

ΑΚΑΔΗΜΙΑ



ΑΘΗΝΩΝ

Αυτοφαγία & Ανοσολογικό Σύστημα

Χαράλαμπος Μ. Μουτσόπουλος

Απρίλιος 2018

Αυτοφαγία & Ανοσολογικό Σύστημα

→ Ευκαρυωτικά κύτταρα:

- Δυο μηχανισμούς αποδόμησης και ανακύκλωσης κυτταροπλασματικών αποβλήτων

- ✓ Πρωτεάσες

- ~ αποδόμηση μικρών, βραχύβιων πρωτεϊνών

- ✓ Αυτοφαγία

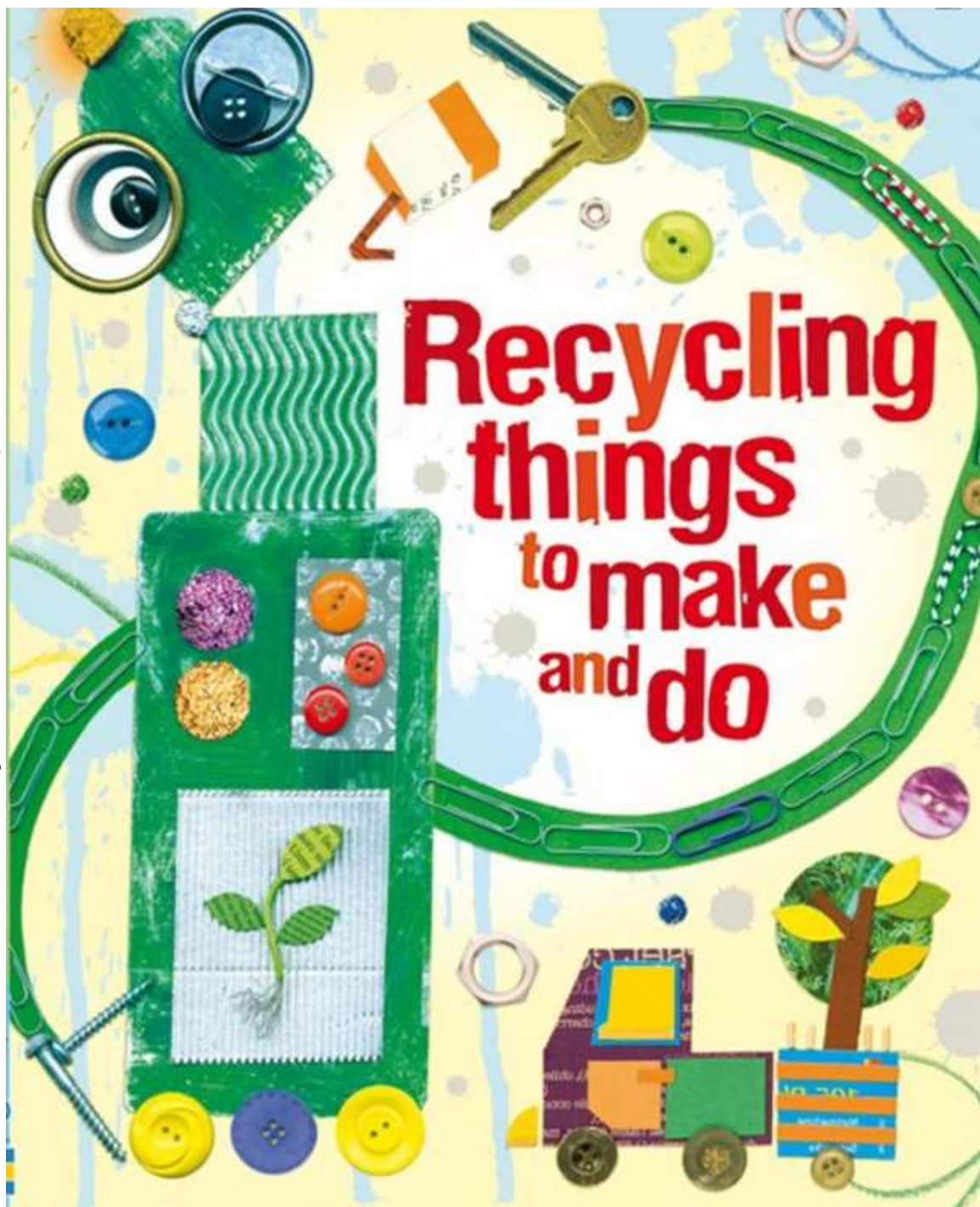
- ~ αποδόμηση συμπλόκων μεγάλων πρωτεϊνών και οργανιδίων

