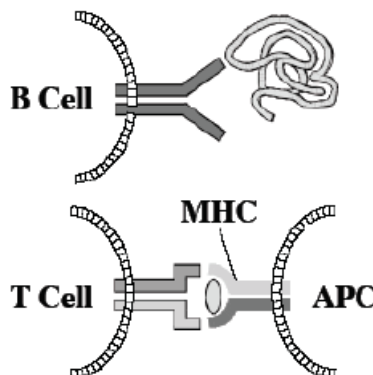


آنتی ژنهای سازگاری نسجی (MHC)

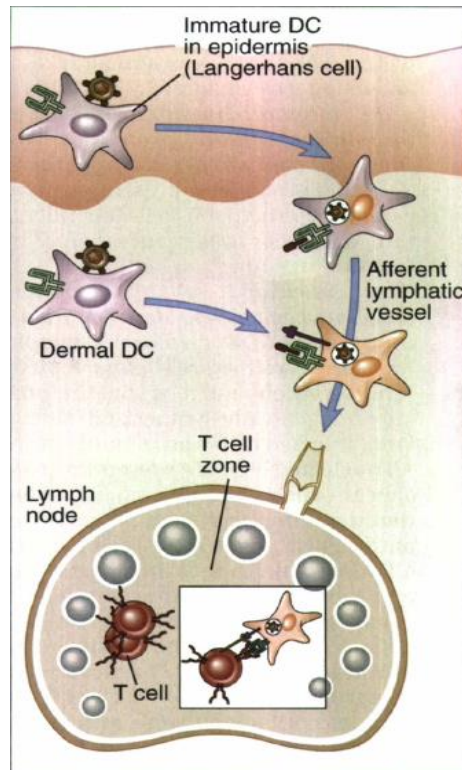
برخلاف سلول‌های B که با گیرنده اختصاصی سطح خود قادر به شناسایی آنتی‌ژن‌های مختلف (غشایی و محلول) و با ساختارهای مختلف مولکولی (پروتئینی، کربوهیدراتی، نوکلئیک اسیدی، لیپیدی و ...) هستند و علاوه بر اپی‌توپ‌های خطی، اپی‌توپ‌های فضایی را نیز مورد شناسایی قرار می‌دهند؛ گیرنده‌های سلول‌های T (T cell Receptor (TCR تنها قادر به شناسایی اپی‌توپ‌های خطی حاصل از تجزیه پروتئین‌ها در همراهی با مولکول‌هایی به نام کمپلکس سازگاری نسجی (Major histocompatibility complex (MHC می‌باشند (شکل 1).



شکل 1. شناسایی آنتی ژن توسط لنفوسیت‌های B و T

وظیفه اصلی لنفوسیت‌های T حذف میکروب‌های درون سلولی و سلول‌های سرطانی و عال کردن سایر سلول‌ها از جمله سلول‌های B و ماکروفاژها می‌باشد. سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن با به دام انداختن آنتی‌ژنها و ارائه آنها به سلول‌های T شرایط را برای بروز پاسخ‌های ایمنی فراهم می‌سازند. در این خصوص نقش سلول‌های دندریتیک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است زیرا سلول‌های دندریتیک نابالغ بخوبی در بافت‌های مختلف بدن و خصوصا پوست و مخاط که مکان‌های اصلی ورود میکروب‌ها به بدن می‌باشند، پراکنده شده‌اند. سلول‌های دندریتیک پس از به دام انداختن میکروب‌ها و آنتی‌ژن‌های بیگانه، از طریق عروق لنفی به سمت نزدیک‌ترین ارگان لنفاوی ثانویه مهاجرت می‌کنند. در طی مهاجرت، سلول‌های دندریتیک بالغ می‌شوند و به تدریج تعداد مولکول‌های MHC و مولکول‌های کمک تحریکی بر سطح آنها افزایش می‌یابد. در طول مسیر مهاجرت آنتی‌ژن‌های بلعیده شده نیز هضم می‌شوند و پپتیدهای حاصل در شکاف مولکول‌های MHC قرار می‌گیرند. نهایتاً سلول‌های دندریتیک بالغ به منطقه مربوط به سلول‌های T در ارگان‌های لنفاوی ثانویه وارد می‌شوند و به این ترتیب شرایط را برای بروز پاسخ ایمنی علیه آنتی‌ژن فراهم می‌گردد (شکل 2).

سلول‌های T کمکی (Helper T cell (Th با ترشح سیتوکین‌های مختلف نقش مهمی در فعال کردن سایر سلول‌های سیستم ایمنی بر عهده دارند، بطوریکه سلول‌های Th₁ با ترشح IFN- γ به فعال شدن سلول‌های T سیتوتوکسیک و ماکروفاژها و در نتیجه انهدام آنتی‌ژن‌های درون سلولی کمک می‌کنند در حالیکه سلول‌های Th₂ با ترشح سیتوکین‌هایی مانند IL-4 و IL-5 به تکامل سلول‌های B اختصاصی علیه آنتی‌ژن‌های خارج سلولی و ترشح آنتی‌بادی کمک می‌کنند. سیتوکین‌های مترشحه از سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن و سیتوکین‌های موجود در ریزمحیط اطراف سلول T در تمایز این سلول‌ها به سمت سلول‌های Th₁ یا Th₂ نقش مهمی دارند.



شکل 2. نقش سلولهای دندریتیک در به دام انداختن و ارایه آنتی‌ژنها

تاریخچه کشف MHC

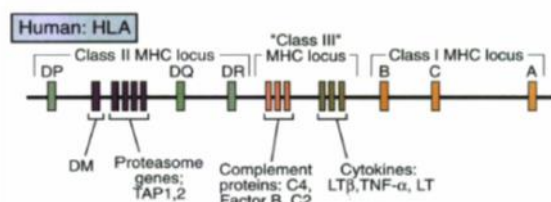
قبل از شناخت دقیق ساختمان و فعالیت مولکول‌های MHC، این مولکول‌ها در طی مطالعات مربوط به پیوند بافت کشف شدند. در آن زمان مشخص بود که پیوند پوست از یک گونه به گونه دیگر رد می‌شود در حالیکه پیوند پوست میان دوقلوهای همسان به راحتی امکان پذیر بود. در دهه 1940، جورج اسنل و همکارانش به هنگام بررسی عوامل ژنتیکی مؤثر در رد پیوند، با آمیزش دادن مکرر موش‌های یک گونه موفق به ایجاد نژادهای خالص موش‌ها گردیدند که برای همه جایگاه‌های ژنتیکی هموزیگوت بودند. موش‌هایی را که از نظر ژنتیکی با یکدیگر یکسان هستند موش‌های سینژنیک می‌نامند. به آن دسته از موش‌هایی که در همه جایگاه‌های ژنتیکی به جز یک جایگاه با یکدیگر مشابه هستند موش‌های کانژنیک گفته می‌شوند. با بررسی نتیجه تبادل پیوند میان موش‌های کانژنیک، ناحیه ژنی مسئول رد پیوند سریع مشخص گردید که آن را MHC نامیدند. در موش این ناحیه ژنی با ژنهای رمزدهنده آنتی‌ژنهای گروه خونی به نام آنتی‌ژن II بر روی کروموزم 17 پیوسته‌است، در نتیجه این ناحیه H-2 (Histocompatibility-2) نامیده شد. ابتدا تصور بر این بود که این ناحیه تنها حاوی یک ژن است اما مطالعات بیشتر نشان داد که چندین ژن در این ناحیه قرار دارند و نهایتاً این ناحیه ژنی که حاوی چند ژن به هم پیوسته بود را ناحیه ژنی مربوط به کمپلکس اصلی سازگاری نسجی یا MHC نامیدند.

