

MeB – Pagine Elettroniche

Volume III

Novembre 2000

numero 9

IL PUNTO SU

Il sistema immune

Giorgio Bartolozzi

Lo sviluppo dei linfociti e della linea mieloide dalla cellula primordiale staminale, a livello prima del fegato fetale e poi del midollo osseo è guidato dall'interazione con le cellule stromali (fra le quali i fibroblasti) e dalle citochine, che includono il fattore delle cellule staminali e i vari fattori stimolanti le colonie.

Gli stadi iniziali dello sviluppo dei linfociti non richiedono la presenza di un antigene, ma, siccome queste cellule esprimono un recettore maturo per l'antigene, la loro sopravvivenza e la loro ulteriore differenziazione sono antigene-dipendenti.

LA STRUTTURA DELLE MOLECOLE ANTIGENE-SPECIFICHE

Di seguito verranno espresse le caratteristiche dei recettori delle cellule B e delle cellule T e le diversità che caratterizzano questi recettori.

RECETTORE DELLA CELLULA B E ANTICORPI SOLUBILI

Dai classici lavori di Edelman (Edelman GM, 1973) sappiamo che un anticorpo è costituito da due **catene pesanti** e da due **catene leggere**, legate fra loro da ponti disolfuro. Il terminale N di ciascuna molecola possiede una parte variabile che

si lega all'antigene, attraverso 3 regioni ipervariabili ad esso complementari. Le parti terminali C sia delle catene pesanti che della catene leggere formano le regioni costanti, grossolanamente uguali in tutti gli anticorpi, sulla base della cui struttura si riconoscono la classe e la sottoclasse dell'anticorpo e le catene leggere che caratterizzano il tipo k o l.

La sequenza degli aminoacidi della regione costante delle catene pesanti permette il riconoscimento di **5 classi di immunoglobuline**: la classe IgG, la IgA, la IgM, la IgD e la IgE. La classe IgG si suddivide a sua volta in 4 sottoclassi: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, mentre le IgA si suddividono in 2 sottoclassi.

Queste classi e sottoclassi hanno, come si sa, una diversa funzione.

Ogni tipo di anticorpo può essere prodotto secondo due modalità:

a) come anticorpo circolante

b) come anticorpo fisso. Questo tipo di molecola possiede una sequenza idrofobica transmembrana, che ancora la molecola alla superficie della cellula B, dove funziona come recettore della stessa cellula B

L'unità monomerica basale dell'anticorpo è bivalente (e quindi può essere considerata come un tetramero, in questo simile alla molecola dell'emoglobina), con due bracci per legarsi all'antigene di identica specificità. Ognuno di questi bracci può essere rotto in laboratorio attraverso un processo proteolitico, per dar luogo a singoli frammenti (**Fab**) monovalenti, leganti l'antigene (Vedi Figura n.4).

