

## T LENFOSİT RESEPTÖR GENLERİNİN DÜZENLENMESİ The rearrangement of T-cell receptor genes

Yusuf ÖZBAL<sup>1</sup>, Müge OĞUZKAYA<sup>2</sup>

**Özet:** T hücre değişiminde reseptör genleri B lenfositlerine benzer şekilde programlanarak düzenlenmektedir. Öncü T hücreler, gelişimi sürecinde ya  $\gamma\delta$  veya  $\alpha\beta$  zincirli reseptör kazanarak olgunlaşmaktadır. Ontogenin erken döneminde  $\gamma$ -zincirli T hücreleri baskındır, fakat doğumdan sonra T hücrelerin %90'ından fazlası  $\alpha\beta$  zincirli reseptör içermektedir.  $\gamma\delta$  zincirli T hücrelerin fonksiyonu henüz tam olarak açıklanmamışsada, bu iki tip T hücre değişik dokulara yerleştiği ve fonksiyonlarının farklı olduğu bilinmektedir.  $\gamma\delta$  T hücresi oluşturmak üzere yönelen öncü hücrelerde  $\gamma$  ve  $\delta$  genleri kendiliğinden yeniden düzenlenmektedir.  $\alpha\beta$  zincirli T hücrelerde ilk  $\beta$ -zincir genleri düzenlenmekte ve  $CD_4/CD_8$  ekspresyonu için gerekli olan  $\beta$ -zincirin hücre yüzeyine bağlanmasını takiben oluşan  $CD_4$ ,  $CD_8$  double-pozitif timositlerde  $\alpha$ -zincir geni yeniden düzenlenmesi olmaktadır.  $\gamma\delta$  T hücrelerde gen düzenlenmesinin sonlanmasıyla fonksiyonel hücre yüzey reseptör sinyal üretimi,  $\gamma\delta$  T hücresine ekprese olan tek tip reseptör özgülüğüne bağlıdır.  $\alpha\beta$  T hücrelerinde  $\alpha$ -zincir gen düzenlenmesi, özgül olarak tek tip ekspresyon bir defada olmakta ve seleksiyon süresince devam etmektedir.  $\alpha\beta$  ve  $\gamma\delta$  T hücreleri tek tip reseptör özgülüğüne sahip olarak olgunlaşmaktadırlar.

**Anahtar Kelimeler:** Gen yeniden düzenlenmesi, T lenfositleri

**Abstract:** In differentiating T cells, receptor genes rearrange according to a defined program which is similar to that in B cells. Individual precursor cells can follow one of two distinct lines of development, leading either to cells bearing  $\gamma\delta$  receptors or to cells bearing  $\alpha\beta$  receptors. Early in ontogeny,  $\gamma\delta$  T cells predominate, but from birth onwards more than 90 % of T cells express  $\alpha\beta$  receptors. The two T cell lineages home to different tissues and perform different functions, although the function of  $\gamma\delta$  T cells is not yet fully established. In precursors destined to become  $\gamma\delta$  T cells, the  $\gamma$  and  $\delta$  genes seem to rearrange virtually simultaneously. In cells of the  $\alpha\beta$  lineage, the  $\beta$ -chain genes rearrange first and the expression of a functional  $\beta$  chain at the cell surface signals for  $CD_4$  and  $CD_8$  expression and for the subsequent rearrangement of the  $\alpha$  chain in  $CD_4$ ,  $CD_8$  double-positive thymocytes. The production of a functional cell surface receptor signals the cessation of gene rearrangement in  $\gamma\delta$  T cells, each  $\gamma\delta$  T cell expresses a single type of receptor of unique specificity.  $\alpha$ -chain gene rearrangement occurs continuously during selection in  $\alpha\beta$  T cells, but only a single specificity is expressed at one time.  $\alpha\beta$  and  $\gamma\delta$  T cells mature into cells expressing a single receptor specificity.

