

# Mezibuněčná komunikace a interakce buněk imunitního systému

*Základy buněčné signalizace*

*I. díl*

*Povrchové receptory*

*II. díl*

*Cytokiny*

*Lipidové mediátory zánětu*

---

Lukáš Kubala

kubalal@ibp.cz

# Vybrané typy povrchových receptorů buněk imunitního systému podle funkce

1. Immunoreceptory – receptory lymfocytů, NK buněk a žírných buněk
2. Receptory prezentující antigen (MHC receptory)
3. Fas receptory
4. Receptory rozpoznávající struktury charakteristické pro patogeny a poškozené buňky (PRR, „Pattern Recognition Receptors“)
5. Adheziny – adherence a migrace buněk
  - Integriny
  - Selektiny
  - Adheziny patřící do velké rodiny imunoglobulinů
  - Cadheriny
  - Mucinové receptory

Dnešní  
přednáška

# Povrchové receptory adheziny

**Receptory primárně zodpovědné za adherenci a migraci buněk**

- Integriny
- Selektiny
- Adheziny patřící do velké rodiny imunoglobulinů
- Cadheriny
- Mucinové receptory

# Integriny

## Struktura:

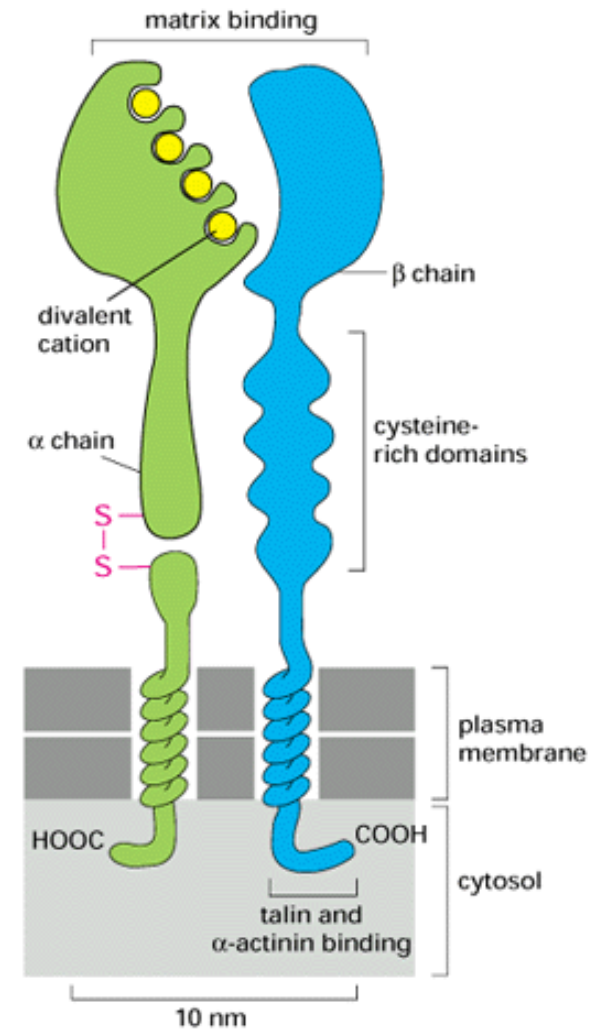
- 2 podjednotky – vzájemné kombinace různých typů  $\alpha$  (10) a  $\beta$  (8) podjednotek

## Ligandy:

- primárně proteiny mezibuněčné hmoty nebo membránové glykoproteiny

## Aktivita/efektivita integrinů je regulována:

1. povrchovou expresí integrinů  
(počtem integrinů na povrchu buněk)
2. konformačním stavem integrinů  
(regulace vazbou  $\text{Ca}^{2+}$  a  $\text{Mg}^{2+}$ )
  - > klidový stav – nízko afinitní
  - > aktivovaný stav – vysoko afinitní



# Vybrané integriny

## **$\beta$ 1 integriny:**

- $\beta$ 1 s řetězcem  $\alpha$ 1-  $\alpha$ 7 (např. rodina VLA = „Very Late Antigens“ receptorů)
- ligandy: kolagen, fibronektin, nebo laminin

## **$\beta$ 2 integriny:**

- $\beta$ 2 s různými  $\alpha$  řetězci (např. LFA-1 = „Lymfocyte Function-associated Antigen 1“ - CD18/CD11a, MAC-1 = antigen makrofágu-1 - CD18/CD11b nebo CR3)
- ligandy: molekuly ICAM-1, -2 a -3, fibrinogen ale MAC-1 se váže také na iC3b
- $\beta$ 2 řetězec s různými  $\alpha$  řetězci (např. LFA-1 = „antigen 1 spojený s funkcí lymfocytů“ - CD18/CD11a, MAC-1 = antigen makrofágu-1 - CD18/CD11b nebo CR3) ligandy: ICAM-1, -2 a -3, fibrinogen ale i MAC-1 se váže na iC3b

## **$\beta$ 3 integriny:**

- $\beta$ 3 s různými  $\alpha$  řetězci (např. CD61 a  $\alpha$  V (CD51) tvoří receptor vitronektinu, CD61 a  $\alpha$  2B (CD41) tvoří receptor gpIIb/IIIa)
- ligandy: von Willebrandův faktor, vitronektin, fibrinogen

# Selektiny

## Struktura:

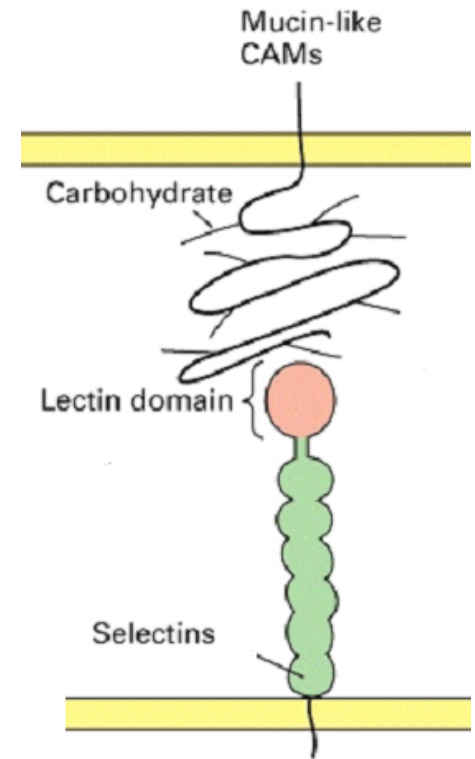
- extracelulární část končí lektinovou doménou rozeznávající specifické sacharidové struktury, např. u glykoproteinů

## Výskyt selektinů:

- na krevních a endoteliálních buňkách u obratlovců
- na povrchu buněk často exprimovány pouze přechodně podle aktivace buněk

## Vybrané selektiny:

- **P-selektin** – na aktivovaných trombocytech a endoteliích
- **E-selektin** – na aktivovaných endoteliích; zpomalují leukocyty, což předchází jejich pevnému přichycení na endotel = tzv. rolování leukocytů
- **L-selektin** – na leukocytech; váží leukocyty k endotelu postkapilárních žilek



# Adheziny patřící do velké rodiny imunoglobulinů

## Struktura:

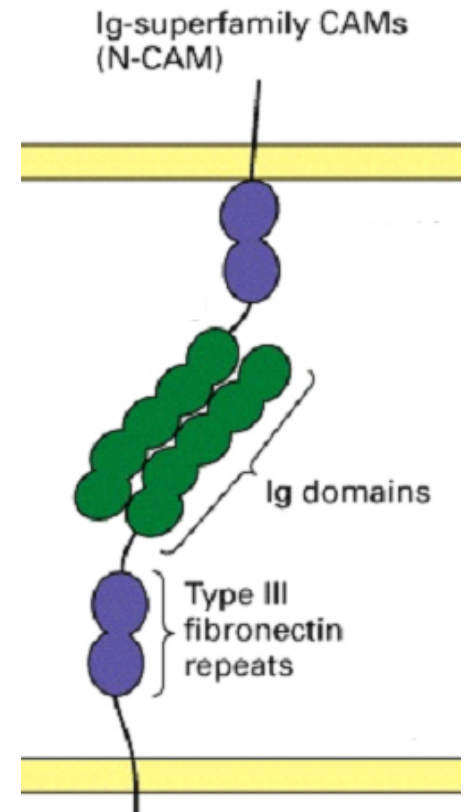
- základem struktury jedna nebo více imunoglobulinových domén
- tvoří velké množství typů s rozdílnými funkcemi

## Výskyt a funkce těchto typů adhezínů:

- exprimovány na většině buněk v organismu
- během aktivace endoteliálních buněk se objevují později než selektiny
- umožňují migraci leukocytů přes endotel

## Vybrané adheziny patřící do velké rodiny imunoglobulinů:

- **ICAM-1** („Intercellular Adhesion Molecule“), **ICAM-2**, **VCAM-1** („Vascular Cell Adhesion Molecule“) – ligandy leukocytárních integrinů; exprimovány na monocytech a aktivovaných endoteliálních buňkách, **PECAM-1** - (Platelet endothelial cell adhesion molecule) nejen na destičkách



