

مبحث : تکامل نفوسیت های

T و B

جله : ششم

استاد : دکتر درودچی

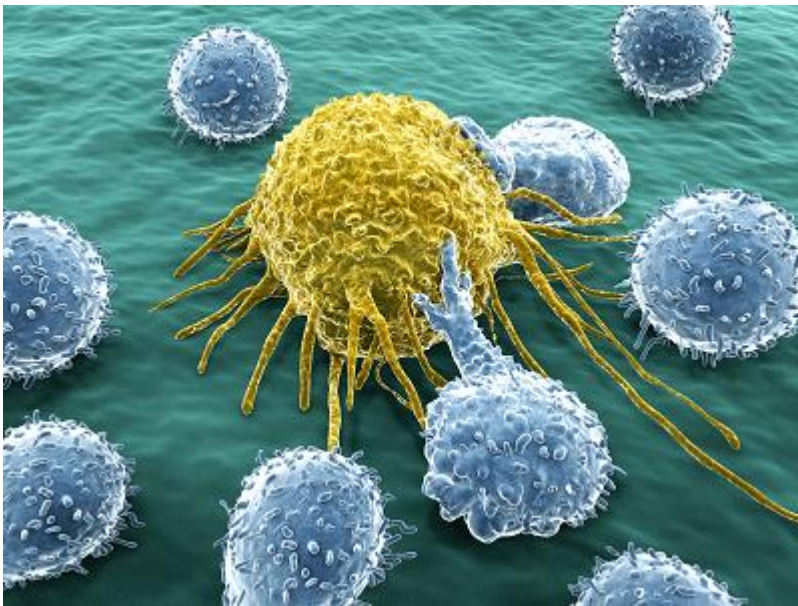
تهیه کنندگان :

1. امیرکری آبخیز

2. سید محمد هاشمی نسب

3. زهرا حبیبی

4. سیمک علیزاده



ایمنی شناسی

نوازیون 98 دندانپزشکی شیراز

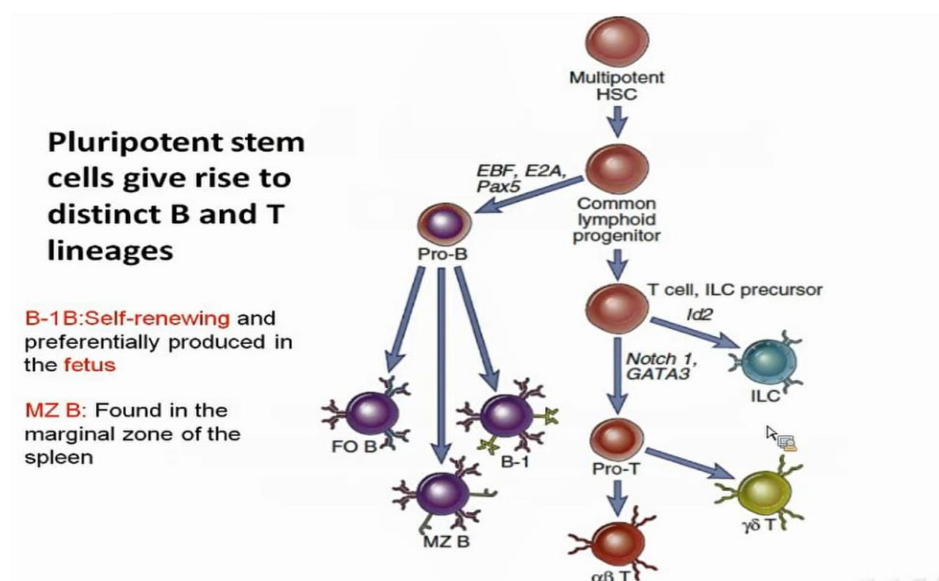


فیلم جلسه مربوطه را می‌توانید

از این قسمت دانلود کنید ←

همه ما می‌دانیم که سلول‌های لنفوسیت T، B و بعضی دیگر از سلول‌های سیستم ایمنی ما از یک سلول Multipotent HSC منشأ می‌گیرند. (HSC ها از نظر تمایزی جلوتر از embryonic stem یا ESC ها هستند. Hematopoietic stem cell یا HSC به یک سری سلول‌های سازنده (progenitor) تبدیل می‌شود. (سلول‌های سازنده یا همان بنیادی لنفوییدی و میلوئیدی (common lymphoid and myloid progenitor)، که در این جلسه با لنفوییدی‌ها کار داریم)

- بعضی از سلول‌های بنیادی لنفوییدی، سلول‌های B (بنفش رنگ در تصویر) و بعضی دیگر سلول‌های T (قرمز رنگ در تصویر) را می‌سازند.



چگونه سلول بنیادی لنفوییدی به یک لنفوسیت B تبدیل می‌شود؟ اول از همه باید بدانیم که سه نوع لنفوسیت B مشهور در بدن داریم:

- (Follicular) FO B (1)
- B₁ B (2)
- (marginal zone) MZ B (3)

توجه: FO B و MZ B سلول‌های B₂ نامیده می‌شوند. اکنون باید بدانیم که چگونه pro_B به FO B تبدیل می‌شود.

توجه: FO B بیشترین جمعیت B cell ها را در بدن تشکیل می‌دهند و در خون هستند و وقتی از لنفوسیت‌های B حرف می‌زنیم، منظور FO B است.

▪ B₁ ها در مناطق خاصی از بدن قرار دارند مثلاً در صفاق موش در دوران جنینی ایجاد می‌شوند و از Fetal liver منشا می‌گیرند و از بدو تولد در بدن ما حضور دارند.

▪ MZ ها در ناحیه marginal zone طحال موش و طحال انسان قرار دارند و نقش مهمی را ایفا می‌کنند. از نظر آنتی بادی و رسپتور سطحی بیشتر از نوع IgM هستند و بیشتر پلی ساکارید ها را می‌شناسند و یک repertoire محدود دارند (یعنی گیرنده آنها خیلی تنوع ندارد) و بیشتر جزء ایمنی زایی به حساب می‌آیند.

در ابتدا تصور بر این بود که وظیفه MZ ها فقط این است که آنتی ژن‌هایی را که در خون گردش می‌کنند، بگیرند و پاسخ دهند اما امروزه شواهد نشان می‌دهد که حداقل در صدی از آنها memory B cell هستند که در سطح خود IgM دارند. پس اطلاعات ما در مورد MZ ها کمتر از FO ها است.

توجه: GATA3 _Notch1/Pox5 _EBF _E2A که در تصویر نوشته شده اند، فاکتورهای نسخه برداری هستند که گروه اول برای تبدیل به pro B و گروه دوم برای تبدیل به pro T باید بیان شوند. پس یکی از عواملی که موجب می‌شود سلول‌های بدن انسان به سمت خاصی تکامل پیدا کنند، فاکتورهای نسخه برداری هستند.

