

# 14. Humorale immuniteit



De student leert hoe B cellen differentiëren tot plasmacellen als onderdeel van een immuun respons. Hoe T cellen hierbij betrokken zijn; wat de anatomie is van het kliercentrum.

De mucosa heeft specifieke structuren die belangrijk zijn bij de ontwikkeling van de mucosale immuniteit.

Tenslotte wordt dieper ingegaan op de specifieke functionele aspecten verbonden met antilichaam isotypes.

## **INHOUD**

### **14.1. Fase 5: ontmoeten van het antigeen (B cellen)**

#### **14.1.1. B cel stimulatie**

##### **14.1.1.1. BCR cross linking**

##### **14.1.1.2. Co-receptor**

#### **14.1.2. Thymus independent (TI) response**

#### **14.1.3. Thymus dependent (TD) response**

#### **14.1.4. Mucosale immuniteit**

##### **14.1.4.1. De mucosale barrière: mucus en microbiota**

##### **14.1.4.2. Mucosa geassocieerd lymfoïd weefsel**

##### **14.1.4.3. Anti-inflammatoir milieu**

##### **14.1.4.4. Homing naar mucosa**

### **14.2. Fase 6: effector functie (antilichamen)**

# 14.1. Fase 5: ontmoeten van het antigeen (B cellen)

## 14.1.1. B cel stimulatie

### 14.1.1.1. BCR cross-linking

#### Fig. 9.1: Cross-linking of B cell receptors by antigens initiates a cascade of intracellular signals.

De enige effector functie van de B cellen hangt samen met antistofproductie. Antilichamen zijn actief in de extracellulaire vloeistoffen. Antistoffen merken de pathogenen voor destructie, maar hebben zelf geen effectorfunctie. Antistoffen neutraliseren, opsoniseren of binden complement.

Effectieve antilichamen (vb. bij virale infectie) moeten vroeg aanwezig en hoge affiniteit hebben.

Maar:

TH cellen nodig: duurt ongeveer 1 week voor de vorming van plasmacellen.

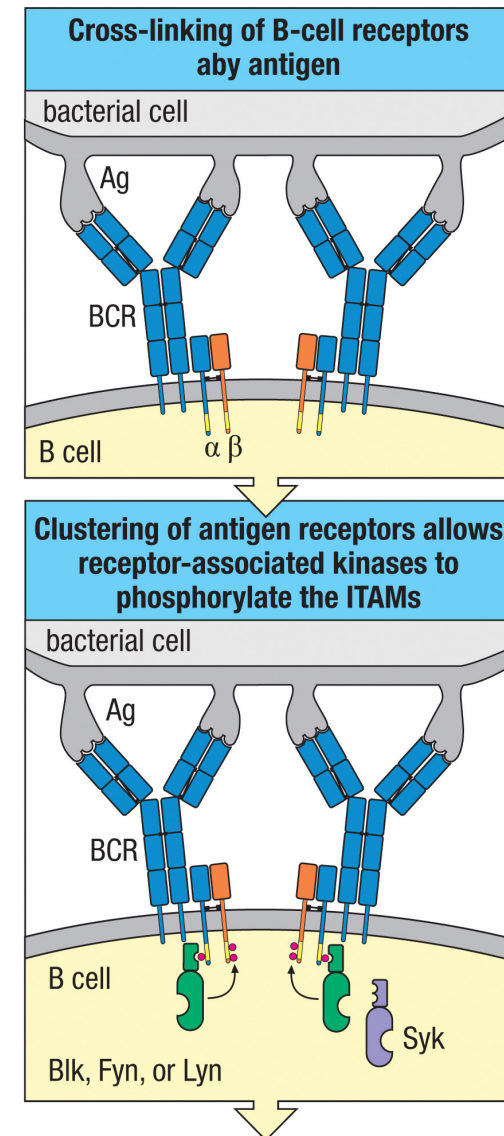
Erna: isotype omwisseling en affiniteitsmaturing

Door affiniteitsmaturing en geheugen B cellen wordt de immuun respons steeds sneller en van hogere affiniteit.

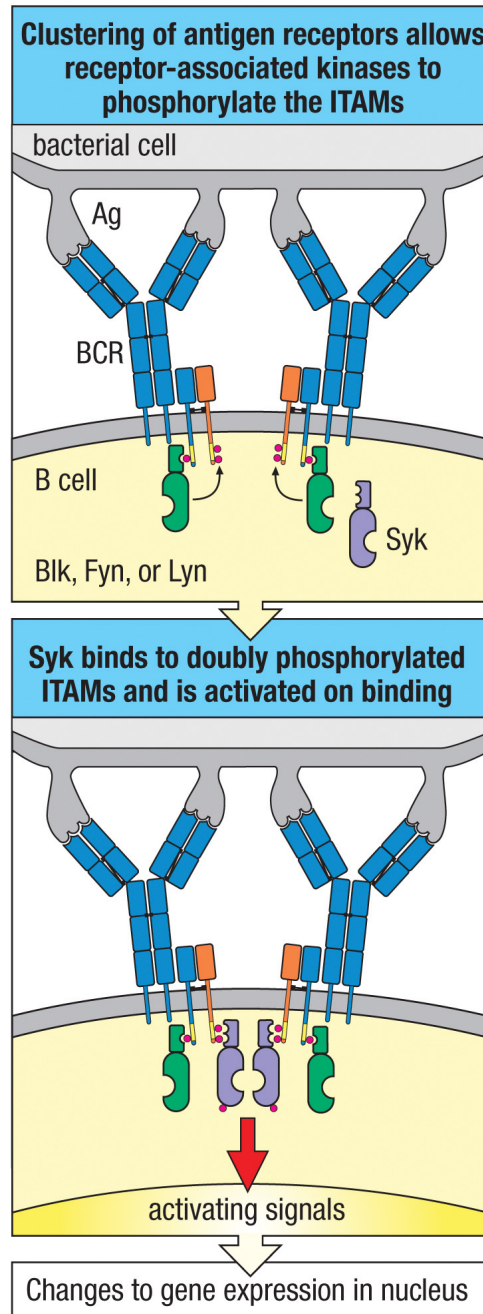
De kwetsbare eerste fase (eerste dagen bij eerste contact) wordt gedeeltelijk ondervangen door T onafhankelijke B cellen die IgM antistoffen maken van lage affiniteit.

B-celactivatie: crosslinken van de BCR en herverdeling van randomverspreiding over celmembraan naar plaats van interactie met pathogeen.

B celactivatie vgl T celactivatie: Iga en Igb zijn analoog van de CD3 moleculen: cytoplasmatische staart draagt ITAM motieven, ...



**Fig. 9.1: Cross-linking of B cell receptors by antigens initiates a cascade of intracellular signals.**



Net zoals bij CD3 worden de ITAM sequenties van Ig $\alpha\beta$  gefosforyleerd. Dit laat vervolgens binding toe van tyr-kinasen die zo de B cel respons mediëren. De signalisatie gaat vandaar naar de kern waar transcriptie wordt beïnvloed. Voor volledige activatie van B cellen zijn additionele triggers nodig.



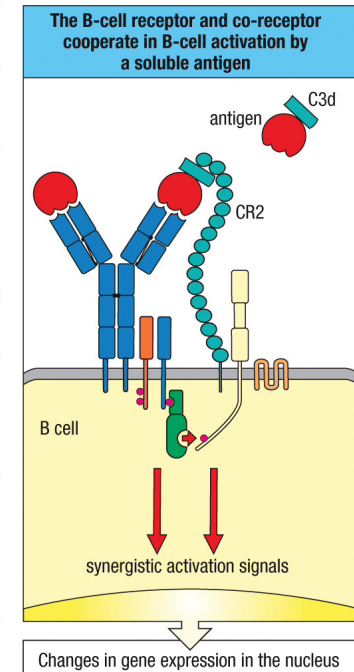
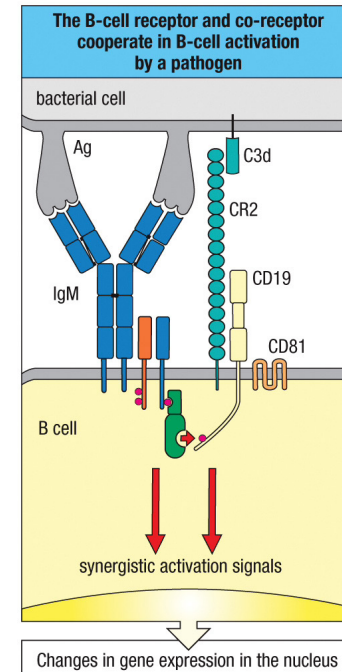
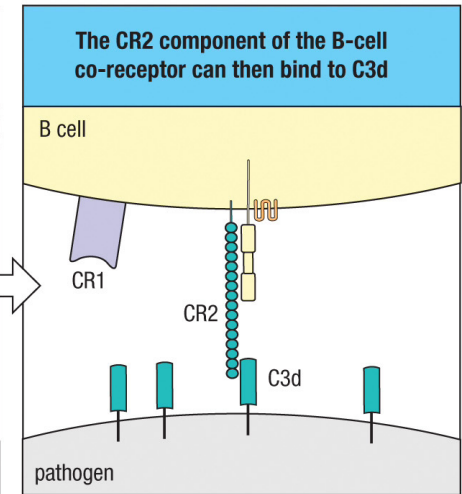
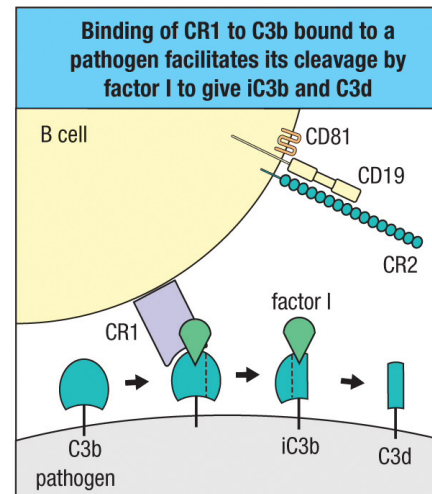
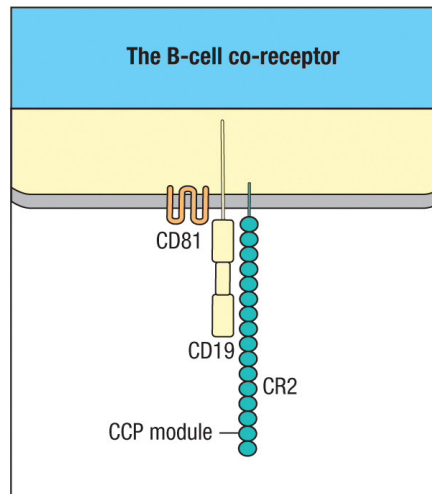
## 14.1.1.1. Co-receptor

**Fig. 9.2: structure and function of the B cell co-receptor**

**Fig. 9.3: Signals generated from the B-cell receptor and co-receptor combine to activate B cells in response to surface and soluble antigens.**

Naast BCR signaal is nog een ander signaal nodig voor activatie.

**B-cel coreceptor:** complement receptor of CR2, CD19(signaaltransductie) en CD81 (HCV receptor, functie onbekend). Bij gelijktijdige binding van BCR en co-receptor zal CD19 gefosforyleerd worden en aldus het signaal versterken. → koppeling van C3d (ligand voor CR2) aan antigeen verhoogt Ab productie 1000x.



Zoals bij T cellen is signalisatie via de BCR onvoldoende voor activatie:

- 1) BCR triggering en coreceptor triggering
- 2) signaal geleverd via CD4 T cellen: bv. CD40L: thymus-afhankelijk Ag OF signaal geleverd door het antigeen zelf

Changes in gene expression in the nucleus

Changes in gene expression in the nucleus

## 14.1.2. Thymus independent (TI) response: TI1 en TI2

### Thymus-independent (TI)-1 antigens can activate B cells without T-cell help.

Immunodeficiënte patiënten zonder T cellen, maken wat antistoffen tegen bacteriën: TI- antigenen

Thymus-onafhankelijke antigenen (TI-1) : geven extra signaal via innate immuun receptoren, op B cel zelf of op andere cel.

Vb.: LPS bindt aan TLR4 van B cellen of accessoire cellen en kan als secundair signaal dienen bij anti-LPS response en respons van B cellen tegen andere bacteriële componenten. Bacterieel DNA gedraagt zich gelijkaardig als LPS.

TI-1: B-2 (B-1) cellen  
Enkel IgM, kortdurend geheugen

Bij massaal vrijkomen van humaan DNA uit de kernen van de cellen (weefseldestructie) kunnen antistoffen gevormd worden tegen auto-loog DNA en RNA. Deze antistoffen zijn frequent bij auto-immuunziekten  
B cellen zijn niet tolerant voor intracellulaire macromoleculen!

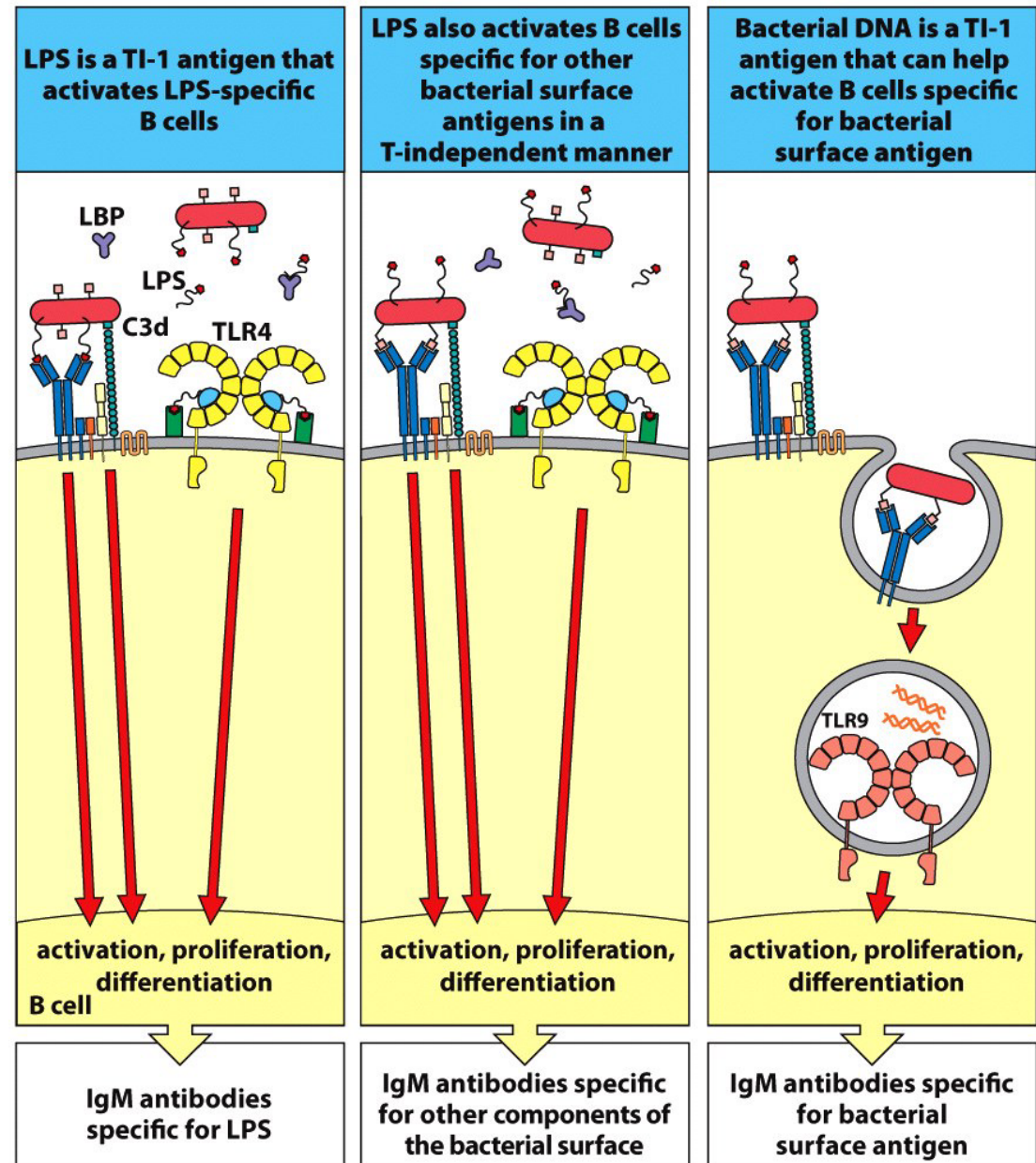
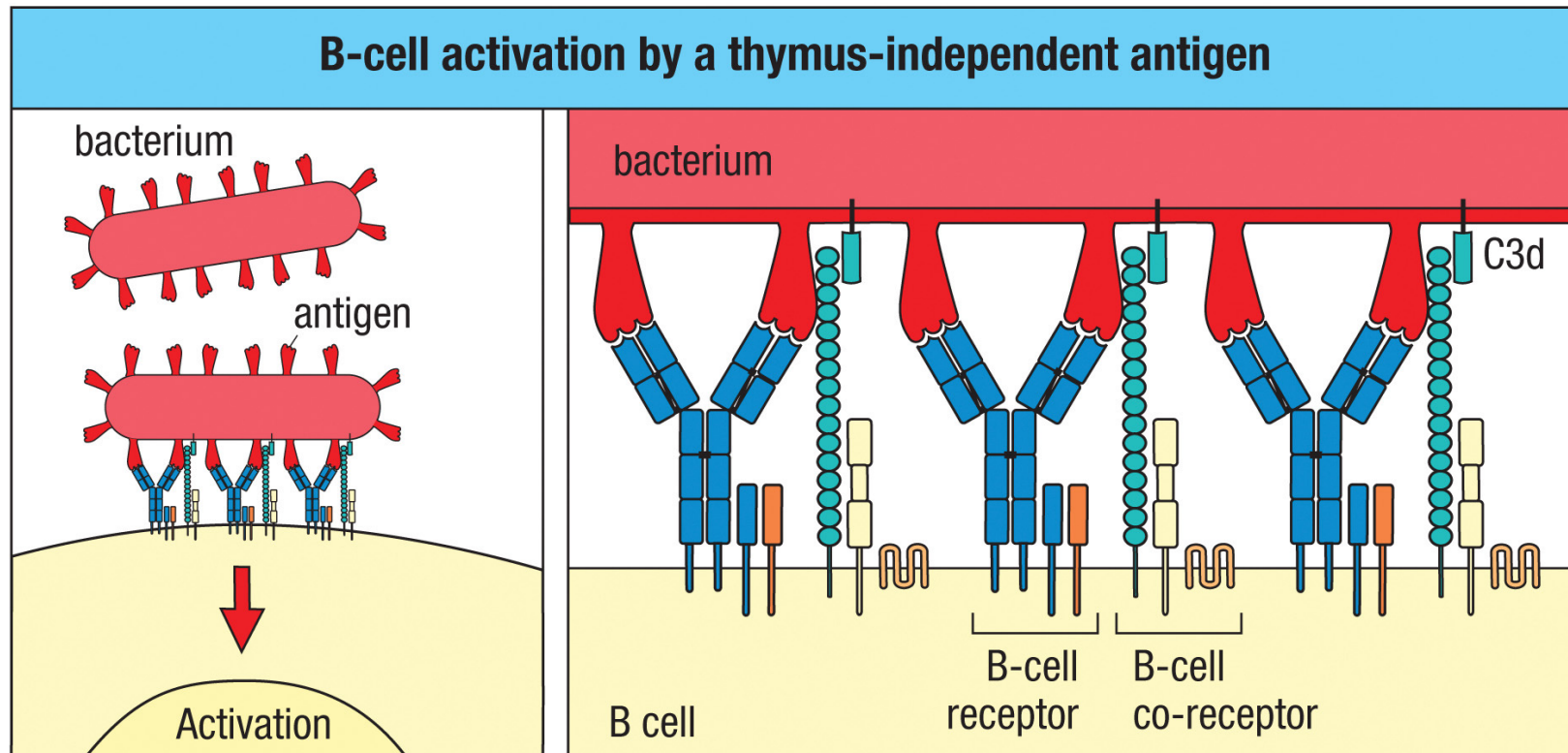


Figure 9.6 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

**Fig. 9.4 The signals generated by B cell receptors and co-receptors are sufficient to activate a minority of B cells**



**TI-2 antigenen: repetitieve suiker of eiwitepitopen aanwezig op pathogenen in hoge dichtheid geven een hoge mate van BCR crosslinking en activatie zonder vereiste van co-receptoren.**

**Antistofproductie binnen de 2 dagen**

**Meestal B-1 cellen**

**Zowel IgM als IgG, vooral IgM.**

**Geen somatische hypermutatie of isotype switch**

**Volledig ontwikkeld bij de mens vanaf 5 jaar.**

**Typisch: polysacchariden van het kapsel van bacteriën als *Streptococcus pneumoniae* (pneumokok). Zie vaccins**



## Extra.: Properties of different classes of antigen that elicit antibody responses

Property	TD antigen	TI-1 antigen	TI-2 antigen
Antibody response in absence of cognate T cells	No	Yes	Yes*
Antibody production in congenital athymic individuals	No	Yes	Yes
Antibody response in infants	Yes	Yes	No
Activates T cells	Yes	No	No
Induces immunological memory	Yes	No	No
Activation of non-specific B cells	No	Yes	No
Requires repeated epitopes	No	No	Yes
	Diphtheria toxin Viral hemagglutinin Purified protein derivative (PPD) of <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Bacterial lipopolysaccharide <i>Brucella abortus</i>	Pneumococcal polysaccharide Polymerized flagellin ( <i>Salmonella</i> )