MHC انسان

مولکول‌های MHC اولین بار توسط بر سطح لکوسیت‌های انسان مورد شناسایی قرار گرفتند. به همین دلیل به این مولکول‌ها، آنتی‌ژن‌های لکوسیتی انسان یا Human Leukocyte Antigen (HLA) نیز گفته می‌شود. آنتی‌بادی علیه این مولکول‌ها در سرم افرادی که تزریق خون‌های مکرر داشته‌اند، افرادی که عضو پیوندی آنها رد شده باشد و خانم‌هایی که چندین حاملگی را تجربه کرده باشند یافت می‌شود. مطالعات بیشتر نشان داد که پروتئین‌های HLA مشابه پروتئین‌های H-2 موش می‌باشند. علاوه بر ژن‌های MHC، ژن‌های پلی مورف دیگری نیز وجود دارند که نقش کمتری در فرآیند رد پیوند بازی می‌کنند که آنتی‌ژن‌های فرعی سازگاری نسجی یا minor histocompatibility antigens نامیده می‌شوند.

ژن‌های MHC

ناحیه ژنی MHC در انسان با طولی حدود 3.5kb بر روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره 6 قرار دارد و در برگیرنده ژن‌های MHC-I و MHC-II می‌باشد. مولکول‌های MHC-I به سه زیر گروه A و B و C تقسیم می‌شوند و مولکول‌های MHC-II نیز به سه زیر گروه DP, DR, DQ قابل تقسیم می‌باشند. ژن‌های MHC-III در میان ژن‌های این دو کلاس قرار دارند و به همین دلیل به آنها MHC مرکزی نیز می‌گویند. ژن‌های این ناحیه مسئول رمزدهی یک سری مولکول محلول مانند بعضی از اجزای کمپلمان از جمله C2, C4 و فاکتور B و بعضی از سیتوکین‌ها مانند لنتوکسین A و B و TNF می‌باشند. البته در این ناحیه ژن‌های دیگری نیز وجود دارند که بسیاری از آنها در ارتباط با سیستم ایمنی می‌باشند (شکل 3).



شکل 3. نقشه ژنتیکی ناحیه MHC در انسان و موش

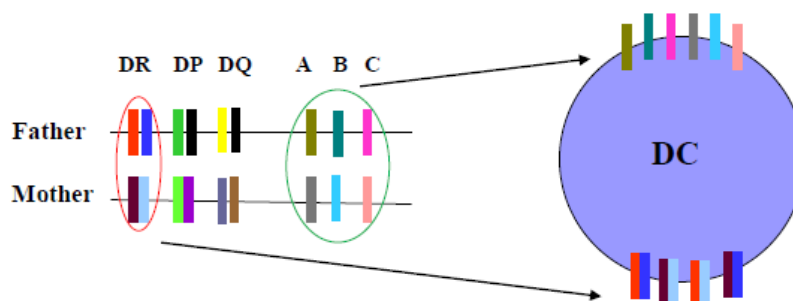
خصوصیات ژنتیکی مولکول‌های HLA

ژن‌های HLA بسیار پلی‌مورف هستند بطوریکه تاکنون چندین هزار آلل مختلف HLA در جمعیت‌های مختلف گزارش گردیده است (جدول 1). علت تنوع زیاد ژن‌های HLA، اطمینان از توانمندی تعدادی از افراد هر جمعیت در پاسخ به آنتی‌ژن‌های پروتئینی میکروب‌هاست که موجب می‌شود یک پاتوژن قادر به فرار از پاسخ میزبان‌های متعلق به یک گونه نباشد. مولکول‌های HLA دارای زنجیره‌های α و β می‌باشند. در HLA-I برخلاف ژن مربوط به زنجیره α که پلی‌مورف است، ژن مربوط به زنجیره β منومورف است و توسط ژنی بر روی کروموزوم شماره 15 رمزدهی می‌شود. ژن‌های مربوط به هر دو زنجیره α و β مولکول‌های HLA-II پلی‌مورف هستند و بر روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره 6 قرار دارند.

جدول 1. تنوع آلی ژن‌های HLA کلاس یک و کلاس دو

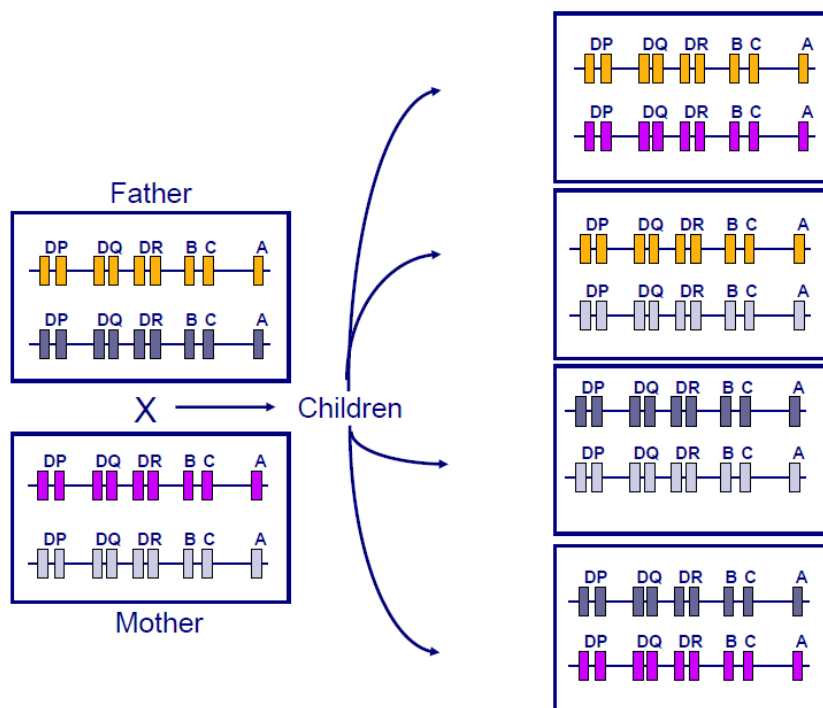
HLA Class I									
Gene	A	B	C						
Alleles	6,192	7,431	6,067						
Proteins	3,855	4,739	3,610						
HLA Class II									
Gene	DRA	DRB	DQA1	DQB1	DPA1	DPB1			
Alleles	29	3,391	250	1,857	202	1,584			
Proteins	2	2,403	106	1,232	71	1,037			
HLA Class II – DRB Alleles									
Gene	DRB1	DRB2	DRB3	DRB4	DRB5	DRB6	DRB7	DRB8	DRB9
Alleles	2,737	1	345	166	130	3	2	1	6
Proteins	1,934	0	258	110	101	0	0	0	0

ژن‌های HLA به صورت **همتوان** بیان می‌شوند به این مفهوم که هم آلل‌های پدری و هم آلل‌های مادری به ارث رسیده به هر فرد در هر یک از جایگاه‌های ژنی HLA بیان می‌گردند (شکل 4).



شکل 4. بیان همتوان ژنهای MHC بر سطح سلول

در انسان آللهای خاصی متعلق به جایگاه‌های مختلف HLA با هم به ارث می‌رسند بطوریکه میزان همراهی این آللهای بیش از شانس تصادفی جور شدن آنها در کنار یکدیگر است که به این خصوصیت **پیوستگی ژنی** گفته می‌شود. به دلیل فاصله کم میان جایگاه ژن‌های HLA، در هنگام تقسیم میوز و تشکیل گامت‌ها شانس کراسینگ اور میان ژن‌هایی که روی دو کروموزوم همولوگ قرار دارند بسیار کم است و معمولاً گروهی از آلل‌های HLA که بر روی یک کروموزوم قرار دارند به صورت یک مجموعه یا **هاپلوتیپ** به نسل بعد منتقل می‌شوند (شکل 5).



شکل 5. چگونگی به ارث رسیدن ژنهای HLA از والدین به فرزندان

بیان مولکول های MHC

از آنجا که وجود مولکول های MHC برای معرفی آنتی ژن ها به سلول های T الزامی است، بیان این مولکول ها بر سطح یک سلول تعیین کننده توانایی آن سلول در ارائه آنتی ژن های بیگانه به سلول های T می باشد.

مولکول های MHC-I بطور دائم بر سطح همه سلول های هسته دار بدن بیان می شوند. حضور مولکول های MHC-I بر سطح سلولها موجب حفاظت آنها در مقابل سلولهای NK موجود در بدن می شود.

