

# Heterogenita lymfocytov ako ústredných operačných jednotiek imunitného systému

Milan Buc

*Imunologický ústav LF UK v Bratislave, Slovenská republika*

## Súhrn

Imunitnú odpoveď delíme na prirodzenú a adaptívnu, i keď takéto striktné delenie je sporné, lebo jeden typ imunity ovplyvňuje druhý a naopak. Navyše existuje skupina buniek a imunitných mechanizmov, ktoré stoja niekde na rozhraní. B-lymfocyty a T-lymfocyty sú základnými predstaviteľmi adaptívnej imunity. Ani jedni z nich netvorí jednotnú populáciu. B-lymfocyty majú 3 subpopulácie (folikulové, B1 a marginálnej zóny). Pri T-lymfocytoch je situácia zložitejšia. Existujú 2 základné skupiny, tie s antigénovým receptorom  $\alpha$ ,  $\beta$  a tie s antigénovým receptorom  $\gamma$ ,  $\delta$ . T-lymfocyty  $\alpha\beta$  sú veľmi heterogénne; poznáme pomocné, cytotoxické a regulačné. Navyše pomocné T-lymfocyty sa delia na 7 subpopulácií. Okrem uvedených efektorových B-lymfocytov a T-lymfocytov, každá skupina má svoj náprotivok v podobe pamäťových buniek, pričom pamäťové T-lymfocyty sú 3 typov. Ďalšie skupiny lymfocytov označujeme ako nekonvenčné. Reprezentujú ich bunky NK, NKT a MAIT. Napokon v nedávnej dobe sa objavila skupina buniek, ktorá je práve na rozhraní medzi prirodzenou a adaptívnou imunitou. Ide o prirodzené lymfoidné bunky (Innate Lymphoid Cells – ILC). Tie tiež nie sú jednotné; v súčasnosti rozlišujeme 3 ich základné populácie: ILC1, ILC2 a ILC3. Navyše v rámci danej rodiny možno rozlíšiť ďalšie subpopulácie. Vymenovanie uvedených typov buniek poukazuje na komplexnosť a vzájomnú prepojenosť imunitných procesov v záujme udržania biologickej integrity jedinca.

**Kľúčové slová:** B-lymfocyty – ILC-bunky – MAIT – NK – NKT subpopulácie lymfocytov – T-lymfocyty

## Heterogeneity of lymphocytes as central operating units of the immune system

### Summary

Immune response is divided into natural and adaptive although such strict division is rather contentious as one type of immunity influences another one and vice-versa; moreover, there are cells and immune mechanisms, which stay somewhere in an interface. B and T lymphocytes represent principal cells of adaptive immunity. Not one of them form a uniform population. B cells comprise of three subpopulations (follicular, B1, marginal zone). Concerning T cells, the situation is more complicated. There are two basic populations, that expressing T cell receptors  $\alpha$ ,  $\beta$  and that expressing  $\gamma$ ,  $\delta$  receptors. T cells  $\alpha\beta$  are very heterogeneous; we can distinguish helper, cytotoxic and regulatory cells. Moreover, among T helper cell, are there seven subsets. Except the above-mentioned effector B and T cells, each group has its counterpart in the form of memory cells, wherein the memory T cell are of three types. The other group of lymphocytes represent so-called unconventional cells. NK, NKT a MAIT are their representatives; they are also heterogeneous. Ultimately, a novel group of cells appeared recently. It stays just on the interphase between natural and adaptive immunity. We know these cells under the name innate lymphoid cells (ILCs). They are also not uniform – three basic populations are well characterized: ILC1, ILC2, ILC3. Moreover, in the frame of each family, we can distinguish more subsets. Enumeration of said cell types indicates complexity and mutual interconnection of immune processes in order to maintain biological integrity of an individual.

**Key words:** B cells – ILC cells – MAIT – NK – NKT – subsets of lymphoid cells – T cells

### Úvod

Ľudia sú počas svojho života kontinuálne exponovaní početným patogénnym i nepatogénnym mikroorganizmom a napriek tomu prežívajú mnoho dekád bez vážnych in-

fekcií, a to dokonca i v pokročilom veku. Túto schopnosť organizmu človeka zabezpečujú mechanizmy prirodzenej a adaptívnej imunity. V rámci adaptívnej imunity majú principiálnu úlohu lymfocyty. Na začiatku našich poznat-

kov o tejto skupine buniek sme poznali len B-lymfocyty a T-lymfocyty. Dnes je situácia omnoho zložitejšia a pribudli k nim ďalšie bunky so špecifickými funkciami. Navyše, každá z týchto populácií buniek nie je uniformnou, ale zahrňuje v sebe viacero subpopulácií. Cieľom tohto prehľadného článku je podať základnú charakteristiku jednotlivých populácií a subpopulácií lymfocytov a poukázať nielen na ich fyziologickú funkciu, ale naznačiť aj na ich účasť v patologických procesoch.

## B-lymfocyty

B-lymfocyty sa u človeka vyvíjajú z pluripotentnej kmeňovej bunky priamo v kostnej dreň. Vývoj B-lymfocytov možno rozdeliť na 2 štádiá – na štádium nezávislé a závislé od prítomnosti antigénu v organizme. Štádium nezávislé od antigénu sa odohráva v kostnej dreňi a predstavuje dozrievanie nezrelých B-lymfocytov na zrelé, plne funkčné bunky. Zrelé B-lymfocyty, ktoré označujeme aj ako naivné, opúšťajú kostnú dreň a krvou a lymfou sa dostávajú do sekundárných lymfoidných orgánov, najmä sleziny a lymfatických uzlín. Ak sa B-lymfocyt stretne s antigénom, pre ktorý nesie špecifický receptor, začne proliferovať a diferencovať sa na plazmatické bunky; súčasne sa diferencuje aj na pamäťové bunky a dlho žijúce plazmatické bunky. Diferenciácia B-lymfocytov na plazmatické bunky či pamäťové B-lymfocyty úplne závisí od prítomnosti antigénu v organizme, preto toto obdobie označujeme ako štádium závislé od antigénu. Ak sa naivný B-lymfocyt so „svojím“ antigénom nestretne, približne za 4–8 týždňov hynie. Plazmatické bunky, ktoré syntetizujú a secerujú špecifické protilátky (samotné B-lymfocyty protilátky neproduktujú), sú vysoko aktívne: jedna plazmatická bunka vyprodukuje viac ako 10 000 protilátok za sekundu. Jedna skupina plazmatických buniek žije len krátko, kým druhá mnoho mesiacov ba dokonca aj rokov [1].

Antigénový receptor zrelých B-lymfocytov tvorí membránový IgD (mIgD) a membránový IgM (mIgM), ktoré majú rovnakú špecifickosť (aktivované a pamäťové B-lymfocyty majú receptory iných tried). Cytoplazmový úsek mIgD, resp. mIgM je veľmi krátky, má len 3 aminokyselínové jednotky, čo už samo osebe naznačuje, že sa nebudú môcť podieľať na prenose signálu a budú ho zabezpečovať iné molekuly. Zistilo sa, že mIg sa spája s heterodimérom skladajúcim sa z  $\alpha$ - a  $\beta$ -reťazca, ktoré navzájom spájajú disulfidové väzby. Antigénový receptor B-lymfocytov (B Cell Receptor – BCR) je teda komplexná štruktúra, ktorá sa skladá sa z mIg a Ig $\alpha$ /Ig $\beta$ -heterodiméru (schéma 1). Membránový imunoglobulín zodpovedá za rozpoznanie antigénu a heterodimér za prenos signálu [2,3].

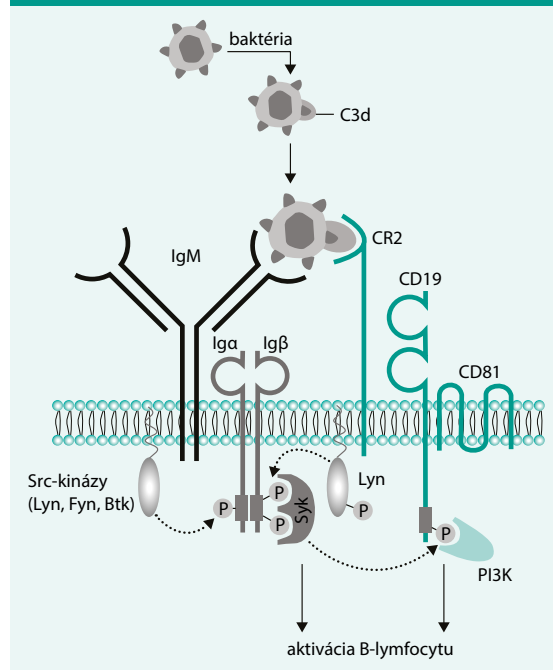
B-lymfocyty majú vo svojej membráne okrem komplexu antigénového receptora BCR ešte aj pomocný receptor. B-lymfocytový koreceptor sa skladá z 3 samostatných reťazcov, ktorých označenie je CD19, CD21 a CD81 (v praxi rozlišujeme jednotlivé skupiny buniek imunitného systému na podklade tzv. CD znakov; (CD – Cluster of Differentiation, schéma 1 [4]. CD21 je vlastne receptorom pre štiepne fragmenty C3d komplemen-

tového systému (CR2), ktoré sa predtým nadviazali na antigén rozpoznávaný antigénovým receptorom B-lymfocytov. CD81 je transmembránový proteín, ktorý prechádza membránou 4-krát (tetraspanín) a prepája CR2 s CD19 a umožňuje, aby CD19 sa dostal do blízkosti tyrozínkináz asociovaných s BCR, ktoré ho ľahko fosforylujú, čím sa aktivačný proces B-lymfocytu zosilňuje. Zníženie prahu aktivácie B-lymfocytu je dôležité najmä vo včasných fázach B-lymfocytovej proliferácie vo folikuloch, keď je afinita protilátok ešte malá a počet T-lymfocytov špecifických pre daný antigén je nízky [5,6].

