



IMMUNOLÓGIAI ÉS
BIOTECHNOLÓGIAI
INTÉZET



12. Praktikum: Zelluläre Immunantwort, Suppression, MALT, SALT

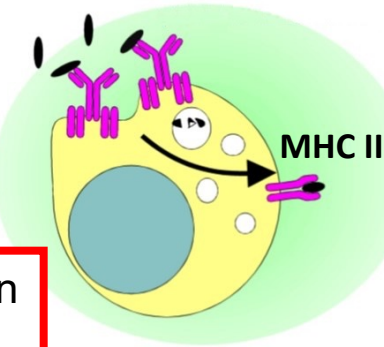
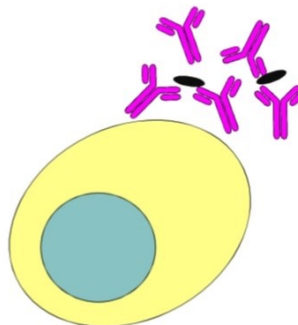
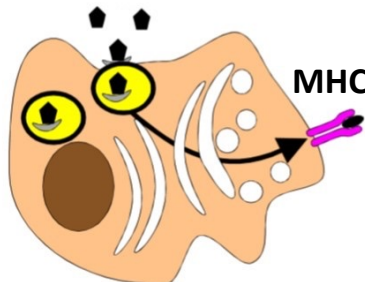
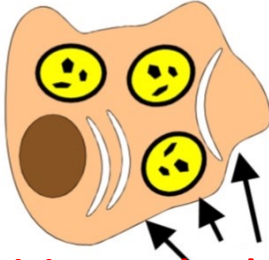
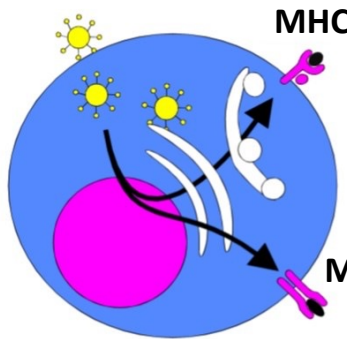
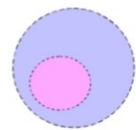
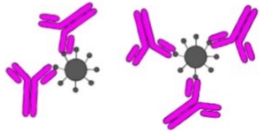
Grundlagen der Immunologie

Universität Pécs, Klinisches Zentrum
Institut für Immunologie und Biotechnologie
Pécs, 2023.

Intrazelluläre Pathogene lösen zelluläre Immunantwort aus:

- Mykobakterium tuberculosis
- Mykobakterium leprae
- Salmonella typhimurium
- Listeria spp.
- Yersinia pestis
- Legionella pneumophila
- Leishmania spp.
- Histoplasma
- Trypanosoma

- Viren
- Chlamydia
- Listeria
- Protozoen

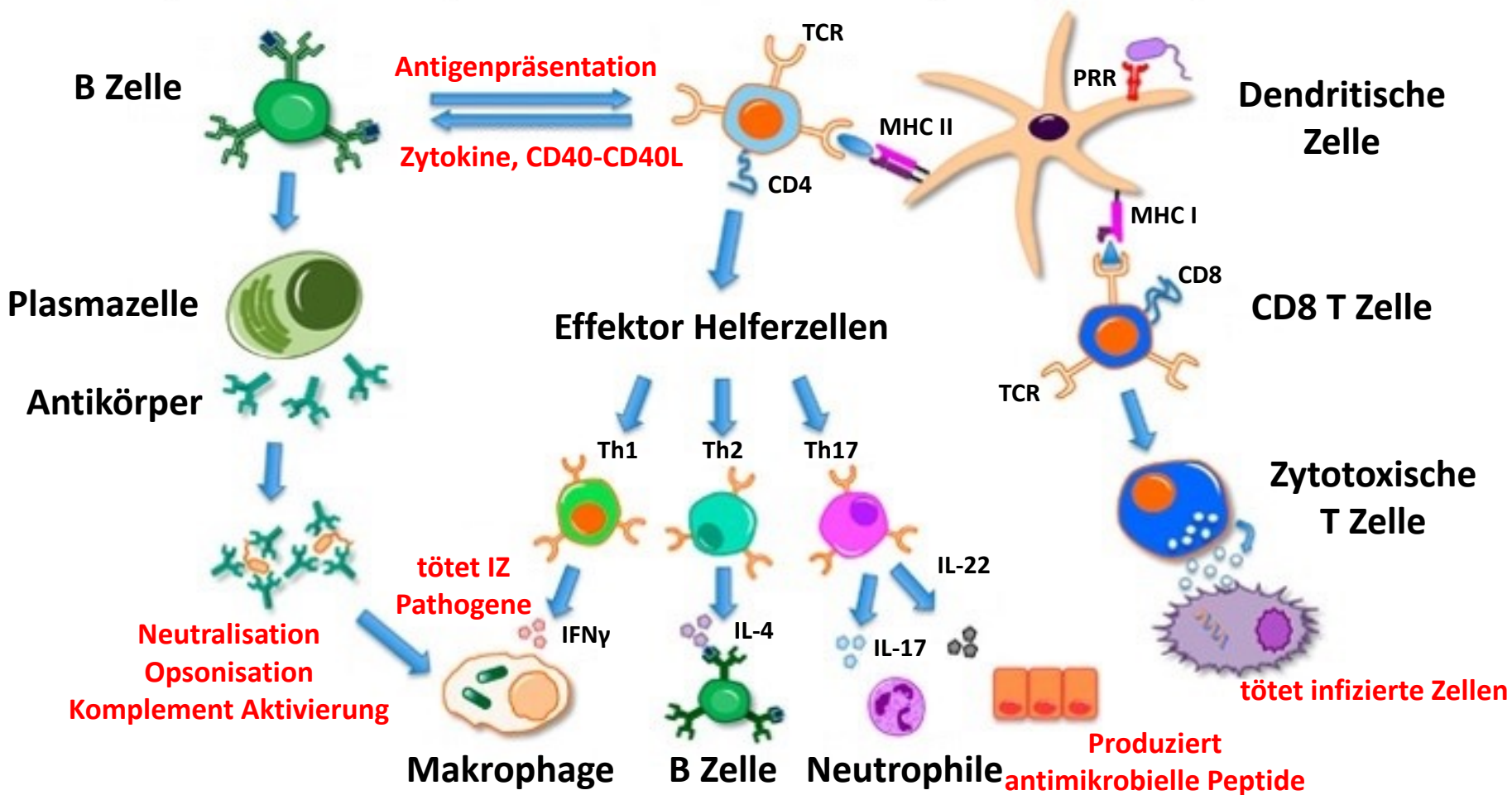
Art des Pathogens	Antigenpräsentation und Verarbeitung	Antwort
<p>Extrazellulär</p> 	<p>Abbau: In sauren Vesikeln</p> <p>Peptidbindung: MHC II</p> <p>Präsentation: Für CD4+ T Zellen</p>	<p>Antikörperproduktion</p> 
<p>Intravesikulär</p> 	<p>Abbau: In sauren Vesikeln</p> <p>Peptidbindung: MHC II</p> <p>Präsentation : Für CD4+ T Zellen</p>	<p>Töten des Pathogens in Vesikeln</p>  <p>Aktivierung durch Th1 Zellen</p>
<p>Zytosolisch</p> 	<p>Abbau: Im Zytoplasma</p> <p>Peptidbindung : MHC I, MHC II</p> <p>Präsentation : Für CD8+ T Zellen, Für CD4+ T Zellen</p>	<p>Töten der infizierten Zelle</p>  <p>Antikörperproduktion</p> 



Humorale Antwort

Zelluläre Antwort

Helfer T Zelle



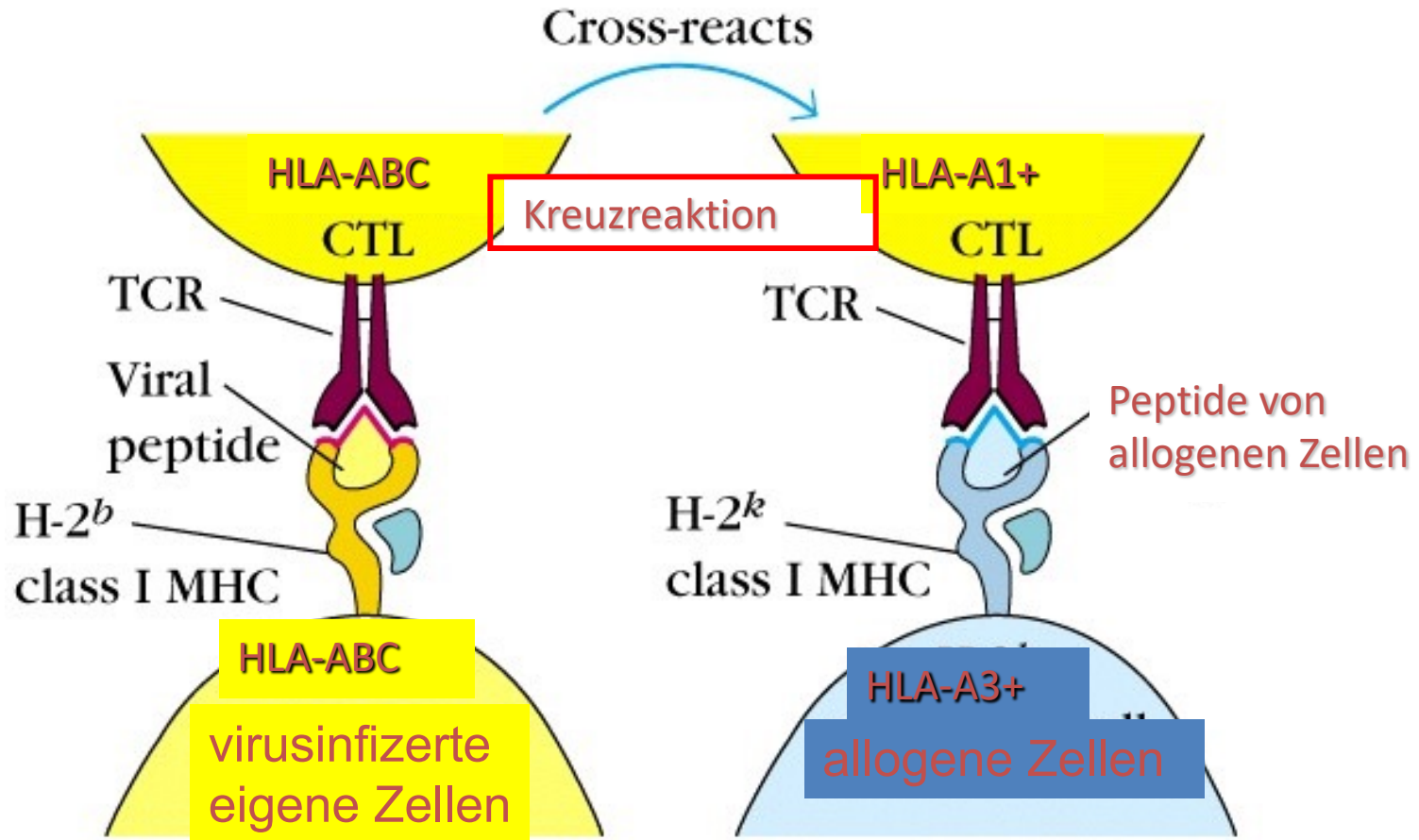
Zellvermittelte Immunantwort (CMI)

Zytotoxizität	Th1-vermittelte Makrophagenaktivierung
<p><u>Effektorzellen</u> sind mit direkter zytotoxischer Tätigkeit versehen:</p> <ul style="list-style-type: none">- CTL (CD8+ Tc),- $\gamma\delta$ T- Zellen- NK- Zellen, NK-T-Zellen- Makrophagen	<p><u>Effektorzellen</u> produzieren Zytokine:</p> <ul style="list-style-type: none">- Th1- Zellen: IL-2, INFγ, GM-CSF- Makrophagen: IL-12
<p><u>zytosolische Antigene in den Zielzellen:</u></p> <ul style="list-style-type: none">- Intrazelluläre Viren und Bakterien- Allogene Zellen - mit kleinen Histokompatibilitätsantigenen- Tumorzellen- chemisch geänderte Zellen- Protozoen: Toxoplasma	<p><u>Antigene in Phagolysosomen der infizierten Makrophagen:</u></p> <ul style="list-style-type: none">- intrazelluläre Bakterien, Pilze, Parasiten, Viren- Kontaktantigene - Haptene (Metallionen, kleiner Molekül-komplex mit Hautproteinen)- Pneumocystis carinii

Zytotoxizität

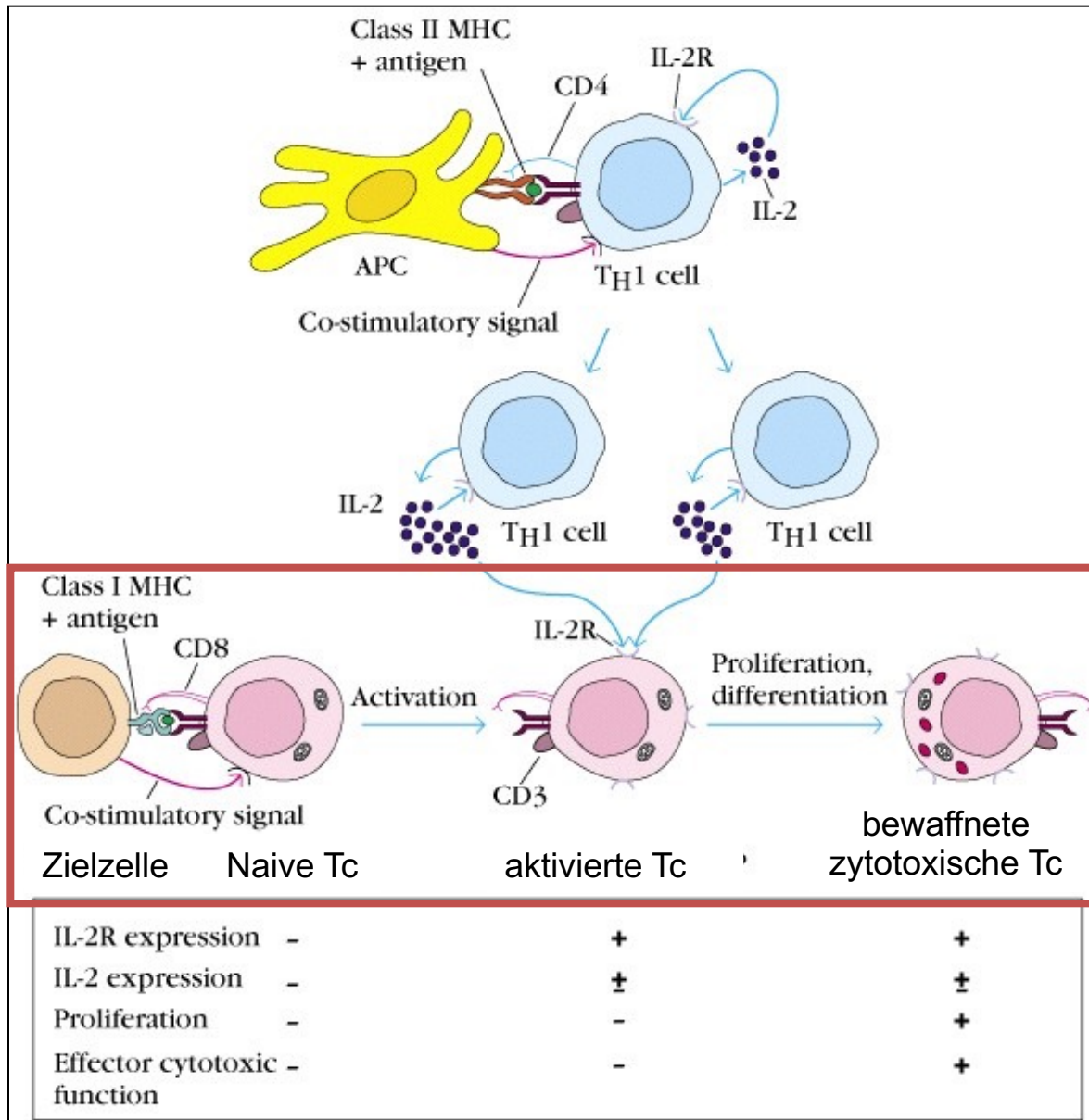
CD8+ T-Zellen

CD8+ Zytotoxische T- Lymphozyten: CTL

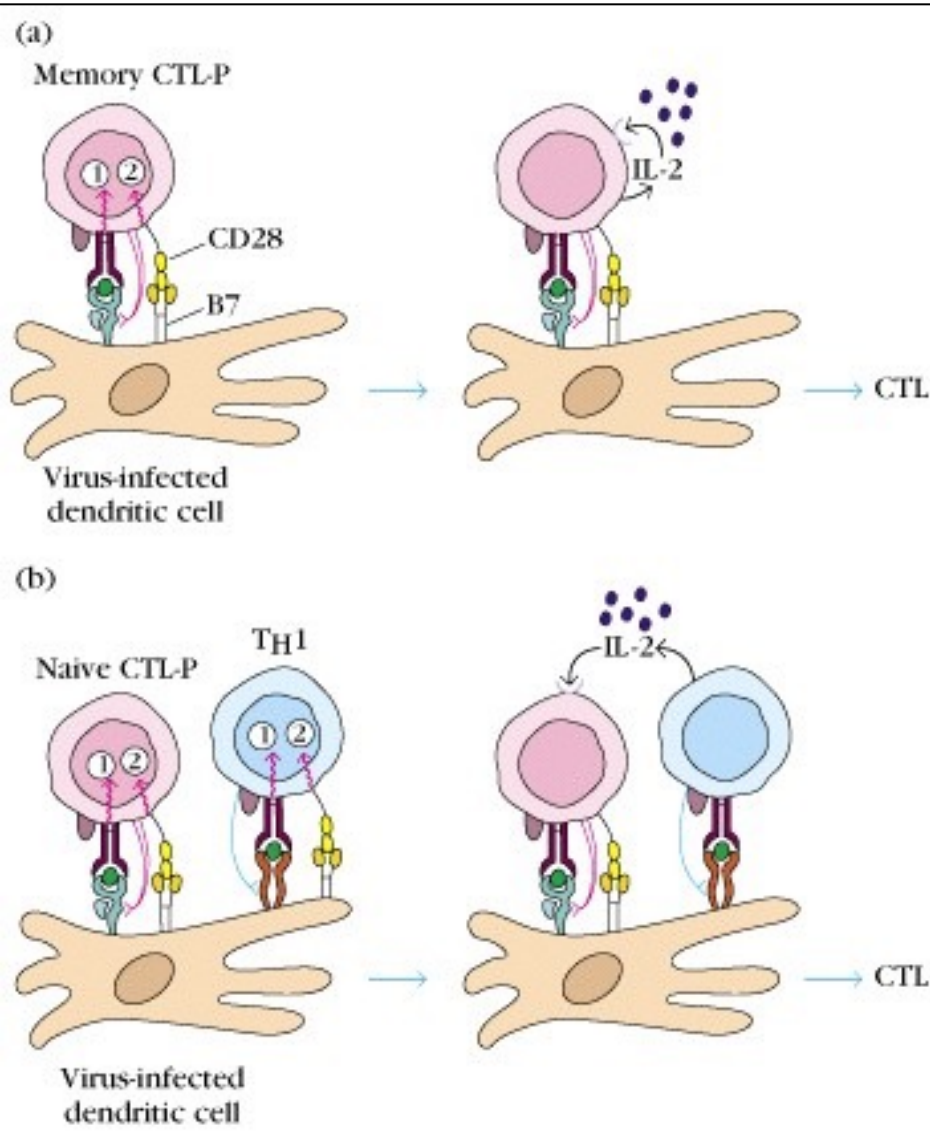


Aktivierte zytotoxische T-Zellen(Tc) = Effektor-CTL
TcR $\alpha\beta$, CD8+ T-Zellen
MHC-I-beschränkte antigenspezifische Erkennung

