

Charakteristika a funkcia ILC-buniek človeka za fyziologických a patologických okolností

Characteristic and function of ILC cells in man under physiological and pathological conditions

MILAN BUC

Imunologický ústav, Lekárska fakulta UK, Bratislava

SOUHRN

Prirodzené lymfoidné bunky patria k nedávno identifikovaným populáciám buniek imunitného systému. Predstavujú skupinu buniek, ktorú charakterizuje schopnosť po stimulácii produkovať v značnom množstve cytokíny. Sú ich kritickým včasným zdrojom v dobe, kým sa ešte nevyvinula adaptívna imunitná odpoveď. ILC-bunky vznikajú zo spoločného lymfoidného progenitora, morfológicky sa podobajú lymfocytom, ale nemajú ich antigénovo-špecifické receptory. Delia sa na tri skupiny – ILC1 až ILC3. Do ILC1-populácie patria NK- a ILC1-bunky. Vyznačujú sa najmä syntézou INF- γ . ILC2-bunky charakterizuje najmä skutočnosť, že po stimulácii syntetizujú typické T_H2 -cytokíny, t. j. IL-5 a IL-13, navyše však aj IL-6, IL-9 a amfiredulín. ILC3-skupina sa delí na CCR6-pozitívne a CCR3-negatívne bunky. K prvej podskupine patria LT α -bunky, ktoré treba na indukciu vzniku niektorých sekundárnych lymfoidných orgánov. Druhá podskupina sa delí na dve subpopulácie. Ak exprimuje receptory NKp44, ktoré patria k NCR-receptorom, označujú sa NCR $^+$, resp. ILC22, pretože vyznačujú značnou syntézou IL-22. Ak nie, označujú sa ako NCR $^-$, resp. ILC17, pretože hodne produkujú IL-17. Okrem účasti na obranyschopnosti ILC-bunky sa podieľajú aj na vývoji imunopatologických procesov, najmä pri *astma bronchiale*, atopickej dermatitíde a zápalových chorobách čreva.

Kľúčové slová: ILC-bunky, cytokíny, atopia, IBD

SUMMARY

Innate lymphoid cells belong to recently discovered cells of the immune system. They represent a group of cells which, following stimulation produce a great quantity of cytokines. They serve as their critical source in a period of time when adaptive immunity is not yet activated. They are divided into three groups – ILC1, ILC2, and ILC3. NK cells and ILC1 cells are included into ILC1 group and typically produce INF- γ . ILC2 cells are characterised by their production of T_H2 cytokines, i.e., IL-5, IL-13, and in less extent also IL-4; moreover, they synthesise IL-6, IL-9, and amphiregulin. ILC3 group can be divided to CCR6 positive and CCR3 negative subsets. LT α cells represent the cells of CCR6 positive subset; they play a decisive role for the development of some secondary lymphoid organs. The CCR6 negative group is divided according expression of NKp44 receptor, which belongs to the family of NCR receptors, into two subsets: NCR $^+$ or ILC22 because of their characteristic production of IL-22 and NCR $^-$ or ILC17 as they preferentially synthesise IL-17. ILC cells take part not only in defence mechanisms of the organism, however they participate in the development of immunopathological processes, esp. in *asthma bronchiale*, atopic dermatitis, and inflammatory bowel diseases.

Key words: ILC cells, cytokines, atopy, IBD

ILC-bunky (*innate lymphoid cells*) patria k nedávno identifikovaným populáciám buniek imunitného systému, ktoré prispievajú k obranyschopnosti organizmu. Vznikajú zo spoločného lymfoidného progenitora v kostnej dreni, ktorú opúšťajú ako nezrelé bunky, ktoré dozrievajú na periférii. Nachádzajú sa vo všetkých tkanivách, ale najviac ich je v koži, respiračnom a gastrointestinálnom trakte, v periférnej krvi je ich málo. Morfológicky sa podobajú T- a B-lymfocytom, ale nemajú ich antigénovo-špecifické receptory. Druhým význačným rozdielom od lymfocytov adaptívnej imunity je, že sa neaktivujú v periférnych lymfoidných orgánoch a následne nemigrujú do tkanív a orgánov, ale naopak sú primárne

už tam lokalizované a na stimul odpovedajú okamžite, nie až po klonovej expanzii. Neaktivujú ich bunky prezentujúce antigén, ale rôznorodé stimuly, ako sú cytokíny, alarmíny, lipidy a hormóny uvoľnené stromovými, epitelovými bunkami a bunkami myeloidnej rady. Takto ILC-bunky sú fyzicky a funkčne pripravené byť bezprostredným zdrojom efektorových cytokínov v periférnych tkanivách, čo ich zaraďuje k iným rýchlo odpovedajúcim bunkám tu sídlacim, ako sú NKT-bunky, $\gamma\delta$ T-lymfocyty a v periférii prebývajúcim (rezidentným) pamäťovým T-lymfocytom. Minimálne požiadavky na ich aktiváciu im umožňujú byť prvými respondermi vo včasných fázach primárnej imunitnej odpovede ako aj zdrojom

Tab. 1: Charakteristická produkcia cytokínov jednotlivými subpopuláciami pomocných T-lymfocytov

Cytokín	Th1	Th2	Th9	Th17	Th22	Th25	Tfh	Treg
IFN- γ	++	-	-	+	-	-	-	-
IL-2	++	-	-	-	-	-	-	-
IL-4	-	++	-	-	-	+	-	-
IL-5	-	++	-	-	-	+	-	-
IL-6	-	-	-	+	-	-	-	-
IL-13	-	++	-	-	+	+	-	-
IL-9	-	-	++	-	-	-	-	-
IL-10	+	++	++	+	-	-	-	++
IL-17	-	-	-	++	-	-	-	-
IL-21	-	-	-	-	-	-	++	-
IL-22	+	-	-	+	++	-	-	-
IL-25	-	-	-	-	-	++	-	-
IL-26	-	-	-	+	-	-	-	-
TNF	++	+	-	+	+	-	-	-
Lymfotoxín	++	-	-	-	-	-	-	-

cytokínov v odpovedi na jemné perturbácie homeostatických procesov (1, 2).

ILC-bunky predstavujú konzervovanú, evolučne staršiu populáciu buniek, ktorá predchádza vývoju adaptívnej imunitnej odpovede. Svojim charakterom by sme mohli zaradiť do prirodzenej imunity, ale v skutočnosti patria na priesečník adaptívnej a prirodzenej imunity, lebo svojou aktivitou zapájajú do obranných procesov aj mechanizmy adaptívnej imunity (2).

