### **T-cel maturatie, activatie en differentiatie (1-5)**

* Maturatie van T-cellen in de thymus
* Positieve en negatieve selectie, en experimentele evidenties
* Activatie van T-cellen: biochemische veranderingen en co-stimulatorische moleculen
* Superantigenen,
* Ontwikkeling van effector en geheugen cellen,
* γδ T cellen
* Apoptose

Maturatie van T-cellen in de thymus

### figure 10-02Een belangrijke eigenschap van T-cellen in de herkenning van antigenen is hun MHC-restrictie ([Major histocompatibility complex](http://nl.wikipedia.org/wiki/Major_histocompatibility_complex)), d.w.z. T cellen herkennen antigenen alleen wanneer deze worden aangeboden door MHC moleculen. Dit is een belangrijk verschilpunt met B-cellen. Niet alleen de activatie, maar ook de maturatie van T-cellen blijkt MHC-afhankelijk. De voorlopers van de T-cellen, met name de progenitor T cellen (pro-T-cell) ontstaan in het beenmerg en migreren naar de thymus voor maturatie (de migratie is op dag 11 van de dracht bij muizen en op 8-9 weken bij de mens).

Wanneer een pro-T-cel in de cortex van de thymus aankomt heeft ze geen klassieke merkers zoals CD4 of CD8. Ze hebben ook nog geen T-cel receptoren (TCR), en evenmin expressie van RAG-1 en RAG-2 (**recombination activating genes**)die noodzakelijk zijn voor de gen-reorganisatie. Ze zijn wel Thy-1 (= CD90, een transmembraan-gebonden eiwit dat belangrijk is bij de activatie van T-cellen) positief. Gedurende de vroege maturatiefaze krijgen de pro-T-cellen expressie van c-Kit (= receptor voor stamcel-groeifactor), CD44 (een adhesie- en ook pro-inflammatoir molecule) en CD25 (de α-keten van de IL-2 receptor). Gedurende deze periode proliferen de thymocyten maar hebben ze nog geen TCR. Op het einde van de vroege fase verdwijnt c-kit en verliezen de thymocyten aan expressie van CD44.

Een beperkt aantal van de thymocyten (<5%) gaat de γδ TCR tot expressie brengen alsook het ganse CD3 complex (co-receptorcomplex nodig voor de signaaltransductie). In tegenstelling met de klassieke T-cel (met de αβ TCR) blijven de γδ T-cellen negatief voor CD4 en CD8. Vanaf de geboorte daalt hun aantal in the Thymus.

De meeste T-cellen volgen de αβ T-cellijn. Deze thymocyten ondergaan eerst gen-reorganisatie van de β-keten van de TCR. De β-keten associeert met een pre-Tα keten, dat samen met het CD3 complex de pre-TCR genoemd wordt. Liganden die in de thymus aanwezig zijn prikkelen deze pre-TCR met als gevolg:

1. het stoppen van de TCR β-genreorganisatie
2. overleving van de thymocyten met een volwaardige TCRβ keten
3. proliferatie en dan pas genreorganisatie de α-keten
4. de ontwikkeling van het CD4+CD8+ dubbel positief stadium

De dubbel positieve (DP) thymocyten ondergaan intensieve proliferatie vóór dat de reorganisatie van de genen die voor de α-keten coderen plaats vindt. Dit is belangrijk om tot een grote diversiteit van T cellen te komen met een welbepaalde TCR β keten en verschillende α ketens. Het zijn deze DP thymocyten die het proces van positieve en negatieve selectie ondergaan, om uiteindelijk tot mature CD4+ of CD8+ T-cellen te komen.

Positieve en negatieve selectie, en experimentele evidenties

De gen-reorganisatie van de TCR creëert een enorme diversiteit. In theorie zouden er op die manier meer dan 1015 T-cellen kunnen ontstaan die zowel vreemde als eigen peptiden herkennen al/dan niet aangeboden door eigen of vreemde MHC moleculen. Het immmuunstelsel heeft echter maar nood aan T-cellen die vreemde eiwitten kan herkennen die aangeboden worden door het eigen MHC complex. Het organisme beschikt over een proces om alleen deze laatste groep van T-cellen te selecteren. Dit proces wordt positieve en negatieve selectie genoemd.

Positieve selectie van thymocyten betekent een selectie van dié thymocyten die met hun TCR kunnen binden aan eigen MHC moleculen. De anderen sterven af door apoptosis. Dit proces wordt ook wel de “MHC restrictie” genoemd. Bewijzen; Negatieve selectie betekent eliminatie van dié thymocyten die met hun TCR met hoge affiniteit binden aan eigen MHC (alleen) of aan eigen peptiden aangeboden door het eigen het MHC complex. Dit proces wordt ook wel “zelf-tolerantie” genoemd.

Positieve selectie heeft plaats in de cortex van de thymus en gebeurt in nauw contact met de corticale epitheliale cellen die continu MHC moleculen (+ peptiden) tot expressie brengen. De immature thymocyten binnen een welbepaalde kloon met een welbepaalde TCR β keten blijven hun genen, die coderen voor de α TCR keten, herschikken. Dit vergroot de kans van een thymocyte om met hun αβ TCR een MHC te vinden waaraan het kan binden om op die manier positief geselecteerd te worden. Door positieve selectie worden er een aantal thymocyten geselecteerd die eigen antigenen herkennen met hoge affiniteit (bindinssterkte), en deze moeten geëlimineerd worden door negatieve selectie wil men autoimmuniteit voorkomen. De negatieve selectie gebeurt in de medulla van de thymus m.b.v. macrofagen en dendritische cellen, die via hun MHC klasse I en klasse II moleculen eigen eiwitten presenteren. Thymocyten die met hoge affiniteit binden aan deze MHC–eigen-peptide-complexen sterven af door apoptosis. De anderen matureren verder tot volwaardige CD4+ of CD8+ T-cellen.

Het experimenteel bewijs dat in de thymus, alleen die T-cellen matureren die een TCR hebben voor antigenen die gepresenteerd worden door het juiste haplotype van de stromale thymuscellen werd geleverd door R. Zinkernagel. Het bewijs van positieve selectie van CD4/CD8 door MHC restrictie van respectievelijk MHC-II/MHC-I werd geleverd door gebruik gemaakt hebben van MHC klasse I en klasse II knock-out muizen en transgene muizen. Het bewijs van negatieve selectie werd geleverd door proeven m.b.v. transgene muizen voor het geslachtsgebonden H-Y antigenen.

Het instructieve en stochastische model zijn twee modellen die een verklaring bieden voor de manier waarop de DP thymocyten enkel CD4 of CD8 positief worden. Volgens het instructieve model resulteert een interactie van de coreceptor van de thymocyte (bv. CD8) met de MHC moleculen op de stroma cellen in een onderdrukking van de andere coreceptor (CD4). Volgens het stochastische model gebeurt de down-regulatie van de CD4 of CD8 at random vóór dat de DP thymocyten de positieve selectie ondergaan.

Activatie van T-cellen: biochemische veranderingen en co-stimulatorische moleculen

De activatie van een T-cel volgt onmiddellijk na de interactie van de TCR-CD3 complex met het peptide/MHC complex op de APC, en vereist tevens de interactie van verschillende accessorische moleculen op zowel de T-cel als de APC.

Na interactie van de T-cel met het peptide/MHC complex worden verschillende genen geactiveerd die onderverdeeld worden in drie grote groepen afhankelijk van het tijdstip dat hun genproducten tot expressie komen:

1. immediate genes die binnen het half uur na antigen-herkenning tot expressie komen (vb. transcriptiefactoren NF-AT, NFkB)
2. vroege genen (binnen de twee uren) (vb. IL-2, IL-2R, IFN-γ)
3. late genen (pas na 2 dagen) (vb. De adhesie moleculen)

*Biochemische veranderingen die optreden tijdens de T- (en B) cel activatie*

Binding van de T cel met zijn specifieke peptide/MHC-complex veroorzaakt de activatie van twee tyrosine kinasen, Fyn en Lck. Deze laatsten fosforyleren de tyrosine residus van de ITAM (immunoreceptor tyrosine-gebaseerde activatie motieven) die voorkomen op de cytoplasmatische domeinen van het CD3 complex. Het is dankzij deze fosforylatie dat het ZAP-70 (zeta-geassocieerd proteine) zal binden op het cytoplasmatisch gedeelte van de zeta ketens van het CD3 complex, om op die manier geactiveerd te worden.

Het ZAP-70 zal vervolgens het PLCγ (fosfolipase C) activeren door tyrosine fosforylatie. Het geactiveerde PLCγ hydroliseert PIP2 (fosfatidylinositol bifosfaat) en dit is een membraan fosfolipide, tot twee producten met name IP3 (inositol fosfaat) en DAG (diacylglycerol). IP3 triggert een toename van intracellulaire Ca2+ en vervolgens een activatie van een calmoduline-afhankelijk fosfatase nl. calcineurin. Calcineurin defosforileert de inactieve vorm van NF-AT (nuclear factor-AT, dat in het cytosol voorkomt), tot een actieve vorm. In de andere pathway zal DAG het PKC (protein kinase C) activeren met vrijzetting van actief NFkB (nuclear factor kappa B) tot gevolg. NF-AT en NFkB zijn zelf transcriptiefactoren.

In een andere weg zal het geactiveerde ZAP-70 via GEF een cascade van fosfoylaties induceren, gekend als de MAPK (mitogen-geactiveerde proteine kinase) cascade. Het is het MAPK pathway dat in de kern transcriptiefactoren zal activeren.

De werking van sommige immuno-suppressiva zoals cyclosporine A (CsA), schuilt in hun inhiberende werking op de defosforylatie van NF-AT-P.

## Co-stimulatorische moleculen

De interactie van de TCR met zijn peptide is op zichzelf niet voldoende voor volledige activatie van de T-cel. Er is nl. nog een tweede signaal noodzakelijk namelijk de interacties van de costimulatorische moleculen. De belangijkste costimulatie is ongetwijfeld de CD28-B7 interactie. CD28 is een glycoproteine dat zowel op rustende als op geactiveerde T-cellen voorkomt, en B7 is eveneens een membraanmolecule, maar dat op APC voorkomt. Het is dit tweede signaal dat noodzakelijk is voor een activatie en clonale expansie van de T-cel. Zonder dit tweede signaal gaat de T-cel in clonale anergie, dit is een status van onvermogen om nog te prolifereren na interactie met peptide-MHC-complex.

CTLA-4 bindt met een hogere affiniteit aan B7 en werkt inhiberend.

