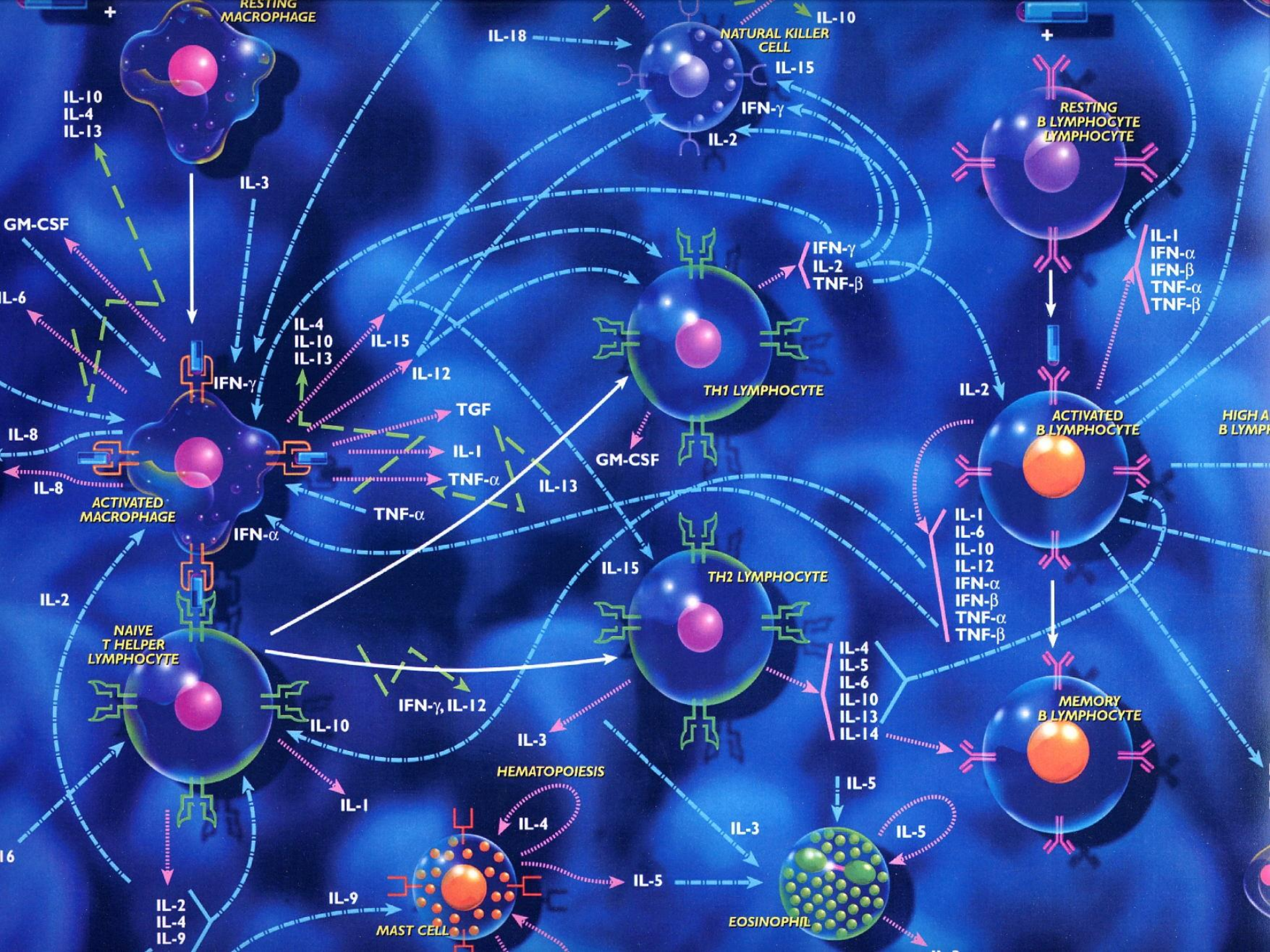


Regulace v imunitním systému



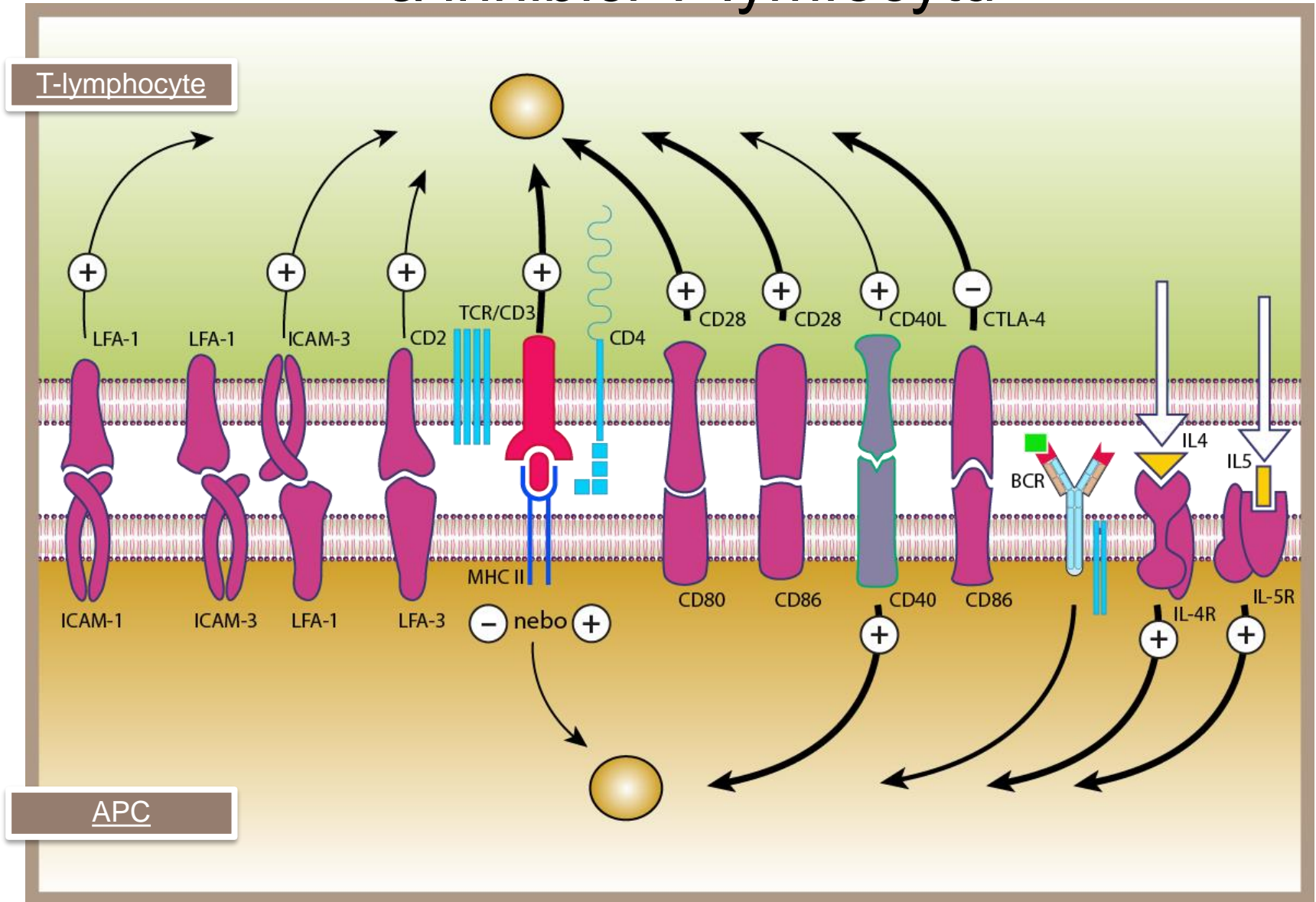
Regulace imunitní odpovědi

- Uskutečňuje se:
 - Interakcí složek imunitního systému.
 - Vlastnostmi a kvantitou antigenu a dalších vnějších aktivačních signálů (PAMP).
 - Prostřednictvím neuroendokrinních vlivů: inervace orgánů imunitního systému, vlivem hormonů na funkci imunitního systému.

Regulace uvnitř imunitního systému

- Uskutečňuje se především
 - Fyzikálními mezibuněčnými interakcemi – účastní se řada aktivačních povrchových molekul přenášejících pozitivní nebo negativní signál.
 - Prostřednictvím produkce řady cytokinů.