B1 cells ➤

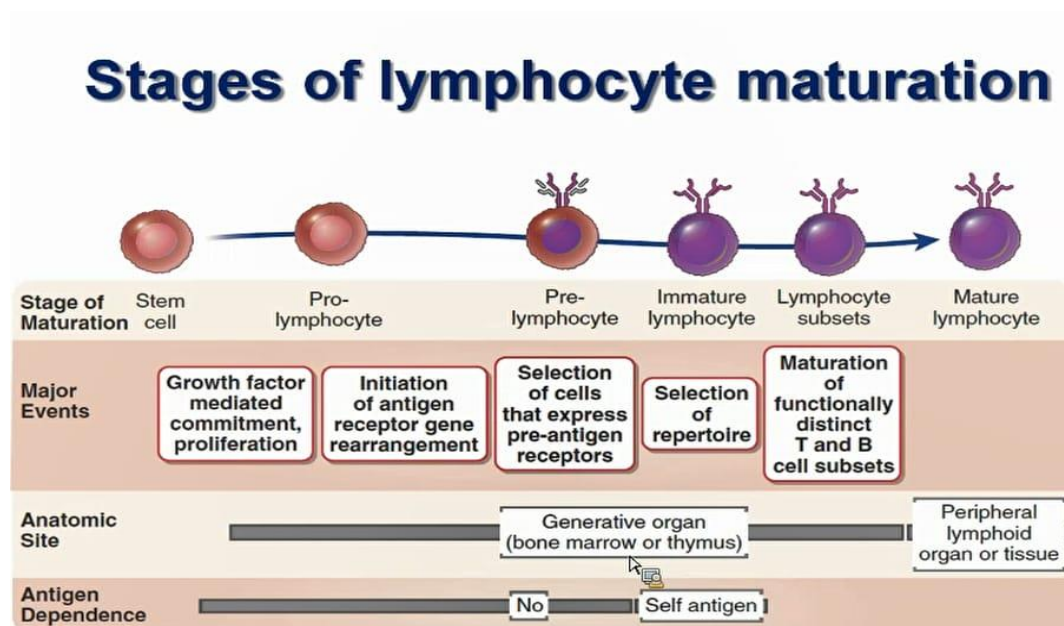
- یک repertoire محدود دارند و در زمان جنینی شکل می‌گیرند.
- natural antibody ها را تولید می‌کنند که بخشی از ایمنی ذاتی (innate) محسوب می‌شوند.
- natural antibody های اکثر مردم شباهت زیادی باهم دارند و نوع مولکول‌هایی را که می‌شناسند با آنهایی که توسط B₂ cell ها شناخته می‌شوند متفاوت است.

- کار اصلی natural antibody ها این است که در شناسایی پاتوژن های وارده به بدن، به سیستم ایمنی ذاتی کمک می کنند به علاوه به ماکروفاژها کمک می کنند تا apoptotic cell ها را جمع آوری کند. (نقش در house keeping)

➤ B2 cells

- یک repertoire اولیه دارند که بعد از antigen exposure، expand می شوند. (به کمک T cells)
- مواردی که گفته شد مربوط به زمانی بود که در بدن لنفوسیت B بالغ حضور دارد، اکنون به مراحل بلوغ لنفوسیت ها می پردازیم.

• مراحل بلوغ (maturation) لنفوسیت ها



✓ شکل بالا بسیار مهم است

توجه: از این شکل به بعد هر بار که کلمه آنتی ژن استفاده می شود، منظور آنتی ژن خودی (self antigen) است.

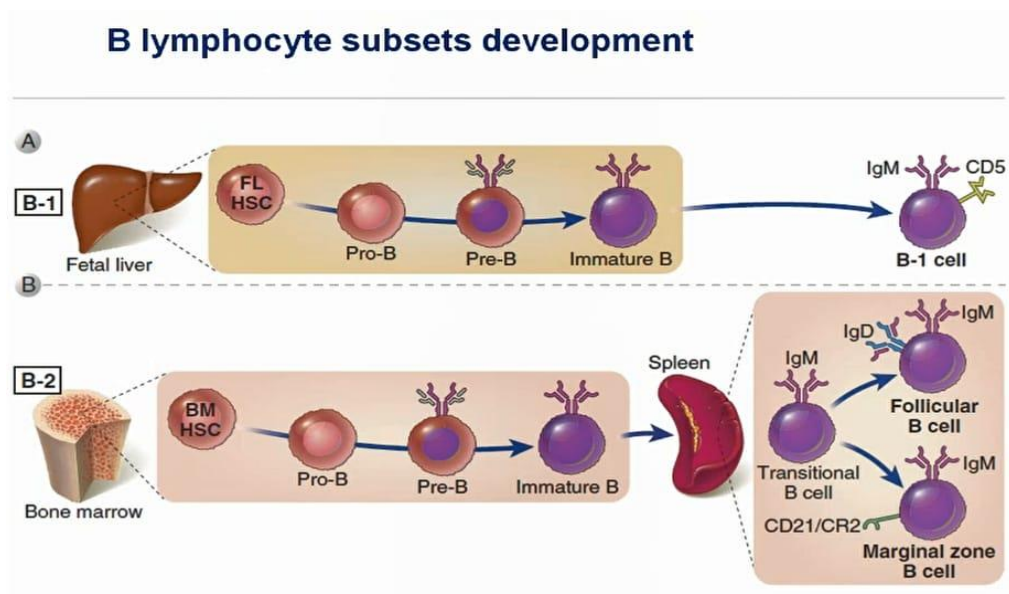
باید دید که موارد ذکر شده در شکل برای B_1 و B_2 به چه ترتیبی اتفاق می افتد:

(الف) در B₁، HSC در fetal liver است (در دوره جنینی) و مراحل به این صورت می باشد:

Immature B ← pre_B ← pro_B ← FL HSC. همان طور که می بینید در pro_B هنوز گیرنده روی سطح بیان نشده است. در pre_B زنجیره سنگین ایمونوگلوبولین به همراه یک زنجیره جایگزین یا surrogate روی سطح بیان می شود و اگر این مرحله موفقیت آمیز باشد سلول به immature B تبدیل می شود که در این فرایند زنجیره ی سبک اصلی خود را بیان می کند و این زنجیره ی سبک در کنار زنجیره سنگین قرار می گیرد و B cell receptor یا IgM را می سازد و این لنفوسیت B نابالغ (immature) باید به لنفوسیت B بالغ که همان B₁ cell است تبدیل شود، که B₁ cell علاوه بر IgM مولکول CD5 را داراست که مشخصه B₁ cell است. (این مراحل در دوران جنینی به انجام می رسند)

