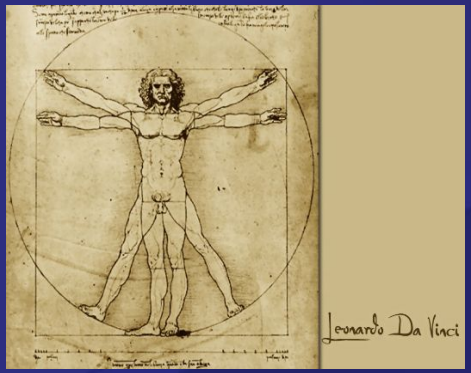
Межклеточная кооперация

ЛЕКЦИЯ

Население Земли в 2016г.



$7.432663 \cdot 10^{9}$

Деревья

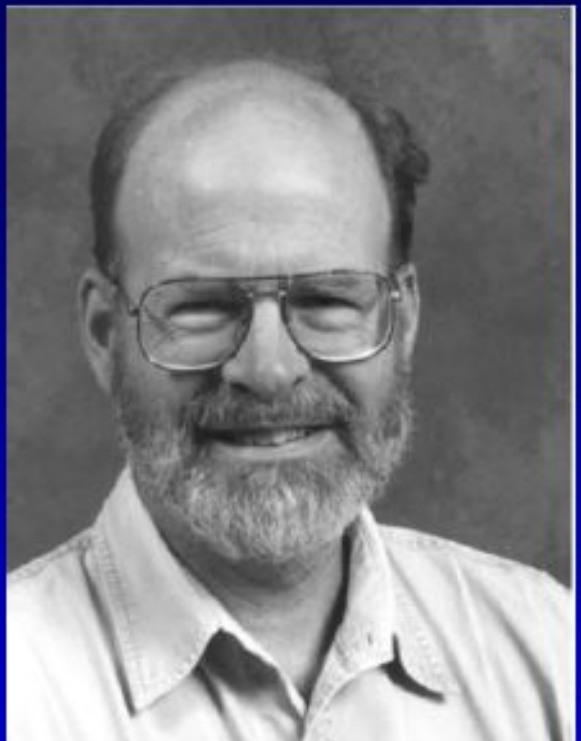
$3.04 \cdot 10^{12}$

Общее количество прокариот

$9.2–31.7 \cdot 10^{29}$

ВРОЖДЕННЫЙ ИММУНИТЕТ: свойства

- Врожденный иммунитет
  - Иммунологическая подсистема из клеток и механизмов первой линии защиты от инфекции неспецифическим путем.
  - Быстрая и Аг-независимая.
  - Все классы растений и животных.



Charles Janeway

Janeway CA. Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. Cold Spring Harb Symp Quant Biol. 1989; 54, Part 1:1-13.

Неинфекционное свое / инфекционное чужое (Charles Janeway)

- Восприятие **ЧУЖОГО** генетического материала при распознавании патоген-ассоциированных молекулярных структур (PAMPs)

PAMPs взаимодействуют с pattern-recognition receptors (PRRs) на клетках врожденного иммунитета

PAMPs служат маркером инфекционного чужого для запуска защитной реакции

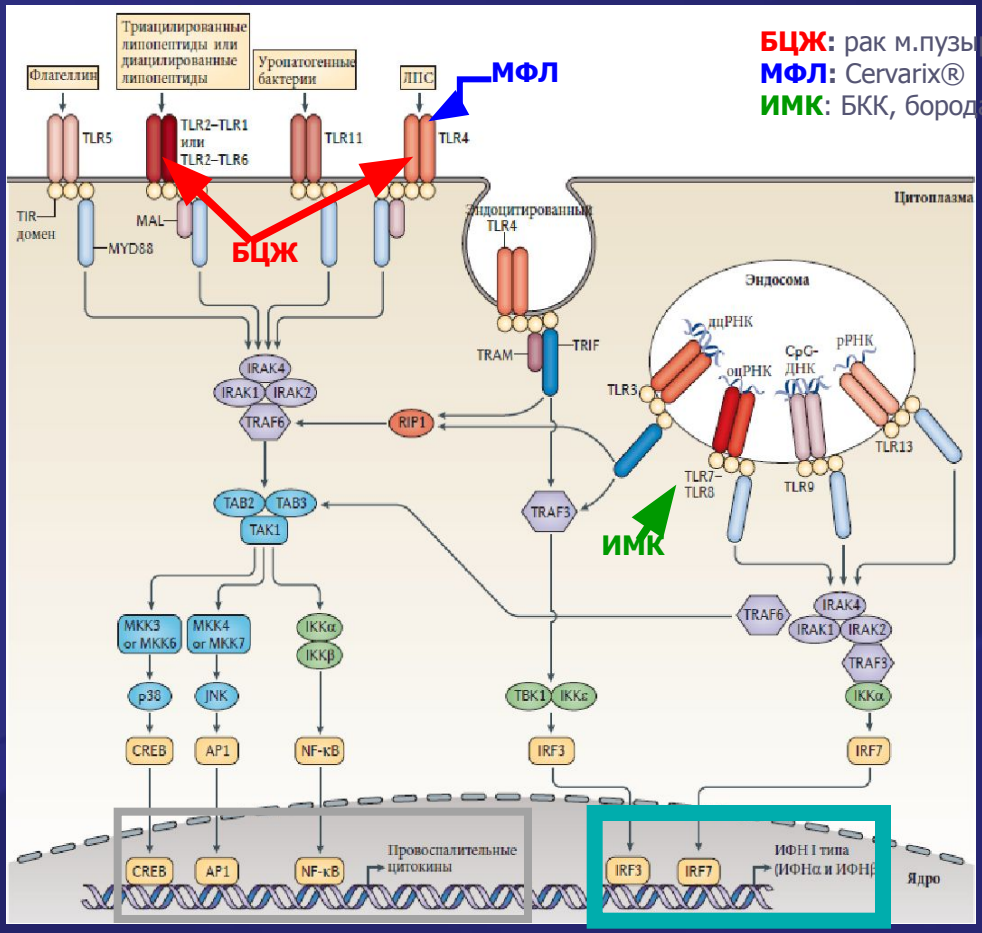
После распознавания PAMPs происходит запуск защитной реакции со стороны адаптивного иммунитета путем его информирования о внешнем вторжении

Неинфекционное свое / инфекционное чужое (Charles Janeway)

Врожденный и адаптивный иммунитет

Свойство	Врожденный иммунитет	Адаптивный иммунитет
Рецепторы	Кодируются в геноме Без перегруппировок	Кодируются в сегментах генов Перегруппировки обязательны
Распределение	Неклональное Все клетки не отличаются	Клональное Все клетки отличаются
Распознавание	Консервативные молекулярные структуры (паттерны) (LPS, LTA, маннаны, гликаны)	Детали молекулярной структуры (белки, пептиды, у/в)
Распознавание свой/чужой	отлично: отбор в ходе эволюции	плохо: отбор в отдельных соматических клетках
Начало действия	Немедленно	Замедленно
Ответ	Ко-стимуляция Цитокины (IL-1β, IL-6) Хемокины (IL-8)	Клональная экспансия/анергия IL-2 Эффекторные цитокины: (IL-4, IFNγ)

TLR лиганды



[O'Neill et al., Nat Rev Immunol., 2013]

Цитокины: сокращения:

<u>Tumor necrosis factor (TNF)</u>

- TNF-α (cachectin)
- TNF-β (lymphotoxin)

- <u>Interferons (IFNs)</u>
- IFNα and IFNβ
- IFNγ
- IFNλ

Цитокины: сокращения:

Transforming growth factor:

- Transforming growth factor-α – TGF-α
- Transforming growth factor-β – TGF-β

α-chemokines:

- IL-8
- NAP-2 (neutrophil – activating protein -2)
- PF-4 (platelet factor 4)

Цитокины: сокращения: колоние-стимулирующие факторы

- G-CSF – granulocyte colony stimulating factor
- GM-CSF – granulocyte-macrophage colony stimulating factor
- M-CSF – macrophage colony stimulating factor
- Multi-CSF = IL-3

Цитокины: сокращения: факторы роста

- aFGF – acidic fibroblast growth factor
- bFGF – basic fibroblast growth factor
- EGF – epidermal growth factor
- NGF – nerve growth factor
- PDGF – platelet - derived growth factor
- VEGF – vascular endothelial growth factor

Классификация цитокинов: эффекты

1. Интерлейкины (IL-1 ÷ IL- 38) – между лейкоцитами.

2. TNF – цитокины с цитотоксичностью и регуляцией.

3. IFNs – противовирусные цитокины:

Type I – IFN-α,β etc.

Type II – IFN-γ

Type III – IFN-λ

Классификация цитокинов: эффекты

4. Ростовые факторы стволовых клеток (IL-3, IL-7, IL-11, erythropoietin, thrombopoietin, colony stimulating factor (CSF): GM-CSF, G-CSF, M-CSF.

5. Хемокины (CC, CXC (IL-8), CX3C, C), хемотаксис.

6. Ростовые факторы – рост и дифференцировка клеток.

Классификация цитокинов: эффекты на воспаление

- **Противовоспалительные – г.о. из Т клеток, уменьшают амплитуду воспаления:**
  - IL-4, IL-10, TGFβ etc.
- **Провоспалительные – г.о. из активированных макрофагов, уменьшают амплитуду воспаления.**

1. Цитокины врожденного иммунитета

- Миелоидные клетки.
- PAMPs распознаются через PRRs и запускают сигналы на активацию эксмрессии провоспалительных цитокинов и ИФН I типа.

Классификация цитокинов в зависимости от воспаления

- **Провоспалительные цитокины (IL-1, *6,* TNF-α, IL-17. IL-18) – усиление воспаления.**
-
- **<u>Местно:</u>**
  - **Типичные признаки воспаления: отек, покраснение, боль;**
  - **Быстро: усиление адгезии и привлечения активированных клеток в очаг воспаления из крови.**
- **<u>Системно:</u>**
  - **Воздействие на все клетки тела для поддержания гомеостаза.**

Суперсемейство IL-10 цитокинов

Name	Chromosome location (human)	Structure	Receptor		Major cellular sources	Cellular targets	Key functions
			α chain	β chain			
IL-10	1q32	Dimer	IL-10R1	IL-10R2	Leukocytes	Leukocytes	Immune repression
IL-19		Monomer	IL-20R1	IL-20R2	Myeloid cells, epithelial cells	Epithelial cells	Antibacterial responses, tissue remodeling, wound healing
IL-20		Monomer	IL-20R1/IL-22R		Myeloid cells, epithelial cells		
IL-24		Monomer			Myeloid cells, epithelial cells Th2 cells		
IL-22	12q16	Monomer	IL-22R	IL-10R2	T cells, NK cells, NKT cells, LTi cells		
IL-26		Dimer?	IL-20R1				
IL-28A	19q13	Monomer	IL-28R		Leukocytes, epithelial cells	Epithelial cells, leukocytes?	Antiviral responses
IL-28B		Monomer					
IL-29		Monomer					

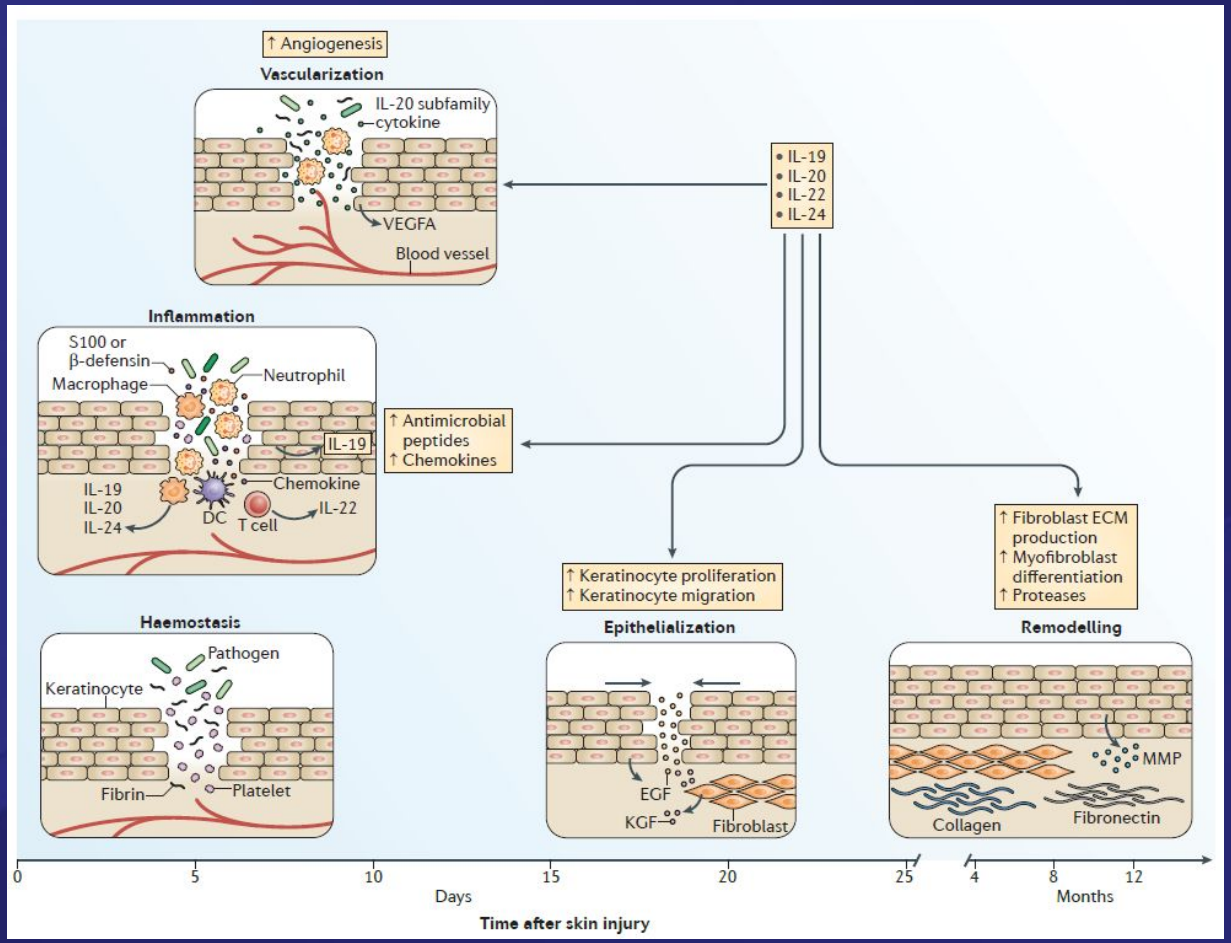
[Ouyang et al., Annu Rev Immunol., 2011]

Суперсемейство IL-10 цитокинов

IL-20 subfamily cytokine	Cellular sources	Inducers of expression	Cellular targets
IL-19	· Monocytes · Keratinocytes · Macrophages · Fibroblasts · B cells · Airway epithelial cells	· GM-CSF · IL-1β · IL-4 · IL-13 · IL-17 · IL-22 · KGF · LPS	· Keratinocytes · Fibroblasts · Monocytes · $CD8^+$ T cells · Renal tubular epithelial cells
IL-20	· Monocytes · Granulocytes · Keratinocytes · DCs · Fibroblasts	· IL-1β · IL-17 · IL-22 · LPS · TNF	· Keratinocytes · Endothelial cells · Adipocytes
IL-22	· T_H17 cells · ILC3s · $CD8^+$ T cells · γδ T cells · NK cells · Myeloid cells · Fibroblasts	· AHR · IL-1β · IL-6 · IL-23 · Notch	· Keratinocytes · Fibroblasts · Mucosal epithelial cells · Hepatocytes · Acinar cells · Adipocytes
IL-24	· Monocytes · Endothelial cells · Melanocytes · T_H2 cells · Colonic subepithelial myofibroblasts	· IL-1β · IL-17 · IL-22 · LPS	· Keratinocytes · Adipocytes
IL-26	· T_H17 cells · NK cells · Fibroblasts · Macrophages	· IL-1β · IL-23	Monocytes

[Rutz et al., Nat Rev Immunol., 2014]

Суперсемейство IL-10 цитокинов



[Ouyang et al., Annu Rev Immunol., 2011]

Суперсемейство IL-1 цитокинов

Table 1. Overview of IL-1 Family Members, Their (Co)-receptors, Inhibitory Ligands plus Receptors, and Main Functions

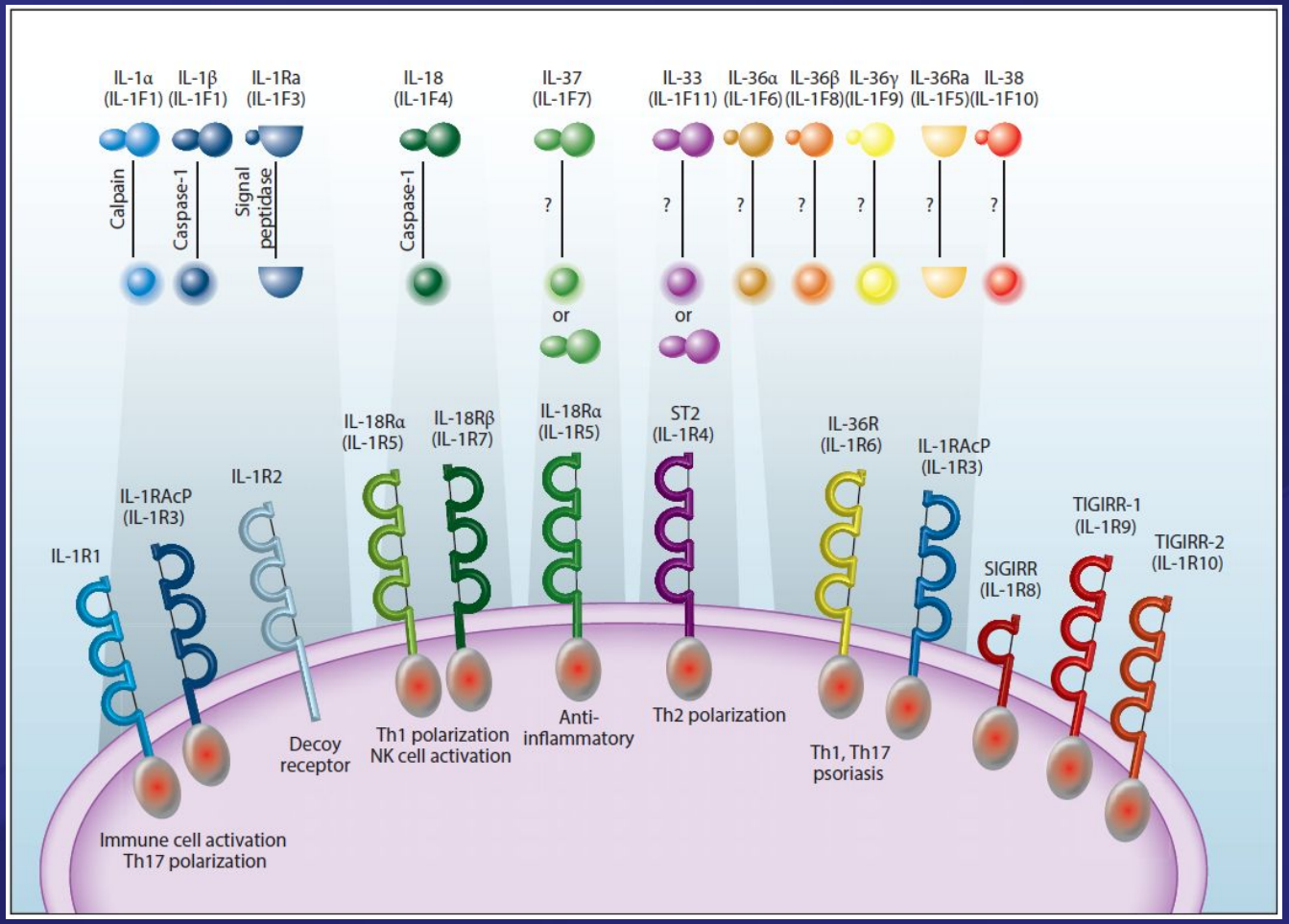
Cytokine	Alternative Name	Receptor	Co-receptor	Inhibitory Ligands and Receptors	Main Function
IL-1α	IL-1F1	IL-1R1	IL-1RAcP	IL-1RA, IL-1R2	pro-inflammatory
IL-1β	IL-1F2	IL-1R1	IL-1RAcP	IL-1RA, IL-1R2	pro-inflammatory
IL-18	IL-1F4	IL-18Rα	IL-18Rβ	IL-18BP	pro-inflammatory
IL-33	IL-1F11	ST2 (IL-1RL1)	IL-1RAcP	sST2	pro-inflammatory
IL-36α IL-36β IL-36γ	IL-1F6 IL-1F8 IL-1F9	IL-36R (IL-1Rrp2)	IL-1RAcP	IL-36RA	pro-inflammatory
IL-37	IL-1F7	IL-18Rα	SIGIRR (TIR8, IL-1R8)	unknown	anti-inflammatory
IL-38	IL-1F10	IL-36R (IL-1Rrp2)	–	unknown	anti-inflammatory
IL-1RA	IL-1F3	IL-1R1	–	NA	IL-1R antagonist
IL-36RA	IL-1F5	IL-36R	–	NA	IL-36R antagonist

Abbreviation is as follows: NA, not applicable.