V r. 1986 Mosmann a Coffman identifikovali T_H1 - a T_H2 -subpopuláciu pomocných T-lymfocytov (3). Takmer o dve desaťročia neskôr k nim pribudla ďalšia, T_H17 -subpopulácia (4, 5). Každá z uvedených subpopulácií sa vyznačuje vlastnou špecifickou syntézou cytokínov (tab. 1). Je pozoruhodné, že podobnú charakteristiku majú a ILC-bunky, ktoré možno rozdeliť podľa ich rozdielnej syntézy cytokínov a funkcie na tri populácie: ILC1, ILC2 a ILC3. Tieto sa podobajú polarizovaným subpopuláciám pomocných T-lymfocytov. Takto ILC1-bunky sa funkčne podobajú T_H1 -lymfocytom, ILC2-bunky T_H2 -lymfocytom a napokon ILC3-bunky T_H17 -lymfocytom. Podobne pre svoju diferenciáciu využívajú tie isté transkripčné faktory ako aj polarizované T_H -lymfocyty: T-BET (ILC1), GATA3 (ILC2) a RORC (ILC3) (6, 7) (obr. 1).

Funkcia jednotlivých populácií ILC-buniek sa zistovala predovšetkým v experimentoch *in vitro* a v pokusoch na myšiach, o ich skutočnej úlohe v obranyschopnosti človeka *in vivo* sa dalo usudzovať najmä pomocou extrapolácie. Roku 2016 však vyšla práca, ktorá umožnila študovať funkciu ILC-buniek a T-lymfocytov v experimente prírody, t. j. u pacientov s mutáciami v génoch pre gama-reťazec receptora pre IL-2 (IL-2RG), alebo pre Janusovu kinázu 3 (JAK3). IL-2RG aj JAK3 sprostredkovávajú signalizáciu po väzbe IL-7 a IL-15 na svoje

receptory. Táto signalizácia je nevyhnutná pre diferenciáciu T- (IL-7) a NK-buniek (IL-15). ILC1-, ILC2- a ILC3-bunky však tak isto závisia od signalizácie indukovanej IL-7, pre ktorý exprimujú špecifický receptor¹. A v skutočnosti u týchto pacientov chýbali nielen T-lymfocyty, NK-bunky, ale aj ILC-bunky (1).

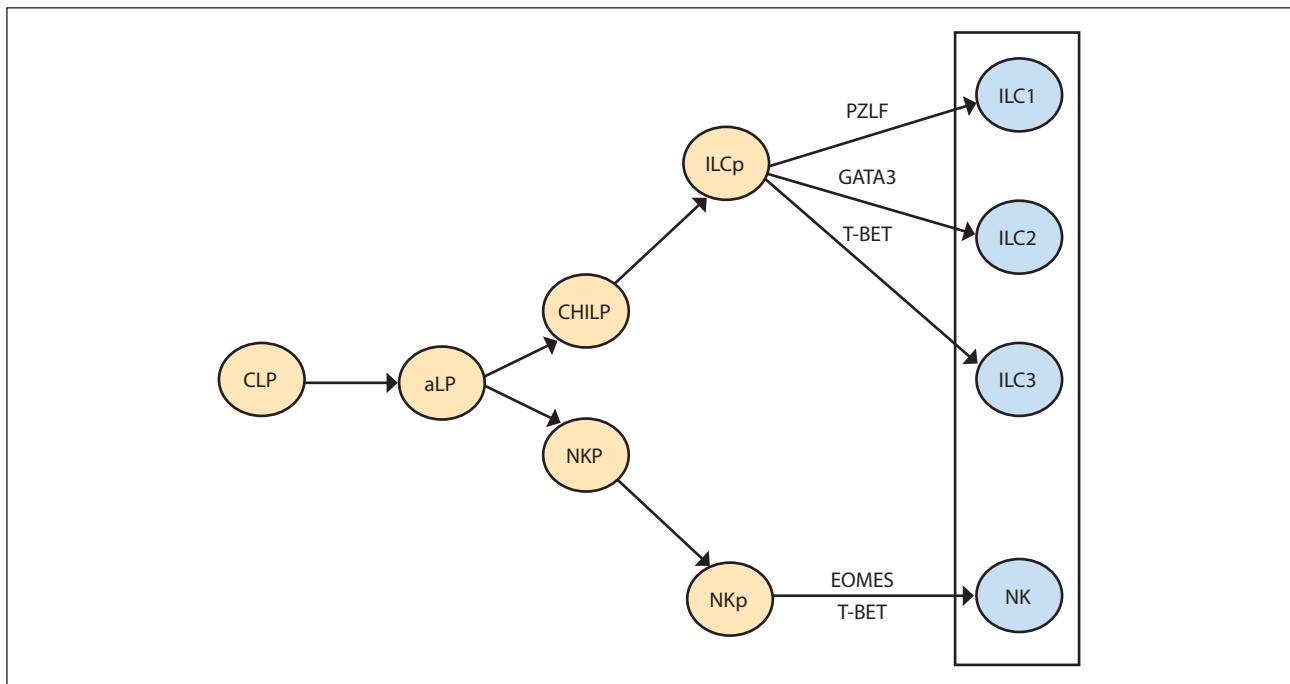
Štandardná liečba takýchto imunodeficientných pacientov sa zakladá na alogénnej transplantácii hematopoetických buniek. Urobila sa aj u uvedených pacientov (bez myeloablácie). U všetkých transplantovaných pacientov došlo k rekonštitúcii T-lymfocytov a NK-buniek, ale ILC-bunky všetkých troch populácií chýbali. Podobne sa nenašli ani v koži ani v čreve, deficiencia pretrvávala aj napriek transplantácii. Z klinického hľadiska pacienti netrpeli zvýšenou náchylnosťou na infekcie, nemali spomalený rast pokiaľ išlo o deti a ani sa nepozorovala znížená kvalita života. Dve pacientky s JAK-3 deficienciou dokonca porodili zdravé deti (1). Výsledky naznačujú, že ILC-bunky u človeka pri plne funkčnom adaptívnom imunitnom systéme zohrávajú redundantnú úlohu.

