

Maturazione dei linfociti B

Sistema immunitario

Difendere da antigeni patogeni.

Cellule del sistema immunitario = **discriminare** fra antigeni patogeni (**non self**) e antigeni autologhi (**self**)

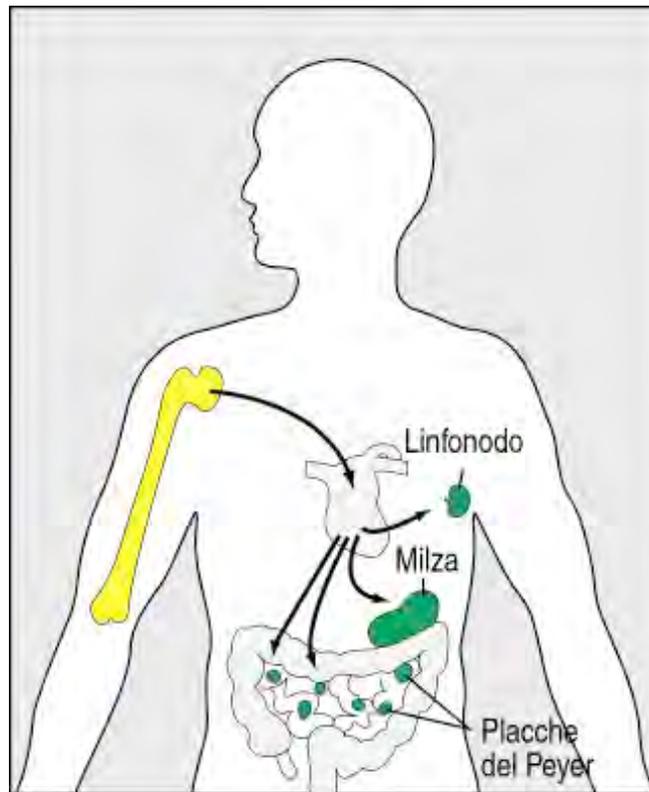
Selezionare linfociti (B e T)

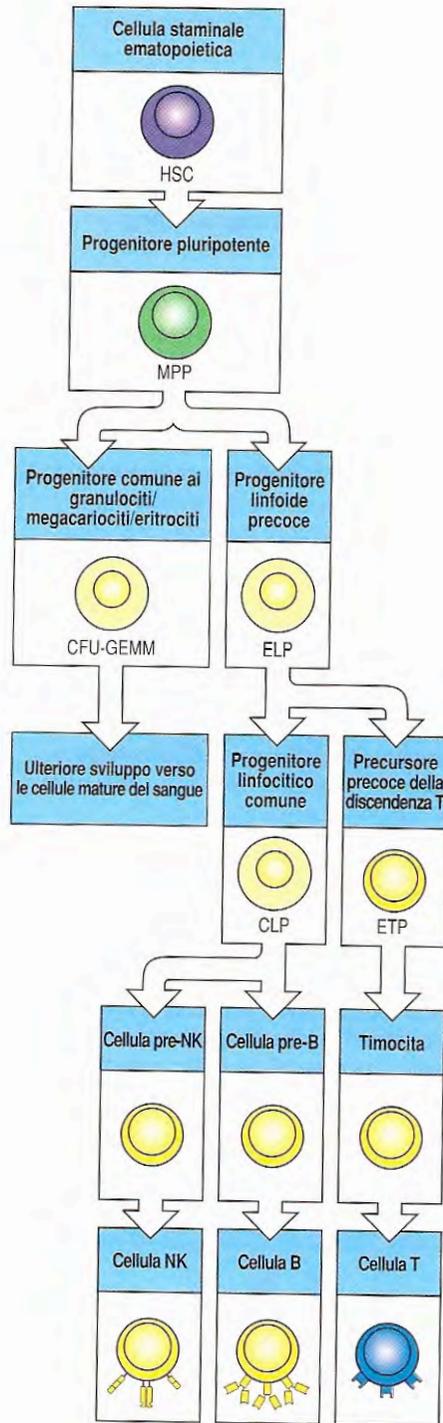
- . che non riconoscono il self : selezione positiva
- . che riconoscono self: selezione negativa o tolleranza

La **specificità e l'affinità** del recettore determina il **destino** del linfocita immaturo: sopravvivenza o morte.

Riarrangiamento genico assicura **varietà** del **repertorio** nel suo insieme e l'**unicità** della **specificità antigenica** di un singolo linfocita

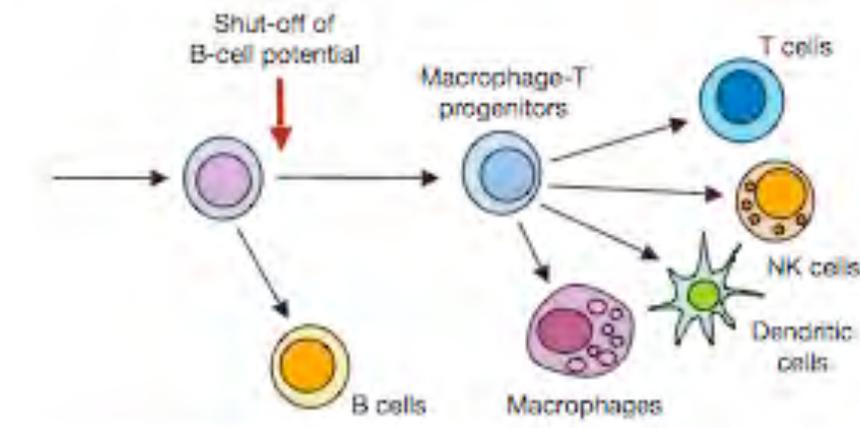
Le cellule B si sviluppano nel midollo osseo e poi migrano verso i tessuti linfatici secondari

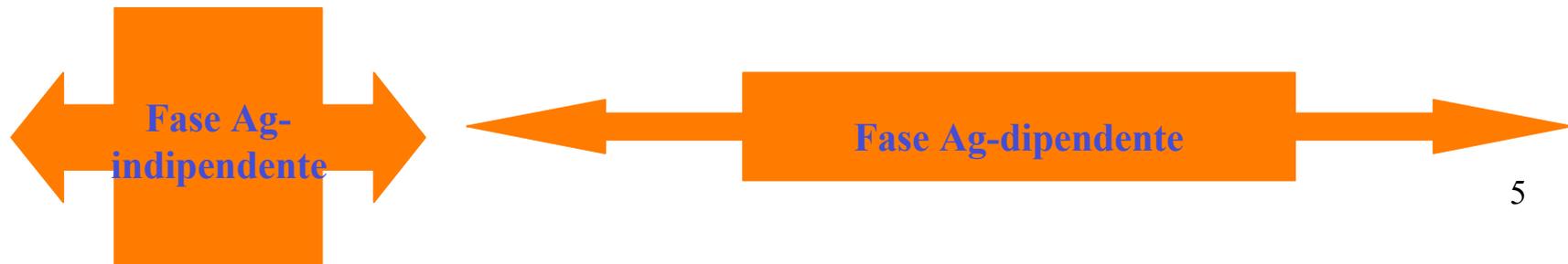
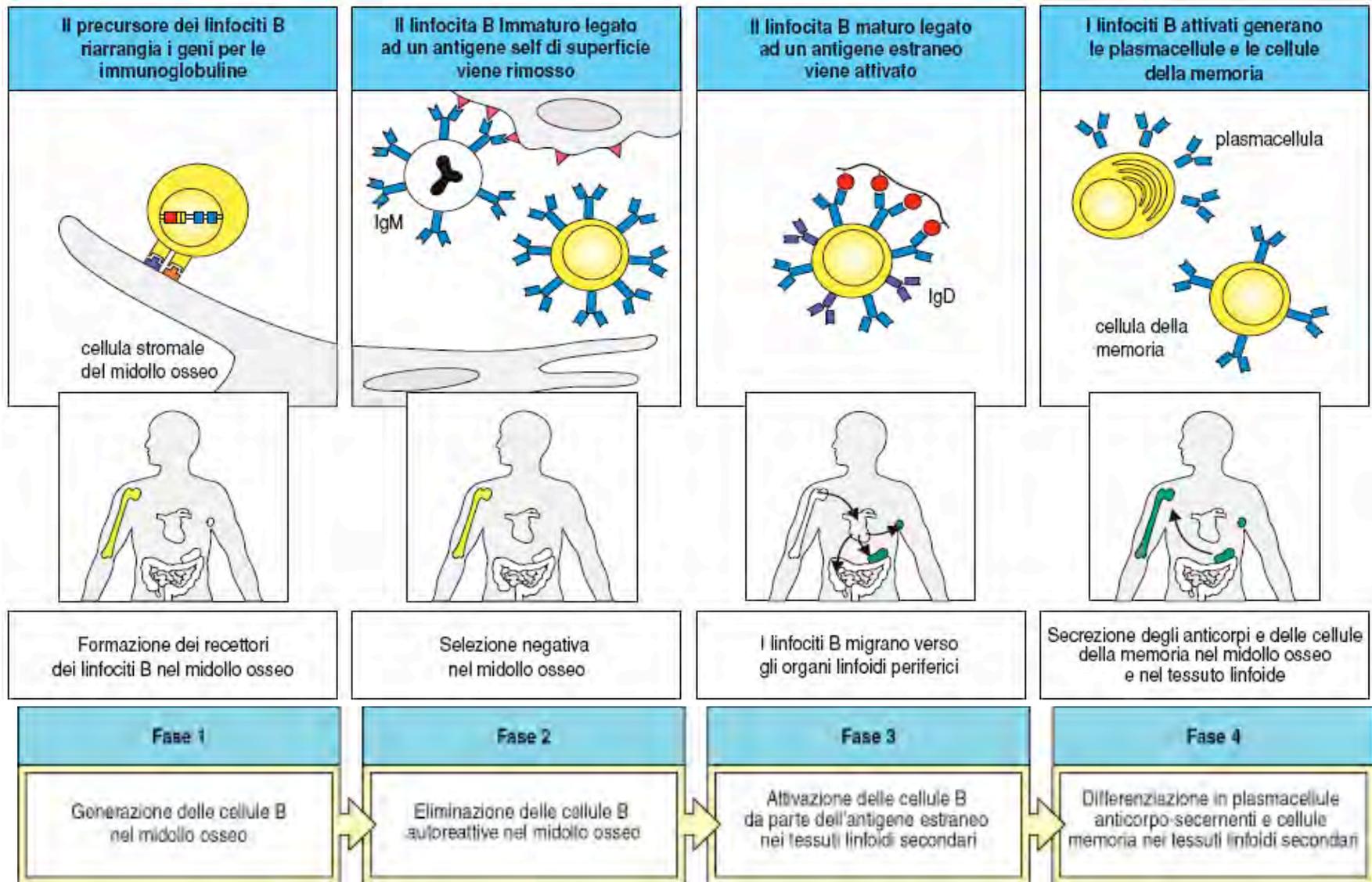