B-lymfocyty nie sú jednotnou populáciou buniek. Vyššie opisované B-lymfocyty, ktoré na svoju aktiváciu potrebujú pomoc zo strany pomocných T-lymfocytov a usídľujú sa v oblastiach v blízkosti T-lymfocytovej zóny, teda vo folikuloch, označujeme ako **folikulové B-lymfocyty** a možno ich zaradiť k bunkám typickej adaptívnej

### Schéma 1. Receptor a koreceptor B-lymfocytov.

Receptor B-lymfocytov (BCR) tvorí membránový IgD, alebo IgM. Jeho upevnenie v membráne a prenos signálu dovnútra bunky zabezpečujú postranné reťazce Ig $\alpha$  a Ig $\beta$ , ktoré majú ITAM úseky, na ktoré sa pripínajú tyrozínkinázy. Koreceptor B-lymfocytov tvorí komplex membránových molekúl CD81, CR2 a CD19. Väzbou CR2 na antigén s nadviazaným C3d, ktorý predtým rozpoznal a zachytil membránový IgM, sa CD19 priblíži ku BCR-kinázam, ktoré fosforylujú jeho ITAM úsek. Následne sa na fosforylovaný CD19 nadviaže fosfo-inozitol-3 (PI-3) kináza, ktorá signalizačné procesy ďalej prehľbuje



imunity. Tu po aktivácii antigénom a pomoci zo strany pomocných T-lymfocytov (Th) sa diferencujú na plazmablasty. Tieto proliferujú a diferencujú sa na **plazmatické bunky**, ktoré produkujú protilátky príslušnej triedy imunoglobulínov, ktoré viažu antigén vysokoafinitne. Plazmablasty sa dostávajú aj do kostnej drene, v ktorej sa diferencujú na dlhodobo žijúce plazmatické bunky, a väčšina protilátok, ktoré máme v plazme, pochádza od nich [7,8].

Okrem folikulových B-lymfocytov existujú 2 subpopulácie, ktoré na antigén odpovedajú priamo, bez pomoci Th-lymfocytov. Ide o B1-lymfocyty a B2-lymfocyty. Pochádzajú zo samostatných kmeňových buniek. Najcharakteristickejšou črtou **B1-lymfocytov** je, že produkujú nízkoafinitné protilátky triedy IgM, ktoré rozpoznávajú niektoré autoantigény, ako sú polysacharidy, glykolipidy a glykoproteíny, ako aj antigény bunkovej steny baktérií či obalové proteíny vírusov. Tieto autoprotilátky nie sú patogénne a predpokladá sa, že odstraňujú staršie bunky či proteíny a poskytujú prvú obrannú líniu v boji proti baktériám či vírusom; označujeme ich preto ako „prirodzené protilátky“. K prirodzeným protilátkam patria napr. aj izohemaglutiníny. B1-lymfocyty sú aj významným zdrojom produkcie IL10 [9]. Sú to teda bunky, ktoré nezávisia od pomoci T-lymfocytov, aj keď cytokíny, ktoré tieto bunky syntetizujú, ich ovplyvňujú. B1-lymfocyty sa vyznačujú prítomnosťou membránových molekúl CD5, CD20, CD27 a CD43 [9–11]. B1-lymfocyty u člo-

veka prevažujú najmä vo fetálnom živote, neskôr sa ich počet znižuje. V cirkulácii plodu sa vyskytujú vo veľmi vysokom percente, v pupočníkovej krvi ich je 60–80 %; po narodení tento počet postupne klesá, takže v krvi dospelých predstavujú len 5 % z celkového množstva cirkulujúcich B-lymfocytov. Pri myšiach sídli prevažne v omente, v zhlukoch lymfoidného tkaniva, ktoré označujeme ako „mliečne škvrnky“; menej ich je v lymfatických uzlinách [12]. U človeka je situácia menej jasná, zistili sa v lymfatických uzlinách, slezine, peritoneálnej dutine, omente a v periférnej krvi [11,13].

S populáciou B1 B-lymfocytov sa spájajú autoimunitné procesy. Ich počet je zvýšený pri reumatoidnej artritíde, Sjögrenovom syndróme, SLE, Gravesovej chorobe, autoimunitnom diabetes mellitus a pri iných chorobách. Význam tohto zvýšenia nepoznáme, predpokladá sa, že fungujú ako bunky prezentujúce antigén pri prezentácii autoantigénu self-reaktívnym T-lymfocytom, ale na produkcii patogenetických protilátok sa pravdepodobne nepodieľajú [14].

Klasická aktivácia folikulových B-lymfocytov, ktorá si vyžaduje pomoc zo strany T-lymfocytov, trvá približne 7 dní. Je to pomerne dlhá doba, počas ktorej by napaďnutý jedinec bol vlastne nechránený. Aby sa tomu predišlo, príroda vytvorila možnosť aktivácie B-lymfocytov bez pomoci T-lymfocytov. B-lymfocyty, ktoré takto dokážu reagovať, patria k skupine **B2-lymfocytov**. Usadzujú sa v plášťovej (marginálnej) zóne bielej pulpy sle-

**Obr. Rozmiestnenie B-lymfocytov a T-lymfocytov v slezine.** T-lymfocyty obklopujú malé cievy – arterioly a vytvárajú okolo nich manžetu. B-lymfocyty sú v ich tesnom susedstve, vo folikuloch. Aj periarteriolové lymfoidné tkanivo aj folikuly obklopuje pás, ktorý označujeme ako marginálnu zónu



ziny, tesne pri sínusoch, označujú sa preto častejšie ako **B-lymfocyty marginálnej zóny** ( $B_{MZ}$ -lymfocyty), *obr.* Okrem nich v sieti, ktorú vytvárajú strómové retikulové bunky, sa tu nachádzajú aj dendritové bunky (Dendritic Cells – DC), makrofágy a neutrofil. Táto ich pozícia im umožňuje ľahko prísť do kontaktu s antigénmi, pretože prietok krvi cez marginálnu zónu je pomalý, a tak promptne reagovať na antigény (najmä na polysacharidové), ktoré sa krvou dostávajú do sleziny, a tvoriť protilátky triedy IgM [6,7]. Najnovšie sa zistilo, že  $B_{MZ}$ -lymfocyty sa nachádzajú aj pri vnútornej stene subkapsulových sínusov lymfatických uzlín, v kryptách tonzíl a v subepitelovom priestore Peyeroých plakov [15,16]. Našli sa aj v krvi, čo znamená, že recirkulujú [17].  $B_{MZ}$ -lymfocyty sú vybavené nízkoafinitivnými polyreaktívnymi imunoglobulínovými receptormi a vzorkovými receptormi, najmä rodiny TLR (Toll Like Receptors), čo im umožňuje rozpoznávať početné antigény mikroorganizmov. Dendritové bunky (DC), ktoré odpovedajú na infekčné zárodoky, produkujú okrem iného aj transkripčné faktory BAFF a APRIL, a tie spolu so signálmi, ktoré B-lymfocyt získava rozpoznávaním antigénov a TLR ligandov spôsobia, že začne produkovať aj protilátky triedy IgG, menej IgA [7]. Táto skutočnosť je nová, doteraz sa myslelo, že túto funkciu majú iba folikulové B-lymfocyty.

Napokon sa treba zmieniť o **pamätových B-lymfocytoch**, ktoré vznikajú iba z folikulových B-lymfocytov. Naivné majú v svojej membráne IgM a IgD, pamätové navyše ešte ďalší izotyp, pričom počet IgD býva často veľmi redukovaný, resp. chýba (čiže majú buď IgM + IgG, alebo IgM + IgA, alebo IgM + IgE). Niektoré pamätové bunky vlastnia membránový imunoglobulín len jedného izotypu. Ďalší membránový znak, ktorým sa pamätové bunky líšia od naivných, je molekula, ktorá sa označuje ako J11d. Naivné B-lymfocyty jej majú veľa, kým pamätové presne naopak. Opačná situácia je s CD27 antigénom; naivné B-lymfocyty ho nemajú, pamätové áno. Ďalej, pamätové B-lymfocyty, v porovnaní s naivnými, majú väčšie množstvo rôznych adhezívnych molekúl. Rozdiely medzi naivnými a pamätovými B-lymfocytmí sa uvádzajú v *tab. 1*. Jedna časť pamätových B-lymfocytov zostáva v mieste svojho vzniku, kým druhá časť recirkuluje medzi lymfoidnými orgánmi [18,19].