مولکول های MHC-II تنها بر سطح معدودی از سلول ها مانند سلول های دندریتیک، ماکروفاژها، سلول های B، سلول های اپیتلیال تیموس و سلول های T فعال شده بیان می گردند.

سیتوکین های سیستم ایمنی ذاتی و ایمنی اختصاصی موجب افزایش بیان مولکول های MHC می گردند. در بیشتر مواقع اینترفرون ها موجب افزایش بیان مولکول های MHC می گردند. اینترفرون های تیپ یک سیتوکین هایی هستند که در ابتدای شکل گیری پاسخ ایمنی ذاتی علیه ویروس ها تولید می شوند. بنابراین ایمنی ذاتی علیه ویروس ها با القاء بیان مولکول های MHC-I و ارائه آنتی ژن های ویروسی به شکل گیری پاسخ ایمنی اختصاصی و فعال شدن سلول های T اختصاصی علیه ویروس ها کمک می کند.

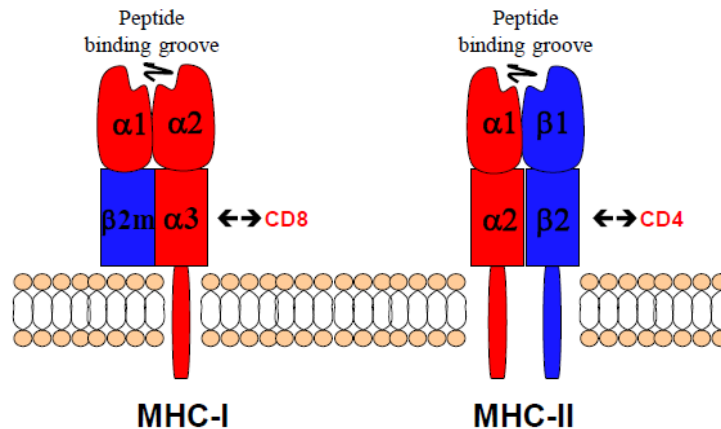
افزایش بیان مولکول های MHC-II بر سطح سلول های عرضه کننده آنتی ژن توسط IFN- γ ترشح شده از سلول های NK یا سلول های T کمکی صورت می پذیرد. بعلاوه سیگنال های حاصل از TLRs به دنبال درگیری با ترکیبات میکروبی نیز موجب افزایش بیان مولکول های MHC-II می شوند.

IFN- γ موجب افزایش بیان مولکول های MHC-II بر سطح سلول های B که خود بطور دائم این مولکول ها را بیان می کنند نیز می شود. این سیتوکین موجب افزایش بیان مولکول های MHC-II بر سطح سلول های اندوتلیال عروق و سایر سلول های غیر ایمنی نیز می گردد. اما نورون ها حتی در حضور IFN- γ قادر به بیان مولکول های MHC-II نمی باشند.

برخلاف سلول های T موش که هیچگاه مولکول های MHC-II را بیان نمی کنند، سلول های T انسان پس از فعال شدن، مولکول های MHC-II را بر سطح خود بیان می کنند اگرچه نقش این مولکول ها بر سطح سلول های T فعال هنوز شناخته نشده است.

ساختار مولکول های MHC

مولکول های MHC-I و MHC-II از نظر ساختاری خصوصیات مشترکی دارند که در ارائه پپتیدها به سلول های T نقش اساسی دارند. هر مولکول MHC دارای یک بخش خارج سلولی است که در برگیرنده شکاف اتصال به پپتید و نواحی شبه ایمونوگلوبولینی می باشد. در ادامه این نواحی، بخش داخل غشایی و سپس ناحیه سیتوپلاسمی قرار دارد. ناحیه پلی مورف مولکول های MHC در داخل و اطراف شکاف اتصال به پپتید قرار دارند. شکاف اتصال به پپتید در اثر تاخوردن مولکول MHC ایجاد می شود و شامل یک زوج هلیکس آلفا در طرفین شکاف و هشت صفحه بتا در کف شکاف می باشد و نواحی پلی مورف شامل اسید آمینه هایی است که در بین آلل های مختلف MHC متفاوت می باشند. TCR قادر به شناسایی مجموعه پپتید و هلیکس های آلفای مولکول MHC است. بدلیل تنوع در اسید آمینه های موجود در شکاف اتصال به پپتید، مولکول های MHC مختلف به پپتیدهای متفاوتی متصل می شوند و در نتیجه سلول های T متفاوتی را تحریک می کنند. بخش غیر پلی مورف شبه ایمونوگلوبولینی مولکول های MHC، در برگیرنده ناحیه متصل شونده به مولکول های CD4 یا CD8 موجود بر سطح سلول های T است. مولکول های CD4 و CD8 که بر سطح زیرگروه های خاصی از سلول های T بالغ بیان می شوند و به عنوان کمک گیرنده به همراه TCR در اتصال به آنتی ژن شرکت می نمایند. از آنجا که مولکول CD4 تمایل زیادی برای ناحیه $\beta 2$ مولکول های MHC-II و مولکول CD8 تمایل زیادی برای ناحیه $\alpha 3$ مولکول های MHC-I دارند، سلول های T کمکی که حامل مارکر CD4 می باشند آنتی ژن های ارائه شده توسط MHC-II را شناسایی می کنند و سلول های T سیتوتوکسیک با مارکر CD8 قادر به شناسایی آنتی ژن های ارائه شده به همراه MHC-I می باشند. به عبارت دیگر سلول های T کمکی محدود به MHC-II و سلول های T سیتوتوکسیک محدود به MHC-I می باشند (شکل 7).



شکل 6. ساختمان مولکول‌های سازگاری نسجی

مولکول‌های MHC-I

بخش پروتئینی مولکول‌های MHC-I متشکل از هتروداایمری است که زنجیره‌های آلفا و بتای آن بصورت غیر کووالان به یکدیگر متصل می‌گردند. زنجیره آلفا که توسط ژن‌های موجود در ناحیه MHC رمزدهی می‌گردند پروتئینی با وزن مولکولی 44-47 kD را رمزدهی می‌کنند. انتهای آمینی زنجیره آلفا در خارج سلول قرار می‌گیرد و دارای سه ناحیه 1α ، 2α و 3α هر یک با طول تخمینی حدود 90 اسید آمینه می‌باشد. شکاف اتصال به پپتید در بین 1α و 2α قرار دارد و پپتیدی بطول 8 تا 11 اسید آمینه را در خود جای می‌دهد. ناحیه 3α با اسید آمینه‌های حفظ شده در میان انواع مولکول‌های MHC-I، یک ناحیه شبه ایمنوگلوبولینی را ایجاد می‌کند که در اتصال به مولکول CD8 نقش دارد. زنجیره آلفا در کنار زنجیره سبک بتا با وزن مولکولی 12 kD قرار می‌گیرد که در انسان توسط ژنی بر روی کروموزوم 15 رمزدهی می‌گردد. زنجیره سبک مولکول‌های MHC-I غیر پلی‌مورف است و بتا-دو میکروگلوبولین ($\beta 2m$) نامیده می‌شود زیرا از نظر حرکت در میدان الکتریکی در ناحیه بتا-دو قرار می‌گیرد، از نظر اندازه کوچک (میکرو) است، از نظر حلالیت به پروتئین‌های کروی (گلوبولین‌ها) تعلق دارد و از نظر ساختمانی شبیه ایمنوگلوبولین‌هاست. لازم به ذکر است که برای شکل‌گیری و بیان مولکول MHC-I بر سطح سلول علاوه بر زنجیره آلفا و بتا-دو میکروگلوبولین به پپتید آنتی‌ژنیک نیز نیاز است و اتصال پپتید به شکاف MHC موجب استحکام این مولکول می‌گردد. افراد هتروزیگوت برای هر سه جایگاه MHC-A, B, C قادر به بروز شش نوع متفاوت از مولکول‌های MHC-I بر سطح سلول‌های خود می‌باشند.