Die Entstehung der Effektor CD8+ T-Zellen: CTL



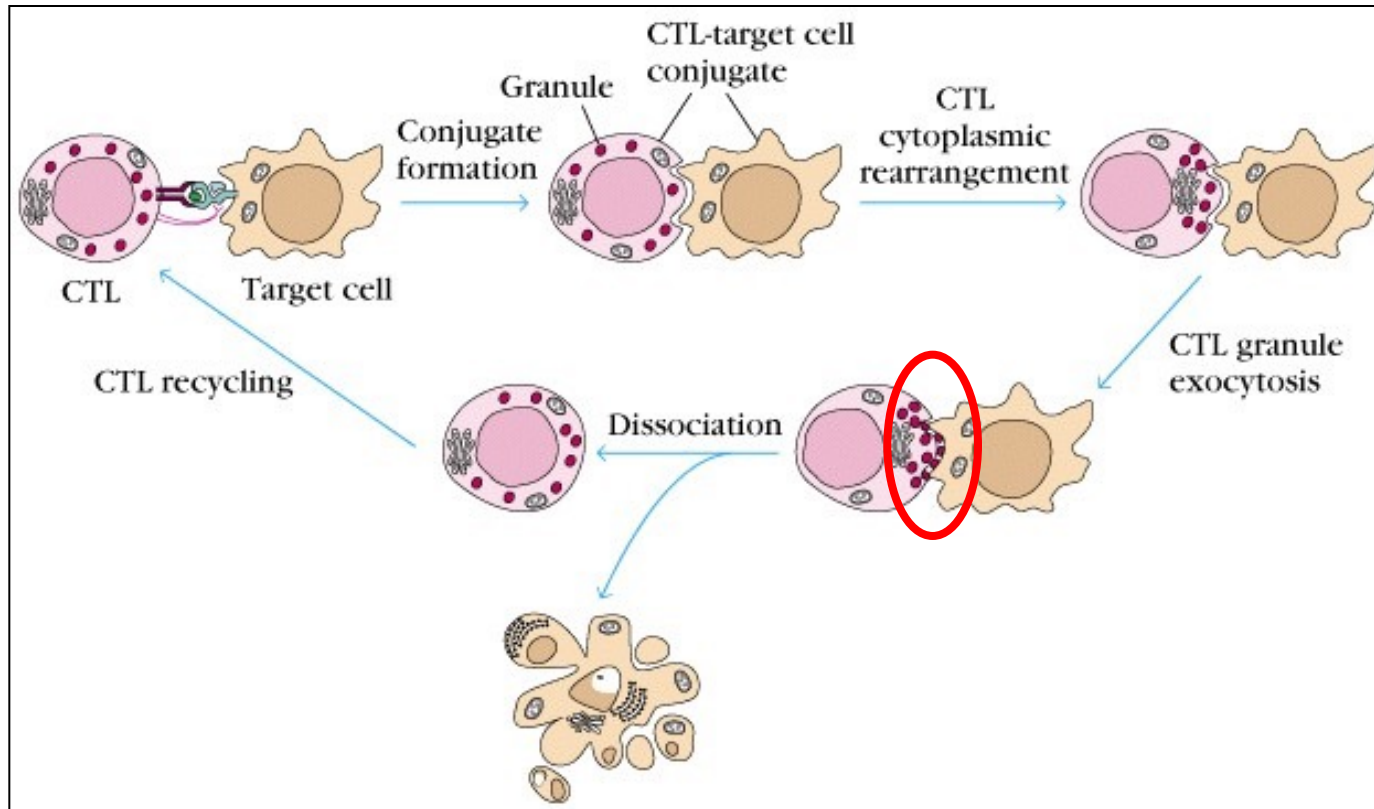
Zur Aktivierung des Gedächtnis-CTL ist die Hilfe der Th1-Zellen nicht mehr nötig



Gedächtnis-CTL: autokrine IL-2-Produktion

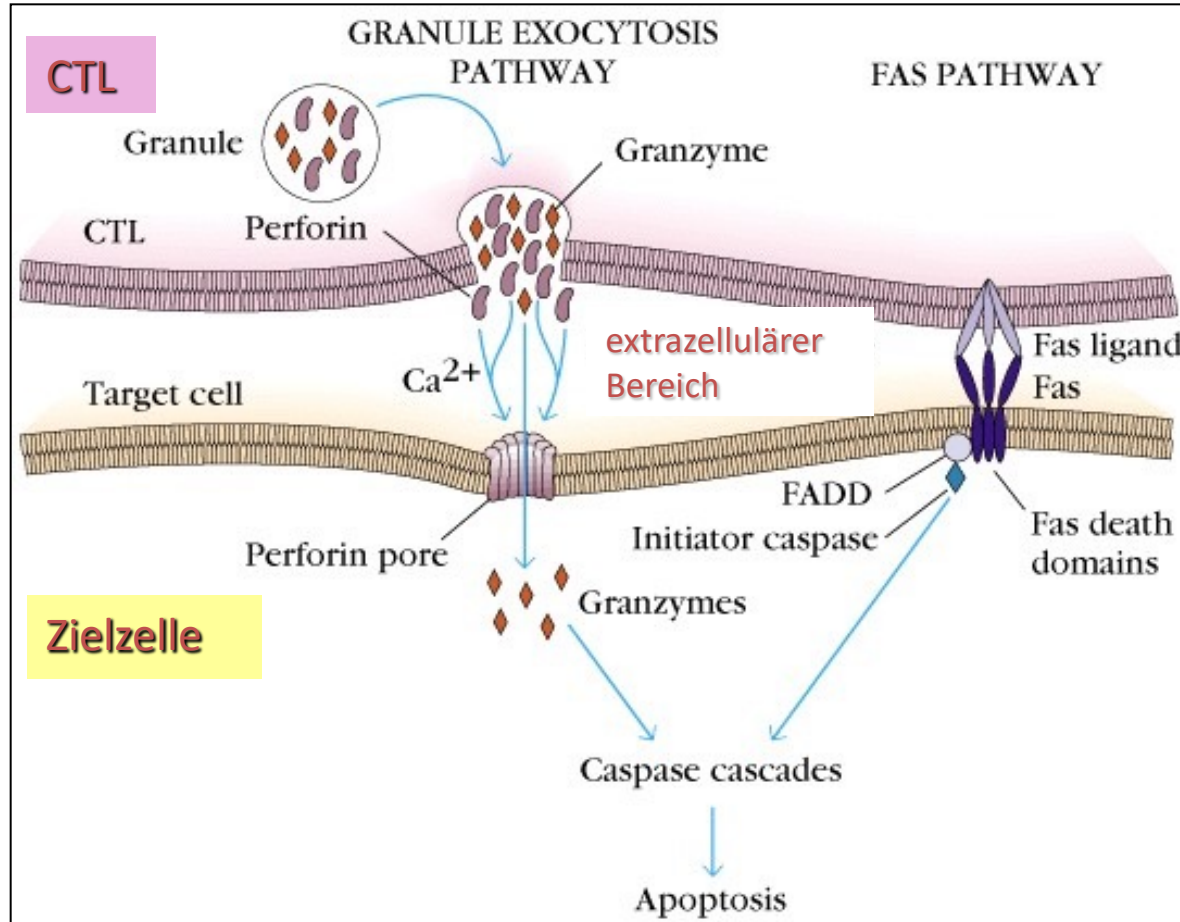
Naive CTL: Th1 sichert IL-2

Stadien der CTL-vermittelten Tötung von Zielzellen:



1. Antigenerkennung (MHC-I + Peptid auf Zielzelle)
2. Verknüpfung des CTLs mit der Zielzelle
3. CTL zytoplasmatische Rearrangierung
4. Entleerung der intrazellulären Granulen von CTL
5. Zielzelle-Apoptose
6. CTL-Ablösung von der getöteten Zielzelle

Zytotoxische T-Zellen können in den Zielzellen einen programmierten Zelltod herbeiführen



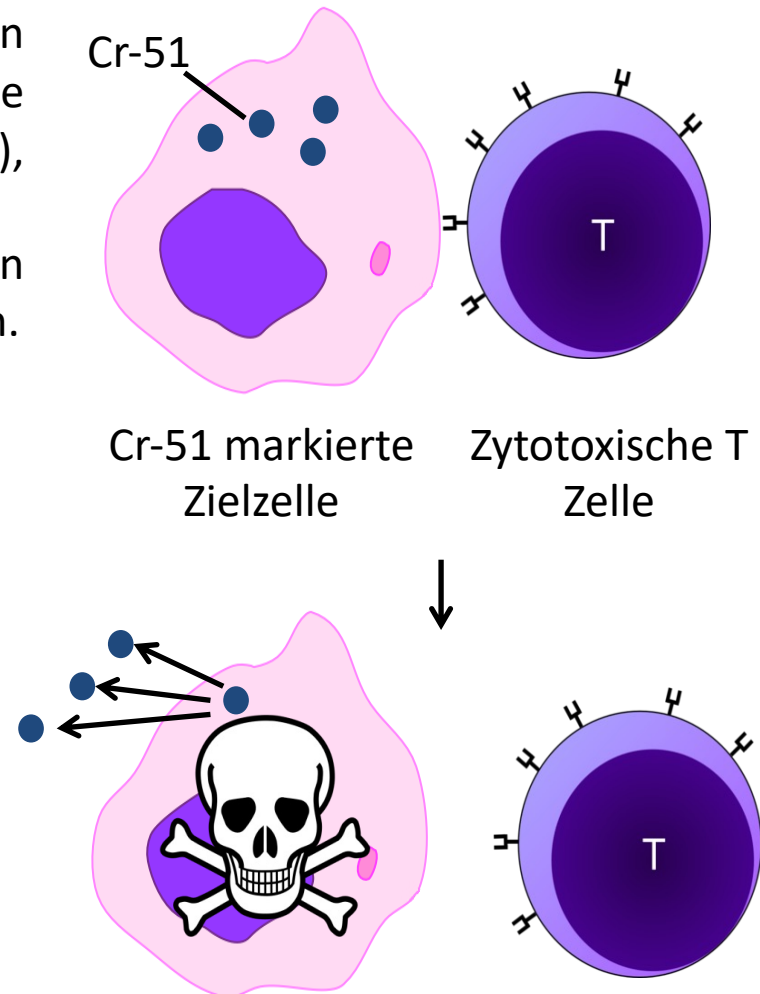
Lösliche zytotoxische Effektorproteine: Perforin und Granzyme
Membrangebundene Effektorproteine: Fas-Ligand (FAS-L)

Chrome-51 Ausscheidungs Assay

In vitro Methode zur Messung der **Zelltötungskapazitäten** der zytotoxischen T Zellen (T, NK)^[18.] und **ADCC**^[19.] (Antikörper-abhängige Zell-medierte Zytotoxizität, siehe Vorlesungen), z.B.:

Untersuchung Zytotoxischer Zellen von Krebspatienten in Anwesenheit kanzeröser Zellen.

1. Tc Zellen werden mit Cr-51-markierten Zielzellen inkubiert
2. Zielzell wird getötet, Chrom wird freigesetzt
3. Zentrifugierung, Zellen und Zellfragmente bilden ein Pellet am Boden des Reagenzglases.
4. Der Chromgehalt des Überstands wird gemessen



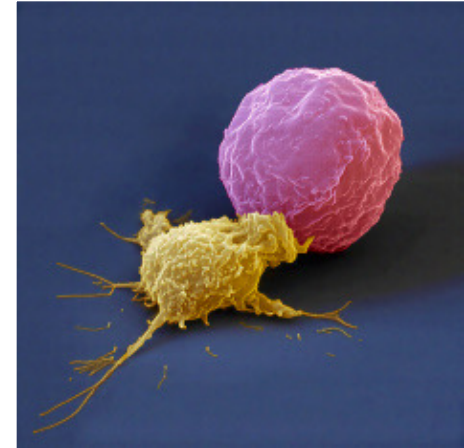
Zytotoxizität

NK-Zellen

Natürliche Killerzellen (NK-Zellen)

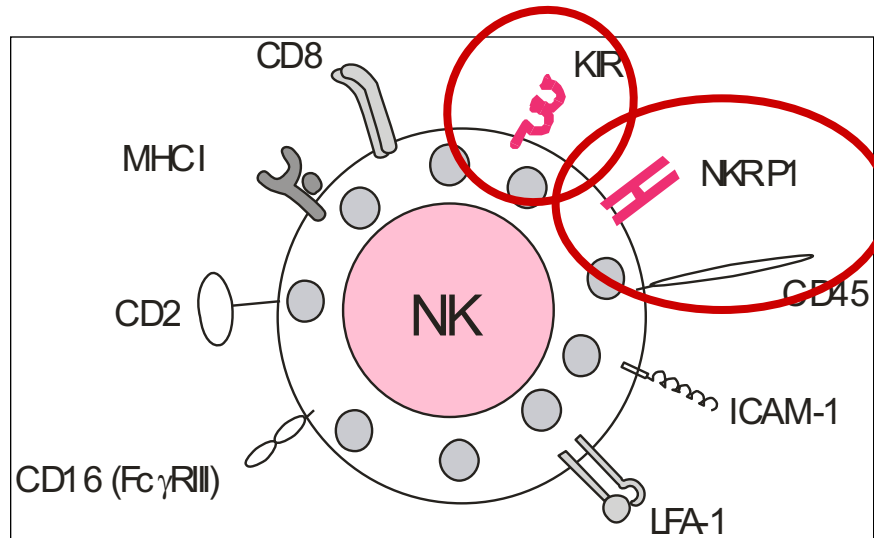
Entwickeln sich im Knochenmark von der gemeinsamen lymphatischen Vorläuferzelle

- 10-15% der Lymphozyten = LGL-Zellen
large granular lymphocytes = große granuläre Lymphozyten
- TcR- CD3-, CD4-, CD8+/-, CD2+,
CD16+ (FcγRIII) CD56+,
- Aktivierbar mit Zytokinen (INF α und β , IL-12)
- Sie sezernieren Zytokine: INF γ \rightarrow Immunregulierung (Th1)
- Ohne vorherige Immunisierung oder Aktivierung können infizierte oder einige Tumorzellen töten.
- Derselbe Tötungsmechanismus wie bei den CTL



Funktion: *frühe* Antwort gegen Infektion durch bestimmte intrazelluläre Viren, Bakterien und Tumorzellen

NK-Zell-Rezeptoren:



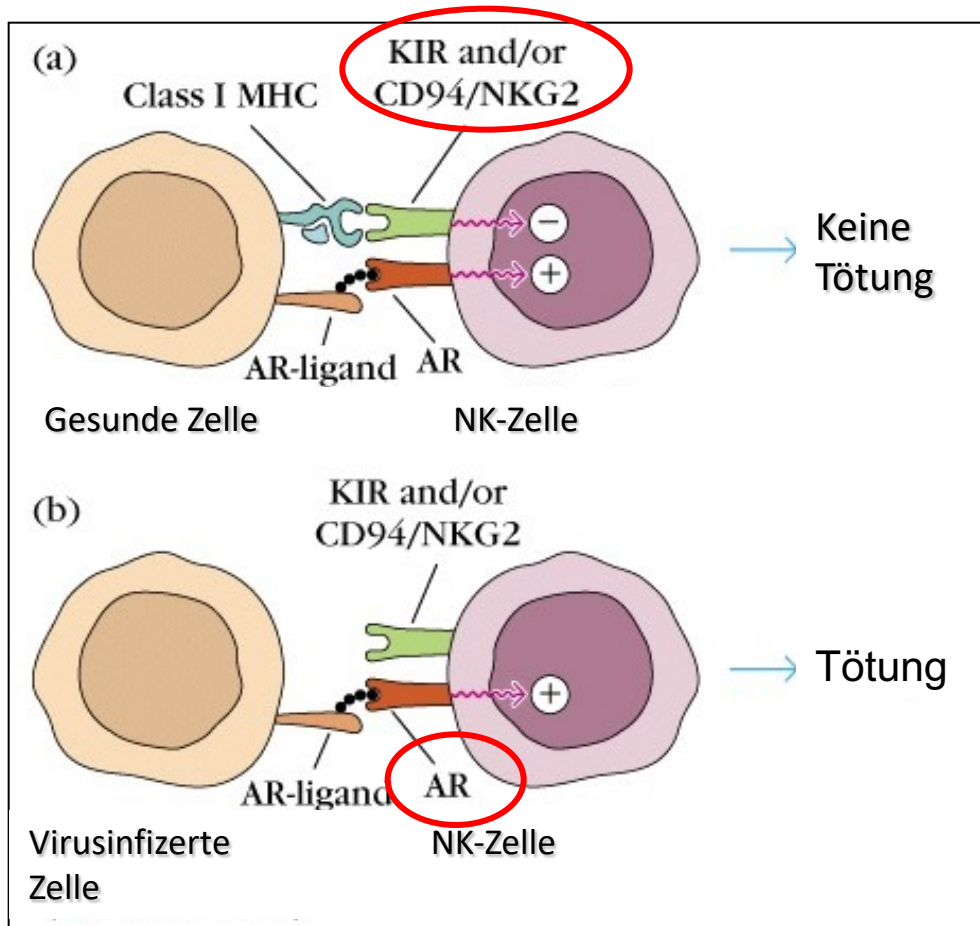
killerhemmende Rezeptoren (KIR): erkennen eigene MHC-I Moleküle auf normalen Zellen