**Key Words:** Gene rearrangement, T-lymphocytes

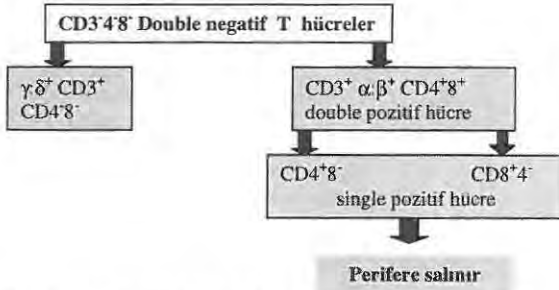
Kemik iliğinden timusa gelen öncü T hücreleri, timusun kontrolünde olgunlaşarak timusa bağımlı T lenfositleri oluşturmaktadır. Timusun korteks bölgesinde ektodermal orjinli kortikal epitel hücreleri, kemik iliği orjinli timositler ve bu hücreleri saran subkapsüler epitel hücreleri; medulla bölgesinde ise Hassall korpuskül hücrelerin dışında endodermal orjinli medüller epitel hücreleri, kemik

iliği orjinli makrofajlar ve dentritik hücreleri yer almaktadır. İmmatur T hücrelerin proliferasyonu ve farklılaşması timusta başlamakta ve hücre yüzeyinde pekçok reseptör kazanmaktadır. Timositlerin ancak %2'si reseptör kazanarak perifere salınmakta diğerleri ölmektedir. Timositlerin gelişimi sırasında yeniden gen düzenlenmesi sonucu TCR (T cell receptor)'ler oluşmakta ve T hücreler pozitif/ negatif seleksiyona uğramaktadır. Timustaki öncü T lenfosit popülasyonunda TCR/ $CD_3$  kompleksi,  $CD_4$  ve  $CD_8$  reseptörleri henüz yoktur. Bu safhada reseptör genlerinin yeni düzenlenmesi henüz olmadığından,

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi 38039 KAYSERİ  
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji, Prof.Dr.<sup>1</sup>, Araş.Gör.Dr.<sup>2</sup>

Geliş tarihi: 10 Şubat 1999

bunlara **double-negatif timosit**'ler ( $CD_3^+4^+8^-$ ) denir.  $CD_3$  reseptörü kazanan fakat henüz  $CD_4$  ve  $CD_8$  reseptörü olmayan hücrelerin %20'si  $\gamma$ : $\delta$  zincirli ( $\gamma$ : $\delta^+CD_3^+4^+8^-$ ), %75'i  $\alpha$ : $\beta$  zincirli ( $\alpha$ : $\beta^+CD_3^+4^+8^-$ ) TCR içeren timositler şekline farklılaşırlar (Şekil 1).  $\gamma$ : $\delta^+$  zincirli TCR'lerin rolü bilinmemektedir. Timositlerdeki zincir,  $CD_8$  ve kısa süre sonra  $CD_4$  ile bağlanır. Bunlar,  $CD_8$  ve  $CD_4$  içeren **double-positif timosit**'lerdir ( $\alpha$ : $\beta^+CD_3^+4^+8^+$ ).  $\alpha$ : $\beta$  zincir genleri erken safhada düzenlenmekte ve sonra  $\alpha$ : $\beta$  tamamlanarak TCR oluşmaktadır. Bu hücrelerin %90'ı timusta ölmektedir. Double-negatif veya double-positif hücreler MHC'yi tanımazlar. Ancak, pozitif seleksiyona uğradıktan ve yüksek oranda TCR ile  $CD_4$  veya  $CD_8$  reseptörlerden birini kazandıktan sonra MHC'yi tanırlar. Bu tip hücelere **single-positif timositler** ( $CD_4^+CD_8^-$  veya  $CD_4^-CD_8^+$ ) denir (3,6).



**Şekil 1.** Timositlerde hücre yüzey moleküllerinin değişim basamakları

Double-negatif timositler timusun subkapsüler bölgesinde proliferere olduktan sonra korteks bölgesine göç ederek double-positif hücre şekline farklılaşmaktadır. Single-positif timosit şekline dönüşen hücreler medüllaya geçerek olgunlaşmakta ve seçilen olgun T lenfositler timustan ayrılarak periferde salınmaktadır. Bu olgun T lenfositler daha fazla proliferere olmazlar. Double-positif hücreler de negatif seleksiyona uğrayabilmektedir (5,8).

