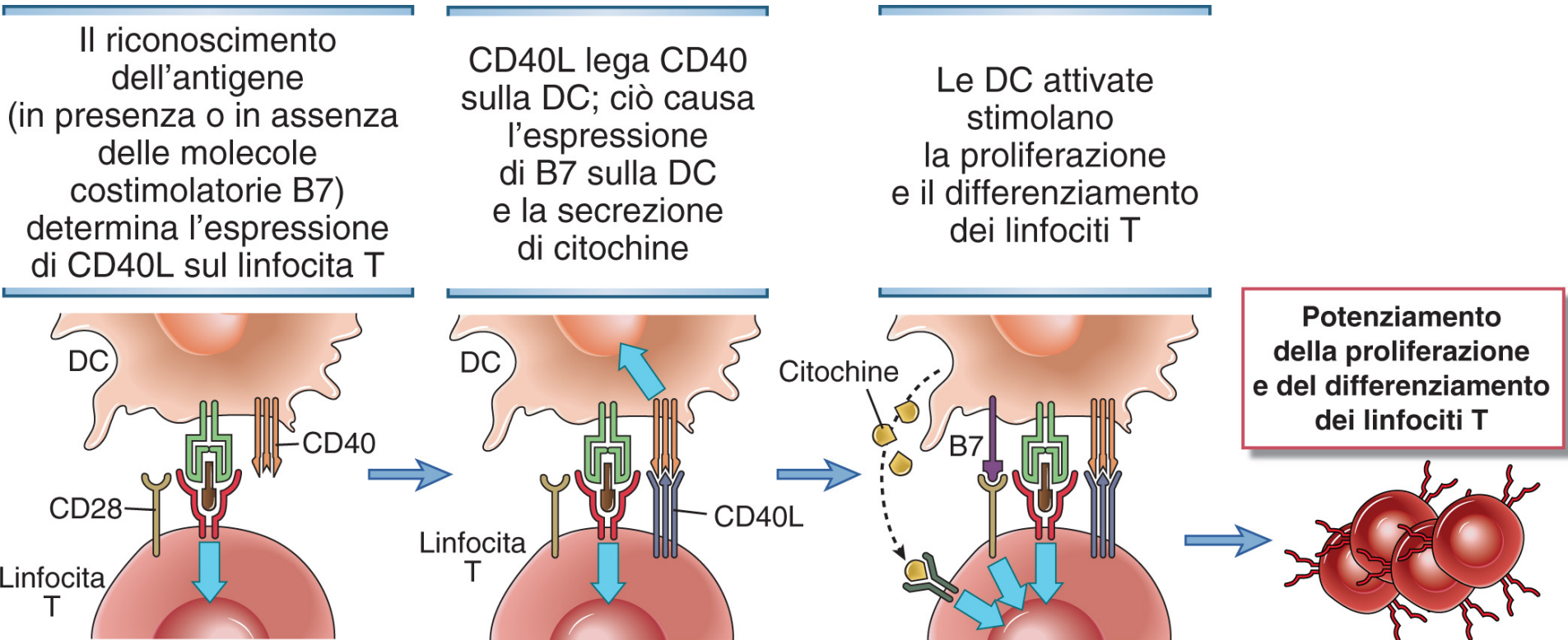


Difetto di ZAP 70

SCID (immunodeficienza grave combinata)

- **Livelli normali di CD4+
(ma non funzionanti)**
- **Deplezione di linfociti T CD8+**

CD40 migliora la capacità delle cellule APC di presentare l'Ag



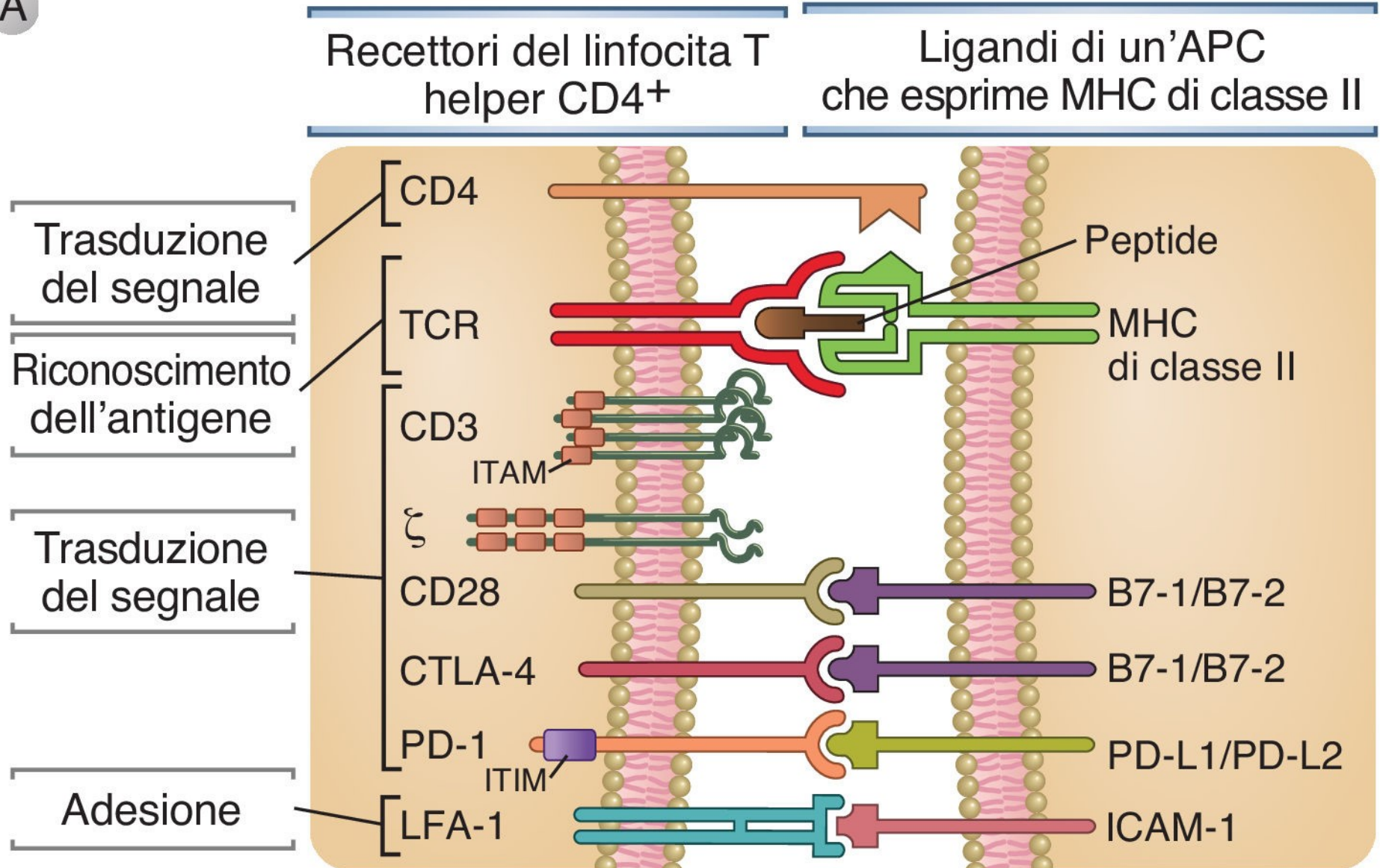
gr6.jpg

Immunologia cellulare e molecolare 7 ed

Fuoco di CD40 nell'attivazione dei linfociti T. I linfociti T naïve sono attivati dai complessi MHC-peptide presenti su cellule che presentano l'antigene (APC) precedentemente attivate dal riconoscimento di patogeni. Il riconoscimento dell'antigene congiuntamente alla costimolazione (non mostrato nella figura) induce l'espressione del ligando di CD40 (CD40L) sui linfociti T attivati. CD40L si lega a CD40 espresso dalle APC e stimola l'espressione delle molecole B7 e la secrezione di citochine che attivano i linfociti T. Pertanto, l'espressione di CD40L da parte dei linfociti migliora la capacità di presentare l'antigene da parte delle APC, favorendo e amplificando così l'attivazione dei linfociti T.

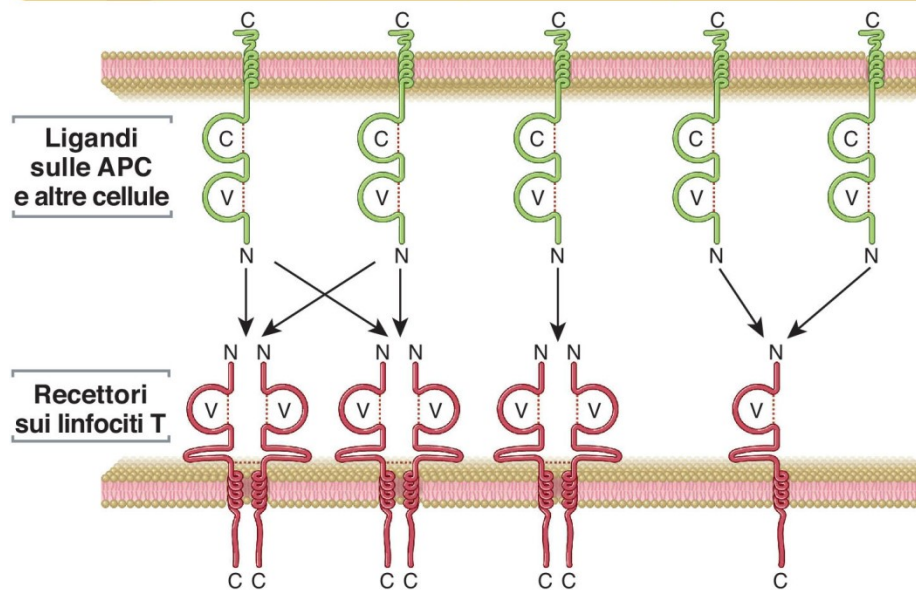
MOLECOLE COINVOLTE NELL'ATTIVAZIONE DEI LINFOCITI T

A



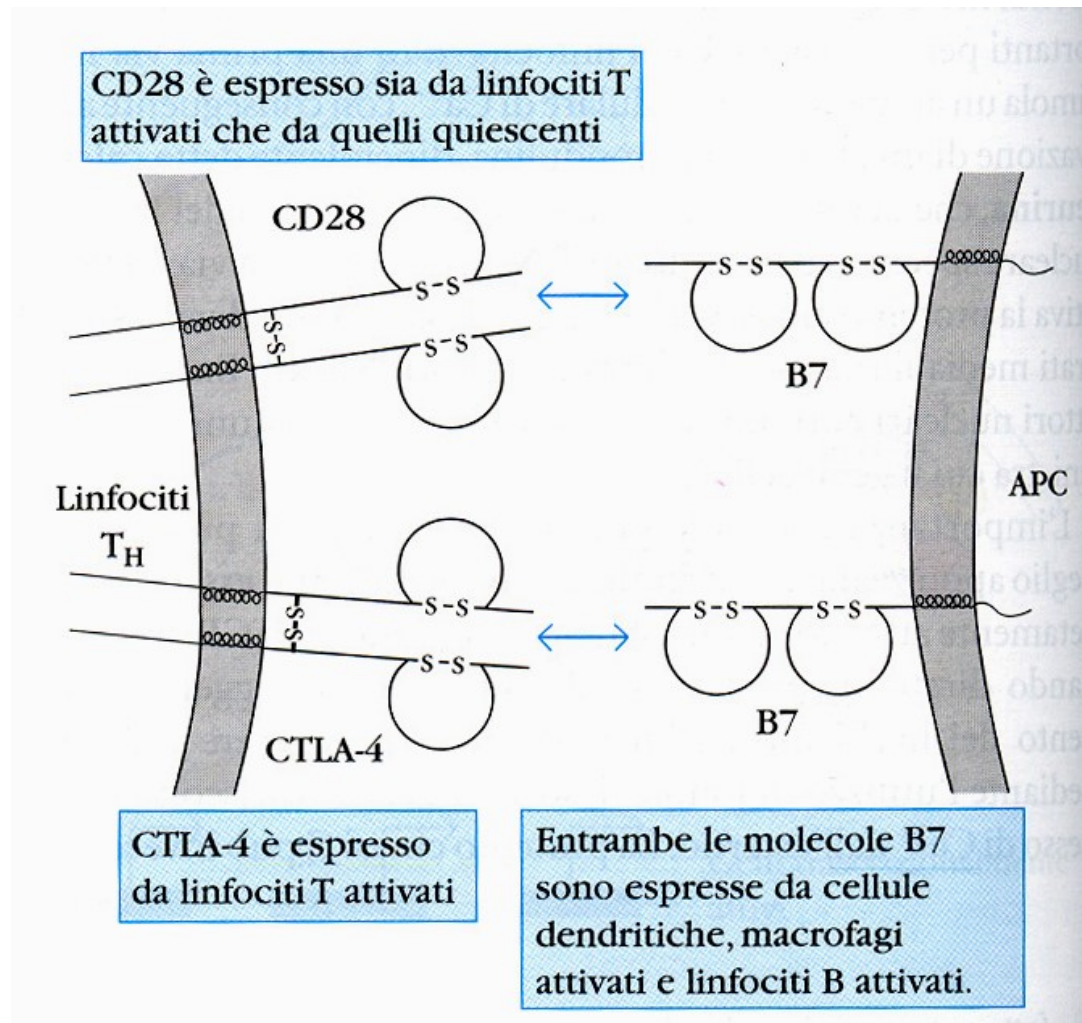
Interazioni molecolari presenti tra Linfocita T e APC

Espressione	DC; macrofagi, linfociti B	DC; macrofagi, linfociti B, altre cellule	DC; macrofagi, linfociti B; cellule endoteliali epiteliali e tumorali (solo PD-L1)	
Nome	B7-1 (CD80)	B7-2 (CD86)	PD-L1 (B7-H1, CD274)	PD-L2 (B7-DC, CD273)

