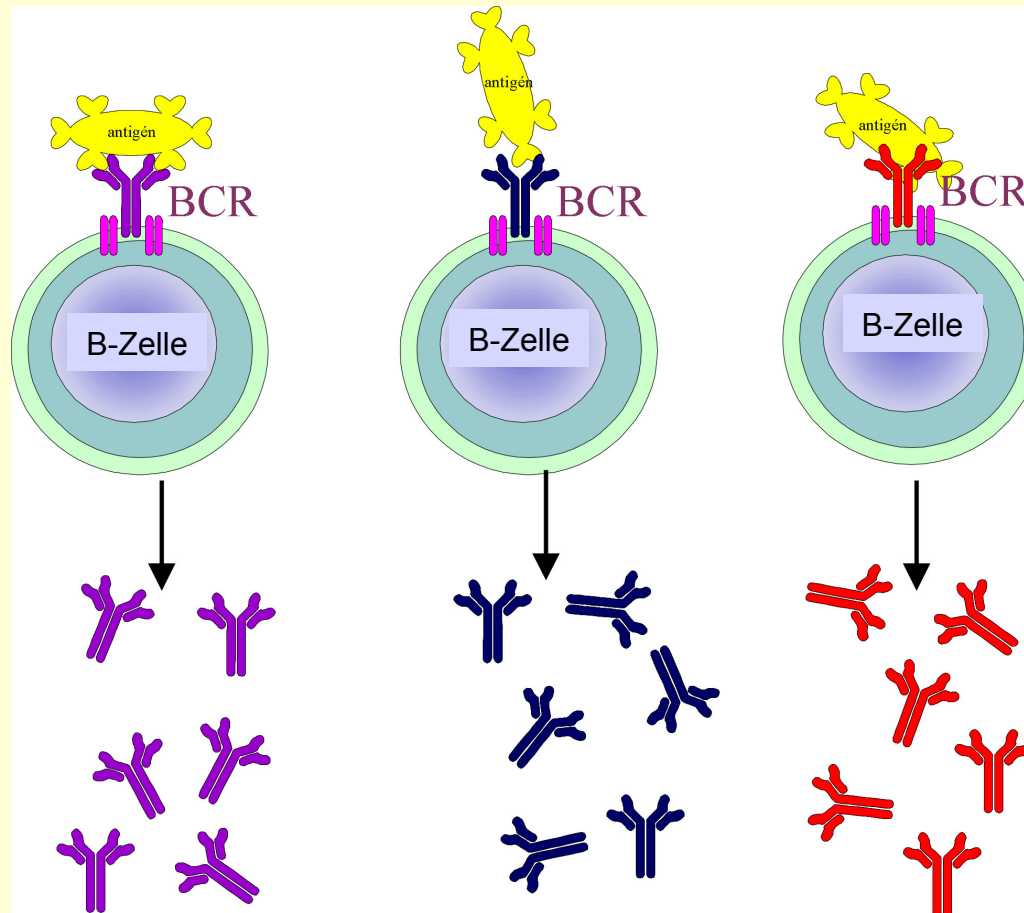


# **Grundlagen der Immunologie**

## ***7-8. Vorlesung***

- **Genetik der Immunglobuline, Organisation und Exprimierung der Antigenrezeptorgene**
- **Zentrale B-Zell-Differenzierungsprozesse**
- **Die zentrale (thymische) T-Zell-Entwicklung.**

# Antikörper – B-Zell-Repertoire: $10^{11}$



**Tonegawa** (Nobelpreis: 1987)

Bei der B-Zellreifung werden die somatischen Immunglobulingene **umgeordnet** und führen **somatische Hypermuation** durch.

Im Verhältnis zum großen Repertoire werden relativ wenige Ig-V Gene vererbt.

# Ziel der Lymphozytenreifung

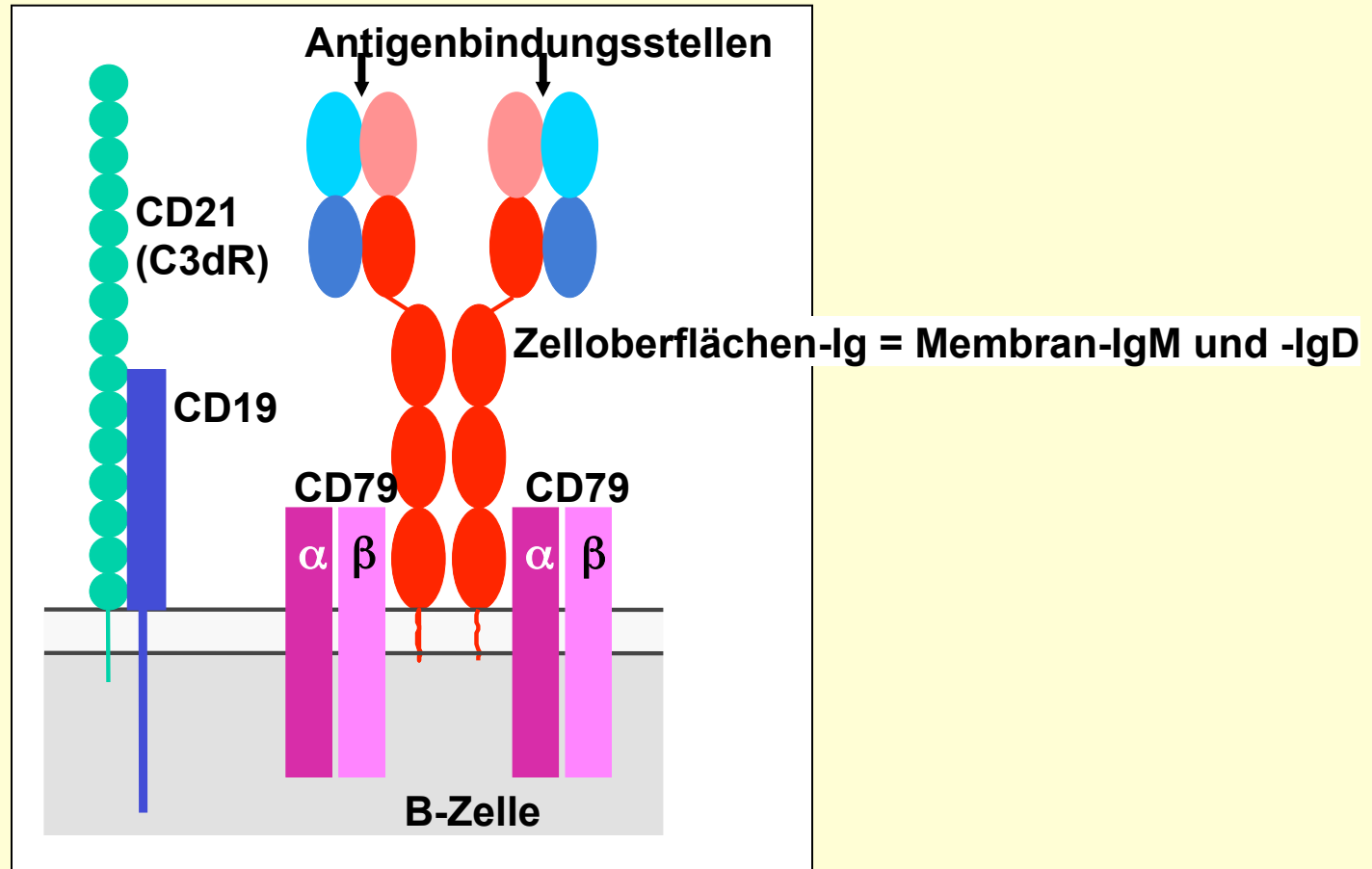
- Exprimierung von Antigenrezeptoren mit unterschiedlicher Spezifität
- Herausbildung des B- und T-Zell-Repertoires = Anzahl der Antigenerkennungsmoleküle:  $10^9$ - $10^{11}$  BcR,  $10^{15}$ - $10^{16}$  TcR;

*„Lymphozytenbildung = Handschuhfabrik“ – Jan Klein.*

Das Immunsystem produziert viele verschiedene Antigenrezeptor-Moleküle im voraus, dann „wählt“ das Antigen den entsprechenden Rezeptor aus. Deshalb ist das Immunsystem auf alle möglichen Antigene vorbereitet.

Der genetische Hintergrund der B- und T-Zell-Rezeptorproduktion ist **die Umordnung der Immunglobulin- und T-Zell-Rezeptorgene in den Vorläuferzellen.**

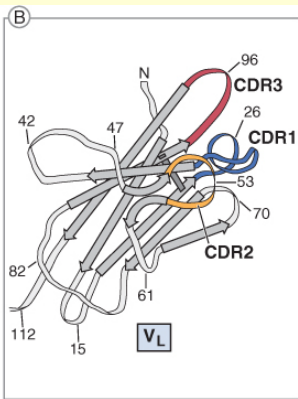
# B-Zell-Antigenrezeptor (BcR) = Zelloberflächen-Ig



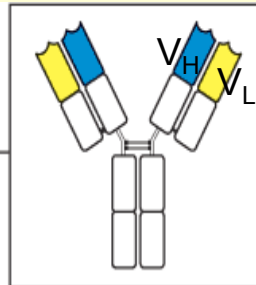
Jede einzelne B-Zelle kann ausschließlich Antikörper (BcR) einer einzigen Spezifität synthetisieren.



# Die Antigenbindungsstellen der Immunglobuline enthalten die hypervariablen (CDR) Regionen



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



V = Fab

C = Fc

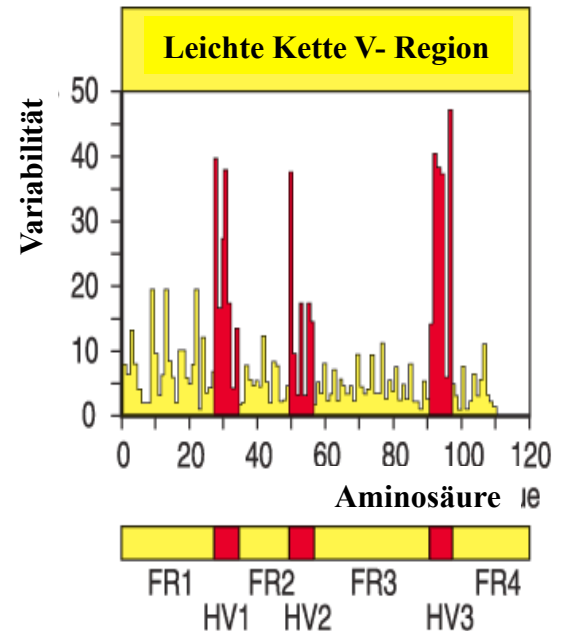
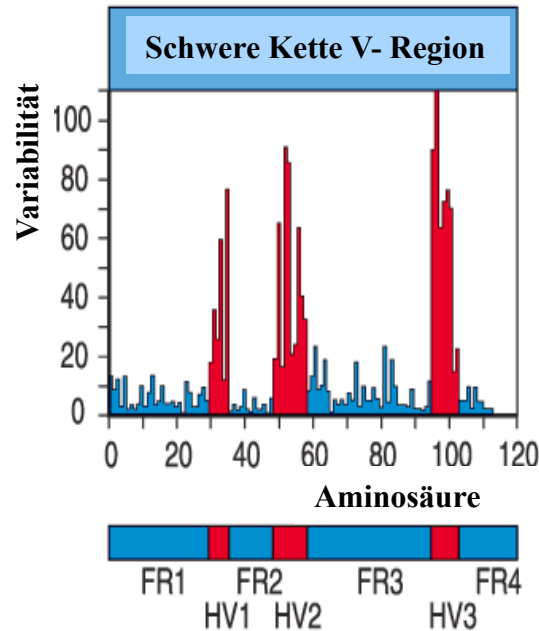
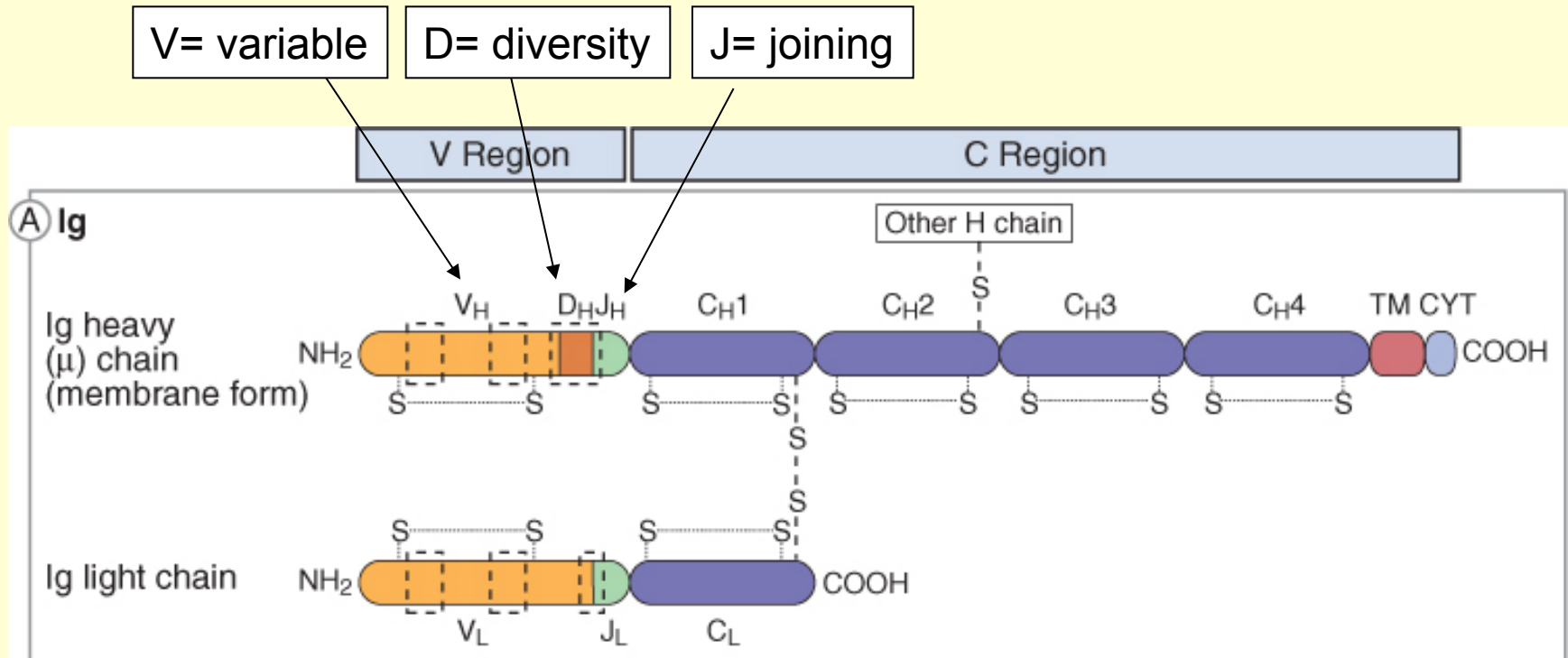


Fig 3.6 © 2001 Garland Science

# Domänen der schweren und leichten Ig-Ketten



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

- Sowohl die **variablen (V)** als auch die **konstanten (C) Domänen (Abschnitte)** der schweren und leichten Polypeptidketten werden durch verschiedene **Genabschnitte** kodiert.
- Die Gene der schweren und leichten Polypeptidketten sind auf unterschiedlichen Chromosomen lokalisiert.