Timosit olgunlaşmasının erken safhalarında, immatur T lenfositlerin çoğunda bulunan özgül reseptörleri yapmak için önceden programlanmış bir

seri gen ekspresyonu ile gen yeniden düzenlenmesi olmaktadır. Bu genler farklı kromozom üzerinde yer almaktadır (Tablo I). Gen yeniden düzenlenmesi, B lenfositlerin gen düzenlenmesine benzersede iki fark vardır. Birincisi, iki farklı reseptör olan  $\alpha$ : $\beta$  ve  $\gamma$ : $\delta$  reseptör genlerinin farklı iki grup T lenfositlerde düzenlenmesidir. İkinci fark; TCR genlerinin yeniden düzenlenmesi, tek lokusda çok oranda tekrar olmasıdır. Pek çok hücrede reseptör oluşumu için yeniden gen düzenlenmesi başlangıçta yetersizdir.  $\alpha$ : $\beta$  zincirlerin timositlere bağlanması ile pozitif/negatif seleksiyona uğrayacak olan double-positif timositler oluşmaktadır.

**Tablo I.** İnsan ve farede antijen tanıyan molekül genlerinin yer aldığı kromozomlar

Peptid	İnsanda kromozom no	Farede kromozom no
IgH zinciri	14	12
IgL $\lambda$ zincir	22	16
IgL $\kappa$ zincir	2	6
TCR $\alpha$	14	14
TCR $\beta$	7	6
TCR $\gamma$	7	13
TCR $\delta$	14	14
MHC	6	17
$\beta$ mikroglobulin	2	15

$\alpha$ : $\beta$  zincirli T lenfositleri gibi hematopoitik kök hücrelerden gelişen  $\gamma$ : $\delta$  T lenfositlerinin; özgüllükleri,  $CD_4$  ve  $CD_8$  reseptör ekspresyonu, anatomik dağılımları, fonksiyonları  $\alpha$ : $\beta$  T lenfositlerden farklıdır (6). T öncü hücrelerde reseptör gen ekspresyonunu kontrol eden sinyaller kesin olarak bilinmemekte, ancak bu sinyallerin  $\gamma$ -zincir genlerinin ekspresyonunu kontrol eden düzenleyici bölgeler üzerinde olduğu

düşünülmektedir. Bu genler, B lenfositlerdeki Ig genleri gibi düşük oranda transkribe olmakta ve  $\gamma\delta$  bağlantısı yapmak için timositlerde görülmektedir.  $\alpha\beta$  zincirli olgun hücrelerde  $\gamma$ -zincir geni predominanttır.  $\gamma$ -zincir geni baskılandığı zaman normal sayıda  $\alpha\beta$  zincirli T lenfositleri oluşmaktadır. Baskılanma bölgesi çıkarılırsa da çok sayıda  $\gamma\delta$  zincirli T lenfositler oluşurken  $\alpha\beta$  zincirli T hücrelerin farklılaşması baskılanmaktadır (7). Bu bilgiler, T lenfosit gelişiminde  $\alpha\beta$  zincirli T lenfosit oluşurken bir  $\gamma$ -silencer proteini kodlayan  $\gamma$ -zincir geninin olduğunu düşündürmektedir.  $\alpha\beta$  veya  $\gamma\delta$  zincirli T lenfositlerin oluşumunu başlatan sinyaller timustan mı yoksa timusa ulaşım yollarından mı kaynaklandığı bilinmemektedir.