Αυτοφαγία & Ανοσολογικό Σύστημα

- ➔ **Βασικές γνώσεις**
- ➔ Αυτοφαγία & φυσική ανοσία
 - Υποδοχείς φυσικής ανοσίας
 - Κυτταροκίνες
- ➔ Αυτοφαγία & επίκτητη ανοσία
 - Αντιγονοπαρουσίαση
 - Τ λεμφοκύτταρα
 - Β λεμφοκύτταρα

Αυτοφαγία

- Κυτταροπλασματικός μηχανισμός αποδόμησης άχρηστων υλικών & επαναχρησιμοποίησής τους (*ανακύκλωση*)
- Συνεχής βασικός ρυθμός



Αυτοφαγία - Ορισμός

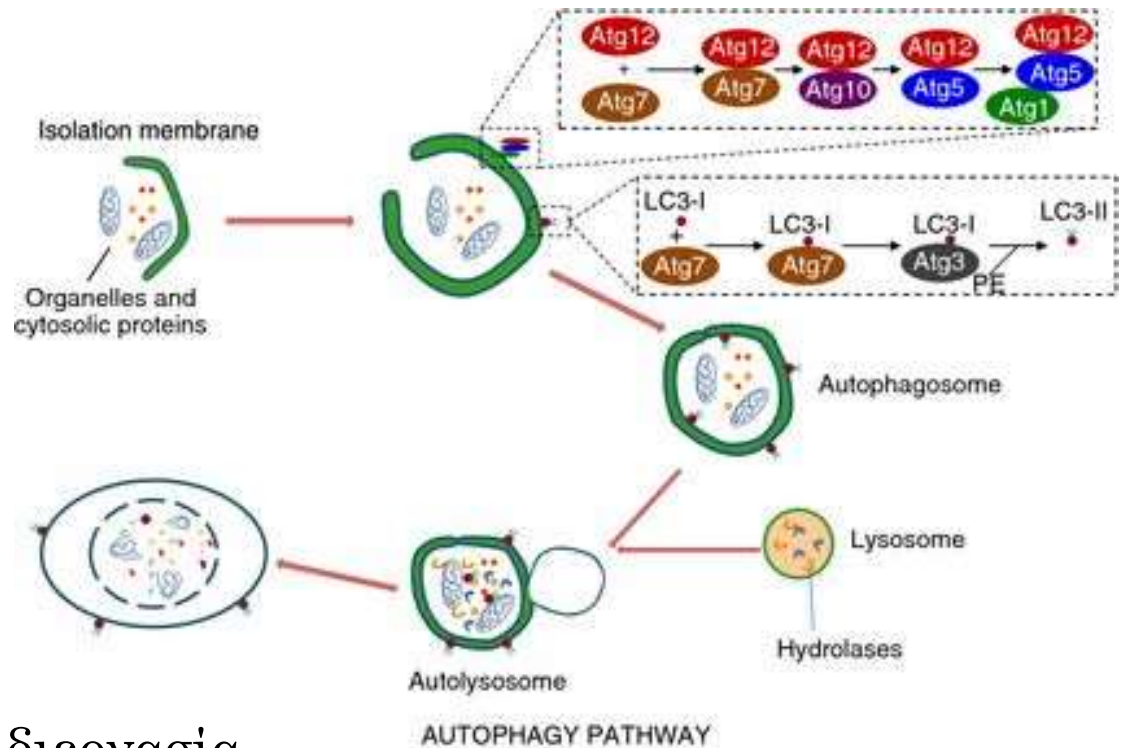
- ➔ Κυτταρική απόκριση σε στρεσογόνα ερεθίσματα για εξοικονόμηση ενέργειας
 - θεμελιώδης για την προστασία του κυττάρου από ξένους εισβολείς
 - απομάκρυνση μη χρήσιμων μακρομορίων και γερασμένων μιτοχονδρίων

