

29. Gennaio

Attività proteasica ed efficacia vaccinale

Attenzione! Gli uomini vaccinati sono mortali per i bacilli del tifo.

Marcello Marchesi

Dopo l'iniezione, i vaccini drenano verso il linfonodo, dove le **cellule B naïve** nei **follicoli linfonodali** riconoscono gli antigeni del vaccino, si attivano e **mutano i geni delle immunoglobuline** per creare anticorpi protettivi.

Il successo dei vaccini suggerisce che questo processo si verifica in modo efficiente e si traduce in anticorpi contro gli antigeni del vaccino che hanno mantenuto la loro *struttura nativa*.

Tuttavia, durante il trasferimento dal sito di iniezione, i vaccini devono superare una **barriera di di proteasi extracellulari** prima di raggiungere le **cellule B** follicolari.

Non è chiaro in che modo gli antigeni vengano protetti una volta all'interno dei follicoli e come conservano una conformazione strutturalmente intatta per una interazione con le **cellule B**

Anurag Kalia del *Laboratory of Clinical Immunology and Microbiology, National Institutes of Allergy and Infectious Diseases di Bethesda*



Ha dimostrato e pubblicato pochi giorni fa (27 gennaio) che follicoli delle **cellule linfonodali B** possiedono una **bassa attività proteasica intrinseca**, consentendo alle **cellule dendritiche follicolari (FDC)** di mantenere il vaccino nella sua forma nativa migliorando indirettamente l'efficacia del vaccino.

Kalia A et al. A vaccine sanctuary in the lymph node. Science. 2023 Jan 27;379(6630):332-333.

E' bene ricordare che le *funzioni linfonodali* sono supportate da una complessa microarchitettura stromale composta da elementi mesenchimali e vascolari. Diversi sottoinsiemi di **macrofagi (MΦ)** risiedono nel linfonodo, sono dotati di funzioni immunitarie trofiche e stabiliscono un **attivo cross-talk** con i **linfociti T** e le cellule stromali finalizzato a mantenere l'efficienza del linfonodo.

Bellomo A et al. Lymph node macrophages: Scavengers, immune sentinels and trophic effectors. Cell Immunol. 2018 Aug;330:168-174..

In particolare **i macrofagi** del seno sottocapsulare (SCS) drenano gli antigeni dalla linfa e li presentano intatti per l'incontro con le **cellule B** e il rilascio follicolare. Il loro sviluppo dipende dalla **linfotossina-alfa1beta2**, inoltre hanno una bassa espressione di **enzimi lisosomiali** e mantengono gli antigeni opsonizzati sulla loro superficie.

Phan TG et al Immune complex relay by subcapsular sinus macrophages and noncognate B cells drives antibody affinity maturation. Nat Immunol. 2009 Jul;10(7):786-93.

Le **cellule dendritiche follicolari** aiutano a stabilire l'identità del follicolo e promuovono la ritenzione delle **cellule B** nei centri germinali

Wang X et al. Follicular dendritic cells help establish follicle identity and promote B cell retention in germinal centers. J Exp Med. 2011 Nov 21;208(12):2497-510. 7

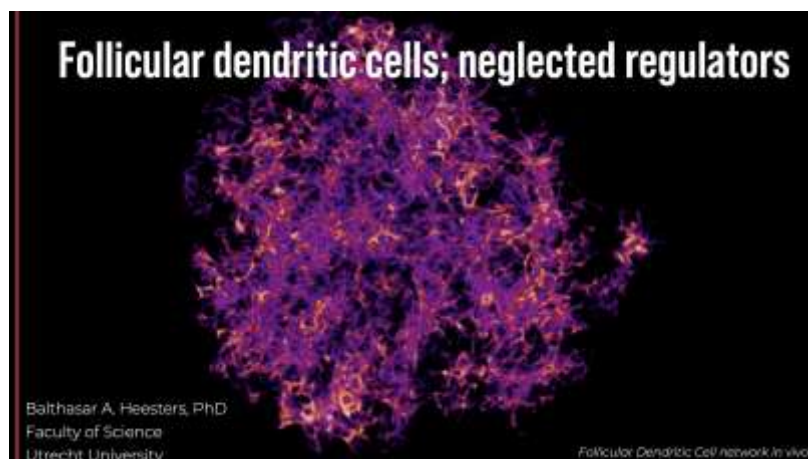
Rappresentano un importante serbatoio per l'antigene che è essenziale per la formazione dei centri germinali, il sito in cui si differenziano le **cellule B** memoria ed effettrici.

