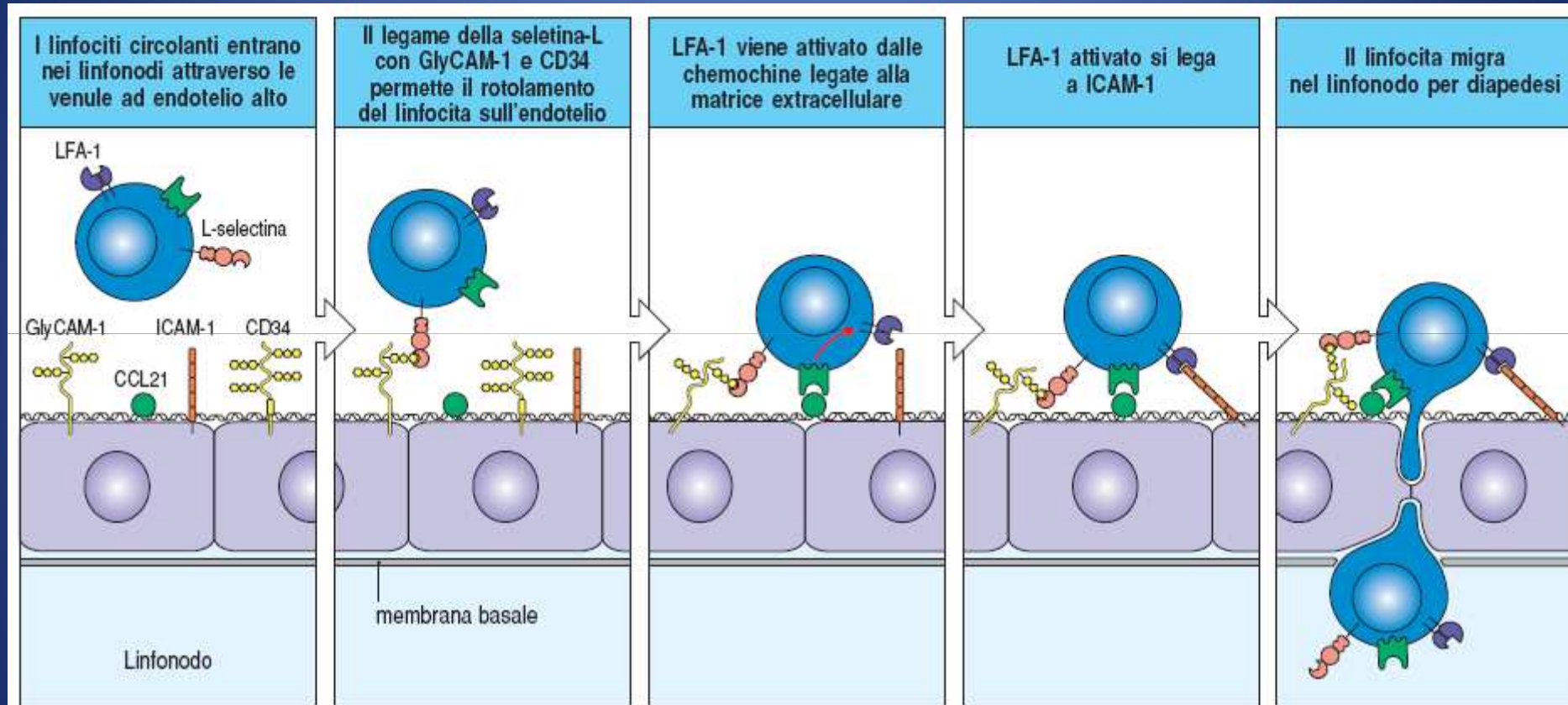
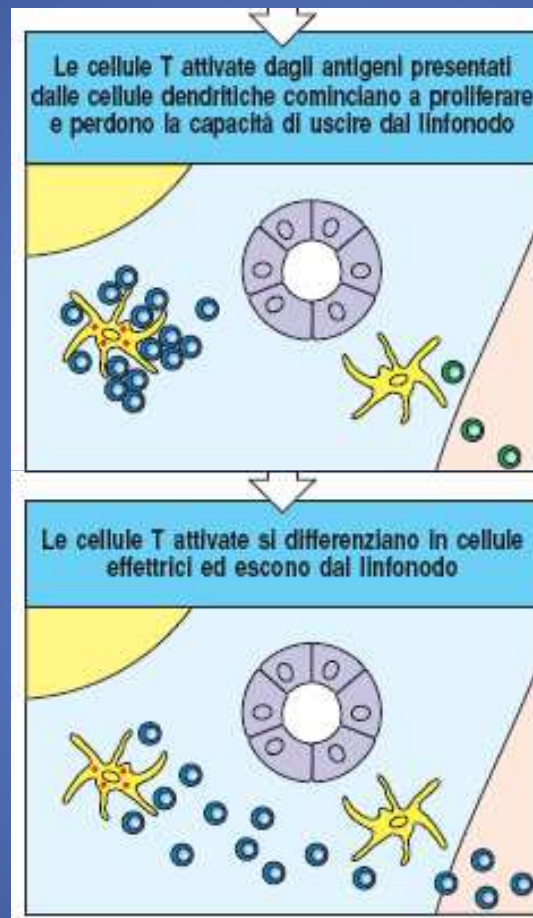
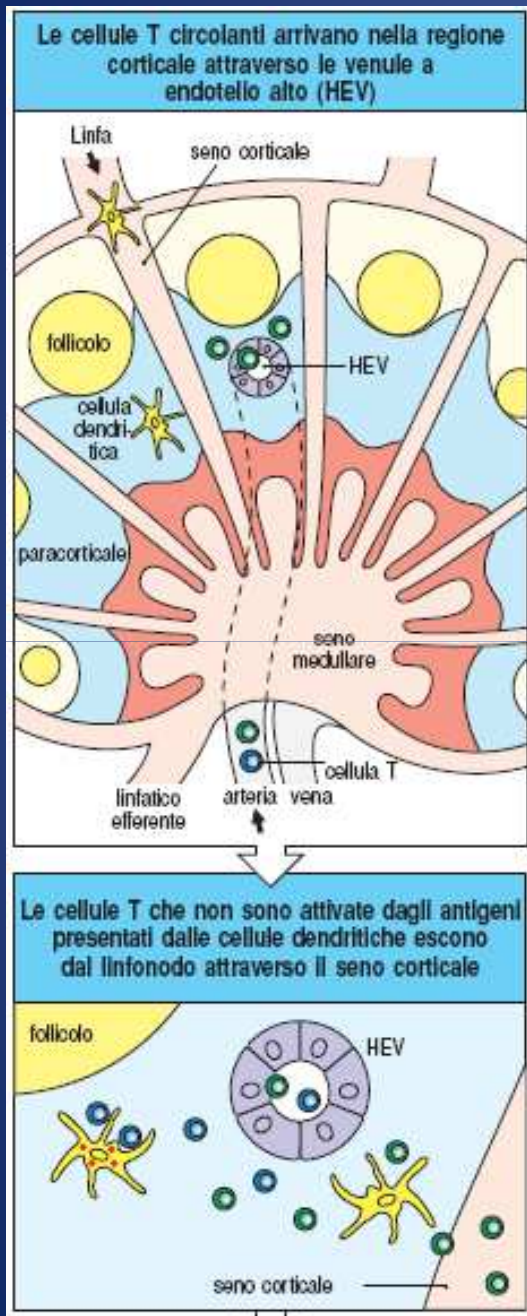


## Argomento della lezione

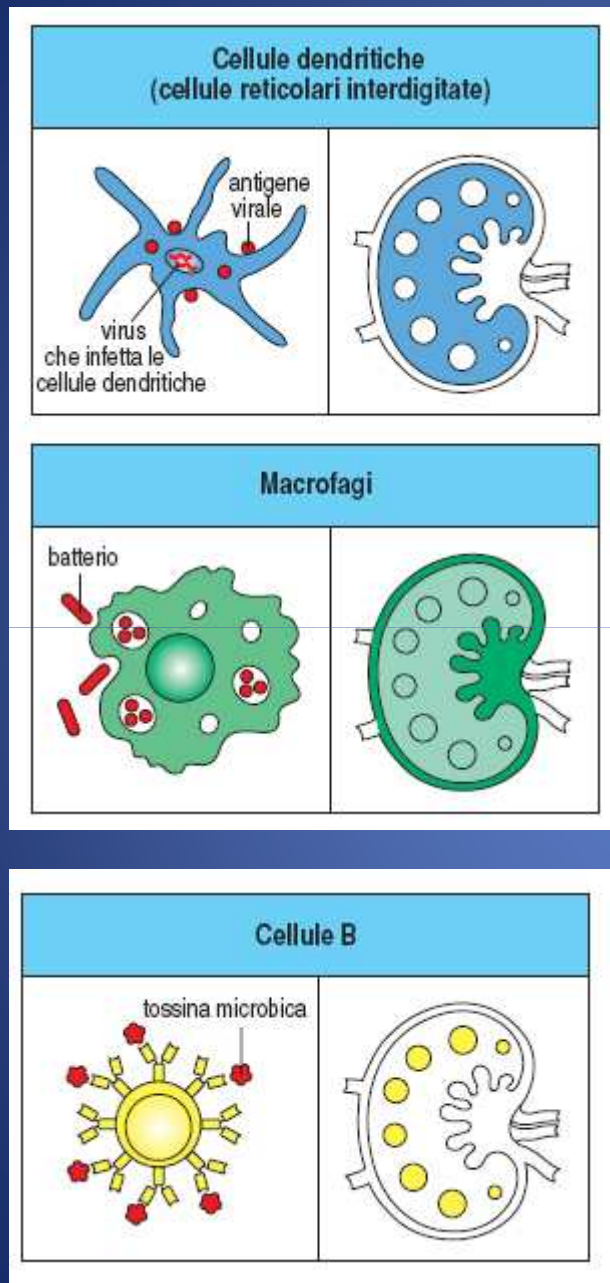
Differenziamento delle cellule Th in sottopopolazioni effettrici con funzioni differenti

