

Prvky imunitního způsoblosti

SOUHRN

Cílem disertační práce bylo definovat podíl diverzity receptorů pro antigen na funkcích, které určují adaptivní imunitu. Obvykle se předpokládá, že imunologická způsoblost vyžaduje diverzitu lymfocytárních receptorů. My jsme tuto hypotézu ověřili na modelu omezené lymfocytární diverzity. Byla testována způsoblost buňkami zprostředkované imunity myši s omezenou diverzitou receptorů TCR. Byl ověřen vliv omezené diverzity receptorů TCR na vznik B lymfocytární odpovědi indukované modelovými antigeny.

Koncept způsoblosti buňkami zprostředkované imunity ve vazbě na diverzitu receptorů PCR byl ověřen na myších experimentálních modelech, který zahrnovaly myši $JH^{-/-}$, u kterých nejsou vyvinuty B lymfocyty a mají diverzitu receptorů TCR $< 1\%$, kmen konvenčních myši a quasimonoklonální (QM) myši s oligoklonální B lymfocytární populací a diverzitou oblastí V TCR receptorů 7% v porovnání s konvenčním kmenem. V experimentech jsme zjistili, že myši $JH^{-/-}$ odhojují H-Y inkompatibilní kožní štěpy stejně rychle jako konvenční kmen myši, přestože mají omezený repertoár TCR receptorů $> 99\%$ a projevují známky defektní organogeneze lymfoidních orgánů. Myši $JH^{-/-}$ reagují aktivací T lymfocytů po stimulaci peptidem a vykazují opožděný typ hypersenzitivity, přestože intenzita těchto reakcí je nižší než u konvenčních myši, buď jako důsledek omezeného repertoáru TCR nebo defektní organogeneze lymfoidních orgánů. Myši QM s repertoárem TCR omezeným na $> 90\%$ a normálním vývojem lymfoidních orgánů, odhojují H-Y inkompatibilní kožní štěpy srovnatelně s konvenčním kmenem myši a mají zachovanou schopnost aktivace T lymfocytů i opožděné hypersenzitivní reakcí. Myši QM jsou také odolné vůči infekci *Pneumocystis murina* v míře srovnatelné s konvenčním kmenem myši. Lze tedy uzavřít, že buňkami zprostředkovaná imunita u myši $JH^{-/-}$ a QM myši vykazuje normální funkce, přestože je diverzita receptorů TCR je omezena na $> 99\%$ a $> 90\%$. Naše výsledky ukázaly, že mnohé z aktivit připisovaných T lymfocytům se jeví být nezávislé na diverzitě receptorů TCR.

S cílem ověřit adaptivní výhody diverzity receptoru pro antigen, jsme ověřili hypotézu, zda omezení repertoáru TCR receptorů negativně ovlivní B lymfocytární odpověď a tvorbu vysokoafinních protilátek. V protikladu vůči předpokladu, že u dospělých jedinců probíhá vznik paměťových B lymfocytů nezávisle na thymu, prokázali jsme experimentálně, že odstranění thymu po ustavení T lymfocytárního kompartmentu nebo po „sham“ operaci bez odstranění thymu negativně ovlivní afinitní vyžívání protilátek. Protože odstranění nebo manipulace s thymem snižuje frekvenci mutací v exonech kódujících variabilní část molekuly protilátek specifických pro antigen, uzavíráme, že thymus kontroluje afinitní vyžívání protilátek u dospělých jedinců mechanismem usnadnění selekce klonů B lymfocytů se schopností produkovat vysokoafinní protilátky.

Klíčová slova: repertoár, TCR, BCR, thymus, thymektomie, B lymfocyty, afinitní vyžívání

Elements of Immune Fitness

SUMMARY

The goal of this thesis was to define the contribution of lymphocyte receptor diversity to the functions that define adaptive immunity. Most in the field of immunology believe that immune fitness requires lymphocyte receptor diversity. In models of contracted lymphocyte diversity, we tested this idea. We tested the fitness of cell-mediated immunity in mice with contracted T cell diversity and we tested the impact of contracted T cell receptor diversity on the generation of B cell responses to model antigens.

We tested the concept of that the fitness of cell-mediated immunity depend on TCR diversity using $JH^{-/-}$ mice that lack B cells and have TCR V diversity $< 1\%$ that of wild-type mice and quasimonoclonal (QM) mice with oligoclonal B cells and TCR V diversity 7% that of wild-type mice. Despite having a TCR repertoire contracted $>99\%$ and defective lymphoid organogenesis, $JH^{-/-}$ mice rejected H-Y-incompatible skin grafts as rapidly as wild-type mice. $JH^{-/-}$ mice exhibited T cell priming by peptide and delayed-type hypersensitivity, although these responses were less than normal owing either to TCR repertoire contraction or defective lymphoid organogenesis. QM mice with TCR diversity contracted $> 90\%$, and normal lymphoid organs rejected H-Y incompatible skin grafts as rapidly as wild type mice and exhibited normal T cell priming and normal delayed-type hypersensitivity reactions. QM mice also resisted *Pneumocystis murina* like wild-type mice. Thus, cell-mediated immunity can function normally despite contractions of TCR diversity $> 90\%$ and possibly $> 99\%$. Our results showed that many of the responses attributed to T cells appear to be independent of TCR diversity.

In search for an adaptive advantage of receptor diversity, we asked whether contractions of T cell receptor diversity impaired B cell responses and the generation of high affinity antibodies.

Contrary to the prediction of that in mature individuals the generation of B-cell memory would proceed independently of the thymus, we show here that removal of the thymus after the establishment of the T-cell compartment or sham surgery without removal of the thymus impairs the affinity maturation of antibodies. Because removal or manipulation of the thymus did not decrease the frequency of mutation of the Ig variable heavy chain exons encoding antigen-specific antibodies, we conclude that the thymus controls affinity maturation of antibodies in the mature individual by facilitating selection of B cells with high affinity antibodies.

Key words: repertoire, TCR, BCR, thymus, thymectomy, B cells, affinity maturation