Una cellula staminale ematopoietica multipotente genera le cellule del sistema immunitario

Da Aprile 2008 in Nature

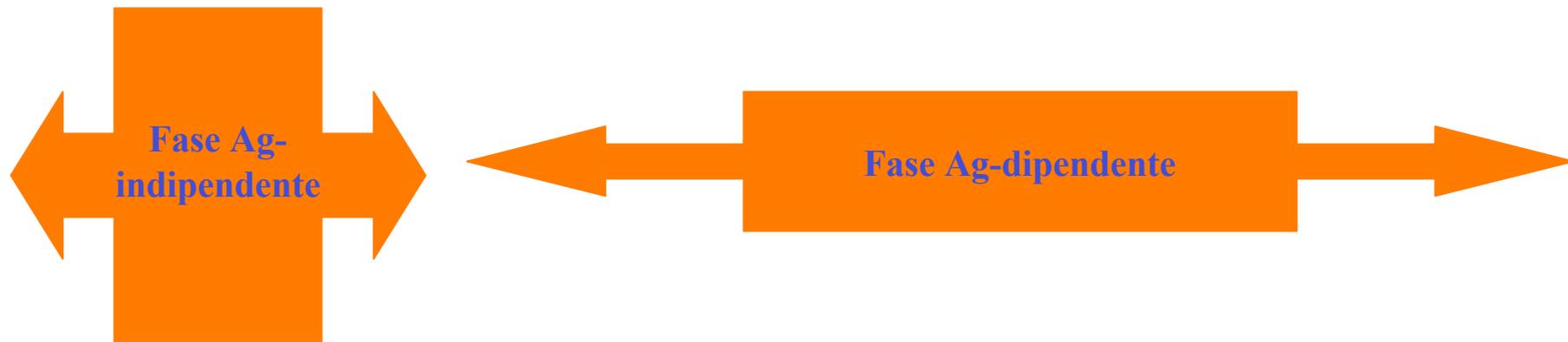
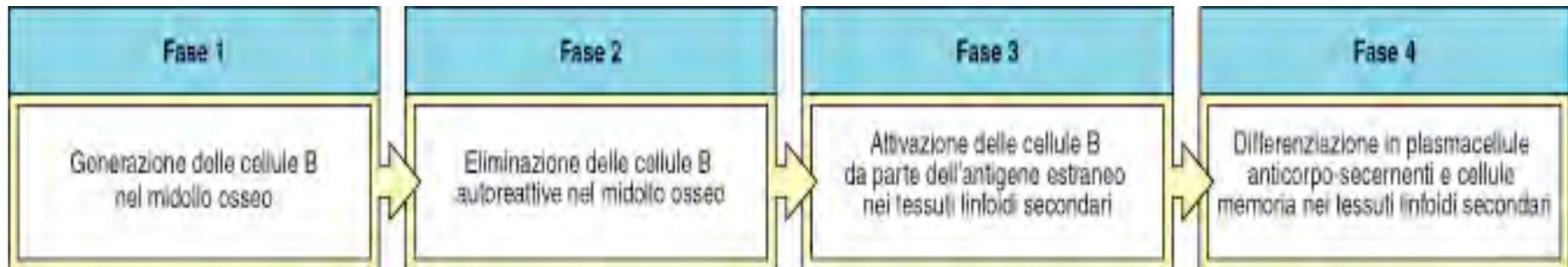




Le diverse fasi dello sviluppo dei linfociti sono individuate:

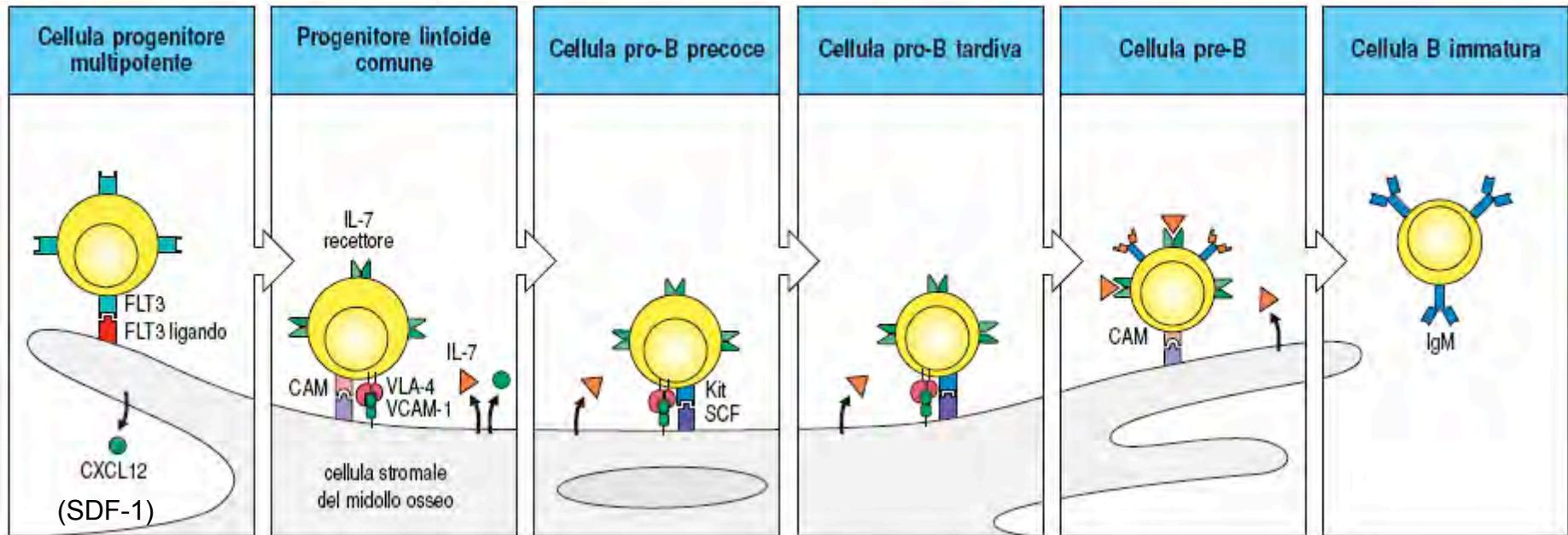
- **sia dal progredire nel riarrangiamento dei geni per il recettore dell'antigene (BCR) e nella conseguente espressione del loro prodotto proteico**
- **sia da cambiamento dell'espressione di altre proteine di membrana ed intracellulari**

FASE 1



Fase 1

Le fasi iniziali dello sviluppo della cellula B dipendono dalle cellule stromali del midollo osseo



Fattori di trascrizione implicati:

PU.1
Ikaros

E2A
EBF

Pax-5

Fase 1

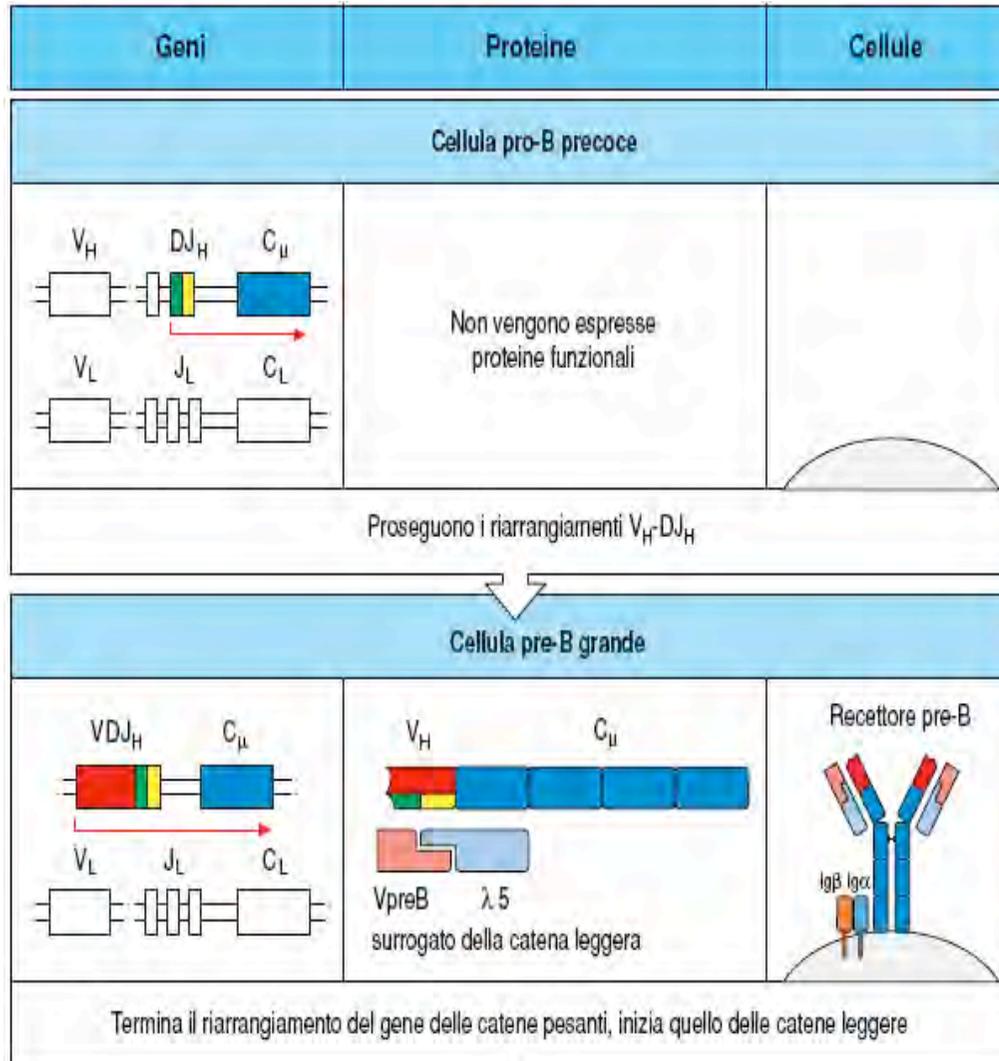
La maturazione delle cellule B nel midollo osseo = fasi definite dal riarrangiamento genico e dall'espressione delle Ig sulla membrana

Fase Ag-indipendente



	Cellula staminale	Cellula pro-B precoce	Cellula pro-B tardiva	Grande cellula pre-B	Piccola cellula pre-B	Cellula B immatura	Cellula B matura
Geni delle catene H	Linea germinale	D-J in riarrangiamento	V-DJ in riarrangiamento	VDJ riarrangiati	VDJ riarrangiati	VDJ riarrangiati	VDJ riarrangiati
Geni delle catene L	Linea germinale	Linea germinale	Linea germinale	Linea germinale	V-J in riarrangiamento	VJ riarrangiati	VJ riarrangiati
Ig di superficie	Assente	Assente	Assente	Catena μ in superficie come parte del recettore della cellula pre-B. Principalmente intracellulare	Catena μ intracellulare	IgM espressa sulla superficie cellulare	IgD e IgM derivate da splicing alternativi dei trascritti della catena H

