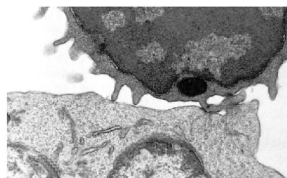


فصل یازدهم

بلوغ، فعال شدن و تمایز سلول B

- بلوغ سلول B
- فعال شدن شدن و تکثیر سلول B
- پاسخ هومورال
- مکان‌های *in vivo* برای تحریک پاسخ‌های هومورال
- مراکز زایا و تمایز سلول B وابسته به آنتی ژن
- تنظیم پاسخ‌های ایمنی اجرایی



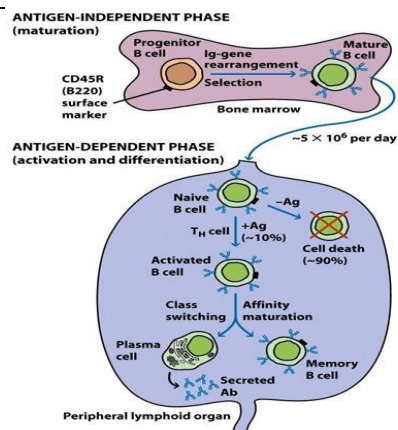
فرآیندهای تکوین که منجر به تولید پلاسماسل‌ها و سلول‌های B خاطره‌ای می‌شود را می‌توان به سه مرحله تقسیم نمود: بلوغ، فعال شدن سلول‌های B و تمایز سلول‌های B فعال به پلاسماسل‌ها و سلول‌های خاطره‌ای در بسیاری از مهره‌داران، مغز استخوان جایگاه ساخت سلول‌های B می‌باشد. این روند، توالی منظمی از بازآرایی ژن‌های ایمونوگلوبولین می‌باشد که در غیاب آنتی‌ژن انجام گرفته و فاز مستقل از آنتی‌ژن تکوین سلول B می‌باشد.

سلول B نابالغ حاوی IgM غشایی، مغز استخوان را ترک کرده و با عرضه IgD و IgM غشایی با ویژگی یکسان، بالغ می‌شود. این سلول‌های B دست نخورده^۱ در خون و لنف گردش کرده و به اعضای لنفاوی ثانویه حمل می‌شوند. اگر سلول B با واسطه واکنش با آنتی‌ژن و شناخت آن از طریق آنتی‌بادی غشایی فعال شود، سلول تکثیر و تمایز می‌یابد تا جمعیتی از پلاسماسل‌های ترشح کننده آنتی‌بادی و سلول‌های B خاطره‌ای را به وجود آورد. در نتیجه فعال شدن، برخی سلول‌های B تحت بلوغ میل پیوندی^۲ و بسیاری نیز تحت تعویض ایزوتایپ^۳ قرار می‌گیرند. از آنجایی که فعال‌سازی و تمایز سلول B در بافت‌های محیطی نیازمند آنتی‌ژن می‌باشد، این مرحله، فاز وابسته به آنتی‌ژن تکوین سلول B نامیده می‌شود (شکل ۱-۱۱).

1- naive

2- affinity maturation

3- class switching



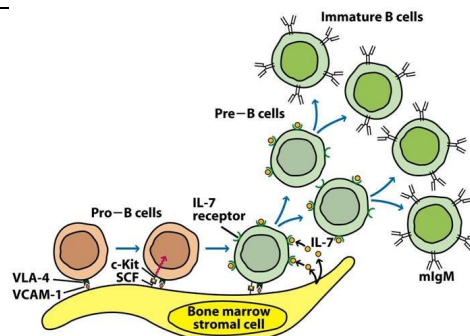
شکل مروری ۱-۱: تکوین سلول

- بلوغ سلول B

تولید سلول‌های B بالغ، در ابتدا در طی مرحله جنینی رخ داده و در طول زندگی ادامه می‌یابد. قبل از تولد، کیسه زرده، کبد جنینی و مغز استخوان جنینی جایگاه‌های اصلی بلوغ سلول B می‌باشند. پس از تولد، تولید سلول‌های B بالغ در مغز استخوان انجام می‌شود.

- سلول‌های پیش‌ساز B در مغز استخوان تکثیر می‌شوند

تکوین سلول B، از تمایز سلول‌های پیش‌ساز لنفوئیدی به سلول با مشخصه دودمان سلول B ابتدایی (pro-B cell) آغاز می‌شود. سلول pro-B حاوی یک تیروزین فسفاتاز غشایی به نام CD45R می‌باشد. تکثیر و تمایز سلول‌های pro-B به سلول‌های Pre-B نیازمند ریز محیط‌های حاوی سلول‌های استرومایی مغز استخوان می‌باشد. سلول‌های استرومایی دو نقش مهم دارند: میانکنش مستقیم با سلول‌های pro-B و pre-B و دیگری ترشح سایتوکاین‌های مختلف که فرآیندهای تکوین را حمایت می‌کنند. میانکنش سلول‌های pro-B توسط چندین CAM مانند VLA-4 به سلول‌های استرومایی (VCAM-1) صورت می‌گیرد (شکل ۱-۲).

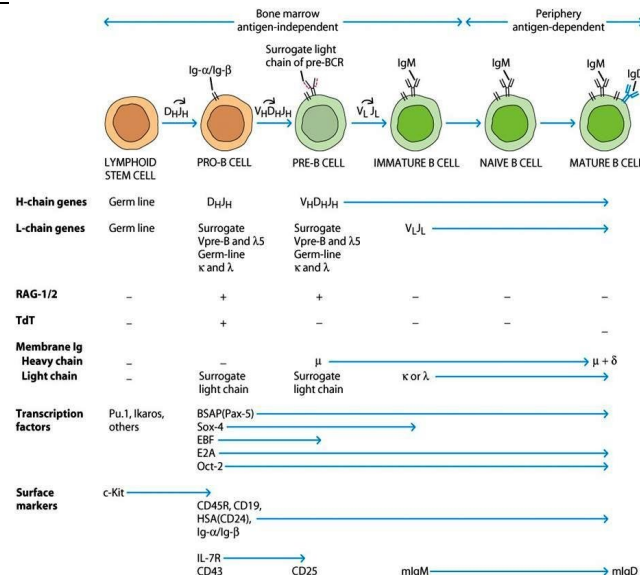


شکل ۱۱-۲: سلول‌های استرومایی مغز استخوان جهت بلوغ سلول‌های اجدادی B و تبدیل آنها به پیش ساز B لازم می‌باشند.

پس از تماس ابتدایی، پذیرنده‌ای تحت عنوان c-kit روی سلول‌های pro-B با مولکول سطحی سلول‌های استرومایی با نام فاکتور سلول بنیادی (SCF) واکنش می‌دهد. این تماس موجب فعال شدن تیروزین کیناز c-kit شده و سلول pro-B شروع به تکثیر و تمایز کرده و به pro-B تبدیل می‌گردد. IL-7 ترشح شده توسط سلول‌های استرومایی به پذیرنده IL-7 سطح سلول pre-B متصل شده و فرآیندهای بلوغ را به پیش می‌برد.

– بازآرایی ژن ایمونوگلوبولین و تولید سلول‌های B بالغ

بلوغ سلول B وابسته به بازآرایی DNA ایمونوگلوبولین در سلول‌های بنیادی لنفوئیدی می‌باشد. ابتدا در مرحله pro-B، بازآرایی ژن در زنجیره سنگین D_H به J_H و پس از آن بازآرایی V_H به D_HJ_H انجام می‌گیرد (شکل ۱۱-۳).



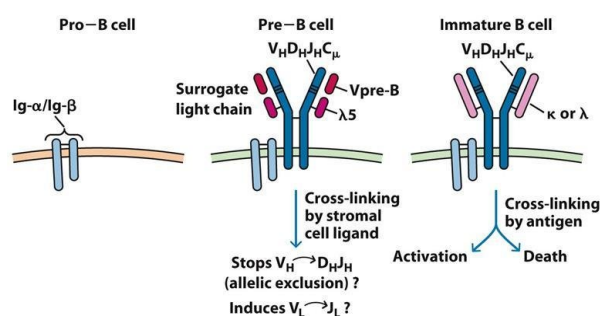
شکل ۱۱-۳: سلسله وقایع و خصوصیات مراحل بلوغ سلول B در مغز استخوان.

پس از تکمیل بازآرایی زنجیره سنگین، ادامه تکوین سلولی pre-B به سلول B بالغ نیازمند بازآرایی کارآمد ژن زنجیره سبک می‌باشد. بدلیل حذف آلی، تنها یک ایزوتیپ زنجیره سبک روی غشای سلول B عرضه می‌شود. با تکمیل بازآرایی زنجیره سبک، سلول B نابالغ متعهد به عرضه شاخص آنتی‌ژن ویژه‌ای می‌باشد که توسط توالی‌های VDJ زنجیره سنگین و VJ زنجیره سبک ایجاد می‌شود. سلول B نابالغ با عرضه mIgM (غشایی) همراه با Ig- α و Ig- β در سطح خود، پذیرنده کامل سلول B (BCR) را تشکیل می‌دهد که پس از اتصال به آنتی‌ژن قادر به انتقال پیام می‌باشد.

- پذیرنده سلول pre-B برای تکوین سلول B ضروری می‌باشد

زنجیره β پذیرنده سلول T همراه با pre-T α ، پذیرنده سلول pre-T را تشکیل می‌دهند (شکل ۱۰-۲). این امر در طی تکوین سلول B نیز رخ می‌دهد. در سلول pre-B، زنجیره μ

غشایی با زنجیره سبک جایگزین مجتمع می‌شود. زنجیره سبک جایگزین، مجموعه‌ای حاوی دو پروتئین می‌باشد: یک توالی شبه V به نام Vpre-B و یک توالی شبه C با نام $\gamma 5$ ، که به طور غیر کووالان به یکدیگر متصل شده و ساختار شبه زنجیره سبک را تشکیل می‌دهند. مجموعه زنجیره سنگین μ در **زنجیره سبک جایگزین**^۱ همراه با هتروداایمرهای Ig- α و Ig- β در سطح سلول pre-B به عنوان پذیرنده سلول pre-B حضور می‌یابند (شکل ۴-۱۱). تنها سلول‌های pre-B که قادر به عرضه زنجیره سنگین μ غشایی همراه با زنجیره سبک جایگزین باشند، می‌توانند مسیر بلوغ را ادامه دهند.



شکل ۴-۱۱: دیاگرام شماتیکی از عرضه پی در پی ایمونوگلوبولین غشایی وزنجیره سبک جایگزین در مراحل مختلف تمایز سلول B در مغز استخوان.

برخی محققان معتقدند که پذیرنده سلول pre-B، پیام ضروری جهت پیشرفت تکوین سلول B را انتقال داده و مانع از بازآرایی V_H به $D_H J_H$ آلل دیگر زنجیره سنگین می‌شود. در پی استقرار پذیرنده کارآمد سلول pre-B، هر سلول طی چندین تقسیم (شاید ۶ تا ۸) تعداد ۲۵۶ سلول جدید را تولید می‌کند. سپس هر کدام از این سلول‌ها Pre-B می‌توانند قطعات مختلف زنجیره سبک را بازآرایی کنند و بدین طریق تنوع گنجینه آنتی‌بادی را افزایش دهند.

- آزمایشات تخریب ژن و شناسایی عوامل نسخه برداری ضروری

اخیراً دوازده عامل نسخه برداری شناسایی شده اند که در تکوین سلول B نقش دارند. آزمایشاتی که در آن، ژن عوامل نسخه برداری تخریب شود، نشان می دهد که چهار فاکتور E2A، EBF (فاکتور اولیه سلول B^۱)، BSAP^۲ و Sox-4 در تکوین سلول B ضروری می باشند. (شکل ۱۱-۳).

تمام این عوامل روی مراحل اولیه تکوین تاثیر می گذارند؛ برخی از آنها نیز در مراحل پایانی فعال می شوند. موش هایی که سلول های B فاقد E2A دارند، RAG-1 را بیان نکرده و قادر به بازآرایی D_HJ_H نمی باشند و همچنین فاقد 5λ می باشند. یک الگوی مشابه نیز در موش های با نقص FBF مشاهده شده است. تخریب ژن Pax-5 (فاکتور نسخه برداری BSAP را تولید می کند) منجر به سرکوب تکوین سلول B در مراحل ابتدایی می گردد. هر چند که جایگاه عمل فاکتور نسخه برداری Sox-4 هنوز شناخته نشده است ولی برای مراحل ابتدایی فعال شدن سلول B ضروری است.

- شاخص های سطحی سلول، مراحل مختلف تکوین را مشخص می کنند

مراحل پیشرفت تکوین از پیش ساز تا سلول B بالغ، با تغییر الگوی شاخص های سطحی مشخص می شود (شکل ۱۱-۳). در مرحله pro-B، سلول ها زنجیره های سبک و سنگین مولکول آنتی بادی و همچنین مولکول های Ig-α/ Ig-β را نشان نمی دهند؛ اما CD45R را بیان می کنند که یک پروتئین تیروزین فسفاتاز سطح لکوسیت ها می باشد. در سطح سلول های pro-B، CD43، CD19 (لکوسالین) و CD24 (آنتی ژن مقاوم به حرارت یا HAS) عرضه می شوند. در این مرحله، c-kit نیز روی سطح سلول های pro-B یافت می شود. با پیشرفت

^۱ - early B-cell factor

^۲ - B-cell specific activator protein

سلول‌های pro-B به سمت pre-B. سلول همان شاخص‌های مرحله pro-B را بیان می‌کند به جز این که بیان c-kit، CD43 متوقف شده و در عوض بیان زنجیره α پذیرنده IL-2 (CD25) آغاز می‌گردد. آشکار شدن پذیرنده pre-BCR روی سطح سلول از مشخصات مرحله pre-B می‌باشد. پس از بازآرایی زنجیره سبک، ایمونوگلوبولین‌های سطحی حاوی هر دو زنجیره سبک و سنگین ظاهر شده و سلول‌ها به عنوان سلول‌های B نا بالغ شناخته می‌شوند که pre-BCR را از دست داده و CD25 را بیان نمی‌کنند.