IL-1R1, type 1 IL-1 receptor;
IL-1Ra, IL-1 receptor antagonist;
IL-1RAcP, IL-1 receptor accessory protein;
IL-36Ra, IL-36 receptor antagonist;
SIGIRR, single immunoglobulin interleukin-1 receptor related protein;
TIGIRR, three immunoglobulin domain-containing IL-1 receptor-related.

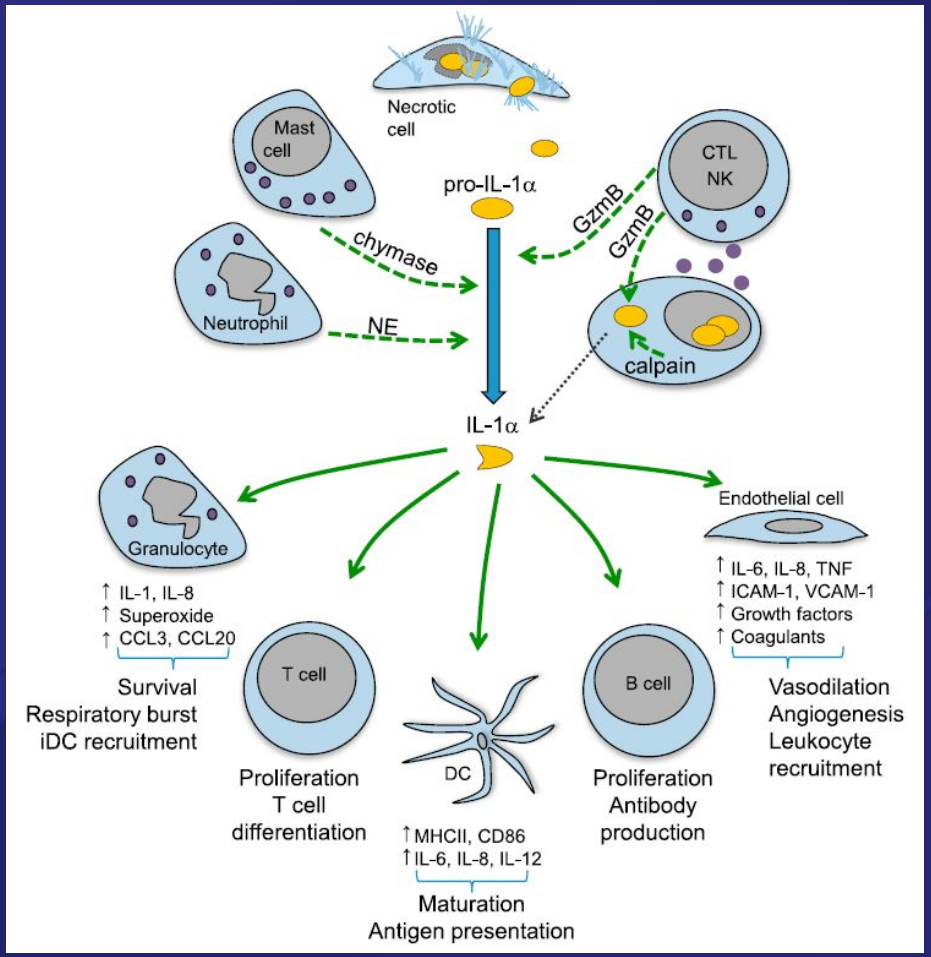
[Netea et al., Annu Rev Immunol., 2015]

Суперсемейство IL-1 цитокинов



[Netea et al., Annu Rev Immunol., 2015]

IL-1: активность

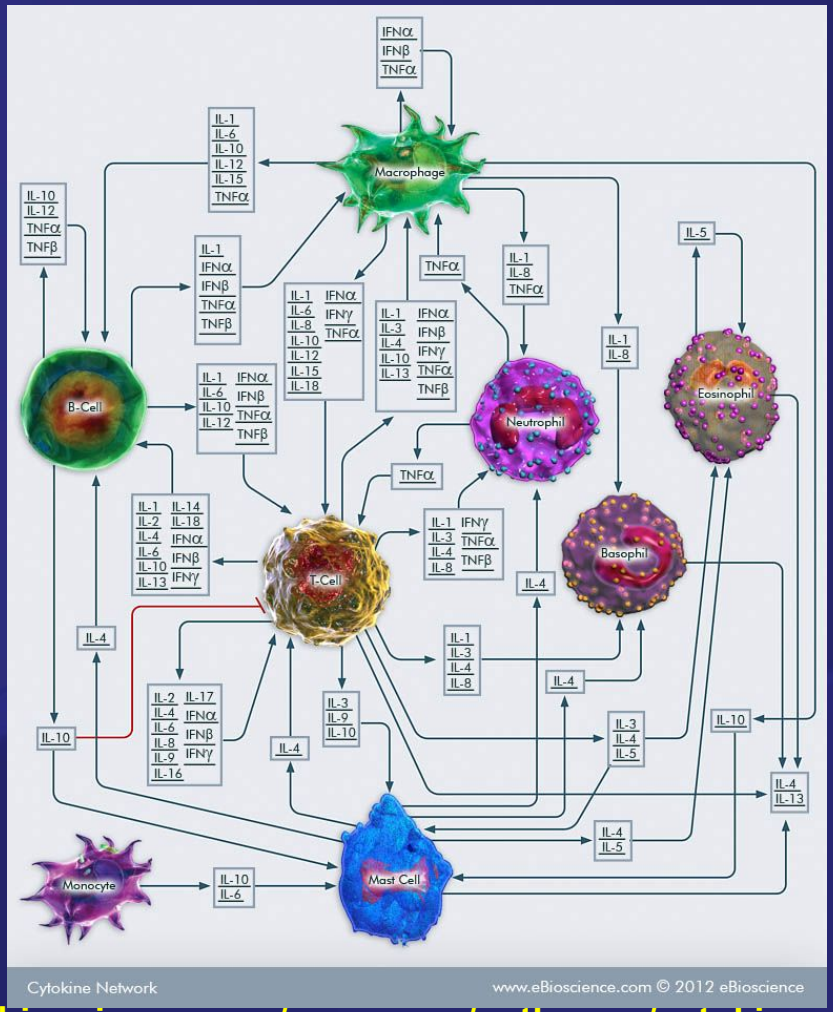


[Afonina et al., Immunity, 2015]`

Классификация цитокинов: тип рецептора

1. Interleukin receptors (IL-2,3,4,5,7,11,15 etc.).
2. Ig-superfamily receptors (IL-1R, M-CSF-R, stem cell factor receptor).
3. TNF-receptor family (death domain).
4. IL-10 and IFN receptor family.
5. Chemokine receptors.

ЦИТОКИНОВАЯ СЕТЬ

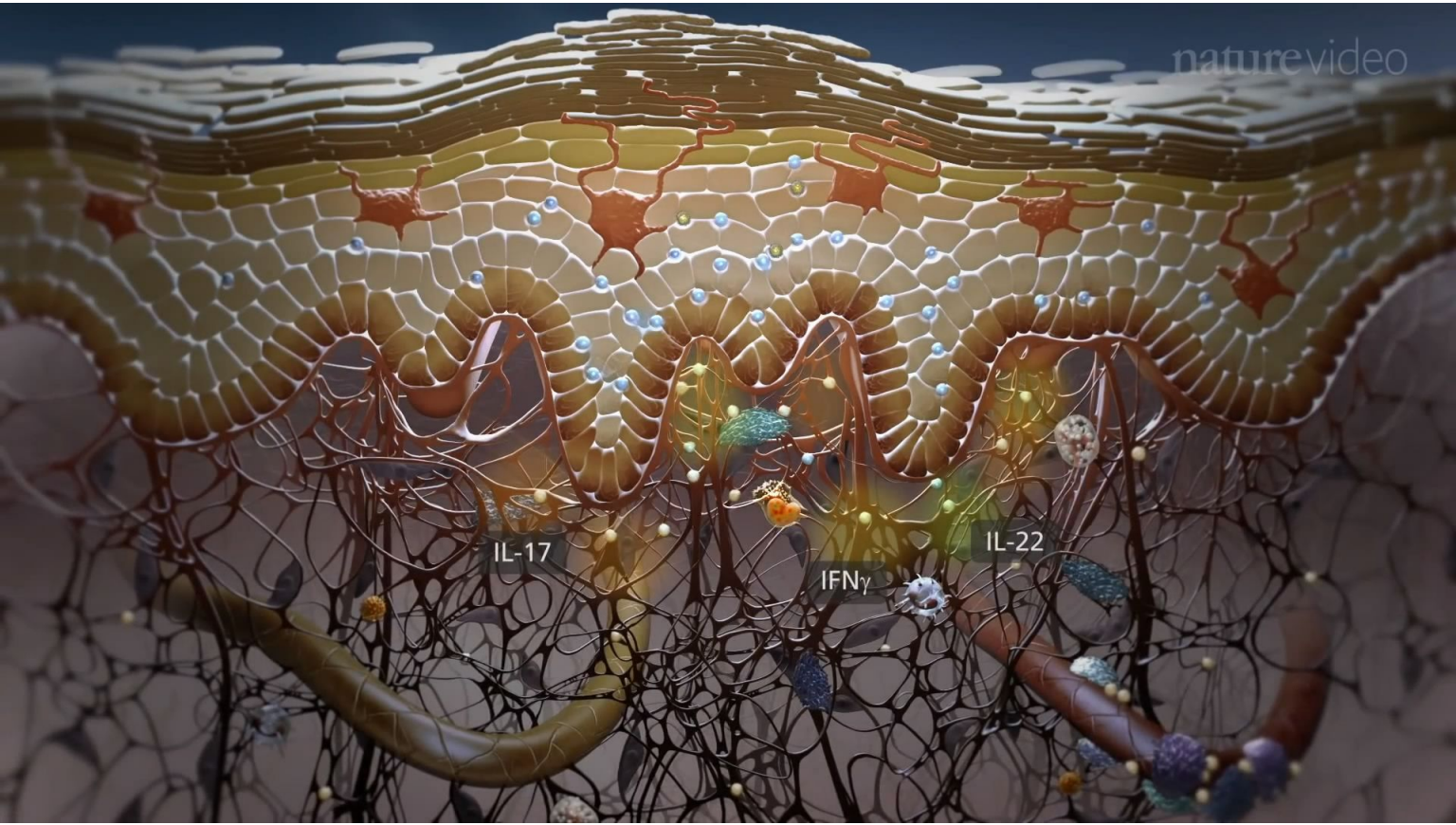


http://www.ebioscience.com/resources/pathways/cytokine-network.htm

ПСОРИАЗ

- Хроническое аутоиммунное заболевание кожи
- Красные зудящие бляшки
- Общая заболеваемость: 2–4% взрослого населения, макс. у европеоидов Caucasian descent.

ПСОРИАЗ



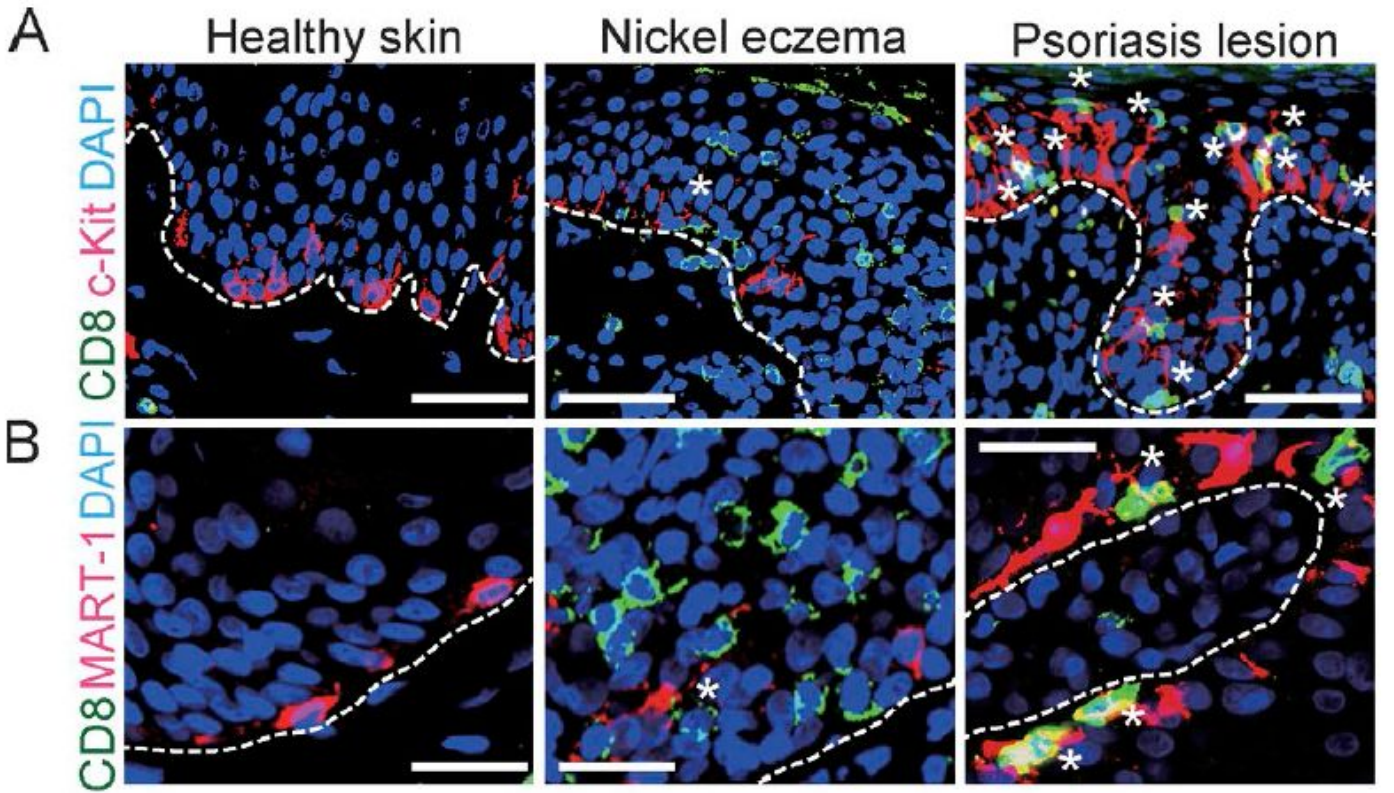
ПСОРИАЗ

- **<u>HLA-C*06:02:</u>**
  - 60% пациентов
  - ↑ риск псориаза в 9-23 раз
  - Раннее начало, тяжелое течение

- **<u>Vα3S1/Vβ13S1 TCR :</u>**
  - Найден в эпидермальном клоне $CD8^+$ T клеток

[**Arakawa** et al., J Exp Med. 2015]

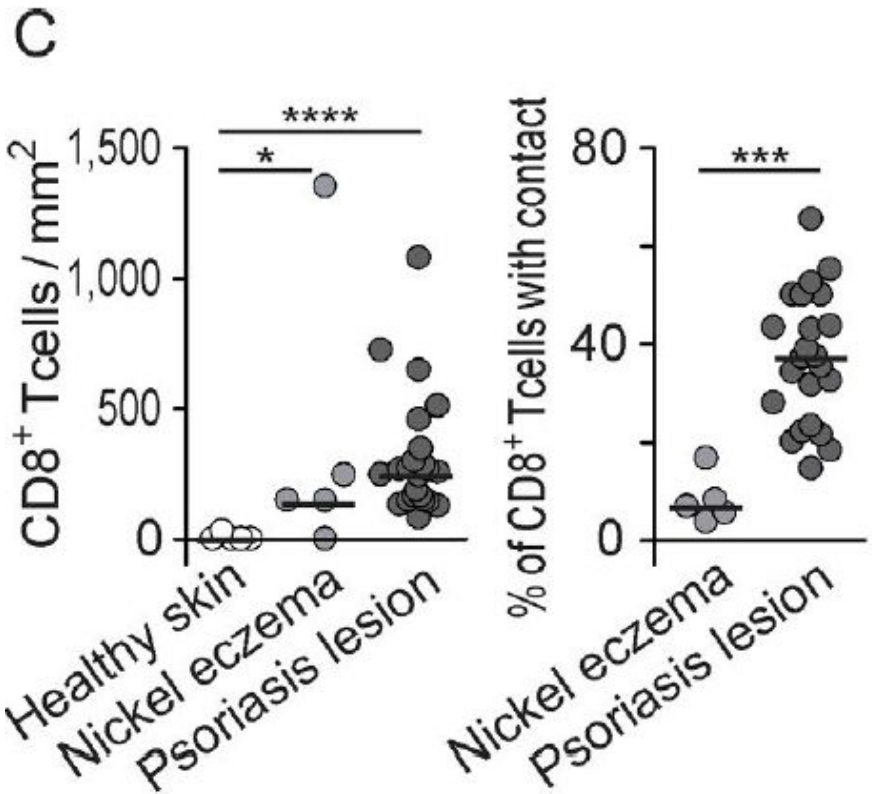
ПСОРИАЗ



Asterisks designate CD8^{+}T cells contacting melanocytes.