# Cadheriny

## Struktura:

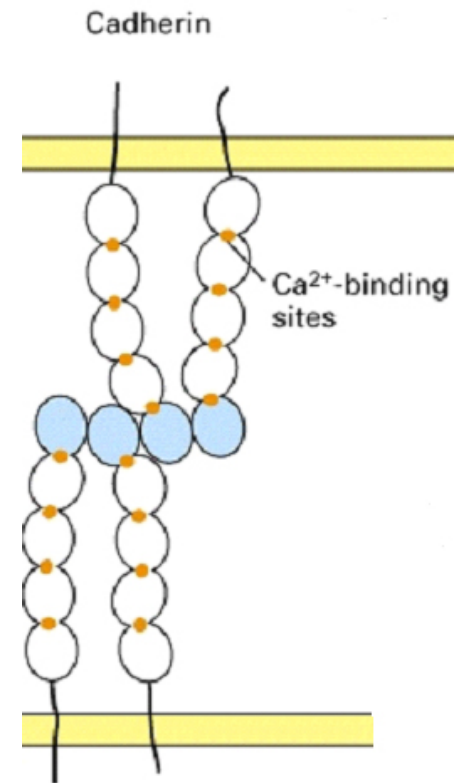
- 5 opakujících se domén
- většinou ve formě dimerů

## Výskyt a funkce cadherinů:

- exprimovány na různých buněčných populacích v organismu
- uplatňují se v kontaktech stejných buněčných populací, ale také mezi leukocyty a endotelem

## Vybrané cadheriny:

- **E-cadherin** – interakce mezi endoteliálními buňkami





# Muciny

## Struktura:

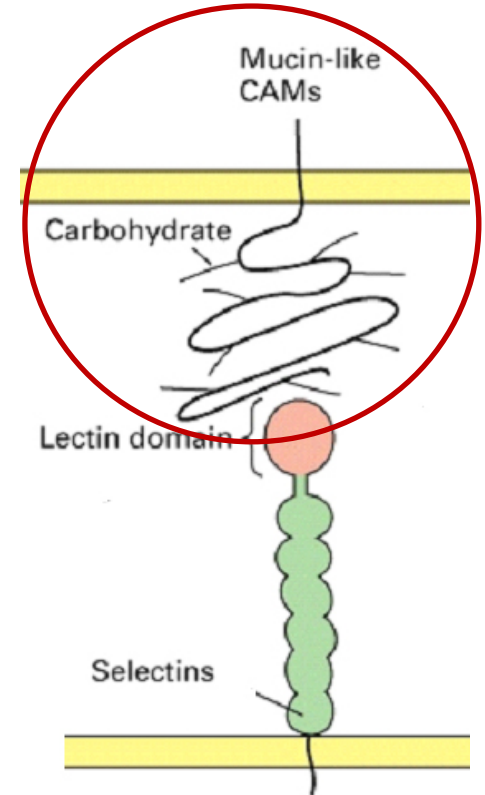
- silně glykosylované proteiny
- membránově vázané, ale i sekretované do okolí buněk

## Funkce:

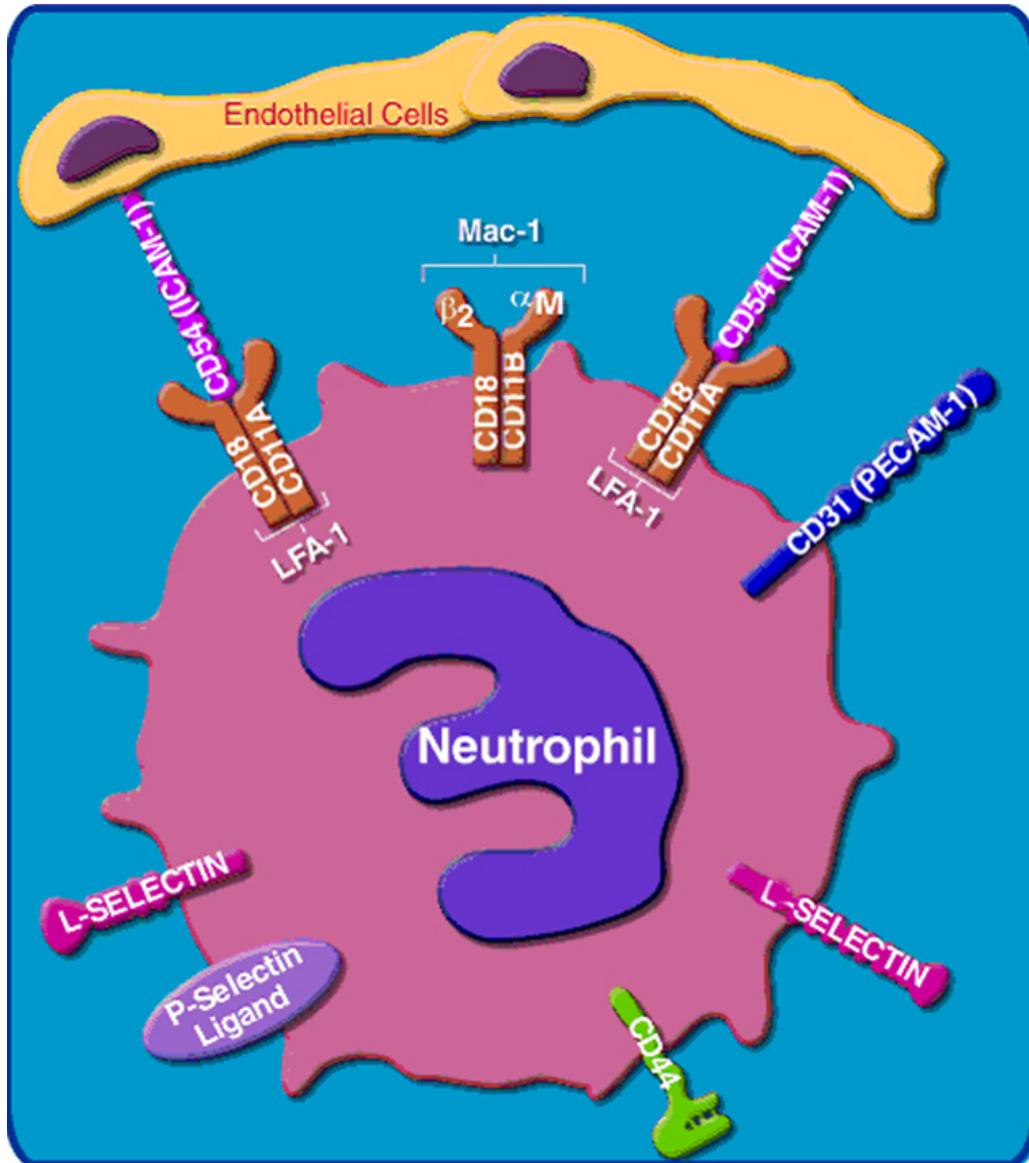
- některé jsou ligandy selektinů

## Vybrané molekuly:

- **CD34** – exprimován na nediferencovaných buňkách a raných vývojových stádiích leukocytů a endoteliích
- **CD43** – exprimován na leukocytech