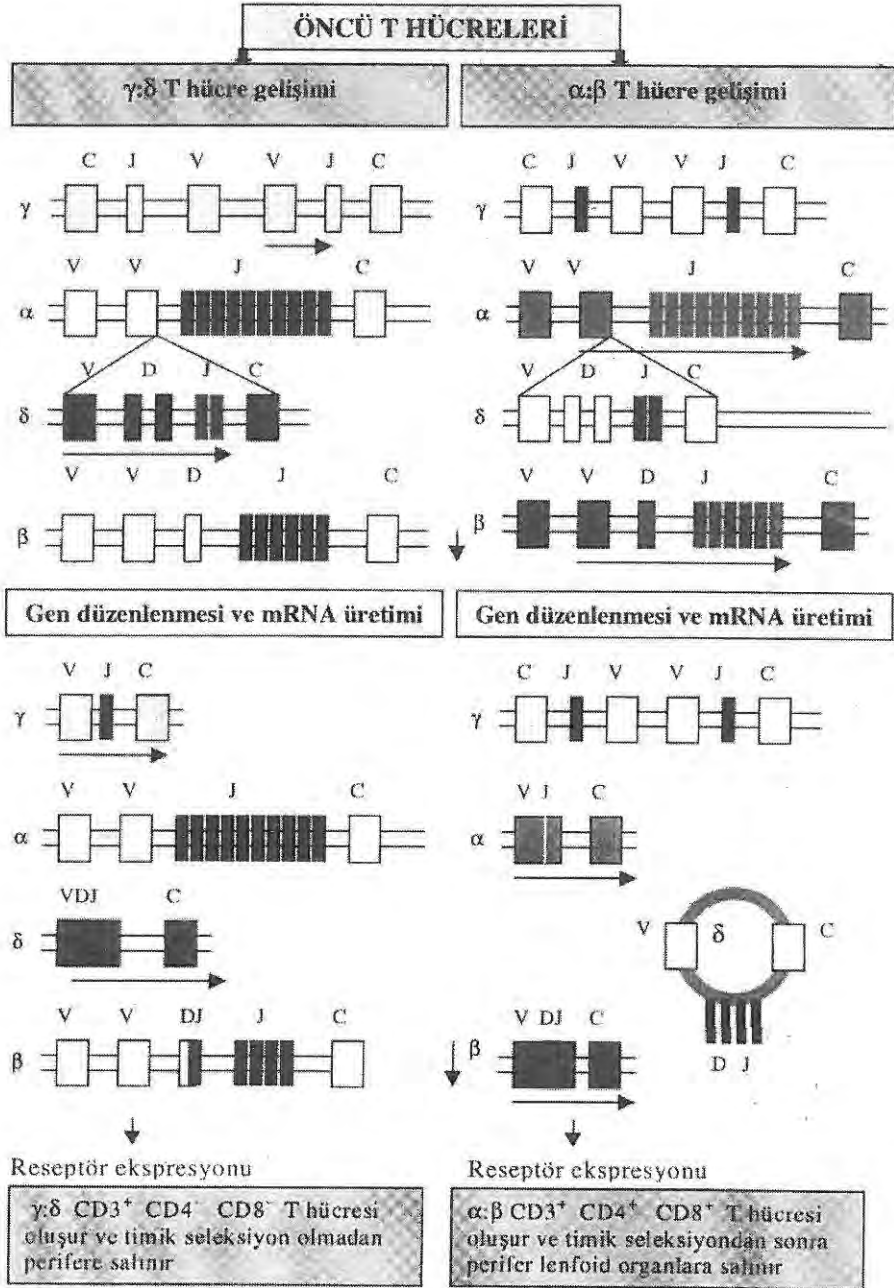
İşlem görmemiş öncü T hücreleri bilinmeyen bir sinyalde  $\alpha\beta$  veya  $\gamma\delta$  T lenfositini oluşturmak üzere uyarılırlar. Uyarı  $\gamma\delta$  zincirli T hücresi için ise  $\gamma$ -zincir genleri transkribe olmakta ve düzenlenmektedir.  $\gamma$ -zincir ekspresyonunu takiben  $\gamma\delta$  zincirli reseptörler oluşmaktadır.  $\gamma\delta$  zincirli reseptör içeren T hücreleri CD<sub>4</sub>, CD<sub>8</sub> ekspresyonu yapmazlar. Eğer  $\alpha\beta$  zinciri uyarılırsa  $\beta$ -zincir gen transkripsiyonu ve düzenlenmesini takiben  $\alpha\beta$  reseptör ekspresyonu olmaktadır.  $\alpha$  zincir gen düzenlenmesinde  $\delta$  parçası dizinden çıkarılmaktadır (3,7). Dizinden çıkarılan  $\delta$  gen parçası içeren sirküler DNA, T lenfosit gelişimi boyunca bir daha yeniden düzenlenemez (Şekil 2).  $\gamma$ -zincirli double-negatif T hücreleri timik seleksiyon olmadan, fakat  $\alpha\beta$  zincirli double-pozitif hücreler ise timik seleksiyon olduktan sonra perifere salınmaktadır.