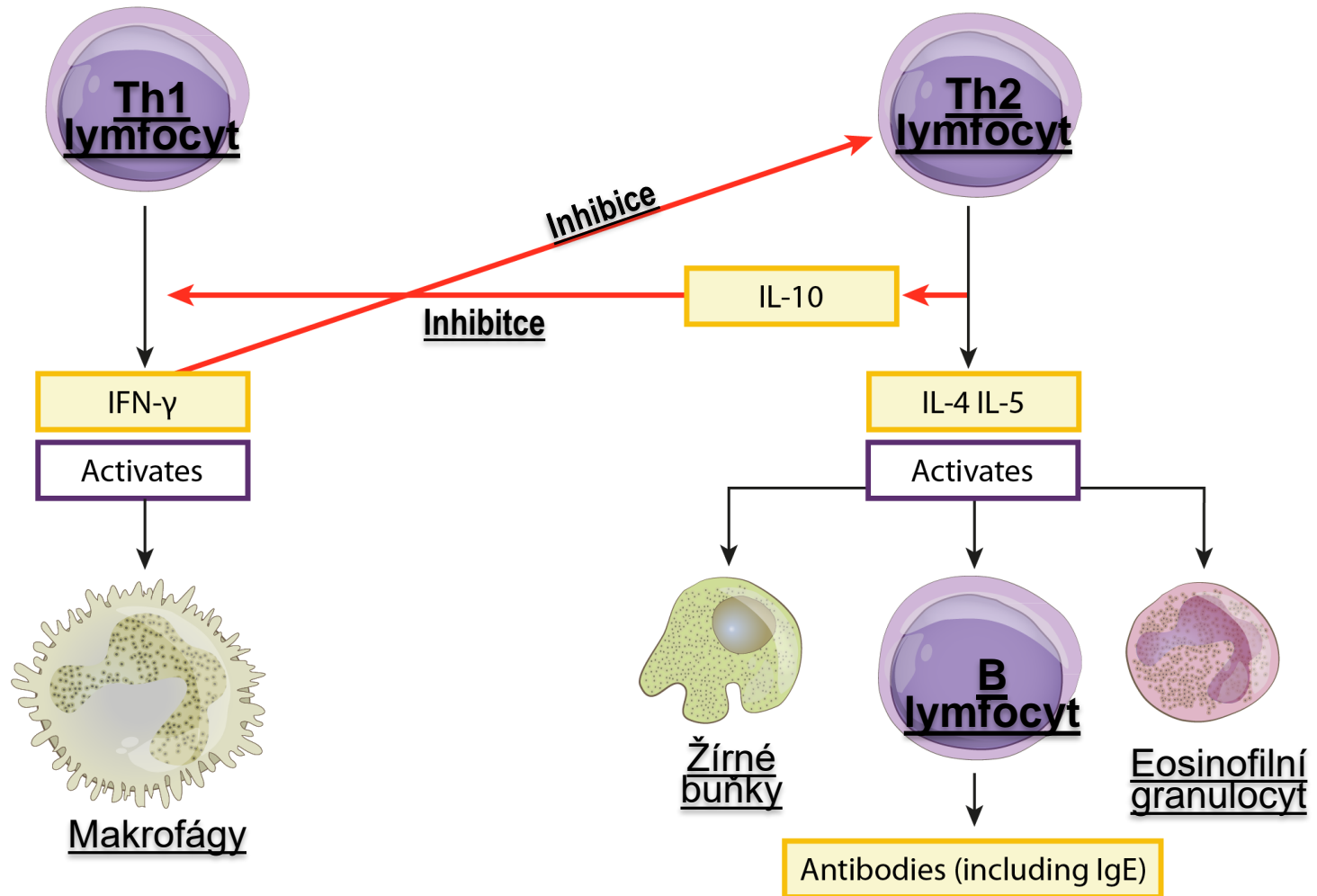
Kostimulační molekuly při aktivaci a inhibici T-lymfocytů



Regulace T-lymfocyty

- Antagonistický vztah Th1 a Th2 lymfocytů
- Různé typy regulačních T-lymfocytů inhibují imunitní reakci, jsou zodpovědné za vrozenou i získanou toleranci.

Funkce Th1 and Th2 lymfocytů



T-lymphocyte checkpoints

- **Stimulační**

- CD27 (ligand CD70 na APC),
- CD28 (Ligand CD80, 86 na APC),
- CD40 – exprese na APC, B-ly (ligand CD154 = CD40L na T-ly) ,
- OX40 – aktivované a paměťové T-ly (ligand OX49L),
- GITR - Treg (ligand GITRL – především na APC)

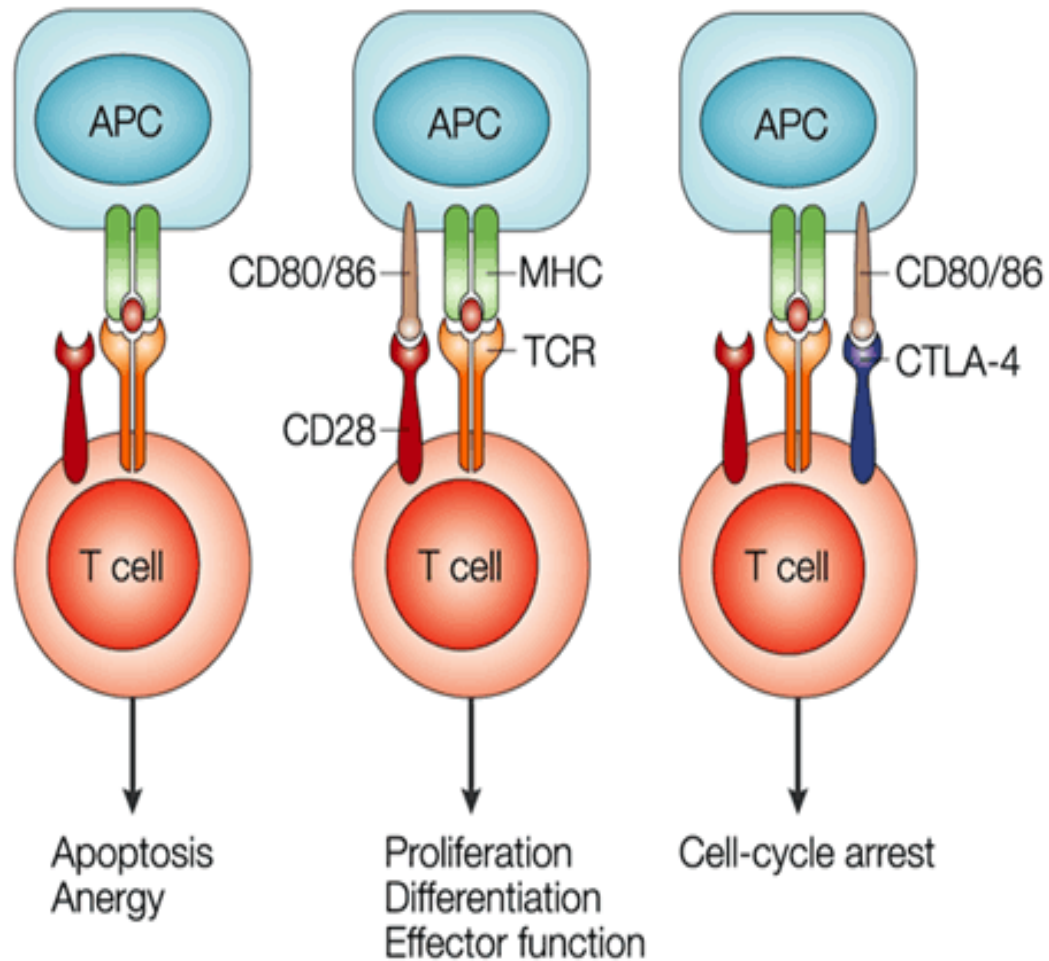
- **Inhibiční**

- CTLA-4 exprese na aktivovaných T-ly (ligand CD80,86) ,
- PD-1 exprese na aktivovaných T-ly (ligand PDL1, PDL2, aktivované makrofágy, granulocyty)

CTLA-4

- Exprimován hlavně na povrchu aktivovaných Th buněk.
- Přenáší inhibiční signál na Th buňky.
- Obdobně jako ko-stimulační molekula CD28 se váže na CD80 and CD86, (B7-1 and B7-2)
- CTLA-4 je možno nalézt i na Treg lymfocytech, je důležitý pro jejich funkci.
- CTLA-4 se váže na své ligandy, vytrhává je z membrány APC a internalizuje je procesem zvaným transedocytóza, což vede ke snížené schopnosti aktivovat T- lymfocyty.
- **Ipilimumab** – monoklonální protilátka blokující funkci CTLA-4 – je používání ke „stimulaci“ imunitní odpovědi při imunoterapii některých nádorů.
- **Abatacept** – fúzní protein IgG+CTLA-4 – váže se na CD80/86, tím zabraňuje aktivaci T-lymfocytů, používá se jako imunosupresivum.

Vazba CTLA-4 na CD80/86 vede k inhibici funkce T-lymfocytů



PD-1

(Programmed cell death protein-1)

- Exprimován na aktivovaných T-lymfocytech (též B-lymfocytech, makrofázích)
- Vazba na ligandy (PD-L1, PD-L2 - jsou exprimovány např. na aktivovaných makrofázích, granulocytech, dendritických buňkách) vede k apoptóze antigen-specifických T-lymfocytů.
- Jedná se důležitý check-point v regulaci funkce T-lymfocytů
- PD-L1 je exprimován na řadě nádorových buněk.
- Monoklonální protilátky proti PD-1 (např. **nivolumab**) jsou využívány v imunoterapii nádorů.