# I linfociti T naive entrano nei tessuti linfoidei attraverso le pareti delle HEV



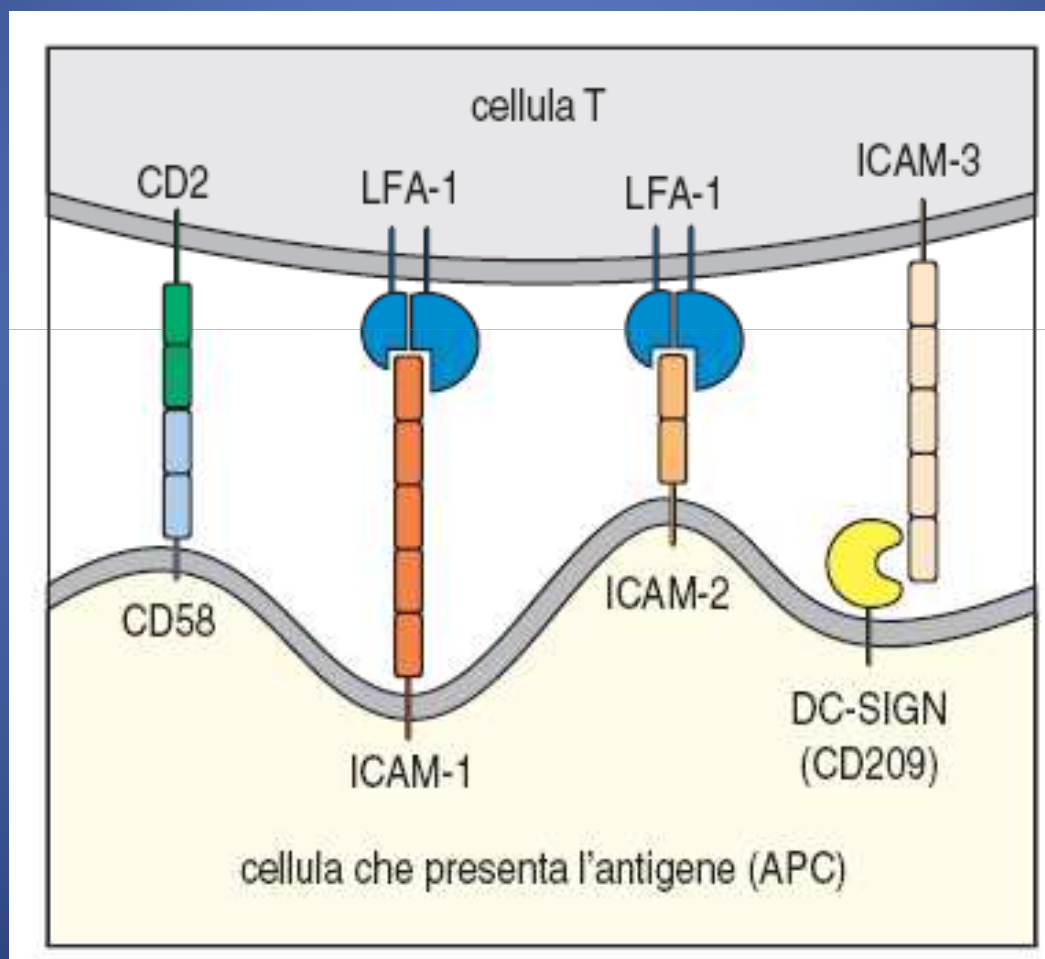


I linfociti T naive incontrano l'Ag negli organi linfatici secondari

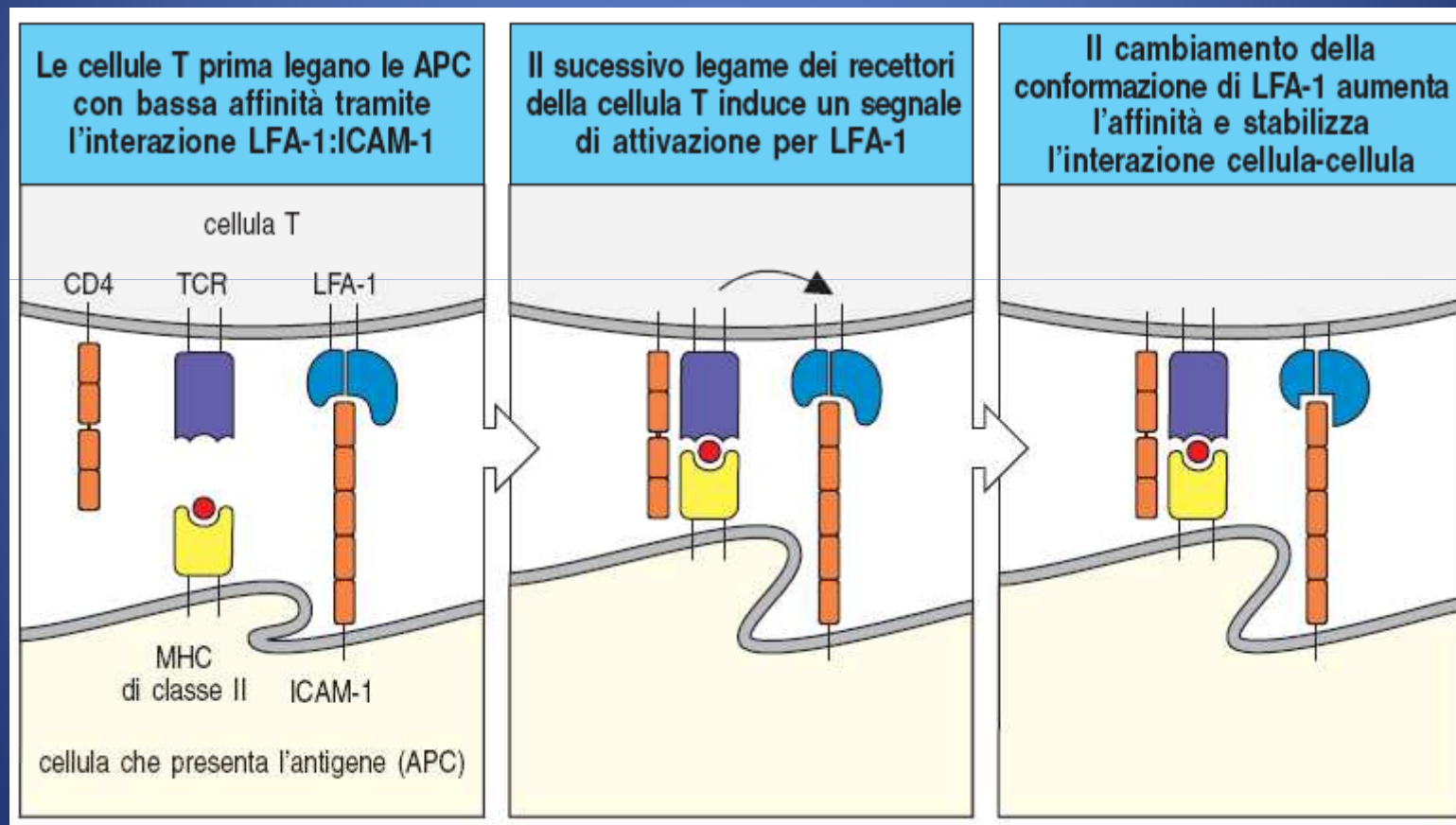


La distribuzione delle  
diverse APC nel linfonodo

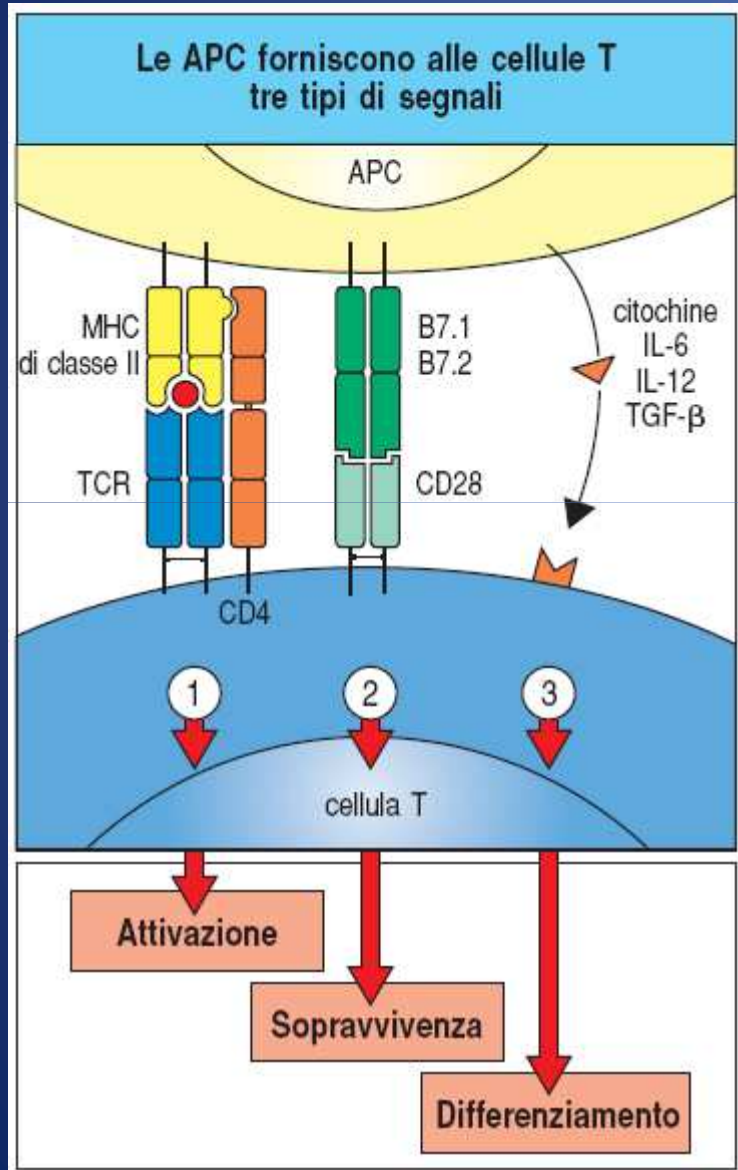
Le molecole d'adesione sono importanti nel primo contatto tra la cellula T naive e la cellula APC



# Il riconoscimento dell'Ag determina una stabilizzazione del legame tra cellula T e le APC



Le cellule T naive per trasformarsi in cellule effettrici necessitano di 3 segnali di attivazione



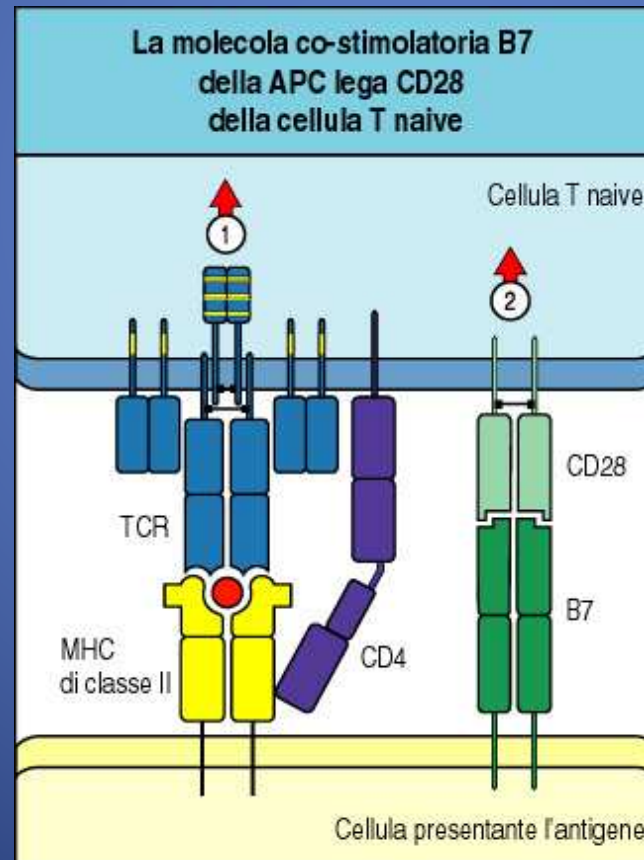
1° segnale: interazione TCR-peptide:MHC

2° segnale: interazione CD28:B7.1/B7.2

3° segnale: citochine rilasciate dalla cellula APC

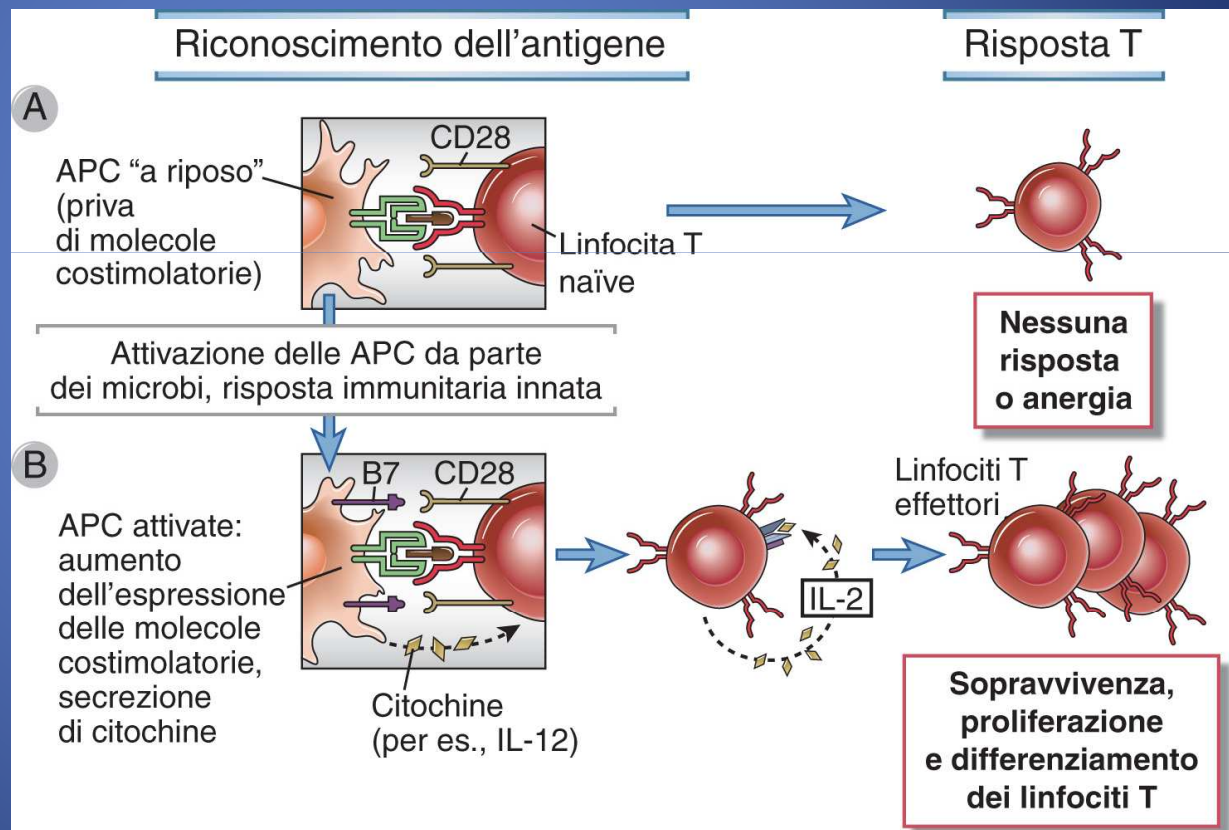
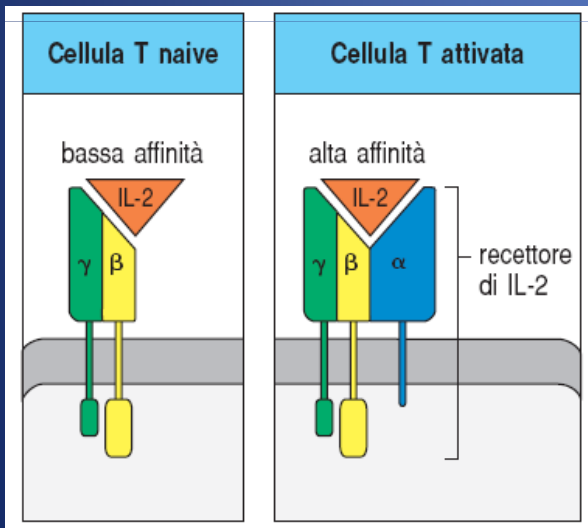
# 1° segnale e 2° segnale

- 1° segnale (TCR-Ag non self) ;
- 2° segnale, costimolatorio e non Ag-specifico è fornito dal CD28, espresso dal linfocita T, e dal B7-1 e B7-2 (CD80, CD86), espressi dalle cellule APC.



