

MeB – Pagine Elettroniche

Volume IV

Febbraio 2001

numero 2

IL PUNTO SU

Il sistema immune

Giorgio Bartolozzi

- 1° parte: la risposta immune
- 2° parte: i recettori per l'antigene e la selezione clonale
- 3° parte: risposte immuni acquisite B e T
- 4° parte: linfociti e tessuto linfoide
- 5° parte: i linfociti T e la regolazione della risposta immune
- glossario

(da Delves PJ e Roitt IM - N Engl J Med 343, 108-17, 2000)

FUNZIONI EFFETTRICI DELLE CELLULE T

Le cellule T CD4+ sono cellule che principalmente secernono citochine, mentre le cellule T CD8+ sono cellule principalmente di tipo citotossico. Le cellule T CD4+ helper del tipo 1 (Th1) secernono interleuchina-2 e interferon gamma, ma non interleuchina 4, 5 o 6. Le cellule T CD4+ helper del tipo 2 secernono interleuchina 4, 5, 6 e 10, ma non interleuchina 2 o interferon gamma (Vedi Figura 10).

fig 10

Le citochine hanno un ruolo centrale nell'influenzare il tipo di risposta immune necessaria per la migliore protezione contro particolari tipi di agenti infettivi; esse possono inoltre ridurre le risposte allergiche e autoimmunitarie. Per esempio, la liberazione d'interleuchina-12 da parte delle cellule presentanti l'antigene, stimola la produzione d'interferon gamma (l'interferon immune) da parte delle cellule Th1. Questa citochina attiva fortemente i macrofagi, trasformandoli in organismi attivi per l'uccisione intracellulare dei batteri. La produzione di citochine dalle cellule Th1 facilita d'altra parte l'immunità cellulo-mediata, inclusa l'attivazione dei macrofagi e la citotossicità, mediata dalle cellule T, mentre le cellule Th2 aiutano le cellule B a produrre anticorpi.

L'eliminazione delle cellule infettate da un virus spetta alle cellule T CD8 citotossiche. La cellula infettata segnala se stessa alla cellula T citotossica, disponendo sulla sua superficie peptidi, originati dalle proteine virali intracellulari. Questi peptidi virali sono legati alle regioni, leganti i peptidi, delle molecole MHC di classe I. Le cellule T citotossiche si legano al complesso peptide virale-MHC e uccidono le cellule infettate con due diversi meccanismi:

a) esse possono inserire **perforine** nella membrana delle cellule bersaglio: questa sostanza produce pori attraverso i quali enzimi proteolitici (**granzimi**) passano dalla cellula T citotossica alla cellula bersaglio. Almeno uno di questi enzimi proteolitici attiva l'enzima caspase, che media l'apoptosi nella cellula bersaglio

b) le cellule T citotossiche possono legarsi alla molecola **Fas** sulla cellula bersaglio usando la ligandina Fas, un processo che attiverà le caspasi nella cellula bersaglio e infine l'apoptosi.

Queste strategie di uccisione non solo sottraggono al virus gli enzimi dell'ospite, necessari per la sua moltiplicazione, ma anche impediscono la creazione di un santuario all'interno della cellula. D'altra parte ogni virus che si venga a liberare è immediatamente suscettibile agli effetti degli anticorpi.

Oltre che agire in senso killing direttamente sulle cellule infettate, le cellule CD8+ producono numerose citochine, incluso il fattore di necrosi tumorale α e la linfotossina. Anche l'interferon γ , prodotto dalle cellule CD8+, rinforza le difese antivirali, rendendo le cellule adiacenti, resistenti all'infezione. In minor estensione, le cellule CD4+, sia della popolazione Th1 che Th2, possono divenire citotossiche riconoscendo i peptidi presentati dalle molecole MHC di classe II.

Il riarrangiamento dei geni del recettore delle cellule T non avviene nella maggior parte delle cellule natural killer e queste cellule non esprimono recettori specifici per le cellule T. Esse usano recettori ad ampio spettro, meno specifici, per identificare le cellule bersaglio nelle risposte immuni innate citotossiche.