Imunitná odpoveď musí byť regulovaná, lebo v opačnom prípade by dochádzalo k rozvoju autoimunitných procesov. Táto imunosupresívna aktivita sa až donedávna pripisovala iba T-lymfocytom, avšak roku 2012 sa objavila skupina buniek s rovnakou aktivitou, ale patriaca B-lymfocytom [20]. **B-regulačné lymfocyty** ( $B_{reg}$ ) patria k bunkám, ktoré potláčajú imunitné procesy; nepredstavujú samostatnú populáciu buniek, podobajú sa teda indukovaným  $T_{reg}$ -lymfocytom. Vznikajú v lymfoidnom tkanive, najmä v uzlinách a v slezine pod vplyvom cytokínov IL1 $\beta$  a IL6. Svoju tlmivú aktivitu presadzujú syntézou TGF $\beta$ , IL10 a najmä IL35. Okrem toho podporujú vznik a aktivitu prirodzených regulačných T-lymfocytov [21].

## T-lymfocyty

T-lymfocyty svoju konečnú morfológicko-funkčnú podobu získavajú v týmuse. Vieme, že týmus postupne involuje a svoju najväčšiu veľkosť dosahuje v puberte. Vychádzajúc z tejto skutočnosti sa predpokladalo, že po puberte prestáva aj produkcia T-lymfocytov. Súčasné poznatky však potvrdzujú, že táto jeho schopnosť pretrváva až do 40 rokov života, u niektorých jedincov aj dlhšie [22]. T-lymfocyty predstavujú heterogénnu populáciu a na základe rozdielneho antigénového receptora (T-Cell Receptor – TCR), ich delíme na 2 základné populácie: s  $\alpha\beta$ -receptorom (asi 95 %) a  $\gamma\delta$ -receptorom (asi 5 %), *schéma 2*. Pokiaľ ide však o  $\alpha\beta$  TCR, treba podotknúť, že antigén nerozpoznávajú iba vtedy, ak ho prezentujú HLA-molekuly (ide o molekuly hlavného histokompatibilného komplexu človeka – Human Leucocyte Antigens – HLA), ktoré sa nachádzajú na našich bunkách.  $\alpha\beta$ -T-lymfocyty sa ďalej diferencujú na 3 základné populácie – pomocné (Th), cytotoxické (Tc alebo CTL) a prirodzene regulačné ( $nT_{reg}$ ). Celú populáciu  $\alpha\beta$ -T-lymfocytov charakterizujú znaky CD2 a CD3; ich pomocné T-lymfocyty navyše ešte charakterizuje znak CD4, cytotoxické T-lymfocyty CD8 a regulačné T-lymfocyty CD25 a Nrp-1 (neuropilín 1). Vzájomný pomer Th-lymfocytov a Tc-lymfocytov je geneticky regulovaný a za fyziologických okolností sa v periférnej krvi zdravého človeka pohybuje približne v pomere 1,5 : 1 [23].

**T-lymfocyty  $\alpha\beta$** , ktoré opúšťajú týmus, označujeme ako naivné a dostávajú do sekundárnych lymfoidných

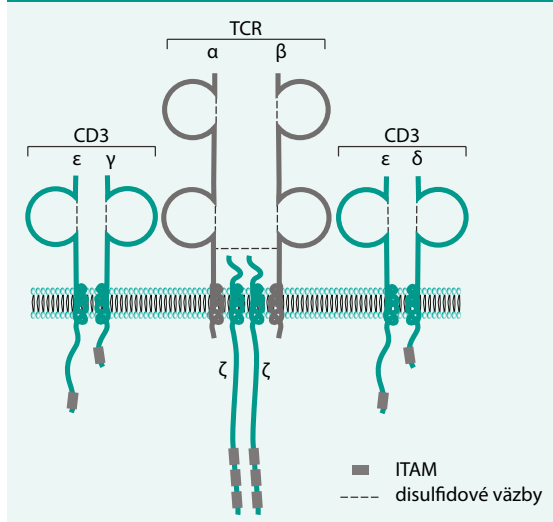
**Tab. 1. Porovnanie vlastností naivných a pamätových B-lymfocytov**

vlastnosti	naivné B-lymfocyty	pamätové B-lymfocyty
membránový imunoglobulín	IgM, IgD	IgM, IgG, IgA, IgE
receptory pre komplement	malé množstvo	veľké množstvo
dĺžka života	krátko žijúce	dlho žijúce
recirkulácia	áno	áno
afinita receptora	nižšia	vyššia
adhezívne molekuly	malé množstvo ICAM1	veľké množstvo ICAM1
CD27	-	+++
J11d	+++	-

orgánov (lymfatické uzliny, slezina, Peyerove plaky a iné). Naivné T-lymfocyty neustále recirkulujú medzi krvou a sekundárnymi lymfoidnými orgánmi prostredníctvom lymfatického systému a vďaka adhezívnym molekulám, ktoré majú v svojej membráne (CD62L), a chemokínovým receptorom CCR7, ktoré im umožňujú rozpoznať svoje ligandy v periférnych lymfoidných orgánoch. Naivné T-lymfocyty u človeka žijú veľmi dlho (približne 6–9 rokov) a podliehajú homeostatickej proliferácii. V periférii potrebujú na svoje prežitie IL7 a rozpoznávať vlastné HLA-molekuly [24,25].

**Pomocné T-lymfocyty** dostali svoj názov podľa skutočnosti, že ich treba na aktiváciu, expanziu, diferenciáciu a izotypovú reguláciu B-lymfocytov. Bez ich pomoci B-lymfocyty nedokážu odpovedať na väčšinu antigénov. Uvedená vlastnosť je však iba jednou z mnohých. Th-lymfocyty produkujú cytokíny, ktoré zodpovedajú

**Schéma 2. Antigénový receptor T-lymfocytov.** Antigénový receptor T-lymfocytov  $\alpha\beta$  (TCR $\alpha\beta$ ) je heterodimér, skladá sa z  $\alpha$ -reťazca a  $\beta$ -reťazca. Každý z nich má variabilnú (V) a konštantnú (C) doménu, transmembránový a cytoplazmový úsek. Aj vo V-doméne aj v C-doméne každého reťazca sa nachádza disulfidová väzba, čím sa vytvára slučka; navyše prepája aj oba reťazce. Oba reťazce majú len krátky cytoplazmový úsek, na ktorý sa nemôžu pripojiť tyrozínkinázy. Z tohto dôvodu sa TCR sa spája s CD3 antigénom. Tento sa skladá z 5 reťazcov:  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\zeta$  a  $\eta$ . Jednotlivé reťazce vytvárajú heterodiméry, príp. homodiméry:  $\epsilon\gamma$ ,  $\epsilon\delta$ ,  $\zeta\eta$  (alebo  $\zeta\zeta$ ). V svojej cytoplazmovej časti majú úsek ITAM (Immunoreceptor Tyrosine-Based Activation Motif), na ktoré sa pripájajú kinázy a po rozpoznaní antigénu receptorom T-lymfocytov (TCR) prenášajú aktivačný signál do jadra bunky.



za obranu proti intracelulárne parazitujúcim mikroorganizmom (listérie, brucely, yersínie a iné), za oneskorený (IV.) typ hypersenzitívnych reakcií, usmrčujú vhodné terčové bunky a pod. Sú principiálnymi bunkami imunitného systému. Pri ich poškodení či zničení (napr. vírusmi imunitnej nedostatočnosti – HIV) sa imunitný systém zrúti. Tieto skutočnosti naznačovali, že ani populácia Th-lymfocytov nebude jednotná, čo sa neskôr potvrdilo aj in vitro aj in vivo.

Th-lymfocyty, ktoré charakterizujú znaky CD2, CD3 a najmä CD4, sa na poklade rozdielnej produkcie cytokínov a rozdielnej funkcie spočiatku delili na 2 subpopulácie: Th1 a Th2 [26], ku ktorým o 2 desaťročia neskôr pribudli Th17 a neskôr aj ďalšie [27]. **Th1-lymfocyty** produkujú IFN $\gamma$ , IL2 a lymfotoxín, neprodukujú IL4, IL5 a IL6. Charakterizujú ich receptory pre chemokíny CCR5 a CXCR3, ktoré im umožňujú dostať sa do zápalového ložiska, v ktorom sa vyskytujú im prislúchajúce chemokíny MIP1 $\alpha$  (CCL3) a MIG (CCL9). **Th2-lymfocyty** syntetizujú IL4, IL5, IL10 a IL13, ale nie IFN $\gamma$ , IL2 alebo lymfotoxín. Th2-lymfocyty produkujú aj proteín PMCH (Pro-Melanin Concentrating Hormone), ktorý pôsobí na hypotalamus a zvyšuje chuť do jedla. Týmto sa vysvetľuje, aspoň čiastočne, spojenosť medzi obezitou a astmou. Charakteristické receptory pre chemokíny sú CCR4 a CCR8; im korešpondujúce chemokíny v zápalovom ložisku sú TARC (CCL17) a I309 (CCL1). Najcharakteristickejším povrchovým znakom tejto subpopulácie však je CRTH2 (CD294), ktorý je receptorom pre prostaglandín D2 [27]. Tretia subpopulácia, **Th17**, dostala svoj názov podľa principiálnych cytokínov, ktoré produkuje IL17A a IL17F; navyše produkuje ešte aj IL6, IL21, IL22, IL26, TNF a chemokín CCL20 (MIP3 $\alpha$ ). Pre účasť na zápalových procesoch sa táto subpopulácia označuje aj ako prozápalová. Jej prozápalový charakter podčiarkuje aj značná expresia receptorov pre cysteinové leukotriény vznikajúce v zápalovom ložisku a na podklade koncentračného gradientu potom priťahujú aj Th17-lymfocyty, ktoré zápalový proces rozvíjajú ďalej [28,29]. Najnovšie do palety subpopulácií pribudli ešte ďalšie, ktoré dostali svoje pomenovanie tiež podľa svojho najdôležitejšieho produkovaného cytokínu. Ide o subpopulácie Th9, Th22 a T<sub>FH</sub>. **Subpopulácia Th9** sa vyznačuje produkciou IL9 a IL10. Zabezpečuje obranyschopnosť proti extracelulárnym parazitom, primárne proti nematodám. Napriek syntéze imunosupresívneho IL10 podporuje alergický zápal [30,31]. **Lymfocyty Th22** sa vyznačujú predovšetkým syntézou IL22, ďalej IL13, FGF (Fibroblast Growth Factor) a chemokínov CCL15 a CCL17. Zúčastňujú sa hojenia rán a na povrchu v koži a GIT sa zúčastňujú na obrane proti baktériám, vírusom a plesniam; zabraňuje ich translokácii cez epitel, čím obmedzuje rozsah infekcie [32,33]. Napokon **subpopulácia T<sub>FH</sub>** sa vyznačuje syntézou IL21. Tieto bunky sú potrebné pre vznik zárodočných centier a poskytujú pomoc folikulovým B-lymfocytom pri zmene syntézy protilátok z jednej triedy na inú [34], tab. 2.