# Il riconoscimento dell'Ag e il legame tra le molecole costimolatrici (CD28-B7) induce l'attivazione delle cellule T contemporaneamente alla produzione dell'IL-2, all'espansione clonale e al differenziamento della cellula T

## Recettore dell'IL-2



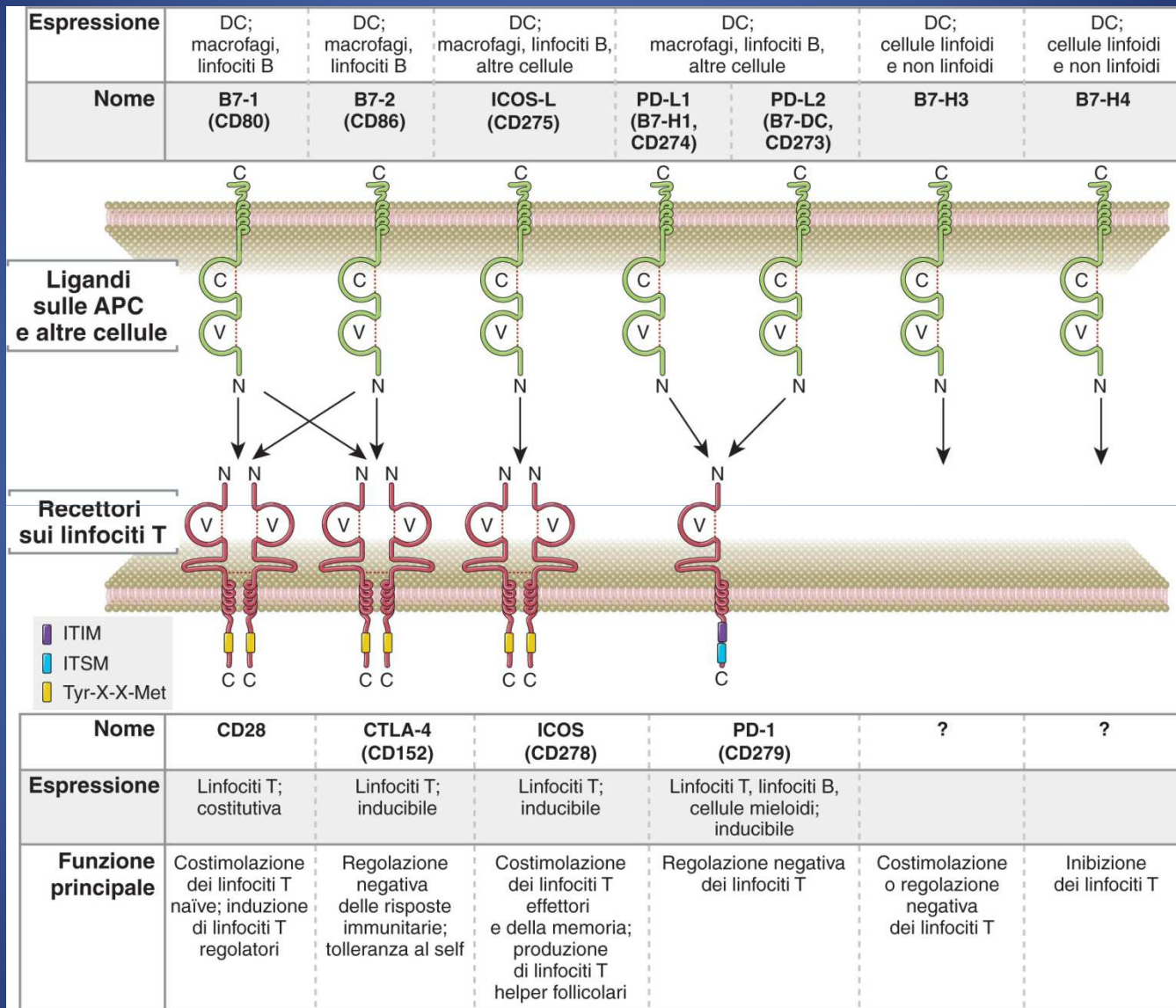
g3.jpg

Immunologia cellulare e molecolare 7 ed

Funzione delle molecole costimolatorie nell'attivazione dei linfociti T. (a) APC in condizioni di riposo esprimono poche molecole costimolatorie o addirittura nessuna e non sono in grado di stimolare i linfociti T naïve. (b) L'APC in condizioni di attivazione esprime molecole costimolatorie, come le molecole B7. Le APC acquistano quindi la capacità di attivare i linfociti T naïve e producono citochine, come l'interleuchina-12 (IL-12), che stimolano il differenziamento dei linfociti T naïve in cellule effettrici.

© 2011 - Copyright Elsevier srl - Tutti i diritti riservati

# Recettori omologhi al B7 e al CD28



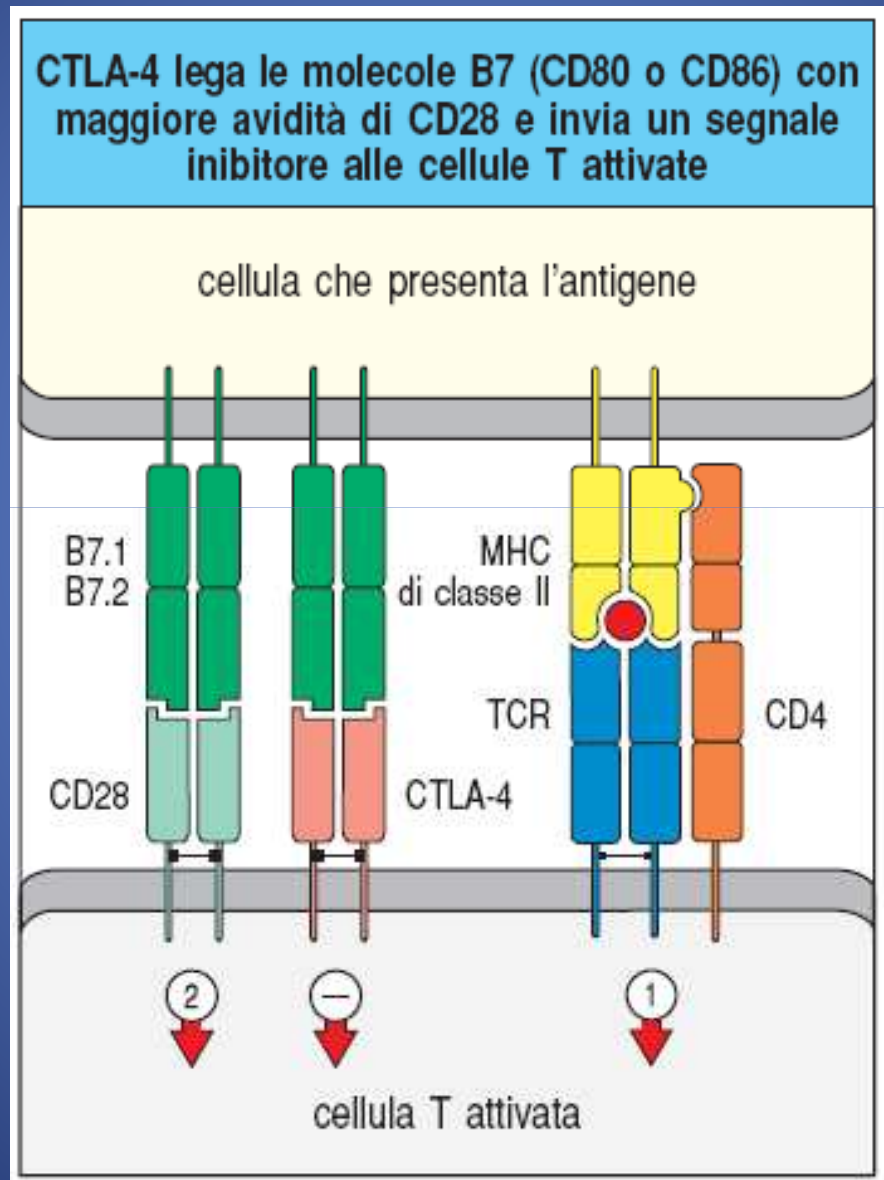
g519g

Immunologia cellulare e molecolare 7 ed

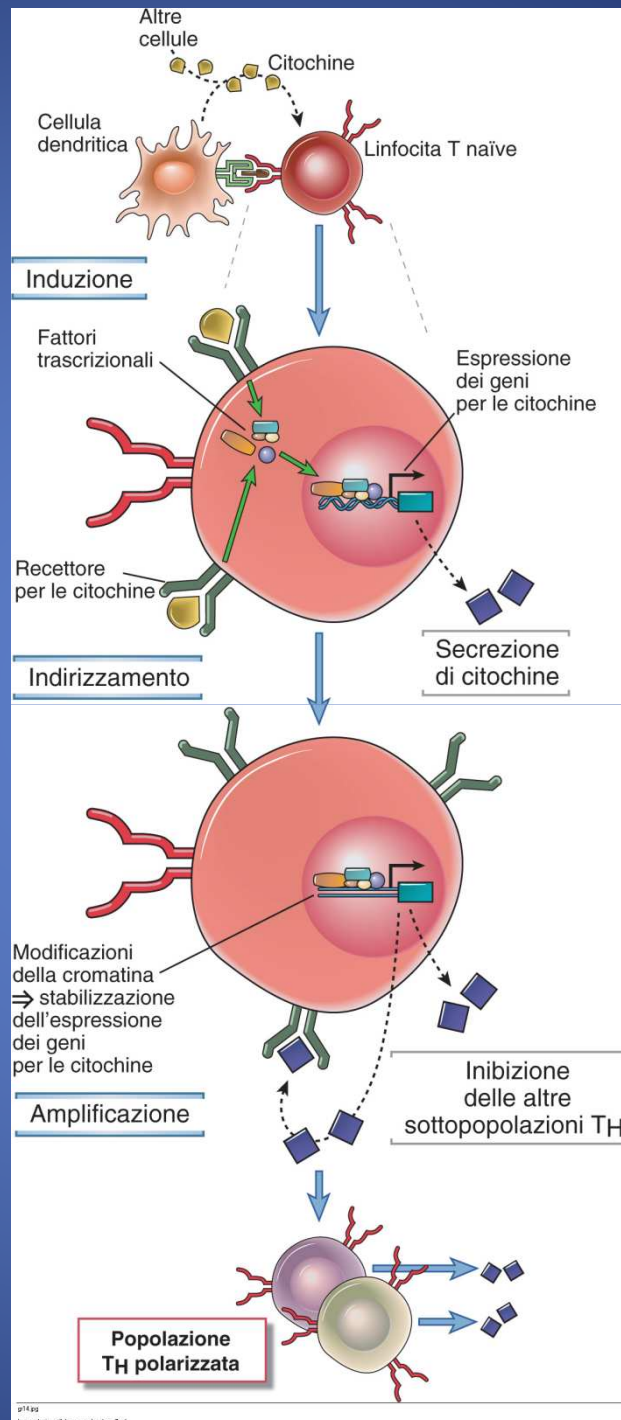
Famiglia B7 e CD28. La figura mostra i ligandi noti appartenenti alla famiglia B7 espressi dalle APC e i recettori appartenenti alla famiglia di CD28 espressi dai linfociti T. Sono anche descritti i loro profili di espressione e le loro principali funzioni. Sono noti altri recettori inibitori, come per esempio BTLA, ma non essendo omologhi a CD28 non sono stati inseriti in questo schema. DC, cellule dendritiche.

