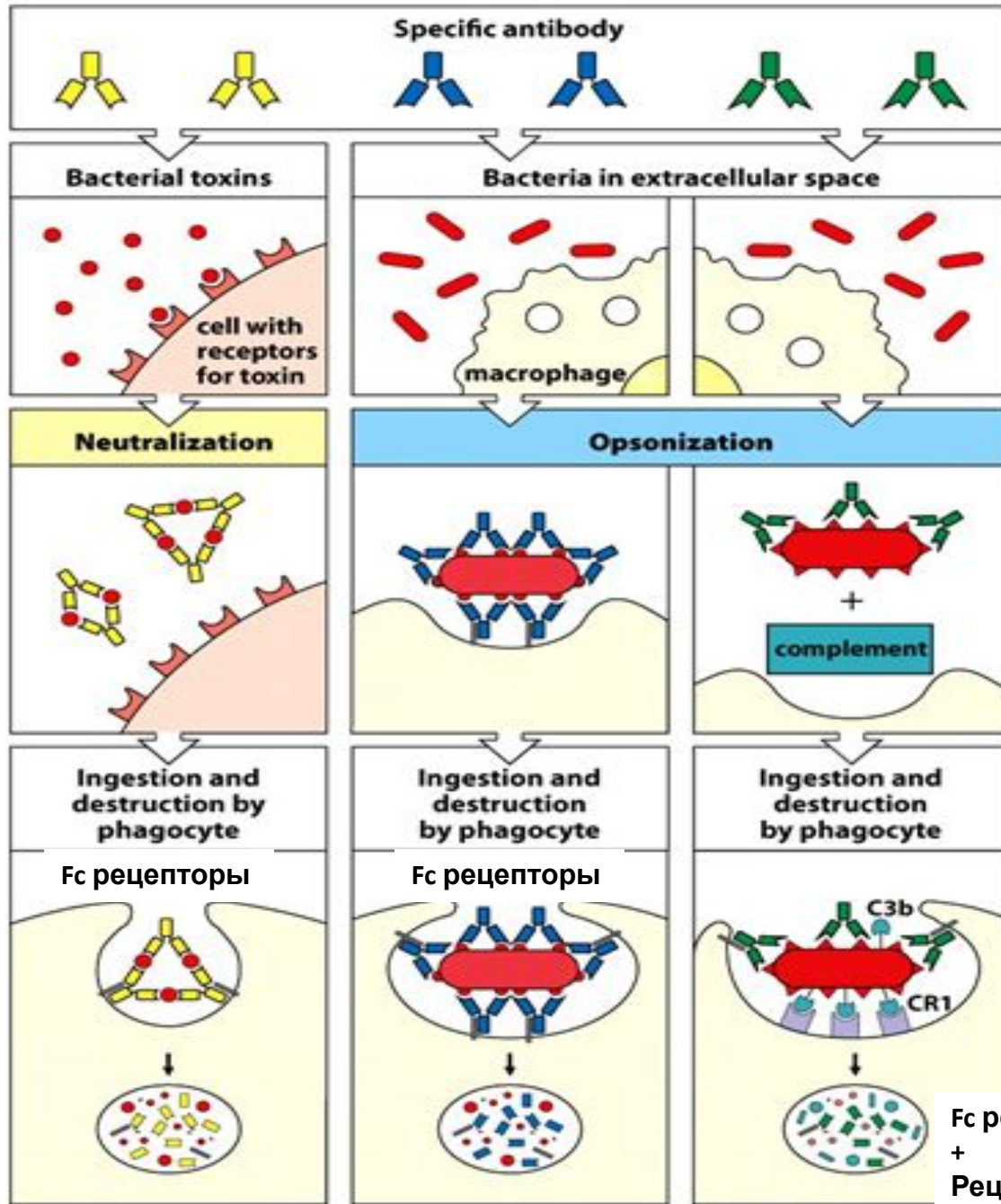


ЛЕКЦИЯ 6

Эффекторные свойства
иммуноглобулинов и гуморальный ответ в
разных частях организма



Антитела имеют дело с **экстраклеточными** (вне хозяйской клетки) формами патогенов и их токсических продуктов. Для доставки АТ в разные части организма – диффузия + специальные средства для прохода через эпителий.

Fc часть молекулы АТ определяет его место действия и эффекторные свойства. Одна и та же В-клетка после дифференцировки - потомство с одинаковой V-областью, но с разными С-областями - защита каждого участка организма

Figure 3.14 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Эффекторные свойства разных классов иммуноглобулинов определяются их константными областями – способностью связываться с Fc-рецепторами и комплементом. АТ разных изотипов работают в разных местах организма и имеют разные функции.

IgA1 IgA2

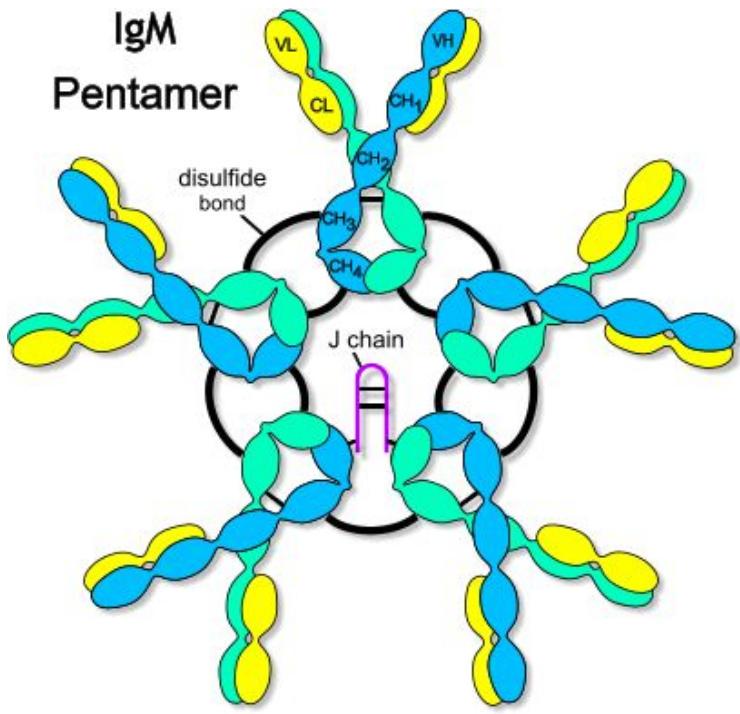
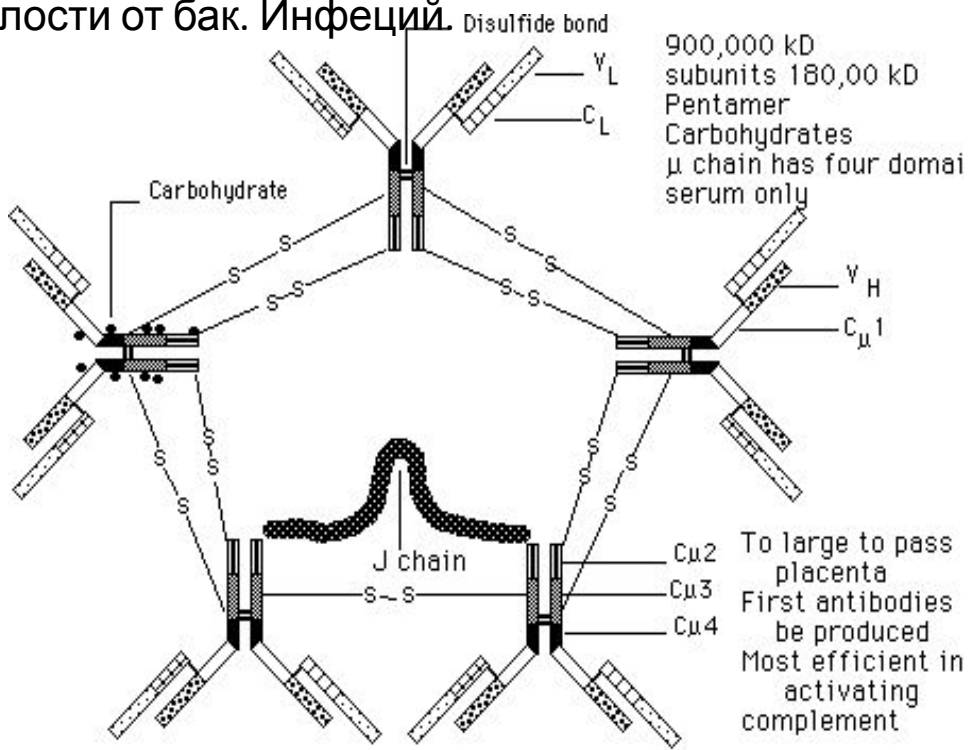
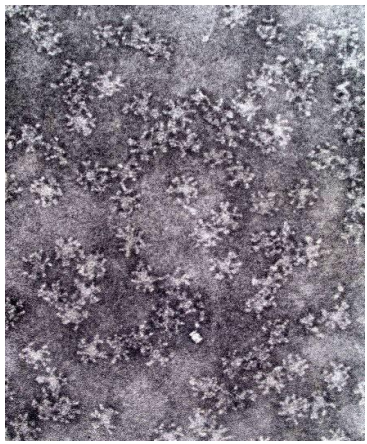
Function	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgE
Neutralization	+	–	+++	+++	+++	+++	+++	–
Opsonization	–	–	+++	*	++	+	+	–
Sensitization for killing by NK cells	–	–	++	–	++	–	–	–
Sensitization of mast cells	–	–	+	–	+	–	–	+++
Activation of complement system	+++	–	++	+	+++	–	+	–

Property	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgE
Transport across epithelium	+	–	–	–	–	–	+++ (dimer)	–
Transport across placenta	–	–	+++	+	++	++	–	–
Diffusion into extravascular sites	+/_	–	+++	+++	+++	+++	++ (monomer)	+
Mean serum level (mg/ml)	1.5	0.03	9	3	1	0.5	2.5	5 x 10 ⁻⁵

Figure 4.32 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

IgM – **пентамер**, связанный дисульфидными связями и J-цепью. 970kDa.
 Первые АТ в ходе иммунного ответа, не требует класс-переключения, без соматического гипермутагенеза, низкая аффинность, но высокая авидность. IgM – наиболее быстрая защита крови от инфекции, первичный ответ, меньше - вторичный.

Пентамерная структура IgM делает его особенно **эффективным в связывании и активации комплемента**, но препятствует проникновению из крови в ткани. Область действия – кровь, лимфа. IgM, синтезируемый в В-1 клетках (natural antibodies) защищает плевральную и перитонеальную полости от бак. Инфекций.



У фагоцитов нет Fc-рецепторов к IgM → IgM без комплемента не эффективен как опсонин

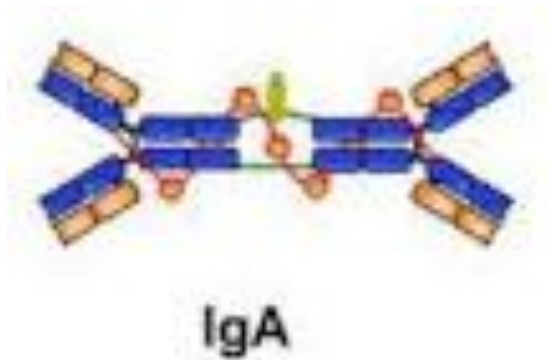
Эффекторные свойства разных классов иммуноглобулинов определяются их константными областями – способностью связываться с Fc-рецепторами и комплементом. АТ разных изотипов работают в разных местах организма и имеют разные функции.

