

CYTOKINY V KLINICKÉ MEDICÍNĚ

Kniha byla vydána za laskavé podpory společností:



HLAVNÍ SPONZOR



**Prof. MUDr. Ilja Stříž, CSc.,
Prof. RNDr. Vladimír Holáň, DrSc.**

CYTOKINY V KLINICKÉ MEDICÍNĚ

AUTOŘI

- Prof. MUDr. Ilja Stříž, CSc., Pracoviště klinické a transplantační imunologie, IKEM, Praha
- Prof. RNDr. Vladimír Holáň, DrSc., Ústav experimentální medicíny AV ČR, v. v. i., Praha

RECENZENT

- Prof. MUDr. Helena Tlaskalová-Hogenová, DrSc., Mikrobiologický ústav AV ČR, v. v. i., Praha

DŮLEŽITÉ UPOZORNĚNÍ

Autoři i nakladatel vynaložili velkou péči a úsilí, aby všechny informace v knize obsažené týkající se dávkování léků a forem jejich aplikace odpovídaly stavu vědy v okamžiku vydání. Nakladatel však za údaje o použití léků, zejména o jejich indikacích, kontraindikacích, dávkování a aplikačních formách, nenese žádnou odpovědnost, a vylučuje proto jakékoli přímé či nepřímé nároky na úhradu eventuálních škod, které by v souvislosti s aplikací uvedených léků vznikly. Každý uživatel je povinen důsledně se řídit informacemi výrobců léčiv, zejména informací přiloženou ke každému balení léku, který chce aplikovat.

Ochranné obchodní známky (chráněné názvy) léků ani dalších výrobků nejsou v knize zvlášť zdůrazňovány. Z absence označení ochranné známky proto nelze vyvozovat, že v konkrétním případě jde o název nechráněný.

Toto dílo, včetně všech svých částí, je zákonem chráněno. Každé jeho užití mimo úzké hranice zákona je nepřípustné a je trestné. To se týká zejména reprodukování či rozšiřování jakýmkoli způsobem (včetně mechanického, fotografického či elektronického), ale také ukládání v elektronické formě pro účely rešeršní i jiné. K jakémukoli využití díla je proto nutný písemný souhlas nakladatele, který také stanoví přesné podmínky využití díla. Písemný souhlas je nutný i pro případy, ve kterých může být udělen bezplatně.

Ilja Stříž, Vladimír Holáň, Cytokiny v klinické medicíně

© Ilja Stříž, Vladimír Holáň, 2015

© Maxdorf, 2015

Illustrations © Maxdorf, 2015

Cover layout © Jan Hugo, 2015

Cover photo © Ugreen | iStockphoto.com (cell surface); somersault18:24 | iStockphoto.com (macrophage)

Vydal Maxdorf s. r. o., nakladatelství odborné literatury, Na Šejdru 247/6a, 142 00 Praha 4

e-mail: info@maxdorf.cz, internet: www.maxdorf.cz, www.maxdorf.com

Jessenius® je chráněná značka [No. 267113] označující publikace určené odborné zdravotnické veřejnosti

Odpovědný redaktor: **Ing. Veronika Pátková**

Korektor: **Ing. Jana Očenášková**

Ilustrace: **Ing. Jaroslav Nachtigall, Ph.D.; MUDr. Jan Hugo (kap. 4)**

Obálka: **MUDr. Jan Hugo, Mgr. Veronika Mrázová**

Sazba: **Denisa Honzalová**

Tisk: Books Print s.r.o.

Printed in the Czech Republic

ISBN 978-80-7345-427-2

Podpořeno grantem IGA MZ ČR NT/13012-4 a institucionální podporou na rozvoj výzkumné organizace IKEM od MZ ČR – RVO („Institut klinické a experimentální medicíny – IKEM, IČ 00023001“).

OBSAH

Předmluva – Jak jsem potkal cytokiny a proč vznikla tato kniha	6
Poděkování	11
1 Cytokiny obecně	15
2 Buňky přirozené imunity	22
2.1 Epiteliální buňky	22
2.2 Mononukleární fagocyty	23
2.3 Neutrofilní leukocyty	25
2.4 Eozinofilní leukocyty	26
2.5 Bazofily a žírné buňky	26
2.6 Přirození zabijáci	26
2.7 Přirozené lymfoidní buňky	27
3 Buňky specifické imunity	31
3.1 T lymfocyty	31
3.2 B lymfocyty	34
4 Rodiny cytokinových receptorů a jejich signalizace	39
4.1 Receptory I. typu	41
4.2 Receptory II. typu	45
4.3 Receptory pro TNF a příbuzné cytokiny	48
4.4 Receptory pro IL-1 a příbuzné cytokiny	51
4.5 Receptory pro TGF β	53
4.6 Chemokinové receptory	55
4.7 Receptory pro IL-17	56
5 Chemokiny	62
5.1 CXC chemokiny	63
5.2 CC chemokiny	70
5.3 CX3CL chemokin – fraktalkin	72
5.4 XC chemokiny – lymfotaktin α (XCL1, SCM-1 α) a lymfotaktin β (XCL2, SCM-1 β)	72
5.5 Faktor inhibující migraci makrofágů	73
5.6 Interleukin 16	74
6 Prozánětlivé cytokiny	81
6.1 Interleukin 1 α a β	82
6.2 IL-1RA (receptorový antagonist IL-1)	85
6.3 Interleukin 18	85