مولکول‌های MHC-II

بخش پروتئینی مولکول‌های MHC-II از دو زنجیره پلی‌پپتیدی آلفا (32-34 kD) و بتا (29-32 kD) که بصورت غیر کووالان به یکدیگر متصل می‌گردند تشکیل شده است. ژن‌های مربوط به هر دو زنجیره آلفا و بتا در ناحیه MHC قرار دارند و هر دو زنجیره پلی‌مورف می‌باشند. انتهای آمینی هر دو زنجیره یعنی 1α و 1β که شکاف اتصال به پپتید را ایجاد می‌کنند بخش پلی‌مورف مولکول محسوب می‌گردند بطوریکه ناحیه 1α مسئول ایجاد یک هلیکس آلفا و چهار صفحه بتای کف شکاف است و ناحیه 1β در ایجاد چهار صفحه بتای دیگر و دومین هلیکس آلفا نقش دارد. برخلاف مولکول MHC-I که انتهای شکاف آن بسته است، در مولکول MHC-II انتهای شکاف اتصال به پپتید باز است و در نتیجه پپتید بزرگتری با طول تقریبی 30 اسید آمینه یا بیشتر در این شکاف قرار می‌گیرد.

نواحی 2α و 2β نواحی شبه ایمنوگلوبولینی مولکول‌های MHC-II را ایجاد می‌کنند و 2β در اتصال به مولکول CD4 نقش دارد. انتهای کربوکسیل زنجیره‌های آلفا و بتا شامل نواحی کوتاهی با اسید آمینه‌های هیدروفوب است که از خلال غشاء عبور می‌کنند که هر یک در انتها به یک دنباله سیتوپلاسمی ختم می‌شوند. غالباً زنجیره آلفای هر زیرکلاس MHC-II با زنجیره بتای همان زیرکلاس جفت می‌شود اما اتصال

زنجیره آلفای هر زیر کلاس به زنجیره‌های بتای زیر کلاس‌های دیگر نیز غیرمحمول نیست. مثلاً احتمال بروز مولکولی متشکل از $DR\alpha$ و $DQ\beta$ وجود دارد.

برخلاف مولکول‌های MHC-I که همگی دارای زنجیره بتای مشترک $\beta 2m$ می‌باشند، هر دو زنجیره آلفا و بتای مولکول‌های MHC-II پلی‌مورف هستند و در صورت متفاوت بودن ژن‌های پدری و مادری، ممکن است زنجیره آلفای پدری به زنجیره بتای پدری یا زنجیره بتای مادری متصل گردد و یا زنجیره آلفای مادری به زنجیره بتای مادری یا زنجیره بتای پدری متصل گردد. بنابراین در ماکزیمم حالت هتروزیگوسیتی، برای هر یک از زیر کلاس‌های MHC-II، چهار محصول متفاوت می‌تواند بر سطح سلول بروز یابد. تنوع مولکول‌های MHC-II در صورتی که زنجیره آلفای هر زیر کلاس بتواند با زنجیره بتای سایر زیر کلاس‌ها جفت شود بسیار بیشتر خواهد بود. بنابراین بر خلاف مولکول‌های MHC-I که در ماکزیمم حالت هتروزیگوسیتی با 6 نوع مختلف بر سطح سلول بروز می‌یابند، مولکول‌های MHC-II ممکن است با بیش از 12 نوع مختلف بر سطح سلولی مانند سلول دندریتیک بیان شوند.

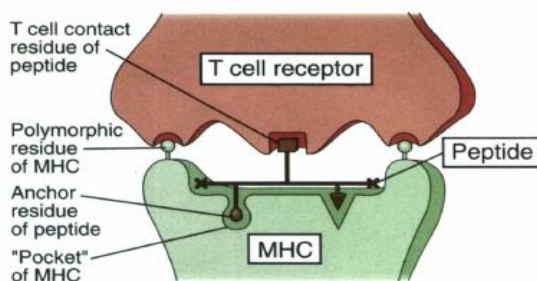
علاوه بر زنجیره‌های آلفا و بتا، اتصال پپتید آنتی‌ژنیک به شکاف MHC-II، برای شکل‌گیری این مولکول و بروز آن بر سطح سلول ضروری است.

اتصال پپتید به شکاف مولکول‌های MHC

بدنبال فهم اینکه ایمنوزنسیته پروتئین‌ها به توانایی پپتیدهای حاصل از آنها در اتصال و ارائه توسط مولکول‌های MHC بستگی دارد، تلاش‌های زیادی جهت بررسی خصوصیات پپتیدهایی که می‌توانند به شکاف MHC متصل شوند صورت گرفت. بررسی عملکرد و میزان پاسخ سلول‌های T در کشت توام با سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن بارگیری شده با پپتیدهای مختلف، بررسی اتصال مستقیم مولکول‌های MHC خالص شده با پپتیدهای نشاندار با مواد رادیواکتیو یا مواد فلورسنت و کریستالوگرافی MHC-پپتید با اشعه X اطلاعات ارزشمندی در مورد چگونگی اتصال پپتید به شکاف MHC را حاصل کرد و نشان داد که برخلاف واکنش TCR و BCR با لیگاند‌های مربوط به آنها که از اختصاصیت بسیار بالایی برخوردار می‌باشند، هر مولکول MHC می‌تواند به پپتیدهای متفاوتی متصل گردد. واکنش MHC با پپتید از خصوصیات زیر برخوردار است:

- هر مولکول MHC تنها دارای یک شکاف اتصال به پپتید است و در هر زمان تنها یک پپتید می‌تواند در این شکاف قرار گیرد. اما هر مولکول قادر است در زمان‌های مختلف به پپتیدهای متفاوتی متصل گردد. این نکته کاملاً منطقی است زیرا هر فرد هتروزیگوت برای کلیه جایگاه‌های ژنتیکی MHC قادر به تولید 6 نوع MHC-I و 20-10 نوع MHC-II است و این مولکول‌های MHC باید توانایی ارائه و معرفی اغلب آنتی‌ژن‌های ورودی به بدن فرد را به سلول‌های T داشته باشند. علاوه بر نتیجه آزمایشات نشان می‌دهد که پپتیدهایی که توانایی اتصال به یک شکاف MHC را دارند با یکدیگر رقابت می‌کنند و کریستالوگرافی نشان می‌دهد که نهایتاً تنها یک پپتید در شکاف MHC قرار می‌گیرد.
- پپتیدهایی که در شکاف MHC قرار می‌گیرند دارای ویژگی‌های ساختاری خاصی هستند که موجب ایجاد این واکنش می‌گردد. ساین پپتید یکی از عوامل محدود کننده در این خصوص به حساب می‌آید بطوریکه MHC-I تنها می‌تواند پپتیدهایی با طول 8-11 اسید آمینه را در خود جای دهد و MHC-II به پپتیدهایی با طول 10-30 اسید آمینه متصل می‌گردد. علاوه بر پپتیدهایی که به یک MHC خاص متصل می‌شوند در نقاط خاصی، اسید آمینه‌های ویژه‌ای را حمل می‌کنند که در واکنش متقابل با اسید آمینه‌های موجود در شکاف MHC مؤثر می‌باشند. بنابراین تمایل نسبی میان پپتید و شکاف MHC وجود دارد. لازم به ذکر است که اسید آمینه‌هایی که در اتصال پپتید به شکاف نقش دارند با اسید آمینه‌هایی که توسط TCR مورد شناسایی قرار می‌گیرند متفاوت هستند.
- مولکول‌های MHC در طی بیوسنتز در داخل سلول توسط پپتید بارگیری می‌شوند. مولکول‌های MHC قادر به تفکیک پپتیدهای خودی از پپتیدهای بیگانه نمی‌باشند و تعداد قابل توجهی از مولکول‌های MHC موجود بر سطح سلول‌ها توسط پپتیدهای خودی اشغال می‌شوند. با اینحال بدلیل وجود تحمل ایمنی و حذف یا غیرفعال شدن سلول‌های T خودواکنشگر، ارائه پپتیدهای خودی به همراه MHC در حالت طبیعی منجر به بروز خودایمنی نمی‌گردد. در هنگام عفونت نیز اگر 0.1% از کل مولکول‌های MHC سطح یک سلول (حدود 100 ملکول MHC) یک پپتید خاص را به سلول T ارائه نمایند، سلول T فعال می‌گردد.
- پپتیدها با اتصالات غیرکووالان به مولکول‌های MHC متصل می‌گردند اما از آنجا که مجموعه MHC-پپتید از نظر ساختاری بسیار پایدار است، ممکن است یک پپتید خاص برای چندین ساعت یا حتی چندین روز در شکاف یک مولکول MHC باقی بماند.