THE NOBEL PRIZE
IN PHYSIOLOGY OR MEDICINE 2018

Illustrations: Niklas Elmehed



James P. Allison • Tasuku Honjo

“for their discovery of cancer therapy by inhibition
of negative immune regulation”

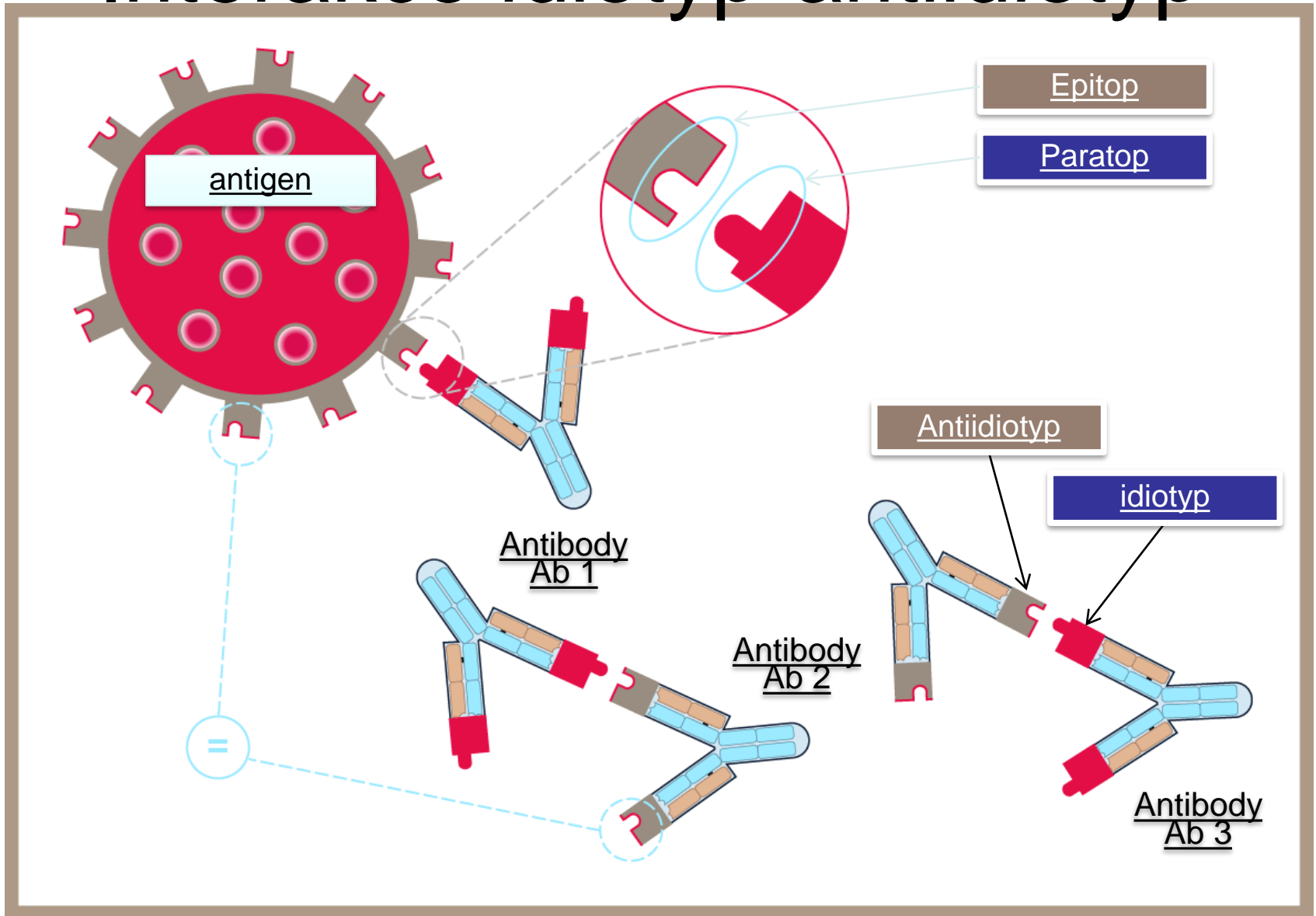
THE NOBEL ASSEMBLY AT KAROLINSKA INSTITUTET

Za výzkum check-pointů imunitní odpovědi a jejich využití v protinádorové imunoterapii
James p Allison – výzkum CTLA4, příprava ipilimumabu, Tasaku Honjo – objev a výzkum PD-1

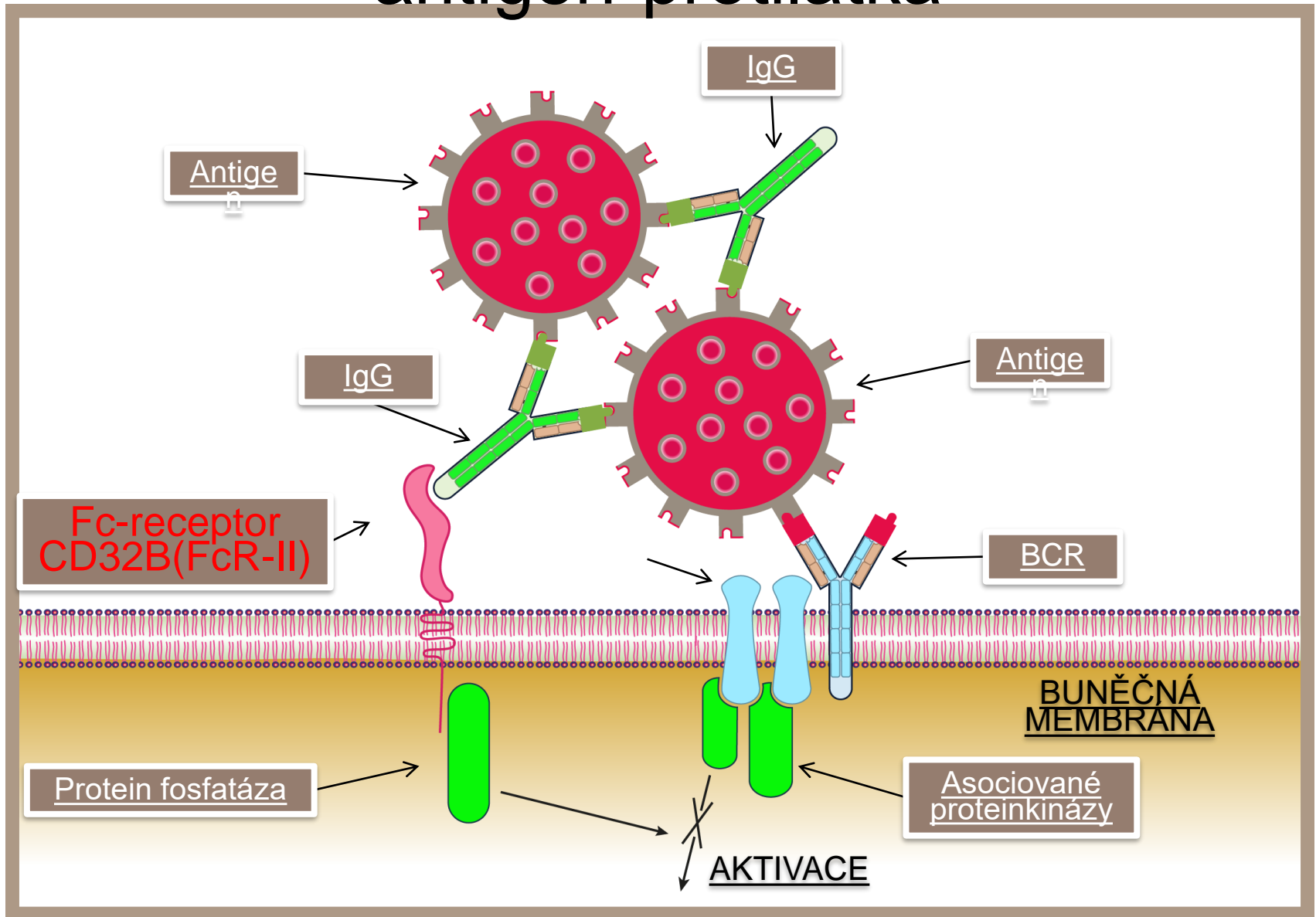
Regulace protilátkami

- Idiotyp-antiidiotypové interakce.
- Negativní regulace po vazbě protilátky na $Fc\gamma RII$.
- Vazba imunitního komplexu při prezentaci antigenů dendritickými folikulárními buňkami B-lymfocytům v zárodečných centrech výrazně zvyšuje imunogenicitu.
- C3dg (štěpný produkt C3) vázaný na antigen vazbou na receptor CD21 má pozitivní stimulační efekt na B-lymfocyty.