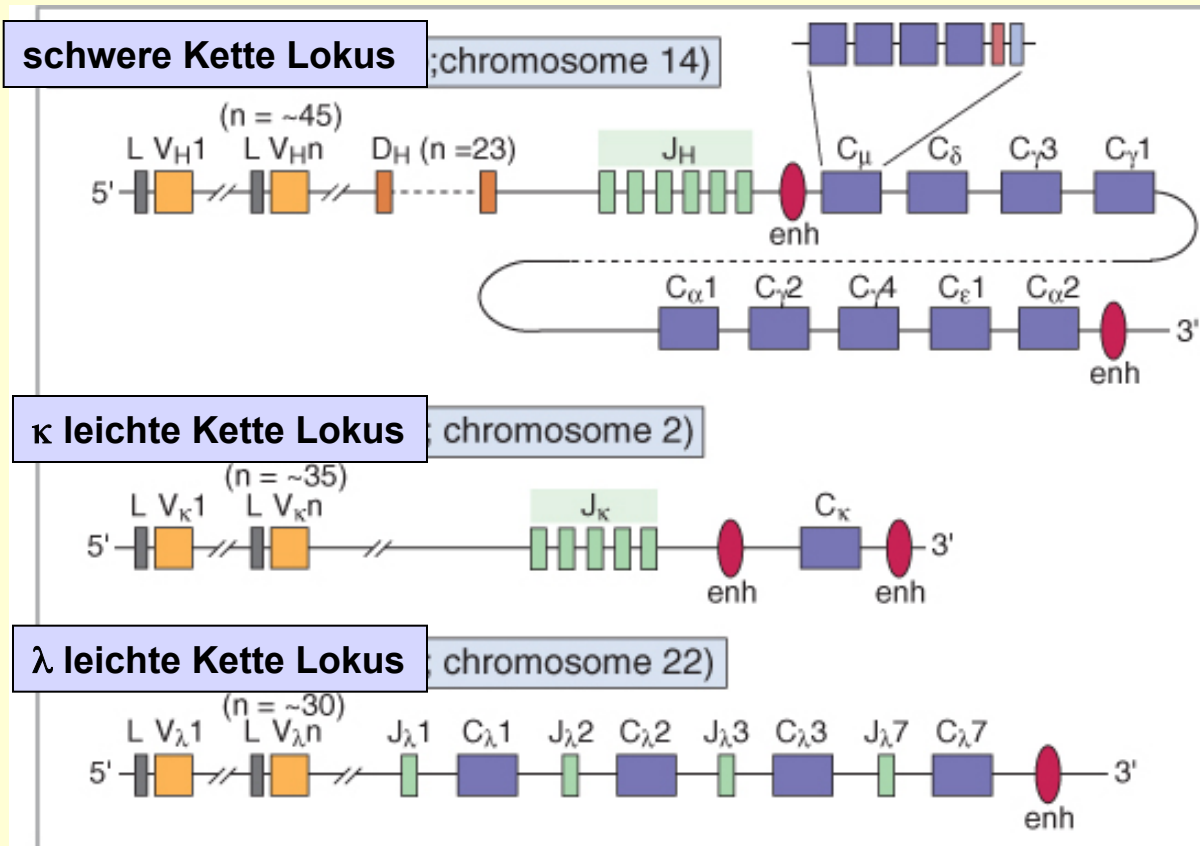
# Genenorganisation des Lokus für die schwere und leichte Immunglobulinkette

## V-Region:

V = Variable  
D = Diversity  
J = Joining  
Gensegmente

## C-Region:

C = Konstant  
Gensegmente



C<sub>μ</sub> - IgM

C<sub>δ</sub> - IgD

C<sub>γ</sub> - IgG

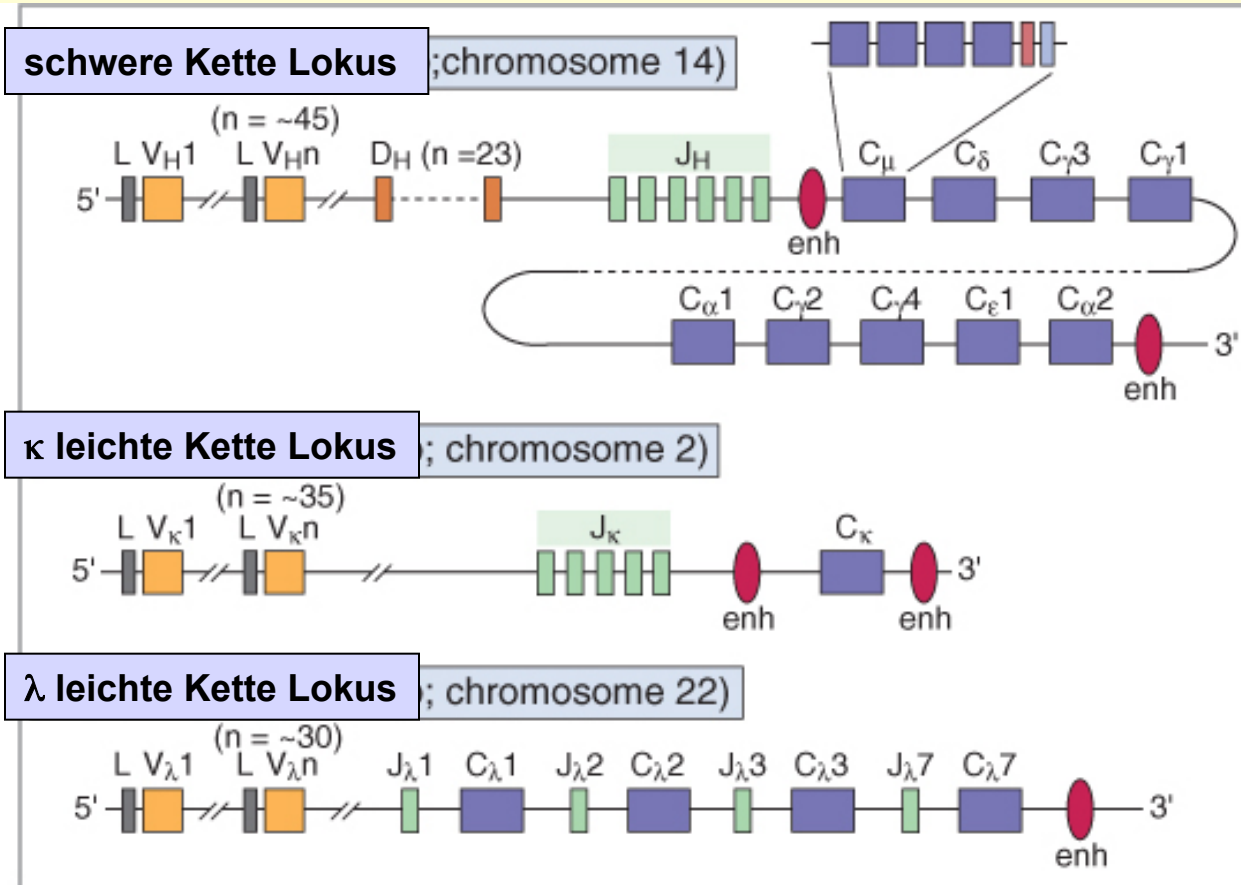
C<sub>α</sub> - IgA

C<sub>ε</sub> - IgE

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

Die **Keimbahn-DNA** → die Immunglobulingene werden in einem **nicht-rekombinierten Zustand** vererbt

# Die Keimbahn-DNA: Anzahl von V-D-J-Gensegmenten



V- Segment: 45  
 D- Segment: 23  
 J - Segment: 6  
 C - Segment (8):  
 C<sub>μ</sub>, C<sub>δ</sub>, C<sub>γ1-4</sub>,  
 C<sub>α</sub>, C<sub>ε</sub>

V- Segment: 35  
 J - Segment: 5  
 C - Segment: 1

V-Segment: 30  
 J - Segment: 4  
 C - Segment: 4

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

Die Keimbahn-DNA wird durch **somatische Rekombination** umgelagert  
 = **Rearrangement**

# Ablauf der Genumlagerung (Rearrangement)

Keimbahn-DNA

DJ-verknüpfte umgeordnete DNA

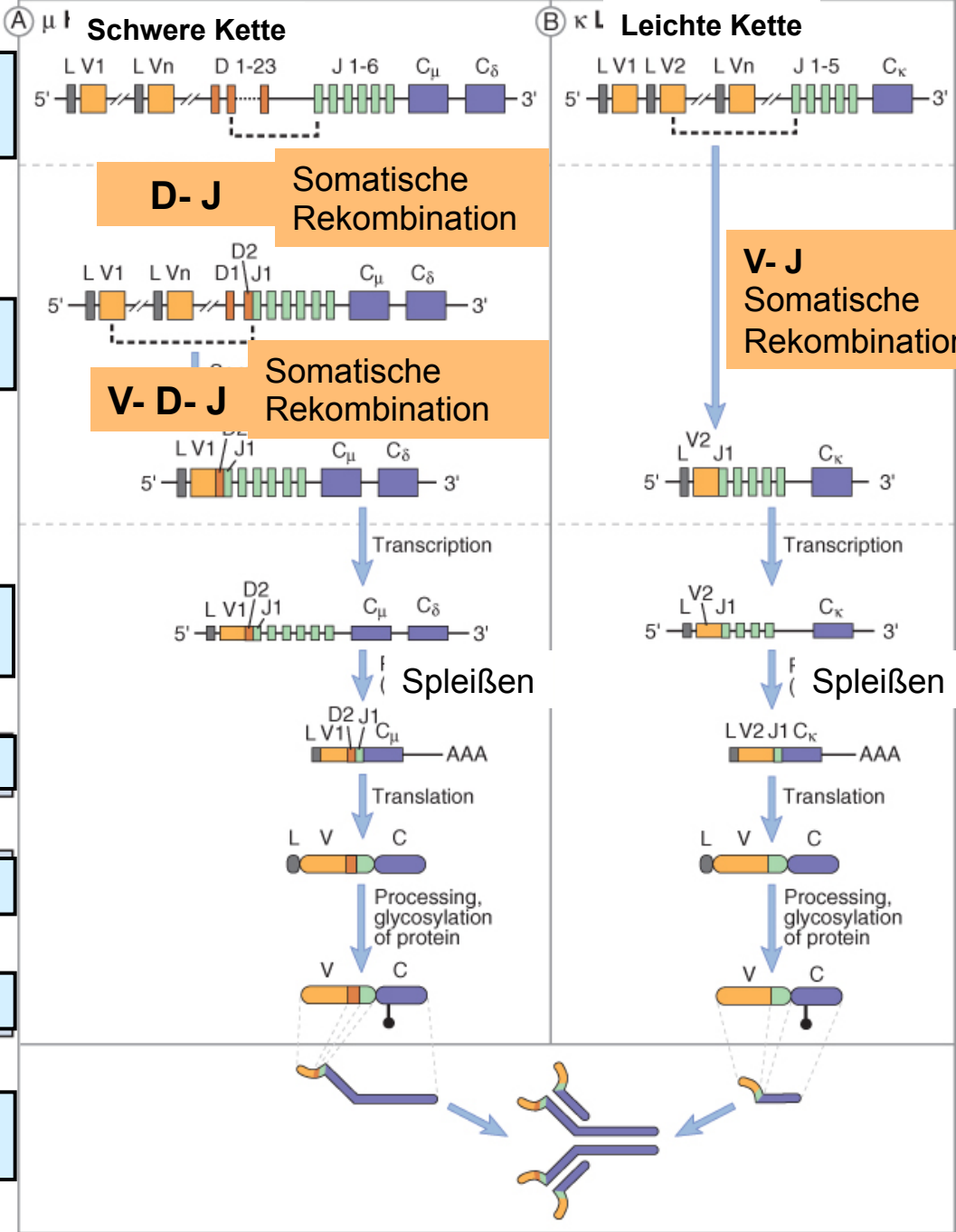
Primäres RNA Transkript

mRNA

Polypeptidkette

Reife Polypeptidkette

Ig Molekül



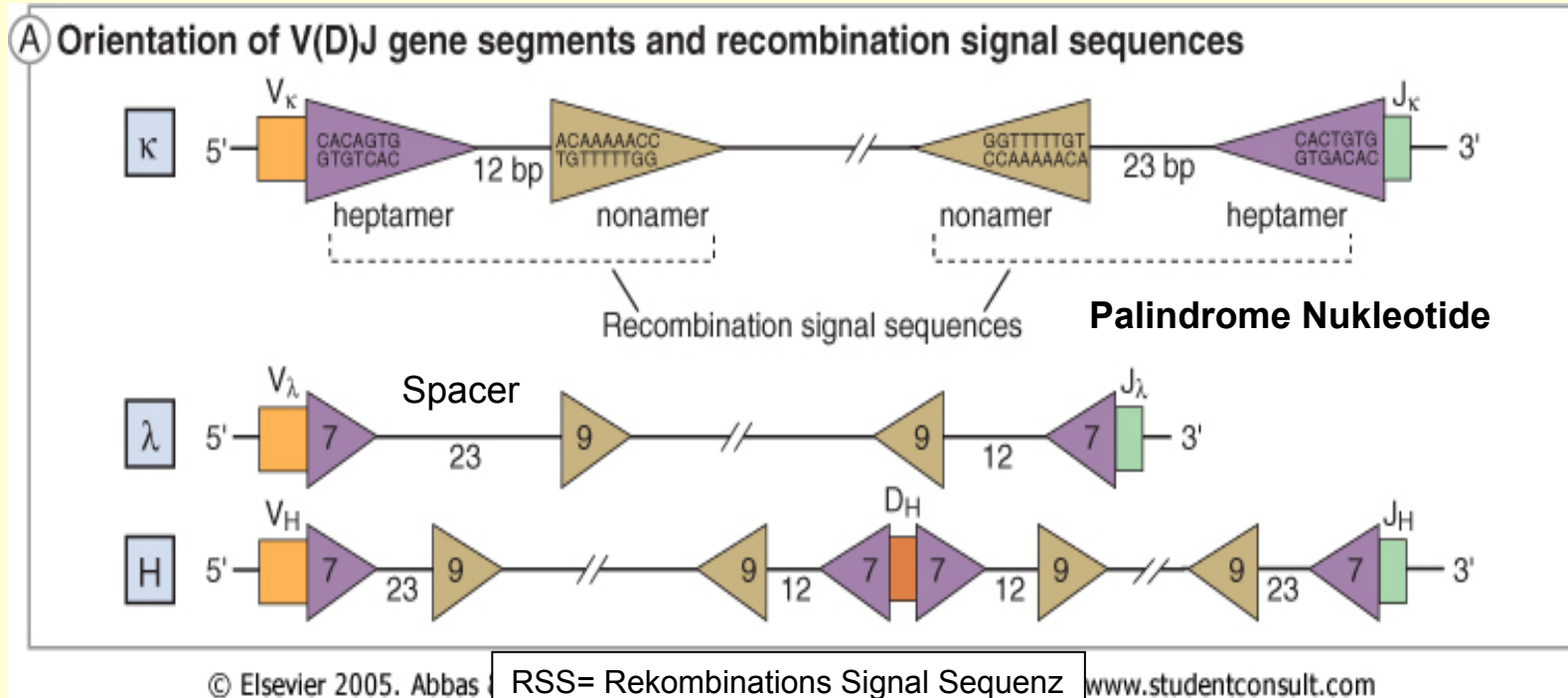
# Molekularer Mechanismus der Genumlagerung

1. Schlaufenbildung
2. Spaltung der DNA - Deletion
3. Ligation der freien DNA-Enden

Beteiligte Enzyme:

- VDJ-Rekombinase: **RAG1 und -2**
- Heteromerer Proteinkomplex: **DNA-Ligase, DNA-PK, Artemis-Proteine**
- Terminale Deoxynukleotidyl-Transferase (TdT): →  
N-Nukleotide-Einbau – zufällig eingefügte Nucleinsäuren

# Die 12/23-Paar-Regel zur Rekombination der Gensegmente:

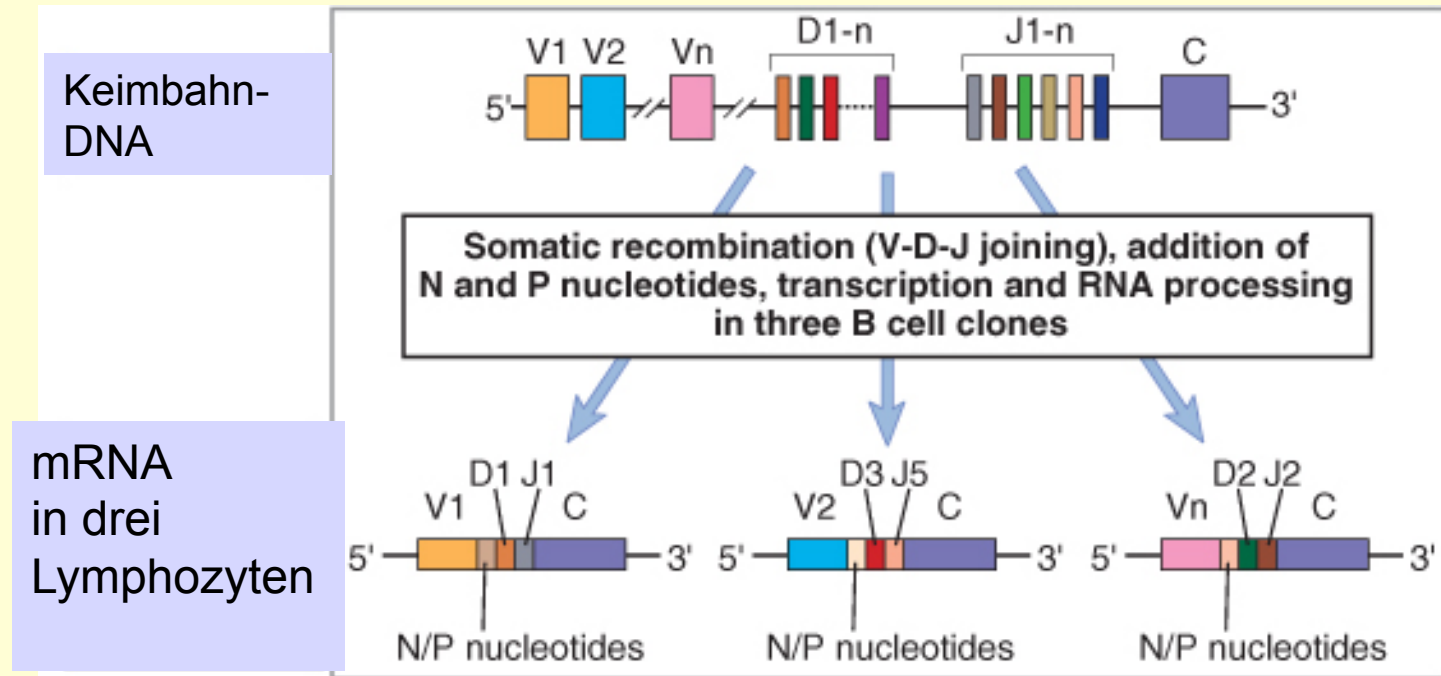


## Rekombinations-Signal-Sequenz (RSS):

ist aus einem konservierten Heptamer und Nonamer zusammengesetzt, welche durch einen nicht-konservierten Abstandshalter (Spacer) von entweder 12 oder 23 Basenpaaren getrennt werden.

Dieser Abstand entspricht einer (12) bzw. zweier (23) Drehungen der DNA-Helix.