© 2011 - Copyright Elsevier srl - Tutti i diritti riservati

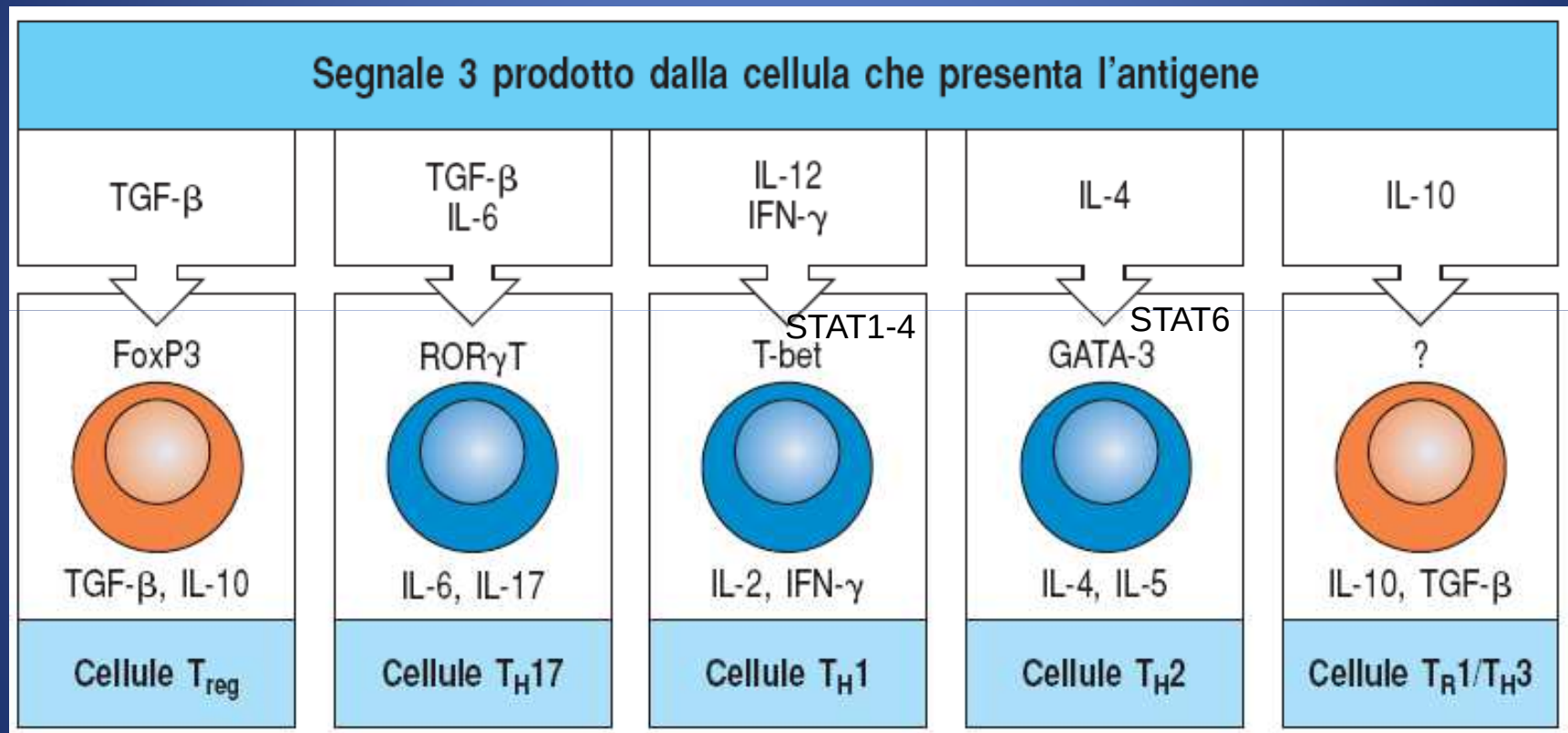
# CTLA-4



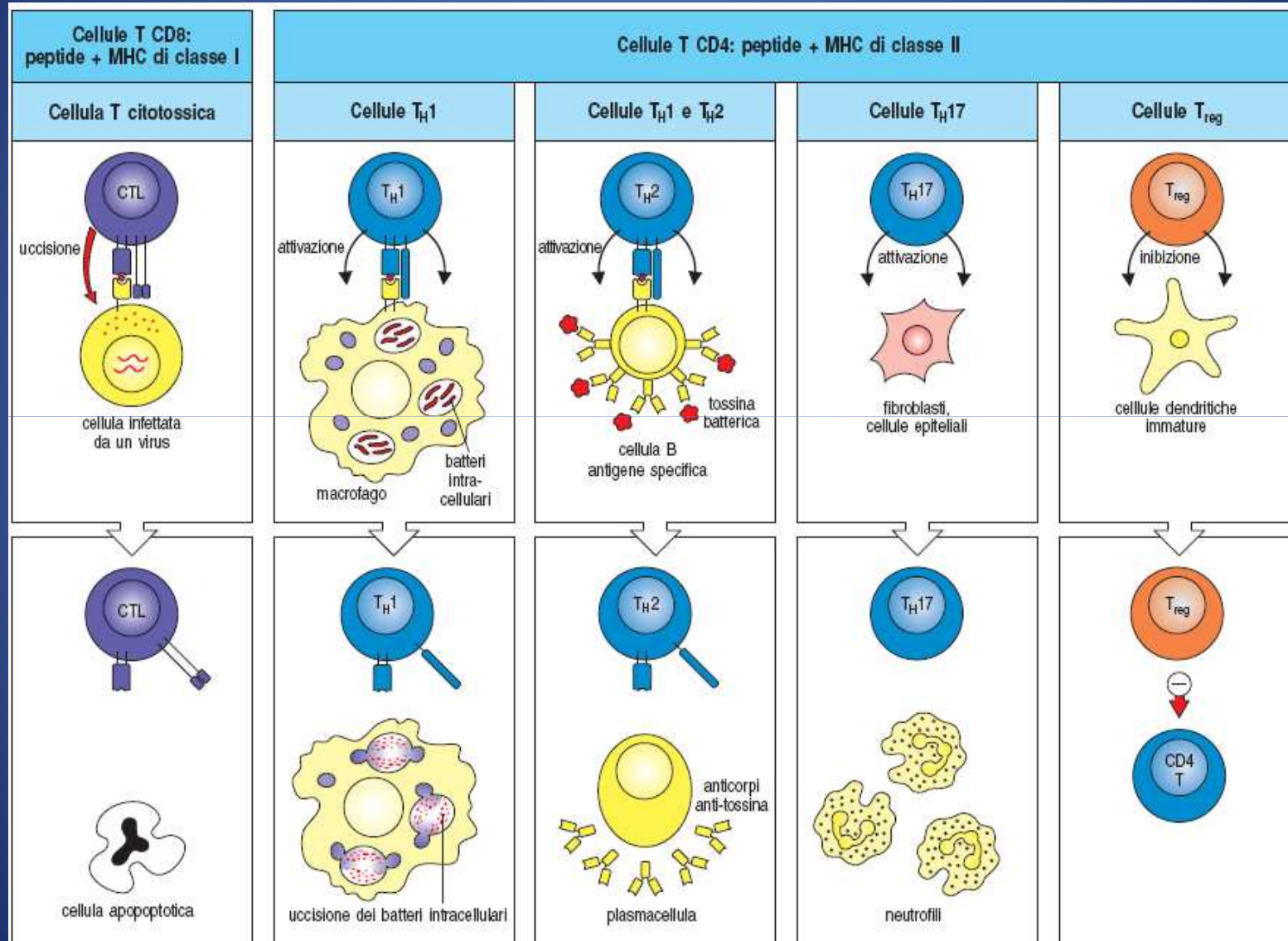
# Modalità di sviluppo dei diversi tipi di linfociti CD4



**Il 3° segnale** (citochine prodotte dalle APC)  
determina il differenziamento dei CD4 in cellule  
effettrici diverse



# Differenziamento in cellule effettrici



# Differenziamento delle sottopopolazioni CD4 Th1/TH2

# The Discovery of Th1 and Th2

TWO TYPES OF CLONED HELPER T CELL

2353

TABLE I  
*T<sub>H</sub> cell clones: specificities and lymphokine production\**

| T Cell                | Specificity          | Strain  | MHC Restriction | IL-2 | IL-3 | IL-4 | IL-4            | IFN- $\gamma$ | IL-4 | IgE & IgG1 Enhancing Activities |
|-----------------------|----------------------|---------|-----------------|------|------|------|-----------------|---------------|------|---------------------------------|
| <b>T<sub>H</sub>1</b> |                      |         |                 |      |      |      |                 |               |      |                                 |
| LB2-1                 | CRC-1 <sup>a</sup>   | C57BL/6 | I <sup>b</sup>  | +    | +    | -    | -               | +             | -    | -                               |
| LB19-1                | CRC-2 <sup>a</sup>   | C57BL/6 | I <sup>b</sup>  | +    | +    | -    | ND <sup>d</sup> | +             | ND   | -                               |
| OK15-1                | CRC-1                | CBA/J   | I <sup>b</sup>  | +    | +    | -    | ND              | +             | ND   | -                               |
| OK15-2                | CRC-2                | CBA/J   | I <sup>b</sup>  | +    | +    | -    | ND              | ND            | ND   | ND                              |
| MD13-5                | CRC-3 <sup>a</sup>   | BALB/c  | ND              | +    | +    | -    | -               | +             | -    | -                               |
| MD13-10               | CRC-3                | BALB/c  | I <sup>b</sup>  | +    | +    | -    | ND              | +             | -    | -                               |
| MDK4.1                | I <sup>b</sup>       | BALB/c  | NA <sup>f</sup> | +    | +    | -    | ND              | +             | ND   | ND                              |
| M264-13               | I <sup>b</sup>       | A.TL    | NA              | +    | +    | -    | ND              | +             | -    | ND                              |
| M264-20               | I <sup>b</sup>       | A.TL    | NA              | +    | +    | -    | ND              | +             | -    | ND                              |
| M264-37               | I <sup>b</sup>       | A.TL    | NA              | +    | +    | -    | ND              | +             | -    | ND                              |
| <b>T<sub>H</sub>2</b> |                      |         |                 |      |      |      |                 |               |      |                                 |
| MB2-1                 | Spleen               | C57BL/6 | ND              | -    | +    | +    | +               | -             | +    | +                               |
| CLL9/9                | Unknown <sup>g</sup> | C57BL/6 | ND              | -    | +    | +    | +               | -             | +    | +                               |
| MDK3.1                | I <sup>b</sup>       | BALB/c  | NA              | -    | +    | +    | +               | ND            | +    | ND                              |
| MDK5.1                | H2 <sup>h</sup>      | BALB/c  | NA              | -    | +    | +    | +               | ND            | ND   | ND                              |
| HD2-9                 | I <sup>b</sup>       | BALB/c  | NA              | -    | +    | +    | +               | ND            | +    | +                               |
| H39-24                | Auto                 | CBA/J   | I <sup>b</sup>  | -    | +    | +    | +               | -             | +    | +                               |
| H39-56                | FCG                  | CBA/J   | ND              | -    | +    | +    | +               | -             | +    | +                               |
| H39-72                | FCG                  | CBA/N   | I <sup>b</sup>  | -    | +    | +    | +               | -             | +    | +                               |
| H39-119               | FCG                  | CBA/J   | ND              | -    | +    | +    | +               | ND            | ND   | ND                              |
| H39-131               | Auto                 | CBA/J   | ND              | -    | +    | +    | +               | -             | +    | +                               |
| M264-39               | I <sup>b</sup>       | A.TL    | NA              | -    | +    | +    | +               | -             | ND   | ND                              |
| C71G1                 | H2 <sup>h</sup>      | BALB/c  | NA              | -    | +    | +    | +               | -             | ND   | ND                              |

\* Lymphokine activities were evaluated by assays described in the text.

<sup>a</sup> CRBC, MHC alleles 2, 14, 15, 19, and 21, but not 13.

<sup>b</sup> CRBC, all MHC alleles.

<sup>c</sup> CRBC, MHC alleles 2, 13, 14, 15, and 19, but not 21.

<sup>d</sup> Not determined.

<sup>e</sup> Not applicable.

J. Immunol. 1986

Tim R. Mosmann and Subash Sad



# Differenziazione Th1/Th2

Derivano da un precursore comune (Th0)

Nel differenziamento sono importanti le citochine prodotte dalle cellule APC:

- Per i Th1, IL-12 e INF- $\gamma$  attivano i fattori di trascrizione STAT1/4 e T-bet;
- Per i Th2, l'IL-4 attiva i fattori trascrizione STAT6 e GATA-3