Αυτοφαγία-Βασικές γνώσεις

→ 3 τύποι:

- Διαλυτές πρωτεΐνες: μέσω συνοδών μορίων (*chaperones-75 kD*)
 - Μικρά μόρια: *μικρο-αυτοφαγία*
 - **Μεγάλα μόρια & οργανίδια: μακρο-αυτοφαγία**
 - ~ Σύμπλοκα πρωτεϊνών: *συμπλοκοφαγία*
 - ~ Οργανίδια/μιτοχόνδρια: *μιτοφαγία*
 - ~ Ενδοπλασματικό δίκτυο: *ΕΔ-φαγία*
 - ~ Ενδοκυττάριους οργανισμούς: *ξενοφαγία*
- ✓ *Αρχαιότερος αμυντικός μηχανισμός*
- ✓ *Σημαντικό ρόλο στην ανοσία*

Αυτοφαγία - Βασικές γνώσεις



➤ Αυστηρά ρυθμιζόμενη διεργασία

- Μεγάλο αριθμό γονιδίων και μονοπατιών
- Σύμπλοκα πρωτεϊνών /οργανιδίων περιβάλλονται σε κυστίδια με διπλή μεμβράνη (**αυτόφαγόσωμα**)
- Σύντηξη αυτοφαγοσώματος με λυσοσώματα
- Δημιουργία **αυτολυσοσωμάτων** με μονή μεμβράνη
- Αποδόμηση του περιεχομένου των αυτολυσοσωμάτων (όξινο περιβάλλον)

- Επιστροφή των δομικών υλικών στο κυτταρόπλασμα

Αυτοφαγία & Ανοσολογικό Σύστημα

- Βασικές γνώσεις
- **Αυτοφαγία & φυσική ανοσία**
 - Υποδοχείς φυσικής ανοσίας
 - Κυτταροκίνες
- Αυτοφαγία & επίκτητη ανοσία
 - Αντιγονοπαρουσίαση
 - Τ λεμφοκύτταρα
 - Β λεμφοκύτταρα

Αυτοφαγία & Φυσική Ανοσία

↳ Υποδοχείς φυσικής ανοσίας

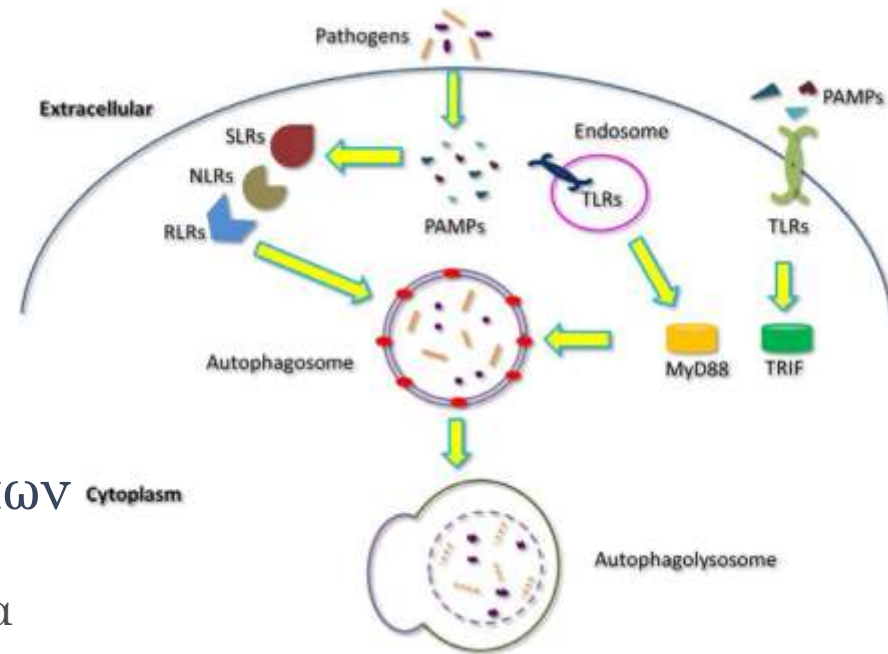
Τύπος I: Toll-like receptors (TLRs)