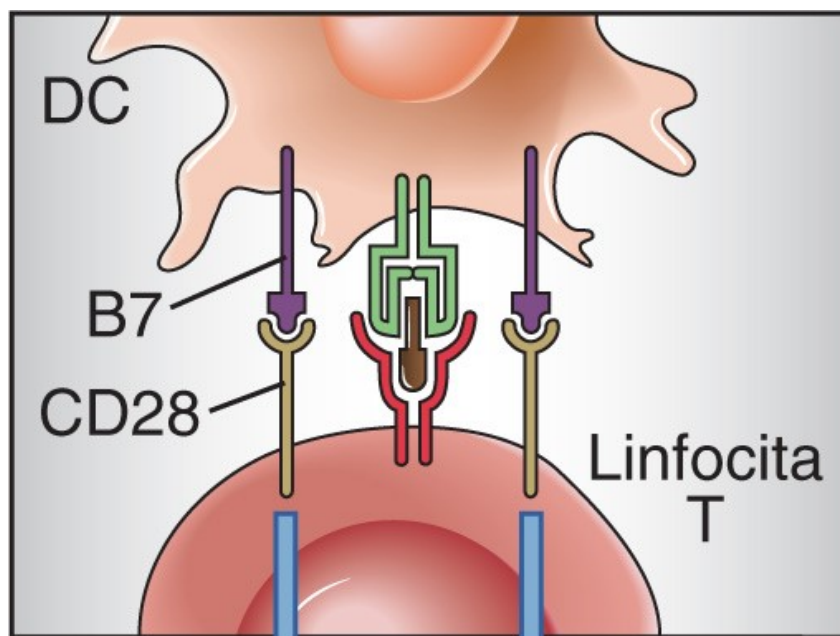


Nome	CD28	CTLA-4	ICOS	PD-1
Espressione sui linfociti T	Linfociti T regolatori e T linfociti attivati	Linfociti T naive	Linfociti T attivati; linfociti T helper follicolari (T _{FH})	Linfociti T attivati
Funzione principale	Attivazione linfociti T naive; attivazione della risposta immunitaria	Inibizione attivazione linfociti T	Generazione di linfociti T helper follicolari	Inibizione dell'attivazione T linfocitaria (soprattutto dei linfociti T effettori)

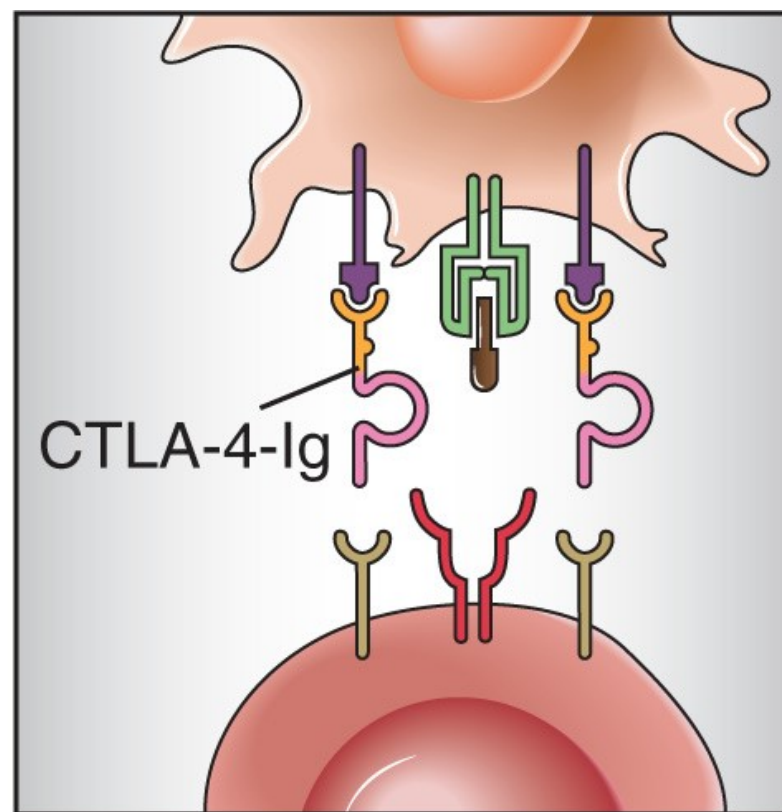
Il ruolo inibitorio di CTLA-4



IL farmaco CTLA-4-Ig



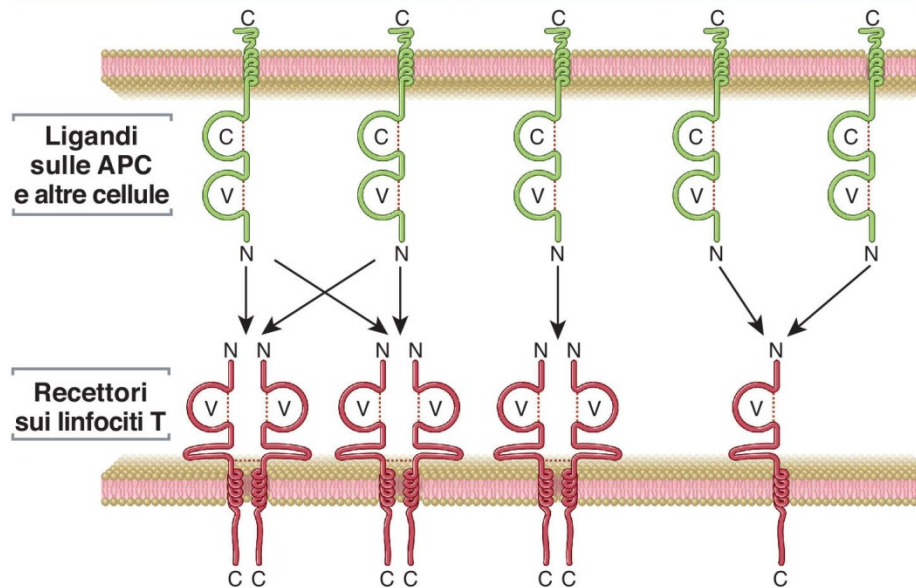
Attivazione



**Blocco
della costimolazione**

Interazioni molecolari presenti tra Linfocita T e APC

Espressione	DC; macrofagi, linfociti B	DC; macrofagi, linfociti B, altre cellule	DC; macrofagi, linfociti B; cellule endoteliali epiteliali e tumorali (solo PD-L1)	
Nome	B7-1 (CD80)	B7-2 (CD86)	PD-L1 (B7-H1, CD274)	PD-L2 (B7-DC, CD273)



Nome	CD28	CTLA-4	ICOS	PD-1
Espressione sui linfociti T	Linfociti T regolatori e T linfociti attivati	Linfociti T naive	Linfociti T attivati; linfociti T helper follicolari (T _{FH})	Linfociti T attivati
Funzione principale	Attivazione linfociti T naive; attivazione della risposta immunitaria	Inibizione attivazione linfociti T	Generazione di linfociti T helper follicolari	Inibizione dell'attivazione T linfocitaria (soprattutto dei linfociti T effettori)

1. Espansione clonale

IL2

- **E' stata inizialmente identificata per la sua capacità di stimolare la crescita delle cellule T (*T cell growth factor*)**
- **Stimola in maniera autocrina la crescita dei T CD4+ e paracrina dei CD8+**

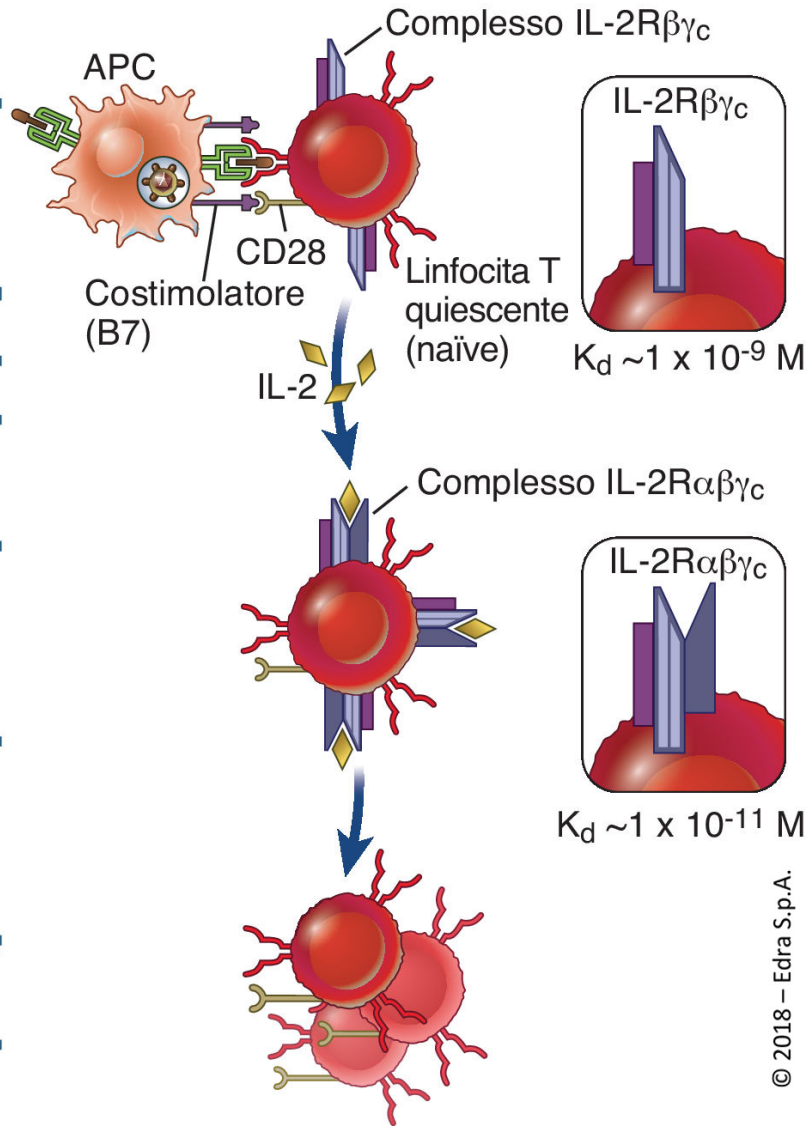
IL2R

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

Secrezione di IL-2

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

Proliferazione dei linfociti T indotta da IL-2



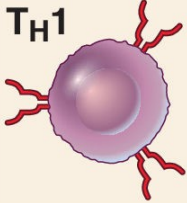
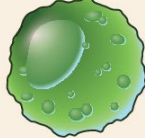
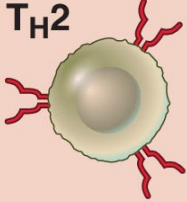
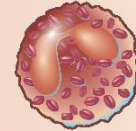
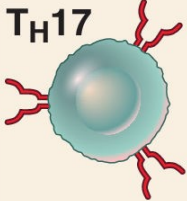
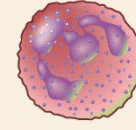
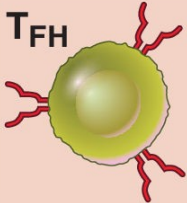
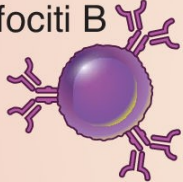
Difetto di IL-2R γ

SCID (immunodeficienza grave combinata)

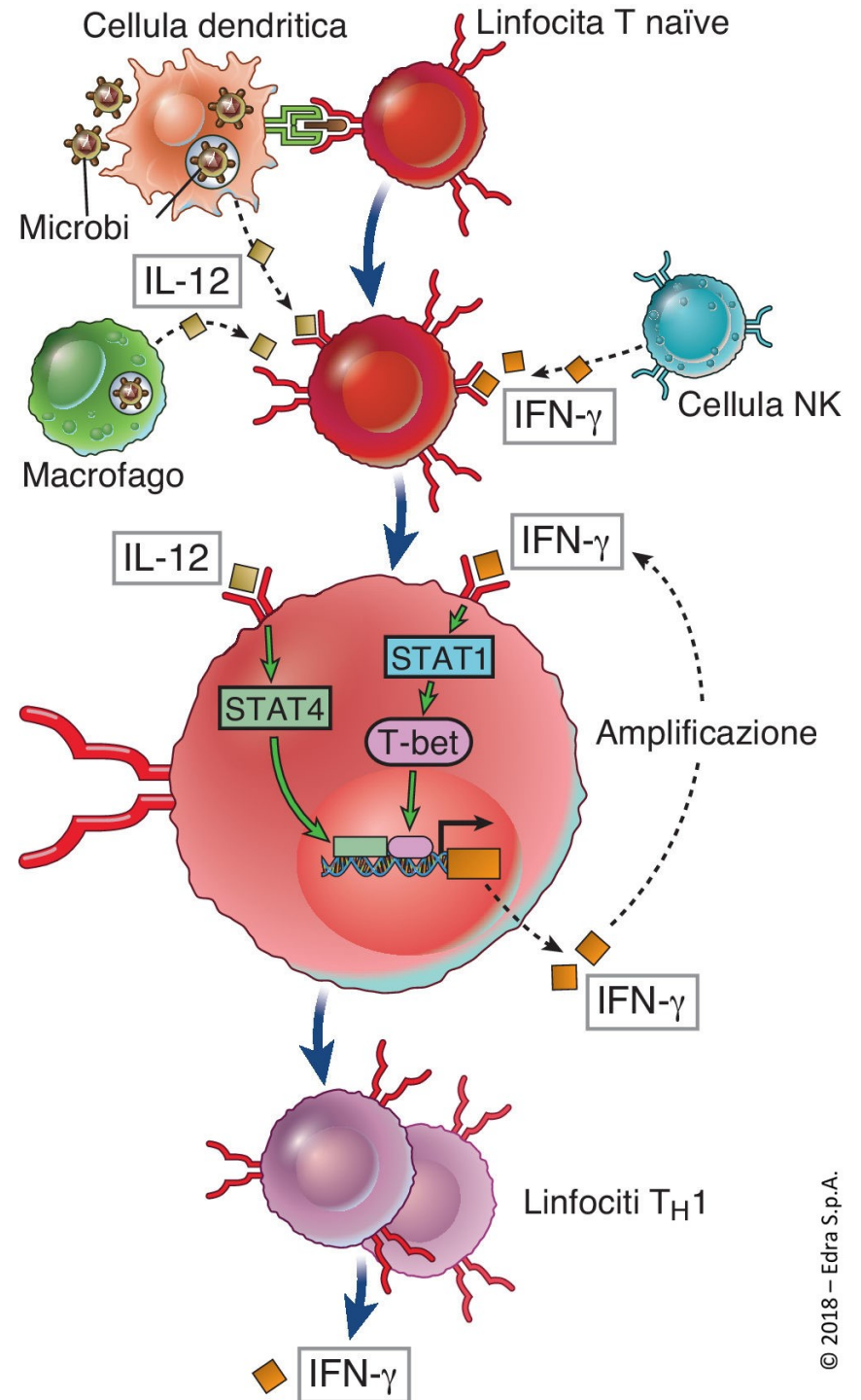
- Alterazione della trasduzione del segnale anche per IL-4, IL-7, IL-9, IL-15
- (Deficit a carico linfociti **T**, Linfociti B e NK normali)