Espressione del recettore in base allo stadio di maturazione della cellula B



Recettore pre-B:

- Induce proliferazione
- Inibisce ricombinazione catena H
- Induce ricombinazione catena L
- Inibisce sintesi catene surrogate L

- Attivazione tramite tirosin-chinasi Bruton (Btk)
 Mutazioni nell'uomo: XLA,
 agammaglobulinemia legata al cromosoma X

Fase 1

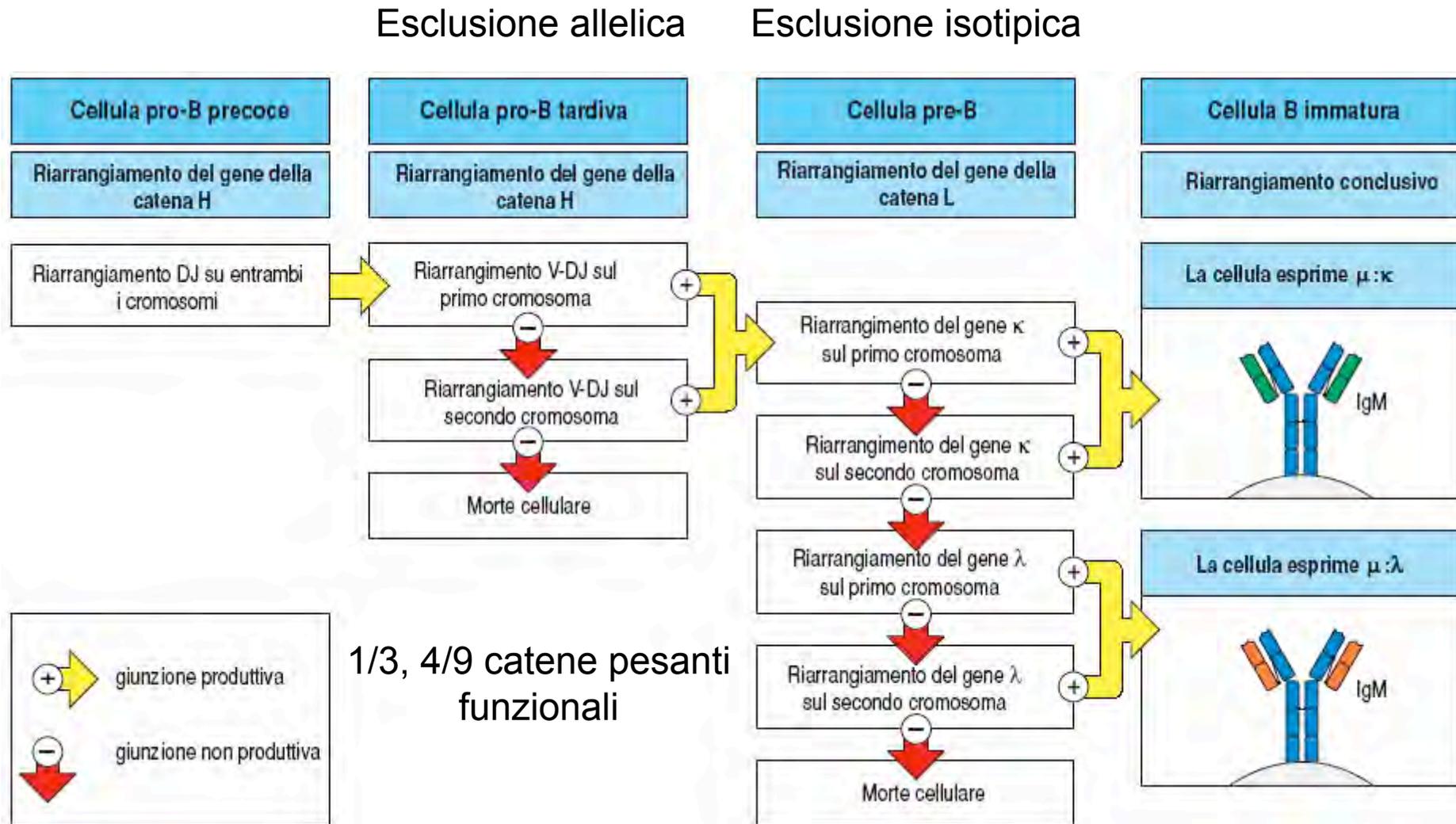
La maturazione delle cellule B nel midollo osseo = fasi definite dal riarrangiamento genico e dall'espressione delle Ig sulla membrana

Fase Ag-indipendente

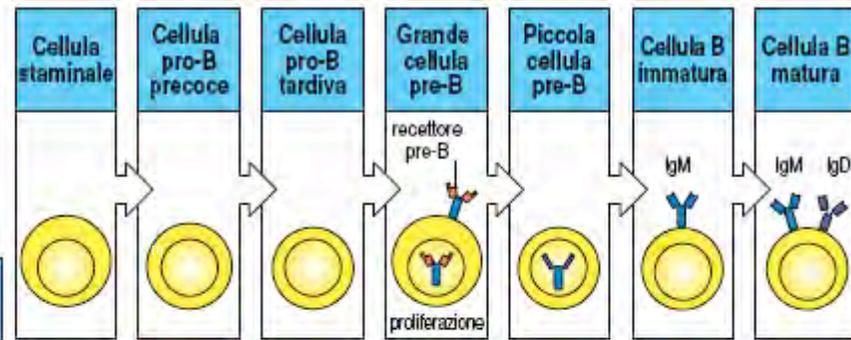


	Cellula staminale	Cellula pro-B precoce	Cellula pro-B tardiva	Grande cellula pre-B	Piccola cellula pre-B	Cellula B immatura	Cellula B matura
Geni delle catene H	Linea germinale	D-J in riarrangiamento	V-DJ in riarrangiamento	VDJ riarrangiati	VDJ riarrangiati	VDJ riarrangiati	VDJ riarrangiati
Geni delle catene L	Linea germinale	Linea germinale	Linea germinale	Linea germinale	V-J in riarrangiamento	VJ riarrangiati	VJ riarrangiati
Ig di superficie	Assente	Assente	Assente	Catena μ in superficie come parte del recettore della cellula pre-B. Principalmente intracellulare	Catena μ intracellulare	IgM espressa sulla superficie cellulare	IgD e IgM derivate da splicing alternativi dei trascritti della catena H

Sequenza dei riarrangiamenti che portano all'espressione delle Ig di superficie

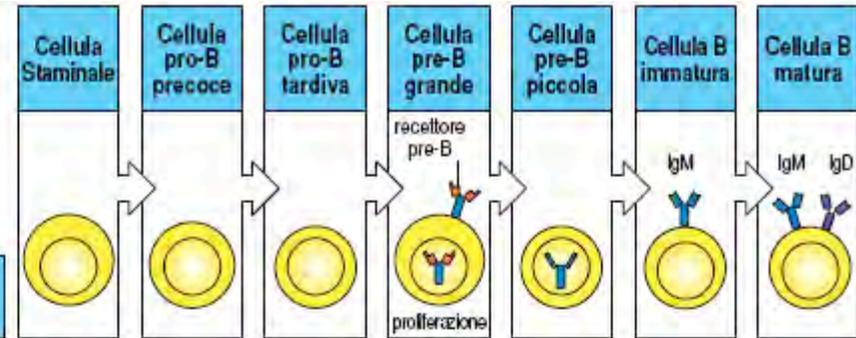


Nell'uomo, esclusione isotipica della catena leggera, rapporto $\kappa:\lambda$ è di 65%:35%¹²



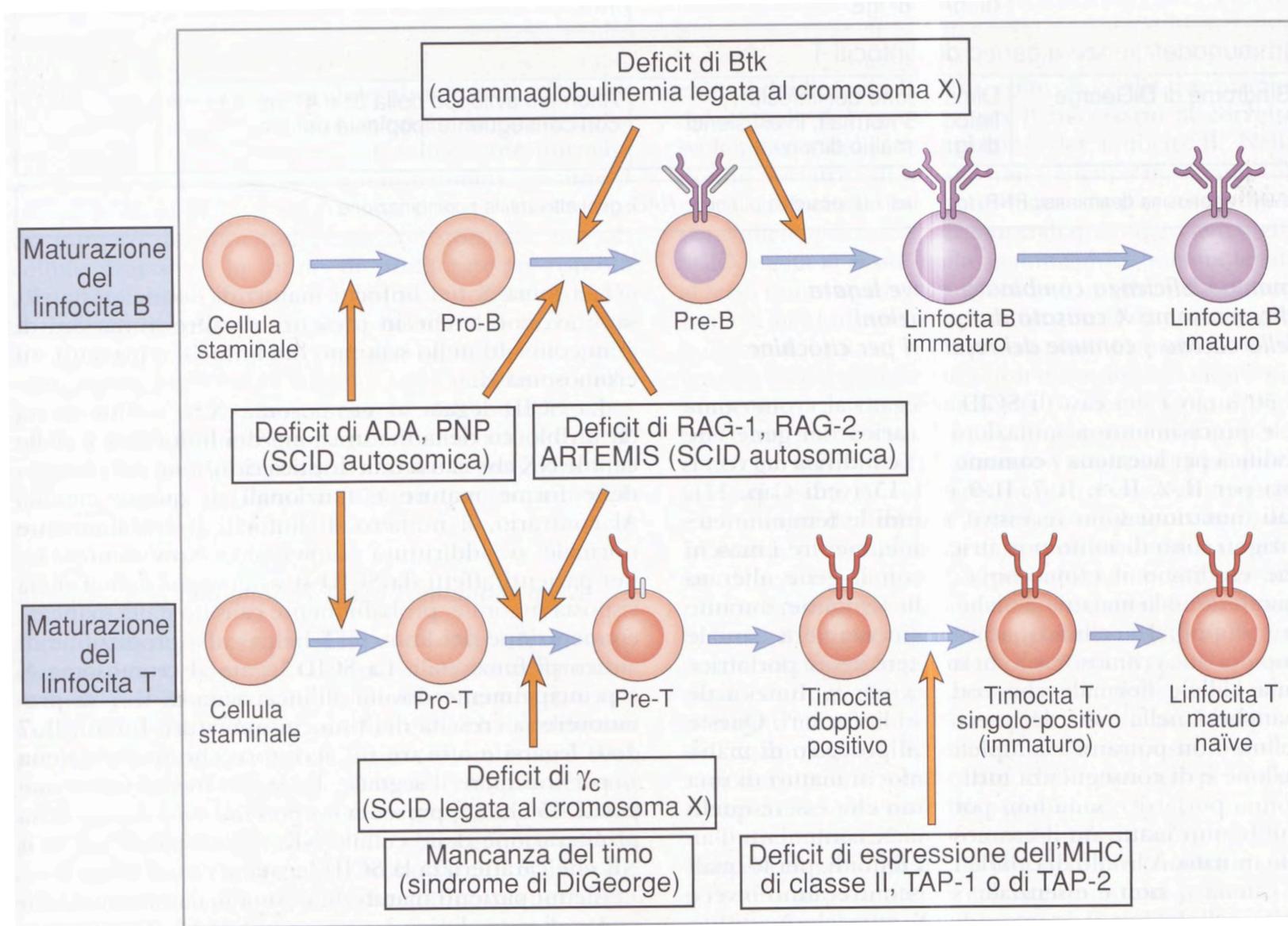
Riarrangiamento	
D-J _H	
V _H -DJ _H	
V _K -J _K	
V _λ -J _λ	
Proteina	Funzione
RAG-1	Ricombinasi linfoide-specifica
RAG-2	
TdT	Aggiunta di N-nucleotide
λ5	Componenti surrogato della catena leggera
VpreB	
Igα	Trasduzione del segnale
Igβ	
CD45R	
Btk	