Figure 7-6 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

## 14.1.3. Thymus dependent (TD) response

**Fig. 9.5. The dendrites of follicular dendritic cells can take up intact pathogens and antigens and preserve them for long periods.**

Geïnjecteerd radioactief gelabeld antigeen lokaliseert in follikels van drainerende lymfeknoop, en blijft hier verschillende dagen aanwezig

FDC binden antigeen op hun membraan d.m.v. complement receptoren (CR). Het antigeen wordt niet geïnternaliseerd. Antigenen kunnen maanden lang aanwezig blijven: verklaring voor deel van "immuun geheugen"

Ligatie van BCR en CD40 zijn noodzakelijk voor overleving van B cellen in kliercentrum

⇒ CD40: triggering door CD40L van TH cellen

⇒ BCR: triggering door antigeen dat gecapteerd wordt door folliculaire dendritische cellen (FDC)

→ zijn geen hematopoëtische cellen; geen verband met dendritische cellen

→ kunnen antigeen gecoat met Ab of complement, binden (FcR en CR)

→ geen internalisatie

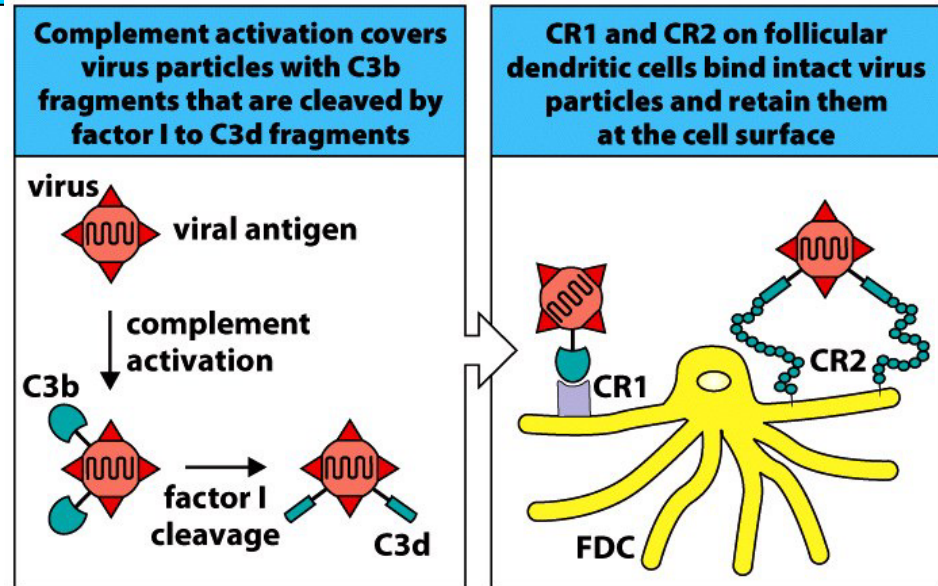
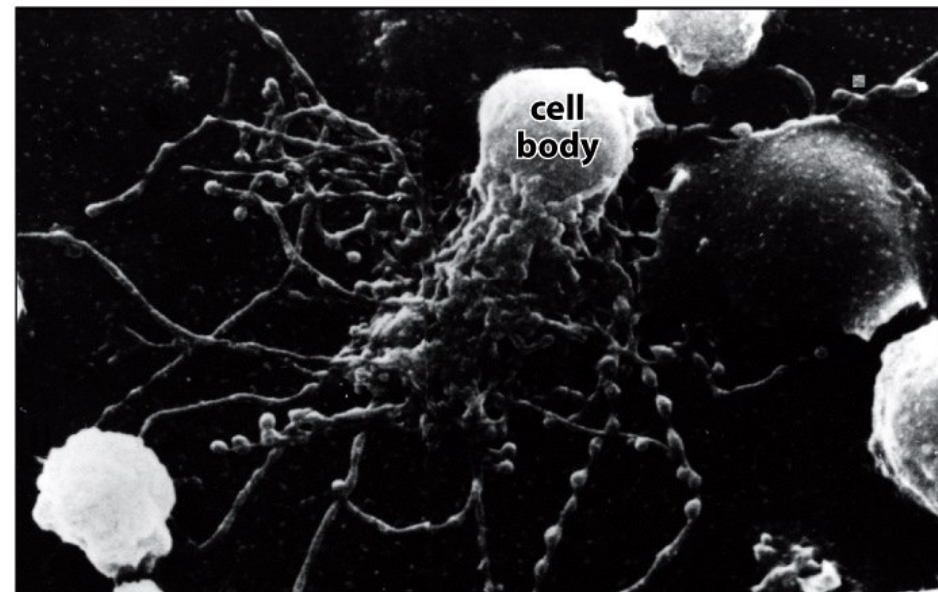
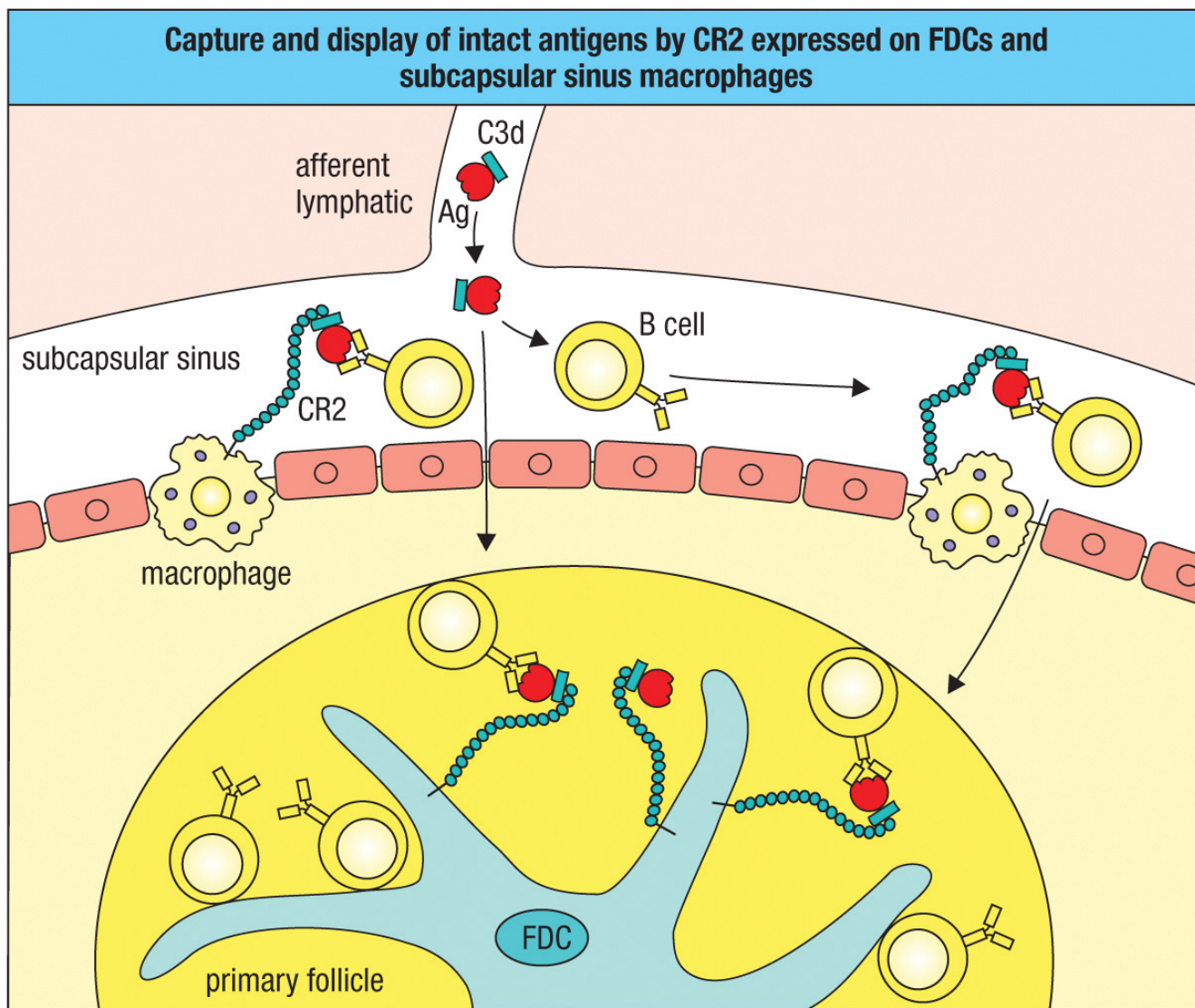


Figure 9.12 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)



**Fig. 9.6. Naive B cells recognize antigens captured by subcapsular sinus macrophages and follicular dendritic cells (FDCs)**



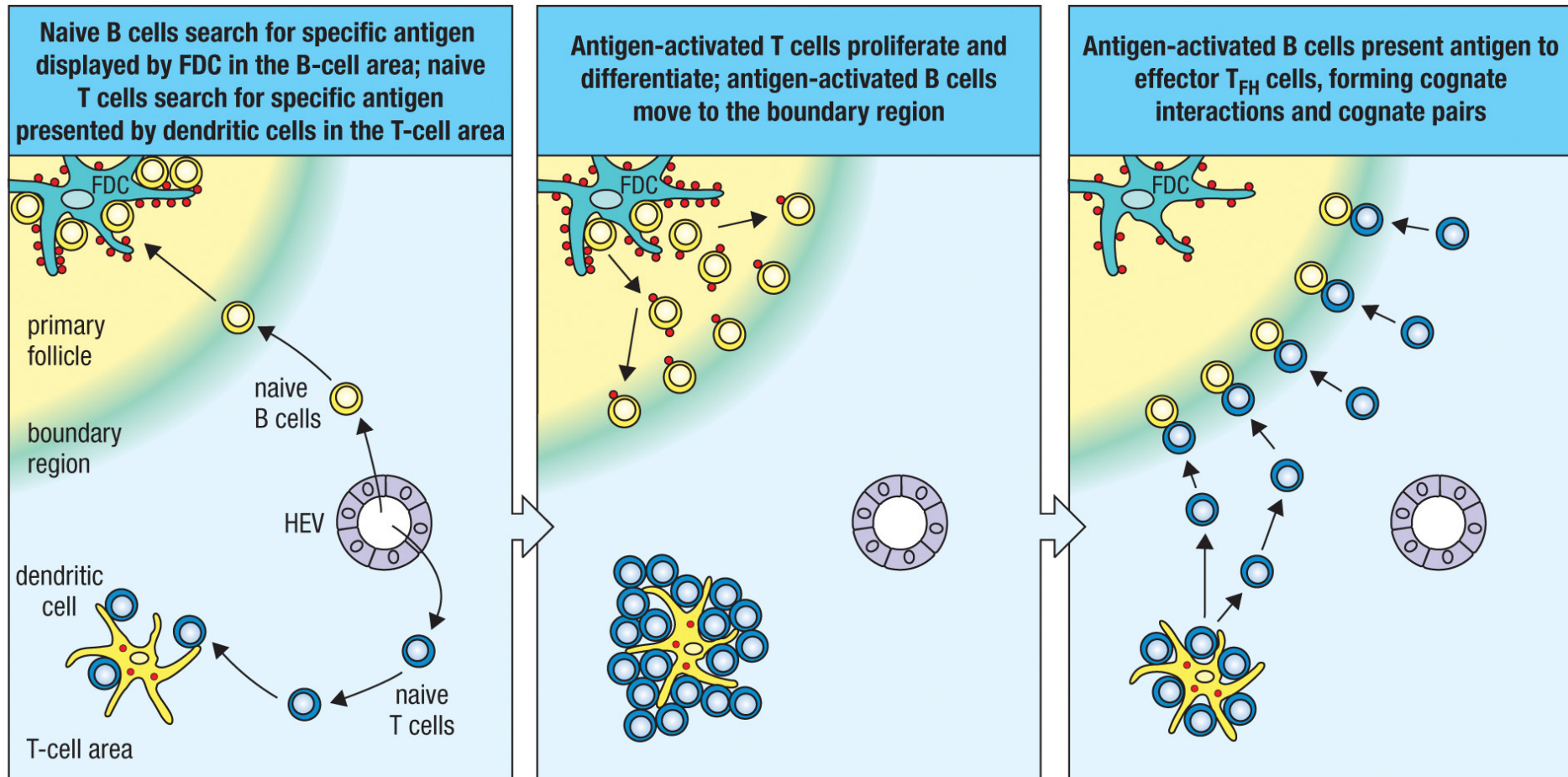
Folliculaire dendritische cellen (FDC) zijn cellen die ontstaan uit fibroblasten onder invloed van TNF en lymfotoxine (zie verder).

**Ze:**

- secreteren trofische factoren voor naïeve B cellen (BAFF)
- capteren antigenen op hun membraan.
- fagocyteren niet, bewaren het antigen in intacte vorm op hun membraan.
- doen dat aan de hand van CR.



**Fig. 9.7.: B cells activated by antigen in the B-cell area move to the area boundary, where they are helped by antigen-specific effector TFH cells coming from the T-cell area**



Vreemde antigenen in weefsels worden door APCn, vooral door DCn, gecapteerd, geprocessed en naar de T cel zone gebracht van de LN. Hier presentatie aan T cellen.

### Contact tussen B en TH cellen: lymfeknoep

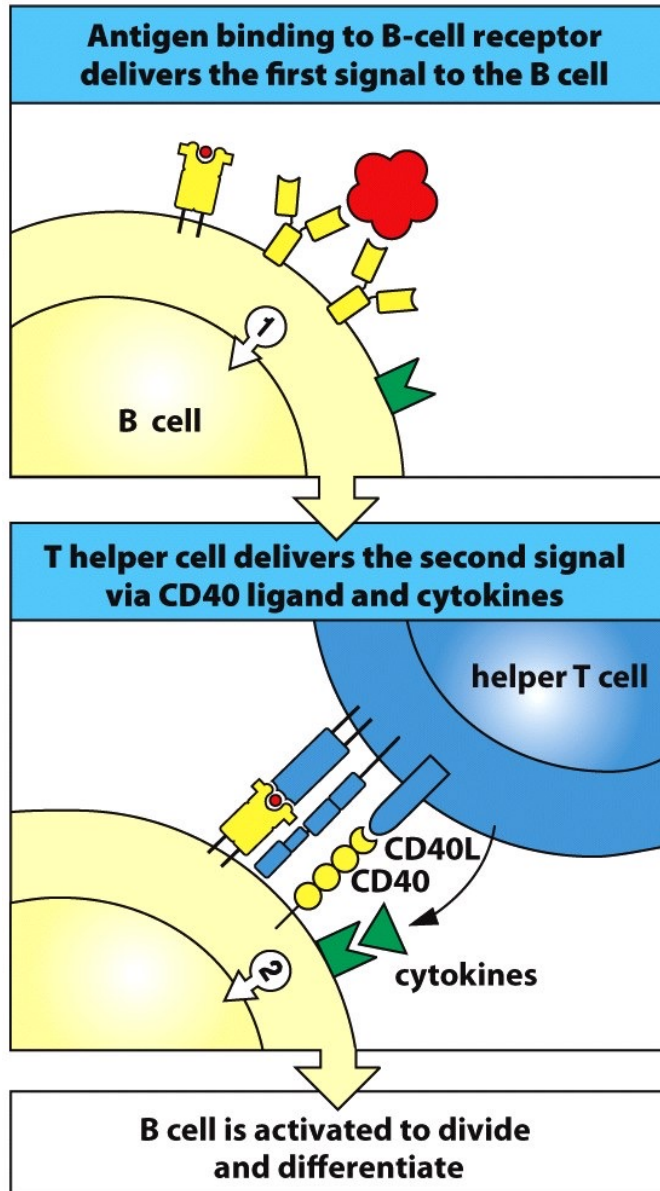
⇒ B en TH cellen treden allebei de lymfeknoep binnen via HEV

→ T cellen blijven in T cel zone indien peptide/MHC op APC herkend wordt.

→ B cellen migreren via T cel zone naar B cel zone.

By receptor stimulatie zoeken T en B cel elkaar op op de interfase van T en B zone

**Fig. 9.8 TFH cells help antigen-activated B cells through cell surface interaction between CD40 ligand and CD40 and by the targeted delivery of secreted cytokines to the B cell surface**



B-cel activatie voor TD antigenen vindt plaats in de secundaire lymfoïde organen.

BCR heeft twee functies in B cel activatie:  
 1. binding van antigeen geeft activatie; en  
 2. internalisatie en antigeenverwerking met presentatie op MHC klasse II. Via dit laatste krijgt de B cel een tweede stimulus van de T cel (CD40-CD40L) en T lymfokines (IL-21).

Beide signalen zijn nodig voor B cel proliferatie en differentiatie tot plasmacel.

De B cel zal de antigenen die binden op de BCR presenteren via MHC klasse II, waardoor nu geactiveerde T cellen kunnen interageren met de B cel. Hierdoor krijgt de Th cel een chemokine receptor waardoor deze kan migreren naar de B cel zone van de LN.

Figure 9.9 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)



**Fig. xx The primary and secondary foci for expanding antigen-activated B cells occur at different sites in the lymph node**

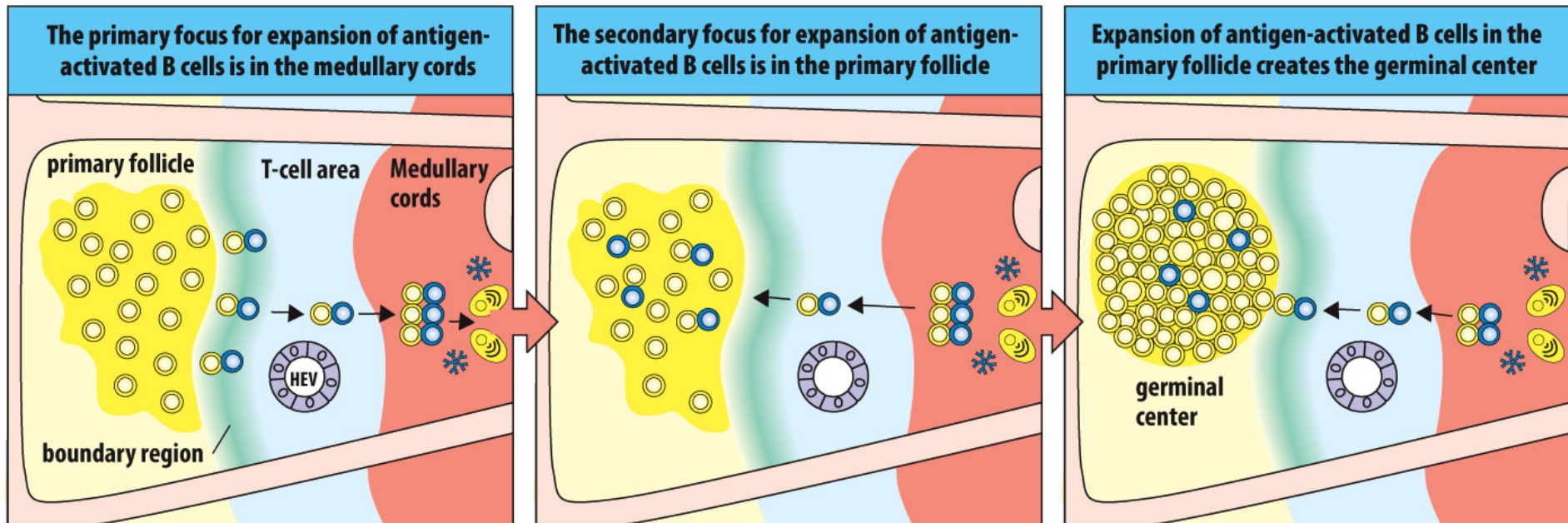


Figure 9.9 The Immune System, 4th ed. (© Garland Science 2015)

**Enkele dagen na blootstelling:**

**(figuur links)**

**B cel proliferatie leidt tot primaire focus (niet te verwarren met primaire follikel). B cellen differentiëren er tot plasmacellen.**