6.4	Interleukin 33	87
6.5	Další cytokiny z IL-1 rodiny (IL-36, IL-37, IL-38)	88
6.6	TNF a příbuzné cytokiny (TNF α , β , TRAIL/Apo2L, RANKL, CD95L/FasL)	88
6.7	Interleukin 6 a příbuzné cytokiny	92
6.8	Interleukin 32	94
6.9	Alarminy	95
7	Interferony	108
7.1	Interferony 1. typu	108
7.2	Interferony 2. typu	109
7.3	Interferony 3. typu	110
8	Hematopoetické faktory	113
8.1	Interleukin 3	113
8.2	Interleukin 7	114
8.3	Faktor stimulující růst kolonií makrofágů	114
8.4	Faktor stimulující růst kolonií granulocytů	115
8.5	Faktor stimulující růst kolonií granulocytů a makrofágů.	116
8.6	Thymický stromální lymfopoetin	117
8.7	Interleukin 34	118
9	Cytokiny regulující adaptivní imunitní odpověď	121
9.1	Cytokiny související převážně s Th1 typem imunitní odpovědi	123
9.2	Cytokiny související převážně s Th2 typem imunitní odpovědi	127
9.3	Cytokiny související převážně s Th17 typem imunitní odpovědi	130
9.4	Interleukin 9 a cytokiny spojené s Th9 imunitní odpovědí	134
9.5	Interleukin 22 a cytokiny spojené s Th22 imunitní odpovědí	135
10	Cytokiny tlumící imunitní odpověď a účastníci se reparace	143
10.1	Cytokiny z IL-10 rodiny	143
10.2	Růstové a reparační faktory.	149
11	Metody detekce cytokinů	162
12	Terapeutické zásahy – biologická léčba	169
12.1	Bronchiální astma	169
12.2	Revmatoidní artritida	173
12.3	Nespecifické střevní záněty.	177
12.4	Psoriáza	180
	Přehled použitých zkratk	191
	Seznam ilustrací	193
	Závěr	196
	Medailonky autorů	197
	Rejstřík	201

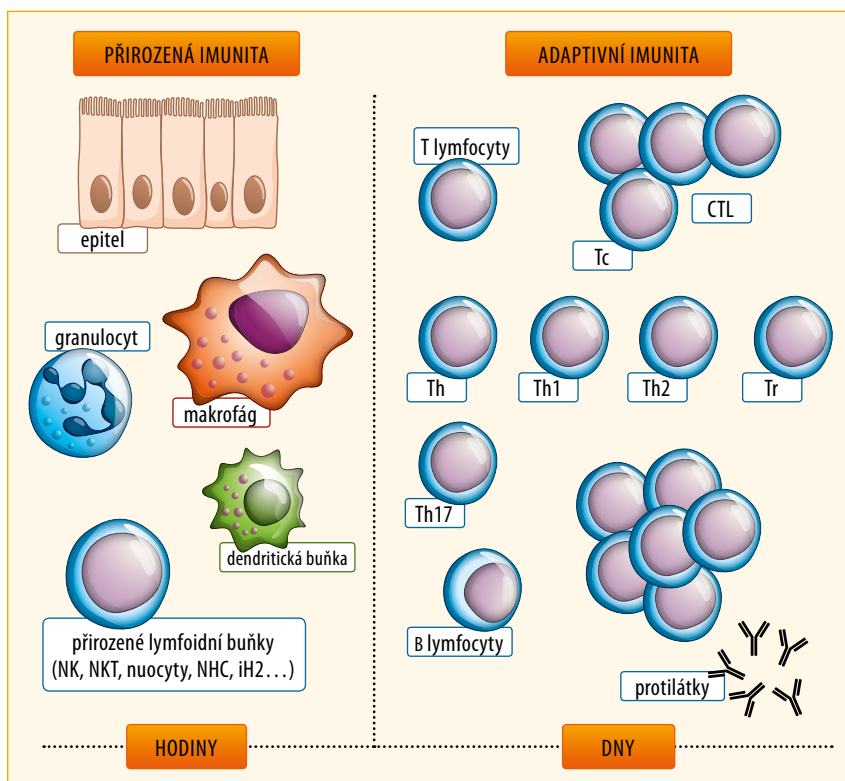
1 CYTOKINY OBECNĚ

Imunitní systém chápeme jako souhrn mechanismů zajišťujících integritu organismu rozeznáváním a likvidací cizích či vlastních, ale potenciálně škodlivých struktur. V minulosti byly jeho definice spojovány zejména s obranou proti mikroorganismům, nicméně současné poznatky podporují jeho úlohu v reparaci či fyziologické obměně tkání a kladou důraz na provázání imunity s centrálním nervovým systémem a endokrinními mechanismy [1]. Imunitní systém můžeme členit na imunitu přirozenou (vrozenou, nespecifickou) a adaptivní (získanou, specifickou). Přirozená imunita je vývojově starší, reaguje bezprostředně a uniformně, rozpoznává pouze podezřelé motivy a představují ji zejména fagocytární buňky a slizniční bariéry [2, 3]. Adaptivní imunita je využívána až u obratlovců (tvorbu protilátek lze prokázat již u paryb), k jejím projevům dochází s odstupem několika dnů, rozpoznává neuvěřitelné množství antigenních struktur a vzhledem k mechanismu imunologické paměti se v průběhu života vyvíjí. Buňky adaptivní imunity jsou představovány T a B lymfocyty [4, 5]. Mezi přirozenou a adaptivní imunitou neexistuje ostrá hranice, všechny obranné mechanismy spolu velice úzce spolupracují a některé buňky, např. přirozené lymfoidní buňky včetně NK buněk (přirozených zabíječů, natural killer), svými vlastnostmi spadají přesně na rozhraní (obr. 1.1) [6].

Výsledná imunitní reakce, charakterizovaná typem a hladinou produkovaných humorálních protilátek nebo různými formami buňkami zprostředkované imunity, je výslednicí složité interakce mezi fenotypově a funkčně odlišnými buňkami imunitního systému. Bylo jasně prokázáno, že buňky imunitního systému vzájemně komunikují, interagují a kooperují [7]. Tyto interakce mohou probíhat dvěma základními způsoby: 1. kontaktem mezi dvěma buňkami, kdy si vzájemně předávají informaci během interakce membránových molekul a nebo 2. produkcí a sekrecí signálních molekul. Tyto signální molekuly uplatňující se v imunitním systému se obecně nazývají **cytokiny** (z řeckého *cyto* – buňka a *kinos* – pohyb).