Vzniká otázka, prečo takáto redundancia funkcie existuje. Na jednej strane môže mať organizmus prospech vo zvýšenej imunitnej odpovedi a rýchlejšej eliminácii narušiteľa svojej integrity, na druhej strane niekedy stačí, aby odpovedali ILC-bunky samotné, bez pomoci T_H -lymfocytov. Takto sa zabráni nadmernej aktivácii T-lymfocytov a následnému vývoju autoimunitných procesov (6).

Populácie a subpopulácie ILC-buniek, ich fyziologické vlastnosti

ILC1-populácia prirodzených lymfoidných buniek zahŕňa NK-bunky a im podobné ILC1-bunky. **NK-bunky** patria k prvým bunkám, pre ktoré sa hodí charakteristika

¹ Receptor pre IL7– skladá sa z alfa-reťazca (CD127), ktorý špecificky viaže IL-7 a zo signalizačného reťazca gama C, spoločného pre viaceré cytokínové receptory (IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 a IL-21).



Obr. 1: Diferenciácia ILC buniek (podľa Fuchs 2016, modifikované)

Všetky ILC-bunky sa vyvíjajú zo spoločného lymfoidného prekuzora (CLP – common lymphoid progenitor), ktorý sa vyvíja zadaného ILC-prekuzora (cLP – committed lymphoid progenitor). Vývoj NK-buniek sa ďalej oddeľuje od diferenciácie ostatných ILC-populácií; tieto sa vyvíjajú cez NK-bunkový prekuzor (NKP) do zreých NK-buniek (NK). Ostatné ILC-populácie sa vytvárajú zo spoločného lymfoidného prekuzora CHILP (common helper innate lymphoid) a pod vplyvom špecifických transkripčných faktorov sa diferencujú na príslušné populácie ILC-buniek. ILC-1 populácia pre svoju diferenciaciu potrebuje transkripčný faktor T-BET, kým NK-bunky ešte navyše aj transkripčný faktor EOMES.

ILC-buniek; boli objavené už pred 40 rokmi (8, 9). NK-bunky sa preferenčne nachádzajú v krvi a v sekundárnych lymfoidných orgánoch; vyskytujú sa však aj v niektorých nelymfoidných orgánoch, ako sú pľúca a pečeň. Charakterizujú ich znaky $CD3^-$, $CD56^+$, $NKp46^+$, $NKp44^-$. Aktivujú ich početné cytokíny, ako sú IL-12, IL-15 a IL-18, ktoré v nich podmieňujú syntézu $IFN-\gamma$ a TNF. Navyše NK-bunky sa aktivujú prostredníctvom svojich špecifických inhibičných a aktivačných receptorov, ktoré im umožňujú rozlišovať medzi zdravými a vírusmi infikovanými alebo malígne transformovanými bunkami (pre prehľad pozri Buc 2012 a Krejsek et al. 2017). Aktivácia NK-buniek cez tieto receptory typicky vedie k produkcii cytokínov a cytotoxickej aktivite mediovanej perforínmi a granzýmami. Takýmto spôsobom NK-bunky môžu účinne bojovať najmä proti vírusom, odstraňovať pozmenené vlastné bunky a eliminovať malígne bunky (10–12).

U ľudí existujú dve základné subpopulácie NK-buniek, ktoré sa líšia fenotypom a funkciou. Väčšina NK-buniek, ktoré cirkulujú v krvi, exprimuje malé množstvo $CD56$ ($CD56^+$) a funkčne javia vysokú cytotoxickejšiu aktivitu. Menšia časť NK-buniek exprimuje značné množstvo $CD56$ ($CD56^{+++}$), má malú cytotoxickejšiu aktivitu, ale produkuje značné množstvo cytokínov (12, 13). Naproti tomu NK-bunky v sekundárnych lymfoidných orgánoch exprimujú vysoké množstvo $CD56$ ($CD56^{+++}$) a produkujú početné cytokíny: $IFN-\gamma$, TNF, IL-5, IL-10, IL-13, GM-CSF a chemokíny MIP-1 β , IL-8 a RANTES.

Navyše, nielenže produkujú cytokíny, ale na početné aj odpovedajú – vo svojich membránach majú receptory pre IL-1, IL-2, IL-10, IL-12, IL-15 a IL-18 (14).

Podobne ako T-lymfocyty, aj NK-bunky prekonávajú expanznú a kontrakčnú fázu svojej aktivity, po ktorej nasleduje vznik pamäťových buniek. Tieto v sekundárnej imunitnej odpovedi javia zvýšenú cytotoxickejšiu aktivitu, produkujú viac cytokínov, čo poukazuje na to, že imunitná pamäť sa neobmedzuje iba na adaptívnu imunitnú odpoveď (15).

ILC1-bunky na rozdiel od NK-buniek sú menej cytotoxickejšie a produkujú hodne $IFN-\gamma$ a TNF. Odlíšime ich na základe expresie transkripčných faktorov T-BET a EOMES. NK-bunky exprimujú oba, ILC1-bunky len T-BET (16). Podobne, ILC1-bunky exprimujú $CD127$ (α -receptor receptora pre IL-7), kým NK-bunky nie (17) (tab. 2). Ďalším rozdielom je, že kým NK-bunky recirkulujú, tak ILC1-bunky, podobne ako ostatné ILC-bunky, sú sezónne, nachádzajú sa v tkanivách, kde sa obnovujú autoreplikáciou, a nie z ILC1-buniek prítomných v krvi alebo ich prekuzorov. Dôležitým rozdielom medzi NK- a ILC1-bunkami je, že ILC1-nie sú cytolytické (18, 19). ILC1-bunky nie sú jednotnou populáciou. Identifikovalo sa viacero podskupín, ktoré sa nachádzajú v sliznici čreva, pečeni, slinných žľazách a ženskom reprodukčnom trakte (20). ILC-1bunky môžu vzniknúť aj transdiferenciáciou ILC2- a ILC3-buniek (21). Fyziologická úloha ILC1-buniek je v boji proti niektorým mikroorganizmom

Tab. 2: Základná charakteristika ILC-buniek

ILC1-populácia	
NK-bunky	EOMES, T-BET, NKp46, CD56, KIR, CD94, IFN- γ , TNF
ILC1-bunky	T-BET, NKp46, CD90, CD127, IFN- γ , TNF
ILC2-populácia	ROR α , GATA3, TSLPR, NKp30, CRTH2, CD25, CD127, ICOS, IL-17RB, IL-33R (ST2), IL-5, IL-6, IL-9, IL-13, amfiregulín
ILC3-populácia	
LTi-bunky	RORC, LT α 1 β 2, CD127, CD252, CXCR5, CCR6, CCR7, neuropilin
NCR ⁺ (ILC22)	RORC, AHR, NKp44, CD127, CD161, IL-22
NCR ⁻ (ILC17)	RORC, AHR, CCR6, CD127, CD161, IL-17

AHR – aryl hydrokarbónový receptor; CRTH2 – „a chemoattractant receptor expressed on TH2 cells“, KIR – „killer cell immunoglobulin-like receptor“, R – receptor

či parazitom (*Clostridium difficile*, *Salmonella enterica*, *Toxoplasma gondii*) a v účasti na imunitnom dohľade nad malígnym procesom i keď v jednotlivých prípadoch je v súčasnosti len veľmi ťažko odlišiť úlohu ILC1- od NK-buniek, v tejto oblasti sa čaká väčší pokrok v budúcnosti (21).