PROTEZIONE IMMUNE DA PARTE DI ANTICORPI

Quando le cellule B hanno subito la differenziazione finale in plasmacellule, esse acquisiscono la capacità di secernere alti livelli di anticorpi. Questi anticorpi possono essere direttamente protettivi, perché inibiscono il legame di un microrganismo o di una tossina al corrispondente recettore cellulare. Nella maggior parte dei casi tuttavia l'anticorpo non funziona da solo, ma come uno dei tanti componenti del sistema immune contro l'agente invasore.

Figura n.11 - Le risposte del linfocita

Le cellule T posseggono i recettori (TCRs) che riconoscono l'antigene elaborato, presentato dalle molecole del complesso maggiore d'istocompatibilità (MHC), come si osserva sul lato sinistro della figura. La maggior parte delle cellule T citotossiche, positive per il CD8, riconoscono gli antigeni elaborati, presentati dalle molecole MHC di classe I e uccidono le cellule infettate, interrompendo in tal modo la moltiplicazione virale. Le cellule T citotossiche attivate secernono interferon gamma, insieme a interferon alfa e interferon beta, per conferire uno stato di resistenza all'infezione virale. Come si osserva sul lato destro della figura, le cellule T helper sono generalmente positive per il CD4, riconoscono l'antigene elaborato presentato dalle molecole MHC di classe II e possono essere suddivise in due principali popolazioni. Le cellule T helper tipo 1 (Th1) secernono interferon gamma e interleuchina-2, che attiva i macrofagi e le cellule T citotossiche a uccidere gli agenti intracellulari. Le cellule T helper

tipo 2 (Th2) secernono interleuchina 4, 5 e 6, che aiutano le cellule B a secernere anticorpi protettivi. Le cellule B riconoscono l'antigene sia direttamente che in forma di complessi immuni sulle cellule dendritiche dei follicoli nei centri germinali.

La via classica di attivazione del complemento inizia con il contatto stretto del suo primo componente, il C1q, con le regioni Fc delle IgM e delle IgG sulla superficie di una cellula. Il legame di queste regioni con C1q porta alla generazione del C3b e di altri componenti biologicamente attivi del complemento. L'intensa fagocitosi in presenza di anticorpi antibatterici IgM o IgG può avvenire attraverso il legame del C3g, formato di nuovo, con i recettori dei neutrofili e dei macrofagi.

In assenza di complemento, i microrganismi, ricoperti di anticorpi IgG, IgA o IgE, si legano ai corrispondenti recettori Fc presenti sulla cellula fagocitica. Gli anticorpi IgG e IgE possono mediare l'effetto citotossico cellulare anticorpo-dipendente, un processo killing extracellulare nel quale le cellule che posseggono recettori Fc per questa classe di anticorpi si legano alle cellule bersaglio, coperte di anticorpi, o ai parassiti. Le cellule natural killer, i monociti, i macrofagi e i neutrofili possono tutti avere una funzione citotossica cellulare IgG mediata, anticorpo-dipendente. I macrofagi, gli eosinofili e le piastrine sono interessati invece alla citotossicità cellulare IgE mediata anticorpo dipendente. I meccanismi citotossici, che entrano in gioco quando le cellule bersaglio sono troppo grandi per la fagocitosi, sono le perforine, i granenzimi e in alcuni casi gli intermediari ossidativi.

I soggetti adulti sintetizzano ogni giorno dai 3 ai 4 grammi di IgA secretorie, nella saliva, nel colostro, e in altri liquidi.

Esse sono sintetizzate dalle plasmacellule, che si ritrovano al di sotto della superficie mucosa e sono trasportate, attraverso l'epitelio, dai recettori Fc poli-immunoglobulinici. Questi anticorpi prevengono l'adesione dei microrganismi alla superficie della cellula ospite.

Un secondo tipo di recettori cellulari Fc, i recettori FcRn, ha numerose altre funzioni, come il trasferimento delle IgG materne attraverso la placenta.

Questi meccanismi offrono un'importante protezione al feto, prima che il suo sistema immune sia completamente sviluppato. I recettori FcRn inoltre trasferiscono particolarmente le IgG del latte umano (che contengono anche IgA e IgM) attraverso l'epitelio intestinale del neonato.