## Superantigenen

Superantigenen zijn virale of bacteriële eiwitten die binden aan welbepaalde Vβ domeinen van de TCR en op de α-keten van het MHC-II complex. Ze vormen dus een crosslinking tussen de T-cel en de APC ongeacht de antigenspecificiteit van de T-cel. Aldus krijgt men een polyclonale activatie van T-cellen (soms kan dit oplopen tot 5% van de totale populatie). Het gevolg is een overproductie van T-cel-geassocieerde cytokinen (IFN-γ, TNF, IL-2) dat kan leiden tot toxische schock. Er bestaan exogene en endogene superantigenen naargelang de eiwitten als gesecreteerd worden of in het membraan tot expressie komen.

# Ontwikkeling van effector en geheugen (memory) cellen

Mature CD4+ en CD8+ T cellen verlaten de thymus als rustende cellen (ze zijn in het G0 stadium van hun celcyclus). Ze worden ook wel naïeve T cellen genoemd omdat ze in de periferie nog nooit in aanraking zijn geweest met hun specifiek antigen. Naïeve T-cellen migreren naar de secundaire lymfoïde organen, zoals de lymfeknopen, waar ze hun specifiek antigen eventueel kunnen ontmoeten. Zonder antigenbinding komt een naïeve T-cel, via het lymfevaten stelsel terug in het bloed en ondergaat een vorm van recirculatie. Recente studies tonen aan dat naïeve T cellen jaren kunnen overleven.

Wanneer de T-cel toch zijn antigen herkent in de juiste context en met de juiste co-stimulatorische signalen (signaal 1 + 2) wordt de T-cel geactiveerd volgens de hoger-beschreven manier. De geactiveerde T-cel komt dus in de G1 faze van zijn celcyclus. Eén van de belangrijkste consequenties is de productie van IL-2 en zijn receptor, de IL-2 receptor α-keten (CD25). Het is onder invloed van zijn eigen productie van IL-2 dat de T-cel eerder gaat prolifereren en differentiëren. Op een paar dagen onstaat er op die manier een grote klasse van T-cellen die differentiëren in effector- en geheugen cellen. Effector T-cellen kunnen bv. gespecialiseerd zijn in macrofaagactivatie, of in hulp bij de B-cel activatie en antistofproductie, of hulp bij de ontwikkeling van cytotoxische T-cellen (CTL).

Een geheugen T-cel populatie kan ontstaan uit naïeve T-cellen of uit effector T-cellen na interactie met hun antigen. Zoals de naïeve T cel bevindt de geheugen T-cel zich eveneens in een rustend G0 stadium. Geheugen T-cellen kunnen echter gemakkelijk geactiveerd worden door macrofagen, dendritische cellen (DC) en B-cellen. Naïeve T-cellen kunnen uitsluitend geactiveerd worden door DC. Dendritische cellen zijn veruit de beste APC omdat ze constitutief MHC-II en B7 tot expressie brengen. Bij B-cellen en macrofagen komen deze eiwitten pas tot expressie na activatie.

γδ T-cellen

Ongeveer 95% van de perifere T-cellen brengen de αβ TCR tot expressie. Slechts 5% van de T-cellen dragen het γδ heterodimeer op hun oppervlakte. Merkwaardig is het feit dat deze populatie van γδ T-cellen zich vooral situeert ter hoogte van de huid, alsook ter hoogte van intestinale of pulmonair epithelium. Deze eerste en laatste groep wordt dikwijls ook aangeduid als respectievelijk intra-epidermale en intra-epitheliale lymfocyten.

In tegenstelling tot de αβ T-cellen zijn intra-epidermale γδ T cellen niet positief voor CD4, noch voor CD8. Bovendien zouden ze evenmin recirculeren en kunnen er geactiveerd worden op een niet-MHC-afhankelijke manier.

Apoptose

1. Fast pathway
2. MHC-TCR interactie



**B-cel maturatie, -activatie en –differentiatie 5-9**

1. Maturatie van B-cellen in het beenmerg (BM)
2. T-cel-afhankelijke (TD) en -onafhankelijke (TI) antigenen
3. B-cel activatie
4. Interacties van T- en B-cellen in de secundaire lymfoïde organen
5. Affiniteitsmaturatie in de secundaire lymfefollikels
6. Hapteen en carrier-effect
7. Primaire en secundaire antistof-repons

Maturatie van B-cellen in het beenmerg (BM)

* B cellen ontstaan en matureren in het beenmerg, activatie en differentiatie vinden plaats in de secundaire lymfoïd organen. In het maturatieproces vertegenwoordigen de stroma-cellen van het beenmerg een belangrijke plaats. De progenitor B cellen (Pro B cel) binden aan de stroma-cellen door interactie van hun adhesiemolecule (zoals VLA-4) met hun ligand (VCAM-1).
* Door die interactie onstaat er op de Pro B cel expressie van een receptor, met name c-Kit (een tyrosine kinase) die kan binden met stam cel factor (SCF) op de stroma-cel.
* Door die binding wordt het c-Kit geactiveerd en gaat de Pro-B cel membraanreceptoren voor IL-7 tot expressie brengen (dit is een belangrijke groeifactor voor B cellen). IL-7 wordt constitutief aangemaakt door de stroma cellen en zullen de pro B cellen aanzetten tot differentiatie naar Pre B cellen met een pre-B cell receptor (cfr. Pre-TCR bij de maturatie van T cellen in de thymus), en vervolgens tot productie van immature B cellen met een volwaardige membraan IgM op hun celoppervlakte.
* Er is al reorganisatie van de zware ketens (VH, DH en JH) tijdens de ontwikkeling van de Pre B cel. Differentiatie tot een immature B cel vereist ook reorganizatie van de lichte ketens (VL, JL).
* B cellen kunnen gefenotypeerd worden door analyse van de expressie van CD45R (of bij muizen ook wel B220 of “pan” B cel merker genoemd).
* Er wordt geschat dat er in het BM ongeveer 5 x 107 B cellen/dag worden aangemaakt, maar “slechts” 10% overleven de maturatie. De overige 90% sterven af, waarschijnlijk ten gevolge van apoptosis van immature B cellen die auto-antistoffen tot expressie brengen; Proeven m.b.v. transgene muizen hebben inderdaad aangetoond dat immature B cellen die “eigen” antigenen (Ag) herkennen in het BM, afsterven.

## De B cellen verlaten het BM en zullen geactiveerd worden in de periferie (bv. ter hoogte van de sec. lymfoïde organen), maar alleen na contact met het Ag. Wanneer de naïve B cellen hun specifiek Ag niet ontmoeten zullen ze snel (na enkele weken) afsterven door apoptosis.

T-cel-afhankelijke (TD) en -onafhankelijke (TI) antigenen

* De activatie van B cellen hangt af van het type van antigen (Ag); er bestaan nl. twee wegen van activatie: de T cel onafhankelijke (TI) en de T cel afhankelijke weg (TD).
* De TI kunnen nogmaals onderverdeeld worden in type 1 en type 2: tot TI-1 Ag behoren de lipopolysacchariden (LPS) van gram-negatieve bacteria. De TI-2 Ag zijn grote polymerische moleculen met repetitieve antigenische determinanten (bv flagelline en bacteriële polysacchariden).
* De TI-1 Ag hebben de eigenschap om, bij hoge concentraties, B cellen te activeren ongeacht hun Ag-specificiteit: het worden daarom polyclonale B cel activatoren genoemd of **mitogenen** (cfr. Superantigenen bij activatie van T cellen). De manier van activatie van de B cellen door mitogenen is niet gekend. Opgelet, bij lage concentraties geven de TI-1 Ag wel activatie van specifieke B cellen (met als gevolg een productie van specifieke antistoffen gericht tegen bv. LPS).
* TI-2 Ag activeren B cellen door crosslinking van de mIg receptor. Ze wijken af van de TI-1 Ag door het feit dat het geen mitogenen zijn en dat ze toch afhankelijk zijn van T cel cytokinen (niet van het celcontact met T cellen als dusdanig zoals het geval is bij de TD Ag).
* De humorale respons van TI Ag verschilt met die van TD antigenen: (1) de antistof respons is zwakker, (2) er worden geen geheugen cellen gevormd, (3) en er is geen Ig-klasse-switch (hoofdzakelijk IgM antistoffen worden gevormd na interactie van B cellen met TI Ag).

B-cel activatie

Verloopt analoog met T-cel activatie; tyrosinekinase Src (cfr. Lck en Fyn) fosforyleert Igα/β, Syc (cfr ZAP-70) bindt aan dockinsite en activeert GEF en via BtK (Brixton’s kinase) PLCγ2.

## Interacties van T- en B-cellen in de sec. lymfoïde organen

* Frequentie van T en B cellen voor een bepaald Ag is in de orde van 1 op 106
* Recirculatie van de lymfocyten door de LN (lymfeknopen) en milt, alsook transport van het Ag naar die organen verhogen de kans op interactie van Ag met T en B cellen
* 1 tot 2 dagen na toediening van Ag zullen die Ag gepresenteerd worden door APC (zoals DC), en gebeurt er herkenning en activatie van de specifieke (naïeve) T cel (in de MHC context) gebeurt ter hoogte van de paracortex.
* De herkenning van het Ag door de B cellen gebeurt ter hoogte van de primaire follikels in de cortex. Na opname van het Ag gaat de B cel het Ag “pocessen” en presenteren m.b.v. MHC-II (B cellen zijn zelf APC).
* De (zwak) geactiveerde B cellen migreren naar de paracortex zone (en meer bepaald naar de grenszone met de follikel) en het is op die plaats dat de primaire activatie van een Ag-gestimuleerde B en T cel gebeurt.
* Wanneer het Ag gepresenteerd wordt door de B cellen aan de T cellen, gaat dit gepaard met inductie van costimulatorische molecullen B7-1, B7-2 en CD40. Op hun beurt gaan de T cellen, die het peptide-MHC-complex op de B cellen herkennen gestimuleerd worden tot expressie van CD28 en CD40 ligand. Het CD28 bindt aan B-7 en het CD40 ligand bindt aan CD40 met als gevolg een sterke activatie van de T-helper cel die verschillende cytokinen gaat produceren die de B cellen nog verder activeren.