Correlazione tra gli stadi di sviluppo, il riarrangiamento genico delle Ig e l'espressione di proteine

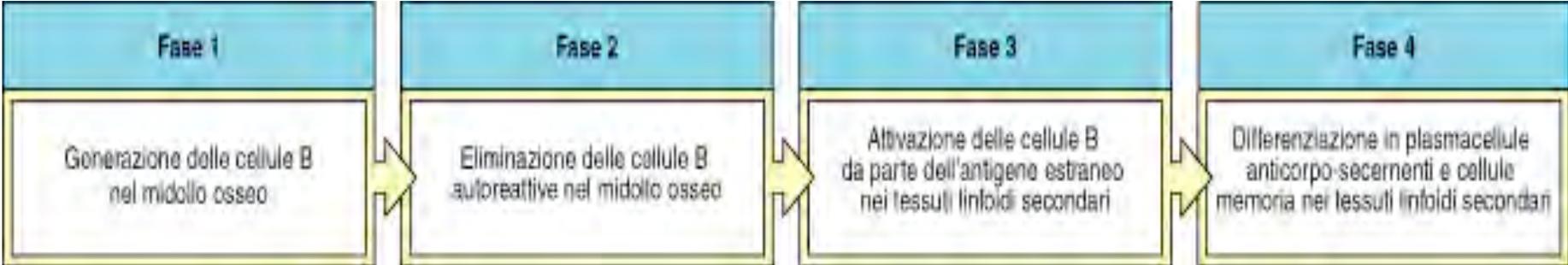


Proteina	Funzione	Cellula Staminali	Cellula pro-B precoce	Cellula pro-B tardiva	Cellula pre-B grande	Cellula pre-B piccola	Cellula B immatura	Cellula B matura
FLT3	Segnalazione	+	+	+	+	+	+	+
Kit	Recettore del fattore di crescita	+	+	+	+	+	+	+
Recettore IL-7		+	+	+	+	+	+	+
CD25 (recettore IL-2)		+	+	+	+	+	+	+
CD19	Traduzione del segnale	+	+	+	+	+	+	+
CD45R (B220)		+	+	+	+	+	+	+
CD43	Sconosciuta	+	+	+	+	+	+	+
CD24		+	+	+	+	+	+	+
BP-1	Aminopeptidasi	+	+	+	+	+	+	+
Ikaros	Fattori di trascrizione	+	+	+	+	+	+	+
Oct-2		+	+	+	+	+	+	+
E2A & EBF		+	+	+	+	+	+	+
Pax-5/BSAP		+	+	+	+	+	+	+
		+	+	+	+	+	+	+