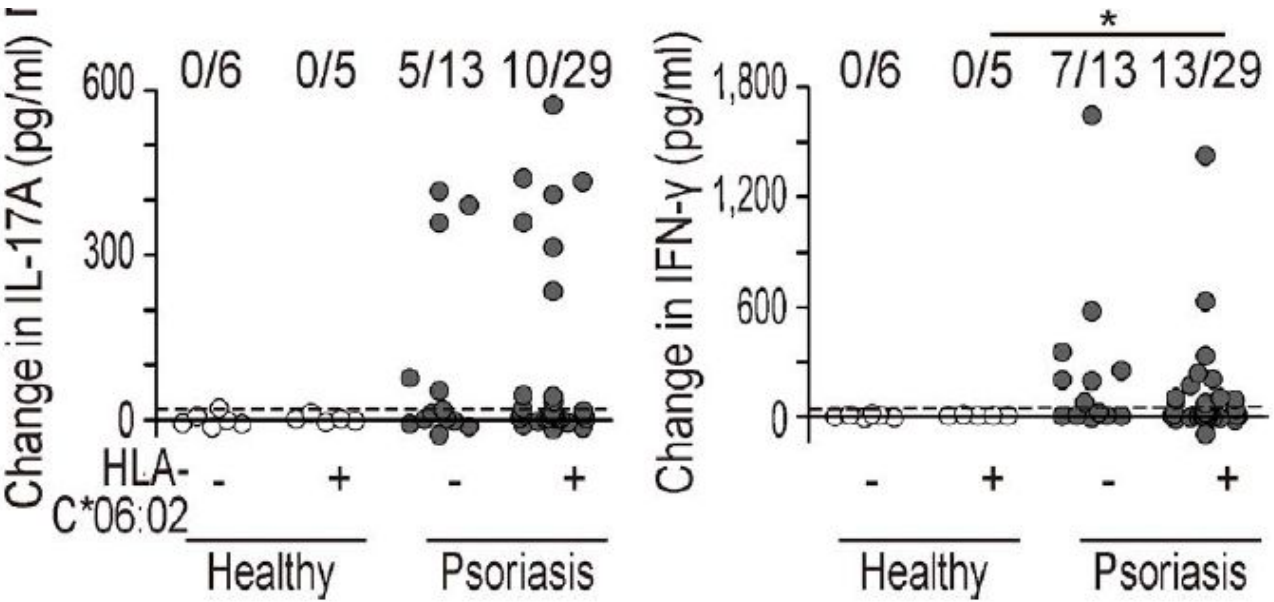
[**Arakawa** et al., J Exp Med. 2015]

ПСОРИАЗ



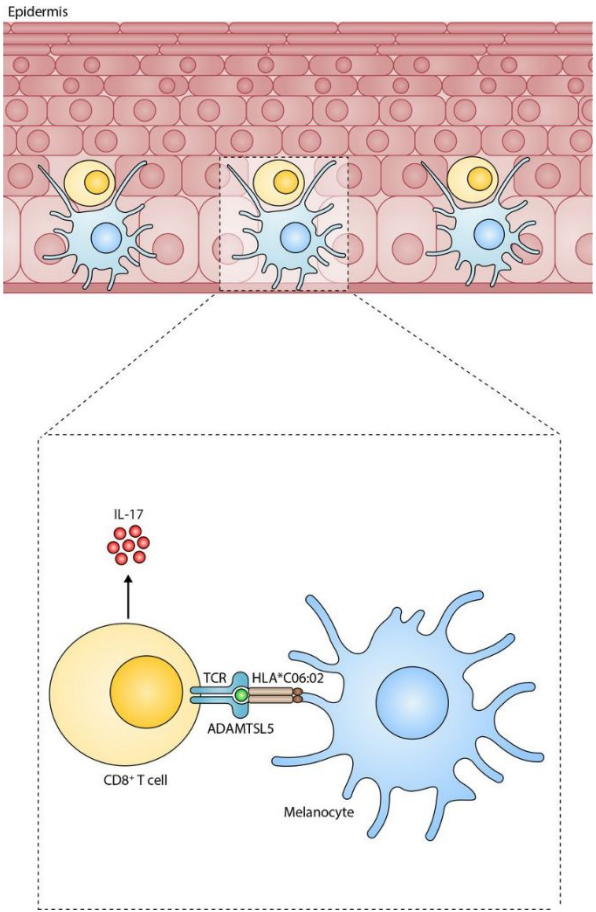
[**Arakawa** et al., J Exp Med. 2015]

ПСОРИАЗ



[**Arakawa** et al., J Exp Med. 2015]

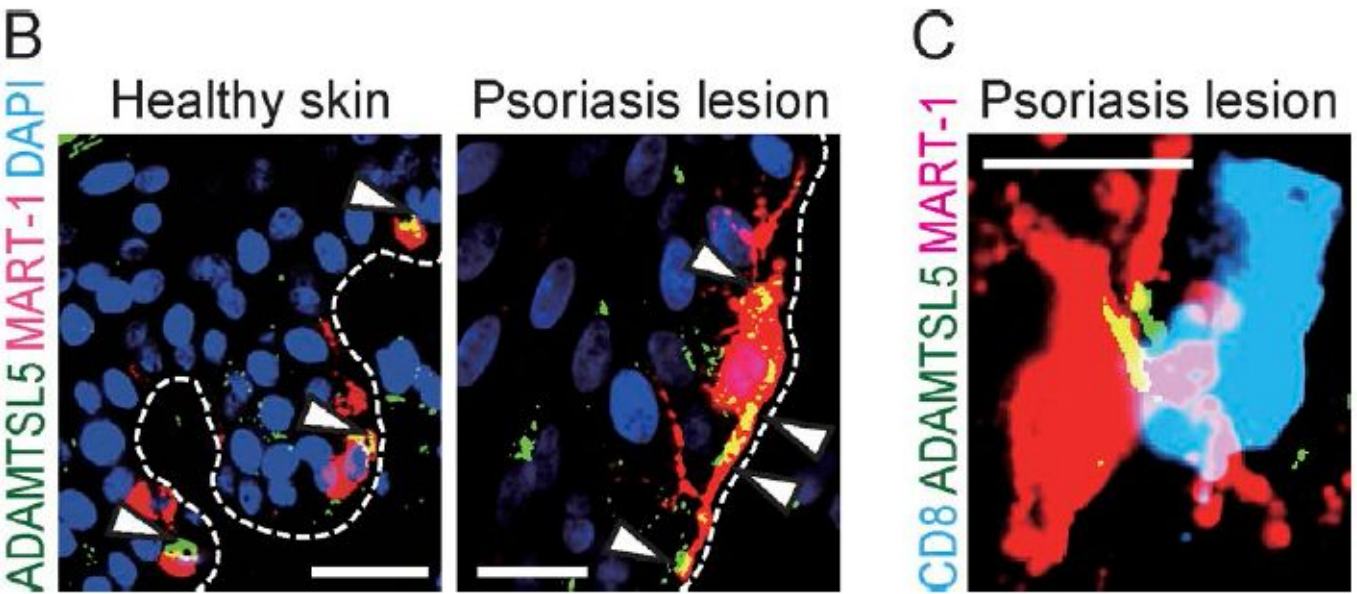
ПСОРИАЗ



ADAMTS-like protein 5
A disintegrin-like and metalloprotease domain containing thrombospondin type 1 motif-like 5 (ADAMTS)

[**Krueger**, J Exp Med. 2015]

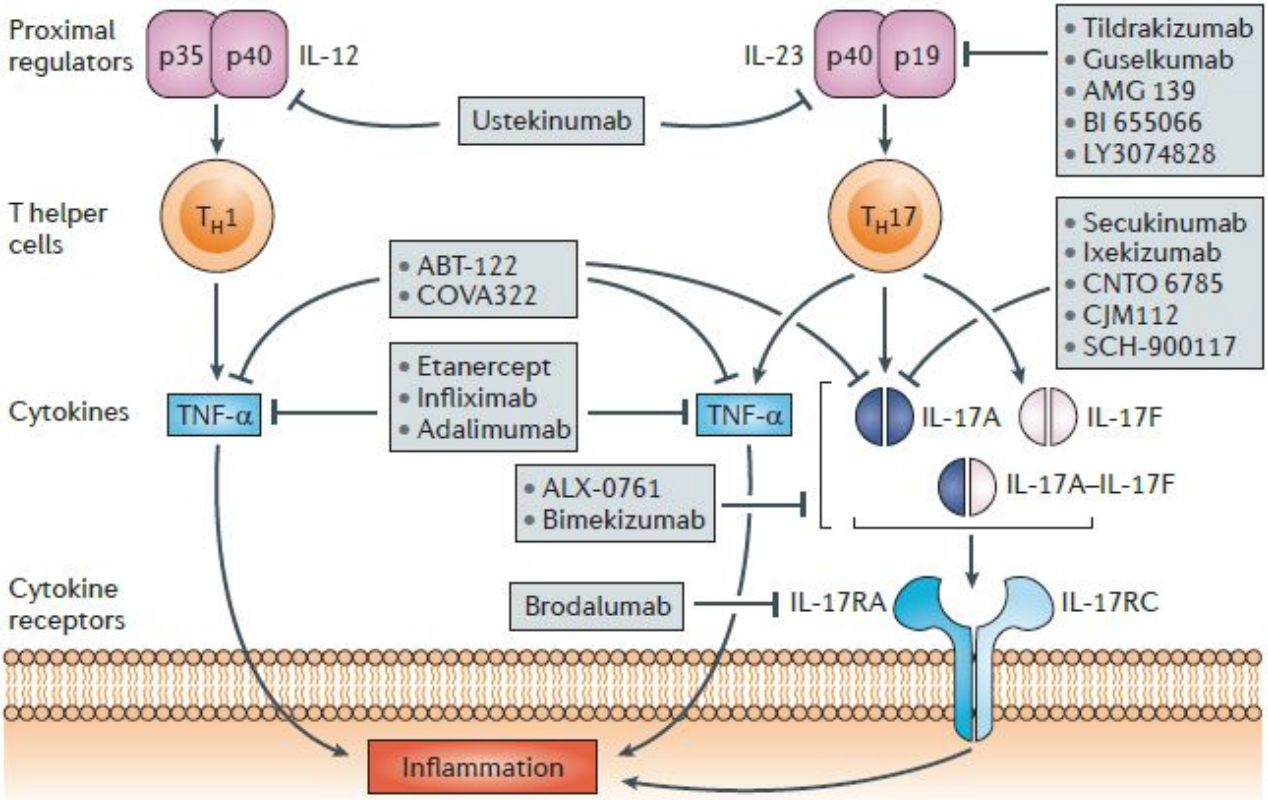
ПСОРИАЗ: АНТИЦИТОКИНОВАЯ ТЕРАПИЯ



ADAMTS-like protein 5
A disintegrin-like and metalloprotease domain containing thrombospondin type 1 motif-like 5 (ADAMTS)

[**Arakawa** et al., J Exp Med. 2015]

ПСОРИАЗ: АНТИЦИТОКИНОВАЯ ТЕРАПИЯ



[Bartlett & Million, Nat Rev Drug Discov. 2015]

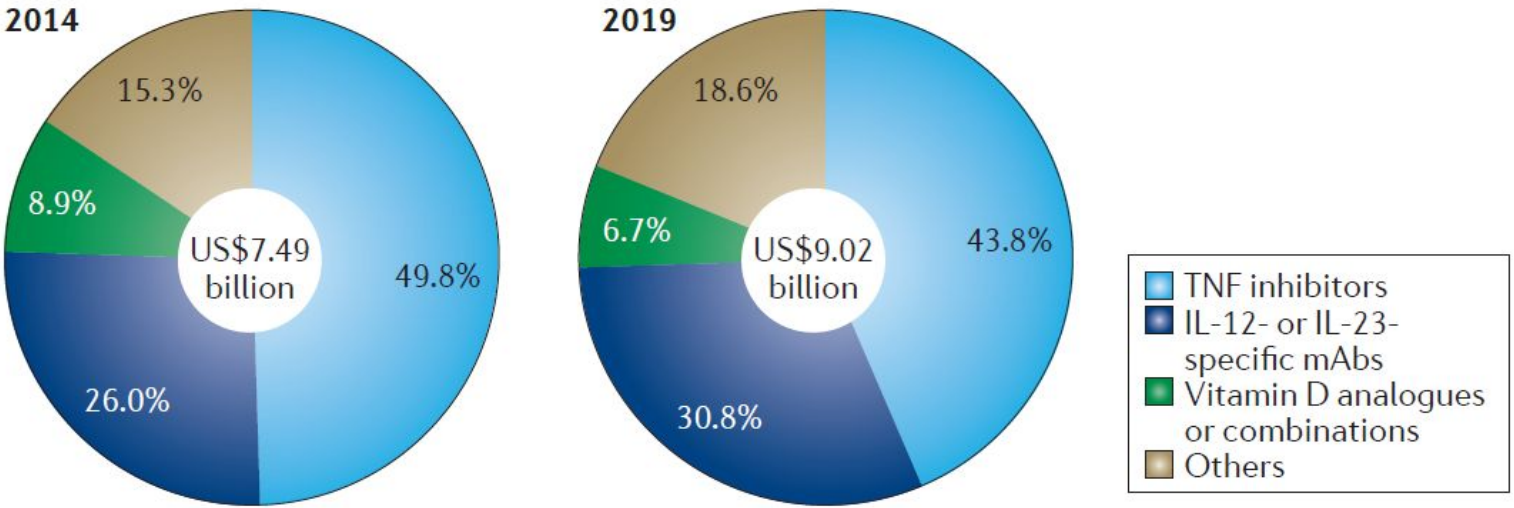
ПСОРИАЗ: АНТИЦИТОКИНОВАЯ ТЕРАПИЯ

Table 1 | **Key drug candidates targeting the IL-17–T_H17 pathway***

Name	Manufacturer	Target	Formulation	Psoriasis	Psoriatic arthritis	Rheumatoid arthritis	Other inflammatory diseases
Ustekinumab	Janssen	IL-12–p40 and IL-23–p40	Fully human mAb	Marketed	Marketed	Phase II	Crohn's disease (Phase III)
Secukinumab	Novartis	IL-17A	Fully human mAb	Pre-registration	Phase III	Phase III	Ankylosing spondylitis (Phase III), asthma (Phase II) and multiple sclerosis (Phase II)
Ixekizumab	Eli Lilly	IL-17A	Humanized mAb	Phase III	Phase III	Phase II	–
Brodalumab	Amgen/ AstraZeneca	IL-17RA	Fully human mAb	Phase III	Phase III	–	Asthma (Phase II)
Tildrakizumab	Merck/ Sun Pharma	IL-23–p19	Fully human mAb	Phase III	–	–	–
Guselkumab	Janssen	IL-23–p19	Fully human mAb	Phase III	–	Phase II	–
ABT-122	AbbVie	IL-17A and TNF-α	Dual-variable-domain immunoglobulin	–	–	Phase II	–
AMG 139	AstraZeneca/ Amgen	IL-23–p19	Fully human mAb	Phase I	–	–	Crohn's disease (Phase II)
BI 655066	Boehringer Ingelheim	IL-23–p19	Humanized mAb	Phase II	–	–	Ankylosing spondylitis (Phase II) and Crohn's disease (Phase II)
CNTO 6785	Janssen	IL-17A	Fully human mAb	–	–	Phase II	–
CJM112	Novartis	IL-17A	mAb	Phase I/II	–	–	–
COVA322	Janssen/ Covagen	IL-17A and TNF-α	Bispecific antibody fusion protein	Phase I/II	Preclinical	Preclinical	Ankylosing spondylitis (preclinical)
ALX-0761	Merck Serono/ Ablynx	IL-17A and IL-17F	Bispecific half-life-extended nanobody	Phase I	–	–	–
Bimekizumab	UCB	IL-17A and IL-17F	Humanized mAb	Phase I	Phase I	–	–
LY3074828	Eli Lilly	IL-23–p19	Humanized mAb	Phase I	–	–	–
SCH-900117	Merck	IL-17A	Fully human mAb	–	–	Phase I	–

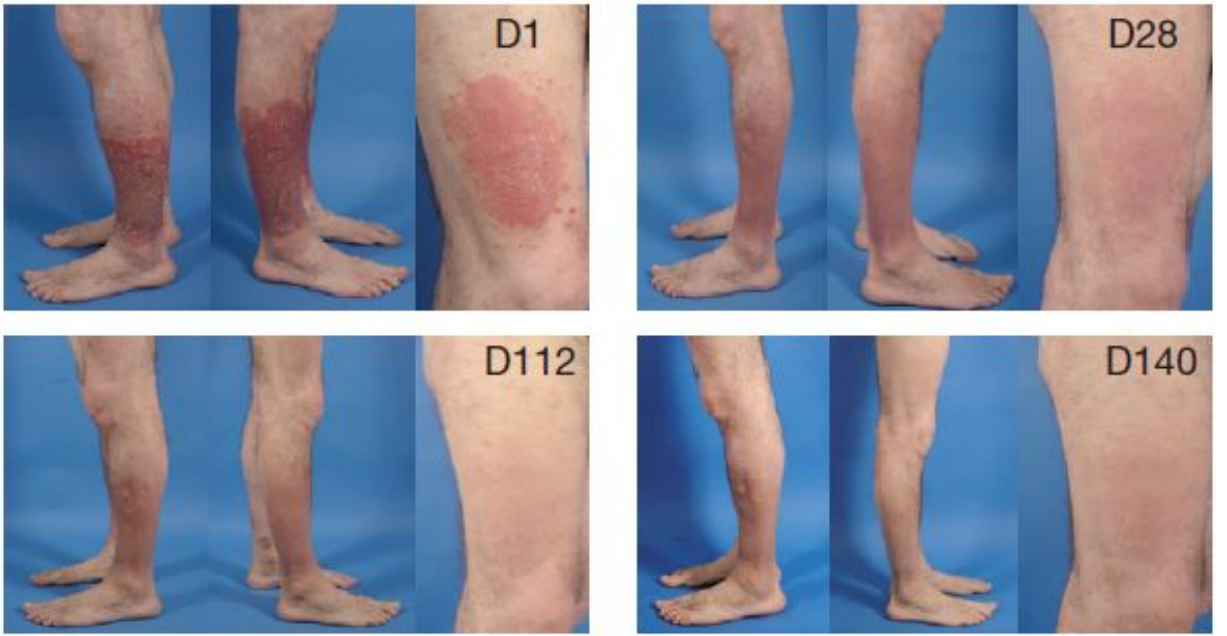
[Bartlett & Million, Nat Rev Drug Discov. 2015]

ПСОРИАЗ: АНТИЦИТОКИНОВАЯ ТЕРАПИЯ



[**Rizvi** et al., Nat Rev Drug Discov. 2015]