- صفحات بتای کف شکاف مولکول‌های MHC دارای فرورفتگی‌هایی بنام شیار (Pocket) است. یک شیار هیدروفوب در کف مولکول MHC-I وجود دارد که در واکنش با اسیدآمینه‌هایی مانند والین، ایزولوسین، لوسین یا متیونین موجود در انتهای کربوکسیل پپتید شرکت می‌نماید. بعضی از مولکول‌های MHC-I تمایل زیادی برای اتصال به اسیدآمینه‌های بازی (لیزین و آرژنین) انتهای کربوکسیل پپتید دارند. بعلاوه گروه‌های جانبی سایر اسیدآمینه‌های موجود در پپتید نیز ممکن است از طریق پل نمکی، باند هیدروژنی یا واندروالس با سایر اسید آمینه‌های موجود در شکاف MHC واکنش دهند. به اسیدآمینه‌هایی از پپتید که در واکنش با شیار MHC شرکت می‌کنند اسیدآمینه‌های لنگر (anchor residue) می‌گویند. هر پپتید متصل شونده به MHC معمولاً دارای یک یا دو اسیدآمینه لنگر است و به همین دلیل پپتیدهای مختلفی می‌توانند در شکاف یک مولکول MHC خاص قرار گیرند (شکل 7).



شکل 7. شناسایی مجموعه MHC-پپتید توسط گیرنده اختصاصی سلول T

از آنجا که توالی اسیدآمینه‌های تشکیل دهنده شکاف MHC در آلل‌های مختلف با هم متفاوتند، هر یک از آلل‌ها تمایل خاصی برای اتصال به پپتیدهای خاصی را دارا می‌باشند. به همین دلیل پاسخ ایمنی افراد مختلف یک جامعه نسبت به یک عامل عفونی، متفاوت است و تنها افرادی که قادر به ارائه یکسری از پپتیدهای میکروب مهاجم توسط مولکول‌های MHC خود باشند می‌توانند نسبت به آن واکنش نشان دهند. نهایتاً مجموعه MHC-پپتید توسط TCR قابل شناسایی است بطوریکه بخش‌هایی از پپتید که در بالای شکاف MHC قرار می‌گیرند به همراه هلیکس‌های آلفای موجود در لبه‌های شکاف در اتصال به TCR نقش دارند. تغییر در ساختار پپتید یا شکاف MHC می‌تواند بر قدرت اتصال TCR به این مجموعه اثر داشته باشد.

اهمیت مولکولهای HLA

علاوه بر نقش کلیدی مولکولهای HLA در ارائه آنتی ژنها به سلولهای T و اهمیت سیتوکاینهای ترشح شده از این سلولها در تنظیم پاسخهای ایمنی، مولکولهای HLA به دلیل تنوع قابل توجه و ایمونوژنسیته زیاد در صورت ناسازگاری میان دهنده و گیرنده یکی از موانع مهم بر سر راه پیوند محسوب می‌شود. اگرچه پلی مورفیسم زیاد این ژن ها، یافتن دهنده مناسب پیوند را مشکل می‌سازد اما همین تنوع زیاد به عنوان ابزاری برای یافتن مجرمین در پزشک قانونی کاربرد زیادی دارد. اگرچه تعیین HLA، به عنوان تنها ابزار مبتنی بر DNA نیست و در حال حاضر از نواحی تکرار شونده کوتاه یا توالیهای STR بیشتر برای این منظور استفاده می‌شود. بعلاوه به ارث رسیدن این ژنها به صورت هاپلوتایی است و فرزندان یک کپی از HLA پدری و یک کپی از HLA مادری را دریافت می‌کنند و در تست ردابوت با تعیین HLA فرزند می‌توان پدر و مادر بیولوژیک وی را مشخص کرد.

در سالهای اخیر ارتباط بعضی از آللهای HLA با برخی از بیماریها و خصوصاً بیماریهای خودایمن نیز گزارش گردیده است (جدول 2). علت احتمالی این ارتباط را تمایل بیشتر بعضی از آللهای HLA برای ارائه بعضی از آنتی ژنهای خودی خصوصاً آنتی ژنهای خودی تغییر یافته می‌

دانند. اگرچه ممکن است این ارتباط صرفاً به دلیل همراهی یکی از ژنهای دخیل در ایجاد بیماری با یکی از آللهای HLA باشد که با در نظر گرفتن تراکم زیاد ژنها بر روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره 6 بدیهی به نظر می رسد.

با افزایش طراحی واکسنهای پپتیدی در سالهای اخیر و در نظر گرفتن این نکته که پپتیدهای آنتی ژنیک تنها پس از اتصال به شکاف مولکولهای HLA در جمعیت هدف می توانند در شکل گیری پاسخهای ایمنی نقش داشته باشند، تعیین فراوانی آلی و یافتن آللهای شایع در هر جمعیت از اهمیت ویژه ای برخوردار است.

جدول 2. ارتباط بعضی از آللهای HLA با بیماریها

Disease	HLA allele
Rheumatoid arthritis (RA)	DRB1 shared epitope
Type 1 diabetes (T1D)	DRB1*0301-DQA1*0501-DQB1*0201 haplotype DRB1*0401-DQA1*0301-DQB1*0302 haplotype DRB1*0301/0401 heterozygotes
Multiple sclerosis (MS)	DRB1*1501
Systemic lupus erythematosus (SLE)	DRB1*0301 DRB1*1501
Ankylosing spondylitis (AS)	B*27 (mainly B*2705 and B*2702)
Celiac disease (CD)	DQA1*0501-DQB1*0201 haplotype

پردازش و ارائه آنتی ژنهای پروتئینی

از آنجا که مولکولهای MHC تنها می توانند به پپتیدهایی با طول کوتاه اتصال یابند و بسیاری از میکروبها دارای آنتی ژنهای پروتئینی بزرگ و پیچیده ای هستند، این پروتئینها باید به پپتید تبدیل شوند و سپس به همراه مولکولهای MHC به سلولهای T ارائه گردند. تبدیل پروتئینها به پپتیدها را پردازش آنتی ژن می نامند. براساس منبع آنتی ژنها و محل قرارگیری آنها، نحوه پردازش و ارائه آنتی ژن نیز متفاوت خواهد بود. بطوریکه آنتی ژنهای اندوژن (آنتی ژنهای توموری و آنتی ژنهای ویروسی) پس از سپری کردن مسیر سیتوزولیک توسط مجموعه های آنزیمی بنام پروتئازوم به پپتید تبدیل می شوند و این پپتیدها به همراه MHC-I نهایتاً به سلولهای T سیتوتوکسیک ارائه می گردند. در حالیکه آنتی ژنهای اگزوزن که غالباً از طریق فاگوسیتوز وارد سلول می گردند پس از پشت سر گذاشتن مسیر اندوزومال توسط آنزیمهای لیزوزومی به پپتید تبدیل می شوند و پپتیدهای حاصل به همراه مولکولهای MHC-II نهایتاً به سلولهای T کمکی ارائه می گردند.