– سلول‌های B-1، زیرگروه خود تجدید شونده سلول‌های B می‌باشند

یک زیر مجموعه از سلول‌های B با نام B-1 پیش از گروه اصلی سلول‌های B به وجود می‌آیند. در انسان و موش سلول‌های B-1 تنها در حدود ۵٪ کل جمعیت سلول‌های B را تشکیل می‌دهند، اما در برخی گونه‌ها مانند خرگوش و حیوانات اهلی، سلول‌هایی با مشخصات B-1 جمعیت اصلی سلول‌های B می‌باشند. سلول‌های B-1 از سلول‌های بنیادی و در طی دوران جنینی به وجود می‌آیند. این سلول‌ها، ایمونوگلوبولین‌های غشایی را عرضه می‌کنند ولی اکثر آنها به جای IgG دارای IgM غشایی بوده و فاقد IgD غشایی می‌باشند. برخلاف سلول‌های B (سلول‌های B2)، جمعیت سلول‌های B-1 دست نخورده، خود تجدید شونده بوده و می‌توانند سلول‌های B-1 دست نخورده تولید کنند. سلول‌های B-1 با شاخص CD5 که در سلول‌های T نیز وجود دارد، شناخته می‌شوند ولی یک ترکیب ضروری برای رده B-1 نمی‌باشد. جمعیت اصلی سلول‌های B در حفره‌های صفاق و جنب انسان و موش را سلول‌های B-1 تشکیل می‌دهند.

علاوه بر خود تجدید شوندگی و عرضه CD5، گنجینه نواحی V سلول‌های B-1 بسیار محدودتر از جمعیت B-2 می‌باشد؛ همچنین آنتی‌بادی‌های تولیدی توسط سلول‌های B-1 معمولاً میل پیوندی کمتری نسبت به آنتی‌بادی‌های تولیدی B-1 دارند. این سلول‌ها به احتمال زیاد در پاسخ به آنتی‌ژن‌های کربوهیدراتی فعال می‌شوند، به کمک سلول T نیاز

نداشته و تمایل اندکی به تمایز به سلول‌های خاطره‌ای از خود نشان می‌دهند. تعویض رده در این سلول‌ها شایع نیست و اغلب آنها حاوی IgM می‌باشند. این جمعیت‌ها همچنین دارای مقادیر اندک و یا فاقد هایپر موتاسیون سوماتیک در ژن‌های ایمونوگلوبولین خود می‌باشند و در نتیجه بلوغ میل پیوندی در آنها دیده نمی‌شود. خصوصیات سلول‌های B-1 و B-2 در شکل ۱۱-۵ خلاصه شده است.



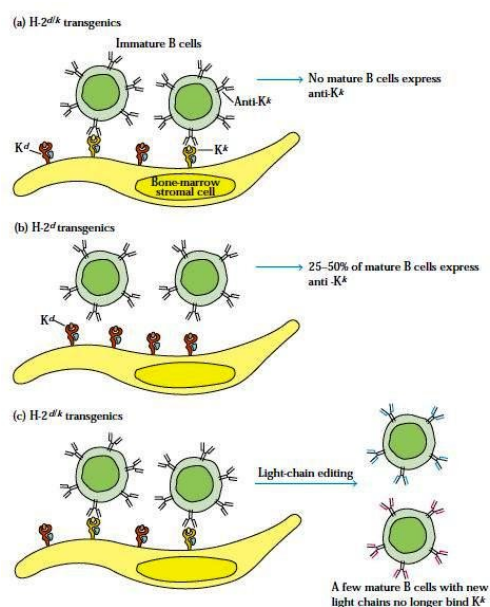
Attribute	Conventional B cells (B-2 B cells)	B-1 B cells
Major sites	Secondary lymphoid organs	Peritoneal and pleural cavities
Source of new B cells	From precursors in bone marrow	Self-renewing (division of existing B-1 cells)
V-region diversity	Highly diverse	Restricted diversity
Somatic hypermutation	Yes	No
Requirements for T-cell help	Yes	No
Isotypes produced	High levels of IgG	High levels of IgM
Response to carbohydrate antigens	Possibly	Definitely
Response to protein antigens	Definitely	Possibly
Memory	Yes	Very little or none
Surface IgD on mature B cells	Present on naive B cells	Little or none

شکل ۱۱-۵: مقایسه سلول‌های B طبیعی و سلول‌های B-1. سلول‌های B طبیعی (معمول) جمعیت عمده این سلول‌ها را تشکیل داده و گاهی سلول‌های B-2 خوانده می‌شوند، زیرا که پس از سلول‌های B-1 تکوین می‌یابند.

– سلول‌های B خود واکنشگر در مغز استخوان گزینش می‌شوند

مغز استخوان موش در یک روز حدود 5×10^7 سلول B تولید می‌کند، اما تنها 5×10^6 عدد از آنها وارد ذخیره در گردش سلول B می‌شوند. این امر بدین معنی است که ۹۰٪ سلول‌های B تولیدی، بدون ترک مغز استخوان می‌میرند. بخشی از این کاهش مربوط به گزینش منفی می‌باشد که طی آن سلول‌های B نابالغی که آنتی‌بادی ضد آنتی‌ژن خودی دارند، حذف می‌شوند.

اتصال متقاطع mIgM سلول های B نابالغ، منجر به مرگ آپوپتوزی سلول ها می شود. محققان نشان داده اند که تزریق یک ژن انتقالی کد کننده زنجیره سبک و سنگین IgM ویژه k^k (یک مولکول MHC-I از $H-2^k$) به موش های $H-2^d$ و $H-2^{d/k}$ (شکل ۶-۱۱) منجر به میان آنتی بادی ترانس ژینک ضد K^k توسط تمامی موش های $H-2^d$ که فاقد K^k هستند، می شود. در صورتی که موش های $H-2^{d/k}$ که K^k را عرضه می کنند، آنتی بادی ترانس ژینک ضد $H-2^k$ را تولید نمی کنند (جدول ۱-۱۱).



شکل ۶-۱۱: شواهد آزمایشگاهی از گزینش منفی (حذف کلونی) سلول های B خودواکنشگر در طی بلوغ در مغز استخوان. (a) حضور یا عدم حضور سلول های B بالغ محیطی که یک IgM کد شده توسط ترانس ژن بر ضد مولکول K^k بیان می کردند، در موش های $H-2^{d/k}$ و (b) موش های $H-2^d$ تعیین شد. در موش های $H-2^{d/k}$ سلول های B نابالغ، آنتی ژن خودی K^k را شناسایی کرده و طی گزینش منفی حذف می شوند. در ترانس ژن های $H-2^b$ سلول های B نابالغ به آنتی ژن خودی متصل نشده و بالغ می شوند. (c) به نظر می رسد، شمار اندکی از سلول های B نابالغ، متحمل ویرایش مجدد زنجیره سبک که به مولکول K^k متصل نشده و طی گزینش منفی از بین نمی روند.

TABLE 11-1 Expression of transgene encoding IgM antibody to H-2^d class I MHC molecules

Experimental animal	Number of animals tested	EXPRESSION OF TRANSGENE	
		As membrane Ab	As secreted Ab ($\mu\text{g/ml}$)
Nontransgenics	13	(-)	<0.3
H-2 ^d transgenics	7	(+)	93.0
H-2 ^d transgenics	6	(-)	<0.3

SOURCE: Adapted from D. A. Nemazee and K. Burki, 1989, *Nature* 337:562.

این نتایج، حاکی از یک گزینش منفی علیه سلول‌های B نابالغ می‌باشد، زیرا واکنش آنتی‌بادی غشایی این سلول‌ها با آنتی‌ژن‌های سطح سلول‌های استروهای منجر به اتصال متقاطع آنتی‌بادی‌ها و در نتیجه مرگ سلول‌های B نابالغ می‌شود.

- فعال شدن و تکثیر سلول B

پس از خروج سلول‌های B از مغز استخوان، آنها در پاسخ به آنتی‌ژن بافت‌های محیطی، فعال شده و تکثیر و تمایز می‌یابند. فعال شدن با واسطه آنتی‌ژن و گزینش کلونی سلول‌های B دست نخورده، منجر به تولید پلاسماسل‌ها و سلول‌های B خاطره‌ای می‌شود. در غیاب آنتی‌ژن، سلول‌های B دست نخورده عمر کوتاهی داشته و طی چند هفته در اثر آپوپتوز می‌میرند (شکل ۱-۱۱).

- آنتی‌ژن‌های وابسته به تیموس و مستقل از تیموس، نیازهای متفاوتی برای پاسخ‌دهی دارند

با مشاهده موش‌های nude و اشخاص فاقد تیموس، مشخص شد که بسته به ماهیت آنتی‌ژن، دو روش جهت فعال‌سازی سلول B وجود دارد. محققان دریافتند اگر چه برای پاسخ به اغلب آنتی‌ژن‌ها، حضور تیموس ضروری می‌باشد، ولی در برابر اندکی از آنتی‌ژن‌ها حتی در غیاب تیموس نیز پاسخ ایجاد می‌شود. آنتی‌ژن‌هایی که پاسخ سلول B را در غیاب این تماس مستقیم فعال کنند، آنتی‌ژن‌های مستقل از تیموس (نوع I و II) نامیده می‌شوند و سلول‌های B را از طریق مکانیسم‌های دیگری فعال می‌کنند. برخی از اجزای دیواره سلولی

باکتری‌ها (LPS) به عنوان نوع I مستقل از تیموس (TI-I) عمل می‌کنند. آنتی‌ژن‌های نوع II مستقل از تیموس (TI-2) مولکول‌های تکراری مانند پروتئین‌های پلیمری (فلاژلین باکتری‌ها) یا واحدهای تکراری پلی‌ساکارید دیواره سلولی باکتری‌ها می‌باشند.

بیشتر آنتی‌ژن‌های TI-1 فعال کننده‌های پلی کلونال سلول B می‌باشند، بدین معنی که قادر به فعال‌سازی سلول‌های B بدون توجه به ویژگی آنتی‌ژنی می‌باشند. مکانیسم عمل آنتی‌ژن TI-1 لیوپلی ساکارید به خوبی شناخته شده است؛ این ماده، ترکیب اصلی دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی می‌باشد که بدون نیاز به سلول‌های T سبب تولید آنتی‌بادی می‌گردد. LPS با دو پذیرنده متفاوت سلول B واکنش می‌دهد: یکی از آنها TLR4 ایمنی ذاتی است و دیگری BCR می‌باشد. تنها شمار اندکی از اعضای جمعیت سلول B دارای BCR ویژه LPS می‌باشند، اما آنها TLR4 را دارند. با فعال‌سازی کلون‌های متفاوت سلول B توسط LPS، مجموعه‌ای از آنتی‌بادی‌های بسیار متنوع بر علیه LPS تولید شده که برخی از آنها ممکن است با باکتری گرم منفی مهاجم واکنش داده و آن را خنثی نمایند.

آنتی‌ژن‌های TI-2 با اتصال متقاطع پذیرنده‌های mIg سبب فعال شدن سلول‌های B می‌شوند. آنتی‌ژن‌های TI-2 از سه جنبه با آنتی‌ژن‌های TI-1 متفاوت می‌باشند. اول، TI-2 می‌تواند سلول B نبوده و در نتیجه، پلی کلونال نمی‌باشند؛ دوم، آنتی‌ژن‌های TI-1 هر دو سلول‌های B بالغ و نابالغ را فعال می‌کنند در صورتی که آنتی‌ژن‌های TI-2 تنها سلول‌های B بالغ را فعال می‌کنند و سلول‌های نابالغ را غیر فعال می‌سازند؛ سوم، پاسخ سلول B به آنتی‌ژن‌های TI-2 نیازمند تماس مستقیم سلول‌های T_H نمی‌باشد ولی سایتوکاین‌های مشتق از سلول‌های T_H برای تکثیر کارآمد سلول B و همچنین برای تعویض کلاس به ایزوتایپ‌های غیر از IgM ضروری می‌باشد.

پاسخ هومورال به آنتی‌ژن‌های TI با پاسخ آنتی‌ژن‌های TD متفاوت می‌باشد (جدول ۲-۱۱).

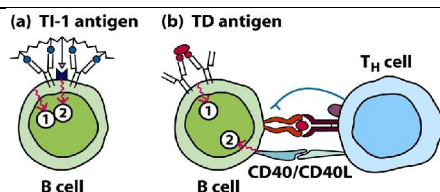
TABLE 11-2 Properties of thymus-dependent and thymus-independent antigens

Property	TD antigens	TI ANTIGENS	
		Type 1	Type 2
Chemical nature	Soluble protein	Bacterial cell-wall components (e.g., LPS)	Polymeric protein antigens; capsular polysaccharides
Humoral response			
Isotype switching	Yes	No	Limited
Affinity maturation	Yes	No	No
Immunologic memory	Yes	No	No
Polyclonal activation	No	Yes (high doses)	No

معمولاً پاسخ به آنتی‌ژن‌های TI ضعیف‌تر، بدون تشکیل سلول‌های خاطره‌ای و در بیشتر موارد، آنتی‌بادی ترشح IgM می‌باشد. این تفاوت‌ها نشان می‌دهند که سلول‌های T_H در تولید سلول‌های B خاطره‌ای، بلوغ میل پیوندی و تعویض رده نقش مهمی برعهده دارند.