- Αναγνώριση μοριακών προτύπων

↑ συσχετιζόμενοι με αυτοφαγία

Τύπος II: Nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptors (NLRs)

~ Αναγνώριση ενδοκυττάρων μικροβίων



Αυτοφαγία & Φυσική Ανοσία

↳ Υποδοχείς φυσικής ανοσίας

- Αναγνώριση υποδοχέων μοριακών προτύπων

Τύπος I υποδοχέων

✓ Toll-like receptors (TLRs)

~ Διέγερση TLR-4 με λιποπολυσακχαρίδιο:

- » ↑ αυτοφαγίας μακροφάγων ποντικών
- » ↑ κάθαρσης μυκοβακτηριδίων μέσω αυτοφαγίας

~ Διέγερση TLR-9 με CpG-DNA:

- » ↑ αυτοφαγίας

✓ Αυτοφαγία

~ Αποδίδει ικές δομές στον TLR-7 των πλασματοκυτταροειδών δενδριτικών κυττάρων → παραγωγή ιντερφερονών τύπου-I

Αυτοφαγία & Φυσική Ανοσία

➤ Υποδοχείς φυσικής ανοσίας

- Τύπου II: Nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptors (NLRs): Αναγνώριση ενδοκυττάρων μικροβίων

~ Έκθεση ανθρώπινων δενδριτικών κυττάρων στο συνδέτη του NOD-2 (Muramyl dipeptide): ↑ αυτοφαγίας

- » Ενεργοποίηση NOD-1, 2 (ποντικών) → στρατολόγηση προϊόντων των γονιδίων αυτοφαγίας στην κυτταρική μεμβράνη στη θέση εισβολής Gram⁻ μικροβίων → εγκλεισμό μικροβίων σε λυσοφαγόσωμα → καταστροφή μικροβίων
- » ↑ αυτοφαγίας *E. Coli* από περιτοναϊκά μακροφάγων ποντικών μετά διέγερση του NOD-2
- » Απουσία NOD-2 σηματοδότησης σε ανθρώπους: ↑ μικροβιακού φορτίου λόγω ↓ αυτοφαγίας

Αυτοφαγία & Φυσική Ανοσία

➤ Κυτταροκίνες

- Ιντερφερόνη- γ (Th1 κυτταροκίνη): \uparrow αυτοφαγίας
- Ιντερλευκίνη-4 (Th2 κυτταροκίνη): \downarrow αυτοφαγίας
- Διέγερση μακροφάγων με LPS με έλλειψη γονιδίων αυτοφαγίας
➔ \uparrow παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών
- Αναστολή αυτοφαγίας ➔ \uparrow ριζών οξυγόνου ➔ \uparrow DNA μιτοχονδρίων
➔ \uparrow ενεργοποίηση φλεγμονοσώματος ➔ \uparrow παραγωγή
προφλεγμονωδών κυτταροκινών

Αυτοφαγία & Ανοσολογικό Σύστημα

- Βασικές γνώσεις
- Αυτοφαγία & φυσική ανοσία
 - Υποδοχείς φυσικής ανοσίας
 - Κυτταροκίνες
- **Αυτοφαγία & επίκτητη ανοσία**
 - Αντιγονοπαρουσίαση
 - Τ λεμφοκύτταρα
 - Β λεμφοκύτταρα