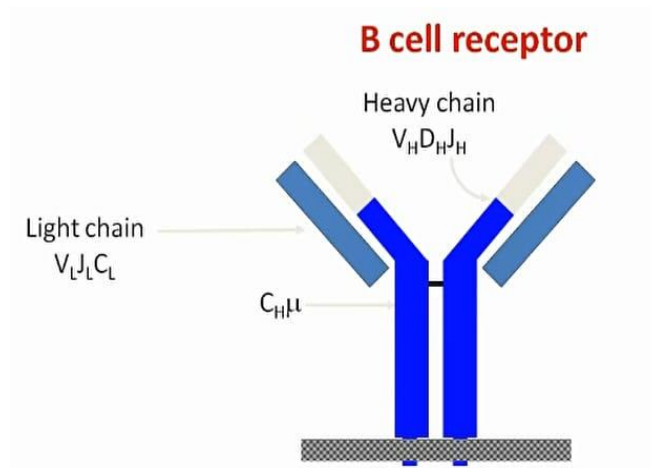
(ب) B₂ ها که شامل MZ B و FO B می شوند، از مغز استخوان منشا می گیرند

- Immature B ← pre_B ← pro_B ← BM HSC، در طحال به Transitional B cell و نهایتاً در آنجا به Follicular B cell و marginal zone B cell تبدیل می شود.
- Transitional B cell ها IgM را دارند که در صورتی که در مرحله بعد IgD در سطح آن بیان شود به FO و در صورتی که CD21/CR2 بیان شود به MZ تبدیل می شوند. (شکل زیر)



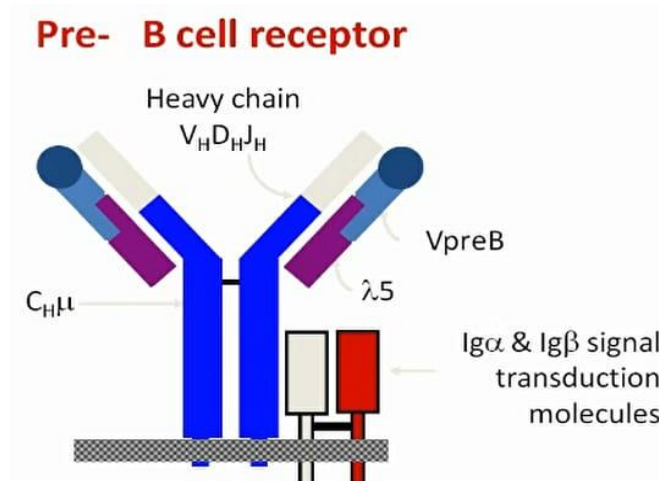
• B cell receptor

هر B cell receptor در سلول بالغ B، یک زنجیره سنگین (متشکل از دو بخش ثابت و متغیر) و یک زنجیره سبک دارد. بخش variable یا متغیر زنجیره سنگین از VDJ است و زنجیره سبک از VDC تشکیل شده است. (شکل مقابل)



برای انجام signal transduction به دو مولکول $Ig\alpha$ و $Ig\beta$ نیاز داریم. همان طور که گفته شد در مرحله pre B cell علاوه بر زنجیره سنگین جایگزین داریم که این زنجیره جایگزین برخلاف زنجیره سنگین و سبک اصلی ما که ناحیه variable آن متغیر است، ثابت است.

پس اگر همه کلون های pre B cell را از یک مغز استخوان در حال تکامل استخراج کنیم می بینیم که زنجیره جایگزین یا surrogate آن ها دارای sequence یکسان هستند. (اما زنجیره سنگین آن ها با هم یکی نیست) (شکل مقابل)



در large pre B برای چک کردن سلامت زنجیره سنگین، pre B cell receptor گیرنده موقتاً به داخل سلول برده می‌شود و small pre B cell ایجاد می‌شود که شروع به ساختن زنجیره سبک می‌کند و آن را در کنار زنجیره سنگین قرار می‌دهد.

همان طور که در جلسات قبلی اشاره شده است proliferation قبل از هر مرحله بازآرایی اتفاق می‌افتد، پس دو مرحله proliferation قبل از دو مرحله ی rearrangement (یکی در زنجیره سنگین و یکی در زنجیره سبک) داریم.

TdT فقط برای زنجیره سنگین بیان می‌شود و sequence‌هایی اضافه می‌کند.

از نظر محل آناتومی (anatomic site) در مورد فولیکولار سل‌هایی که قرار است به B cell تبدیل شوند، قسمت اعظم بلوغ یا maturation (طبق جدول از مرحله stem cell تا immature B) در مغز استخوان یا bone marrow انجام شده و مقدار کمی از انتهای میجوریشن در periphery رخ می‌دهد. (منظور از پریفری، lymph node‌ها می‌باشد)

در مراحل pro_B، stem cell و large pre_B پاسخ به آنتی ژن (response to antigen) نداریم. در immature B cell پاسخ به نسبت به آنتی ژن‌های خودی (self antigen) رخ می‌دهد و در نهایت در mature B cell، سلول می‌تواند با آنتی ژن‌های بیگانه برخورد کند که در جلسه آینده به بحث درباره آن می‌پردازیم. (شکل زیر)

Stages of B cell maturation



Stage of maturation	Stem cell	Pro-B	Large Pre-B	Small Pre-B	Immature B	Mature B
Proliferation	[Bar chart showing proliferation in Stem cell and Pro-B]		[Bar chart showing proliferation in Large Pre-B]			
RAG expression	[Bar chart showing RAG expression in Stem cell, Pro-B, and Large Pre-B]			[Bar chart showing RAG expression in Small Pre-B]		
TdT expression		[Bar chart showing TdT expression in Pro-B and Large Pre-B]				
Ig DNA, RNA	Germline DNA	DH to JH	VH to DJ recombination, μ mRNA	Recombined H chain gene (VDJ), V to J κ recombination	μ and κ/λ RNA	Alternative splicing of VDJ-C RNA to form C μ and C δ mRNA
Ig expression	None	None	pre-B receptor	Cytoplasmic μ	Membrane IgM ($\mu + \kappa$ or light chain)	Membrane IgM and IgD
Surface markers	CD43 ⁺	CD43 ⁺ CD19 ⁺ CD10 ⁺	B220 ⁺ CD43 ⁺	B220 ⁺ CD43 ⁺	IgM ⁺ CD43 ⁻	IgM ^{hi} IgD ⁺
Anatomic site	Bone marrow					Periphery
Response to antigen	None	None	None		Negative selection (deletion), receptor editing	Activation (proliferation and differentiation)

همان‌طور که گفتیم bone marrow (بن مرو) محل اصلی تکامل لنفوسیت های B در دوران بعد از جنینی است و حتی نقش کلیدی در عملکرد پلاسماسل ها دارد.