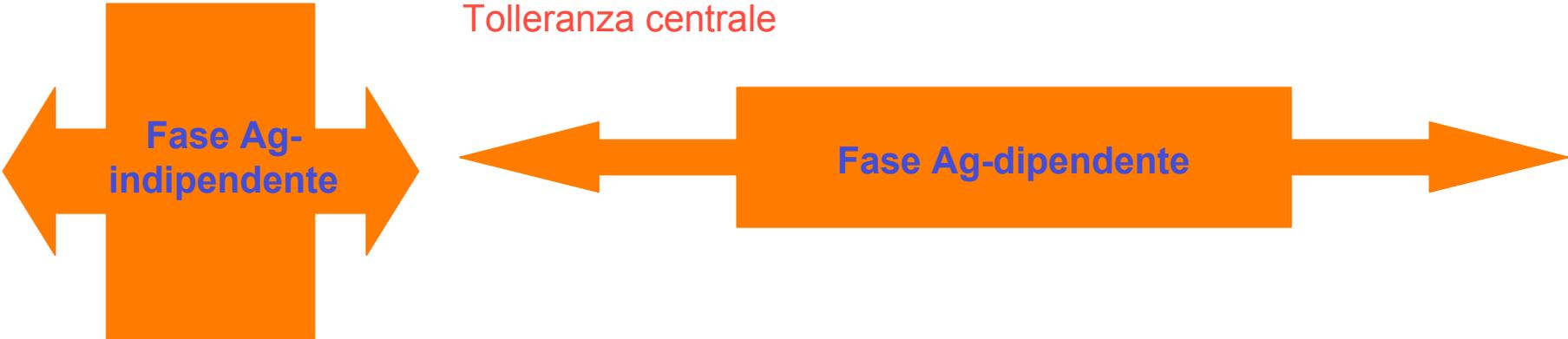
Pan-B →



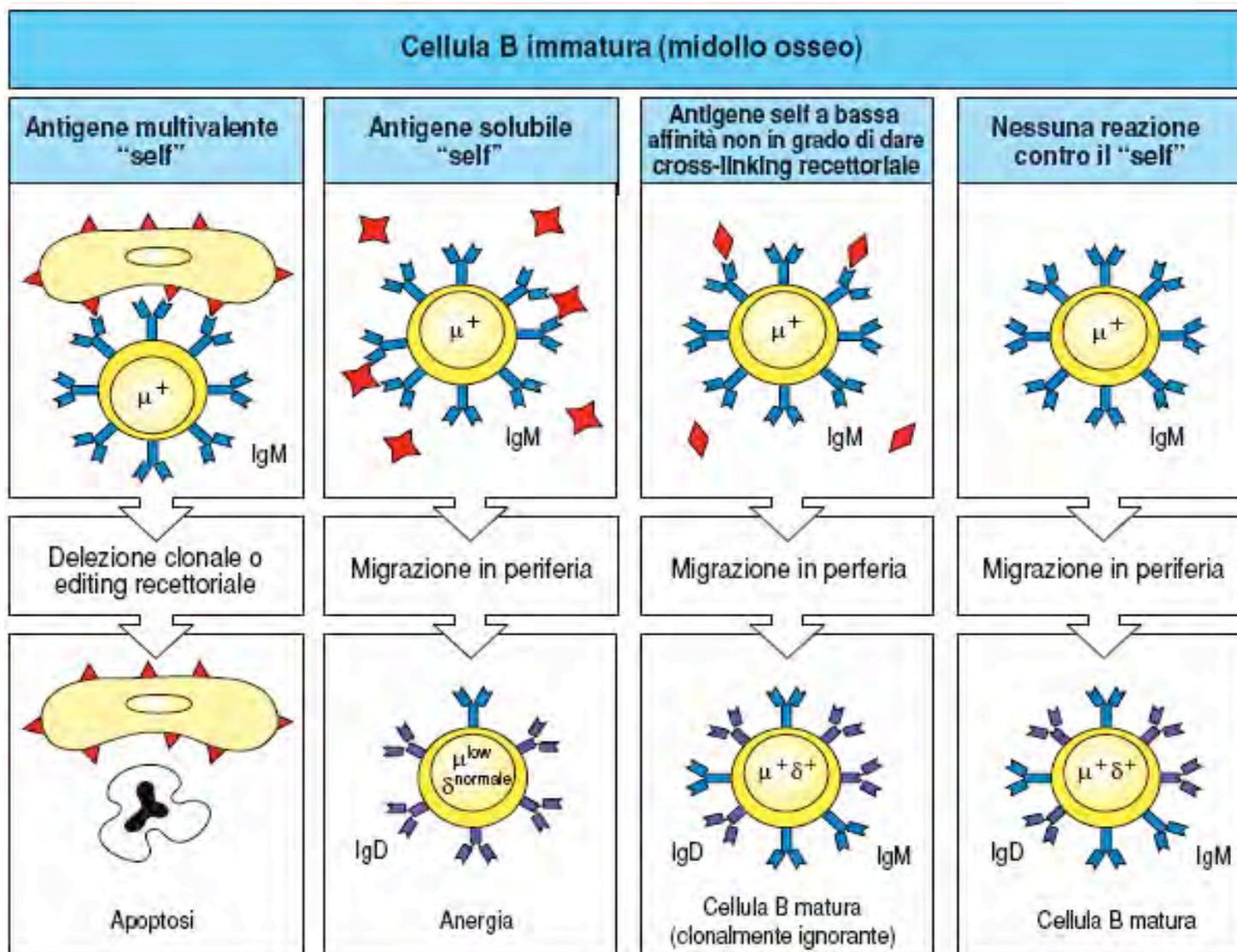
FASE 2



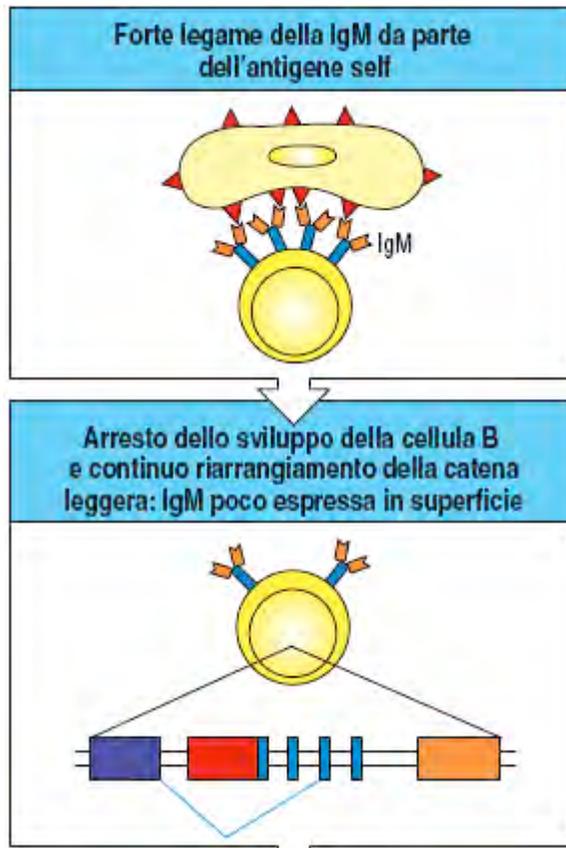
Tolleranza centrale



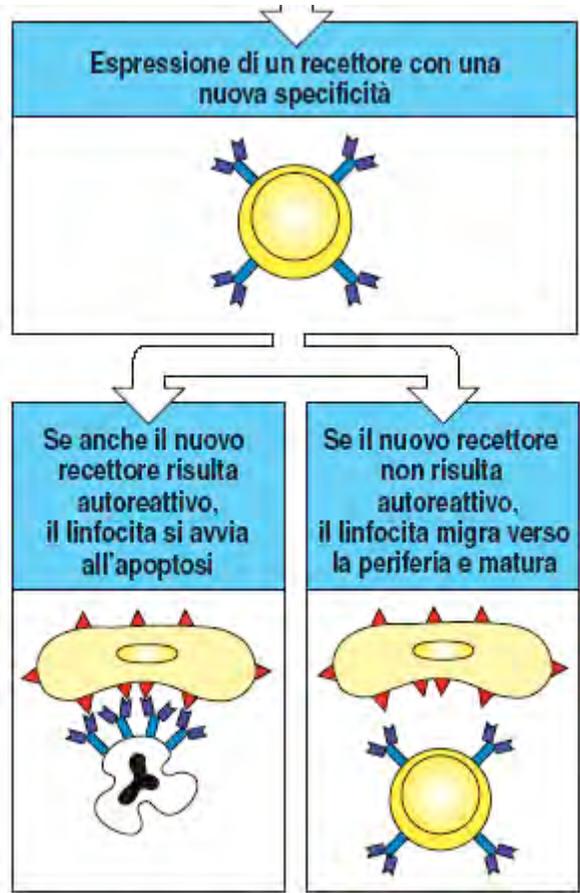
Fase 2: Selezione negativa = legame con autoantigeni = delezione o inattivazione cellule B immature autoreattivi.



Equilibrio fra eliminazione delle auto-reattività e mantenimento della ¹⁷ capacità di risposta ai patogeni (ampio repertorio di recettori specifici)

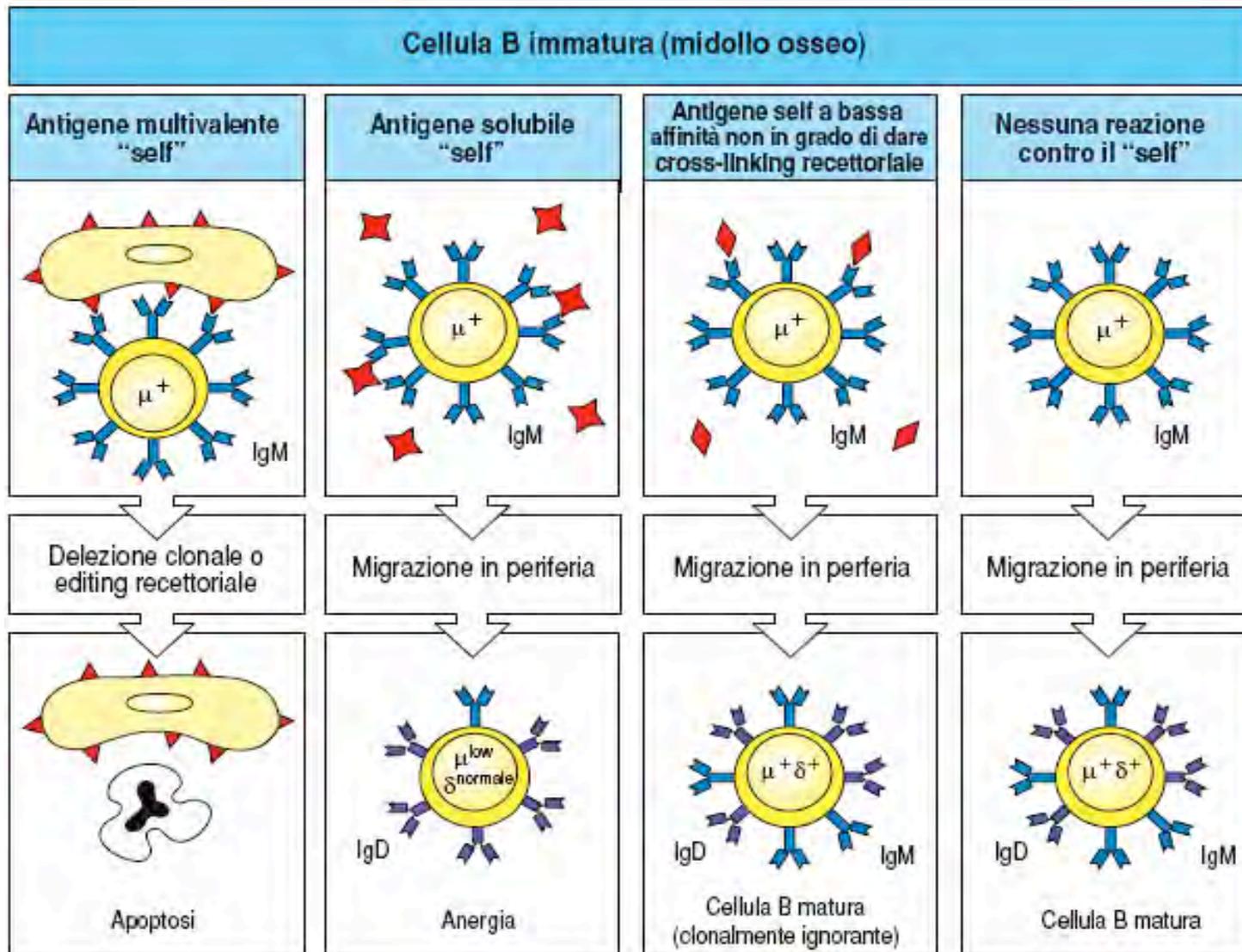


Revisione del recettore (Receptor editing)



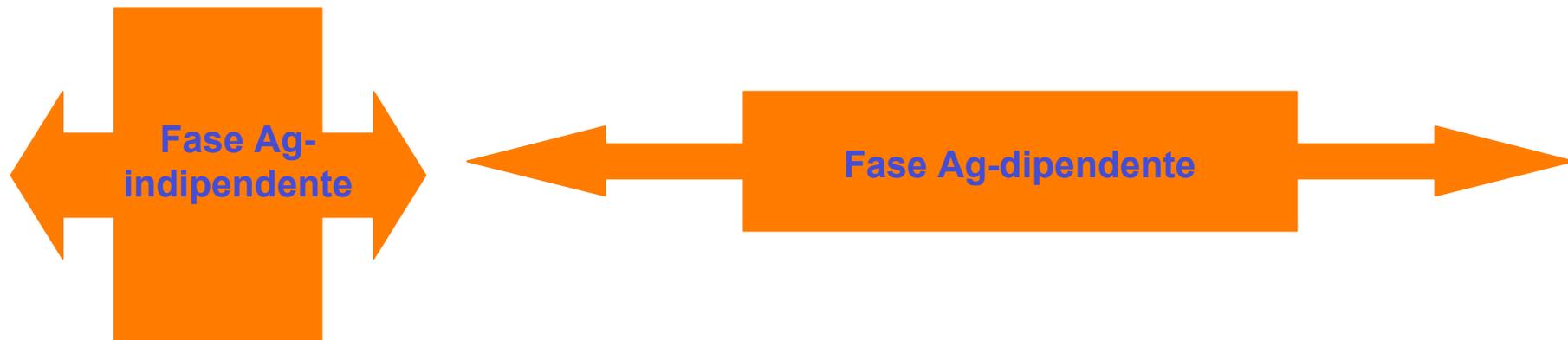
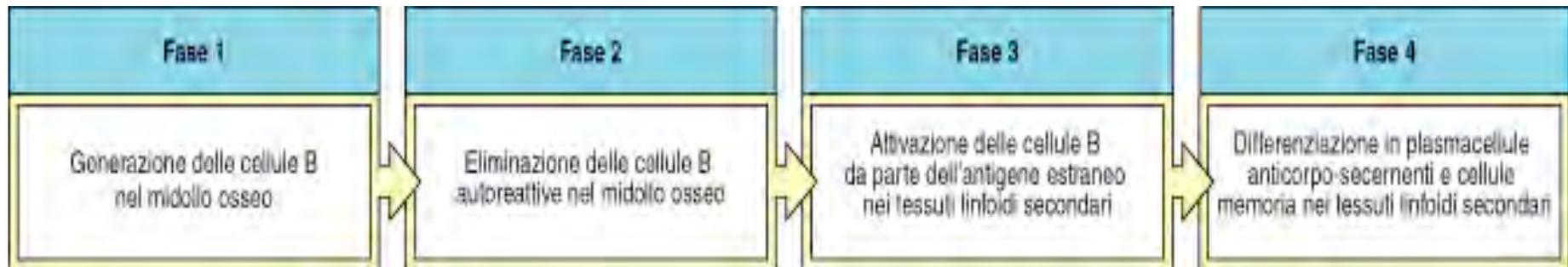
La sostituzione delle catene leggere per modificazione del recettore può recuperare alcune cellule B auto-reattive cambiando la loro specificità antigenica