2. Differenziamento

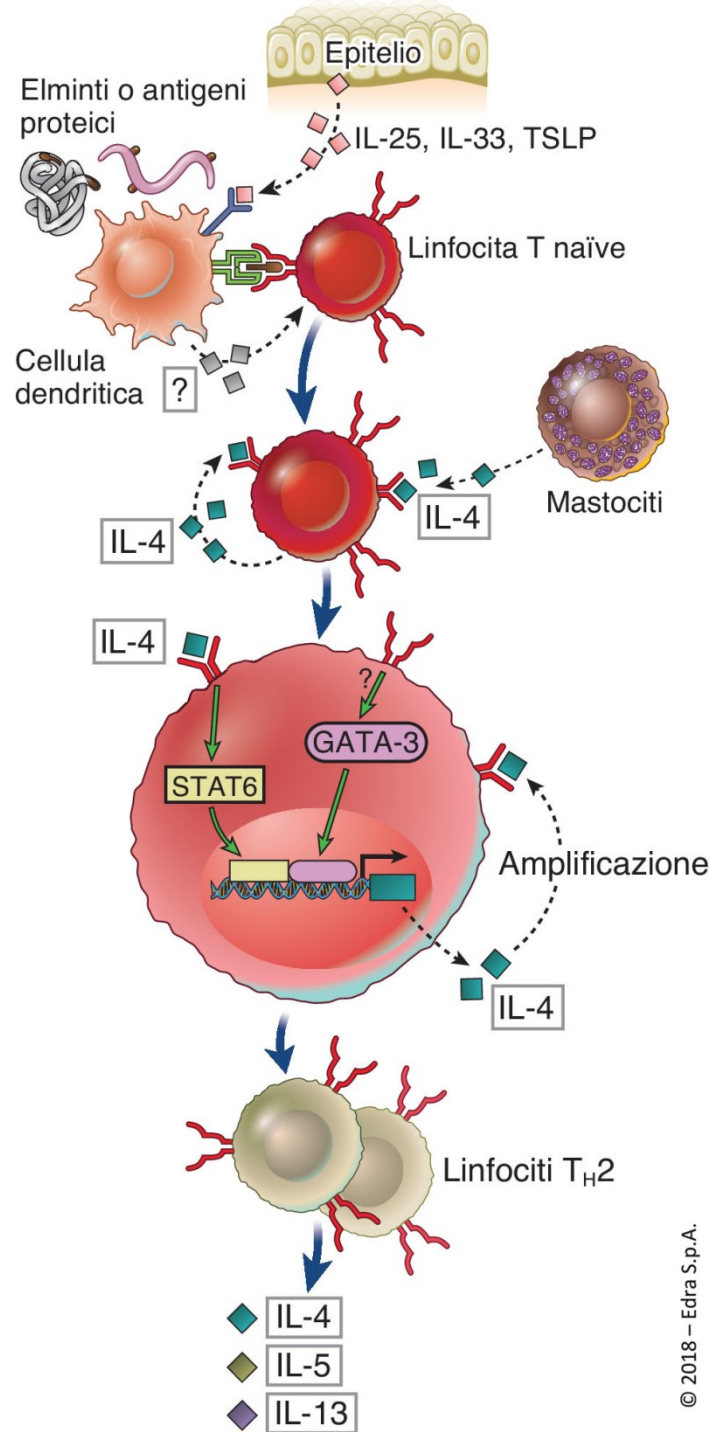
Principali sottopopolazioni di linfociti T

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

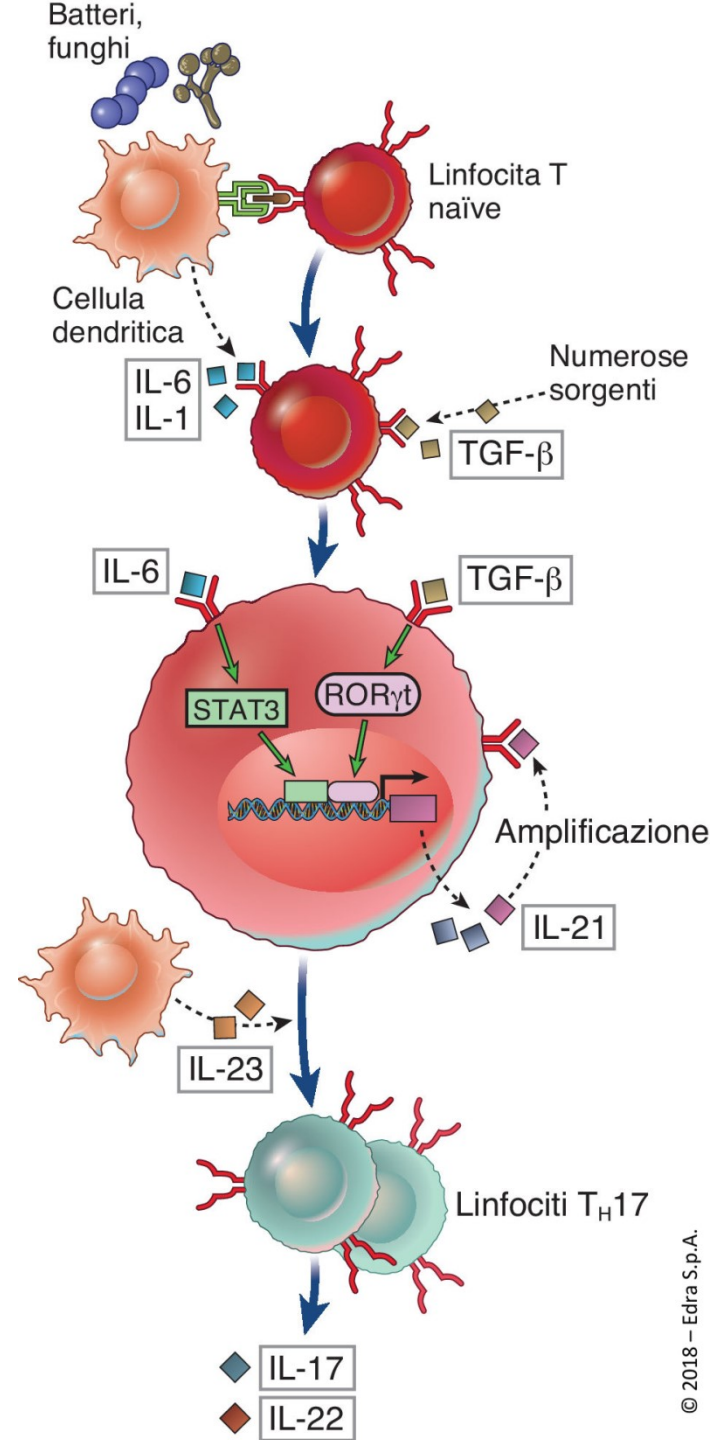
Linfociti Th1



Linfociti Th2

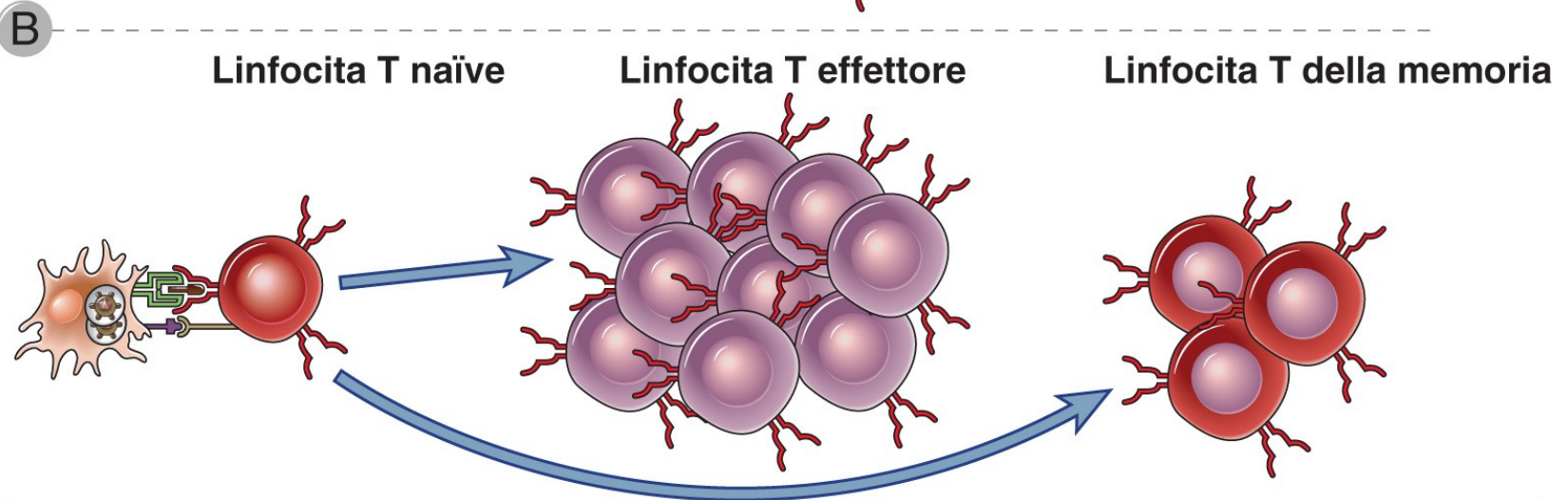
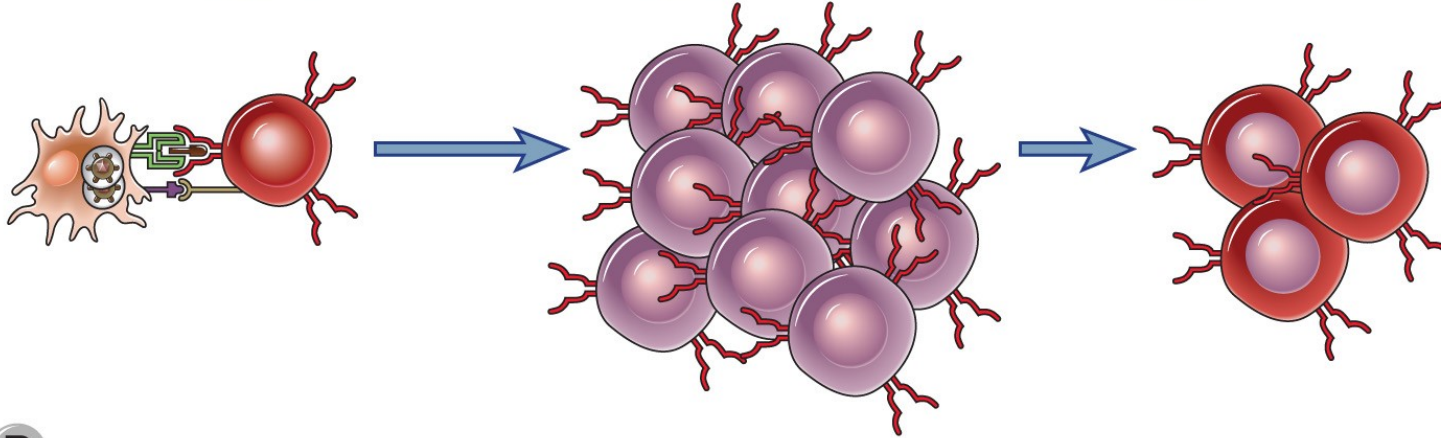


Linfociti Th17



A

Linfocita T naïve	Linfocita T effetore	Linfocita T della memoria
CD45RA ⁺	CD45RO ⁺	CD45RO ⁺
CD25 ^{lo}	CD25 ^{hi}	CD25 ^{lo}
CD127 ^{hi}	CD127 ^{lo}	CD127 ^{hi}
CD44 ^{lo}	CD44 ^{hi}	CD44 ^{hi}



gr19.jpg

Immunologia cellulare e molecolare 7 ed

Sviluppo dei linfociti T della memoria. I linfociti T naïve si differenziano in linfociti effetori e in linfociti della memoria in risposta all'antigene e in presenza di costimolazione. Alcuni marcatori fenotipici caratteristici di queste tre popolazioni sono elencati in A. A. Modello lineare di differenziamento. Secondo questo modello, la maggior parte delle cellule effettrici muore, mentre le poche che sopravvivono si trasformano in linfociti della memoria. B. Modello ramificato di differenziamento. Secondo questo modello, i linfociti effettrici e quelli della memoria seguono un via alternativa a quella dei linfociti T attivati.