Druhou základnou subpopuláciou T-lymfocytov  $\alpha\beta$  sú **cytotoxické** (Tc alebo CTL). Naivné CTL charakteri-

zuje najmä prítomnosť CD2, CD3 a najmä CD8. Po aktivácii produkujú IFN $\gamma$ , IL3,  $\alpha$ -lymfotoxín a  $\beta$ -lymfotoxín. Hlavnou funkciou CTL je deštrukcia terčových buniek nesúcich príslušný cudzorodý antigén. Ide predovšetkým o bunky infikované vírusmi, nádorové a alogénne bunky. Rozpoznanie antigénu na terčovej bunke sa uskutočňuje iba pri súčasnom rozpoznaní molekúl HLA prvej triedy; ide o fenomén imunitnej reštrikcie. Lýza terčovej bunky aktivovanými cytotoxickými T-lymfocytmí sa môže uskutočniť na 3 rozdielnymi mechanizmami. Prvý predstavuje kontaktná cytotoxicita závislá od Ca<sup>2+</sup>, druhý a tretí mechanizmus je indukcia apoptózy interakciou medzi Fas-molekulami a FasL-molekulami, resp. sekreciou TNF. Cytotoxický mechanizmus usmrcovania terčových buniek sa pozoruje najmä pri ničení buniek infikovaných vírusmi, apoptózu CTL využívajú viac pri likvidácii malígnych buniek a pri imunoregulačných mechanizmoch [35].

Každý biologický systém zahŕňa v sebe nielen efektorové, ale aj kontrolné mechanizmy, ktoré spôsobom spätnej väzby udržiavajú homeostázu organizmu. Nie je to inak ani pri imunitnom systéme. Najdôležitejšími imunitnými mechanizmami, ktoré bránia rozvoju autoagresívnych procesov (autoimunitných a alergických), sú tie, ktoré sprostredkujú prirodzené **regulačné T-lymfocyty** (nT<sub>reg</sub>), ktoré potláčajú aktivitu T-lymfocytov (aj  $\alpha\beta$  aj  $\gamma\delta$ ), B-lymfocytov, NK-buniek, NKT-buniek a aj dendritových buniek. Lymfocyty nT<sub>reg</sub> sa vyvíjajú v dreni týmusu ako nezávislá, samostatná populácia buniek. Výrazne však tlmia indukciu imunitnej odpovede. Mechanizmy, akým to robia, sú viaceré; v podstate ich možno rozdeliť do 4 skupín:

- prostredníctvom inhibičných cytokínov
- indukciou apoptózy
- prostredníctvom indukcie zmien v metabolizme
- moduláciou dozrievania alebo funkcie DC [36,37]

Okrem prirodzených regulačných T-lymfocytov sa na regulácii imunitnej odpovede a zápalu zúčastňujú indukované regulačné T-lymfocyty (iT<sub>reg</sub>). Diferencujú z naivných T-lymfocytov CD4<sup>+</sup> počas imunitnej odpovede a vznikajú najmä v slizničných priestoroch, najmä v čreve. Lymfocyty iT<sub>reg</sub> svoju imunosupresívnu aktivitu presadzujú podobne ako bunky nT<sub>reg</sub> [38].

T-lymfocyty sa po svojej aktivácii nielen diferencujú na efektorové bunky, ale aj na **pamäťové** (T<sub>M</sub>), ktoré prežívajú v organizme mnoho rokov, niektoré aj celoživotne, a po opakovanom stretnutí sa s antigénom zabezpečujú promptnú a intenzívnejšiu imunitnú odpoveď. Aj pamäťové T-lymfocyty sú heterogénne. V súčasnosti dobre poznáme 3 subpopulácie: T<sub>CM</sub> (T central memory cells), T<sub>EM</sub> (T effector memory cells) a T<sub>RM</sub> (Tissue-resident memory T cells).

**T<sub>CM</sub>-lymfocyty** vznikajú na diferenciačnej dráhe k efektorovým T-lymfocytom po získaní signálov slabšej intenzity alebo krátkeho trvania (interakcia medzi DC a T-lymfocytmi je veľmi dynamická, môže trvať od niekoľko minút až po niekoľko hodín). Sídliť prevažne v kostnej dreni (85 %), menšia časť (15 %) v slezine a v lymfatických uzlinách.

Pamäťové B-lymfocyty sa nachádzajú najmä v slezine, kým dlhodobo žijúce plazmatické bunky sa nachádzajú v kostnej dreni v susedstve stromových buniek, ktoré pre ne poskytujú chemokín CXCL12 (SDF – stromal cell derived factor), čomu zodpovedajú aj „udomácnujúce“ molekuly v ich membránach, t. j. CCR7, CD62L. Sú to tie isté molekuly, ako majú naivné T-lymfocyty, ktoré ich potrebujú na extravazáciu do sekundárnych lymfoidných cez vysoké endotélium (High Endothelial Venules – HEV). Na rozdiel od naivných, T<sub>CM</sub>-lymfocyty majú nižší prah aktivácie, na antigén sú ďaleko citlivejšie a potrebujú aj menej kostimulačných signálov. Zvyšujú množstvo kostimulačných molekúl CD40L a objavujú

**Tab. 2. Charakteristická produkcia cytokínov jednotlivými subpopuláciami pomocných T-lymfocytov**

cytokín	Th1	Th2	Th9	Th17	Th22	T <sub>FH</sub>	T <sub>reg</sub>
IFN $\gamma$	++	-	-	+	-	-	-
IL2	++	-	-	-	-	-	-
IL4	-	++	-	-	-	-	-
IL5	-	++	-	-	-	-	-
IL6	-	-	-	+	-	-	-
IL13	-	++	-	-	+	-	-
IL9	-	-	++	-	-	-	-
IL10	+	++	++	+	-	-	++
IL17	-	-	-	++	-	-	-
IL21	-	-	-	-	-	++	-
IL22	+	-	-	++	++	-	-
IL26	-	-	-	+	-	-	-
TNF	++	+	-	+	+	-	-
lymfotoxín	++	-	-	-	-	-	-

sa aj „pamäťový“ antigén CD45RO. Pre svoju dlhodobú existenciu vyžadujú rozpoznávať molekuly HLA a IL7.  $T_{CM}$ -lymfocyty sú pokojné bunky, ale po reaktivácii antigénom začnú intenzívne proliferovať a diferencovať sa na  $T_{EM}$ -lymfocyty. Podobne ako naivné T-lymfocyty recirkulujú [39,40].

**$T_{EM}$ -lymfocyty** vznikajú pri interakcii naivných T-lymfocytov s bunkami prezentujúcimi antigén (Antigen Presenting Cells – APCs), ktoré im prezentujú antigén a poskytujú silné aktivačné signály alebo signály dlhšieho trvania. Neexprimujú „udomáčajúce“ receptory (sú CCR7 a CD62L, CD45RO<sup>+</sup>), ale naopak zabudovávajú do svojich membrán receptor pre sfingozín 1 fosfát (S1P1), čo im umožňuje vycestovanie do krvi v smere jeho koncentračného gradientu, pretože tento sa nachádza vo vysokej koncentrácii práve v krvi (a v sínusoch lymfatických uzlín). Súčasne začnú exprimovať zodpovedajúce adhezívne, kostimulačné antigény a receptory pre chemokíny, čo im predurčuje na lokalizáciu a vykonávanie svojej efektorovej funkcie v tkanivách. Po splnení svojej úlohy väčšina efektorových lymfocytov hynie apoptózou. Malá časť efektorových T-lymfocytov však tkanivovo-špecifické adhezívne molekuly stráca a namiesto nich sa v membránach objavuje aj CCR7 aj CD62L, čo im umožní návrat do kostnej drene, resp. lymfatických uzlín, v ktorých v homeostatickom prostredí stromových buniek prežívajú ako pamäťové  $T_{CM}$ -bunky [41].