**Th1 e TH2 una volta differenziati  
producono un set di citochine differenti**

# CD4 T-helper Cell Differentiation

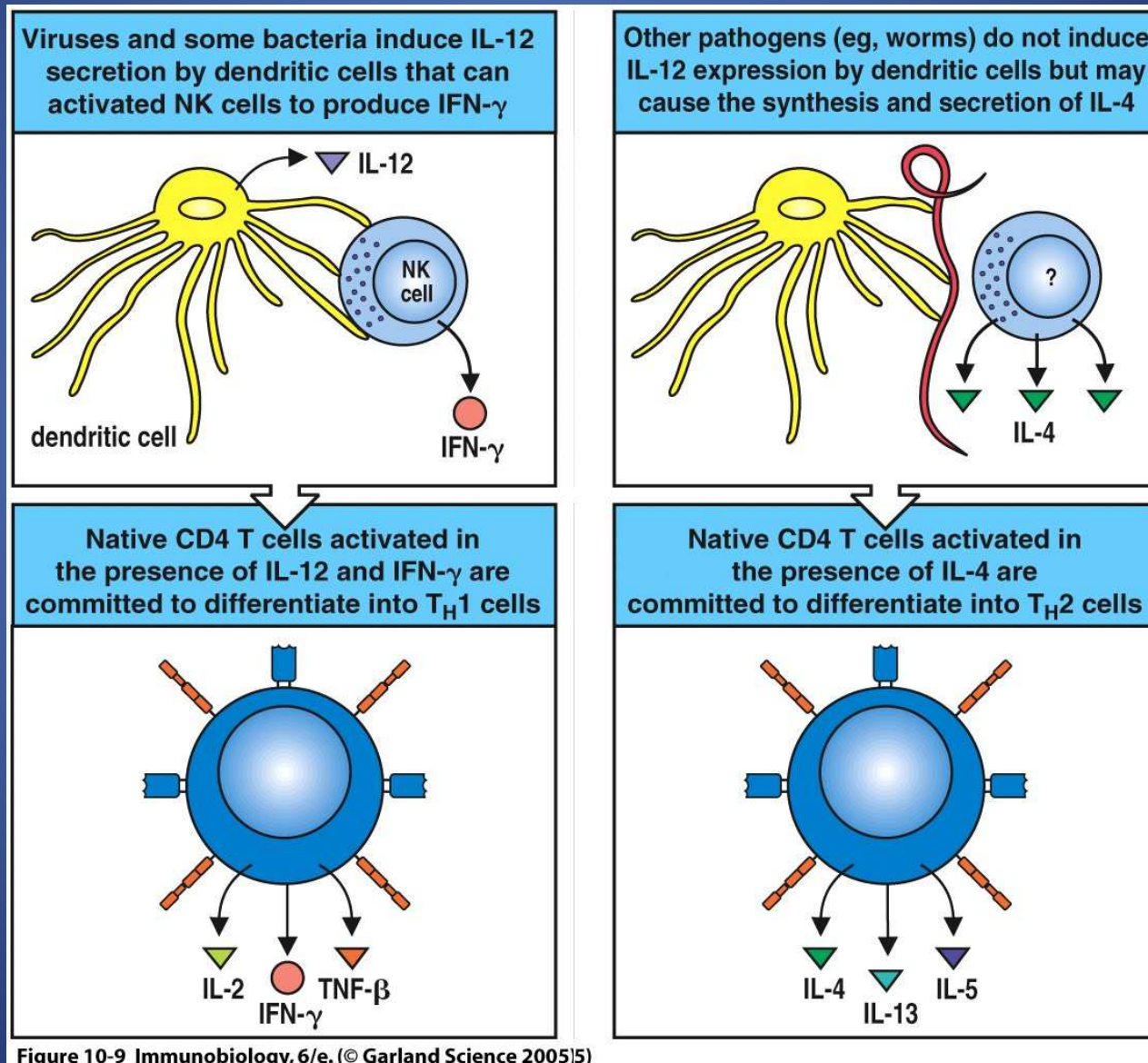


Figure 10-9 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Molecules Involved in Th1/TH2 Differentiation (a)

|                                      | T <sub>H</sub> 1 cells                                                                      |                                            | T <sub>H</sub> 2 cells                                          |                              |
|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|------------------------------|
|                                      | Molecule                                                                                    | Cellular expression                        | Molecule                                                        | Cellular expression          |
| Toll-like receptor (ligand)          | TLR2 (bacterial peptidoglycan)<br>TLR4 (LPS)<br>TLR5 (flagellin)<br>TLR9 (unmethylated DNA) | Receptor: dendritic cells                  |                                                                 |                              |
| Cytokine                             | IL-12<br>IL-27                                                                              | Monocytes, macrophages and dendritic cells | IL-4                                                            | NK T cells, mast cell        |
|                                      | IFN- $\gamma$<br>TNF- $\alpha$<br>LT                                                        | TH1 lymphocytes, NK cells, macrophages     | IL-4<br>IL-13<br>IL-5<br>IL-9<br>IL-10                          | T <sub>H</sub> 2 lymphocytes |
| Signaling molecule (downstream from) | Stat-4 (IL-12)<br>Stat-1 (IFN- $\gamma$ )<br>T-bet (Stat-1)                                 | TH1 lymphocytes                            | Stat-6 (IL-4, IL-13)<br>GATA3 (Stat-6)<br>c-Maf (TCR signaling) | T <sub>H</sub> 2 lymphocytes |

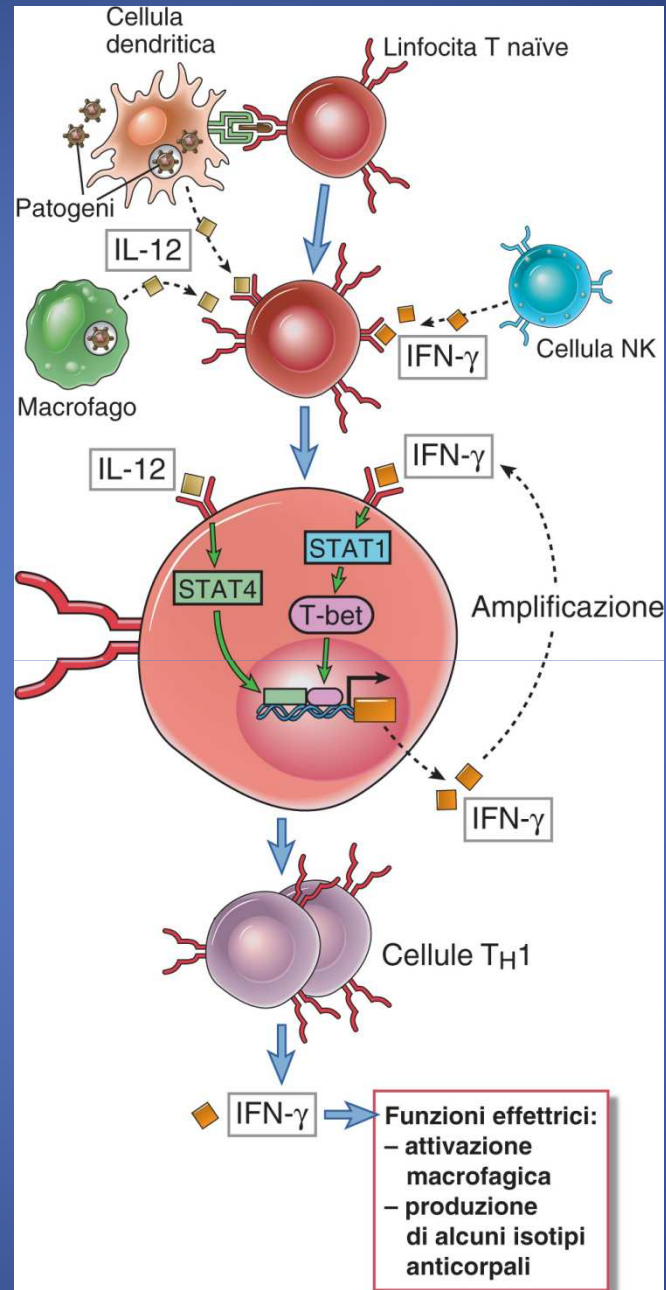
Figure 10-11 part 1 of 3 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Molecules Involved in Th1/Th2 Differentiation (b)

|                      | T <sub>H</sub> 1 cells                             |                                                                                                          | T <sub>H</sub> 2 cells                        |                                                                                                                                              |
|----------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                      | Molecule                                           | Cellular expression                                                                                      | Molecule                                      | Cellular expression                                                                                                                          |
| Chemokine (receptor) | CCL3, CCL4, CCL5 (CCR5, CCR1)<br><br>(MIP, RANTES) | Chemokines: activated macrophages, dendritic cells, endothelial cells<br><br>Receptors: dendritic cells  | CCL2 (CCR2)<br><br>(MCP)                      | Chemokine: monocytes / dendritic cells<br><br>Receptor: dendritic cells                                                                      |
|                      | CCL3, CCL4, CCL5 (CCR5, CCR1)<br>CXCL10 (CXCR3)    | Chemokines: dendritic cells, T <sub>H</sub> 1 lymphocytes<br><br>Receptors: T <sub>H</sub> 1 lymphocytes | CCL17, CCL22 (CCR4)                           | Chemokines: epithelial cells, macrophages, T <sub>H</sub> 2 lymphocytes<br><br>Receptors: T <sub>H</sub> 2 lymphocytes                       |
|                      |                                                    |                                                                                                          | CCL1 (CCR8)                                   | Chemokine: T <sub>H</sub> 2 lymphocytes, endothelial cells, macrophages<br><br>Receptor: T <sub>H</sub> 2 lymphocyte, vascular smooth muscle |
|                      |                                                    |                                                                                                          | CCL5, CCL7, CCL11, CCL13, CCL24, CCL26 (CCR3) | Chemokine: epithelial cells, macrophages, T <sub>H</sub> 2 lymphocytes<br><br>Receptor: Basophils, eosinophils, mast cells, epithelial cells |

Figure 10-11 part 2 of 3 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Sviluppo dei linfociti Th1

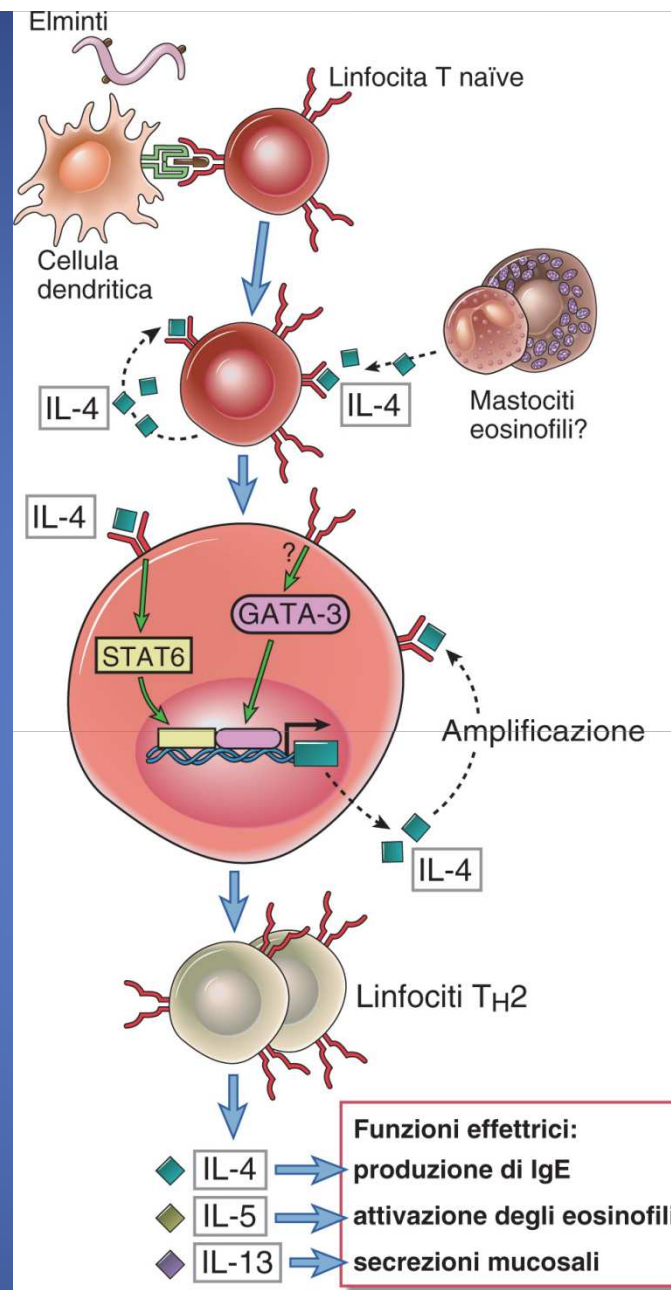


915 pg

Immunologia cellulare e molecolare 7 ed

Sviluppo dei linfociti T (sub H/sub 1). L'IL-12, prodotta dalle cellule dendritiche e dai macrofagi in risposta ai microrganismi, per esempio quelli intracellulari, o l'IFN- $\gamma$ , prodotto dalle cellule NK, segnalano che ambiente questo citochine sono parte integrante della risposta innata precoce contro i microrganismi. T-bet, STAT1 e STAT4. Questi a loro volta stimolano il differenziamento dei linfociti T CD4 (sub H/sub 1) e spingono nella sottopopolazione T (sub H/sub 1). L'IFN- $\gamma$ , prodotto dagli stessi T (sub H/sub 1), amplifica questa risposta e inibisce lo sviluppo di linfociti T (sub H/sub 2 e T (sub H/sub 17).

# Sviluppo dei linfociti Th2



g16.ppt

Immunologia cellulare e molecolare 7 ed

Sviluppo dei linfociti T<sub>H</sub>2: IL-4, prodotto dagli stessi linfociti T<sub>H</sub>2, dai mastociti e dagli eosinofili, specialmente in risposta agli elminti, attiva i fattori trascrizionali GATA-3 e STAT6. Questi a loro volta stimolano il differenziamento dei linfociti T<sub>H</sub>2 e la produzione di IL-4. IL-4 prodotto dagli stessi T<sub>H</sub>2 amplifica questa risposta e inibisce lo sviluppo dei linfociti T<sub>H</sub>1 e T<sub>H</sub>17.