Affiniteitsmaturatie in de secundaire lymfefollikels

Na 3 tot 4 dagen migreren de geactiveerde B cellen naar centrale regio (kiemcentrum) van de follikels. In dit kiemcentrum aangekomen, verliest de B cel zijn mIg, gaat prolifereren en tijdens deze proliferatie ondergaat de cel **somatische hypermutaties**. Dit betekent dat er nog verdere veranderingen optreden in de finale aminozuursequenties van de variabele domeinen. Het gevolg is een productie van een reeks van B cellen met mIg die een hoge of lage affiniteit hebben voor het Ag. In een volgende faze worden alleen die cellen met een hoge affiniteit voor het Ag gered van celdood (deze faze wordt ook wel **affiniteits-maturatie** genoemd). De folliculaire dentritische cellen (FDC) spelen hierin een belangrijke rol. De B cellen met een lage affiniteit sterven af en worden opgeruimd door speciale macrofagen. De cellen met hoge affiniteit zullen verder prolifereren (met de hulp van T helper cellen, en bijhorende costimulatorische molecullen) tot geheugen cellen of precursoren van plasma cellen. Deze laatste migreren naar de medulla om te differentiëen tot volwaardige plasmacellen (tijdstip is nu ongeveer 7 dagen).

Primaire en secundaire antistof respons

* Na een eerste contact van het Ag met een individu onstaat er een antistofproductie (humorale respons), en aanmaak van plasmacellen en geheugen B-cellen. De kinetiek van die antistofrespons hangt af van het soort Ag, de manier van toediening (intramusculair of intraveneus), de aanwezigheid van welbepaalde adjuvanten e.a. factoren
* De primaire respons op een Ag heeft steeds een verloop van 4 fazen: een korte “lag” faze (hier ondergaan de B cellen clonale selectie), een logaritmische “log” faze (tijdens de welke de B-cellen verder rijpen in de follikels en differentiëren tot plasma- en geheugencellen), een plateau faze en een verval of “decline” faze.
* Een secundaire antistofrespons is gekenmerkt door (1) een kortere lag faze, (2) een hogere antistof titer, (3) een hogere affiniteit en (4) een “class switch”.
* De hogere affiniteit van de antistoffen die geproduceerd worden tijdens een secundaire respons is een gevolg van de affiniteits maturatie in de follikels; de hogere antistoftiter is een gevolg van het feit dat er meer geheugen B-cellen beschikbaar zijn die bovendien beter kunnen geactiveerd worden dan naïve B-cellen.
* Zoals reeds vermeld werd in het hoofdstuk van *Antigenen en antistoffen* kunnen de variabele domeinen van de IgM’s en IgD’s associëren met de constante regio’s van andere isotype. Dus de B-cel in kwestie kan dan IgG moleculen op haar celoppervlak dragen i.pl.v. IgM en/of IgD, welliswaar met dezelfde variabele gebieden en dus met eenzelfde specificiteit voor het Ag. De klasse–switch verhoogt de biologische activiteit van de humorale respons (het verhoogt de kans dat het antilichaam op verschillende plaatsen in het lichaam zijn werking kan uitvoeren).

Verschillende cytokinen beïnvloeden de isotype **klasse-switch** (tijdens de maturatie in de follikels). Zo is het belangrijk om te vermelden dat de cytokinen **IFN-γ** en **TGF-β** een klasse-swith veroorzaken naar IgG2a en IgG2b en IgA, terwijl de cytokinen **IL-4** en **IL-5** belangrijk zijn voor de differentiatie van B-cellen naar plasmacellen die de isotypen IgE en IgM produceren (zie eveneens het hoofdstuk *cytokinen*)

## Hapteen en carrier-effect

* **Antigenen**: oorspronkelijk werd de term antigen (Ag) gebruikt voor ieder molecule dat in staat is om een specifieke antilichaamsresponse op te wekken (van het engels: “antigen”: “antibody generator”). Nu wordt de term gebruikt voor elke substantie die kan binden op antistoffen of op receptoren van T- en B-cellen.
* **Epitoop**: het stukje van een antigen dat bindt met zijn specifieke antistof of TCR (T-cel receptor). Het wordt ook wel omschreven als **antigenische determinant**. Een epitoop omvat ongeveer 9-20 aminozuren. Dus een antigen bestaat uit verschillende epitopen of antigenische determinaten.
* **Hapteen**: een klein molecule dat op zich niet immunogeen is d.w.z. het kan geen (optimale) antilichaamsrespons opwekken. Een hapteen wordt wel immunogeen wanneer het covalent gebonden wordt met een geschikt “carrier” of drager eiwit. Door die koppeling kan er dus wel een antilichaamsrespons tegen het hapteen opgewekt worden. Alhoewel haptenen op zich dus niet immunogeen zijn, kunnen ze wel als epitopen functioneren.
* Experimenten met haptenen en dragereiwitten hebben bijgedragen tot een beter inzicht in de (samen)werking van T- en B-cellen. Dus voor de inductie van een optimale antistofproductie tegen hapteen moet bv. een muis minstens twee maal worden geïmmuniseerd met het hapteen-drager complex. Wanneer bij de tweede injectie het hapteen gekoppeld werd aan een ander drager eiwit (drager 2), krijgt men geen optimale anti-hapteen antistof productie. Wanneer echter een groep van muizen in eerste instantie worden geïmmuniseerd met drager 2, en na verloop van tijd worden geïmmunizeerd met het hapteen dat gebonden is op drager 2 krijgt men eveneens een optimale antistofrespons (dit fenomeen noemt men ook wel “**carrier-priming**”). Dus de B-cel kan “hulp” krijgen van een T-cel die op zich niets te maken heeft met het type epitoop dat herkend wordt door de B-cel. Deze “**T-B-collaboratie**” doet zich continu voor bij antigenen die verschillende epitopen of antigenische determinanten hebben.
* Wanneer lethaal-bestraalde syngene muizen geïnjecteerd worden met milt cellen van een DNP-BSA-behandelde muis en met miltcellen van een BGG-behandelde muis, en vervolgens “gechallenged” of geïmmunizeerd worden met DNP-BGG, dan zal dit leiden tot een optimale anti-hapteen-antistofproductie. Wanneer men echter, in een zelfde experiment, de T-cel fraktie elimineert (door anti-Thy-1 en complement) uit de milt-cellen van de BGG-behandelde muis, dan wordt geen antistof-productie verkregen. Het verwijderen van de T cellen uit de milten van DNP-BSA behandelde muizen heeft geen effect. Dit experiment toont aan dat de “carrier” T cellen heeft aangemaakt, terwijl het hapteen belangrijk is voor de stimulatie van B-cellen.

**Cytokinen**: verschillende families, eigenschappen, receptoren 9-14

1. Families
2. Eigenschappen
3. Detectie
4. Receptoren
5. Signaaltranductie
6. Th1/Th2 paradigma

In de voorafgaande hoofdstukken is duidelijk geworden dat cytokinen belangrijke meditatoren zijn bij de T- en B-cel proliferatie, de activatie van APC, en als groeifactoren voor B- cellen (IL-7) enz. Eigenlijk vormen zij, samen met de co-stimulatorische moleculen (B7-CD28; CD40-CD40Ligand) het tweede signaal dat noodzakelijk is voor een volwaardige activatie van bv. T cellen.

Cytokinen zijn relatief kleine hormoonachtige eiwitten die geproduceerd worden door diverse cellen in ons lichaam en die inwerken, meestal op naburige cellen, via binding (met zeer hoge affiniteit) op specifieke receptoren. Ze werken al aan picomolaire concentraties.

Ze verschillen van hormonen omdat ze niet door organen worden geproduceerd maar door een hele waaier van cellen, een kote T1/2 hebben en toxisch zijn in grote hoeveelheden.

* Op basis van hun ontdekking en/of functie in dat netwerk dragen de cytokinen verschillende namen, zoals:
	+ **Interferonen** (IFN-α, IFN-β, IFN-γ), anti-virus activiteit
	+ **Interleukinen**, fungeren als groei- en differentiatiefactoren van leukocyten
	+ **cytotoxinen**, met een celdodende werking (vb: TNF en lymfotoxine)
	+ **celgroei- en transformatiefactoren** (bv. fibroblast growth factor of FGF)
	+ **chemokinen** of chemotactische factoren zijn eiwitten die instaan voor de gerichte migratie van cellen; zij worden dikwijls als een aparte familie beschreven, naast de cytokinen

Opgelet, deze indeling is verre van sluitend, d.w.z. er zijn bv. interferonen die ook belangrijk zijn bij de stimulatie van T- en B-cellen en macrofagen (IFN-γ) en er zijn interleukinen, bv. IL-8 met sterk chemotactische eigenschappen.

Alhoewel de AZ van cytokinen sterk verschillen is er binnen een familie soms wat overeenkomst wat hun structuur betreft.

Eigenschappen van cytokinen

Cytokinen hebben vooral een **autocriene** en **paracriene** werking. **Endocriene** werking is echter niet uitgesloten. Andere eigenschappen;

* **Pleiotroop** (één bepaald cytokine heeft meerdere effecten op verschillende celsoorten)

vb. IL-4→ B cellen → activatie, proliferatie en differentiatie

* T cellen → proliferatie
* Mast cellen → proliferatie
* **Redundant** (verschillende cytokinen hebben dezelfde activiteit)

vb. IL-4/IL-5/IL-2, IL-6 en IFN-γ → isotype switch en proliferatie van B cellen

* **Synergisch** (de gezamelijke werking van 2 cytokinen is (veel) groter dan de som van de werking van cytokinen apart)

vb. IL-4 + IL-5 → B cel → klasse-switch naar IgE

vb. IFN-γ en TNF-α op de productie van NO

* **Antagonistisch** (het éne cytokine inhibeert het andere)

vb. IFN-γ inhibeert de klasse-switch naar IgE zoals die veroorzaakt wordt door IL-4

* Cytokinen kunnen een cascade **netwerk** vormen

Detectie

Detectie van cytokinen gebeurt hoofdzakelijk door;

* ELISA: antistof-coat om Ab of cytokine te meten, meet een momentopname mbv standaard en verdunningsreeks (moet het rechtlijnige stuk en niet de afvlakking kunnen meten). Men kan nu tot 20Ab in 1 cup meten met als voordeel veel minder staal nodig en tijdsbesparing, nadeel is de prijs.
* ELISPOT: platen coaten met Ab, je voegt cellen in suspensie (noodzaak, mogen nt aan well plakken) toe waarvan je vermoed dat ze cytokinen aanmaken, laat ze 1 à 2 dagen in de broedstoof. Elke keer de cellen cytokinen aanmaakt wordt het opgevangen door de Ab. Daarna wassen en Ab-E en substraat toevoegen. Op deze manier kan men meten hoeveel cytokinen worden geproduceerd over het verloop van een bepaalde tijd.
* Bioassay; voor de detectie van ACTIEF cytokine, m.b.v. levende cellen. Voorbeeld: TNFα is voor bepaalde [] toxish voor fibroblasten behandeld met mitomycine C of lichtjes bestraald om proliferatie tegen te gaan. Afgedode cellen kunnen door celkleuring worden gemeten. Nadeel: nt-specifiek, dus moet je anti-TNFα gebruiken om effect van andere cytokines uit te sluiten.
* Cytokine Bead Array: mbv intracellulaire kleuringen en flow cytometrie (FACS) hoeveel u cel heeft geproduceerd. Isotype controle ook nodig.
* Immunocytochemie