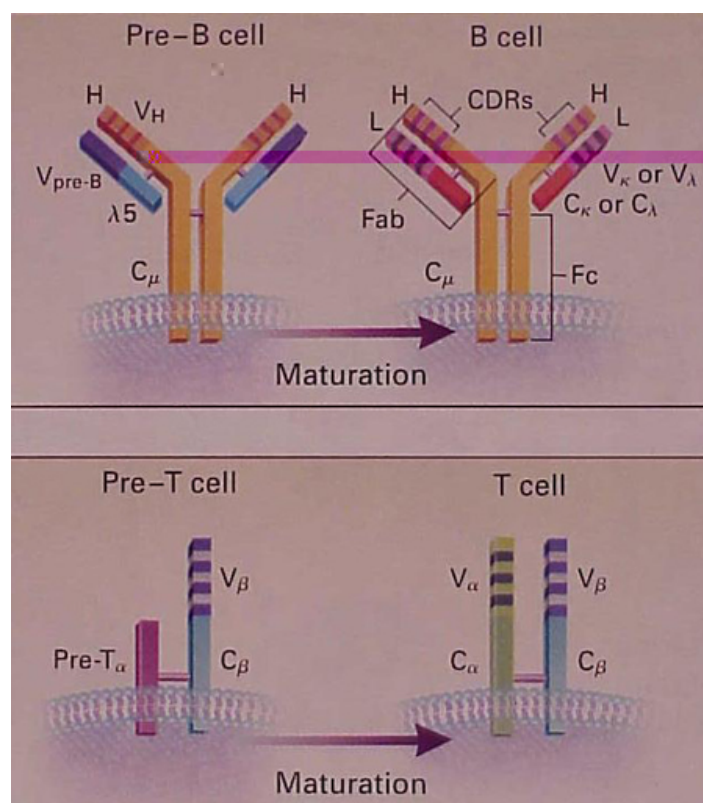


Figura n.4 – Struttura della cellula B immatura e matura e dei recettori per l'antigene della cellula T

Le cellule immature pre-B e pre-T esprimono le versioni preliminari del recettore per l'antigene.

A questo stadio i recettori della cellula B sono formati da un paio di catene pesanti (H), ognuna con una porzione variabile (V) e una porzione costante (C_μ), identiche a quelle che si trovano nel recettore maturo, e un paio di catene leggere abbozzate, chiamate V_{pre-B} e λ5. Quando la cellula B si sviluppa, le catene leggere abbozzate sono rimpiazzate da catene leggere regolari (L), del tipo κ o λ, ognuna di esse con una regione variabile e una regione costante.

Queste molecole mature della classe IgM agiscono come recettori della cellula B per l'antigene, usualmente insieme con i recettori IgD della cellula B con la stessa specificità antigenica. Le regioni variabili delle catene pesanti e leggere contengono ognuna 3 regioni ipervariabili (CDRs). Queste regioni ipervariabili entrano in contatto con l'antigene.

La versione circolante dell'anticorpo è formata dalle stesse 4 catene, ma manca la sequenza transmembrana che ancora la molecola, funzionante come recettore, sulla superficie della cellula B.

Un'altra parte della molecola delle immunoglobuline, la **regione Fc**, contiene la maggior parte della regione costante delle catene pesanti.

Le IgA secretorie, a livello delle superficie mucose, sono un dimero tetraivalente, mentre le IgM circolanti sono un pentamero decaivalente. I polimeri IgA e IgM sono stabilizzati dalla catene J. Le IgA secretorie contengono una molecola, detta componente secretorio, che protegge le IgA se-

cretorie dalla rottura proteolitica all'interno dell'apparato gastro-intestinale.

RECETTORE DELLA CELLULA T

A differenza degli anticorpi, i recettori della cellula T sono rappresentati solo dalle molecole transmembrana. Essi consistono di eterodimeri α/β o γ/δ: ogni catena α, β, γ e δ contiene una parte variabile e una parte costante.

Come nella molecola di anticorpo, la parte variabile contiene 3 regioni complementari (**Vedi Figura 4**), che nel caso del recettore della cellula T α/β riconosce un complesso formato da un peptide sistemato nella «fessura» di una molecola MHC.

La maggior parte delle cellule T γ/δ non riconoscono l'antigene nella forma di complessi peptide-MHC, sebbene le molecole MHC-simili (MHC non classico) come il CD1 possano presentare alcuni antigeni (particolarmente lipidi e glicolipidi) ad alcune cellule T γ/δ. Altre cellule T γ/δ riconoscono l'antigene direttamente, proprio come una molecola di anticorpo.

LA DIVERSITÀ DEI RECETTORI DELL'ANTIGENE

E' stato calcolato che i linfociti B siano teoricamente capaci di produrre circa 10 alla quindicesima (un milione di miliardi) diversità nelle regioni variabili degli anticorpi e i linfociti T un numero analogo di regioni variabili dei recettori. E' da sottolineare che la grandissima diversità del repertorio immunitario origina da meno di 400 geni. Questa straordinaria opera deriva da un unico processo di ricombinazione, che taglia, aggiunge e modifica i geni della regione variabile.