## Příklad: důležité adhezivní molekuly neutrofilních granulocytů



**LFA-1 (CD18/CD11a)**

> vazba na endotel

**MAC-1 (CD18/CD11b)**

> vazba C3a a bakteriálních polysacharidů

**L-selektin (CD62L)**

> vazba na endotel

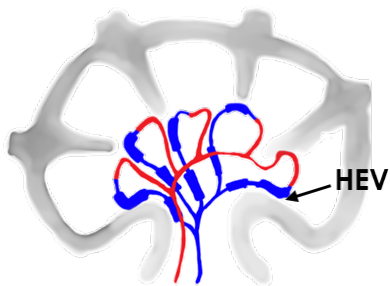
**PECAM-1 (CD31)**

> vazba na trombocyty a endotel

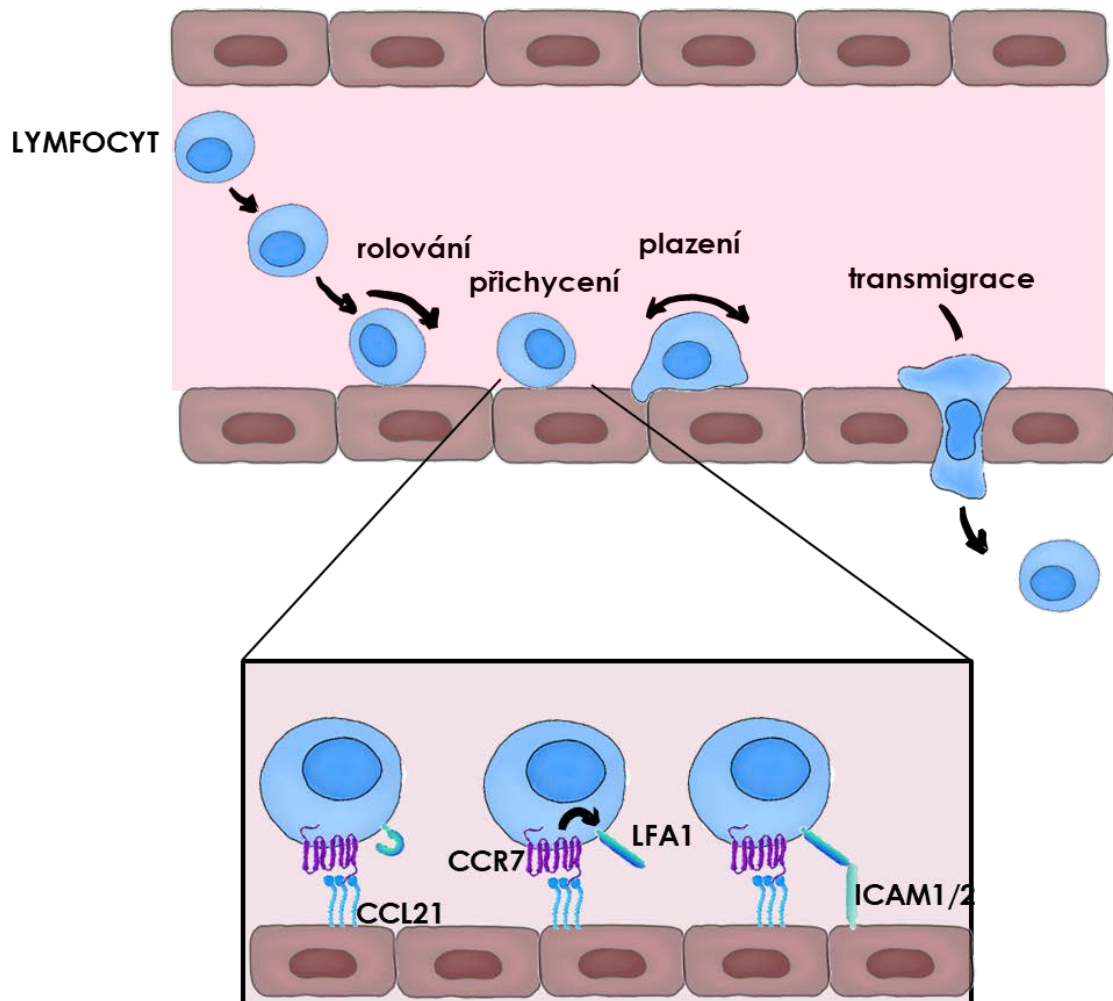
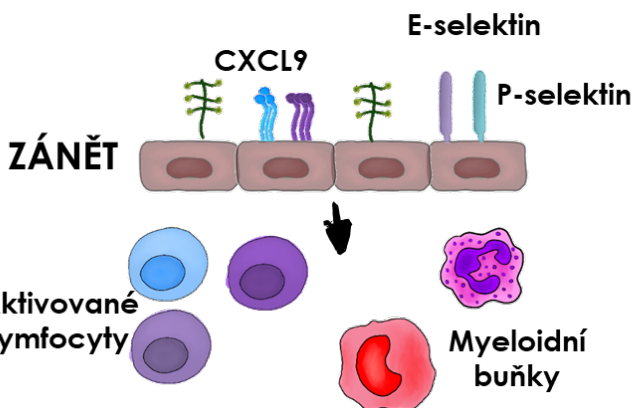
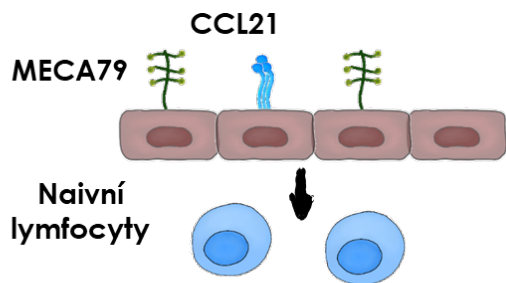
**CD44**

> vazba hyaluronanu

# Příklad: důležité adhezivní molekuly a povrchově vázané chemokiny na vysokém endotelu v lymf. orgánech (HEV)



## KLIDOVÉ STÁDIUM



# Cytokiny

# Cytokiny

- Nízkomolekulární látky (~25 kDa), zejména **proteiny, peptidy a glykoproteiny**.
- První cytokin (interferon  $\alpha$ ) popsán 1957 virology A. Isaacssem a J. Lindenmannem.
- V dnešní době známy **desítky cytokinů**.
- Produkovány buňkami **specifické i nespecifické imunity**.
- Propojeny do „sítě“ => zprostředkovávají **komunikace mezi buňkami** imunitního systému (IS), ale i buňkami IS a ostatními systémy organismu.
- **Modulují aktivitu a funkce buněk => ovlivňují průběh imunitních a zánětlivých reakcí, ale i jiné fyziologické a patofyziologické procesy v buňkách.**

# Základní vlastnosti cytokinů

1. Produkty buněk specifické i nespecifické imunity.
2. Regulují imunitní odpověď (stimulační i inhibiční účinky).
3. Nejsou antigenně specifické.
4. Jejich tvorba je regulována časově a místně.
5. Působí prostřednictvím vysokoafinitních receptorů => **účinné v extrémně nízkých koncentracích** (pM). Odpověď buňky na cytokin je závislá na koncentraci cytokinu v okolí a míře exprese receptoru pro daný cytokin.
6. Na cytokin může odpovídat stejná buňka (**autokrinní** reakce), okolní buňka (**parakrinní** reakce) nebo vzdálená buňka (**endokrinní** reakce; podoba cytokinů a klasických hormonů).

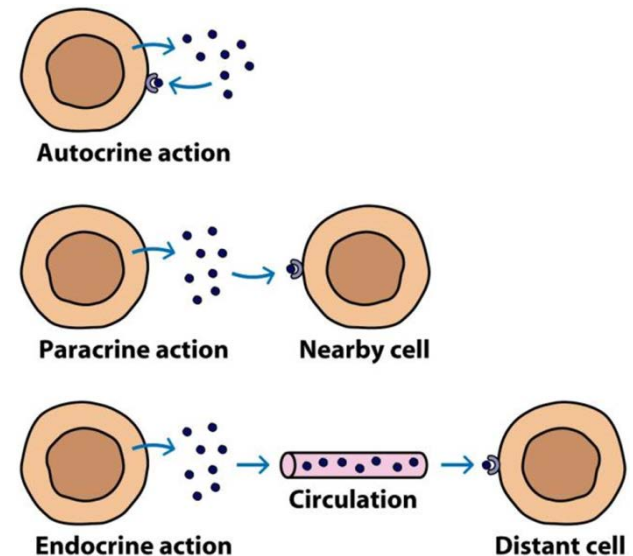
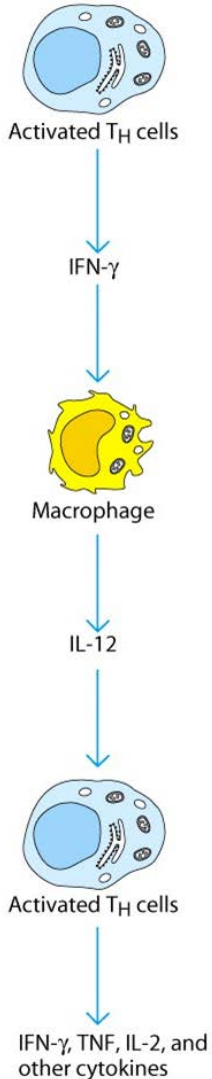


Figure 12-1b  
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition  
© 2007 W.H. Freeman and Company

# Základní vlastnosti cytokinů

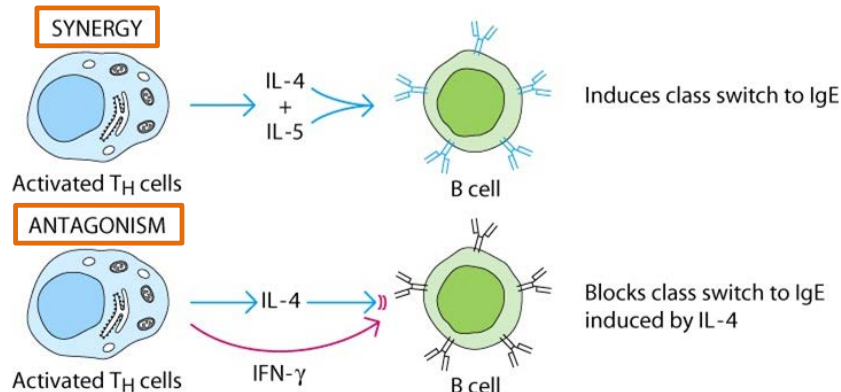
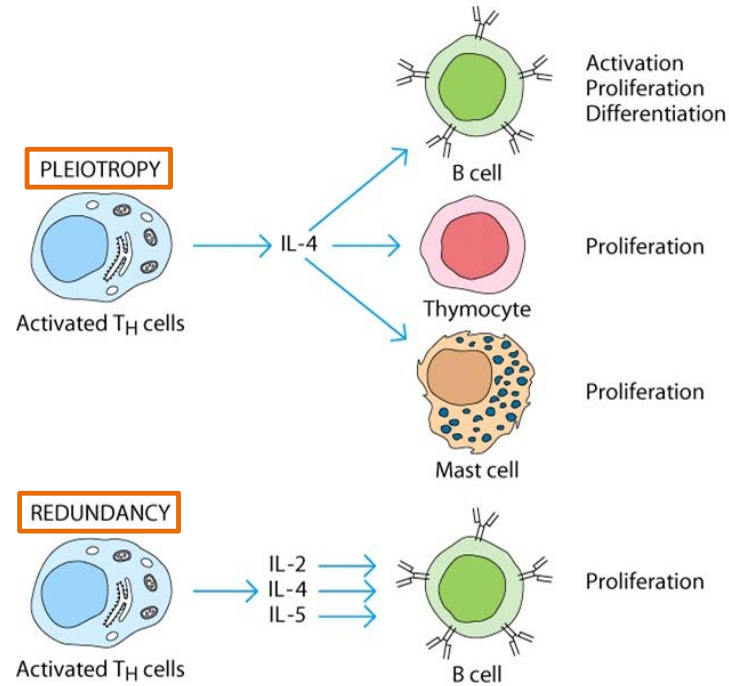
## 7. Kaskádová indukce imunitní odpovědi.