کارهای مختلفی توسط bone marrow (بن مرو) انجام می‌شود، از جمله:

- تنظیم ساخته شدن گیرنده آنتی ژن (antigen receptor)، با سیگنال هایی که محیط بن مرو به سلول در حال تکامل B می‌دهد.
 - اگر لنفوسیت های B، highly self B reactive باشد، آن ها را پیدا کرده و غیرفعال یا حذف می‌کند.
 - کمک می‌کند سلول های مفید (که خودایمنی نیستند و رسپتور آن ها واقعا کار می‌کند) وارد periphery شوند و از ورود سلول هایی با گیرنده ناقص به سیستم ایمنی محیطی جلوگیری می‌کند.
 - بن مرو همچنین محلی برای بازگشت پلاسماسل هایی با عمر طولانی (که از mature B cell ها در گره های لنفاوی به وجود می‌آیند) است و تولید آنتی بادی توسط این پلاسماسل ها طی سال های طولانی در بن مرو صورت می‌گیرد.
- پس بن مرو محیطی مناسب برای maturation و differentiation لنفوسیت های B در حال تکامل است.

مراحل اولیه تکامل لنفوسیت B:

- **مرحله 1:** شامل بازآرایی یا نوتریبی ژن ایمونوگلوبولین (immuno globulin rearrangment) است. در این مرحله زنجیره سنگین ابتدا بازآرایی شده به همراه زنجیره سبک جانشین روی سطح سلول به صورت پروتئین بیان می‌شود و در مرحله بعد باید تست شود.
- **مرحله 2: testing:** اولیه، سلول را مطمئن می‌کند که بازآرایی ژن زنجیره سنگین درست انجام شده و تمام کدهای اسیدهای آمینه در جای خود قرار گرفته اند و بازآرایی خارج از چارچوب (frame) انجام نشده است و conformation و ساختار سوم پروتئینی درستی دارد و می‌تواند با زنجیره سبک جانشین (surrogate light chain) جفت شود و در نتیجه روی سطح سلول بیان شود و سیگنال به داخل سلول بفرستند، در این صورت است که سلول اجازه ادامه مسیر پیدا می‌کند.

اگر بازآرایی ژن زنجیره سنگین *inframe* نباشد و کدهای سه تایی اسید آمینه از جای خود خارج شده باشند یا چارچوب در اثر خروج یک یا دو نوکلئوتید به هم خورده باشد و در نتیجه نوع اسیدهای آمینه سازنده آن پروتئین تغییر کند و در پی آن پروتئین دیگری ساخته شود، حالات زیر ممکن است رخ بدهد؛ اینکه آن مولکول با *surrogate light chain* جفت نشود یا جفت شود ولی روی سطح بیان نشود یا حتی روی سطح بیان شود، ولی نتواند سیگنال به سلول بدهد.

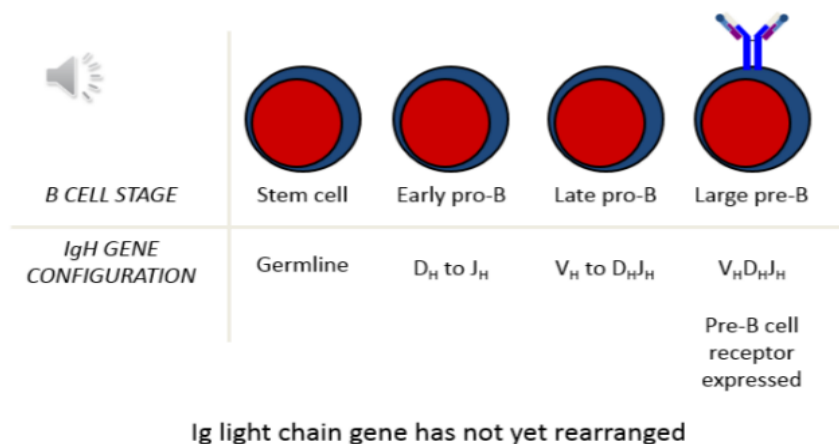
در هر یک از این حالات، برای سلول *positive selection* اتفاق نمی افتد و در نتیجه سلول حذف می شود. پس زمانی که یک زنجیره سنگین صحیح و فانکشنال (*functional*) در کنار زنجیره سبک جانشین (*surrogate light chain*) روی سطح بیان شود، سلول *pre-B* اجازه ورود به مرحله بعدی را پیدا می کند. (در واقع اجازه پیدا می کند نوترتیبی زنجیره سبک اصلی خود یعنی کاپا (K) یا لاند (λ) را شروع کند که منجر به بیان زنجیره سبک در کنار زنجیره سنگین شده و ویژگی اصلی لنفوسیت را ایجاد می کند.)

بعد از آن سلول در معرض *negative selection* قرار می گیرد که در این مرحله *self reactivity* یا واکنش به آنتی ژن خودی گیرنده لنفوسیت B چک می شود. اگر این *self reactivity* در حدی بالا باشد که قابل قبول نیست (یعنی گیرنده *unacceptable self reactivity* داشته باشد و سیگنال شدیدی منتقل کند)، سلول دچار بی پاسخ (anergy) و یا دچار حذف (*Elimination*) می شود که یا خود سلول از طریق آپوپتوز حذف می شود و یا گیرنده ای که *auto reactivity* دارد حذف می شود، یعنی گیرنده مشکل دار تعویض شده و اصلاح می شود ولی سلول حذف نمی شود. (این مورد در لنفوسیت T دیده نمی شود)

نکته: اگر *editing* ناموفق بود سلول حذف می شود

شکل زیر مراحل تکامل لنفوسیت B را در مقابل وضعیت تکامل زنجیره سنگین نشان می دهد. همان طور که می بینیم در *stem cell* ژن زنجیره سنگین *Germ line* است، در *early B cell* نوترتیبی D به J را داریم و در *late B cell*، V به Dj متصل می شود. (H نشان دهنده این است که تکامل روی ژن زنجیره سنگین (*heavy*) اتفاق می افتد) و در مرحله *large pre B cell* می بینیم که *pre B receptor* روی سطح سلول به صورت یک پروتئین بیان می شود. در این مرحله هنوز نوترتیبی روی زنجیره سبک اتفاق نیفتاده است و سلول زنجیره سبک جانشین (*surrogate light chain*) را بیان می کند. بیشتر این مراحل یا حداقل آغاز این مراحل در هر دو ژن ایمونوگلوبولین اتفاق می افتد و قطعاً نوترتیبی یک ژن سریع تر تمام می شود و حتی ممکن است یک ژن، زنجیره سالم و فانکشنال، و دیگری زنجیره ناسالم تولید کند. (شکل صفحه بعد)

Stages of differentiation in the bone marrow are defined by Ig gene rearrangement



اگر ما یک pre B cell داشته باشیم که pre B receptor سالم و فانکشنالی را بیان کند، این pre B receptor سیگنالی به large B cell می دهد که باعث تکثیر pre B cell می شود و همه سلول های حاصل از تکثیر، زنجیره سنگین یکسانی دارند و از کلون یکسانی منشأ گرفته اند.