ПСОРИАЗ: АНТИЦИТОКИНОВАЯ ТЕРАПИЯ



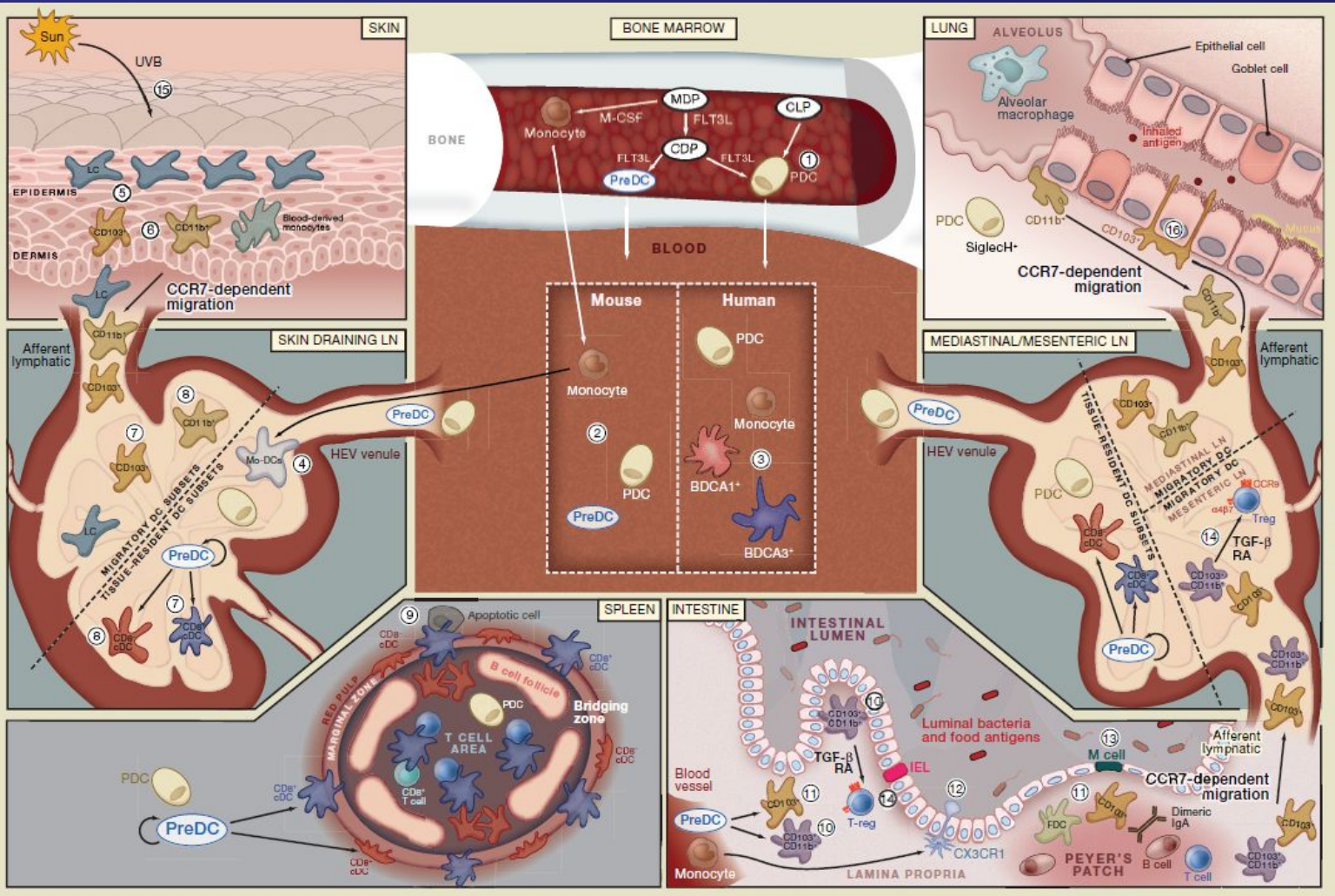
Tildrakizumab: anti-IL-23(p19) mAb, i.v.

[**Kopp** et al., Nature. 2015]

Антиген-презентирующие клетки

Клетки	Фагоцитоз	Тип клеток	Положение	Экспрессия MHC-II белков
Нефагоцитирующие конститутивные АПК	–	Клетки Лангерганса	Кожа	++ Стабильно
		Интердигитирующие ДК	Лимфоидная система	
		Фолликулярные ДК	Лимфоидная система	–
		Микрососудистый эндотелий		++ Стабильно
		Эндотелий синусоидных капилляров	Печень	++ Стабильно
Фагоциты (моноцит-макрофагальный ряд)	+	Моноциты	Кровь	(+) → +++ Индуцировано
		Макрофаги	Ткани	
		Макрофаги маргинальной зоны	Селезенка и л.у.	
		Клетки Куппфера	Печень	
		Микроглия	Мозг	
Лимфоциты	–	В и Т клетки	Лимфоидная система, места иммунных реакций	– → ++ Индуцировано
Факультативные АПК	+	Астроциты	Мозг	Индуцировано
	–	Фолликулярные клетки	Щитовидная железа	
		Фибробласты	Соединительная ткань	– → ++ Индуцировано
		Гладкомышечные миоциты	Гладкомышечный слой	

Дендритные клетки



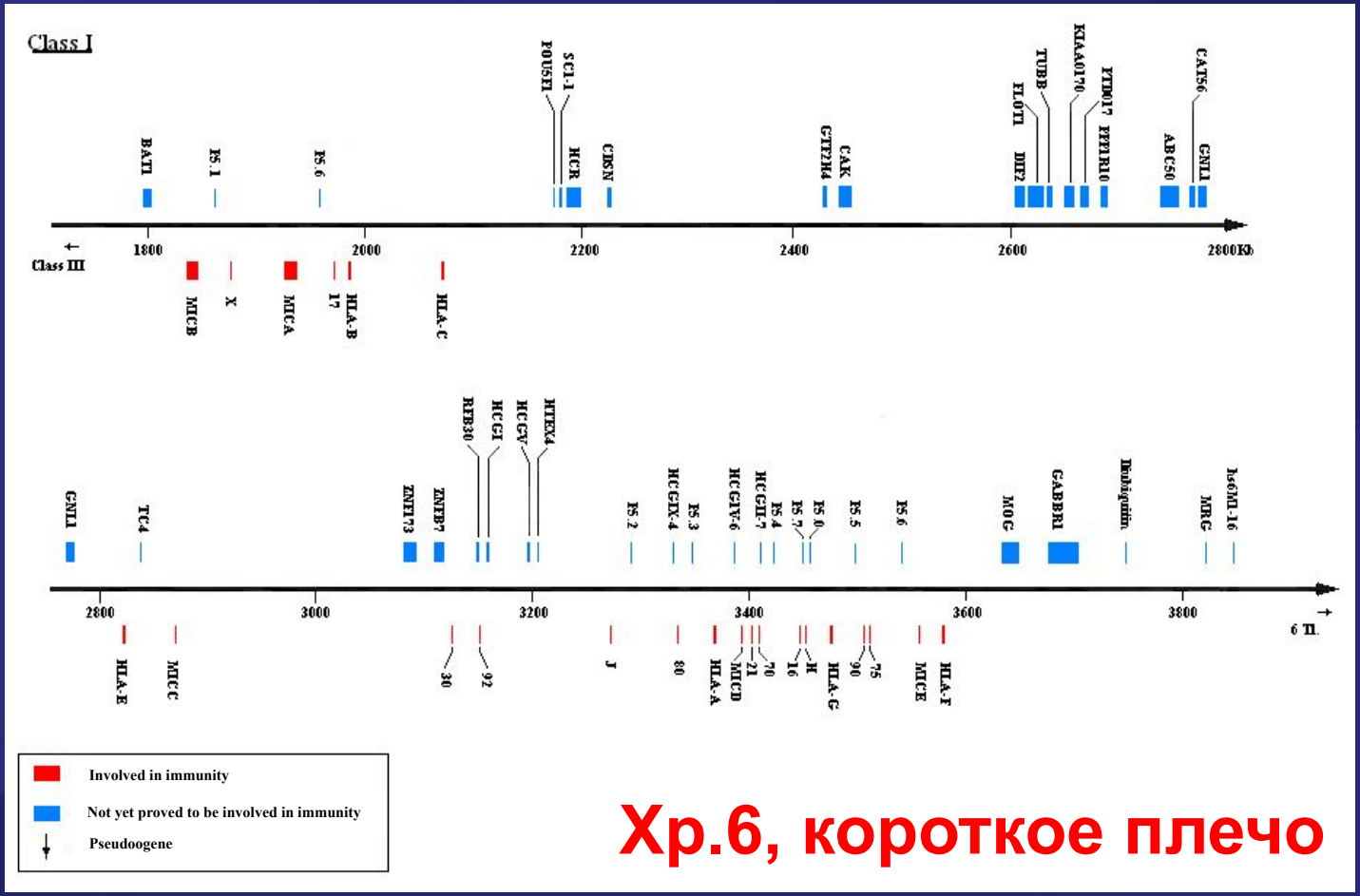
Главный комплекс гистосовместимости I и II класса

- Или антигены лейкоцитов человека (HLA)
  - **Хромосома 6, короткое плечо**;
- MHC-I: все кариоциты;
- MHC-II: профессиональные АПК (ДК, В клетки, макрофаги).

Гены MHC-II человека

Хр.6, короткое плечо

Гены МНС-I человека

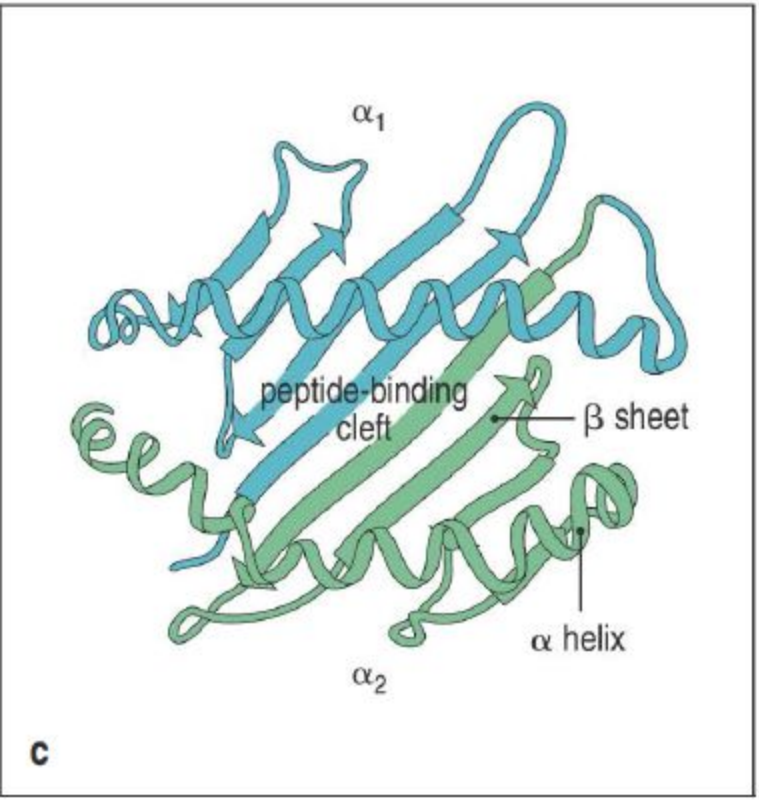


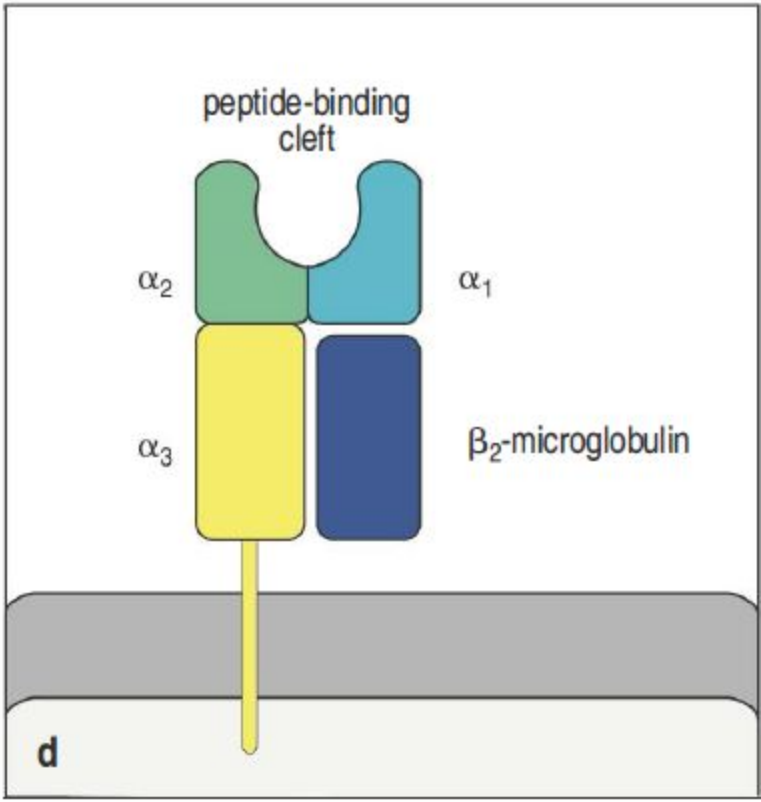
Хр.6, короткое плечо

Экзо- и эндогенные антигены

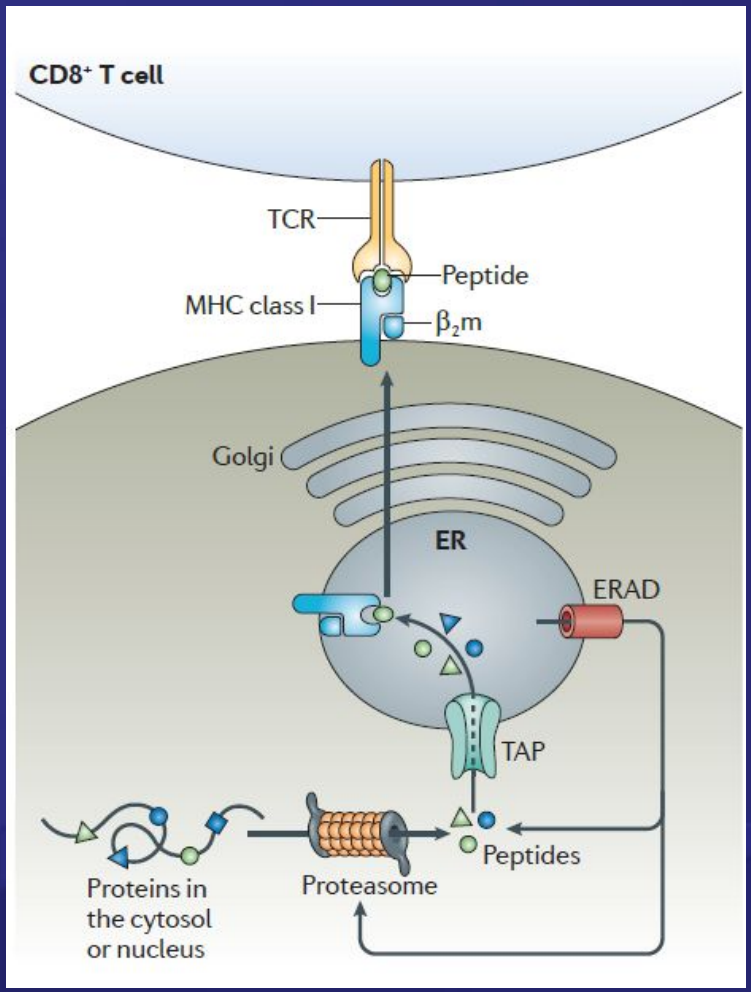
- Эндогенные Аг
  - Презентация МНС-I молекулами
  - Внутриклеточные патогены, аутоАг
- Экзогенные Аг
  - Презентация МНС-II молекулами
  - Захваченные внеклеточные патогены, ВКМ, пр.

Презентация антигенов MHC-I белками





Презентация антигенов MHC-I белками



TAP – transporter associated with antigen presentation;

ER – endoplasmic reticulum;

β2m – β2-microglobulin;

ERAD – ER-associated protein degradation.

Презентация антигенов MHC-I белками: комплекс нагрузки пептидами (PLC)

- эффективная нагрузка пептидов на MHC-I молекулы.
- TAP / MHC-I / шапероны (тапазин, ERp57, кальретикулин)

Иммунопротеасома (I-протеасома)

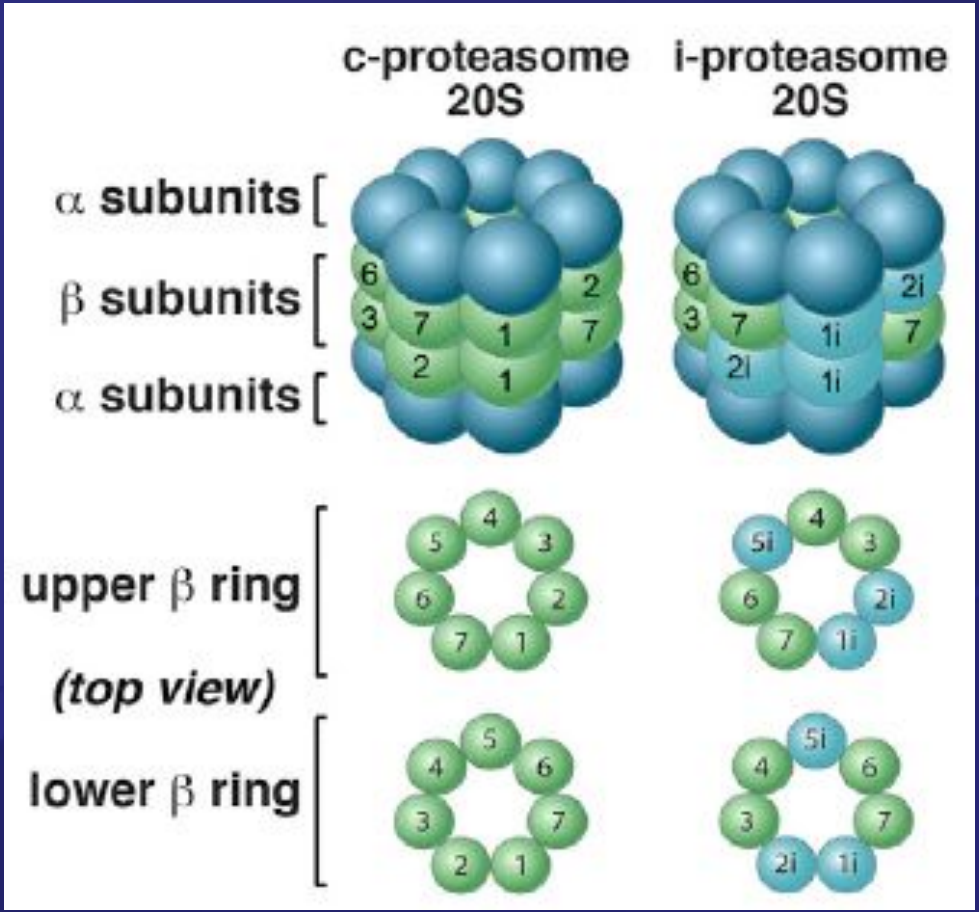
- I-протеасомы максимально представлены в иммунных клетках
- В норме у человека: <u>печень, почки, кишечник</u>: ~30%–50% I-протеасомы
- I-протеасомы продуцируют антигенные эпитопы для презентации МНС-I молекулами
- Роль при разрешении белкового стресса, дифференцировке и заживлении ран