**Primaire focus: delende B lymfoblasten in de medulla, duurt enkele dagen.**

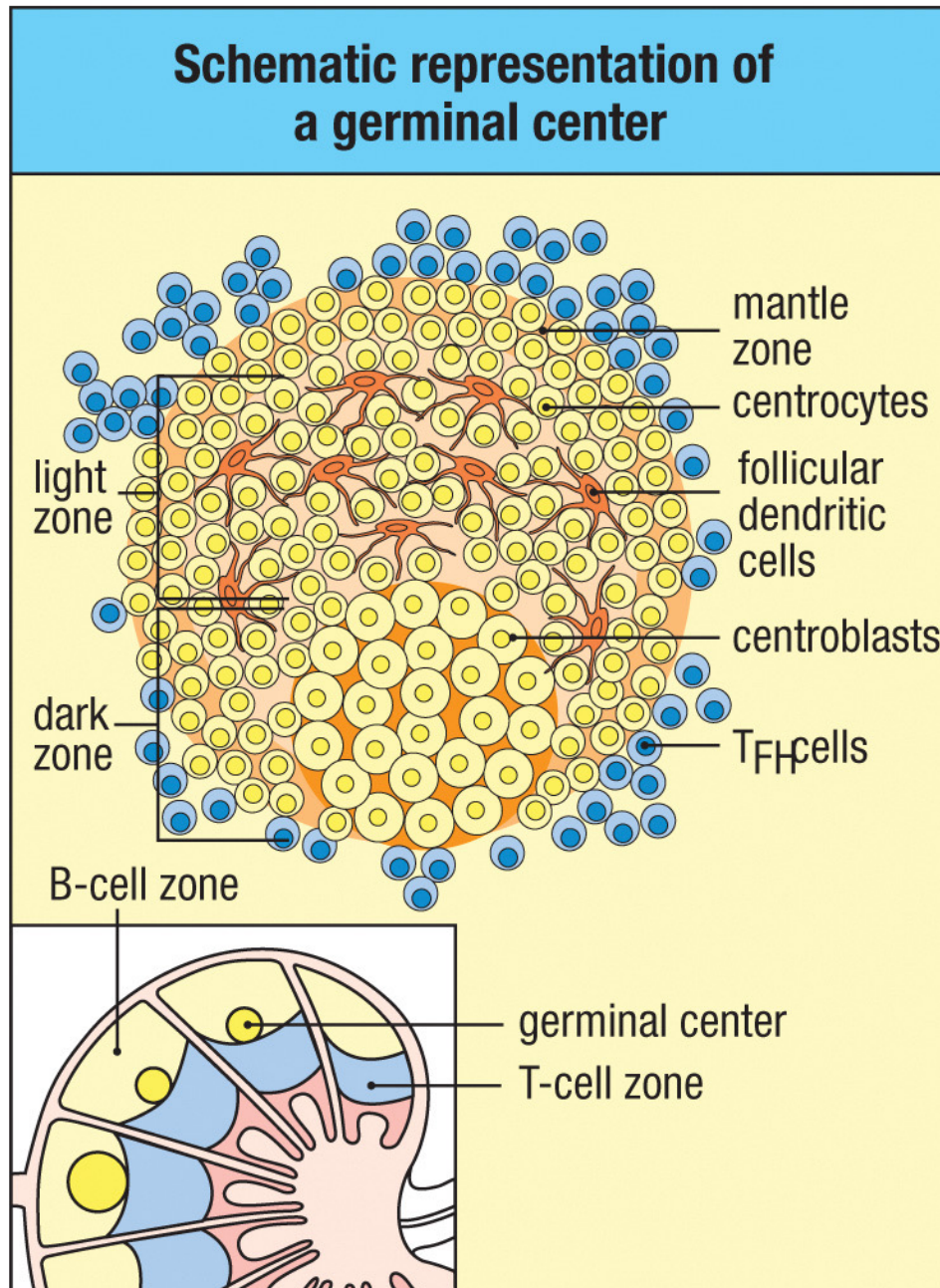
**Sommige lymfoblasten gaan naar de medulla en differentiëren tot plasmacellen en secreteren IgM  
Secretie van Ab = onmiddellijke protectie. Vooral IgM. Dit zijn de eerste T dependente antistoffen die gevormd worden. Nog geen affiniteitsmaturing.**

**(figuur rechts)**

**5-7 dagen na blootstelling: kiemcentrum of secundaire focus in cortex**

**Affiniteitsmaturing en isotype switching.**

**Fig. 9.11. Anatomy of the germinal center: the place where activated B cells undergo affinity maturation and isotype switching.**

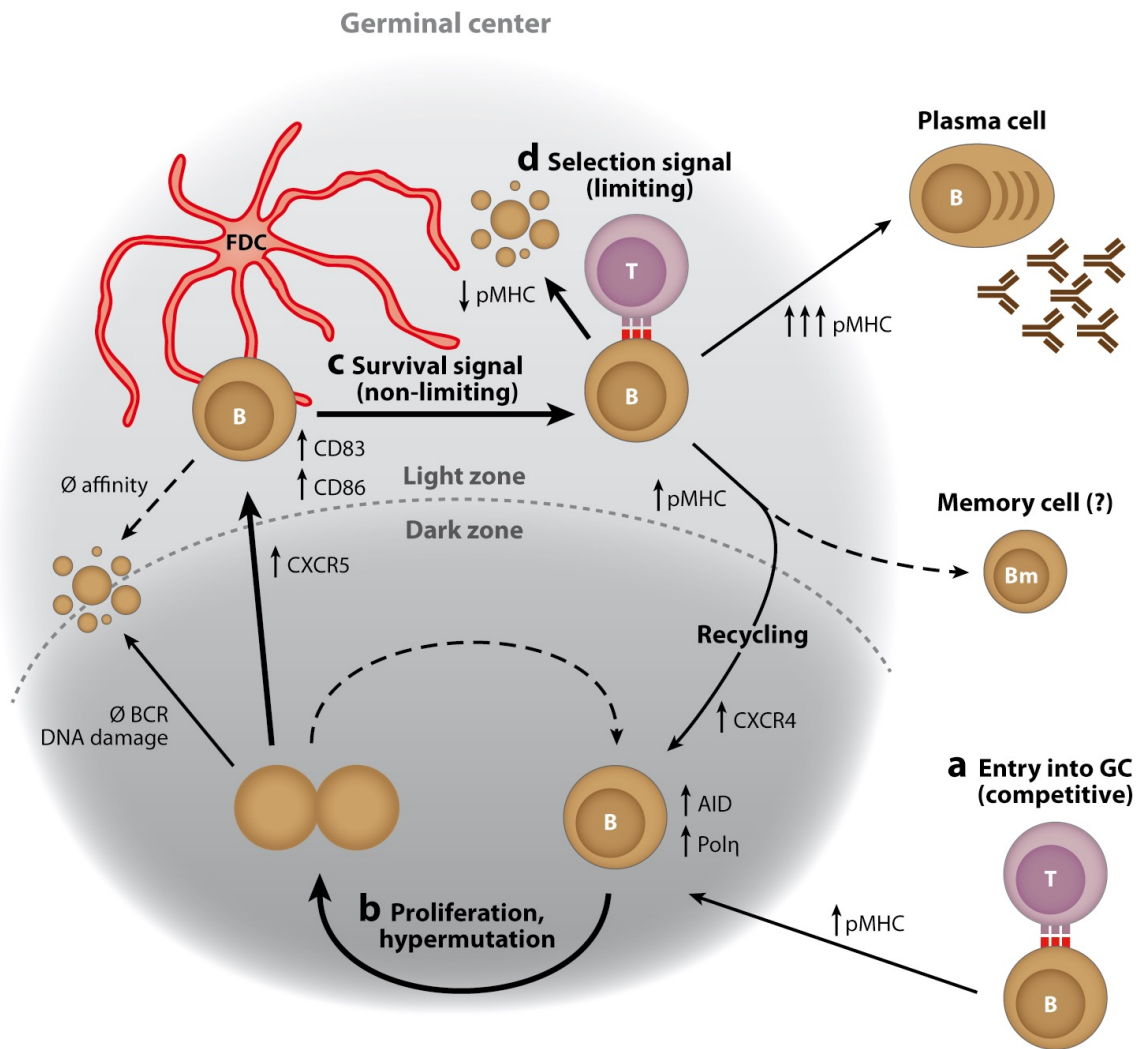


**Secundaire focus:** andere lymfoblasten gaan samen met de TH naar de primaire follikel; gaan daar sneller delen, en worden zeer groot: centroblasten.

Hierdoor verandert de morfologie van de primaire follikel en ontstaat een kiemcentrum, bestaande uit centroblasten (snel delende, hypermuterende B cellen die BCR negatief zijn)(dark zone), BCR+ centrocyten, die niet meer delen en die interageren met de folliculaire dendritische cellen (FDC).

FDC concentreren antigeen nodig voor selectie van hoog affiene antigeen-specifiek B cellen (light zone).

Een kiemcentrum bevat de afstammelingen van 1 of enkele B en T cellen. De mantelzone is niets anders dan niet-antigeen reactieve B cellen die weggeduwd worden door de antigeen-reactieve geactiveerde B cellen



AR Victora GD, Nussenzweig MC. 2012.  
Annu. Rev. Immunol. 30:429–57

Centrocyten zijn hypergemuteerde B cellen die antigeen van de FDC opzoeken (c). Centrocyten ondergaan apoptose tenzij deze een BCR hebben die sterk antigeen bindt, dat dan na processing ervoor zorgt dat een specifiek T helper signaal ontvangen wordt (d). Herinner u dat hypermutatie overall in het  $V_H$  en  $V_L$  kan optreden, maar dat enkel deze in de CDR aanleiding geven tot hoog-affiene B cellen (hoofdstuk 9) Nadat ze antigeen gecapteerd hebben van de FDC migreren ze verder naar de rand van de follikel op zoek naar TH cellen. B-TH interactie beschermt de B cel tegen apoptose (d). Dit gehele proces heeft tot doel enkel de B cellen met hoge affiniteit te selecteren (affiniteitsmaturing) Hoog affiene B cellen (centrocyten) verlaten de LN als plasmablasten. In het BM differentiëren deze tot plasmacellen.



**Fig. 9.12. After undergoing somatic hypermutation, centrocytes with high affinity receptors for antigen are rescued from apoptosis**

In kiemcentrum: somatische hypermutatie: Ig V-regio genen hebben 1 mutatie per  $10^3$  baseparen per celdeling (normaal  $1/10^{10}$ ).

Vermits een V-regio gen 360 baseparen heeft, is er gemiddeld 1 mutatie per 2 celdelingen.

⇒ **Negatieve mutatie:**

- introductie stopcodon
- verandering framework regio AA zodat er geen correcte Ig opvouwing meer is
- lagere affiniteit.

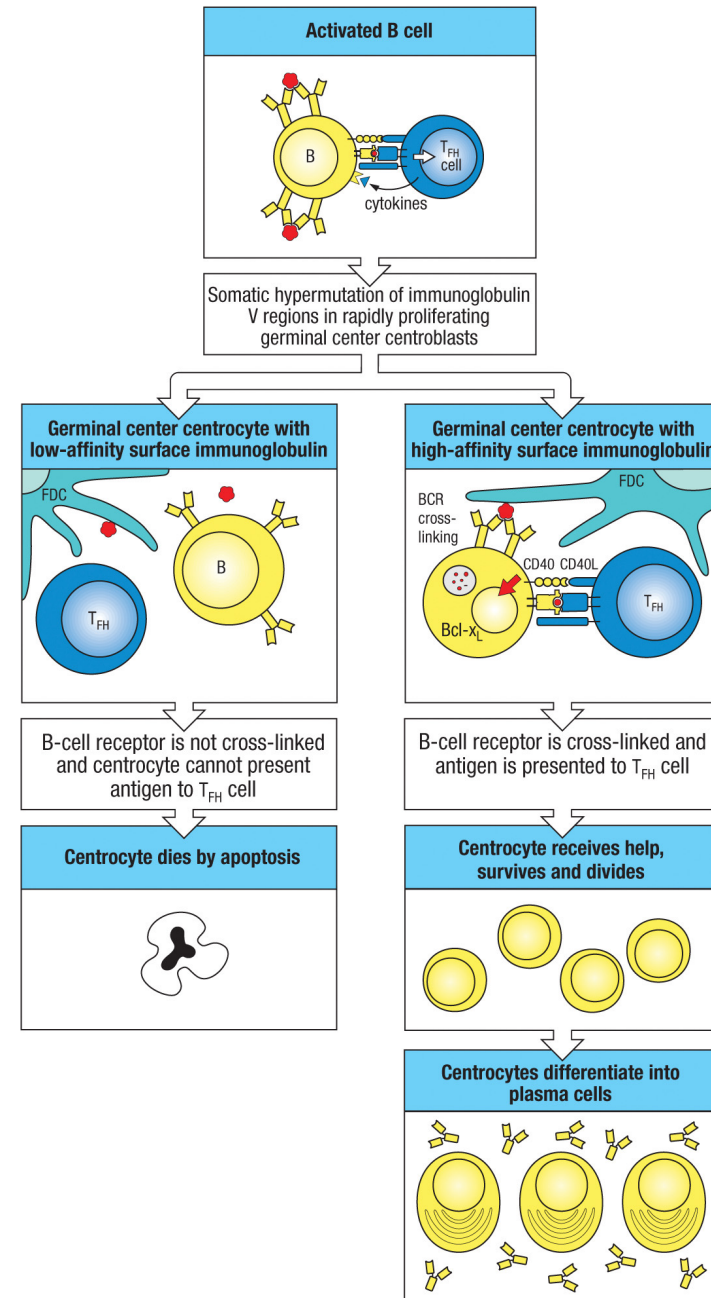
⇒ **Positieve mutatie:**

- mutaties in CDRs die leiden tot hogere affiniteit

⇒ **negatieve selectie:** apoptose van B cellen met een negatieve mutatie: geen voldoende BCR triggering en T cel help meer. Fagocytose door macrofagen (“tingible body macrofagen”).

⇒ **positieve selectie:**

- stimulatie van celdeling van B cellen met positieve mutatie
- differentiatie naar plasma cellen en geheugen cellen



**Fig. 9.13: Different cytokines induce B cells to switch to different immunoglobulin isotypes.**

Influence of cytokines on antibody isotype switching in mice							
Cytokine	IgM	IgG3	IgG 4	IgG2	IgG 1	IgA	IgE
IL-4	Inhibits	Inhibits	Induces		Inhibits		Induces
IL-5						Augments production	
IFN- $\gamma$	Inhibits	Induces	Inhibits		Induces		Inhibits
TGF- $\beta$	Inhibits	Inhibits		Induces		Induces	

Figure 7-14 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

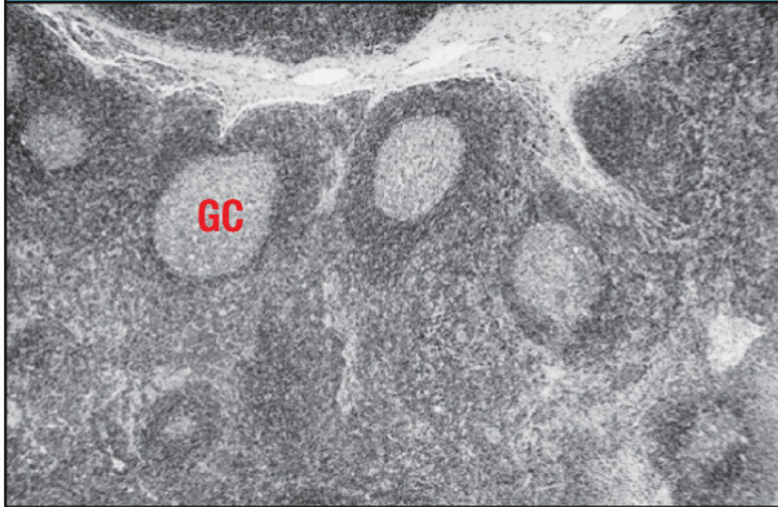
**Isotype switching:**

- ⇒ ander Fc fragment aan hetzelfde variabel deel van de zware keten; DNA herschikking.  
Naïeve B cellen: celmembraan IgM en IgD. Plasma cellen: eerst IgM secretie, later vooral IgG en IgA, minder IgE
- ⇒ vereist expressie van CD40L door TH cel, en wordt gestuurd door cytokines: verschillende cytokines induceren switching naar verschillende isotypen

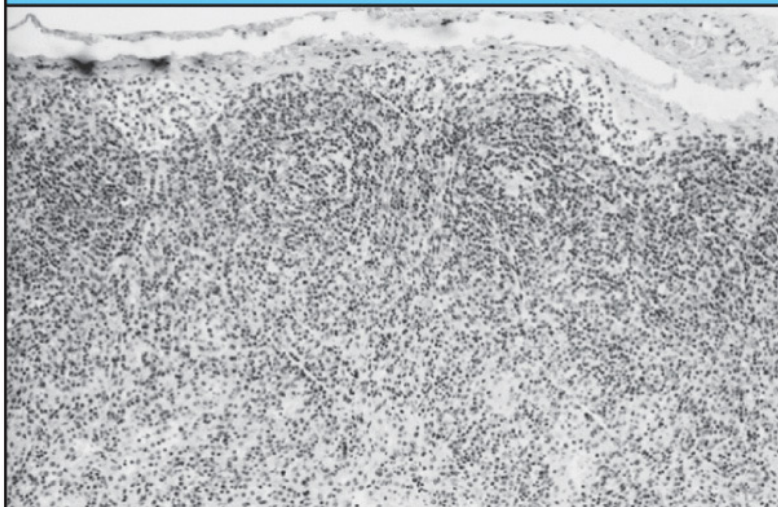
**Bewijs** van rol van CD40L in isotype switch: personen zonder CD40L produceren alleen IgM Abs

## Fig. 9.14 Lymph node in a patient with hyper-IgM syndrome compared with a normal lymph node

### Normal lymph node showing germinal centers



### Lymph node from patient with CD40 ligand deficiency



(top) Courtesy of Antonio Perez-Atayde; (bottom) Photograph courtesy of R. Geha

In kiementrum: somatische hypermutatie, eveneens isotype switch.

Voor isotype switch nodig: cognate interacties met T cellen in het kiemcentrum

Na proliferatie van de B cellen is het contact met Th cellen voor de volgende processen noodzakelijk:

- verdere proliferatie
- differentiatie naar plasma cel
- differentiatie naar geheugencel.

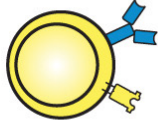
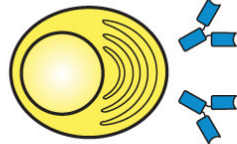
Vroeg in het proces vooral plasmacel differentiatie, op einde van de inflammatie vooral geheugencellen.

Hyper-IgM syndroom (CD40L deficiëntie):

- geen IgA, IgG of IgE,
- geen antistoffen tegen TD antigenen
- geen kiemcentra.

Kiemcentra zijn ook afwezig bij IL-21 defect.