IgA1 IgA2

Function	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgE
Neutralization	+	–	+++	+++	+++	+++	+++	–
Opsonization	–	–	+++	*	++	+	+	–
Sensitization for killing by NK cells	–	–	++	–	++	–	–	–
Sensitization of mast cells	–	–	+	–	+	–	–	+++
Activation of complement system	+++	–	++	+	+++	–	+	–

Property	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgE
Transport across epithelium	+	–	–	–	–	–	+++ (dimer)	–
Transport across placenta	–	–	+++	+	++	++	–	–
Diffusion into extravascular sites	+/_	–	+++	+++	+++	+++	++ (monomer)	+
Mean serum level (mg/ml)	1.5	0.03	9	3	1	0.5	2.5	5×10^{-5}

Figure 4.32 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)



IgG, IgA, IgE:

- Меньше по размерам, чем IgM, легко проходят из крови в ткани
- IgG/IgE – мономеры, IgA – мономер и димер
- Результат реакций в зародышевом центре → Аффинное созревание

IgG – кровь, межклеточная жидкость в тканях, опсонизация/нейтрализация/активация комплемента

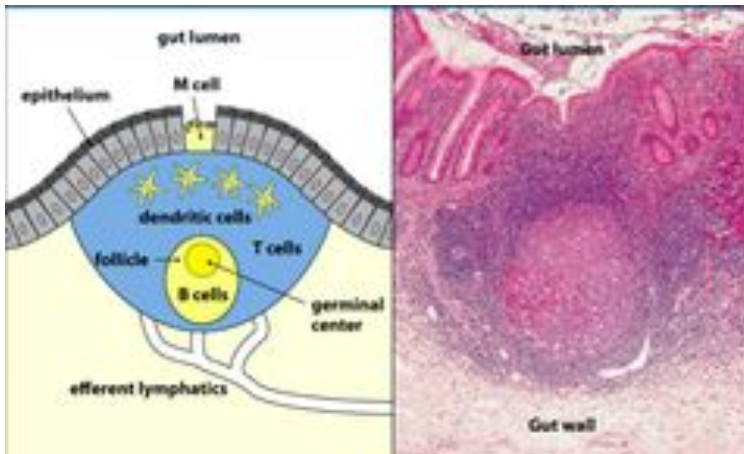
IgA – основной изотип в секретах слизистых, грудном молоке, **димер на СЛИЗИСТЫХ** (В-клетки MALT), мономер в крови (В-клетки селезенки и лимфоузлов), нейтрализация, не эффективен как опсонин, т.к. в секретах нет фагоцитов.

IgE – очень мало в крови, весь - в комплексе с Fc-рецепторами на тучных клетках в соединительной ткани подслизистых и под кожей. АГ + АТ тучная клетка освобождает медиаторы чихание, кашель, рвота

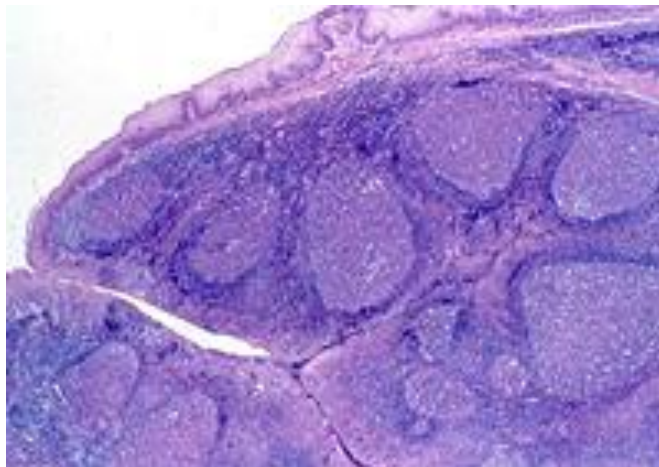
Для выполнения своей функции – узнавания и взаимодействия с АГ, - молекула АТ должна быть доставлена к соответствующему месту в организме.

Задача транспорта – для димерного IgA

IgA –синтезируется плазматическими клетками в MALT, под базальной мембраной слизистого эпителия. Работает – снаружи. IgA - димер, соединенный J-цепью. Большая молекула.



кишечник



миндалина

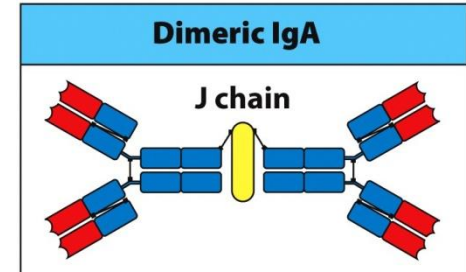


Figure 4.33 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

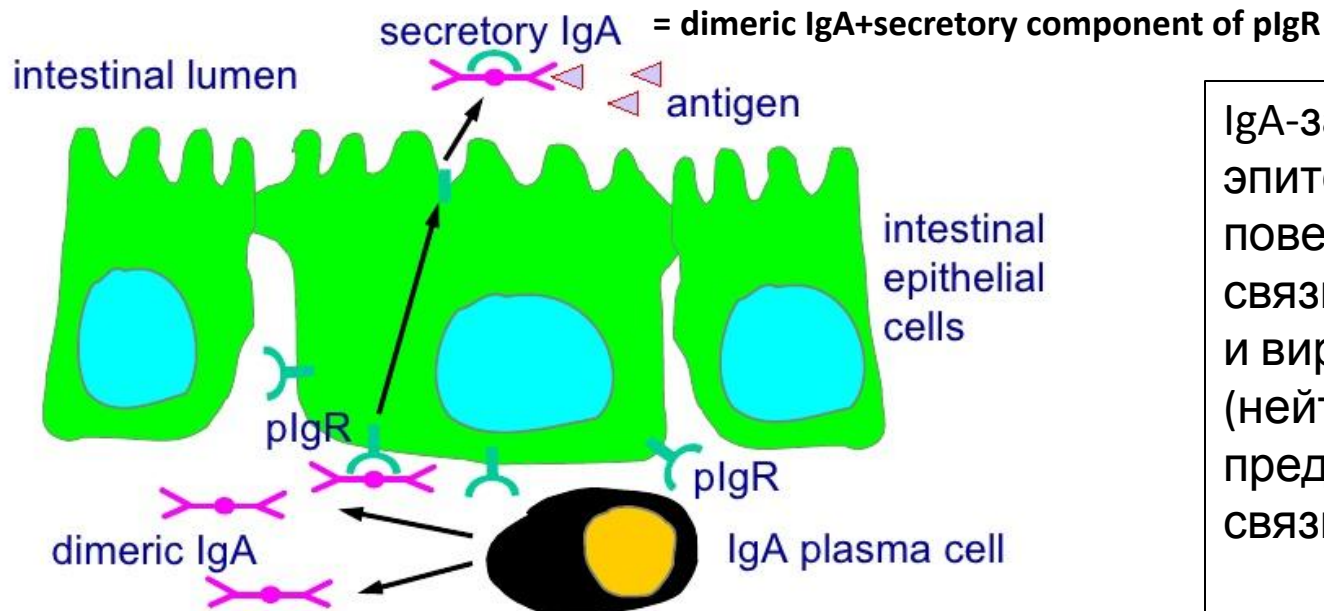
Эпителий слизистых = **лимфоэпителий**

КАК IgA ПОПАДАЕТ НА ПОВЕРХНОСТЬ ЭПИТЕЛИЯ?

IgA ПОПАДАЕТ НА ПОВЕРХНОСТЬ ЭПИТЕЛИЯ ПУТЕМ

IgA transport into the intestinal lumen: Transcytosis

3 г/ день sIgA секретируется
в кишечник человека



IgA-защита
эпителиальных
поверхностей от
связывания с бактериями
и вирусами
(нейтрализация, т.е.
предотвращение
связывания):

- Кишечник
- Дыхательные пути
- Слюнные и слезные
железы
- Лактирующие молочные
железы

IgA в кишечнике

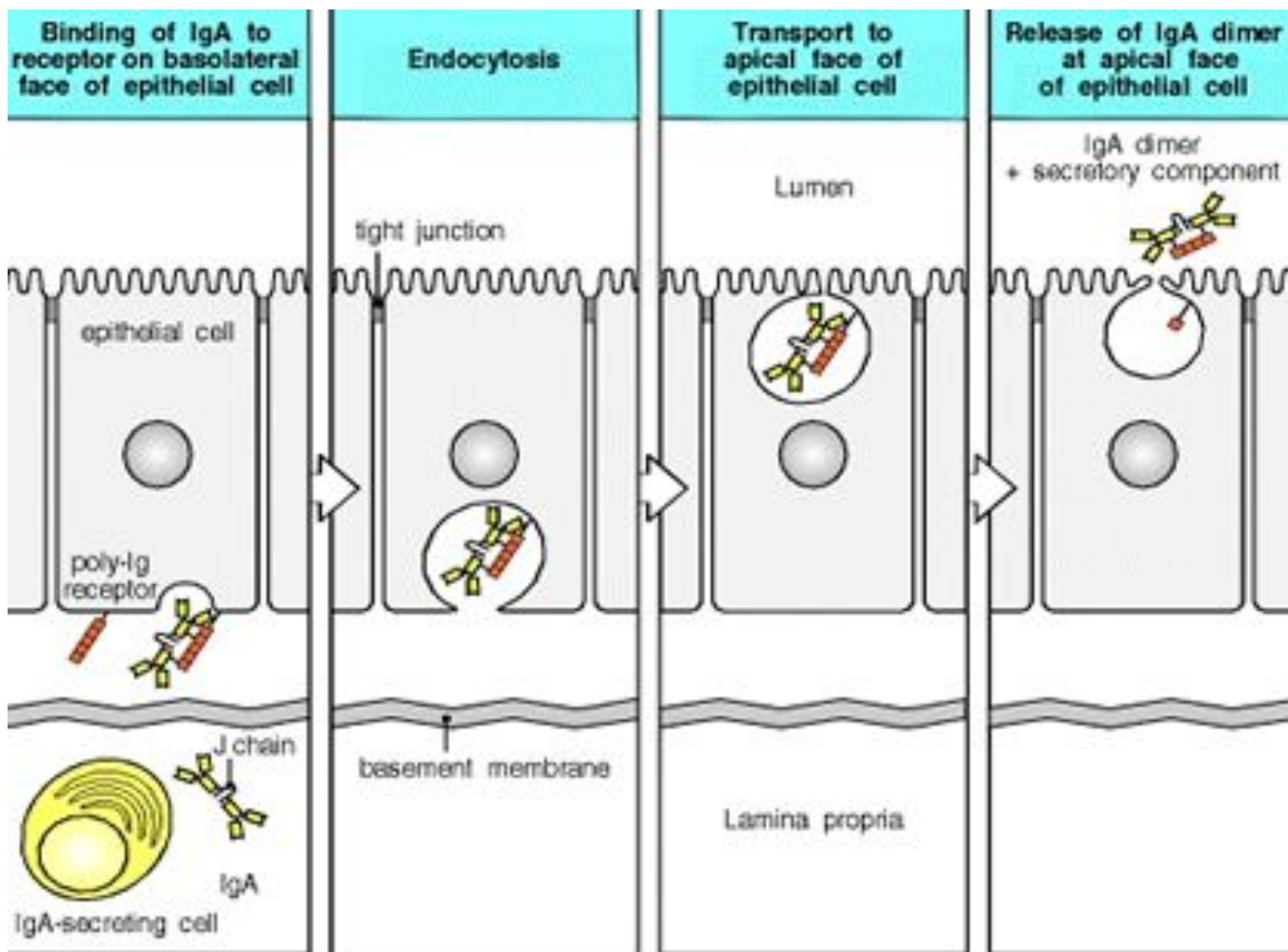
новорожденных в первое

pIgR – polymeric immunoglobulin receptor

1. Связывание димерного IgA (или IgM) с pIgR на внутренней мембране клетки эпителия
2. Интернализация комплекса IgA-pIgR и транспорт внутри клетки в транспортном пузырьке к обращенной в люмен мембране
3. Отщепление протеазами внеклеточного домена pIgR (**секреторный компонент** IgA), который в мукусе остается связанным с IgA