بعد از آن، این pre B cell ها pre B receptor خود را done regulate می کنند و طبیعتاً این سلول ها در هنگام تقسیم از حالت لارج به اسمال تبدیل شده اند و تکثیر آن ها در این مرحله متوقف شده و همان سیگنالی که باعث تکثیر آن ها شده بود و از pre B receptor نشأت می گرفت، باعث می شود نوترتیبی زنجیره سبک شروع شود. (زنجیره های سبکی که ایجاد می شود در سلول های حاصل از تقسیم متفاوت اند).

نکته: با توجه به مطالب گفته شده علت جفت شدن زنجیره سنگین با زنجیره سبک جانشین این است که ساختار صحیح و فانکشنالی برای ایجاد سیگنالی هرچند ضعیف برای نوترتیبی زنجیره سبک درون سلول به وجود آید.

برای بازآرایی زنجیره سبک V_light با J_light نوترتیبی انجام می دهند و زنجیره سبک حاصل در کنار زنجیره سنگینی که از قبل بیان می شد، تشکیل IgM می دهند و روی سطح بیان می شود. در این مرحله سلول می تواند وارد مرحله آغازین immature B cell بشود و رسپتور آن در مورد میزان self reactivity تست شود.

نکته: در طی مراحل گفته شده سلول ها هم تکثیر می شوند و هم تنوع پیدا می کنند.

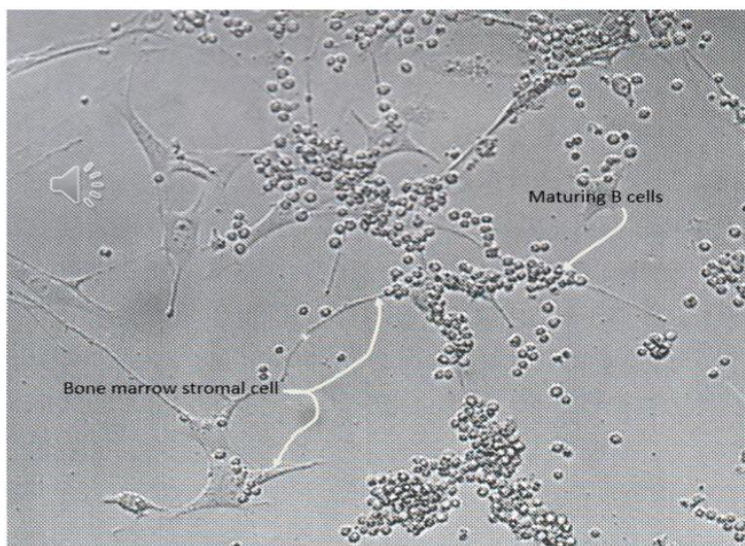
نکته: در طی بازآرایی ها (در مورد هردو زنجیره سبک و سنگین) خطا رخ می دهد به طوری که ۹۶ درصد این بازآرایی ها منجر به مرگ سلول می شود. پس درصد زیادی از سلول های ما که بازآرایی در آن ها اتفاق می افتد نمی توانند یک pre B receptor سالم با سیگنال مناسب را تشکیل داده و به سطح بیاورند. در نتیجه این سلول ها می میرند.

لازم به ذکر است سلول های استرومایی مغز استخوان مراحل تکامل لنفوسیت های B را تنظیم می کنند و حتی به این مراحل کمک می کنند، در واقع پرستارها و تغذیه کنندگان این سلول ها هستند. (از نظر growth factor هایی که این سلول ها لازم دارند).

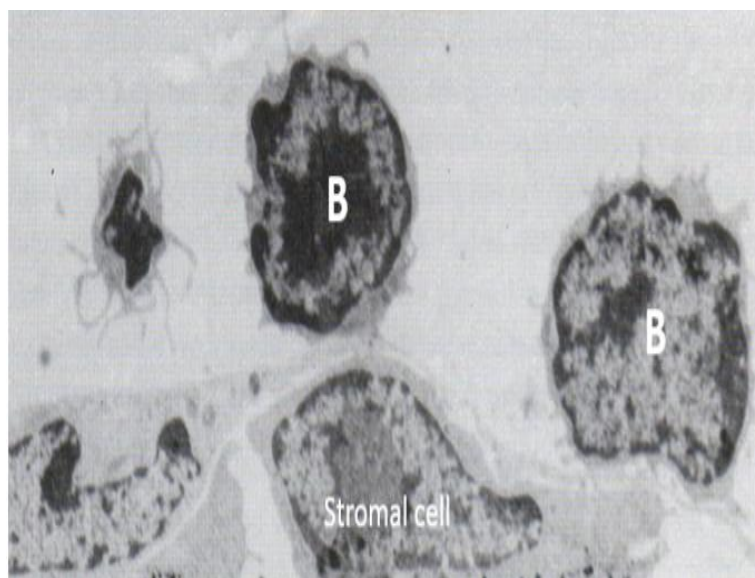
هم وجود cell_cell contact بین سلول های استرومایی و لنفوسیت های B در حال تکامل (از مرحله pro B تا immature B) و هم تولید سیتوکین های مختلف مثل اینترلوکین (interleukine_۷) توسط سلول های استرومایی مغز استخوان، باعث می شود این سلول ها مراحل تکاملی خود را به خوبی طی کنند.

نکته: سیتوکین ها به صورت ترشحی باعث زنده ماندن لنفوسیت های B در حال تکامل می شوند.

تصویر زیر عکسی است که از اسلاید میکروسکوپی سلول های مغز استخوان همراه با لنفوسیت های B در حال تکامل گرفته شده است. سلول های ستاره ای شکل، سلول های استرومایی بن مرو هستند و سلول های گردی که در تصویر می بینید، سلول های B در حال تکاملی هستند که هر چند در تصویر مشابه هم اند ولی از نظر مقطع تکاملی متفاوت هستند. از روی این تصویر نمی توان گفت که cell_cell contact آنها دقیق و memberanus است و ممکن است این سلول ها فقط در مجاور هم قرار گرفته باشند و فقط در تصویر میکروسکوپ الکترونی این cell_cell contact ها به صورت دقیق قابل تشخیص می می باشند. (شکل زیر)



همانطور که در تصویر الکترونی زیر می‌بینید، یک سلول لنفوسیت B در حال تکامل در تماس با سلول استرومایی مغز استخوان است و همین شکل دیده می‌شود که لنفوسیت B دیگری نیز در تماس با سلول استرومایی است. (شکل زیر)



مهم است که بدانیم ligation گیرنده ی pre B cell با لیگندهایی که ممکن است روی سلول های استرومایی وجود داشته باشد یا حتی مونتاژ صحیح و درست pre B cell receptor باعث می شود اتفاقات دیگری در لنفوسیت در حال تکامل رخ دهد. (به شرط فانکشنال بودن pre B cell receptor و ارسال سیگنال به داخل سلول):

- یکی از اتفاقات همان طور که قبلا گفتیم تکثیر large pre B cell و تبدیل آن به small pre B cell ها می باشد.
- دومین اتفاق، شروع نوترینی زنجیره سبک است و قبل یا همزمان با آن نوترینی زنجیره سنگین روی کروموزوم همولوگ آن سلول متوقف می شود.