# Schwere-Kette-Genumlagerung in drei Pro-B-Zellen



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

zufällige Umlagerung

Diversität

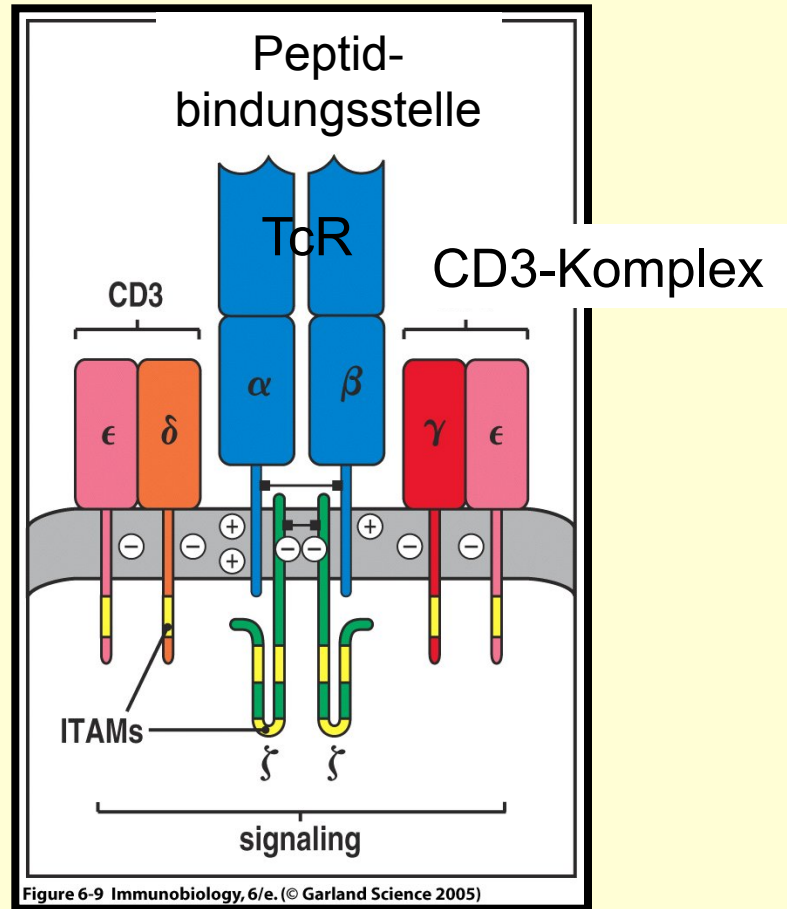


# T-Zell-Rezeptor

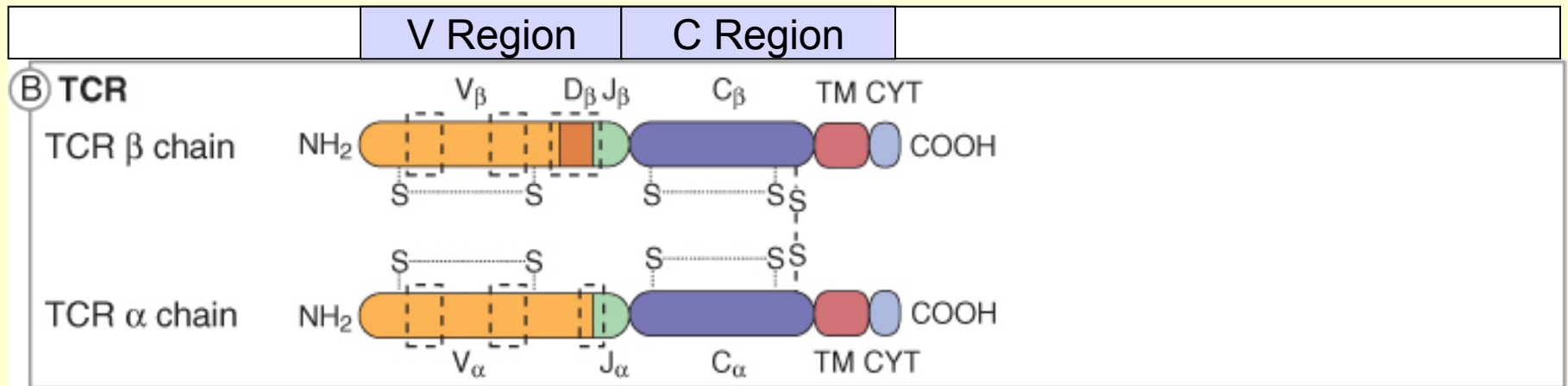
T-Zell-Typen:

1.  $\alpha\beta$  TcR+

2.  $\gamma\delta$  TcR+

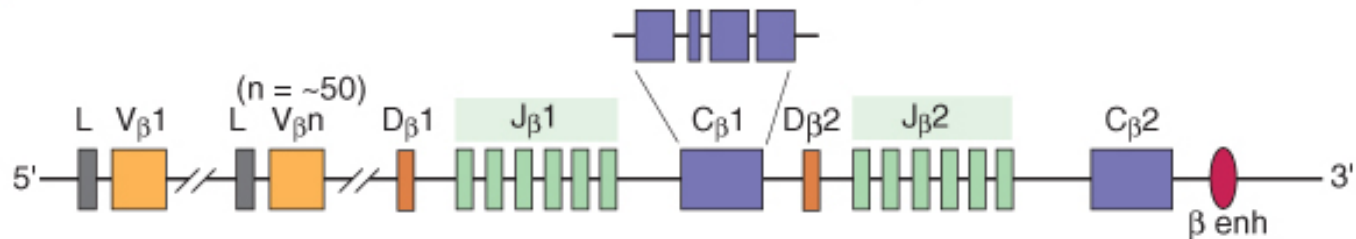


# Domänen der TcR $\alpha\beta$ -Ketten

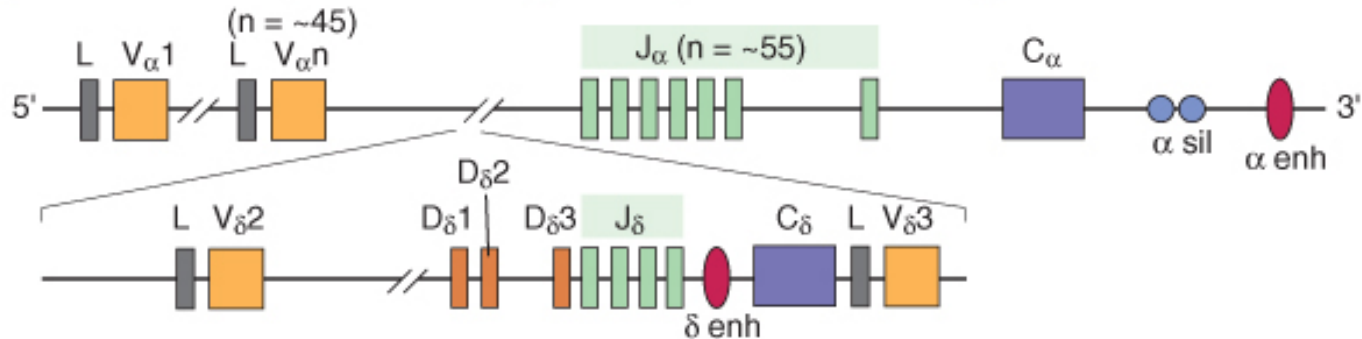


# TcR-Gene – Keimbahn-DNA

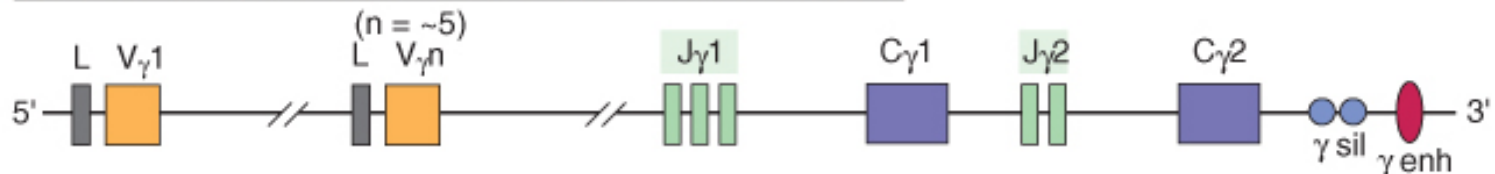
Human TCR  $\beta$  chain locus (620 kb; chromosome 7)



Human TCR  $\alpha$ ,  $\delta$  chain locus (1000 kb; chromosome 14)

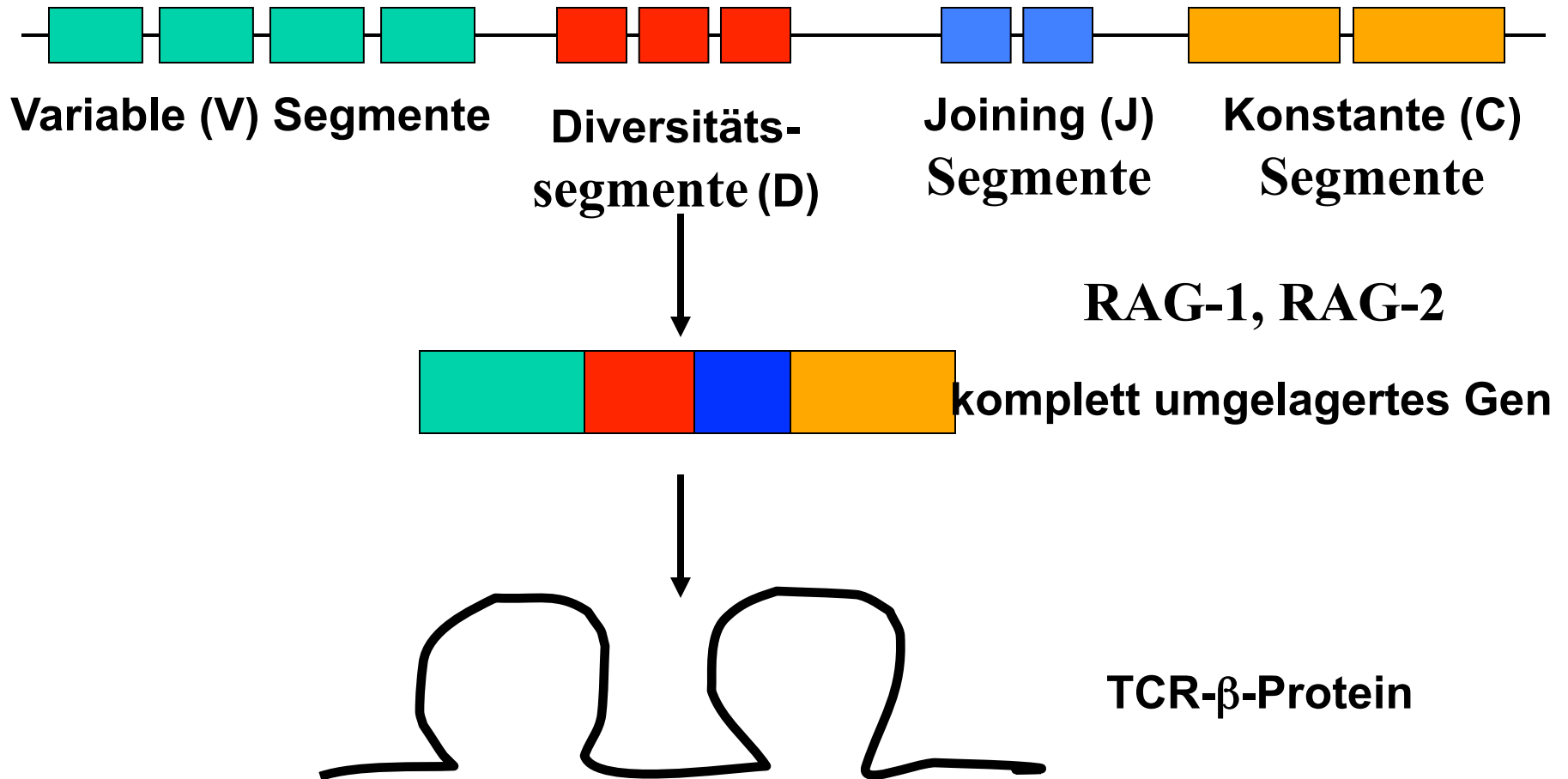


Human TCR  $\gamma$  chain locus (200 kb; chromosome 7)



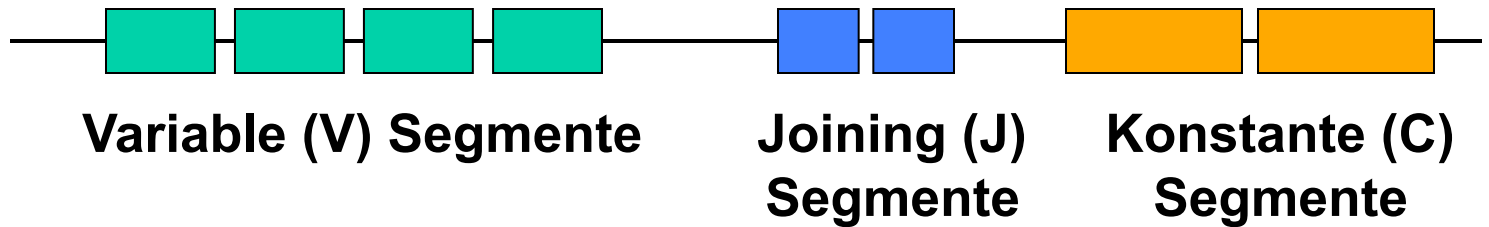
# TcR-Genumlagerung I

## TcR- $\beta$ -Ketten-Gen

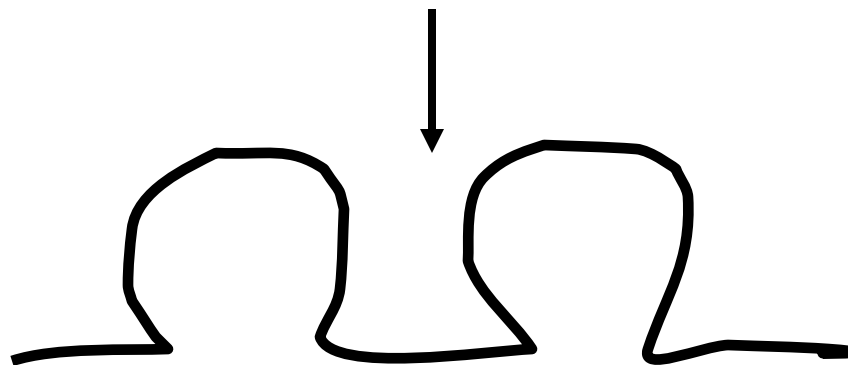


# TcR-Genumlagerung II

## TcR- $\alpha$ -Kette



1.  $\beta / \gamma$  Umlagerung
2.  $\alpha / \delta$  Umlagerung



TCR- $\alpha$ -Protein

# TcR-Diversität

**Tabelle 23.** Faktoren, die an der Entstehung der TCR-Diversität beteiligt sind

	<i>TCR</i> $\alpha\beta$		<i>TCR</i> $\gamma\delta$	
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$
<i>V-Gensegmente</i>	100	25	7	10
<i>D-Gensegmente</i>	0	2	0	2
<i>Offene Leseraster</i> <i>N-Region-Diversität</i>	0 V-J	viele V-D D-J	0 V-J	viele V-D1 D1-D2 D1-J
<i>J-Gensegmente</i>	50	12	2	2
<i>Kombinatorische</i> <i>Diversität der</i> <i>V-Region</i>	2500		70	
<i>Vollständiges</i> <i>Repertoire</i>	$10^{15}$		$10^{16}$	

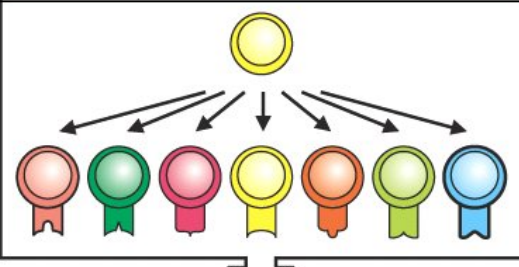
# Die Herausbildung der Diversität

- **Zahl der V- D- und J-Segmente und ihre freie Rekombination**
- **TdT (Terminale Deoxynucleotidyl-Transferase).**
- **Freie Verknüpfung der Untereinheiten**  
**(IgH / IgL, TcR  $\alpha$  /  $\beta$  bzw.  $\gamma$  /  $\delta$ ).**

# **Allgemeine Eigenschaften der Lymphozytendifferenzierung**



A single progenitor cell gives rise to a large number of lymphocytes, each with a different specificity



Proliferation

Ig- oder TcR-Genumlagerung  
→ Antigenrezeptor-Expression

Removal of potentially self-reactive immature lymphocytes by clonal deletion



Selektion

Primäre Lymphorgane

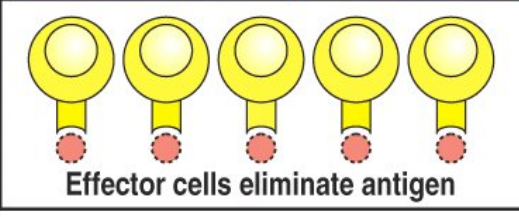
Pool of mature naive lymphocytes



Antigen-Erkennung

Periphere Lymphorgane

Proliferation and differentiation of activated specific lymphocytes to form a clone of effector cells



Proliferation

Figure 1-14 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Alle Blutzellen stammen von den **multipotenten hämatopoetischen Stammzellen** des Knochenmarks