Секреторный компонент – а) связывается с муцином (для

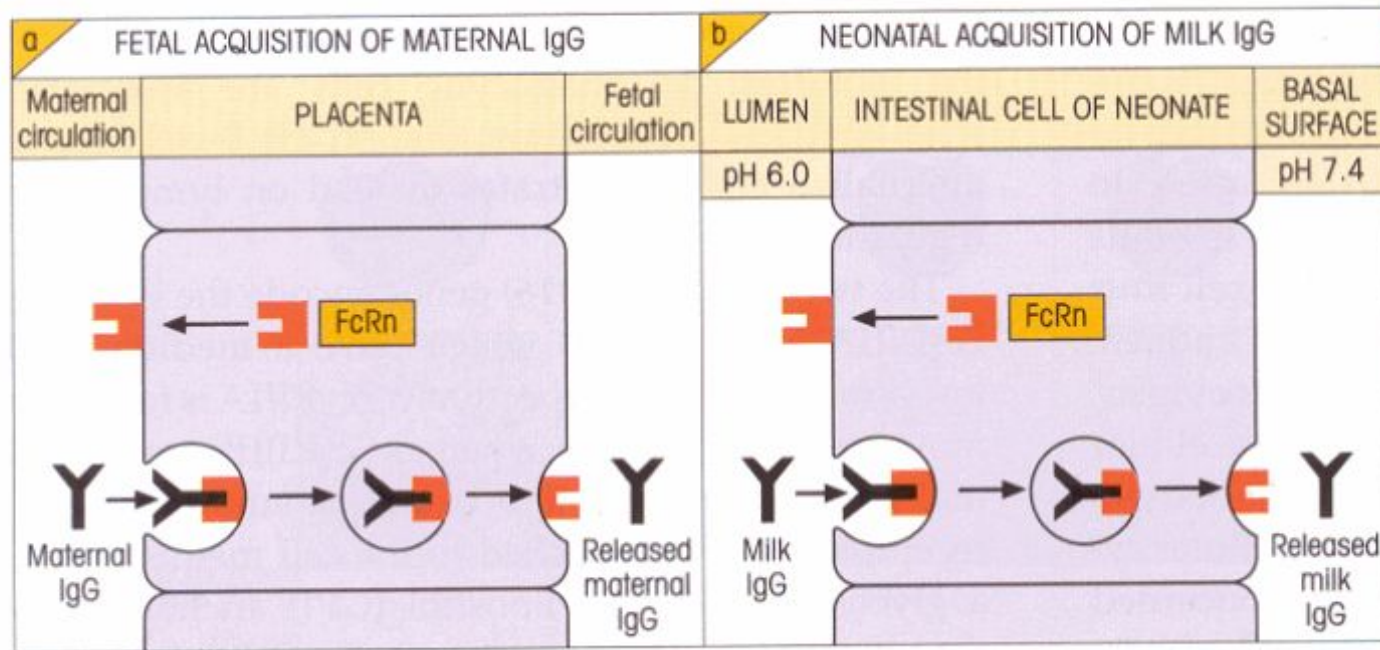
Трансцитоз IgA из места синтеза на поверхность слизистого эпителия



Кроме IgA антител от матери к ребенку попадают IgG антитела (у человека - до рождения, у грызунов-после).

Как и IgA - трансцитозом

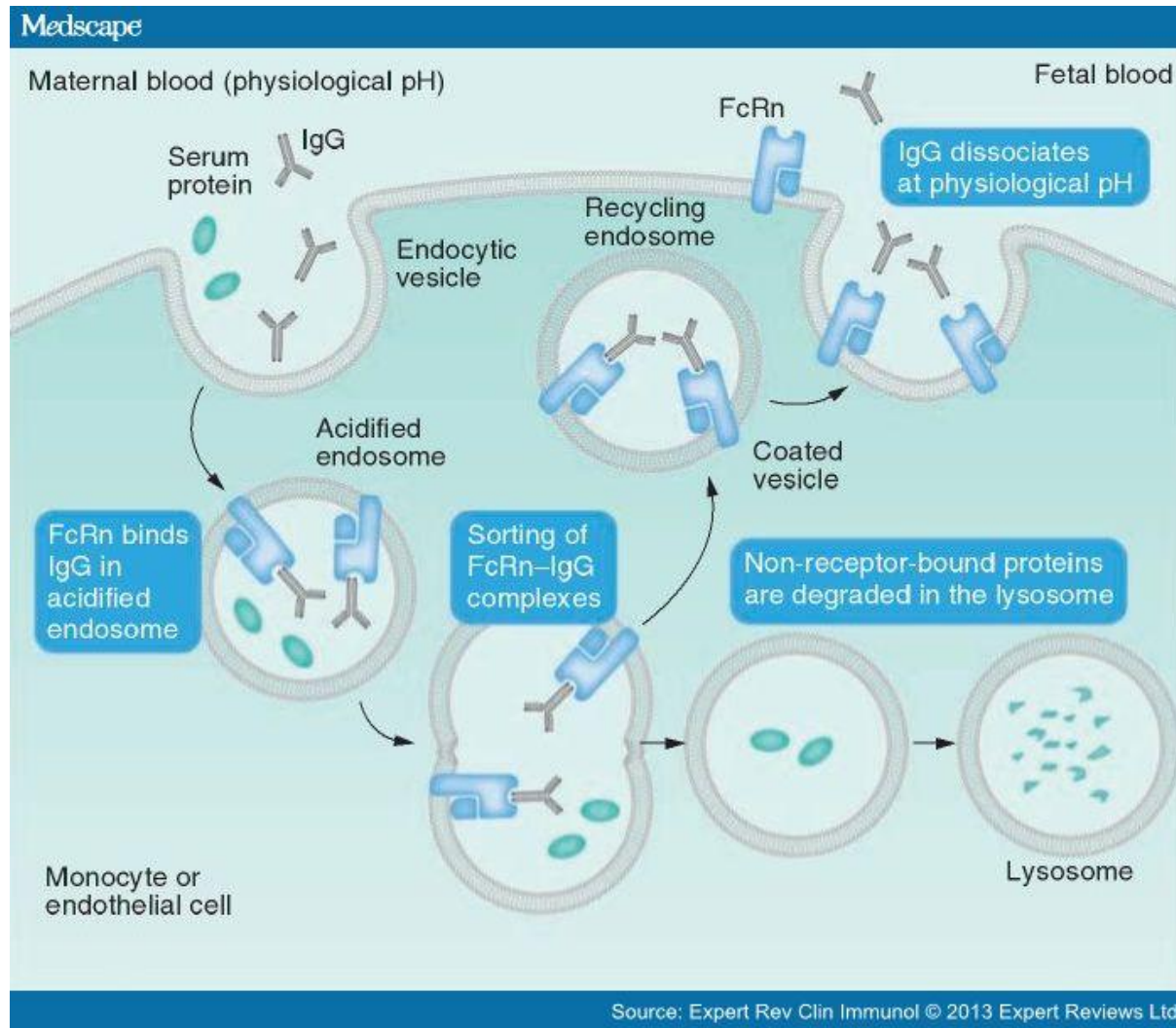
Неонатальный Fc рецептор (FcRn) связывает IgG с высокой аффинностью при pH<6.5. и с низкой – при нейтральных pH. IgG проходит через плаценту, захватываясь пиноцитозом, связываясь с FcRn в эндосоме при pH 6,0 и освобождаясь при pH 7.4. FcRn возвращается обратно к матери через



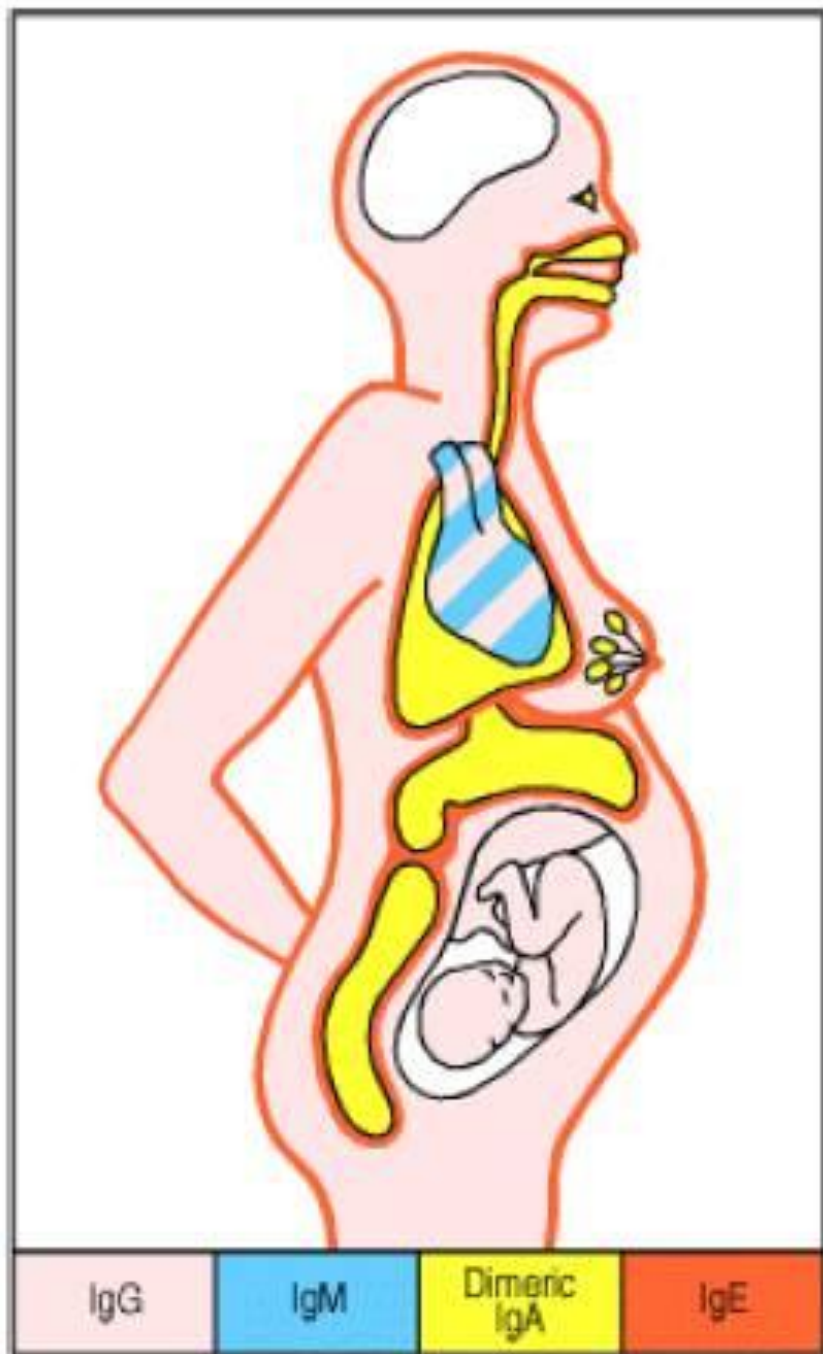
У человека: перенос IgG через плаценту из крови матери в кровь плода, у взрослых – FcRn на эндотелии сосудов, утилизация (если IgG много в крови) или рециркуляция (если IgG мало) – через кислый pH в эндосомах.