KIR-Ligand – HLA-A, B, C

NKG2-Ligand – HLA-E

Aktivierungsrezeptoren (KAR): erkennen veränderte Glycosylierung auf virusinfizierten - oder Tumorzellen-Oberflächen

Das entgegengesetzte Signalmodell der NK-Zellenaktivierung

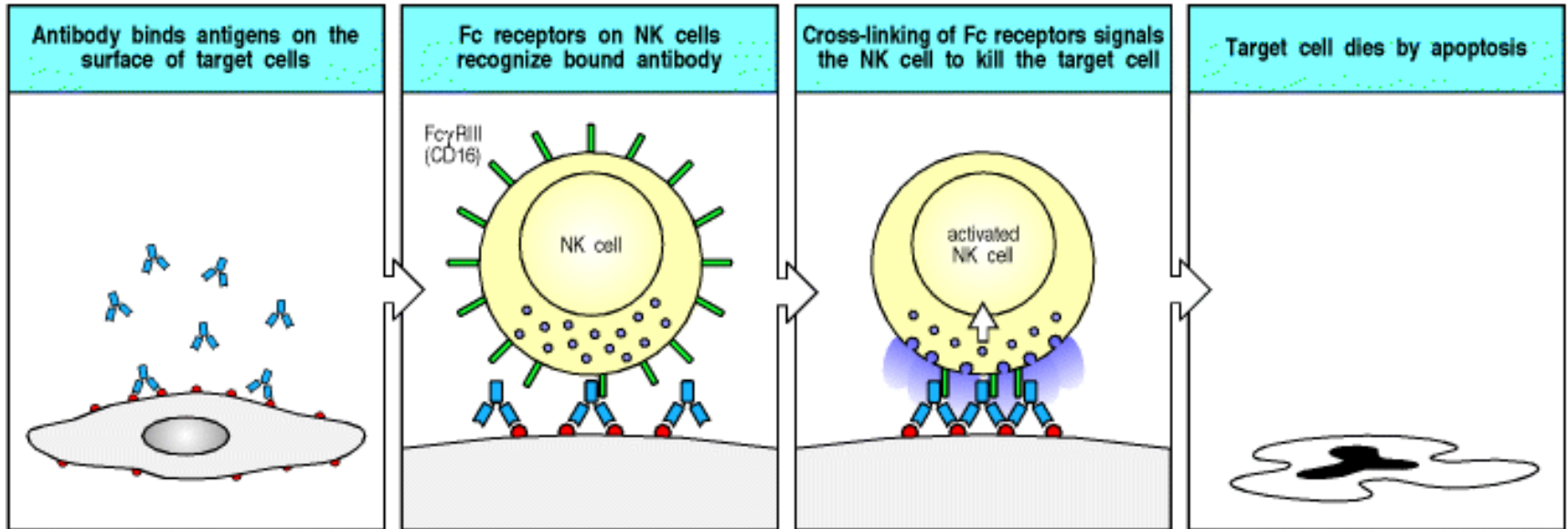


Signale der inhibitorischen NK-Rezeptoren (KIR) unterdrücken die Tötungsaktivität der NK-Zellen

Veränderte oder fehlende MHC-I Moleküle können kein negatives Signal auslösen, die NK-Zelle wird durch Signale von aktivierenden Rezeptoren (KAR) stimuliert

→ schüttet den Inhalt ihrer Granula aus → Apoptose

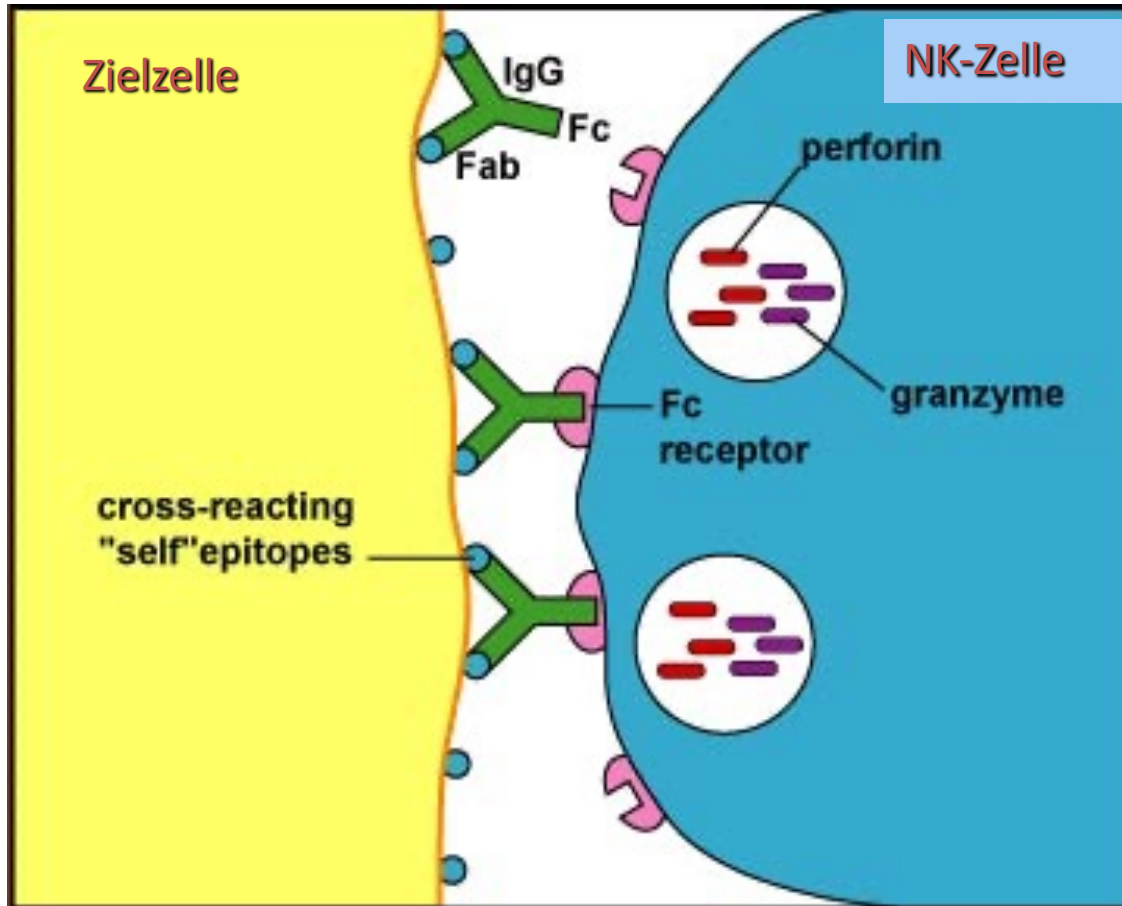
ADCC: IgG-vermittelte Antikörper-abhängige zelluläre Zytotoxizität



Fc-Rezeptoren der Killerzellen binden an die IgG-opsonisierte Zielzellen,

→Mediatoren sind aus den Granulen der NK-Zellen freigesetzt, die die Zielzelle abtöten.

ADCC



Dieselben löslichen zytotoxischen Effektorproteine wie bei den CTL
→ Perforin und Granzyme

Zytotoxizität

$\gamma\delta$ T- Zellen

$\gamma\delta$ T- Zellen

1-5 % der T- Zellen im Blut und lymphatischen Organe,

Bis zu 50% in epithelreichen Geweben, Körperoberflächen

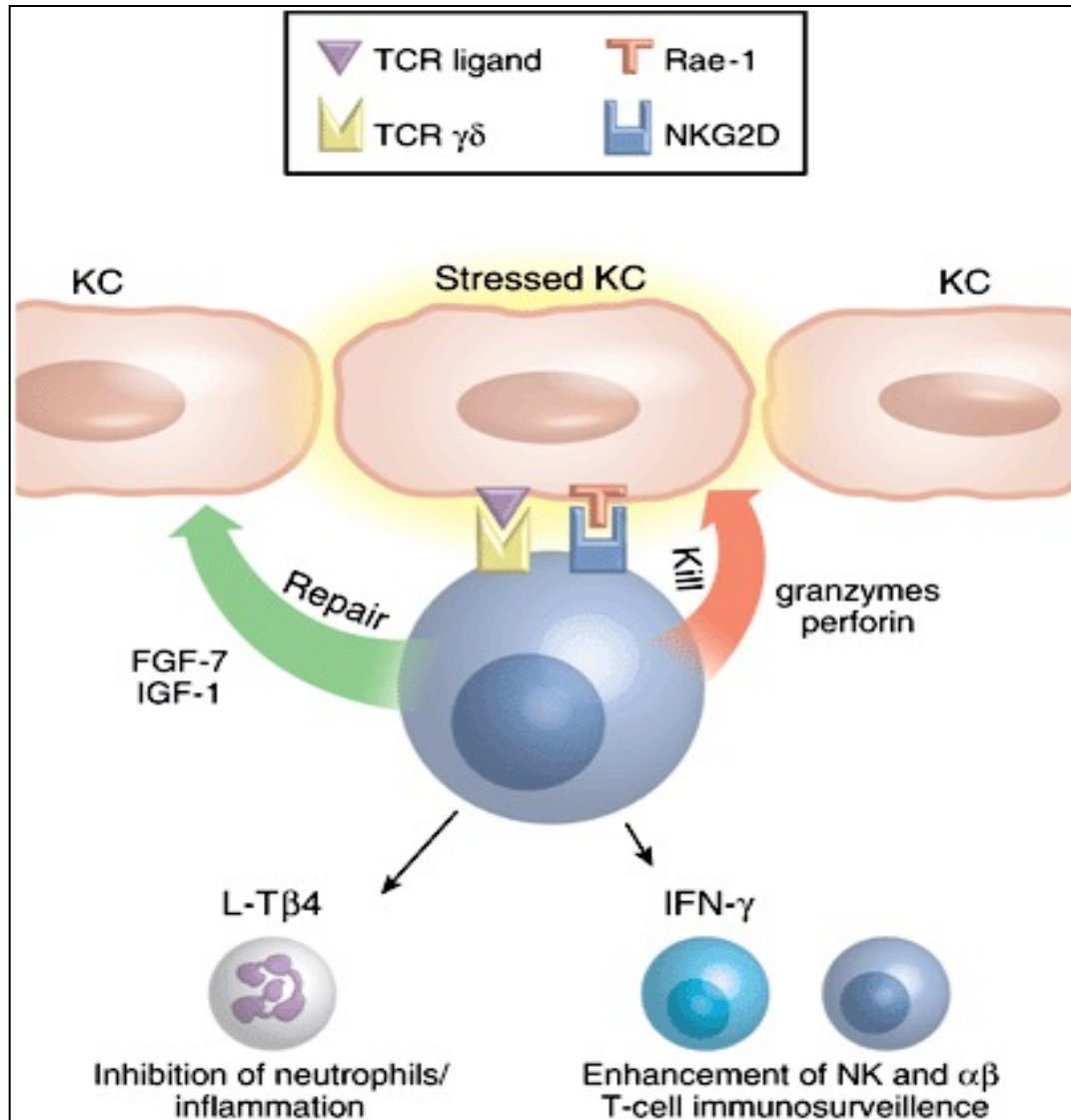
- **intraepidermale Lymphozyten:** CD4- und CD8-
- **intraepitheliale Lymphozyten:** CD8+
- werden beim embryonalen Leben produziert
- keine Rezirkulation,
- geringe TcR - Diversität → Gewebespezialisierung zur Erkennung bestimmter Antigene

Antigen Erkennung: - MHC-unabhängig, aber antigenspezifisch

Funktionen: „ immunologische Überwachung der Körperoberflächen“

- - Beseitigung beschädigter Zellen und Krankheitserreger → Zytotoxizität
- - Immunregulation durch Zytokinproduktion

$\gamma\delta$ T- Zellen



Antigene, welche konstitutiv auf körpereigenen Zellen und auf mikrobiellen Erregern nachgewiesen werden können:

- Phospho-Liganden,
- Virusproteine,
- Hitzeschockproteine an der Zelloberfläche
- Induzierte Antigene:
- nicht-klassische MHC-Klasse-Ib-Moleküle (MICA, MICB)

Th1-Zell vermittelte zelluläre Immunantwort

=

Typ-IV-Überempfindlichkeitsreaktion

=

Hypersensibilitätsreaktion vom verzögerten Typ-IV
(DTH)

Intravesikuläre Pathogene und Kontakt-Antigene

Intrazelluläre Bakterien

Mycobacterium tuberculosis

Mycobacterium leprae

Listeria monocytogenes

Brucella abortus

Intrazelluläre Fungi

Pneumocystis carinii

Candida albicans

Histoplasma capsulatum

Cryptococcus neoformans

Intrazelluläre Parasiten

Leishmania sp.