Embryonik gelişim sırasında oluşan ilk T hücreleri  $\gamma\delta$  zincirlidir.  $\gamma\delta$  T hücreleri ilk epidermise yerleşir ve bunlara dentritik epidermal hücreler denir. İkinci kez gelenler lenfoid dokunun epitel tabakalarına yerleşirler. İlk gelen hücreler tarafından oluşturulan reseptörler homojen dağılımlıdır. Her birinde V $\gamma$  (değişken) ve V $\delta$  gen dizileri ve aynı oranda J (bağlantı) bölgeleri vardır. Erken T hücrelerinde terminal deoksiniükleotil transferaz enzimi olmadığından bunların V, D (çeşitlilik), J gen segmentleri arasında bağlantıda katkısı olan N-

nükleotidler (ağır ve hafif zincir üzerinde ekstra nükleik asit içeren nükleotide P-nükleotid, ağır zincir gen segmentlerinin rekombinasyonu sırasında oluşan tamamlanmamış kodlu nükleotide N-nükleotid denir) yoktur (1,2). Gelişimin ileri safhalarında  $\alpha\beta$  zincirli TCR içeren T lenfositler çoğunlukta olup timositlerin %95'inde vardır.  $\gamma\delta$  T lenfositlerin çoğu,  $\alpha\beta$  T lenfositleri gibi periferik lenfoid dokularda ilk tercih ettikleri epidermisten daha çok bulunur. B lenfositlerdeki fotal gelişime benzer şekilde, V gen değişimi ve N-nükleotid eklenmesi ile  $\gamma\delta$  T hücrelerinde görülen değişimler, bir hematopoietik gelişim programıdır.  $\gamma\delta$  T lenfositlerin fonksiyonu kesin bilinmemektedir.

$\beta$ -zincir gen düzenlenmesi,  $\alpha$ -zincir gen düzenlenmesini başlatmaktadır. Erken  $\gamma\delta$  zincirli T hücrelerin oluşumundan birkaç gün sonra,  $\alpha\beta$  zincirli T hücreleri reseptörlerinin ekspresyonunu yaparak  $\alpha\beta$  zincirli timosit haline gelir. T lenfosit gelişiminde  $\alpha$  ve  $\beta$  zincir genlerinin düzenlenmesi, B lenfosit gelişimindeki immünoglobulin (Ig) ağır/hafif zincir gen düzenlenmesi ile paraleldir.  $\beta$ -zincir geni önce düzenlenir. D $\beta$  gen parçası, J $\beta$  gen parçasına bağlanır ve buna V  $\beta$ nın DJ $\beta$  gen bağlanması izler. Eğer bu bağlanmalarda fonksiyonel  $\beta$ -zincir sentezlenmezse hücre reseptör yapamayarak ölecektir. Üretken olmayan Ig ağır zincir gen düzenlenmesi yapan B lenfositlerden farklı olarak, üretken olmayan  $\beta$ -zincir VDJ düzenlenmesine sahip timositler, D $\beta$  ve J $\beta$  gen bölgelerinin iki grup halinde organizasyonlarından dolayı sonraki yapılanma ile kurtarılabilir (4).