У новорожденных грызунов: перенос IgG из материнского молока в кровь

Трансцитоз через плаценту антител класса IgG у человека



Ребенок рождается, имея тот же уровень и то же разнообразие антител класса G, что и мать



Распределение изотипов ИГ в тканях и органах человека отличается определенной селективностью.

IgG/IgM – кровь

IgG/мономерный IgA – межклеточное пространство по всему организму
IgG попадает в плод, проходя через плаценту с помощью FcRn.

Димерный IgA – все эпителиальные секреты, грудное молоко

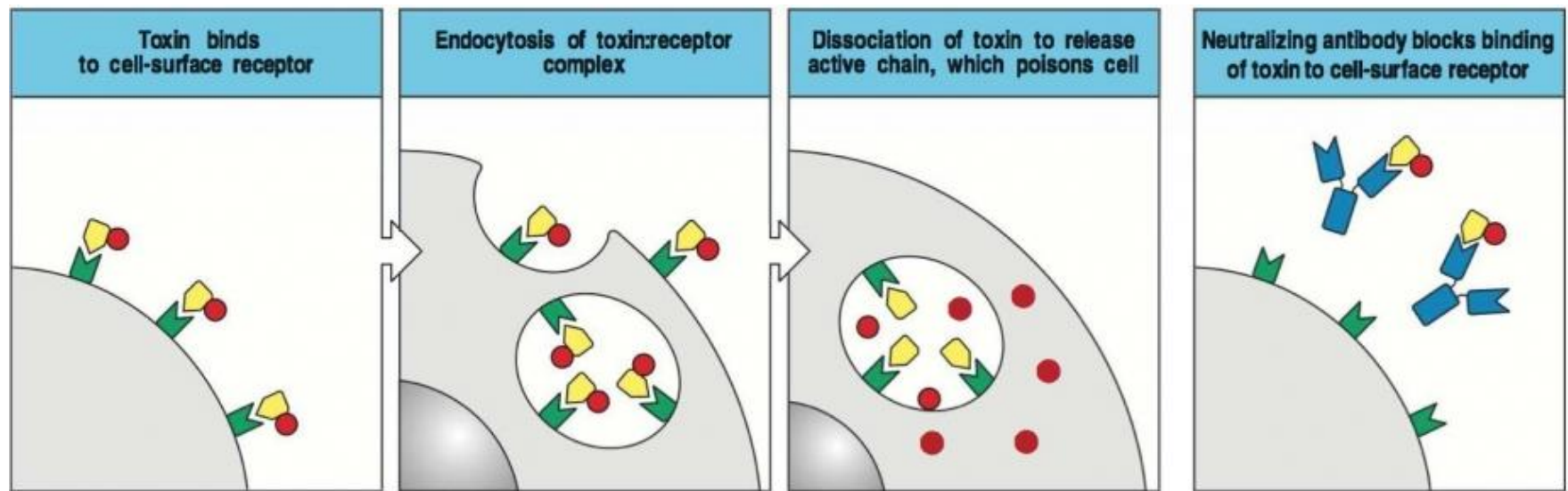
IgE – тучные клетки в субэпителиальном слое ЖКТ, респираторного тракта, кожи.

Результат: все внеклеточное пространство организма (кроме мозга) хорошо защищено с помощью разных Ig. IgG очень плохо проникает через гемато-энцефалический барьер:

CSF/serum ratio of IgG = 0.0027

Высокоаффинные IgG и IgA антитела могут нейтрализовать бактериальные

Токсины: столбняк, дифтерия, газовая гангрена, холера, сибирская язва, коклюш, ботулизм, пищевые токсины (*Staphylococcus aureus*). Все – **экзотоксины**, секретируются бактериями. Очень активны в низкой концентрации (1 молекула/клетка) . Часто состоят из двух функционально различных частей: 1) за связывание с клеткой, 2) за токсический эффект . Против эндотоксинов работает и врожденный иммунитет.



Нейтрализующие А1 – А1, связывающие ту часть патогена (токсина, вируса), которая взаимодействует с соответствующим рецептором на клетке хозяина, и способные таким образом препятствовать этому взаимодействию и атаке на клетки хозяина (нейтрализовать). Всегда должны быть высокоаффинны. IgG – во внеклеточном пространстве в тканях (хорошая диффузия), IgA – на слизистых.

Нейтрализующие АТ против дифтерии и столбняка можно получить, используя токсиды – токсическая пептидная цепь денатурирована, оставлена только рецептор-связывающая) .

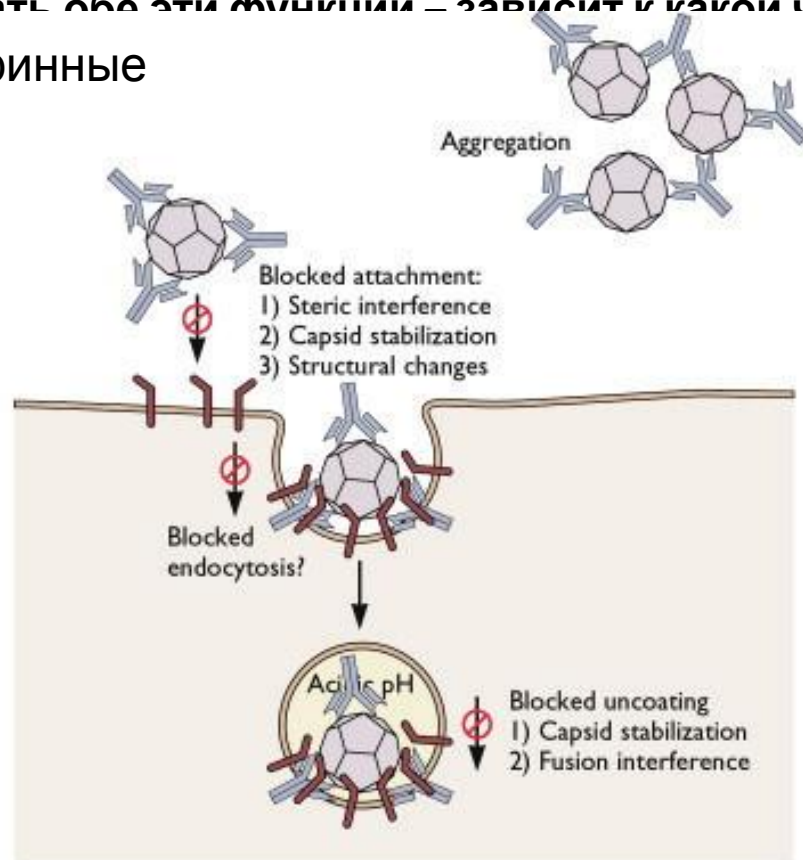
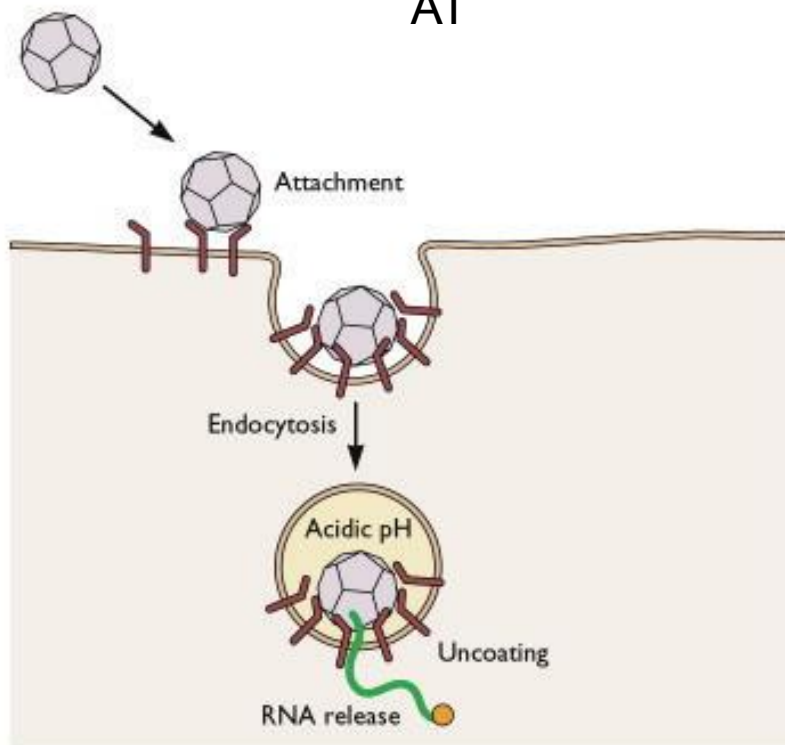
Высокоаффинные IgG и IgA антитела могут нейтрализовать вирусы и предотвращать инфицирование организма.

Вирусы попадают в организм, связываясь с определенными рецепторами на клетках хозяина.

Гемагглютинин вируса гриппа – гликопротеин оболочки вируса, связывается с остатками сиаловой кислоты мембраны эпителиальных клеток респираторного тракта человека (или эритроцитов курицы), 2 функции – 1) связывание с мембраной клетки-хозяина и 2) слияние оболочки вируса с мембраной эндосомы после уменьшения pH.