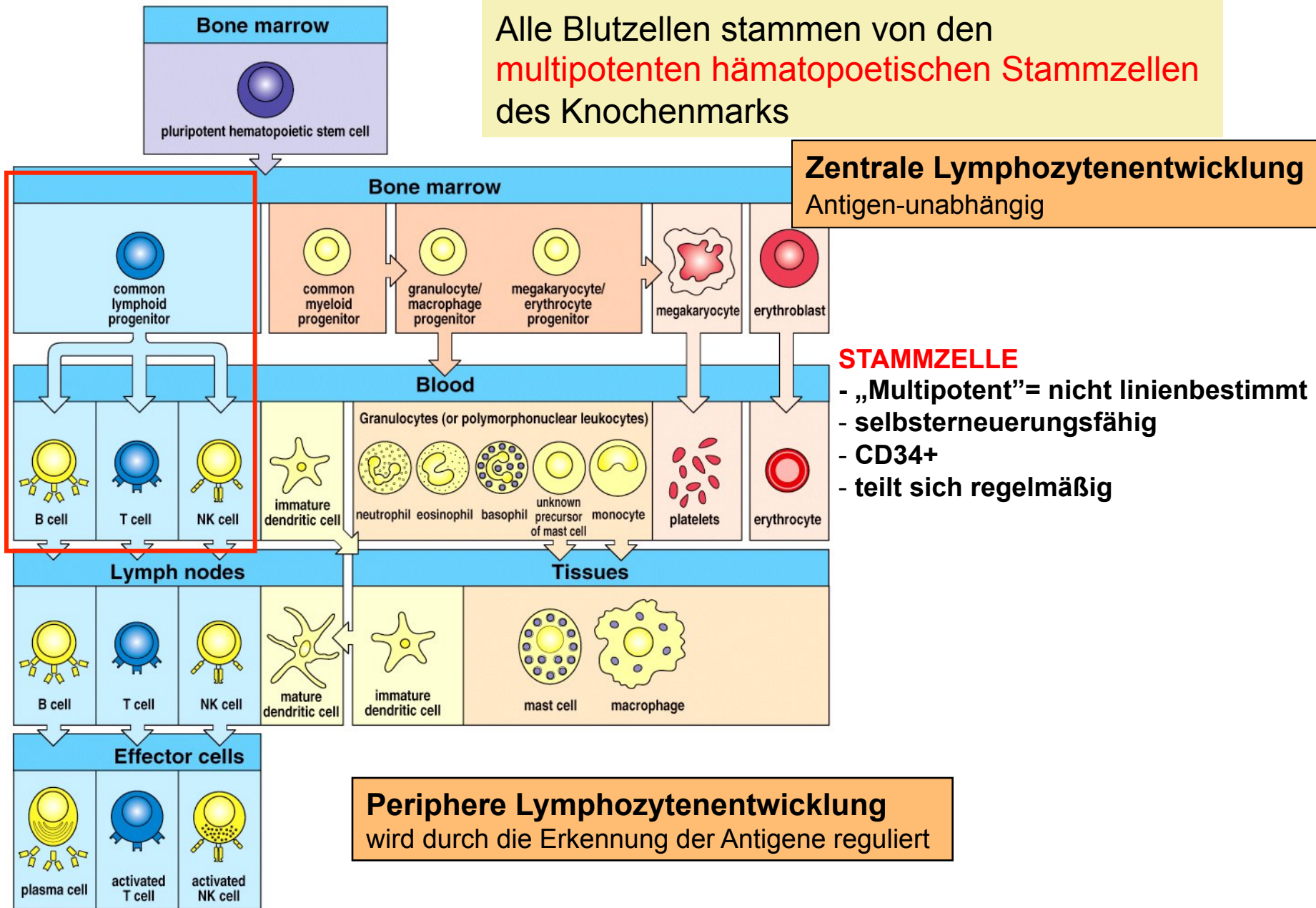
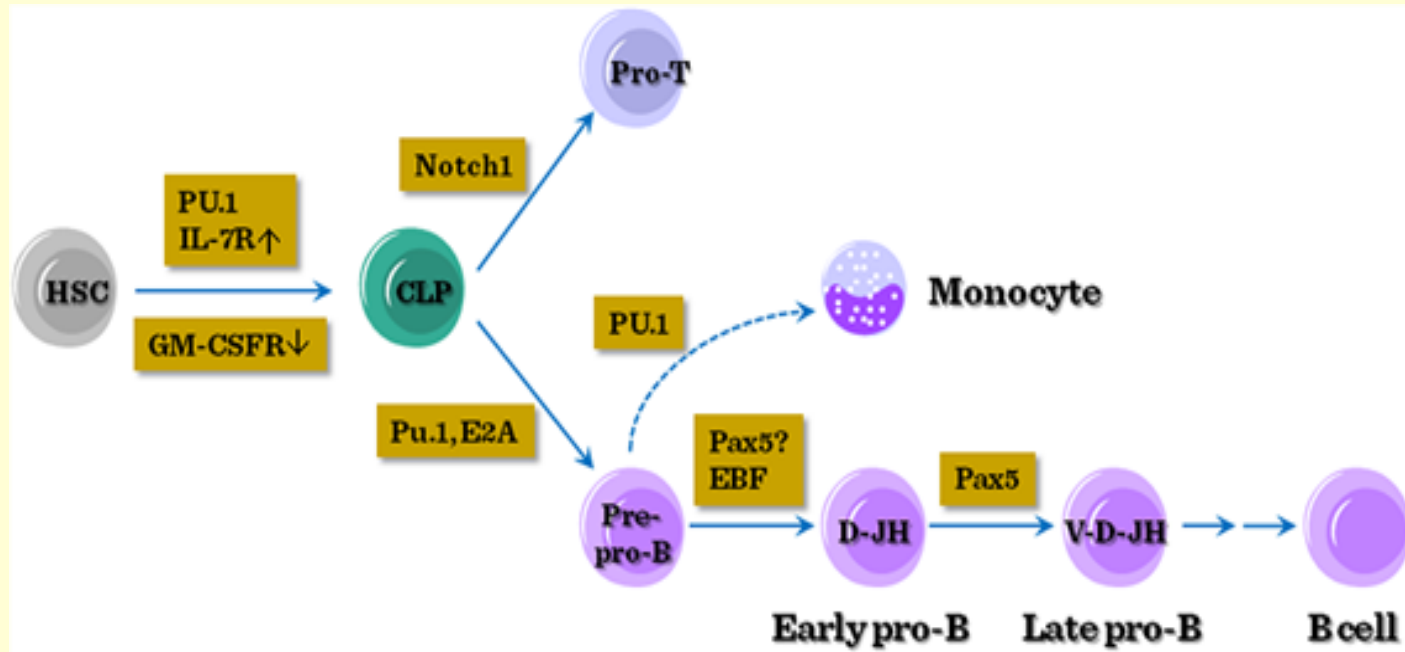


Figure 1-3 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Allgemeine Eigenschaften der Lymphozytendifferenzierung

1. **Proliferation**
2. **Rezeptor-Genumordnung**, Exprimierung von funktionellen Antigenrezeptoren (Antikörpern) auf der Zelloberfläche
3. **Wanderung (Migration)** – *Knochenmarksstroma* (Adhäsion, Chemokinproduktion)
4. **Selektion** der potenziellen autoreaktiven Zellen
5. **Apoptose**

# Lymphatische Verpflichtung - Transkriptionsfaktoren



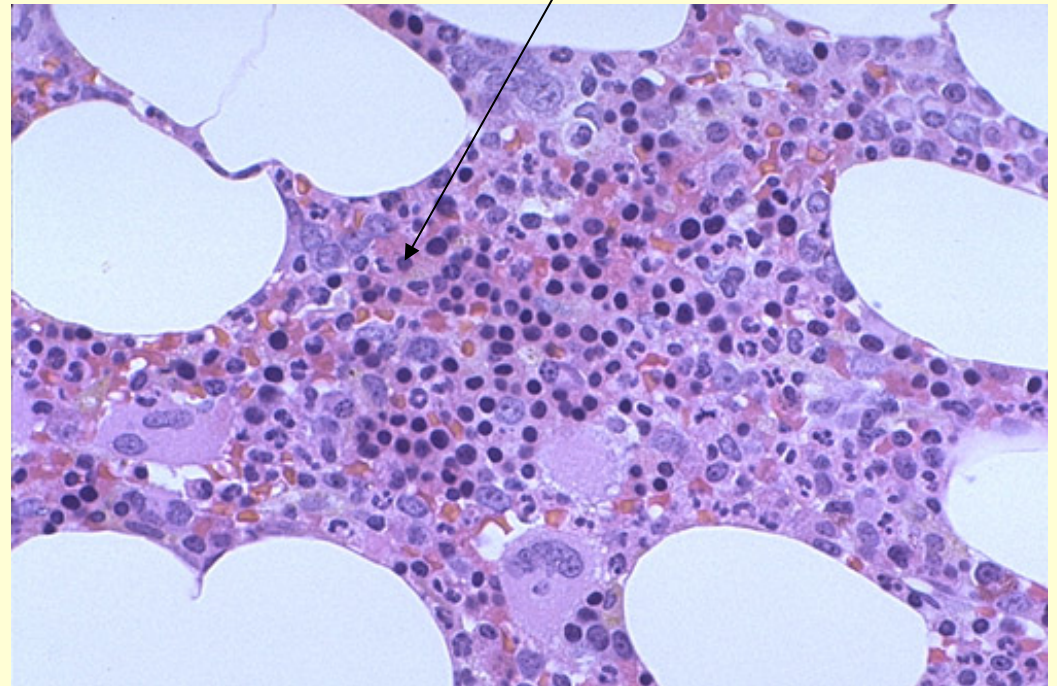
von: Transdifferentiation and regenerative medicine (Prof. Dr. Péter Balogh, Dr. Péter Engelmann (2011); University of Pécs)

# Knochenmark

## Stromazelle:

- nicht-lymphoid
- hat Fortsätze
- exprimiert Adhäsionsmoleküle
- produziert Zytokine
- extrazelluläre Matrix

Stromazellen

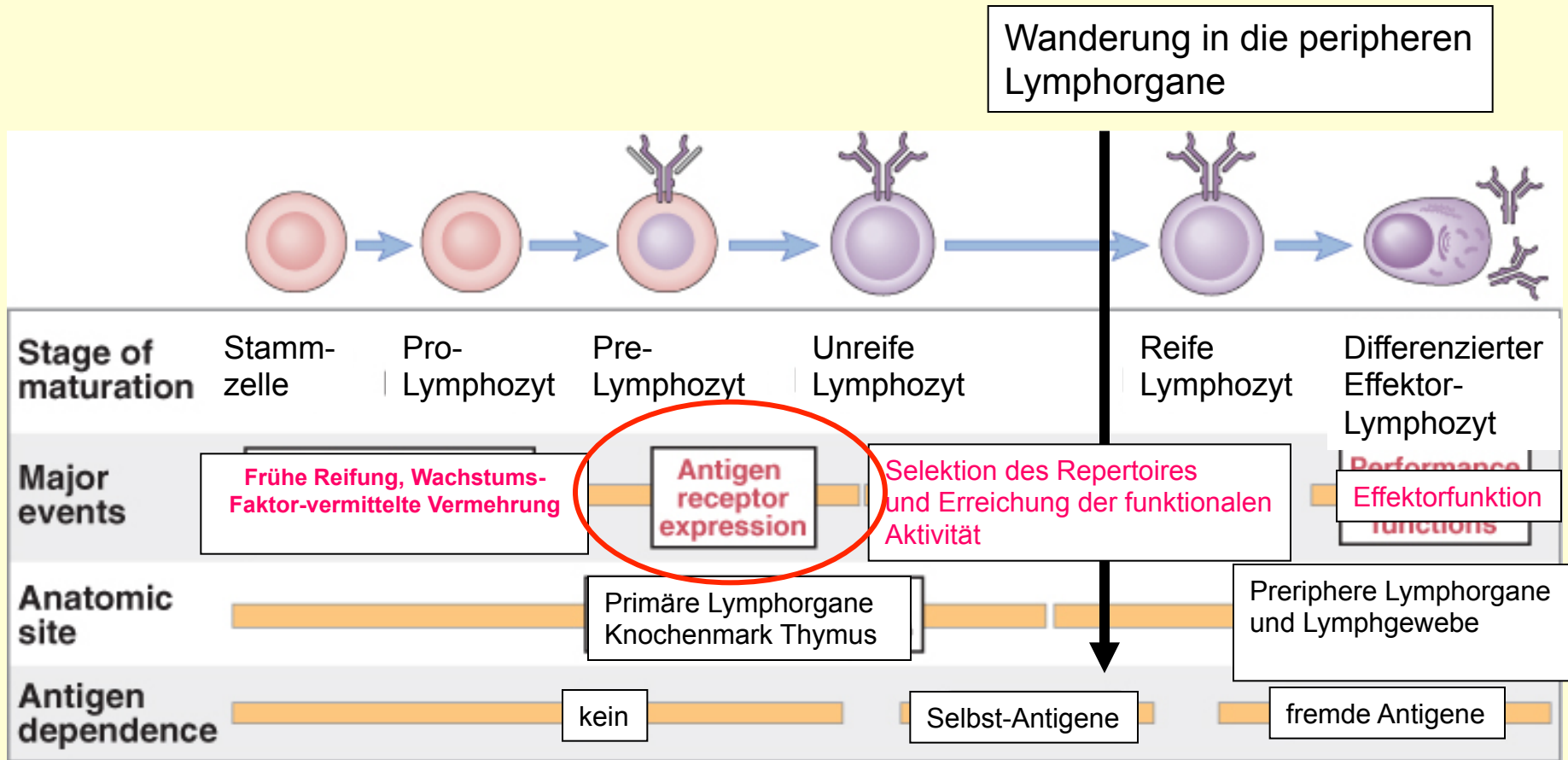


# Die Rolle von Knochenmarkstromazellen

1. Adhäsion: – CD44, VCAM-1
2. Produktion der Wachstumsfaktoren : IL-7, IL-3, SCF.
3. Modifikatoren: Wnt-Faktoren, IL-4, extrazelluläre Matrixkomponenten
4. Chemokin-Produktion: SDF-1/CXCR4-Ligand.
5. Selektion



# Stadien der Lymphozytenreifung

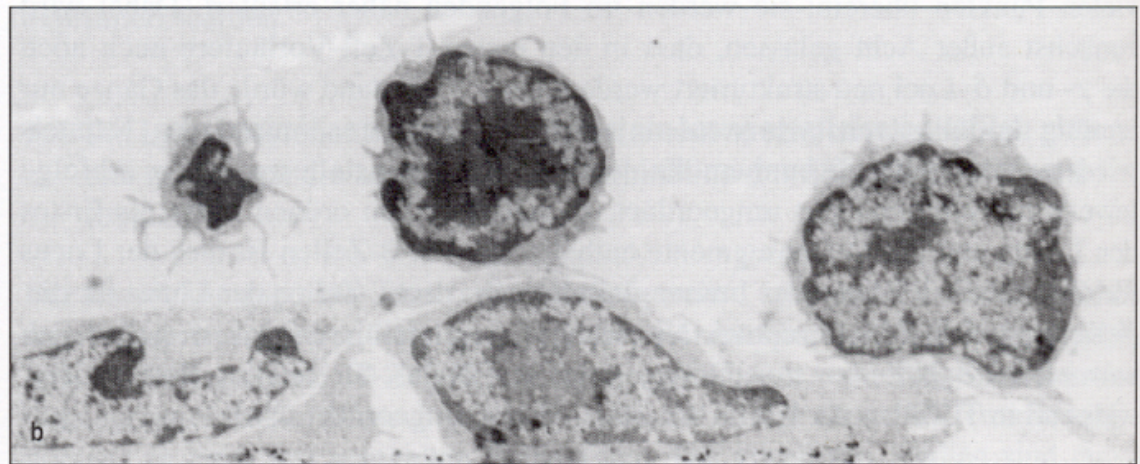
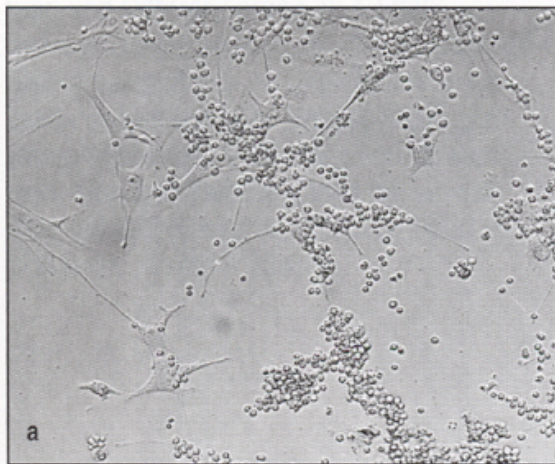
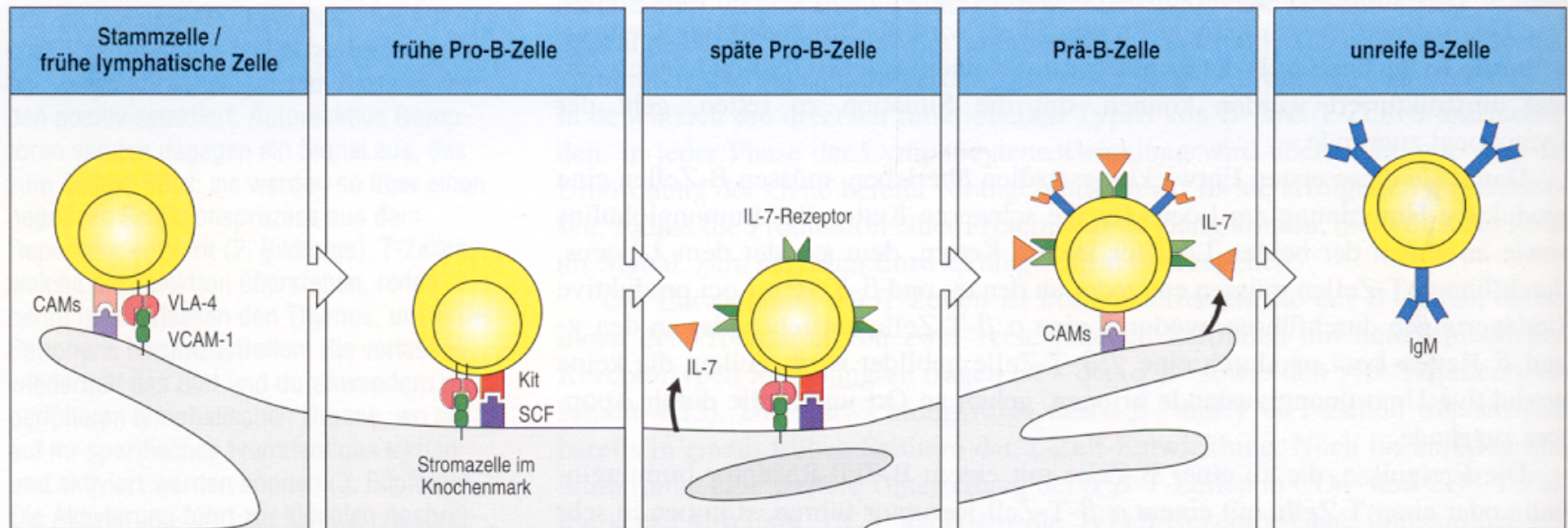


# Die B-Zell-Entwicklung

- 1. Zentrale: Antigen-unabhängig - im Knochenmark**
- 2. Peripherie: von Antigen reguliert - in sekundären lymphatischen Geweben**



# Knochenmark-Stromazelle



Die Entwicklung von Stammzellen zu reifen B-Zellen kann auf Grund von phänotypischen und genetischen Merkmalen in funktionell unterschiedliche Stadien eingeteilt werden.