Interakce idiotyp-antiidiotyp



Inhibice B-lymfocytů komplexy antigen-protilátka

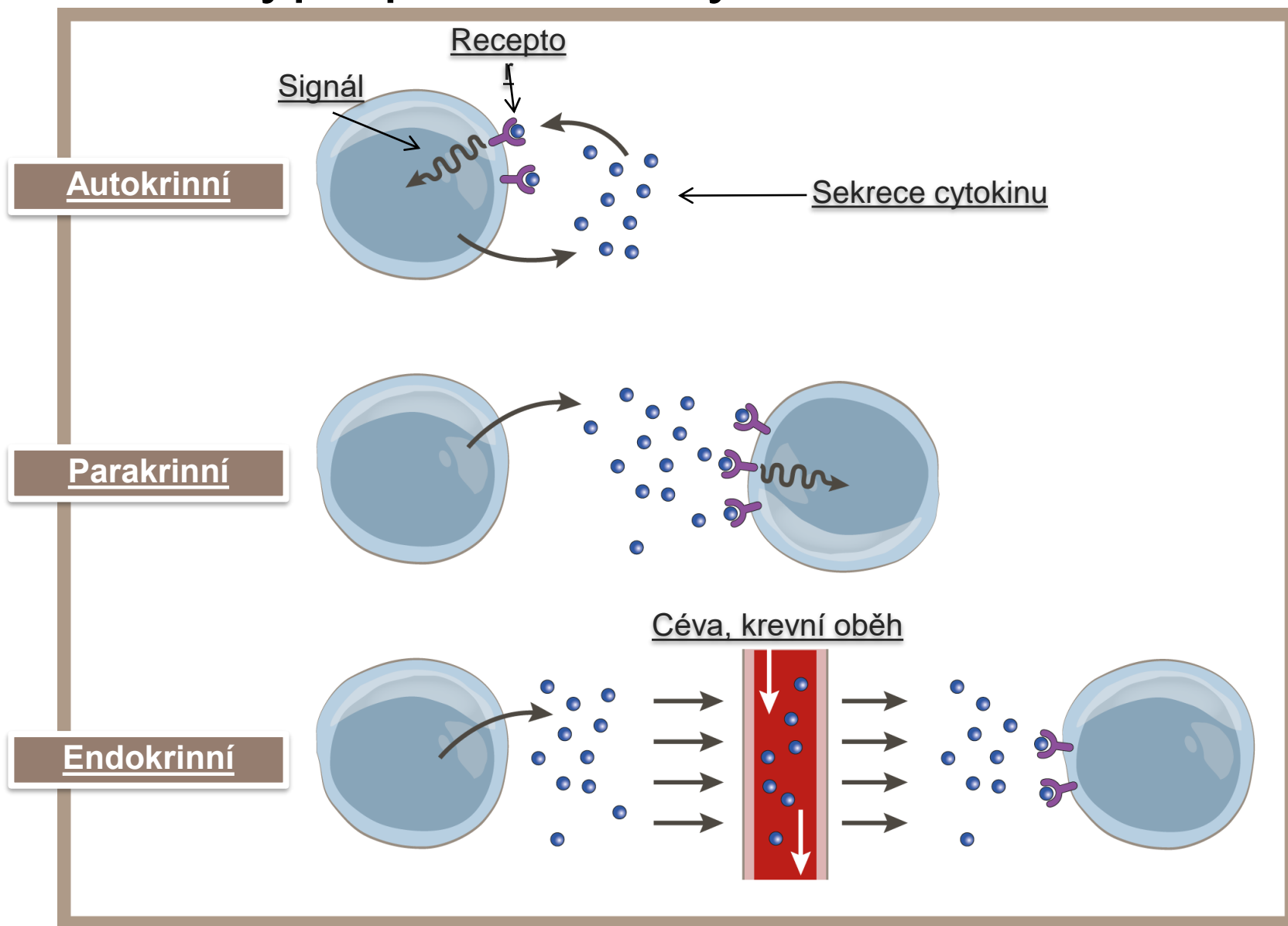


Cytokiny

Cytokiny

- Působky, „tkáňové hormony“, hlavní regulátory buněk imunitního systému.
- Produkty buněk imunitního systému působící hlavně opět v imunitním systému.
- Působí prostřednictvím specifických receptorů.
- Účinek autokrinní, parakrinní, endokrinní.
- Obvykle krátký biologický poločas
- Názvosloví:
 - IL-1 - IL-38 (?)
 - Historické názvy: interferony, TNF, CSF..

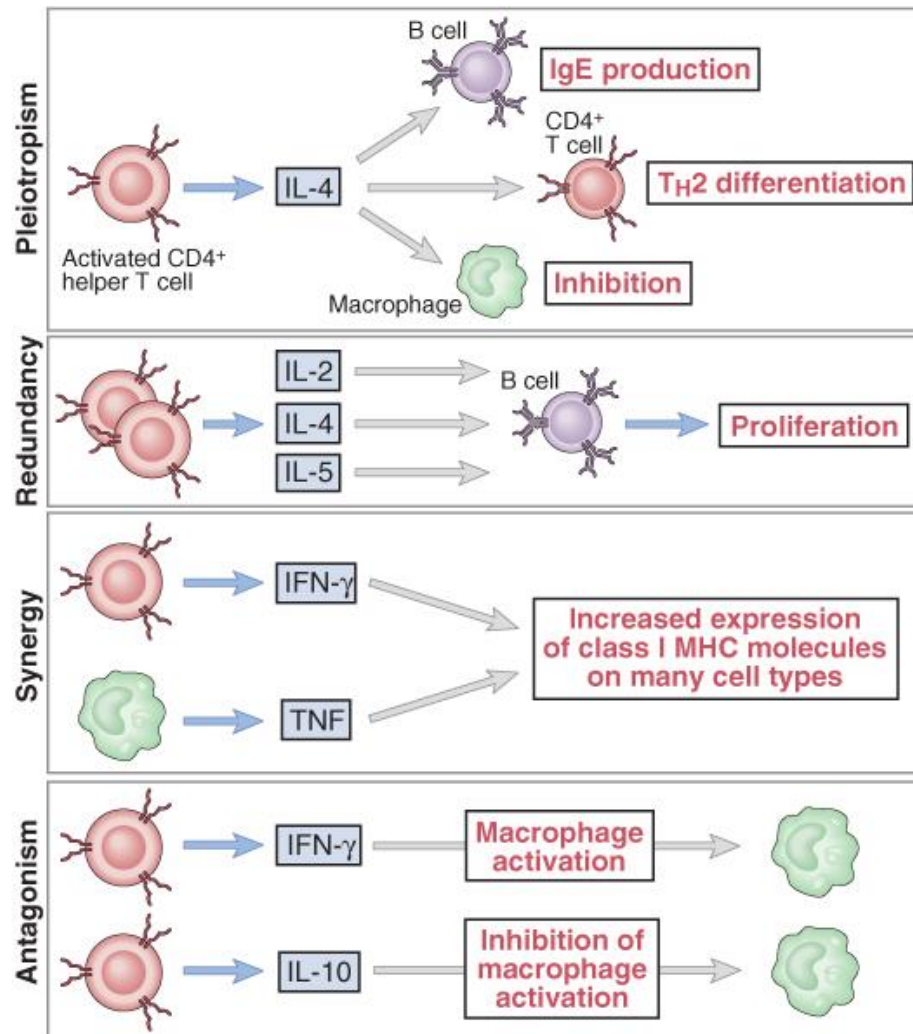
Schéma typů působení cytokinů na druhé buňky



Cytokiny

- Obvykle produkovány různými skupinami buněk, ale často je určitá skupina „hlavním producentem“.
- Pleiotropní efekt.
- Vytvářejí funkční cytokinovou síť.
- Jeden cytokin má často jak stimulační, tak tlumivý efekt.