Cytokiny jsou proteiny, glykoproteiny nebo peptidy, které ovlivňují buněčný růst, diferenciaci, pohyb, chování a přežívání buněk. Fungují tak, že se vážou na specifické buněčné receptory a indukují změny v signálních drahách a genových expresích v cílové buňce. V mnoha aspektech tak cytokiny připomínají hormony, od nichž se však významně liší (tab. 1.1).

Je však třeba mít na paměti, že hranice mezi cytokiny a hormony není absolutní. Ukazuje se, že i některé „klasické“ hormony (např. růstový hormon, prolaktin, inzulin aj.) se mohou chovat jako cytokiny a i jejich receptory jsou podobné



Obr. 1.1 Buňky přirozené a adaptivní imunity

■ Tabulka 1.1 Rozdíly mezi cytokiny a hormony

Cytokiny	Hormony
Produkovány roztroušenými buňkami	Produkovány lokalizovanou tkání (žlázy s vnitřní sekrecí)
Produkovány až po aktivaci buňky a jen po krátkou dobu	Produkovány konstitutivně a dlouhodobě
Jedna buňka produkuje více různých cytokinů	Jedna buňka produkuje jen jeden hormon
Každý cytokin má více funkcí	Jeden hormon má jen jednu funkci
Působí často autokrinně nebo parakrinně	Působí většinou endokrinně
V oběhu jsou v pikomolárních (10^{-12} mol) koncentracích	Cirkulují v nanomolárních (10^{-9} mol) koncentracích

receptorům pro některé cytokiny. Podobnost a propojení cytokinů s hormony mohou být dokumentovány poznáním, že např. klasický hormon inzulin zvyšuje produkci IL-1 u aktivovaných makrofágů a opačně, IL-1 produkovaný makrofágy může ovlivňovat produkci inzulinu [8].

První zmínky o existenci cytokinů pocházejí z 60. let minulého století, kdy autoři nacházeli funkční biologickou aktivitu v supernatantech z aktivovaných leukocytů [9, 10]. Mezi nejdéle známé cytokiny patří interferony, jejichž výzkum je významně spjat se jménem prof. Jána Vilčeka z Virologického ústavu ČSAV v Bratislavě a později působícího na New York University [11]. Později byly molekuly odpovědné za sledované aktivity izolovány, charakterizovány, byla stanovena jejich aminokyselinová sekvence a byla jim postupně přiřazována pořadová čísla tak, jak byly pod názvem interleukin schvalovány. Aby mohl být daný cytokin označen jako interleukin, musí být zdokumentována jeho aminokyselinová nebo nukleotidová sekvence a musí být prokázány alespoň dvě funkční aktivity v rámci imunitního systému. Návrh je pak hodnocen komisí pro nomenklaturu a standardizaci Mezinárodní cytokinové společnosti a Unii imunologických společností, které doporučí nový interleukin k zaregistrování Světové zdravotní organizaci. V současné době je takto schváleno 38 interleukinů (tab. 1.2), ale ještě více cytokinů si ponechalo původní tradiční název místo označení interleukin. Příkladem zachování původních názvů je faktor inhibující migraci makrofágů (macrophage migration inhibitory factor – MIF), faktor nekrotizující nádory (tumor necrosis factor – TNF), transformující růstový faktor (transforming growth factor – TGF) a další. Prvních zhruba 20 interleukinů bylo poznáno tak, že byla objevena nová funkční aktivita a hledala se molekula odpovědná za danou funkci. V dnešní době je většina nových cytokinů identifikována tak, že se v genomu najdou nukleotidové sekvence podobné známému cytokinu, ty se charakterizují, připraví se jejich produkt a hledá se jeho funkce.

Cytokiny vykazují některé funkční vlastnosti, které nenacházíme u jiných secernovaných molekul, mezi něž patří:

- pleotropie – každý cytokin má více funkcí. Například IL-1 podporuje buněčnou proliferaci, zvyšuje sekreci cytokinů, ovlivňuje expresi povrchových molekul, vyvolává horečku atd.
- redundance – více cytokinů vykonává stejnou (nebo podobnou) funkci. Příkladem je růst T buněk: základním růstovým faktorem pro T buňky je IL-2, ale růst T buněk podporují také IL-4, IL-9, IL-12, IL-15 a další cytokiny
- dva nebo více cytokinů vykazují synergické nebo aditivní účinky
- produkce jednoho cytokinu je často regulována jinými cytokiny
- mají relativně malou molekulovou hmotnost (5–60 kDa)

V rámci imunitního systému (a také i mimo imunitní systém) cytokiny vykazují řadu rozličných funkcí, kde se uplatňují jako:

- růstové faktory. Indukují (nebo podporují) růst buněk imunitního systému. Příkladem je např. IL-2 – základní růstový faktor pro T lymfocyty, IL-4 – růstový faktor pro B lymfocyty, IL-5 – růstový faktor pro eozinofily atd.