Αυτοφαγία & Επίκτητη Ανοσία

↓ Αντιγονοπαρουσίαση:

- Μόρια του Μείζονος συμπλέγματος Ιστοσυμβατότητας τάξης-I (MHC-I)
(εμπύρηνα κύτταρα του οργανισμού)

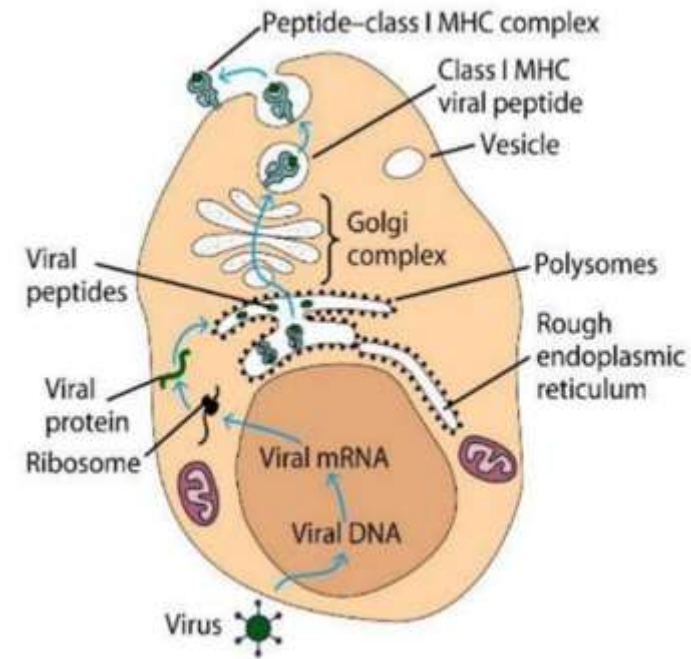
- ✓ Παρουσιάζουν αντιγόνα ενδοκυττάριας προέλευσης στα CD8⁺-T λεμφοκύτταρα:

~ Ιικές πρωτεΐνες

~ Ενδογενή αντιγόνα όγκων

~ Πυρηνικά/κυτταροπλασματικά αντιγόνα

- ✓ Πρωτεάσες → διάσπαση αντιγόνων → πεπτίδια → μετακίνηση σε ενδοπλασματικό δίκτυο → φόρτωση σε MHC-I → σωμάτια Golgi → παρουσίαση στην κυτταρική μεμβράνη



↓ Ρόλος αυτοφαγίας: Περιορισμένος

Αυτοφαγία & Επίκτητη Ανοσία

→ Αντιγονοπαρουσίαση

- Μόρια του Μείζονος συμπλέγματος Ιστοσυμβατότητας τάξης-I (MHC-I)

- ✓ Αναστολή αυτοφαγίας

- ~ ↓ έκφρασης MHC-I σε κύτταρα μελανώματος ποντικού



- ~ ↓ κυτταρόλυσης των κυττάρων του μελανώματος μέσω CD8⁺-T κυτταροτοξικών κυττάρων

- ✓ Η αυτοφαγία εμπλέκεται στην εναλλακτική οδό αντιγονοπαρουσίασης εξωκυττάριων αντιγόνων μέσω MHC-I από δενδριτικά και μακροφάγα κύτταρα στα CD8⁺-T λεμφοκύτταρα αντί παρουσίασης μέσω MHC-II στα CD4⁺-T λεμφοκύτταρα (**διασταυρούμενη παρουσίαση**)

Αυτοφαγία & Επίκτητη Ανοσία

➤ Αντιγονοπαρουσίαση

- Μόρια του Μείζονος συμπλέγματος Ιστοσυμβατότητας τάξης-I (MHC-I)

- ✓ Διασταυρούμενη παρουσίαση εξωκυττάρων αντιγόνων:

- ~ ↓ τροφής δενδριτικών κυττάρων → φαγοκυττάρωση καρκινικών κυττάρων → ↑ αυτοφαγίας καρκινικών κυττάρων → παρουσίαση μέσω MHC-I καρκινικών αντιγόνων → ↑ απόκρισης των CD8⁺-T κυττάρων

Αυτοφαγία & Επίκτητη Ανοσία

➔ Αντιγονοπαρουσίαση

- Μόρια του Μείζονος συμπλέγματος

Ιστοσυμβατότητας τάξης-II (MHC-II)

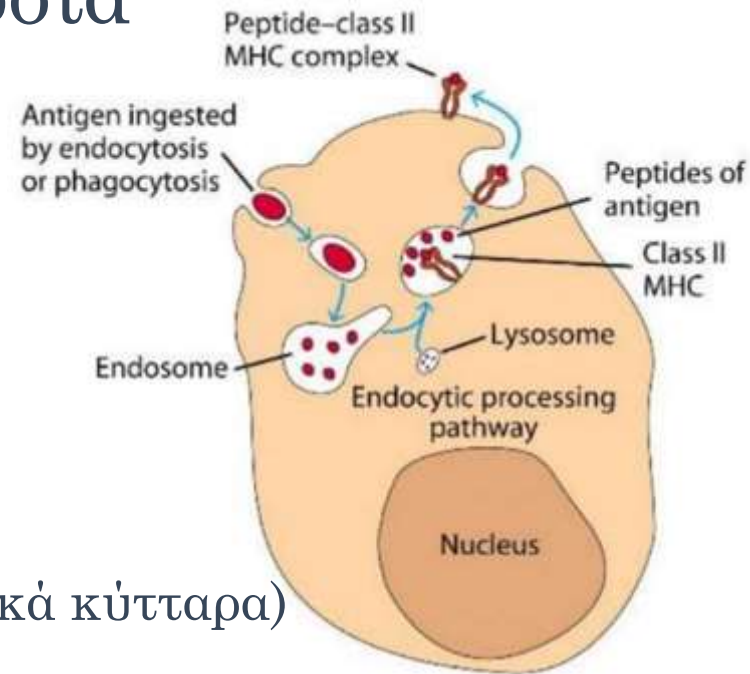
(αντιγονοπαρουσιαστικά και επιθηλιακά κύτταρα)

- ✓ Επαγωγή απόκρισης $CD4^+$ -T κυττάρων

~ Εξωγενή αντιγόνα → ενδολυσosomes → δράση πρωτεασών → ενδοπλασματικό δίκτυο → φόρτωση σε MHC-II → παρουσίαση στην κυτταρική μεμβράνη

- Ισχυρή σύνδεση με αυτοφαγία (λόγω επεξεργασίας στα λυσοσώματα)

- ✓ 50% των MHC-II συνδέονται με το αντιγόνο στα αυτοφαγόσωματα



Αυτοφαγία & Επίκτητη Ανοσία

→ Αντιγονοπαρουσίαση

- Μόρια του Μείζονος συμπλέγματος Ιστοσυμβατότητας τάξης-II (*MHC-II*)
 - ✓ Φαγοκυττάρωση μυκοβακτηριδίων Φυματίωσης → ↓ τροφής → ↑ αυτοφαγίας & ↑ παρουσίασης επιτόπων μυκοβακτηριδίων δια των *MHC-II*
 - ✓ Δενδριτικά κύτταρα ποντικών με απάλειψη του γονιδίου αυτοφαγίας (*Atg5*) → ↓ πρωτογενούς ενεργοποίησης των $CD4^+$ -T κυττάρων