### CASCADE INDUCTION



## 8. Vykazují několik typů aktivit:

- **Pleiotropismus** – stejný cytokin může působit na různé buňky.
- **Redundance** (nahraditelnost) – stejný efekt může vyvolat více různých cytokinů.
- **Synergismus/antagonismus** – efekty různých cytokinů se mohou vzájemně násobit nebo potlačovat.



# Funkce cytokinů

- **Imunostimulace/imunosuprese, regulace zánětlivé reakce**
- **Chemotaxe** – stimulovaný a usměrněný aktivní pohyb buněk (zejména fagocytů) ve směru nebo proti směru koncentračního gradientu chemotaktického faktoru
- **Regulace hematopoézy** – tvorba krevních elementů v kostní dřeni
- **Angiogeneze** – tvorba nových cév větvením z existujících cév; angiogenní/angiostatické faktory; i zapojení do patofyziologie
- **Embryogeneze aj.**



# Dělení cytokinů

Vysoká **komplexnost cytokinového systému** => nejednoznačná klasifikace => více způsobů třídění cytokinů, např. podle funkce, podle struktury.

## Hlavní skupiny cytokinů:

- 1. Interleukiny (IL)**
- 2. Chemokiny**
- 3. Interferony (IFN)**
- 4. Faktory nekrotizující nádory (TNF, „Tumor Necrosis Factor“)**
- 5. Transformující růstové faktory (TGF, „Transforming Growth Factor“)**
- 6. Faktory stimulující růst kolonií (CSF, „Colony Stimulating Factor“)**

---

**Zkratky buněčných typů** použité na dalších slajdech:

B = B lymfocyty; Bas = basofily; DC = dendritické buňky; Eos = eosinofily; Fib = fibroblasty; Hep = hepatocyty; Mf = makrofágy; Mo = monocyty; Neu = neutrofilny; NK = NK buňky; T/Th/Tc/Treg = T lymfocyty

# Interleukiny

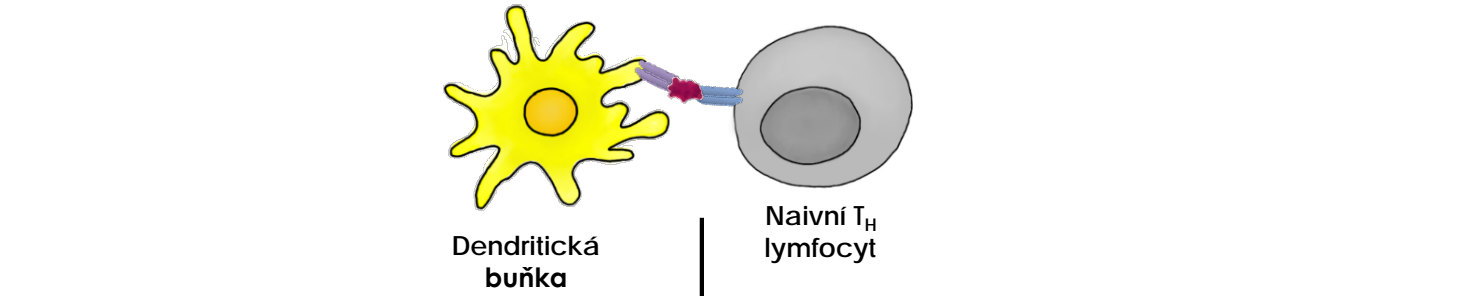
---

**Funkce:** regulují především různé aspekty vývoje a aktivace leukocytů

**Členové:** aktuálně známy IL-1 až IL-40 (+ další, např. TSLP a LIF)

<b>Zástupci:</b>	<b>Producenti:</b>	<b>Funkce:</b>
IL-1 $\alpha$ a IL1 $\beta$	Mf, epiteliální buňky	Aktivace Mo, Mf a Neu, aktivace T, pyrogen
IL-2	T lymf	Proliferace a diferenciaci T lymf
IL-3	T lymf, stromální buňky	Synergistická aktivita v rané hematopoéze
IL-4	T lymf, žírné buňky	Aktivace B, indukce izotyp. přesmyku na IgE, indukce diferenciaci Th2, inhibice Th1 a Mf
IL-6	T a B lymf, Mf, endotel	Aktivace Mo, Mf a Neu, indukce syntézy proteinů akutní fáze, pyrogen, proliferace a diferenciaci T a B
IL-10	Mf, DC, T a B lymf	Silná inhibice Mf funkcí

# Příklady interleukinů a jiných cytokinů regulujících tvorbu subpopulací Th lymfocytů a jejich efektorových cytokinů



Diferenciační cytokiny:

Subpopulace Th lymfocytů	Diferenciační cytokiny
$T_{H1}$	IL-21 IL-18 IL-27
$T_{H2}$	IL-4
$T_{H9}$	IL-4 TGF- $\beta$
$T_{H17}$	TGF- $\beta$ IL-6 IL-1 $\beta$ IL-21 IL-23
$T_{FH}$	IL-21
$T_{reg}$	TGF- $\beta$

Podpora funkcí IS

Subpopulace Th lymfocytů	Podpora funkcí IS
$T_{H1}$	Intracelulární patogeny, apoptóza infikovaných buněk
$T_{H2}$	Podpora B-lymf Tvorba IgE
$T_{H9}$	defense against helminthic infections, Produkce hlenu
$T_{H17}$	Zánětlivá odpověď, extracelulární patogeny
$T_{FH}$	Syntéza protilátek
$T_{reg}$	Potlačení zánětu

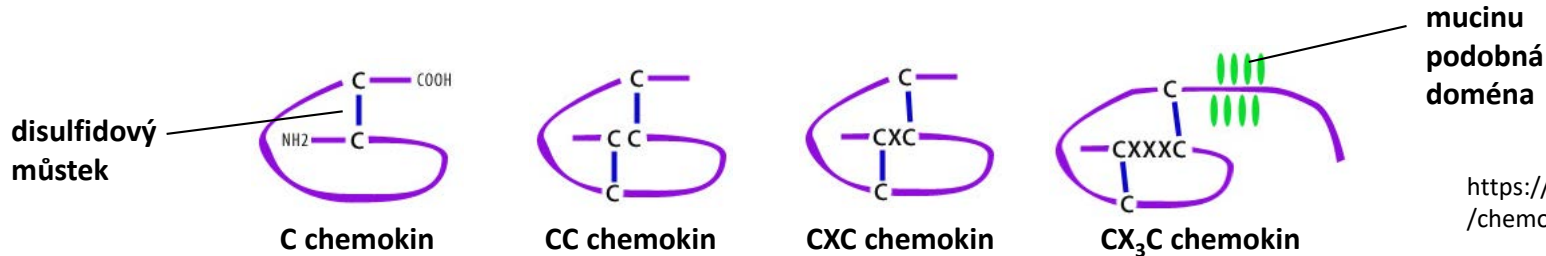
Efektorové cytokiny:

Subpopulace Th lymfocytů	Efektorové cytokiny
$T_{H1}$	IFN- $\gamma$
$T_{H2}$	IL-4 IL-5 IL-13
$T_{H9}$	IL-9 IL-10
$T_{H17}$	IL-6 IL-8 IL-17 IL-22 IL-26
$T_{FH}$	IL-21
$T_{reg}$	IL-10 TGF- $\beta$ IL-35