■ **Tabulka 1.2** Přehled, základní vlastnosti a charakteristiky interleukinů

Cytokin	Zdroj	Cílová buňka	Primární efekt
IL-1	Mo, M, Ep, En, F, T, O	T, B, O	kostimulace, aktivace, horečka
IL-2	T	T, B, M	proliferace, aktivace
IL-3	T, O	BM progenitory	proliferace
IL-4	T, O	B, T, M	proliferace, aktivace, diferenciaci, izotypový přesmyk
IL-5	T, O	E, B	proliferace, aktivace
IL-6	T, Mo, Ma, En, Ep, F, O	T, B, O	proliferace, aktivace, kostimulace
IL-7	SCBM, O	T, B	proliferace
IL-8	M, Ep	T, B, N	chemotaxe, aktivace
IL-9	T	T	proliferace
IL-10	T, M, B	M, T	imunoprese
IL-11	SCBM	B	proliferace, aktivace
IL-12	M, DC	T	proliferace, diferenciaci
IL-13	T	B, T, M	proliferace, izotypový přesmyk
IL-14	B, O	B	proliferace
IL-15	Mo, M, O	T, NK	proliferace, aktivace
IL-16	T	T	chemotaxe, aktivace
IL-17	T, O	T, O	imunoregulace, aktivace
IL-18	M, O	T	imunoregulace, aktivace
IL-19	Mo, M, Ep	O	imunoregulace, remodeling
IL-20	Mo, M, K	F, O	hojení, remodeling
IL-21	T	T, B	imunoregulace, stimulace
IL-22	T, NK	F, K	imunomodulace
IL-23	DC, M	T, NK	aktivace, imunoregulace
IL-24	Mo, M, T	F, K, O	hojení, proliferace
IL-25	Mo, T, ŽB, SCBM	T	imunoregulace
IL-26	T, Mo, NK	Ep	imunoregulace
IL-27	M, DC	T, B	imunoregulace
IL-28	DC, F	K	aktivace
IL-29	DC, F	K	regulace kožních anomálií

■ **Tabulka 1.2** Přehled, základní vlastnosti a charakteristiky interleukinů – pokračování

Cytokin	Zdroj	Cílová buňka	Primární efekt
IL-30	M, DC	T	protizánětlivý cytokin
IL-31	T	T	imunoregulace, pruritus
IL-32	M	Mo, M	aktivace
IL-33	En, Ep, F	T, N, ŽB	aktivace
IL-34	O	M, Mo	proliferace
IL-35	T	T	imunosuprese
IL-36	O	T, F	imunomodulace
IL-37	Mo, F	O	inhibice přirozené imunity
IL-38	T	T	inhibice produkce cytokinů

B – B buňky, BM – kostní dřev, DC – dendritické buňky, E – eozinofily, En – endoteliální buňky, Ep – epitelální buňky, F – fibroblasty, K – keratinocyty, M – makrofágy, Mo – monocyty, N – neutrofil, NK – přirození zabijáci, O – jiné typy buněk (v menším rozsahu), SCBM – stromální buňky kostní dřev, T – T buňky, ŽB – žírné buňky

- **diferenční faktory.** Determinují vývoj a diferenciaci odlišných T buněčných subpopulací – například IL-12 je determinující faktor pro vývoj Th1 buněk, IL-4 determinuje vývoj Th2 buněk, TGF β je determinující faktor pro vývoj regulačních T lymfocytů atd.
- **faktory vyvolávající přesmyk na tvorbu jednotlivých tříd imunoglobulinů.** Například IL-4 zajišťuje přesmyk z tvorby IgM na IgG1 nebo IgE, IL-5 se podílí na přesmyku na IgA apod.
- **efektorové molekuly.** Příkladem je TNF – je to toxická molekula pro některé nádorové buňky, má schopnost indukovat apoptózu
- **supresorové molekuly inhibující imunitní reakce.** Příkladem jsou IL-10 nebo TGF β
- **molekuly zesilující nebo potlačující produkci jiných cytokinů** – např. IL-1, IL-6
- **modulátory exprese povrchových membránových molekul** – příkladem je IFN γ nebo TNF α
- **molekuly s antivirovými účinky** – IFN, některé chemokiny
- **molekuly regulující chemotaxi, adherenci a pohyb jiných buněk.** Příkladem je IL-8/CXCL8 nebo další chemokiny

Řada cytokinů může působit i mimo rámec imunitního systému. Například IL-1 a IL-6 ovlivňují růst fibroblastů, hepatocytů, vyvolávají horečku, TGF β podporuje růst fibroblastů a hojení ran apod.

Cytokiny představují strukturálně a funkčně vysoce heterogenní skupinu molekul. Proto neexistuje doposud žádná zcela jednotná klasifikace a převažuje jejich dělení podle funkce nebo strukturální podobnosti. Na počátku byla snaha

je dělit podle jejich původu na monokiny (produkované monocyty/makrofágy) a lymfokiny (produkované lymfocyty) nebo na interleukiny (produkované leukocyty). Nyní je zřejmé, že jedna buňka může tvořit řadu cytokinů a také jeden cytokin je zpravidla tvořen více typy buněk.

Jedno z nejčastějších **dělení je na základě jejich funkce**, kterou v imunitních reakcích zajišťují. Ale ani toto dělení není dokonalé – v jednotlivých modelech a při různých onemocněních se jejich funkce často překrývají. Podle funkce můžeme cytokiny rozdělit na:

1. Prozánětlivé cytokiny – podporují zánětlivé reakce, atrahují další leukocyty do místa zánětu, zesilují imunitní reakce. Příkladem takových cytokinů jsou TNF, IL-1, IL-6, IL-17, IFN γ a další.
2. Protizánětlivé cytokiny. Patří sem hlavně supresivní cytokiny inhibující imunitní reakce. Zástupcem této skupiny je například IL-10, TGF β nebo IL-35.
3. Růstové faktory. Tyto cytokiny podporují dělení a růst buněk. Mezi růstové faktory patří IL-2, IL-3, IL-4 a mnoho dalších.
4. Cytokiny uplatňující se v humorální (protilátkové) imunitě. Zde jsou např. IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-13, BAFF, APRIL.
5. Cytokiny hrající významnou roli v buňkami zprostředkované imunitě – např. IL-2, IL-12, IFN γ , TNF a další.
6. Chemokiny – ovlivňují chemotaxi, adherenci a pohyb buněk. Příkladem chemokinů je IL-8, RANTES a mnoho dalších.
7. Hematopoetické faktory – podporují dělení a růst buněk v kostní dřeni. Příkladem je IL-3, M-CSF, G-CSF atd.
8. Determinující faktory. Tato skupina zajišťuje vývoj a diferenciaci naivních T buněk v jednotlivé podskupiny. Příkladem je IL-4 determinující vývoj Th2 buněk, IL-12 determinující vývoj Th1 buněk, TGF β a IL-10 podporující vývoj regulačních T buněk atd.
9. Interferony – skupina cytokinů s antivirovými účinky (IFN α , IFN β atd.).
10. Reparační/fibrogenní cytokiny, které se podílejí na hojivých procesech i mimo imunitní systém a indukují tvorbu extracelulární matrix. Příkladem této skupiny cytokinů jsou TGF β , FGF, EGF, HGF a další.