– برای ورود سلول‌های B به چرخه سلولی، دو نوع پیام لازم است

سلول‌های B دست‌نخورده، در مرحله G0 چرخه سلولی بوده و تکثیر نمی‌یابند. در صورت فعال شدن، سلول در حال استراحت به سمت چرخه سلولی پیش می‌رود؛ پیشرفت از میان فاز G1 به فاز S یکی از نقاط حساس در چرخه سلولی می‌باشد. به محض این که سلول به فاز S می‌رسد از فاز G2 به میتوز (M) رفته و چرخه سلولی را کامل می‌کند. فعال شدن سلول B برای ورود به چرخه سلولی، به دو سری وقایع انتقال پیام متفاوت نیاز دارد: سری اول تحت عنوان پیام ۱ و سری دوم تحت عنوان پیام ۲ خوانده می‌شوند. این وقایع انتقال پیام، بوسیله مسیرهای مختلف و در پاسخ به آنتی‌ژن‌های TD و TI ایجاد می‌شوند. اما در هر دو مسیر، پیام‌ها در اثر اتصال متقاطع mIgM با آنتی‌ژن چند ظرفیتی تولید می‌شوند (شکل ۷-۱۱).



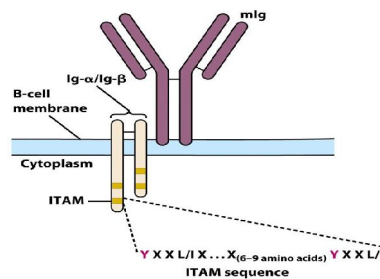
شکل ۷-۱۱: یک پیام کارآمد، برای فعال شدن سلول B مستلزم دو پیام متفاوت القا شده با وقایع غشایی می باشد. اتصال آنتی ژن TI-1 به یک سلول B، هر دو پیام را بوجود می آورد. یک آنتی ژن TD پیام ۱ را با اتصال متقاطع IgM بوجود می آورد، اما برهمکنش های دیگری بین CD40 سلول B و CD40L سلول T_H فعال پیام ۲ را ایجاد می کند.

تحریک سلول B؛ پیام ۱ و پیام ۲ (سایتوکاین ها و سایر لیگاندها) سبب تمایز آنها به سلول های خاطره ای یا پلاسماسل های ترشح کننده آنتی بادی می شود.

– انتقال پیام فعال سازی از طریق هتروداایمرهای $Ig\alpha/Ig\beta$ صورت می گیرد

سال های متمادی این سؤال مطرح بود که چگونه تماس ایمونوگلوبولین با آنتی ژن می تواند مسیرهای انتقال پیام داخل سلولی را فعال کند. تمام ایزوتایپ های mIg، دنباله های سیتوپلاسمی بسیار کوتاهی دارند. دنباله های سیتوپلاسمی mIgM و mIgD تنها ۳ اسید آمینه دارند. دم mIgA شامل ۱۴ اسید آمینه و دم های mIgE و mIgG شامل ۲۸ اسید آمینه می باشد. در تمام موارد، دم سیتوپلاسمی کوتاه تر از آن است که بتواند با مولکول های انتقال دهنده پیام مثل تیروزین کینازها و پروتئین های G اتصال برقرار کند. با مشخص شدن این که پذیرنده سلول B از mIg های همراه با هتروداایمر $Ig\alpha/Ig\beta$ با یک مولکول mIg برای تشکیل مجموعه پذیرنده شرکت دارد (شکل ۸-۱۱). بنابراین، BCR از یک مولکول ایمونوگلوبولین و یک هتروداایمر $Ig\alpha/Ig\beta$ تشکیل شده است. این امر در مورد

pre-BCR نیز صادق است، بدین صورت که یک مجموعه حاوی هتروداایمر $Ig-\alpha/Ig-\beta$ و زنجیره‌های سنگین μ در ترکیب با زنجیره سبک جانشین، انتقال پیام را برعهده دارد (شکل ۴-۱۱). دنباله سیتوپلاسمی زنجیره $Ig-\alpha$ حاوی ۶۱ اسید آمینه و دم زنجیره $Ig-\beta$ دارای ۴۸ اسید آمینه می‌باشد. دم‌های سیتوپلاسمی $Ig-\alpha$ و $Ig-\beta$ حاوی ۱۸ موتیف با نام موتیف تیروزینی فعال کننده پذیرنده ایمنی (ITAM) می‌باشند (شکل ۸-۱۱). این موتیف‌ها در چندین مولکول در TCR نیز حضور دارند (شکل ۱۱-۱۰).



شکل ۸-۱۱: پذیرنده سلول B متشکل از Ig غشایی همراه با هتروداایمر $Ig-\alpha$ و $Ig-\beta$ می‌باشد.

(Y) = تیروزین

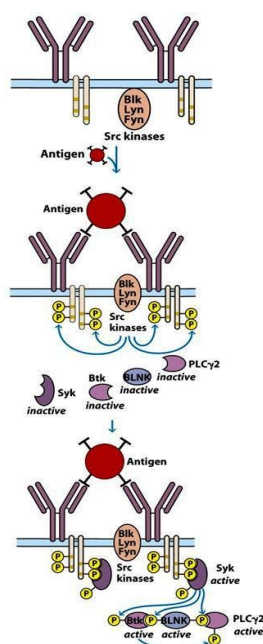
(L/I) = لوسین / ایزولوسین

(X) = یک نوع اسید آمینه

– انتقال پیام سلول B به واسطه اتصال به آنتی ژن و تحریک چندین مسیر انتقال پیام شروع می‌شود.

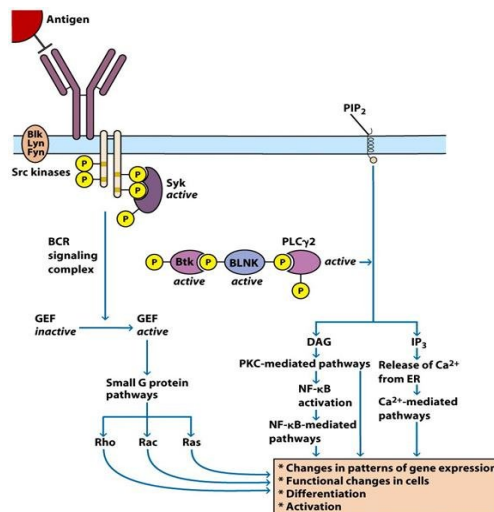
اتصال متقاطع BCR به واسطه آنتی ژن، فرآیندهای انتقال پیام را فعال کرده و سبب فعال شدن سلول B می‌شود. همان‌طور که شکل ۹-۱۱ نشان می‌دهد، اتصال به آنتی ژن، منجر به فسفریلاسیون تیروزین کینازهای ITAM موجود در زنجیره‌های $Ig-\alpha$ و $Ig-\beta$ می‌شود. فسفریلاسیون این زنجیره‌ها توسط PTKهای همراه پذیرنده، یکی از ابتدایی‌ترین وقایع فعال شدن سلول B می‌باشد و در ایجاد مکان لنگری برای سایر مولکول‌ها نقش اساسی بر عهده

دارد. این مولکول‌ها شامل پروتئین کیناز syk و یک پروتئین تطبیق‌گر به نام BLNK می‌باشد که جایگاه اتصال سایر پروتئین‌ها به مجموعه انتقال پیام را فراهم می‌کند. زمانی که BLNK توسط sky فسفریله می‌گردد، این پروتئین اتصالی سبب جذب تیروزین کیناز بروتون (Btk) و PLC γ 2 می‌شود. این مرحله برای فعال شدن پیام‌های ناشی از کلسیم وابسته به فسفرلیپاز C و آغاز مسیرهای وابسته به PKC ضروری می‌باشد.



شکل ۹-۱۱: شروع مسرهای انتقال پیام به فعال شدن سلول B منجر می‌شود. (a) یک سلول B در حال استراحت، اجزای لازم جهت شروع انتقال پیام BCR غیرفعال می‌باشد. (b) اتصال مقاطع مجموعه‌های BCR موجب راه اندازی فسفریلاسیون ITAM‌های Ig- α و Ig- β توسط پروتئین تیروزین کینازها (مثل Fyn و Blk, Lyn, Src) می‌شود. فسفریلاسیون، جایگاه‌های اتصال syk را بوجود می‌آورد. (c) syk فعال شده پروتئین تطابقی BLNK را فسفریله کرده و جایگاه‌های اتصال PLC γ 2 و Btk را به وجود می‌آورد و در نتیجه فسفریلاسیون، موجب فعالیت پروتئین کینازی این عوامل می‌شود.

این مرحله آغازین موجب تحریک سلسله وقایعی می شود که بسیاری از آبخارهای انتقال پیام ضروری برای فعال شدن سلول B را تحریک می کنند.



شکل مروری ۱۰-۱۱: برخی مسیرهای انتقال پیام که با BCR فعال می شوند.

همان طور که شکل ۱۰-۱۱ نشان می دهد، این آبخارهای انتقال پیام، مسیرهای پروتئین G، مسیرهای با واسطه کلسیم و مسیرهای با واسطه PKC را فعال می کنند. تمام این مسیرها در فعال سازی سلول T نیز دخیل می باشند. از بین شباهت های انتقال پیام در BCR و TCR موارد زیر جالب توجه می باشند:

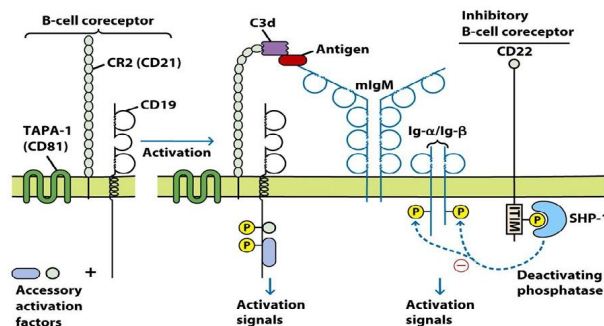
- تقسیم وظایف بین زیر واحدهای گیرنده: مسیرهای انتقال پیام سلول T و سلول B، هر دو با اتصال آنتی ژن به یک زیر واحد و انتقال پیام توسط یک زیر واحد دیگر آغاز می شوند. واحد متصل شونده به آنتی ژن ویژگی داشته اما دمسیتوپلاسمی آن به حدی کوتاه است که نمی تواند پیام ها را به داخل سلول انتقال دهد؛ واحدهای پیام رسان، دم های سیتوپلاسمی بلندی داشته و قادرند تا پیام های مجموعه پذیرنده را به داخل سلول منتقل کنند.

- فعال شدن با واسطه پروتئین تیروزین کینازهای src همراه پذیرنده: PTK های همراه پذیرنده، واکنش‌های فسفریلاسیون را کاتالیز می‌کنند که در مراحل اولیه انتقال پیام ضروری می‌باشند.
 - تجمع مجموعه بزرگ انتقال پیام که فعالیت پروتئین تیروزین کینازی دارد. فسفریلاسیون تیروزین‌های ITAM موجود در BCR و TCR به عنوان تکیه گاهی برای مولکول‌های با خاصیت تیروزین کینازی (ZAP-70 در سلول‌های T و syk در سلول‌های B) عمل می‌کنند.
 - فراخوانی سایر مسیرهای انتقال پیام: فعال شدن سلول‌های B و T نیازمند فعال شدن همزمان بسیاری از مسیرهای مختلف انتقال پیام می‌باشد و در نتیجه، تنها یک مسیر انتقال پیام وجود ندارد.
 - تغییر میزان بیان ژن‌ها: یکی از پیامدهای انتقال پیام توسط TCR و BCR، تولید یا انتقال عوامل نسخه‌برداری می‌باشد که نسخه برداری از برخی ژن‌ها را سرکوب یا تحریک می‌کنند.
- نقص در انتقال پیام می‌تواند نتایج وخیمی در سیستم ایمنی داشته باشد.

– پاسخ سلول B توسط BCR افزایش و توسط CD22 کاهش می‌یابد

با پیام ناشی از کمک پذیرنده، تحریک پذیرنده‌های آنتی ژنی دستخوش تغییر می‌شود. در سلول B، یک ترکیب غشایی که کمک پذیرنده سلول B نامیده می‌شود، به صورت تحریکی، سبب تغییر انتقال پیام شده و پروتئین غشایی دیگر (CD22) پیام‌های مهار را تولید می‌کند. کمک پذیرنده سلول B، مجموعه‌ای از سه پروتئین CD19، CR2 (CD21) و TAPA-1 (CD81) می‌باشد (شکل ۱۱-۱۱). CD19 عضو کلیدی این مجموعه بوده و یک مکان لنگری برای سایر مولکول‌های دخیل در انتقال پیام را ایجاد می‌کند. جزء CR2، پذیرنده C3b بوده و همچنین برای مولکول‌های غشایی و پروتئین غشاگذر TAPA-1 به

عنوان پذیرنده عمل می‌کند. همان‌طور که شکل ۱۱-۱۱ نشان می‌دهد، ترکیب CR2 مجموعه کمک پذیرنده به آنتی‌ژن پوشیده شده با کمپلمان متصل می‌شود که توسط mIg سلول B به دام افتاده است. این اتصال متقاطع کمک پذیرنده با BCR، به CD19 امکان می‌دهد تا با اجزای $Ig-\alpha/Ig-\beta$ واکنش دهد. CD19 حاوی ۶ واحد تیروزین در دم سیتوپلاسمی خود بوده و یکی از سوبستراهای اصلی فعالیت پروتئین تیروزین کینازهای BCR می‌باشد.