# Chemokiny

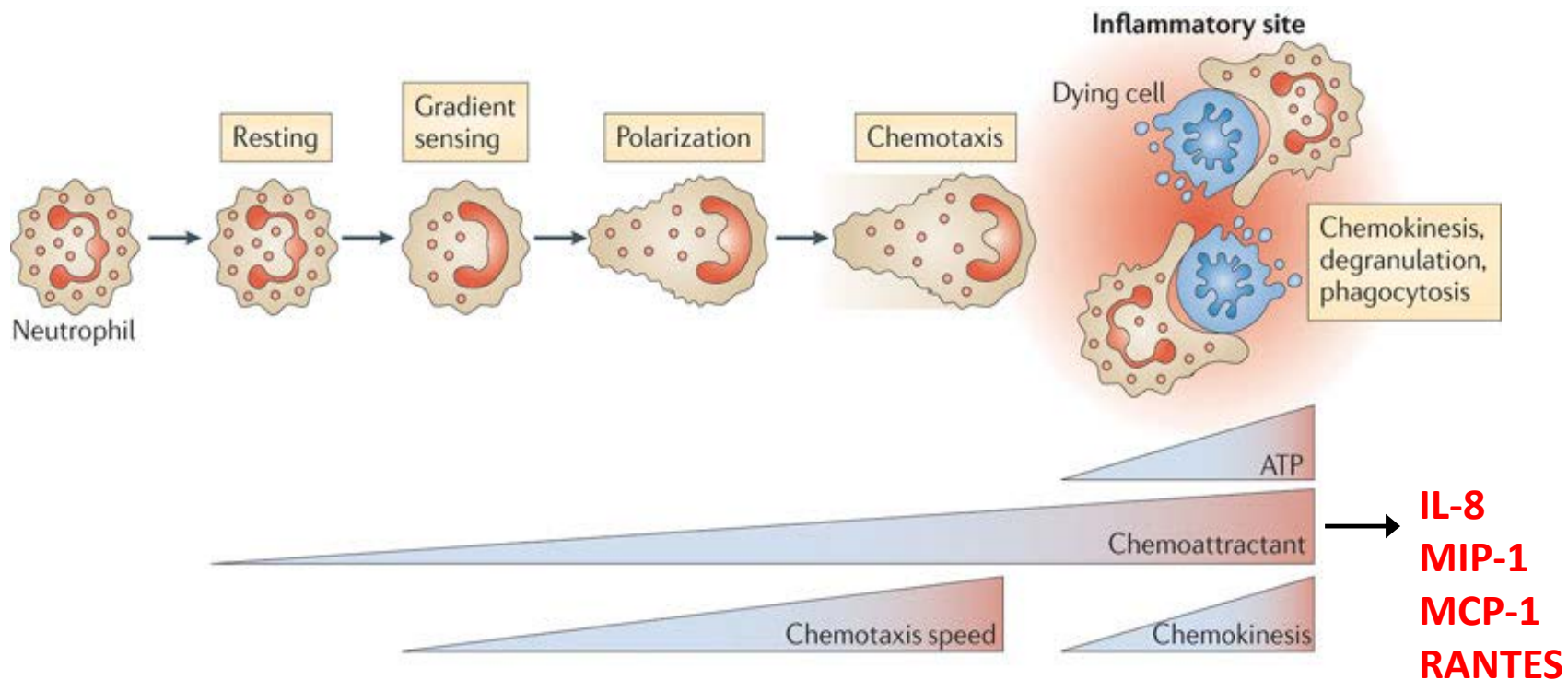
**Funkce:** silné chemoatraktanty

**Struktura → členové:** malé peptidy (<100 aminokyselin, 7-16 kDa); dělí se do čtyř podskupin podle umístění cysteinu v polypeptidovém řetězci



Zástupci:	Producenti:	Přitahované buňky:	Funkce:
IL-8	Mo, Mf, Fib, Endotel	Neu, naivní T lymf	Mobilizace, aktivace a degranulace Neu
MCP-1	Mo, Mf, Fib, keratinocyty	Mo, NK, T lymf, Bas, DC	Aktivace Mf, uvolňování histaminu Bas, podpora Th2
MIP-1 $\alpha$	Mo, T lymf, žírné buňky		Protivirová obrana, podpora Th1, aktivace Mo a granulocytů
MIP-1 $\beta$	Mo, Mf, Neu, endotel		Protivirová obrana
RANTES	T lymf, destičky, endotel		Degranulace Bas, aktivace T lymf, chronický zánět

# Příklad: Regulace chemotaxe neutrofilů



# Interferony

---

**Funkce:** interferují s virovou a bakteriální infekcí, ale i s nádorovým bujením

**Zástupci:**

IFN- $\alpha$  (rodina více než 12 odlišných proteinů)

**Producenti:**

Leukocyty, DC

**Funkce:**

Antivirová obrana, zvýšení exprese MHCI

**1. typu**

IFN- $\beta$

Fibroblasty

Antivirová obrana, zvýšení exprese MHCI

IFN- $\gamma$

T lymf, NK, Neu, intraepiteliální lymfocyty

Aktivace Mf, zvýšení exprese MHC molekul a komponent zpracovávající antigen, přesmyky Ig tříd

**2. typu**

## Faktory nekrotizující nádory

---

**Funkce:** mají cytotoxické a cytostatické efekty na nádorové buňky a silný prozánětlivý a proapoptotický účinek

**Zástupci:**

TNF- $\alpha$

**Producenti:**

Mf, NK, T lymf

**Funkce:**

Podpora zánětu, aktivace endotelu

Fas ligand

T lymf

Apoptóza, Ca<sup>2+</sup>-nezávislá cytotoxicita

Trail

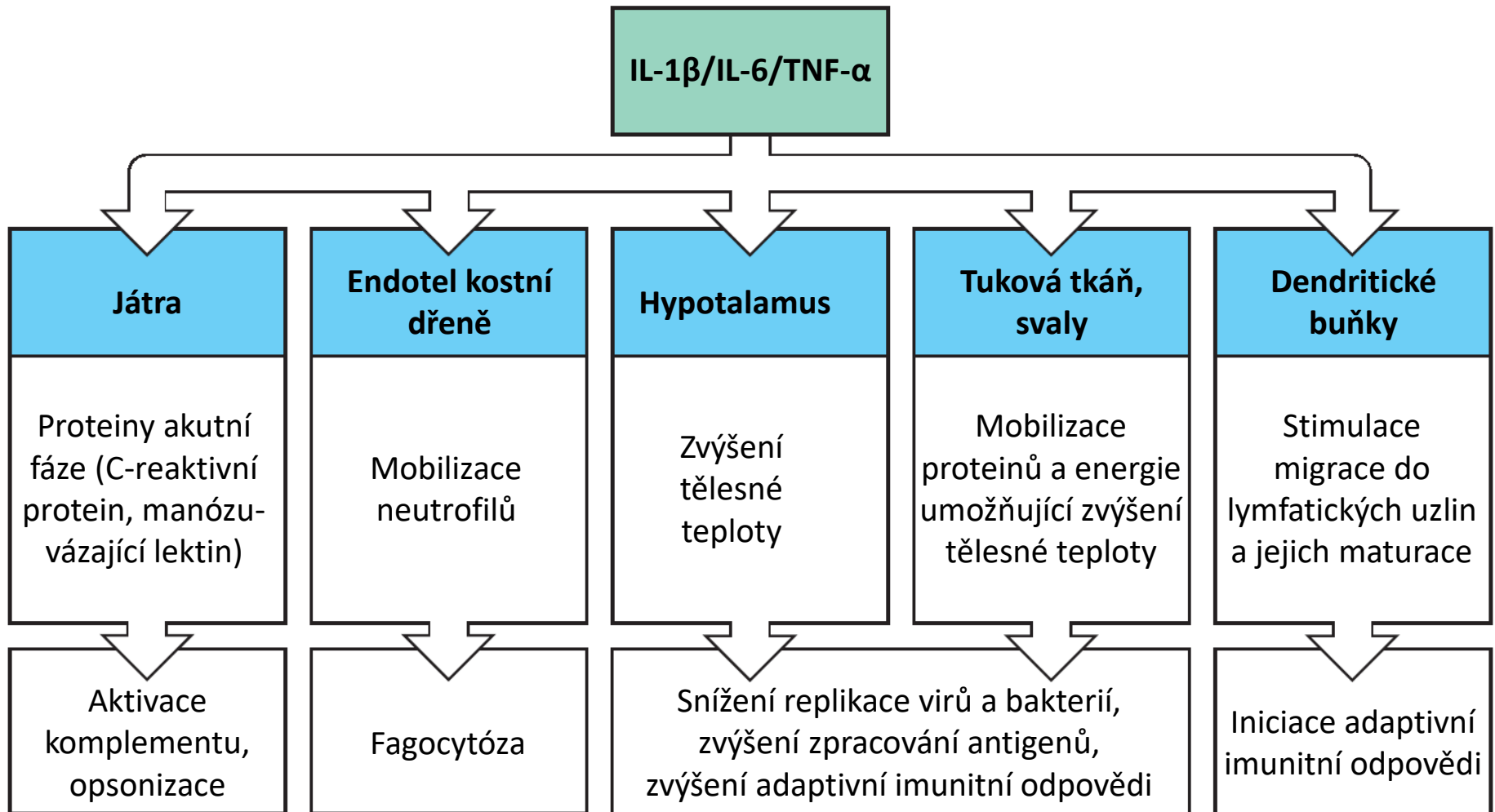
T lymf, Mo

Apoptóza aktivovaných T lymf, nádorových buněk a virem infikovaných buněk

# Cytokiny v regulaci zánětu

Cytokiny s prozánětlivým účinkem: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , aj.

Cytokiny s převážně protizánětlivým účinkem: IL-10 a TGF- $\beta$  aj.