Interleukinen

## IL-1

* Endogeen pyrogeen (mediator van koorts) → via de hypothalamus
* Typisch Mφ product
* Aanmaak van acute fase eiwitten

## TNF-α

* Product van Mφ en mestcellen, inhibeert tumor groei, maar overproductie kan aanleiding geven tot shock reacties en cachexie! Ook inductie acute fase eiwitten en inflammatie epitheelcellen
* Meest pro-inflammatoir cytokine samen met IL-17

## IL-12

* Belangrijk product van Mφ, B cellen
* Promoot Th1 subset→ IFN-γ
* Stimuleert de proliferatie van NK cellen
* Activeert Tc

## IL-6

* Product van Monocyten/Mφ, Th2, BM stroma cellen
* Zeer belangrijk voor de inductie van acute faze eiwitten in de lever
* proliferatie B-cellen
* Induceert myelopoiese (aanmaak nieuwe monocyten en Mφ)

## IFNα/β

* Induceert anti-virale status in alle cellen
* Verhoogt MHC klasse I expressie
* Activeert NK cellen

## IL-2

* Typisch Th1
* Activatie en proliferatie van alle T cellen
* Activatie van NK cellen

## IL-15

* Vergelijkbaar, qua activiteit, met IL-2

## IL-4

* Typisch Th2 product (en mestcellen)
* Stimulatie van B cellen → klasse switch naar IgG1/IgE
* Stimuleert MHC-II expressie
* Werkt antagonistisch met IFN-γ

## IL-5

* Ook een Th2 product (en mestcellen)
* Groeifactor voor eosinofiele

## IL-7

* Groeifactor van pre-B cellen
* Product van stromacellen

*TGF-β*

* Anti-inflamatoir cytokine

## IL-10

* Typisch Th2 product (maar ook van Mφ)
* Meest anti-inflammatior cytokine

IFN-γ

* Typisch Th1, CD8+ en NK product
* Activatie van Mφ
* Verhoogt MHC klasse I en klasse II expressie
* Verhoogt expressie van AM op epitheelcellen

Cytokine-receptoren

Kunnen we onderverdelen in 5 families:

* + 1. Immunoglobuline superfamilie (IL-1, c-Kit)
		2. Klasse I (IL-2 → IL-9, IL-12, IL-15) minstens 2 ketens met geconcerveerde cysteïnes en WSXWS sequentie (tryptofaan-serine-x- tryptofaan-serine)
		3. Klasse II (IFN-α, IFN-β, IFN-γ, IL-10) idem Klasse I maar geen WSXWS seq
		4. TNF receptoren (TNF-α, TNF-β, CD40) lange ketens, vooral liganden die apoptose induceren
		5. Chemokine receptoren (IL-8) 7 transmembranaire receptoren, G-proteïne gekoppeld
* Naast de verdeling in families is er ook een onderverdeling in subfamilies,
op basis van het gebruik van gemeenschappelijke subunits. vb. IL-2 receptor subfamilie (α, β en γ subunits). α ketens zijn de bindende subunits, terwijl de β ketens
noodzakelijk is voor de signaal-transductie (activatie van tyrosine kinasen)

Kan nadelig zijn als deze gemeenschappelijke keten mutant is; X-SCID (gn B, T maturatie, NK werken ook nt goed) te genezen door gentherapie

* Het gebruik van eenzelfde subunit kan een verklaring zijn voor het reduntante karakter van de cytokinen binnen een subfamilie, maar tevens voor hun antagonistische werking. Subunits komen apart van elkaar voor en de β-keten wordt gerecruteerd na binding aan αketen. Dit verklaart antagonistische werking als β-keten in mindere mate aanwezig is.

Signaaltranductie

1. Binding van het cytokine met α subunit
2. Recrutering van β subunit en dimerisatie van de receptor
3. Activatie van JAK’s (proteine tyrosine kinase) die tyrosine residus gaan fosforileren
4. Binding en activatie van de STAT eiwitten (signal transducers and activators of transcription) aan de dockinsites
5. De STATs’ komen los van de receptor, dimeriseren en migreren naar de nucleus en starten zelf transcriptie

De specificiteit van een cytokine berust op een samenspel van (1) specifieke JAK’s en STAT’s en (2) herkenning van verschillende sequentiemotieven in het DNA, door de STAT-homodimeren of STAT-heterodimeren.

* Sommige cytokine receptoren kunnen komen voor in “vrije” vorm, men spreekt dan van solubele receptoren; meestal binden zij het cytokine en maken zij het zo inactief.

 vb. IL-2R → sIL-2R (wordt geproduceerd bij chronische T cel activatie)

* Die solubele receptoren kunnen gecloneerd worden met het oog om ze te gebruiken voor therapie (vb: suppressor van Th-cel proliferatie en Tc-cel activatie) of men kan eveneens antistoffen aanmaken tegen het cytokine of varianten van het cytokine (met bv. een gewijzigde AZ) die dan wel de receptor binden zonder deze laatste te activeren → cytokine antagonisten, of men kan toxine conjugaten aanmaken om de doelcellen te doden.

vb. TNF receptor-Ig (om het zwaarder te maken) tegen RA, Lupus

vb. IFN-α tegen Kaposi’s sarcoma (meest voorkomend bij HIV en kanker patiënten)

* In normale condities zouden de solubele cytokine receptoren kunnen functioneren als “feedback” moleculen
* Verschillende virussen produceren solubele receptoren of cytokine-bindende eiwitten om het immuunsyteem te omzeilen (IL-10 o.a.)
	+ Poxvirussen
	+ Epstein-Barr

Th1/Th2 paradigma

* De CD4+ cellen kunnen functioneren als regulerende cellen (helpercellen) bij verschillende immuunreacties. Onderzoek heeft aangetoond dat er minstens twee subtypen bestaan, met name Th1, Th2, Th17 en regulatorische Th (Tr°.
* Deze Th1 en Th2 worden gekenmerkt door (1) een verschil in productie van cytokinen (cytokine profiel) en (2) door een verschil in biologische functie in het imuunrespons (zie transparant). Men spreekt van een Th1/Th2 concept, dat men zonder twijfel een paradigma mag noemen, omdat het steeds getoetst wordt op zijn correctheid.
* De **Th1-richting** kenmerkt zich door productie van **IL‑2, IFN-γ en TNF-β,** en staan vooral in voor cel-gemediëerde immuunreactie, vooral Mφ activatie om interferonen te produceren, voor delaid time hypersensitivity, en Tc. Ook voor klasse switch van Ab naar IgG2a, die na reactie met het antigen, complement binden en activeren.
* De **Th2-richting** kenmerkt zich door de productie van een ander stel van cytokinen, nl. **IL‑3, IL‑4, IL‑5, IL‑10 en IL‑13**. Deze cytokinen zijn eerder van aard om inflammatie via endothelen en macrofagen te onderdrukken, maar anderzijds richten ze de B-lymfocyten ontwikkeling naar de productie van antistofisotypen IgE die inflammatior werken via basofiele granulocyten, en zijn de Th2 cytokinen groeifactoren voor basofiel granulocyten en mestcellen, met als gevolg degranulatie en mogelijks ook allergische aandoeningen.
* Het Th1-respons is het best geschikt voor het bestrijden van microörganismen die **intracellulair** leven of althans gefagocyteerd kunnen worden, m.a.w. ééncelligen en virussen. IFN-γ neemt dan ook een centrale plaats in de Th1-gemediëerde immuunreacties. Th2-type responsen zijn effectiever tegen meercellige agentia, zoals wormen, die niet kunnen gefagocyteerd worden. Maar het dualisme weerspiegelt zich ook in twee tegengestelde categorieën van allergie. Th1-responsen typeren allergie van het uitgestelde type (delayed-type hypersensitivity) waarvan de tuberculine-overgeveoeligheidsreactie het prototype is. Een TH2-repons is typisch voor allergie van het onmiddellijke type dat berust op de aanwezigheid van IgE antistoffen. Deze laatste zijn gebonden op mastocyten en basofiele granulocyten. Stimulatie met antigen leidt onverwijld tot degranulatie van de leukocyten, m.a.w. tot een allergsiche reactie van het onmiddellijke type.
* De **oorsprong** van het Th1/Th2 paradigma ligt in de samenloop van enkele richtinggevende bevinding op het einde van de jaren ’80. Zo heeft men naïve CD4+ lymfocyten van muizen *in vitro* tot continue cellijnen uitkweken maar afhankelijk van het type van cytokinen (respectievelijk IL-12 en IL-4) die tijdens die *in vitro* kweek worden toegediend, vallen de bekomen Th cellen te verdelen in twee categorieën, waarvan de ene vooral IL‑2 en IFNγ produceren (dus Th1 cellen), terwijl de andere vooral IL‑4, IL‑5 en IL‑10 produceren (Th2). Bij de mens is dit dualisme niet zo duidelijk. Toch leidt stimulatie van niet-gekloneerde (dus gemengde) lymfocytenpopulaties van zowel mens als muis tot productie van overwegend Th1- of Th2-type cytokinen, naargelang van de soort van stimulus en de omstandigheden waarin hij toegediend wordt.
* Het **belang** van Th1 en Th2 in de pathogenese heeft men kunnen aantonen met muizen die genetisch voorbestemd zijn om een Th1 of Th2 immuunrespons te ontwikkelen. Zo zijn muizenrassen die genetisch voorbestemd zijn om met een Th1-type respons te reageren duidelijker resistenter tegen infectie met ‘intracellulaire’ microörganismen dan rassen die eerder Th2-responsen geven. Leishmania was het microorganisme dat voor ‘t eerst voor deze proeven gebruikt werd, maar later volgden andere voorbeelden. Het experimenteel ombuigen van het respons van Th1 naar Th2 deed resistente muizen gevoelig worden.
* Er is een duidelijke **cross-regulatie** tussen Th1 en Th2 cellen: T-Bet en GATA-3 zijn transcriptie factoren die belangrijk zijn voor de inductie van respectievelijk Th1 en Th2 en de werking van de éne wordt geïnhibeert door de andere. De expressie van T-Bet en GATA-3 staat onder controle van respectievelijk IFN-γ en IL-4.