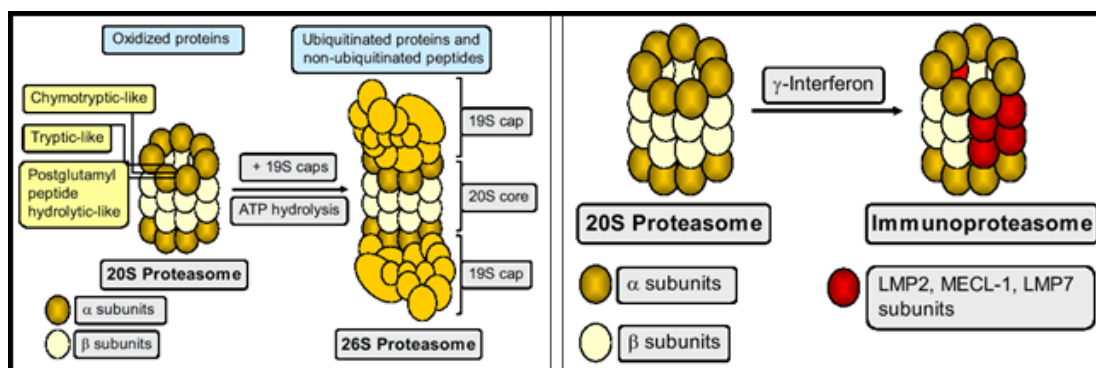
پردازش پروتئینهای سیتوزولی و ارائه به همراه MHC-I

پپتیدهای متصل شونده به مولکولهای MHC-I در اثر تخریب پروتئینهای سیتوزولی ایجاد می گردند. پپتیدهای حاصل از این تخریب به شبکه اندوپلاسمی منتقل می شوند، مکانی که بارگیری مولکولهای MHC-I تازه ساخته شده صورت می گیرد.

بیشتر آنتی ژنهای پروتئینی موجود در سیتوزول در داخل سلول ساخته می شوند (مانند آنتی ژنهای ویروسی و توموری) و بعضی از آنها پس از ورود از طریق فاگوسیتوز و فرار از فاگوزوم به سیتوزول منتقل می شوند (آنتی ژنهای مرتبط با میکروبهای درون سلولی). پروتئینهای خودی نیز که ساختار سه بعدی آنها به صورت صحیح شکل نگرفته باشد تیز در مسیر مشابهی تخریب می گردند.

از آنجا که سرعت سنتز پروتئین‌ها در سلول سریع است (8-6 اسید آمینه در هر ثانیه)، اشتباه در ساخت آنها امری بدیهی است و حدود 20 درصد از پروتئین‌های تازه سنتز شده ساختار فضایی صحیح را پیدا نمی‌کنند. پروتئازوم‌ها با ساختارهای پیچیده آنزیمی و با قدرت وسیع پروتئولیتیک در سیتوپلاسم و هسته بسیاری از سلول‌ها مسئول تخریب پروتئین‌ها هستند. بخش اصلی پروتئازوم شامل ناحیه استوانه‌ای با چهار حلقه (دو حلقه خارجی آلفا و دو حلقه داخلی بتا) و هر حلقه دارای هفت زیرواحد است. پروتئازوم همچنین دارای دو کلاهک است که در طرفین استوانه قرار می‌گیرند. پروتئین‌های موجود در حلقه‌های داخلی ($\beta 1, \beta 2$ و $\beta 5$) دارای قدرت پروتئولیتیک هستند (شکل 8).

پروتئین‌هایی توسط پروتئازوم مورد هدف قرار می‌گیرند که زنجیره‌ای از چهار یوبیکوئیتین یا بیشتر بر روی آنها قرار گرفته باشد. یوبیکوئیتین پروتئین کوچکی متشکل از 76 اسید آمینه با وزن مولکولی 8.5 kD می‌باشد که توسط یک مجموعه آنزیمی به پروتئین‌های فرسوده یا پروتئین‌هایی با ساختار فضایی نادرست افزوده می‌شود. با شناسایی پروتئین یوبیکوئیتینه شده توسط کلاهک پروتئازوم یوبیکوئیتین‌ها از پروتئین جدا شده، سپس پروتئین ساختار فضایی خود را از دست می‌دهد و توسط بخش آنزیمی پروتئازوم هضم می‌گردد. در حضور $\text{IFN-}\gamma$ نسخه برداری و ساخت سه آنزیم جدید پروتئازومی به نام‌های LMP2 ، MECL-1 و LMP7 افزایش می‌یابد که جایگزین سه زیر واحد کاتالیتیکی حلقه بتای پروتئازوم معمولی می‌شوند و بدین ترتیب فعالیت پروتئازوم دستخوش تغییر می‌گردد بطوریکه پپتیدهایی با انتهای کربوکسیل حاوی اسید آمینه‌های هیدروفوب یا اسید آمینه‌های بازی ایجاد می‌کند که این پپتیدها برای اتصال به MHC-I تمایل زیادی دارند و به این ترتیب در حضور $\text{IFN-}\gamma$ نه تنها میزان بیان مولکول‌های MHC زیاد می‌شود بلکه ارائه آنتی‌ژن نیز افزایش می‌یابد (شکل 8).



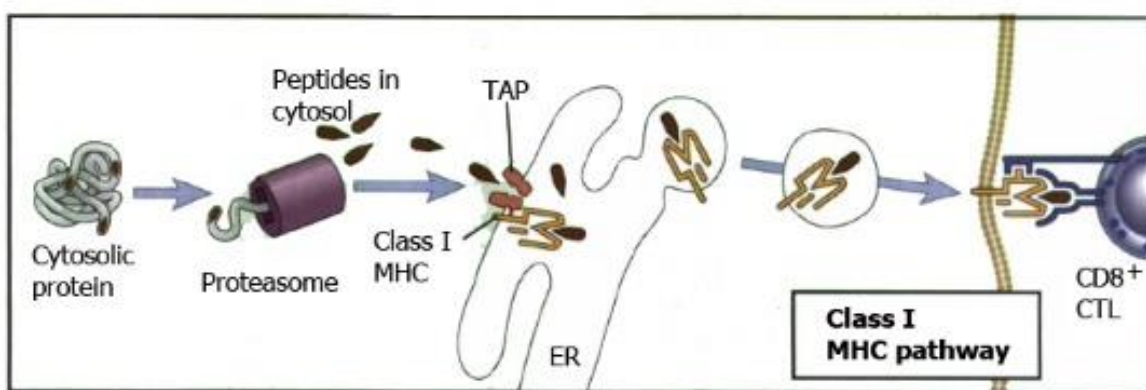
شکل 8. ساختمان پروتئازوم

بعضی از پروتئین‌ها برای ارائه توسط MHC-I به یوبیکوئیتینه شدن و پروتئازوم نیاز ندارند و توسط پروتئازهای سیتوزولی تخریب می‌شوند. بعلاوه پپتیدهای راهنمای مربوط به پروتئین‌های غشایی و ترشحی نیز پس از جدا شدن از پروتئین‌های اصلی در شبکه اندوپلاسمی می‌توانند به MHC-I متصل شوند.

از آنجا که پپتیدها غالباً در سیتوزول قرار دارند و مولکول‌های تازه سنتز شده MHC-I در داخل شبکه اندوپلاسمی می‌باشند، انتقال پپتیدها از سیتوزول به داخل شبکه اندوپلاسمی توسط کانالی متشکل از هتروداایمر TAP1/TAP2 بنام انتقال دهنده وابسته به پردازش آنتی‌ژن یا $\text{Transporter associated with antigen processing (TAP)}$ صورت می‌گیرد. این کانال بصورت یکطرفه و با صرف ATP پپتیدها را به داخل شبکه اندوپلاسمی منتقل می‌نماید. اگرچه این کانال قادر به انتقال پپتیدهای بسیاری است اما پپتیدهایی با طول 8-16 اسید آمینه که انتهای کربوکسیل آنها هیدروفوب یا بازی است را بهتر انتقال می‌دهد. در بخش داخلی شبکه اندوپلاسمی کانال TAP از طریق یک پروتئین واسطه به نام تاپاسین به مولکول‌های MHC-I که منتظر دریافت پپتید هستند متصل می‌گردد.