Nedávno sa opísala ďalšia skupina pamäťových T-lymfocytov, ktoré, keďže sa nachádzajú v tkanivách a nerecirkulujú. Označili sa ako rezidentné –  $T_{RM}$  (Tissue Resident Memory T cells). Majú protektívne aj regulačné vlastnosti. Protektívne vlastnosti sa spájajú s ich schopnosťou, v porovnaní s  $T_{EM}$ -lymfocytmi, produkovať vyššie množstvá aktivačných a prozápalových cytokínov (IFN $\gamma$ , IL2, IL17, TNF a iné), čo im umožňuje plniť si svoje efektorové funkcie. Na druhej strane syntetizujú imunosupresívny IL10 a exprimujú v svojich membránach molekuly (PD1, CTLA4, LAG3, CD101) ktorých funkcia sa zakladá na schopnosti tlmiť imunitnú odpoveď. Exprimujú aj malé množstvo Ki67, znaku proliferácie buniek, čo naznačuje, že ide o pokojné bunky žijúce dlho. Táto vlastnosť, spolu s antiinflamačnými a regulačnými funkciami, zabezpečuje, aby sa zbytočne neaktivovali a nespôsobili tak poškodenie tkaniva. Na druhej strane si však ponechávajú, po invázii patogénov, schopnosť okamžitej aktívácie a efektorovej funkcie [22,42].

**T-lymfocyty  $\gamma\delta$**  predstavujú samostatnú, nezávislú skupinu T-lymfocytov; nejde o bunky, ktoré majú vzhľadom k T-lymfocytom  $\alpha\beta$  iba alternatívny receptor [43]. Zaujímavá je ich distribúcia, menšia časť je v periférnej krvi (u človeka ich počet sa pohybuje od 0,2–20,0 %), slezine a v lymfatických uzlinách, kým druhá, väčšia, časť sa nachádza v tkanivách, najmä medzi epitelovými bunkami epidermy a epitelovými bunkami gastrointestinálneho či reprodukčného traktu; označujeme ich preto aj ako **intraepidermové**, resp. **intraepitelové** (IEL). Antigénový repertoár receptora T-lymfocy-

tov  $\gamma\delta$  v lymfoidných tkanivách je väčší ako antigénový repertoár receptora IEL. IEL navyše nerecirkulujú, zostávajú usadené v tkanive a sú preň charakteristické; tvoria súčasť imunitného dohľadu a monitorujú externé prostredie epitelových buniek (pohraničné bunky). Pokiaľ ide o ich efektorové funkcie, T-lymfocyty  $\gamma\delta$  predovšetkým dokážu usmrcovať terčové (maligne transformované, vírusmi infikované) bunky. Produkujú baktericídne látky, ako je granulyzín a defenzíny, čím sa podieľajú na likvidácii baktérií. Svojou produkciou rôznych cytokínov ovplyvňujú priebeh imunitných reakcií. Syntetizujú prozápalové cytokíny TNF a IFN $\gamma$ , čím sa podieľajú na boji proti intracelulárne parazitujúcim baktériám a IL4, IL5 a IL13, ktoré treba na boj proti helmintom. Navyše sa podieľajú na hojení tkaniva a regenerácii epitelových buniek a to svojou syntézou rastových faktorov KGF1 (Keratinocyte Growth Factor 1) a KGF2 [44].

### Nekonvenčné lymfocyty

B-lymfocyty a T-lymfocyty patria k tzv. imunokompetentným bunkám, pretože exprimujú špecifické receptory, ktorými dokážu rozpoznať  $10^9$  až  $10^{12}$  rôznych antigénov. Existujú však lymfocyty, ktoré takúto vysokú rozlišovaciu schopnosť nemajú, ale plnia iné dôležité biologické funkcie a sú pre zachovanie obranyschopnosti organizmu rovnako dôležité ako B-lymfocyty a T-lymfocyty. Označujeme ich všeobecným názvom **nekonvenčné lymfocyty** a zaraďujeme k nim NK-bunky, NKT-bunky, MAIT-bunky a K-bunky.

**NK-bunky** (NK – Natural Killer) sa diferencujú v kostnej dreni. Sú to bunky s priemerom 10–12  $\mu$ m, s veľkým obličkovým jadrom a bohatou cytoplazmou, v ktorej sa nachádzajú azurofilné granuly. Vychádzajú z tejto morfolologickej charakteristiky, označujeme ich aj ako **veľké granulárne lymfocyty** – LGL (Large Granular Lymphocytes). V periférnej krvi je ich približne 5–10 % z celkového množstva lymfocytov. U človeka poznáme 2 základné subpopulácie, jedna je regulačná a druhá cytotoxická. Regulačné NK-bunky charakterizujú najmä znaky CD56<sup>+++</sup> a CD16<sup>-</sup>. Nachádzajú sa najmä v sekundárnych lymfoidných orgánoch, predovšetkým v lymfatických uzlinách a tonzilách. Produkujú početné cytokíny a chemokíny. Navyše, nielenže produkujú cytokíny, ale na početné aj odpovedajú. Schopnosť odpovedať na početné cytokíny a aj ich syntetizovať naznačuje, že lokálne mikroprostredie, v ktorom sa tieto NK-bunky nachádzajú, môže začne ovplyvňovať priebeh zápalových a imunitných procesov [45]. Druhá subpopulácia NK-buniek je cytotoxická; v porovnaní s regulačnými NK-bunkami majú menej CD56, ale za to omnoho viac CD16 molekúl. Nachádzajú sa prevažne v krvi, kde zastupujú až 90 % všetkých NK-buniek, čo naznačuje na ich pripravenosť vycestovať v prípade potreby do rôznych orgánov tkanív a tam likvidovať či už vírusom infikované alebo nádorové bunky, a to buď priamo alebo prostredníctvom reakcie ADCC (pozri ďalej). NK-bunky sa aktivujú prostredníctvom svojich špecifických inhibičných a aktivačných receptorov, ktoré im umožňujú rozlišovať medzi zdravými

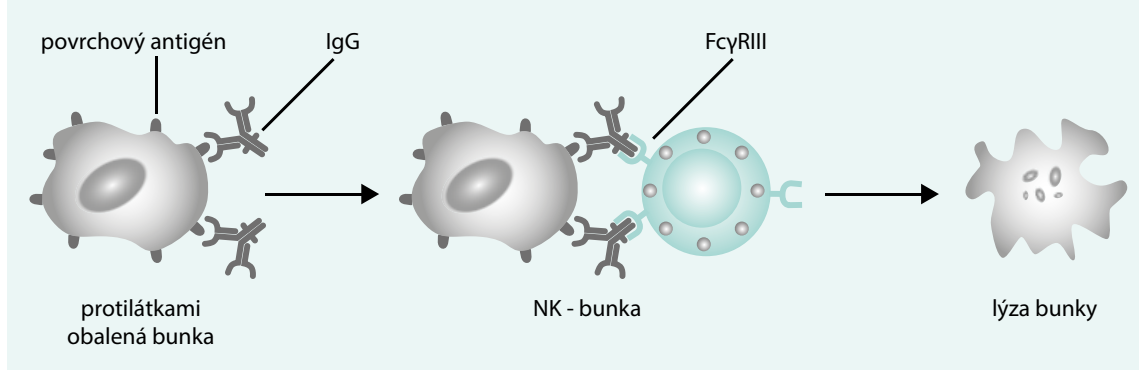
a vírusmi infikovanými alebo malígne transformovanými bunkami. Aktivácia NK-buniek cez tieto receptory typicky vedie k produkcii cytokínov a cytotoxickej aktivity sprostredkovej perforínmi, granzýmami a granulyzínom. Takýmto spôsobom NK-bunky môžu účinne bojovať najmä proti vírusom, odstraňovať pozmenené vlastné bunky a eliminovať malígne bunky [46,47]. 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 cytotoxickú aktivitu, produkujú viac cytokínov, čo poukazuje na to, že imunitná pamäť sa neobmedzuje iba na adaptívnu imunitnú odpoveď, ako sme si doteraz mysleli [48,49].

**NKT-bunky** (NKT – Natural Killer T cells) predstavujú nezávislú populáciu buniek; dozrievajú v týmuse, podobne ako T-lymfocyty  $\alpha\beta$  a  $\gamma\delta$  a časť NK-buniek. Sídli ako dlho žijúce efektorové bunky v lymfoidných tkanivách a v mikrovaskulature orgánov najmä v pľúcach a pečeni. Stojá niekde na polceste medzi NK-bunkami a T-lymfocytmi  $\alpha\beta$ , pretože vlastnia súčasne antigénový receptor T-lymfocytov aj aktivačné receptory NK-buniek (NKG2D). Repertoár svojho antigénového receptora T-lymfocytov majú však oproti T-lymfocytov značne obmedzený. Navyše TCR na NKT-bunkách nerozpoznáva peptidy prezentované molekulami HLA, ale glykolipidy, ktoré im prezentujú nepolymorfne CD1d molekuly [50,51]. Najtypickejšou vlastnosťou NKT-buniek je, že po stimulácii dokážu veľmi rýchlo produkovať veľké množstvo cytokínov (IL4, IL10, IL13, IL17, IL21), a to bez klonovej expanzie [52]. Táto skutočnosť naznačuje, že NKT-bunky sa podieľajú na modulácii imunitnej odpovede. Svojou produkciou IL10 obzvlášť ovplyvňujú funkciu dendritových buniek v zmysle ich neschopnosti indukovať imunitnú odpoveď, ale naopak ju potláčať. Majú aj výraznú lytickú aktivitu, podobne ako CTL a NK-bunky a môžu sa tak spolu s nimi zúčastňovať na obrane proti nádorom. Rozpoznávajú baktérie, ktoré vo svojej stene nemajú lipopolysacharid, čo na-

značuje na ich špecializovanú účasť v antimikrobiálnej imunitě. V krvi dospelého jedinca sa ich počet pohybuje na úrovni 0,1 % z T-lymfocytovej populácie. Je tu značná interindividuálna variabilita – od 0,01 % až po 1 %, pričom u žien je ich viac [50,53].