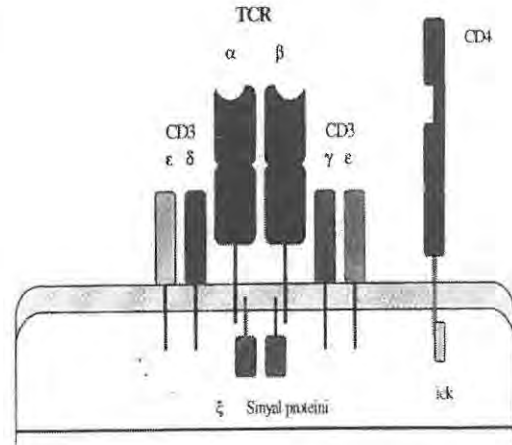
Double-negatif timositlerin ilk TCR'lerinde de  $\beta$ -zincir gen düzenlenmesi olmaktadır. Ig ağır zincirinde olduğu gibi D geni J'ye ve V geni DJ'ye bağlanarak düzenlenir. Dört D gen bölgesi ve iki set J gen bölgesi  $\beta$ -zincir genlerinde üretken düzenlemeye olanak sağlamaktadır. Üretken  $\beta$ -zincir gen yapılanması bir kez olduğunda,  $\beta$ -zinciri X olarak isimlendirilen bir proteinle hücre yüzeyine eksprese olmakta ve hücre yüzeyinde CD<sub>3</sub> kompleksi ile  $\beta$ :X heterodimeri belirlemektedir. Pre-B hücre reseptör kompleksinde olduğu gibi; bu  $\beta$ :X heterodimeri hücrelerin hızla proliferasyonunu



Şekil 2.  $\gamma:\delta$  ve  $\alpha:\beta$  T hücrelerinin gelişim basamakları

ğlayan fonksiyonel bir reseptördür. Ayrıca, TCR  $\beta$ -zincir gen yeniden düzenlenmesini ve hücreye herhangi bir yolla sinyal vererek CD<sub>4</sub> ve CD<sub>8</sub> reseptörlerin ekspresyonunu koordine etmektedir (3,4). Böylece, ilk  $\alpha$ -zincir gen yeniden düzenlenmesi sağlanmakta ve  $\delta$ -zincir genlerini inaktive ederek bütün  $\delta$ -zincir D, J ve C gen parçalarını kromozomdan çıkarmaktadır.  $\alpha$ -zincir gen yeniden düzenlenmesi, çok sayıda V ve J gen segmentleri içermesi nedeniyle fonksiyonel  $\alpha$ -zinciri oluşturması için  $\beta$ -zinciri ile çift oluşturma kadar çok sayıda döngü ile ilerlemektedir. Proliferasyon; CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> ekspresyonu ve  $\beta$  zincir düzenlenmesinin durması, daha sonra CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> reseptörleriyle ilişkiye girecek olan lck trozinkinazı gerektirir (Şekil 3). Hücre membranında bulunan protein tirozinkinaz moleküllerinin uyarılmasıyla aktive olan kinazlar, fosfatidil inositol, diasilgliserol ve inositol trifosfat'a bağlanarak fosfolipaz C'yi aktive eder. Diasilgliserol protein kinaz C'yi aktive ederken, inositol trifosfat intraselüler Ca<sup>++</sup> konsantrasyonunu arttırmaktadır. Protein kinaz-C ile Ca<sup>++</sup> iyonların diğer proteinleri uyarılmasıyla, T/B lenfositlerin proliferasyonu ve farklılaşmasında gerekli sitokinlerin sentezi için özgül gen transkripsiyonu başlamaktadır. Böylece T lenfositlerinde bulunan TCR/CD<sub>3</sub> ve CD<sub>4</sub> veya CD<sub>8</sub> reseptörlerinin hücre dışı uzantısına antijen sunucu hücrelerin antijene ait peptid ile yüklü MHC molekülleri bağlanınca TCR/CD<sub>3</sub> reseptörün intrasitoplazmik kısmında aktif fosforilasyon olmaktadır. lck'den yoksun farelerde T hücre gelişimi, double-positif duruma geçmeden önce durmaktadır.  $\beta$ -zincir gen düzenlenmesinin baskılanmasında  $\beta$  zincirin rolü,  $\beta$ -zincir transgenine sahip transgenik farelerde gösterilmiştir. Bu farelerin bütün T hüceleri transgenik  $\beta$ -zincirini eksprese etmekte, fakat bunlarda endojen  $\beta$ -zincir geni düzenlenmesi olamamaktadır.  $\beta$ :X heterodimer ekspresyonu ile başlayan proliferasyon süresince reseptör gen rekombinasyonlarını yönlendiren RAG-1 ve RAG-2 genleri (*Recombination activator genes*) transkribe olarak aktif kalır. Fakat RAG-2 proteini