**Fig. 9.16: Comparison of key properties of naive B cells and plasma cells**

	Intrinsic property			Inducible property		
B-lineage cell	Surface Ig	Surface MHC class II	High-rate Ig secretion	Growth	Somatic hypermutation	Isotype switch
 Naive B cell	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes
 Plasma cell	No	No	Yes	No	No	No

**B cellen (Pax5+) differentiëren tot plasmacellen (BLIMP1+)**

**Plasma cellen zijn gespecialiseerd in productie en secretie van Ab**

**In tegenstelling tot naïeve B cellen kunnen plasma cellen**

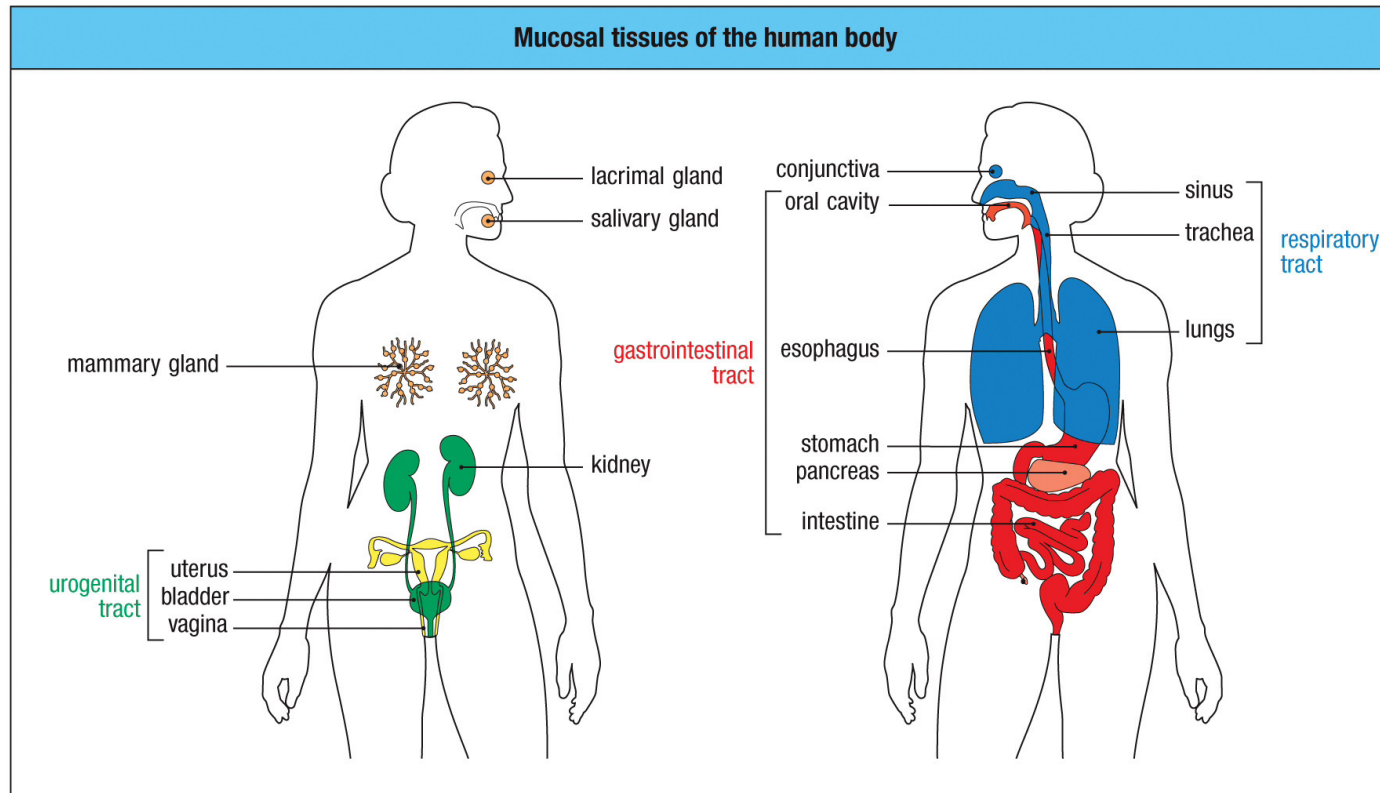
- ⇒ geen antigeen meer presenteren aan T cellen
- ⇒ geen somatische hypermutatie of isotype switch meer ondergaan
- ⇒ T1/2 in BM van jaren



## 14.1.4. Mucosale immuniteit

### 14.1.4.1. De mucosale barrière: mucus en microbiota

Fig. 10.1: distribution of mucosal tissues



**Meeste bacteriën en virussen dringen het lichaam binnen via de mucosae: luchtweginfecties, urineweginfecties, genitale infecties, gastro-enteritis. Deze barrières zijn omwille van hun functie dun en broos in vergelijking met de huid. Ter bescherming is de mucosa afgedekt met mucus, een dikke visceuze vloeistof.**

**Het oppervlak van alle mucosae is vele malen groter dan dat van de huid, terug in lijn met hun functie. Drie kwart van alle lymfocyten en plasma cellen bevindt zich in de secundaire lymfoïde organen die de mucosae draineren. Bijkomend feit: de mucosa van de darm is continu in contact met lichaamsvreemde commensalen en voedingsstoffen en af en toe met een pathogeen.**



## Fig. 10.2: The structure of mucins gives mucus its characteristic protective properties

Mucus bestaat voornamelijk uit glycoproteïnen, mucines genaamd, gesecreteerd door het epitheel. De mucines bestaan uit een polypeptideketen rijk aan serine en threonine. Hierop worden de suikerketens covalent gebonden. De suikerketens zijn kort en negatief geladen (siaalzuurrijk). Door deze suikerketens heeft de eiwitketen geen secundaire of tertiäre structuur. Bovendien bestaan de terminale gedeeltes uit cysteïnes waardoor ze via zwavelstofbruggen aan elkaar of aan Ig kunnen gekoppeld worden: visceuze eigenschappen. Mucus verhindert uitdroging en beschermt tegen bacteriële en virale adhesie aan epitheelcellen. Bovendien concentreert het door de negatieve lading de defensines en dimeer IgA.

Naast gesecreteerde mucines, zijn er ook membraanre mucines die niet gecrosslinkt worden (minder taaië mucuslaag dicht bij de cellen). Naargelang de mucosa worden andere mucines geproduceerd.

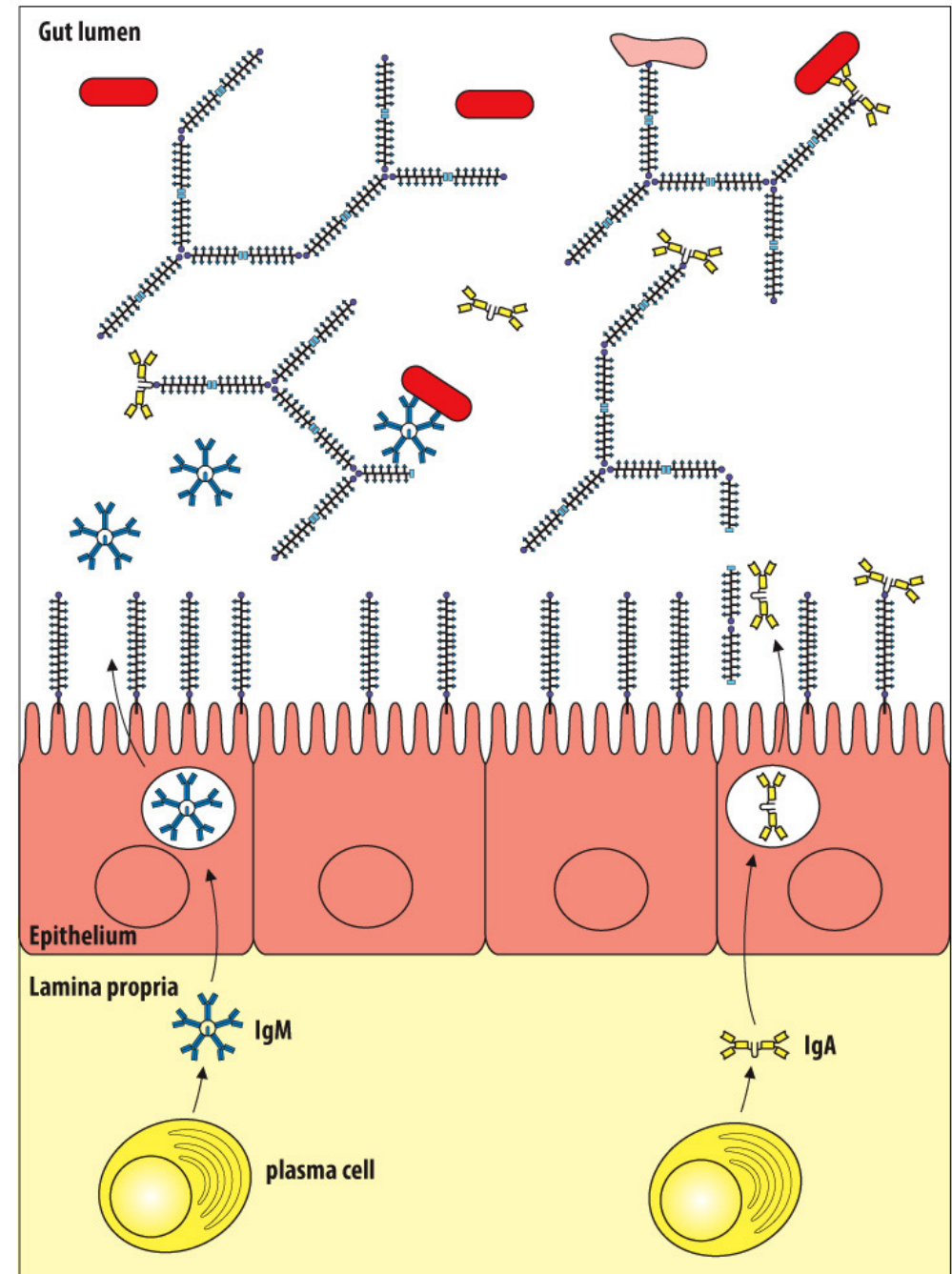
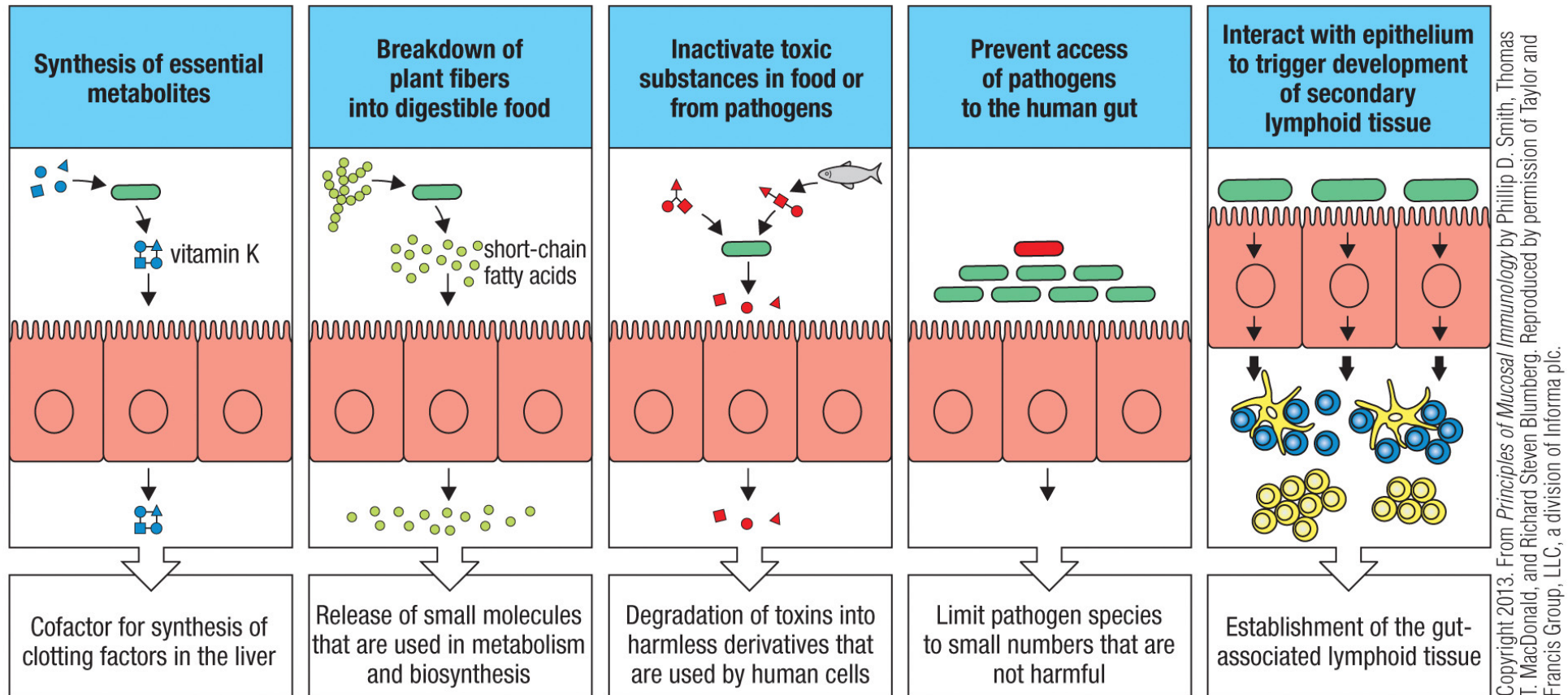


Figure 10.19 The Immune System, 4th ed. (© Garland Science 2015)

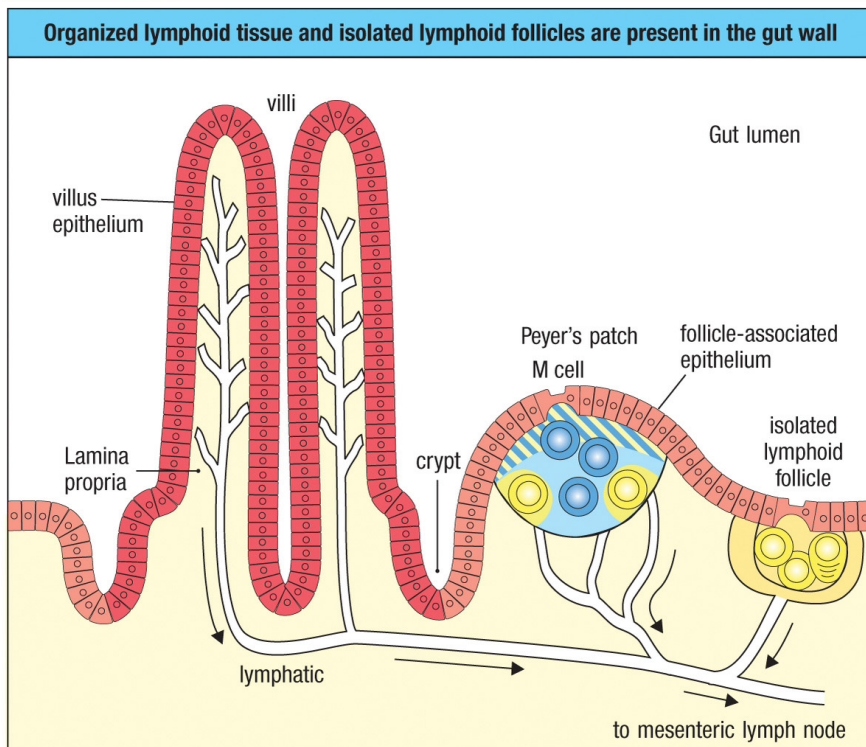
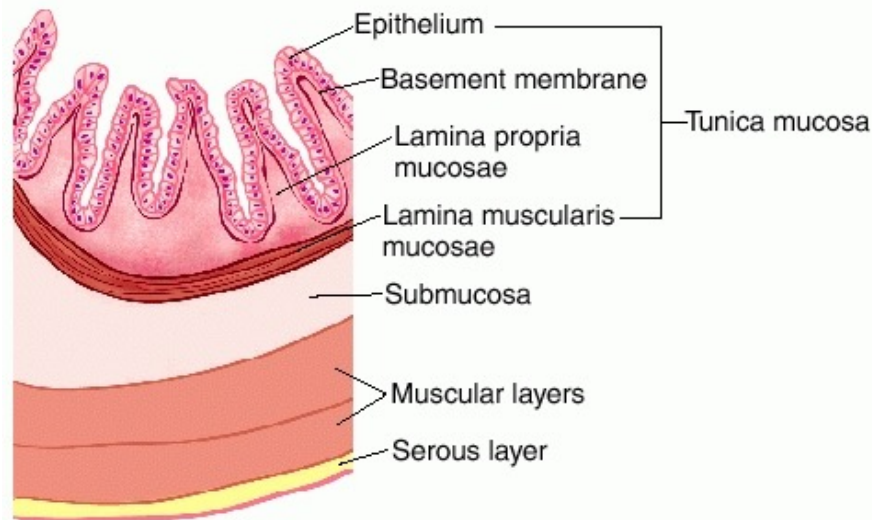
**Fig. 10.5: Five ways in which the commensal gut microbiota benefit their human host**



De commensale flora die zeer dicht is in het colon ( $10^{12}$ ) per mL bestaat uit een 150 tal verschillende bacteriën die voedselvezels en gluten kunnen verteren. Hierbij produceren ze vitK die nodig is voor de aanmaak van stollingsfactoren door de lever, en butyraat (korte keten vetzuren), die als energiebron dienen voor de colonmucosa. Door de aanwezigheid van deze bacteriën in grote getallen die op elkaar afgestemd zijn, waarbij de afvalstof van de ene bacterie, het voedsel is van de andere bacterie, is er geen beschikbaar voedsel voor binnendringende bacteriën en kunnen ze zich niet handhaven. Infecties worden bijna altijd veroorzaakt door pathogenen en niet door endogene flora. Hoewel commensalen doorgaans zo geëvolueerd zijn dat ze nog nauwelijks inflammatie opwekken, is het toch zo dat bepaalde commensalen bijdragen tot de ontwikkeling van het secundair lymfoid weefsel en de algemene activatiegraad van het immuun systeem.

## 14.1.4.2. Mucosa geassocieerd lymfoïd weefsel

**Fig. 10.7: Gut associated lymphoid tissues and lymphocytes**



Lymfoïd weefsel bevindt zich in het epitheel (intra-epitheliale lymfocyten), in de lamina propria (Peyerse platen, geïsoleerde lymfoïde follikels) (samen gut-associated lymfoïd tissue of GALT) en buiten de darm in mesenteriale LN.

Bij mucosa zijn er dus niet enkel drainerende LN zoals bij de huid, maar ook plaatselijk secundair lymfoïd weefsel (mucosa-associated lymfoïd tissue of MALT). Dit MALT heeft in grote lijnen dezelfde structuur als in de LN: T (blauw) en B zones (geel) en kiemcentra.

Bij de ingang van het GI/ resp stelsel bevindt zich de Ring van Waldeyer. Dit bestaat eveneens uit secundair lymfoïd weefsel. Dit bestaat uit de tonsillen en de keel adenoiden. Bij kinderen is dit hyperactief en kan door zwelling voor veel problemen zorgen.

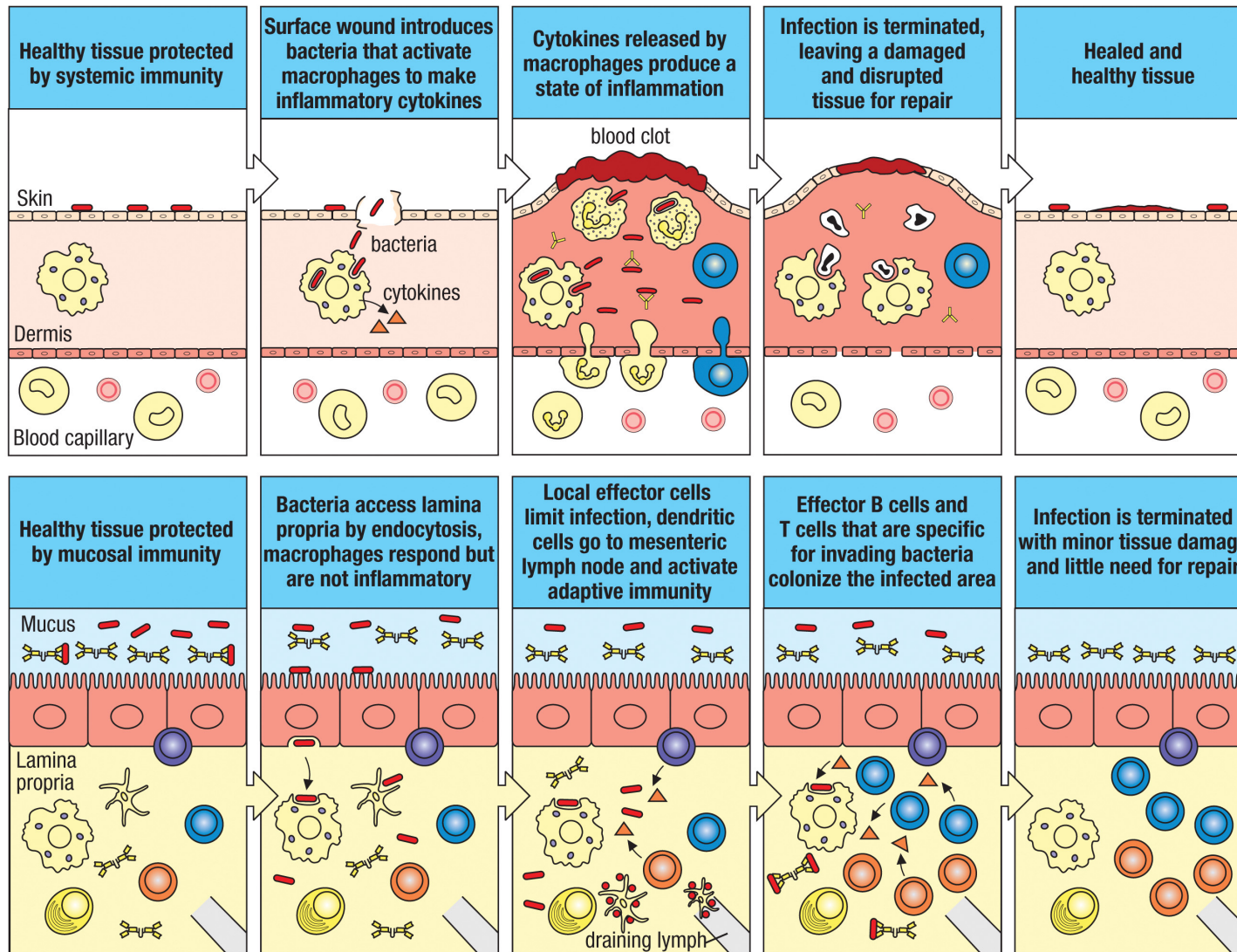
**Peyerse platen:** zijn begrensd door enterocyten (epitheelcellen) en gespecialiseerde Microfold cells of M cells. Onder het epitheel: subepitheliale koepel (geel blauw gestreept) rijk in DC, B en T cellen. Ernaast B (kiemcentra, geel) en T (blauw) celgebieden. Geïsoleerde lymfoïde follikels bestaan uit 1 follikel van B cellen.

Secundair lymfoïd weefsel ontstaat in bindweefsel na inwerking van TNF/LT waardoor fibroblasten differentiëren naar FDC met attractie van immuuncellen. Chronische inflammatie: nieuwvorming van follikels.