IFN-γ geeft een positieve feedback aan Mϕ voor meer productie van IL-12, en werkt inhiberend voor IL-4. IL-4 daarentegen zorgt voor positieve feedback en inhibeert IFN-γ.

* Correlatie tussen twee vormen van een *Mycobacterium leprae* infectie zowel tuberculoide (nt lethaal, wel huidletsels) en lepromateuze vorm(lethaal, ernstige aantasting CZS, veel bacteriën in circulatie) en hun Th1/Th2 cytokine profiel. Th1 produceert veen IFN-γ die noodzakelijk is om Mϕ te activeren, dus een huge Th1/Th2 ratio is in hun voordeel.
* Th1 en Th2 cellen zijn belangrijk bij het vóórkomen van verschillende ziektebeelden maar anderzijds ook bij het uitlokken van een pathologische conditie (allergische aandoening bv).

**Cel-gemedieerde immuunreacties 14-16**

* Iedere respons waarbij antilichamen een ondergeschikte rol spelen. Antistoffen zijn immers belangrijk om de cel-gemedieerde immuunreacties vlot te laten verlopen (denk maar aan opsonizatie). Op hun beurt kunnen antigen-presenterende cellen en lymfocyten belangrijk zijn voor de antistofproductie (denk aan de T-B collaboratie). Dus de cel-gemedieerde immuunreacties en de humorale immuniteit kunnen niet los van elkaar gezien worden. Bij de bespreking van de antistof-afhankelijke cel-gemedieerde cytotoxiciteit (“antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity” of ADCC) zal dit nog duidelijker worden.
* Cel-gemedieerde immuunreacties zijn vooral belangrijk voor de bestrijding van intracellulaire micro-organismen (bacteriën en virussen) alsook voor de bestrijding van tumorcellen (die door genetische modificaties bepaalde antigenen tot expressie brengen die niet terug te vinden zijn bij normale cellen) of ook voor de bestrijding van chemische-geconjugeerde cellen of voor de bestrijding van allogenetische cellen of allogenetische (zelfde species, ander genotype) cellen.
* Zowel antigen-specifieke als antigen-niet-specifieke cellen dragen bij tot cel-gemedieerde immuunreacties.

→ Ag-specifieke: Th (CD4+) (en dit zijn vooral de Th1 cellen)

 Tc (CD8+) of CTL (cytotoxische T lymfocyten)

→ Ag-niet-specifieke: natural killer (NK), Mφ, neutrofielen, eosinofielen

* Er zijn dus drie typen van effector T-cellen; de CTL, de Th1 cellen en in minder belangrijke mate de Th2 cellen. De effector T-cellen kunnen pas geactiveerd worden wanneer zij hun specifieke antigen herkennen in de MHC context. Er zijn twee typen van cytotoxische cellen, nl. CTL en NK cellen (hebben cytotoxische granulen). Belang van CMI komt naar voor bij het **DiGeorge syndroom** (hebben geen thymus).



Ontstaan (maturatie) van CTL en destructie van de target cellen (tc)

Voor de aanmaak van CTL uit en naïve CTLP moet het van een dendritische cel licencing krijgen. Dit gebeurt ofwel via CD40-CD40L binding van Th1-cel met MHC-antigen complex en de co-stimulatorisch signaal, ofwel door een gestimuleerde TLR. Een gebonden Tc-cel zal dan differentieert tot een naïeve CTL-P en onder stimulatie van IL-2 geproduceerd door Th-cel, zelf IL-2 produceren en tot een volwaardig CTL matureren. Memory CTL-P cellen vereisen geen Th; de CTL-P stimuleert zichzelf autocrien na interactie en stimulatie met een besmette cel→ snellere reactie. IL-2 is onmisbaar voor de maturatie tot CTL.

De destructie van de targetcel op twee verschillende manieren:
(1) via de vrijzetting van toxische mediatoren en
(2) via cel-celcontact en meer bepaald door FASL-FAS interactie.

Beide pathways induceren apoptosis van de targetcel via **caspasen.**

1. Het CTL vormt een conjungaat met de tc (belang CAM; CD2-LFA3, LFA1-ICAM1) en ondergaat cytoplasmatische rearrangement. De granules van de CTL worden vrijgezet (exocytose) en de CTL zal van de tc dissociëren om opniew te worden gebruikt.Tc ondergaat apoptose. De activatie van CTL-P verhoogt de expressie van LFA-1 en resulteert in een sterke affiniteit met de targetcel. Een mature CTL bevatten granula met **perforine** en **granzyme** (fragmentine). De verhoogde Ca concentratie zorgt voor een beweging van de granula naar de targetmembraan en fusie, exocytose van de inhoud, insertie van perforine in het membraan, polymerisatie tot volledige kanalen→membraanpotentiaal verdwijnt. Granzymes dringen door de poriën.
2. FASL en granzymes induceren apoptose via caspasen (proteasen die splitsen achter een aspartaat). Ze zetten rechtstreeks cytochroom c vrij uit de mitochondriën en onrechtstreeks via (procaspase 8→) caspase 8. Cytochroom c activeert Apaf-1 en vormt samen met caspase 9 een complex dat, net als caspase 8, procaspase 3 omzet in caspase 3. Caspase 3 activeert dan apoptotische substraten tot apoptotische effectors→ apoptose.

Naast de CTL’s zijn de **NK cellen** belangrijk in de CMI, zeker in geval van virale infecties of van tumorcellen

* + - Natural killer (NK) cellen kunnen ontaarde doelwitcellen en transplanten elimineren op een niet specifieke manier. NK-cellen ontstaan in het beenmerg uit de gemeenschappelijke progenitorcel van T cellen, maar ze rijpen niet in de thymus (nude muizen hebben normale NK cellen). Ze maken 5-10 % uit van de recirculerende lymfocyten. Enkele fenotypische kenmerken van NK-cellen zijn:
	+ CD3 negatief
	+ geen TCR
	+ Geen memory
	+ CD2 (receptor voor LFA-3)
	+ granzymen en perforine
	+ FasL
	+ CD16 (Fcγ receptor)
* CTL en NK cellen zijn complementaire elementen van de immuunrespons tegen virus-geïnfecteerde cellen

CTL NK

herkenning van de specifieke Ag herkenning van de doelwitcel

in de context van MHC zonder MHC-restrictie

 (wat hier ook nog belangrijk is zijn de verschillen in memory)

* NK cellen zijn eveneens betrokken in de vroege respons tegen virussen en bacteriën. Dus na een virus infectie krijgt men in de loop van de eerste dagen een productie van IFN-α en IFN-β, vervolgens activatie van NK cellen en pas later het ontstaan en werking van CTL. NK cellen worden gestimuleerd door IFN-α, IFN-β, IL-12, IL-15 en IL-18.
* NK-cellen elimineren de target cellen op een vergelijkbare manier zoals de CTL, met het verschil dat NK-cellen steeds over cytotoxische granulen beschikt, terwijl een CTL daarvoor moet geactiveerd worden.
* RAG-KO muizen hebben geen mature B- of T-cellen en zijn dus zwaar immunodefficiënt, toch overleven ze vrij goed doordat ze veel NK cellen hebben.
* Het “opposing signalling” model; alle normale cellen hebben MHC I moleculen, die binden met een receptor (vb: KIR en/of CD94) op de NK-cellen en zo een dominant inhibitorisch signaal geven. Het AR (activating receptor) ligand met AR levert een positieve stimulatie). Een virus-geïnfecteerde cel gaat opmerkelijk minder MHC I presenteren (virussen downreguleren MHC expressie), waardoor het inhibitorisch signaal wegvalt en de cel wordt aangevallen door NK cellen.
* BLS type 1 heeft geen MHC I doordat Tap-eiwit afwezig is; de lege MHC zijn zeer instabiel en worden meteen weer geïnternaliseerd→ gezonde cel wordt aangevallen door NK cellen.

ADCC; Sommige cellen (NK, neutrofielen, eosinofielen en macrofagen) hebben het vermogen om via hun Fc receptor doelwitcellen te lyseren (perforin, granzyme, TNF, lytische enzymen).

Experimenten om CMI te bestuderen;

* Mixed Lymphocyte Reaction; meet de proliferatie van T-cellen. One way MLR is als men 1 van de twee stammen (Y) licht bestraalt of behandelt met mitomycin c eer men ze samen in cultuur brengt. De stam X zal dan in de meeste gevallen stam Y aanvallen. Men voegt na de 3de dag radioactief thymidine toe dan in het DNA van prolifererende cellen zal worden geïncorporeerd en meten dit dan later op. Bij two way MLR worden geen van beiden behandeld en kan Y ook X aanvallen. Men gebruikt dan BRDU ipv thymidine en een aparte specifieke merker voor elke stam (intracell kleuringstech.).
* Cell Mediated Lympholysis; meet de lysis van T-cellen. We bemetten stam X met stam Y, oogsten 4-5 dagen lymfocyten uit de milt en brengen deze in cultuur met 51Cr-gelabelde Y cellen. De cellen worden afgebroken (lysis) en de 51Cr komt vrij, dit is wat we opmeten

**Immuunreacties op infecties 17**

Wanneer een parasiet een gastheer infecteert komt het in strijd met verschillende componenten van het immuunsysteem.

Vooreerst is er de immunologische barrière (huid, epitheliaal weefsel met zijn cilia en mucus, zure pH in de maag, antibacteriële eiwitten in het spijsverteringsstelsel ...). Parasieten die ontsnappen aan deze elementen van de aangeboren immuniteit kunnen mogelijks nog verwijderd worden door immuunreacties van de verworven immuniteit (T en B cellen, Ab).

Ook hier verschillende pathogenen ontsnappen aan vernietiging door het immuunsysteem omdat ze verschillende strategieën hebben ontwikkeld. Een verzwakte persoon met een verzwakt immuunstelsel zeer gevoelig worden voor een schijnbare banale infectie.

Intracellulaire parasieten zijn doorgaans de moeilijkste om verwijderd te worden, antistoffen hebben er minder vat op; ze worden meestal verwijderd door CTL en/of CD4+ T cellen.