Il team di **Balthasar Heester** del Children's Hospital Boston di Harvard



ha chiarito il meccanismo che consente alle **cellule follicolari** di trattenere l'antigene nella sua forma nativa per periodi prolungati per poterlo presentare a **cellule B specifiche** utilizzando complessi immunitari rivestiti di **complemento (IC)** da cellule B tramite i recettori del complemento 1 e 2 (rispettivamente **CD35 e CD21**) che possono essere interiorizzati mediante un percorso dipendente dall'actina e mantenuti intatti all'interno di un compartimento ciclico non degradativo.

Questo consente la loro visualizzazione periodica sulla superficie cellulare e spiega come gli antigeni sono protetti dai danni e conservati per lunghi periodi di tempo possono essere visualizzati periodicamente sulla superficie cellulare e rendersi accessibili alle **cellule B**



Heesters BA et al. Endocytosis and recycling of immune complexes by follicular dendritic cells enhances B cell antigen binding and activation. Immunity. 2013 Jun 27;38(6):1164-75.

Per generare risposte immunitarie protettive, gli **antigeni vaccinali** devono indurre la produzione di anticorpi capaci di legarsi ad "epitopi chiave" presenti sulla superficie dei patogeni, promuovendo così l'eliminazione dei patogeni.

Nonostante i progressi nell'ingegneria degli immunogeni che imitano da vicino le strutture proteiche dei patogeni nativi, non tutti i vaccini suscitano una immunità umorale protettiva.

L'integrità degli antigeni del vaccino in vivo è un fattore importante.

Dopo la vaccinazione vengono trasportati dal sito di iniezione dai vasi linfatici ai linfonodi drenanti, tessuti in cui vengono avviate le risposte immunitarie.

La *degradazione dell'antigene* nei linfonodi (LN) potrebbe limitare la generazione di risposte anticorpali protettive e determinare risposte irrilevanti concorrenti contro i prodotti di degradazione dell'antigene.

L'attività della *proteasi extracellulare* all'interno del LN non è stata sufficientemente analizzata e in particolare non è noto come la potenziale attività proteolitica presente nel linfonodo possa influenzare la struttura immunogenica e le successive risposte immunitarie.

Il team di **Aereas Aung** del *Koch Institute for Integrative Cancer Research, MIT, Cambridge, MA, USA*.



Ha il 26 gennaio pubblicato su *Science* il report:

Low protease activity in B cell follicles promotes retention of intact antigens after immunization.

Attraverso la caratterizzazione *dell'attività proteasica* nei linfonodi ha scoperto che gli antigeni erano rapidamente degradati nel seno sottocapsulare, nella paracorteccia e nelle regioni interfollicolari, mentre una *bassa attività della proteasi* e tassi di degradazione dell'antigene sono stati rilevati in prossimità delle *cellule dendritiche follicolari (FDC)*.

Ne consegue che per attivare una risposta anticorpale valida, gli antigeni in entrata devono essere localizzati in siti specifici all'interno dei follicoli. Infatti gli antigeni che non erano diretti rapidamente ai follicoli venivano distrutti dalle *proteasi*.

I vaccini che hanno portato a un rapido rilascio di antigeni ai follicoli conservavano l'antigene intatto e generavano migliori risposte anticorpali.

Questi risultati oltre ad avere implicazioni preziose per la progettazione di vaccini contro agenti patogeni difficili da neutralizzare o geneticamente variabili, evidenziano come una *bassa attività della proteasi* follicolare sia importante per una ritenzione intatta dell'antigene.