## 14.1.4.3. Anti-inflammatoir milieu

**Fig. 10.9: The systemic and mucosal immune system use different strategies for coping with infection**



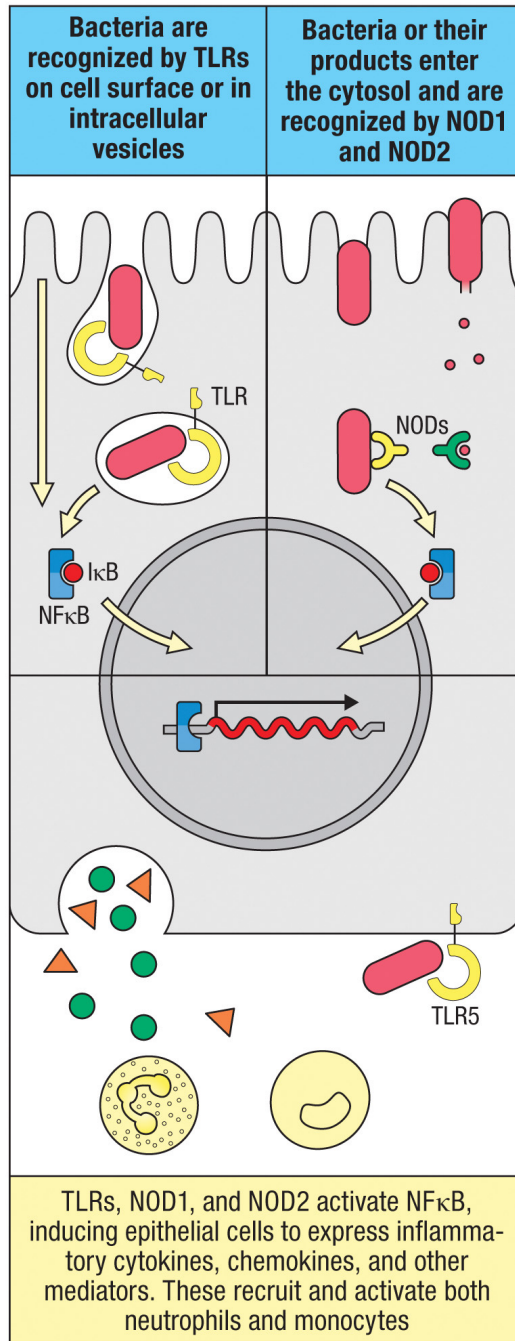
**Scenario huid: indringer-inflammatie- recruitment innate immuun systeem- activatie adaptief immuun systeem- genezing.**

**Bij mucosa (darm): constante adaptieve immuun respons tegen microorganismen: effector T cellen, plasmacellen (geen week wachten op respons).**

**Bovendien: onderdrukken van inflammatie. In deze omstandigheden zal inflammatie meer kwaad doen dan goed.**

**Mechanisme: Treg (TGF $\beta$ , IL10). Zowel deficiëntie van TGF $\beta$ , als IL10 als IL-2 (groeifactor voor Treg): Crohn-achtig ziektebeeld.**

**Fig. 10.10: Epithelial cells contribute to the defense of mucosal tissue**



Copyright 2013. From *Principles of Mucosal Immunology* by Phillip D. Smith, Thomas T. MacDonald, and Richard Steven Blumberg. Reproduced by permission of Taylor and Francis Group, LLC, a division of Informa plc.

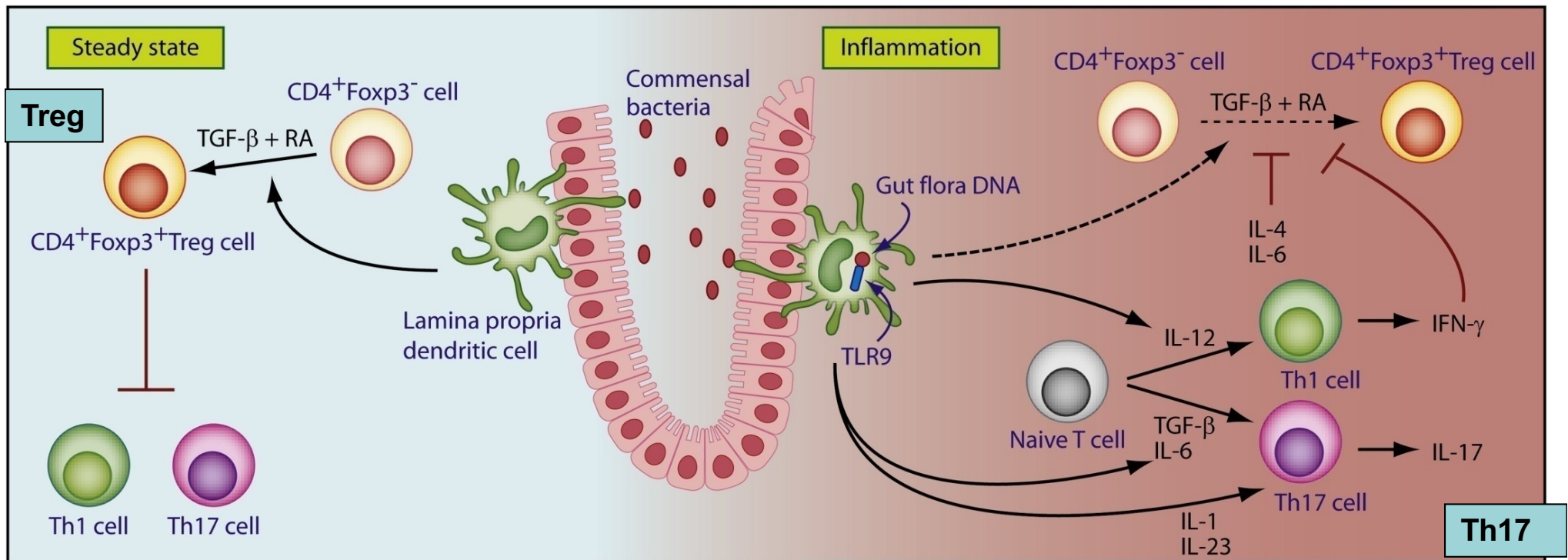
### 1. Inflammatie opgewekt door epitheelcellen

**TLR op epitheelcellen en NOD receptors in cytoplasma worden geactiveerd door binnendringende bacteriën: NFκB activatie en autofagie, productie van defensines, chemokines, wat IL1/6.: aantrekken van neutrofielen, monocyten, T cellen.**

**Gevolg: snelle maar beperkte inflammatoire reactie**

### 2. Inflammatie opgewekt door macrofagen

**Darmmacrofagen fagocyteren en doden bacteriën maar wekken geen inflammatie op. Dit is het gevolg van inwerking op de macrofaag van TGFβ en IL-10**



In de mucosa is een hoge concentratie van TGF- $\beta$ . Ook Treg maken TGF $\beta$  en zijn vooral in de mucoae aanwezig. Presentatie van dendritische cellen zonder veel activatie leidt tot retinoïnezuur(RA) productie van de DC en preferentieel uitgroei van Treg. T reg onderdrukt door TGF $\beta$  productie activatie van andere T cellen. Treg induceren B cellen tot IgA switch.

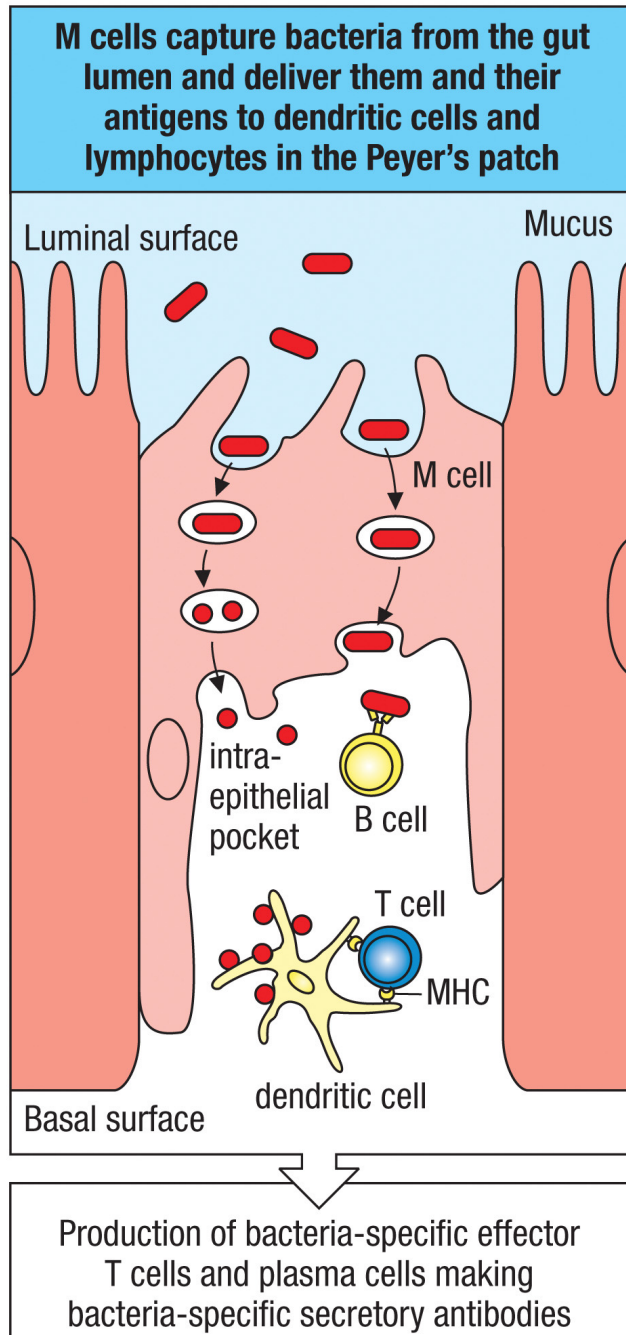
Bij inflammatie wordt ook IL6 gevormd. De combinatie van TGF $\beta$  en IL6 geeft aanleiding tot Th17 cellen. Deze bevorderen granulocyteninflux, granulocytenaanmaak en granulocytenactivatie (IL-17). Bovendien bevorderen ze epitheelintegriteit en productie van defensines (IL-22)

### Suppressie van T cel activiteit.

- TH1 kan als suppressor cel fungeren voor TH2 en omgekeerd.
- Treg of T regulatorcellen. Deze cellen kunnen onder bepaalde condities de immuunrepons onderdrukken. Zij worden opgewekt door TGF $\beta$  en secreteren TGF $\beta$ . TGF $\beta$  is immuun suppressief en is een switch factor voor IgA



**Fig. 10.13: Uptake and transport of antigens by gut M cells.**



Peyerse platen zijn het secundair lymfoïd weefsel van de darm. Deze zijn opgedeeld in B en T cel zones en bevatten kiemcentra na stimulatie.

M cellen brengen antigenen uit de darm naar de Peyerse platen, die antigenen worden gecaptureerd door DC. Op de plaats van de M cellen is er geen beschermende mucuslaag zodat de antigenen preferentieel hier naar binnen dringen.

Deze M cellen hebben weinig lysosomen die de inhoud van de fagosomen verteren. De antigen beladen DC migreren vervolgens naar de T celgebieden van de Peyerse platen of de drainerende LN, en kunnen door T-B coöperatie dimeer IgA produceren.

Pathogenen zoals Shigella en poliovirus maken gebruik van de M cellen om het lichaam binnen te dringen.

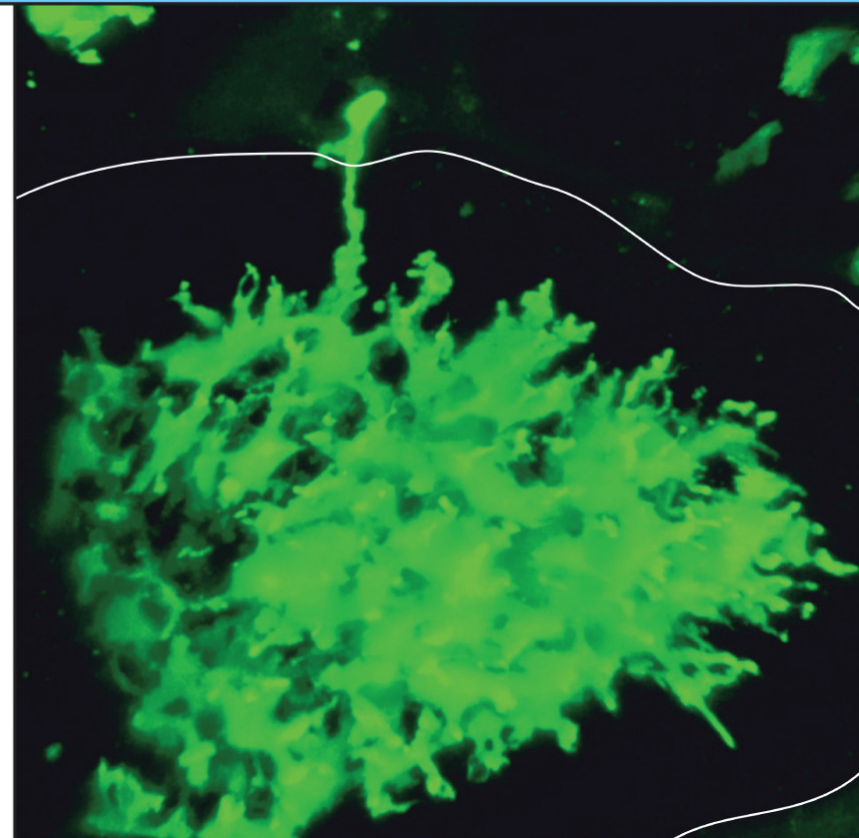
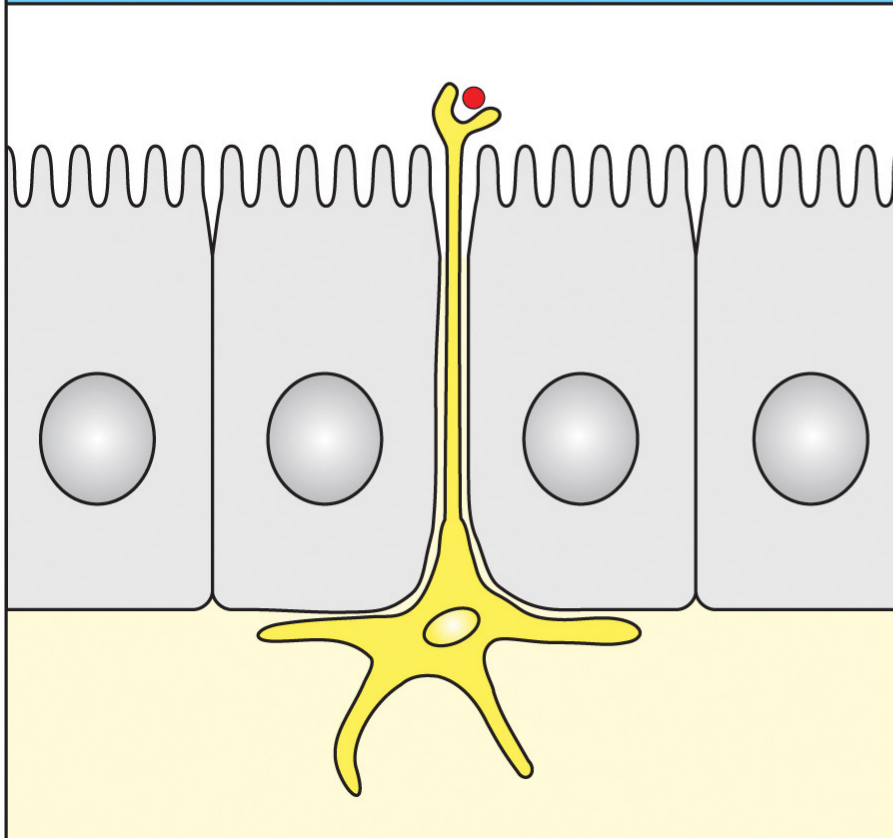
T cellen recirculeren zoals in lymfeknopen: komen binnen via het bloed en verdwijnen via de lymfe, tenzij wanneer ze geactiveerd worden.

## Fig. 10.14: Capture of antigens from intestine by dendritic cells in the lamina propria.

Ook in de lamina propria kunnen antigenen vanuit het darmlumen opgenomen worden. Dit gebeurt vooral door dendritische cellen via lange uitlopers gelegen tussen de epitheelcellen.

De foto rechts toont een fluorescent gelabelde dendritische cel. De darmepitheelcellen zijn niet gekleurd, en dus onzichtbaar. De witte lijn markeert de luminale oppervlakte van het epitheel.

**Dendritic cells extend their processes across the epithelium to capture antigen from the lumen of the gut**





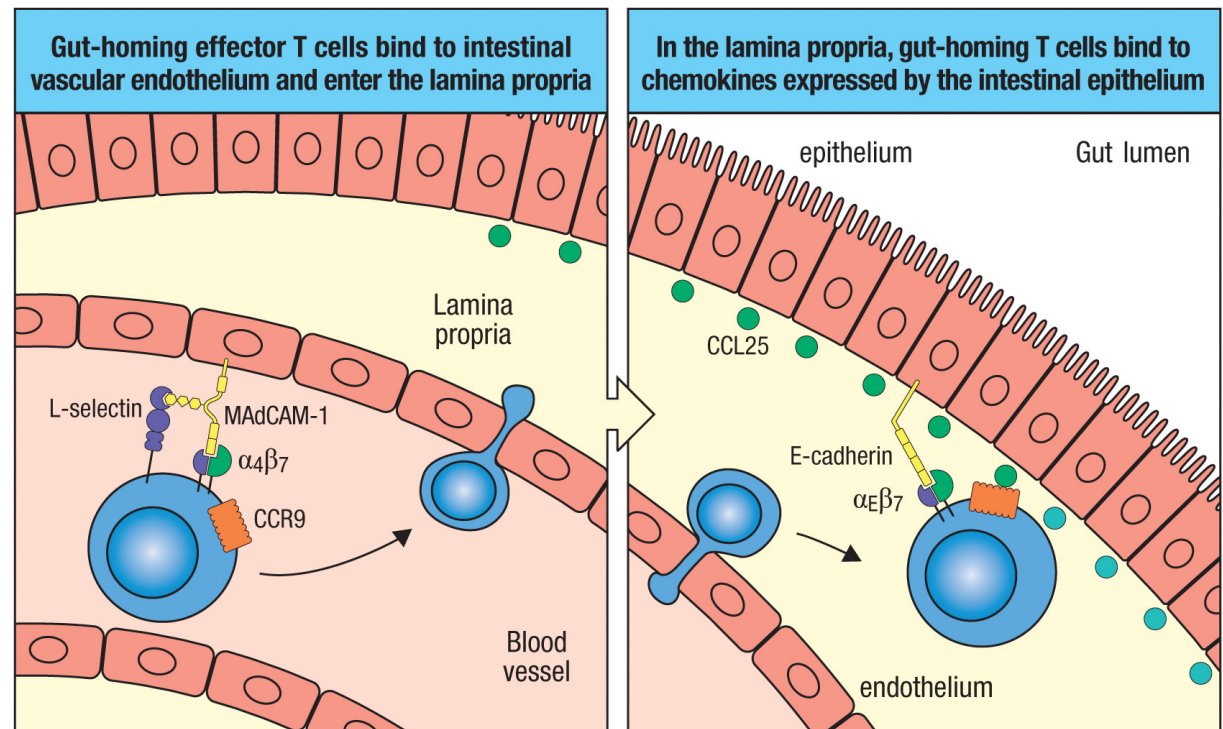
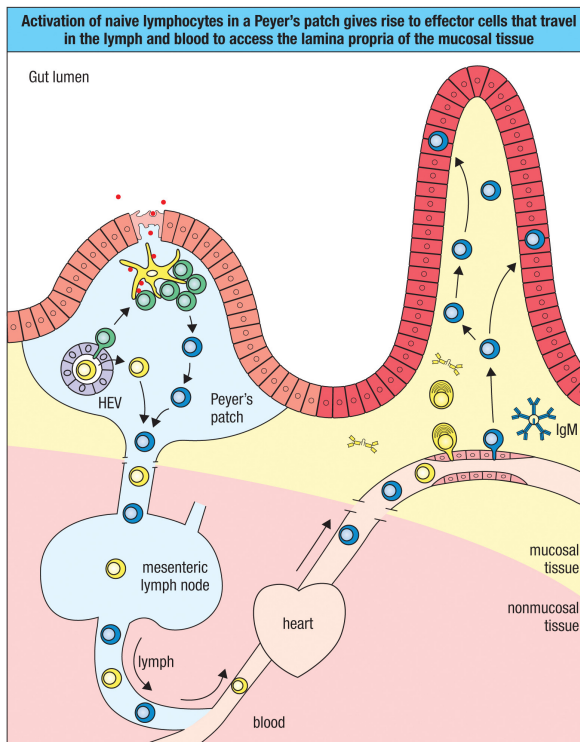
## 14.1.4.4. Homing naar mucosa

**Fig.10.15: Lymphocytes activated in mucosal tissues return to those tissues as effector cells.**

**Fig. 10.16: Homing of effector T cells to the gut is controlled by adhesion molecules and chemokines.**

Door de expressie van CCR7 en L-selectine migreren naïeve T cellen via HEV naar de Peyerse platen. Hier kunnen ze gestimuleerd worden door antigenen die via M cellen vanuit het darmlumen opgenomen worden, en gepresenteerd worden door dendritische cellen. T cel activatie door darm-afkomstige dendritische cellen induceert expressie van chemokinereceptoren en adhesiemoleculen die deze cellen laten homen naar de darm.