ILC2 populáciu prirodzených lymfoidných buniek reprezentujú ILC2-bunky. Vyznačujú sa tým, že ich aktivuje IL-33, IL-25 alebo TSLP, ktoré na začiatku imunitnej odpovede produkujú makrofágy, mastocyty, NKT-bunky, alebo vznikajú ako alarmíny pri poškodení epitelových buniek (označujú sa preto aj ako epitelové cytokíny). Po aktivácii začnú produkovať typické T_H2-cytokíny, t. j. IL-5 a IL-13, navyše však aj IL-6, IL-9 a amfiregulín (22, 23). ILC2-bunky exprimujú aj HLA-molekuly druhej triedy, čo im umožňuje zapojiť do imunitných procesov aj mechanizmy adaptívnej imunity (24). Za fyziologických okolností ich potrebujeme predovšetkým na boj proti helmintom.

IL-25 v čreve produkujú chumáčikové bunky. Tento stimuluje ILC2-bunky aby produkovali IL-13, ktorý následne indukuje hyperpláziu chumáčikových buniek, čím dochádza k zvýšeniu syntézy IL-25. Ďalší amplifikačný mechanizmus včasnej aktivácie ILC2-buniek zabezpečuje IL-9, ktorý produkujú samotné ILC2-bunky. Tento pôsobí autokrinne a aktivuje ich. Aktivované ILC2-bunky syntetizujú IL-5, IL-13 a amfiregulín. IL-5 je rastový a aktivačný faktor eozinofilov, zatiaľ čo amfiregulín zabezpečuje homeostázu epitelových buniek; mechanizmus, akým to robí, nepoznáme. IL-13 indukuje kontrakciu hladkého svalstva, produkciu hlienu pohárikovými bunkami a pritiahnutie alternatívne aktivovaných makrofágov (M2-makrofágy). Všetky tieto faktory prispievajú k vypudeniu červov z čрева (25).

ILC2-bunky participujú svojou produkciou amfiregulínu na oprave epitelu nielen pri infestácii parazitmi, ale aj pri infekcii organizmu vírusmi chrípky (26). Táto vlastnosť ILC-2 buniek potvrdzuje hypotézu, že imunitná odpoveď druhého typu (Tab. 3) sa vyvinula na to, aby zabezpečovala opravu poškodených tkanív (27, 28) ako aj hypotézu, že imunitná odpoveď druhého typu sa vyvinula ako ochrana pred škodlivými xenobiotikami (29). Vnucuje sa tak predstava, že ILC2-bunky udržiavajú slizničné bariéry v prítomnosti kontinuálnej expozície environmentálnych alergénov v plne funkčnom stave a to tým, že iniciujú druhý typ imunitnej odpovede nízkeho stupňa, vrátane produkcie hlienu a indukcie opravy tkanív. Vychádzajúc z uvedeného môžeme si predstaviť, že ILC2-bunky nás môžu chrániť pred vývojom pravej alergickej odpovede mediovanej adaptívnym imunitným systémom tým, že zabezpečujú prvú obrannú líniu obrany proti alergénom; ak je úspešná, zabráni vzniku „pravej alergie“ (30).

ILC3-populácia sa na základe exprese chemokínového receptora CCR6 delí na dve subpopulácie, CCR6⁺ a CCR6⁻. K prvej patria **LTi-bunky** (LTi – *lymphoid tissue inducer*), ktoré, podobne ako NK-bunky, boli objavené ešte pred inými ILC-bunkami (31). Tieto v svojich membránach exprimujú lymfotoxínový heterotrimér (LT α 1 β 2). Po väzbe na svoj receptor LT β na strómových bunkách, podmieni v nich syntézu chemokínov, ktoré pritiahnu lymfocyty, aby vytvárali sekundárne lymfoidné orgány, konkrétne lymfatické uzliny, Peyerove plaky a izolované lymfoidné folikuly (ale nie slezinu či NALT /*nasal associated lymphoid tissue*/) (32).

Druhá subpopulácia delí na dve skupiny. Ak exprimuje receptory NKp44, ktoré patria k NCR-receptorom (NCR – *natural cytotoxicity receptors*), označujú sa

Tab. 3: Prvý a druhý typ imunitnej odpovede

Prírodná a adaptívna imunita vo vzájomnej spolupráci zabezpečujú obranyschopnosť jedinca pre vonkajším i vnútorným narušiteľom jeho integrity. Jej mechanizmy možno rozdeliť na prvý a druhý typ. Prvý typ zastupujú T_H1 a T_H17-lymfocyty, cytotoxické T-lymfocyty, ILC1- a ILC3-bunky a protilátky triedy IgM, IgA a IgG. Tieto efektorové mechanizmy adaptívnej imunitnej odpovede zabezpečujú obranu proti mnohým mikroorganizmom, vrátane baktérií, vírusov, plesní a protozoí. Navyše sa tento typ imunity podieľa na imunitnom dohľade nad malígnym bujením. Naproti tomu druhý typ adaptívnej imunity poskytuje obranu proti veľkým extracelulárnym parazitom tým, že zvyšuje bariérovú funkciu slizníc. Navyše účastníci tohto typu imunitnej odpovede pomáhajú udržiavať metabolickú homeostázu a podporujú opravu poškodeného tkaniva. Zabezpečujú ho T_H2-lymfocyty, ILC2-bunky, eozinofily, bazofily, mastocyty, alternatívne aktivované makrofágy (M2), protilátky triedy IgE a cytokíny IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, IL-25, IL-33 a TSLP (*thymic stromal lymphopoietin*).