Pertanto sono state testate strategie di vaccinazione per massimizzare la risposta umorale all'antigene intatto. L'immunizzazione mediante regimi di "dosaggio esteso" o formulazioni di nanoparticelle che miravano rapidamente all'antigene verso le *FDC* è stata confrontata con la tradizionale vaccinazione con antigene solubile in bolo (in cui si osserva un ridotto assorbimento follicolare dell'antigene). Le vaccinazioni mirate a *FDC* hanno portato a grandi *centri germinali (GC)*, con un numero elevato di *cellule B* che riconoscono l'antigene intatto.

Al contrario, l'immunizzazione tradizionale in bolo ha portato a **piccoli GC** con **cellule B** che riconoscevano ugualmente l'antigene intatto e i prodotti di degradazione.

Sono stati utilizzati gli immunogeni dell'HIV come sistema modello e misurato la stabilità dell'antigene nel LN, identificato le proteasi degradative ed esplorato le strategie di vaccinazione per massimizzare la consegna di antigeni intatti alle cellule B.

La stabilità dell'antigene all'interno del LN è stata analizzata coniugando antigeni con coloranti che subiscono una perdita nel trasferimento di energia di risonanza di fluorescenza (FRET) in caso di rottura strutturale. Dopo la vaccinazione, l'antigene è stato rapidamente degradato nel seno sottocapsulare (SCS) e nelle regioni extrafollicolari del LN entro 48 ore, con circa la metà della rottura dell'antigene che si è verificata a livello extracellulare. Al contrario, l'antigene localizzato nei follicoli delle cellule B è rimasto intatto.

Per determinare la causa della degradazione dell'antigene, abbiamo esaminato l'espressione e l'attività della proteasi nei LN. Il sequenziamento dell'RNA, l'istologia e la zimografia di imaging hanno rivelato che le proteasi extracellulari e l'attività proteasica erano presenti a livelli elevati nelle regioni SCS e extrafollicolari, ma erano presenti a bassi livelli all'interno dei follicoli. Le metalloproteasi identificate hanno degradato l'antigene in vitro e la loro inibizione in vivo ha aumentato i livelli di antigene intatto all'interno del LN.

In sintesi

Una rapida degradazione dell'antigene può verificarsi nei linfonodi dopo la vaccinazione, tranne che all'interno dei follicoli. Questa degradazione è mediata dalla **proteolisi spazialmente compartimentata** all'interno del tessuto.

Le strategie vaccinali che promuovono una rapida localizzazione dell'antigene follicolare promuovono e promosso la generazione di anticorpi contro l'antigene intatto senza amplificare le risposte a prodotti di degradazione dell'antigene irrilevanti. Tali approcci possono consentire vaccini più efficaci contro agenti patogeni difficili come l'HIV e non solo

Aung A et al . Low protease activity in B cell follicles promotes retention of intact antigens after immunization. Science. 2023 Jan 27;379(6630):eabn8934.

Lecture consigliate

Centro germinale linfonodo

I centri germinali (GC) sono siti di rapida proliferazione delle cellule B in risposta a determinati tipi di immunizzazione. Insorgono in circa 1 settimana e possono persistere per diversi mesi. Nei GC, le cellule B si differenziano in un modo unico e iniziano a subire mutazioni somatiche delle regioni Ig V ad un ritmo elevato. Le cellule GC B (GCBC) subiscono quindi una diversificazione clonale che può influenzare l'affinità del recettore delle cellule B appena mutato (BCR) per il suo antigene guida. Attraverso processi ancora poco conosciuti, i GCBC con maggiore affinità vengono selettivamente espansi mentre quelli con mutazioni che inattivano il BCR vengono persi. Inoltre, in vari momenti durante la reazione GC estesa, alcuni GCBC subiscono la differenziazione in cellule B di memoria a lunga vita (MBC) o plasmacellule. I segnali cellulari e molecolari che governano queste decisioni del destino non sono ben compresi, ma sono un'area di ricerca attiva in più laboratori.

Shlomchik MJ et al. Linking signaling and selection in the germinal center. Immunol Rev. 2019 Mar;288(1):49-63.