Αυτοφαγία & Επίκτητη Ανοσία

- ➔ Τ Λεμφοκύτταρα (περιορισμένο κυτταρόπλασμα)
 - ↑ έκφραση προϊόντων γονιδίων αυτοφαγίας (CD4⁺ & CD8⁺)
 - συνεχής βασικός ρυθμός αυτοφαγίας
 - ↑ αυτοφαγίας με την διέγερση του Τ κυτταρικού υποδοχέα
 - ↑ αυτοφαγίας επιθηλιακών κυττάρων του φλοιού του θύμου αδένος ποντικών
 - ✓ Σημαντικό ρόλο στην επιλογή των Τ κλώνων
 - ✓ Απάλειψη γονιδίων αυτοφαγίας (*Atg5*) →
 - ~ Ρόλο στην επιλογή των CD4⁺ Τ λεμφοκυττάρων, όχι των CD8⁺ Τ λεμφοκυττάρων

Αυτοφαγία & Επίκτητη Ανοσία

↳ Τ Λεμφοκύτταρα

- Απάλειψη γονιδίων αυτοφαγίας σε πειραματόζωα
 - ✓ ↑ φορτίου μιτοχονδρίων & ↑ επιπέδων ελεύθερων ριζών οξυγόνου
 - ✓ ↑ απόπτωση
 - ✓ ↓ αριθμού Τ λεμφοκυττάρων σε λεμφαδένες και σπλήνα (ποντικού)
 - ✓ ↓ απόκριση μετά από ενεργοποίηση
 - ✓ ↓ ανάπτυξη φυσικών φονικών και ρυθμιστικών Τ λεμφοκυττάρων

Αυτοφαγία & Επίκτητη Ανοσία

↳ Τ Λεμφοκύτταρα

- Παρεμπόδιση αυτοφαγίας με χημική αναστολή των λυσοσώματων
 - ✓ ↓ παραγωγή ATP (κανονικά ↑ μετά από διέγερση)
 - ✓ Εξωγενής παροχή ενέργειας → αποκατάσταση Τ- λεμφοκυτταρικών λειτουργιών



Απώλεια αυτοφαγίας: επηρεάζει σοβαρά τη ομοιόσταση και λειτουργία των Τ λεμφοκυττάρων