Nedávno sa opísala skupina buniek, ktoré mali, podobne ako bunky iNKT, tiež semiinvariabilný TCR $\alpha\beta$ , ale rozpoznávali iné antigény, a prezentačnými molekulami neboli molekuly CD1d, ale molekuly MR1. Ide bunky, ktoré sa, pretože ich najprv objavili v sliznici tenkého čreva, označili ako MAIT (Mucosal-Associated Invariant T cells). Podobne ako iNKT, aj bunky MAIT sa vyznačujú receptormi buniek NK (CD161, NKG2D a NKp30). Z iných znakov sa vyznačujú prítomnosťou CD26, CD45RO a majú CCR6 a CXCR6, čo sú receptory pre chemokíny, ktoré podporujú migráciu lymfocytov do periférnych tkanív (nemajú však CCR5, ktorý treba na migráciu do lymfatických uzlín). Diferencujú sa v týmuse, ktorý na rozdiel od naivných T-lymfocytov opúšťajú ako plne funkčné efektorové bunky [54]. Vyskytujú sa vo veľmi vysokom počte najmä v krvi, tenkom čreve, pečeni a v pľúcach, teda na miestach, v ktorých je väčšia pravdepodobnosť, že sa do nich mikroorganizmy dostanú. Podobne ako lymfocyty Th a bunky iNKT, aj bunky MAIT potrebujú pre svoju aktiváciu svoje prezentačné molekuly. Kým pre lymfocyty Th sú to molekuly HLA, pre molekuly NKT CD1d, tak pre bunky MAIT ide o molekuly MR1 [55,56]. Molekuly MR1 sú, podobne ako CD1d, invariabilné a tiež sa podobajú molekulám HLA prvej triedy. Nachádzajú sa na všetkých typoch buniek a sú evolučne konzervované [56]. Molekuly MR1 prezentujú bunkám MAIT metabolity, ktoré v baktériách vznikajú pri syntéze riboflavínu a kyseliny listovej [56]. Je zaujímavé, že sa molekuly MR1 nachádzajú intracelulárne a do membrány bunky sa dostávajú až po väzbe svojho ligandu [57]. MAIT bunky reagujú na veľmi široké spektrum grampozitívnych aj gramnegatívnych baktérií, ako aj mykobaktérií, ba dokonca reagujú aj na kandidy. Bunky MAIT produkujú totiž granzýmy a aj iné cytotoxické molekuly, takže infikované

**Schéma 3. Cytotoxicita sprostredkovaná bunkami závislá od protilátky (ADCC). Na terčovú bunku sa nadviaže špecifická protilátka, napr. IgG, ktorá v jej membráne rozpoznáva svoj špecifický antigén. Takto obalenú terčovú bunku rozpozná K-bunka, pretože vlastní Fc-receptory (v danom prípade Fc $\gamma$ RIII) pre protilátky. Aktivuje sa a do bezprostrednej blízkosti terčovej bunky uvoľní cytotoxické látky, ktoré ju zničia**





**Tab. 3. Prehľad rôznych typov lymfocytov a ich základná charakteristika**

typ buniek	fyziologická funkcia	charakteristické membránové znaky
<b>B-lymfocyty</b>		
<b>folikulové B-lymfocyty</b>	B-lymfocyty, ktoré na svoju aktiváciu potrebujú pomoc zo strany T <sub>FH</sub> -lymfocytov a v sekundárnych lymfoidných orgánoch sa usidlujú do oblastí v blízkosti T-lymfocytovej zóny, teda do folikulov. Tu sa po aktivácii antigénom a pomoci zo strany T <sub>FH</sub> -lymfocytov diferencujú na plazmablasty, ktoré proliferujú a diferencujú sa na plazmatické bunky, ktoré produkujú protilátky. Súčasne vznikajú pamäťové B-lymfocyty. V krvi sú zastúpené najviac v 15–20 %.	BCR pre rôzne početné antigény CD19, CD20 syntéza protilátok všetkých tried imunoglobulínov
<b>B-lymfocyty B1</b>	Produkujú nízkoafinitné protilátky triedy IgM, ktoré rozpoznávajú niektoré autoantigény, ako aj antigény bunkovej steny baktérií či obalové proteíny vírusov. Tieto autoprotiľátky nie sú patogénne a predpokladá sa, že odstraňujú starnúce bunky či proteíny a poskytujú prvú obrannú líniu v boji proti baktériám či vírusom.	CD20, CD27, CD43, CD5 BCR pre obmedzený počet antigénov syntéza protilátok triedy IgM
<b>B-lymfocyty marginálnej zóny</b>	Usadzujú sa v marginálnej zóne bielej pulpy sleziny, pri vnútornej stene subkapsulových sínusov lymfatických uzlín, v kryptách tonzíl a v subepitelovom priestore Peyerových plakov a v krvi. Reagujú najmä na polysacharidové antigény a produkujú protilátky IgM. Po získaní signálov z DC aj protilátky IgG a IgA.	polyreaktívne BCR, CD21, TLR
<b>regulačné B-lymfocyty</b>	Patria k bunkám, ktoré potláčajú imunitné procesy; nepredstavujú samostatnú populáciu buniek. Vznikajú v lymfoidnom tkanive, pod vplyvom IL1 $\beta$ a IL6. Svoju tlmivú aktivitu presadzujú syntézou TGF $\beta$ , IL10 a IL35.	
<b>pamäťové B-lymfocyty</b>	Rýchla odpoveď na opakované stretnutie sa s antigénom, tzv. sekundárna imunitná odpoveď.	CD27 <sup>+</sup> , ICAM-1 <sup>+</sup> , J11d <sup>+</sup>
<b>T-lymfocyty <math>\alpha\beta</math></b>		
<b>pomocné (Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, T<sub>FH</sub>)</b>	Pomocné T-lymfocyty dostali svoj názov podľa skutočnosti, že ich treba na aktiváciu, expanziu, diferenciaciu a izotypovú reguláciu B-lymfocytov. Uvedená vlastnosť je však iba jednou z mnohých. Th-lymfocyty produkujú cytokíny, ktoré aktivujú ďalšie bunky, ktoré následne plnia špecifické funkcie. Na základe rozdielnej syntézy cytokínov rozpoznávame 6 rôznych subpopulácií.	CD3, CD4
<b>cytotoxické</b>	Deštrukcia buniek infikovaných vírusmi, nádorových a alogénnych buniek. Terčové bunky zabíjajú perforínovo-granzýmovým mechanizmom, alebo indukciou apoptózy.	CD3, CD8
<b>regulačné T-lymfocyty</b>	T <sub>reg</sub> -lymfocyty potláčajú aktivitu T-lymfocytov, B-lymfocytov, NK-buniek, NKT-buniek a aj dendritových buniek. Prirodzené sú samostatnou populáciou buniek vznikajúcou v týmuse, indukované vznikajú počas imunitnej odpovede, v podstate tvoria subpopuláciu Th-lymfocytov. nT <sub>reg</sub> zabraňujú vzniku autoimunitných procesov, iT <sub>reg</sub> regulujú rozsah zápalu.	CD3, CD4, CD25 FOXP3, neuropilín
<b>pamäťové T-lymfocyty</b>	Pamäťové T-lymfocyty prežívajú v organizme mnoho rokov, niektoré aj celoživotne a po opakovanom stretnutí sa s antigénom zabezpečujú promptnú a intenzívnu imunitnú odpoveď. Sú heterogénne – poznáme tri subpopulácie. Každá z nich plní svoju špecifickú funkciu.	CD45RO <sup>+</sup> CCR7, CD62L S1P1 PD1, CTLA4
<b><math>\gamma\delta</math>-T-lymfocyty v krvi a lymfoidnom tkanive</b>	T-lymfocyty $\gamma\delta$ dokážu usmrcovať maligne transformované a vírusmi infikované bunky. Produkujú baktericídne látky, čím sa podieľajú na likvidácii baktérií. Svoju produkciou rôznych cytokínov ovplyvňujú priebeh imunitných reakcií. Syntetizujú prozápalové cytokíny TNF, IFN $\gamma$ , čím sa podieľajú na boji proti intracelulárne parazitujúcim baktériám a IL4, IL5 a IL13, ktoré treba na boj proti helmintom.	CD3
<b>nekonvenčné lymfocyty</b>		
<b>NK-bunky (LGL)</b>	Sú to bunky s priemerom 10–12 $\mu$ m, s obličkovým jadrom a bohatou cytoplazmou, v ktorej sa nachádzajú azurofilné granuly. Regulačné NK-bunky svojou schopnosťou odpovedať na početné cytokíny a aj ich syntetizovať naznačuje, že môžu značne ovplyvňovať priebeh zápalových a imunitných procesov. Druhá subpopulácia NK-buniek je cytotoxická.	CD16 <sup>+</sup> , CD56 <sup>+++</sup> CD16 <sup>+++</sup> , CD56 <sup>-</sup>