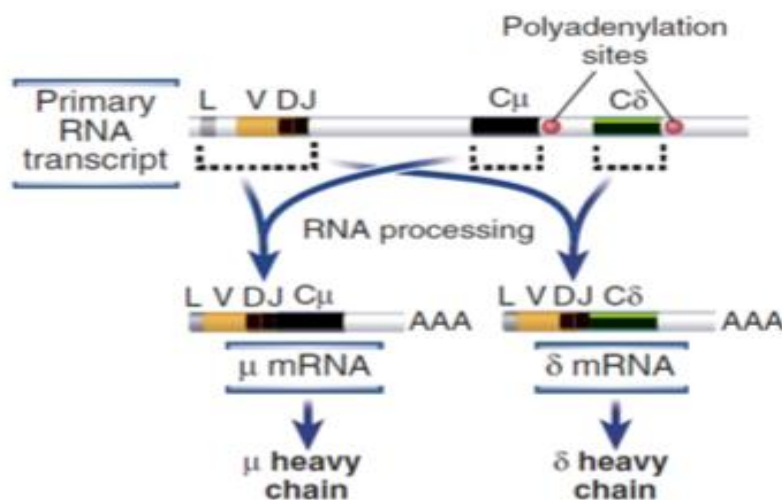
نکته: برای نوتریبی زنجیره سنگین، نوتریبی روی ژن هر دو کروموزوم شروع می‌شود که با یکدیگر رقابت کرده و هر کدام سریع‌تر موفق به ساخت زنجیر سنگین ایمونوگلوبولین شد (به شرط اینکه این زنجیره سنگین با زنجیره سبک جانشین، pre B cell receptor فانکشنال ایجاد کند)، قادر است با ارسال سیگنال به داخل سلول از طرف گیرنده از ادامه نوتریبی ژن ایمونوگلوبولین در کروموزوم همولوگ خود جلوگیری کند. که به این اتفاق، پدیده حذف آلی (Allelic exclusion) می‌گوییم.

بن مرو محیطی را فراهم می‌کند که ما مطمئن شویم لنفوسیت B به وجود آمده، تنها یک ویژگی از آنتی بادی را تولید می‌کند. (Allelic exclusion)

همان‌طور که می‌دانیم یکی از انتهای ترین مراحل تشکیل mature B cell زمانی است که بعد از به وجود آمدن IgM، IgD را نیز در سطح سلول داشته باشیم.

اما می‌دانیم که باید این دو مولکول از ویژگی اتصال به آنتی ژن یکسانی برخوردار باشند به این دلیل که ما نمی‌خواهیم IgM یا IgD یا هر مولکول ایمونوگلوبولین دیگری که بر روی یک سلول داریم با مولکول ایمونوگلوبولین دیگر روی همان سلول از نظر ویژگی متفاوت باشد و specificity یک سلول B باید یکی باشد، برای این اتفاق یک نوع mRNA ساخته می‌شود که به آن primary RNA transcript (نسخه اولین RNA نسخه برداری شده از روی ژن زنجیره سنگین ایمونوگلوبولین) می‌گوییم. که ناحیه leader sequence (توالی راهنما) را دارد که برای بیان ژن غشایی لازم است و هم VDj را دارد و هم نواحی ثابت میو (μ) برای IgM و ناحیه ثابت دلتا (δ) برای IgD را دارد و بعداً در اثر پدیده RNA splicing یا alternative splicing در سطح RNA، ($VDj+C\mu$) یک RNA می‌سازد و ($VDj+C\delta$) یک RNA دیگری می‌سازد. که mRNA میو و mRNA دلتا نامیده می‌شوند و زنجیره سبک و سنگین IgM را می‌سازند که در هر دو VDj یکسان بوده و ویژگی اتصال به آنتی ژن یکسان دارند. (شکل زیر)

تذکر: منظور از μ constant μ یا ناحیه ثابت میو می باشد.



بعد از گذراندن مراحل گفته شده، از small pre B cell که IgM سطحی نداشت، سلولی به نام immature B cell به وجود می آید که IgM سطحی دارد و این IgM قادر است که آنتی ژن هایی را که در مغز استخوان هستند دریافت کند و به آن ها واکنش نشان دهد. اما آنتی ژن های موجود در بن مرو انسان سالم طبیعتاً آنتی ژن های خودی هستند که این آنتی ژن ها باعث می شوند لنفوسیت های B از نظر میزان و شدت auto reactivity بررسی شود و در صورت بالا بودن آن، physically remove صورت می گیرد (deletion).

یا سلول B از نظر عملکردی فلج می شود که به آن anergy می گویند یا اینکه ویژگی آن تغییر می کند (receptor editing)

نکته: تمام لنفوسیت های B و T ما بر اساس آنتی ژن های خودی انتخاب می شوند. (partially auto reactive هستند)

• Clonal deletion

در صورتی که immature pre B cell ایجاد شده از small pre B cell، آنتی ژن های خودی را که به صورت مولتی ولنت هستند با شدت بالا شناسایی کنند، سلول حذف می شود.

آنتی ژنهای multivalent آنتی ژن های سطحی سلول هستند که فراوانی بالایی روی سطح سلول برخوردار هستند و این فراوانی بالا باعث افزایش احتمال بیماری خود ایمنی می شود و این کلون ها از طریق آپوپتوز حذف می شوند.

اگر Immature B cell ها آنتی ژنی را بشناسد که این آنتی ژن یا خودی می باشد یا از فراوانی کمی برخوردار است، سیگنال قوی ایجاد می کند و فقط از نظر عملکردی دچار اختلال می شود یعنی IgM آن down regulate می شود و به IgD normal تبدیل می شود (IgM low). در واقع این خصوصیت سلول های Anergic B cell می باشد و قادر نیستند آنتی ژن را بعداً هم شناسایی کنند.