Of een micro-organisme kan het immuunsysteem omzeilen en op die manier een ernstige infectie veroorzaken. De ziektesymptomen (pathologie) kunnen een rechtstreeks gevolg zijn van de micro-organismen of van een buitensporig/chronisch immuunrespons. Belangrijke micro-organismen die aan de basis liggen van verschillende ziekteverschijnselen kunnen in 6 groepen worden onderverdeeld:

1. Virussen (mazelen, rubella, hepatitis, herpes, influenza ...)
2. Bacteriën

→ extracellulaire (staphylococcen, streptococcen …)

→ intracellulaire (mycobacteria …)

sommigen produceren toxinen → cytokine productie

1. Schimmels (Candida, Histoplasma)
2. Protozoa → zijn dikwijls schadelijk omdat ze talrijke mechanismen hebben ontwikkeld om te ontsnappen aan het immuunsysteem (Leishmania, Toxoplasma, Malaria, Trypanosoma)
3. Wormen (zuigwormen, lintwormen, rondwormen, mijnwormen)
4. Ectoparasieten (teken, luizen)

**Immuniteit tegen virale infecties 17-19**

* Virussen zijn obligate intracellulaire parasieten en praktisch alle virale eiwitten kunnen in het cytoplasma bewerkt worden en gepresenteerd worden in de MHC-I context.
* Ze binden aan gastheercellen via specifieke receptoren:

|  |  |
| --- | --- |
| Virus | Receptor |
| HIV | CD4 op Th cellen, CXXR4 op Mϕ |
| EBV | CR2 (complement receptor type 2) op B-cellen |
| Rhinovirus | ICAM-1 op verschillende celtypen |
| Influenza | Glycoforine A op verschillende celtypen |
| Rabies | Ach-receptor of spiercellen |
| Poliovirus | CAM (Ig-superfamilie) op neuronen  |

* Sommige virussen veroorzaken een kortstondige ziekte (snelle eliminatie van het virus en snelle genezing, vb. influenzavirus)
* Sommige virussen persisteren in een latente (niet-infectieuze) vorm nadat de acute infectie bestreden is, vb. Herpes simplex virus
* Sommige virussen persisteren in infectieuze vorm, vb. hepatitis-B virus en EBV

In geval van infectie treedt er activatie van de aangeboren immuunrespons op, vooral:

* productie van interferonen (vooral IFN-α, IFN-β, en in mindere mate IFN-γ)

die “interfereren” met de virusreplicatie van de naburige cellen (na degradatie van viraal mRNA en inhibitie van eiwitsynthese) en verhoging van MHC-I en II expressie

IFN-α/β bindt aan de α-keten van de receptor, de β-keten wordt gerekruteerd, JAK wordt geactiveert en fosfryleert de tyrosineresidu’s van de receptor. STAT 2 wordt geactiveerd, komt los, dimeriseert en induceert transcriptie van 2’-5’-adenylaatsynthetase en PKR. 2-5-(A)synthetase activeert en ribonuclease dat polyAmRNA degradeert. PKR (geïnduceert door dsRNA) inactiveert eIF (eukaryote initiation factor)→ proteïnemethabolisme van de cel valt stil (cel gaat liever dood dan de virus te laten leven). Beiden leiden tot inhibitie van proteïnesynthese.

* stimulatie van NK cellen

NK cellen zijn vooral belangrijk bij de bestrijding van virussen die de expressie van MHC-I onderdukken

* stimulatie van CTL’s

Om virus-besmette cellen weg te werken

* ADCC en complement activering

Wanneer de infectie doorzet komt er een specifieke verworven immuunrespons op gang, met de ontwikkeling en activatie van Tc-cellen, Th-cellen en antilichamen. Deze laatste vormen vooral een barrière voor de verdere verspreiding van virussen in de weefsels of in de bloedbaan, en voor de preventie van een volgende infectie. Antilichamen kunnen op verschillende wijzen bijdragen tot een adequaat humorale respons tegen de virussen.

* ze kunnen de binding van de virussen met hun specifieke celreceptoren verhinderen (IgA, IgM, IgG) zie tabel slide 3.
* ze verhogen de fagocytose van virussen via opsonizatie (IgG, IgE)
* ze activeren het complementsysteem met een beschadiging van de virusenveloppe tot gevolg of lysis van de geïnfecteerde cel (door vorming van Membrane Attack Complex – MAC)
* activeren NK-cellen door ADCC via Fc receptoren

Tenslotte zijn de Th cellen belangrijk bij virussen die opgenomen worden (bv. door fagocytose) en aangeboden worden in de MHC-II context. Ze zijn betrokken bij de T-B collaboratie alsook bij de activatie van Mϕ (cytokinen en co-stimulatorische moleculen spelen hierin een sleutelrol).

Strategieën van virussen om het immuunsysteem te ontwijken

1. Antigenvariatie (mutatie van oppervlakteantigenen die herkent worden door antistoffen) prototype vb. is influenza virus: de belangrijkste oppervlakte eiwitten zijn hier hemagglutinine en neuraminidase. Antistoffen tegen hemagglutinine zijn meestal zeer effectief in het verhinderen van de binding van het virus met de gastheercel. Het influenzavirus kan echter deze eiwitten lichtjes wijzigen (antigene drift) of radicaal wijzigen (antigene shift), zodat antistoffen niet meer kunnen binden (ook HIV kan zijn gp120 Ag wijzigen).
2. Afschermen van antigenen door glycoproteïnen
3. Inhibitie van MHC I -geassocieerde eiwitten;
* inhibitie van de proteosoom activiteit, vb. EBV (lege MHC I)
* inhibitie van TAP (transporter associated with antigen processing) vb. HSV
* inhibitie van de MHC synthese vb. CMV en/of verwijdering van MHC moleculen uit het ER
1. Productie van immunosuppressieve cytokine-homologen (EBV → IL-10)
2. Blokkeren van de werking van andere cytokine door productie van solubele cytokinereceptoren (vb. myxoma e.a. → IFN-γR, TNFR, IL-1R)
3. Aanmaken van eIF
4. Virussen kunnen cellen van het immuunsysteem infecteren met als gevolg: immunosuppressie/deficiëntie. Het prototype is HIV → CD4+ cellen (hoofdzakelijk Th cellen, maar ook Mφ)

**Immuniteit tegen bacteriën 19-20**

Aantrekking en activatie van fagocyterende cellen (vooral Mϕ en neutrofielen) staat centraal bij het immuunrespons tegen bacteriën.

Bacteriën die binnendringen kunnen toxinen produceren, ofwel membraangebonden ofwel solubele, en deze kunnen geneutraliseerd worden door Ab. PAMP (LPS, PGL, lipoproteïnen, muramylpeptide, etc.) activeren (vooral) Mφ en neutrofielen, die cytokines en chemokines produceren om andere cellen aan te trekken. Ze activeren ook het complement, met name c3b (opsonisatie, lysis), c3a en c5a, waarvan de laatste 2 anaphylatoxines zijn (activeren en trekken mest cellen aan, dat de permeabiliteit van nabije bloedvaten verhoogt).

Zodra de bacterie binnenkomt activeren CRP (Complement Reactive Protein, een actieve-fase eiwit) en MBP (Mannan binding proteins) het complement. C3a en c5a zorgen voor chemotaxis en activering mestcellen tot productie van histamine en IL-8. C3b zorgt voor opsonisatie en bindt aan CR2 receptor.

PAMPs activeren via TLR NK cellen tot productie INF-γ, Mϕ (IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF-α), en Th.

## Specifieke immuunrespons

1. Ab belangrijk bij infecties met extracellulaire bacteria
	1. Antistoffen neutralizeren toxinen (IgM, IgG, IgA)
	2. Immobilisatie van bacteria door IgM (door binding aan flagellen)
	3. Agglutinatie van bacteria door IgM
	4. Activatie van het complement (IgM, IgG)
	5. lysis van de bacterie
	6. opsonizatie (IgG) voor fagocytose
2. Th cellen/Tc cellen

De meeste bacteriën worden gedood door fagocyten via zuurstofafhankelijke en zuurstofonafhankelijke mechanismen.

Zuurstofafhankelijke doding (vooral belangrijk in PMN)

ROI (reactieve zuurstof intermediairen) Een enzyme in het membraan van de fagosoom reduceert O2 tot superoxide. Dit kan leiden tot de vorming van H202 (waterstofperoxide) en hydroxylradicalen (OH) in waterig milieu, allen zeer toxisch voor bacteriën. In de aanwezigheid van myeloperoxidase en chloride wordt hypochloriet gevormd

RNI (Reactive “nitrogen” intermediaren); Bevat 4 enzymen; NOS (NO synthase), Constitutief NOS, Epitheliaal NOS en Inducable NOS. Hier hebben we het over INOS: NO en daarnaast NO2 en ONOO- (NO + .O2-)

Zuurstof-onafhankelijke doding

lysozymen, proteasen, defensinen, collagenasen, lactoferrine, gelatinase, werken in op de celwandelastase, cathepsin

### Mechanismen van bacteriën om immuunresponsen te ontwijken

1. Inhibitie van de fagocytose
	* door capsule vorming (vb. streptococcen)
	* door uitscheiden van toxinen die chemotaxs inhiberen of die toxisch zijn voor fagocyten (vb. staphylococcen)
2. Overleving in de fagocyte
* door inhibitie van de fusie fagosoom/lysosoom (vb. Mycobacterium tuberculosis)
* door productie van katalase dat H2O2 afbreekt
* door ontsnappen uit de fagosoom om zich verder te vermenigvuldigen in het cp
* door een zeer resistente mantel dat zich beschermd tegen vrije radicalen (vb. Mycobacterium tuberculosis)
1. Inhibitie van complementactivatie

Bacteriën liggen niet zelden aan de basis van een overmatige stimulatie (of ook langdurige stimulatie) van het immuunsysteem.

Denk aan de productie van cytokinen door LPS of door superantigenen met als gevolg een shock reactie gekenmerkt door intervasculaire coagulatie, ernstige veranderingen in de bloeddruk, activatie van Mφ, neutrofielen met productie van vrije radicalen.

Denk aan de gevaren van granulomavorming en DTH (“delayed type of hypersensitivity”)

vb; Mycobacterium tuberculosis. Bacteriën omringd door al dan nt gefusioneerde Mϕ (50-100 kernen) die veel meer proteases produceren dan apart. Gevolg; K centrum in granuloma vol afgebroken materiaal die Mϕ nt verwijderd krijgt→ recrutering van meer Mϕ, neutrofielen en lymfocyten→ doden van zelfs gezond weesel. Zie overgevoeligheidsreactie.