NCR⁺ alebo podľa svojho principiálneho cytokínu, ktorý produkujú, IL-22, ako ILC22-bunky. Ak NKp44 v svojich membránach nemajú, označujú sa ako NCR⁻, resp. ILC17, pretože sa vyznačujú značnou syntézou IL-17 (33). IL-22 podporuje syntézu antibakteriálnych látok a podporuje proliferáciu epitelových buniek (34). IL-17 aktiváciu neutrofilov sa podieľa na antibakteriálnej imunite v koži a na slizniciach (35).

Niektorí autori však LT_H1-bunky, podobne ako aj NK-bunky, vyčleňujú zo skupiny ILC3⁻, resp. ILC1-buniek a zaraďujú ich medzi samostatné populácie, ktoré sa vyvíjajú zo samostatných prekursorov. Takto rozlišujú NK⁻, LT_H1-prekursor a spoločný prekursor pre pomocné ILC-bunky, z ktorého sa potom pod vplyvom transkripčného faktora PLZF (*promyelocytic leukemia zinc finger*) a pod vplyvom vyššie uvedených transkripčných faktorov, vydajú na dráhu diferenciácie na jednotlivé populácie (36, 37) (obr. 1).

Úloha ILC-buniek v imunopatologických procesoch

V medicíne vnímame funkciu jednotlivých skupín buniek skôr pri ich patologickom pôsobení ako za fyziologických okolností. Nie je to ináč ani s ILC-bunkami.

ILC1-bunky sa podieľajú na rozvoji imunopatologických stavov, a to najmä pri *morbus* Crohn. Pozorovala sa ich zvýšená akumulácia v zápalovom ložisku, kde svojou produkciou IFN- γ prispievajú k zvýšenej aktivite T_H1-lymfocytov, ktoré sú v popredí patogenetických procesov pri tejto chorobe (38, 39). O význame tohto cytokínu svedčí pokles jeho hladín po imunosupresívnej liečbe (azatioprin) alebo po aplikácii mAb anti-TNF (infliximab) (40). Zlepšenie klinického stavu sa pozorovalo aj pri liečbe pacientov monoklonovými protilátkami anti-IFN- γ (fontolizumab) (41), i keď štatisticky nepreukazuje v porovnaní s placebom; hladiny CRP však významne klesli (42), čo naznačuje, že táto liečba má svoje opodstatnenie, najmä pacientov refraktérnych na predchádzajúcu liečbu. Na zvýšenej aktivite ILC1-buniek sa podieľa aj nedostatočná funkcia ďalšej populácie prirodzených lymfoidných buniek – ILC3 (pozri ďalej). ILC1-bunky sa zrejme budú podieľať aj na patogenéze iných autoimunitných chorôb, ale táto problematika je zatiaľ ešte málo rozvinutá, takže viac informácií dozvieme až v nasledujúcich rokoch (38).

ILC2-bunky sa vyznačujú syntézou T_H2-cytokínov, čo naznačuje, že sa môžu podieľať na rozvoji alergie. Vieme, že množstvo alergénov má proteázovú aktivitu (43, 44), čo spôsobuje, že aktiváciou PAR-receptorov (PAR – *protease-activated receptors*) v membránach epitelových buniek respiračného traktu sa indukuje syntéza IL-25, IL-33 a TSLP. Tieto cytokíny následne aktivujú ILC2-bunky, ktoré začnú produkovať IL-5 a IL-13 a to dokonca v hladinách vyšších ako produkujú samotné T_H2-lymfocyty; na rozdiel od nich však syntetizujú iba málo IL-4 (30). IL-5 je aktivačným receptorom eozinofilov a IL-13 zodpovedá za navodenie hyperreaktivity

bronchov. ILC2-bunky navyše syntetizujú aj IL-9, ktorý je silným aktivátorom mastocytov (45). Naopak, aktivované mastocyty produkujú IL-33, ktorý spätne aktivuje ILC2-bunky (46).

Pôvodne sa predpokladalo, že ILC2-bunky sa budú podieľať aj na aktivácii T_H2-lymfocytov a to svojou schopnosťou prezentovať antigény, lebo v svojich membránach exprimujú HLA-molekuly druhej triedy, exprimujú kostimulačné molekuly ICOS a syntetizujú IL-6 a IL-13 (24, 30). Nedávne výsledky získané na experimentoch na myšiach, ktorým sa znefunkčnili gény kódujúce IL-25, IL-33 a TSLP však ukázali, že ILC2-bunky nie sú potrebné ani na aktiváciu T_H2-lymfocytov ani v lymfatických uzlinách a ani v samotnom tkanive, v ktorom sa navodil alergický proces. Zistilo sa však, že aj ILC2-bunky aj T_H2-lymfocyty využívajú pre svoje efektorové funkcie kombinované pôsobenie epitelových cytokínov (47, 48). Môžeme teda konštatovať, že hlavným patogenetickým činiteľom pri rozvoji alergie, predovšetkým pri *astma bronchiale*, zostávajú T_H2-lymfocyty a ILC2-bunky pôsobia nezávisle od nich ako ich pomocný faktor. Pre úplnosť však treba súčasne uviesť, že pri myšiach sa podarilo indukovať alergický proces aj vtedy, keď im chýbali aj B- aj T-lymfocyty (49).

Vychádzajúc z dôležitej úlohy epitelových cytokínov v rozvoji alergie, vyvinuli sa monoklonové protilátky (mAb) neutralizujúce jednotlivé cytokíny. Humanizované mAb anti-IL25, anti-IL-33 a anti-TSP sa v súčasnosti testujú v predklinických skúškach; z nich sa ukázali najúčinnnejšie monoklonové protilátky anti-TSLP, redukovali eozinofíliu i bronchokonstrikcii (50, 51). Keď však zoberieme do úvahy vyššie uvedenú prácu o kombinovanom účinku epitelových cytokínov na aktiváciu aj T_H2-lymfocytov aj ILC-2 buniek, dá sa predpokladať, že účinnejšie bude použiť kombináciu uvedených monoklonových protilátok, ako monoklonové protilátky namierené proti jednotlivým cytokínom. Z takýchto protilátok sa v súčasnosti ukazujú účinné mAb proti IL-13, lebrikuzumab, najmä u tých pacientov, ktorí majú v plazme zvýšené hladiny periostínu, proteínu indukovaného IL-13 (51, 52) (periostín je extracelulárny matrixový proteín a slúži ako ligand pre integríny $\alpha V/\beta 3$ a $\alpha V/\beta 5$ v membránach epitelových buniek, podporuje ich adhéziu a migráciu).