© 2011 - Copyright Elsevier srl - Tutti i diritti riservati

IL-4 and IFN- $\gamma$  are mutually  
antagonistic in Th1/Th2 development

# Cytokines influence Th1/Th2 differentiation

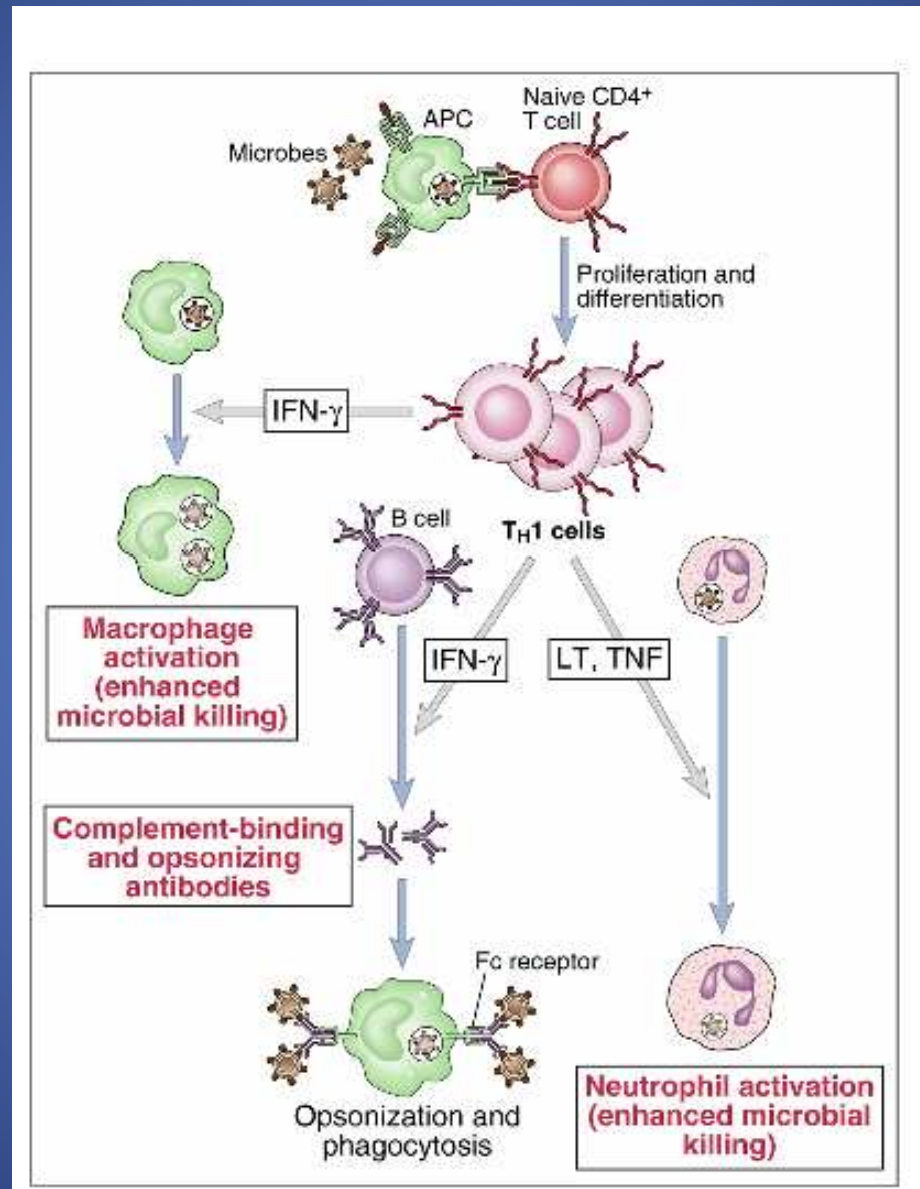
# Interleukin-12

- Heterodimeric cytokine IL-12p70 - formed by two chains IL-12p40 and IL-12p35
- IL12-R has two chains  $\beta 1$  and  $\beta 2$ ; signals through STAT 4
- Produced by activated DC, macrophages
- Acts on NK and T cells to stimulate IFN- $\gamma$  production; costimulates Th1 proliferation; enhances NK cytotoxic activity; induces Th1 differentiation
- IL-12 is necessary for IFN- $\gamma$  production, and IFN-  $\gamma$  is necessary for the induction of IL-12 responsiveness (acts via induction of T-bet)
- stimulates expression of the IL-12R chain (signal transduction)

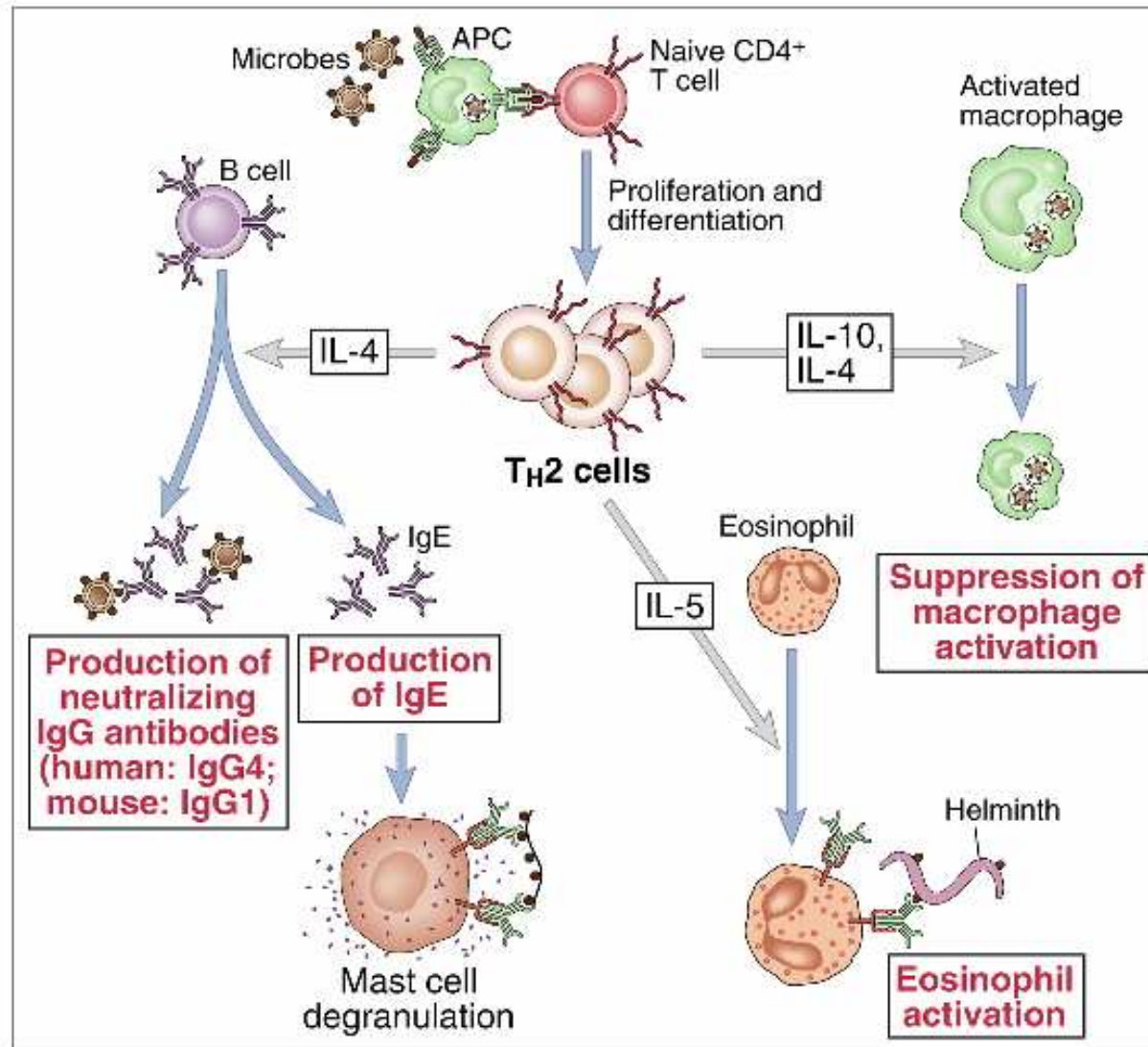
# Interleukin 4

- 20 kD protein produced by Th2 cells, mast cells, NKT cells
- Induces proliferation of T cells and differentiation of Th2 cells; antagonizes Th1 differentiation
- Induces the expression of GATA-3 transcription factor

## Effector Functions of Th1 Cells



## Effector Functions of Th2 Cells



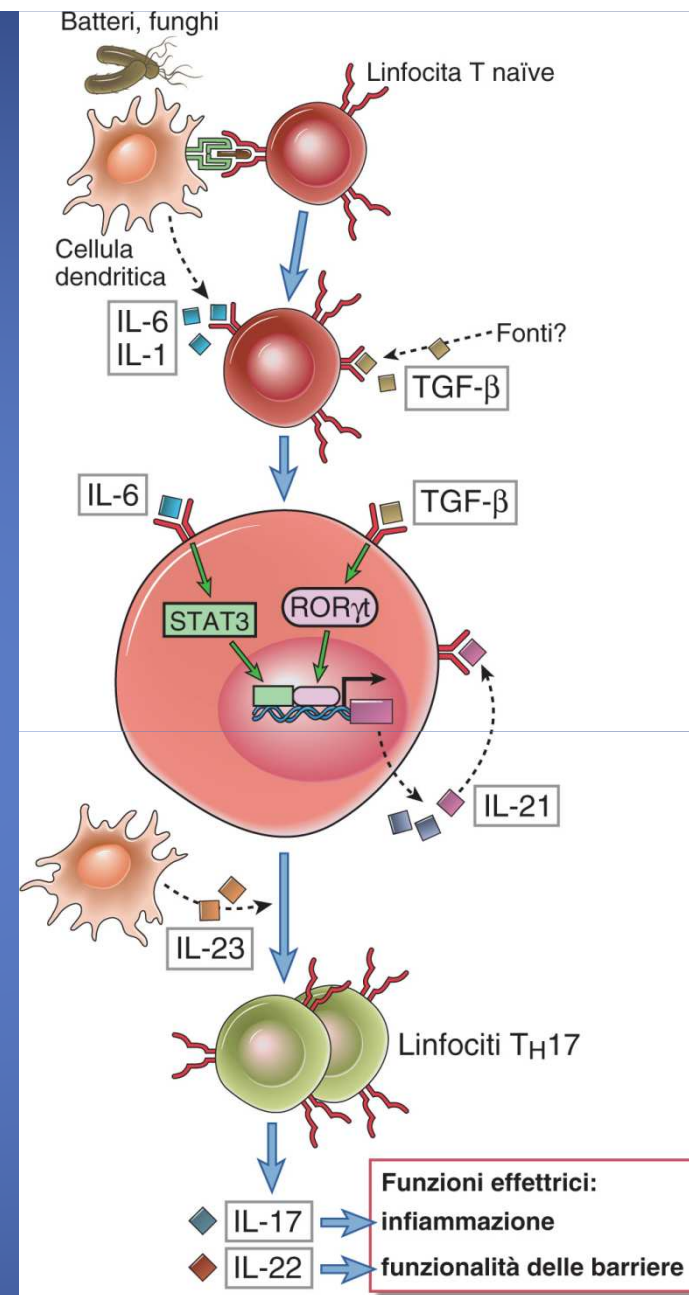
# ALTRI SUBSETS DI CELLULE T CD4

# Th17

Recentemente è stato identificato un altro subset di cellule Th CD4 denominato *Th17* fortemente implicato nella immunità innata contro le infezioni (specie verso batteri extracellulari) oltre che nei fenomeni autoimmuni (per es. artrite reumatoide, malattia di Crohn, psoriasi)

*Zheng Y et al. Nature Feb 2007*  
*Furuzawa-Carballeda J et al. Autoimmun Rev Jan 2007*