Αυτοφαγία & Επίκτητη Ανοσία

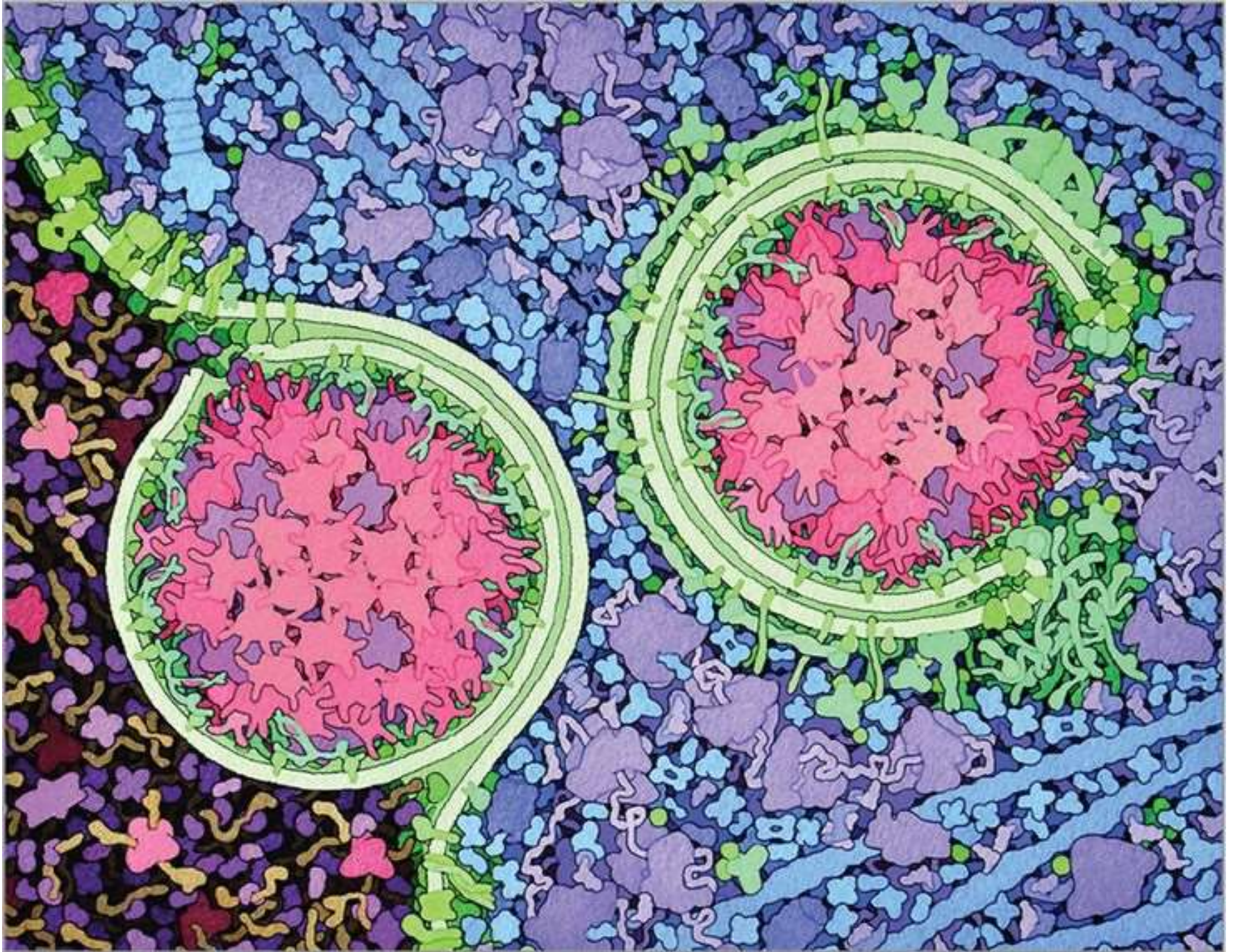
→ Β Λεμφοκύτταρα

- ✓ Προγονικά Β λεμφοκύτταρα με απάλειψη του *Atg5* γονιδίου
 - ~ Αποτυχία μετάβασης από προ- σε πρι-Β λεμφοκύτταρα στο Μυελό οστών
(υποδηλώνει το ρόλο της αυτοφαγίας στην ανάπτυξη των Β λεμφοκυττάρων)
 - ~ Διέγερση με LPS: αδυναμία διαφοροποίησης τους σε πλασματοκύτταρα, ενώ πολλαπλασιάζονται φυσιολογικά, μεγεθύνονται, ↑ ενδοκυτταροπλασματικής IgM & εκφράζουν δείκτες πλασματοκυττάρων (CD138)
- ✓ Απάλειψη του γονιδίου αυτοφαγίας (*Atg7*) σε αιμοποιητικά κύτταρα
 - ~ ↓ περιφερικά Β λεμφοκύτταρα
- ✓ Ποντικοί με απάλειψη του γονιδίου αυτοφαγίας (*Atg5*): ↓ ανοσολογικής απόκρισης

Αυτοφαγία & Ανοσολογικό σύστημα

➔ Συμπερασματικά

- Αυτοφαγία και ανοσία διασυνδέονται στενά με αποτέλεσμα να ρυθμίζεται μια σειρά αποτελεσματικών λειτουργιών
- Ρυθμίζει την δραστηριότητα της φυσικής ανοσίας
(αναγνωρίζοντας μικρόβια, ↑ φαγοκυτάρωση, ↑ παραγωγή κυτταροκινών)
- Αποτελεί τη βάση επικοινωνίας φυσικής & επίκτητης ανοσίας μέσω MHC-II.
 - ✓ Ρόλος της αυτοανοσίας στην αντιγονοπαρουσίαση μέσω MHC-I χρήζει μελέτης.
- Παίζει ρόλο στην ομοιόσταση & την διαφοροποίηση των T και B λεμφοκυττάρων



Watercolor painting of autophagy (yeast cell packages waste) by David Goodsell's