Презентация антигенов MHC-I белками

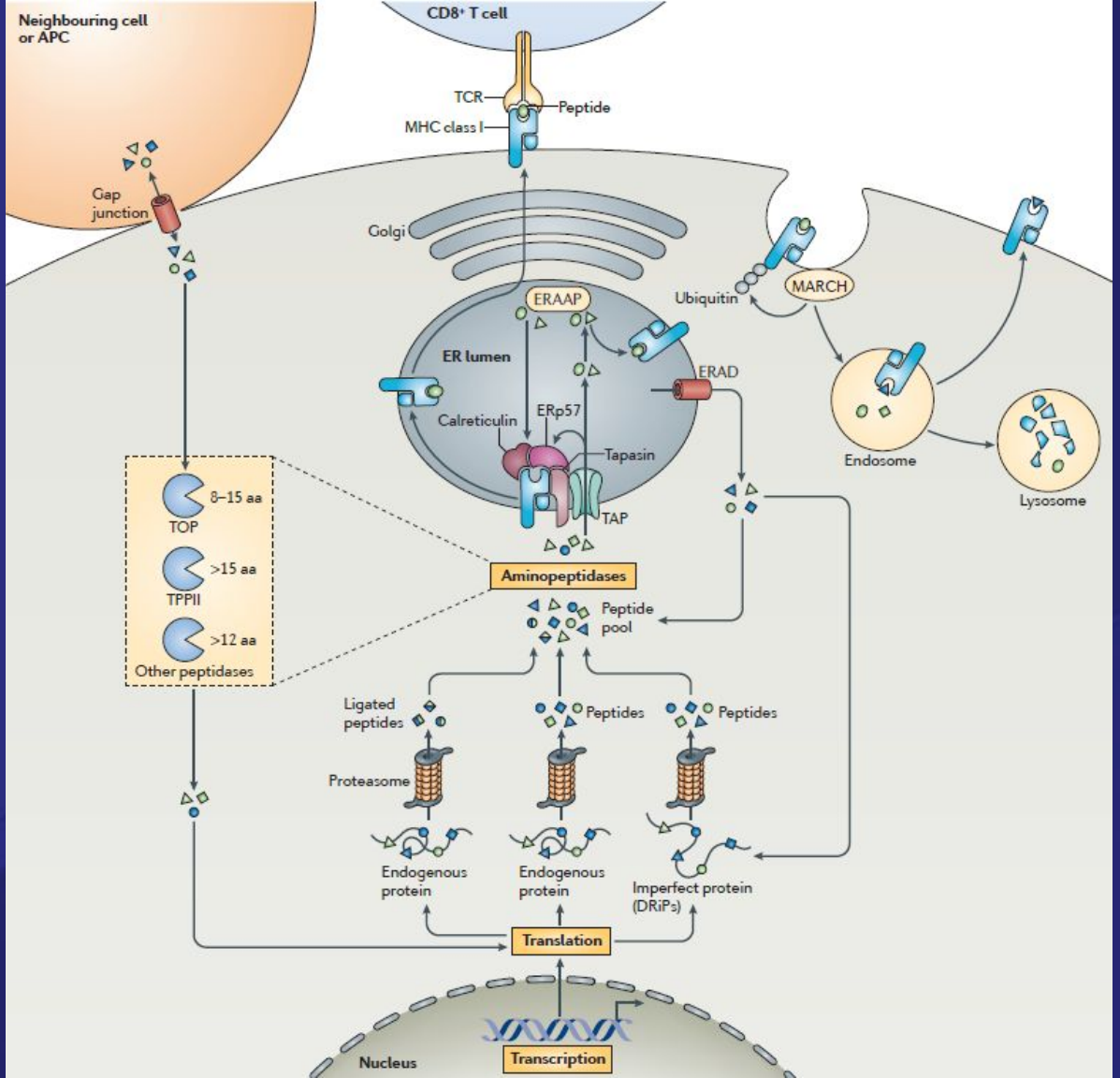
- DRiPs: дефектные рибосомальные продукты
  - Неправильная транскрипция/трансляция,
  - Альтернативная рамка чтения,
  - Сбой в сборке крупных белковых комплексов,
  - Встраивание неправильных а.к. из-за ошибок аминоацил-tРНК синтазы,
  - Нарушение убиквитинирования

- Посттрансляционный сплайсинг пептидов
  - 20S протеасомой путем лигирования пептидов
  - Ведет к формированию нео-Аг (опухоль и пр.)

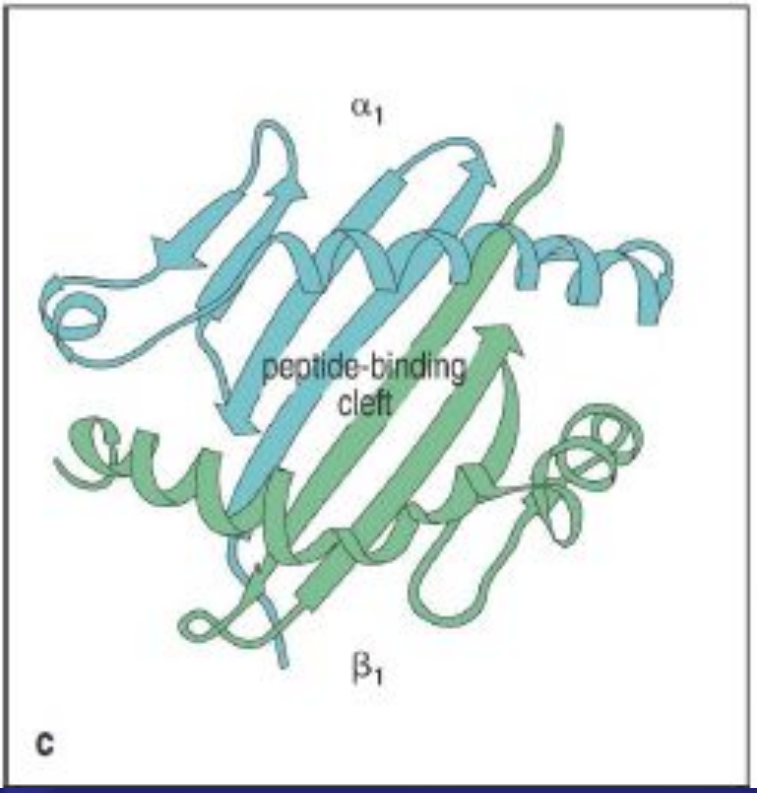
Иммунопротеасома (I-протеасома)

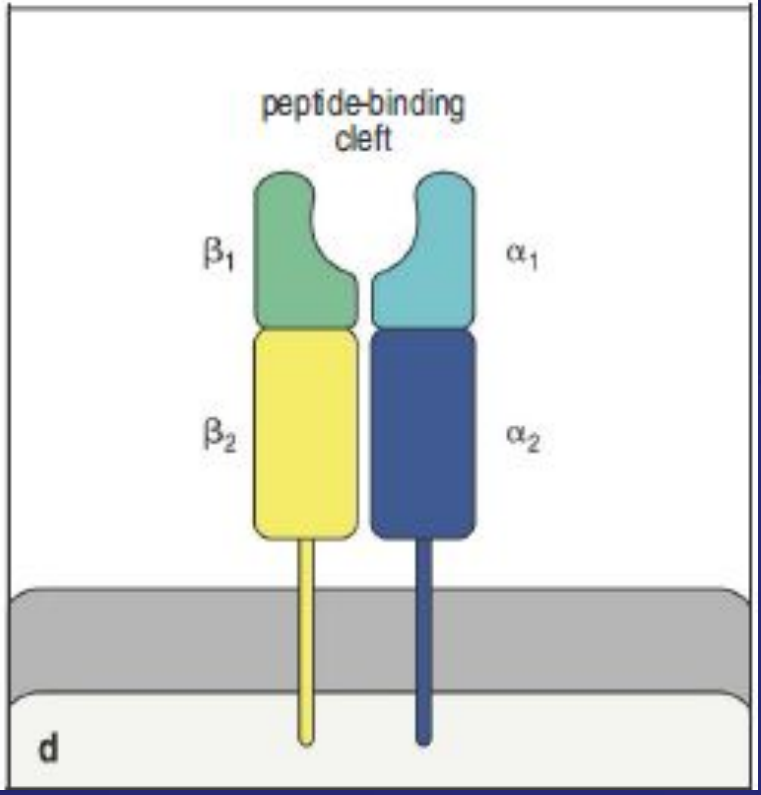


Презентация антигенов МНС-I белками

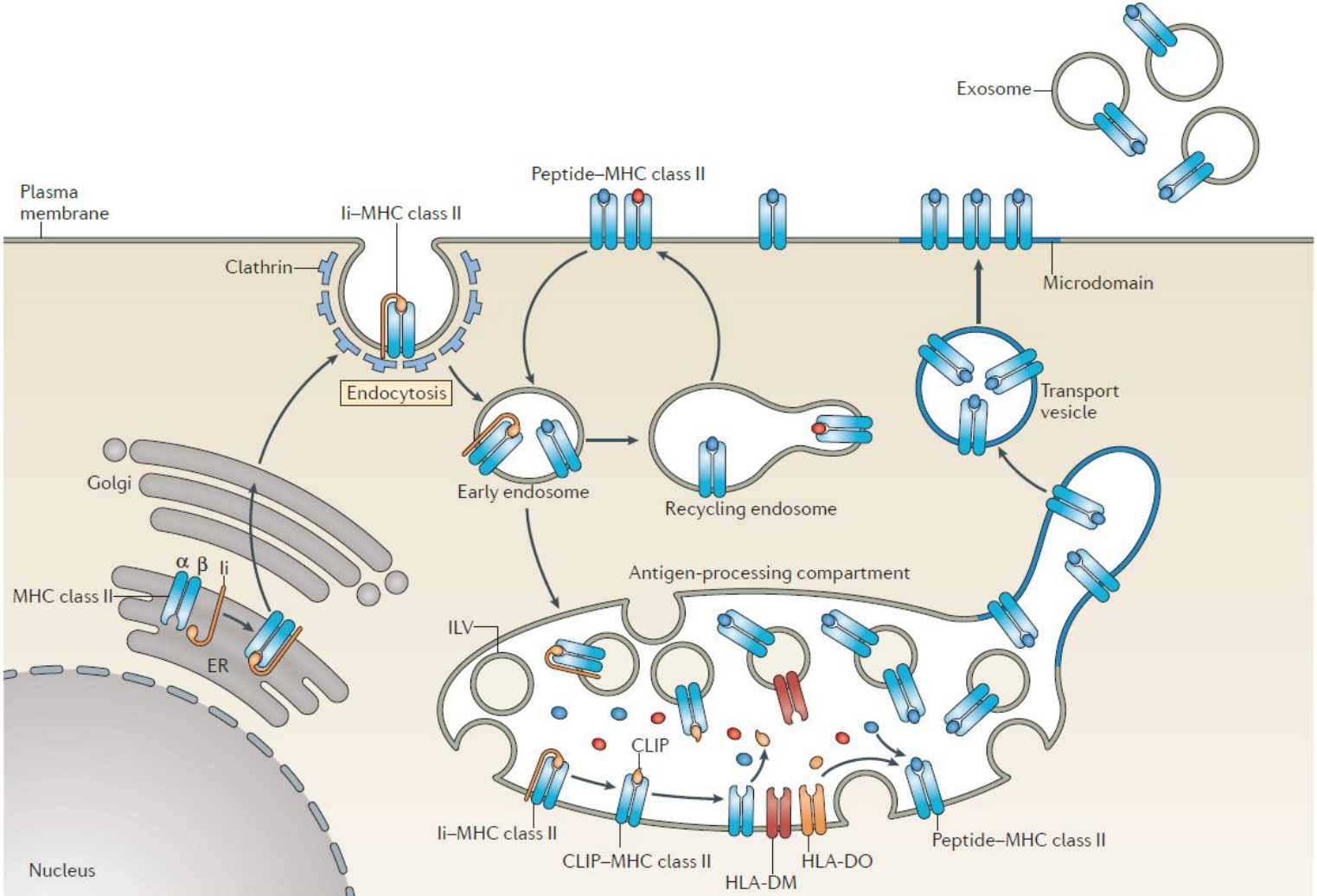


Презентация антигенов MHC-II белками

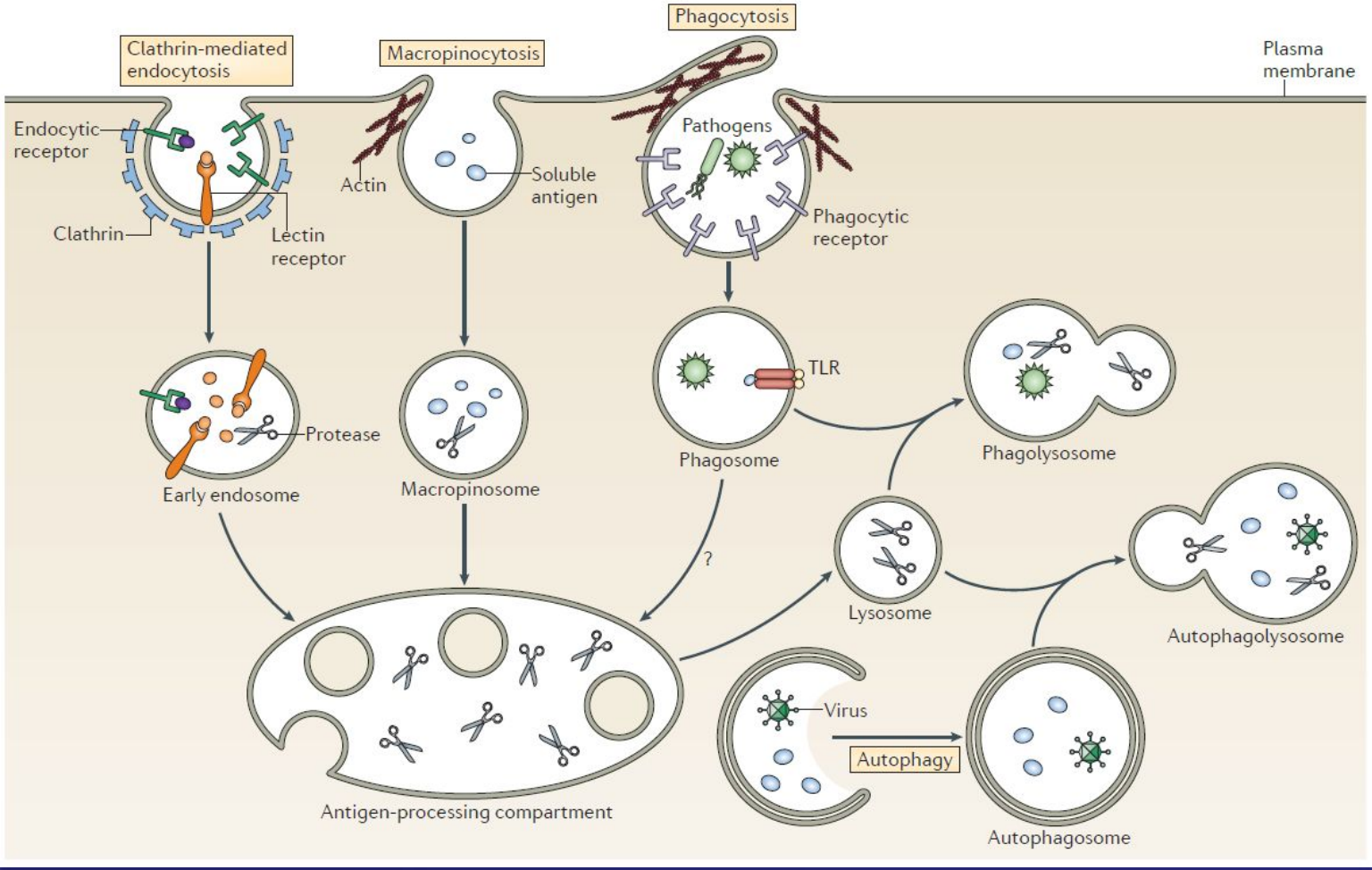




Презентация антигенов MHC-II белками

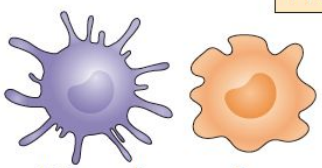


Презентация антигенов MHC-II белками

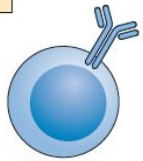


Презентация антигенов MHC-II белками

Professional APCs

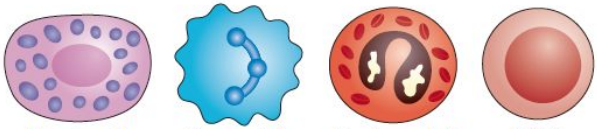


DCs and macrophages



B cells

Atypical APCs



Mast cells | Basophils | Eosinophils | ILC3s

Key features
- Phagocytic
- Express receptors for apoptotic cells, DAMPs and PAMPs
- Localize to tissues
- Localize to T cell zone of lymph nodes following activation (DCs)
- Constitutively express high levels of MHC class II molecules and antigen processing machinery
- Express co-stimulatory molecules following activation

Key features
- Internalize antigens via BCRs
- Constitutively express MHC class II molecules and antigen processing machinery
- Express co-stimulatory molecules following activation

Key features
- Inducible expression of MHC class II molecules
- Antigen-presenting functions limited to specific immune environments (especially type 2 immune settings)
- Lack of compelling evidence that they can activate naive $CD4^+$ T cells in an antigen-specific manner

Строение Т рецепторов

- Т клеточный рецептор имеет α и β -цепи (есть альтернативные рецепторы, которые имеют γ и δ цепи- обеспечивают иммунитет слизистых оболочек, первичный ответ при инфекции).
- Каждая α и β цепь в составе Т рецептора имеет:

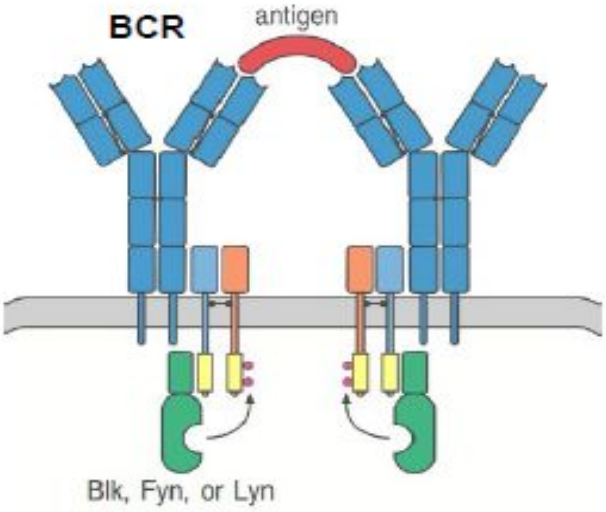
  - 1 наружный вариабельный Vдомен
  - 1 наружный константный С – домен;
  - трансмембранный сегмент;
  - цитоплазматический хвостик (короткий).

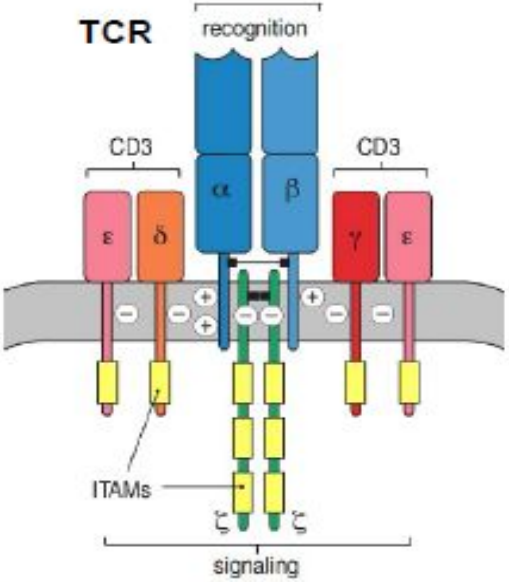
Строение Т рецепторного комплекса

- На клеточной поверхности αβ -Т клеточный рецептор (или γδ) расположен в непосредственной близости к комплексу, называемому CD3 .