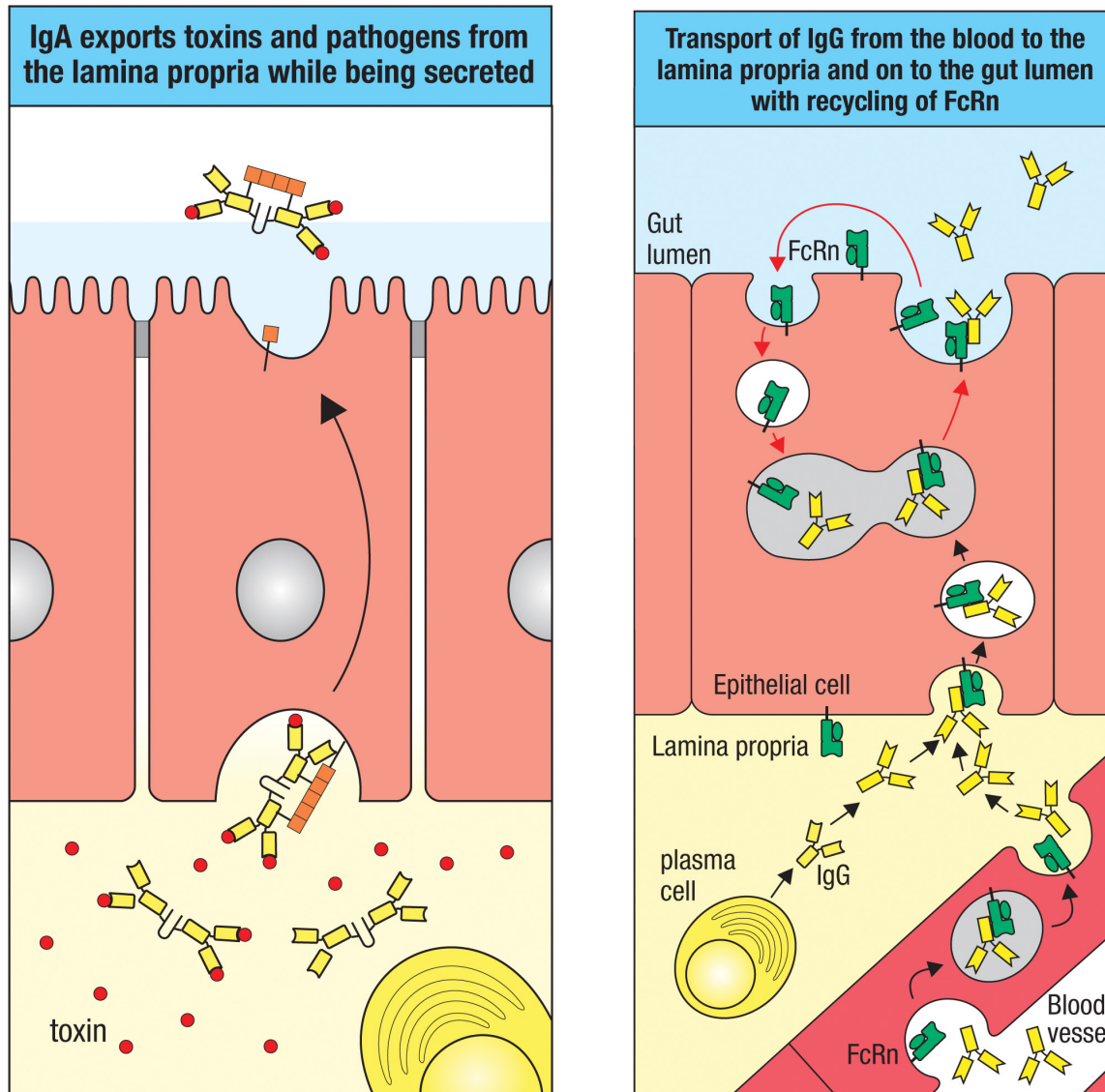
Na activatie verlaten de T cellen de Peyerse platen via de lymfevaten en komen terecht in de ductus thoracicus en vervolgens de bloedbaan. Vervolgens treden ze terug uit de bloedbaan t.h.v. de mucosa o.i.v. chemokines (CCR9 CCL25) en specifieke adhesiemoleculen.



## 14.2. Fase 6: effector functie (antilichamen)

Fig. 10.20: Secretory IgA can be used to remove pathogens and their product from the lamina propria.

Fig. 10.18: Transport of IgG from blood to mucosal secretions



- ⇒ Geactiveerde B cellen gebruiken dezelfde homing moleculen voor homing naar mucosa (niet naar beenmerg). In de lamina propria differentiëren ze verder tot plasma cellen die dimeer IgA secreteren. Dit dimeer IgA wordt getransporteerd in het mucus aan de lumenzijde door de poly-Ig receptor.
- ⇒ In moedermelk komen aldus IgA terecht gericht tegen bacteriën/virussen die via GI, respiratoir...het lichaam binnengedrongen zijn.
- ⇒ IgA is door de afwezigheid van complementbinding en macrofaagactivatie anti-inflammatoir.
- ⇒ IgG wordt uit de bloedbaan overgepomt in het lumen van de darm d.m.v. De FcRn (idem als in placenta).

**Fig. 10.24: Selective IgA deficiency**

	Proportion of B cells making antibody of different isotypes (%)							
	Normal individuals				IgA-deficient individuals			
	IgA	IgM	IgG	IgD	IgA	IgM	IgG	IgD
Nasal glands	69	6	17	8	0	20	46	34
Lacrimal and parotid glands	82	6	5	7	0	21	22	57
Gastric mucosa	76	11	13	0	0	64	35	1
Small intestine	79	18	3	0	0	75	24	1

Republished with permission of John Wiley & Sons, from Per Brandtzaeg and Finn-Eirik Johansen, "Mucosal B cells: phenotypic characteristics, transcriptional regulation, and homing properties," *Immunological Reviews* 206(1):32–63, 2005; permission conveyed through Copyright Clearance Center, Inc.

**1/500-1000 van de mensen heeft geen IgA: meest frequente immuun defciëntie (?).**

**Deze mensen zijn gezond, omdat de functie wordt overgenomen door andere antistoffen. In dat geval wordt IgM gescreteerd (heeft ook J keten). Ook IgG uit de bloedbaan.**

**Deze mensen kunnen antistoffen aanmaken tegen IgA (zware allergische reacties na transfusie).**

**Bij mensen van afrikaanse afkomst komt deze deficiëntie bijna niet voor: belang bij worminfecties?**

**Fig. 10.25: Distinctive features of adaptive immunity in mucosal tissues.**

<b>Distinctive features of the mucosal immune system</b>	
Anatomical features	Intimate interactions between mucosal epithelia and lymphoid tissues
	Discrete compartments of diffuse lymphoid tissue and more organized structures such as Peyer's patches, isolated lymphoid follicles, and tonsils
	Specialized antigen-uptake mechanisms provided by M cells in Peyer's patches, adenoids, and tonsils
Effector mechanisms	Activated effector T cells predominate even in the absence of infection
	Plasma cells are in the tissues where antibodies are needed
Immunoregulatory environment	Dominant and active downregulation of inflammatory immune responses to food and other innocuous environmental antigens
	Inflammation-anegetic macrophages and tolerance-inducing CD103 <sup>+</sup> dendritic cells

**Effector functies van antilichamen worden bepaald door Fc gebied.**

**Fc gebied:**

- 1. antistofverdeling over de verschillende lichaamscompartimenten**
- 2. De bindende structuur tussen antigeen en effectoreiwit (Complement) of –cel (NK cel, macrofaag, neutrofiel).**

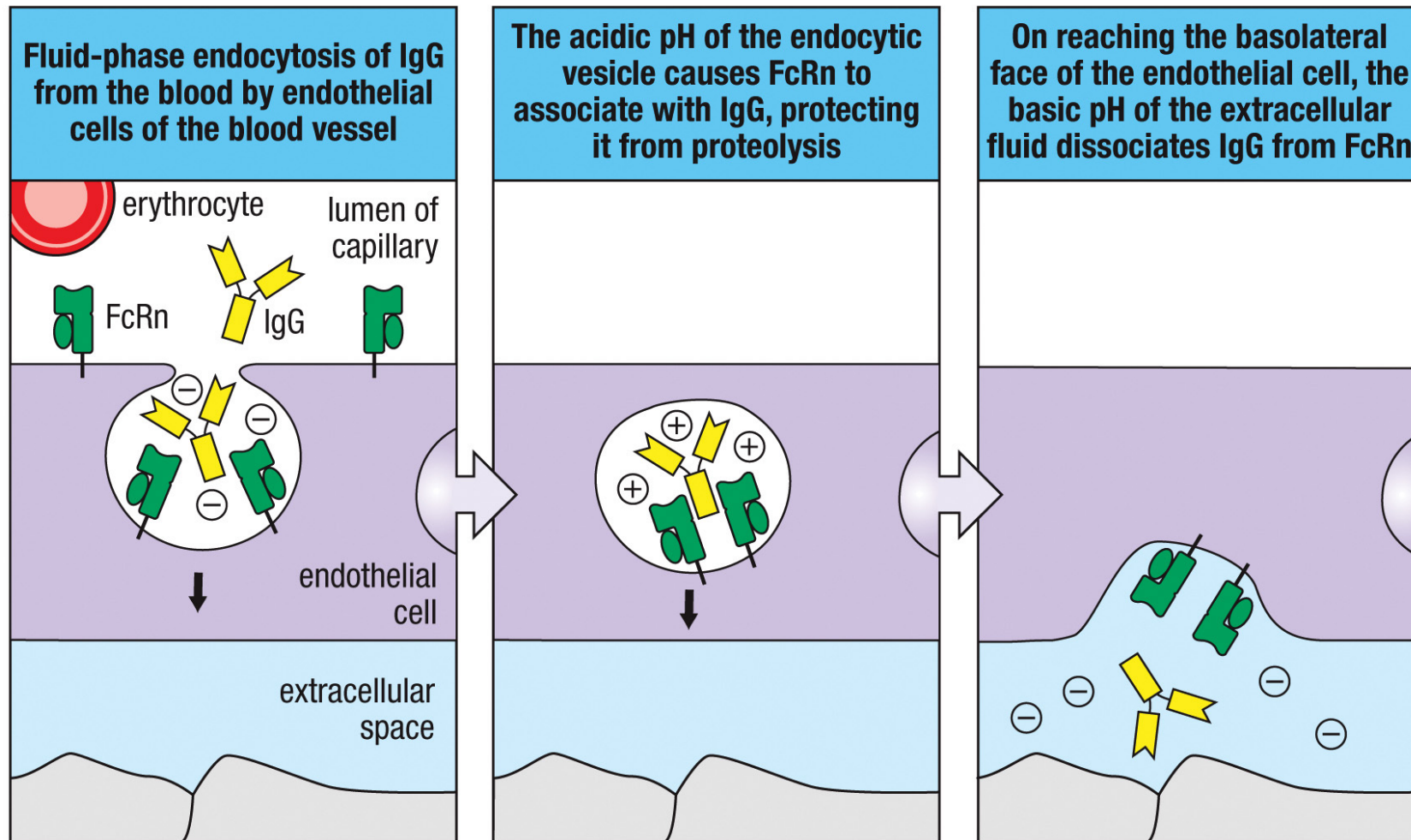
**IgM** is een pentameer dat gesecreteerd wordt in de medulla van de lymfeknoop, het beenmerg en de milt. Bindt heel sterk complement (zie verder), maar penetreert moeilijk in de extracellulaire vloeistoffen (behalve bloed) door zijn grootte. Er zijn geen celgebonden receptoren voor IgM. Affiniteit is laag en daarom weinig geschikt voor neutralisatie.

**IgG** is het dominante Ig van de immuun response en wordt in BM gevormd. Ze binden complement, ze binden Fc receptoren, ze neutraliseren door hun zeer hoge affiniteit

**IgA** wordt gesynthetiseerd door plasmacellen van de MALT, milt en de LN. Monomeer IgA vooral in de LN en milt, dimeer IgA vooral in de MALT. Monomeer IgA is aanwezig in bloed in hoge concentratie met als belangrijkste functie neutralisatie van pathogenen.



**Fig. 9.17 The receptor FcRn transports IgG from the bloodstream into the extracellular spaces of tissues**



FcRn is een MHC klasse I-achtige molecule die IgG bindt.  
FcRn brengt IgG vanuit het bloed naar de extravasculaire vloeistof.  
Deze receptor zorgt ook voor IgG transport van moeder naar kind  
IgG verhindert verspreiding van pathogenen in de extravasculaire ruimte  
IgG heeft een relatief lange halfwaardetijd.

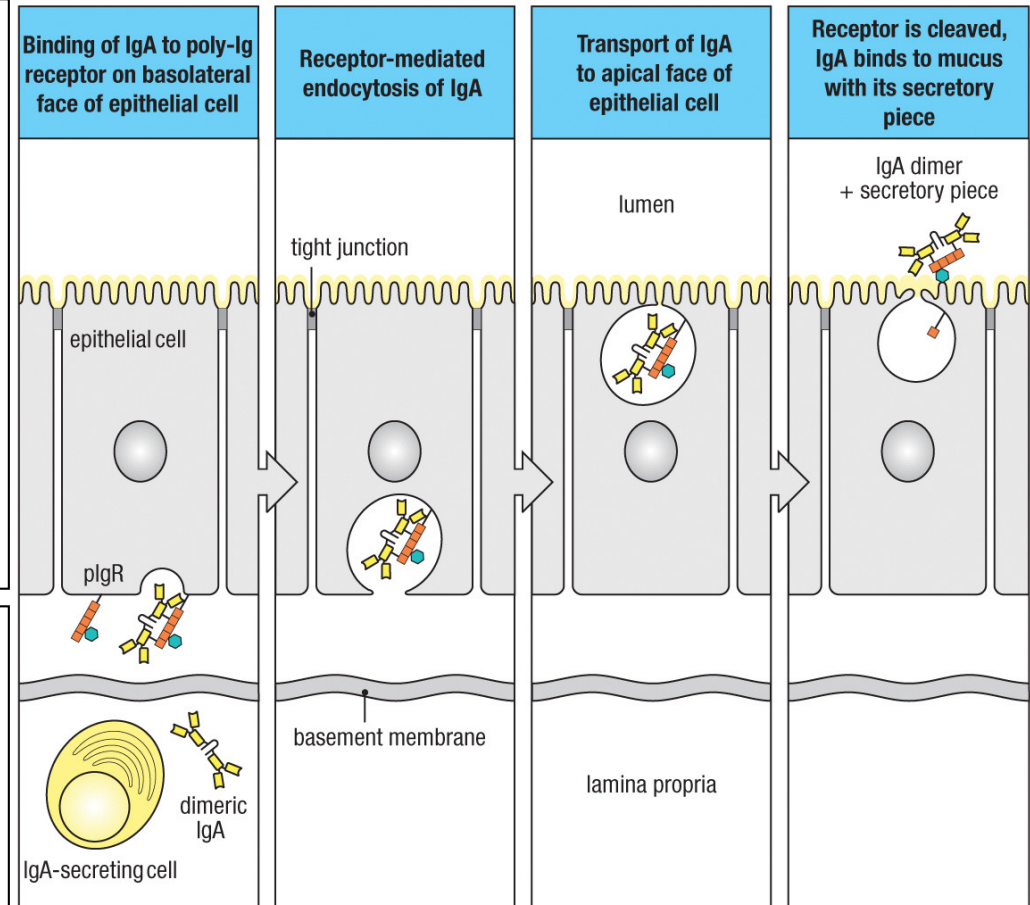
**Fig. 9.18: Transcytosis of dimeric IgA antibody across epithelia is mediated by the poly-Ig receptor (pIgR)**

**IgA**

- ⇒ vooral geproduceerd door plasmacellen onder basale membraan van epithelia (MALT)
- ⇒ dimeer door binding aan J keten
- ⇒ binding aan poly-Ig receptor van epitheel
- ⇒ transcytose
- ⇒ klieving van extracellulair stuk van receptor: secretoire stuk van de poly-Ig receptor
- ⇒ Suikers op het secretoire stuk zorgen ervoor dat IgA ter plaatse in mucus blijft.

**IgA**

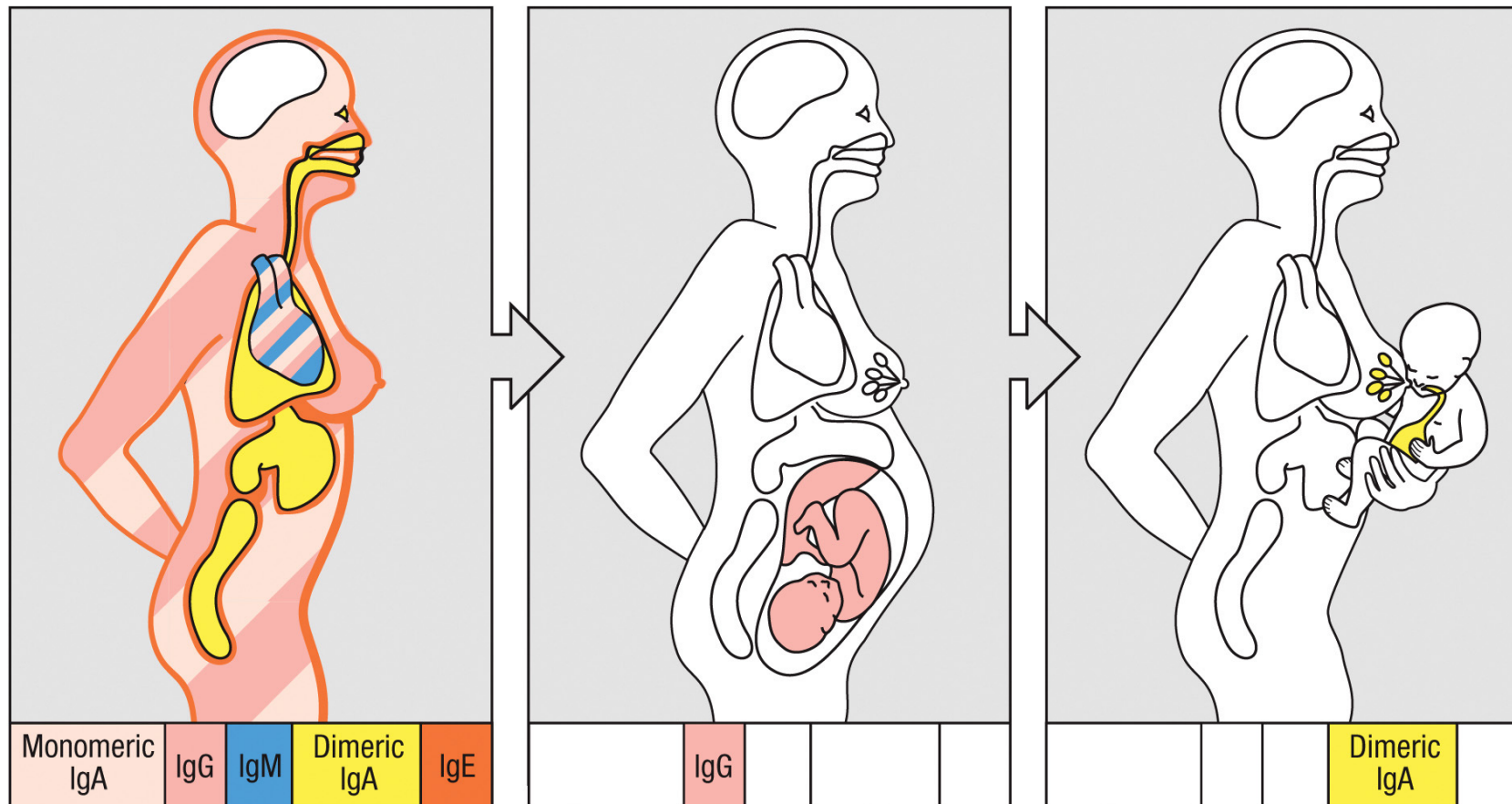
- ⇒ gesecreteerd in darm, ademhalingsorganen, speeksel en traanvocht.
- ⇒ ook in moedermelk: bescherming van het pasgeboren kind tegen darmpathogenen. (passieve transfer van immuniteit)



Ook IgG wordt getransporteerd van moeder naar kind, maar dan tijdens de zwangerschap en rechtstreeks in het bloed:

- ⇒ in placenta is er een transport proteïne aanwezig = FcRB: bindt Fc fragment van IgG
- ⇒ transport door placenta naar kind

**Fig. 9.21: Immunoglobulin isotypes are distributed selectively in the human body and some are passed to the young by their mothers.**



**IgM: bloed**

**IgG: bloed, extracellulaire vloeistof  
transport naar foetus**

**IgA: → monomeric: bloed en extracellulaire vloeistof  
→ dimerisch: darm, luchtwegen, traanvocht,  
speeksel, moedermelk**