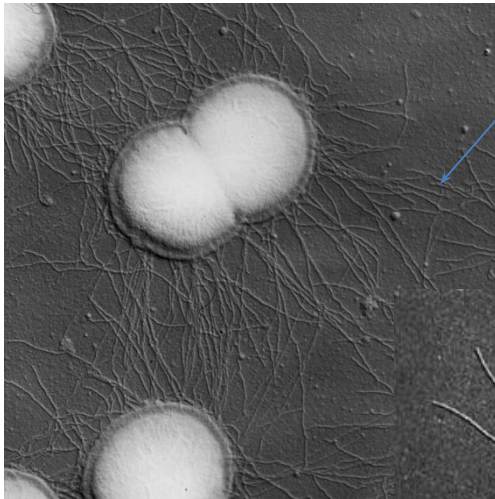
Нейтрализующие антитела могут блокировать обе эти функции – зависит от какой части вируса

Только высокоаффинные
АТ



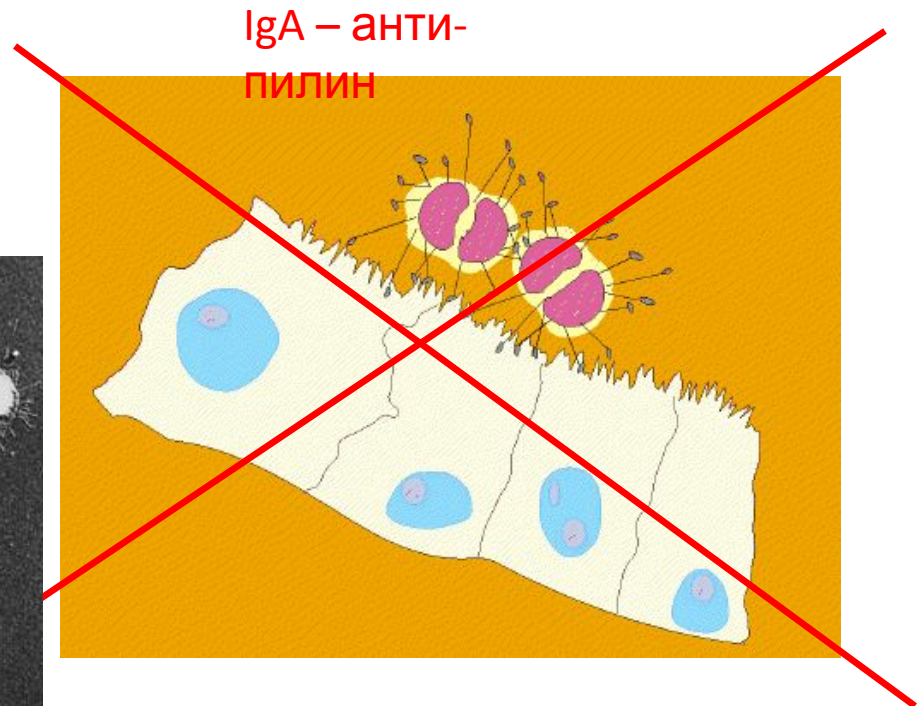
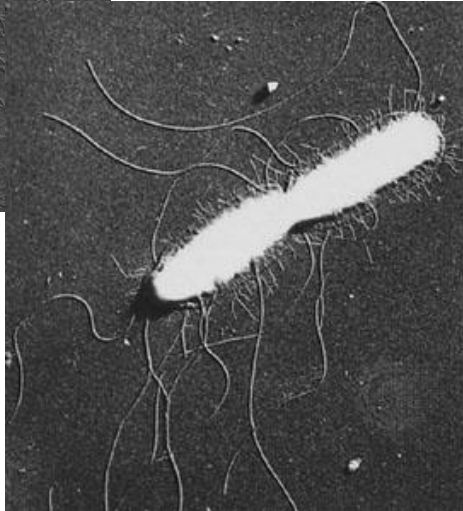
IgG и IgA антитела могут блокировать адгезию бактерий на клетках хозяина.

Бактерии имеют **адгезины**, позволяющие им или просто присоединяться к клетке (*Neisseria gonorrhoeae*, белок адгезии – пилин, для присоединения и колонизации эпителиальных клеток уро-генитального тракта) , или проникать внутрь клетки (*Salmonella* sp.). IgG и IgA антитела к адгезинам могут блокировать адгезию и препятствовать колонизации бактериями поверхности клеток: IgA антитела - клетки слизистого эпителия, IgG антитела – внутри тканей.



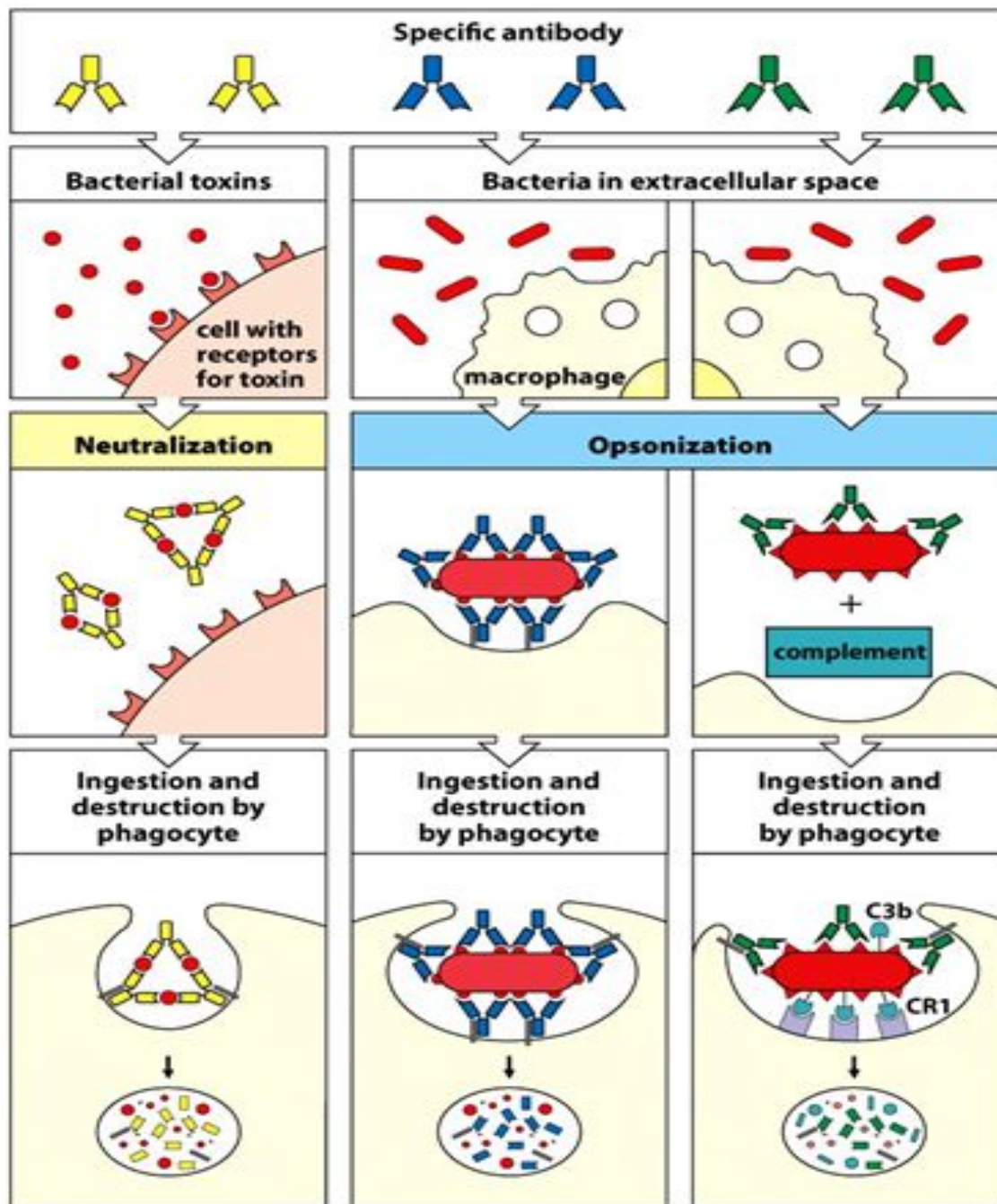
Salmonella

Neisseria



Антиген (патоген) после связывания с антителом во **внеклеточном** пространстве должен быть удален из организма!

Как?



Способы элиминации
антигена с помощью
антител

Figure 3.14 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Комплексы антиген/антитело активируют классический путь комплемента, связываясь с C1q.

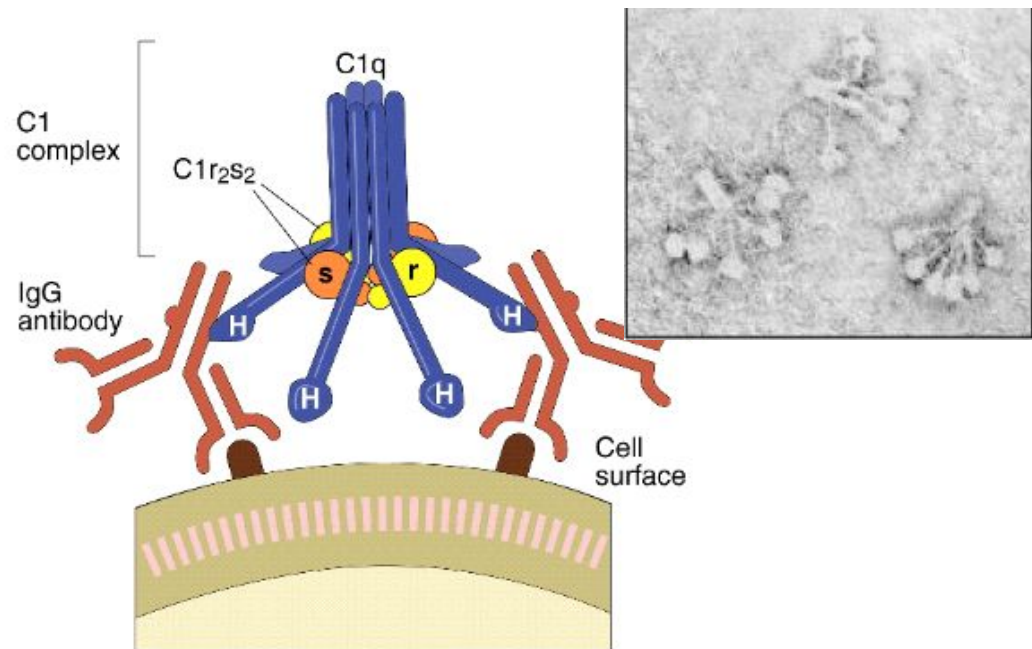
Классический путь активации комплемента начинается с активации комплекса **C1**.

C1q
комплекс

распознает константные области IgM и IgG, образовавших с антигеном, и т.о. может участвовать в элиминации патогена (адаптивный иммунитет)

может связываться
запускать

активацию комплемента
C1 комплекс состоит из C1q, C1r (2 молекулы) и C1s (2 молекулы). C1q связывается с ИГ или непосредственно с поверхностью патогена, что вызывает последовательную активацию C1r и C1s.



Как обеспечивается специфичность фиксации комплемента на комплексе АГ-АТ?

Почему комплемент не связывается со свободными АТ в растворе?

Как обеспечивается специфичность фиксации комплемента на комплексе АГ-АТ?

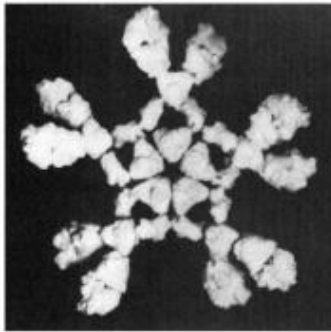
Почему комплемент не связывается со свободными АТ в растворе?

-Каждая «головка» сенсора C1q может связаться с одной Fc-областью молекулы ИГ.

-Для активации C1q необходимо связывание как минимум двух «головок» с двумя Fc-областями (или структурами патогена), находящимися на определенном расстоянии.