شکل ۱۱-۱۱: BCR مجموعه‌ای از سه مولکول غشایی (CD81 (TAPA-1، CD21 (CD19 و CR2) می‌باشد. فسفریلاسیون و اتصال جزء CD19 به این مجموعه موجب شکل‌گیری پیام‌های دیگری جهت فعال شدن سلول B می‌گردد.

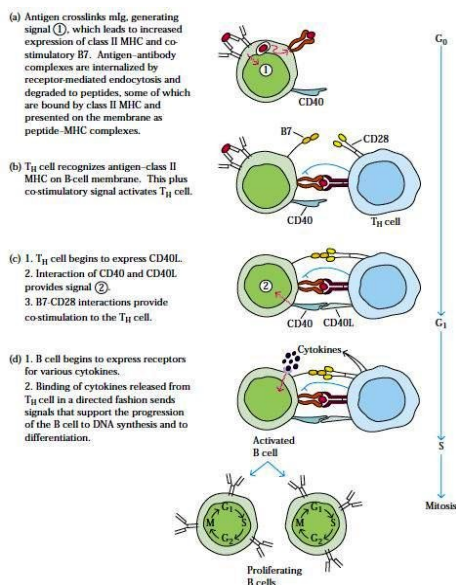
با فراخوانی این مولکول‌های انتقال‌دهنده پیام به مجموعه BCR، آنها در فرآیندهای فعال‌سازی شرکت می‌کنند و مجموعه کمک پذیرنده به عنوان تقویت‌کننده پیام‌های انتقال یافته از BCR عمل می‌کنند. همان‌طور که بعداً در همین فصل توضیح داده می‌شود، پاسخ به یک آنتی‌ژن می‌تواند منجر به بلوغ میل پیوندی شود که در نتیجه آن میانگین میل پیوندی BCR افزایش می‌یابد. در نهایت این که، دو مشاهده تجربی نشان می‌دهد که جزء CD19 کمک پذیرنده سلول B می‌تواند مستقل از CR2 عمل کند. در موش‌های طبیعی، اتصال متقاطع مصنوعی بین BCR با آنتی‌بادی‌های ضد CD19، منجر به تحریک برخی از مسیرهای انتقال پیام می‌شود. فعال شدن سلول B موش‌های با ژن تخریب شده

CD19 ، به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد و کاهش چشمگیری در ایجاد پاسخ آنتی‌بادی به اغلب آنتی‌ژن‌ها را نشان می‌دهند.

علاوه بر کمک پذیرنده تحریکی CD19 ، مولکول CD22 که به طور ساختاری همراه با BCR سلول‌های در حال استراحت می‌باشد، پیام‌های را انتقال می‌دهد (شکل ۱۱-۱۱). فعال شدن سلول‌های B منجر به فسفوریلاسیون توالی تیروزینی مهارکننده ایمنی (ITIM) در دم‌سیتوپلاسمی CD22 می‌شود. در این حال، یک تیروزین فسفاتاز به ITIM های CD22 اتصال می‌یابد و فسفات موجود در تیروزین‌های مجموعه انتقال پیام مجاور را جدا می‌کند. میزان فعالیت سلول B ، تا حدودی در موش‌های با ژن تخریب شده CD22 افزایش یافته و میزان بیماری‌های خود ایمنی در موش‌های پیر CD22ko (ژن تخریب شده) افزایش می‌یابد، که نشان دهنده اهمیت این تنظیم منفی می‌باشد.

– نقش ضروری سلول‌های T_H در بیشتر پاسخ‌های سلول B

همان‌طور که پیش‌تر اشاره شد، فعال‌سازی سلول‌های B توسط آنتی‌ژن‌های پروتئینی محلول، نیازمند دخالت سلول‌های T_H می‌باشد. اتصال آنتی‌ژن به mIg سلول‌های B به تنهایی نمی‌تواند سبب تکثیر و تمایز آن به سلول‌های اجرایی شود و نیازمند واکنش با مولکول‌های غشایی سلول T_H و حضور سایتوکاین‌های مناسب می‌باشد (شکل ۱۲-۱۱). این فرآیند به طور شگرفی پیچیده‌تر از فعال شدن سلول B توسط آنتی‌ژن‌های مستقل از تیموس (TI) می‌باشد.



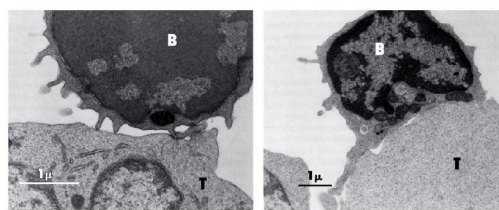
شکل ۱۲-۱۱: سلسله وقایع فعال شدن سلول B توسط آنتی ژن وابسته به تیموس.

- تشکیل کونژوگه T-B

پس از اتصال آنتی ژن به سطح سلولهای B، آنتی ژن توسط اندوسیتوز با واسطه پذیرنده به درون کشیده شده و از طریق مسیر اندوسیتوزی به پپتیدهای کوچک پردازش می شود. همچنین اتصال به آنتی ژن، پیام هایی را به راه می انداز که سبب افزایش بیان تعدادی از مولکولهای غشایی مثل MHC کلاس II و کمک محرک B7 می شود (شکل ۱۲-۱۱). افزایش عرضه این مولکولها، توانایی سلول B را به عنوان یک APC جهت فعال سازی سلول T_H بالا می برد. سلولهای B می توانند تحت حمایت T_H قرار بگیرند، زیرا پپتیدهای آنتی ژن همراه با مولکولهای MHC-II روی سطح سلول B جهت فعال سازی سلول T_H عرضه می شوند. معمولاً ۳۰ تا ۶۰ دقیقه پس از بلع آنتی ژن، پپتیدهای آنتی ژنی پردازش شده و همراه با مولکولهای MHC-II روی غشای سلول B عرضه می شوند.

بدلیل این که سلول‌های B آنتی‌ژن را به طور اختصاصی شناسایی می‌کنند. یک سلول B قادر است آنتی‌ژن را در غلظت‌های ۱۰۰ تا ۱۰۰۰۰ بار کمتر از مقدار مورد نیاز برای عرضه آنتی‌ژن توسط ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک به سلول‌های T_H عرضه کند. وقتی غلظت آنتی‌ژن بالا باشد، ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک، سلول‌های اصلی عرضه آنتی‌ژن می‌باشند.

زمانی که سلول T_H ، پپتید آنتی‌ژنی عرضه شده توسط مولکول MHC-II سطح سلول B را شناسایی می‌کند، دو سلول برای تشکیل کونژوگه B-T با یکدیگر واکنش می‌دهند (شکل ۱۱-۱۳).



شکل ۱۱-۱۳: میکروگراف‌های الکترونی گزاره از تماس اولیه بین یک سلول T و یک سلول B (سمت چپ) و یک کونژوگه B-T (سمت راست).

- تماس کمکی، وابسته به واکنش CD40/ CD40L می‌باشد

تشکیل کونژوگه T-B نه تنها منجر به رهایی مستقیم سایتوکاین‌های سلول T_H می‌شود، بلکه سبب افزایش بیان تنظیمی CD40L (CD154) نیز می‌شود که با CD40 سطح سلول B واکنش داده و یک پیام ضروری جهت فعال‌شدن سلول B وابسته به سلول T را موجب می‌شود. CD40، متعلق به پروتئین‌های سطحی سلول و سایتوکاین‌های محلول خانواده TNF می‌باشد که تکثیر مرگ با واسطه آپوپتوز سلول را تنظیم می‌کند. CD40L متعلق به خانواده پذیرنده TNF می‌باشد. واکنش CD40/CD40L پیامی را به سلول B می‌فرستد (پیام ۲) که با پیام تولید شده به واسطه اتصال متقاطع mIg (پیام ۱) موجب ورود سلول B

به فاز G1 می‌گردد (شکل ۱۲-۱۱). پیام ناشی از CD40، توسط شماری از مسیرهای انتقال پیام داخلی سلولی منتقل شده و در نهایت منجر به تغییر بیان ژن‌ها می‌گردد.

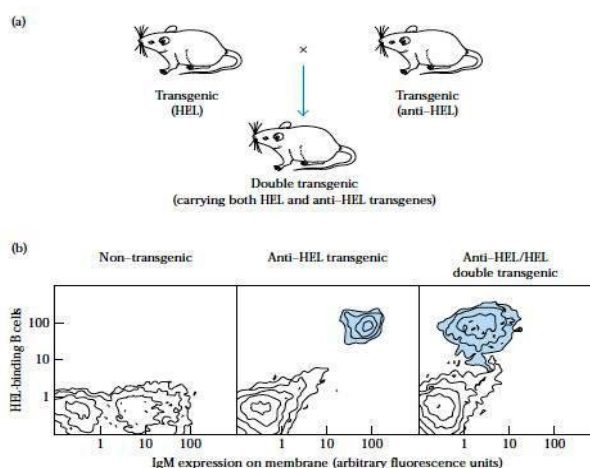
- پیام‌های ایجاد شده توسط سایتوکاین‌های سلول T_H

اگر چه سلول B تحریک شده، با اتصال به پروتئین‌های غشایی سلول‌های T_H فعال، تکثیر می‌یابند ولی تا زمانی که در معرض سایتوکاین‌ها قرار نگیرند، توانایی تمایز ندارند. این یافته‌ها حاکی از آن است که هر دو پیام‌های تماس غشایی و سایتوکاین، جهت تکثیر و تمایز سلول B ضروری می‌باشند. سلول B به محض فعال شدن، پذیرنده‌های غشایی سایتوکاین‌های مختلف مثل IL-2، IL-4 و IL-5 را عرضه می‌کند. سپس این پذیرنده‌ها به سایتوکاین‌های تولیدی توسط سلول T_H فعال، متصل می‌شوند. پیام‌های ناشی از این پذیرنده‌ها، سبب تقویت تکثیر سلول B شده و می‌تواند سبب تمایز آنها به سلول‌های خاطره‌ای و پلاسماسل و همچنین سبب تعویض رده و بلوغ میل پیوندی شود.

- سلول‌های B خود واکنشگر، طی گزینش منفی محیطی حذف می‌شوند

به دلیل این که برخی از آنتی‌ژن‌های خودی در مغز استخوان بیان نمی‌شوند، سلول‌های B عرضه کننده mIgM ویژه این آنتی‌ژن‌ها نمی‌توانند با گزینش منفی مغز استخوان، حذف شوند. برای اجتناب از چنین سلول‌های B بالغ خود واکنشگری، آنها می‌بایست طی مراحل که در اعضای لنفاوی ثانویه رخ می‌دهد، حذف یا غیر فعال شوند.

یک سیستم ژن انتقالی ایجاد شده توسط گودنو^۱ و همکارانش، مراحل گزینش منفی محیطی سلول‌های B بالغ را آشکار نمود. این سیستم شامل دو گروه موش ترانس ژنیک بود (شکل ۱۴-۱۱).



شکل ۱۴-۱۱: سیستم آزمایشگاهی Goodnow برای اثبات آنرژي کلونی در سلول‌های B بالغ محیطی. (a) تولید موش‌های ترانس ژن مضاعف حامل ترانس ژن‌های حامل HEL و آنتی بادی ضد HEL. (b) آنالیز فلوسایتومتری سلول‌های B محیطی که به HEL متصل می‌شوند.

یک گروه حاوی ژن لیزوزیم سفیده تخم‌مرغ (HEL) متصل به پروموتر متالوتینین بودند، تا رونویسی ژن HEL با میزان حضور فلز روی در محیط، تحت کنترل باشد. گروه دیگر موش‌های ترانس ژنیک حامل ژن‌های بازآرایی شده زنجیره سبک و سنگین کدکننده آنتی‌بادی ضد HEL بودند. در موش‌های طبیعی فراوانی سلول‌های B واکنشگر با HEL، یک در هزار سلول می‌باشد، اما در این موش‌های ترانس ژنیک، ترانس ژن بازآرایی شده ضد HEL توسط ۶۰ تا ۹۰ درصد سلول‌های B بالغ محیطی عرضه می‌شوند. گودنو اجازه داد دو

1- Goodnow

گروه با یکدیگر جفت گیری کنند؛ در نتیجه زاده‌ها دارای هر دو ترانس ژن anti-HEL و HEL بودند.

یافته‌های جالبی از گزینش منفی سلول‌های B به دست آمد (جدول ۳-۱۱).