در حالت receptor editing در زنجیره سبک یک V در کنار I قرار گرفته و این دو تا در کنار یک C قرار گرفته اند و این مجموعه روی سطح سلول در کنار زنجیره سنگین قرار می گیرد که بعضی اوقات (به غیر از این که می تواند پاسخ ایمنی دهد) سلول دچار arrest می شود و development آن متوقف می شود و یک قدم به عقب بر می گردد و دوباره آنزیمهای RAG₁ و RAG₂ را بیان می کند و بعد این دو آنزیم بخش V زنجیره سبک را برمی دارند و یک V دیگر که باعث self reactivity می شود را جایگزین می کنند (در واقع باید دوباره این زنجیره سبک در کنار زنجیره سنگین قرار بگیرد و بعد آزمایش کنیم که آیا self reactivity دارد یا نه).

پس Immature B cell هایی که آنتی ژن های multivalent را با avidity بالا شناساند، مسیر تکاملی را ادامه می دهند و IgM زیاد می شود و IgD را بیان می کنند پس mature می شوند و وارد periphery lymph tissue و وارد گردش خون می شوند. اینها هنوز با آنتی ژن برخوردی نکرده اند.

• لنفوسیت نوع T

در مرحله pro T cell و stem cell هیچ رسپتوری بیان نمی‌شود. در مرحله pre T cell یک زنجیره β داریم همراه با یک زنجیره pre-T α که مشابه زنجیره ساروگیت عملکردی مشابه دارد. این pre T cell باید به سلولی که pre T receptor کامل را بیان می‌کند تبدیل شود تا زنجیره β و α تکمیل شود و علاوه بر آن نامش را Double positive قرار می‌دهیم (نه به دلیل زنجیره بلکه به دلیل دو مارکر CD α و CD β) همزمان CD β هم بیان می‌شود. از این مرحله که عبور کنیم می‌فهمیم که باید CD α + شود یا CD β + (مرحله Single positive که مرحله اصلی و مرحله Immature است) و T-cell receptor را دارد و CD α یا CD β را بیان می‌کند ولی CD β را به میزان فراوانی در سطح خود دارد.

اگر به لوبول‌های تیموس نگاه کنیم عروق در منطقه control medullary junction قرار دارند که پیش سازها از مغز استخوان توسط این عروق وارد می‌شوند و مراحل چهار گانه (DN) Double negative را طی می‌کنند: DN α یا DN β

DN α از بدو ورود تا زمانی که به صورت یک mature T cell خارج شود با سلول‌هایی به نام تایمیک اپیتلیال (TeC) برخورد می‌کند که به آن CTEC یا Cortical TeC می‌گویند که سلول‌های اپیتلیالی تیموس در کورتکس هستند (یا مدولاری تایمیک اپیتلیال در مدولا و یا کورتیکو مدولاری تایمیک اپیتلیال در کورتیکو مدولاری جانکشن)

حمایت تایمیک اپیتلیال سال دو را در کورتکس و مدولا داریم برای سلول‌های Thymocyte که می‌خواهند تکامل پیدا کنند.

DN α بعد از ورود به جای اینکه به سمت پایین رود، به سمت بالا و کورتکس می‌رود و این به خاطر دو گیرنده مشخص می‌باشد. دو گیرنده به نام CXCR α و CXCR β که روی سطح Thymocyte اولیه بیان می‌شود که دوست دارند به دوتا کموکاین وصل شوند که برای CXCR α و CXCL γ و برای CXCR β و CXCL α می‌باشد. (R) برای receptor و L برای Ligand

CXCL۱۲ و CXCL۷ توسط سلول‌های استرومایی کورتکس بیان می‌شوند و در منطقه کورتکس غلظتش بیشتر از کورتیکو مدولاری است. بنابراین Thymocyte شروع به حرکت به سمت کورتکس می‌کند و این یک منطقه حرکتی بیشتری به Thymocyte می‌دهد و زمان می‌دهد تا مراحل تکامل خودش را طی کند سپس به DN۲ و بعد به DN۳ تبدیل می‌شود. DN۳ مان pre T می‌باشد که انتظار داریم در این مرحله pre T cell receptor (DN۳) بیان شود.

اگر زنجیره بتا به درستی تشکیل شده باشد سیگنالی به داخل سلول می‌دهد که ادامه مسیر را ممکن می‌کند و از مرحله DN۴ عبور می‌کند و طی این مرحله یک تغییر عمده می‌کند که CXCR۲+ و CXCR۴+ به CCR۴+ و CCR۷+ تبدیل می‌شوند (که دو تا رسپتور دیگر هستند) پس رسپتورها را تغییر می‌دهد و در مرحله Double positive تمایل دارند به کموکاین‌ها یا فاکتورهایی از نوع دیگری متصل شوند. این فاکتورها بیشتر در مدولا تولید می‌شوند که شامل CCL۱۹، CCL۲۲ و CCL۲۱ می‌باشند که CCL۲۲ به CCL۴+ و CCL۱۹ و CCL۲۱ به CCR۷+ متصل می‌شوند.

درواقع در این مرحله Thymocyte به سمت مدولا می‌رود و در این مرحله هم زنجیره آلفا و بتا را بیان می‌کند CD۴، CD۳ و CD۸ دارد. در این مرحله چون TCR کامل شده شروع می‌کند به شناسایی آنتی ژن‌هایی که از طریق کورتیکال اپیتلیال سل عرضه می‌شوند، می‌پردازد.

کورتیکال اپیتلیال سل‌ها و مدولاری اپی تلیال سل‌ها و کورتیکو مدولاری اپیتلیال سل‌ها هم MHC۲ و هم MHC۱ را بیان می‌کنند. برخورد این سلول Double positive با سلول کورتیکو تایمیک اپیتلیال سل از طریق TCR به مجموعه اپی توپ-MHC و یکی از (CD۸ یا CD۴) با MHC۱ یا MHC۲ باعث می‌شود این سلول Double positive چند تا مسئله در سرنوشت آن روشن شود:

- (1) آیا TCR کار می‌کند یا نه. (آیا قادر است یک آنتی ژن را در معیت MHC بشناسد یا نه)
- (2) این شناسایی در حضور کدام MHC انجام می‌شود که این در single positive شدن سرنوشت آن معلوم می‌شود.
- (3) CD۸+ می‌باشد یا CD۴+.

حالا باید ببینیم آنتی ژن‌های خودی را در چه حد می‌شناسد. طبیعتاً آنتی ژنی که در کورتکس و مدولا بهش ارزش شده بودند، خودی هستند ولی تنوع آنتی ژنی مدولا بیشتر از کورتکس است. بنابراین در مدولا این سلول

single positive باید با انواع آنتی ژن های خودی که به صورت اکثایک (غیر قابل انتظار) در مدولا بیان می شوند برخورد کند و نشان می دهد که هیچ کدام از آن ها affinity و avidity بالاتر از حد ندارد. حالا چگونه این آنتی ژن ها در مدولا پدیدار می شوند؟ مثل انسولین یا پروتئین های کمپلمان و خیلی از پروتئین هایی که اصلاً جای شان در تیموس نیست به صورت قاعده کاری و عملکردی.