REGOLAZIONE DELLA RISPOSTA DEL SISTEMA IMMUNE

Una risposta immune efficace elimina l'antigene che l'ha prodotta e quindi, si sbarazzata dello stimolo che l'ha indotta e torna ai livelli quasi basali. Oltre che allontanare l'antigene, il sistema immune impiega molti altri meccanismi per regolare la sua attività. Le IgG stesse possono cambiare la risposta al loro corrispondente antigene, con un processo analogo all'ansa feedback negativa, caratteristica del sistema endocrino. Esse cioè possono sopprimere la produzione di IgG quando il recettore FcγR e il recettore della cellula B sulla stessa cellula, siano legati a un complesso immune, contenente l'antigene specifico. Ne risultano segnali inibitori sul nucleo della cellula B.

Le citochine e la loro importanza clinica

Citochine	Origine cellulare	Attività principali	Importanza clinica
Interleuchina-1	Macrofagi	Attivazione delle cellule T e dei macrofagi, promozione dell'infiammazione	Implicata nella patogenesi dello shock settico, nell'artrite reumatoide e nell'arteriosclerosi
Interleuchina-2	Cellule T helper tipo 1 (Th1)	Attivazione dei linfociti, delle cellule natural killer e dei macrofagi	Usata per indurre le cellule killer attivate dalla linfocina; usata nel trattamento del carcinoma renale metastatico, del melanoma e di altri tumori
Interleuchina-4	Cellule T helper tipo 2 (Th2), mast-cell, basofili, eosinofili	Attivazione dei linfociti, monociti e passaggio alla classe IgE	Per la sua capacità di stimolare la produzione di IgE. gioca una parte nella sensibilizzazione delle mast-cell e così nell'allergia e nella difesa contro i nematodi
Interleuchina-5	Cellule T helper tipo 2 (Th2), mast-cell, basofili, eosinofili	Differenziazione degli eosinofili	L'anticorpo monoclonale contro l'interleuchina 5 è usato per inibire l'eosinofilia antigene-indotta della fase latente dell'allergia nei modelli animali
Interleuchina-6	Cellule T helper tipo 2 (Th2), mast-cell, macrofagi	Attivazione dei linfociti, differenziazione delle cellule B, stimolazione delle proteine della fase acuta	Prodotta in eccesso nella malattia di Castelman; agisce come un fattore di crescita autocrino nel mieloma e nella GN proliferativa mesangiale
Interleuchina-8	Cellule T e macrofagi	Chemiotassi dei neutrofili, basofili e cellule T	I livelli sono aumentati nelle malattie accompagnate da neutrofilia, tanto da farne un indicatore, potenzialmente utile della attività della malattia

Interleuchina-11	Cellule stromali del midollo osseo	Stimolazione della produzione di proteine della fase acuta	Usata per ridurre la trombocitopenia indotta dai chemioterapici nei pazienti con cancro
Interleuchina-12	Macrofagi e cellule B	Stimolazione della produzione di interferon- gamma da parte delle cellule Th1 e da parte delle cellule natural killer; induzione delle cellule Th1	Può essere utile come adiuvante dei vaccini
Tumor necrosis factor alfa	Macrofagi, cellule natural killer, cellule T, cellule B e mast cell	Promozione dell'inflammatione	Il trattamento con anticorpi contro il tumor necrosis factor alfa è utile nella artrite reumatoide
Linfectossina (tumor necrosis factor beta)	Cellule Th1 e cellule B	Promozione dell'inflammatione	Implicata nella patogenesi della sclerosi multipla e nel diabete mellito insulino-dipendente
Fattore beta di crescita trasformante	Cellule T, macrofagi, cellule B, mast cell	Immunosoppressione	Può essere utile nella sclerosi multipla e nella miastenia grave
Fattore stimolante le colonie dei granulociti e dei macrofagi	Cellule T, macrofagi, cellule natural killer, cellule B	Promozione della crescita dei granulociti e dei monociti	Usato per ridurre la neutropenia dopo chemioterapia per tumori e nei pazienti trattati con ganciclovir con AIDS; usato per stimolare la produzione cellulare dopo trapianto di midollo
Interferon-alfa	Cellule infettate da virus	Induzione di resistenza da parte delle cellule con infezione virale	Usato per trattare il sarcoma di Kaposi, collegato all'AIDS, il melanoma, infezione cronica da virus dell'epatite B e l'infezione cronica da virus dell'epatite C
Interferon-beta	Cellule infettate da virus	Induzione di resistenza da parte delle cellule con infezione virale	Usato per ridurre la frequenza e la gravità delle ricadute di sclerosi multipla
Interferon-gamma	Cellule Th1 e cellule natural killer	Attivazione dei macrofagi; inibizione delle cellule Th2	Usato per aumentare l'uccisione dei batteri fagocitati nella malattia granulomatosa cronica