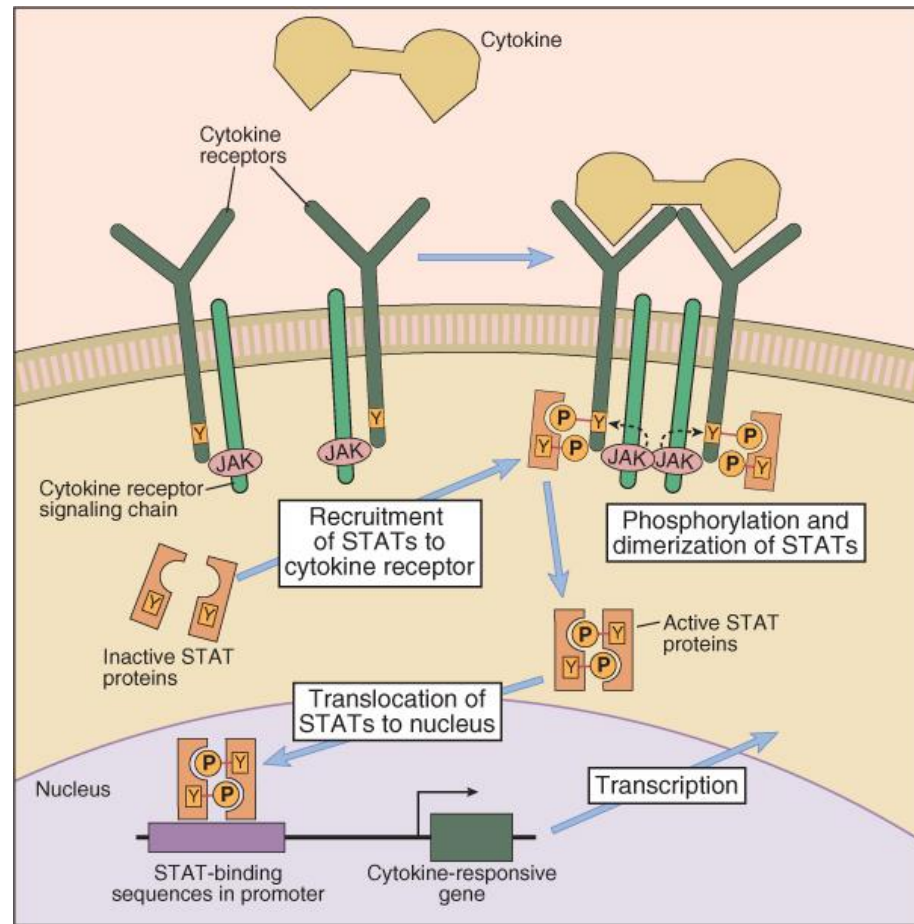
Vzájemné vztahy cytokinů



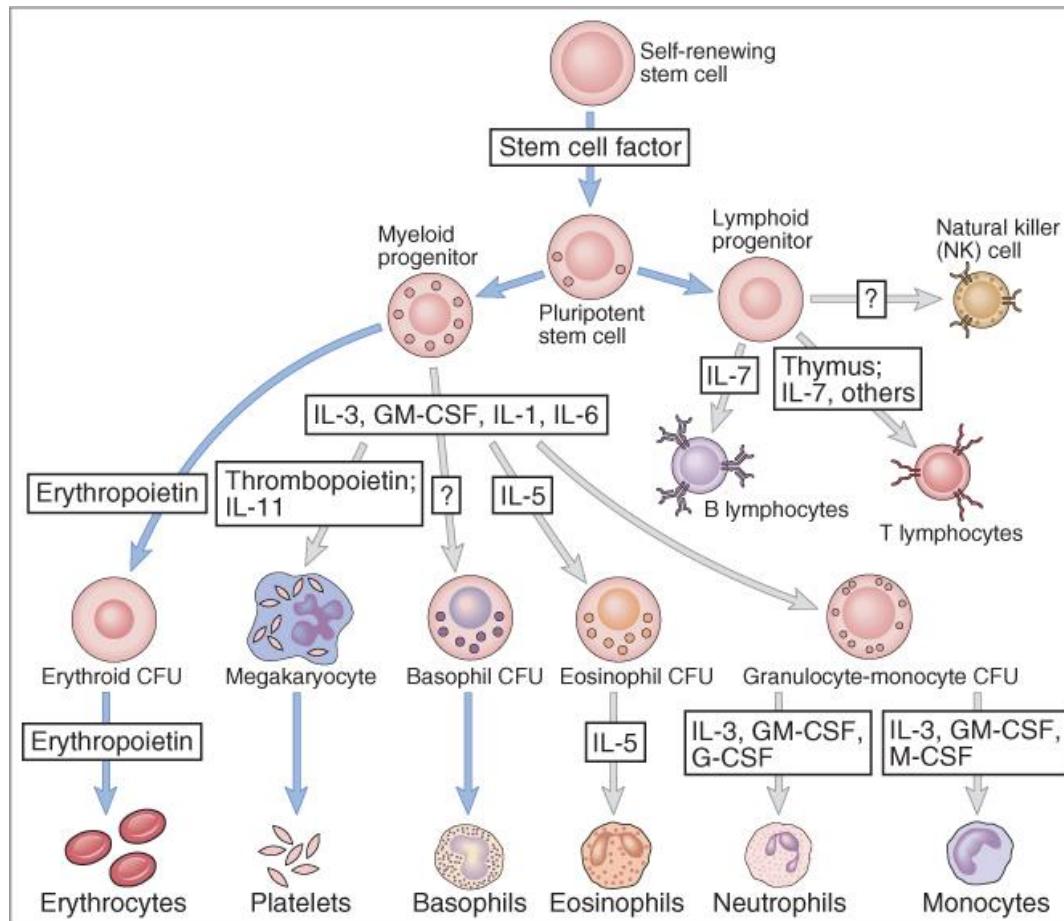
Při intracelulárním přenosu signálů cytokinů hraje důležitou roli dráha JAK-STAT



Římský bůh začátku a konce Janus měl 2 obličeje



Role cytokinů v hematopozeze



Nejdůležitější funkce cytokinů

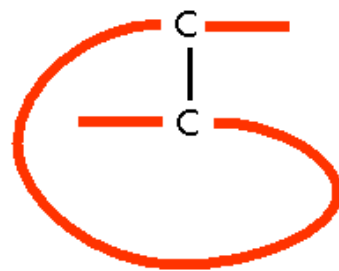
- Prozánětlivé cytokiny: IL-1, IL-6, TNF- α , IL-18
- Stimulace makrofágů: IFN- γ
- Stimulace granulocytů: chemokiny (včetně IL-8)
- Stimulace T-lymfocytů: IL-2
- Stimulace B-lymfocytů, produkce protilátek: IL-4, IL-5, IL-10, BAFF
- Proliferace progenitorových buněk: IL-3, GM-CSF, M-CSF
- Negativní regulátory: IL-10, TGF β

Chemokiny

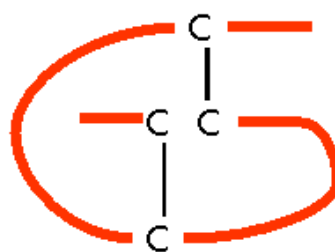
- Nízkomolekulární proteiny
- Na základě koncentračního spádu řídí migraci do míst zánětu (zánětlivé chemokiny).
- Řídí přísun buněk i za fyziologických okolností (homeostatické chemokiny).
- Mohou ovlivňovat i další funkce vlastnosti buněk imunitního systému.
- Podle umístění cysteinů na N-terminálním konci se dělí do 4 rodin: CC, CXC, CX3C a C
- Popsáno asi 45 chemokinů a 19 různých chemokinových receptorů.