**Immunologische afweer tegen protozoa en wormen 20-22**

Het type van immuunrespons dat zich zal ontwikkelen tegen een protozoa hangt af van de betreffende parasiet en het stadium van de infectie. Verschillende protozoa hebben gedurende hun levenscyclus een stadium waarin ze vrij voorkomen in het bloed, en het is dan ook in dit stadium dat humorale respons het meest effectief is. Protozoa kunnen echter ook intracellulair voorkomen, en in dit geval is een CMI belangrijk in de afweerreactie. Veel protozoa kunnen bovendien, tijdens hun gecompliceerde levenscycli hun oppervlakte-antigenen veranderen. Sporozoïeten (van Plasmodium) migreren nr de lever en transformeren tot merozoïeten. De overgang nr het merozoïet stadium duurt maar 30min, te kort voor een immuunrespons. Merozoïeten zitten intracell in de levercellen (→ CMI) en gaan RBC besmetten en/of omvormen tot gametocyten.

Leischmania donovani is een protozoa (flagellaat) die zwarte koorts veroorzaakt (lever en miltvergroting, inwendige bloedingen etc.). Sommige muizen een predispositie om Th2 te produceren (BalbC) en anderen om Th1 te produceren (Black).

Leishmania major: niet pathogeen voor de mens, en word veel gebruikt in het lab

 BALB/c mice are highly susceptible: Th2 response

 C57Bl mice: are resistant: Th1 response (IFNγ, CTL respons)

Proefdieren die resistent zijn voor infectie met Leishmania blijken een stevige Th1 type immuunrespons te kunnen opbouwen, terwijl muizen die vatbaar zijn voor de parasiet een dominante Th2 immuunrespons opbouwen. In deze laatste kan toediening van antilichamen tegen IL-4 de activiteit van Th2 verminderen om expansie van de Th1 toe te laten en de infectie te bestrijden. Leishmania is een typisch Th1-gemedieerde ziekte en wordt om die redenen veel gebruikt in laboratoriumonderzoek.

Monocyten, weefsel Mϕ en granulocyten (neutrofielen en eosinofielen) vormen een eerste afweerlijn tegen protozoa. Voordat ze als APC fungeren bij de initiatie van de immuunrespons, dienen macrofagen als effectorcellen die de vermenigvuldiging van parasieten remmen en eventueel doden. Na activatie van de Mϕ door cytokinen (IFN-γ, IL-4, ...) produceren ze meer superoxide en H2O2 dan niet geactiveerde Mϕ dat toxisch is voor de parasiet. Macrofagen zijn bovendien belangrijke produceren van NO (stikstofoxide), één van de belangrijkste cytotoxische factoren die geproduceerd worden zonder dat fagocytose van de parasiet heeft plaatsgevonden.

Eosinofielen fagocyteren veel minder dan neutrofielen. Ze degranuleren in respons op vooral worminfecties en dit effect wordt opnieuw versterkt door cytokinen zoals IL-5 en GM-CSF. De wormen dienen bedekt te zijn met IgG of IgE antistoffen voor activatie van de eosinofielen.

Mestcellen kunnen op een vergelijkbare manier een IgE-afhankelijke degranulatie bewerkstelligen.

Zowel Th1- als Th2 responsen zijn belangrijk bij infecties met wormen, maar Th2 cellen zijn een vereiste voor een efficiënte eliminatie van nematoden uit de darm.

Wormen worden NIET gefagocyteerd!

Parasitaire Ag (door wrijving met gastheer of afvalproducten) worden opgenomen door Mϕ die IL-4 produceren→ differentiatie naarTh2→ produceren vooral IL-4 en IL-5 die klasseswitch nr IgE stimuleren→ binden zich aan mestcellen (Fc-receptor)→ crosslinking met parasitaire Ag zogrt voor zeer sterke activatie mestcellen→ productie ECF (Eosinofiele Chemotactische Factor) en NeutrofieleCF. ADCC met andere Ab. Eosinifielen produceren Eosinifilic Basic Protein en Eosinifilic Cationisch Protein die heel toxisch zijn voor wormen, maar ook voor eigen weefsel, daarom bloedingen en productie PAF (produceren TNFα en is dus ook toxisch). Mϕ aken mbv ADCC veel TNFα aan.

De wormen worden beschadigd door IgE-gesensitiseerde mestcelactivatie (door degranulatie van de mestcellen). Hierbij komt ook histamine vrij dat de permeabiliteit van het intestinaal epitheel verhoogt. Voor de volledige eliminatie van de wormen is activatie van macrofagen eveneens noodzakelijk voor de lokale productie van TNFα en IL-1.

Strategieën van protozoa en wormen om de immuunrespons te ontwijken

1. Trypanosoma en schistosoma parasieten kunnen zichzelf omgeven door een mantel van glycolipiden om zich te beschermen tegen antistoffen en/of complement.
2. Intracellulaire parasieten vermijden destructies op verschillende manieren:
	* Trypanosoma dringt de Mφ binnen via een actief proces vanwege de parasiet (dus niet via de fagocytose-route, geen fusie met liposoom!)
	* Sommige parasieten ontsnappen uit de fagosoom en delen vrij in het cytoplasma
	* Leishmania maakt glycoproteïnen dat de werking van lysosymale enzymen van macrofagen remt
3. Antigen variatie (Trypanosoma)
4. Schistosomen kunnen op hun celoppervlakte moleculen tot expressie brengen van de gastheer (zoals bloedgroepdeterminanten, MHC moleculen)
5. De meeste parasieten verstoren de immuunrespons door:
	* inhibitie van de macrofaagfunctie
	* productie van prostaglandinen (remt ontstekingen)
	* klonale deletie van T en B cellen
	* inductie van polyclonale activatie (afleiden van het immuunrespons)

**Immuunrespons op tumoren 22-23**

Kankercellen zijn gewijzigde “eigen” cellen. Zo kan je *in vitro* normale cellen laten transformeren tot kankercellen door toediening van chemische carcinogenen, bestraling, virussen en overexpressie van oncogenen. Kanker is het gevolg van een verstoring van de homeostasis, dit is het evenwicht tussen de cellulaire proliferatie en de celdood. Oncogenen en tumor-suppressor genen zijn belangrijk in dit proces.

Kanker-geassocieerde genen kunnen in drie categorieën worden ingedeeld:

1. genen die instaan voor een verhoogde cellulaire proliferatie (coderen voor groeifactoren of transcriptiefactoren, bv. erbB en jun/fos)
2. tumor-suppressor genen (inhiberen de celproliferatie) een mutatie in deze genen veroorzaakt kanker, bv. p53
3. genen die de geprogrammeerde celdood (apoptosis) reguleren (een type voorbeeld is bcl-2, dat codeert voor eiwitten die de apoptosis remmen)

Ag gekenmerkt voor tumoren te onderscheiden in twee groepen;

* TSTA (tumor specifieke transplantatie Ag) werden oorspronkelijk getest voor door transplantatie.
* TATA (tumor associated transplantatie Ag) eigen Ag die ooit tijdens de foetus ontwikkeling even tot expressie zijn gekomen (voor presentatie in thymus). Of een eigen peptide die te veel tot expressie komt (aviditeit).

Vooral CMI zijn belangrijk voor de vernietiging van tumorcellen

Algemene regel: verschillende tumoren hebben een verlaagde expressie van MHC-I, hier is de humorale respons en de NK activiteit belangrijk. In geval dat er toch expressie is van MHC-I is de ontwikkeling van CTL belangrijk bij de destructie van de tumor. De tumorcellen worden dus gedood door celgemediëerde cytotoxiciteit (cfr. virus-besmette cel) hetzij via ADCC via CTL’s. Bij deze vernietiging staan drie eiwitten centraal: perforine, de lytische enzymen die membraancomponenten afbreken en cytotoxische cytokinen zoals TNF-α (in synergie met IFN-γ).

Tumoren hebben een aantal mechanismen voor ontwijking van immuunresponsen

1. Modulatie van tumor antigenen door antistoffen
2. Onderdrukking van MHC-I expressie
3. Zwakke expressie van co-stimulatorische moleculen, vooral B7

**Overgevoeligheidsreacties, immunologische tolerantie en autoimmuniteit 23-27**

# Overgevoeligheidsreacties

Ons menselijk lichaam komt herhaaldelijk in contact met stoffen afkomstig uit onze naaste omgeving, zoals huisstofmijt, pollenkorrels, dierlijk weefsel, bepaalde metalen, kleur-, geur- en smaakstoffen, conserveringsmiddelen enz. Ongeveer ¼ van de bevolking ontwikkelt enkele minuten na contact met deze omgevingsstoffen klachten als niesbuien, jeukende en tranende oogleden, huiduitslag, eczeem of benauwdheid. De symptomen zijn een gevolg van een **allergische** reactie tegen deze – voor het merendeel van de bevolking onschadelijke- stoffen. Een allergische reactie wordt ook wel een **overgevoeligheidsreactie** genoemd alhoewel hier moet opgemerkt worden dat er bij een allergische reactie niet altijd sprake is van een overdreven of eccessieve immuunreactie maar eerder van een ongepaste reactie.

De stoffen of antigenen die een allergische reactie uitlokken worden **allergenen** genoemd. In het geval van allergie voor inhalatie-stoffen spreekt men ook wel van **atopie**. Alhoewel IgE antistoffen dikwijls nuttige effecten hebben (zie immuunresons tegen wormen), liggen ze bij allergische aandoeningen niet zelden aan de basis van de vervelende en soms uitgeproken symptomen. Maar ook IgM en IgG immuunglobulinen kunnen belangrijk zijn in de pathogenese van allergische aandoeningen.

Allergische reacties worden klassiek ingedeeld volgens het schema van Gell en Coombs. In dit model worden er vier typen van immunologische reacties beschreven:

1. Type I of ook wel allergie van het directe type (immediate type) genoemd; IgE-gemedieerd
2. Type II of IgG- (en soms IgM)-gemedieerde cytotoxische overgevoeligheidreactie
3. Type III of immuuncomplex-gemedieerde allergie
4. Type IV of allergie van het vertraagde type (delayed type of hypersensitivity, DTH)

(Opgelet, bij een allergische reactie kunnen er meerdere typen tegelijkertijd actief zijn).