**IgE: bindt aan mastcellen, juist onder epitheel**

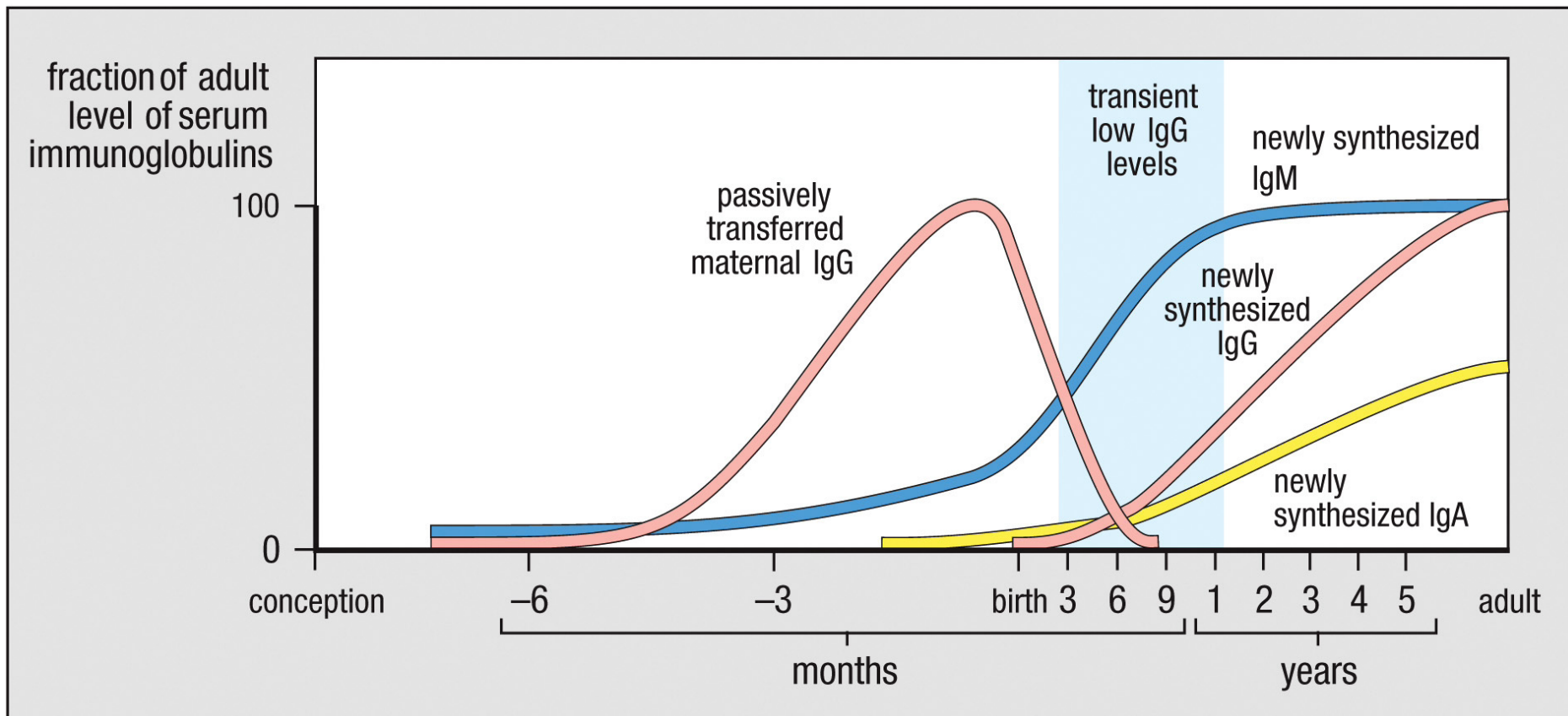
**De hersenen vormen de enige locatie waar geen Ig aanwezig is**



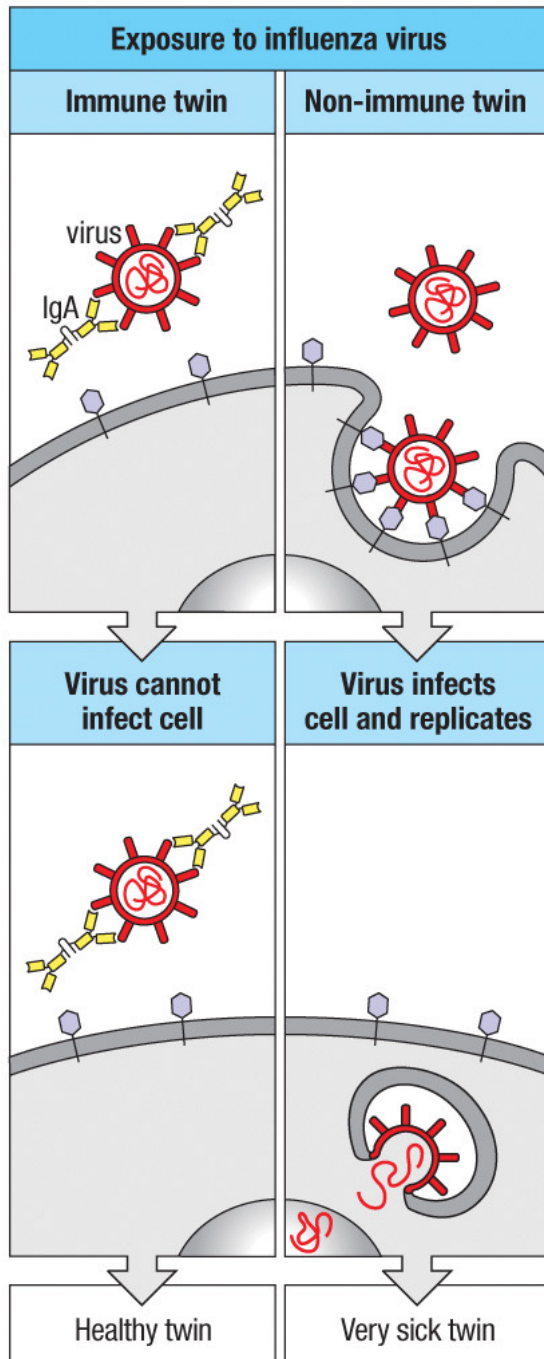
**Fig. 9.22. The first year of life is a period when infants have a limited supply of IgG and are particularly vulnerable to infections.**

**Van de leeftijd van 3 maand tot 1 jaar zijn kinderen relatief gevoelig aan infecties wegens dalende passieve immuniteit en lage actieve immuniteit.**

**Bij premature kinderen wordt dit deficit geaccentueerd.**



**Fig. 9.23. Viral infections are blocked by neutralizing antibodies.**



Immunititeit tegen griep (influenza) is vooral gebaseerd op neutralisatie. Eiwit van virus (haemagglutinine) bindt oligosacchariden op epitheliale cellen van de luchtwegen en dringt zo de cel binnen.

IgA antistoffen die haemagglutinine (H) binden kunnen zo infectie voorkomen.

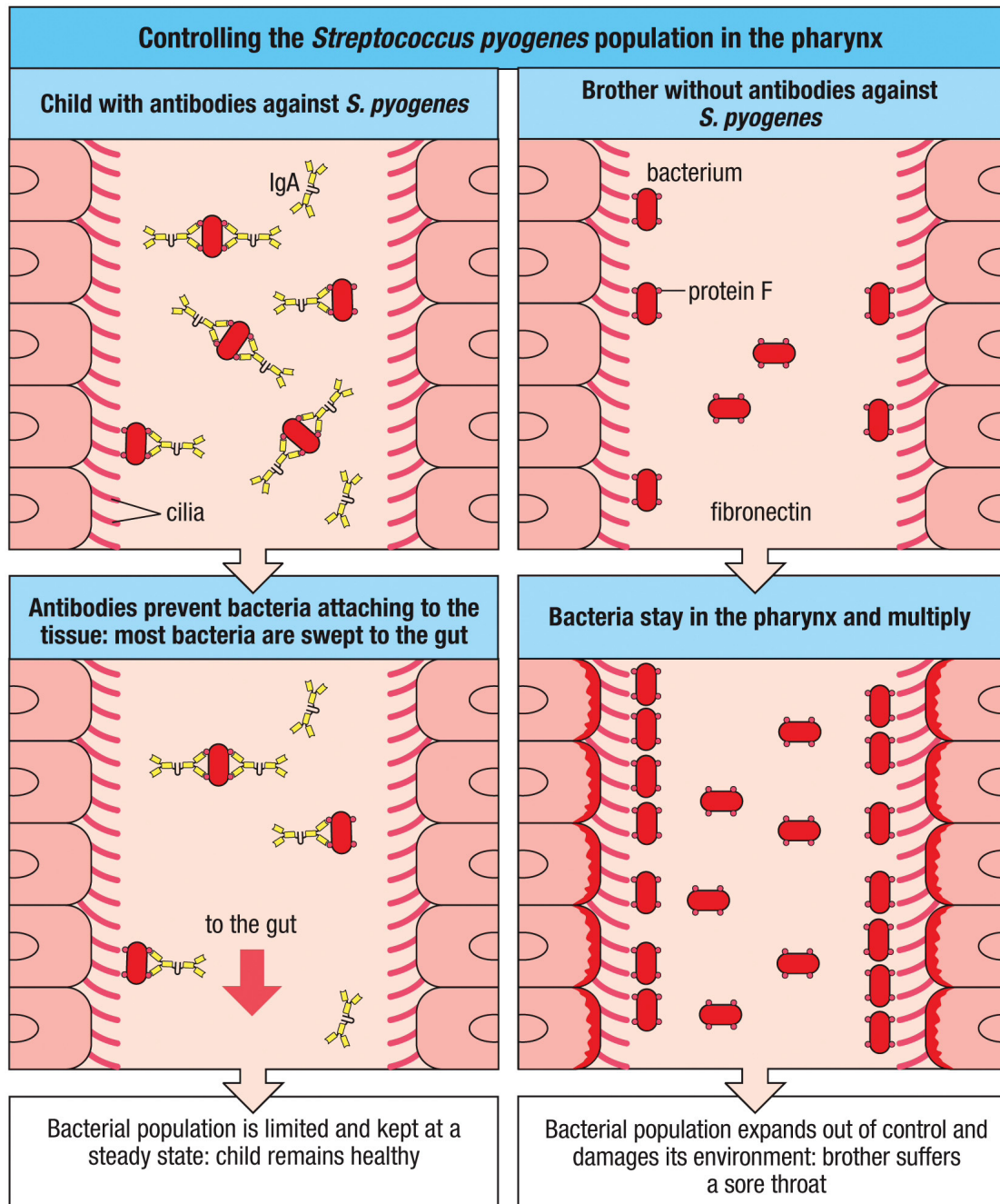
De meeste vaccins werken omdat zij neutraliserende antistoffen opwekken

Anti-H: griepvirus

Anti-Hepatitis surface antigen: hepatitis B vaccin

Anti-tetanustoxine, ...

**Fig. 9.24. Disease-causing bacterial infections at mucosal surfaces are prevented by neutralizing antibodies.**

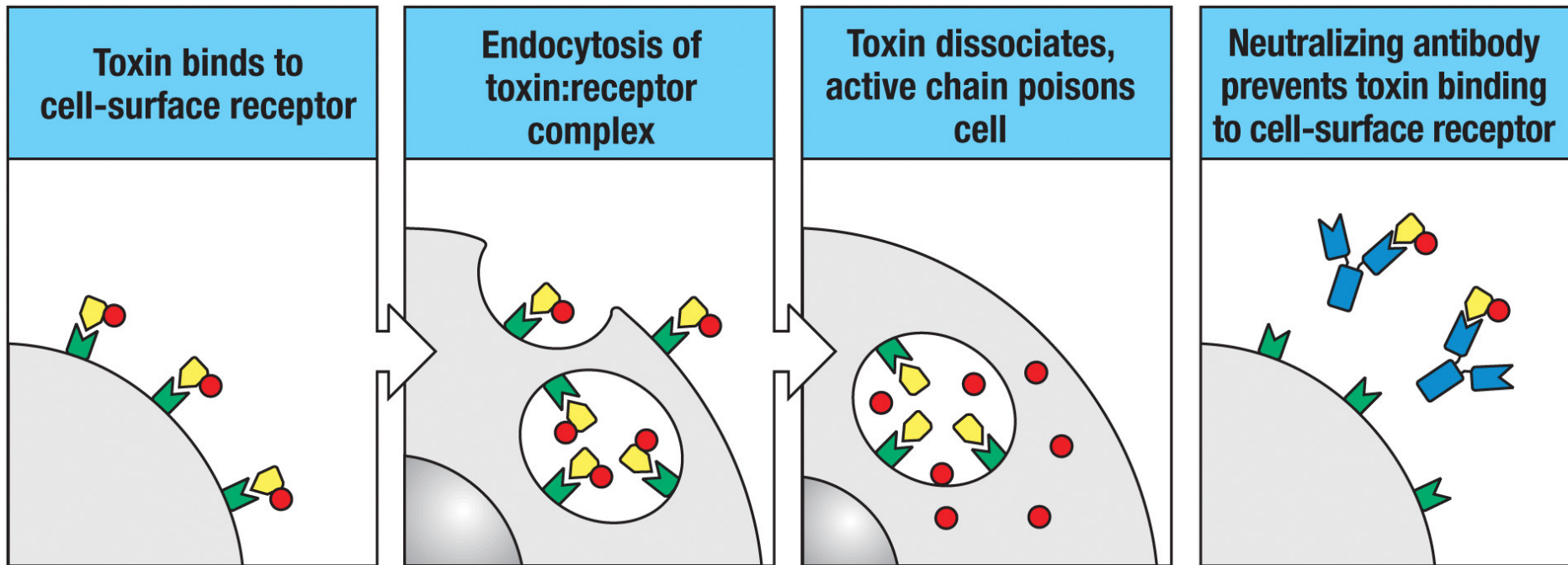


**Bacteriële adhesines zorgen ervoor dat bacteriën zich kunnen vasthechten op epithelia.**

***Streptococcus pyogenes* hecht zich vast op het keelepithel via proteïne F**

**IgA gericht tegen dat eiwit verhindert adhesie van de bacterie waardoor ze niet kan overgroeien en invasief worden.**

**Fig. 9.26 Neutralisation of toxins by IgG antibodies protects cells from toxin action**



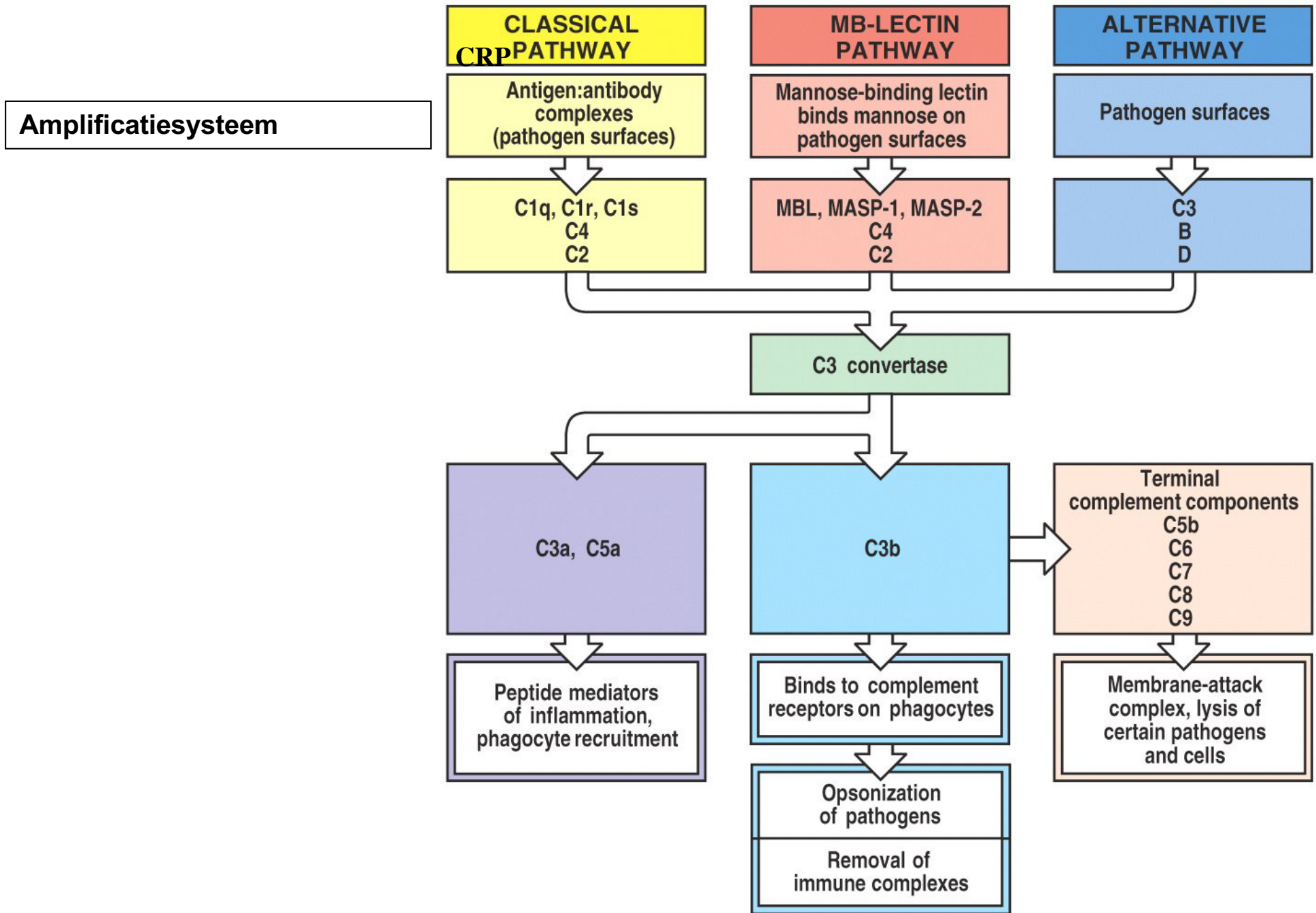
**Toxine vb.: difterietoxine: dimeer. Subunit toxine (rood bolletje), de andere subunit om cel binnen te komen (geel) (receptor-bindende subunit, voor difterie: hartspiercellen). Deze toxines zijn heel krachtig; slechts 1 molecule nodig om een cel te doden. Neutraliserende antistoffen moeten hoge affiniteit voor receptor bindende subunit hebben en niet meer losmaten, en ter plaatse aanwezig zijn: IgG en IgA**

**Passieve immuniteit voor slangenbeten.**

**Ook bij onverzorgde wonden, neutraliserende antistoffen tegen tetanus.**



# The three pathways of complement activation (modified).



**Extra: Encapsulated bacteria are more efficiently engulfed by phagocytes when bacteria are coated with antibody and C3b**