I componenti genetici che codificano le immunoglobuline si trovano in 3 cromosomi:

- il raggruppamento IGH delle catene pesanti si trova sul cromosoma 14
- il raggruppamento IGK delle catene leggere k, localizzato sul cromosoma 2
- e il raggruppamento IGL delle catene leggere l, localizzato sul cromosoma 22.

Entro il raggruppamento IGH vi sono 4 tipi di segmenti genici: V (variabile), D (diverso), J (congiunto) e C (costante). I raggruppamenti IGK e IGL mancano dei segmenti D. Tutti questi segmenti contengono molti geni; nel raggruppamento IGH, per esempio, vi sono almeno 50 segmenti V funzionali.

I geni dei recettori delle cellule T hanno un'organizzazione simile: anche essi contengono i segmenti V, D, J e C. I 3 loci TCRA/D (sul cromosoma 14), TCRB (sul cromosoma 7) e TCRG (sempre sul cromosoma 7) corrispondono alle catene α e δ , la catena β e la catena γ dei recettori della cellula T. Al contrario dei loci TCRB e TCRD, i loci TCRA e TCRG non contengono i segmenti D. Come per i geni delle immunoglobuline, ogni locus contiene molti geni V, D e J. Sul TCRA, per esempio, vi sono da 70 a 80 geni V e circa 60 geni J.

Il processo di ricombinazione collega un segmento di gene di ogni tipo (per esempio VDJC nel caso della catena pesante delle immunoglobuline) per formare un'unità codificante lineare per ogni catena di recettori. Ogni linfocita ha una differente combinazione di questi segmenti genici per formare il codice genetico del suo recettore per gli antigeni (**Vedi figura 5**). Le sequenze dei recettori delle cellule T generalmente rimangono inalterate durante la divisione cellulare; questo non avviene invece per le cellule B, che nei centri germinali degli organi linfoidi secondari (linfoghiandole) possono mo-

strare un ulteriore riarrangiamento dei geni V, per mezzo di un processo chiamato «receptor editing».

Selezione clonale

Per ogni antigene specifico non ci sono più di poche migliaia di linfociti. Poiché ogni cellula B è programmata per esprimere solo uno di un gran numero di potenziali anticorpi, tutte le molecole del recettore per gli antigeni su un dato linfocita, hanno la stessa specificità. Tra questi cloni di linfociti, quelli che producono un recettore che si lega con un antigene vengono selezionati per partecipare a una risposta immune: questo processo viene detto di selezione clonale. La cellula selezionata dall'antigene prolifera, in modo tale da portare a un rapido aumento nel numero delle cellule B e T, che possano riconoscere l'antigene. La maggior parte delle risposte interessa molti diversi cloni (esse sono cioè policlonali) perché anche un relativamente semplice antigene porta molti differenti epitopi, ognuno dei quali ha la capacità di legarsi a un unico clone.

A differenza dei geni delle cellule T, i geni che codificano i recettori delle cellule B sottostanno a un processo di ipermutazione somatica. Il processo avviene durante la proliferazione cellulare all'interno del centro germinale nel tessuto linfoidale secondario. Le modificazioni degli aminoacidi dell'anticorpo, che risultano da questo processo, rinforzano il riconoscimento dell'antigene da parte dei recettori delle cellule B e determinano la forza del legame (**affinità**) dell'anticorpo. Più forte è il legame con l'antigene e maggiore è la possibilità che la cellula B ha di sopravvivere e moltiplicarsi: un classico meccanismo darwiniano di selezione cellulare naturale che porta alla produzione di anticorpi ad alta affinità. Il risultato della selezione clonale è una popolazione di cellule B con alta affinità e squisita specificità antigenica per l'antigene immunizzante, insieme a una memoria dell'incontro.