Антитела – IgM или IgG. Связь с C1q – только когда АТ связаны с АГ на поверхности патогена, но не в растворе

Antigen-induced conformational changes in IgM



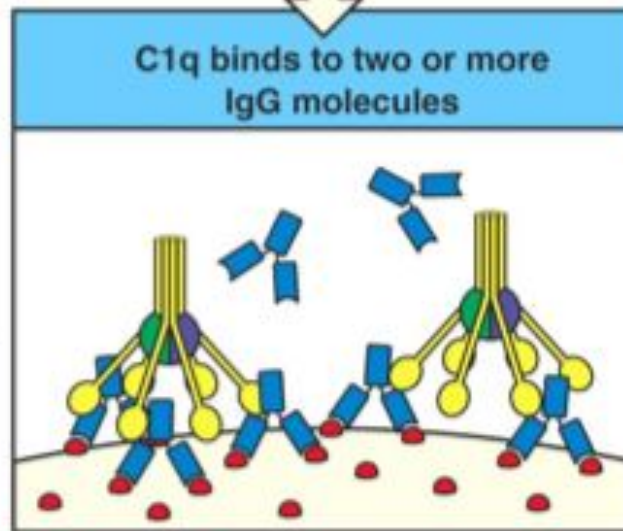
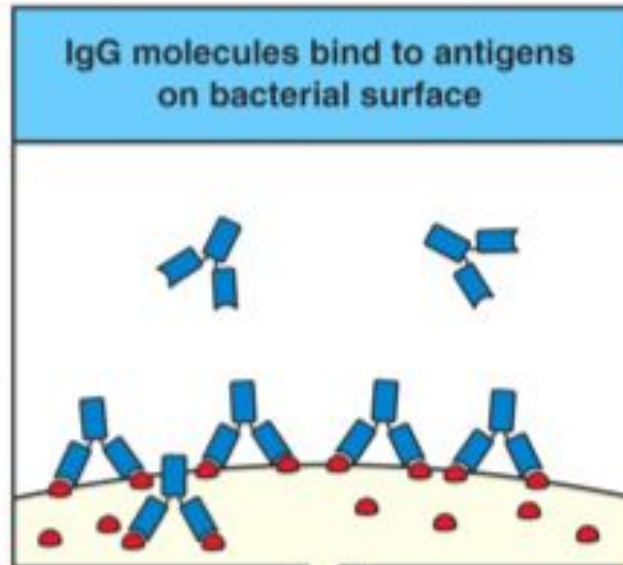
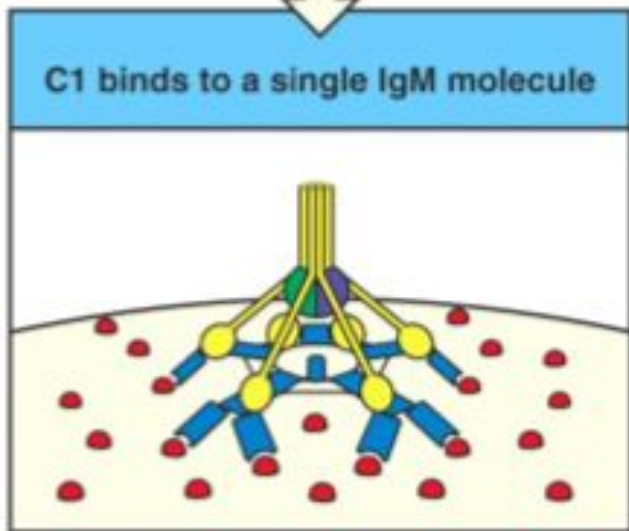
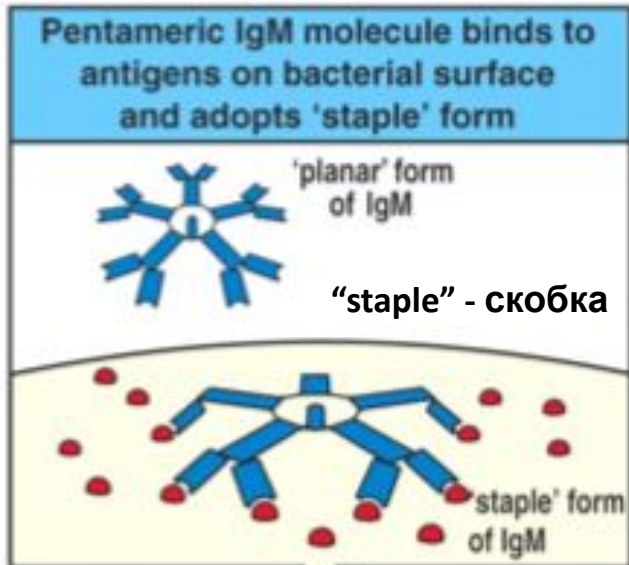
Planar or 'Starfish' conformation found in solution.

Does not fix complement



Staple or 'crab' conformation of IgM
Conformation change induced by binding to antigen.

Efficient at fixing complement



IgM и IgG начинают классический путь активации комплемента на поверхности патогена. IgM более эффективен чем IgG в связывании с C1q –авидность выше в 1000 раз.

Figure 7-32 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

Классический путь активации комплемента генерирует C3 конвертазу (комплекс C4b,C2a, ковалентно связанный с поверхностью патогена), которая осаждает большое количество молекул C3b (опсонин) на поверхности патогена.

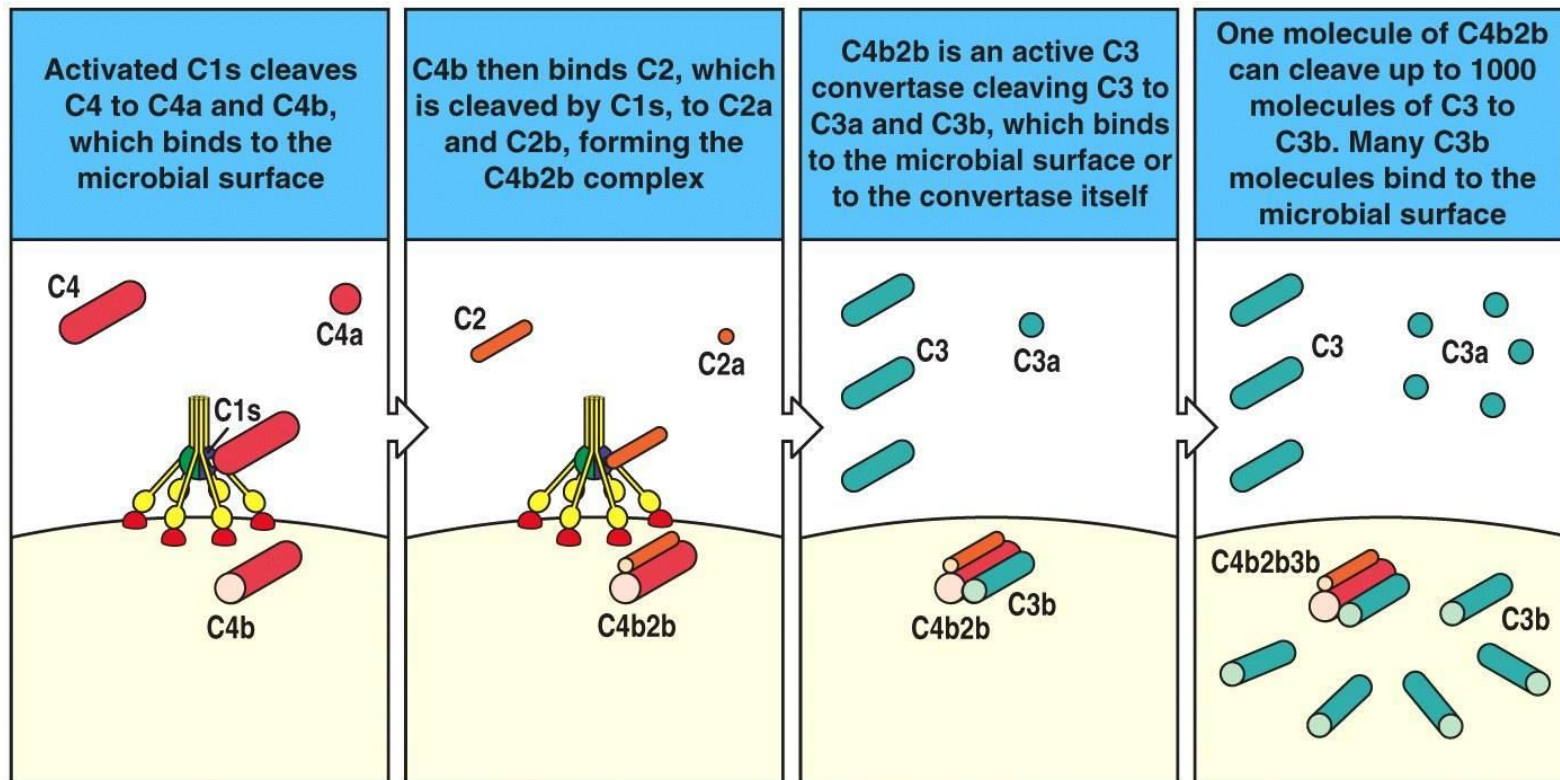
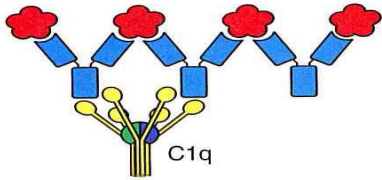


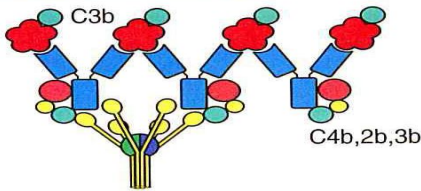
Figure 2-22 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Результат – опсонизация и поглощение патогена макрофагами при участии CR1 и Fc-рецепторов или формирование membrane-attack complex на поверхности патогена

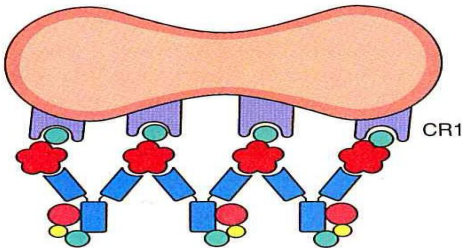
Small antigen:antibody complexes form in the circulation and activate complement



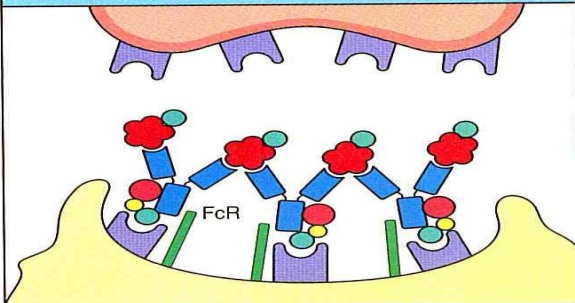
Many molecules of C3b are bound covalently to the complex



Bound C3b binds to the receptor CR1 on erythrocyte surfaces



In the spleen and liver, phagocytic cells remove the immune complexes



Рецепторы к комплементу необходимы для удаления иммунных комплексов из циркуляции.

Иммунные комплексы (ИК) – небольшие комплексы АГ-АТ: всегда после инфекции в циркуляции, АТ – обычно IgG, нейтрализующие АТ к токсинам и вирусам. Число молекул IgG в ИК недостаточно для эффективного выведения через Fc рецепторы. В крови нет макрофагов.

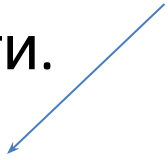
1. C1q связывается с ИК и активирует C1s.
2. C1s последовательно расщепляет C4 и C2 с образованием C3 конвертазы (C4b+C2a) **на поверхности** ИК, и далее – с образованием C3b. C4b, C2a, C3b – связаны **ковалентно** с ИК.
3. Эритроциты имеют рецептор **CR1**, лиганд для него - C3b. ИК связываются с эритроцитами через взаимодействие C3b-CR1.
4. В печени и селезенке – макрофаги имеют на своей поверхности FcR и CR1, удаляют ИК с эритроцитов.