# Transformující růstové faktory

---

**Funkce:** regulují tumorigenezi, embryonální vývoj, proces hojení poškozených tkání a imunitní odpověď

**Zástupci:**

TGF- $\beta$

**Producenti:**

T lymf, Mf,  
trombocyty

**Funkce:**

Inhibice mitózy, izotypový přesmyk na IgA,  
protizánětlivý účinek, reguluje angiogenezi

# Faktory stimulující růst kolonií

---

**Funkce:** regulují diferenciaci, proliferaci a maturaci hematopoietických progenitorových buněk, ale také funkční aktivitu zralých buněk

**Zástupci:**

GM-CSF

M-CSF

G-CSF

**Producenti:**

Endotelie, T lymf, Mf, Fib

Stroma kostní dřeně,  
T lymf, osteoklasty, Fib

Stroma kostní dřeně, Fib

**Funkce:**

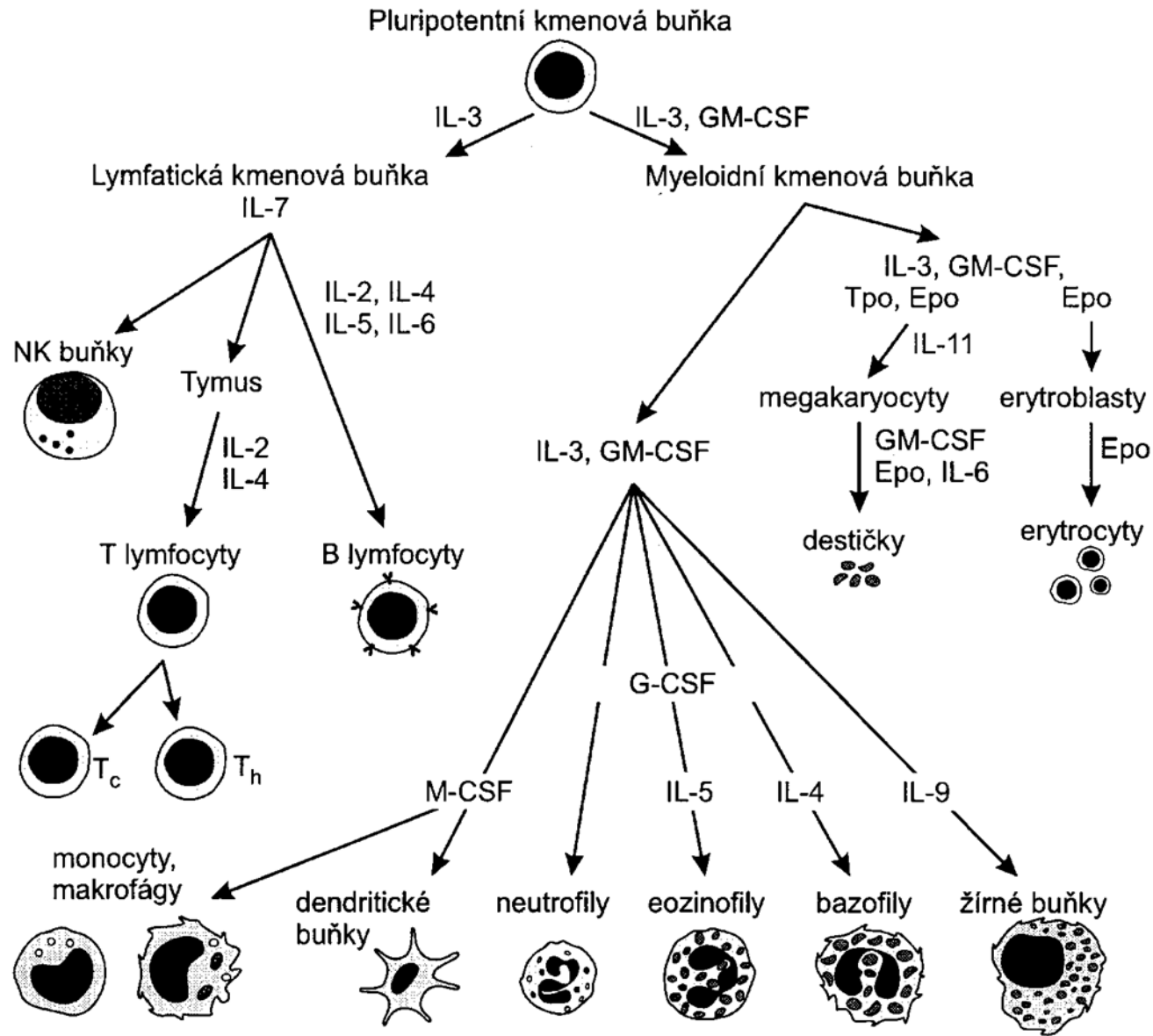
Stimulace diferenciaci buněk myeloidní linie

Stimulace diferenciaci monocytů

Stimulace diferenciaci granulocytů



# Příklad: cytokiny v regulaci hematopoézy



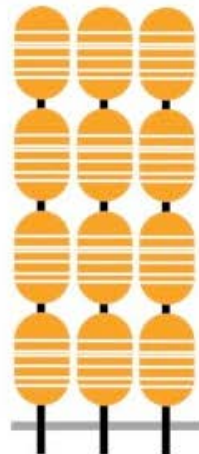
# Cytokinové receptory

Cytokiny působí pouze na buňky exprimující odpovídající receptor. Exprese receptorů se velmi dynamicky mění aktivací buněk.

Imunoglobulinové  
receptory

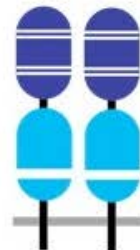


Receptory TNF



Cytokinové receptory

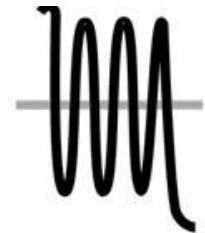
I. třídy



II. třídy



Chemokinové  
receptory



[http://nfs.unipv.it/nfs/minf/dispense/immunology/lectures/files/immune\\_network.html](http://nfs.unipv.it/nfs/minf/dispense/immunology/lectures/files/immune_network.html)

**Ligandy:**

IL-1  
M-CSF

TNF- $\alpha$   
TNF- $\beta$

IL-2 IL-6 IL-12  
IL-3 IL-7 IL-13  
IL-4 IL-9 IL-15  
IL-5 IL-11 GM-CSF  
G-CSF

IFN- $\alpha$   
IFN- $\beta$   
IFN- $\gamma$

IL-8  
RANTES  
MIP-1

# Přenos signálu přes Janus kinázy

JAK váží se na intracelulární domény interleukinových receptorů zprostředkovávají přenos signálu spolu s transkripčními faktory STAT.

Cytoplasmatické domény cytokinových receptorů váží Janus kinázy (JAK).

Vazba cytokinu dimerizuje receptor, JAK se dostávají do kontaktu, vzájemně se aktivují a fosforylují receptor.

Transkripční faktory (STATs) se váží k fosforylovanému receptoru a jsou samy fosforylovány Janus kinázami.

Fosforylované STATs tvoří dimery, které se translokují do jádra a iniciují genovou transkripci.

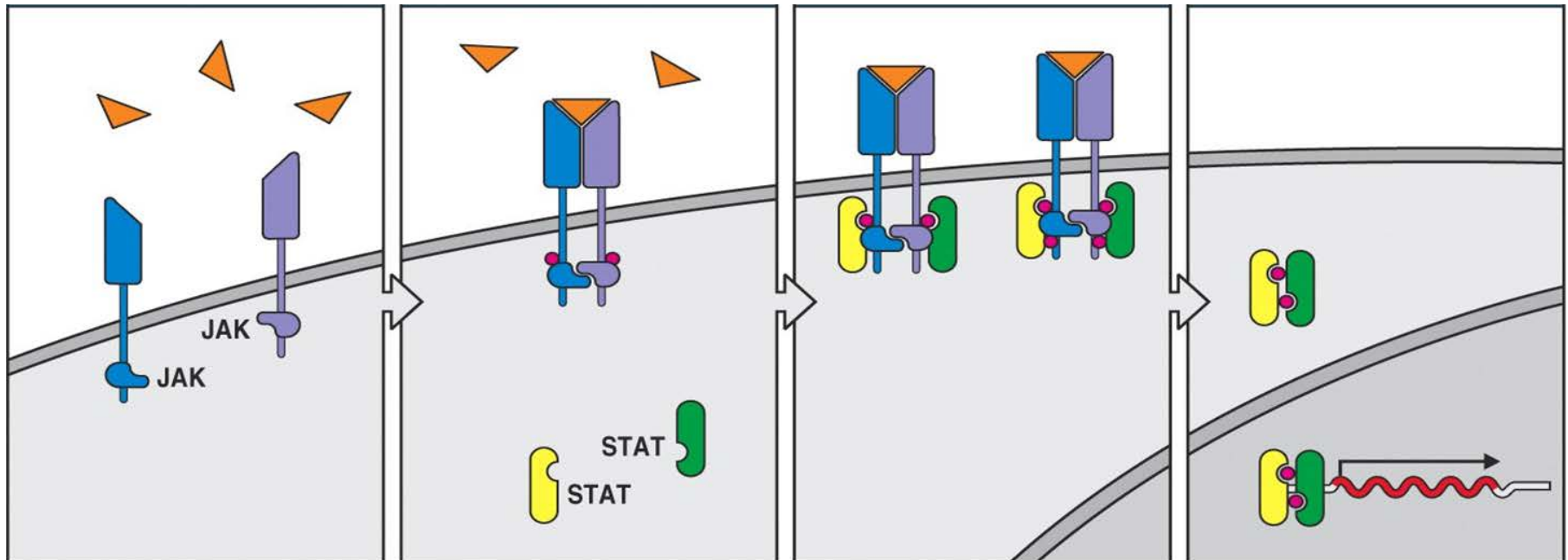


Figure 6-23 Immunobiology, 6/e. (© Garland science 2005)

# Chemokinové receptory

Chemokinové receptory jsou velké **transmembránové proteiny** (7 transmembránových domén).

Váží nejen chemokiny, ale i jiné molekuly, např. bakteriální peptidy obsahující aminokyselinu N-formyl-methionin (např. fMLP = f-Met-Leu-Phe).



Signální transdukce tohoto receptoru vede přes **trimerní G-proteiny**.

V závislosti na typu chemokinu a receptoru vede aktivace receptoru k polymerizace aktinu, adhezi buněk, změně tvaru buněk, chemotaxi, aktivaci NADPH oxidázy, degranulaci a zabíjení intracelulárních patogenů.