اگر به تیموس فقط به عنوان ارگانی که negative selection را انجام نمی دهد در نظر بگیریم اینها تحت تاثیر transcription factor به نام aire بیان می شوند. در سلول های مدولاری تایمیک اپیتلیال سل (بالاترین تنوع در این سلول ها) و همینطور همین ها هستند که عرضه آنتی ژنی را برای negative selection انجام می دهند. علاوه بر این سلول دندریتی را داریم که آنتی ژن های محلولی و ترشحی با آنتی ژن های سلول های مرده را عرضه می کنند ولی واقعاً نقش این سلولها در این antigen presentation یا بهتر است بگوییم negative selection خیلی کمتر از مدولاری تایمیک اپیتلیال سل ها و کورتیکو مدولاری این تایمیک اپیتلیال سل ها می باشد.

طبیعتاً این single positive cell باید راندهای متعدد با این مدولاری تایمیک اپیتلیال سل ها برخورد کند. آنتی ژن های متعدد به آن عرضه شود و بعد از اینکه تقریباً چند روزی در مدولای تیموس چرخید و با آنتی ژن های خودی متعدد برخورد کرد و نشان داد self reactivity بالایی ندارد اجازه خروج پیدا می کند. اگر بالا باشد میمیرد بنابراین مرگ و میر زیادی در تیموس داریم. برای اینکه این مرگ و میر باعث التهاب نشود ماکروفاژهایی در تیموس داریم کار ماکروفاژها عرضه آنتی ژن نیست بلکه پاکسازی cell debris است که inflammation ایجاد کنند.

پس در کورتکس ماکروفاژ و دندریتیک سل نداریم ولی در مدولا هم دندریتیک سل و هم ماکروفاژ داریم و در کورتکس کورتیکو تایمیک اپیتلیال سل را داریم و در مدولا و مدولاری تایمیک اپیتلیال سل را داریم و کورتیکو مدولاری اپیتلیال سل.

سلول Double positive (DP) با آنتی ژن برخورد می کند و در معرض negative positive قرار می گیرد. آن چیزی که تعیین کننده است برای DP در negative selection آن و بعد از آن در negative selection شدت سیگنالی است که دریافت می کند. اگر شدت سیگنال ضعیف باشد و کافی نباشد تا به سلول DP بقا بدهد این نشان می دهد که T cell receptor خوبی نداشته و میمیرد یعنی Death by neglect (مرگ

بر اثر نادیده انگاری). اگر شدت سیگنال کافی باشد یعنی به سلول بگوید T cell receptor کار می کند خودش یک دامنه دارد و اگر در کمترین مقدار باشد این سلول سرنوشتش آن است که به CD8+ T cell تبدیل شود و اگر در منطقه مادريت باشد که قوی تر است، سلول CD8+ T cell می شود و اگر باز هم قوی تر باشد به سلول CD4+ تبدیل می شود که کارش تنظیم سیستم ایمنی است و T natural regulate را می سازد و اگر باز هم شدیدتر شود سلول در اثر negative selection می میرد چون سیگنال خیلی بالاست و خطر auto reactivity را ایجاد می کند.

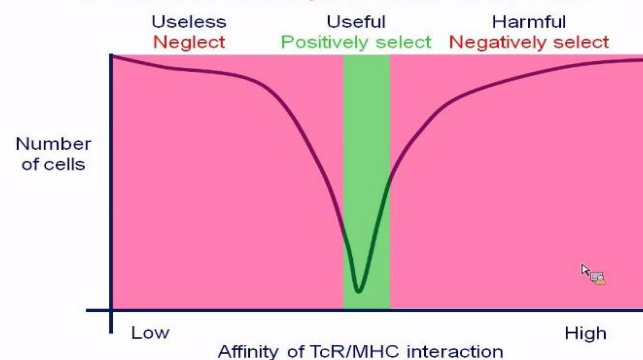
دو transcription factor نقش کلیدی دارند برای اینکه ما در positive selection تعیین کنیم که CD8+ باشد یا CD4+. این دو فاکتور RUNX3 و ThPok هستند. RUNX3 زمانی بیان می شود که سیگنال ما ضعیف باشد اما در محدوده positive selection باشد.

چرا سیگنال CD8+ ضعیف تر است؟ پاسخ: چون که تعداد CD8 در سطح سلول کمتر از CD4 می باشد و اینکه سیگنال دهی CD8 به داخل سلول سیگنال دهی ضعیف تری می باشد. بنابراین سلول های T که آنتی ژنی را در معیت MHC1 می شناسند به دلیل اینکه ناحیه non_polymorphic به CD8 سطح T cell آن وصل می شود سیگنال آنها ضعیف تر خواهد بود و در نتیجه RUNX3 بیان می کند اما به این دلیل که CD4 بیشتر است و سیستم سیگنال دهی قوی تری در داخل سلول دارد. T cell هایی که DP هایی که آنتی ژن را در محیط MHC2 شناسایی می کنند ناحیه non_polymorphic به CD4 وصل می شود و در نتیجه سیگنال قوی تر خواهد بود و به بیان ThPok ادامه می دهد.

- در مرحله DP ما ThPok را داریم علاوه بر آن یک factor دیگر به نام Gata3 هم داریم که در مراحل اولیه تکاملی مهم بود.
- بیشتر T cell هایی که در تیموس mature می شوند، می میرند (در حین maturation).
- در موش تعداد سلول هایی که در طی تیموس موش هستند تعداد ثابتی است (200-100 میلیون)
- روزانه 100_1000 سلول پیش ساز وارد تیموس موش می شوند و تعداد سلولی که تولید می شود، 50 میلیون می باشد. و تعدادی که خارج می شوند 2 میلیون هستند یعنی 48 میلیون یا باید اضافه شوند یا باید بمیرند. از آن جایی که سائز تیموس موش و تعداد سلول ها ثابت است پس آن 48 میلیون باید بمیرند. (96%)

از نظر negative selection و positive selection اگر بایم affinity TCR_MHC را روی محور xها از low_high بکشیم و تعداد سلول ها را روی محور yها بکشیم، همچین محوری تشکیل می شود:

The thymus accepts T cells that fall into a narrow window of affinity for MHC molecules



- تعداد سلول هایی که affinity بالا و پایینی دارند خیلی زیاد است.
- آن هایی که affinity متوسط دارند 4٪ هستند
- سلول های low affinity و useless هستند و neglect می شوند
- آن هایی که affinity متوسط دارند و کم هستند positively select می شوند.
- سلول های high affinity و harmful هستند و میمیرند (negative selectivity)