Klasifikace chemokinů

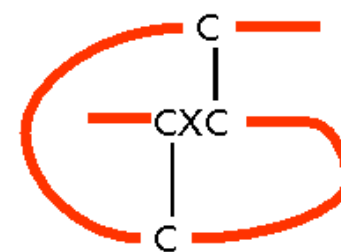
Structure of chemokine classes



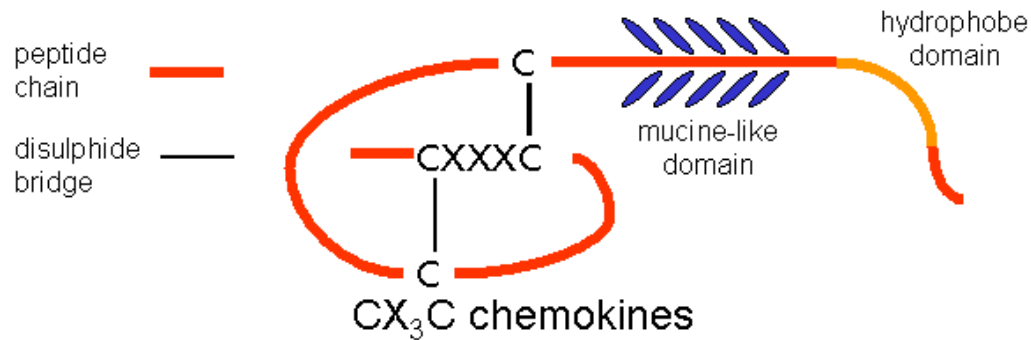
C chemokines



CC chemokines



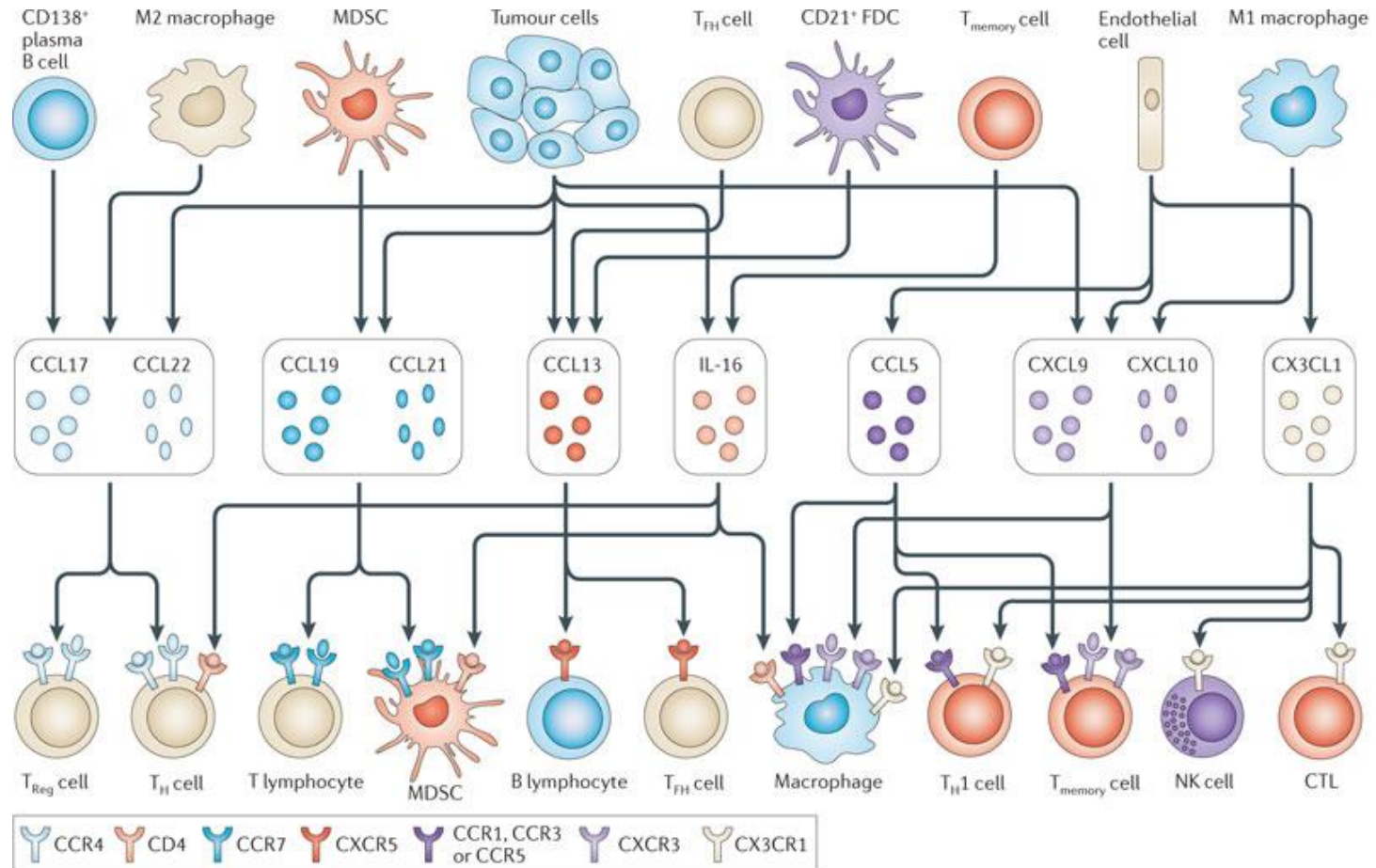
CXC chemokines



CX₃C chemokines

© Kohidai, L.

Význam chemokinů v protinádorové odpovědi



Interferony (IFN)

- Typ I: IFN α , IFN β : jsou produkovány některými buňkami infikovanými viry (hlavně fibroblasty, makrofágy). V cílové buňce inhibují virovou replikaci.
- Typ II „Imunní“: IFN γ : produkován aktivovanými T_H1 buňkami, způsobuje aktivaci makrofágů (ale též stimuluje produkci IgG1).

Cytokiny v patogenezi chorob

- Atopické choroby: tvorbu IgE stimuluje IL-4, IL-13; tvorbu eozinofilů IL-5.
- Zánětlivé choroby (revmatické, Crohnova choroba), systémová zánětlivá odpověď při sepsi – patogeneticky nejvýznamnějším prozánětlivým cytokinem je zřejmě TNF- α .
- Jsou známy primární imunodeficity v jejichž patogenezi hraje důležitou roli defekt produkce některých cytokinů (IFN γ , IL-12).

Terapeutické využití cytokinů

- IFN- α : protinádorová léčba (malignity lymfatického systému, ca ledvin), léčba hepatitidy B a C
- IL-2- protinádorová léčba (nyní v podstatě opuštěno)
- GM-CSF- léčba granulocytopenií
- IFN- β : léčba sclerosis multiplex
- IFN- γ : léčba některých imunodeficitů

Anticytokinová léčba

- Blokáda funkce cytokinů různými mechanismy:
 - Přímá vazba a blokáda funkce cytokinů.
 - Látky blokující receptory pro cytokiny.
 - Solubilní arteficiální receptory vážící cytokiny.
- Nejčastěji se jedná o monoklonální protilátky, dále fúzní proteiny, ale může se jednat i o jiné metody přípravy.
- Využití: protizánětlivá léčba: namířená proti TNF- α , dále i IL-1, IL-6, IL-17, IL-23..
- Protinádorová léčba – například blokáda receptorů růstových faktorů (např. EGF)

Imunitní tolerance

Imunitní tolerance

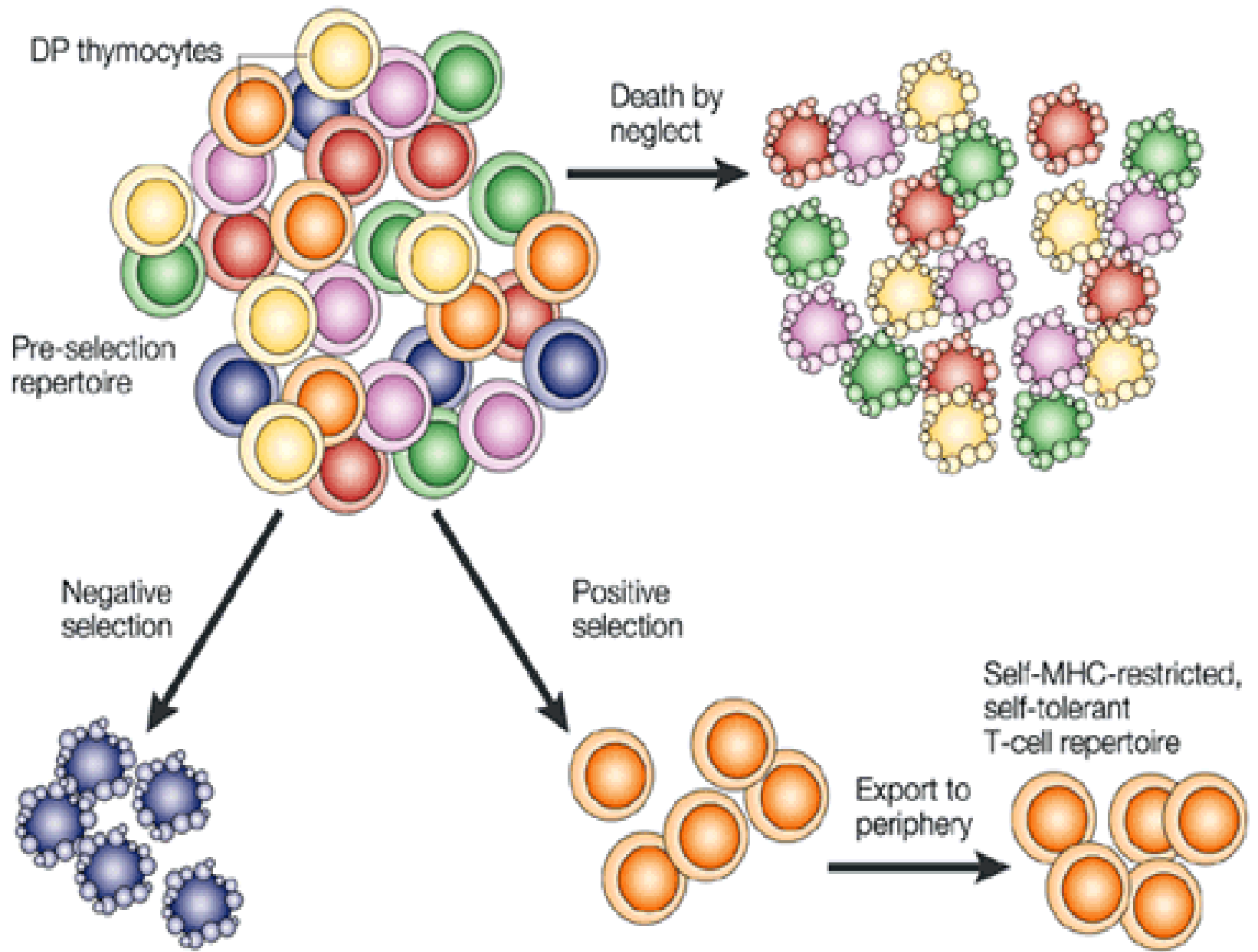
- Centrální
- Periferní

Centrální imunitní tolerance = klonální delece

- negativní selekce během thymové výchovy
- delece autoreaktivních B-lymfocytů v kostní dřeni