I centri germinali (GC) sono stati descritti più di 125 anni fa come compartimenti all'interno di organi linfoidi secondari che contenevano cellule mitotiche. Da allora, è diventato chiaro che questa struttura è il sito dell'espansione clonale delle cellule B, dell'ipermutazione somatica e della selezione basata sull'affinità, la cui combinazione porta alla produzione di anticorpi ad alta affinità. Decenni di studi anatomici e funzionali hanno portato a un modello generale di come operano la reazione GC e la selezione basata sull'affinità. Più recentemente, l'introduzione dell'imaging intravitale nel campo GC ha aperto la porta all'indagine diretta di

alcune caratteristiche dinamiche chiave di questa struttura microanatomica, suscitando un rinnovato interesse per la relazione tra movimento cellulare e maturazione dell'affinità

[Victoria GD et al. *Germinal centers*. *Annu Rev Immunol*. 2012;30:429-57.](#)

Un aspetto poco esplorato della progettazione del vaccino è la modulazione della cinetica dell'antigene. Recentemente è stato dimostrato che le strategie di immunizzazione con disponibilità estesa dell'antigene migliorano le risposte umorali. In questa recensione, esploriamo i meccanismi attraverso i quali la disponibilità prolungata dell'antigene può migliorare le risposte del centro germinale e la potenza delle risposte anticorpali. Questi potenziali meccanismi includono lo spostamento del riconoscimento delle cellule B lontano dagli epitopi immunodominanti non neutralizzanti, la cinetica alterata della deposizione di immunocomplessi, migliori risposte delle cellule T helper follicolari (Tfh), maggiore maturazione dell'affinità e maggiore sviluppo della memoria delle cellule B. Infine, discutiamo le strategie di immunizzazione che si traducono in una disponibilità estesa dell'antigene.

[Cirelli KM et al. *Germinal center enhancement by extended antigen availability*. *Curr Opin Immunol*. 2017 Aug;47:64-69.](#)

Le cellule stromali (SC) stabiliscono la compartimentazione dei tessuti linfoidei critici per la risposta immunitaria. Tuttavia, la piena diversità delle SC linfonodali (LN) rimane indefinita. Utilizzando il sequenziamento dell'RNA a cellula singola basato su goccioline, abbiamo identificato nove cluster SC non endoteliali LN periferici. Sono inclusi i sottoinsiemi stabiliti, cellule reticolari della zona T Ccl19 hi (TRC), cellule reticolari marginali, cellule dendritiche follicolari (FDC) e cellule perivascolari.

[LB Rodda et al. *Il sequenziamento dell'RNA a cellula singola delle cellule stromali dei linfonodi rivela l'eterogeneità associata alla nicchia*. *Immunità* 48, 1014–1028.e6 \(2018\).](#)

Definire dove e in quale forma i linfociti incontrano l'antigene è fondamentale per capire come si verificano le risposte immunitarie. Anche se la conoscenza del riconoscimento dell'antigene da parte delle cellule T CD4(+) e CD8(+) è notevolmente avanzata, la comprensione delle dinamiche degli incontri cellula-antigene B è rimasta indietro. Con l'applicazione di approcci avanzati di imaging, gli incontri di questo terzo tipo vengono ora messi a fuoco. Molteplici processi facilitano questi incontri, dalle funzioni di filtraggio dei tessuti linfoidei e dai percorsi di migrazione delle cellule B alle proprietà di presentazione dell'antigene dei macrofagi e delle cellule dendritiche follicolari

[BA Tamburini et al. *Cattura e archiviazione dell'antigene da parte delle cellule endoteliali linfatiche in seguito a vaccinazione o infezione virale*. *Nat. Commun.* 5, 3989 \(2014\).](#)

Lunedì 30 gennaio

Anteprima da *CELL* febbraio 2023



L'uomo "alfa" è sconfitto dall'uomo "beta" precipita nella depressione: ovvero i tormenti della *habenula laterale*.

Neural mechanism underlying depressive-like state associated with social status loss

Cell 186. febbraio