Избыточность ИК+C3b при аутоиммунных заболеваниях (системной красной волчанке) или ИК при недостаточности ранних компонентов комплемента (C1, C2, C4)– ИК оседают в мелких сосудах в почках, через CR1 воспринимаются подоцитами клубочков и нарушают их функцию, фильтрация крови нарушается. **Почечная**

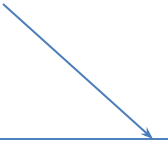
АТ обнаруживают патоген и связываются с ним.

НО: АТ не могут удалить патоген из организма.

Для удаления покрытого антителами патогена нужны дополнительные клетки с Fc-рецепторами на поверхности.

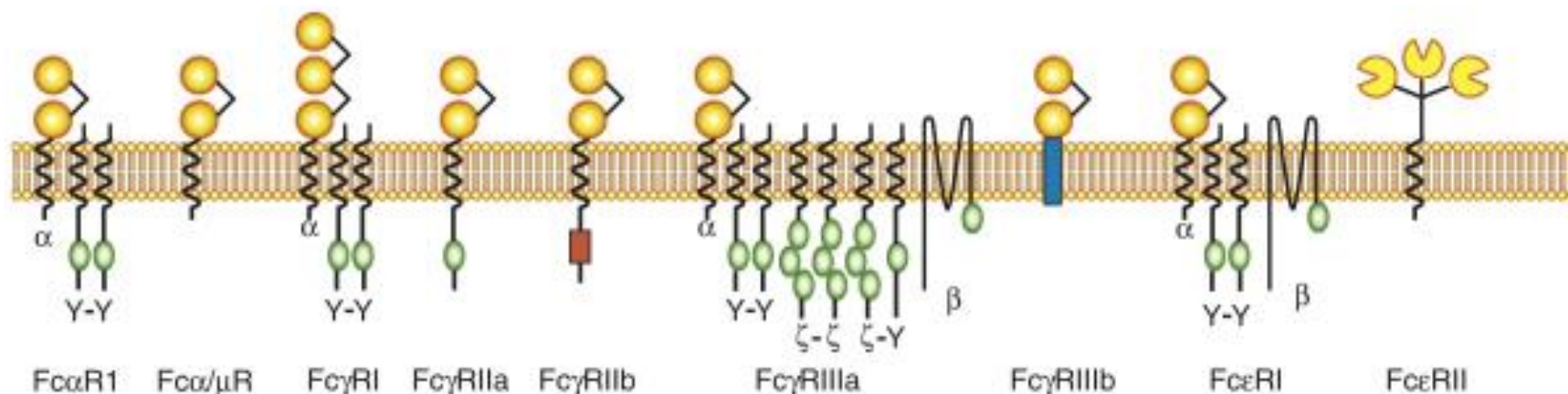
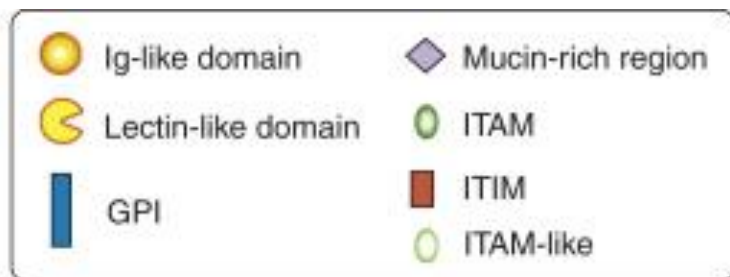


Фагоциты – макрофаги и нейтрофилы, дендритные клетки



НК клетки, эозинофилы, базофилы, тучные клетки - секретируют наружу медиаторы

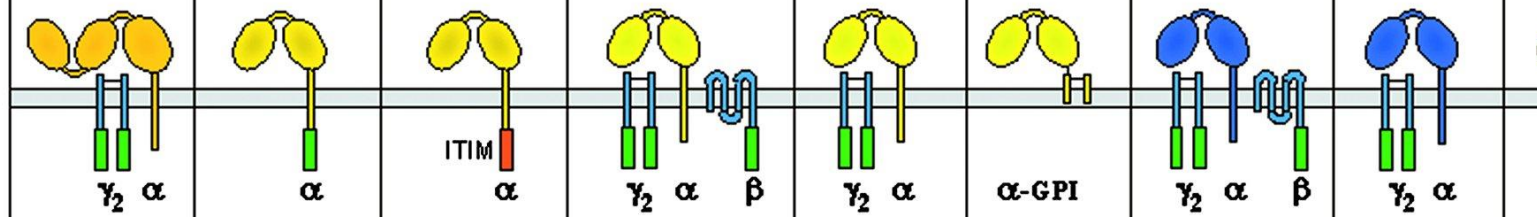
Работают после активации. Активация – после кросс-сшивки Fc-рецепторов. Кросс-сшивка возможна, когда патоген покрыт несколькими молекулами АТ с одинаковой Fc-областью.



Fc рецепторы – семейство поверхностных молекул, суперсемейства ИГ. Каждый рецептор связывает один или несколько близкородственных изотипов ИГ. Часто Fc рецептор – комплекс из нескольких цепей, выполняющих разные функции: центр связывания с ИГ – в α-цепи, остальные цепи – для транспорта рецептора на поверхность и для сигналинга, запускаемого связыванием с ИГ. Большая часть – активирующие рецепторы (ITAM-мотивы), активируют ту клетку, на которой они экспрессируются в ответ на патоген. Ингибирующие (ITIM) – подавляют стимуляцию клеток.

Разные Fc рецепторы связывают разные изотипы ИГ и экспрессируются на разных типах клеток. Fc рецепторы – сигнальные молекулы. Аффинность – в Fcα/μR

ОСНОВНОМ, НИЗКАЯ.

ОСНОВНОЕ, НИЗКАЯ.	FcγRI CD64	FcγRIIA CD32	FcγRIIB CD32	FcγRIIA CD16		FcγRIIB CD16	FcεRI		FcαRI CD89
									
Structure									
Subunit composition	γ ₂ α	α	α	γ ₂ α β	γ ₂ α	α-GPI	γ ₂ α β	γ ₂ α	γ ₂ α
Ka	10 ⁸ M ⁻¹	2x10 ⁶ M ⁻¹	2x10 ⁶ M ⁻¹	5x10 ⁵ M ⁻¹	5x10 ⁵ M ⁻¹	2x10 ⁵ M ⁻¹	10 ¹⁰ M ⁻¹	10 ¹⁰ M ⁻¹	5x10 ⁷ M ⁻¹
Binding Specificity	1. IgG1=IgG3 2. IgG4 3. IgG2	1. IgG1 2. IgG2=IgG3 3. IgG4	1. IgG1 2. IgG2=IgG3 3. IgG4	1. IgG1=IgG3	1. IgG1=IgG3	1. IgG1=IgG3	IgE	IgE	IgA ₁ =IgA ₂
Expression	Macrophages Neutrophils Eosinophils Dendritic Cells	Macrophages Neutrophils Mast cells Eosinophils Platelets Dendritic Cells	Macrophages Neutrophils Mast cells Eosinophils Dendritic Cells FDC B cells	Mast cells Basophils	Macrophages Mast cells Basophils NK cells Dendritic Cells	Neutrophils	Mast cells Basophils	Mast cells Basophils Eosinophils Platelets Dendritic Cells	Macrophages Neutrophils Eosinophils
Class	Activation	Activation	Inhibition	Activation		Decoy	Activation	Activation	Activation
Function	-Inducible by inflammatory cytokines -Enhance effector responses at inflammatory sites -IC capturing by DC	-Effector cell activation by IC's, cytotoxic Ab	-Set threshold for effector cell activation by Fc -B cell repression -Maintain tolerance	-Dominant pathway for effector activation by IgG -In vivo ADCC -Arthus reaction -IC capture by DC		-Sink for IC -Focus IC to PMN -Synergize with FcγRIIA	-Degranulation -Allergic reactions (Type I)	-Degranulation -Allergy -Antigen capture by DC	-IgA binding -IgA activation of effector cells

Fc рецепторы на фагоцитах активируются антителами, связанными с поверхностью патогена, активируют фагоциты и позволяют им захватить и разрушить патоген.

IgG1 и IgG3 – основные в активации фагоцитов

Как фагоциты отличают свободные антитела от связанных с патогеном?

- По высокой avidности связывания (взаимодействие Fc-рецептор-свободное АТ – низко афинно) и по кросс-сшивке Fc рецепторов, кросс-сшивки не происходит, если АТ не агрегированы антигеном – нет активирующего сигналинга.

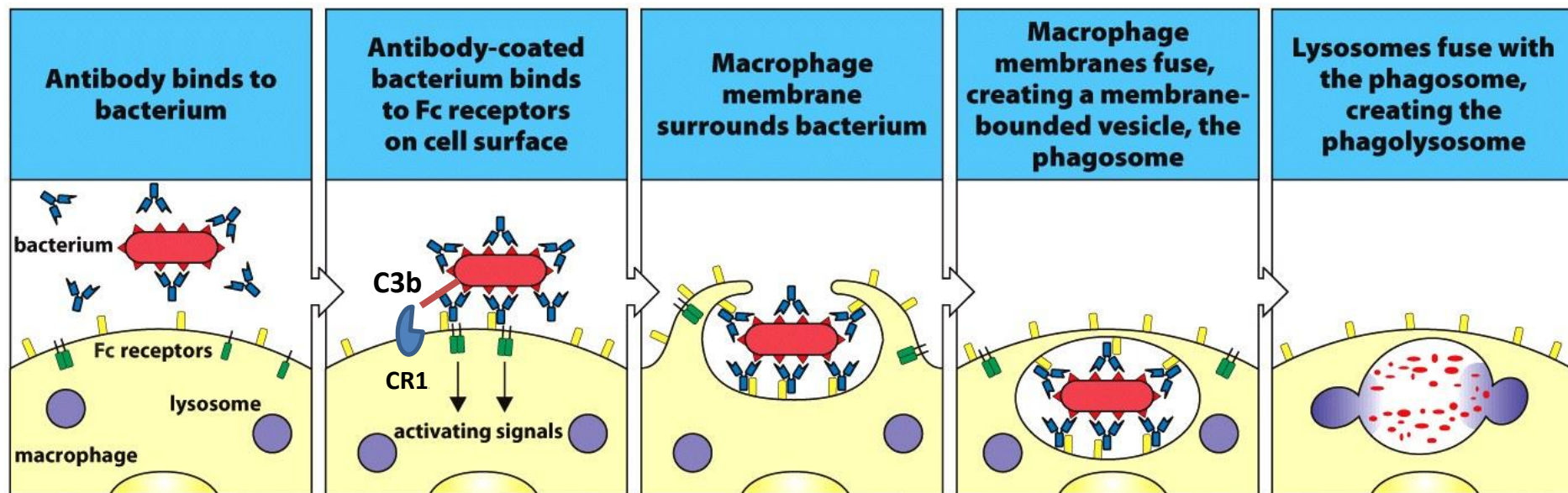
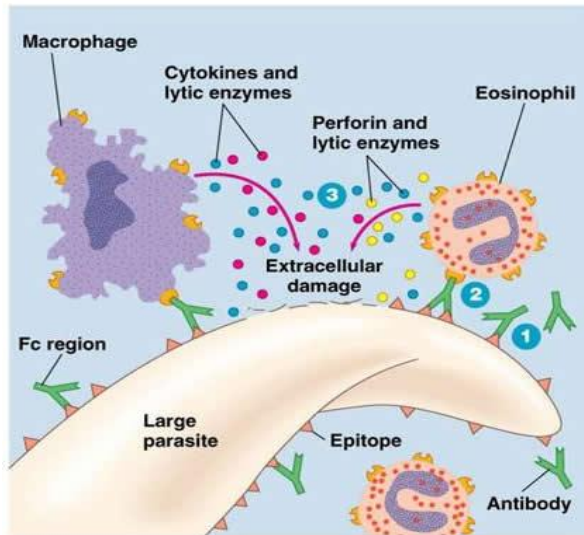