# Knochenmark I: Stammzelle > "große prä-B-Zelle"

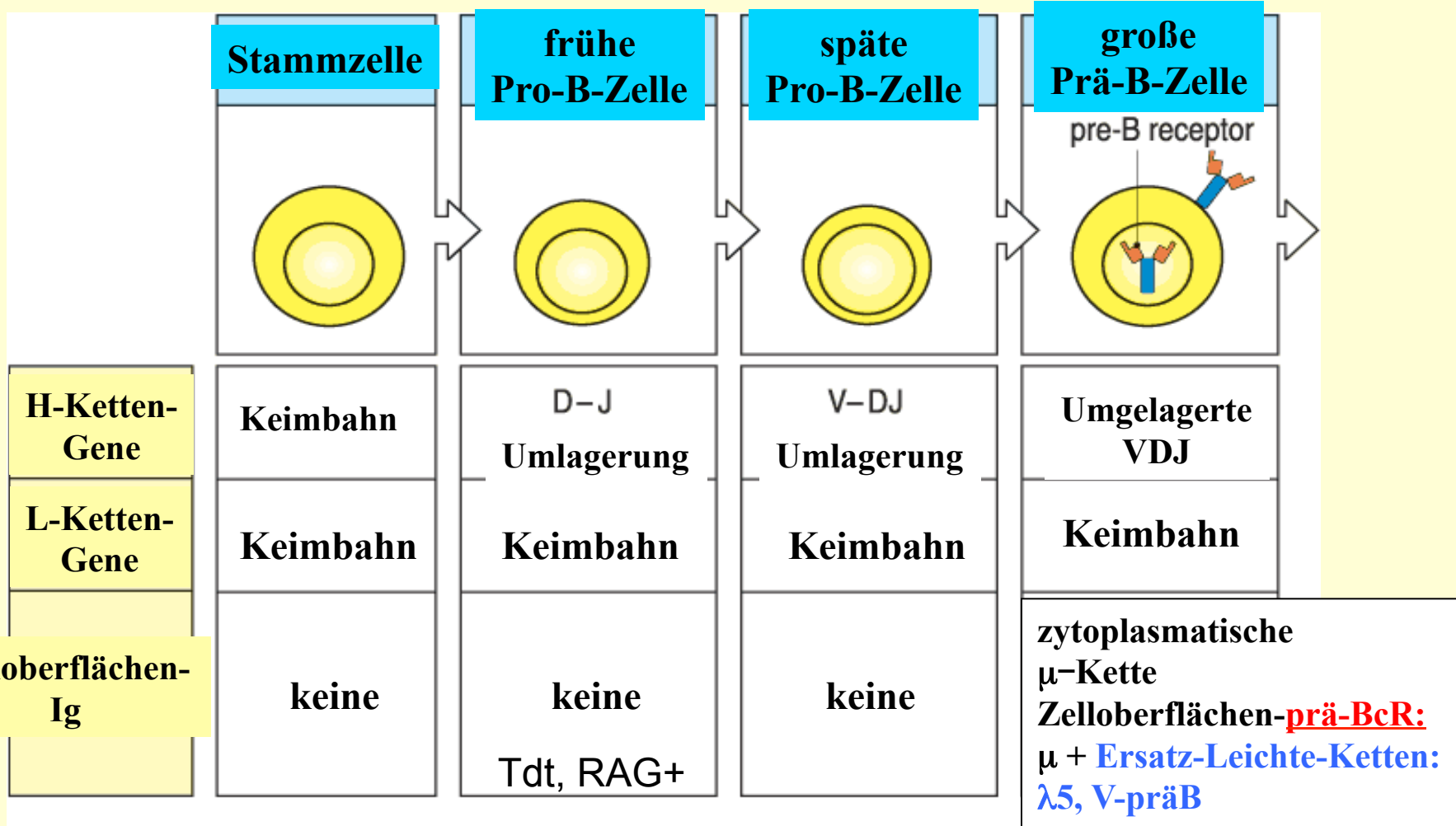


Fig 7.5 part 1 of 2 © 2001 Garland Science

Zelloberflächenmoleküle

c-kit, CD43, CD45 CD34, CD19, CD10, CD20

CD22, CD25

# Knochenmark II: “kleine prä-B-Zelle” > “reife B-Zelle”

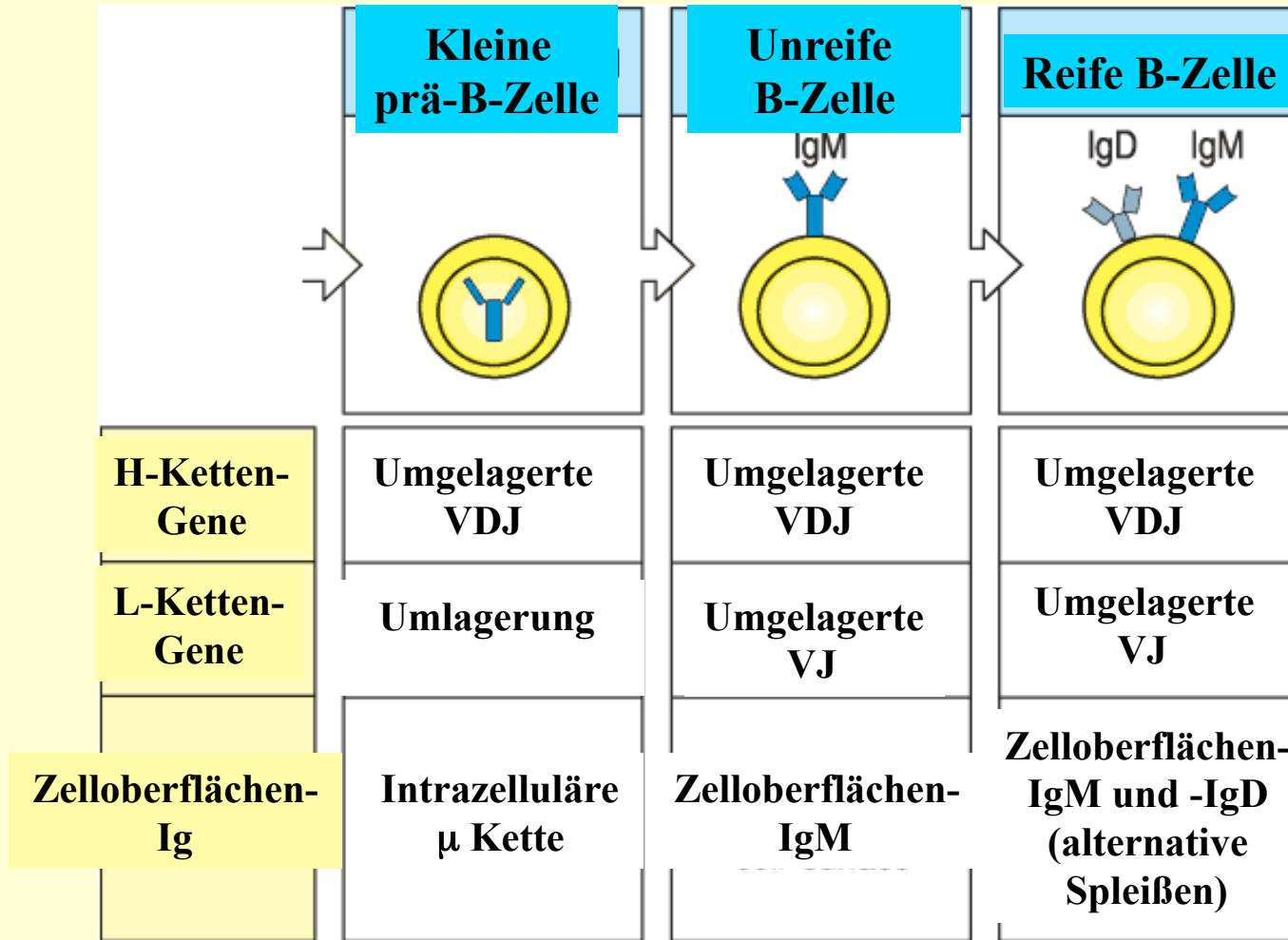


Fig 7.5 part 2 of 2 © 2001 Garland Science

Zelloberflächen-moleküle

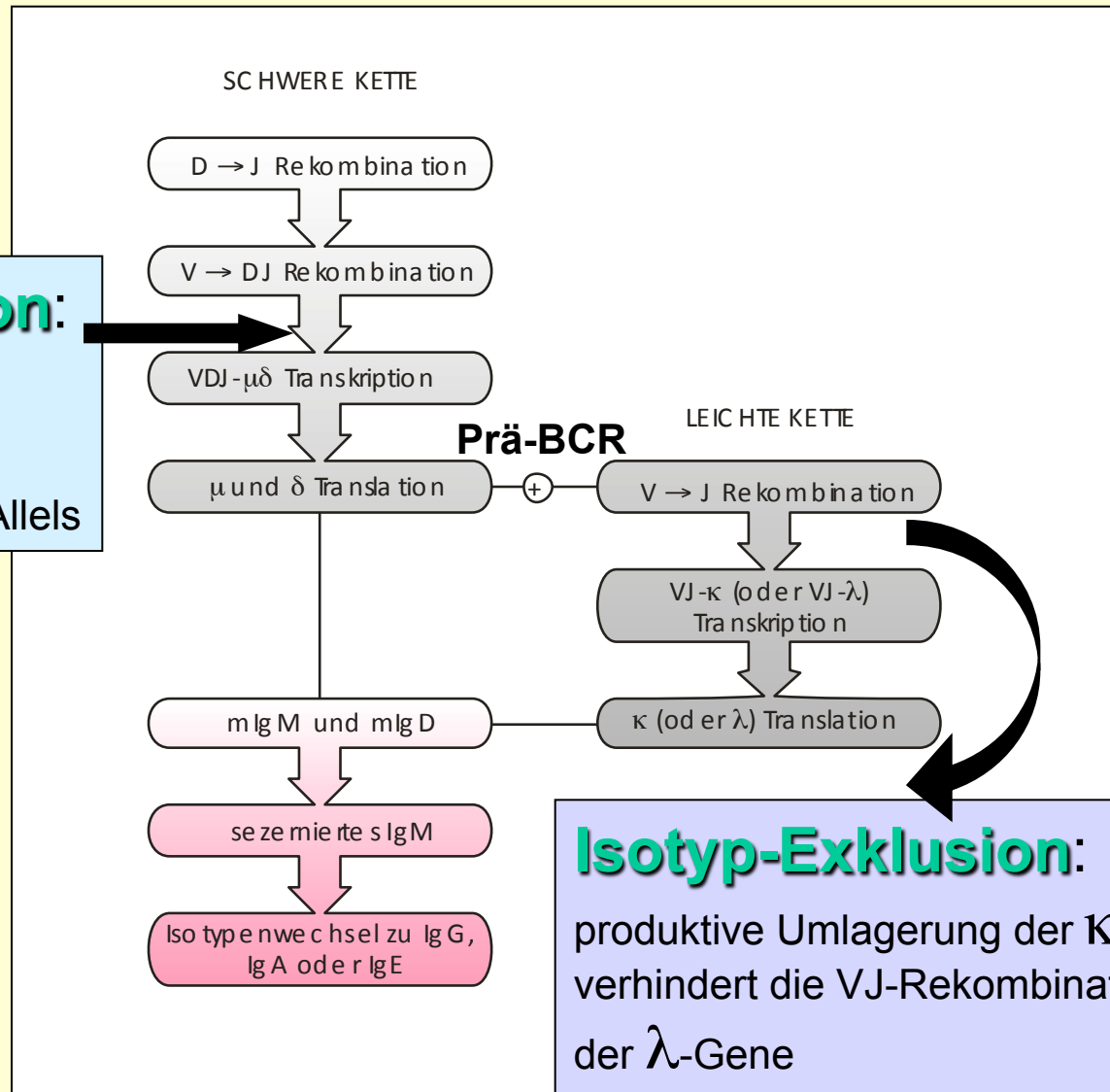
CD25

CD19, CD20

MHC-II, CD21, CD40

# Ordnung der Ig-Genrearrangierung

**Allelische Exklusion:**  
Produktiv bezeichnete Umlagerung verhindert die VDJ-Rekombination des zweiten schwere-Ketten-Allels

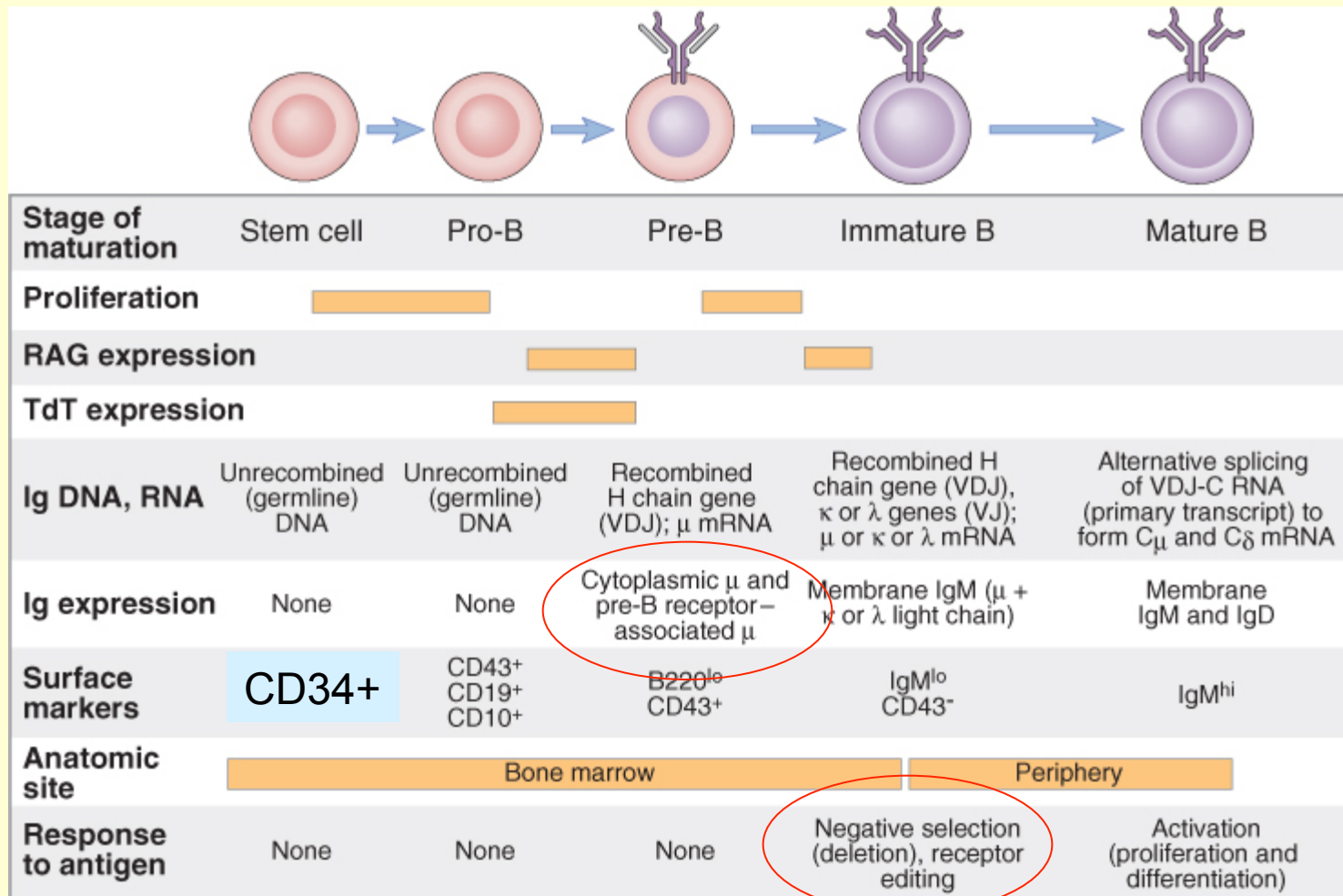


**Isotyp-Exklusion:**  
produktive Umlagerung der κ-Allele verhindert die VJ-Rekombination der λ-Gene

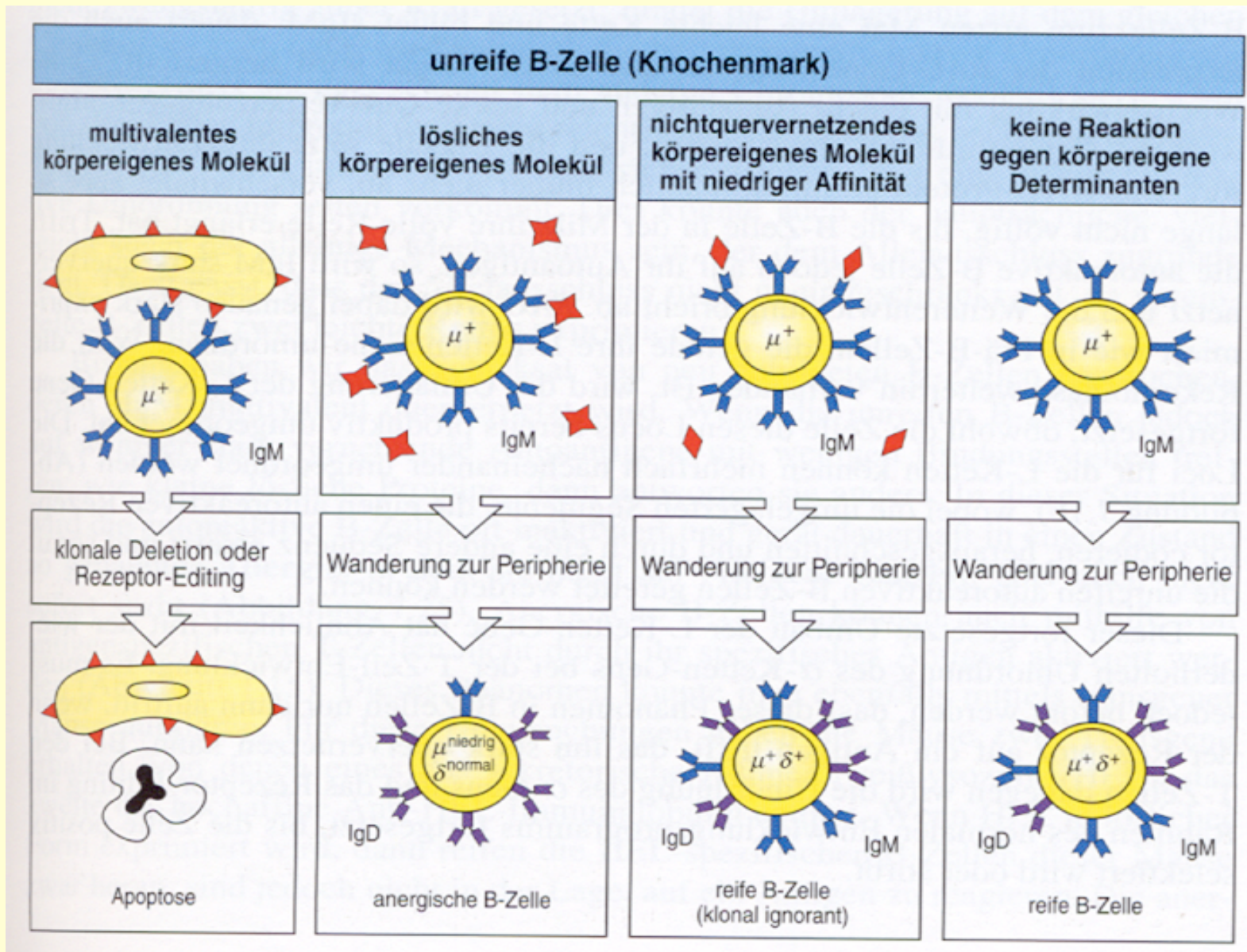
**Jede lymphoide Zelle besitzt nur eine einzige Rezeptorspezifität.**