Jiná klasifikace cytokinů je dělí na ty, které participují převážně v přirozené imunitě (jako jsou IL-1, IL-6, TNF α , IFN, chemokiny) a na cytokiny uplatňující se ve specifické (adaptivní) imunitě (IL-2, IL-4, IL-10 a mnoho dalších).

Další dělení cytokinů je podle specifické populace buněk, které je produkují. Takzvané **Th1 cytokiny**, kam patří IL-2 a IFN γ , jsou produkovány Th1 buňkami a uplatňují se hlavně při aktivaci makrofágů a při buňkami zprostředkovaných reakcích. Naproti tomu **Th2 cytokiny**, mezi které patří IL-4, IL-5, IL-10 a IL-13, jsou produkované Th2 buňkami a regulují převážně protilátkové odpovědi a na makrofázích nezávislé imunitní reakce. Další skupiny pak tvoří Th17 cytokiny (hlavně IL-17) a cytokiny produkované Th9 (IL-9) nebo Th22 (IL-22) buňkami.

Mnohé cytokiny vykazují při svém působení přísnou mezidruhovou restrikcí – to znamená, že působí jen na buňky toho druhu, který daný cytokin produkuje (příkladem je IL-4). Naproti tomu jiné cytokiny působí i přes mezidruhovou bariéru (IL-1, IL-6 atd.). Další cytokiny mohou mít složitější restrikcce. Například lidský IL-2 podporuje růst myších T buněk, zatímco myší IL-2 na lidské buňky nepůsobí.

Většina cytokinů je plně aktivní jako monomerní molekula, která je již produkována jako funkční glykoprotein (např. IL-2, IL-3), a nebo jsou syntetizovány jako prekurzorové nefunkční molekuly, které musí podstoupit enzymatické štěpení pro vznik aktivní efektorové molekuly (např. IL-1). I když cytokiny jsou často aktivní jako monomery, některé jsou funkční jen ve formě homodimeru (např. IL-5, IL-8). Další skupinu představují cytokiny, které jsou aktivní pouze jako heterodimery složené ze dvou odlišných molekul (např. IL-12, IL-23, IL-27, IL-30 a IL-35).

Všechny cytokiny se vážou na specifické buněčné receptory. Po vazbě na receptor se aktivuje signální dráha, která indukuje změny v genových expresích, metabolismu a chování buněk. Tyto změny se pak odrážejí v regulacích funkcí imunitního systému.

LITERATURA

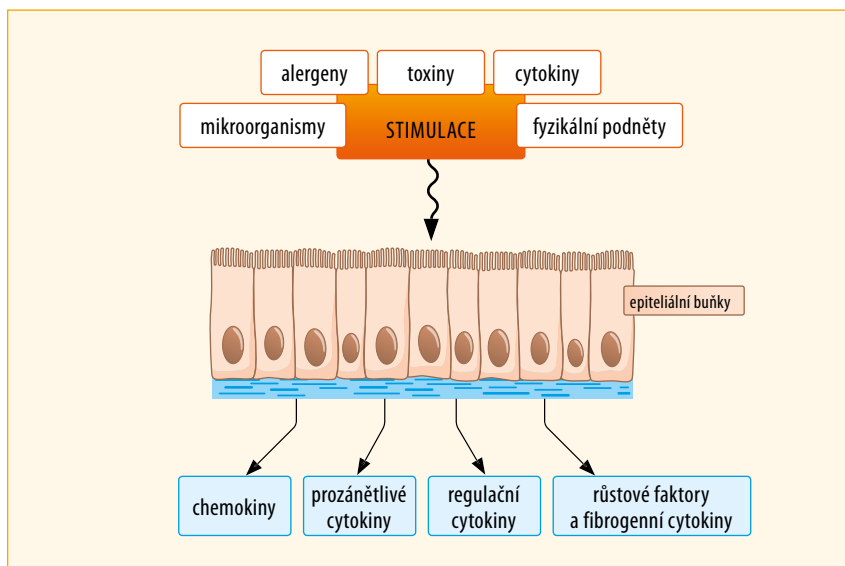
1. Parham P. *The Immune System*. 4th ed. Garland Science Publisher; 2014.
2. Striz I, Brabcova E, Kolesar L, Sekerkova A. Cytokine networking of innate immunity cells: a potential target of therapy. *Clin Sci (Lond)*. 2014;126:593–612.
3. Arango Duque G, Descoteaux A. Macrophage cytokines: involvement in immunity and infectious diseases. *Front Immunol*. 2014;7:5:491. doi: 10.3389/fimmu.2014.00491.
4. Liao W, Lin JX, Leonard WJ. IL-2 family cytokines: new insights into the complex roles of IL-2 as a broad regulator of T helper cell differentiation. *Curr Opin Immunol*. 2011;23:598–604.
5. Kared H, Camous X, Larbi A. T cells and their cytokines in persistent stimulation of the immune system. *Curr Opin Immunol*. 2014;29:79–85.
6. Annunziato F, Romagnani C, Romagnani S. The 3 major types of innate and adaptive cell-mediated effector immunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;18. pii: S0091-6749(14)01585-1. doi: 10.1016/j.jaci.2014.11.001.
7. Gasteiger G, Rudensky AY. Interactions between innate and adaptive lymphocytes. *Nat Rev Immunol*. 2014;14:631–9.
8. Holáň V, Minowada J. Selective enhancement of interleukin 1 beta production in myelomonocytic cell lines by insulin and its related cytokines. *Immunol Lett*. 1992;34:243–7.
9. Kasakura S, Lowenstein L. A factor stimulating DNA synthesis derived from the medium of leukocyte cultures. *Nature*. 1965;208:794–5.
10. Gordon J, MacLean LD. A lymphocyte-stimulating factor produced in vitro. *Nature*. 1965;208:795–6.
11. Vilcek J. Fifty years of interferon research: aiming at a moving target. *Immunity*. 2006;25:343–8.
12. Thomson AW, Lotze MT, editors. *The Cytokine Handbook*. 4th ed. Academic Press; 2003.