# Aktivace trimerních G-proteinů

Trimerní G-protein je intracelulární signální molekula zprostředkovávající přenos signálu pro celou řadu receptorů leukocytů včetně chemokinových receptorů.

V neaktivní formě váže G-protein GDP a jeho podjednotky  $\alpha$  a  $\beta\gamma$  jsou pohromadě.

Po vazbě chemokinů se G-protein váže na chemokinový receptor a GDP je zaměněno za GTP.

G-protein disociuje od chemokinového receptoru a disociují také  $\alpha$  a  $\beta\gamma$  podjednotky, které pak aktivují další proteiny.

Hydrolyza GTP na GDP umožní  $\alpha$  podjednotce opětovné spojení s  $\beta\gamma$  podjednotkami do neaktivního komplexu.

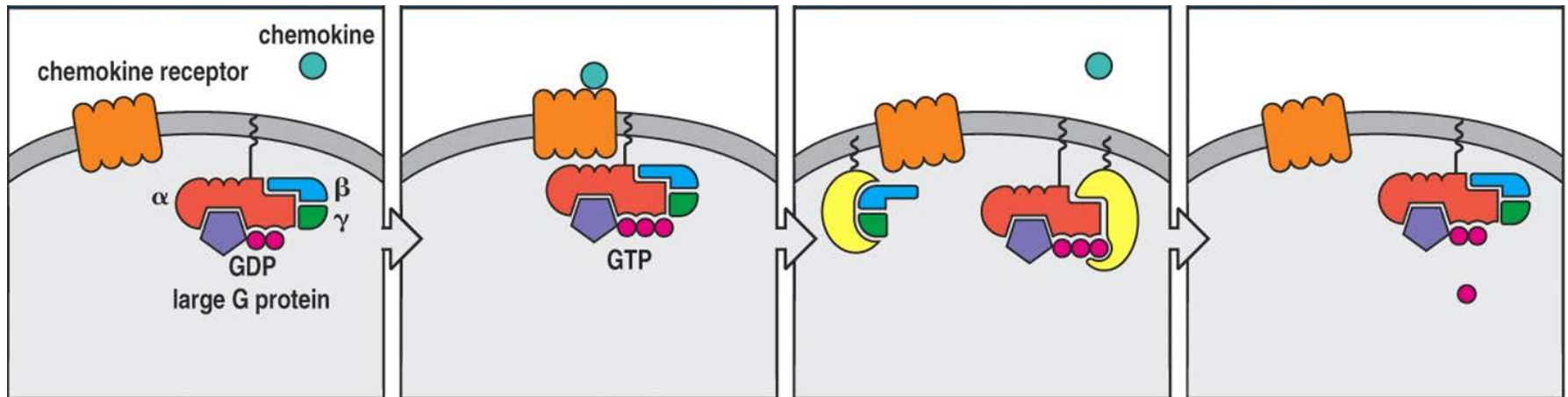
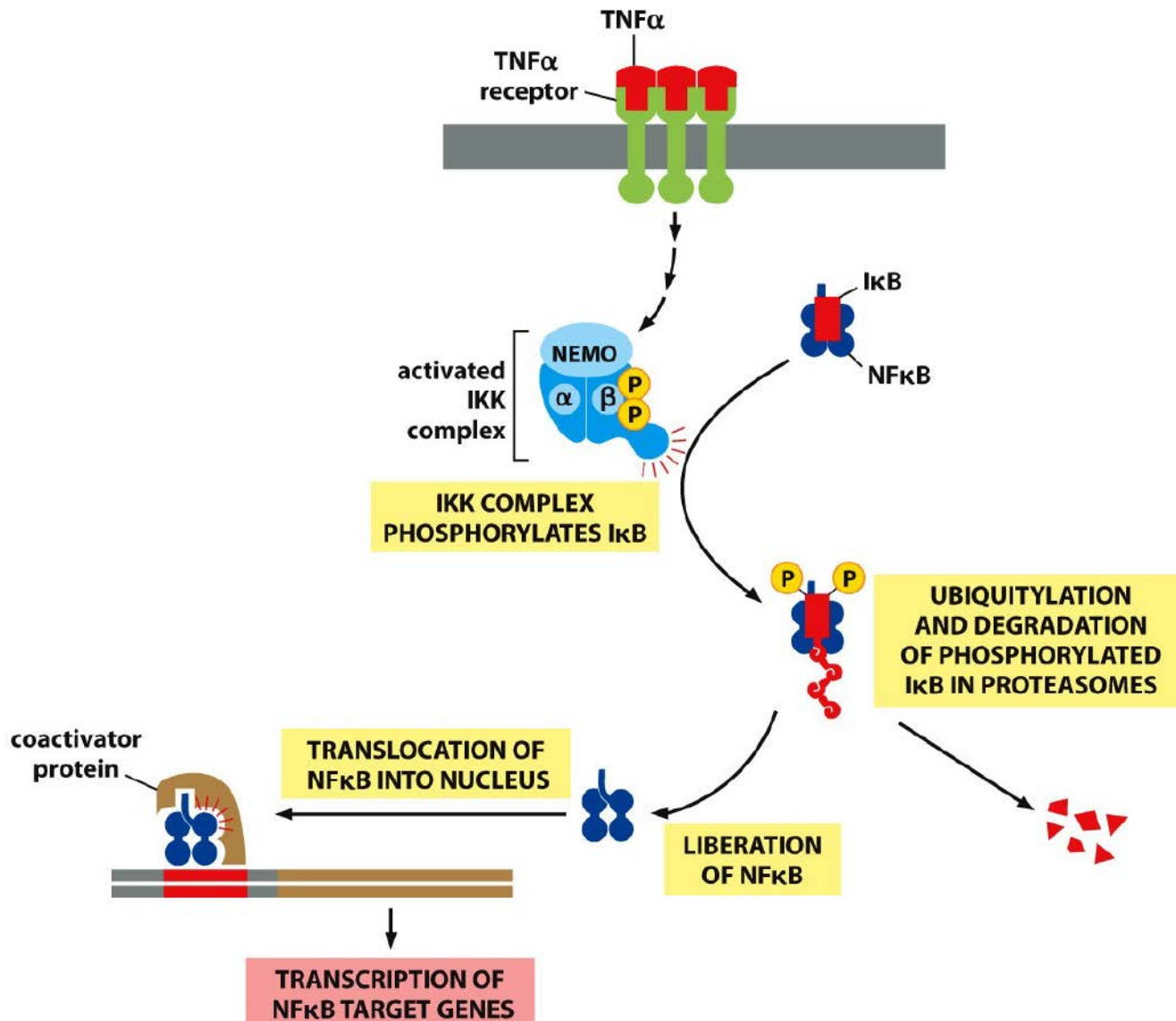


Figure 6-22 Immunobiology, 6/e. (© Garland science 2005)

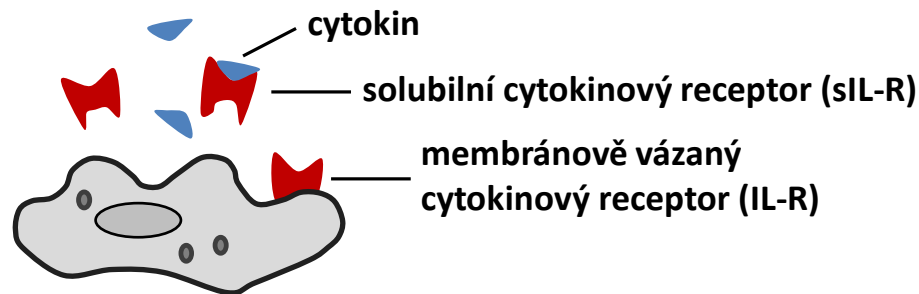
# Signalizace TNF- $\alpha$ přes jaderný faktor $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)



# Jak se dá regulovat odpověď buněk na cytokin

## Solubilní receptory cytokinů

- Uvolňovány z povrchů buněk odloučením od jejich transmembranových a cytoplasmatických domén.
- Váží se na cytokiny v plasmě a extracelulárních tekutinách => inhibice vazby cytokinu na jeho receptory na povrchu buněk.



## Antagonisté cytokinů

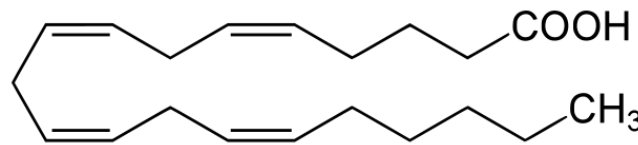
- Proteiny vážící se specificky na receptory určitých cytokinů, aniž by indukovaly aktivaci receptoru a následný přenos signálu.