# Selektionsprozesse im Knochenmark



# Selektionsprozesse im Knochenmark

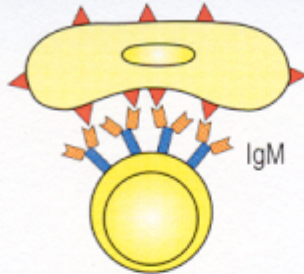




# „Receptor editing“

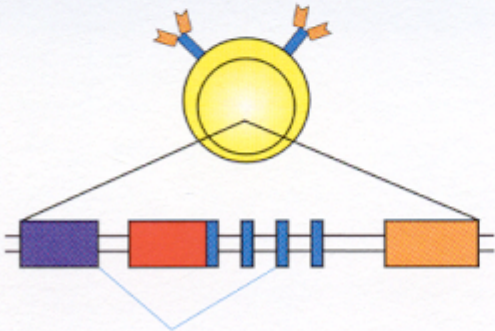
1.

körper eigenes Antigen fest an IgM gebunden



2.

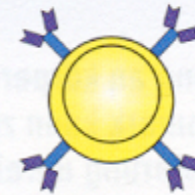
B-Zell-Entwicklung gestoppt, fortgesetzte Umordnung der L-Kette: wenig IgM auf der Zelloberfläche



eine neue Rezeptorspezifität wird exprimiert

3.

eine neue Rezeptorspezifität wird exprimiert

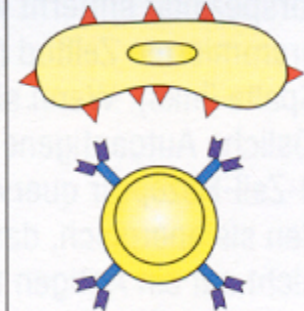


4.

reagiert der neue Rezeptor immer noch gegen körpereigene Determinanten, unterliegt die B-Zelle der Apoptose

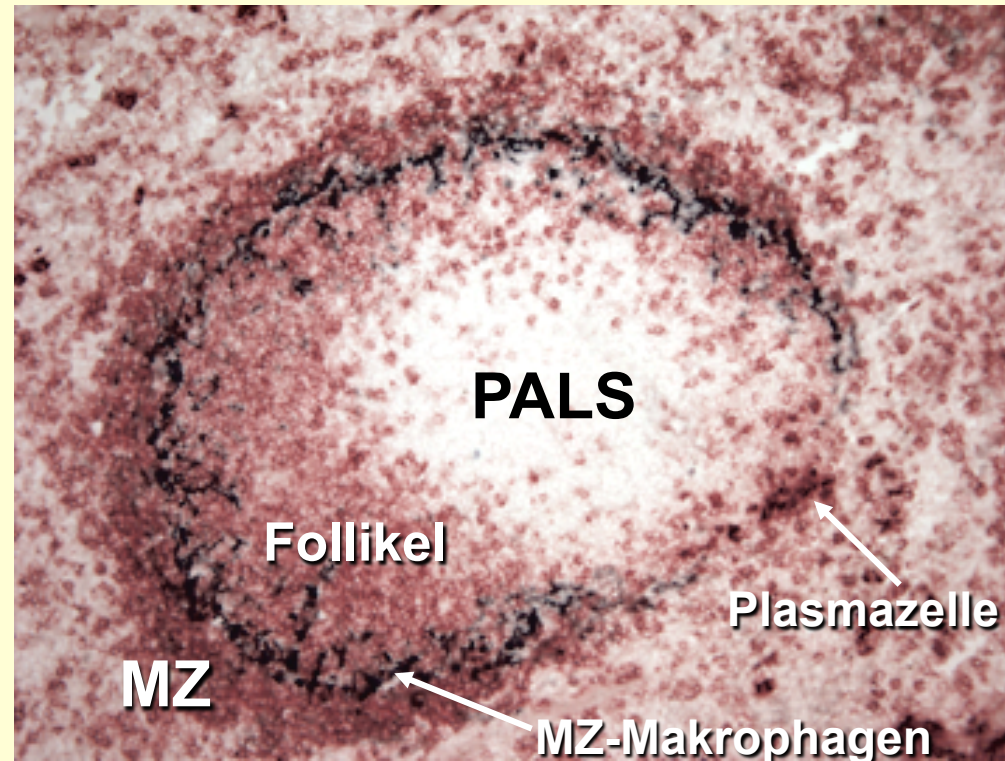


reagiert der neue Rezeptor nicht mehr auf körpereigene Determinanten, wandert die unreife B-Zelle zur Peripherie und reift dort heran



# Ontogenetische Differenz von peripheren B-Zellklassen

- **Konventionelle folliculäre B-Zellen (B2):** (IgM+/IgD++, CD21+, CD23++, Rezirkulation)
- **B-1 B-Zellen:** Selbsterneuerung, niedrige Affinität Autoantikörperproduktion, Ansiedlung im Brust- und Bauchbereich, relatives Gewicht bei Neugeborenen (und in B-CLL); (CD5+, CD43+, IgM++/IgD+)
- **Marginale-Zonen-B-Zellen:** ähnlich dem B1-Zellen-Ig-Phenotyp, Differenzierung in der Milz, keine Migration (IgM++/IgD+, CD21++, CD23+/-)





# Eigenschaften der B1- und B2-Zellen

Eigenschaft	B-1-Zellen	konventionelle B-2-Zellen
zum ersten Mal produziert	Fetus	nach der Geburt
N-Bereiche in VDJ-Verbindungen	wenige	zahlreiche
Repertoire des V-Bereichs	eingeschränkt	vielfältig
primäre Lokalisation	Körperhöhlen (peritoneal, pleural)	sekundäre lymphatische Organe
Art der Erneuerung	selbsterneuernd	ersetzt aus dem Knochenmark
spontane Immunglobulinproduktion	stark	schwach
sezernierte Isotypen	IgM >> IgG	IgG > IgM
Reaktion auf Kohlenhydratantigen	ja	unter Umständen
Reaktion auf Proteinantigen	unter Umständen	ja
Hilfe von T-Zellen erforderlich	nein	ja
somatische Hypermutation	niedrig bis überhaupt nicht	stark
Gedächtnisentwicklung	Wenig bis überhaupt nicht	ja

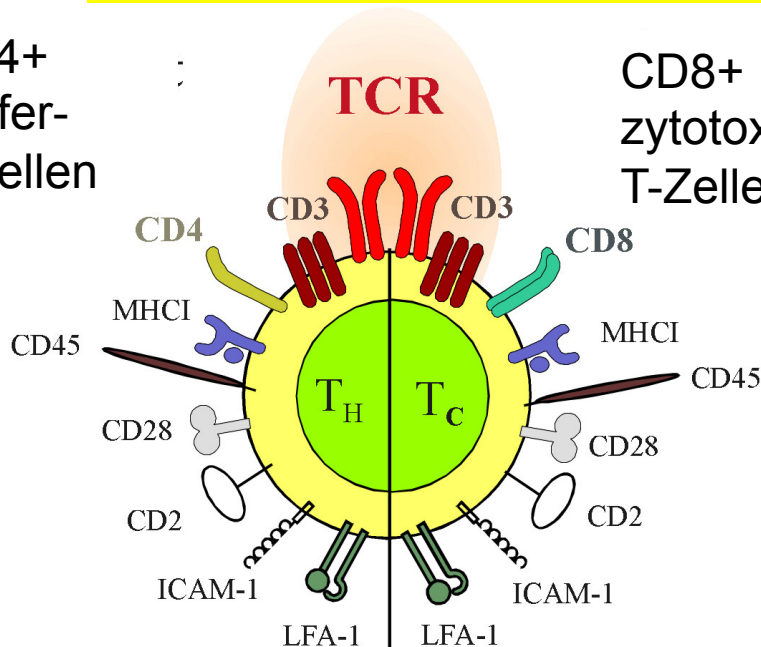
# **Die zentrale (thymische) T-Zell- Entwicklung**

# Zwei verschiedene T-Zell-Linien mit unterschiedlichen Rezeptortypen (TcR)

## T-Lymphozyten mit $\alpha\beta$ TcR

CD4+  
Helfer-  
T-Zellen

CD8+  
zytotoxische  
T-Zellen



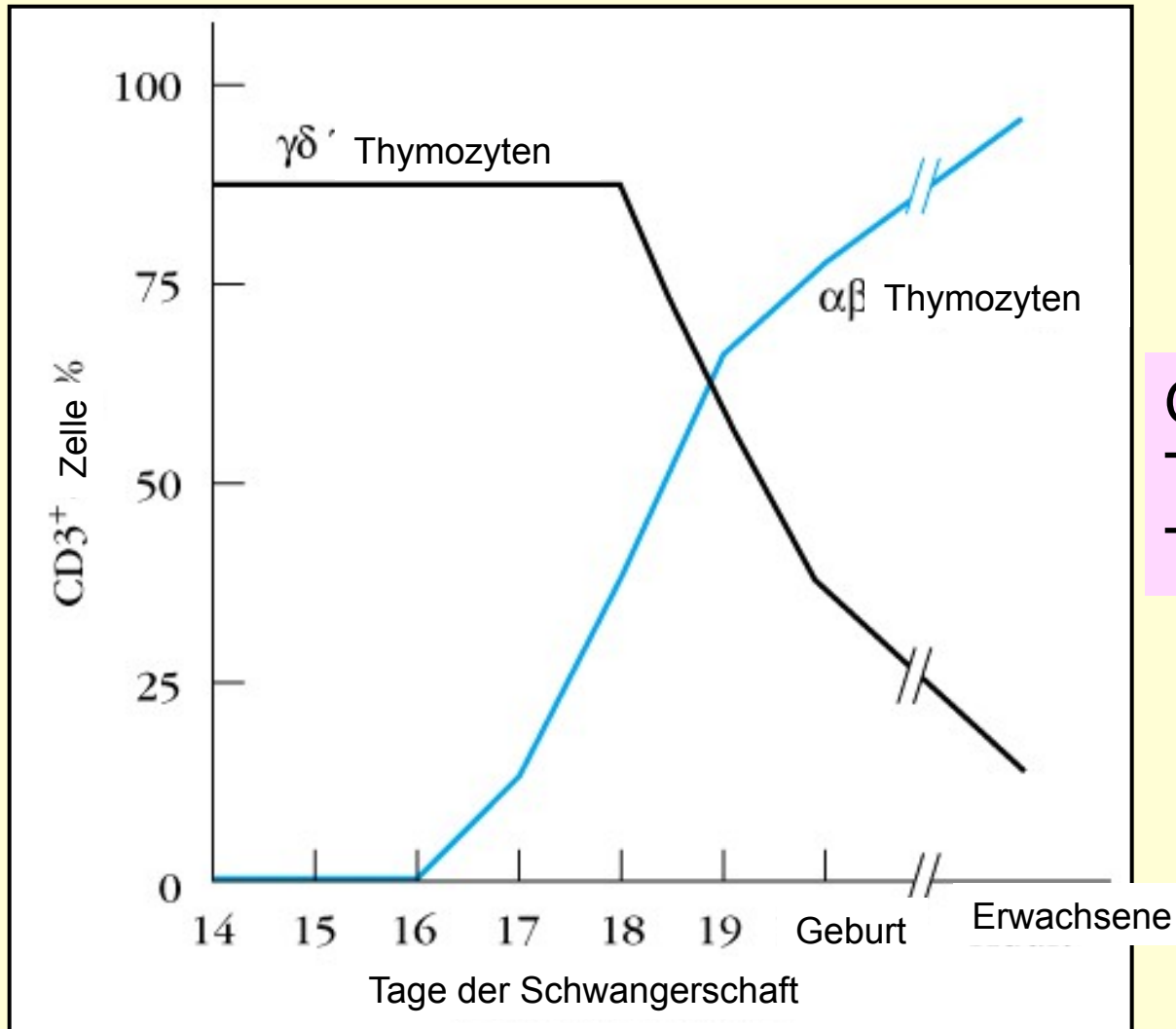
## T-Lymphozyten mit $\gamma\delta$ TcR

- CD4-CD8- zytotoxische  
T-Zellen

Intraepitheliale – mit  
geringer TcR-Diversität

Lymphatische Organe -  
stark diversifizierte  
Rezeptoren  
Regulatorische  
Zytokinproduktion

# Zahl der T-Zellgruppen während der Entwicklung des Individuums

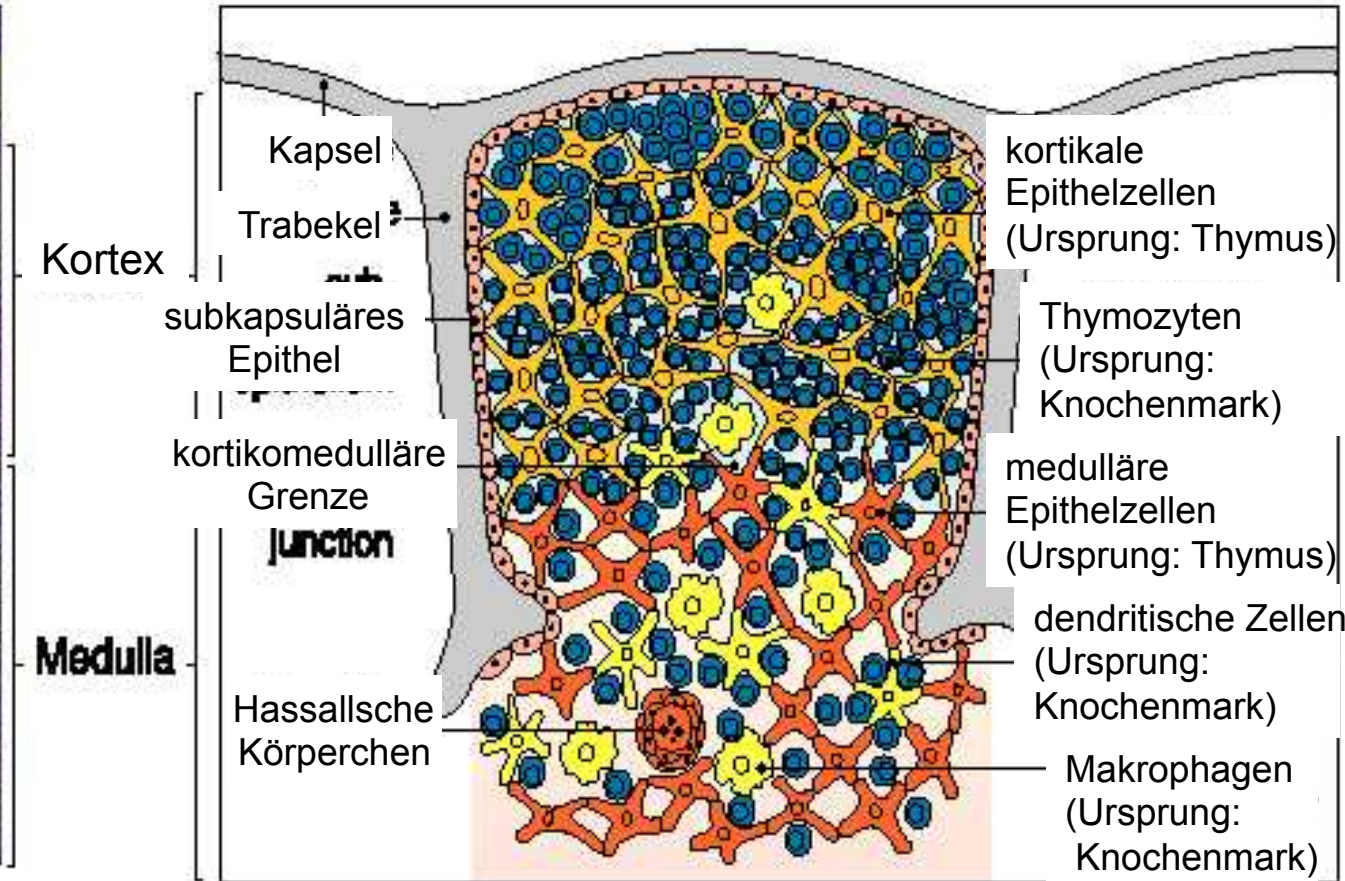
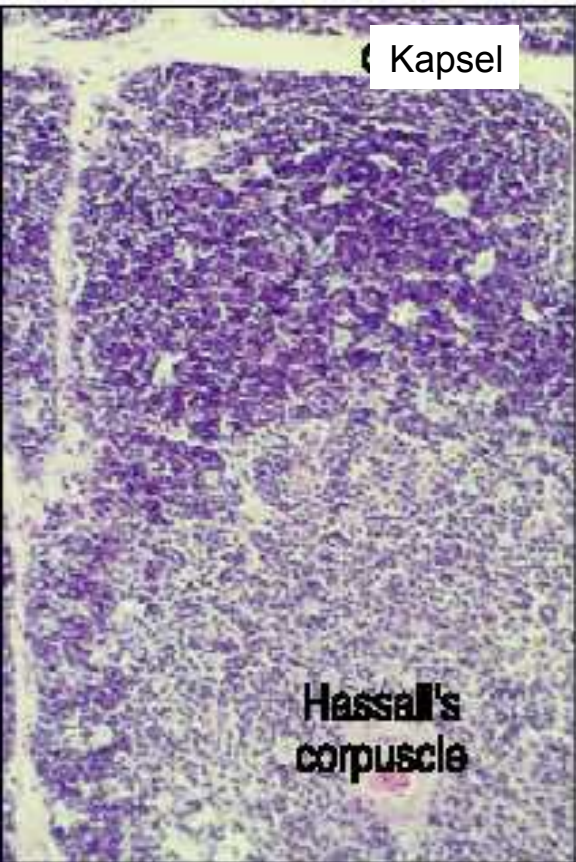