Type I:

* allergenen zijn o.a.: plantenpollen, uitwerpselen van de huisstofmijt , epitheel van huisdieren, voedingsmiddelen, bije- en wespegif, penicilline
* IgE-gemedieerd
* De allergenen induceren **crosslinking** van de gebonden IgE’s op mestcellen en basofielen, waardoor deze laatsten worden geactiveerd met als gevolg een vrijzetting van mediatoren die in de granulen waren opgeslagen
* De IgE’s binden op cellen via hun Fc fragmenten op twee IgE-specifieke receptoren, met name de FcεRI en de FcεRII. De FcεRI is een hoge affiniteits receptor die voorkomt op mestcellen en basofiele granulocyten. De FcεRII of CD23 bindt IgE met een veel lagere affiniteit maar de receptor komt voor op alle witte bloedcellen.
* Mestcellen kunnen ook geactiveerd worden door complementfactoren C3a en C5a, door ACTH, door morfine, door ca-ionoforen.
* Enkele belangrijke mediatoren die vrijgezte worden na activatie van mestcellen zijn: histamine, serotonine, leukotriënen, prostaglandinen, bradykininen, chemotactische factoren (ECF en NCF) en cytokinen (IL-2 tot 6, TNF-alfa).
* De gevolgen van de vrijzetting van deze mediatoren zijn: verhoogde vasculaire permeabiliteit, contractie van de gladde spiercellen, mucus-productie, aantrekking van andere witte bloedcellen, waaronder eosinofielen en neutrofielen
* Anafylactische shock reacties komen frequent voor
* Genetische factoren, omgevingsfactoren, de dosis van het antigen, het cytokine-milieu zijn allemaal factoren die type I allergische reacties reguleren.

Type II

* Het basismechanisme van type II allergie betreft de binding van antistoffen (van IgG en IgM isotype) aan de antigenen die zich bevinden op de membraan van weefsel of perifere bloedcellen, gevolgd door complement activatie en lysis en/of fagocytosis van de cel.
* Typisch voorbeelden zijn de antistof-productie als gevolg van een bloedtransfusie, antibiotica-geinduceerde hemolytische anemia, en erythroblastosis fetalis

Type III of immuuncomplex-gemedieerde allergie

* De reactie van een antigen met zijn antistof vormt een immuuncomplex, dat in normale omstandigheden opgeruimd wordt door fagocyterende cellen. Echter, bij een hoge dosis van immuuncomplexen kunnen deze neerslaan in weefsels en op die plaats een lokale complementactivatie bewerkstelligen. Zo kunnen ze neerslaan ter hoogte van de bloedvatwand, de synoviale membraan of de glomeruli ter hoogte van de nieren.
* Het verschil met type II allergie is dat het antigen bij type III vrij in de circulatie voorkomt. De effector faze is echter hetzelfde.
* Voorbeelden zijn de arthus reactie, en serum ziekte.
* Verschillende autoimmuunziekten worden pathologisch gekenmerkt door een type III allergische reactie, bv. systemische lupus erythematosus (SLE) en rheumatoide arthritis (RA).
* De reactie kan zich eveneens voordoen bij ernstige infecties (meningitis, hepatitis, mononucleosis, e.a.)

Type IV allergie

* Dit is een vertraagde overgevoeligheidsreactie, d.w.z. dat de reactie pas merkbaar is 48 tot 72 uur na het contact met het allergeen (bij de andere typen van allergische reacties manifesteren de symptomen zich binnen de 24 uur).
* De aanmaak van de zogenaamde T DTH cellen (Th1) in de sensitisatie-faze alsook het aantrekken van macrofagen (en in mindere mate neutrofielen) in de effector-faze staan hier centraal. De productie van lytische enzymen door die macrofagen zijn verantwoordelijk voor de allergische reacties.
* Voorbeelden zijn de granuloma vorming tengevolge van het persisterend karakter van bv. mycobacteria alsook de typische contactdermatitis (bv. voor nikkel, producten uit de cosmetica)

## Immunologische tolerantie

### *Het onderscheid tussen lichaamseigen en vreemd*

Hoe maakt het immuunsysteem onderscheid tussen eigen weefsels, organen en vreemde indringers? Er zijn verschillende antwoorden op die vraag:

In de “innate” immuunrespons moet de fagocyte de parasiet herkennen. Deze herkenning is gebaseerd op binding tussen koolhydraten aan de celoppervlakte van microorganismen, en specifieke receptoren op de fagocyte met name lectinen. Dat fagocyten geen eigen cellen fagocyteren heeft te maken met het feit dat de lichaamseigen cellen suikers dragen die een andere struktuur hebben en derhalve niet herkent worden door de fagocyten. Echter in sommige gevallen kan die suikerstructuur toch gewijzigd worden (bv. in oude rbc of ontaarde cellen, kankercellen) zodat deze cellen toch gefagocyteerd worden.

Ook het complement systeem kan covalente binding maken met koolhydraten van bv. bacteriën.

In de “adaptie” immuunrespons wordt er een heel repertorium van T en B cellen aangemaakt die verschillende antigenen kunnen herkennen. Omwille van het feit dat de bouwstenen van onze eigen eiwitten en deze van microorganismen dezelfde zijn, is de kans niet ondenkbaar dat er T en B cellen gemaakt worden die kunnen reageren tegen lichaamseigen Ag. Dit is inderdaad het geval. Echter, het immuunsysteem beschikt over een mechanisme om deze “autoreactieve” T en B cellen ofwel te elimineren ofwel op “non-actief” te zetten. Men spreekt van immunologische tolerantie (dus het onvermogen van het immuunstelsel om op bepaalde antigenen te reageren). Deze tolerantie kan op twee niveau’s plaatsvinden: centraal of in de perifere lymfoïde organen.

*Centrale thymustolerantie (Beenmerg voor de B-lymfocyten!)*

#### Tijdens de maturatie van T cellen in de thymus worden de immature T cellen onderworpen aan positieve selectie (selectie van die T cellen die kunnen binden aan antigen geassocieerd met MHC moleculen), alsook aan negatieve selectie (eliminatie van thymocyten die met hoge affiniteit binden met lichaamseigen antigenen).

De antigenen die in hoge concentraties aanwezig zijn in de thymus zijn “eigen” antigenen. Deze eigen antigenen worden gepresenteerd door Mφ en dendritische cellen (DC), vooral in de medulla van de thymus. Deze cellen zijn rijk aan MHC-I en II waarmee de T cellen met hoge affiniteit voor lichaamseigen peptide gebonden worden. Maar sommige “auto-reactieve” T cellen ontsnappen aan negatieve selectie om verschillende redenen:

1. Het niet voorkomen van het lichaamseigen Ag in de thymus
2. Te lage affiniteit van de de T-cel met zijn ligand/MHC complex
3. Onvoldoende vorming van het MHC-peptide complex

*Perifere tolerantie*

Ongeveer 10% van de lymfocyten tegen eigen antigenen overleven de negatieve selectie-procedure. Deze kunnen dus in principe eigen cellen/weefsels aanvallen (auto-immuun reactie) en mogelijks een autoimmuunziekte veroorzaken.

Naast de centrale tolerantie bestaat er echter een tweede systeem om deze auto-reactieve lymfocyten niet-responsief te maken nl. perifere tolerantie (= onvermogen van autoreactieve lymfocyten om te reageren in de perifere weefsels).

Er zijn (minstens) vier manieren waarop voorkomen kan worden dat autoreactieve lymfocyten de lichaamseigen weefsels aanvallen:

1. Clonale deletie

Bepaalde weefsels gebruiken het Fas-systeem voor bescherming tegen reactieve T cellen (Testis en retina brengen continu FasL tot expressie).

1. Clonale anergie

Treedt op wanneer de T cel gestimuleerd wordt in afwezigheid van signaal nr. 2 (costimulatorische moleculen en/of cytokinen bv. B7/CD28 interactie)

1. Ignorance: het negeren van lichaamseigen Ag door:
	* anatomische scheiding
	* de antigenen ofwel niet in de lymfoïde organen terecht komen ofwel niet of nauwelijks gepresenteerd worden door MHC moleculen in de weefsels
2. Suppressie

Recent onderzoek toont aan dat er een populatie van T-cellen bestaat die de werking van autoreactieve T-cellen inhibeert. Deze populatie van cellen worden T-suppressor of regulatorische T-cellen (T-reg cellen) genoemd, en wordt gefenotypeerd door CD4+CD25+ expressie.

immuundeviatie = de conversie van een T-cel respons met een welbepaald cytokine profiel naar een andere T-cel respons dat geassocieerd is met een set van andere cytokinen

# *Centrale en perifere toleranties van B-lymfocyten*

* Immature B cellen die eigen Ag herkennen in het beenmerg ondergaan eveneens clonale deletie of “receptor editing”
* In de periferie kan tolerantie van autoreactieve B cellen optreden door clonale deletie, anergie en gebrek aan hulp van de T cellen

Autoimmuniteit

* is een resultaat van het doorbreken van de immunologische tolerantie

gevolg is: → activatie van eigen-reactieve T en B cellen

→ activatie van celgemedieerde- en humorale respons tegen lichaamseigen Ag

 → autoimmuunziekte

* autoimmuunziekten worden klassiek ingedeeld in:
	1. Orgaan-specifieke autoimmuunziekten

(één specifiek weefsel/orgaan als target)

 Ag

vb: Hashimoto’s thyroiditis Thyroid eiwitten

 Autoimmune hemolitische anemia RBC membraaneiwitten

 IDDM (“insuline-dependent (β cellen in de pancreas)

 diabetes mellitus”)

 Myasthenia gravis Ach receptor

 Graves’disease TSH receptor

1. niet-orgaan-specifieke of systemische autoimmuunziekten

(meerdere weefsels als target)

 Ag

vb: Systemic lupus erythematosis (SLE) DNA/nucleair Ag

 Multiple sclerosis (MS) grijze en witte stof

 Rheumatoide arthritis (RA) IgG (rheuma factor)

 Sjögren’s syndroom Ag in lever, nier

* SLE is een gevolg van auto-Ab tegen verschillende eiwitten die in de kern voorkomen
	+ geeft complexvorming en type III overgevoeligheidsreactie
	+ complexen slaan neer ter hoogte van de nier, gewrichten, wand van de bloedvaten
	+ activatie van complement, verhoging van C3a/C5a en neutrofiel aggregatie
* MS of multiple sclerosis
	+ meest voorkomende neurologische aandoening in de westerse landen
	+ gevolg van destructie van de myeline schede door autoreactieve T cellen
	+ ernstige complicaties (verlammingsverschijnselen), dodelijk
	+ oorzaak niet gekend
* RA of rheumatoide arthritis
	+ de belangrijkste symptomen situeren zich ter hoogte van de gewrichten
	+ Rheumafactor = auto-Ab tegen IgG immuuncomplexen → type III overgevoeligheidsreacties

# *Diermodellen voor autoimmuunziekten*

Spontane autoimmuunmodellen:

- NOD muizen model voor IDDM

- (NZB x NZW)F1 muis SLE

- MLR/lpr/lpr SLE, arthritis

 (defect fas gen)

Experimenteel-geïnduceerde autoimmuunziekten

- EAE (door MBP in CFA) (myeline basic proteïne)

- EAMG (door Ach-receptor in CFA)

- CIA (door collageen type II in CFA/IFA)

- EAT (thyroglobuline in CFA)