Cellule della memoria

- I linfociti T della memoria centrale esprimono CCR7 e L-selectina e si localizzano preferenzialmente a livello linfonodale
- I linfociti T della memoria effettrice si localizzano nelle sedi periferiche, soprattutto tessuti mucosi
- Più della metà dei linfociti T circolanti sono linfociti della memoria in un individuo di oltre 50 anni

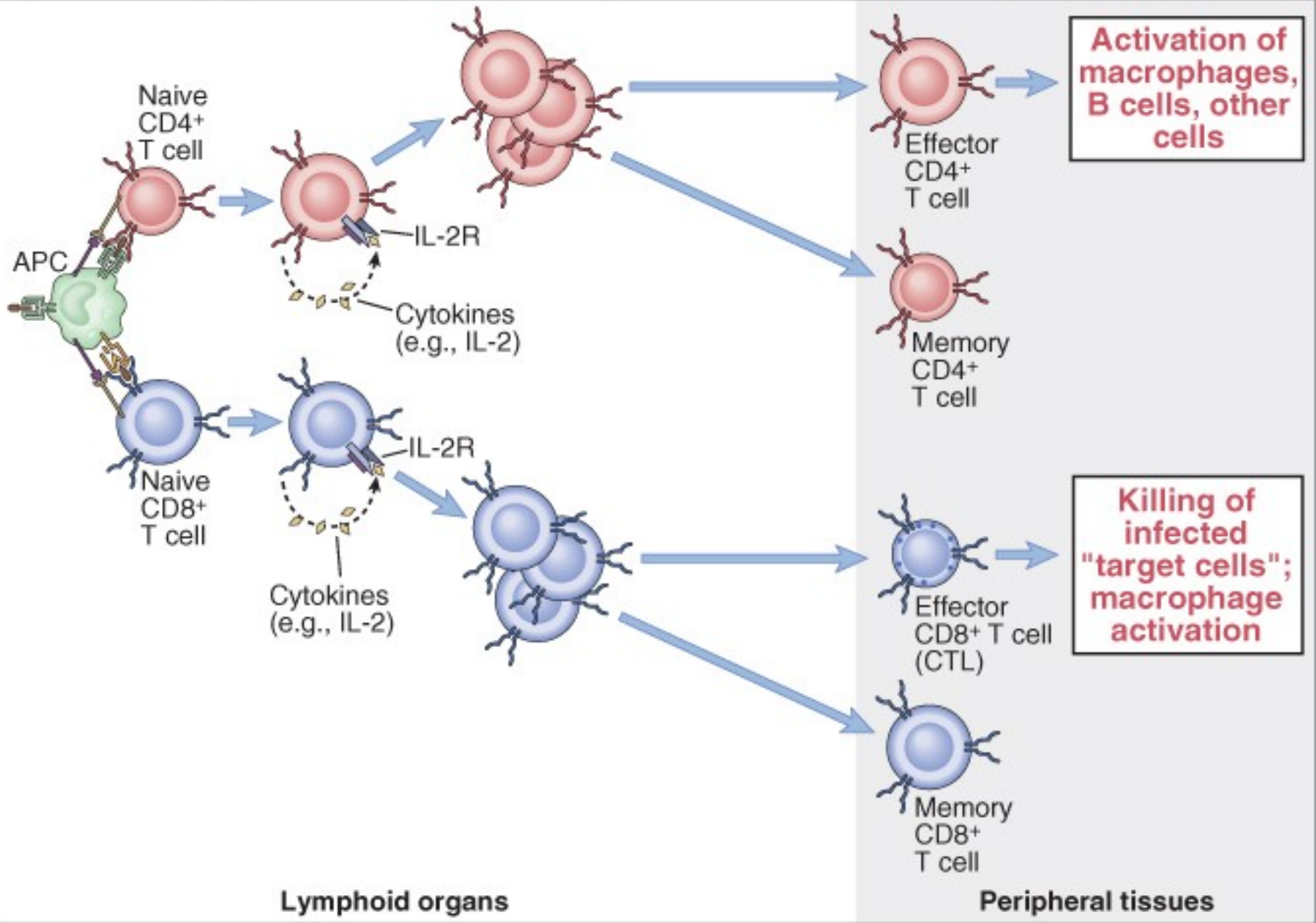
Antigen recognition

Activation

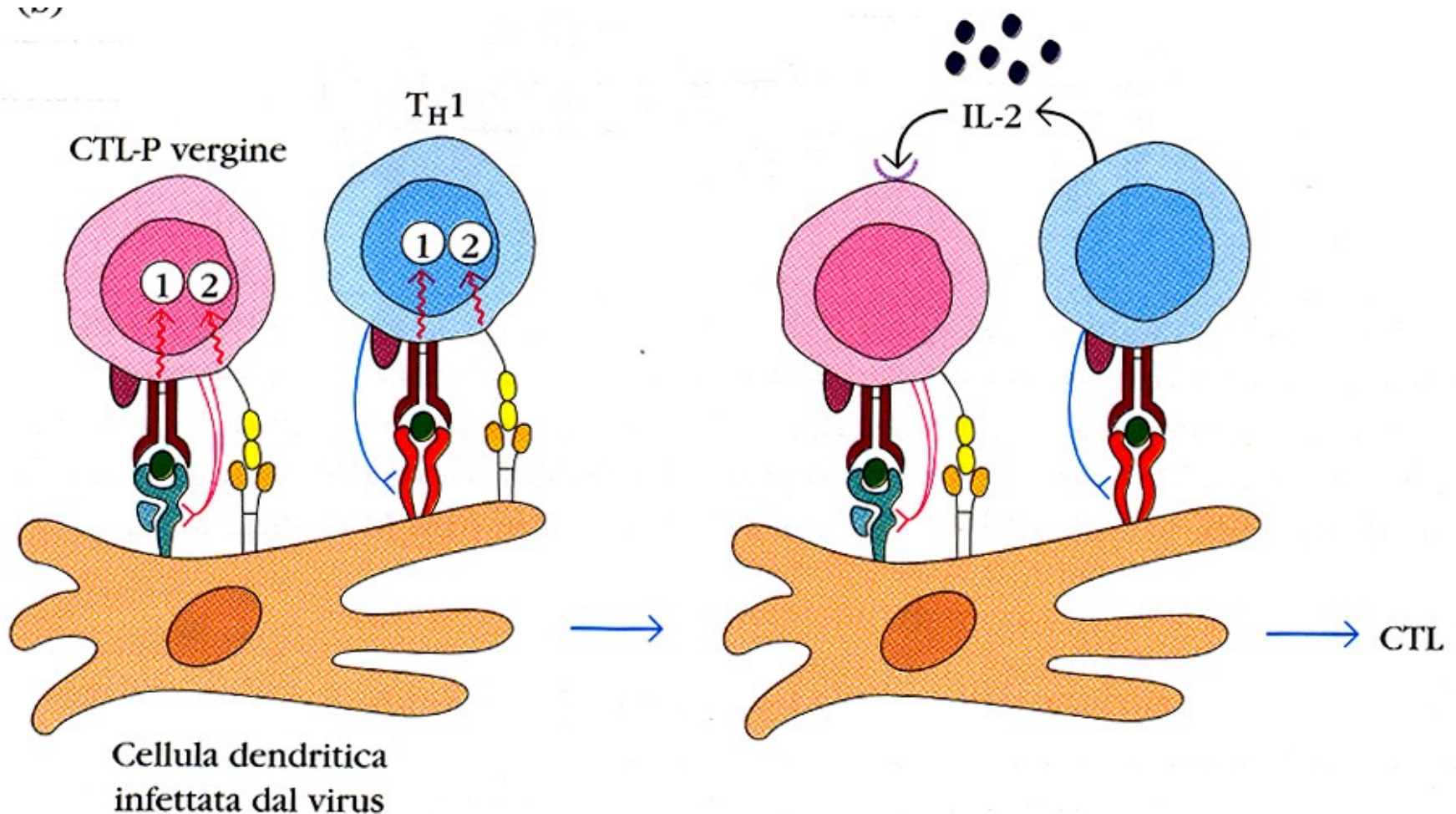
Clonal expansion

Differentiation

Effector functions

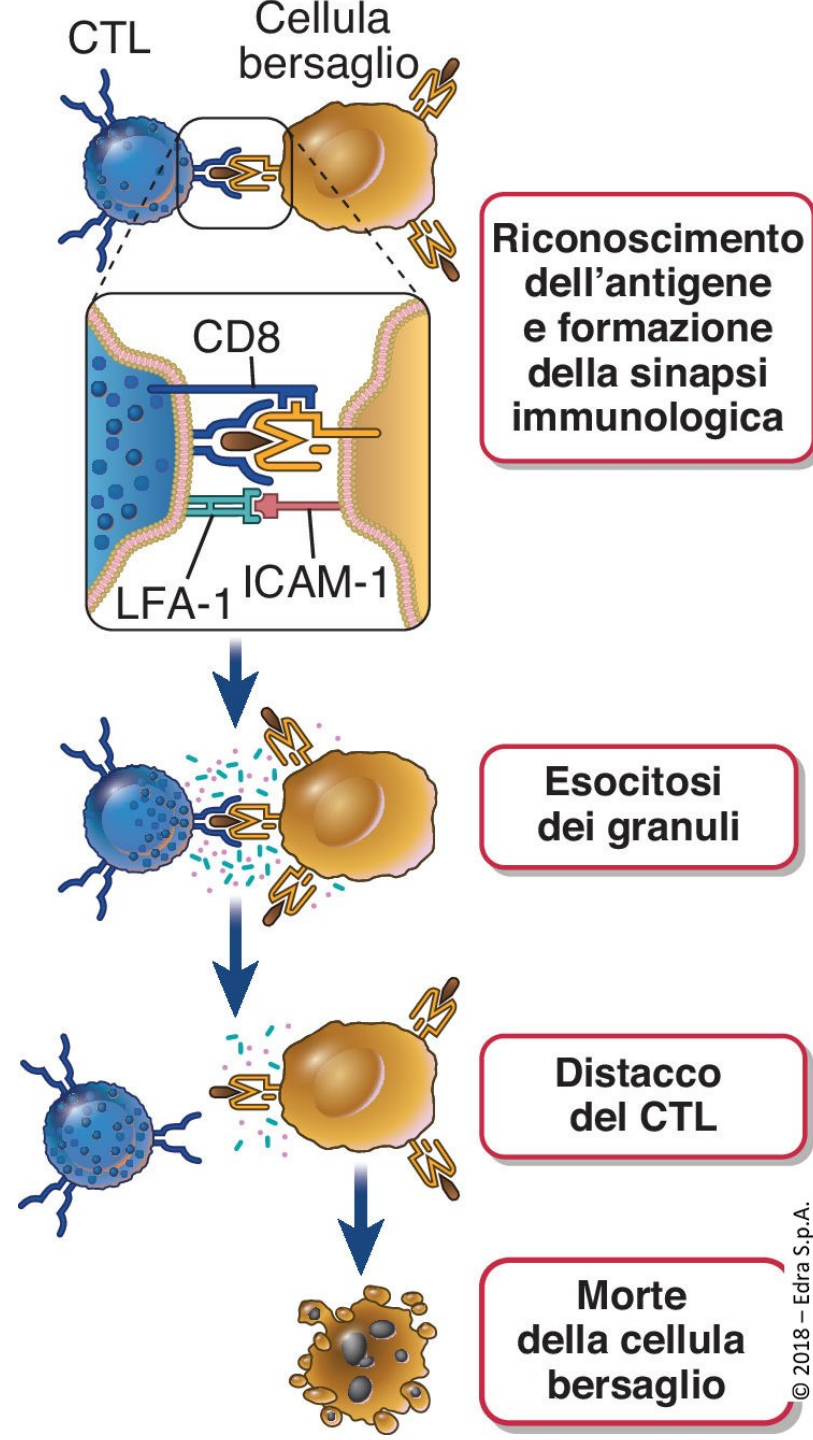


IL2: stimolazione paracrina dei linfociti CD8+

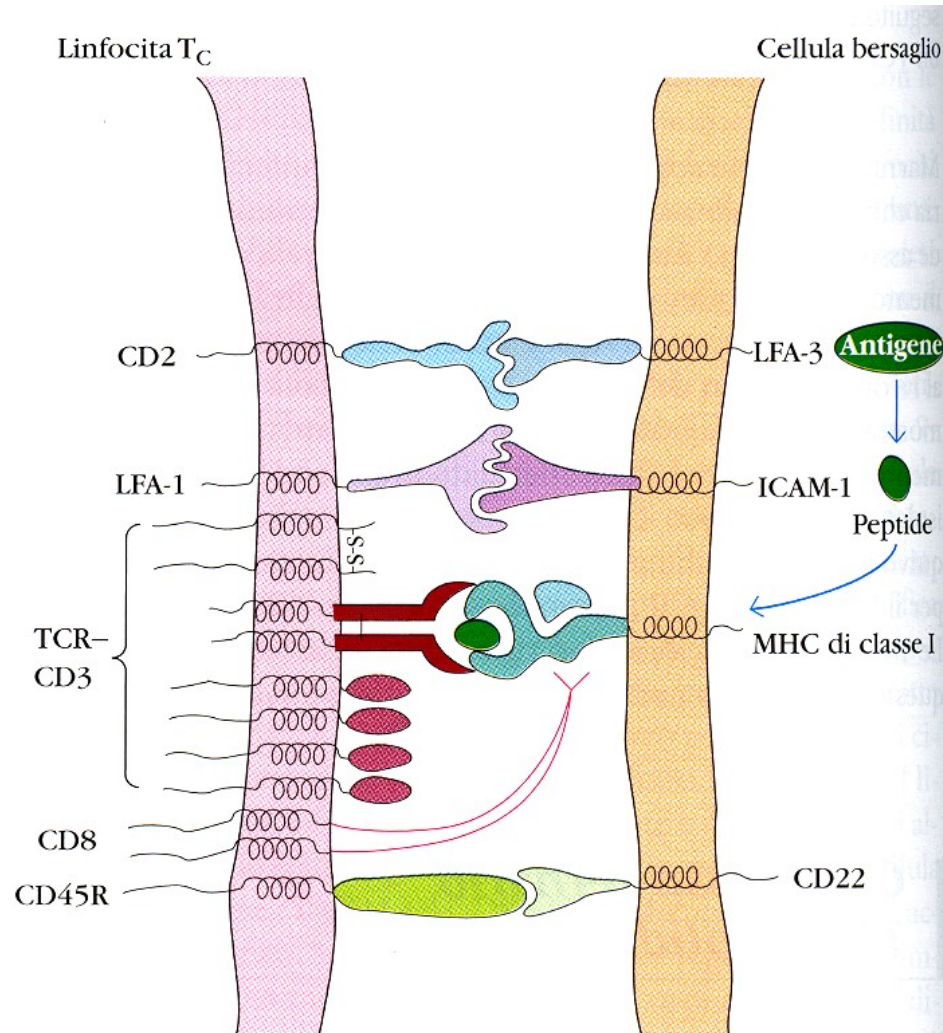


Meccanismi effettori dei linfociti CD8+

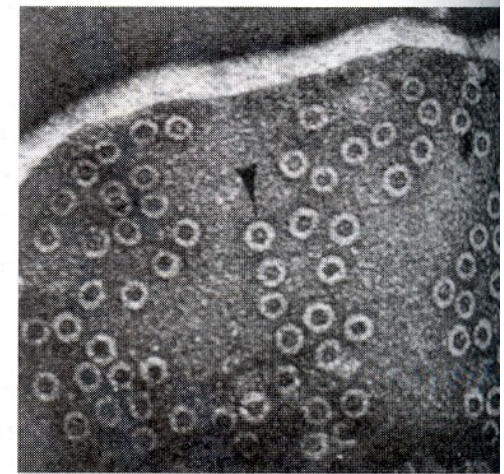
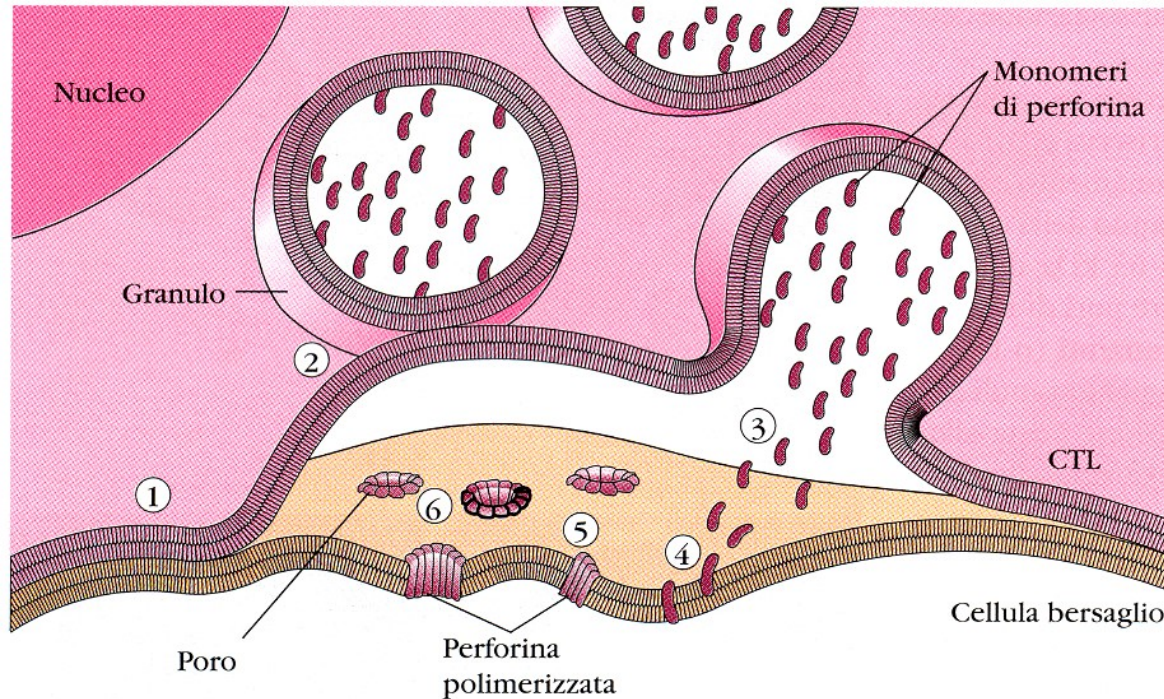
Il linfocita CD8+ effettore
ha il compito di uccidere
le cellule infettate da
virus e le cellule tumorali
mediante la sua attività