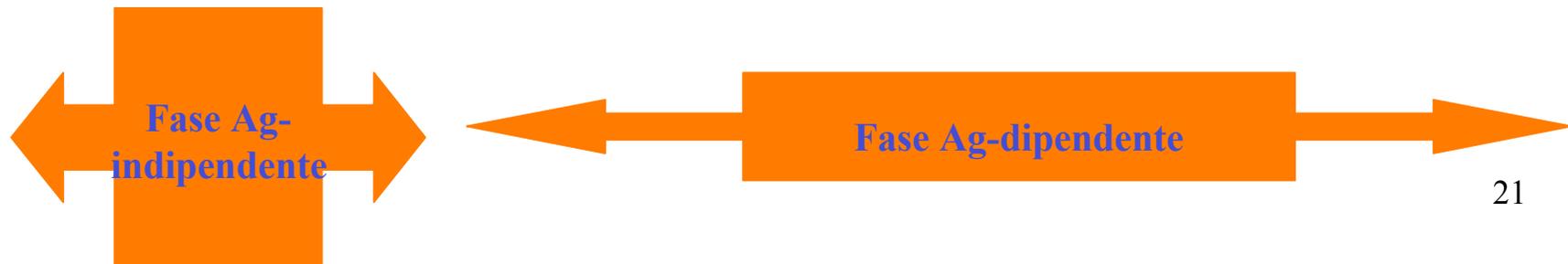
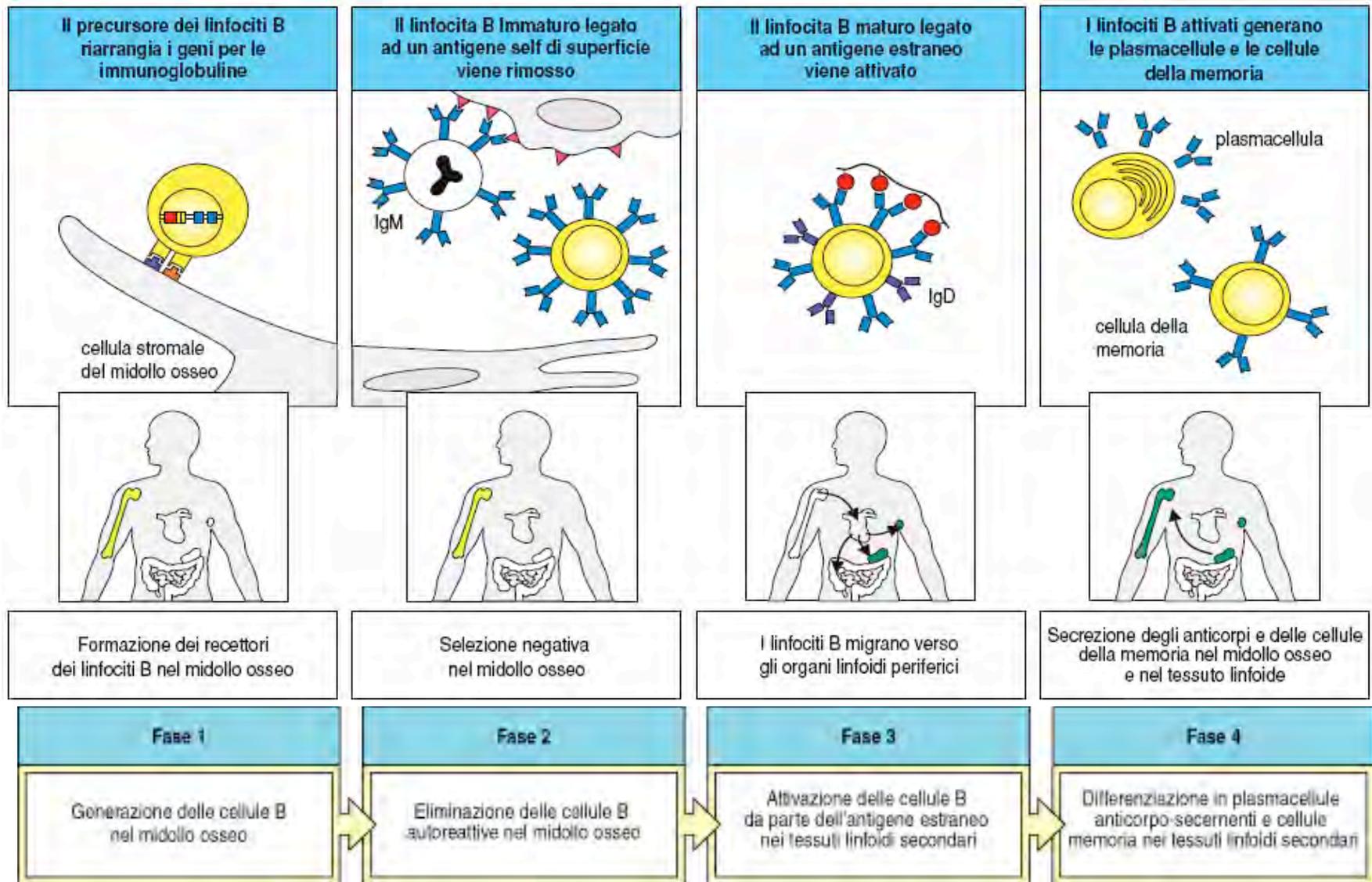
Fase 2: Selezione negativa = legame con autoantigeni = delezione o inattivazione cellule B immature autoreattivi.

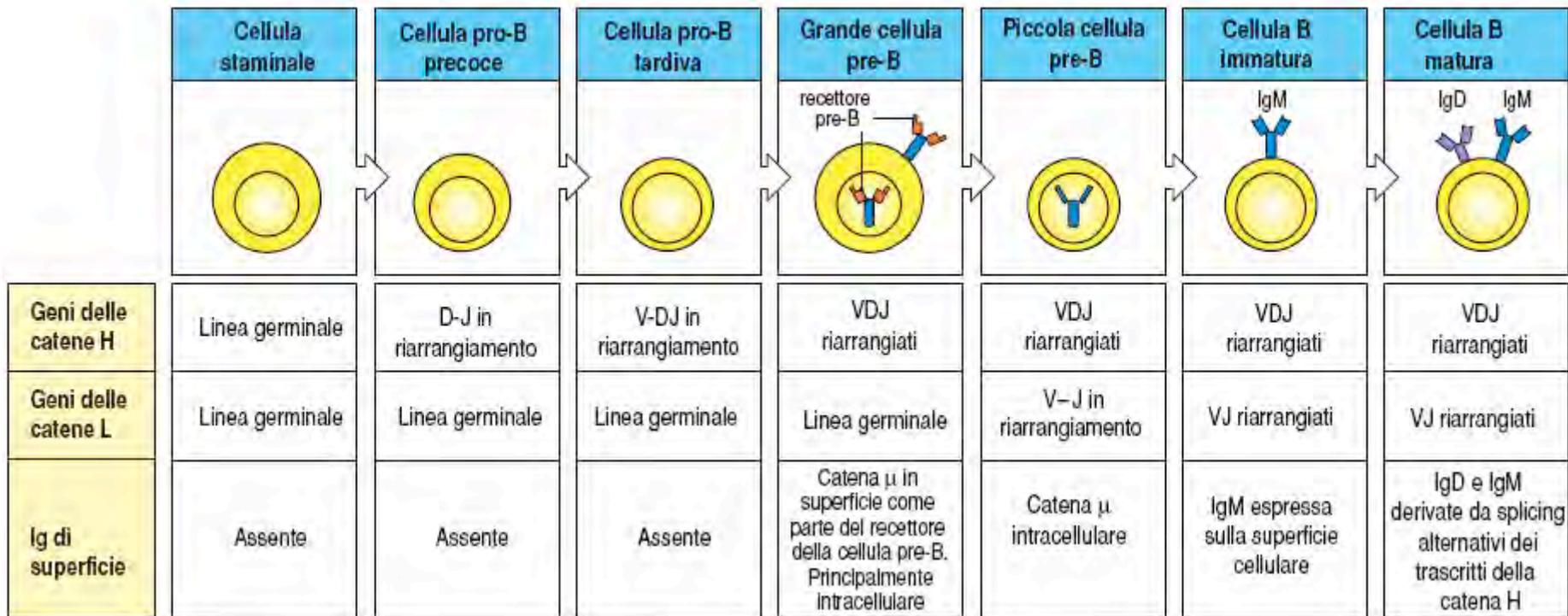


Equilibrio fra eliminazione delle auto-reattività e mantenimento della capacità di risposta ai patogeni (ampio repertorio di recettori specifici)