# **Lipidové mediátory zánětu**

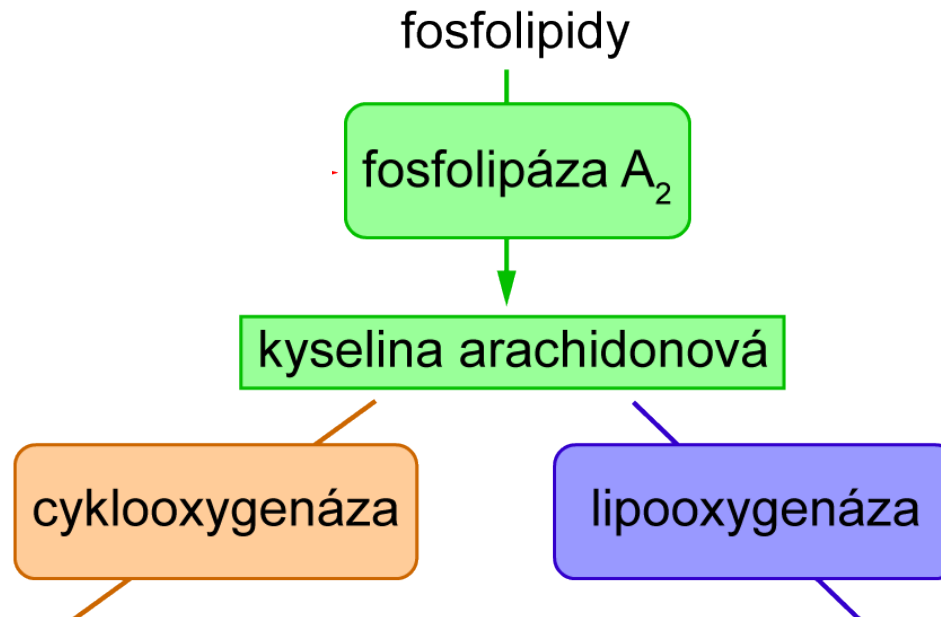


# Lipidové mediátory zánětu

Základem jsou kyselina eikosapentaenová ( $\omega 3$ , 20:5); kyselina arachidonová ( $\omega 6$ , 20:4) a kyselina dihomo- $\gamma$ -linolenová ( $\omega 6$ , 20:3) uvolněné z membránových fosfolipidů



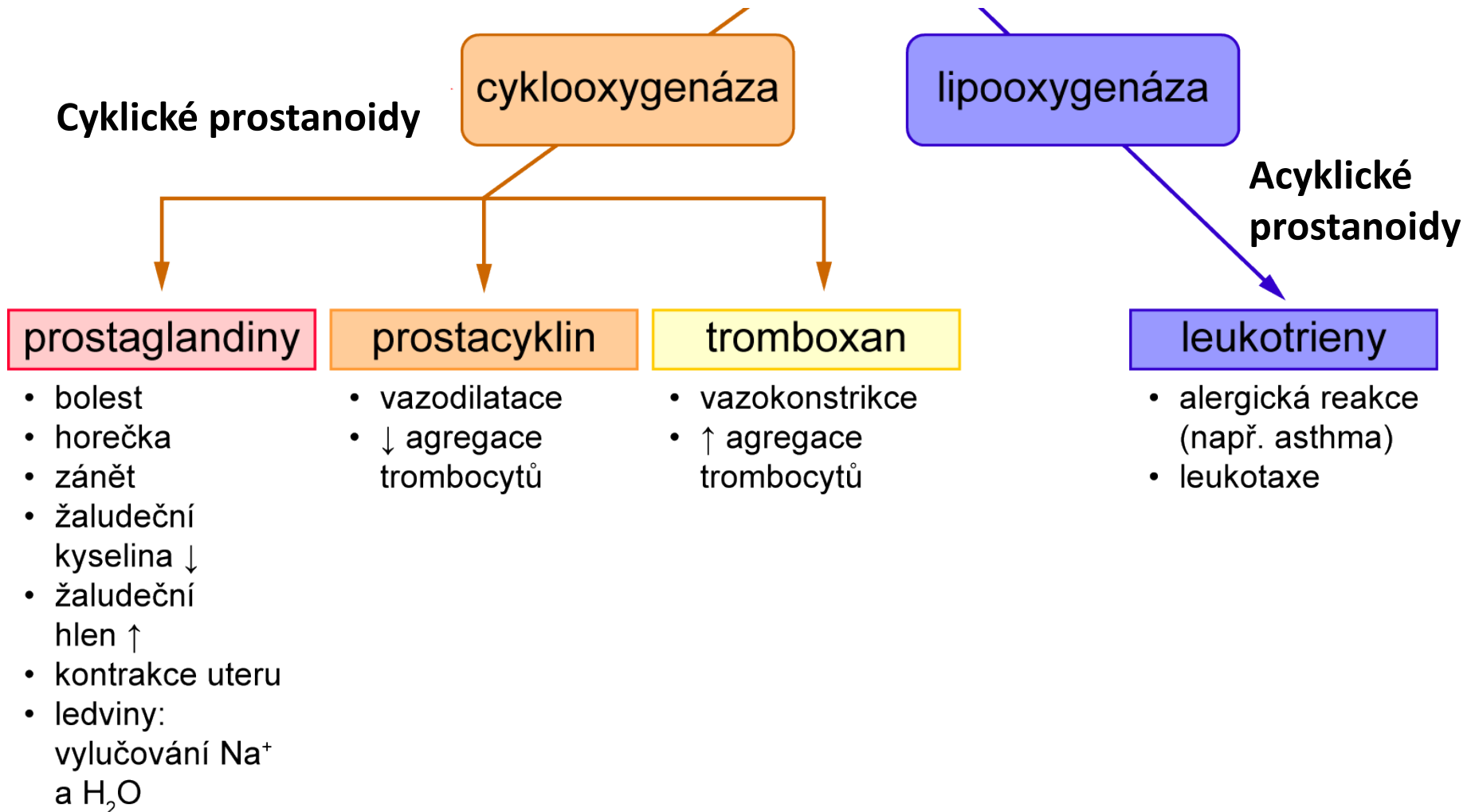
kyselina arachidonová



**Cyklické prostanoidy**

**Acyklické prostanoidy**

# Prozánětlivé lipidové mediátory zánětu

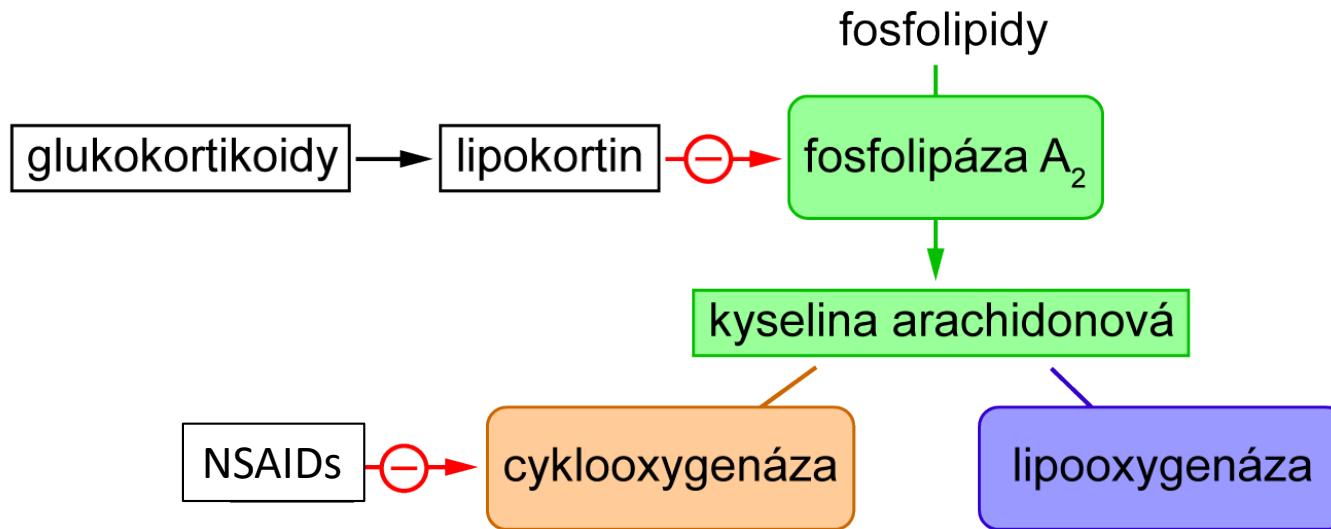


## Prozánětlivé lipidové mediátory - hlavní zástupci a důsledky jejich působení:

- **Prostaglandin D2 a E2**
  - **Leukotrien C4, D4 a E4**
- } kontrakce hladké svaloviny; chemotaxe eosinofilů, basofilů a Th lymfocytů; zvýšená propustnost cév; stimulace sekrece hlenu; konstrikce bronchů
- **Prostacykliny**
- Rozšiřují cévy a brání adhezi krevních destiček

**Faktor-aktivující destičky (PAF)** – migrace leukocytů; amplifikace produkce lipidových mediátorů; aktivace neutrofilů, eosinofilů a krevních destiček

# Prozánětlivé lipidové mediátory jako terapeutické cíle prozánětlivých léčiv



**Steroidní protizánětlivé látky (kortikoidy)** – hydrokortison a další

**Nesteroidní protizánětlivé látky (Nonsteroidal anti-inflammatory drugs - NSAIDs)** – acetylsalicylová, ibuprofen, diclofenac, indometacin, ketoprofen a další

# Protizánětlivé lipidové mediátory - Lipoxiny

Acyklické prostanoidy tvořené lipoxygenázami

Podporují ukončení akutního zánětu, brání přechodu zánětu v chronický a indukují hojení

## **Účinky lipoxinů podporující ukončení zánětu**

Inhibice chemotaxe a diapedézu neutrofilních a eozinofilních granulocytů

Inhibice produkci kyslíkových radikálů

Inhibice produkce prozánětlivých cytokinů

Stimulace fagocytózy apoptotických buněk

Antagonisté receptorů pro leukotrieny