- Через комплекс CD3 происходит передача сигнала с Т клеточного рецептора в клетку.

Антигенные рецепторы лимфоцитов





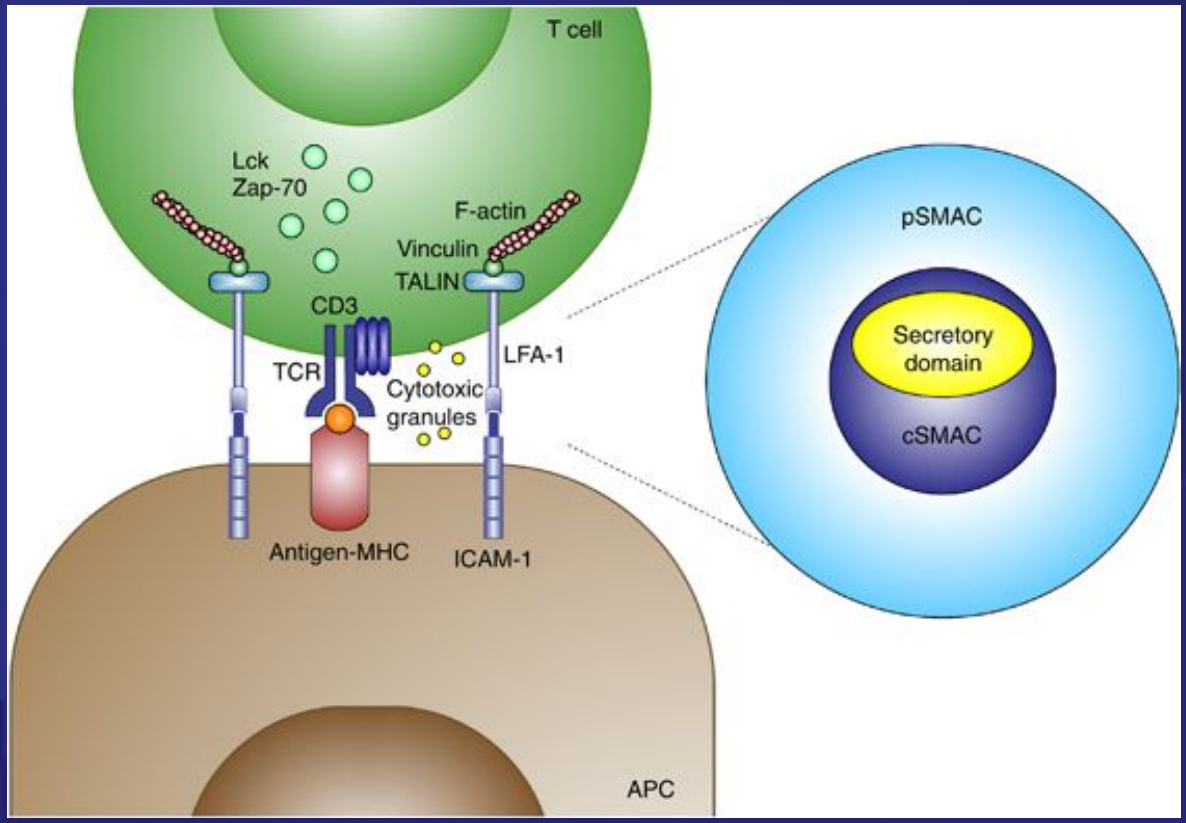
Кластеризацию молекул В-клеточного рецептора обеспечивает связывание с мультивалентным лигандом

В кластеризации молекул Т-клеточного рецептора важную роль играют заряженные аминокислоты в составе трансмембранных доменов

Заряженные аминокислоты:
отрицательно при pH=7: аспартат, глутамат
положительно при pH=7: лизин, аргинин, гистидин

Иммунологические синапсы (IS)

- Участок критического межклеточного взаимодействия между специфической иммунной клеткой и АПК

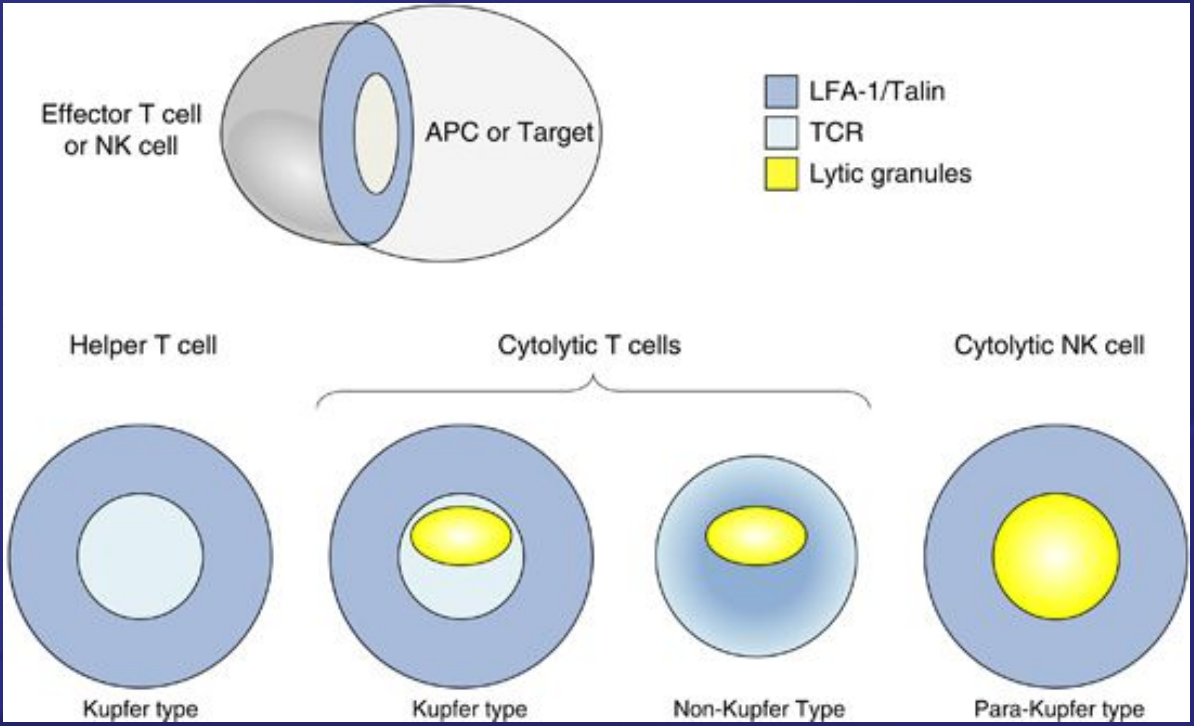


SMAC

Надмолекулярный кластер активации

[Mitxitorena et al., Immunol Cell Biol., 2015]

Иммунологические синапсы (IS)



Para-Kupfer SMAC type – no TCR

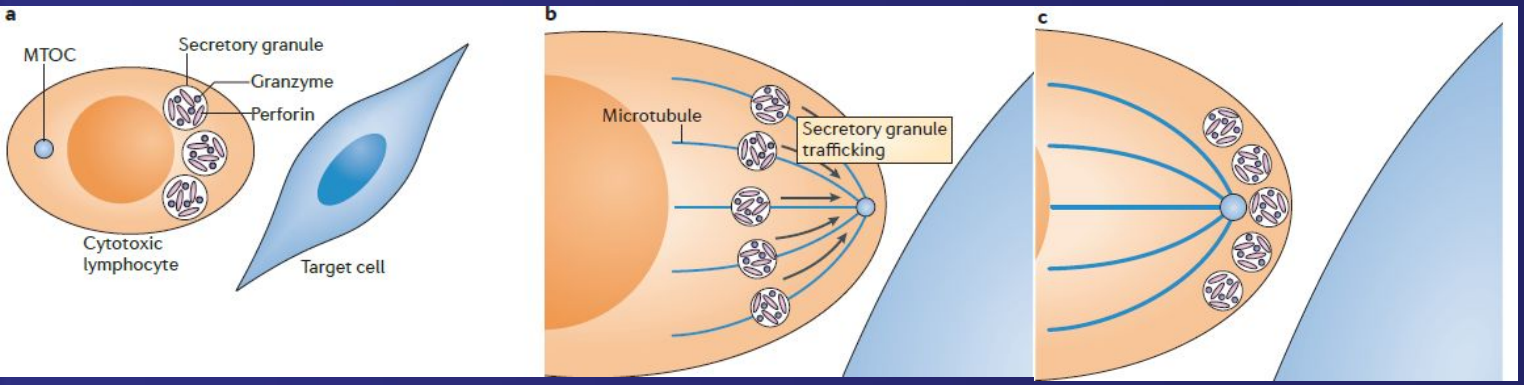
[Mitxitorena et al., Immunol Cell Biol., 2015]

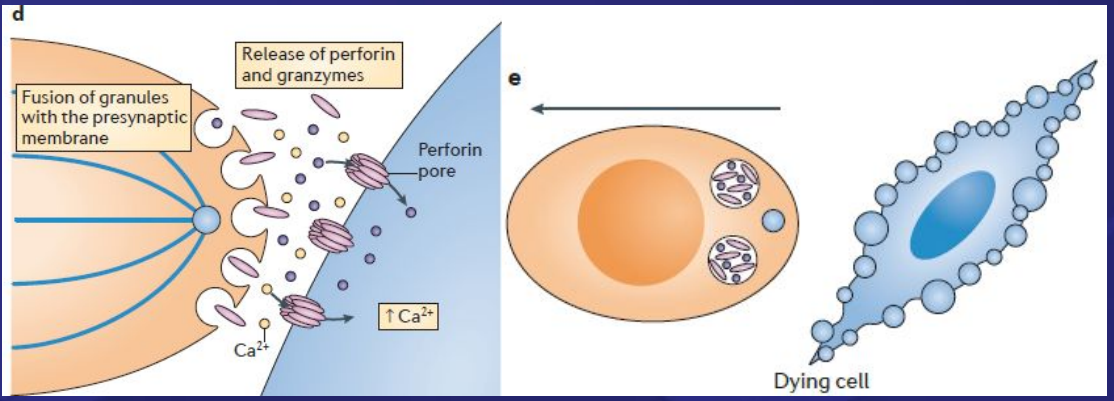
Цитотоксичность CD8 Т клеток

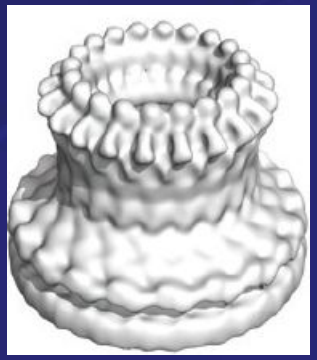
- **Перфорин-гранзим.**
- **Fas-зависимый апоптоз.**

  каспаза-опосредованный апоптоз в клетке-мишени через Fas при связывании с FasL на CD8 Т клетке
- **Цитокин-зависимый механизм**

Цитотоксичность CD8 T клеток: перфорин/гранзим







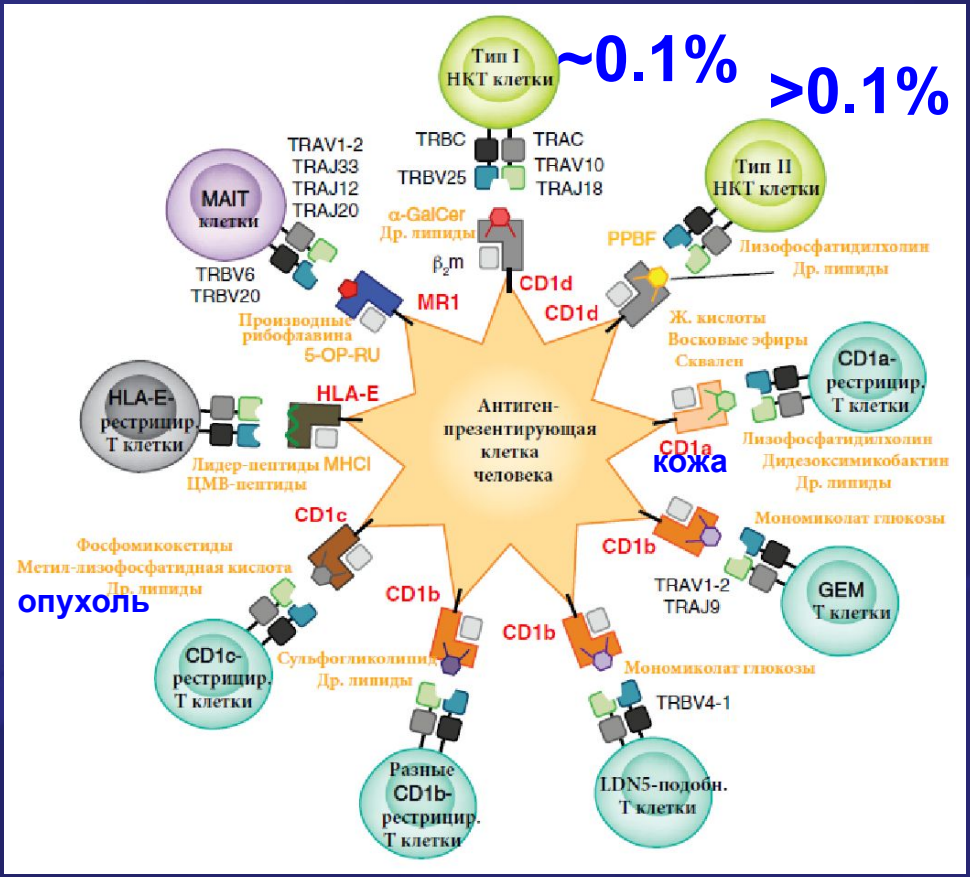
[Voskoboinik et al., Nat Rev Immunol., 2015]

TCRαβ$^+$ Т лимфоциты человека

- Случайное перегруппировки генов TCRα и TCRβ
- Случайное образование пар TCRα и TCRβ
- Теоретически: 1 × 10^{20} TCRα/β
- Фактически у человека: ~ 5 × 10^6 TCRα/β
- Частота предшественников TCRα/β$^+$ Т клеток: 1 ÷ 10 / 1 × 10^6 Т клеток

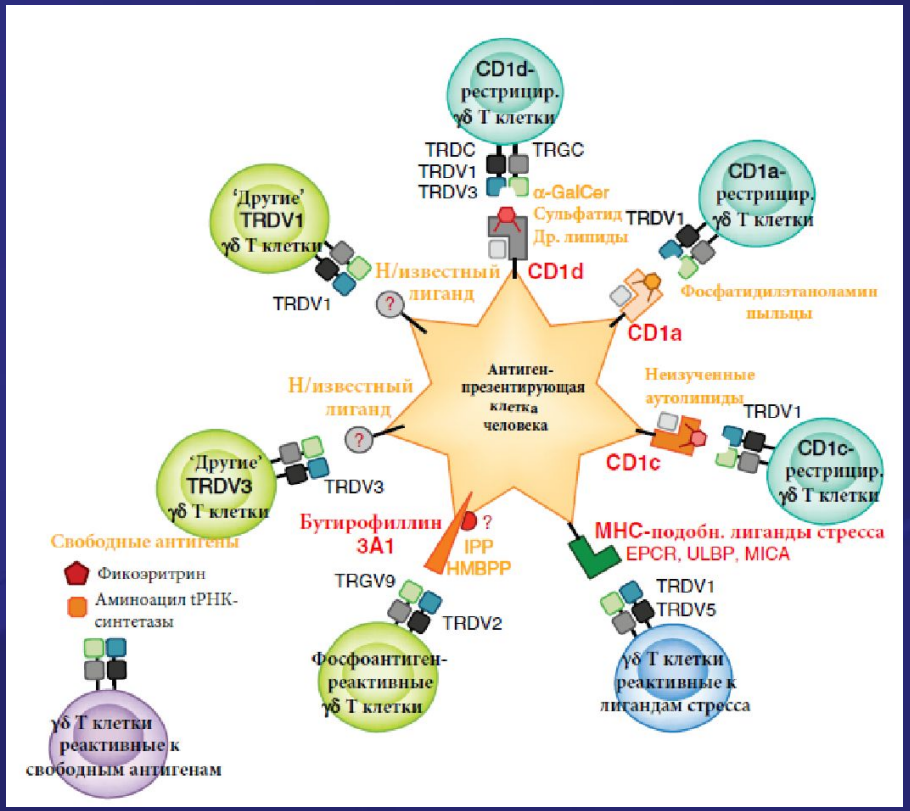
[Godfrey et al., Nat Immunol. 2015]

TCRαβ$^+$ Т лимфоциты человека



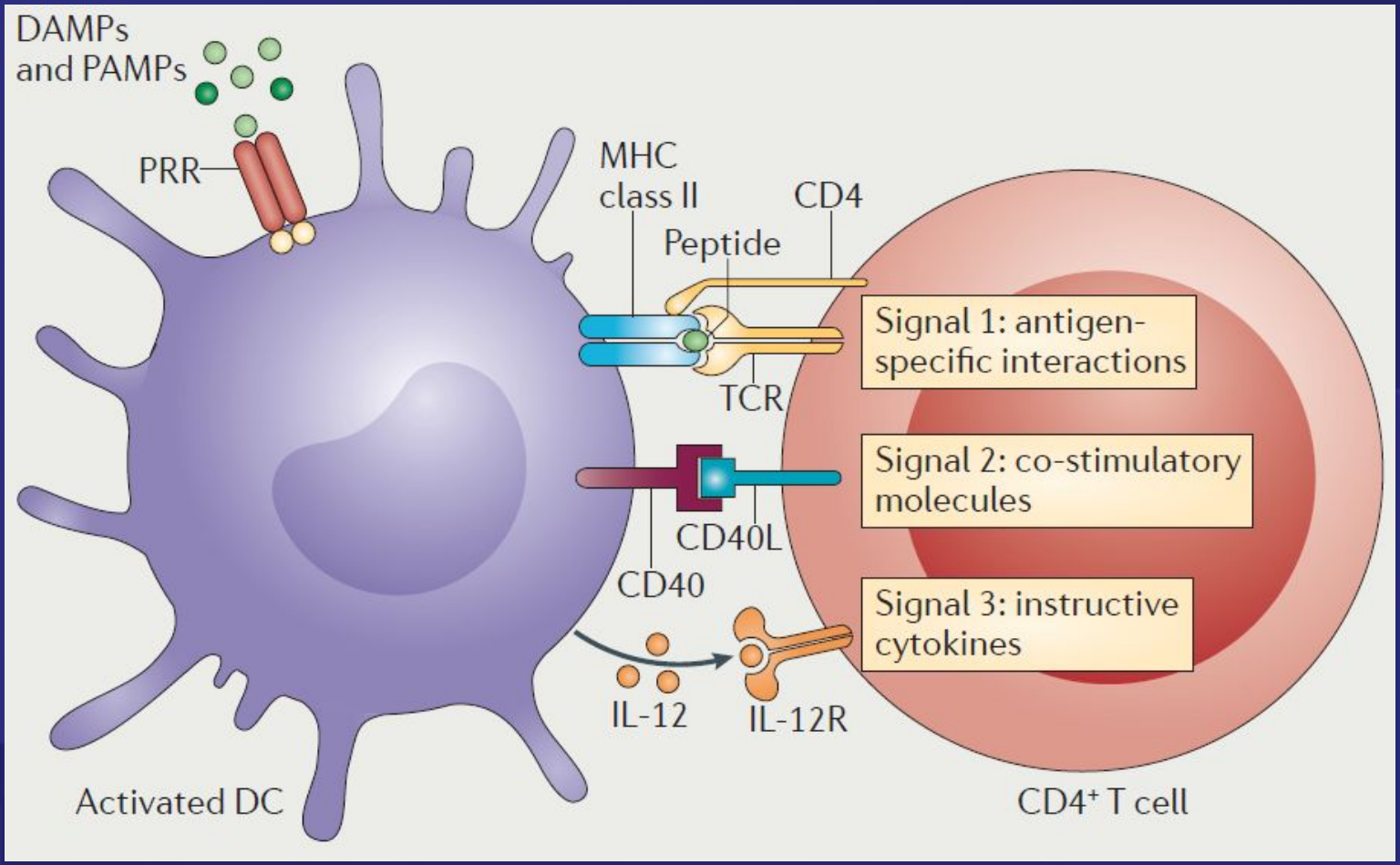
[Godfrey et al., Nat Immunol. 2015]