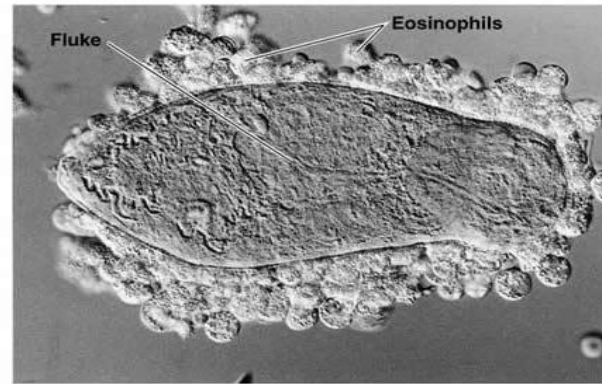
Figure 9.41 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Рецептор к компоненту CR1 особенно важен для удаления патогенов, покрытых IgM , т.к. FcRы для IgM редки.

В случае больших патогенов (гельминты) фагоцитоз не работает. Макрофаги и **нефагоцитирующие** клетки (эозинофилы, базофилы, тучные клетки) прикрепляются к их поверхности, покрытой антителами, через свои Fc-рецепторы Fc γ , Fc α , Fc ϵ (особенно через низкоаффинный **Fc ϵ RII**), активируются и уничтожают их, освобождая на их поверхность содержимое своих

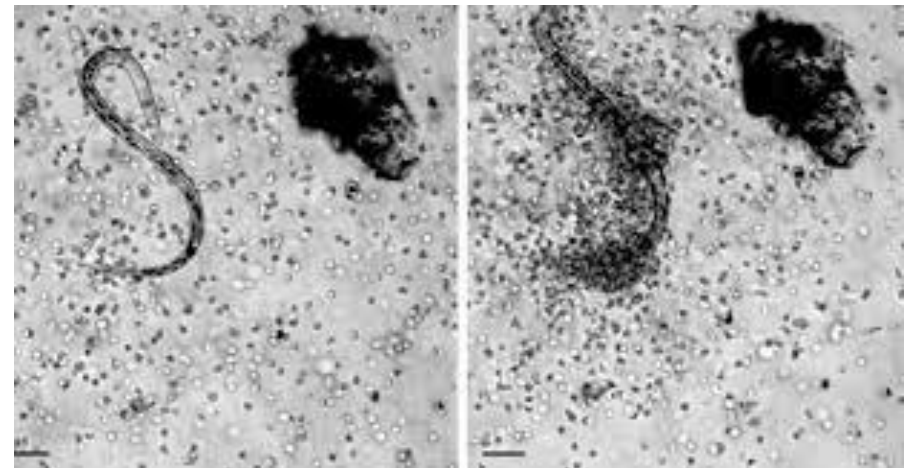


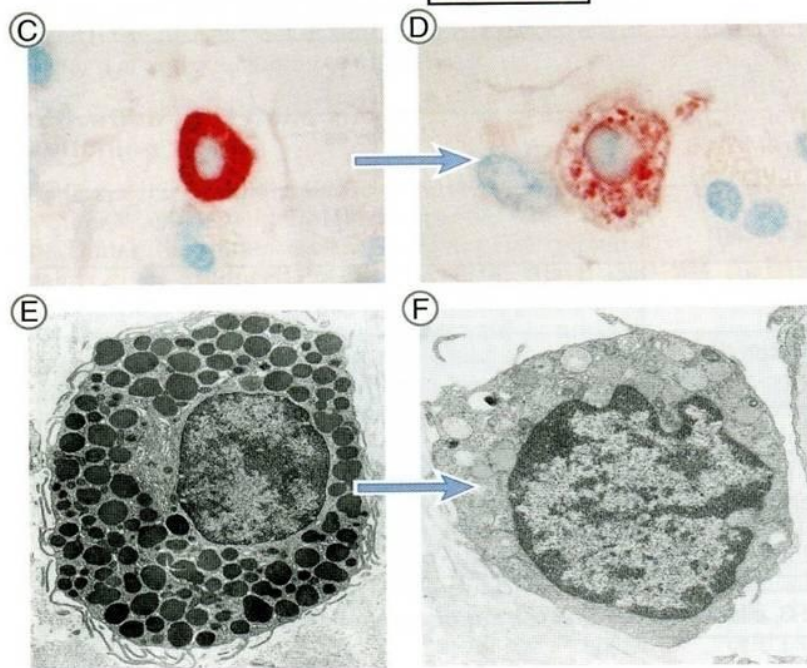
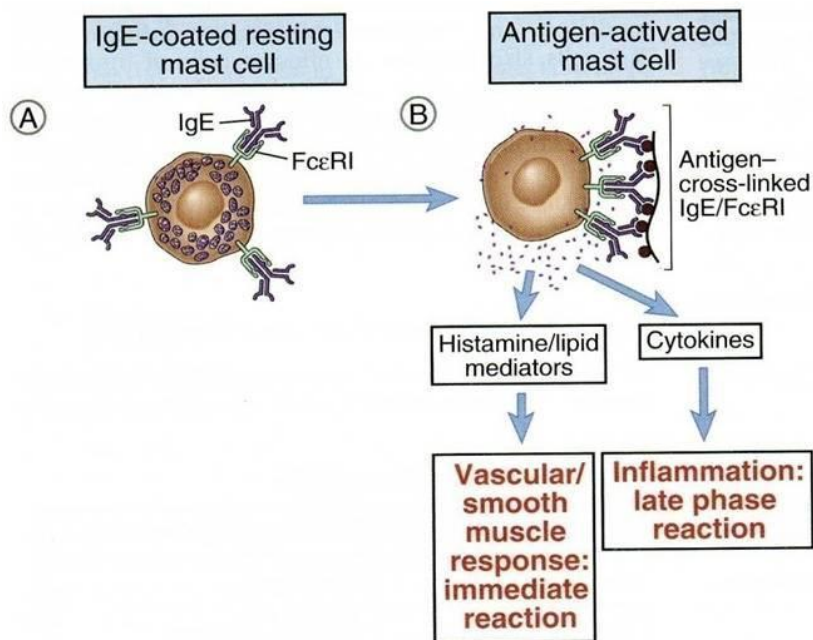
(a) Organisms, such as many parasites, are too large for ingestion by phagocytic cells. They must be attacked externally.



(b) Eosinophils adhering to the larval stage of a parasitic fluke.

Эозинофилы атакуют личинку шистосомы после добавления сыворотки инфицированных пациентов (т.е. АТ против шистосомы)





до активации

после

Тучные клетки, базофилы и активированные эозинофилы связывают IgE антитела через **высокоаффинный FcεRI рецептор**. Весь секретируемый IgE в связанном с FcεR состоянии. Для активации нужна кросс-сшивка. Кросс-сшивка и активация – при появлении АГ, **очень быстро**. Немедленно высвобождается содержимое гранул (гистамин, липидные медиаторы воспаления) увеличивается проницаемость сосудов, приток лимфы и крови, **индукция локального воспаления**. Контроль всех субэпителиальных областей, первая линия обороны, особенно – от паразитарных инфекций. Тучные клетки – главная роль в

Fc-рецепторы активируют NK клетки и позволяют им убивать клетки собственного организма, покрытые АТ.

Клетки, зараженные некоторыми вирусами, выставляют вирусные белки на своей поверхности, которые связывают АТ. NK - клетки врожденного иммунитета (опухоли, вирусы), не имеют АГ-специфичных рецепторов, имеют литические гранулы с перфорином и гранзимом В. ADCC – antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity. **FcγRIII (CD16)** – для IgG1/IgG3. В основном, против клеток, зараженных вирусом. Не имея АГ-специфичных рецепторов, действуют специфично в ADCC.

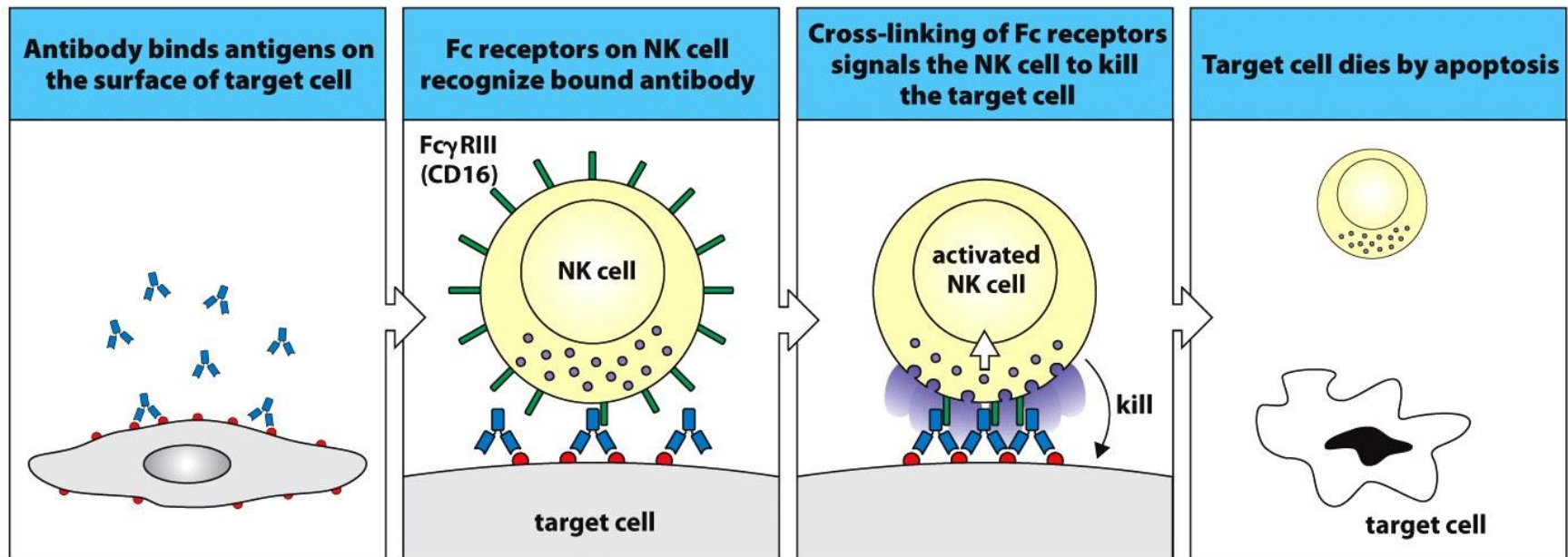


Figure 9.43 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)