FASE 3







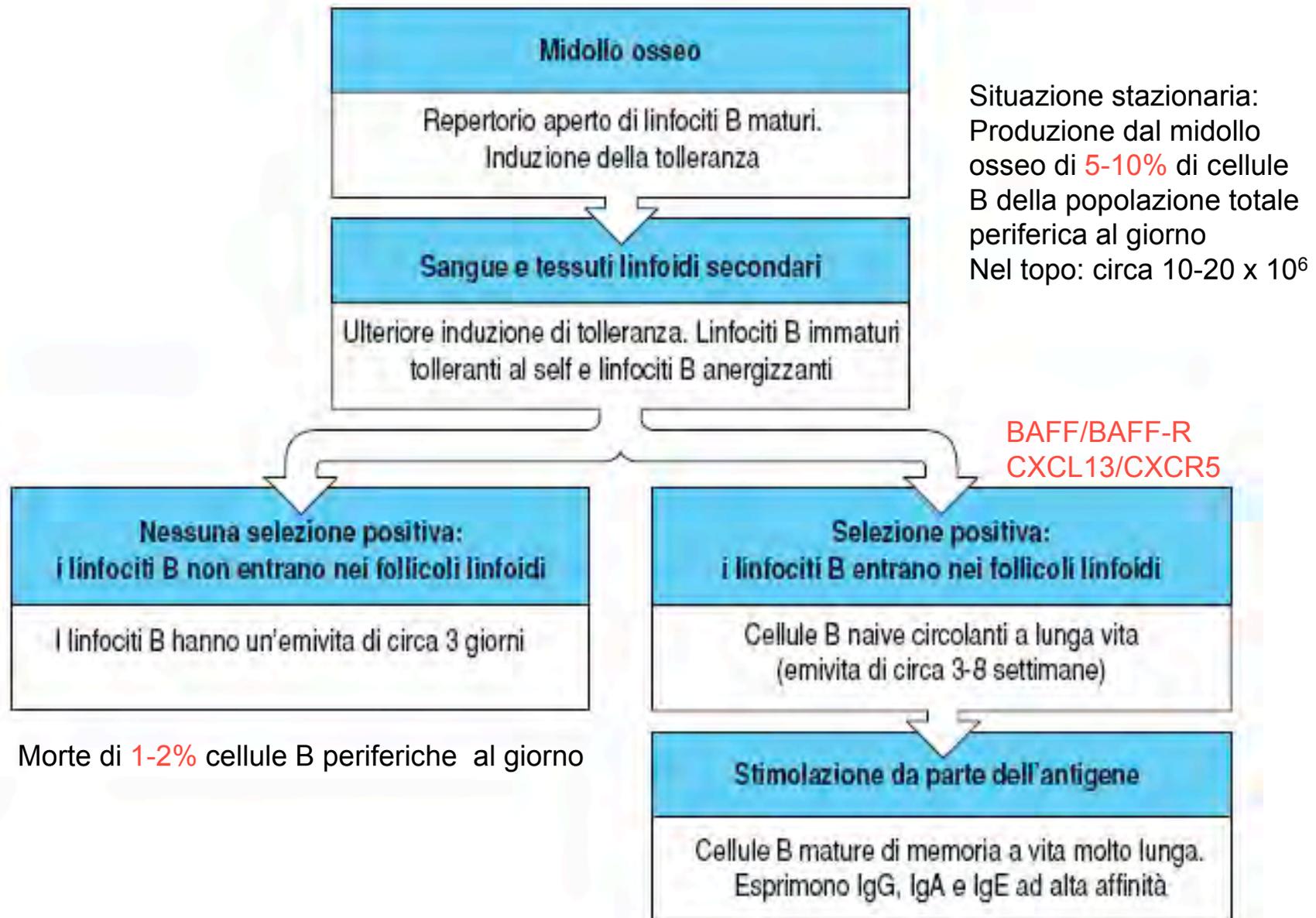
irreversibile

reversibile

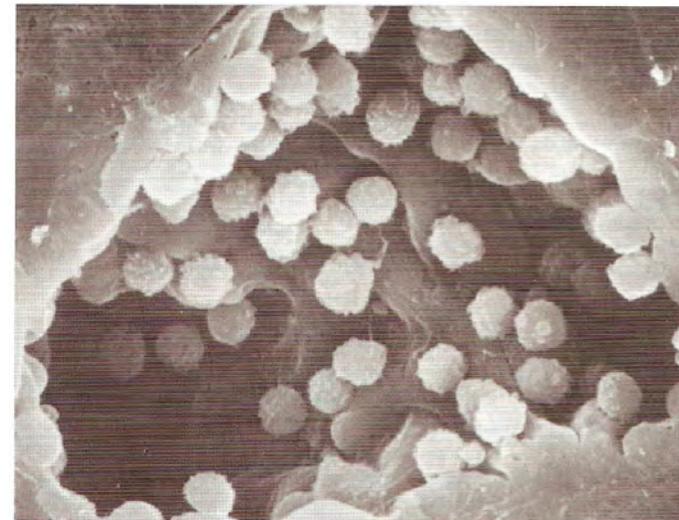
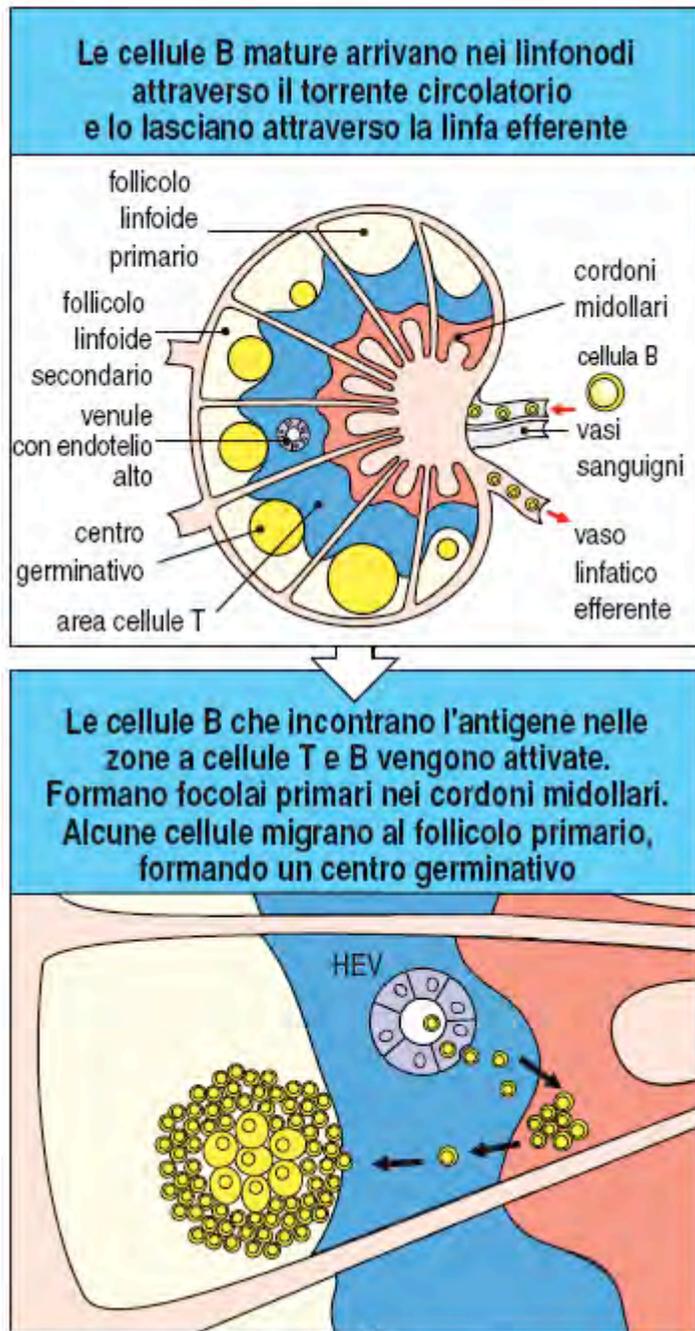
FASE 4



La maggior parte dei linfociti B immaturi che arrivano alla milza sono cellule a vita breve e necessitano di citochine e di segnali positivi attraverso il BCR per la loro maturazione e sopravvivenza

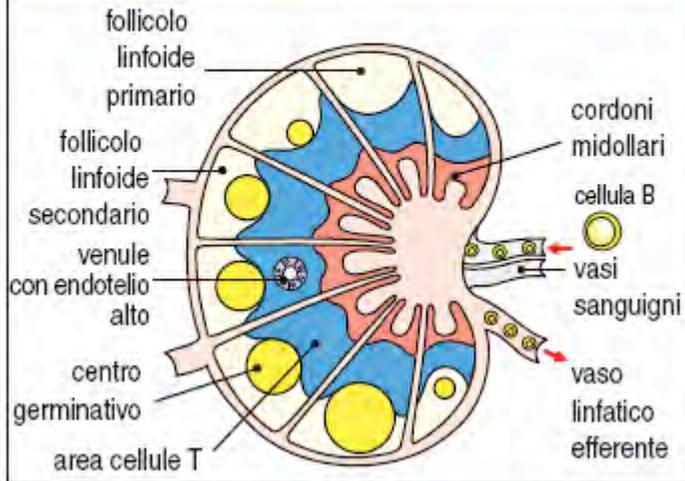


Le cellule B attivate formano i centri germinativi nei follicoli linfoidi

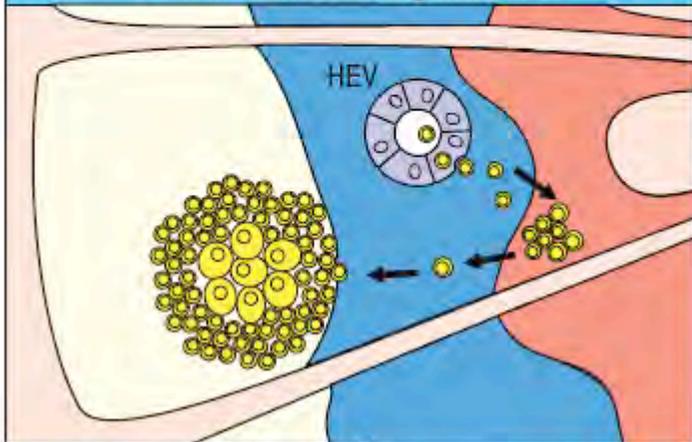


HEV: linfociti adesi alla superficie luminale delle cellule endoteliali

Le cellule B mature arrivano nei linfonodi attraverso il torrente circolatorio e lo lasciano attraverso la linfa efferente

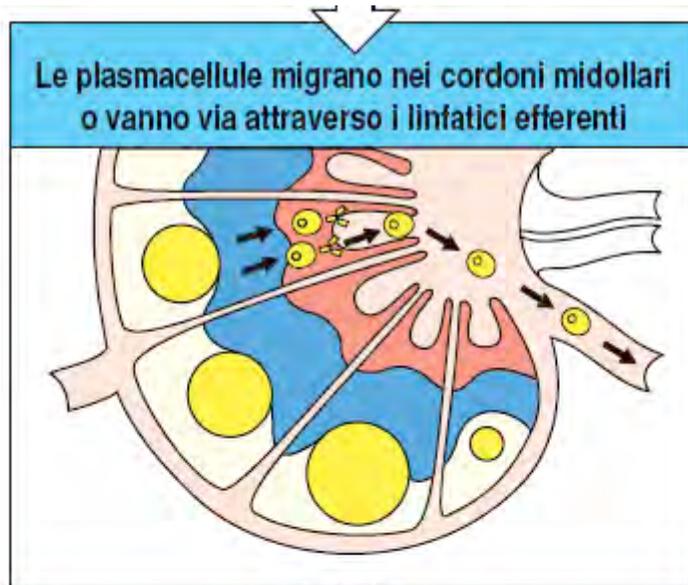


Le cellule B che incontrano l'antigene nelle zone a cellule T e B vengono attivate. Formano focolai primari nei cordoni midollari. Alcune cellule migrano al follicolo primario, formando un centro germinativo