Tab. 3. Prehľad rôznych typov lymfocytov a ich základná charakteristika

typ buniek	fyziológická funkcia	charakteristické membránové znaky
NKT-bunky	Stoja niekde na polceste medzi NK-bunkami a T-lymfocytmi $\alpha\beta$ , pretože vlastnia súčasne TCR aj aktivačné receptory NK-buniek. Repertoár svojho TCR majú však oproti T-lymfocytom $\alpha\beta$ značne obmedzený. Navyše TCR na NKT-bunkách nerozpoznáva peptidy prezentované molekulami HLA, ale glykolipidy, ktoré im prezentujú molekuly CD1d. Najtypickejšou vlastnosťou NKT-buniek je, že po stimulácii dokážu veľmi rýchlo produkovať veľké množstvá cytokínov, a to bez klonovej expanzie, čo naznačuje, že sa podieľajú na modulácii imunitnej odpovede. Majú aj výraznú lytickú aktivitu, podobne ako CTL a NK-bunky a môžu sa tak spolu s nimi zúčastňovať na obrane proti nádorom.	CD3, NKG2D
MAIT-bunky	Skupina buniek, ktoré sa podobajú iNKT-bunkám, ale rozpoznávajú iné antigény a prezentačnými molekulami nie sú molekuly CD1d, ale molekuly MR1. Prezentujú metabolity, ktoré v baktériách vznikajú pri syntéze riboflavínu a kyseliny listovej. Produkujú aj granzýmy a iné cytotoxické molekuly, takže dokážu usmrtiť aj infikované terčové bunky. Reagujú na veľmi široké spektrum grampozitívnych aj gramnegatívnych baktérií, ako aj mykobaktérií, reagujú aj na kandidy.	CD161, NKG2D, NKp30, CD26, CD45RO, CCR6, CXCR6
<b>ILC-bunky</b>		
ILC1	ILC-bunky 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 B-lymfocytom a T-lymfocytom, ale nemajú ich antigénovo-špecifické receptory. Druhým význačným rozdielom je, že sa neaktivujú v periférnych lymfoidných orgánoch a následne nemigrujú do tkanív a orgánov, ale naopak sú tam už primárne lokalizované a na stimul odpovedajú okamžite, nie až po klonovej expanzii. Neaktivujú ich bunky prezentujúce antigén, ale rôznorodé stimuly, ako sú cytokíny, alarmíny. ILC-bunky možno rozdeliť podľa ich rozdielnej syntézy cytokínov a funkcie na tri skupiny: ILC1, ILC2 a ILC3. Tieto sa podobajú polarizovaným subpopuláciám pomocných T-lymfocytov. Tak ILC1-bunky sa funkčne podobajú lymfocytom Th1, bunky ILC2 lymfocytom Th2 a napokon ILC3-bunky -lymfocytom Th17.	NKp44
ILC2		
ILC3		
LTi		
NCR <sup>+</sup>		
NCR		

BCR – antigénový receptor B-lymfocytov CTL – cytotoxický T-lymfocyt DC – dendritová bunka ILC – prirodzené lymfoidné bunky NCR – natural cytotoxicity receptor LGL – large granular lymphocytes LTi – lymphoid tissue inducer TCR – antigénový receptor T-lymfocytov Th – pomocný T-lymfocyt

terčové bunky dokážu usmrtiť [58,59]. Predpokladá sa, že sa fyziologických okolností kontrolujú normálnu baktériovú flóru čreva (najmä v oblasti krýpt, v ktorých majú Panethove bunky MR1 a môžu aktivovať bunky MAIT). V prípade infekcie, v zápalovom prostredí (pod vplyvom IL18, IL12 alebo IL23, pre ktoré majú receptory) začnú produkovať IFN $\gamma$ , čím bránia intracelulárnej replikácii baktérií. Svojou syntézou TNF a IL17 zase aktivujú neutrofile, čím zapájajú do obranných mechanizmov aj prirodzenú imunitu [57].

Na imunitných reakciách sa zúčastňujú aj **K-bunky** (killer cells). Morfológicky nepredstavujú samostatnú populáciu a tento pojem znamená skôr funkčné označenie buniek, ktoré sa zúčastňujú na ADCC reakcii (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity – bunkami sprostredkovaná cytotoxicita závislá od protilátky). Patria sem bunky, ktoré vlastnia receptor pre protilátku, t. j. neutrofile, eozinofily, makrofágy a predovšetkým NK-bunky [47]. Po nadviazaní sa na protilátku, ktorá už predtým reagovala s antigénmi na terčovej bunke, sa K-bunky aktivujú a uvoľňujú cytotoxické molekuly, ktoré terčovú bunku usmrcujú (schéma 3).

### ILC-bunky a ich subpopulácie

V ostatnej dobe dostávajú do pozornosti **ILC-bunky** (Innate Lymphoid Cells). Patria k nedávno identifikovaným populáciám buniek imunitného systému, ktoré prispievajú k obranyschopnosti organizmu. Vznikajú zo spo-

ločného 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 B-lymfocytom a T-lymfocytom, ale nemajú ich antigénovo-špecifické receptory. Druhým význačným rozdielom je, že sa neaktivujú v periférnych lymfoidných orgánoch a následne nemigrujú do tkanív a orgánov, ale naopak sú tam už primárne lokalizované a na stimul odpovedajú okamžite, nie až po klonovej expanzii. Neaktivujú ich bunky prezentujúce antigén, ale rôznorodé stimuly, ako sú cytokíny, alarmíny (alarmíny sú ekvivalentmi molekulových vzorov PAMP – Pathogens Associated Molecular Patterns, ale sú endogénneho pôvodu, napr. kyselina močová, HMGB1, HSP a ďalšie), lipidy a hormóny uvoľnené strómovými, epitelovými bunkami a bunkami myeloidnej rady. Takto sú ILC-bunky fyzicky a funkčne pripravené byť bezprostredným zdrojom efektorových cytokínov v periférnych tkanivách, čo ich zaraďuje k iným rýchlo odpovedajúcim bunkám tu sídliačim, ako sú NKT-bunky, T-lymfocyty  $\gamma\delta$  a rezidentné pamäťové T-lymfocyty. Minimálne požiadavky na ich aktiváciu im umožňuje byť prvými respondermi vo včasných fázach primárnej imunitnej odpovede, ako aj zdrojom cytokínov v odpovedi na jemné perturbácie homeostatických procesov [60,61].

ILC-bunky predstavujú konzervovanú, evolučne staršiu populáciu buniek, ktorá predchádza vývoju adap-

tívnej imunitnej odpovede. Svojim charakterom by sme ich 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. Je zaujímavé, že selektívna imunodeficiencia ILC-buniek sa zatiaľ nepozorovala.

Pomocné T-lymfocyty sa delia na 3 základné subpopulácie, Th1, Th2 a Th17. Každá z uvedených subpopulácií sa vyznačuje vlastnou špecifickou syntézou cytokínov (tab. 2). Je pozoruhodné, že podobnú charakteristiku majú a ILC-bunky, ktoré možno rozdeliť podľa ich rozdielnej syntézy cytokínov a funkcie na 3 skupiny: ILC1, ILC2 a ILC3 [60,62]. Tieto sa podobajú polarizovaným subpopuláciám pomocných T-lymfocytov. Tak ILC1-bunky sa funkčne podobajú Th1-lymfocytom, ILC2-bunky Th2-lymfocytom a napokon ILC3-bunky Th17-lymfocytom. Vzniká otázka, prečo takáto redundancia funkcie existuje. Na jednej strane môže mať organizmus prospech vo zvýšenej imu-

nitnej odpovedi a rýchlejšej eliminácii narušiteľa svojej integrity, na druhej strane niekedy stačí, aby odpovedali ILC-bunky samotné, bez pomoci Th-lymfocytov. Takto sa zabráni nadmernej aktivácii T-lymfocytov a následnému vývoju autoimunitných procesov [47].

**Populácia ILC1** zahŕňa NK-bunky a im podobné ILC1-bunky. NK-bunky patria k prvým bunkám, pre ktoré sa hodí charakteristika ILC-buniek; boli objavené už pred 40 rokmi. Ich charakteristika je opísaná vyššie. ILC1-bunky sa podobajú NK-bunkám, ktoré sa po objavení ILC-buniek, preradili práve do tejto skupiny. ILC1-bunky na rozdiel od NK-buniek nie sú, až na určitú subpopuláciu, cytotoxické 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. Podobne, ILC1-bunky exprimujú CD127 (a receptor receptora pre IL7), kým NK-bunky nie [63,64]. ILC1-bunky nie sú jednotnou populáciou. Identifikovalo sa viacero podskupín, ktoré sa