TCRγδ$^+$ Т лимфоциты человека

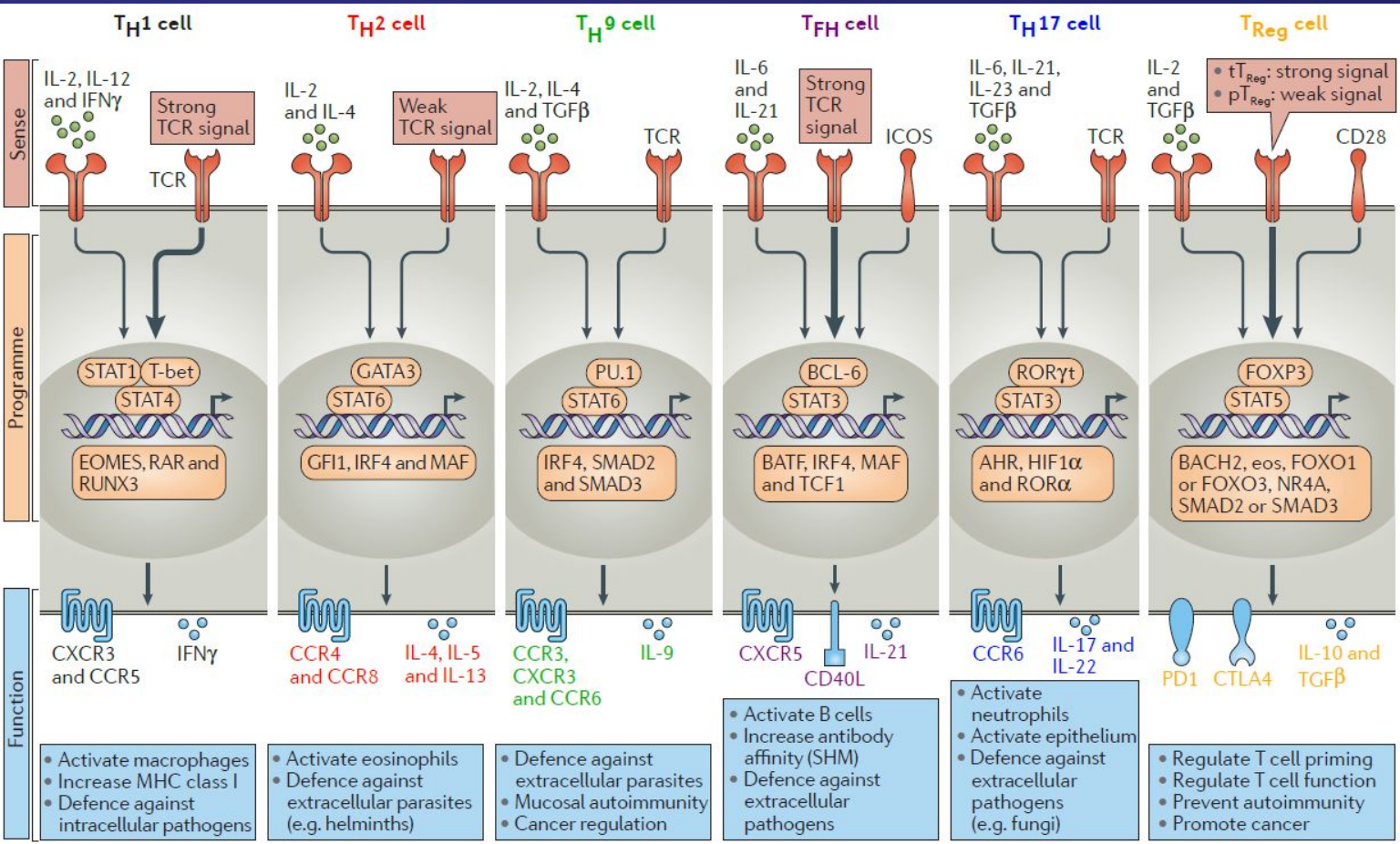


[Godfrey et al., Nat Immunol. 2015]

Первичный иммунный ответ



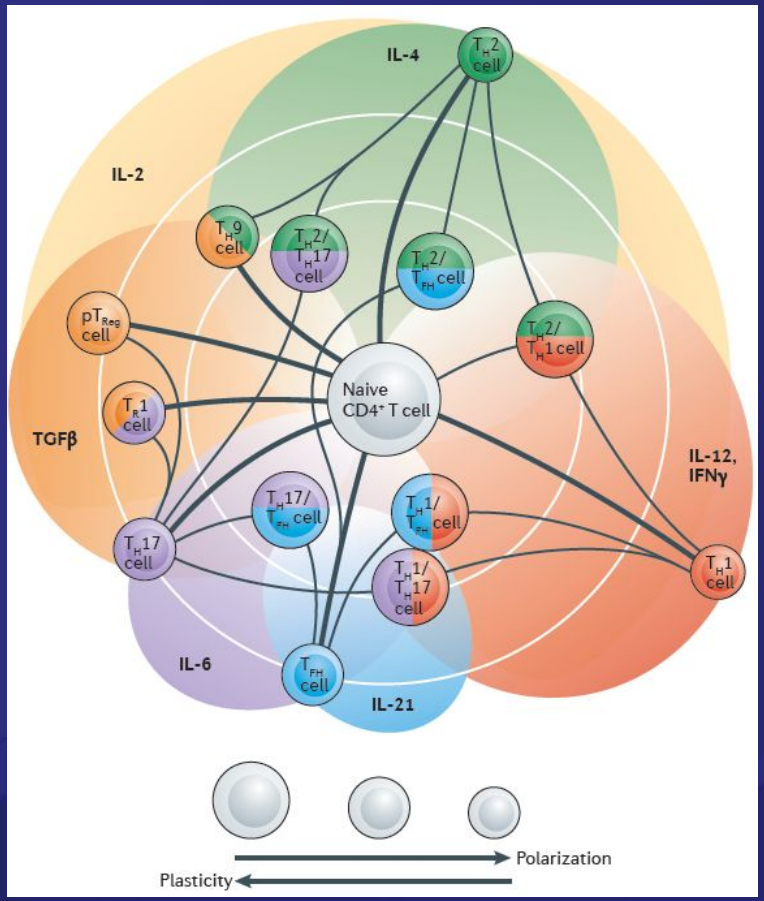
Пластичность CD4 T клеток



[DuPage, Bluestone , Nat Rev Immunol., 2016]`

Пластичность CD4 T клеток

[DuPage, Bluestone , Nat Rev Immunol., 2016]



Ключевые цитокины поляризуют наивные CD4+ Т клетки на разные функции. Такая карусель перемещений помогает установить взаимосвязи отличных функциональных программ по способности индуктивных цитокинов способствовать поляризации.

Пластичность CD4 Т клеток

Контролируемый доступ к ДНК-связывающим сайтам для факторов транскрипции

[DuPage, Bluestone , Nat Rev Immunol., 2016]

Пластичность CD4 Т клеток: болезни

Диабет 1 типа, рассеянный склероз, юв.артрит

снижена стабильность экспрессии FOXP3 в TReg и/или повышена частота IFNγ-продуцирующих FOXP3+ TReg клеток

Ревматоидный артрит

IL-17+FOXP3+ TReg клетки

[DuPage, Bluestone , Nat Rev Immunol., 2016]

Пластичность CD4 T клеток: болезни

Пищевая аллергия

IL-4+TReg клетки и чертами TH2 клеток

Атопическая астма

IL-17+ TH2 клетки

Колоректальный рак

IL-17+RORγt+FOXP3+ TReg клетки

[DuPage, Bluestone , Nat Rev Immunol., 2016]

Пластичность CD4 Т клеток: болезни

…необходима потому, что уникальные условия микроокружения, сформированные при заболевании, могут провоцировать перепрограммирование Т клеток или перепрограммированные Т клетки могут способствовать патогенезу заболевания.

[DuPage, Bluestone , Nat Rev Immunol., 2016]

Пластичность CD4 T клеток: ПРЕИМУЩЕТВА

IgA тонкого кишечника:

FOXP3+ TReg клетки или TH17 становятся TFH и предоставляют помощь B клеткам

Чрезмерный TH1 ответ

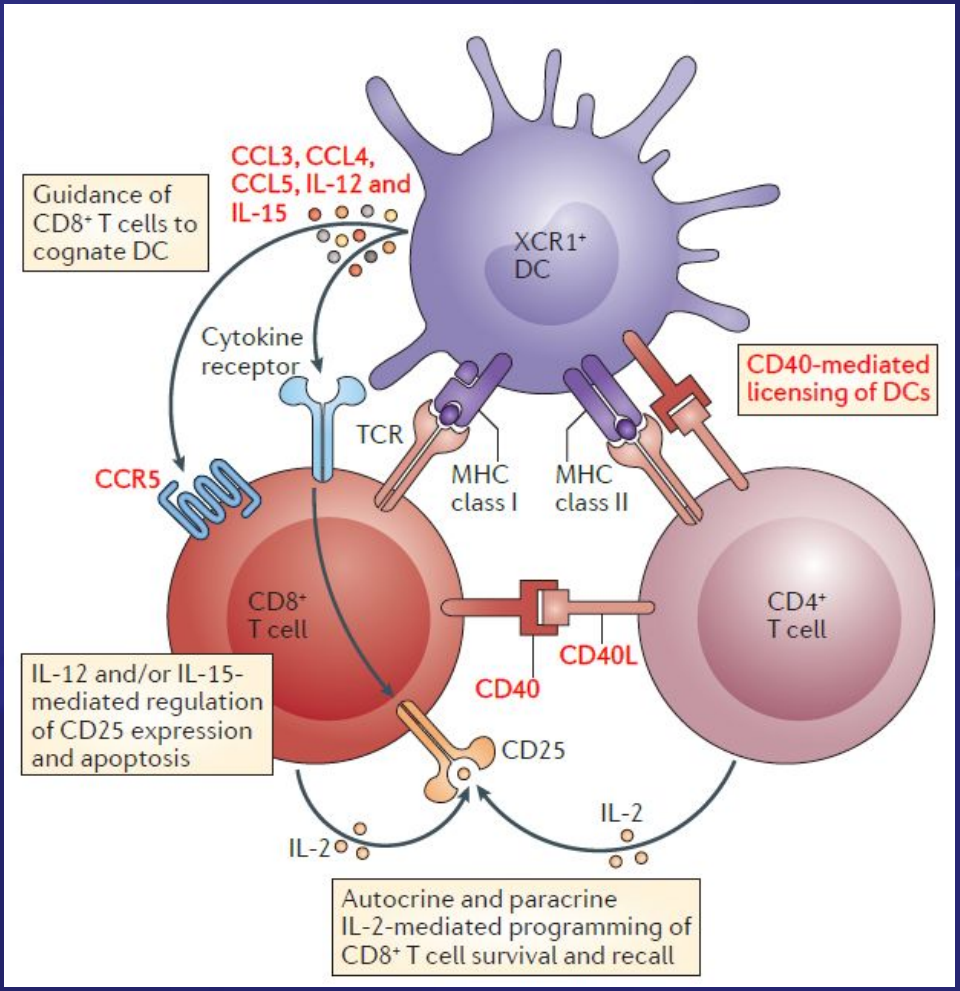
- ‘TH2/TH1’ клетки ко-экспрессируют IL-4, IFNγ, GATA3, T-bet
- IL-10+ TH1 клетки
- уменьшение случайных повреждений

Чрезмерный TH17 ответ

- конвертация в IL-10-продуцирующие TR1 клетки
- перераспределение в тонкий кишечник

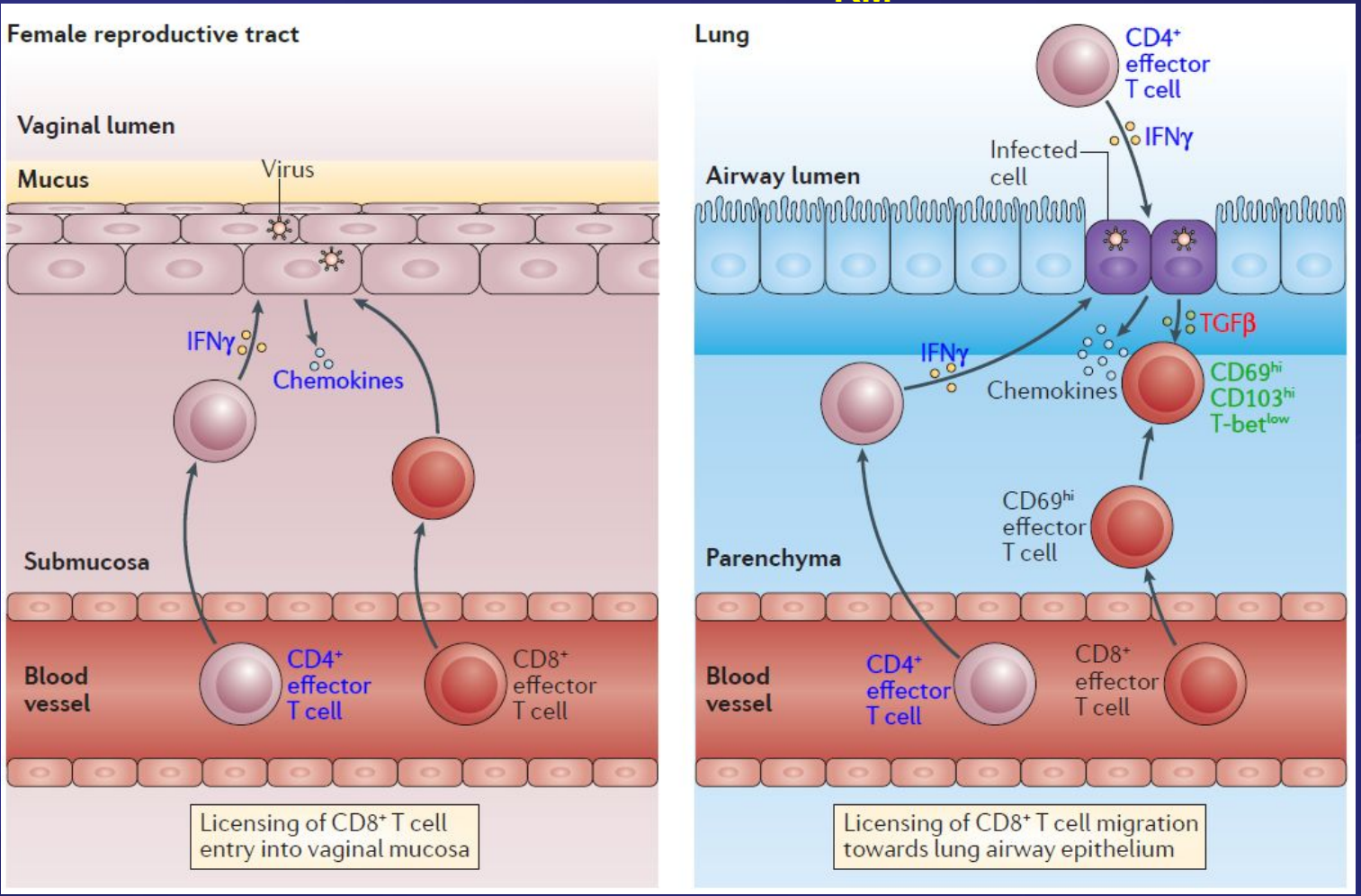
[DuPage, Bluestone , Nat Rev Immunol., 2016]

Помощь CD4 T клеток для CD8 T клеток: первичный ответ



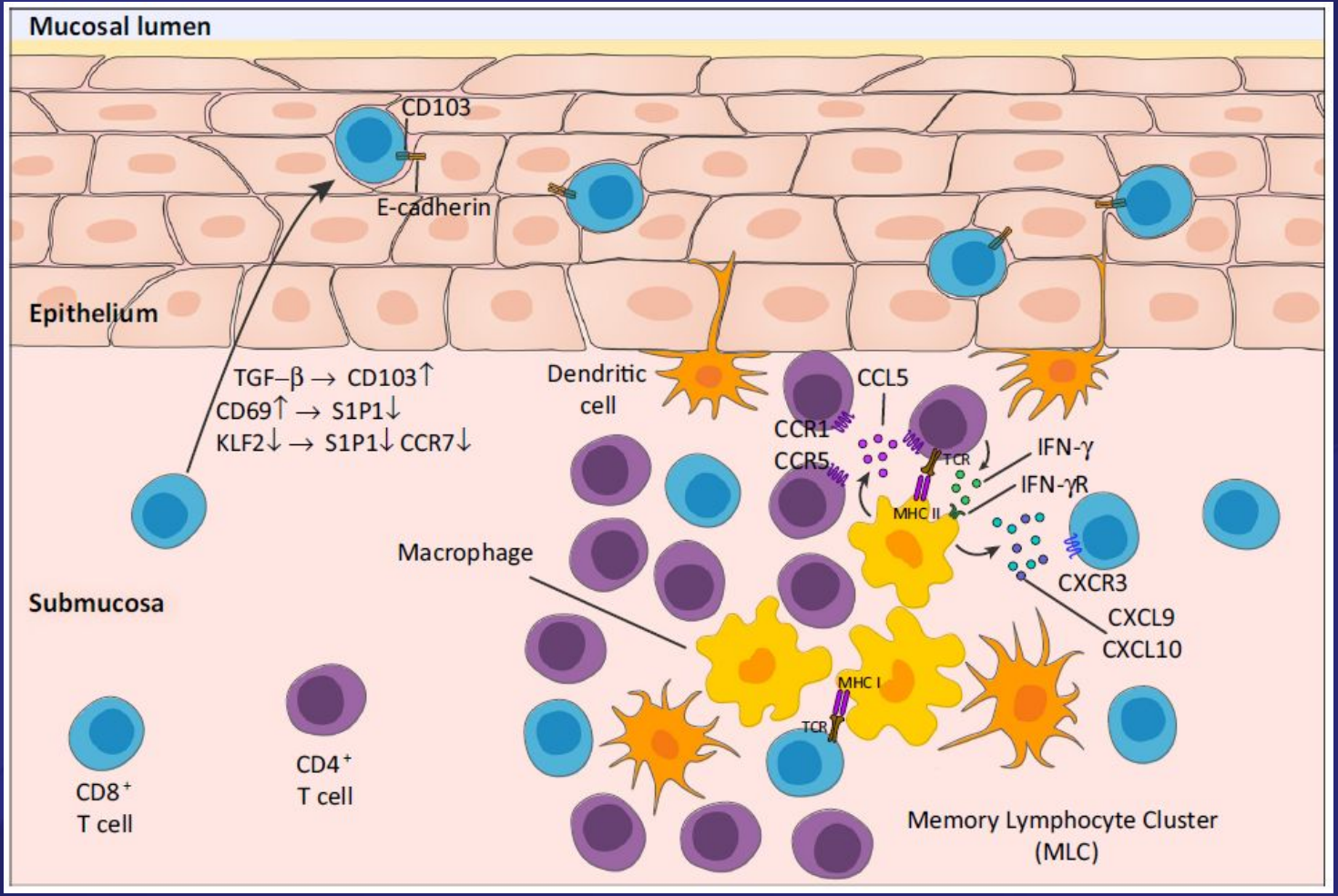
[Laidlaw et al., Nat Rev Immunol., 2016]