Intrazelluläre Viren

Herpes simplex virus

Pocken

Masern

Kontaktantigene

Picrylchloride

Haarfarbstoffe

Nickelsalze

Formaldehyd

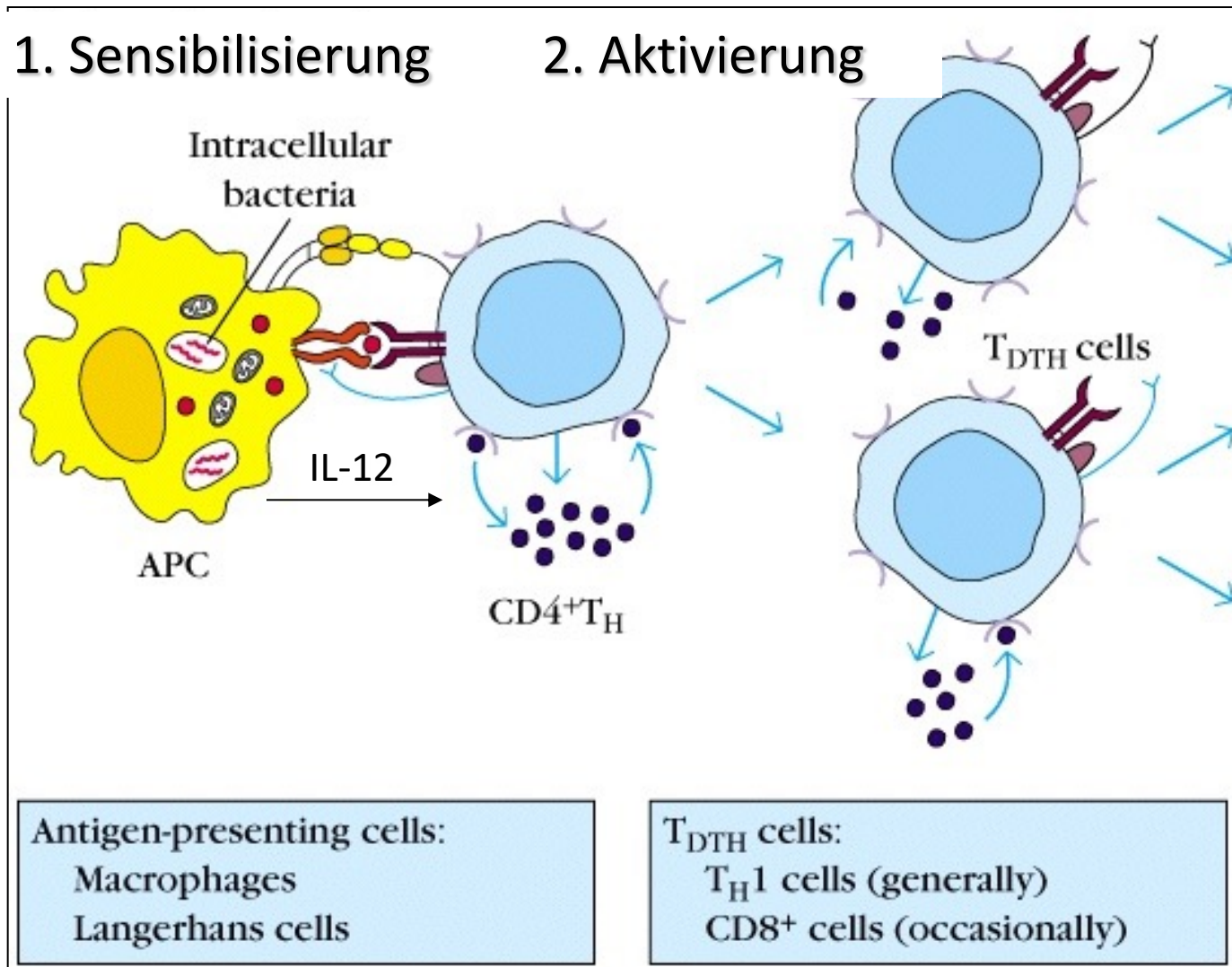
Gift-Efeu

Gift-Eiche

Phasen der Typ-IV Hypersensibilitätsreaktion

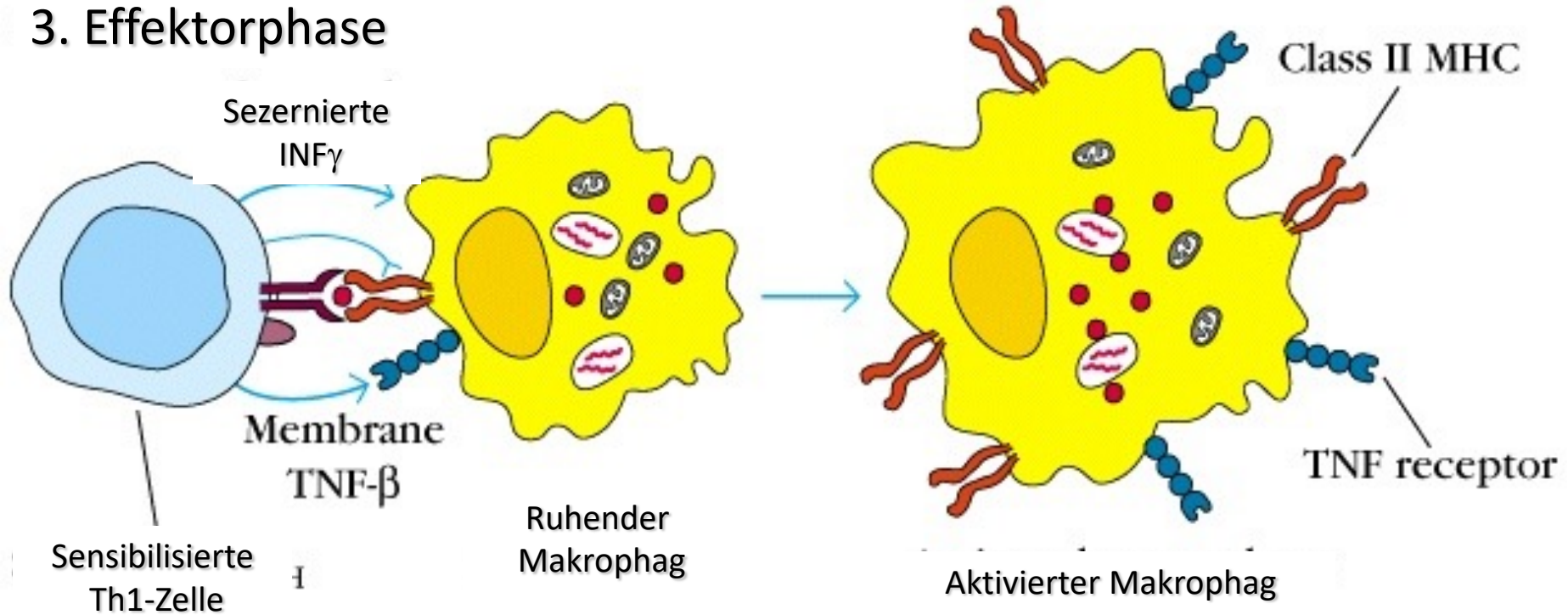
- **Sensibilisierungsphase**: dauert 1-2 Wochen nach dem Primärkontakt mit dem Antigen.
APC (meistens Makrophagen oder Langerhans-Zellen) produzieren IL-12, um Th-Zellen zu induzieren.
- **Aktivierungsphase**: Th1-Aktivierung, Proliferation, manchmal CD8+ CTL-Aktivierung.
- **Effektorphase**: der sekundäre Antigenkontakt verursacht Th1-Gedächtniszell-Aktivierung, die Zytokine sezernieren (24h), und die dann Makrophagen aktivieren (Spitze in 48-72 Stunden).
Nur 5% der Leukozyten sind T-Zellen, 95% sind unspezifisch.

1. und 2. Phase der Reaktion vom verzögerten Typ (DTH)



Nach dem zweiten Antigenkontakt

3. Effektorphase



Th1-Produkte:

Cytokines: IFN- γ , TNF- β , IL-2,
IL-3, GM-CSF

Chemokines: IL-8, MCAF, MIF

Wirkungen der Makrophagenaktivierung:

- ↑ Class II MHC molecules
- ↑ TNF receptors
- ↑ Oxygen radicals
- ↑ Nitric oxide

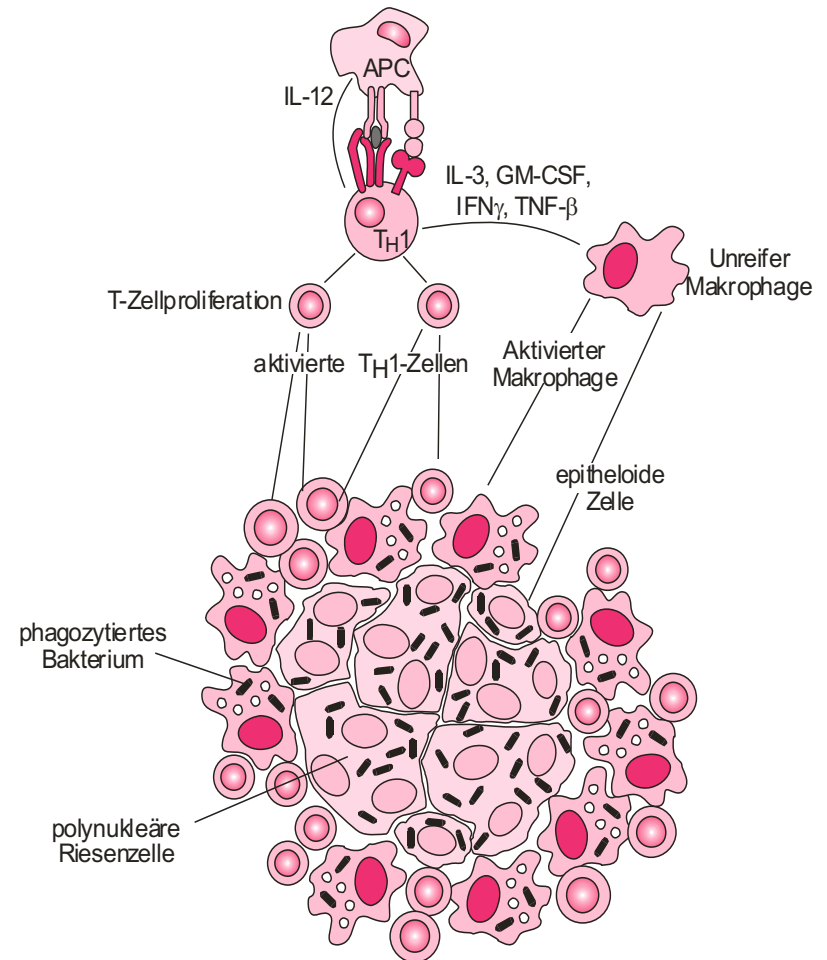
4. Phase der Hypersensibilitätsreaktion vom verzögerten Typ (Typ IV = DTH)

Granulomatosus Reaktion: wenn intravesikuläre Krankheitserreger in den Zellen überleben (persistieren), lösen eine verlängerte DTH-Antwort aus – **chronische Infektion**

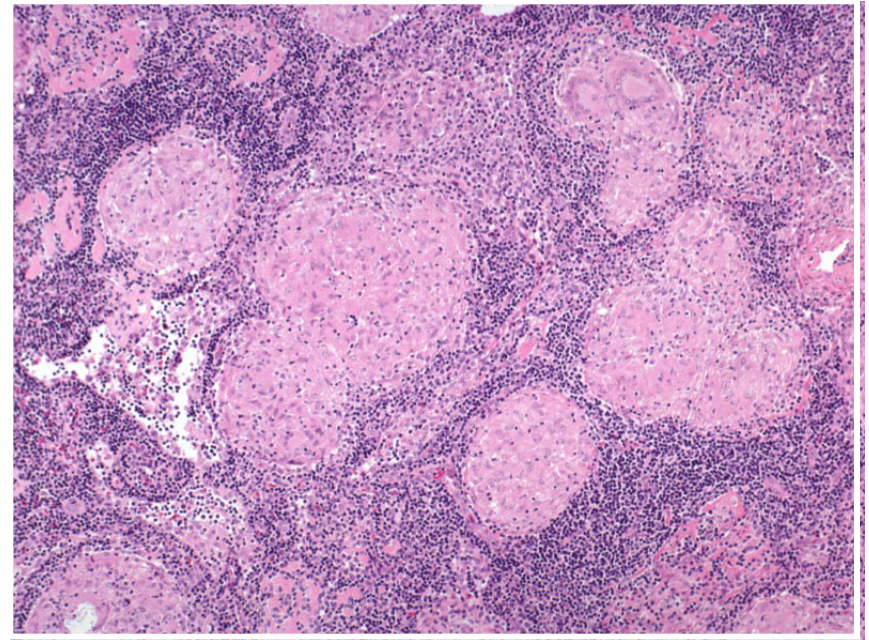
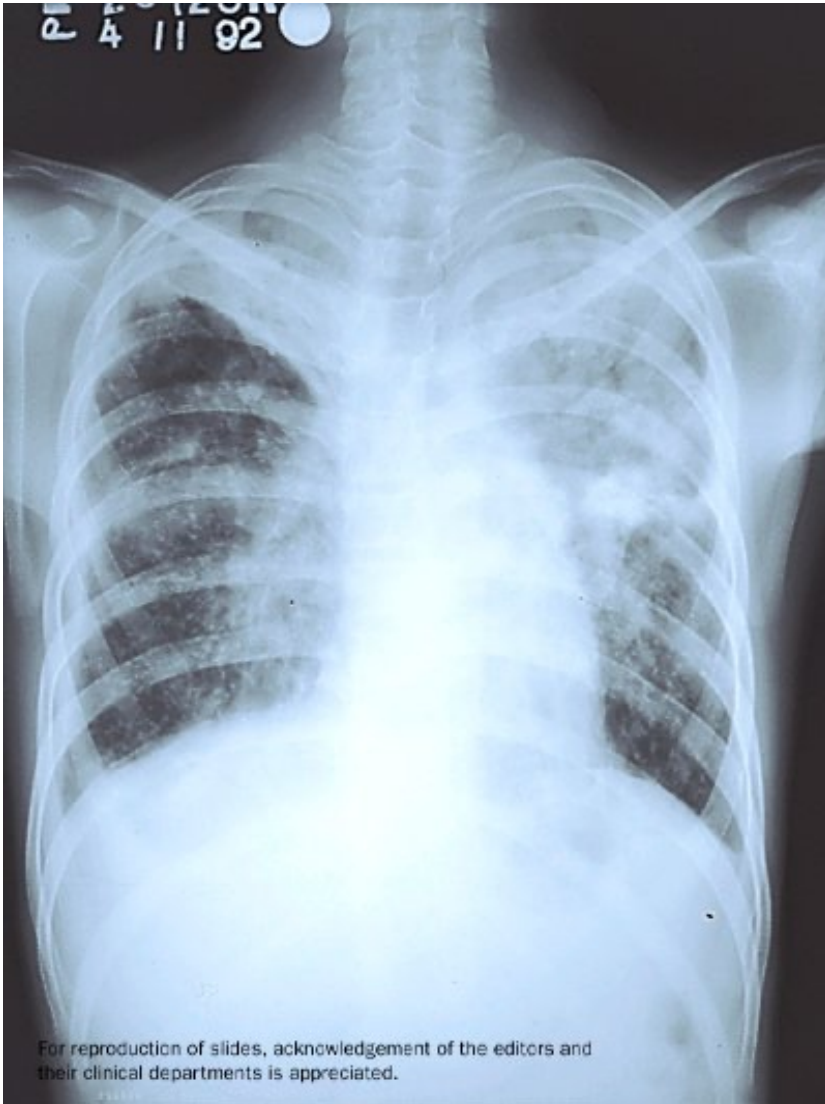
→ die ununterbrochene Makrophagenaktivierung durch kontinuierliches Zytokin- und Wachstumsfaktorproduktion führt zur Entstehung eines **Granuloms (Knötchens)**.

Riesenzelle, epitheloide Zelle
Gewebeschädigung, Necrosis, Fibrose.

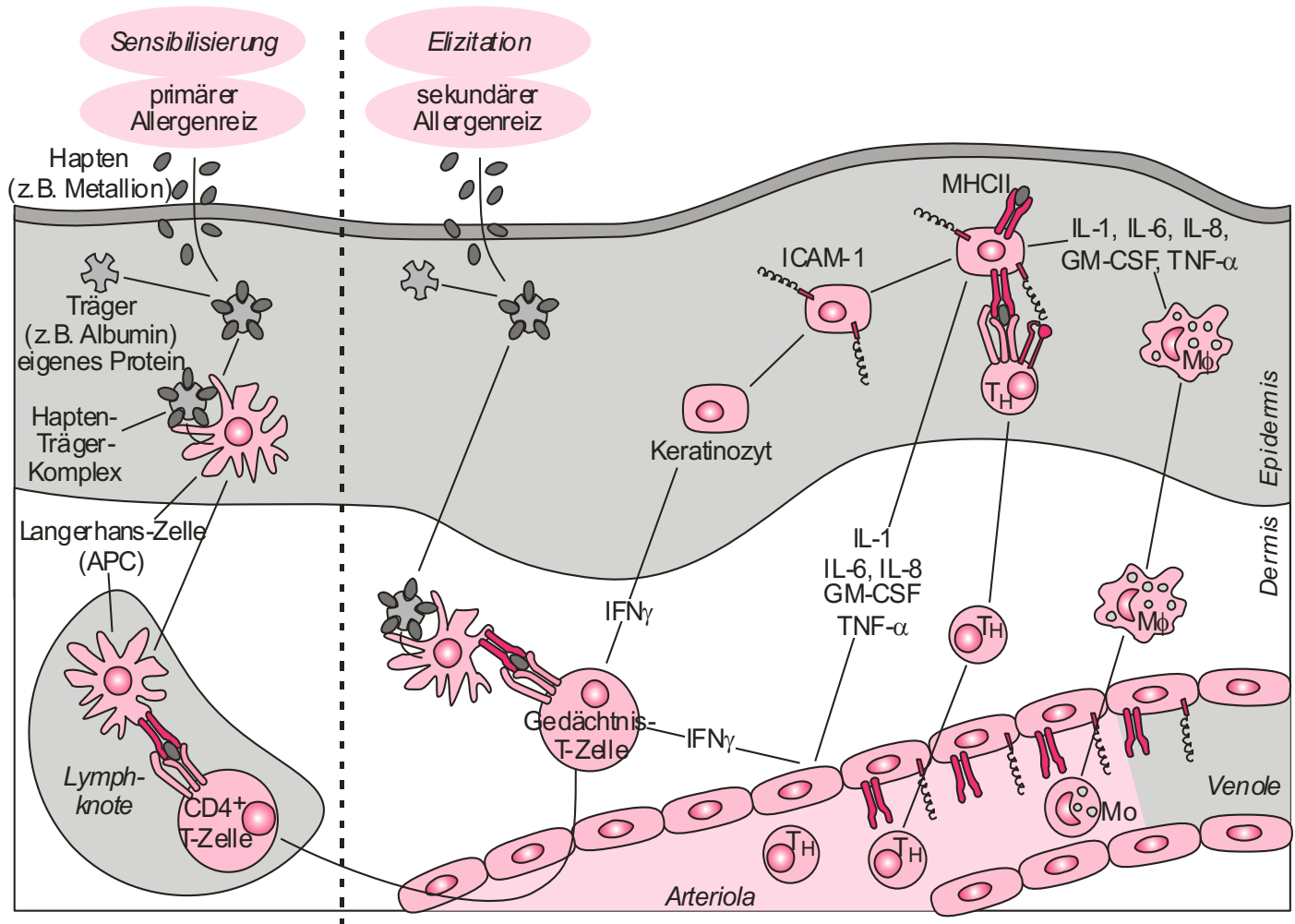
Struktur eines Granuloms



Typ IV der Hypersensibilität – Struktur des Granuloms bei Tuberkulose



Entstehung der Kontaktdermatitis, Ekzem – Typ IV der Hypersensibilitätsreaktion



Suppression der Immunantwort

Wichtige Schritte der Immunantwort

Erkennung

Aktivierung

Differenzierung

Effektor Funktion

Gedächtnis

Suppression

Hauptfaktoren der suppression

1. Antigen als Hauptregulator
2. Notwendigkeit der Co-stimulation
3. Regulatorische T-Zellen
4. Regulation der humoralen Immunantwort
 - Regulatorische B-Zellen
 - Suppression durch Antikörperfeedback
 - Anti-idiotyp Antikörper

1. Antigen als Hauptregulator

Aktiviert T- und B-Zellen

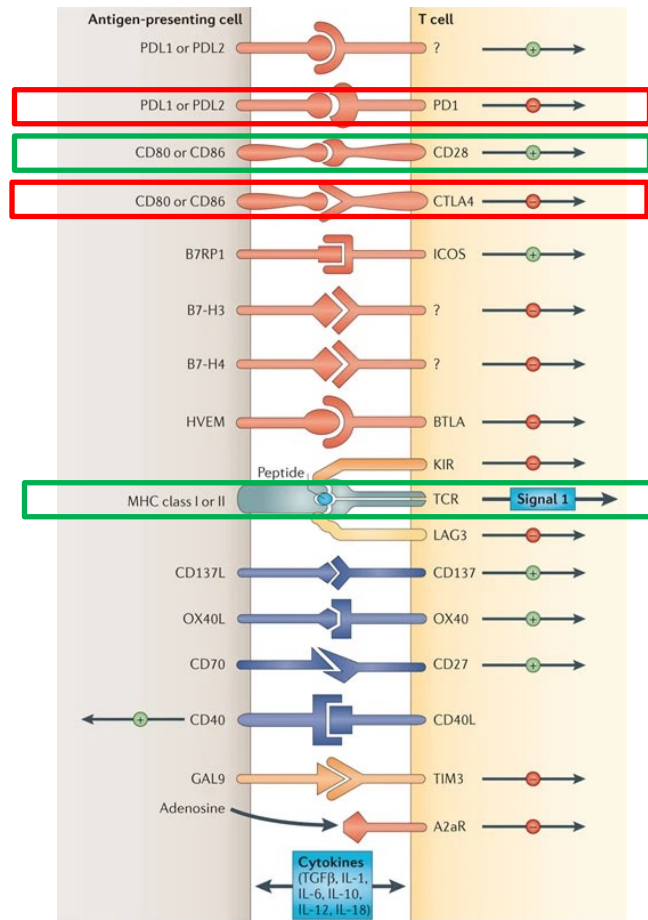
Antigen Art, Dosis und Lokalisierung beeinflussen die Immunantwort