TABLE 11-3 Expression of anti-HEL transgene by mature peripheral B cells in single and double-transgenic mice

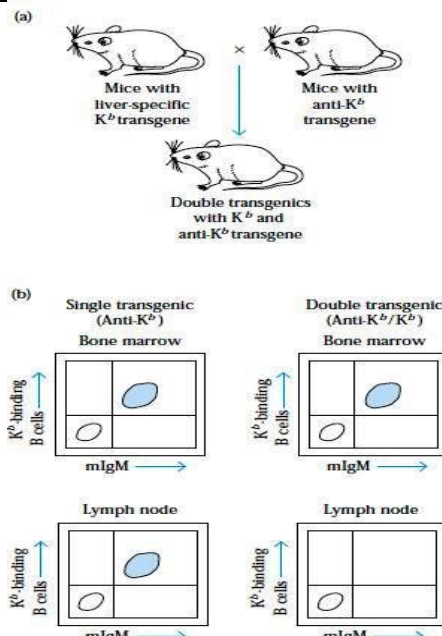
Experimental group	HEL level	Membrane anti-HEL	Anti-HEL PFC/spleen*	Anti-HEL serum titer*
Anti-HEL single transgenics	None	+	High	High
Anti-HEL/HEL single transgenics (Group 1)	10^{-9} M	+	Low	Low

* Experimental animals were immunized with hen egg-white lysozyme (HEL). Several days later, hemolytic plaque assays for the number of plasma cells secreting anti-HEL antibody were performed and the serum anti-HEL titers were determined. PFC = plaque-forming cells; see Figure 23-1 for a description of the plaque assay.

SOURCE: Adapted from C. C. Goodnow, 1992, *Annu. Rev. Immunol.* 10:489.

موش‌های ترانس ژنیک مضاعف با میزان بالای عرضه HEL (10^{-9} M) بالغ شدند، سلول‌های B محیطی دارای آنتی‌بادی غشایی ضد HEL بودند ولی این سلول‌ها از لحاظ عملکردی غیرفعال بودند. تحلیل‌های فلوسایتومتری سلول‌های B موش‌های ترانس ژنیک مضاعف، نشان داد که اگرچه تعداد سلول‌های آنرژیک ضد HEL بسیار زیاد می‌باشد ولی میزان عرضه IgM در آنها ۲۰ برابر کمتر از موش‌های تک ترانس ژنیک ضد HEL می‌باشد (شکل ۱۵-۱۱).

مطالعات بیشتر نشان داد که ترانس ژنیک‌های دوتایی، هر دو IgM و IgD غشایی را داشتند و این امر حاکی از آن است که آلرژی در سلول‌های B بالغ بیشتر از سلول‌های نابالغ القا شده است. هنگامی که این موش‌ها با یک دوز HEL ایمن شدند، پلاسماسل‌های ضد HEL به میزان کمی تحریک شده و تیتراژ سرمی anti-HEL پایین بود.



شکل ۱۵-۱۱: اثبات آزمایشگاهی حذف کلونی سلول های B بالغ محیطی و خودواکنشگر. (a) ایجاد موش های ترانس ژن مضاعف که مولکول کلاس یک K^d و آنتی بادی ضد آن را عرضه می کنند. (b) آنالیز فلوسایتومتری سلول های B مغزاستخوان و محیطی موش که به mIgM متصل می شوند.

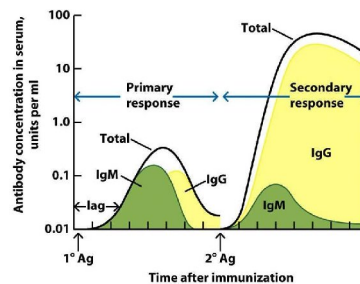
- پاسخ هومورال

در این بخش راجع به تفاوت میان پاسخ های اولیه و ثانویه و کاربرد کونژوگه های هاپتن - حامل در بررسی پاسخ هومورال بحث خواهیم کرد.

- تفاوت پاسخ های اولیه و ثانویه

اولین تماس فرد با یک آنتی ژن بیگانه، سبب ایجاد پاسخ هومورال اولیه می شود که مشخصه آن تولید پلاسماسل های ترشح کننده آنتی بادی و سلول های B خاطره ای می باشد. سرعت پاسخ اولیه به ماهیت آنتی ژن، روش تزریق آنتی ژن، حضور یا عدم حضور ادجوانت

و سویه ایمن شده بستگی دارد. با این حال، پاسخ اولیه به آنتی‌ژن در تمام موارد با یک فاز تأخیری (مدت زمان لازم جهت گزینش کلونی سلول‌های B دست نخورده)، در پی آن گسترش کلونی و سپس تمایز به سلول‌های خاطره‌ای یا پلاسماسل‌ها مشخص می‌شود (شکل ۱۶-۱۱).



شکل مروری ۱۶-۱۱: غلظت و ایزوتایپ آنتی بادی سرم به دنبال ایمونیزاسیون اولیه و ثانویه با آنتی ژن. غلظت های آنتی بادی با مقیاس لگاریتمی به صورت نقطه نشان داده شده است.

فاز تأخیری با افزایش لگاریتمی میزان آنتی‌بادی سرم که به حداکثر رسیده و برای مدتی ثابت مانده و سپس کاهش می‌یابد، دنبال می‌شود. مدت زمان فاز تأخیری به ماهیت آنتی‌ژن بستگی دارد.

سلول‌های B که طی پاسخ اولیه تشکیل می‌شوند، وارد فاز G0 چرخه سلولی شده و دیگر تقسیم نمی‌شوند. این سلول‌ها طول عمر متغیری داشته و برخی تا پایان عمر فرد باقی می‌مانند. ظرفیت ایجاد پاسخ هومورال ثانویه (شکل ۱۴-۱۱). به حضور جمعیت سلول‌های B خاطره‌ای بستگی دارد. فعال شدن سلول‌های خاطره‌ای توسط آنتی‌ژن منجر به پاسخ آنتی‌بادی ثانویه می‌شود که می‌تواند از پاسخ اولیه به چند طریق متمایز شود (جدول ۴-۱۱).

TABLE 11-4 Comparison of primary and secondary antibody responses		
Property	Primary response	Secondary response
Responding B cell	Naive (virgin) B cell	Memory B cell
Lag period following antigen administration	Generally 4–7 days	Generally 1–3 days
Time of peak response	7–10 days	3–5 days
Magnitude of peak antibody response	Varies depending on antigen	Generally 100–1000 times higher than primary response
Isotype produced	IgM predominates early in the response	IgG predominates
Antigens	Thymus-dependent and thymus-independent	Thymus-dependent
Antibody affinity	Lower	Higher

عامل اصلی در شروع سریع تر و بیشتر پاسخ ثانویه، تعداد بیشتر جمعیت سلول‌های B خاطره‌ای نسبت به سلول‌های دست نخورده می‌باشد. سلول‌های خاطره‌ای بسیار ساده‌تر از سلول‌های B بکر فعال می‌شوند. فرآیندهای بلوغ میل پیوندی و تعویض رده، مسئول میل پیوندی بالا و ایزوتایپ‌های مختلف مشاهده شده در پاسخ ثانویه می‌باشند.

حضور سلول‌های B خاطره‌ای با عمر بالا، مسئول پدیده‌ای به نام «گناه آنتی‌ژن اصلی»^۱ می‌باشد که برای اولین بار در پاسخ آنتی‌بادی علیه واکسن آنفولانزا در افراد بالغ مشاهده شد. مشاهدات نشان دادند که ایمونیزاسیون با واکسن آنفولانزا از یک سویه، پاسخ آنتی‌بادی علیه آن سویه را تحریک می‌کنند، اما به طور باور نکردنی یک پاسخ آنتی‌بادی با شدت بیشتر برای سایر سویه‌های آنفولانزا که افراد در طول دوران کودکی با آنها مواجه شده بودند نیز تحریک می‌شود. گویا خاطره اولین برخورد با آنتی‌ژن، در سیستم ایمنی باقی مانده است. این پدیده را می‌توان این‌چنین توضیح داد که این توپ‌های سویه واکسن با جمعیت سلول‌های خاطره‌ای، واکنش متقاطع می‌دهند. این روند، پاسخ ثانویه‌ای را تولید می‌کند که مشخصه آن تولید آنتی‌بادی با میل پیوندی بالاتر برای سویه ویروس قبلی است.

1- original antigenic sin

تمرکز بالینی

آگاماگلوبولینمی وابسته به جنس: نقص در انتقال پیام و تکوین سلول B

XLA یک بیماری نقص ایمنی ژنتیکی است که با ناتوانی در تولید تمام رده‌های آنتی‌بادی مشخص می‌شود. این بیماری که در سال ۱۹۵۲ توسط پروتون کشف شد، هنوز هم یکی از مسائل برجسته در تحقیقات ایمونولوژی بالینی می‌باشد. پروتون پسر جوانی را بررسی می‌کرد که ۳ بار به اوریون مبتلا شده بود و ۱۹ مورد مختلف از عفونت‌های باکتریایی را طی تنها ۴ سال تجربه کرده بود. بدلیل این که در ۱۰ مورد از این عفونت‌ها، باکتری جدا شده از خون، پنوموکوک بود، پروتون به ایمونیزاسیون توسط واکسن پنوموکوک، مبادرت ورزید. با شکست تلاش‌ها جهت تحریک پاسخ‌های آنتی‌بادی، پروتون تصمیم گرفت نشان دهد که آیا این بیماری می‌تواند در مواجهه با سایر آنتی‌ژن‌ها پاسخ آنتی‌بادی ایجاد نماید یا خیر. به طور شگفت‌انگیزی، ایمونیزاسیون این بیمار با واکسن‌های دیفتی و تیفوئید منجر به تحریک هیچ‌گونه پاسخ هومورالی نگردید. در پی شناخت این نقص ایمنی که در آن آنتی‌بادی حضور ندارد، پروتون تصمیم گرفت با یک درمان جدید متهورانه همراه، دوزهای از گلوبولین افراد ایمن را به بیمار تزریق کند. بیمار یک دوره ۱۴ ماهه را بدون سپسیس باکتریایی گذراند و جایگزینی Ig برای درمان این نقص ایمنی پایه‌گذاری شد.

بیماری آگاماگلوبولینمی پروتون یا وابسته به جنس خصوصیات بالینی زیر را نشان می‌دهد.

- بیشتر افراد مبتلا، مذکر می‌باشند، زیرا نقص وابسته به کروموزوم X می‌باشد.
- نشانه‌های نقص ایمنی ۹ ماه پس از تولد بروز می‌کنند.
- عفونت با استرپتوکوک پنومونیه و هموفیلوس آنفولانزا از شیوع بالایی برخوردار می‌باشند. در این بیماران، پنومونی، سینوزیت، مننژیت یا سپتی‌سمی باکتریال مشاهده می‌شود.

- با وجود این که معمولاً ابتلا به عفونت‌های ویروسی شدیدتر از افراد طبیعی نمی‌باشد ولی معمولاً ایمنی طولانی مدت ضد ویروسی در آنها ایجاد نمی‌شود.
- تحلیل‌های میکروسکوپی و فلوسایتومتری نشان می‌دهند که سلول‌های B بالغ در خون محیطی بسیار ناچیز بوده یا اصلاً وجود ندارند. در اوایل سال ۱۹۹۰، ژن مسئول XLA کلون شد. همتای طبیعی این ژن، یک پروتئین تیروزین کیناز را کد می‌کند که به پاس قدردانی از زحمات بروتون، تیروزین کیناز بروتون (Btk) نامگذاری شد. مطالعات همزمان در موش‌ها، نشان داد که فقدان Btk موجب سندرم Xid می‌شود که معادل XLA انسانی می‌باشد. این مولکول نقش مهمی در انتقال پیام سلول B برعهده دارد. مطالعات آزمایشگاهی روی کشت سلول‌هایی که ژن Btk آنها تخریب شده‌است، نشان می‌دهد که فعالیت PLC γ A آنها نقص دارد. زمانی که PLC γ A فعال می‌شود، سبب هیدرولیز فسفولیپیدهای غشایی شده و پیامبرهای ثانویه قوی IP3 و DAG را رها می‌سازد. بنابراین، Btk سبب فعال‌سازی شبکه‌ای از پیام‌های داخل سلولی در سلول‌های B بالغ و اعضای ابتدایی دودمان سلول B می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهند که Btk متعلق به خانواده پروتئین تیروزین کینازهایی با نام کینازهای Tec می‌باشد که Itk همتای آن در سلول‌های T می‌باشد.

– سلول‌های T_H نقش حیاتی در پاسخ هومورال به کونژوگه‌های هاپتن –

حامل دارند

ایمونیزاسیون حیوانات با ترکیبات آلی کوچک (هاپتن‌ها) که با پروتئین‌های بزرگ (حامل) کونژوگه شده‌اند، سبب ایجاد پاسخ هومورال شامل آنتی‌بادی ضدآپی‌توپ‌های هاپتن و آپی‌توپ‌های سطح پروتئین می‌شود. کونژوگه‌های هاپتن – حامل متنوعی در تحقیقات ایمنی استفاده می‌شوند. (جدول ۵-۱۱).