Ganzes Repertoire:  
TCR  $\alpha$ ,  $\beta$ :  $10^{15}$   
TCR  $\gamma$ ,  $\delta$ :  $10^{16}$



# Struktur des Thymus

Figure 5.3



# Funktion der Stromazellen

## Kortikale Epithelzellen:

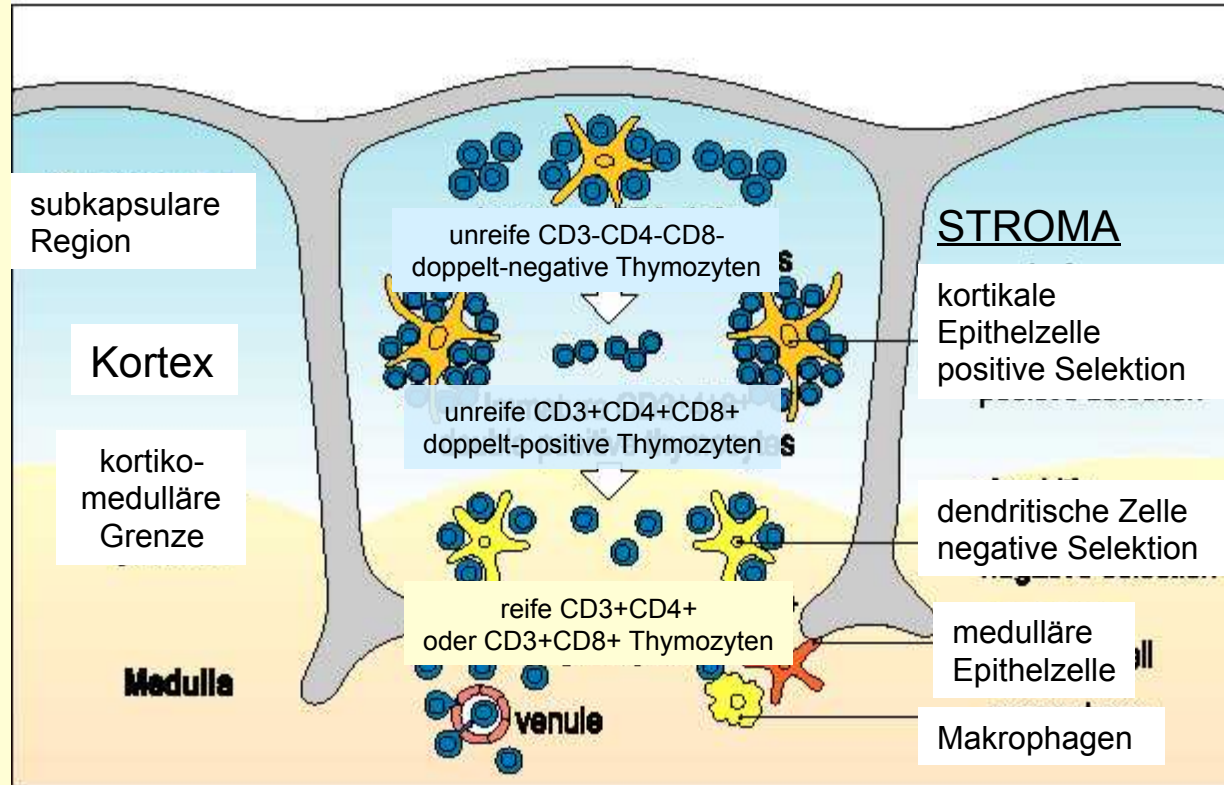
- chemotaktische Signale für hämatopoetische Vorläuferzellen zu bilden
- Überlebens und Differenzierungssignalen zu bilden
- Sie präsentieren Selbst-Antigenen zur positiven Selektion

## Medulläre Epithelzellen, Dendritische Zellen und Makrophagen:

- Sie präsentieren Selbst-Antigenen zur negative Selektion
- Sie beseitigen die bei der Apoptose entstandenen Zellfragmente

# Thymozyten-Subpopulationen

Figure 5.14



## Thymozyten:

doppelt-negative  
DN: 2-5 %

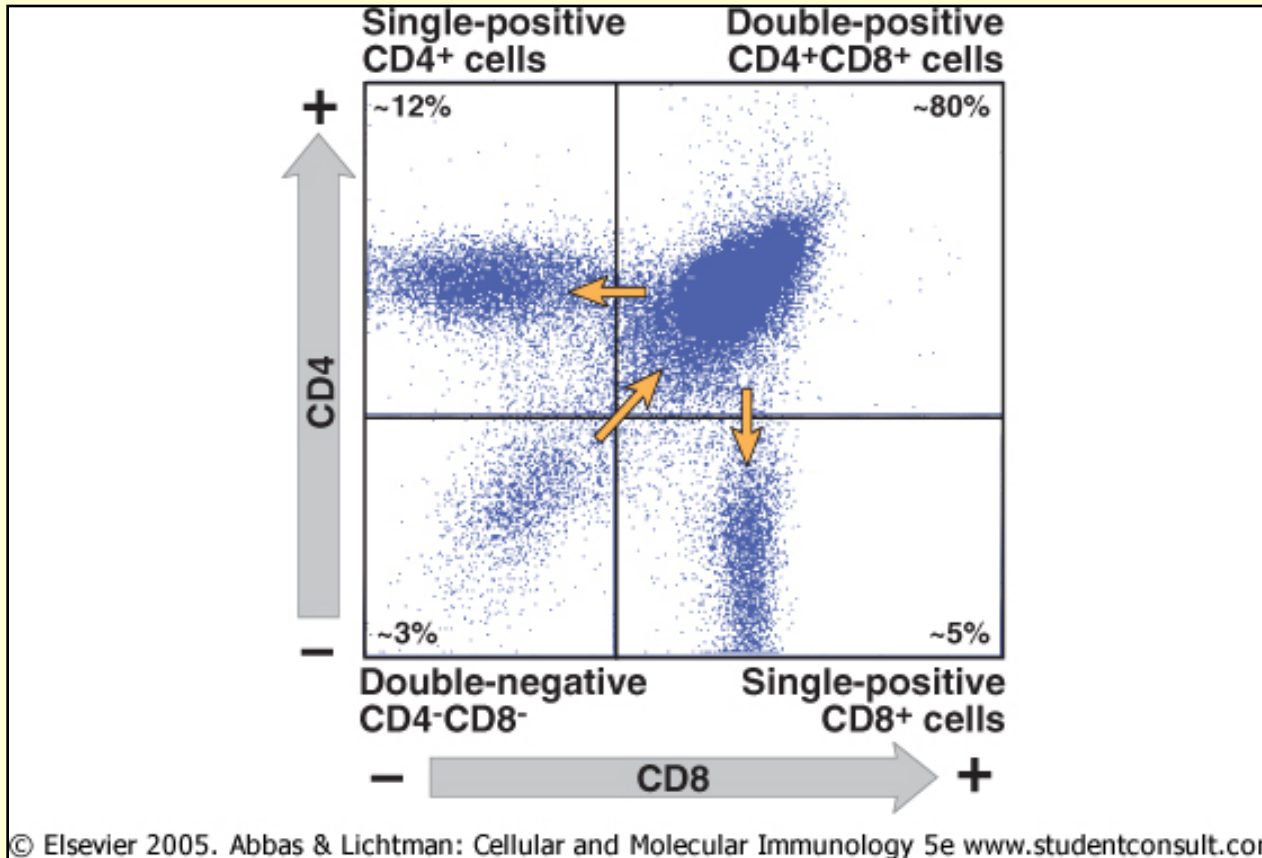
doppelt-positive  
DP: 75-80%

einfach-positive  
CD4 SP: 10-15%  
CD8 SP: 5-8%

In jungen Mäusen bilden sich täglich  $5 \times 10^7$  T-Zellen heraus (25% von allen Thymozyten). Während der Selektionsprozesse sterben 98 % von Thymozyten durch Apoptose ab.

$1-2 \times 10^6$  reife T-Zellen wandern täglich zur Peripherie.

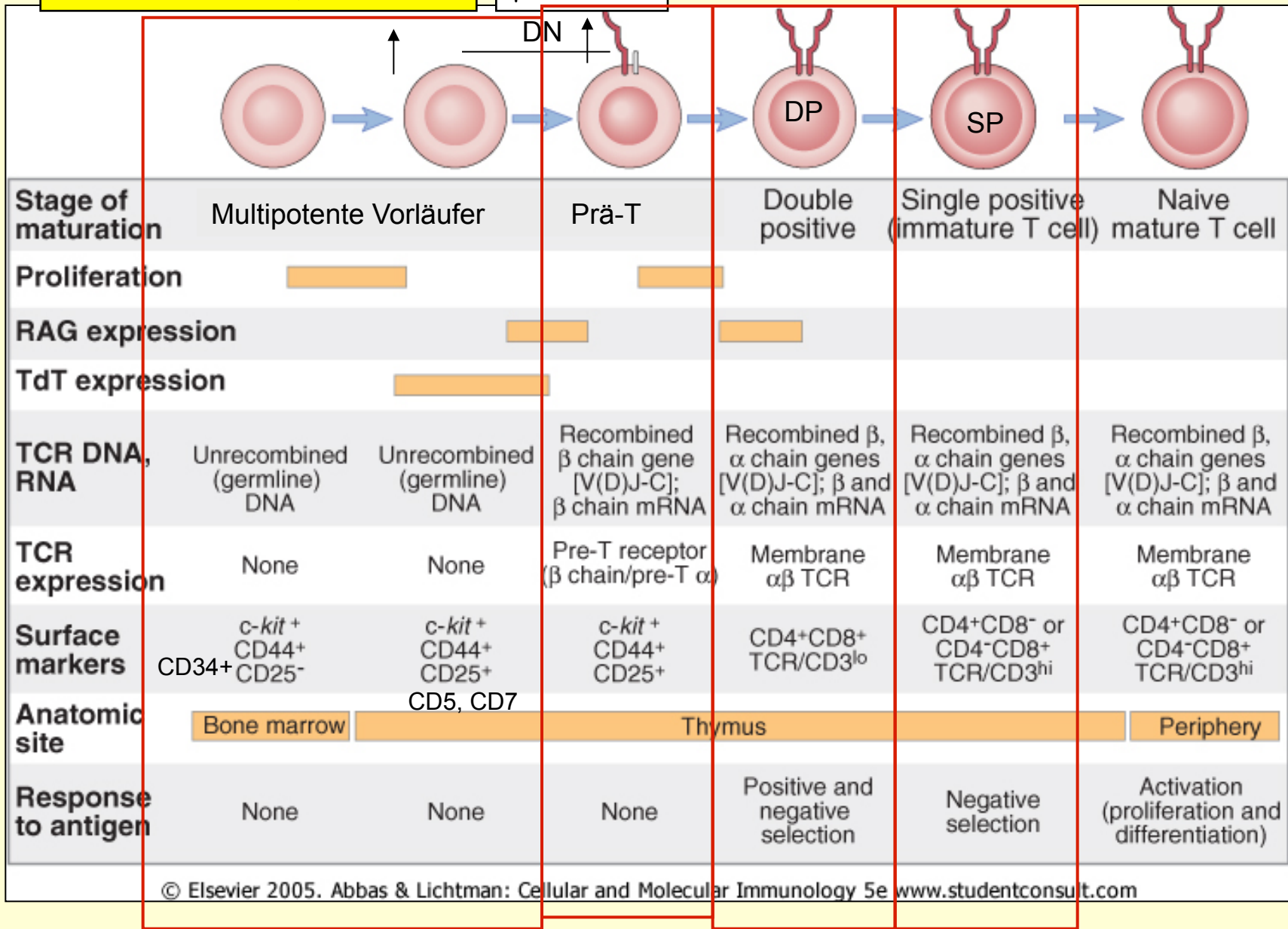
# Thymozytengruppen





Dendritische Zellen, NK-Zellen

$\gamma\delta$  T-Zellen

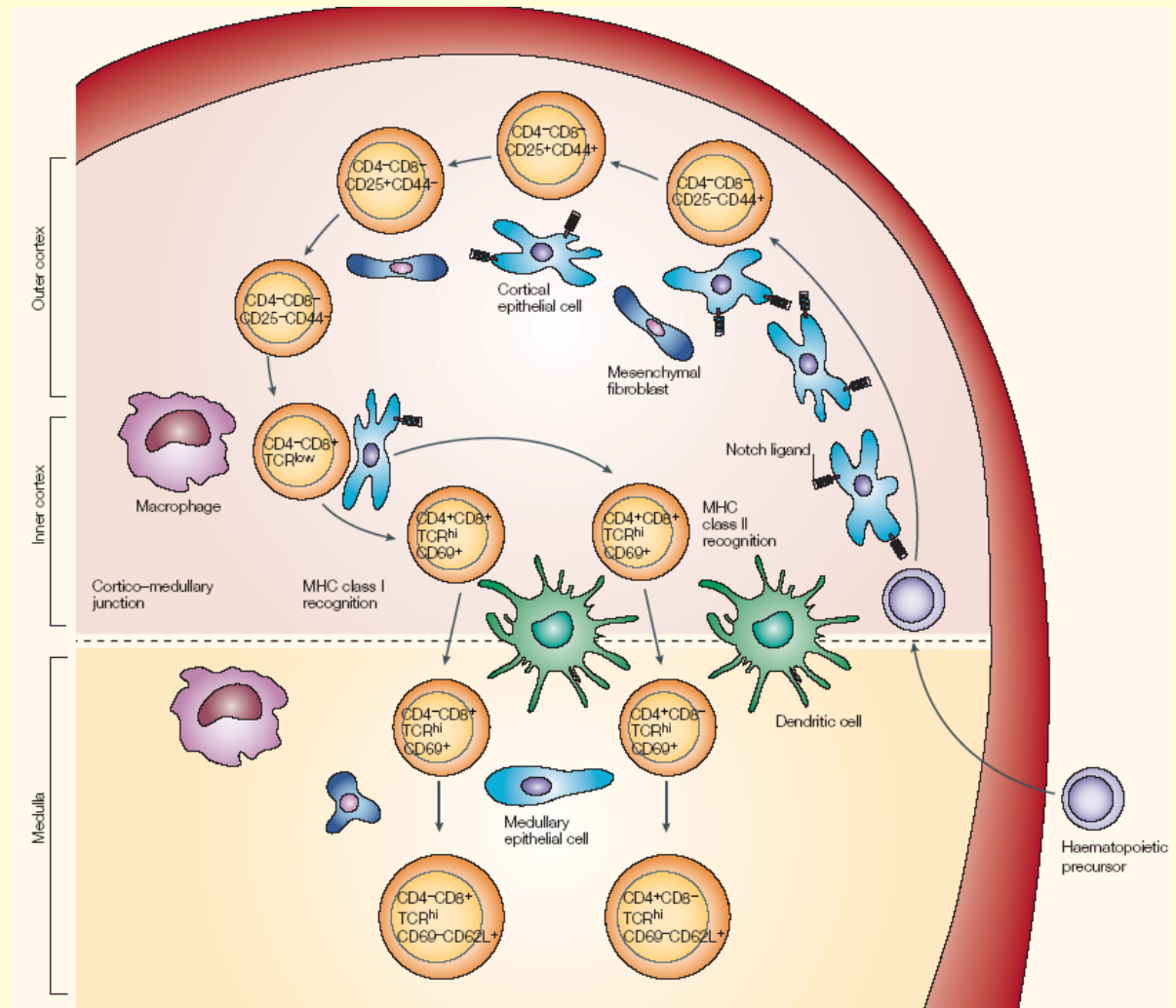


# Regulation von Thymozyten-Reifungsprozessen

- **Zelloberflächenmoleküle** - Adhäsionsmoleküle (CD44), CD28 – B7.1/7.2 , Notch – Notch-Ligand-Wechselwirkungen, Chemokinrezeptoren
- **Humorale Faktoren** – Zytokine (IL-7), Chemokine, Thymozine, Prothymozin- $\alpha$ , Thymulin (FTS-Zn), Thymopoietin, Thymostimulin (TP-1), thymisch humoraler Faktor (THF) und THF-g2, Glukokortikoid-Hormone (GC)