Le citochine partecipano a un altro livello del sistema regolatorio. Per esempio la secrezione di interferon-gamma da parte delle cellule Th1 inibisce le cellule Th2, mentre la secrezione d'interleuchina-10 da parte delle cellule Th2 inibisce al contrario le cellule Th1. Lo sfruttamento di queste interazioni regolatorie fra sottogruppi delle cellule T può portare a nuove prospettive terapeutiche per il trattamento di molte malattie. Per esempio la secrezione d'interleuchina-4 da parte delle cellule Th2 stimola la produzione di IgE: ciò permette di cambiare la risposta verso il tipo Th1 per migliorare l'atopia.

L'immunoregolazione interessa anche l'interazione del sistema immune con i sistemi endocrino e nervoso, con un rapido scambio fra questi sistemi sulla base di ormoni, citochine e neurotrasmettitori.

TECNOLOGIA IMMUNOLOGICA

L'uso nelle ricerche d'immunologia di topi nei quali particolari geni sono espressi (**transgenic mice**) o eliminati (**knockout mice**) ha permesso di chiarire molti punti oscuri. La capacità di creare topi transgenici e topi con delezione di alcuni geni ha portato allo sviluppo di modelli animali di malattie autoimmuni e da immunodeficienza.

La fortissima specificità della molecola dell'anticorpo è stata usata nella maggior parte delle aree della biomedicina. Molti anticorpi monoclonali, clinicamente utili, sono stati usati in moltissime circostanze. Con l'uso di tecniche DNA ricombinanti questi anticorpi possono essere "umanizzati"

rimpiazzando la maggior parte delle sequenze aminoacidiche, presenti nei roditori con sequenze umane. Soltanto gli aminoacidi che vengono in contatto con l'antigene debbono necessariamente mantenere le sequenze, caratteristiche dei roditori.

La tecnologia DNA ricombinante può essere usata anche per creare una biblioteca, contenente milioni di batteriofagi, ognuno caratterizzato da un differente anticorpo dotato di una singola specificità sulla sua superficie e contenente i geni per la sintesi dell'anticorpo. Quando i contenuti di questa biblioteca saranno riversati su dischi di plastica, coperti di antigeni, i fagi caratterizzati dal relativo anticorpo si legheranno all'antigene e quelli che non si legheranno verranno lavati via. Questa tecnica permette all'anticorpo, della specificità desiderata, di essere scelto dalla biblioteca e i geni codificanti le regioni variabili possono essere usati per produrre grandi quantità di anticorpi ricombinanti praticamente di qualsiasi specificità si voglia. L'uso delle biblioteche di fagi, costruite da geni degli anticorpi umani, costituiti da una catena pesante e da una catena leggera, porteranno a una diretta selezione degli anticorpi umani per uso terapeutico, per esempio verso antigeni associati a tumori o antigeni come il CD4. Se necessario, singoli aminoacidi possono essere sostituiti nei siti leganti per aumentare l'affinità dell'anticorpo.

Gli anticorpi possono essere identificati con enzimi, fluorocromi o isotopi per usarli in un ampio spettro di applicazioni cliniche, incluse prove immunoenzimatiche, fenotipizzazioni diagnostiche, istochimica, immagini in vivo e immunoterapia. Se l'obiettivo è la stessa molecola di anticorpo (per esempio

per misurare anticorpi in pazienti con malattie autoimmunitarie), può essere utilizzata un'anti-globulina marcata (anticorpo secondario). Per applicazioni terapeutiche nei confronti di cellule tumorali, gli anticorpi possono essere coniugati con molecole citotossiche per produrre immunotossine.

Senza dubbio queste diverse modalità d'impiego hanno allargato fortemente l'armamentario di ricerca, diagnostico e terapeutico degli immunologi e dei clinici.