زنجیره‌های آلفا و $\beta 2m$ مربوط به MHC-I توسط ریبوزوم‌های متصل به غشاء شبکه اندوپلاسمی سنتز می‌گردند. باندهای دی‌سولفیدی درون زنجیره آلفا با تاثیر Erp57 ایجاد می‌شوند و ساختار فضایی مولکول نهایتاً با کمک پروتئین‌های همراه مانند کالکسین و کالرتیکولین شکل می‌گیرد و سپس در کنار $\beta 2m$ قرار می‌گیرد. MHC-I، تاپاسین، TAP و پروتئین‌های همراه بخشی از کمپلکس بارگیری در شبکه اندوپلاسمی را ایجاد می‌کنند. یکی از پروتئین‌های همراه Erp57 است که با خاصیت اکسیدوردوکنازی خود در بارگیری MHC-I نقش مهمی دارد.

در داخل شبکه اندوپلاسمی، پپتیدازی به نام ER-resident aminopeptidase (ERAP) وجود دارد که در پیرایش پپتیدها بطوریکه طول مناسب برای اتصال به شکاف MHC-I را بدست آورند مؤثر است. پس از اتصال پپتید به شکاف MHC-I، تمایل این مجموعه برای تاپاسین کاهش می‌یابد، از شبکه اندوپلاسمی به سمت مجموعه گلژی رفته، نهایتاً از طریق اگزوسیتوز به سطح سلول منتقل می‌شود. نهایتاً کمپلکس MHC-I-پپتید موجود بر سطح سلول توسط TCR سلول‌های T سیتوتوکسیک مورد شناسایی قرار می‌گیرد (شکل 9). مولکول‌های MHC-I بارگیری نشده با پپتید به دلیل ناپایداری به سیتوزول منتقل می‌گردند و توسط پروتازوم تخریب می‌شوند.



شکل 9. پردازش پروتئین‌های سیتوزولی و ارائه به همراه MHC-I

پردازش پروتئین‌های وزیکولی و ارائه به همراه MHC-II

منبع اغلب پپتیدهای متصل به MHC-II، آنتی‌ژن‌های پروتئینی گرفته شده از محیط خارج سلولی است که توسط اندوزوم‌ها به داخل سلول راه می‌یابند. آنتی‌ژن‌های پروتئینی بطرق مختلف توسط سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن به دام می‌افتند. سلول‌های دندریتیک و ماکروفاژها گیرنده‌های مختلفی بر سطح خود بروز می‌دهند که در شناسایی ساختارهای مشترک میکروبی نقش دارند. ماکروفاژها همچنین با دارا بودن گیرنده برای بخش FC مولکول‌های آنتی‌بادی و جزء C3b کمپلمان قادر به بدام انداختن آنتی‌ژن‌های اپسونیزه شده می‌باشند. سلول‌های B نیز با گیرنده اختصاصی سطح خود آنتی‌ژن‌ها را حتی در غلظت‌های کم بدام می‌اندازند. آنتی‌ژن‌های بدام انداخته شده در داخل وزیکول‌های متصل به غشاء تجمع می‌یابند که به آنها اندوزوم گفته می‌شود. این اندوزوم‌ها سپس به لیزوزوم‌ها متصل می‌شوند که حاوی آنزیم‌های مختلف می‌باشند.

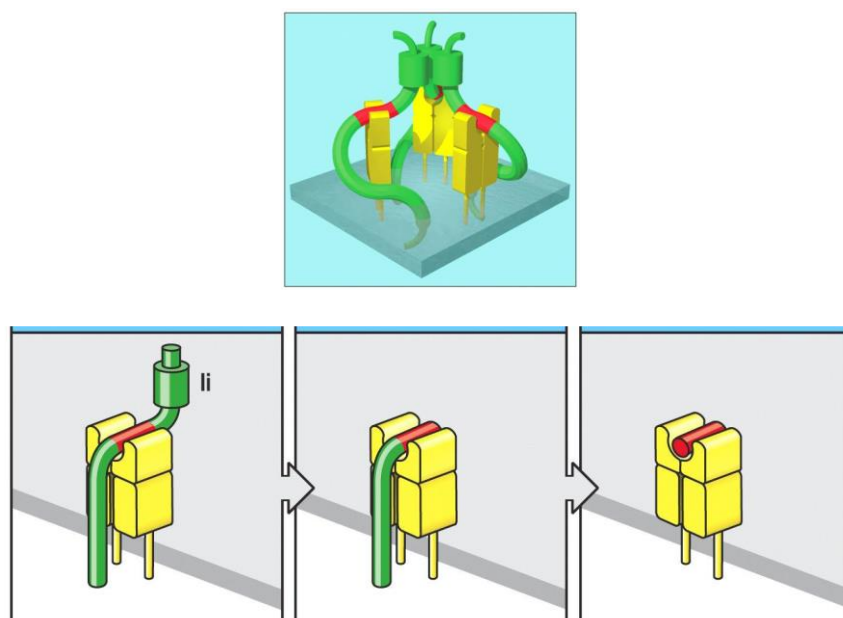
آنتی‌ژن‌های ذره‌ای و میکروب‌ها وارد وزیکول‌هایی بنام فاگوزوم می‌گردند که پس از اتصال به لیزوزوم‌ها، فاگولیزوزوم را ایجاد می‌کنند. بعضی از میکروب‌ها مانند مایکوباکتریوم با استراتژی‌های مختلف در داخل فاگوزوم باقی مانده و تکثیر می‌شوند.

گاه پروتئین‌های ترشحی در مسیر خود به سمت خارج سلول وارد مسیر عرضه آنتی‌ژن به همراه MHC-II می‌گردند. اگرچه پروتئین‌های غشایی و سیتوپلاسمی کمتر وارد این مسیر می‌شوند، گاه این پروتئین‌ها نیز از طریق اتوفاجی و بدام افتادن در وزیکول‌های متصل به غشاء بنام اتوفازوزوم نهایتاً به لیزوزوم متصل می‌گردند. با فعال شدن پروتازها در pH اسیدی موجود در اندوزوم‌های نهایی، تخریب پروتئین‌ها صورت می‌گیرد. فراوانترین آنزیم موجود در اندوزوم‌های نهایی کاتپسین‌ها هستند که تیول و اسپارکیل پروتئازهایی با طیف وسیع می‌باشند.

با کمک میکروسکوپ الکترونی و جداسازی بخش‌های مختلف سلول، وزیکول‌های غنی از MHC-II در سلول‌هایی مانند ماکروفاژ و سلول‌های B انسان مشخص گردیده‌اند که به آنها بخش‌های غنی از MHC-II یا MHC-II compartment (MIIC) می‌گویند. این وزیکول‌ها حاوی تمام اجزاء لازم برای الحاق پپتید به MHC-II می‌باشند.

مولکول‌های MHC-II همانند مولکول‌های MHC-I توسط ریبوزوم‌های متصل به غشاء شبکه اندوپلاسمی ساخته می‌شوند. جالب اینکه به هنگام سنتز مولکول‌های MHC-II مولکولی بنام زنجیره غیر متنوع یا Invariant chain (Ii) نیز سنتز می‌گردد که شکاف MHC-II را اشغال می‌کند و مانع از اتصال این مولکول‌ها به پپتیدهای موجود در شبکه اندوپلاسمی می‌گردد و پپتیدهای موجود در ER را برای اتصال به شکاف مولکول‌های MHC-I باقی می‌گذارد. Ii یک مولکول غشایی است که بصورت هموتریمر ساخته می‌شود و همزمان شکاف آنتی‌ژنی سه مولکول MHC-II را مسدود می‌کند (شکل 10-بالا). Ii به عنوان یک پروتئین همراه به کمک کالکسین به ایجاد ساختار فضایی مولکول‌های MHC-II نیز کمک می‌کند و دم سیتوپلاسمی این مولکول در هدایت وزیکول‌های حاوی MHC-II به سمت اندوزوم‌های نهایی نقش دارد.