2 BUŇKY PŘIROZENÉ IMUNITY

2.1 EPITELIÁLNÍ BUŇKY

Ještě počátkem 90. let minulého století byly epitelální buňky pro většinu imunologů pouze mechanickou bariérou a jejich studiu se intenzivně věnovalo relativně málo úzce zaměřených pracovníků. Přitom slizniční povrchy pokrývají přibližně plochu 300 čtverečních metrů a v současnosti již není pochyb o tom, že regulují celou řadu funkcí buněk přirozené i adaptivní imunity [1]. Epitelální buňky představují významný zdroj cytokinů určených k amplifikaci nebo naopak inhibici imunitních reakcí [2] a pomocí chemokinů regulují také přísun imunitních buněk do ložiska poškozené tkáně [3] (obr. 2.1).

Z výsledků *in vitro* studií se zdá, že nestimulované epitelální buňky konstitutivně exprimují mRNA pro chemokiny atrahující lymfocyty, zatímco pro indukci chemokinů nezbytných pro chemotaxi mononukleárních buněk je nezbytná předchozí stimulace prozánětlivými cytokiny [4]. Ukazuje se, že interakce mo-



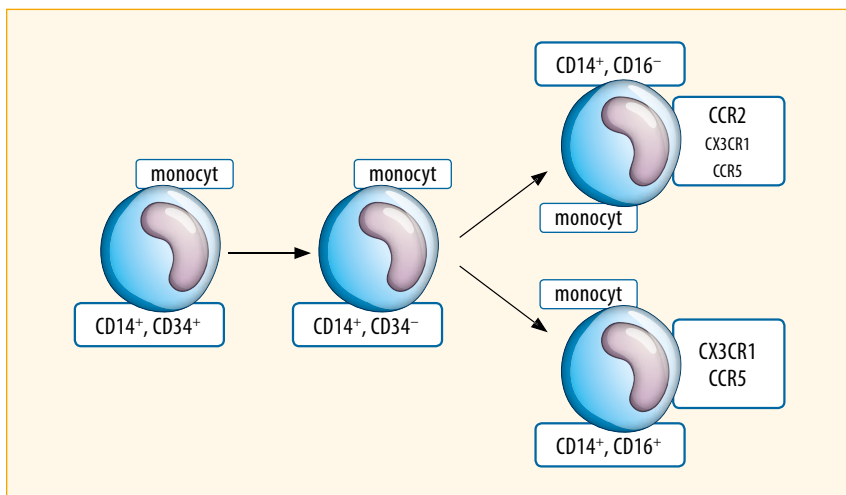
Obr. 2.1 Cytokiny epitelálních buněk

nocytů s epiteliálním povrchem mohou mít zásadní význam pro jejich terminální diferenciaci do tkáňových makrofágů [5]. Za normálních fyziologických okolností mají epiteliální buňky schopnost spíše tlumit imunitní reakce a potlačovat zánětlivé odpovědi [6]. Plasticita epiteliálních buněk, konkrétně schopnost jejich přeměny v myofibroblasty, tzv. epitel-mezenchymální přeměna, je důležitým reparačním mechanismem, ale může být spojena s fibrotizující přestavbou parenchymu při některých imunopatologických reakcích [7]. Dysregulace slizničních imunitních reakcí hraje významnou úlohu v patogenezi nespecifických střevních zánětů [8], bronchiálního astmatu [9], intersticiálních plicních procesů nebo rejeckci transplantované ledviny [10].