ILC-2 bunky sa hodne nachádzajú aj v derme a svojou produkciou amfiredulínu sa podieľajú na homeostáze kože. Ich lokalizácia ich však predurčuje aj k možnému vývoju atopickej dermatitídy (AD). Najsilnejší faktor vývoja AD je porucha bariérovej funkcie kože v dôsledku mutácie v géne pre filagrín (*FLG*) (53). Filagrín je proteín podieľajúci sa na stavbe *epidermis*. *FLG*-mutácia spôsobí aj zníženie expresie E-kadherínu, ktorý zabezpečuje interepitelové spojenia. E-kadherín je však dôležitým inhibítorom funkcie ILC-2 buniek, ktoré ho rozpoznávajú svojím KLRG1-receptorom (*killer cell lectin-like receptor subfamily G member 1*). Znížením expresie E-kadherínu sa aktivujú ILC2-bunky s následným vývojom imunopatologických procesov vedúcim k vývoju AD a následne *asthma bronchiale* (54, 55). Vskutku, u pacientov s AD sa v zápalovom ložisku pozorovala akumulácia ILC2-buniek (56).

Atopická dermatitída sa prirodzene môže vyvinúť aj u jedincov, ktoré nemajú mutáciu vo *FLG*-géne. V týchto prípadoch alergény stimulujú keratinocyty do zvýšenej produkcie IL-33, ktorý následne aktivuje ILC2-bunky s následným vývojom imunopatologických procesov. Dokázalo sa to pri HDM-alergénoch (HDM – *house dust allergens*) (54). Ďalším mechanizmom indukcie AD je interakcia medzi receptorom NKp30 ILC2-buniek a molekulou B7-H6, ktorá sa v membránach keratinocytov objavuje pri ich infekcii, zápale alebo poškodení (57, 58).

ILC2-bunky zohrávajú významnú úlohu aj pri rozvoji autoimunitných chorôb, najmä pri ulceróznej kolitíde (UC) (6, 49). Nedávnym výskumom sa totiž zistilo, že pri UC sa veľkej miere tvorí IL-33, ktorý aktivuje početné ďalšie bunky do rozvoja zápalového procesu, najmä ILC2 a mastocyty (59). Aktivované mastocyty začnú produkovať chymázu, tryptázu a najmä prostaglandín E₂, ktoré ďalej zvyšujú aktiváciu ILC-2 buniek. Tieto sa vyznačujú syntézou IL-5, IL-6, IL-9 a IL-13. IL-5 je diferenciačným a aktivačným faktorom pre eozinofily, ktoré svojim hlavným bázičným proteínom poškadzujú epitel čreva, čo spôsobí vznik ulcerácií. IL-9 podmieňuje aktiváciu mastocytov, ktoré sú značným zdrojom TNF. Tento indukuje zápalové procesy, najmä aktiváciou neutrofilov, ktoré svojimi cídnymi produktmi prispievajú k poškodeniu epitelu čreva. IL-13 aktivuje NKT-bunky, ktoré sa pri UC nachádzajú v submukóze tiež vo zvýšenej miere. Tieto svojou cytotoxickou aktivitou spôsobujú poškodenie epitelu tiež (60–62). IL-13 navyše podporuje apoptózu epitelových buniek a uvoľnenie interepitelových spojení (30). Aktivované ILC-2 bunky exprimujú HLA-molekuly druhej triedy a kostimulačné molekuly, čím sú vytvárajú podmienky na vznik T_H2-lymfocytov, ktoré svojimi cytokínmi ďalej prehľbujú zápalový proces; podobne môžu aktivovať B-lymfocyty, aby produkovali pre UC charakteristické autoprotilátky (24, 30).

ILC3-bunky sa tiež zúčastňujú na rozvoji imunopatologických procesov, a to spolu s ILC1-bunkami na rozvoji zápalu čreva pri *morbus Crohn*. Zistilo sa, že aktivita NCR⁺ ILC3 buniek je znížená (63, 64) a to pravdepodobne pre ich transdiferenciáciu na ILC1-bunky pod vplyvom IL-12, ktorý produkujú dendritové bunky, ktoré sa v zápalovom ložisku tiež akumuluje (38). NCR⁺ ILC3 syntetizujú IL-22 (ILC-22 bunky), ktorý stimuláciou epitelových buniek podporuje syntézu antimikrobiálnych látok, ktoré inhibujú aj prílišný rast komenzálnych baktérií, najmä SFB-baktérií (*segmented filamentous bacteria*) a tým bránia ich prechodu do submukózy a indukciu zápalových procesov. IL-22 podporuje aj syntézu amferegulínu a LIF (*leukemia inhibitory factor*), ktoré podporujú rast enterocytov. NCR⁺ ILC3-bunky produkujú aj BAFF faktor (*B-cell activating factor*), ktorý podporuje syntézu IgA, čo sú významné slizničné protilátky (34). Zníženie aktivity uvedenej skupiny buniek takto prispieva k rozvoju zápalového procesu pri m. Crohn. Na druhej strane, pre *morbus Crohn* je charakteristická aj zvýšená aktivita T_H17-lymfocytov (pre prehľad pozri Buc 2017). K ich produkcii IL-17 však prispievajú aj NCR⁻ ILC3-bunky (65).