T_H1 vs T_H2

Elimination/Entfernung des Antigens stoppt weitere Aktivierung

2. Notwendigkeit der Co-Stimulation

Antigenpräsentierende
Zelle



T-Zelle

3. Regulatorische T-Zellen

Phänotyp: CD3⁺ CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺

FoxP3 Mutation: IPEX Syndrom (immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked)

Ursprung: Thymus (natürlich) oder Peripherie (induziert)

Suppressionsmechanismen:

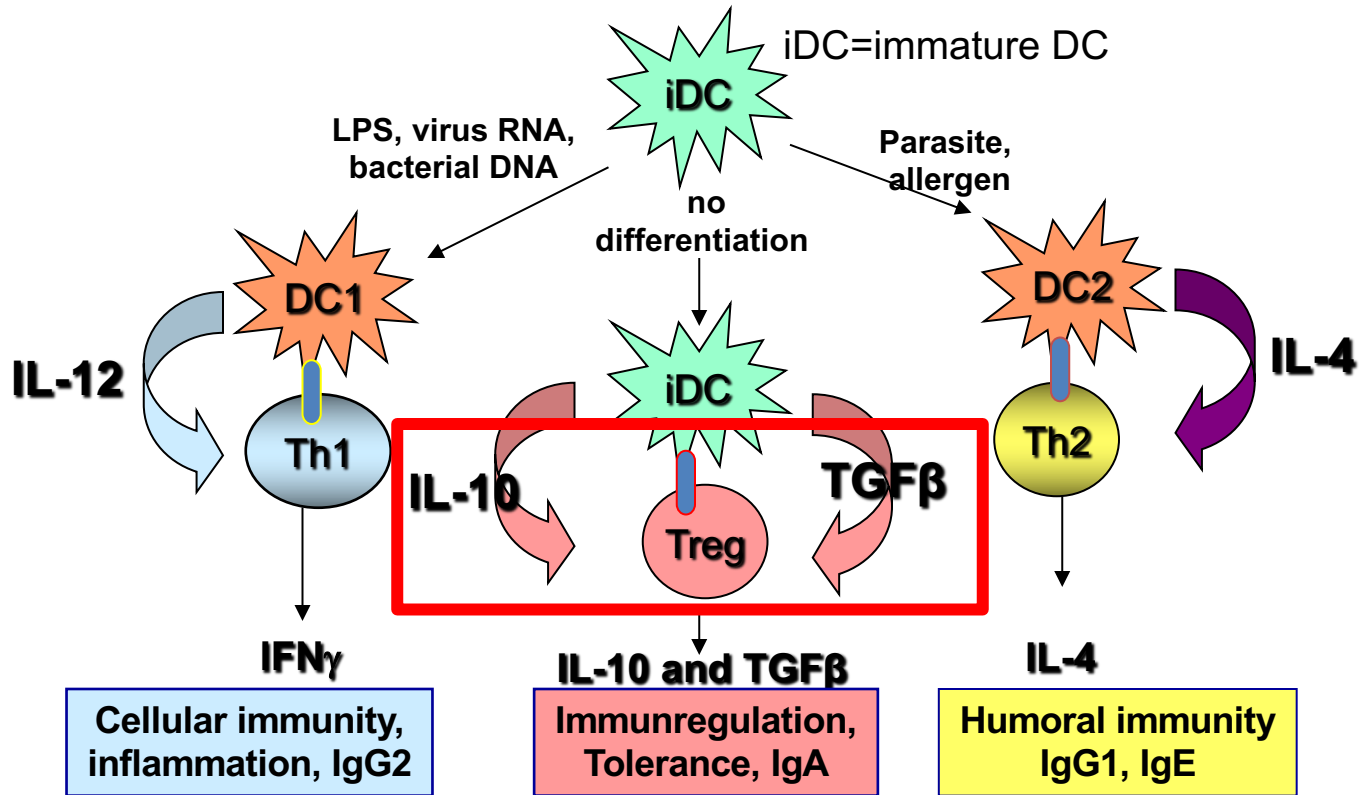
Zytokinsekretion: IL-10, TGFβ

IL-10^{-/-} Mäuse: Colitis

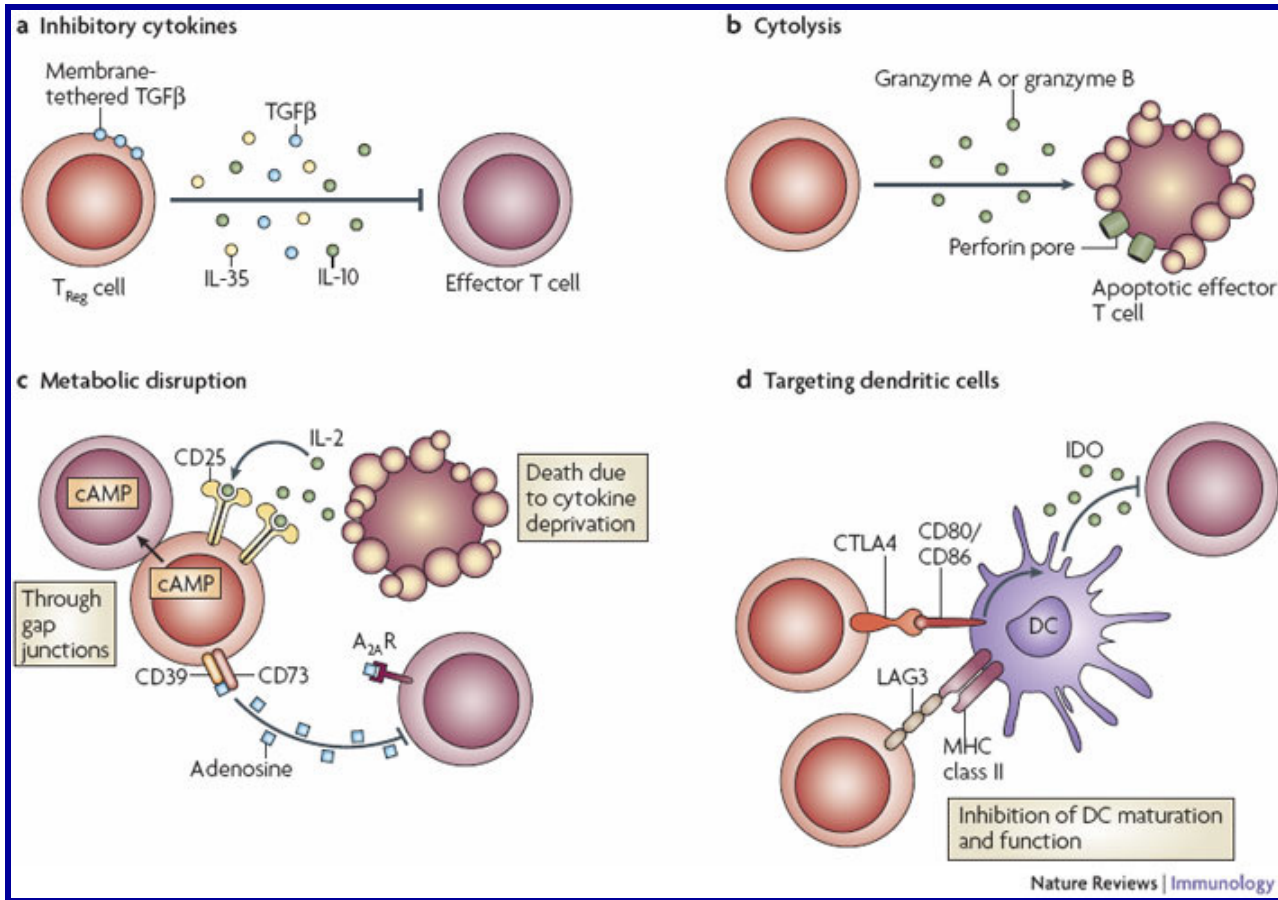
Block der Co-Stimulation durch CTLA-4

IL-2 "Verbrauch" durch IL-2Rα (CD25, hoch-affiner IL-2R)

3. Induzierte Regulatorische T-Zellen



3. Regulatorische T-Zellen: Mechanismen



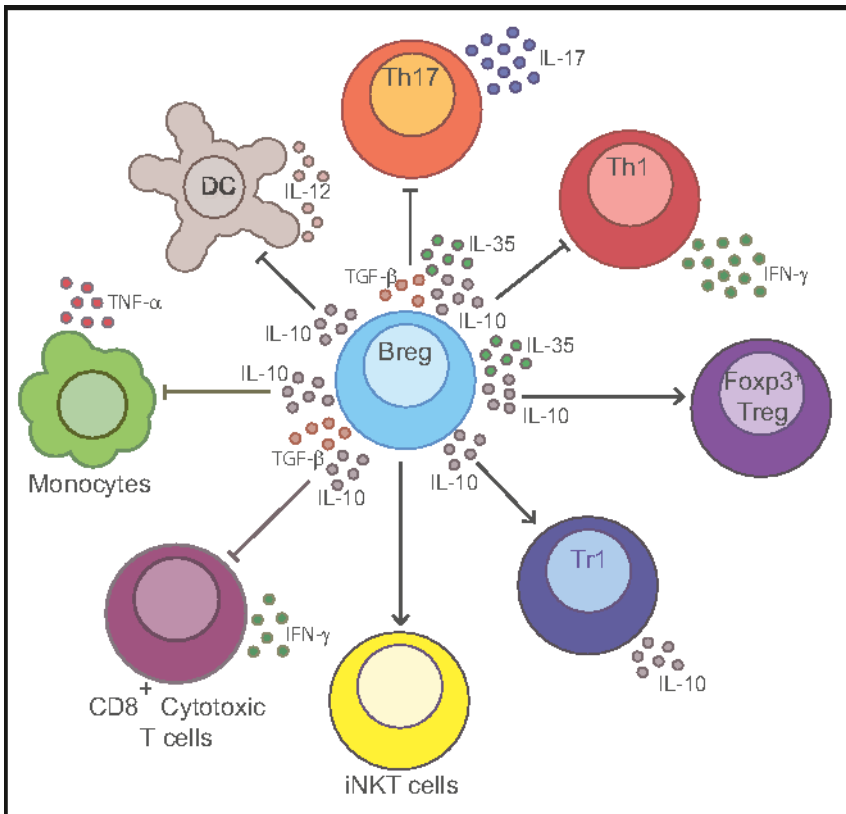
4. B-Zell Suppression

4.1 Regulatorische B-Zellen (B_{reg})

4.2 Suppression durch Antikörperfeedback

4.3 Anti-Idiotyp Antikörper

4.1 Regulatorische B-Zellen



B_{reg} Zellen produzieren **IL-10**, **IL-35**, und **TGF-β**

Verhindern die Vermehrung pathogener T-Zellen und anderer pro-entzündlicher Lymphozyten

Fördern T_{reg} Zellen

Noch kein definitives Phänotyp identifiziert

4.2 Suppression durch Antikörperfeedback

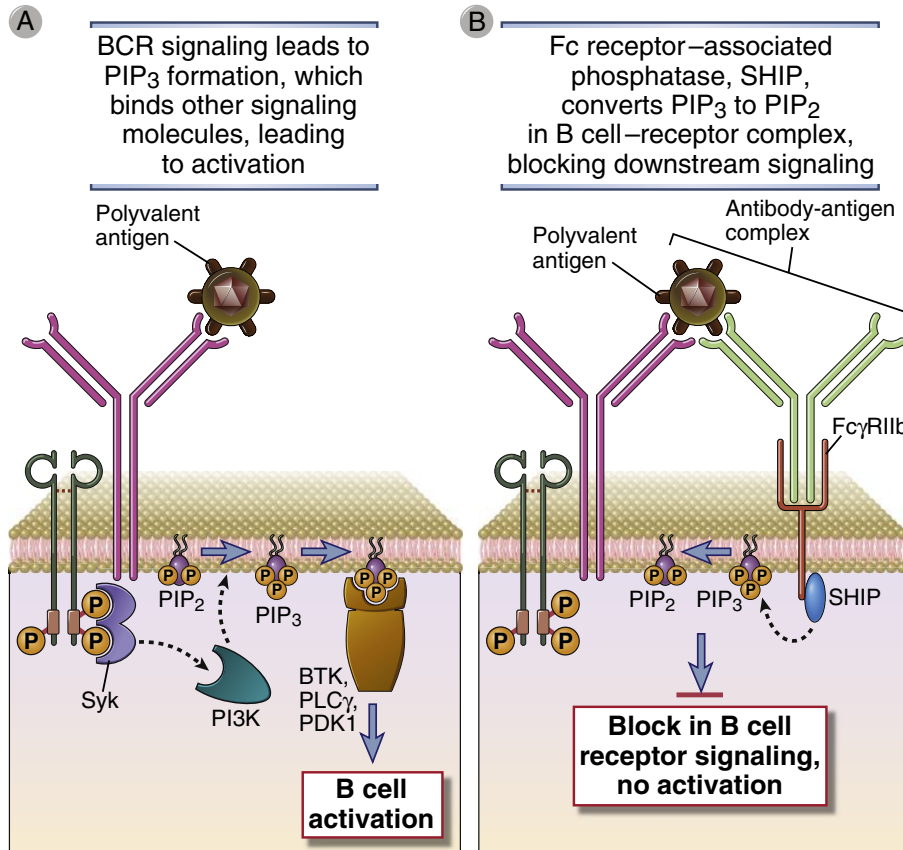


Fig 12-21

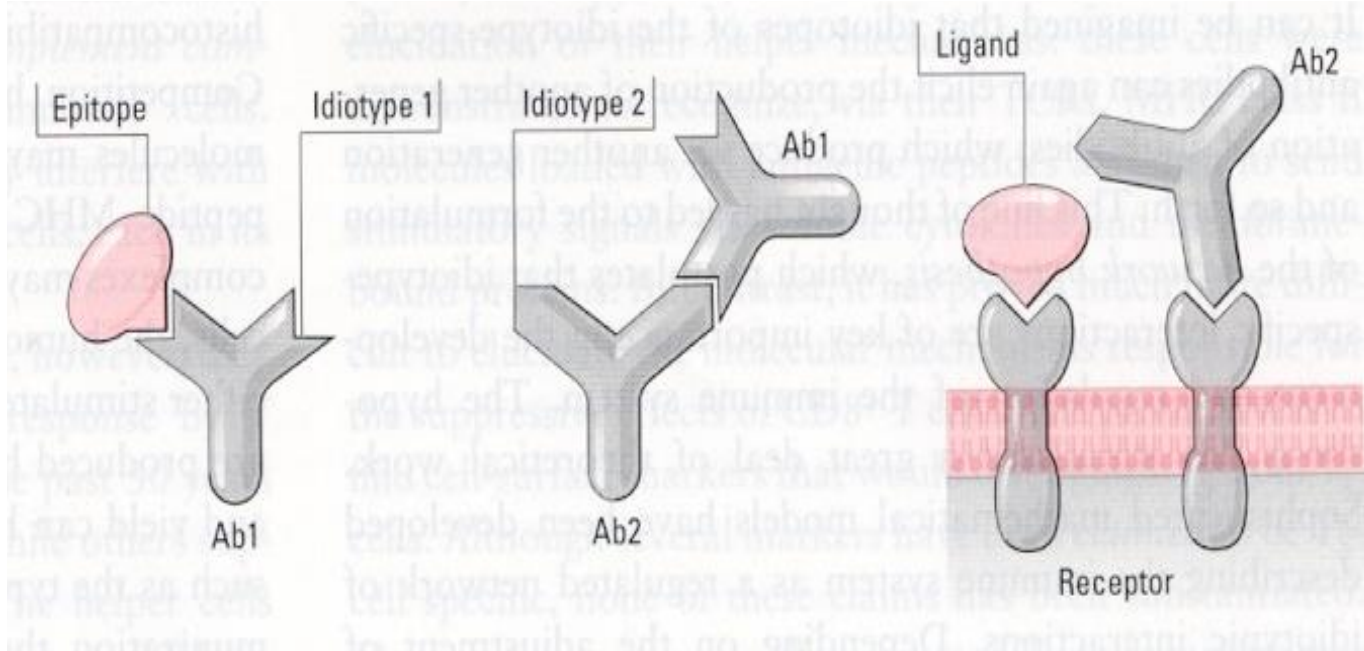
Der hohe Antikörperspiegel blockt weiter B-Zell Aktivierung

IgG + Antigen Immunkomplex inhibiert B-Zell function durch binding zu Fc γ RIIb

(IgM + Antigen Immunkomplex fördert weitere B-Zell Aktivierung!)