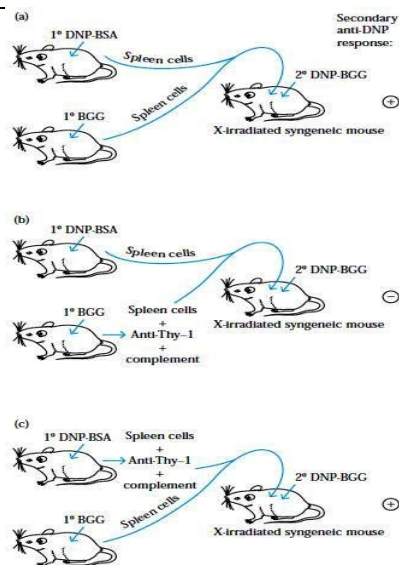
TABLE 11-5 Common hapten-carrier conjugates used in immunologic research

Hapten-carrier acronym	Hapten	Carrier protein
DNP-BGG	Dinitrophenol	Bovine gamma globulin
TNP-BSA	Trinitrophenyl	Bovine serum albumin
NIP-KLH	5-Nitrophenyl acetic acid	Keyhole limpet hemocyanin
ARS-OVA	Azophenylarsonate	Ovalbumin
LAC-HGG	Phenylactoside	Human gamma globulin

یکی از اولین یافته‌ها با استفاده از کونژوگه‌های هاپتن – حامل این بود که برای تحریک پاسخ هومورال به هاپتن، بایستی هاپتن به طریق شیمیایی به مولکول بزرگ حامل اتصال یابد. اگر یک حیوان به طور جداگانه با هاپتن و حامل ایمن شود، آنتی‌بادی ضد هاپتن بسیار اندک بوده و یا اصلاً تولید نخواهد شد. دومین مشاهده مهم این بود که به منظور تولید پاسخ آنتی‌بادی ثانویه علیه هاپتن، بایستی ایمونیزاسیون حیوان با همان کونژوگه هاپتن – حاملی انجام شود که در ایمونیزاسیون اولیه استفاده شده بود. اگر ایمونیزاسیون ثانویه با همان هاپتن و حامل متفاوت انجام گیرد، پاسخ ثانویه ضد هاپتن رخ نمی‌دهد. این پدیده که اثر حامل^۱ نامیده می‌شود، می‌تواند با آماده سازی جداگانه حیوان با حامل غیر مرتبط از بین برود.

آزمایش‌های باکونژوگه‌های هاپتن – حامل آشکار نمود (شکل ۱۷-۱۱) که هر دو سلول B و T بایستی شاخص‌های آنتی‌ژنیک یک مولکول را شناسایی کنند تا فعال‌سازی سلول B صورت گیرد. این واکنش سلول B و T در پاسخ هومورال، شناخت همراه (مرتبط) نامیده می‌شود.

1- carrier effect

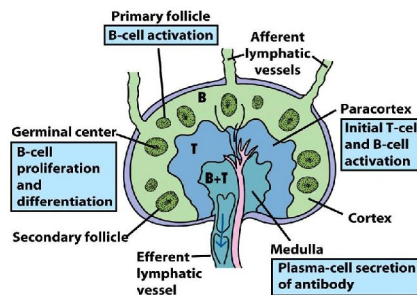


شکل ۱۷-۱۱: آزمایشات انتقال سلولی که اثبات می کند سلول های آلوده با هاپتن و آلوده با ناقل دو جمعیت سلولی مختلف می باشند.

– مکان های in vivo برای تحریک پاسخ های هومورال

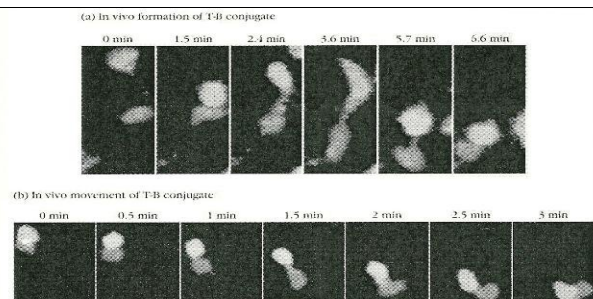
فعال سازی و تمایز سلول های B در in vivo در مکان های آناتومیک مشخص صورت می گیرد که ساختار این مکان ها با نوع واکنش های سلولی همخوانی دارد. زمانی که آنتی ژن به داخل بدن تزریق می شود، در اعضای لنفاوی محیطی مختلفی تجمع می یابد. آنتی ژن های خونی توسط طحال گرفته می شوند، در صورتی که آنتی ژن های فضاهای بافتی وارد سیستم لنفاوی شده و توسط عقده های لنفی موضعی گرفته می شوند. گره لنفی فیلتری بسیار توانا می باشد که قادر است بیش از ۹۰٪ آنتی ژن های موجود در لنف آوران را به دام اندازد. با گذشتن آنتی ژن از بین ساختار سلولی گره لنفی، به یکی از سه نوع سلول عرضه کننده آنتی ژن (سلول های دندریتیک در پاراکورتکس، ماکروفاژها در سرتاسر گره و سلول های دندریتیک فولیکولی در فولیکول های مرکز زایا) برخورد خواهد کرد. تماس آنتی ژنی که

منجر به پاسخ ایمنی هومورال می‌شود، با واسطه یک سری از حوادث پیچیده انجام می‌گیرد که در ریز محیط‌های مختلف گره لنفی صورت می‌گیرد (شکل ۱۸-۱۱).



شکل ۱۸-۱۱: دیاگرام شماتیکی از یک غده لنفی محیطی که دارای جایگاه‌های آناتومیک می‌باشند و در آنها مراحل مختلف فعال‌شدن، تکثیر و تمایز سلول B رخ می‌دهد.

با پیشرفت‌های میکروسکوپی، امکان مشاهده سلول‌های کبد در داخل بافت‌های زنده فراهم شده است. اخیراً محققان از این روش برای بررسی واکنش بین سلول‌های B و T در درون گره‌های لنفی استفاده کرده‌اند. آنها سلول‌های B و T نشاندار با فلئوئورسنت را از موش‌های ایمن شده با HEL جدا نموده و به موش‌های غیر ایمن تزریق کردند. سپس این موش‌ها را با HEL ایمن کردند و پاسخ‌های سلول‌های B و T و واکنش آنها با یکدیگر را بررسی کردند. مشاهدات نشان می‌دهد که ۳۰ ساعت پس از ایمونیزاسیون، سلول‌های B و T ویژه آنتی‌ژن به یکدیگر نزدیک می‌شوند (شکل ۱۹-۱۱). این کونزوگه به سرعت تشکیل شده و به مدت ۱۰ دقیقه تا ۱ ساعت باقی می‌ماند. در مقابل مدت زمان کونزوگه میان سلول‌های B و T نشاندار در حیوانات غیر ایمن بسیار کوتاه‌تر بود. مشاهده شد که سلول‌های B و T ویژه آنتی‌ژن در گره لنفی از جایگاه خود به سمت یکدیگر مهاجرت کرده و در مرز میان این دو ناحیه برای تشکیل فرم کونزوگه B-T با یکدیگر واکنش می‌دهند.



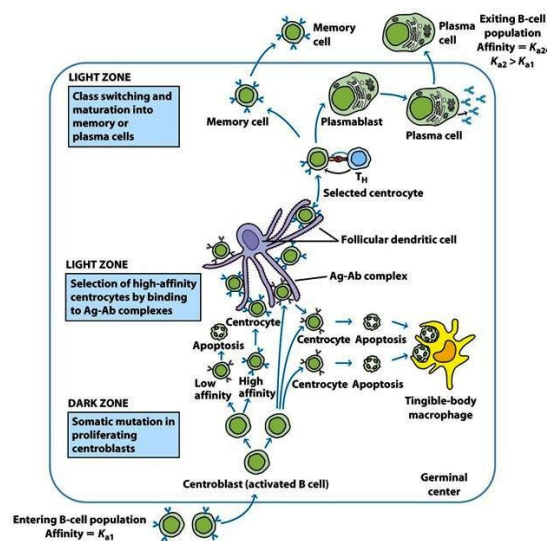
شکل ۱۹-۱۱: دینامیک های *in vitro* از برهمکنش سلول B مجاور شده با آنتی ژن و سلول T_H . (a) میکروسکوپ دو فوتونی برای مشاهده فعالیت سلول های T_H و B در یک غده لنفی به کار رفته است. (b) مشاهده کونژوگه های B-T زنده در یک غده لنفی نشان می دهد که متحرک می باشند.

این کونژوگه به سرعت تشکیل شده و به مدت ۱۰ دقیقه تا ۱ ساعت باقی می ماند. در مقابل مدت زمان کونژوگه میان سلول های B و T نشاندار در حیوانات غیر ایمن بسیار کوتاهتر بود. مشاهده شد که سلول های B و T ویژه آنتی ژن در گره لنفی از جایگاه خود به سمت یکدیگر مهاجرت کرده و در مرز میان این دو ناحیه برای تشکیل فرم کونژوگه B-T با یکدیگر واکنش می دهند.

زمانی که سلول B با واسطه آنتی ژن فعال می شود، کانون کوچکی از سلول های B تکثیر شونده در مرز ناحیه غنی از سلول های T شکل می گیرد. این سلول های B به پلاسماسل های ترشح کننده ایزوتایپ های IgM و IgG تمایز می یابند. اغلب آنتی بادی های تولید شده طی پاسخ اولیه، از پلاسماسل های این کانون منشاء می گیرند. یک سری وقایع مشابه نیز در طحال صورت می گیرد و در آن جا فعال شدن ابتدایی سلول های B در PALS رخ می دهد (شکل ۱۷-۲).

- مراکز زایا و تمایز سلول B وابسته به آنتی ژن

مراکز زایا طی ۷ تا ۱۰ روز پس از مواجهه با آنتی ژن‌های وابسته به تیموس ایجاد می‌شوند. سه واقعه مهم تمایزی (بلوغ میل پیوندی، تعویض رده و تشکیل سلول‌های B خاطره‌ای و پلاسماسل‌ها) برای سلول B در مراکز زایا رخ می‌دهد. بلوغ میل پیوندی و تشکیل سلول‌های خاطره‌ای نیازمند مراکز زایا می‌باشد. با این وجود در برخی موارد، تعویض رده و تشکیل مقادیر قابل توجهی پلاسماسل می‌تواند در خارج از مراکز زایا نیز صورت بگیرد. در طول مراحل اولیه تشکیل مراکز زایا، سلول‌های B فعال، متحمل تکثیر شدید می‌شوند. این سلول‌های B تکثیر شونده با نام سنتروبلاست در بخشی از مراکز زایا تحت عنوان ناحیه تاریک^۱ ظاهر می‌شوند (شکل ۲۰-۱۱).



شکل ۲۰-۱۱: وقایع سلولی در مراکز زایا.

1- dark zone

سنتروبلاست‌ها را می‌توان با اندازه بزرگ، سیتوپلاسم گسترده، کروماتین منتشر و عدم حضور یا حضور بسیار اندک Ig غشایی مشخص نمود. سنتروبلست‌ها در نهایت سنتروسیت‌ها را تشکیل می‌دهند که کوچک‌تر می‌باشند. سنتروسیت‌ها، سلول‌های B می‌باشند که دارای Ig غشایی بوده و تقسیم نمی‌شوند. سنتروسیت‌ها از ناحیه تاریک به بخش حاوی سلول‌های دندریتیک فولیکولی با نام ناحیه روشن^۱ مهاجرت کرده و در آنجا با آنتی‌ژن‌ها واکنش می‌دهند.

– بلوغ میل پیوندی، در نتیجه جهش مکرر و گزینش ایجاد می‌شود

میانگین میل پیوندی آنتی‌بادی‌های تولید شده در پاسخ هومورال، به طور چشمگیری طی فرآیند بلوغ میل پیوندی افزایش می‌یابد. این اثر برای اولین بار توسط ایسن^۲ و سیسکیند^۳، زمانی مشاهده شد که آنها خرگوش‌ها را با مجموعه هاپتن – حامل (DNP) BCG ایمن کردند. آنها میل پیوندی آنتی‌بادی‌های ضد DNP سرم را در پاسخ به آنتی‌ژن، طی ۲، ۵ و ۸ هفته پس از ایمونیزاسیون سنجش نمودند. میانگین میل پیوندی آنتی‌بادی‌های ضد DNP از هفته ۲ تا ۸ مورد ۱۴۰ برابر افزایش یافته بود. بررسی‌های بعدی نشان داد که اساس بلوغ میل پیوندی، هایپر موتاسیون سوماتیک می‌باشد.

– هایپر موتاسیون سوماتیک

بررسی‌ژن‌های آنتی‌بادی طی پاسخ ایمنی نشان می‌دهد که در پاسخ به عفونت، جهش وسیعی در ژن‌های ایمونوگلوبولین سلول‌های B مراکز زایا اتفاق می‌افتد. کلزو^۴ و همکارانش نشان دادند که جایگاه هایپر موتاسیون سوماتیک در مراکز زایا می‌باشد. آن‌ها شیوع جهش

1- light zone

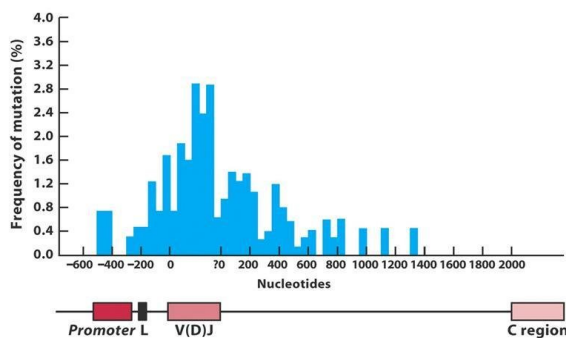
2- H.N. Eisen

3- G.W.Siskind

4- G.Kelsoe

در سلول‌های B مراکز زایا را با فعال شدن شدید سلول B در خارج از مراکز زایا، مقایسه کردند. بدین منظور، آنها یک لایه نازک بافت طحال موش‌های ایمن شده با هاپتن ۴-هیدروکسی ۳- نیتروفنیل استات (NP) کونزوگه با پروتئین حامل گاماگلوبولین جوجه تهیه کردند. این سیستم بسیار مناسب بود، زیرا پاسخ اولیه به این هاپتن به طور غالب از بازآرایی یک زن زنجیره سنگین خاص و زنجیره سبک (در موش، بیش از ۹۵٪ آنتی‌بادی‌ها دارای زنجیره‌های سبک k می‌باشند) می‌باشد؛ و در نتیجه، آنتی‌بادی برعلیه ایدیوتایپ این آنتی‌بادی را می‌توان به سادگی برای پایش سلول‌های B پاسخ دهنده به کار برد. با استفاده از آنتی‌بادی‌های ضد ایدیوتایپ و روش‌های رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی، این محققان سلول‌های B حامل آنتی‌بادی ضد NP را در مراکز زایا و کانون‌های فعال خارج از مراکز زایا را شناسایی کردند. سپس ژن‌های Ig هر سلول B کلون گردید و توالی آن‌ها مشخص شد. جهش‌های بسیار کمی در ژن‌های Ig سلول‌های B فعال شده در کانون‌های خارج از مراکز زایا صورت گرفته بود ولی جهش‌های بسیاری در سلول‌های B موجود در مراکز زایا به چشم می‌خورد.