citotossica



Riconoscimento specifico della cellula bersaglio da parte del linfocita CD8+



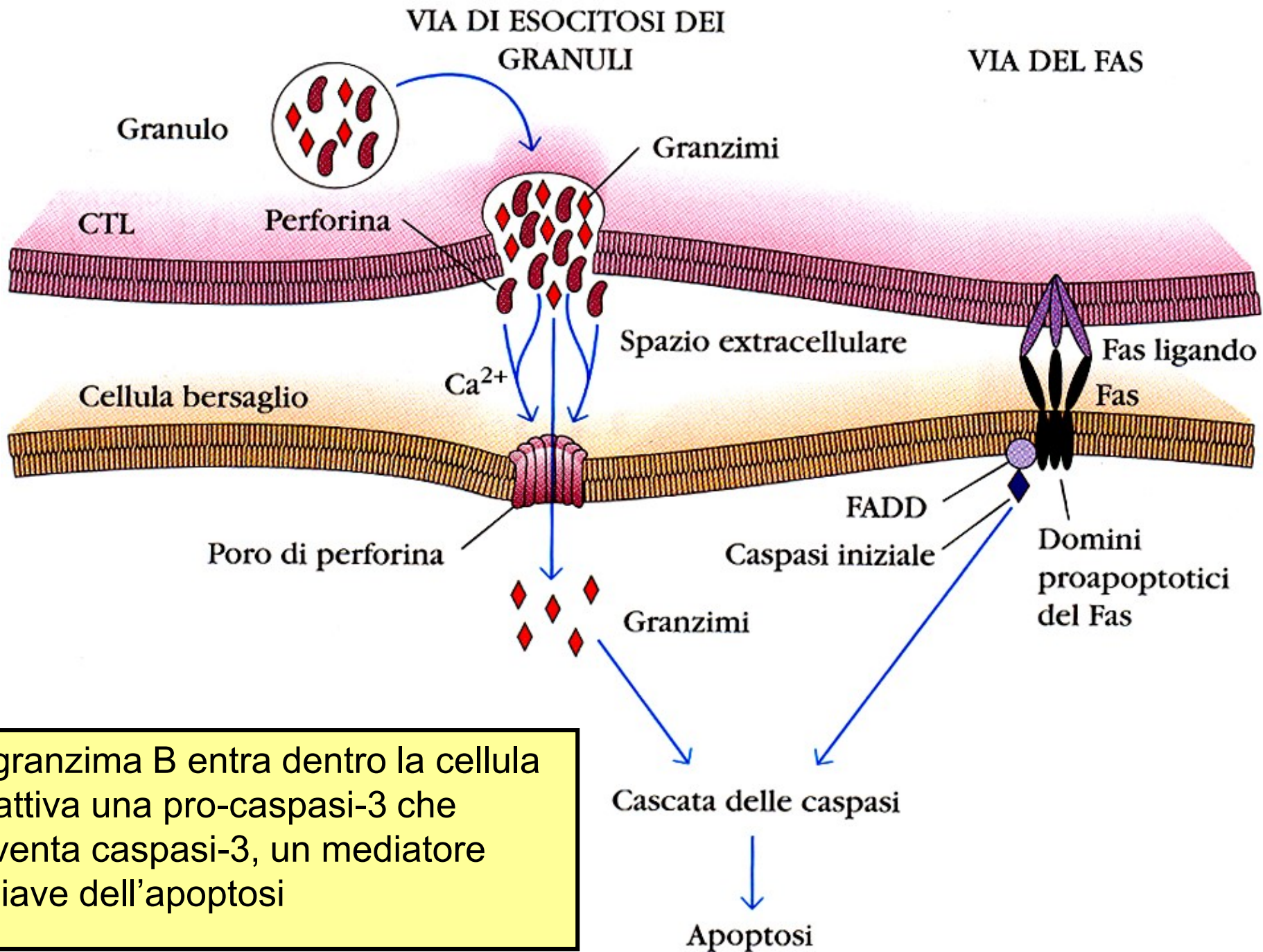
Meccanismi di killing dei CD8+



- La perforina rilasciata dai granuli forma dei multimeri stabili nella membrana della cellula bersaglio creando dei pori transmembrana

Meccanismi di killing dei CD8+

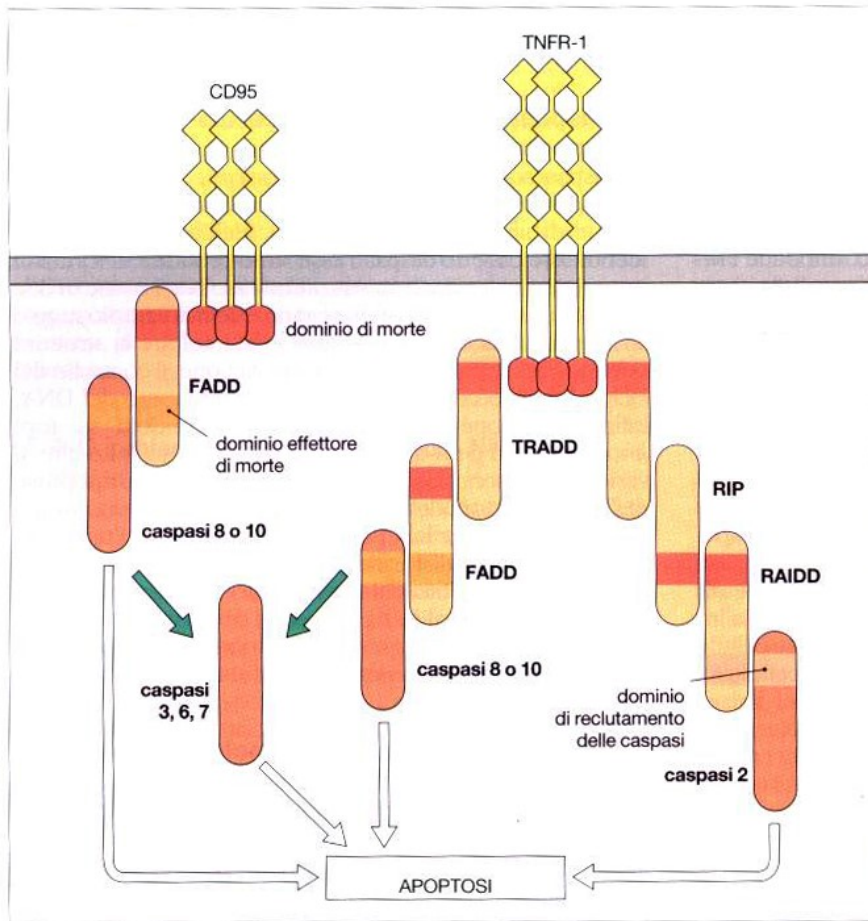
Il linfocita citotossico indurrà la morte per apoptosi della cellula bersaglio tramite la via del FAS e la via di esocitosi dei granuli.



Il granzima B entra dentro la cellula e attiva una pro-caspasi-3 che diventa caspasi-3, un mediatore chiave dell'apoptosi

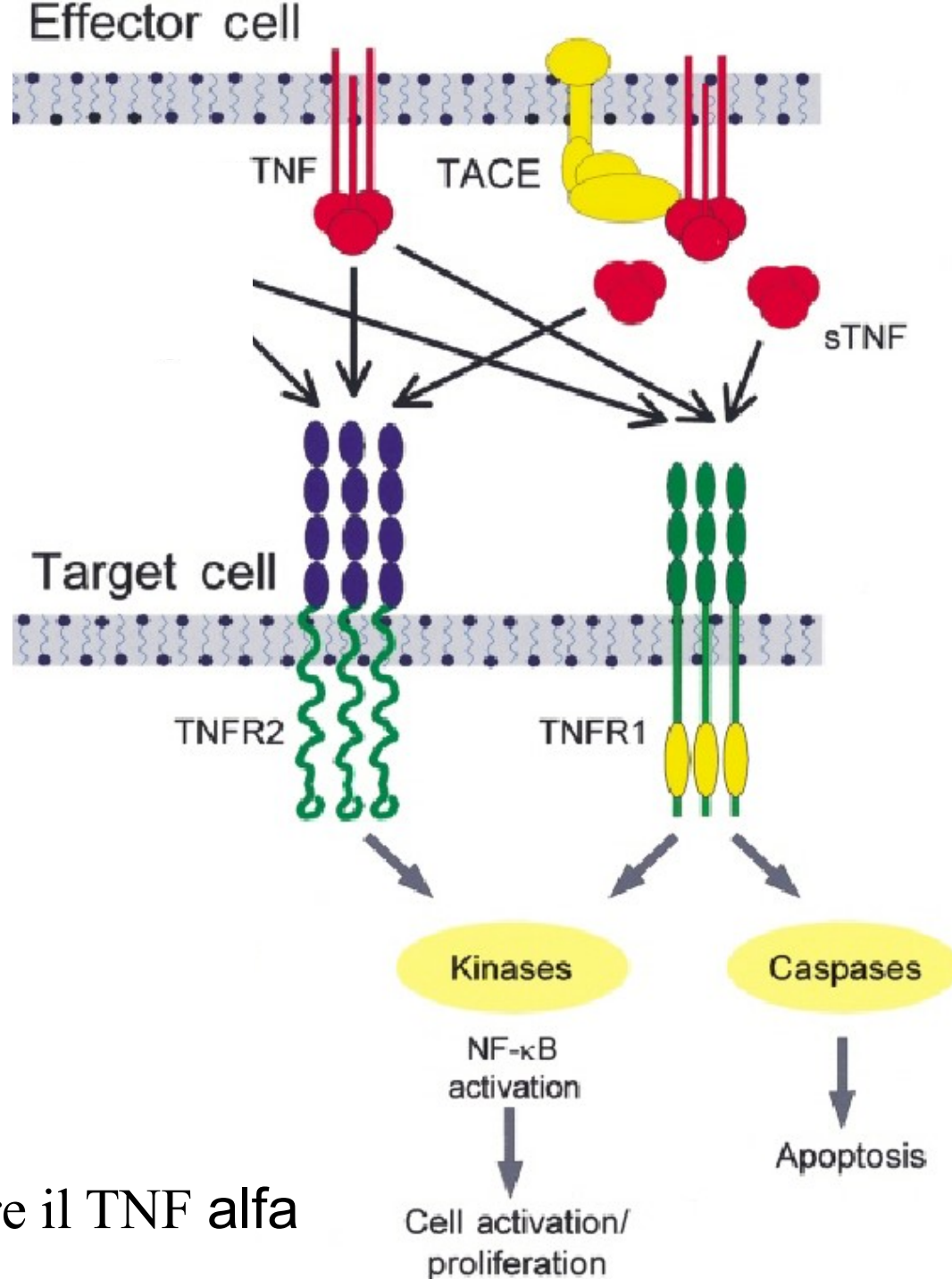
Meccanismi di killing mediante TNF

Meccanismi del *killing* cellulare



Sia le forme solubili di TNF- α e β che quelle legate alla membrana concorrono alla lisi della cellula bersaglio attivando i domini di morte del TNF-R