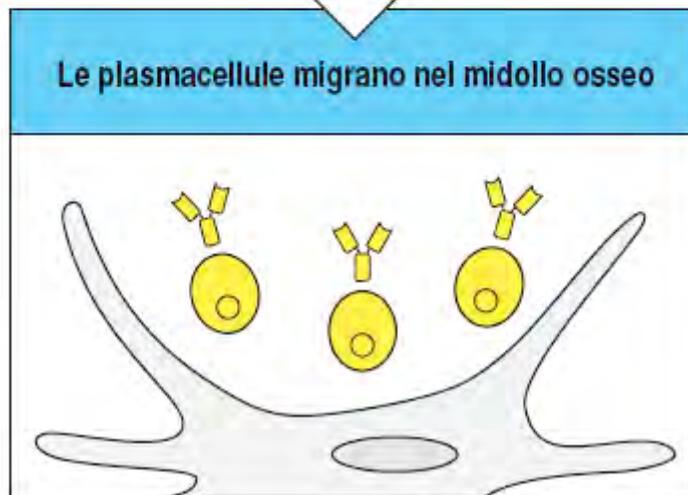


Le cellule B attivate formano i centri germinativi nei follicoli linfoidi

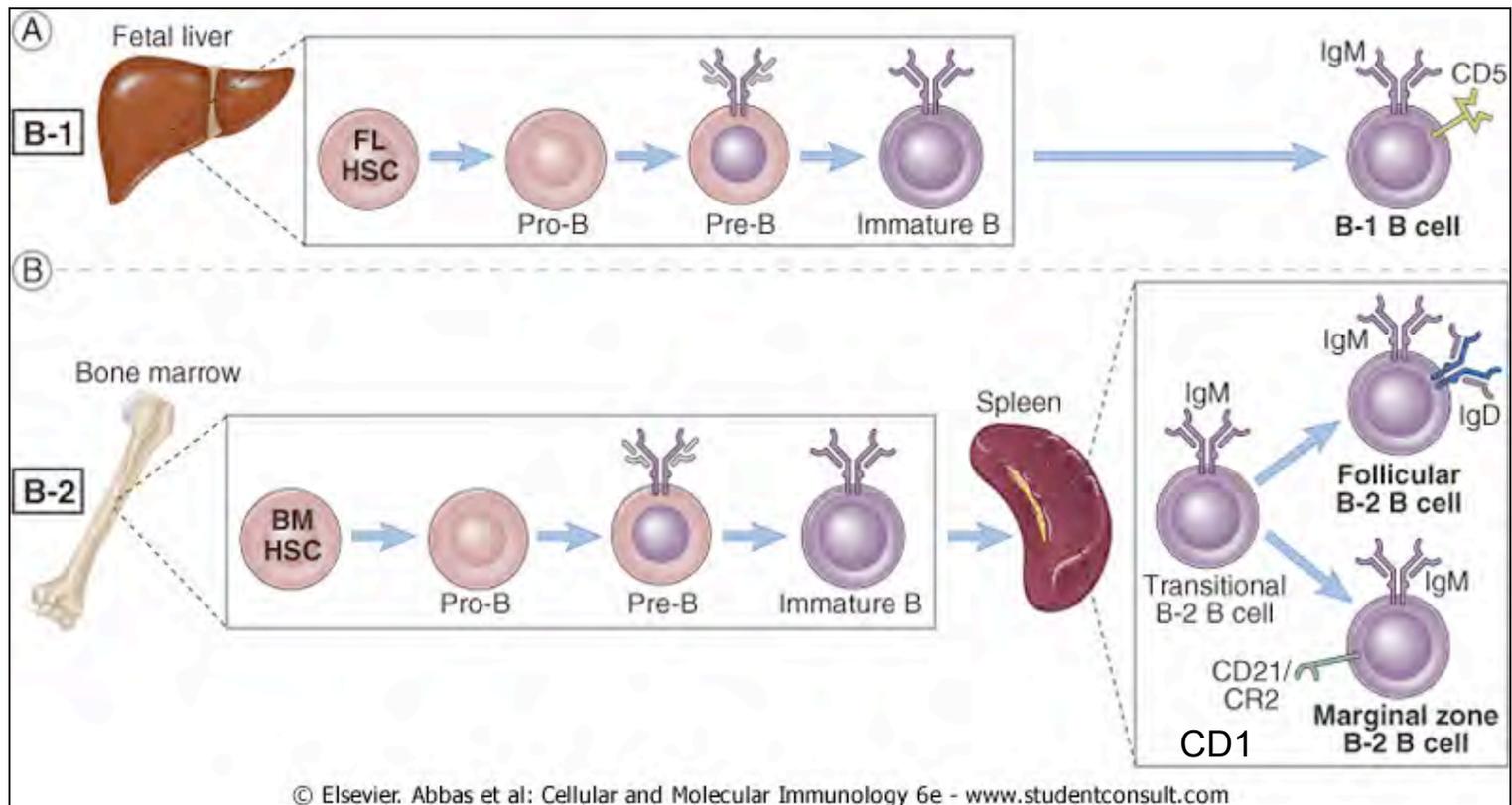
Le plasmacellule migrano nei cordoni midollari o vanno via attraverso i linfatici efferenti



Le plasmacellule migrano nel midollo osseo



Sottopopolazioni di linfociti B



5% B-1

Cellule B-2
 convenzionali =
 Follicolari

Cellule B della
 zona marginale

© Elsevier. Abbas et al: Cellular and Molecular Immunology 6e - www.studentconsult.com

Differenze tra le cellule B-1(CD5⁺), B-2(CD5⁻) e cellule B della zona marginale (CD5⁻)

Proprietà	Cellule B-1	Cellule B-2 convenzionali	Cellule B della zona marginale
Prodotta per la prima volta	Feto	Dopo la nascita	Dopo la nascita
Regioni N nelle giunzioni VDJ	Poche	Estese	Si
Repertorio di regioni V	Ristretto	Vario	Parzialmente ristretto
Localizzazione primaria	Cavità (peritoneale, pleuria)	Organi linfoidi secondari	Milza
Modalità di rinnovo	Auto-rigenerazione	Ricostituite dal midollo osseo	Cellule a lunga vita
Produzione spontanea di immunoglobuline	Alta	Bassa	Bassa
Isotipi secreti	IgM >> IgG	IgG > IgM	IgM > IgG
Risposta ad antigeni carboidratici	Si	Forse	Si
Risposta ad antigeni proteici	Forse	Si	Si
Richiesta di intervento dei linfociti T	No	Si	Alcune volte
Ipermutazione somatica	Bassa o assente	Alta	?
Sviluppo della memoria	Poco o assente	Si	?

I tumori dei linfociti B rappresentano la crescita incontrollata di cloni cellulari a vari stadi di sviluppo

Myc(t8:14)

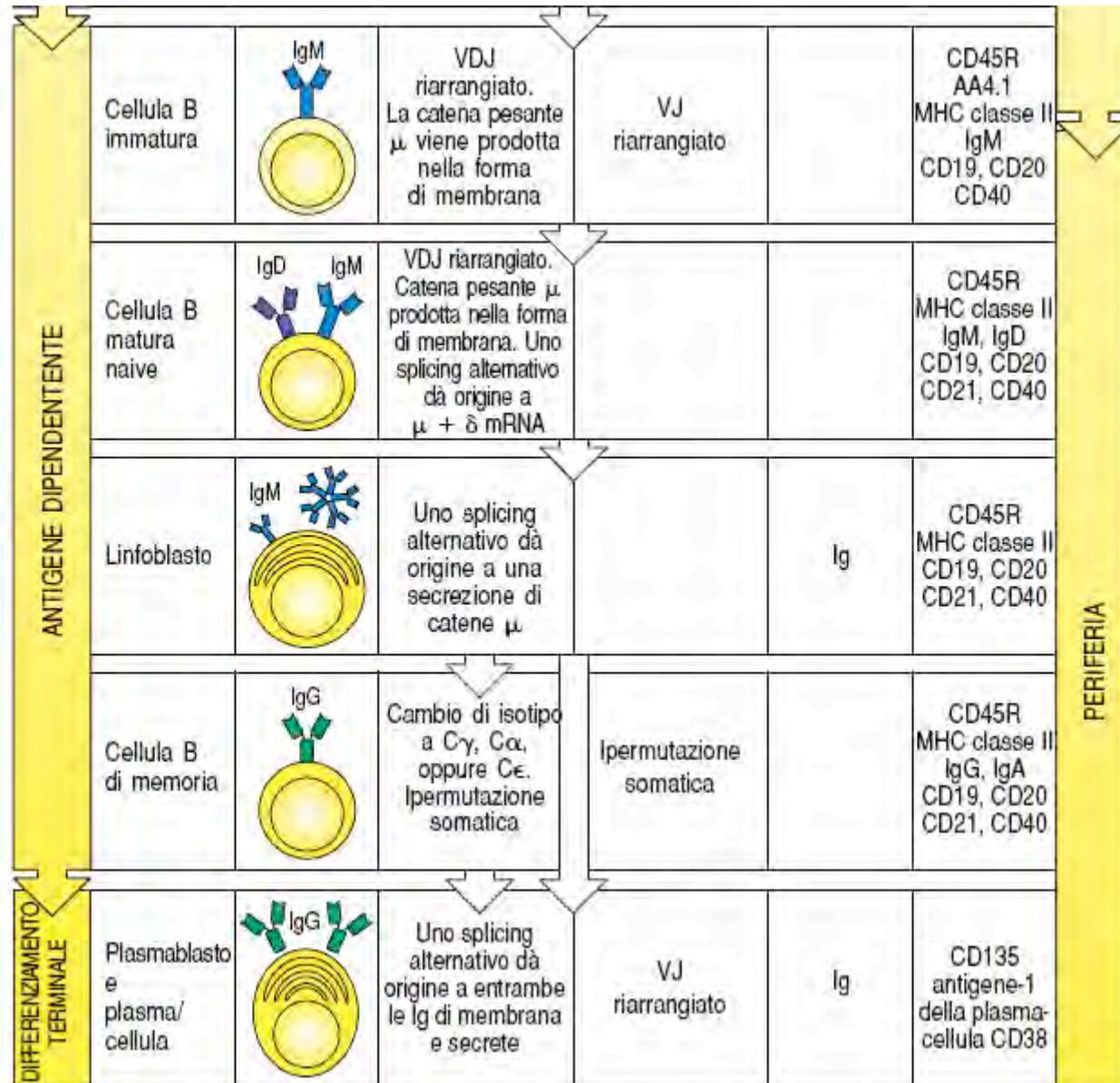
Cellule di Reed-Sternberg (RS)

Denominazione del tumore	Corrispondente cellula normale	Localizzazione	Stato dei geni V delle Ig
Leucemia linfoblastica acuta	Progenitore linfoide	Midollo osseo e sangue	Non mutato
Leucemia a cellule pre-B	Cellula pre-B		Non mutato
Linfoma a cellule del mantello	Linfocita B naive	Periferia	Non mutato
Leucemia linfatica cronica	Linfocita B della memoria o attivato		Generalmente non mutato
Linfoma del centro follicolare Linfoma di Burkitt	Linfocita B della memoria Simile al linfocita B dei centri germinativi		Mutato, variabilità intraclonale
Linfoma di Hodgkin	Linfocita B dei centri germinativi		+/- Mutato, variabilità intraclonale
Macroglobulinemia di Waldenström	Cellula B secernente IgM		Mutato, nessuna variabilità intraclonale
Mieloma multiplo	Plasmacellule Vari isotipi	Midollo osseo	Mutato, nessuna variabilità intraclonale

Cellule B		Geni delle catene pesanti	Geni delle catene leggere	Proteine intracellulari	Marcatori proteici di superficie
Cellula staminale		Linea germinale	Linea germinale		CD34 CD45 AA4.1
Cellula pro-B precoce		D-J riarrangiato	Linea germinale	RAG-1 RAG-2 TdT λ 5, VpreB	CD34 CD45R AA4.1, IL-7R MHC classe II CD10, CD19 CD38
Cellula pro-B tardiva		V-DJ riarrangiato	Linea germinale	TdT λ 5, VpreB	CD45R AA4.1, IL-7R MHC classe II CD10, CD19 CD38, CD20 CD40
Grande linfocita pre-B		VDJ riarrangiato	Linea germinale	λ 5, VpreB	CD45R AA4.1, IL-7R MHC classe II pre-B-R CD19, CD38 CD20, CD40
Piccolo linfocita pre-B		VDJ riarrangiato	Riarrangiamento V-J	μ RAG-1 RAG-2	CD45R AA4.1 MHC classe II CD19, CD38 CD20, CD40

ANTIGENE INDIPENDENTE

MIDOLLO OSSEO



Molecular movies on internet for students

<http://www.bio.davidson.edu/courses/immunology/Bio307.html#anchor24514174>

<http://www.bio.davidson.edu/courses/immunology/Flash/Bcellmat.html>

<http://www.bio.davidson.edu/courses/immunology/Flash/Bselect.html>