# Sviluppo dei Th17



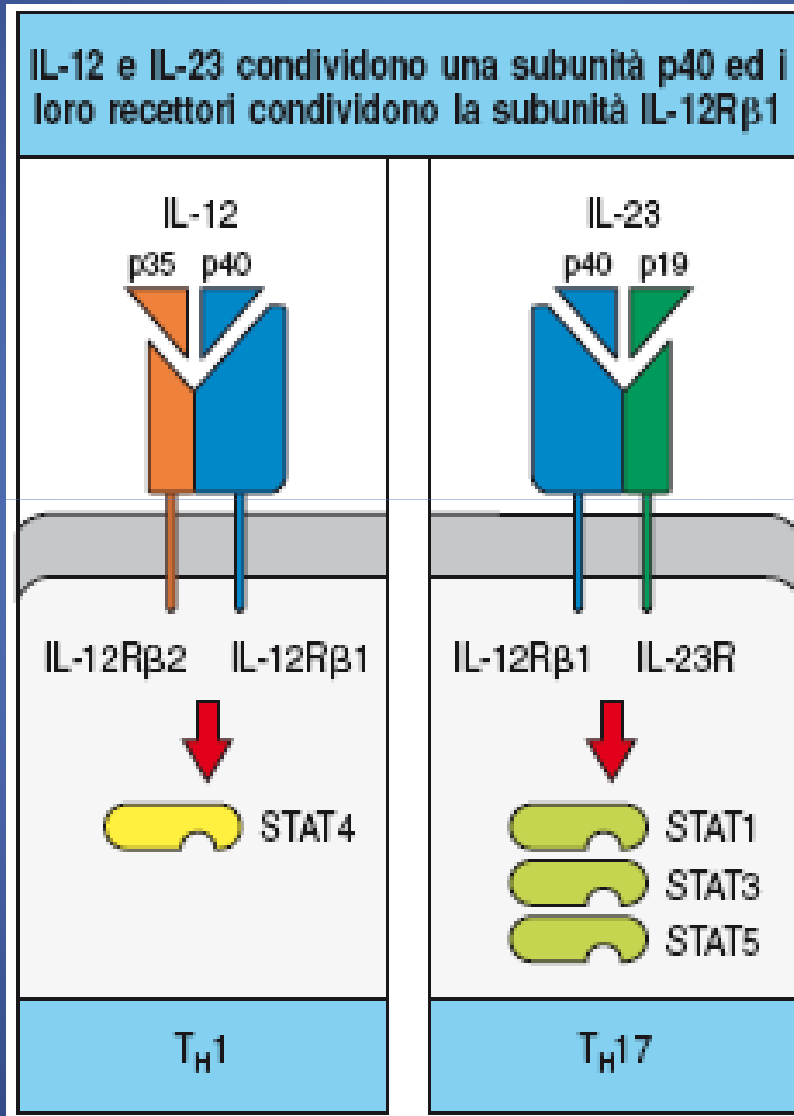
p17 ip

Immunologia cellulare e molecolare 7 ed

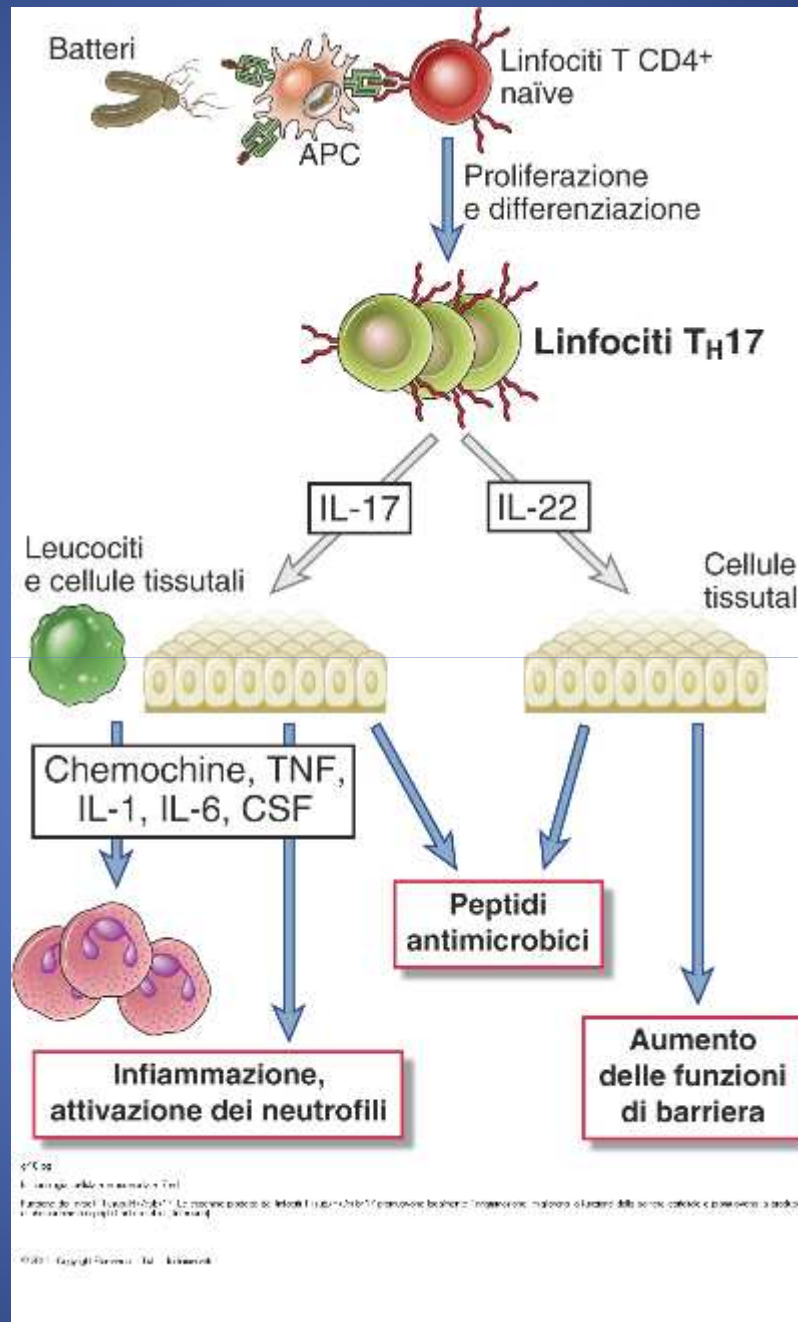
Sviluppo dei linfociti T<sub>H</sub>17. IL-1 e IL-6, prodotte dalle APC, e il TGF- $\beta$ , prodotto da diversi tipi cellulari, attivano i fattori trascrizionali ROR $\gamma$ t e STAT3. Questi a loro volta stimolano il differenziamento dei linfociti T<sub>H</sub>17. IL-23, anch'essa prodotta dalle APC, in particolare in risposta ai funghi, stabilizza questa sottopopolazione. Il TGF- $\beta$ , sembrerebbe promuovere le risposte T<sub>H</sub>17 in maniera indiretta attraverso la soppressione delle sottopopolazioni T<sub>H</sub>1 e T<sub>H</sub>2, che inibiscono entrambe il differenziamento T<sub>H</sub>17 (non schematizzato in figura). IL-21, prodotto dagli stessi T<sub>H</sub>17, amplifica questa risposta.

© 2011 - Copyright Elsevier srl - Tutti i diritti riservati

# IL- 12 e IL-23



# Funzione dei Th17



# IL-17 FAMILY

| <u>IL-17 family ligands</u> | <u>Produced by</u>          | <u>Binding receptor(s)</u> |
|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| IL-17 (IL-17A, CTLA-8)      | T cells (T <sub>H17</sub> ) | IL-17RA, IL-17RC (IL-17RL) |
| IL-17A/F heterodimer        | T cells                     | IL-17RA, IL-17RC           |
| IL-17B                      | Numerous tissues            | IL-17RB?                   |
| IL-17C                      | Prostate, fetal kidney      |                            |
| IL-17D                      | Numerous tissues            |                            |
| IL-17E/IL-25                | Numerous tissues            | IL-17RB (IL-25R)           |
| IL-17F                      | T cells                     | IL-17RA, IL-17RC           |
| vIL-17 (ORF13)              | H. Saimiri                  | IL-17RA, IL-17RC?          |

It is currently believed that IL-17 regulates innate immunity. Activates PMNs and expression of anti-microbial genes.

# IL-17

E' una citochina pro-infiammatoria. Aumenta la produzione delle chemochine come IL-8, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), e quindi promuove il reclutamento dei neutrofili e dei monociti.

Stimola, inoltre, la produzione di IL-6, di PGE2 e l'induzione della molecola ICAM, incrementando la risposta infiammatoria.

Stimola la produzione delle citochine ematopoietiche, quali G-CSF e (GM)-CSF.

Una produzione elevata dell'L-17 è associata con l'artrite reumatoide, la sclerosi multipla, LES e l'asma.

# Cellule T regolatorie (Treg)

# T-regulatory cells (Tregs)

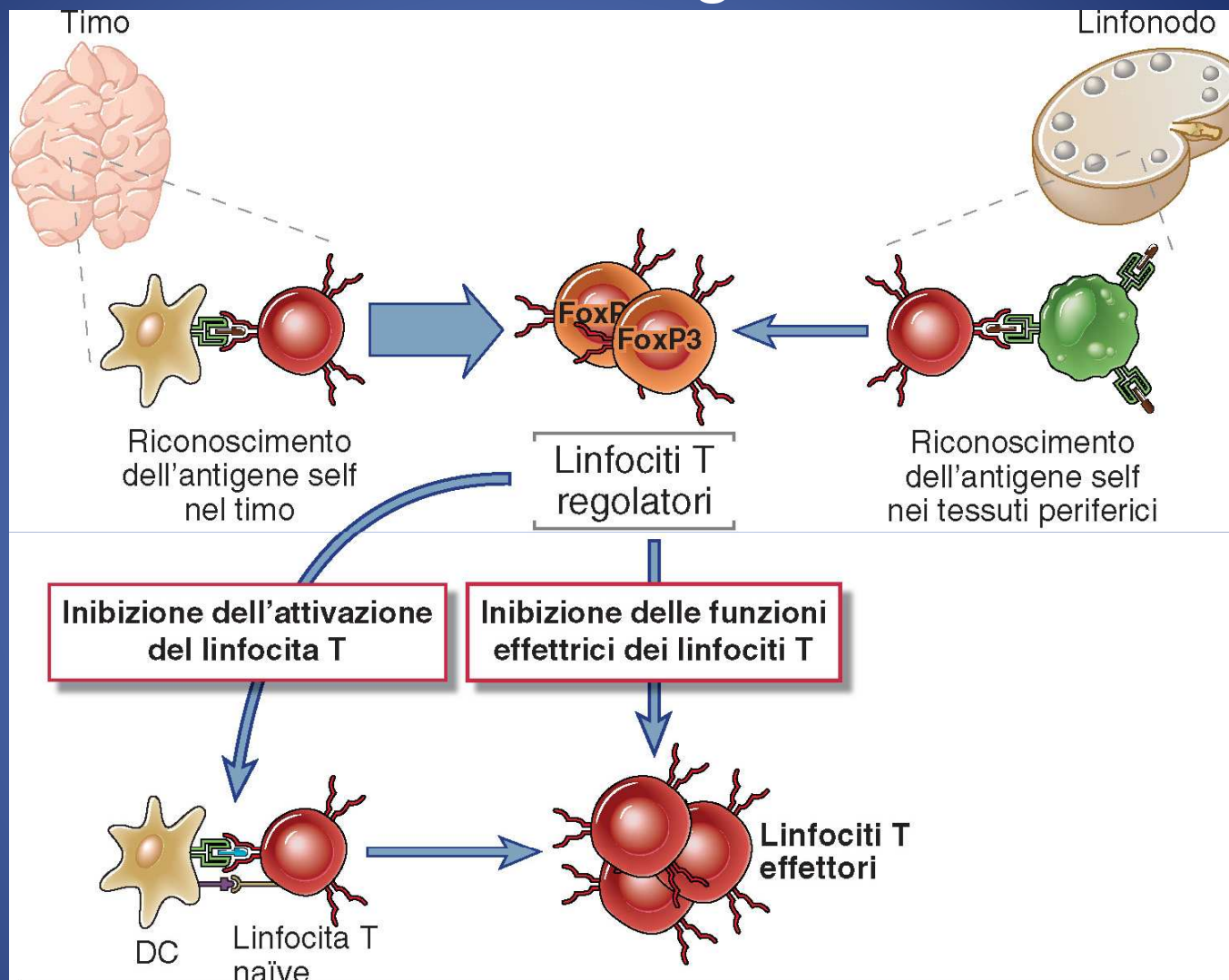
La tolleranza periferica T è un processo immunologico dimostrato nell'autoimmunità, nel cancro, nelle infezioni, nei trapianti e nelle allergie.

E' stata individuata una famiglia eterogenea di cellule T ad attività regolatoria (Treg) che giocano un ruolo chiave nella tolleranza periferica.

Si tratta di popolazioni di cellule T, sia naturali che inducibili, diverse tra loro nello sviluppo, specificità, meccanismi d'azione.

*Bluestone JA et al. Nat Rev Immunol 2003*

# Linfociti T regolatori



gr6.jpg

Immunologia cellulare e molecolare 7 ed

Linfociti T regolatori. Questi linfociti vengono generati dal riconoscimento degli antigeni self nel timo (in questo caso vengono anche chiamati linfociti regolatori naturali) o (anche se probabilmente in minore misura) dal riconoscimento dell'antigene negli organi linfoidi periferici (in questo caso vengono chiamati linfociti regolatori inducibili o adattativi). Lo sviluppo e la sopravvivenza dei linfociti T regolatori necessitano dell'IL-2 e del fattore di trascrizione FoxP3. Nei tessuti periferici i linfociti T regolatori sopprimono l'attivazione e la funzione effettrice dei linfociti autoreattivi potenzialmente patogenetici.