به طور قابل توجهی، وقوع جهش‌های نقطه‌ای در زمان حذف و اضافه شدن ژن‌های Ig طی بازآرایی صورت می‌گرفت (شکل ۲۱-۱۱).



شکل ۲۱-۱۱: فراوانی هاپیرموتاسیون سوماتیک با فاصله گرفتن از بازآرایی ژن V(D)J کاهش می‌یابد.

اگر چه فرآیند هایپر موتاسیون در سرتاسر ناحیه V اتفاق می افتد ولی در نهایت، گزینش توسط آنتی ژن منجر به بروز ژن های ایمونوگلوبولینی می شود که اکثر جهش های آن در نواحی CDR متمرکز شده اند.

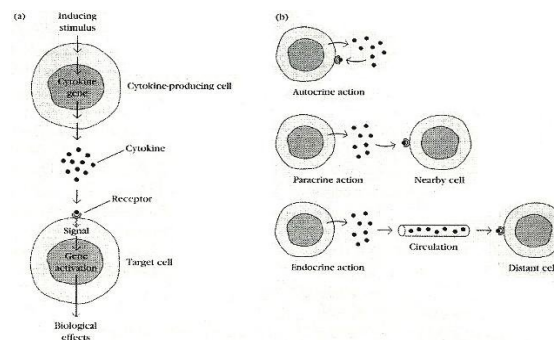
بدلیل این که جهش سوماتیک، فرآیندی تصادفی می باشد، شمار اندکی از سلول های دارای پذیرنده های با میل پیوندی بالا و بسیاری از سلول های دارای پذیرنده با میل پیوندی پایین برای یک آنتی ژن خاص تولید خواهند شد. بنابراین، بایستی جمعیت سلول های با میل پیوندی بالا گزینش شوند و مراکز زایا جایگاه این گزینش می باشند.

- گزینش

هایپر موتاسیون سوماتیک ژن های نواحی متغیر زنجیره سبک و سنگین، زمانی رخ می دهد که سنتروبلاست ها در نواحی تاریک مرکز زایا قرار دارند. گزینش در ناحیه روشن و در میان سنتروسیت های غیر تکثیری صورت می پذیرد. مهمترین عاملی که برگزینش تأثیر می گذارد، توانایی مولکول های Ig غشایی سنتروسیت در شناسایی و اتصال به آنتی ژن های عرضه شده روی FDC ها می باشد. بدلیل این که سطح FDC ها غنی از پذیرنده های Fc و پذیرنده های کمپلمان می باشد، مجموعه آنتی ژن - آنتی بادی یا قطعات آنتی ژنی پوشیده شده با C3b، می توانند به FDC ها متصل شوند. یک سنتروسیت حاوی Ig غشایی به آنتی ژن سطح FDC متصل شده و پیام ضروری برای بقا را دریافت می کند و عدم دریافت چنین پیامی سبب مرگ می شود. با این حال، سنتروسیت ها بایستی برای مقادیر اندک آنتی ژن موجود بر روی FDC ها با یکدیگر رقابت کنند. به دلیل محدودیت مقدار آنتی ژن، سنتروسیت های حاوی پذیرنده با میل پیوندی بالا، نسبت به سنتروسیت های با میل پیوندی پایین، شانس بیشتری برای اتصال موفق با آنتی ژن دارند (شکل ۲۰-۱۱).

- تعویض رده

دو فعالیت مهم آنتی‌بادی شامل اتصال اختصاصی به آنتی‌ژن و شرکت در اعمال اجرایی مختلف زیستی می‌باشند. تعویض رده، به هردومن V_H این امکان را می‌دهد که با هر ایزوتاییپی همراه شود. این امر سبب می‌شود که ویژگی آنتی‌بادی ثابت باقی بماند. حال آنکه فعالیت اجرایی مولکول، طی این روند تغییر می‌یابد. برخی از سایتوکاین‌ها در تعویض رده Ig دخالت دارند (شکل ۲۲-۱۱).



شکل ۲۲-۱۱: برهمکنش سایتوکاین‌های مختلف بر روی سلول‌های B. پیام‌هایی را ایجاد می‌کنند که جهت تکثیر و تعویض رده در طول تمایز سلول‌های B به پلاسماسل‌ها نیز می‌باشند.

همان‌طور که پیش‌تر اشاره شد، پاسخ هومورال به آنتی‌ژن‌های وابسته به تیموس توسط تعویض رده گسترده (به هر ایزوتاییپی غیر از IgM) مشخص می‌شود، در حالی که پاسخ آنتی‌بادی به آنتی‌ژن‌های مستقل از تیموس به طور غالب از کلاس IgM می‌باشد. در مورد آنتی‌ژن‌های وابسته به تیموس، واکنش غشایی میان CD40 سطح سلول B و CD40L سطح سلول T_H جهت تحریک تعویض رده ضروری می‌باشد.

- سلول‌های B خاطره‌ای و پلاسماسل‌ها در مراکز زایا تولید می‌شوند

پس از گزینش سلول‌های B دارای mIg با میل پیوندی بالا، برخی سلول‌های B به پلاسماسل و برخی از آنها به سلول B خاطره‌ای تمایز می‌یابند (شکل ۲۰-۱۰). هر چند که مراکز زایا از مکان‌های اصلی تولید پلاسماسل‌ها می‌باشند ولی این سلول‌ها در مکان‌های دیگری نیز تولید می‌شوند. معمولاً پلاسماسل‌ها فاقد mIg قابل شناسایی بوده و لی در عوض، مقادیر بالایی از آنتی‌بادی ترشحی تولید می‌کنند (با سرعت ۱۰۰۰ مولکول Ig در هر سلول در هر ثانیه). برای تمایز سلول‌های B بالغ به پلاسماسل‌ها، تغییر در نحوه پردازش RNA ضروری می‌باشد.

همان‌طور که اشاره شد، سلول‌های B که طی گزینش در ناحیه روشن مراکز زایا زنده ماندند، به سلول‌های خاطره‌ای تمایز می‌یابند. برخی خصوصیات سلول‌های B خاطره‌ای و بکر (دست نخورده) در جدول ۶-۱۱ خلاصه شده است.

TABLE 11-6 Comparison of naive and memory B cells		
Property	Naive B cell	Memory B cell
Membrane markers		
Immunoglobulin	IgM, IgD	IgM, IgD(?), IgG, IgA, IgE
Complement receptor	Low	High
Anatomic location	Spleen	Bone marrow, lymph node, spleen
Life span	Short-lived	May be long-lived
Recirculation	Yes	Yes
Receptor affinity	Lower average affinity	Higher average affinity due to affinity maturation*
Adhesion molecules	Low ICAM-1	High ICAM-1

* Affinity maturation results from somatic mutation during proliferation of centroblasts and subsequent antigen selection of centrocytes bearing high-affinity mIg.

به غیر از Ig‌های متصل به غشا، چندین مولکول غشایی دیگر در تمایز سلول‌های B خاطره‌ای و سلول‌های B دست نخورده دخالت دارند. سلول‌های B دست نخورده تنها IgM و IgD را عرضه می‌کنند؛ در حالی که بدن‌بال تعویض زده، سلول‌های B خاطره‌ای، ایزوتایپ‌های دیگری مثل IgA و IgE را نیز بیان می‌کنند.

- تنظیم پاسخ‌های ایمنی اجرایی

در صورت مواجهه با آنتی‌ژن، سیستم ایمنی می‌تواند پاسخ ایمنی ایجاد کند یا وارد حالتی از بی‌پاسخی به نام تحمل گردد. ایجاد ایمنی یا تحمل، که هر دو با واسطه شناسایی اختصاصی آنتی‌ژن توسط سلول‌های B و T واکنشگر با آنتی‌ژن انجام می‌گیرد، بایستی به دقت تنظیم شود، زیرا یک پاسخ نامناسب می‌تواند خطرناک بوده و پیامدهای تهدید کننده‌ای داشته باشد.

- آنتی‌بادی‌های مختلف با یکدیگر رقابت می‌کنند

سابقه ایمنی یک حیوان، روی کمیت و کیفیت پاسخ ایمنی تأثیر می‌گذارد. پاسخ یک حیوان دست‌نخورده در صورت مواجهه با آنتی‌ژن بسیار متفاوت از حیوانی است که پیش‌تر در معرض آنتی‌ژن قرار گرفته است. مواجهه قبلی با یک آنتی‌ژن ممکن است سبب تحمل حیوان نسبت به آنتی‌ژن یا تشکیل سلول‌های خاطره‌ای گردد.

در برخی موارد، حضور یک آنتی‌ژن رقابتی می‌تواند پاسخ ایمنی به یک آنتی‌ژن دیگر را تنظیم کند. این رقابت آنتی‌ژنی را می‌توان با تزریق یک آنتی‌ژن رقابتی (یک یا دو روز قبل از ایمونیزاسیون با آنتی‌ژن مورد نظر) به موش نشان داد. برای مثال، پاسخ به گلبول‌های قرمز اسب (HRBCs) به وسیله ایمونیزاسیون قبلی با گلبول‌های قرمز گوسفند (SRBCs) و برعکس، به شدت کاهش می‌یابد (جدول ۷-۱۱).

TABLE 11-7 Antigenic competition between SRBCs and HRBCs			
IMMUNIZING ANTIGEN		HEMOLYTIC PLAQUE ASSAY (DAY 8)*	
Ag1 (day 0)	Ag2 (day 3)	Test Ag	PPC/10 ⁶ spleen cells
None	HRBC	HRBC	205
SRBC	HRBC	HRBC	13
None	SRBC	SRBC	626
HRBC	SRBC	SRBC	78

اگر چه رقابت آنتی ژنی یک پدیده شناخته شده می باشد، اما اساس سلولی و مولکولی آن ناشناخته است.

- حضور آنتی بادی، پاسخ به آنتی ژن را مهار می کند

مشابه بسیاری از واکنش های بیوشیمیایی، آنتی بادی نیز فیدبک مهاری روی تولید خود دارد. به دلیل مهار با واسطه آنتی بادی، برخی واکنش ها، مانند سرخک و اوریون به نوزادان زیر یک سال تزریق نمی شوند. سطح IgG اکتسابی از مادر تا ۶ ماه پس از تولد بالا باقی می ماند. اگر یک نوزاد با واکنس سرخک و اوریون ایمن شود. پاسخ هومورال پایین بوده و سلول های خاطره ای کافی برای ایجاد ایمنی طولانی مدت تولید نمی شوند.

مهار با واسطه آنتی بادی را می توان به دو طریق توضیح داد؛ اولین توضیح این است که آنتی بادی در گردش با سلول های B ویژه آنتی ژن در اتصال به آنتی ژن رقابت می کند و این امر مانع از گسترش کلنی سلول های B می گردد. دومین توضیح این است که اتصال مجموعه های آنتی ژن - آنتی بادی به پذیرنده های Fc سلول های B، انتقال پیام با واسطه مجموعه BCR را کاهش می دهد.

همان طور که پاسخ آنتی بادی پیش می رود، فیدبک آنتی بادی سبب مهار پاسخ می شود. زمانی که مولکول های IgG ترشحی بیشتری در مجموعه های آنتی ژن - آنتی بادی درگیر می شوند، بخش Ig این مجموعه ها به $Fc\gamma R$ سطح سلول های B متصل می شوند. این اتصال متقاطع، $Fc\gamma R$ را به مجاور مجموعه های BCR فعال آورده و به فسفاتازهای متصل به دم سیتوپلاسمی FcR این امکان را می دهد تا فسفات جایگاه های ضروری برای فعال نگه داشتن سلول B را جدا نماید. در نتیجه، فعالیت سلولی B به طور چشمگیری با افزایش IgG های متصل به آنتی ژن، دچار تنظیم کاهشی می شود. شواهدی مبنی بر چنین رقابت هایی بین تزریق غیر فعال آنتی بادی و سلول های B ویژه آنتی ژن، از بررسی هایی به دست آمده که در آن میزان سرکوب رقابتی با تزریق آنتی بادی ضد DNP با میل پیوندی بالا، ۱۰ برابر بیشتر

از آنتی‌بادی ضد DNP با میل پیوندی پایین می‌باشد. به علاوه، رقابت بر سر آنتی‌ژن، سبب ایجاد پاسخ B به سمت آنتی‌بادی با میل پیوندی بالاتر می‌شود. تنها سلول‌های ویژه آنتی‌ژن که دارای میل پیوندی بالا باشند، می‌توانند به طور موفق با آنتی‌بادی غیر فعال تزریقی بر سر آنتی‌ژن موجود رقابت کنند.