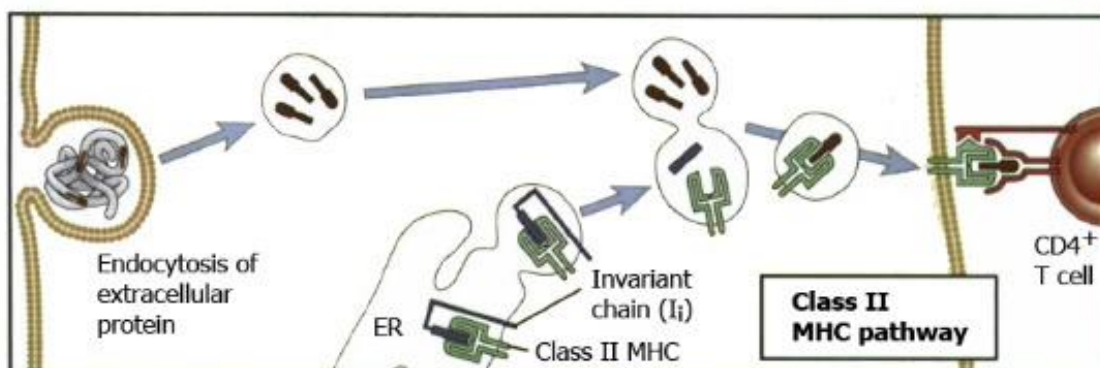
در مسیر حرکت وزیکول‌های حاوی MHC-II به سمت سطح سلول، این وزیکول‌ها به اندوزوم‌های نهایی می‌پیوندند و Ii توسط آنزیم‌های موجود در وزیکول‌های نهایی تخریب می‌گردد و تنها بخشی از آن با طول 24 اسید آمینه که در داخل شکاف MHC باقی می‌ماند و به آن Class II-associated invariant chain peptide (CLIP) می‌گویند باقی می‌ماند (شکل 10-پایین).



شکل 10. مسدود شدن شکاف MHC-II توسط Ii (بالا) نحوه هضم Ii در فاگولیزوزوم و باقی ماندن CLIP (پایین)

هنگام پر شدن شکاف MHC با پپتیدهای آنتی‌ژنیک، ابتدا CLIP باید از این شکاف خارج شود. HLA-DM که ژن زنجیره‌های α و β آن در میان سایر ژن‌های MHC قرار دارد در این پدیده نقش بسیار اساسی دارد. این مولکول به همراه سایر مولکول‌های MHC-II در وزیکول‌های MIIC یافت می‌شود اما برخلاف مولکول‌های کلاسیک MHC-II پلی‌مورفیسم زیادی ندارد و هیچگاه بر سطح سلول ظاهر نمی‌گردد و نقش تعویض کننده پپتید را بر عهده دارد و جدا شدن CLIP را تسهیل می‌کند.

HLA-DM با اتصال به مولکول های MHC-II موجب تغییر ساختار فضایی این مولکول ها و خروج CLIP می گردد. سپس پپتیدهای مختلف موجود در فاگوزوم نهایی فرصت می یابند تا در شکاف MHC-II قرار گیرند. بدنبال اتصال یک پپتید مناسب به شکاف MHC-II، این مجموعه از HLA-DM جدا شده، مسیر خود را از طریق اگزوسیتوز به سطح سلول ادامه می دهد. لازم به ذکر است که فعالیت HLA-DM، خود توسط HLA-DO به صورت منفی کنترل می شود. پپتیدهای متصل شده به شکاف MHC-II ممکن است بزرگتر از شکاف باشند و پس از اتصال، پروتنازها با برش دادن بخش های اضافی موجب تناسب پپتید با شکاف می گردند (شکل 11).

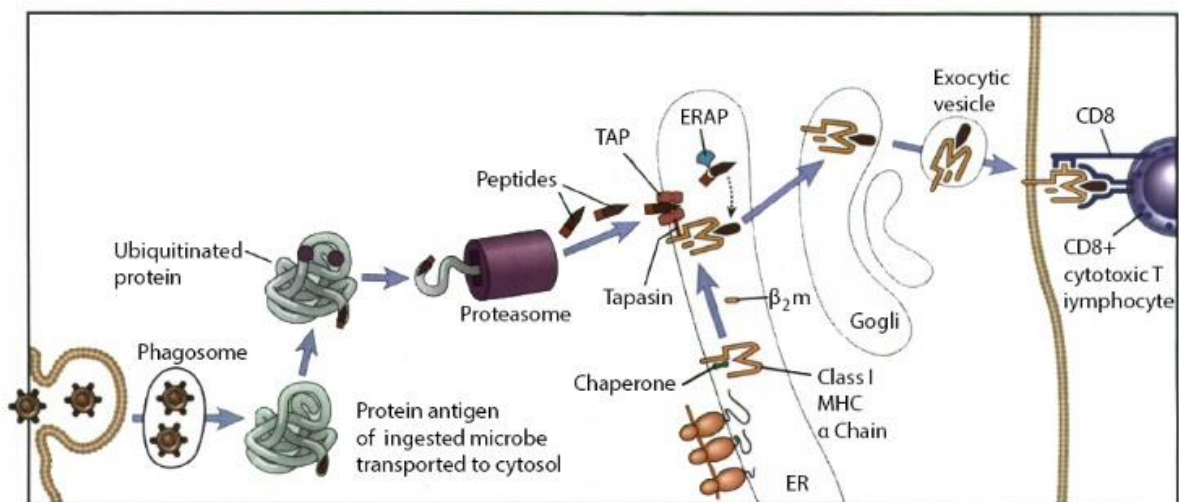


شکل 11. پردازش پروتئین های اگزوزن از طریق مسیر اندوزمال و ارائه به همراه MHC-II

پردازش متقاطع

در هنگام ارائه آنتی ژن ها به سلول های T، علاوه بر درگیر شدن مجموعه MHC-پپتید با TCR و کمک گیرنده هایی مانند CD4 و CD8 که به بخش های غیر پلی مورف MHC متصل می گردند (سیگنال اول)، سیگنال دوم که از طریق برهمکنش مولکول های کمک تحریکی ایجاد می گردد نقش بسیار مهمی در فعال شدن سلول های T باکره دارد. از مهمترین مولکول های کمک تحریکی موجود بر سطح سلول های عرضه کننده آنتی ژن مولکول های B7-1 (CD80) و B7-2 (CD86) می باشند که با مولکول CD28 موجود بر سطح سلول های T واکنش می دهند. هر یک از دو سیگنال فوق به تنهایی نه تنها قادر به فعال کردن سلول های T نمی باشد بلکه موجب القاء انرژی یا بی پاسخی سلول T نیز می گردند، بطوریکه آستانه تحریک سلول T افزایش می یابد و از آن پس نیز بخوبی تحریک نمی گردد.

از آنجا که مولکول های MHC-I بر سطح همه سلول های هسته دار بدن وجود دارند، خطر القاء انرژی در سلول های T سیتوتوکسیک باکره بدنبال ارائه آنتی ژن های ویروسی و توموری توسط این سلول ها در عدم حضور مولکول های کمک تحریکی وجود دارد اما در صورت بلع سلول های آلوده به ویروس و سلول های توموری توسط سلول های دندریتیک و فرار بخشی از این آنتی ژن ها به داخل سیتوزول و ارائه آنها به همراه MHC-I امکان فعال شدن سلول های T سیتوتوکسیک باکره فراهم می گردد زیرا سلول های دندریتیک علاوه بر مولکول های MHC، مولکول های کمک تحریکی را نیز به فراوانی بر سطح خود بروز می دهند. به علاوه در این حالت آنتی ژن های ویروسی و توموری داخل فاگوزوم ها نیز به همراه MHC-II بر سطح سلول های دندریتیک به سلول های T کمکی ارائه می گردند و سلول های Th با ترشح سیتوکین ها به بهتر فعال شدن سلول های Tc کمک می کنند. سلول های T سیتوتوکسیک پس از فعال شدن قادر خواهند بود سلول های آلوده به ویروس و سلول های توموری را بدون نیاز به سیگنال های کمک تحریکی شناسایی و منهدم سازند. به پدیده ارائه آنتی ژن های اگزوزن به همراه MHC-I توسط سلول های دندریتیک، پردازش متقاطع گفته می شود (شکل 14).



شکل 14. پردازش متقاطع آنتی ژن