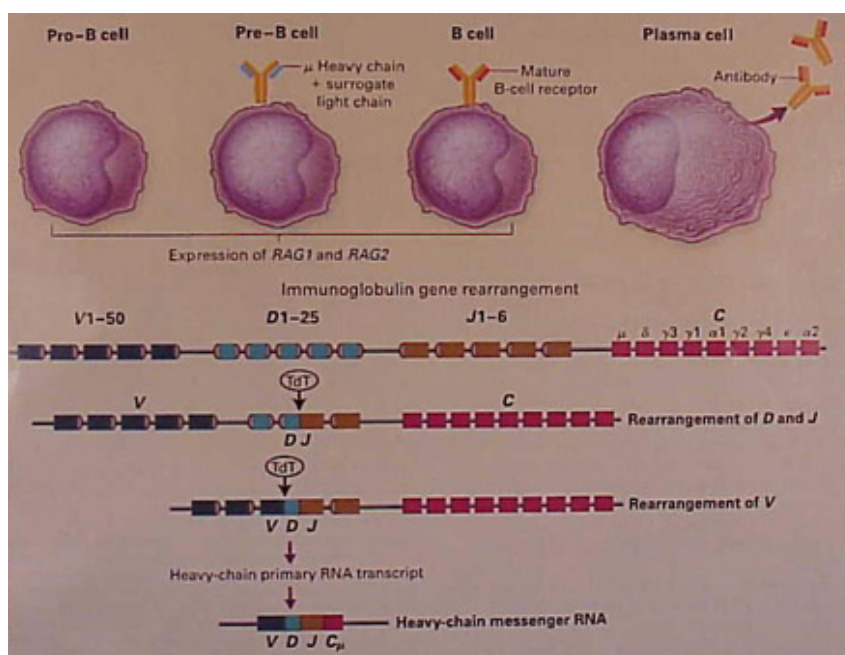


Figura n. 5 – Diversità dei recettori degli antigeni

La enorme diversa specificità dei recettori per gli antigeni è dovuta al riarrangiamento dei geni durante gli stadi di sviluppo precoce dei linfociti. Sono illustrati nella figura gli eventi interessati alla produzione di una sequenza codificante di una catena pesante di immunoglobuline. Precocemente nello sviluppo della cellula B, dalla pro-cellula B alla pre-cellula B, essi esprimono i geni attivanti la ricombinazione RAG1 e RAG2. La ricombinasi, codificata da questi geni, media il riarrangiamento a caso di uno dei 25 diversi segmenti genici (D) con ognuno dei sei segmenti genici J. Questa fase è seguita dal riarrangiamento di ognuno dei 50 segmenti genici variabili (V) vicino al segmento DJ, già riarrangiato. Differenti cellule B riarrangiano un differente segmento in ogni pool, creando un nuovo livello di diversità. Un'ulteriore diversità deriva dall'inaccuratezza del congiungimento e dalla incorporazione di nucleotidi, mediata da un enzima deossiribo-nucleotidil-transferasi terminale (TdT). La trascrizione della catena pesante primaria RNA è processata nell'RNA messaggero (mRNA) con la congiunzione del segmento riar-

rangiato VDJ, vicino al gene della regione costante C. Questo mRNA codificherà una catena pesante, che appare sulla superficie delle cellule pre-B insieme con il surrogato della catena leggera, che è codificata dai geni che non sono stati sottoposti a riarrangiamento. Quando la cellula pre-B continua a maturare, i geni delle catene leggere delle immunoglobuline sono sottoposti a riarrangiamento; la risultante catena leggera si sostituisce alla catena leggera surrogato e dà luogo a un recettore maturo della cellula B sulla superficie della cellula.

I recettori della cellula B a questo stadio includono anche anticorpo IgD con la stessa specificità delle molecole IgM, prodotte da un congiungimento alternativo di VDJ riarrangiato al gene Cm o Cd. Dopo avere incontrato l'antigene e in presenza di segnali costimolatori, la cellula B si differenzia ulteriormente in plasmacellula, che secerne alti livelli di anticorpi specifici o diviene una cellula B della memoria.

Gli stessi principi generali riguardano il processo di riarrangiamento applicato alla produzione di recettori α/β e γ/δ delle cellule T.