- خلاصه

- سلول‌های B در مغز استخوان بوجود آمده و در بافت‌های محیطی در مواجهه با آنتی‌ژن، فعال شده و تمایز می‌یابند. سلول‌های B فعال شده می‌توانند پلاسماسل‌های ترشح کننده آنتی‌بادی یا سلول‌های B خاطره‌ای را تولید کنند.
- بازآرایی متوالی ژن‌های Ig در طی تکوین سلول B منجر به تبدیل سلول Pro-B به سلول B نابالغ عرضه کننده mIgM می‌شود. با پیشرفت این فرآیند، سلول‌های B بالغ دست نخورده تولید می‌شوند که تک‌ویژگی بوده و هر دو نوع mIgM و mIgD را عرضه می‌کنند.
- وقتی یک BCR خود واکنشگر در مغز استخوان عرضه می‌شود، سلول‌های عرضه کننده طی گزینش منفی و توسط آپوپتوز حذف می‌شوند.
- در بافت‌های محیطی، فعال شدن و تمایز با واسطه آنتی‌ژن سلول‌های B بالغ منجر به تولید آنتی‌بادی می‌شود. برای اغلب آنتی‌ژن‌ها، این پاسخ نیازمند سلول‌های T_H می‌باشد که به این پاسخ، وابسته به تیموس (TD) می‌گویند. پاسخ به برخی آنتی‌ژن‌ها، مانند محصولات دیواره سلولی باکتری‌ها (LPS) و مولکول‌های پلی‌مریک با اپی‌توپ‌های تکراری، نیاز به سلول‌های T_H ندارند و آنتی‌ژن‌های مستقل از تیموس (TI) نامیده می‌شوند.

- فعال شدن سلول B در نتیجه فرآیند انتقال پیامی می‌باشد که در اثر درگیری سلول B به راه می‌افتد و در نهایت منجر به تغییرات بسیار در سلول، از جمله تغییر در بیان برخی ژن‌ها می‌شود.
- فعال شدن سلول B و T از بسیاری جهات مانند تقسیم وظایف زیر واحدهای پذیرنده، فعال شدن توسط پروتئین تیروزین کینازهای همراه غشاء، تجمع مجموعه‌های بزرگ انتقال پیام و فراخوانی چندین مسیر انتقال پیام مشابه می‌باشند.
- کمک‌پذیرنده سلول B می‌تواند شدت پیام‌های فعال‌سازی ناشی از اتصال متقاطع mIg را افزایش دهد. این امر، به خصوص در طی پاسخ اولیه به آنتی‌ژن‌های با غلظت پایین، با اهمیت می‌باشند.
- مولکول غشایی CD22، می‌تواند به عنوان تنظیم کننده منفی فعال شدن سلول B عمل نماید. پروتئین تیروزین فسفاتاز متصل شده به ITIM‌های دم سیتوپلاسمی CD22 با برداشت فسفات‌ها، موجب غیر فعال شدن مجموعه انتقال پیام مرتبط با BCR می‌شود.
- فعال‌سازی با واسطه آنتی‌ژن‌های TD، نیازمند حمایت با واسطه تماس ناشی از میانکنش بین CD40 سطح سلول B و CD40L سطح سلول‌های TH فعال می‌باشد. واکنش CD40L/CD40 برای بقای سلول B، تشکیل مراکز زایا، ایجاد جمعیت سلول‌های خاطره‌ای و هایپر موتاسیون سوماتیک ضروری می‌باشد.
- خصوصیات پاسخ‌های آنتی‌بادی اولیه و ثانویه با یکدیگر تفاوت دارند. پاسخ اولیه یک فاز تأخیری طولانی دارد و IgM، اولین رده آنتی‌بادی تولید شده می‌باشد که به آهستگی به سایر کلاس‌ها تعویض می‌یابد. پاسخ ثانویه، فاز تأخیری کوتاهتری داشته و از دوام بیشتری برخوردار است. IgG و سایر ایزوتایپ‌ها، محصول اصلی تولید شده در پاسخ ثانویه می‌باشند و میانگین میل پیوندی آنتی‌بادی‌های تولیدی بالاتر می‌باشد.
- مراکز زایا، جایگاه هایپر موتاسیون سوماتیک ژن‌های بازآرایی شده Ig می‌باشند که طی یک هفته پس از مواجهه با آنتی‌ژن‌های TD تشکیل می‌شوند. مراکز زایا جایگاه بلوغ

میل پیوندی، تشکیل سلول‌های B خاطره‌ای، تعویض رده و تشکیل پلاسماسل‌ها می‌باشند.

- پاسخ ایمنی هومورال ممکن است توسط فیدبک آنتی‌بادی مهار شود. در این روند، اتصال مجموعه آنتی‌ژن-آنتی‌بادی به پذیرنده‌های $\text{Fc}\gamma$ روی سلول‌های B موجب مهار انتقال پیام BCR می‌گردد.

- سؤالات درسی

- ۱- کدام یک از گزینه‌های زیر درست و کدام یک نادرست است. در صورتی که تصور می‌کنید گزینه‌ای نادرست می‌باشد، دلیل خود را بیان کنید.
 - الف) بازآرایی $V_H-D_H-J_H$ زنجیره سنگین در مرحله Pre-B آغاز می‌شود.
 - ب) سلول‌های B نابالغ، IgM و IgD غشایی را عرضه می‌کنند.
 - پ) آنزیم TdT در مرحله Pre-B فعال می‌باشد.
 - ت) زنجیره سبک جانشین توسط سلول‌های Pre-B بیان می‌شود.
 - ث) سلول‌های B خود واکنشگر می‌توانند با عرضه زنجیره سبک متفاوت، از گزینش منفی نجات یابند.
 - ج) برای تکوین سلول‌های B نابالغ، سلول‌های Pre-B بایستی مستقیماً با سلول‌های استرومایی مغز استخوان واکنش دهند.
 - چ) بیشتر سلول‌های B که هر روز تولید می‌شوند، هرگز به عنوان سلول‌های بالغ معز استخوان را ترک نمی‌کنند.
- ۲- آنتی‌بادی نشاندار با فلورسئین علیه زنجیره سنگین μ و آنتی‌بادی نشاندار با رودامین علیه زنجیره سنگین γ در اختیار دارید. الگوی رنگ‌آمیزی هر یک از مراحل بلوغ سلول B که در زیر آمده است را توضیح دهید. فرض کنید که رنگ‌های سیتوپلاسمی و رنگ‌های غشایی را می‌توانید تشخیص دهید:

الف) سلول B اجدادای (سلول Pre-B)

ب) سلول B پیش‌ساز (سلول Pro-B)

پ) سلول B نابالغ

ت) سلول B بالغ

ث) پلاسماسل پیش‌از هر گونه تعویض رده

۳- ساختار معمول و عملکرد احتمالی مجموعه کمک پذیرنده سلول B را توضیح دهید.

۴- در آزمایش گودنو که آلرژی کلونی سلول‌های B را نشان می‌داد، دو نوع از موش‌های اصلاح ژنتیک شده با هم مقایسه شدند. موش‌های ترانس ژنیک منفرد که تنها ژن آنتی‌بادی ضد HEL را حمل می‌کردند و موش‌های ترانس ژنیک مضاعف که ژن anti HEL و HEL متصل به پروموتور متالوتیونین فعال شونده توسط فلز روی را حمل می‌کردند.

الف) در ترانس ژن‌های منفرد و مضاعف، ۶۰ تا ۹۰٪ سلول‌های B، آنتی‌بادی غشایی ضد HEL را عرضه می‌کردند آن را توضیح دهید.

ب) چطور می‌توانید توضیح دهید که آنتی‌بادی غشایی این سلول‌ها، ویژه HEL می‌باشند و چگونه می‌توانید ایزوتایپ‌های آن را تعیین کنید؟

پ) چرا پروموتور متالوتیونین در ساختار ترانس ژن HEL به کار گرفته شد؟

ت) آزمایش طراحی کنید که در آن، سلول‌های B (ونه سلول‌های T_H) به دست آمده از ترانس ژنیک‌های مضاعف، آنرژیک باشند.

۵- توالی پیام‌های مورد نیاز برای فعال شدن و تکثیر سلول‌های B تحریک شده توسط

الف) آنتی‌ژن‌های پروتئینی محلول

ب) لیپوپلی ساکارید باکتریایی را توضیح دهید.

۶- جاهای خالی (الف تا ح) را با یکی از واژه‌های مناسب پر کنید. هر واژه ممکن است بیش از یک بار یا اصلاً استفاده نشود.

ناحیه باریک سنتروبلاست‌ها	
سلول‌های B خاطره‌ای	سلول‌های دندریتیک فولیکولی
ناحیه روشن سنتروسیت‌ها	سلول‌های TH
پلاسمابلاست‌ها	کورتکس
پارا کورتکس	مدولا
الف) اغلب سنتروسیت‌ها به واسطه آپوپتوز در ----- می‌میرند.	
ب) فعال شدن ابتدایی سلول‌های B دست نخورده که توسط آنتی‌ژن‌های TD تحریک می‌شود، در ناحیه ----- گره‌های لنفی انجام می‌گیرد.	
ب) ----- سلول‌های B با تقسیم سریع می‌باشند که در ----- مراکز زایا قرار گرفته‌اند.	
ت) ----- mIg با میل پیوندی بالا را عرضه می‌کند که با آنتی‌ژن به دام افتاده توسط ----- در ناحیه روشن واکنش می‌دهد.	
ث) تعویض رده در ----- رخ می‌دهد و نیازمند تماس میان سلول‌های B و ----- می‌باشد.	
ج) در گره‌های لنفی، پلاسماسل‌ها عمدتاً در ----- فولیکول‌های ثانویه یافت می‌شوند.	
ح) هایپر موتاسیون سوماتیک، که در ----- تکثیری رخ می‌دهد، برای بلوغ میل پیوندی اساسی می‌باشد.	
۷- فعال شدن و تمایز سلول‌های B در پاسخ به آنتی‌ژن‌های وابسته به تیموس به کمک سلول‌های TH نیاز داشته ولی پاسخ سلول‌های B به آنتی‌ژن‌های مستقل از تیموس به آن احتیاجی ندارد.	
الف) تفاوت ساختاری آنتی‌ژن‌های TD, TI-1, TI-2 و خصوصیات پاسخ‌های تحریکی توسط آنها را توضیح دهید.	

- ب) اتصال کدام رده از این آنتی‌ژن‌ها به mIg یک پیام مناسب برای فعال‌شدن سلول‌های B را فراهم می‌کند؟
- ۸- پیام‌های فعال سازی سلول B بایستی به داخل سلول منتقل شوند تا بتواند روی مراحل تکوین تأثیر بگذارند. حال آنکه دنباله‌های سیتوپلاسمی همه ایزوتایپ‌های mIg سلول‌های B برای انتقال پیام بسیار کوتاه می‌باشند.
- الف) چطور سلول‌های B دست نخورده پیام‌های تحریک شده توسط اتصال متقاطع mIg را انتقال می‌دهند؟
- ب) نتایج عمومی انتقال پیام در سلول‌های B طی فعال شدن و تمایز با واسطه آنتی‌ژن را توضیح دهید.
- ۹- کدام یک از گزینه‌های زیر درست و کدام نادرست است. در صورتی که تصور می‌کنید که گزینه‌ای نادرست است، دلیل خود را بیان کنید.
- الف) ساینوکاین‌ها می‌توانند تعیین کنند که کدام یک از بازوهای سیستم ایمنی فعال شود.
- ب) ایمونیزاسیون با کونژوگه حامل - هاپتن منجر به تولید آنتی‌بادی ضد اپی‌توپ‌های هاپتن و حامل می‌شود.
- پ) تمام آنتی‌بادی‌های ترشحی یک پلاسماسل، ایدوتایپ و ایزوتایپ مشابه دارند.
- ت) اگر موش‌های ایمن شده با HRBCs یک روز بعد با SRBCs ایمن شوند، پاسخ آنتی‌بادی ضد SRBCs بسیار بیشتر از موش‌های کنترل که تنها با SRBCs ایمن شده‌اند، می‌شود.
- ث) CD21 تنها یک پذیرنده کمپلمان نیست، بلکه یکی از بخش‌های ضروری مجموعه BCR نیز می‌باشد.
- ج) انتقال پیام از طریق مجموعه BCR منجر به انتقال AP-1 به سیتوزول می‌شود.

چ) دوز یادآور واکسن (بوستر) ضروری می باشد، زیرا تکرار مواجهه با آنتی ژن، پاسخ ایمنی را قوی تر می سازد.

ح) IgA علیه آنتی ژن های TI ساخته می شود.

خ) سلول های B در تیموس به سلول های اجرایی تبدیل می شوند.

د) پس از ترشح مقادیر بالای آنتی بادی توسط پلاسماسل و کاهش میزان آنتی ژن های آزاد، سلول به دلیل عدم تحریک BCR دیگر آنتی بادی ترشح نمی کند.

ذ) آنتی ژن های TI-1 موادی مانند LPS می باشند که می توانند سلول های B را به طور غیر اختصاصی و به میزان بالا فعال کنند.

۱۰- جای خالی را با کلمات یا جملات مناسب پر کنید.

الف) سندرم افزایش IgM وابسته به جنس، در نتیجه نقص در CD40L سطح سلول

T ایجاد می شود، که با مهار ----- روی سلول های B تأثیر می گذارد.

ب) سایتوکاین ----- سبب القای تعویض رده IgE در سلول های B می شود.

پ) زنجیره سبک جانشین Pre-BCR از ----- و ----- تشکیل شده است.

ت) ----- بالغ مقادیر فراوانی IgG محصول تولید می کنند