4.3 Anti-idiotyp Antikörper

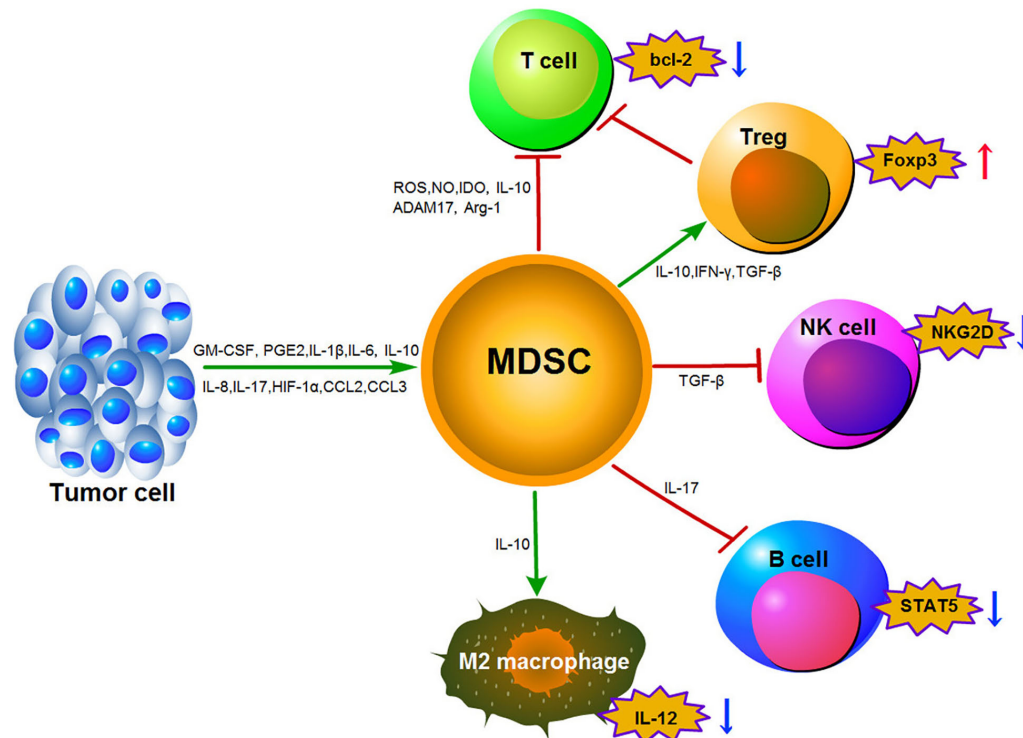
Netzwerk Hypothese (Niels Jerne): Suppression durch Antikörper



Funktion:

- Suppression von B- und T-Zellen
- Bildung des funktionellen Gedächtnis
- Biologisches mimicry (insulin – anti-insulin – anti-anti-insulin)

+1a: Pathologische Suppression: Myeloid Derived Suppressor Cells

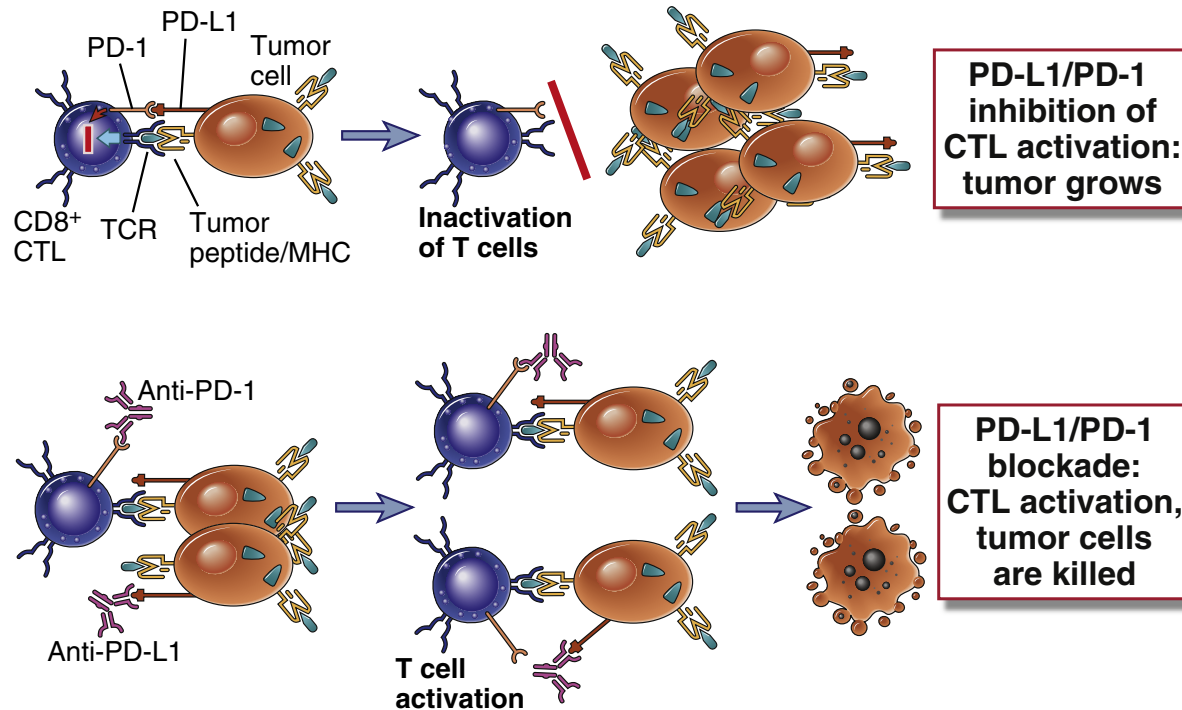


Yin K et al 2020. *Front. Oncol.* 10:610104. doi: 10.3389/fonc.2020.610104

Das Tumormikroumgebung induziert die Differenzierung von MDSCs aus verschiedenen myeloiden Zellen (Neutrophilen, Monozyten, Dendritische Zellen)

MDSCs unterdrücken die antitumorale Immunantwort und fördern das Tumorstadium

+1b: Pathologische Suppression: Tumoren hemmen T-Zellen über immunologische Checkpoints



Tumoren exprimieren hemmende Moleküle, die zur Blockade der Aktivierung von T-Zellen führen (siehe Folie #7)

Die gezielte Hemmung dieser Inhibitoren ist ein vielversprechender Bereich Der Tumormimmuntherapie
(*Nobelpreis für Physiologie oder Medizin, 2018, James P Allison und Tasuku Honjo*)

Regionale Immunität: *MALT, SALT*

Regionales Immunsystem

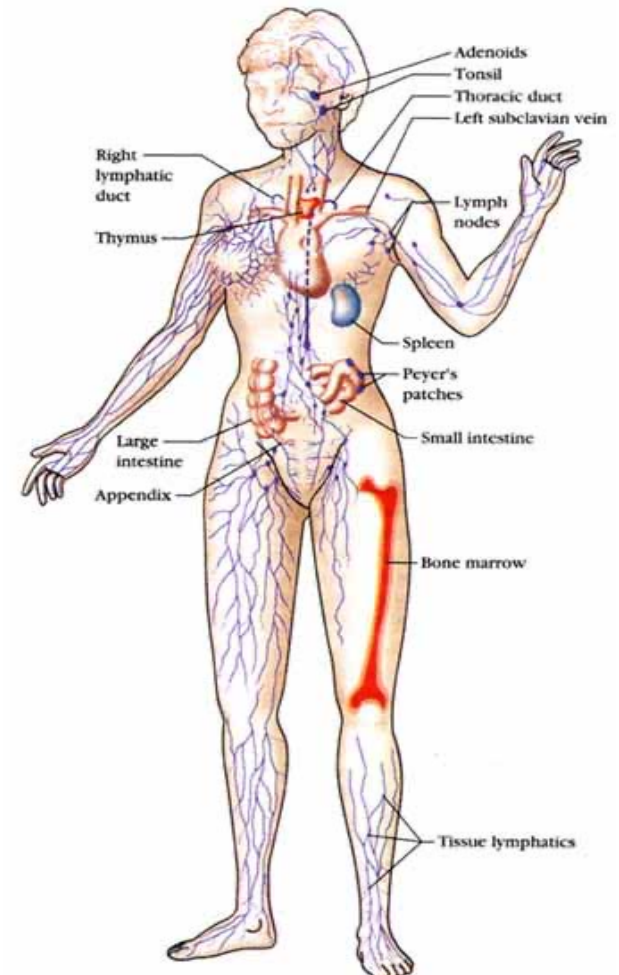
Die Ansammlung von *Immunzellen* und *Molekülen* mit speziellen Funktionen an einer bestimmten anatomischen Stelle

Gastrointestinal tract

MALT: Mucosa Associated Lymphoid Tissue

Cutaneous immune system

SALT: Skin Associated Lymphoid Tissue



Schleimhautassoziiertes lymphatisches Gewebe (MALT)

Mukosa (Schleimhaut)-assoziiertes lymphatisches Gewebe (MALT)

GALT: Mukosa des Darmtraktes (gastrointestinaler Trakt)

NALT: Nasal-associated lymphoid tissue

BALT: Mukosa in den Bronchien (respiratorischer Trakt) -

UALT: urogenitaler Trakt

Darm

Große Oberfläche: 200 m²

~5x10¹⁰ Lymphozyten (Blut: 10¹⁰)

Reisige Menge an Mikroben: 10¹⁴

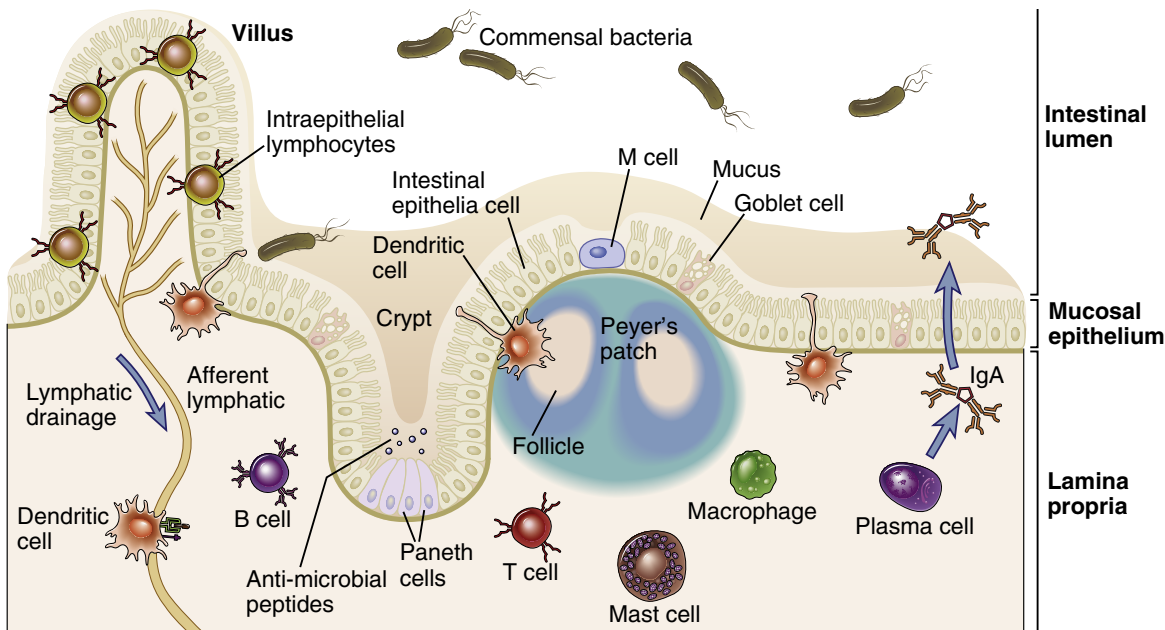
Riesige Menge von harmlosen (und wichtigen!) Fremdmaterialien: Nahrung und Mikroben

Kleine Menge an Erregern

Das Immunsystem muss die wenigen gefährlichen Krankheitserreger in der großen Menge harmloser Antigene finden

Empfindliches Gleichgewicht zwischen Toleranz und Abwehr

Intestinale Lymphgewebe



Spezielle Strukturen

M-Zellen

Migrierende APCs

Peyersche plaques

IgA

Effektor Zellen: T Zellen, innate

lymphoide Zellen (ILCs), NK

Zellen, MAIT Zellen,

Makrofagen, Granulozyten,

Mast Zellen

Fig 14-1

Lymphgewebe im Gastrointestinal Trakt

Organisiertes MALT (O-MALT)

Antigen Erkennung, Aktivierung der Immunantwort

"Programmiertes" Lymphgewebe: entwickeln sich in utero

Peyerscher Plaque, Mandeln

"Induktives" Gewebe: entwickeln sich nach der Geburt, abhängig von Antigen Menge

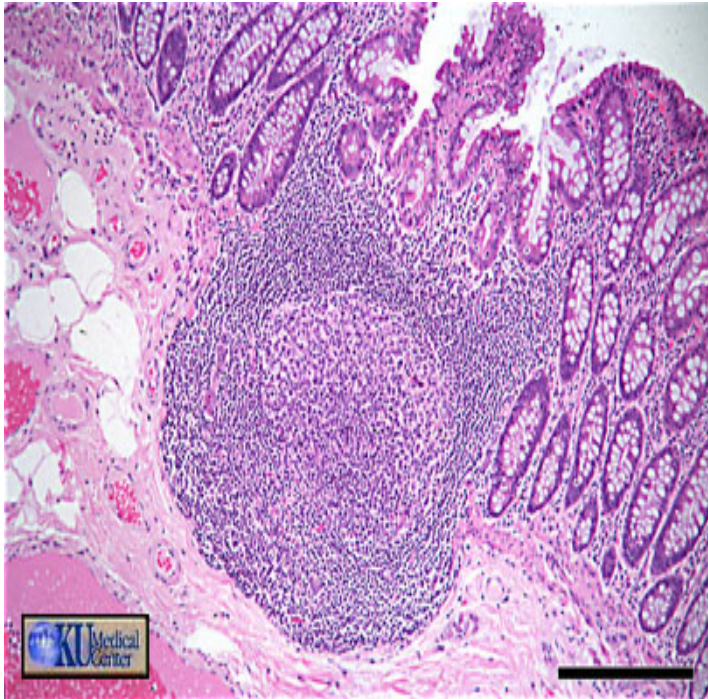
Cryptopatch - isolated lymphoid follicle spectrum

Diffuses MALT (D-MALT)

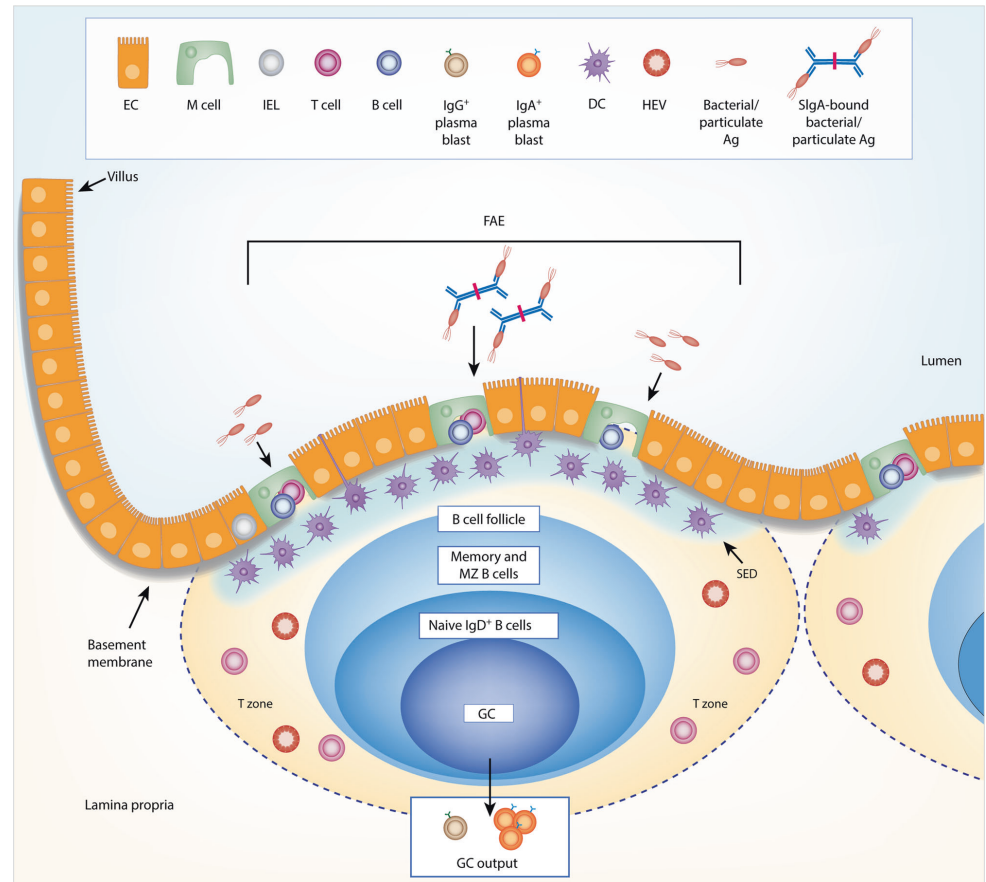
"Effektor Gewebe"

Gedächtnislymphozyten, Plasmazellen

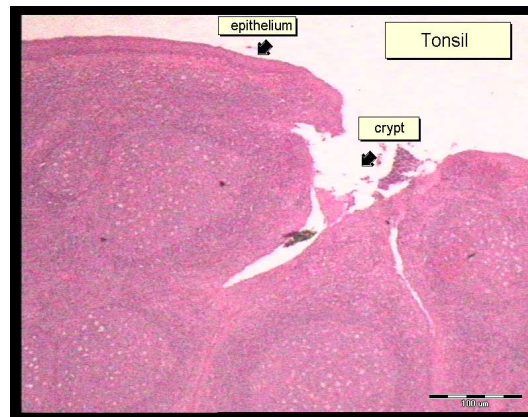
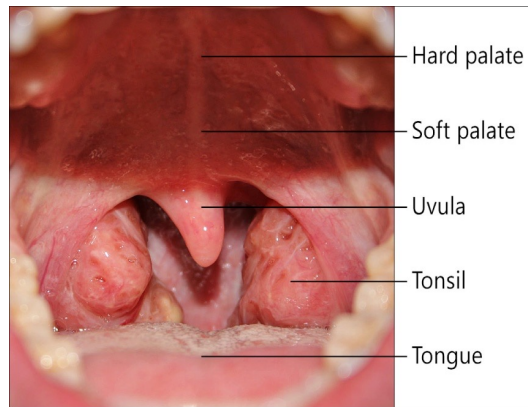
Programmiertes Lymphgewebe: Peyersche Plaques