Thymová výchova T-lymfocytů

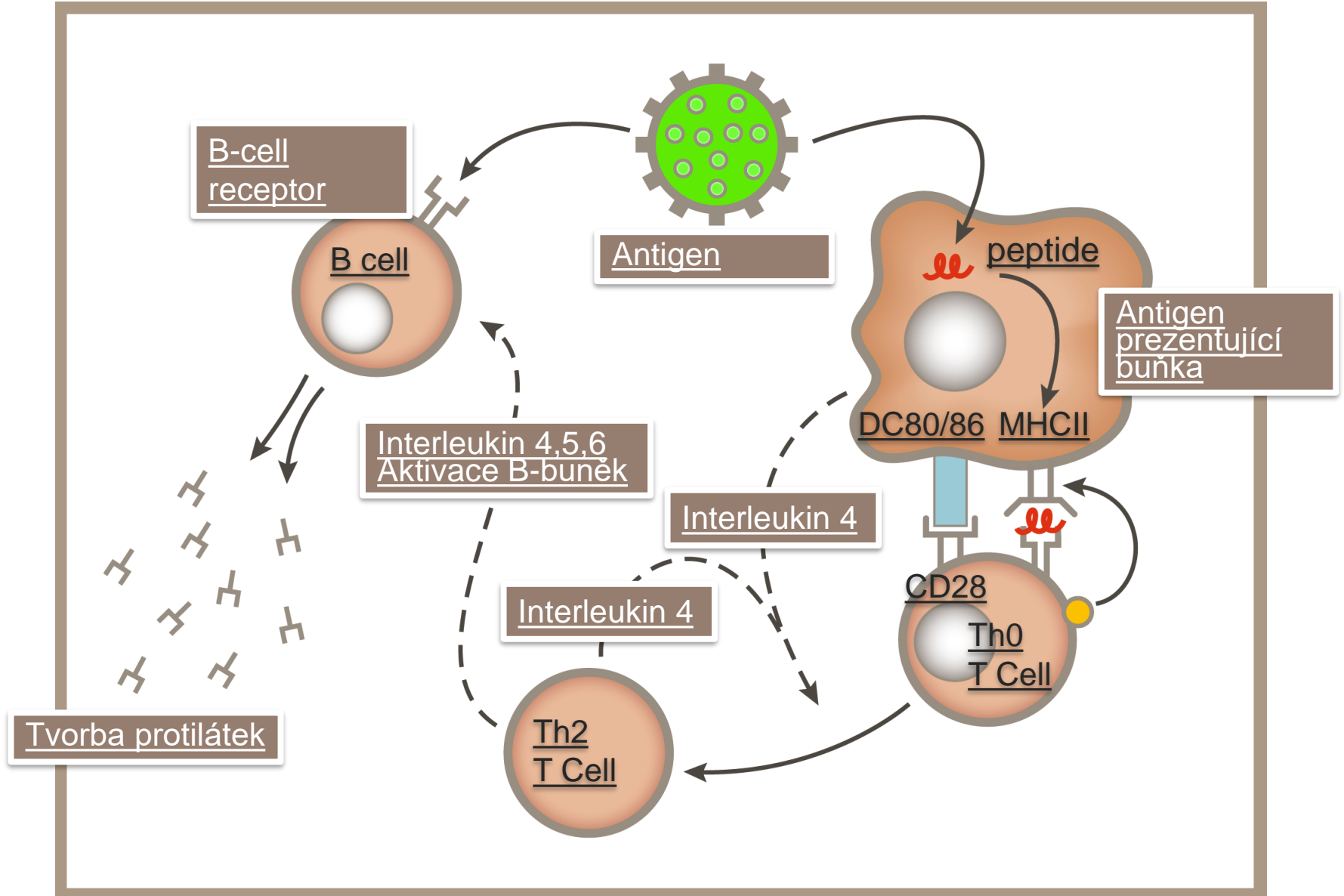
- Pozitivní selekce thymocytů reagujících s nízkou afinitou s HLA antigeny na povrchu antigen-prezentujících buněk. Probíhá v kortikální oblasti. Zajišťuje přežití jen těch T-lymfocytů, které později rozpoznají komplex antigen-HLA.
- Negativní selekce – apoptózou hynou thymocyty reagující s vysokou afinitou s komplexy HLA-autoantigeny. Probíhá zejména v subkortikální oblasti thymu. Zajišťuje odstranění autorektivních klonů.
- V průběhu obou procesů hyne více než 90% thymocytů.



Periferní imunitní tolerance

- Klonální anergie - chybí kostimulační signály
- Klonální delece
- Klonální ignorance - koncentrace autoantigenu je podprahová, autoantigeny jsou skryty.
- Suprese - autoreaktivita potlačena regulačními buňkami.

Aktivace imunitního systému antigenem



Imunoregulační působení T-lymfocytů

- Regulační T-lymfocyty (Treg) - jsou CD4+CD25+ zajišťují vrozenou neodpovídavost na autoantigeny.
- Tr1, indukované Treg lymfocyty- zajišťují antigenem-indukovanou toleranci.
- Vzájemná negativní regulace subpopulací Th1 a Th2.

Experimentálně indukovaná imunitní tolerance

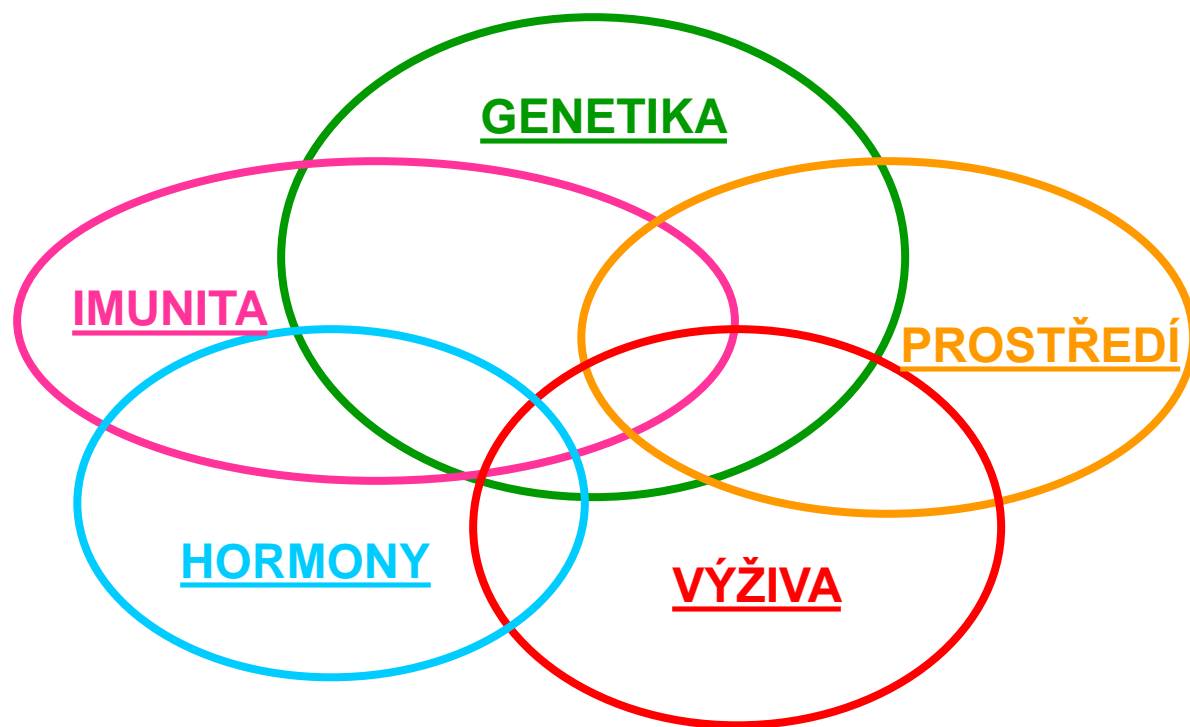
- „Vysokozónová“ – podání vysoké dávky antigenu – abnormální stimulace vede k delecii antigen-specifického klonu.
- „Nízkozónová“ – opakované podání nízkých dávek antigenu. Mechanismem je indukce imunoregulačních buněk. Snad je jedním z mechanismů alergenové imunoterapie.
- Orální – podání antigenu orální cestou může vést ke vniknutí získané imunitní tolerance indukci regulačních buněk.