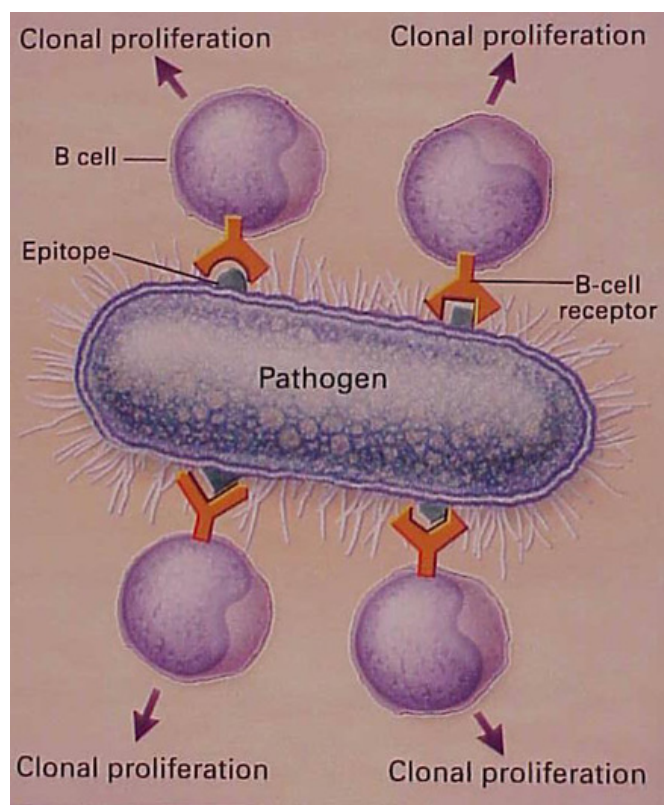


Figura n.6 – Riconoscimento degli epitopi da parte delle cellule B

Usando le molecole di anticorpi come i suoi recettori, la cellula B riconosce gli epitopi sulla superficie dell'antigene. Se la cellula viene stimolata da questo contatto, essa prolifera e i cloni risultanti possono secernere anticorpi la cui specificità è la stessa di quella del recettore sulla superficie della cellula, che ha legato l'epitopo. Le risposte usualmente interessano molti differenti cloni di linfociti e sono quindi indicate con il nome di «policlonali». Per ogni epitopo ci possono essere molti differenti cloni linfocitari in un modo leggermente dif-

ferente e d'altra parte con differenti recettori delle cellule B, ognuno dei quali riconosce l'epitopo con una differente forza di affinità.

La proliferazione dei nuovi linfociti durante il loro primo incontro con l'antigene (la risposta immune primaria), genera sia le cellule effettrici T che B (cellule T citotossiche e T helper e plasmacellule secernenti anticorpi). Le **cellule della memoria** preparano una risposta immune, quantitativamente e qualitativamente secondaria, che si manifesta dopo un successivo incontro con lo stesso antigene (richiamo). Le nuove cellule e le cellule T della memoria possono, per una certa

parte essere distinte, perché esse spesso esprimono differenti versioni della molecola CD45 (una tirosin fosfatasi che regola l'attivazione cellulare) sulla loro superficie; il CD45RA si esprime sulle nuove cellule, mentre il CD45RO si esprime sulle cellule della memoria. Poiché le cellule della memoria sono aumentate di numero in confronto alle cellule nuove e poiché le cellule della memoria sono anche più facilmente stimolate, la risposta secondaria è più rapida della risposta immune primitiva. Ciò produce un gran numero di linfociti e, nel caso delle cellule B, un maggior livello di anticorpi, che hanno una maggiore affinità con l'antigene, rispetto all'anticorpo della risposta primitiva.

Il concetto di **vaccinazione** si basa proprio sul fatto che un'esposizione volontaria a una versione, non pericolosa, di un patogeno, permette la formazione di cellule della memoria, senza avere le sequele patologiche dell'agente infettivo stesso. In questo modo il sistema immune è preparato a montare una risposta immune secondaria con una protezione forte e immediata in risposta a un microrganismo che potrà essere incontrato nel futuro.

Bibliografia

- Delves PJ, Roitt IM – The immune system (First of two parts) – N Engl J Med 343, 37-49, 2000
- Edelman GM – Antibody structure and molecular immunology – Science 180, 830-40, 1973