© 2011 - Copyright Elsevier srl - Tutti i diritti riservati

# Cellule Treg naturali

# *Cellule Treg naturali CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>*

Si differenziano nel timo, esprimono il fattore di trascrizione *FOXP3*, CD62L ed agiscono soprattutto mediante meccanismi da contatto che coinvolgono *CTLA-4*, TGF-beta di membrana e anche rilasciano citochine (IL-10 e TGF-beta)

Prevengono risposte patologiche verso antigeni self e quindi i fenomeni autoimmuni; nell'uomo la loro presenza è ridotta nelle malattie autoimmuni; sopprimono le risposte immuni ai tumori

*Read S et al. J Immunol 2006*

*Shimizu J Nat Immunol 2002*

*Bluestone JA et al. Nat Rev Immunol 2003*

# Cellule Treg adattative o inducibili

## *Tr1 cells*

Sono coinvolte nella tolleranza periferica T-cellulare essendo capaci di re-direzionare una risposta immune inappropriata verso Ag non self od autoantigeni. Possono essere indotte dalla presenza di *IL-10* prodotta da cellule dendritiche immature ed utilizzano vari meccanismi soppressivi, primi tra tutti la produzione di IL-10 ed in minor misura di TGF-beta

*Taylor A et al., Immunology 2006*

*Levings MK et al., Blood 2005*

## *Th3 cells*

Sono caratterizzate da una prevalente produzione di TGF-beta e da una minore produzione di IL-10 dopo attivazione con determinati antigeni (orali)

La produzione di *TGF-beta* induce un incremento di IgA e dà una spiegazione del ruolo di queste cellule nel contesto dell'immunità periferica mucosale verso gli antigeni nei soggetti sani

*Jutel et al. Eur J Immunol 2003*

## TRANSFORMING GROWTH FACTOR $\beta$ (TGF- $\beta$ )

Il TGF-  $\beta$  è un fattore di crescita multifunzionale. Si conoscono 5 tipi di TGF-  $\beta$ , che sono prodotti da molte cellule, specialmente macrofagi attivati e linfociti Th (Tr1 e Th3) ed hanno un'azione regolatrice. I più importanti sono il TGF- $\beta$ 1 e TGF- $\beta$ 2 che hanno un effetto antagonista su molte risposte immuni:

- la crescita di cellule normali e trasformate;

- la proliferazione dei linfociti T e la maturazione dei linfociti CTL;

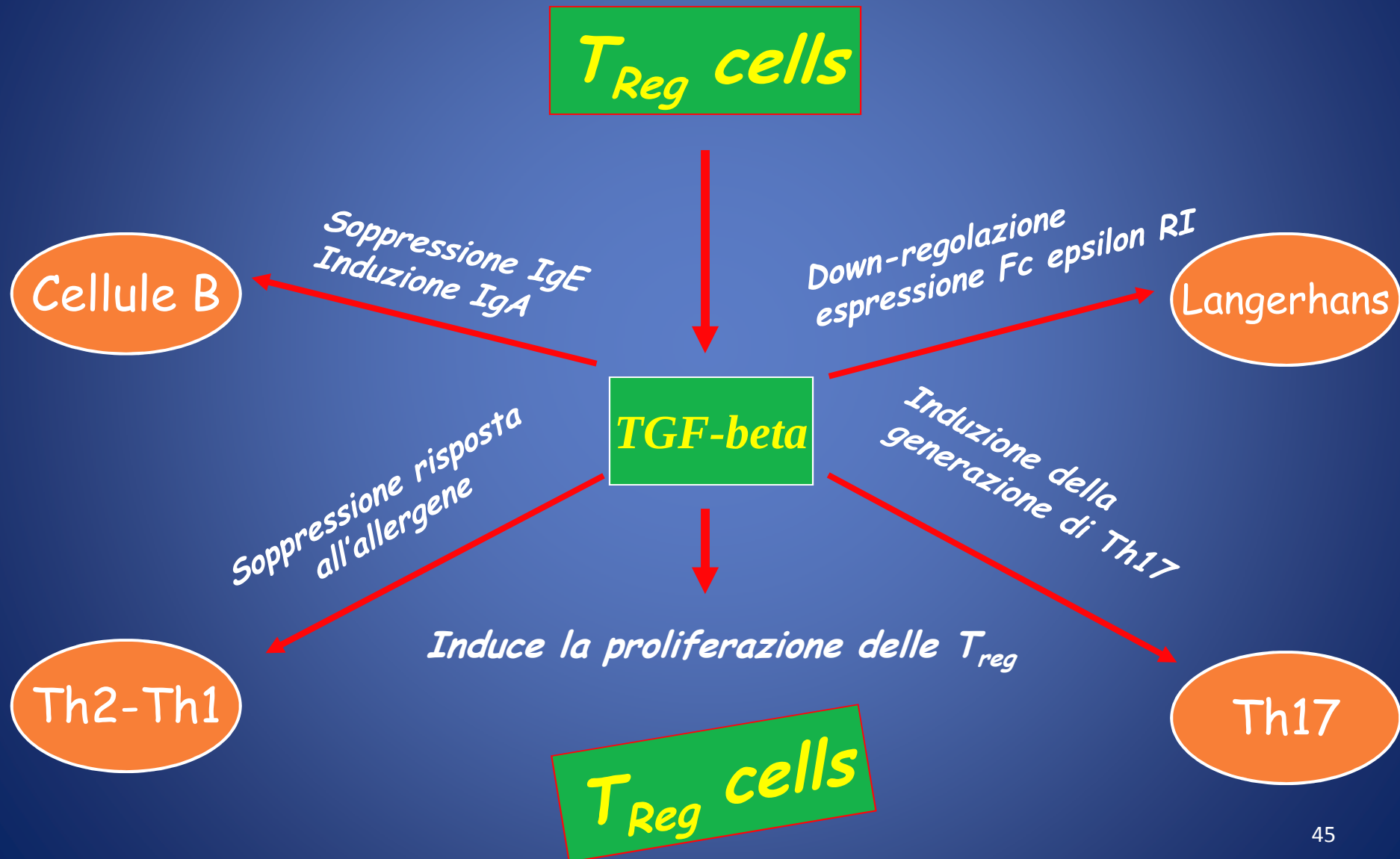
- la sintesi delle citochine prodotte dai linfociti T;

- la proliferazione dei linfociti B;

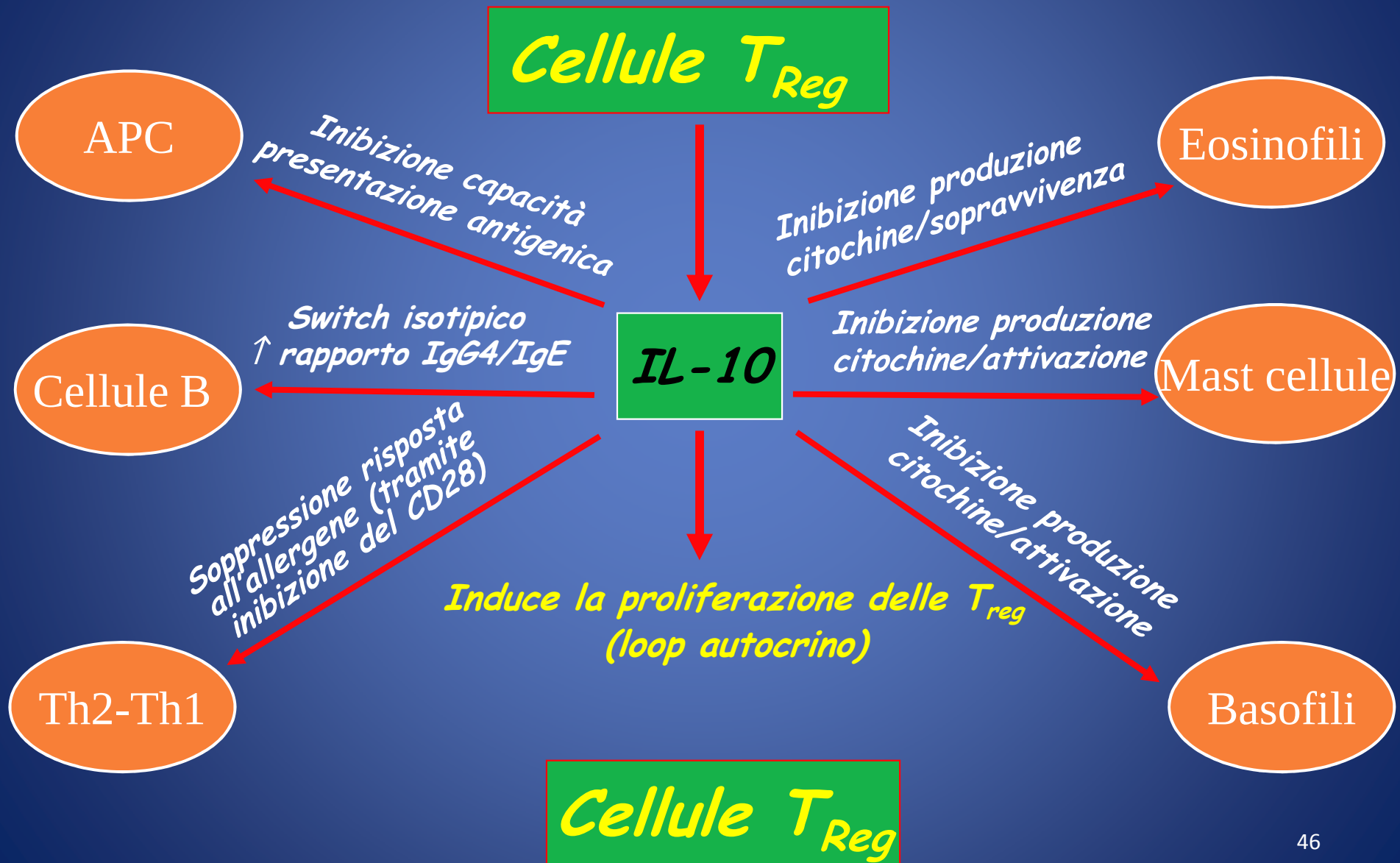
- l'attivazione dei macrofagi; l'inibizione dell'attività NK.

Il TGF-  $\beta$  stimola la crescita dei fibroblasti (neovascolarizzazione), la sintesi della matrice extracellulare e induce lo scambio isotipico verso le IgA.

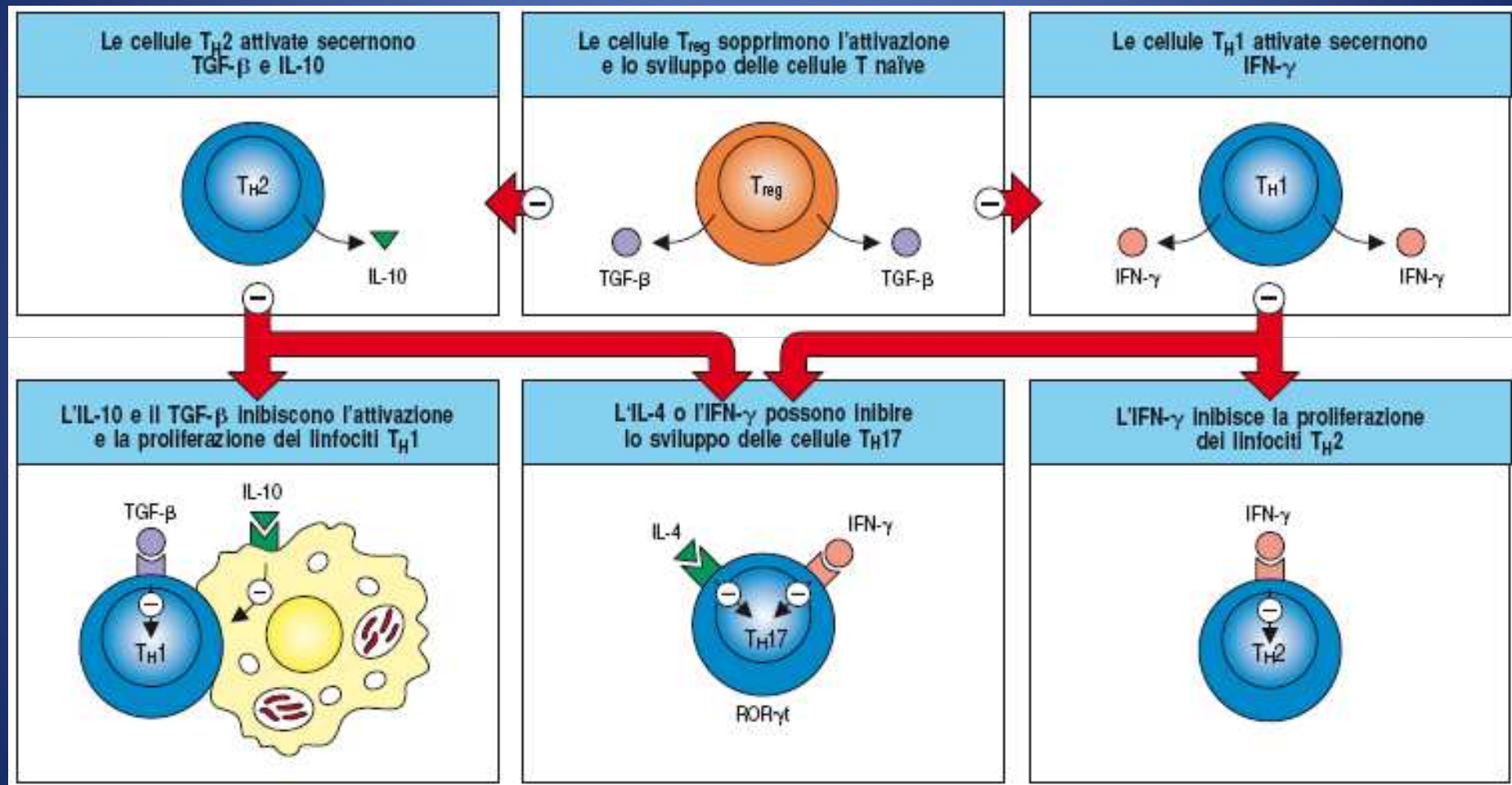
# *TGF-beta: azioni sulle cellule del S.I.*



# *IL-10: azioni sulle cellule del S.I.*



# Ciascun sottogruppo dei linfociti CD4 può regolare la differenziazione degli altri



# T helper cell commitment towards specific lineages