# Stromazellen induzieren T-Zell-Reifung

1. Wanderung:  
Chemokine
2. Proliferation  
IL-7
3. Differenzierung
  - TcR-Genumordnung
  - Phenotyp-Veränderungen
4. Selektion  
Apoptose



**FOXP1:** - kontrolliert Thymusepithelzell-differenzierung, Hautzellen  
- Defizienz: "Nacktmaus" (T-Zell-Mangel & Alopezie)

# Thymische Selektionsprozesse

## Positive Selektion:

Epithelzelle – DP-Thymozyten-Wechselwirkung im Thymus-Kortex

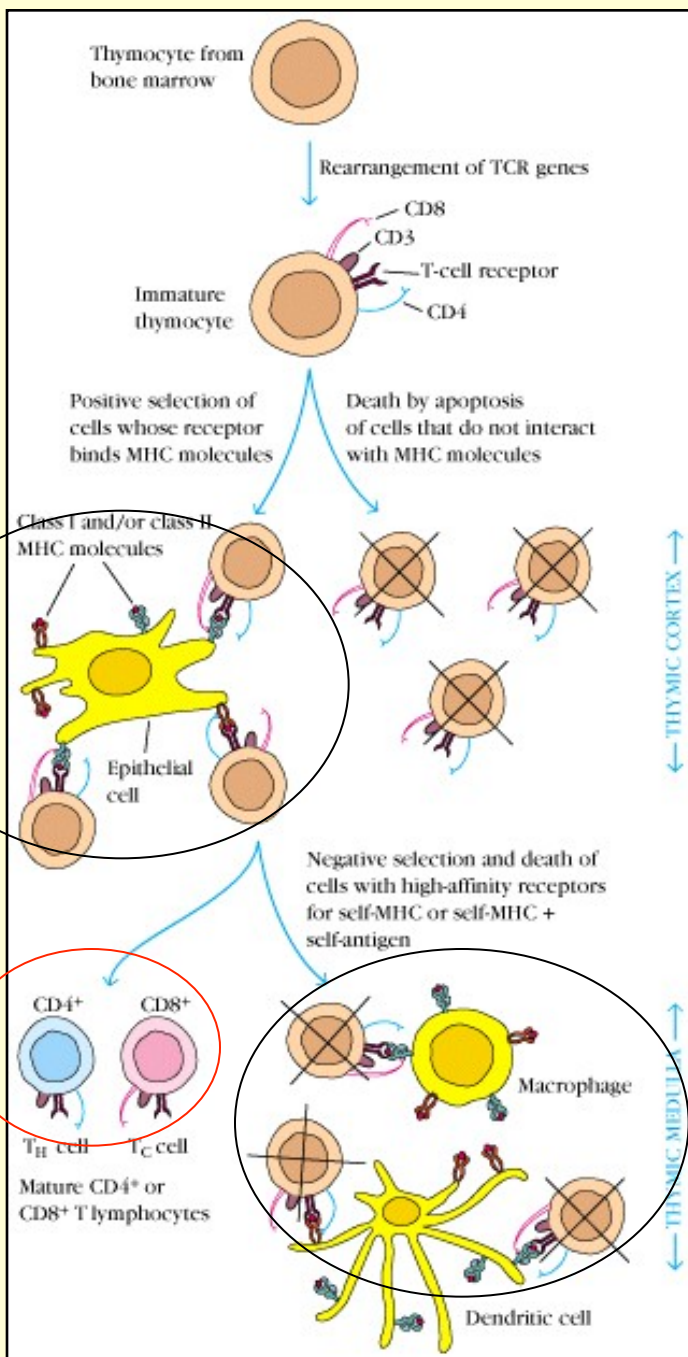
DP-Zellen, die Selbst-MHC-Moleküle erkennen können, werden überleben  
→ MHC-RESTRIKTION

## Negative Selektion:

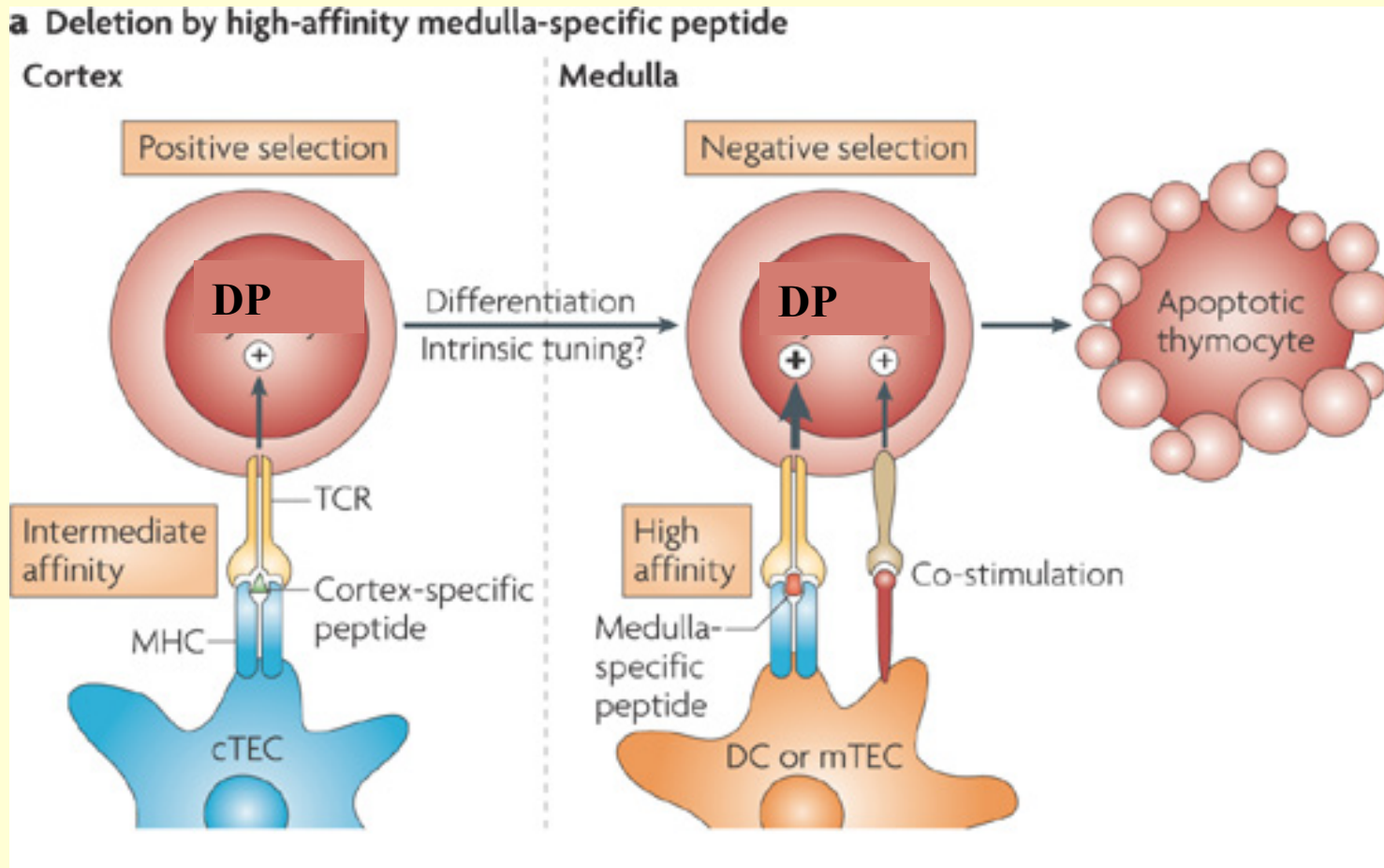
APC (Makrophage oder DC) – DP-Thymozyten-Wechselwirkung im Thymus-Medulla

Apoptose von Zellen mit hoher TcR-Affinität gegen Selbst-Antigene  
→ TOLERANZ

Differenzierung zu reifen T-Zellen



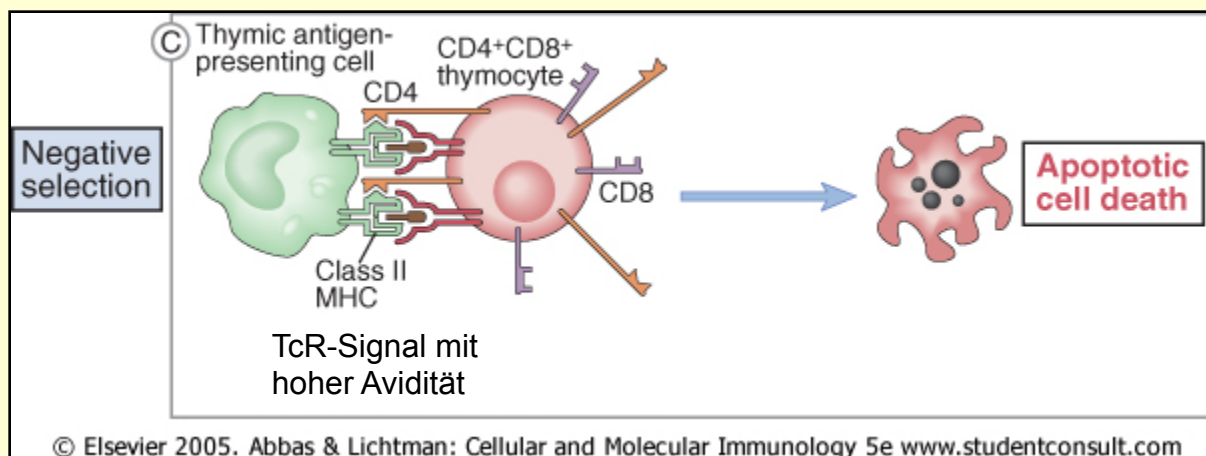
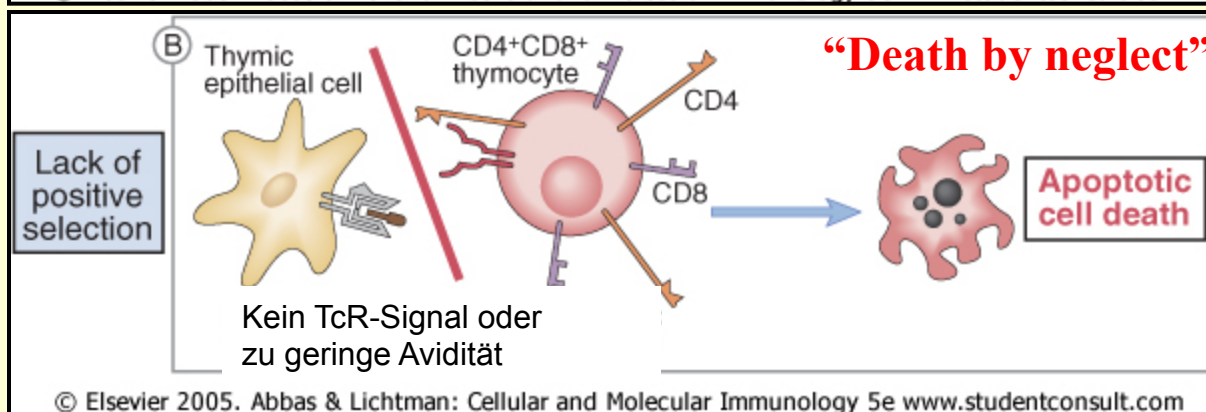
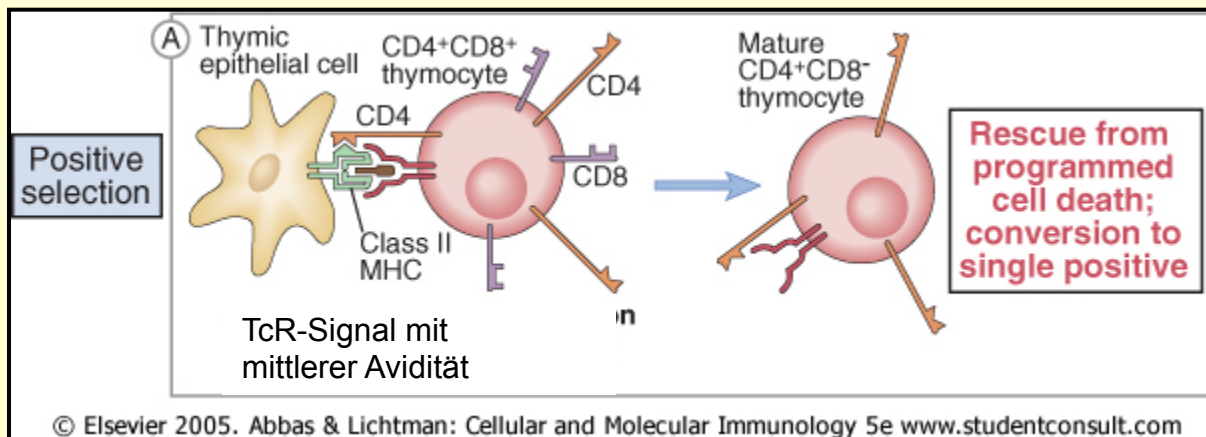
# Affinitätsmodell der positiven und negativen Selektion



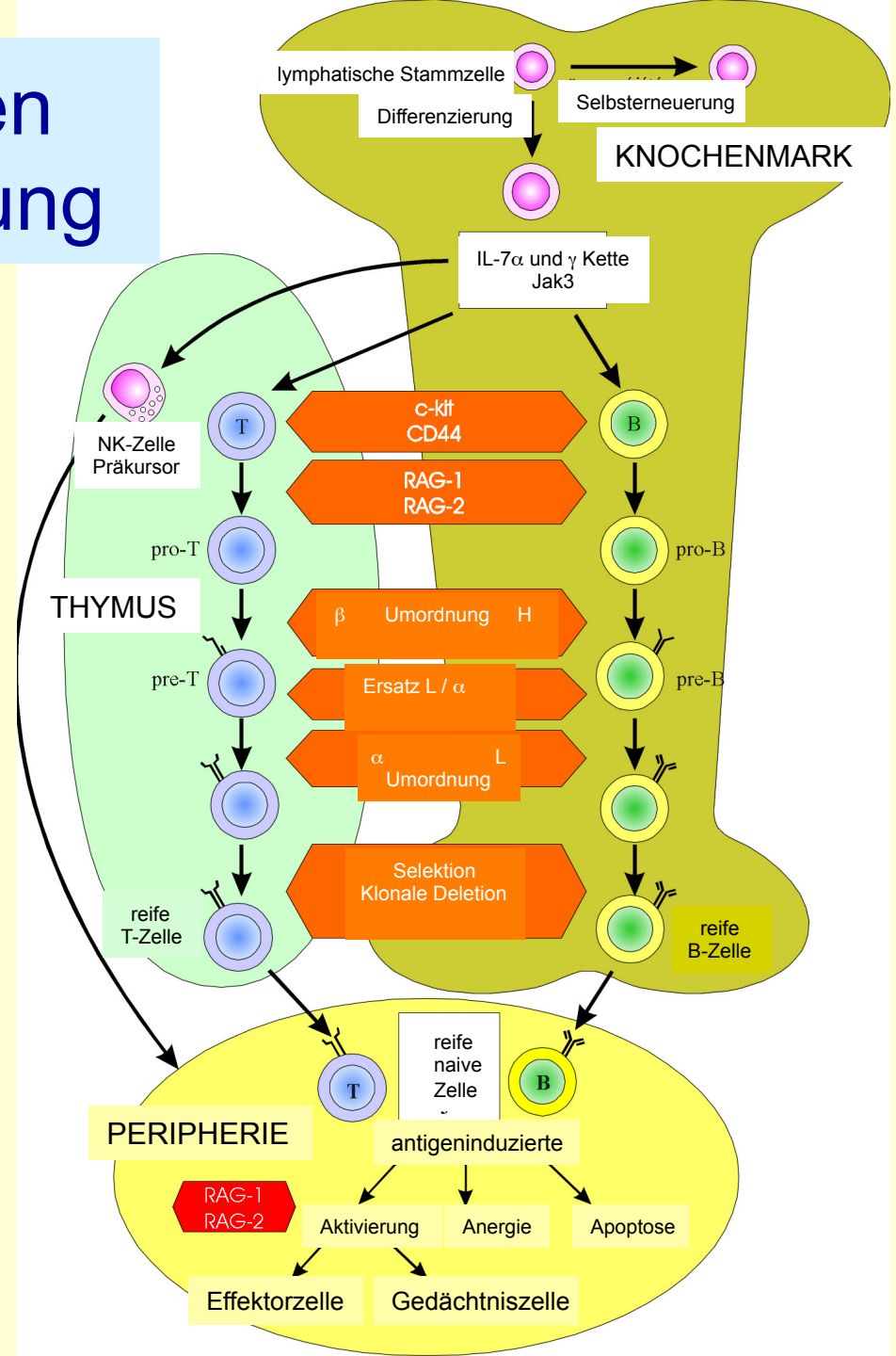
**AIRE (=Autoimmune regulator):**

- Promiskuitiven Genexpression von Epithelzellen (Expression von extrathymischen Antigenen)
- Defizienz: multiplen Autoimmunpathologien in Mäuse und Menschen





# Gleiche Eigenschaften der B- und T-Zell-Reifung



# „Checkpoints“ der zentralen B/T-Lymphozytenreifung