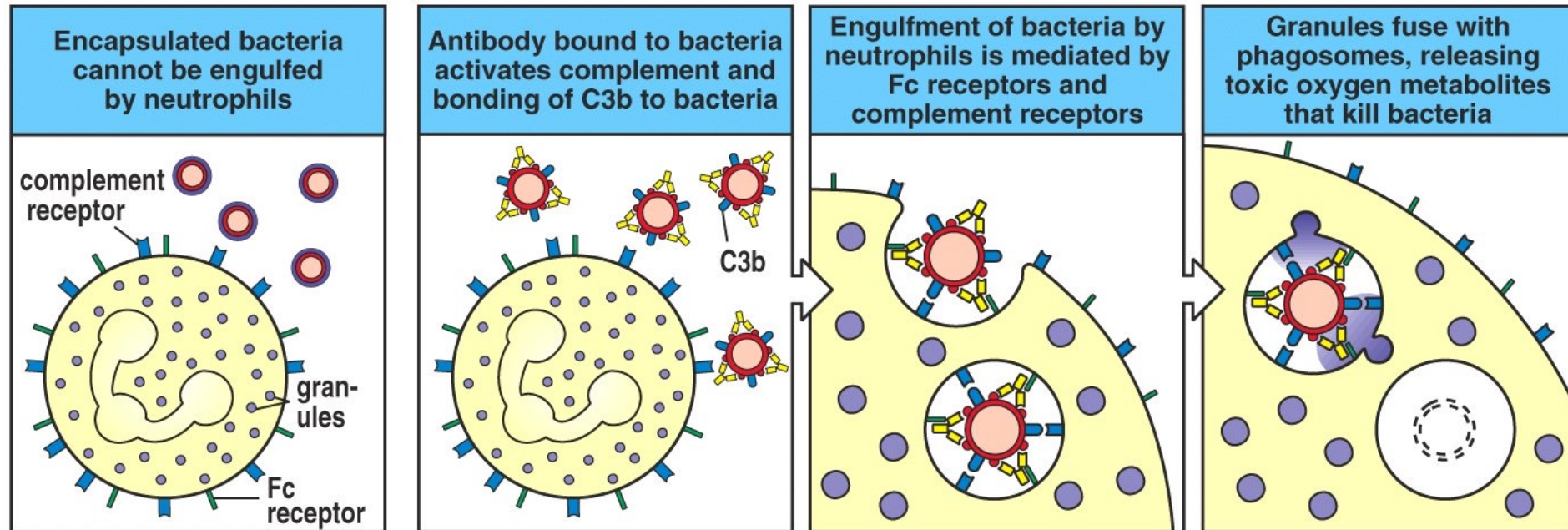
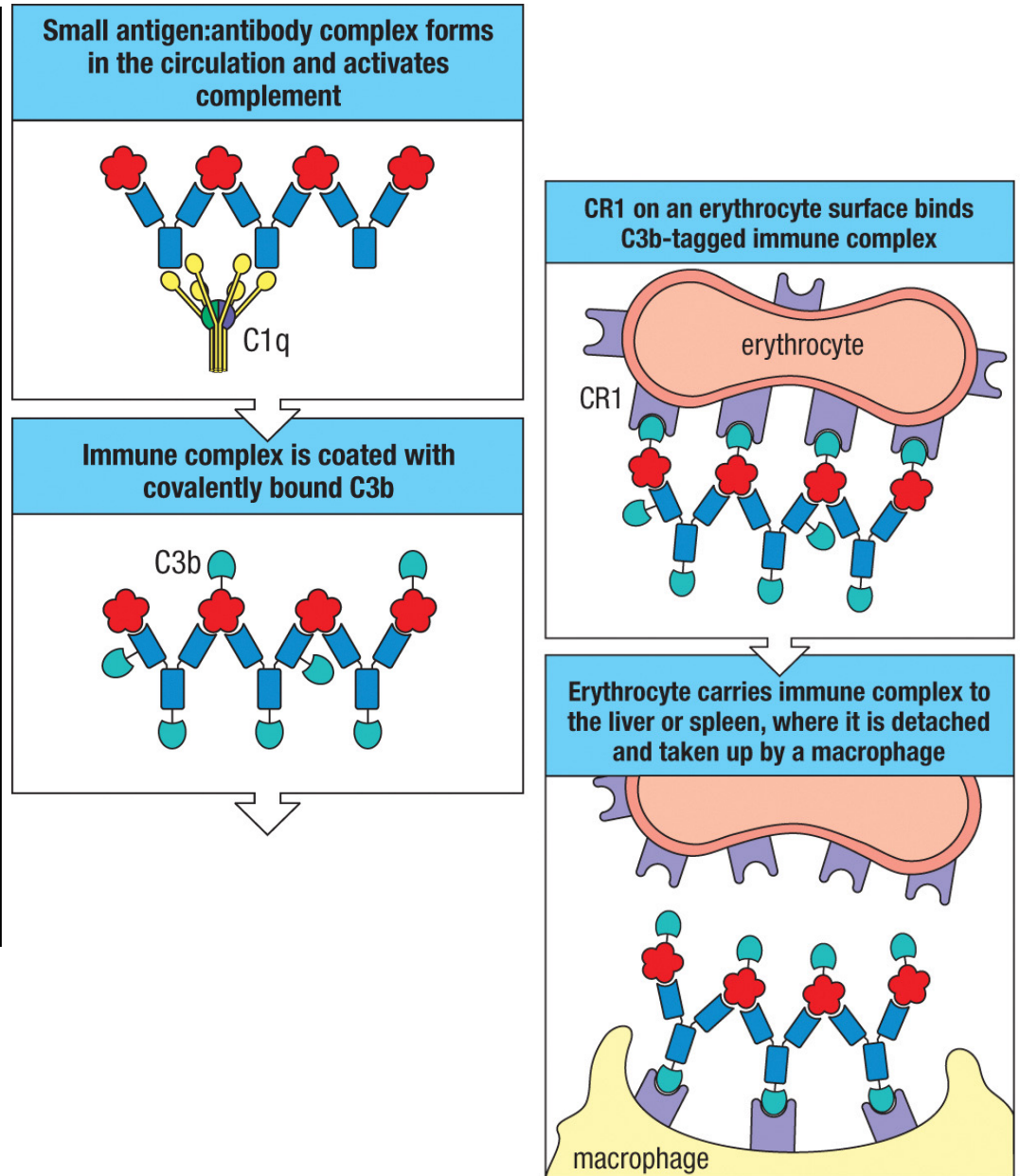


Figure 7-41 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

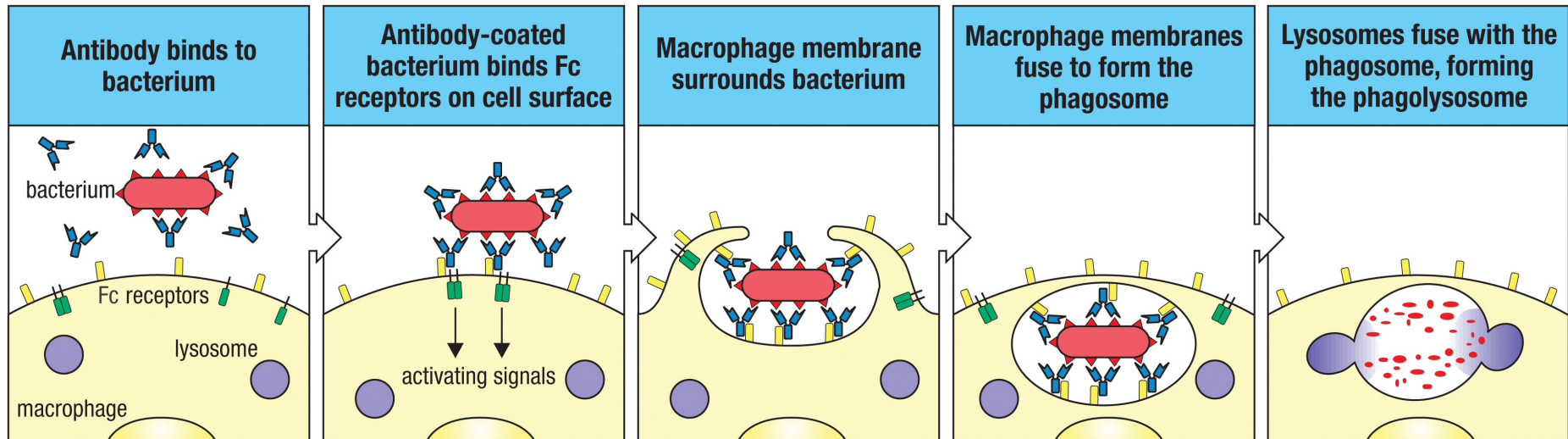
**Macrofagen en neutrofielen dragen op hun membraan complementreceptoren (CR). Daarnaast dragen ze Fc $\gamma$ R. Gekapselde bacteriën vertonen geen structuren die door fagocyten kunnen herkend worden. Ze binden evenwel antistoffen. Deze activeren complement. Door deze 2 serumcomponenten worden de gekapselde bacteriën wel fagocyteerbaar (opsonines)**

**Fig. 9.32. Erythrocyte CR1 helps to clear immune complexes from the circulation**

Naast bacteriën bedekt met complementfactoren en antistoffen, zijn er de immuuncomplexen (IC). Dit zijn oplosbare eiwitten zoals toxines of membraanfragmenten. Deze complexen worden niet door fagocyten herkend omdat er te weinig Fc gebonden zijn voor een stabiele binding. Deze worden door de actie van C verwijderd: complement bindt erop wordt geactiveerd en kan nu binden op de CR. De rode bloedcel draagt deze receptor en hierdoor concentreert en transporteert de RBC de immuuncomplexen. In milt en lever worden deze IC van de rode cel verwijderd. Zonder dit mechanisme zouden IC neerslaan in de kleine vaten van de nier. Bij sommige patiënten kan dit tot nierschade leiden.



**Fig. 9.34 Fc receptors on phagocytes trigger the uptake and breakdown of antibody-coated pathogens**

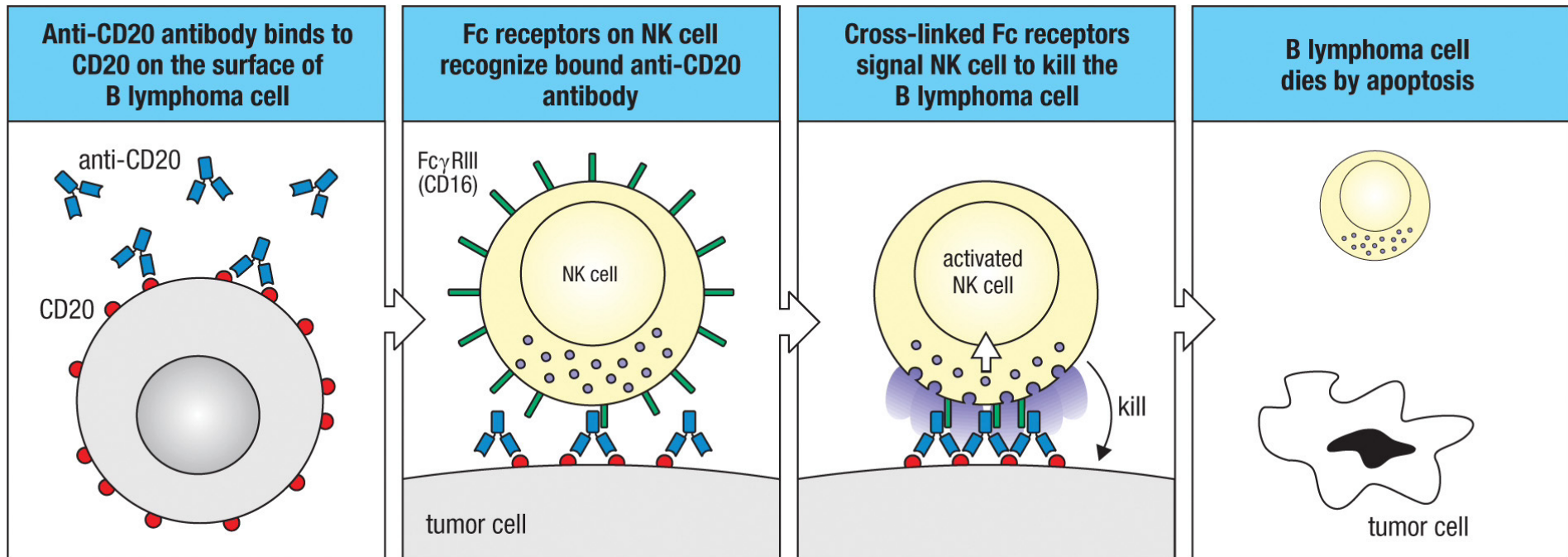


**Monocytes en neutrofielen dragen  $Fc\gamma R$  op hun membraan. Dit zijn lage affiniteitsreceptoren zodat ze niet continu bezet zijn met vrij IgG. Pas als IgG gebonden zijn op één partikel (virus, bacterie) wordt de binding stabiel. Door deze opsonisatie worden gekapselde bacteriën zoals *S pneumoniae* weer gevoelig aan fagocytose.**

**Grotere partikels dan bacteriën, zoals wormen worden gedood buiten de macrofaag door secretie van zuurstofradikalen, NO.**



**Fig. 9.36: Antibody-coated target cells can be killed by NK cells in antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC).**



**Natural killer (NK ) cellen:**

- activerende receptoren (o.a. FcγRIII of CD16)
- inhiberende receptoren (ligand = MHC klasse I moleculen)

**Doden cellen die**

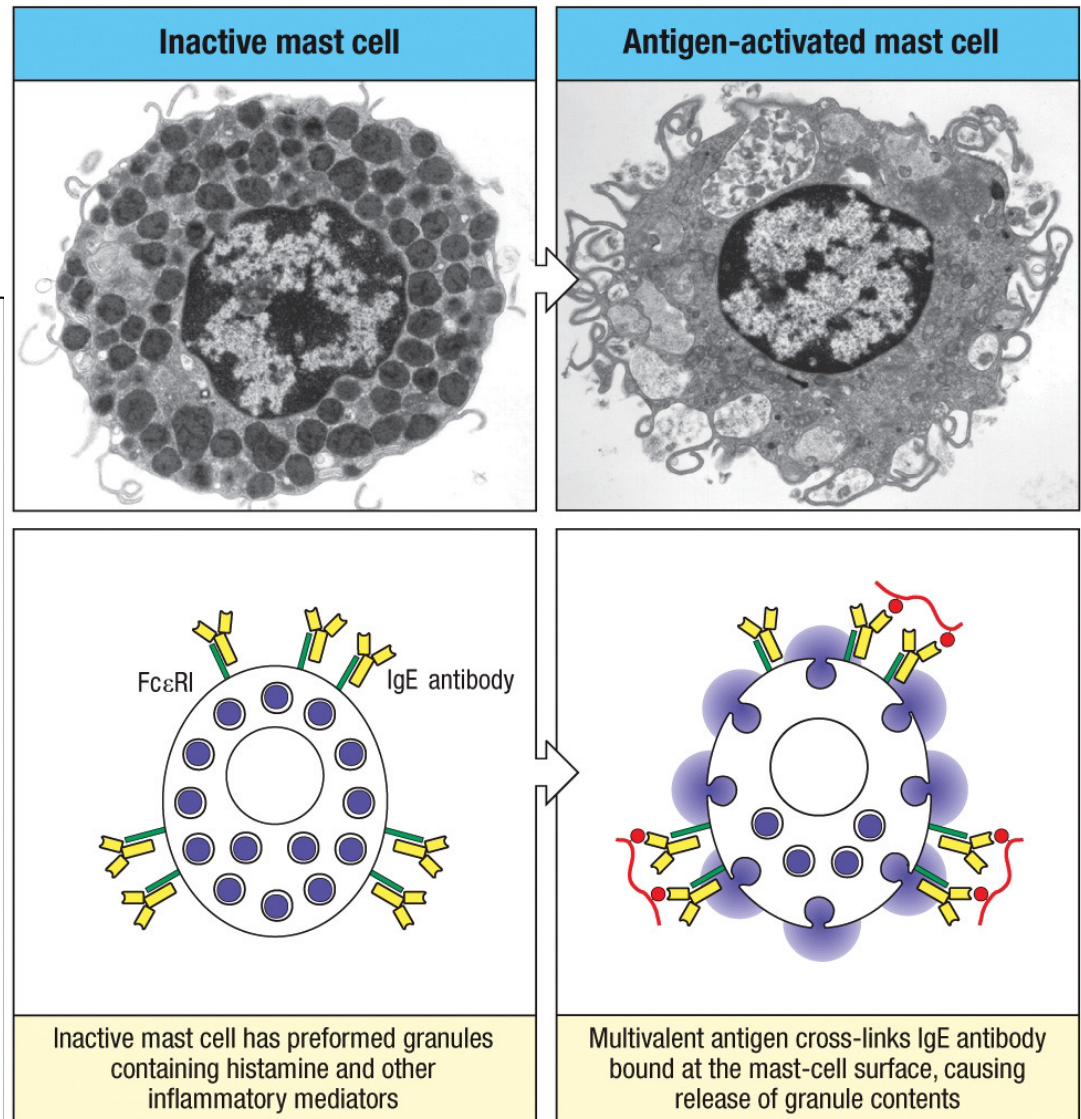
- minder of geen MHC klasse I moleculen hebben (tumorcellen, virale infectie)
- geopsoniseerd zijn met IgG = 'antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity = ADCC



**Fig. 9.19: cross-linking IgE on mast-cell surfaces leads to a rapid release of mast cell granules containing inflammatory mediators.**

**Mastcellen:**

- ➔ gelokaliseerd in bindweefsel van dermis en submucosa van gastro-intestinaal en respiratoir systeem
- ➔ niet in bloed
- ➔ stabiele binding van monomeric IgE met de sterk affiene FcεR. De IgE moleculen blijven vastzitten op de Fc receptor.
- ➔ antigeen crosslinking van IgE/FcεR induceert degranulatie (seconden)
  - ▶ inflammatoire mediators komen vrij (o.a. histamine)
  - ▶ verhoogde bloeddorstrooming en vasculaire permeabiliteit
  - ▶ rekrutering van immuun cellen en factoren
- ➔ zelfde principe bij allergische reactie



Photographs courtesy of A.M. Dvorak

**Fig. 9.20: Activated eosinophils attack parasites coated with IgE**

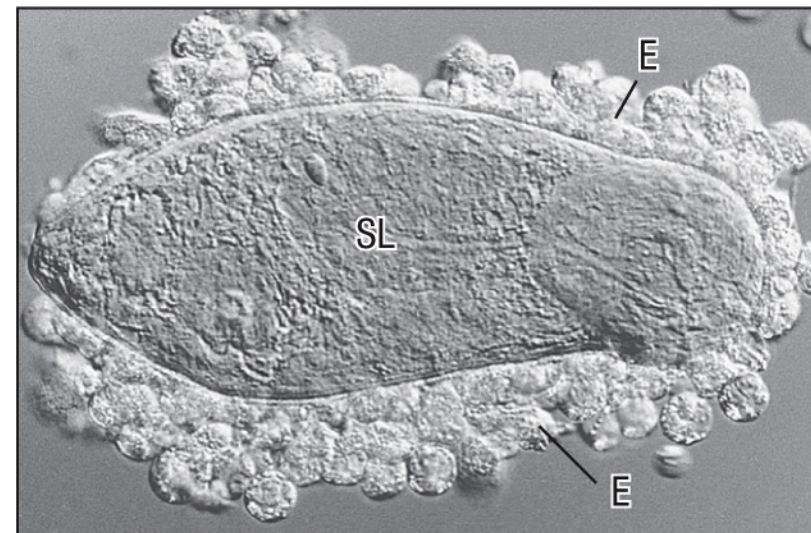
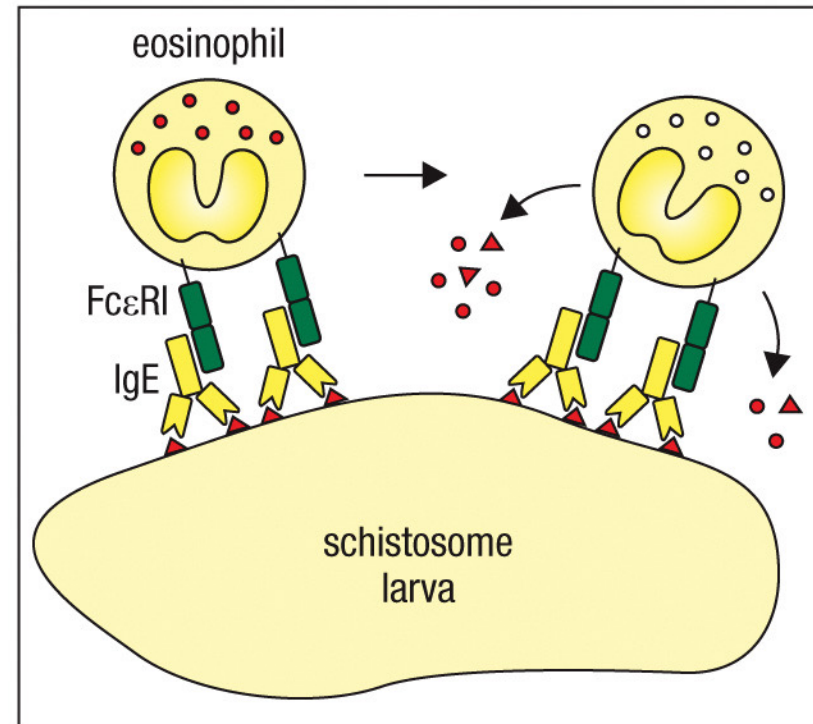
Sommige partikels, zoals parasitaire wormen, zijn te groot voor fagocytose.

→  $Fc\gamma R$ ,  $Fc\alpha R$ , en vooral  $Fc\epsilon R$  kunnen de secretie van lysosomen induceren

→ vooral bij eosinofielen ( $Fc\epsilon R - IgE$ ) en basofielen

$IgE$  (IL-4), mastcellen, basofielen en eosinofielen verdedigen het lichaam tegen parasieten.

Pathologie: astma



Photograph courtesy of A. Butterworth

### **Humorale immuun respons:**

- ⇒ productie van antilichaam door plasmacellen
- ⇒ meestal Th cellen vereist
- ⇒ somatische hypermutatie; selectie voor B cellen met Ab met hoogste affiniteit
- ⇒ isotype switching
  - eerst IgM; vooral belangrijk voor pathogenen in bloed
  - later IgG, IgA, IgE: diffusie in weefsels
    - ▶ dimeer IgA vooral gesecreteerd in darm
    - ▶ IgE bindt vooral aan mastcellen
- ⇒ soms geen Th cellen vereist: voor antigenen met een repetitief epitoom of stoffen die TLR activeren.
  - vooral IgM; weinig isotype switch

### **Werking antilichamen:**

- ⇒ neutralisering van toxinen, virussen, sommige bacteriën
- ⇒ complement binding: direct cytotoxisch effect of verhoogde fagocytose
- ⇒ effect via Fc receptoren op immuun cellen
  - verhoogde fagocytose en intracellulaire killing (macrofagen, neutrofielen)
  - exocytose van lysosomen en extracellulaire killing: eosinofielen, basofielen
  - exocytose van granules: mastcellen
    - ▶ inductie van lokale inflammatoire respons
    - ▶ voordelig: parasieten
    - ▶ nadelig: allergische reacties
  - ADCC