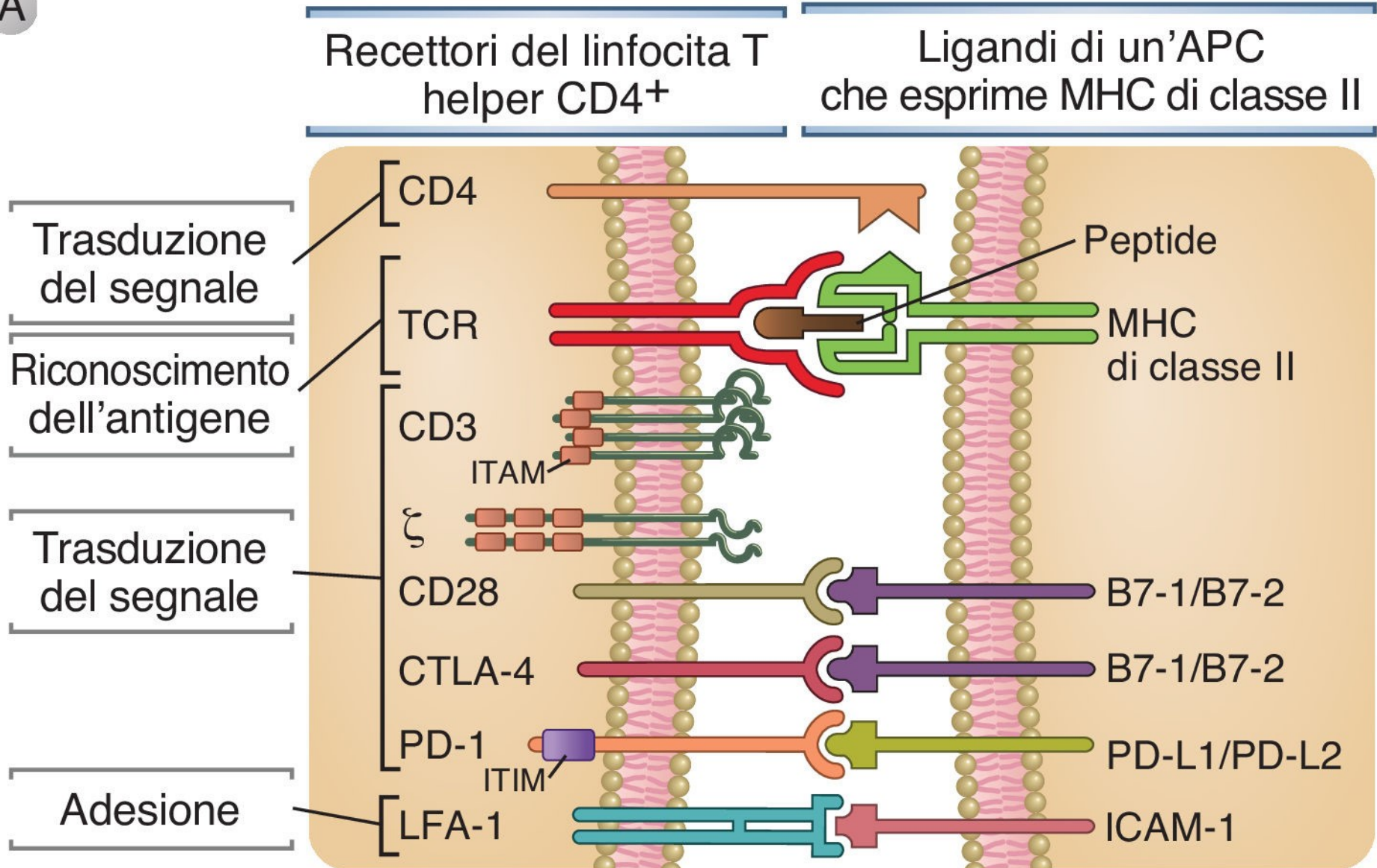
CD4+ e CD8+ producono TNF- α e TNF- β che possono avere azione citotossica per quelle cellule che esprimano sulla loro membrana il TNF-R1