LITERATÚRA

1. Vely F, Barlogis V, Vallentin B, Neven B, Piperoglou C, Ebbo M, et al.: Evidence of innate lymphoid cell redundancy in humans. *Nat Immunol* 2016; 17(11): 1291-9.
2. Bando JK, Colonna M: Innate lymphoid cell function in the context of adaptive immunity. *Nat Immunol* 2016; 17(7): 783-9.
3. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL: Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986; 136(7): 2348-57.
4. Romagnani S, Maggi E, Liotta F, Cosmi L, Annunziato F: Properties and origin of human Th17 cells. *Mol Immunol* 2009; 47(1): 3-7.
5. Annunziato F, Cosmi L, Santarlasci V, Maggi L, Liotta F, Mazzinghi B, et al.: Phenotypic and functional features of human Th17 cells. *J Exp Med* 2007; 204(8): 1849-61.
6. Cortez VS, Robinette ML, Colonna M: Innate lymphoid cells: new insights into function and development. *Curr Opin Immunol* 2015; 32: 71-7.
7. Diefenbach A, Colonna M, Koyasu S: Development, differentiation, and diversity of innate lymphoid cells. *Immunity* 2014; 41(3): 354-65.
8. Kiessling R, Klein E, Wigzell H: "Natural" killer cells in the mouse. I. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Specificity and distribution according to genotype. *Eur J Immunol* 1975; 5(2): 112-7.
9. Kiessling R, Klein E, Pross H, Wigzell H: "Natural" killer cells in the mouse. II. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Characteristics of the killer cell. *Eur J Immunol* 1975; 5(2): 117-21.
10. Lodoen MB, Lanier LL: Natural killer cells as an initial defense against pathogens. *Curr Opin Immunol* 2006; 18(4): 391-8.
11. Vivier E, Tomasello E, Baratin M, Walzer T, Ugolini S: Functions of natural killer cells. *Nat Immunol* 2008; 9(5): 503-10.
12. Cichocki F, Verneris MR, Cooley S, Bachanova V, Brunstein CG, Blazar BR, et al.: The Past, Present, and Future of NK Cells in Hematopoietic Cell Transplantation and Adoptive Transfer. *Curr Top Microbiol Immunol* 2016; 395: 225-43.
13. Caligiuri MA: Human natural killer cells. *Blood* 2008; 112(3): 461-9.
14. Ferlazzo G, Thomas D, Lin SL, Goodman K, Morandi B, Muller WA, et al.: The abundant NK cells in human secondary lymphoid tissues require activation to express killer cell Ig-like receptors and become cytolytic. *J Immunol* 2004; 172(3): 1455-62.
15. O'Sullivan TE, Sun JC, Lanier LL: Natural Killer Cell Memory. *Immunity* 2015; 43(4): 634-45.
16. Bernink JH, Krabbendam L, Germar K, de Jong E, Gronke K, Kofoed-Nielsen M, et al.: Interleukin-12 and -23 Control Plasticity of CD127(+) Group 1 and Group 3 Innate Lymphoid Cells in the Intestinal Lamina Propria. *Immunity* 2015; 43(1): 146-60.
17. Daussy C, Faure F, Mayol K, Viel S, Gasteiger G, Charrier E, et al.: T-bet and Eomes instruct the development of two distinct natural killer cell lineages in the liver and in the bone marrow. *J Exp Med* 2014; 211(3): 563-77.
18. Gasteiger G, Fan X, Dikiy S, Lee SY, Rudensky AY: Tissue residency of innate lymphoid cells in lymphoid and nonlymphoid organs. *Science* 2015; 350(6263): 981-5.