sirkülasyondaki hücrelerde hızla tahrip olduğundan ortamda bulunmaz. Bu nedenle  $\alpha$ -zincir gen düzenlenmesi, proliferatif faz sona erip RAG-2 proteinin yeniden toplanmasından önce olmaz.  $\beta$ -zincirin başarılı düzenlenmesi CD<sub>4</sub> ve CD<sub>8</sub> double-positif timositlerin artmasına neden olur ve  $\alpha$ -zincir ile bağlanması sonucu hücre bölünmesi durur. Bir  $\beta$ -zincir, pekçok farklı  $\alpha$ -zincir ile bağlanmaktadır.  $\alpha$ -zincir genin yeniden düzenlenmesiyle oluşan  $\alpha$ : $\beta$  heterodimerik TCR peptid:self MHC kompleksi tarafından timusta tanışması, seleksiyonu başlamaktadır. Böylece, MHC molekülleri üzerinden sunulan antijenleri tanıyacak olan T lenfositleri, fonksiyonel  $\alpha$ : $\beta$  zincirli TCR moleküllerine sahip olacaktır.



Şekil 3. T hücre reseptör:CD<sub>3</sub> kompleksi (TCR:CD<sub>3</sub>)

TCR,  $\alpha$ -zincir gen düzenlenmesiyle yapılır. TCR'nün  $\alpha$ -zincir genleri, Ig  $\kappa$  hafif zincir genlerine benzemektedir.  $\beta$ -zincir, DNA üzerinde 80 kilobazlık yer kaplamakta VJ $\alpha$  gen düzenlenmesini yapmaktadır. Bir çok T lenfositleri iki  $\alpha$ -zincir proteini sentezleyebilir. Bu yapıda olanlar önemsizdir. Ancak, hücre yüzeyinde  $\alpha$ : $\beta$  zincirli TCR reseptör oluşan T lenfositleri, antijenik peptid

bağlanmış MCH'yi tanırlar. Bir gen düzenlenmesi başladığında lenfositler seleksiyona hazırdır. Hücre membran reseptörü oluştuğunda  $\alpha$ -zincir genleri düzenlenmeye devam edebilir ve bu sadece seleksiyon oluştuğunda veya hücre öldüğünde durmaktadır. Bu döngü 3-4 günde tamamlanmaktadır (3,5).

#### KAYNAKLAR

1. Goldman JP, Spencer DM and Roulet DH: Ordered rearrangements of variable region genes of the T cell reseptor  $\gamma$  locus correlates with transcription of the unrearranged genes. *J Exper Med.*1993; 177:729-739.
2. Haas W and Tonegawa S: Development and selection  $\gamma\delta$  T cells. *Curr Opin Immunol.* 1992; 4:147-155.
3. Janeway CA Jr and Paul Travers P (eds): T-cell reseptor gene rearrangements and receptor expression. In: *Immuno Biology-The immune system in health and disease*, Current Biology Ltd, London, 1994, pp 10.11-10.18.
4. Mombaerts P, Clarke R, Rudnicki MA, Iacomini J, Itohara S, Lafaille JJ, Ichikawa Y, Jaenisch R, Hooper MI and Tonegawa S: Mutation in T cell antigen receptor genes  $\alpha$  and  $\beta$  block thymocyte development at different stages. *Nature* 1992; 360:255-258.
5. Möller G (ed): Positive T-cell selection in the thymus. *Immunol Rev.*1993; 135:5-242.
6. Petrie HT, Hugo P, Scollay R and Shortman K: Lineage relationships and development kinetics of immature thymocytes:CD3,CD4 and CD8 acquisition in vivo and in vitro. *J Exper Med* 1990; 172:1583-1588.
7. Winoto A and Baltimore D: Separate lineages of T cells expressing the  $\alpha\beta$  and  $\gamma\delta$  receptors. *Nature* 1989; 338:430-432.
8. Von Boehmer H: The developmental biology of T lymphocytes. *Annu Rev Immunol* 1993; 6:309-326.
9. Von Boehmer H: Thymic selection:a matter of life and death. *Immunol Today* 1992; 13:742-744.