AUTOIMUNITNÍ CHOROBY

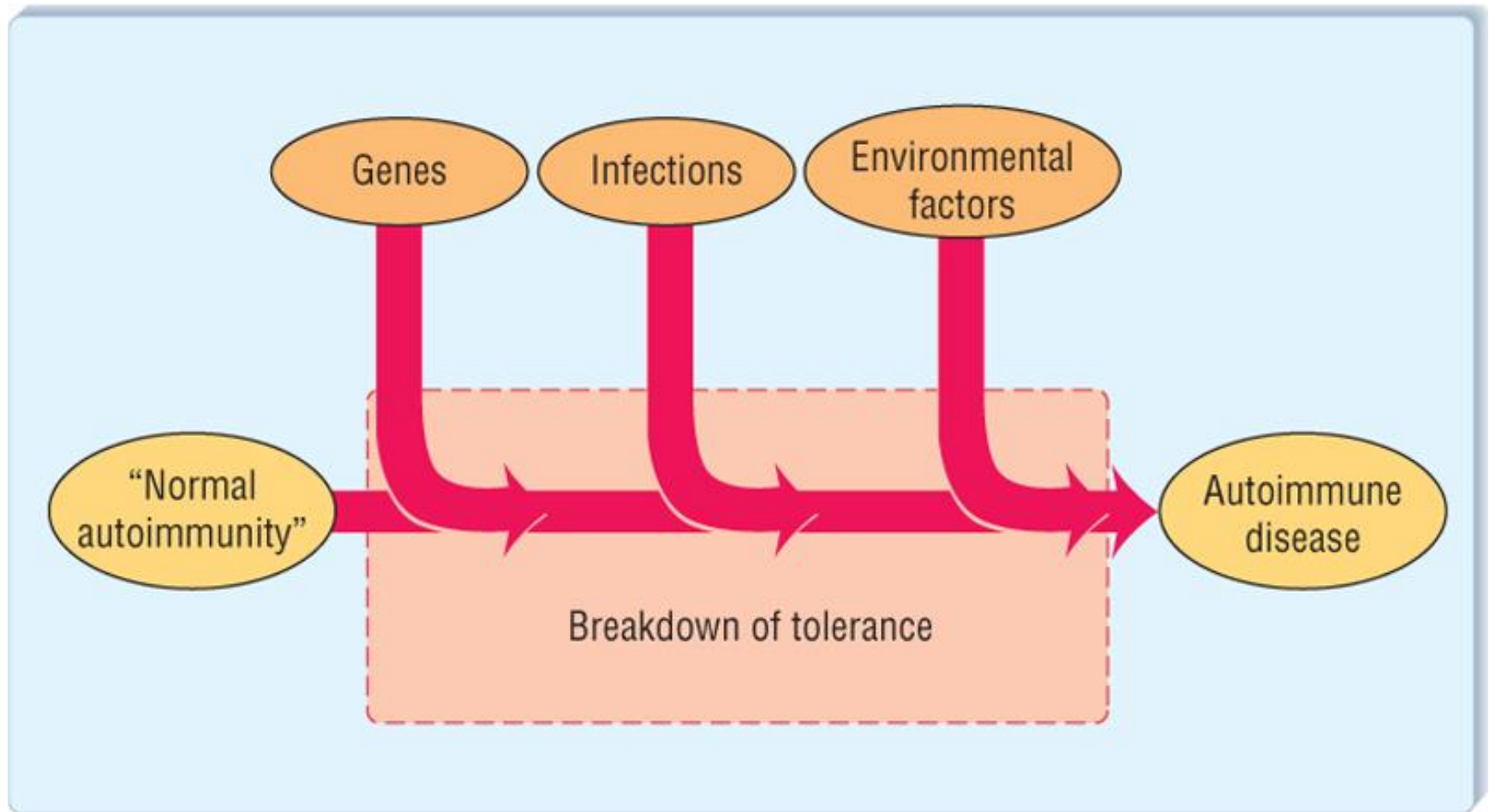
- onemocnění, při kterém **autoprotiátky** nebo **autoreaktivní T-lymfocyty** vedou k poškození vlastních buněk nebo tkání
- postihují 5-7% populace, především ženy

- **Autoreaktivita** – fyziologické rozpoznání vlastních struktur imunitním systémem (důležité při odstraňování starých, apoptotických buněk..)
- **Autoimunitní reakce** – abnormální reakce imunitního systému proti vlastním strukturám (např. asymptomatický výskyt autoprotilátek)
- **Autoimunitní choroba** – má klinické příznaky

Kombinace faktorů podmiňujících vznik autoimunitních chorob



Faktory zapojené do rozvoje autoimunitního onemocnění



Mechanismy vedoucí ke vzniku autoimunitních chorob

- Vizualizace skrytých antigenů
- Zkřížená reaktivita exo- a endoantigenů (molekulární mimikry)
- Abnormální exprese HLA-II antigenů
- Polyklonální stimulace
- Porucha funkce regulačních T-lymfocytů
- Vznik neoantigenů (např. vliv léků, infekcí)

Molekulární mimikry

Streptococcus pyogenes A- protein M -antigeny srdečních chlopní, poškození srdce u revmatické horečky.

Možné:

Coxsackie-virus, cytomegalovirus – glutamát-dekarboxyláza v pankreatu, diabetes mellitus 1

Klebsiella – HLA B27 – ankylosující spondylitida,

Poliovirus – receptor pro acetylcholin –myasthenia gravis

Genetické aspekty autoimunitních onemocnění

- Nahromadění autoimunitních onemocnění v rodinách.
- Inbrední kmeny zvířat u nichž se vyvíjejí definovaná autoimunitní onemocnění.
- Vazba na HLA antigeny.
- Význam polymorfismu cytokinů/ cytokinových receptorů.
- Poruchy apoptózy vedou k autoimunitním syndromům.
- Většina autoimunitních onemocnění je častějších u žen.

Vnější vlivy účastníci se rozvoje autoimunitních chorob

- Infekce
 - „Bystander“ efekt (včetně abnormální exprese HLA-II) při probíhajícím zánětu
 - Molekulární mimikry
 - Polyklonální stimulace
- Vliv UV světla na rozvoj a exacerbace SLE
- Rozvoj sklerodermie po aplikaci prsních implantátů.

Výskyt autoimunitních chorob

(Mackay IR, BMJ 2000; 321: 93-96)

- Odhaduje se, že asi 5% populace trpí některou autoimunitní chorobou.
- Autoimunitní postižení štítné žlázy: asi 3% žen.
- Revmatoidní artritida: 1% populace.
- Primární Sjögrenův syndrom: 0.6-3% žen.
- SLE: 0,12% populace.
- Roztroušená mozkomíšní skleróza: 0,1% populace.

Autoimunitní choroby: vliv pohlaví

(Ahmed SA et al: Am J Pathol 1985, 121:531)

choroba

ženy / muži

Hashimotova thyreoditis	25 - 50 : 1
Thyreotoxikóza	4 - 8 : 1
Systemový lupus erythematosus	9 : 1
Revmatická arthritida	2 - 4 : 1
Sjögrenův syndrom	9 : 1
Myasthenia gravis	2 : 1
Diabetes mellitus I. Typu	5 : 1

Patogeneze autoimunitních chorob

- Autoprotilátky působí opsonizačně, aktivují komplementový systém, blokují/stimulují receptory, může se uplatnit i fenomén ADCCC. Komplexy s autoantigeny mohou vytvářet imunokomplexová onemocnění.
- Autoreaktivní T-lymfocyty: uplatňují se cytotoxické ale i Th lymfocyty. Nejznámějším příkladem je roztroušená mozkomíšní skleróza, DM-I.
- Nespecifické mechanismy: chemotaxe leukocytů do místa zánětu.

Léčba autoimunitních chorob

- **Nahrazení funkce postiženého orgánu** – substituce inzulinem, thyreoidálními hormony, parenterální aplikace vit B12
- **Protizánětlivá léčba** - v lehkých případech u chorob asociovaných s výrazným zánětem („kolagenózy“) je možné podávat „klasické“ protizánětlivé léky – nesteroidní antiflogistika, antimalarika, protizánětlivé dávky steroidů. Výrazně účinnější je hlavně blokáda prozánětlivých cytokinů monoklonálními protilátkami.
- **Imunosupresivní léčba** – je základem léčby závažných autoimunitních chorob.
- Indukce imunitní tolerance – zatím všechny klinické pokusy selhaly.

Autoprotilátky v diagnostice autoimunitních chorob

- Poměrně často se setkáváme se stavem, kdy diagnosticky využívané autoprotiátky jsou odlišné od autoprotiátek patogenních.
- Přítomnost řady autoprotiátek v nízkých titrech nacházíme poměrně běžně.
- Autoimunitní choroba musí mít klinické příznaky, samotná přítomnost autoprotiátek nikdy nestanoví diagnózu!