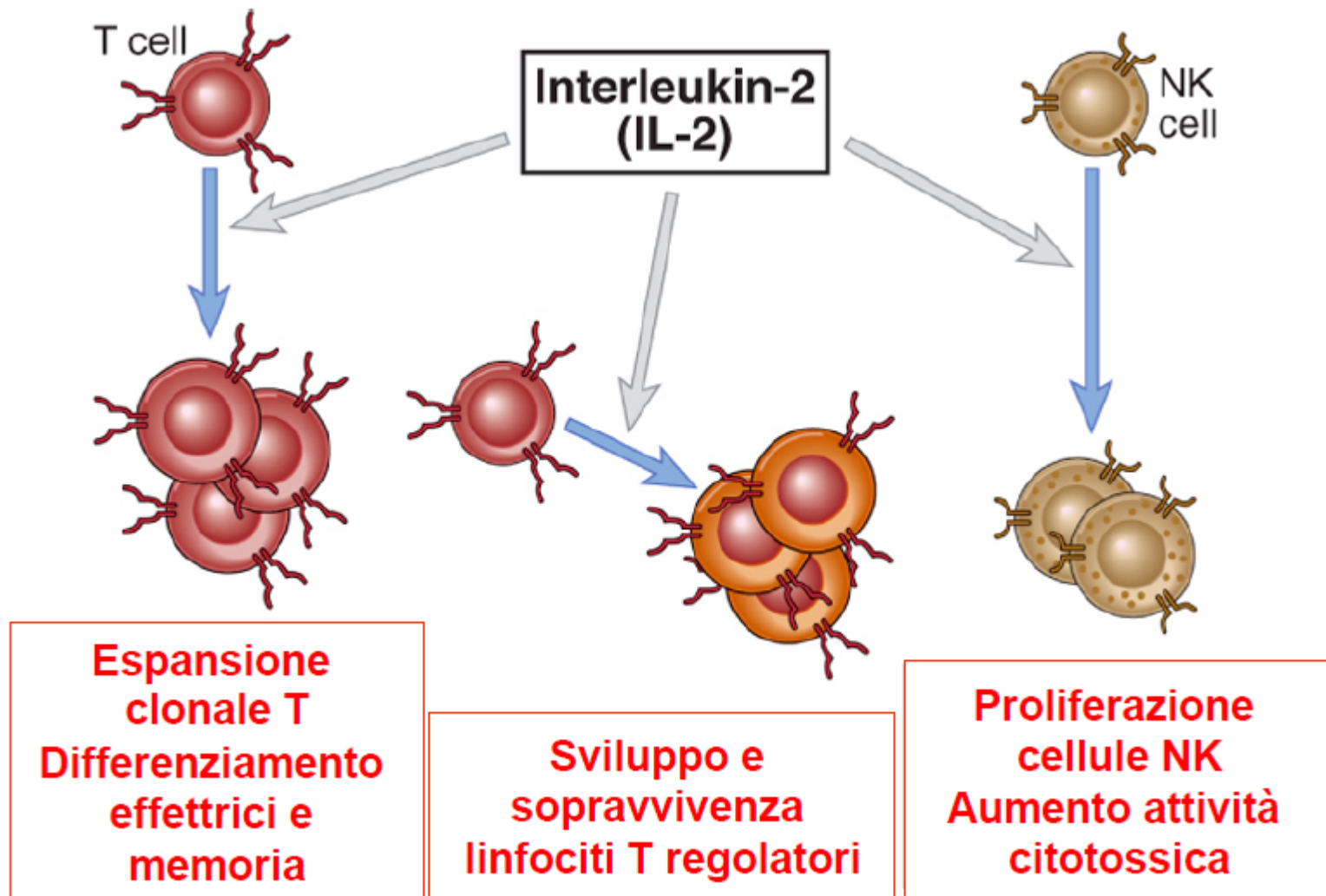
enzima convertitore il TNF alfa

MOLECOLE COINVOLTE NELL'ATTIVAZIONE DEI LINFOCITI T

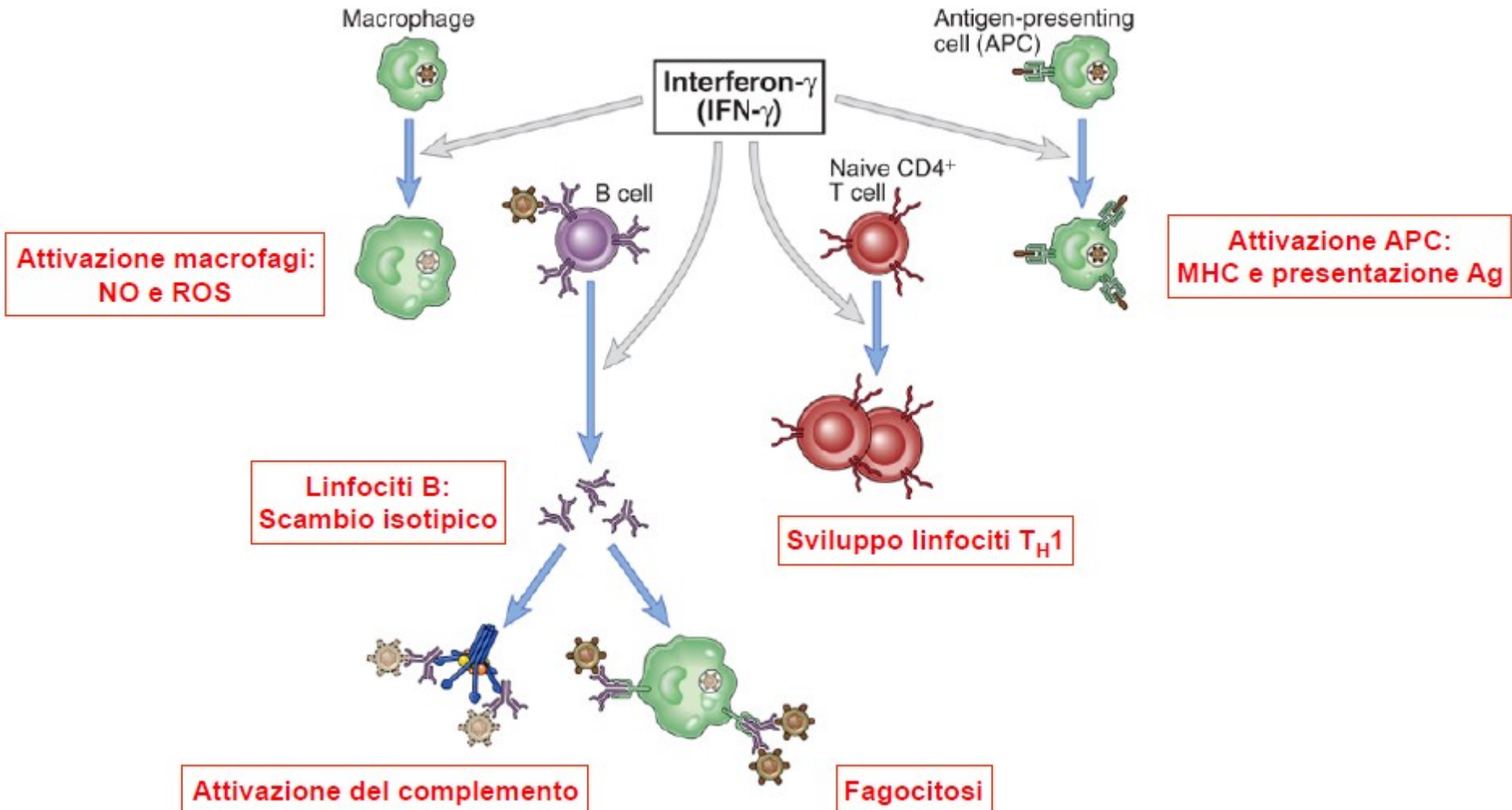
A



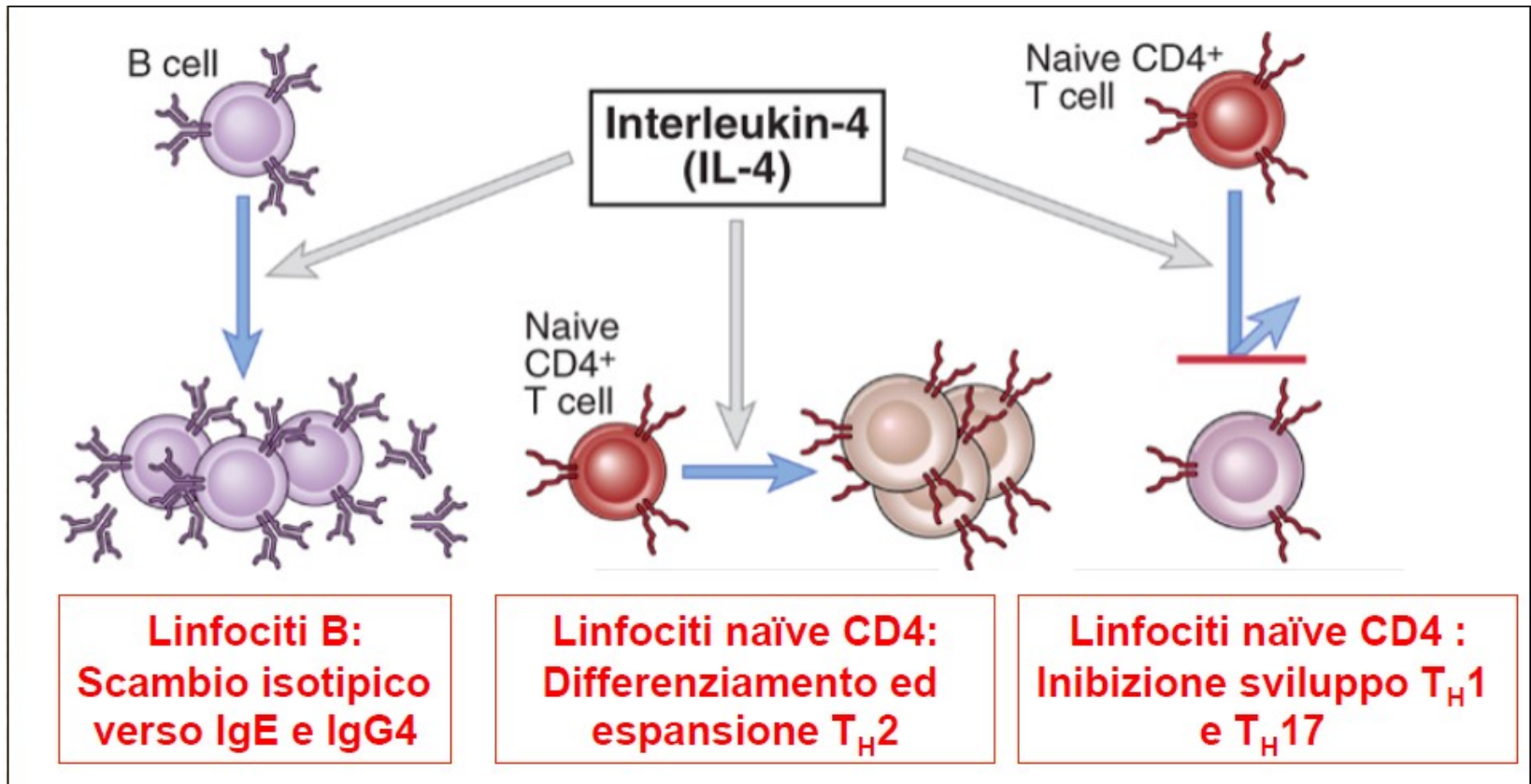
Attività biologiche di IL-2



Attività biologiche di IFN- γ



Attività biologiche di IL-4

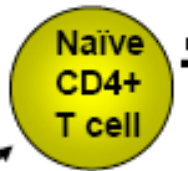


**FUNZIONI EFFETTRICI DEI
LINFOCITI T CD4+**

Regulatory T cells
CD4+CD25+ Foxp3+



IL-10
TGF- β inhibition



IL-12



IL-2
IFN- γ
TNF- α

Cell-mediated immunity
Intracellular pathogens
Immunopathology:
Organ-specific autoimmunity

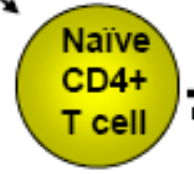


TGF- β
IL-6
IL-23

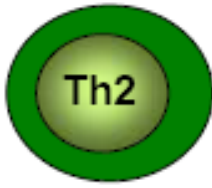


IL-17

Gut bacteria
Immunopathology:
Arthritis



IL-4



IL-4
IL-5
IL-10
IL-13

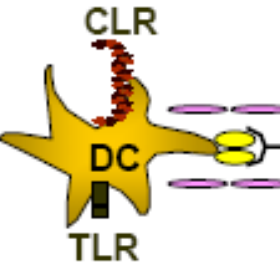
Helminths
Humoral immunity
Immunopathology:
Allergy
Atopy

IL-10
TGF- β inhibition

Regulatory T cells



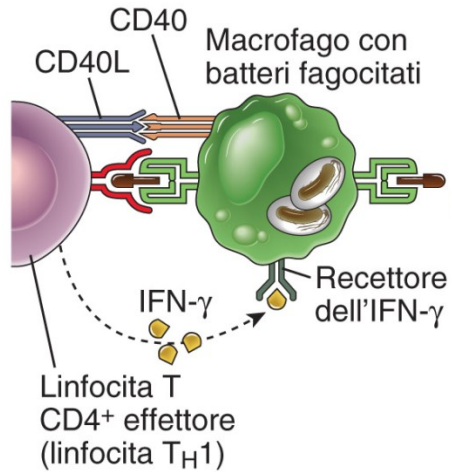
Tumori
Trapianti
Virus
Batteri obbligati intracellulari



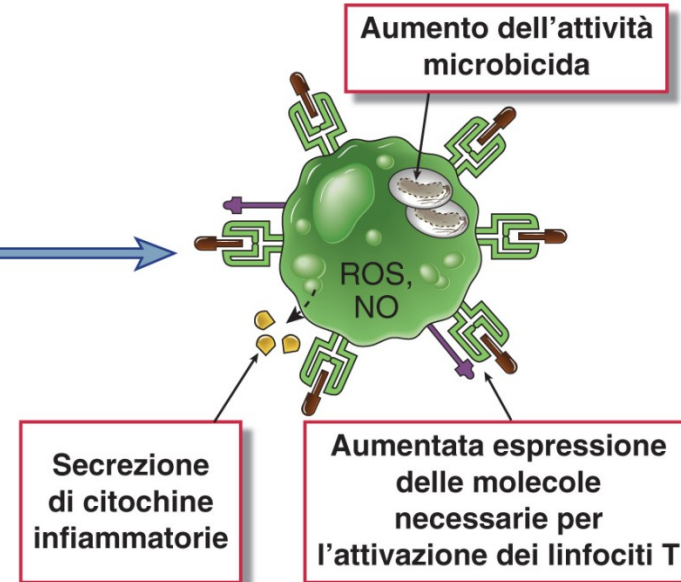
Batteri

A

Attivazione dei macrofagi



Risposte dei macrofagi attivati



B

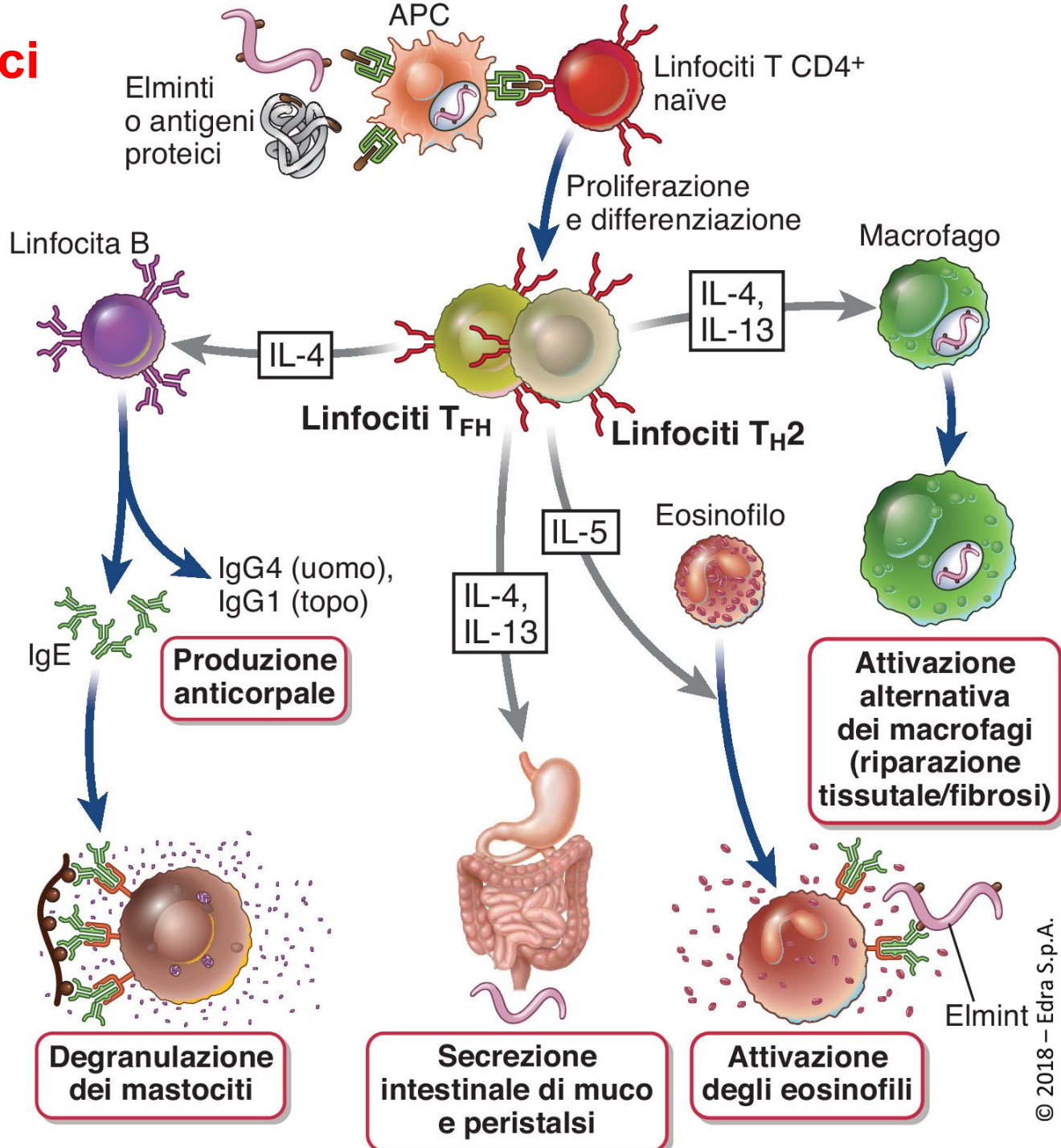
Risposta dei macrofagi	Ruolo nell'immunità cellulo-mediata
Produzione di specie reattive, dell'ossigeno, dell'ossido nitrico, aumento dell'espressione degli enzimi lisosomiali	Uccisione dei microbi nei fagolisosomi (funzione effettrice dei macrofagi)
Secrezione delle citochine (TNF, IL-1, IL-12) e delle chemochine	TNF, IL-1, chemochine: reclutamento dei leucociti (infiammazione) IL-12: differenziazione T _{H1} , produzione dell'IFN- γ
Aumentata espressione delle molecole costimolatorie B7, delle molecole MHC	Aumentata attivazione dei linfociti T (amplificazione della risposta T)

g7.jpg

Immunologia cellulare e molecolare 7 ed

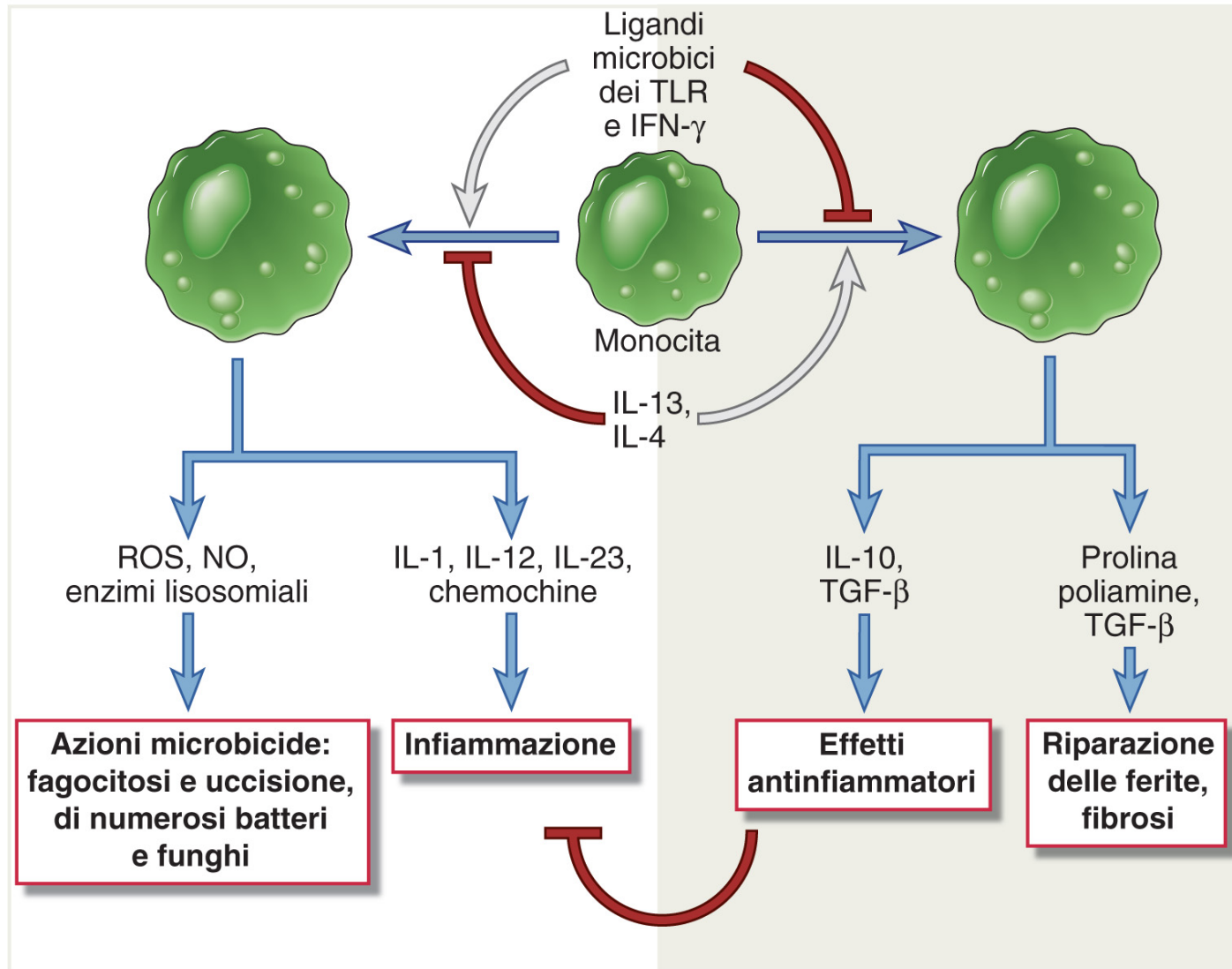
Attivazione dei macrofagi da parte dei linfociti T_{CD4}⁺H1/sub>1. (b)A/c/b). Una volta attivati dall'IFN- γ gamma, prodotto dai linfociti T_{CD4}⁺H1/sub>1 e dalle interazioni CD40L/CD40, i macrofagi svolgono numerose funzioni che mirano all'eliminazione dei microorganismi, stimolano inoltre l'infiammazione e potenziano la capacità di presentare l'antigene. (b)B/c/b). Nella tabella sono elencate le principali molecole che mediano le funzioni dei macrofagi. I macrofagi vengono inoltre attivati a eseguire le stesse funzioni durante le risposte innate (vedi Cap. 4).