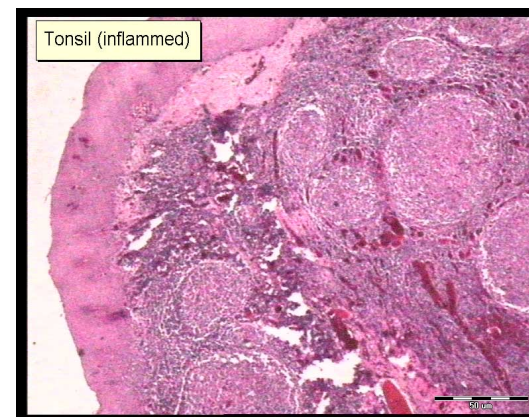
SED: Subepithelial dome
 FAE: Follicle associated epithelium



Programmiertes Lymphgewebe: Mandeln

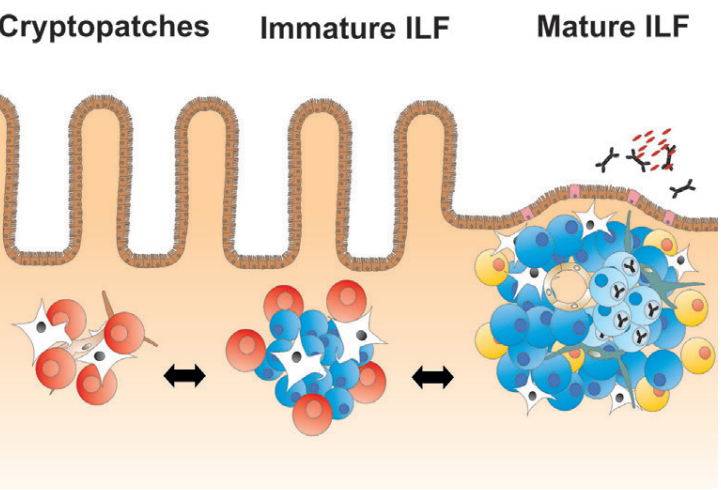


Normal tonsil



Inflamed tonsil

SILT (Solitary intestinal lymphoid tissues): induzierbar und dynamische Bestandteile des MALT

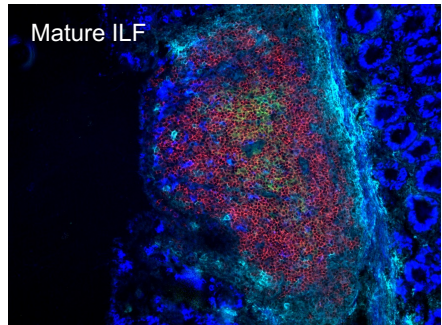
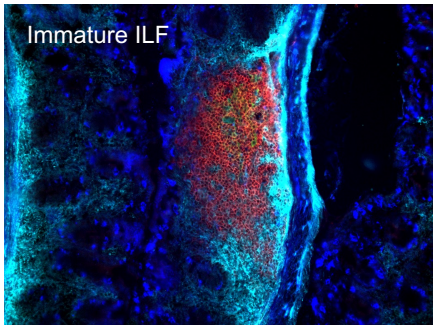
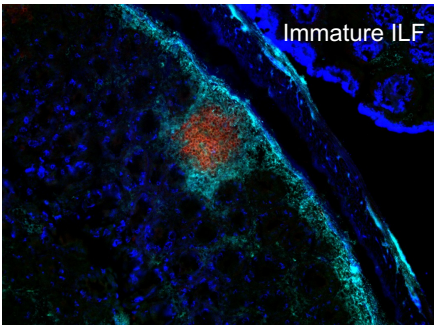
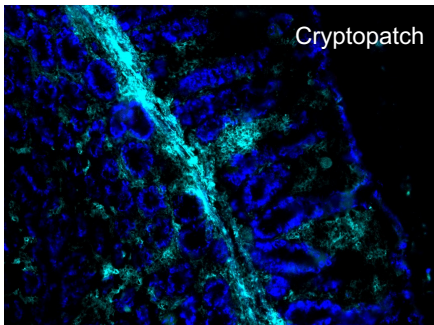


ILF: Isolated lymphoid follicle
 LTi: Lymphoid tissue inducer cell

Geringe Antigenbelastung: das Spektrum verschiebt sich hin zu Kryptopatches
 Hohe Antigenbelastung: das Spektrum verschiebt sich hin zu ILFs

- Epithelial cells
- LTo cells
- Follicular Dendritic cells
- Dendritic cells
- B-Lymphocytes
- Dimeric IgA
- M cells
- LTi cells
- HEV
- T-Lymphocytes
- IgA plasma cells
- Bacteria

Buettner M and Lochner M (2016) Development and function of secondary and tertiary lymphoid organs in the small intestine and the colon. Front Immunol.



LTi+T cells/B cells/FDCs/GC reaction

Angeborene Immunität des intestinalen Immunsystems: Epithelzellen

Epithelzellen/Enterozyten

Becherzellen: Mukus Sekretion

mukus: innere (dichte) und äußere (weniger dichte) Schicht

Antigen "sampling..."

Paneth Zellen: anti-mikrobielles Peptid (AMP) Sekretion (defensins, REGIII)

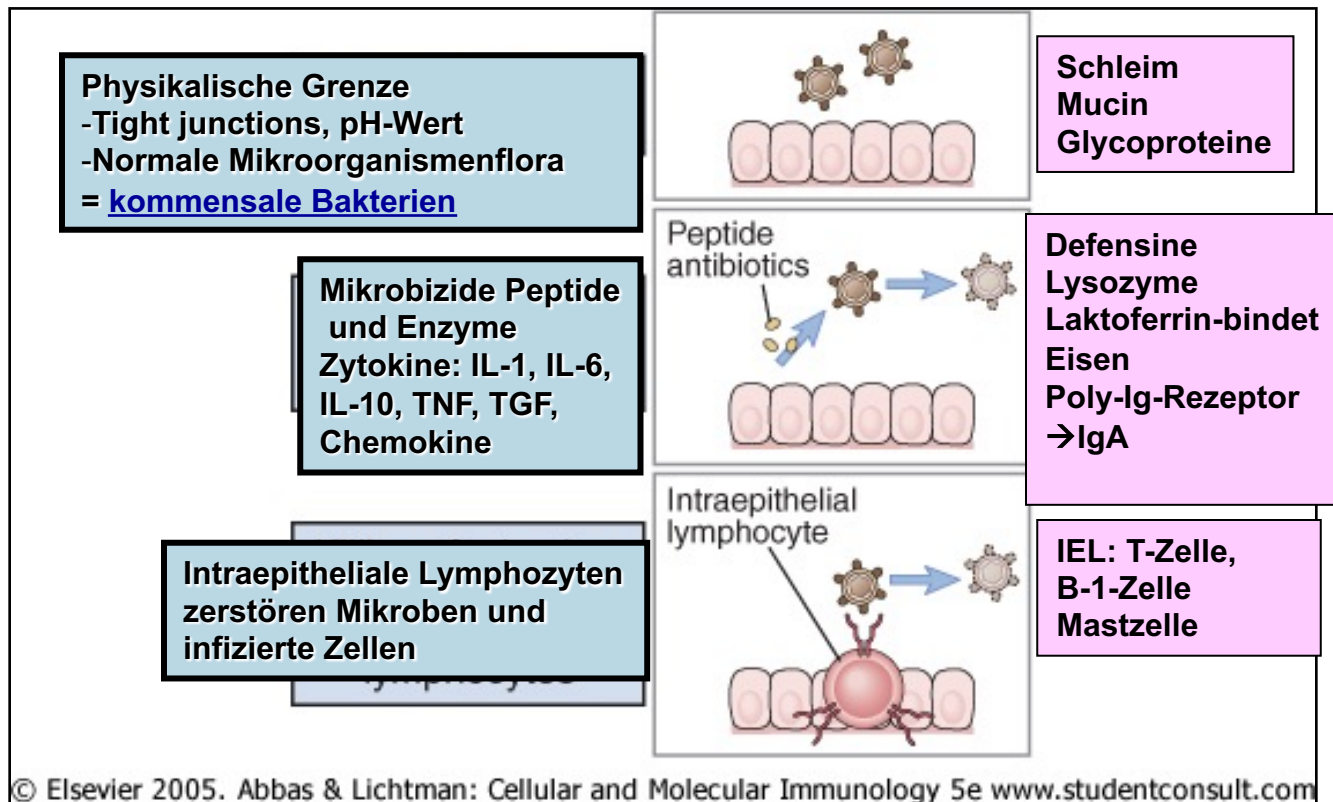
M-Zellen: Antigenen transportieren

...alle sind abgeleitet von Intestinal (epithelial) Stammzellen (ISC)

Epithelzellen exprimieren PRRs (TLRs, NLRs)

Können entweder Entzündung oder Toleranz auslösen

Rolle der epithelialen Barrieren: Prävention der mikrobiellen Kolonisation



M-Zellen transportieren Antigenen aus dem Lumen zur APCs

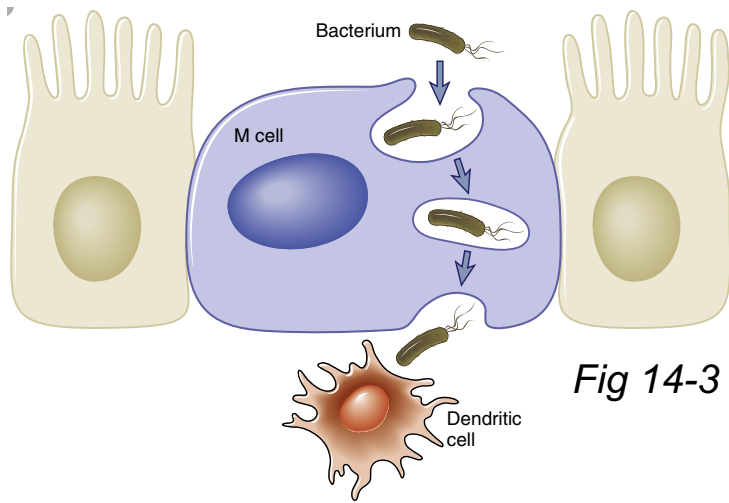
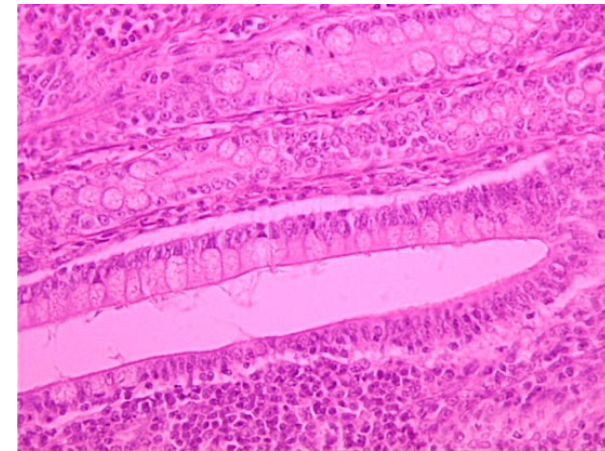
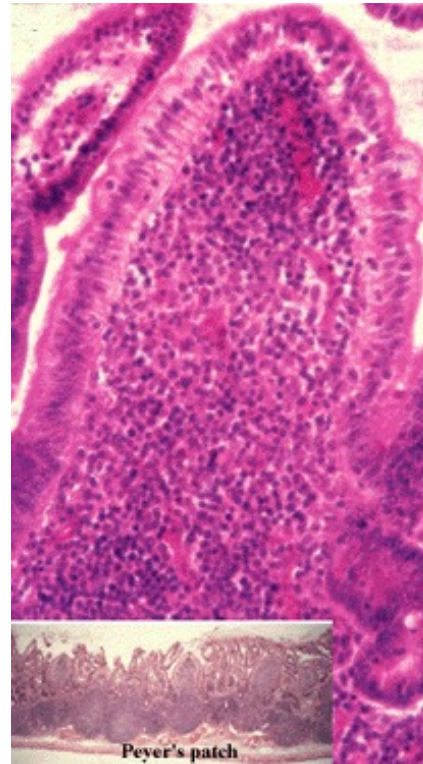


Fig 14-3

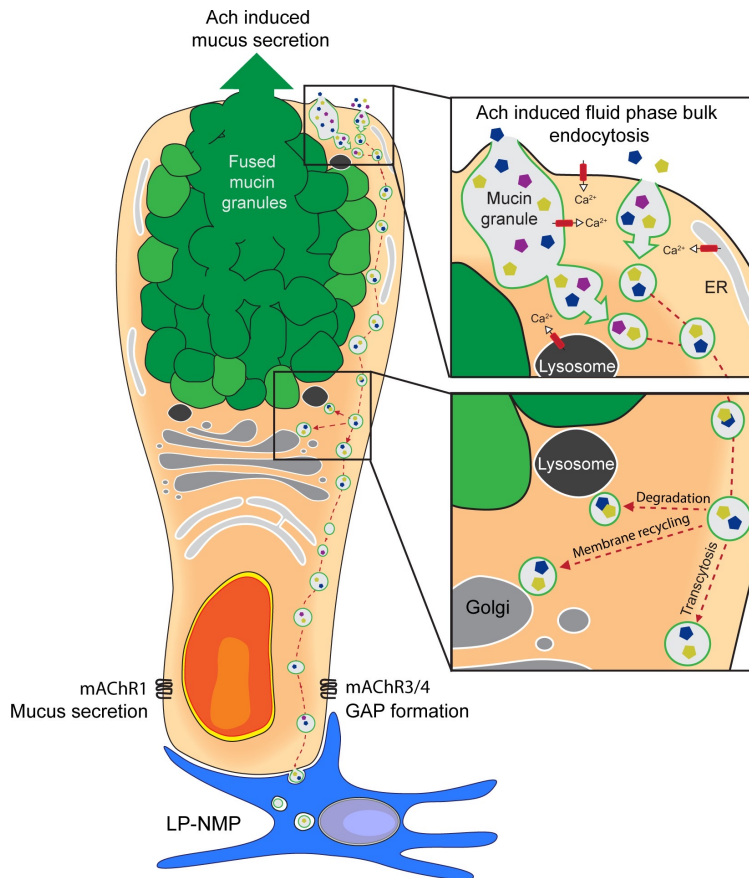
Abbas, Lichtmann and Pillai. Cellular and Molecular Immunology. 8th edition.
Copyright © 2015 by Saunders, an imprint of Elsevier, Inc

(Keine Antigenpräsentation!)



M cell region

Becherzellen: nicht nur Schleimsekretion...



GAP: Goblet cell associated Antigen Passages

Transport luminal Antigene zu darunter liegenden mononukleären Phagozyten

Innate Immunität des intestinalen Immunsystems

Dendritische Zellen, Makrophagen

Antigenpräsentation in mLNs

Fördern die Toleranz (IL-10, TGF β)

DCs: exprimieren retinal dehydrogenase \rightarrow sezernieren Retinsäure \rightarrow induziert Homing in die Schleimhäute

Innate lymphoide Zellen

Lymphoide Zellen (Ursprung), aber sie exprimieren keine Antigenrezeptoren

Sezernieren Zytokinen

ILC1: NKs + non-cytotoxic ILC1s

ILC2: Immunantwort gegenüber Helminthen, Allergie (IL-5, IL-13)

ILC3: Schleimhaut Heilung (IL-22), Entzündung (IL-17a) (+ LT α i cells)

Charakteristika der durch MALT generierten humoralen Immunantwort

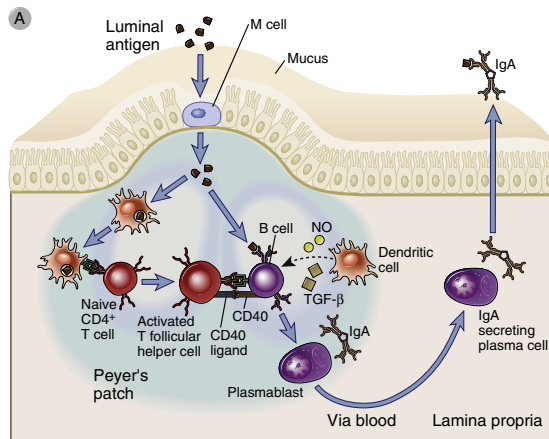
IgA

~2g IgA sezerniert täglich

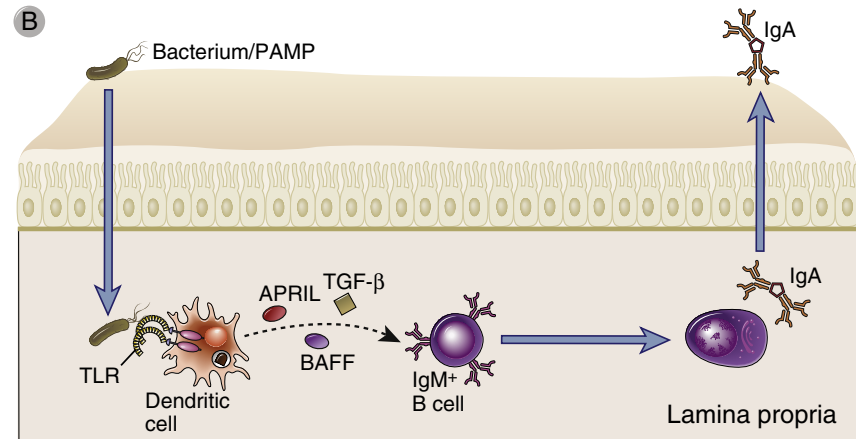
TGF β (produziert von Epithelzellen, DCs, Tregs) induziert IgA Isotypwechsel