Помощь CD4 T клеток CD8 T_{RM} клеткам



[Laidlaw et al., Nat Rev Immunol., 2016]

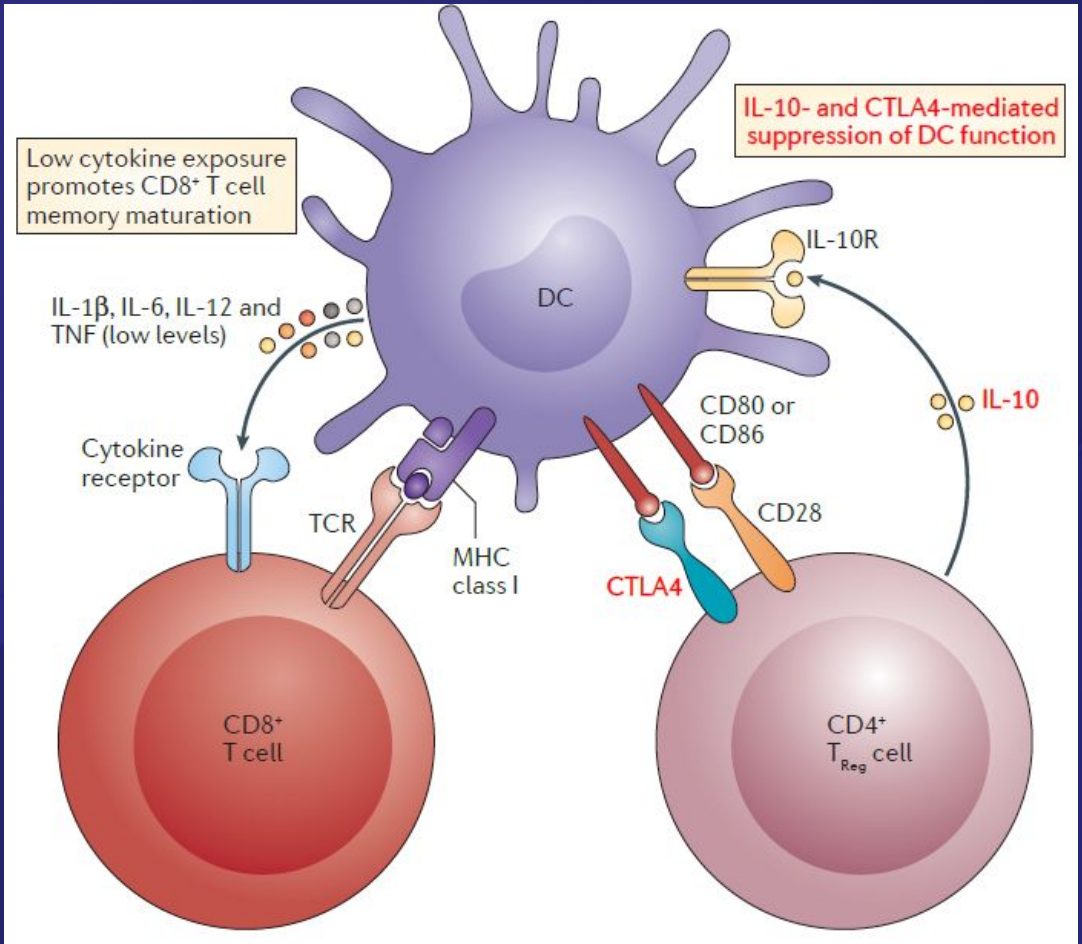
Кластеры клеток памяти: CD4 T_{RM} и CD8 T_{RM} клетки



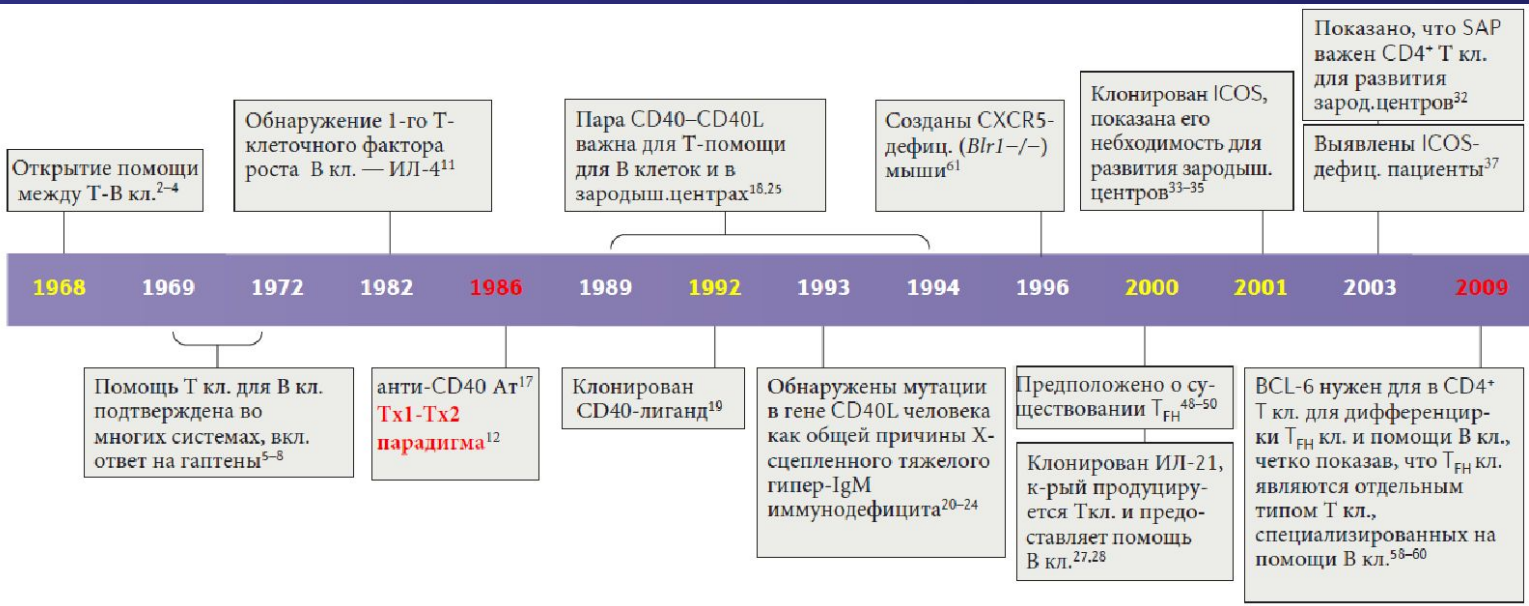
[Iijima & Iwasaki, Trends Immunol., 2015]

Помощь CD4 T клеток для CD8 T клеток: IL-10 Treg

[Laidlaw et al., Nat Rev Immunol., 2016]



Помощь Т-лимфоцитов В клеткам

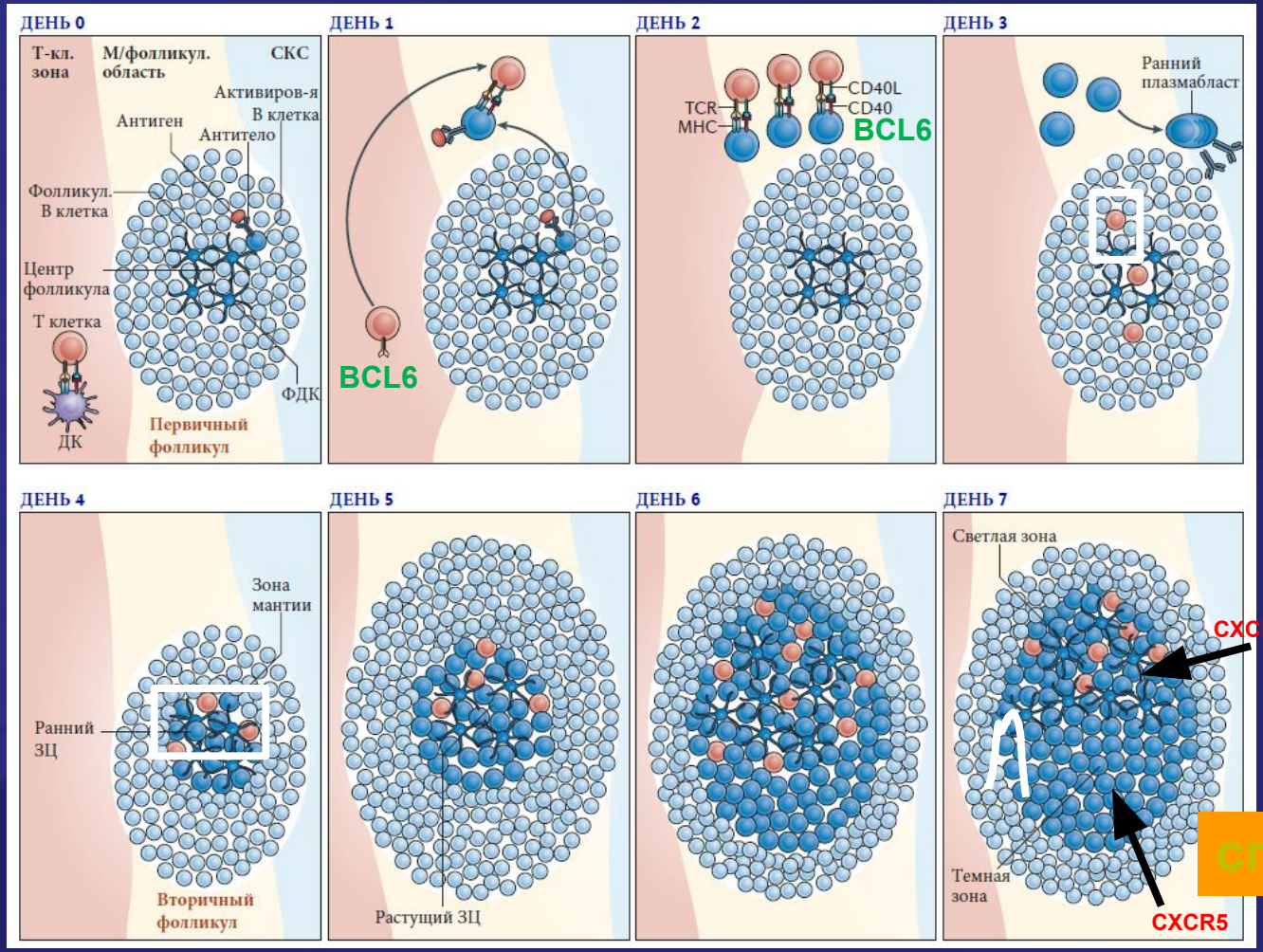


[Crotty, Nat Rev Immunol. 2015]

Помощь Т-лимфоцитов В клеткам

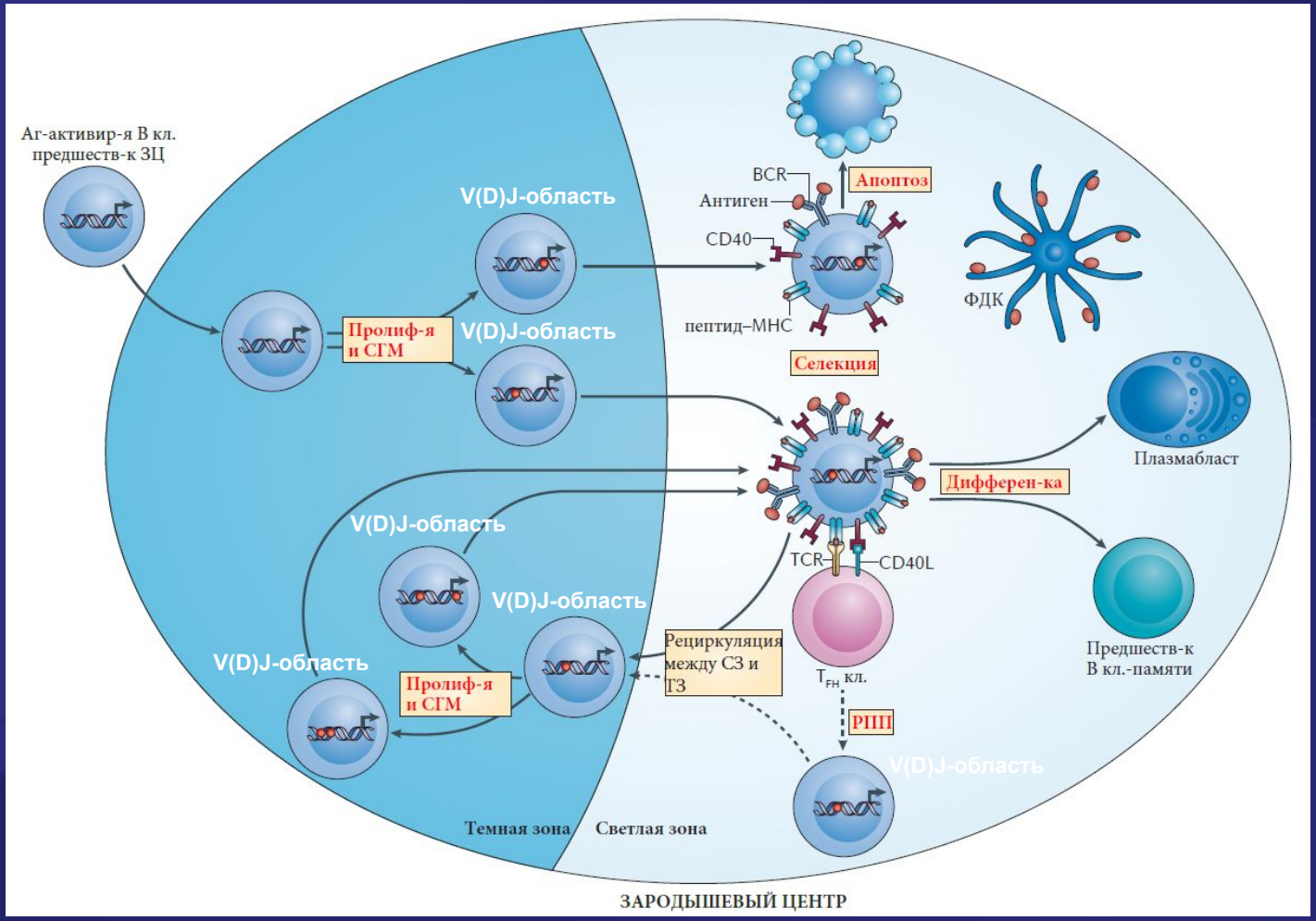
[Crotty, Nat Rev Immunol. 2015]

Дифференцировка В – клеток на периферии



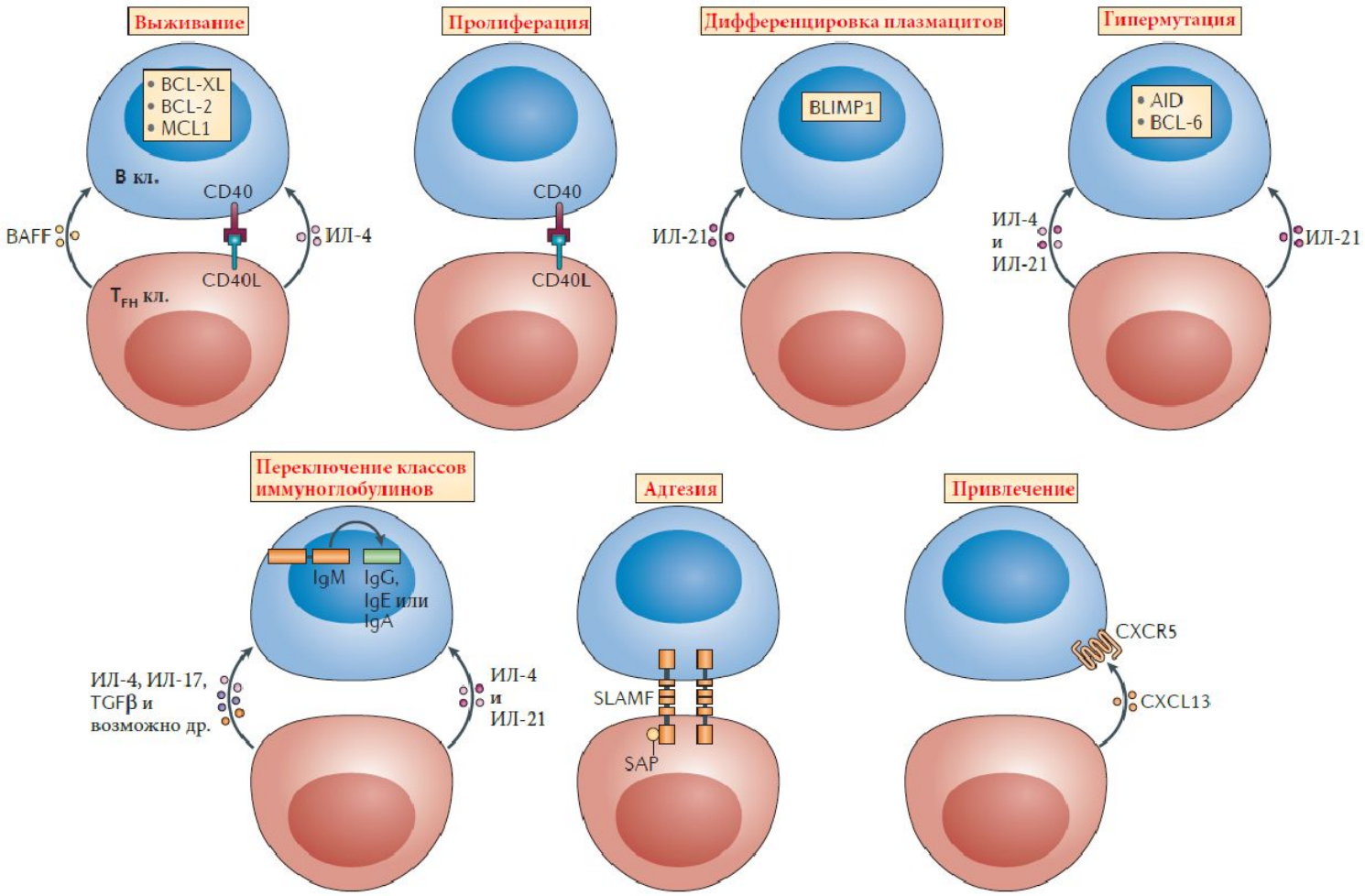
[De Silva and Klein, Nat Rev Immunol. 2015]

Дифференцировка В – клеток на периферии



[De Silva and Klein, Nat Rev Immunol. 2015]

Помощь Т-лимфоцитов В клеткам



[Crotty, Nat Rev Immunol. 2015]