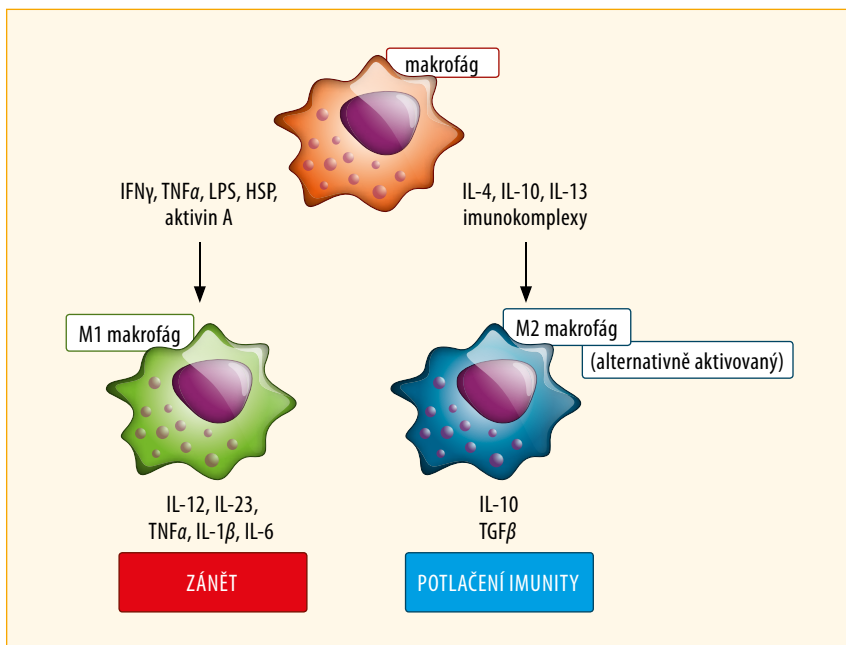
2.2 MONONUKLEÁRNÍ FAGOCYTY

Periferní monocyty a jejich diferencované formy, makrofágy a dendritické buňky představují různá maturační/aktivační stadia mononukleárních fagocytů. Nejdéle známou vlastností mononukleárních fagocytů je fagocytóza inhalovaných částic a mikroorganismů, které jsou rozpoznány pomocí receptorů (např. toll-like receptorů), které vážou charakteristické membránové motivy infekčních agens. V průběhu adaptivní imunitní odpovědi se při fagocytóze uplatní opsonizace bakterií imunoglobuliny či složkami komplementu. Při mikrobicidní aktivitě makrofágů se mohou uplatnit jak oxidační pochody, z nichž nejdůležitější je produkce peroxidu vodíku, superoxidového aniontu, singletového kyslíku, hydroxylového radikálu a oxidu dusnatého, tak i pochody nezávislé na kyslíku. Z těchto mechanismů stojí za zmínku zejména syntéza lysozymu, laktoferinu či kationtových proteinů.

V periferní krvi můžeme rozlišit různé subpopulace monocytů na podkladě membránové exprese znaků CD14 a CD16. Zatímco klasické monocyty se vyznačují vysokou expresí antigenu CD14 bez přítomnosti antigenu CD16, existuje též minoritní populace CD14⁺CD16⁺ monocytů (obr. 2.2). Tyto monocyty jsou menší a vyznačují se také zvýšenou expresí HLA-DR a CD43 [11]. S ohledem na shodu v genových expresních profilech s makrofágy či dendritickými buňkami [12] a také zkrácením délky telomer [13] se zdá, že se jedná o senescentní, opakovaně aktivované monocyty. Kromě toho schopnost CD14⁺CD16⁺ monocytů tvořit prozánětlivý cytokin TNF α a naopak velmi omezená schopnost produkovat protizánětlivý IL-10 [14] nasvědčují, že jde o prozánětlivé monocyty. Diferenciace lidských monocytů na makrofágy *in vitro* je spojena s modulací více než 800 různých genů [15] a může být modulována jak přímými interakcemi s jinými buňkami [5], tak pomocí solubilních faktorů zejména cytokinů. Tkáňové makrofágy pak mohou diferencovat jednak do prozánětlivého typu M1 s výraznou antimikrobiální aktivitou a schopností tvořit prozánětlivé cytokiny TNF α , IL-12 a IL-1 β [16], nebo do M2 typu [17], který



Obr. 2.2 Monocytární subpopulace



Obr. 2.3 Subpopulace makrofágů

se uplatní v reparačních procesech a tlumení imunitních reakcí prostřednictvím cytokinů IL-10 a TGF β (obr. 2.3). Kromě makrofágů mohou monocyty diferencovat také do dendritických buněk (DC), které jsou nejvýznamnějšími antigen-prezentujícími buňkami. Mají schopnost proteolyticky naštěpit pohlčené antigeny a poté je ve spojení s antigeny II. třídy HLA systému exprimovat na buněčném povrchu [18]. Zpravidla se dendritické buňky člení na myeloidní a plasmocytoidní, přičemž tyto populace se liší nejen původem, ale také expresí některých rozpoznávacích molekul, např. toll-like receptorů (TLR), přičemž obě populace mají schopnost indukovat antigen-specifickou proliferaci naivních T lymfocytů.

U lidí se plasmocytoidní DC vyznačují vysokou tvorbou IFN α a v případě myeloidních DC rozlišujeme navíc dva různé subtypy na podkladě exprese CD1c nebo CD141 [19]. Kromě zásadní úlohy DC v zahájení adaptivní imunitní odpovědi se tyto buňky uplatní i v aktivaci NK a NKT buněk (natural killer, natural killer T lymphocyte) [20]. Nedávno popsaná populace CD103⁺ DC se schopností indukovat expanzi T regulačních buněk byla prokázána ve střevní sliznici a mohla by hrát úlohu v mechanismech navození tzv. orální tolerance, která brání nežádané imunitní odpovědi proti antigenům přítomným v potravě [21].

2.3 NEUTROFILNÍ LEUKOCYTY

Neutrofilní leukocyty jsou výkonné fagocytární buňky, které chrání hostitele před invazí mikroorganismů pomocí širokého spektra antimikrobiálních látek, které jsou obsaženy v cytotoxických granulích, která mohou být buď azurofilní (obsahující myeloperoxidázu), nebo specifická (sekundární, neobsahující myeloperoxidázu).

Azurofilní granula obsahují kromě myeloperoxidázy také elastázu, kathepsin G, proteinázu 3, lysozym, defenziny a řadu dalších látek. Specifická granula naproti tomu obsahují kolagenázu, cystatin C, laktoferin, haptoglobin, pentraxin 3, α_1 -antitrypsin, orosomukoid nebo β_2 mikroglobulin [22]. Kromě likvidace fagocytovaných mikroorganismů se neutrofilny podílejí na antibakteriální obraně také tvorbou tzv. neutrofilních extracelulárních pastí [23]. Neschopnost neutrofilních leukocytů eliminovat patogeny vede k bakteriální kolonizaci a perzistenci zánětu v postižené tkáni.

Dysfunkce neutrofilů v průběhu sepse může vést k nadprodukcí prozánětlivých cytokinů a mediátorů, vedoucí k poškození tkání a multiorgánovému selhání [24]. Kromě čistě efektorových funkcí se neutrofilní leukocyty účastní také regulace přísunu monocytů a DC pomocí tvorby příslušných chemokinů [25]. Neutrofilny patří také k Th17 typu adaptivní imunitní odpovědi, když se účastní nejen efektorové, ale i regulační fáze [26].