Neutralisation: verhindert Translokation durch die Epithelschicht

Dimer



T-dependent IgA production



T-independent IgA production

Fig 14-7

IgA ist durch Epithelzellen auf die Mukosaoberfläche transportiert

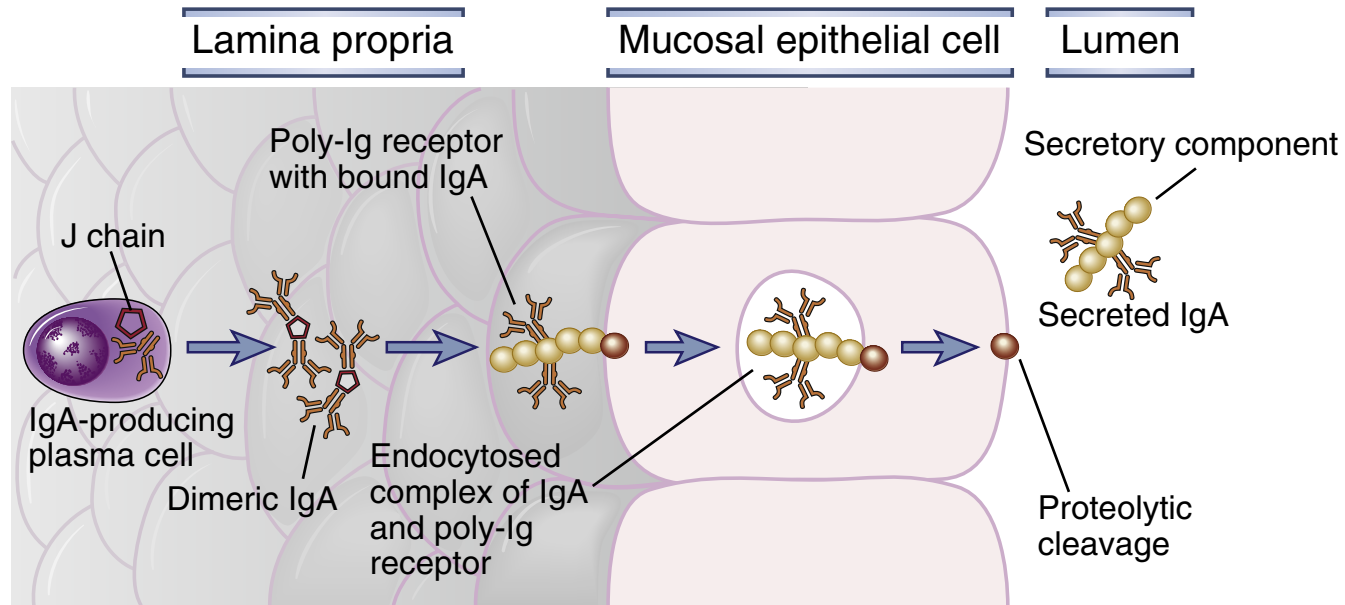


Fig 14-8

Charakteristika der durch MALT generierten humoralen Immunantwort

- Bildung von IgA-Antikörpern: IgA1 im Serum, IgA2 in den Sekreten
- IgA1 – wird durch Asialoglycoprotein-Rezeptoren der Hepatozyten in die Galle sezerniert – Immunabwehr des oberen Gastrointestinaltraktes
- IgA2 → pFcR-Bindung
- Opsonisierung → FcR von Granulozyten, Makrophagen → Phagozytose
- Komplementaktivierung → Bakteriolyse

Homing zu mukosalen Lymphgewebe

	Endothelium	Leukozyt
Adhesion molecule	MAdCAM-1	$\alpha 4\beta 7$
Chemokine	CCL25	CCR9
	CCL28	CCR10

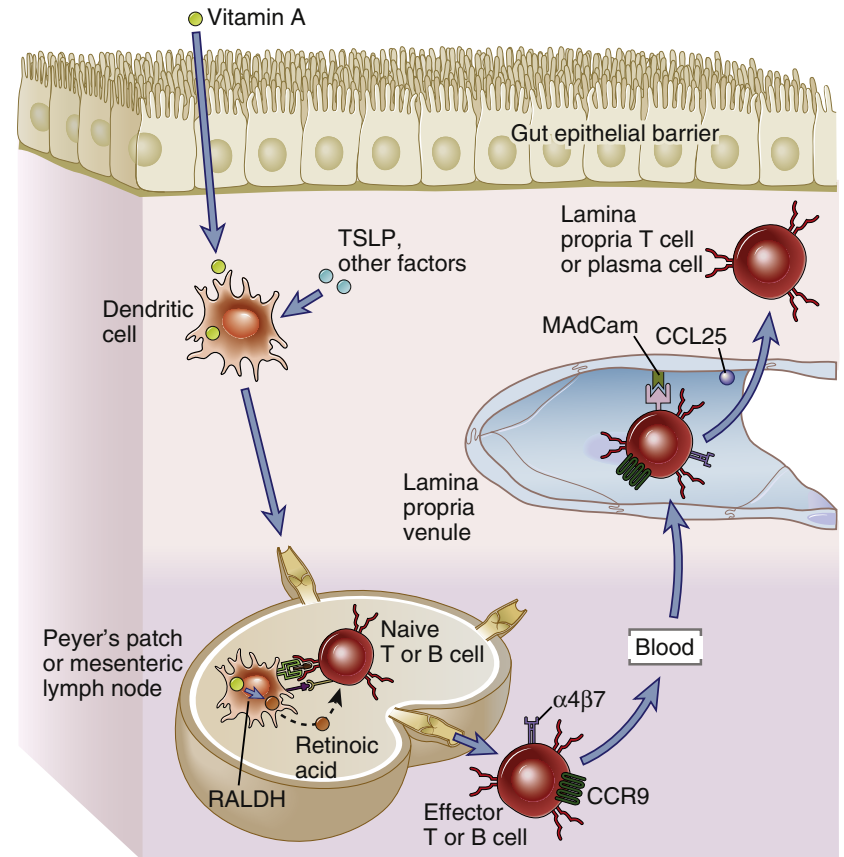


Fig 14-5

Effektor- Lymphozyten wandern zum MALT

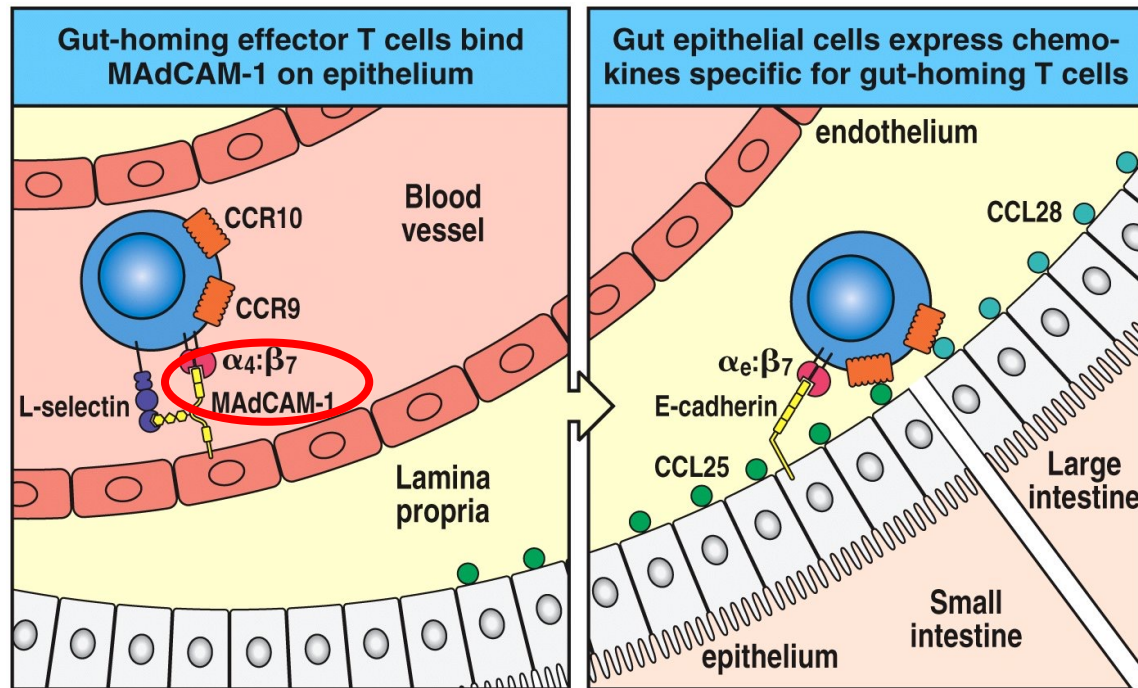
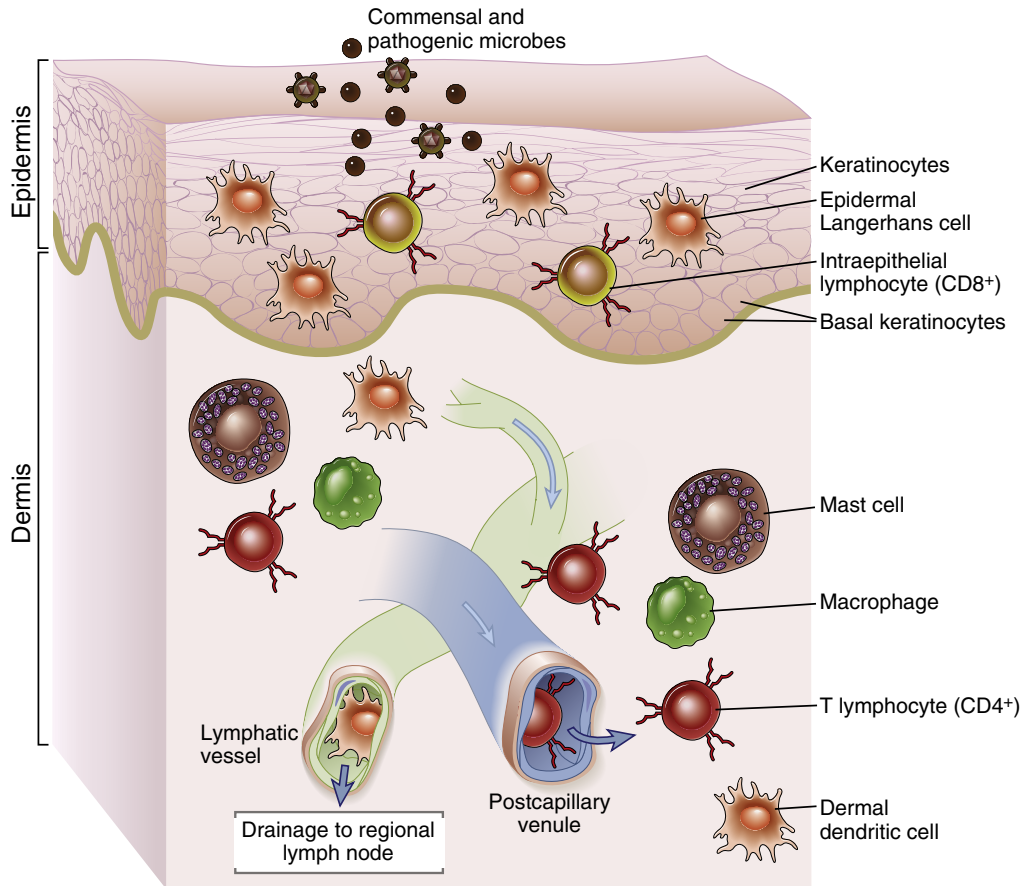


Figure 10-21 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Kutanes Immunsystem



2m²
~2x10¹⁰ Lymphozyten
Physische Barriere

Sonnenbrand
Mikroben
Träumen

Fig 14-9

Zellen des Haut-Immunsystems

Keratinocyten

Physische Barrier

Zytokinen: TNF, IL-1, IL-6, IL-18, IL-25, IL-33 (inflammation); IL-10 (regulation)

Chemokinen: CCL27

Wachstumsfaktoren: PDGF, FGF, GM-CSF

Anti-mikrobielles Peptiden: defensins, cathelicidins

Aktivierung: durch PRRs (TLRs, NLRs)

Dendritische Zellen

Langerhans Zellen

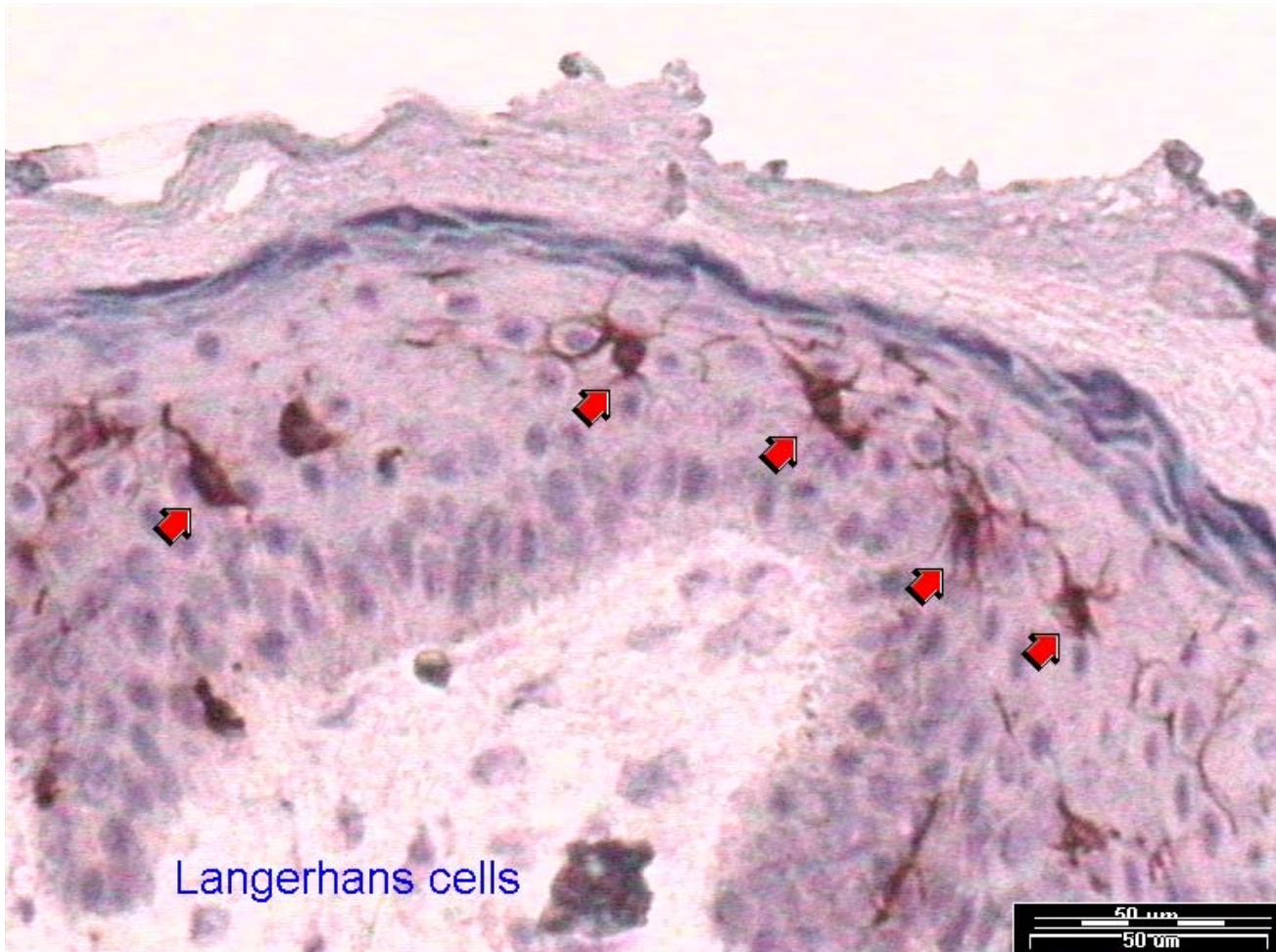
Migrate to regional lymph nodes following phagocytosis of antigens

Present antigens to T cells, imprint skin-homing properties

T-Zellen

Intraepidermal: mainly CD8⁺ or $\gamma\delta$ T cells

Dermal: CD4⁺ (T_H1, T_H2, T_H17, T_{reg}), mostly memory T cells



Homing zur Haut

	Endothelium	Leukozyt
Adhesion molecule	E-selectin	CLA
Chemokines	CCL17	CCR4
	CCL1	CCR8
	CCL27	CCR10

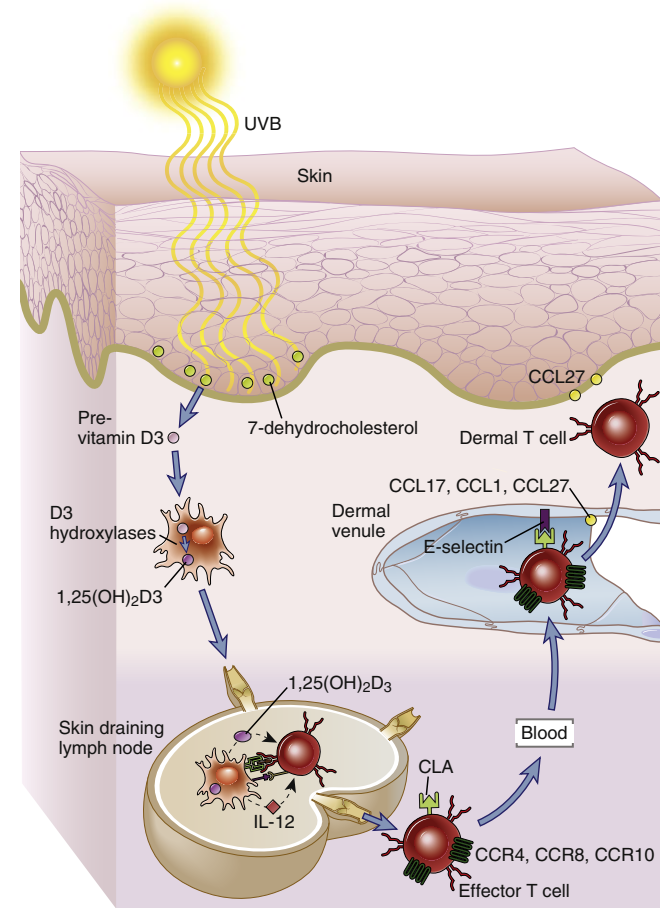


Fig 14-9

Dichotomie des Immunsystems