19. Montaldo E, Vacca P, Vitale C, Moretta F, Locatelli F, Mingari MC, et al.: Human innate lymphoid cells. *Immunol Lett* 2016; 179: 2-8.
20. Fuchs A: ILC1s in Tissue Inflammation and Infection. *Front Immunol.* 2016;7:104.
21. Spits H, Bernink JH, Lanier L. NK cells and type 1 innate lymphoid cells: partners in host defense. *Nat Immunol* 2016; 17(7): 758-64.
22. Van Dyken SJ, Mohapatra A, Nussbaum JC, Molofsky AB, Thornton EE, Ziegler SF, et al.: Chitin activates parallel immune modules that direct distinct inflammatory responses via innate lymphoid type 2 and gammadelta T cells. *Immunity* 2014; 40(3): 414-24.
23. Wang YH, Angkasekwinai P, Lu N, Voo KS, Arima K, Hanabuchi S, et al.: IL-25 augments type 2 immune responses by enhancing the expansion and functions of TSLP-DC-activated Th2 memory cells. *J Exp Med* 2007; 204(8): 1837-47.
24. Robinette ML, Colonna M: Innate lymphoid cells and the MHC. *HLA* 2016; 87(1): 5-11.
25. Klose CS, Artis D: Innate lymphoid cells as regulators of immunity, inflammation and tissue homeostasis. *Nat Immunol* 2016; 17(7): 765-74.
26. Monticelli LA, Sonnenberg GF, Abt MC, Alenghat T, Ziegler CG, Doering TA, et al.: Innate lymphoid cells promote lung-tissue homeostasis after infection with influenza virus. *Nat Immunol* 2011; 12(11): 1045-54.
27. Allen JE, Maizels RM: Diversity and dialogue in immunity to helminths. *Nat Rev Immunol* 2011; 11(6): 375-88.
28. Eberl G: Immunity by equilibrium. *Nat Rev Immunol* 2016; 16(8):524-32.
29. Palm NW, Rosenstein RK, Medzhitov R: Allergic host defenses. *Nature* 2012; 484(7395): 465-72.
30. Licona-Limon P, Kim LK, Palm NW, Flavell RA: TH2, allergy and group 2 innate lymphoid cells. *Nat Immunol* 2013; 14(6): 536-42.
31. Mebius RE: Organogenesis of lymphoid tissues. *Nat Rev Immunol.* 2003; 3(4): 292-303.
32. van de Pavert SA, Mebius RE: New insights into the development of lymphoid tissues. *Nat Rev Immunol* 2010; 10(9): 664-74.
33. Yazdani R, Sharifi M, Shirvan AS, Azizi G, Ganjalikhani-Hakemi M: Characteristics of innate lymphoid cells (ILCs) and their role in immunological disorders (an update). *Cell Immunol* 2015; 298(1-2): 66-76.
34. Dudakov JA, Hanash AM, van den Brink MR: Interleukin-22: immunobiology and pathology. *Annu Rev Immunol* 2015; 33: 747-85.
35. Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK: IL-17 and Th17 Cells. *Annu Rev Immunol* 2009; 27: 485-517.
36. Constantinides MG, McDonald BD, Verhoef PA, Bendelac A: A committed precursor to innate lymphoid cells. *Nature* 2014; 508(7496): 397-401.
37. Vivier E, van de Pavert SA, Cooper MD, Belz GT: The evolution of innate lymphoid cells. *Nat Immunol* 2016; 17(7): 790-4.
38. Bernink JH, Peters CP, Munneke M, te Velde AA, Meijer SL, Weijer K, et al.: Human type 1 innate lymphoid cells accumulate in inflamed mucosal tissues. *Nat Immunol* 2013; 14(3): 221-9.
39. Fuchs A, Vermi W, Lee JS, Lonardi S, Gilfillan S, Newberry RD, et al.: Intraepithelial type 1 innate lymphoid cells are a unique subset of IL-12- and IL-15-responsive IFN-gamma-producing cells. *Immunity* 2013; 38(4): 769-81.
40. Agnholt J, Kalltoft K: Infliximab downregulates interferon-gamma production in activated gut T-lymphocytes from patients with Crohn's disease. *Cytokine* 2001; 15(4): 212-22.
41. Reinisch W, de Villiers W, Bene L, Simon L, Racz I, Katz S, et al.: Fontolizumab in moderate to severe Crohn's disease: a phase 2, randomized, double-blind, placebo-controlled, multiple-dose study. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16(2): 233-42.
42. Hommes DW, Mikhajlova TL, Stoinov S, Stimac D, Vucelic B, Lonovics J, et al.: Fontolizumab, a humanised anti-interferon gamma antibody, demonstrates safety and clinical activity in patients with moderate to severe Crohn's disease. *Gut* 2006; 55(8): 1131-7.
43. Reed CE, Kita H: The role of protease activation of inflammation in allergic respiratory diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114(5): 997-1008.
44. Gregory LG, Lloyd CM: Orchestrating house dust mite-associated allergy in the lung. *Trends Immunol* 2011; 32(9): 402-11.
45. Barlow JL, McKenzie AN: Type-2 innate lymphoid cells in human allergic disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2014; 14(5): 397-403.
46. Hsu CL, Neilsen CV, Bryce PJ: IL-33 is produced by mast cells and regulates IgE-dependent inflammation. *PLoS One* 2010; 5(8): e11944.
47. van Dyken SJ, Nussbaum JC, Lee J, Molofsky AB, Liang HE, Pollack JL, et al.: A tissue checkpoint regulates type 2 immunity. *Nat Immunol* 2016; 17(12): 1381-7.
48. Leavy O: T cells: A tissue checkpoint for TH2s. *Nat Rev Immunol* 2016; 16(12):717.
49. Walker JA, Barlow JL, McKenzie AN: Innate lymphoid cells--how did we miss them? *Nat Rev Immunol* 2013; 13(2): 75-87.
50. Gauvreau GM, O'Byrne PM, Boulet LP, Wang Y, Cockcroft D, Bigler J, et al.: Effects of an anti-TSLP antibody on allergen-induced asthmatic responses. *N Engl J Med* 2014; 370(22): 2102-10.
51. Wynn TA: Type 2 cytokines: mechanisms and therapeutic strategies. *Nat Rev Immunol* 2015; 15(5): 271-82.
52. Corren J, Lemanske RF, Hanania NA, Korenblat PE, Parsey MV, Arron JR, et al.: Lebrikizumab treatment in adults with asthma. *N Engl J Med* 2011; 365(12): 1088-98.
53. Palmer CN, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, Zhao Y, Liao H, Lee SP, et al.: Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nat Genet* 2006; 38(4): 441-6.
54. Salimi M, Barlow JL, Saunders SP, Xue L, Gutowska-Owsiak D, Wang X, et al.: A role for IL-25 and IL-33-driven type-2 innate lymphoid cells in atopic dermatitis. *J Exp Med* 2013; 210(13): 2939-50.
55. Mjosberg J, Spits H: Human innate lymphoid cells. *J Allergy Clin Immunol* 2016; 138(5): 1265-76.
56. Saunders SP, Moran T, Floudas A, Wurlod F, Kaszlikowska A, Salimi M, et al.: Spontaneous atopic dermatitis is mediated by innate immunity, with the secondary lung inflammation of the atopic march requiring adaptive immunity. *J Allergy Clin Immunol* 2016; 137(2): 482-91.
57. Salimi M, Xue L, Jolin H, Hardman C, Cousins DJ, McKenzie AN, et al.: Group 2 Innate Lymphoid Cells Express Functional NKp30 Receptor Inducing Type 2 Cytokine Production. *J Immunol* 2016; 196(1):45-54.

58. Matta J, Baratin M, Chiche L, Forel JM, Cognet C, Thomas G, et al.: Induction of B7-H6, a ligand for the natural killer cell-activating receptor NKp30, in inflammatory conditions. *Blood* 2013; 122(3): 394-404.
59. Seidelin JB, Bjerrum JT, Coskun M, Widjaya B, Vainer B, Nielsen OH: IL-33 is upregulated in colonocytes of ulcerative colitis. *Immunol Lett* 2010; 128(1): 80-5.
60. Fuss IJ, Heller F, Boirivant M, Leon F, Yoshida M, Fichtner-Feigl S, et al.: Nonclassical CD1d-restricted NK T cells that produce IL-13 characterize an atypical Th2 response in ulcerative colitis. *J Clin Invest* 2004; 113(10): 1490-7.
61. Sponheim J, Pollheimer J, Olsen T, Balogh J, Hammarstrom C, Loos T, et al.: Inflammatory bowel disease-associated interleukin-33 is preferentially expressed in ulceration-associated myofibroblasts. *Am J Pathol* 2010; 177(6): 2804-15.
62. Palmer G, Gabay C: Interleukin-33 biology with potential insights into human diseases. *Nat Rev Rheumatol* 2011;7(6):321-9.
63. Hepworth MR, Sonnenberg GF: Regulation of the adaptive immune system by innate lymphoid cells. *Curr Opin Immunol* 2014; 27: 75-82.
64. Peters CP, Mjosberg JM, Bernink JH, Spits H: Innate lymphoid cells in inflammatory bowel diseases. *Immunol Lett* 2016; 172: 124-31.
65. Geremia A, Arancibia-Carcamo CV, Fleming MP, Rust N, Singh B, Mortensen NJ, et al.: IL-23-responsive innate lymphoid cells are increased in inflammatory bowel disease. *J Exp Med* 2011; 208(6): 1127-33.

Buc M: Základná a klinická imunológia. Bratislava: Veda, 2012. 831 s.

Buc M: Crohnova choroba a ulcerózna kolitída – súčasný pohľad na genetickú determináciu, imunopatogézu a biologickú liečbu. *Epidemiol, Mikrobiol, Imunol* 2017, v tlači. Krejsek J, Andrys C, Krčmová I: *Imunologie člověka*. Hradec Králové, 2017, v tlači.

*prof. MUDr. Milan Buc, DrSc.
Imunologický ústav LF UK
Odborárske námestie 14
813 72 Bratislava
e-mail: milan.buc@fmed.uniba.sk*