2.4 EOZINOFILNÍ LEUKOCYTY

Eozinofilní leukocyty jsou multifunkční buňky, které nás chrání proti parazitárním infekcím [27] a mají klíčovou úlohu v patogenezi alergických onemocnění [28, 29]. V poslední době se ukazuje, že zvýšené zastoupení eozinofilů ve tkáni může vést k indukci proliferace fibroblastů a depozici kolagenu [30] s následnými fibrotickými změnami v parenchymu [31]. Tyto změny se mohou uplatnit v patogenezi kardiální fibrózy v průběhu hypereozinofilních stavů [32], u striktur provázejících eozinofilní ezofagitidu [33] nebo při ztluštění bazální membrány bronchiálního epitelu u astmatiků [34]. Kromě toho jsou mediátory eozinofilů, zejména eozinofilní kationický protein (ECP) a hlavní bazický protein (MBP), spojovány se schopností podporovat koagulaci plasmy a indukovat tkáňový faktor ve vztahu k trombotickým komplikacím pacientů s eozinofilií [35].

2.5 BAZOFILY A ŽÍRNÉ BUŇKY

Bazofilní leukocyty v periferní krvi a žírné buňky – mastocyty – přítomné v tkáních mají řadu společných vlastností včetně membránové exprese vysokoafinitního receptoru pro IgE (FcεRI), TLR2 a TLR4 a schopnosti uvolnit po aktivaci řadu agresivních mediátorů, nicméně liší se v některých fenotypických znacích [36]. Má se za to, že obě buněčné populace pocházejí ze společné progenitorové buňky [37]. I když je funkce mastocytů a bazofilů převážně spojována s patogenezí alergických onemocnění [38], jejich fyziologická funkce spočívá v ochraně proti parazitárním, bakteriálním a virovým infekcím [39]. Na podkladě experimentálních studií je možné předpokládat i potenciální úlohu těchto buněk u autoimunitních chorob [40], nádorů [41] nebo v mechanismech navození transplantační tolerance [42]. Zatímco žírné buňky představují první linii obranných mechanismů a jejich subepiteliální lokalizace umožňuje jejich okamžitou aktivaci, bazofily do postižené tkáně vcestovávají až v průběhu alergických reakcí [43].

2.6 PŘIROZENÍ ZABÍJEČI

Přirození zabíječi – NK buňky (natural killer cells) jsou důležité elementy imunitní odpovědi proti nádorovým buňkám a infekčním agens, které bez předchozí senzibilizace rozpoznávají pomocí unikátních NK receptorů vlastní MHC molekuly I. i II. třídy a regulují indukci či tlumení efektorových schopností [44]. V současnosti se zdá, že NK buňky spadající do oblasti přirozené imunity mají i některé rysy adaptivního imunitního systému, zejména je zde podobnost s cytotoxickými CD8⁺ T lymfocyty v expresi antigen-specifických receptorů, které indukují proliferační aktivitu NK buněk, a dokonce byla popsána i schopnost

diferenciace do paměťových NK buněk [45]. NKT buňky se vyznačují současným sdílením membránových znaků T lymfocytů (CD3) a NK buněk (CD16, CD56). NKT buňky preferenčně rozpoznávají lipidové antigeny v kontextu CD1d molekuly (podobné MHC I. třídy) a člení se na dvě subpopulace:

- typ I exprimující invariantní T buněčný receptor se účastní dohledu nad nádorovými buňkami
- typ II využívá různorodé TCR genové segmenty ke schopnosti tlumit protinádorové imunitní odpovědi [46]

2.7 PŘIROZENÉ LYMFODINNÍ BUŇKY

Poměrně nedávno popsané přirozené lymfoidní buňky (innate lymphoid cells – ILC) se objevily jako další populace přirozených buněk lymfoidní linie k již relativně dobře charakterizovaným NK a NKT buňkám. Tyto buňky byly současně identifikovány různými laboratořemi jako přirozené pomocné buňky [47], nuocyty [48], přirozené pomocné buňky 2. typu [49] nebo multipotentní progenitorové buňky 2. typu [50] a vyznačují se aktivací prostřednictvím epiteliálních cytokinů IL-23 nebo IL-25 a schopností indukovat převážně Th2 cytokinové odpovědi. Žádná ze zmíněných čtyř populací buněk neexprimuje na povrchu znaky specifické pro T a B buňky, mononukleární fagocyty, neutrofilů či NK buňky a jejich fyziologickou úlohou byla zřejmě obrana proti parazitárním infekcím. Alternativní klasifikace přirozených lymfoidních buněk založená na cytokinových profilech je člení na:

- ILC1 (NK buňky s tvorbou $IFN\gamma$) [51]
- ILC2 (nuocyty a přirozené pomocné buňky produkující IL-13 k eliminaci parazitů)
- ILC3 neboli ILC17 (produkující IL-17, IL-22, a $TNF\alpha$ na sliznicích) [52, 53] (tab. 2.1)

■ **Tabulka 2.1** Přirozené lymfoidní buňky

	ILC1 (NK, iILC1)	ILC2 (nuocyty, natural helper cells, innate helper cells)	ILC3 (ILC17)
Transkripční faktory	NFIL3, Tbet, Eomes	GATA3, ROR α	ROR γ t, AhR
Cytokiny	$IFN\gamma$, TNF	IL-13, IL-5, IL-9	IL-17, IL-22, IL-8
Funkce	<ul style="list-style-type: none"> • cytotoxicita • protivirový účinek • protinádorová aktivita 	<ul style="list-style-type: none"> • antiparazitární ochrana • alergie 	<ul style="list-style-type: none"> • obrana proti extracelulárním patogenům • vývoj lymfoidní tkáně • remodelace