Funzioni effettrici dei linfociti Th2



Attivazione classica dei macrofagi (M1)

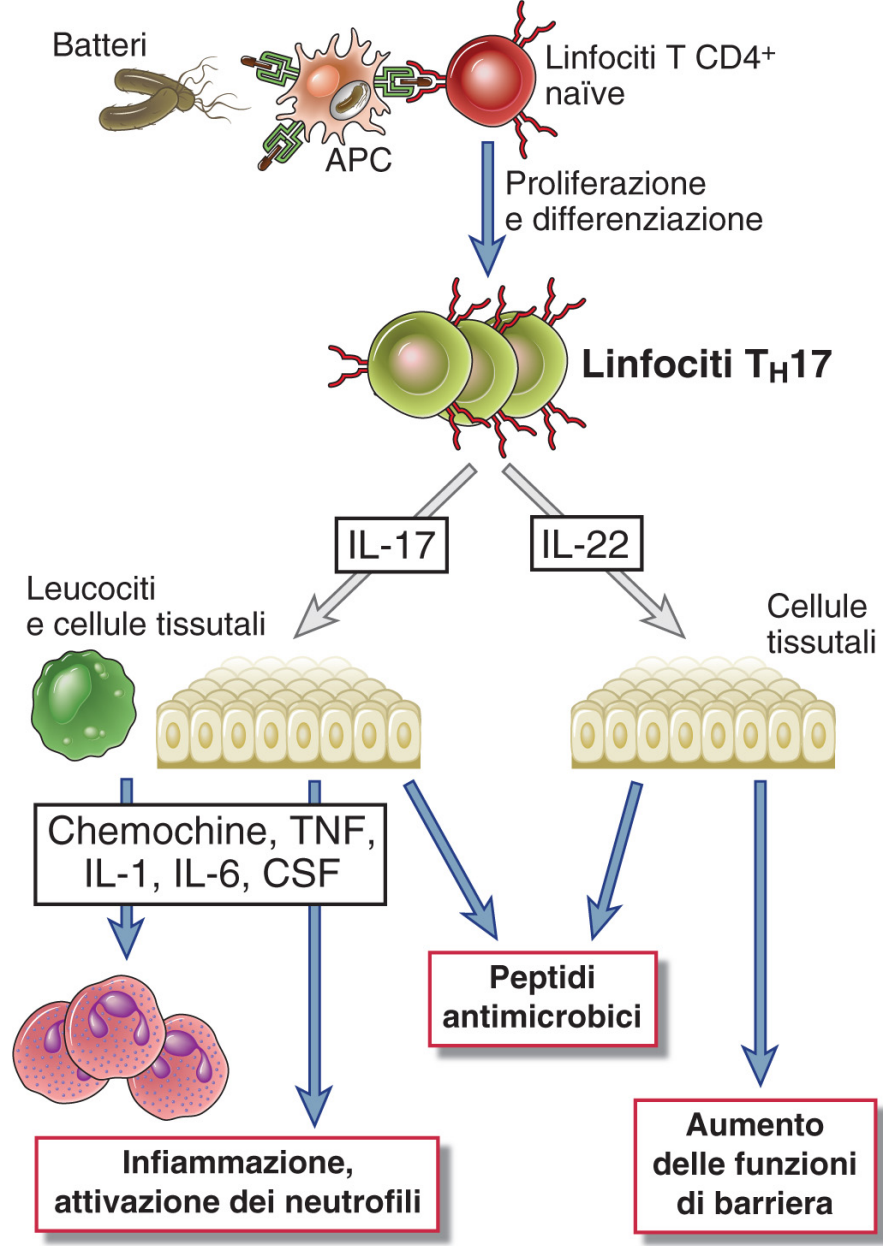
Attivazione alternativa dei macrofagi (M2)



g9.jpg

Immunologia cellulare e molecolare 7 ed

Attivazione classica e alternativa dei macrofagi. Differenti stimoli attivano i monociti-macrofagi a differenziarsi in sottopopolazioni funzionalmente distinte. I macrofagi sono attivati in modo "classico" dai componenti microbici e dalle citochine (in particolare l'IFN- γ), assumendo la capacità microbicida ma venendo anche coinvolti in processi infiammatori potenzialmente dannosi. L'IL-4 e l'IL-13 prodotte dai linfociti T_H2 e da altri leucociti inducono invece l'attivazione "alternativa" dei macrofagi, che è importante per la riparazione dei tessuti ed è coinvolta nei processi fibrotici.



gr10.jpg


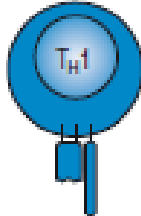
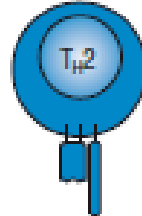
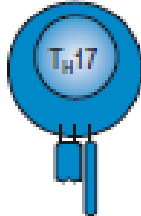
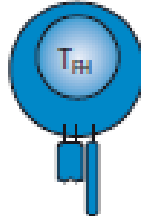
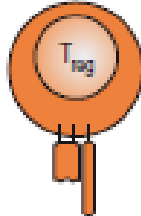
Immunologia cellulare e molecolare 7 ed

Funzione dei linfociti T_H17. Le citochine prodotte dai linfociti T_H17 promuovono localmente l'infiammazione, migliorano la funzione della barriera epiteliale e promuovono la produzione di chemochine e di peptidi antimicrobici (defensine).









Th17

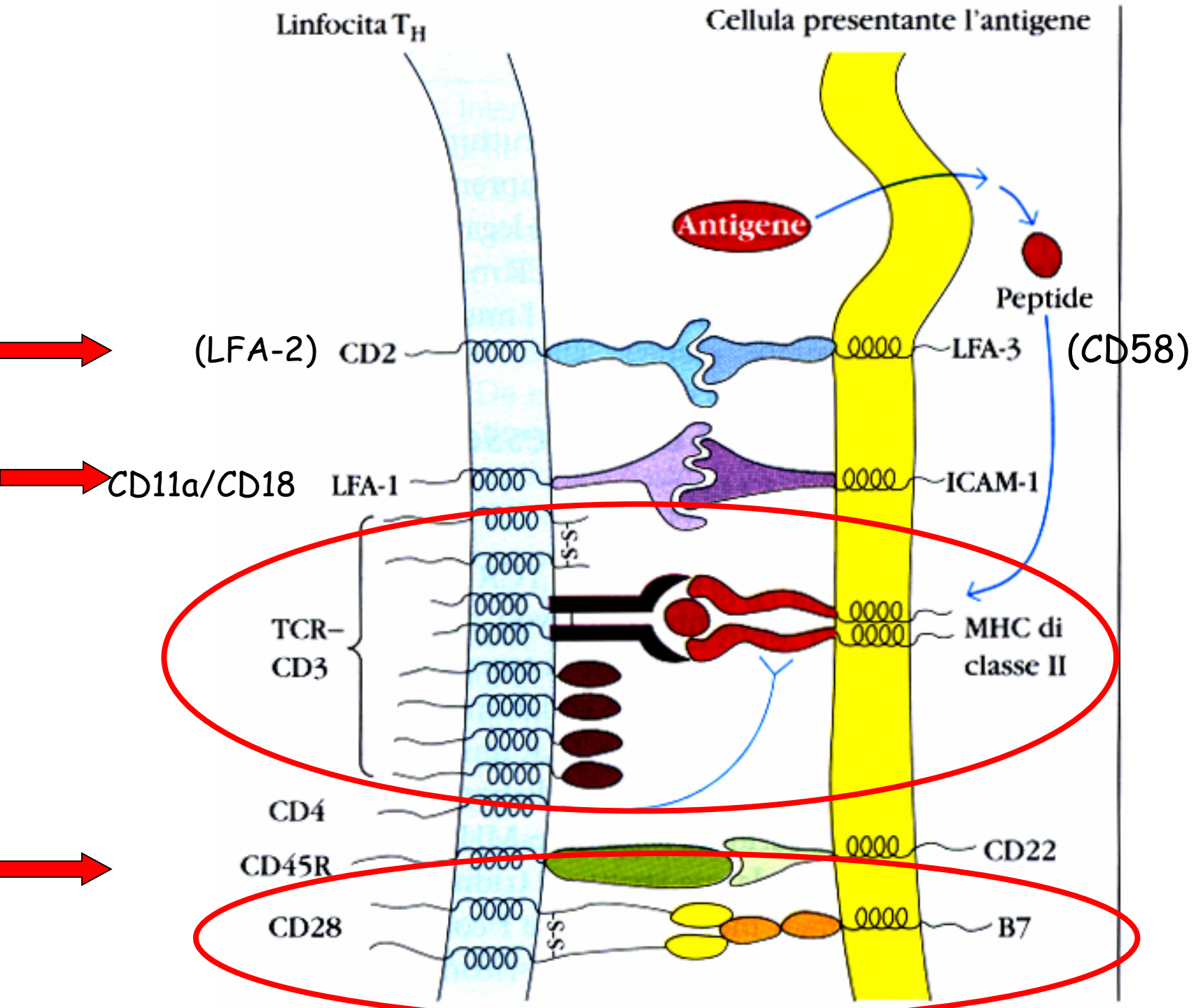
- particolarmente abbondanti nelle mucose, specialmente tratto gastrointestinale (TGF β)
- coinvolti nella patogenesi di:
 - psoriasi
 - malattia infiammatoria intestinale
 - artrite reumatoide
 - sclerosi multipla

Ruolo delle cellule T effettrici nelle risposte cellulo-mediate e umorali

	Cellule T CD8 citotossiche	Cellule CD4 T _H 1	Cellule CD4 T _H 2	Cellule CD4 T _H 17	T _{FH} cells	Cellule T CD4 regolatorie (vari tipi)
Tipi di cellule T effettrici						
Funzioni principali nella risposta immunitaria acquisita	Uccidono le cellule infettate da virus	Attivano i macrofagi infettati Forniscono aiuto alle cellule B per la produzione di anticorpi	Forniscono aiuto alle cellule B per la produzione di anticorpi, specialmente IgE	Aumentano la risposta dei neutrofili	Forniscono aiuto alle cellule B: scambio isotipico, produzione anticorpale	Sopprimono le risposte delle cellule T
Patogeni	Virus (per esempio, influenza, rabbia, vaiolo) Alcuni batteri intracellulari	Microbi che persistono nelle vescicole del macrofago (per esempio micobatteri, <i>Listeria</i> , <i>Leishmania donovani</i> , <i>Pneumocystis carinii</i>) Batteri extracellulari	Elminti parassiti	Batteri extracellulari (per esempio, <i>Salmonella enterica</i>)	Tutti i tipi	

Interazioni molecolari presenti tra Linfocita T e APC

Molecole del linfocita T	Funzione	Ligando	
		Nome	Espresso da
CD28 	Trasduzione del segnale (costimolazione)	B7-1/B7-2 	Cellule che presentano l'antigene
CTLA-4 	Inibizione	B7-1/B7-2 	Cellule che presentano l'antigene
PD-1 	Inibizione	PD-L1/PD-L2 	Cellule che presentano l'antigen cellule tissutali, cellule tumorali
LFA-1 	Adesione	ICAM-1 	Cellule che presentano l'antigene, endotelio



T Cell Receptor (TCR) activation promotes a number of signaling cascades that ultimately determine cell fate through regulating cytokine production, cell survival, proliferation, and differentiation. An early event in TCR activation is phosphorylation of immunoreceptor tyrosine-based activation motifs (ITAMs) on the cytosolic side of the TCR/CD3 complex by lymphocyte protein tyrosine kinase (Lck). **The CD45 receptor tyrosine phosphatase modulates the phosphorylation and activation of Lck and other Src family tyrosine kinases.** Zeta-chain associated protein kinase (Zap-70) is recruited to the TCR/CD3 complex where it becomes activated, promoting recruitment and phosphorylation of downstream adaptor or scaffold proteins. Phosphorylation of SLP-76 by Zap-70 promotes recruitment of Vav (a guanine nucleotide exchange factor), the adaptor proteins NCK and GADS, and an inducible T cell kinase (Itk). **Phosphorylation of phospholipase C γ 1 (PLC γ 1) by Itk results in the hydrolysis of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP2) to produce the second messengers diacylglycerol (DAG) and inositol trisphosphate (IP3).** DAG activates PKC θ and the MAPK/Erk pathways, both promoting transcription factor NF- κ B activation. IP3 triggers the release of Ca²⁺ from the ER, which promotes entry of extracellular Ca²⁺ into cells through calcium release-activated Ca²⁺ (CRAC) channels. Calcium-bound calmodulin (Ca²⁺/CaM) activates the phosphatase calcineurin, which promotes IL-2 gene transcription through the transcription factor NFAT. Feedback regulation at several points within these pathways allows for different outcomes, depending on the cell type and environment. The incorporation of signals from additional cell surface receptors (such as CD28 or LFA-1) further regulates cellular response.