**Tab. 4. Príklady účasti jednotlivých typov lymfocytov na imunopatologických procesoch**

imunopatologický stav	princiálne lymfocyty účastné v imunopatogenéze
atopia	Th2, Th9, ILC2, fB-lymfocyty
<b>autoimunitné choroby</b>	
Crohnova choroba	Th1, Th17, ILC1, NCR+, ILC3, MAIT
diabetes mellitus 1. typu	Th1, CTL
Gravesova choroba	anti-TSHR protilátky (fB-lymfocyty)
Hashimotova tyreoiditída	Th1, CTL
neuromyelitis optica	anti AQP4/anti-MOG-protilátky (fB-lymfocyty)
pemphigus vulgaris	protilátky proti desmogleínu 3 (fB-lymfocyty)
psoriasis vulgaris	Th17, Th22
reumatoidná artritída	Th1, Th17, autoprotilátky (fB-lymfocyty)
sclerosis multiplex	Th1, Th17, CTL
systémový lupus erythematosus	Th1, anti-DNA protilátky (fB-lymfocyty), nTreg, Breg
systémová skleróza	Th2, rôzne typy autoprotilátok (fB-lymfocyty)
Sjögrenov syndróm	Th1, CTL, anti-Ro, -La, -Sm protilátky (fB-lymfocyty)
ulcerózna kolitída	Th2, ILC2, Th9
<b>imunodeficientné stavy</b>	určenie skupiny buniek, ktoré chýbajú či sú znížené
SCID	T-lymfocyty
agamaglobulinémia viazaná na pohlavie	B-lymfocyty
selektívna deficiencia IgA	porucha na úrovni folikulových B-lymfocytov
DiGeorgeov syndróm	T-lymfocyty
IPEX-syndróm	nT <sub>reg</sub> -lymfocyty
XLP	NKT-bunky
AIDS	Th-lymfocyty, NKT-bunky
<b>lymfoproliferačné procesy</b>	imunofenotypizácia na určenie typov a subtypov buniek imunitného/hematopoetického systému, ktoré maligne proliferujú
<b>nádory</b>	CTL, K-bunky, NK-bunky, NKT-bunky, T-lymfocyty $\gamma\delta$
<b>reakcie (HvG, GvH)</b>	CTL, NK-bunky, cytotoxické protilátky (fB-lymfocyty)

**AQP4** – akvaporín 4 **B<sub>reg</sub>** – regulačný lymfocyt **CTL** – cytotoxický T-lymfocyt **fB** – folikulový B-lymfocyt **GvH** – graft versus host **HvG** – host-versus-graft **ILC** – prirodzené lymfoidné bunky **MOG** – myelinový oligodendrocytový glykoproteín **NK** – natural killer **NKT** – natural killer T cells **Th** – pomocný T-lymfocyt **nT<sub>reg</sub>** – prirodzený regulačný lymfocyt **SCID** – ťažká kombinovaná imunodeficiencia

nachádzajú v sliznici čreva, pečeni, slinných žľazách a ženským reprodukčným trakte. ILC-1 bunky môžu vzniknúť aj transdiferenciáciou ILC2-buniek a ILC3-buniek [65]. Fyziologická úloha ILC1-buniek je v boji proti niektorým mikroorganizmom 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 odlíšiť úlohu ILC1-buniek od NK-buniek, v tejto oblasti sa čaká väčší pokrok v budúcnosti [66].

**Populáciu ILC2** prirodzených lymfoidných buniek reprezentujú iba bunky ILC2. Vyznačujú sa tým, že ich aktívuje IL33, IL25 alebo TSLP, ktoré na začiatku imunitnej odpovede produkujú makrofágy, mastocyty, NKT-bunky alebo vznikajú ako alarmíny pri poškodení epitelových buniek. Po aktivácii začnú produkovať typické Th2-cytokíny, t. j. IL5 a IL13, navyše však aj IL6, IL9 a amfregulín. ILC2-bunky exprimujú aj molekuly HLA triedy 2, čo im umožňuje zapojiť do imunitných procesov aj mechanizmy adaptívnej imunity. Za fyziologických okolností ich potrebujeme predovšetkým na boj proti helmintom. Významné sú najmä v patologických procesoch pri rozvoji asthma bronchiale, chronickej sinusitíde, nešpecifických zápalových chorobách čreva a iných [64,67].

Bunky ILC2 participujú svojou produkciou amfregulínu na oprave epitelu pri infestácii parazitmi a pri infekcii organizmu vírusmi chrípky [68,69]. Táto vlastnosť buniek ILC2 potvrdzuje hypotézu, že imunitná odpoveď druhého typu sa vyvinula na to, aby zabezpečovala opravu poškodených tkanív, ako aj hypotézu že, imunitná odpoveď 2. typu sa vyvinula ako ochrana pred škodlivými xenobiotikami. Vnucuje sa tak predstava, že bunky ILC2 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 [29]. Vychádzajúc z uvedeného môžeme si predstaviť, že bunky ILC2 nás môžu chrániť pred vývojom pravej alergickej odpovede sprostredkovanvej adaptívnym imunitným systémom tým, že zabezpečujú prvú obrannú líniu obrany proti alergénom; ak je úspešná, zabráni vzniku „pravej alergie“ [70].

**Populácia ILC3** sa na základe expresie chemokínového receptora CCR6 delí na 2 subpopulácie, CCR6<sup>+</sup> a CCR6<sup>-</sup>. K prvej patria LTi-bunky (LTi – Lymphoid Tissue Inducer), ktoré podobne ako NK-bunky boli objavené ešte pred inými ILC-bunkami. Tieto v svojich membránach exprimujú lymfotoxínový heterotrimer (LTa1β2). Po väzbe na svoj receptor LTβ na stromových bunkách podmieni v nich syntézu chemokínov, ktoré pritiahnú lymfocyty, aby vytvárali sekundárne lymfoidné orgány, konkrétne lymfatické uzliny, Peyerove plaky a izolované lymfoidné folikuly, ale nie slezinu či NALT (Nasal Associated Lymphoid Tissue) [71,72].

Druhá subpopulácia delí na 2 skupiny. Ak exprimuje receptory NKp44, ktoré patria k receptorom NCR (Natural Cytotoxicity Receptors), označujú sa NCR<sup>+</sup> alebo podľa svojho principiálneho cytokínu, ktorý produkujú,

IL22, ako bunky ILC22. Ak NKp44 v svojich membránach nemajú, označujú sa ako NCR<sup>-</sup>, resp. ILC17, pretože sa vyznačujú značnou syntézou IL17. IL22 podporuje syntézu antibakteriálnych látok a podporuje proliferáciu epitelových buniek. IL17 aktiváciou neutrofilov sa podieľa na antibakteriálnej imunite v koži a na slizniciach [73–75]. Bližšie informácie o fyziologickej a patologickej aktivite ILC-buniek sa uvádzajú v časopise Alergie [76]. Celkový prehľad o jednotlivých skupinách lymfocytov sa uvádza v tab. 3.

## Záver

Každá minca má dve strany. Nie je to inak ani pri lymfocytoch. Vznikli a existujú predovšetkým pre obranu organizmu pre vonkajším a vnútornými narušiteľmi integrity organizmu a snažia sa čo najskôr nastoliť homeostatickú rovnováhu. V niektorých prípadoch, a to je tá druhá strana mince, sa lymfocyty podieľajú na iniciácii a rozvoji rôznych imunopatologických stavov. Tejto problematike sa venuje samostatný článok v tomto čísle časopisu, tu uvádzame iba stručný a neúplný prehľad, ktoré lymfocyty sa na daných procesoch zúčastňujú a treba ich v diagnostickej činnosti lekára brať do úvahy (tab. 4).

## Literatúra

1. LeBien TW, Tedder TF. B lymphocytes: how they develop and function. *Blood* 2008; 112(5): 1570–1580. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2008-02-078071>>.
2. Harwood NE, Batista FD. Early events in B cell activation. *Annu Rev Immunol* 2010; 28: 185–210. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1146/annurev-immunol-030409-101216>>.
3. Nutt SL, Hodgkin PD, Tarlinton DM et al. The generation of antibody-secreting plasma cells. *Nat Rev Immunol* 2015; 15(3): 160–171. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nri3795>>.
4. Eckschlagler T. The CD nomenclature of leukocyte antigens. [Comment on Koubek K. The CD nomenclature of leukocyte antigens. *Vnitř Lék* 2003; 49(1): 66–72]. *Vnitř Lék* 2003; 49(1): 20.
5. Kurosaki T, Shinohara H, Baba Y. B cell signaling and fate decision. *Annu Rev Immunol* 2010; 28: 21–55. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132541>>.
6. Treanor B. B-cell receptor: from resting state to activate. *Immunology* 2012; 136(1): 21–27. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2567.2012.03564.x>>.
7. Cerutti A, Cols M, Puga I. Marginal zone B cells: virtues of innate-like antibody-producing lymphocytes. *Nat Rev Immunol* 2013; 13(2): 118–132. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nri3383>>.
8. Klein U, Dalla-Favera R. Germinal centres: role in B-cell physiology and malignancy. *Nat Rev Immunol* 2008; 8(1): 22–33. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nri2217>>.
9. Popi AF, Lopes JD, Mariano M. Interleukin-10 secreted by B-1 cells modulates the phagocytic activity of murine macrophages in vitro. *Immunology* 2004; 113(3): 348–354. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2567.2004.01969.x>>.
10. Hardy RR, Hayakawa K. B cell development pathways. *Annu Rev Immunol* 2001; 19: 595–621. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.immunol.19.1.595>>.
11. Griffin DO, Holodick NE, Rothstein TL. Human B1 cells in umbilical cord and adult peripheral blood express the novel phenotype CD20<sup>+</sup> CD27<sup>+</sup> CD43<sup>+</sup> CD70<sup>+</sup>. *J Exp Med* 2011; 208(1): 67–80. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20101499>>. Erratum in *J Exp Med* 2011; 208(2): 409. *J Exp Med* 2011; 208(4): 871. *J Exp Med* 2011; 208(1): 67.
12. Jones DD, Racine R, Wittmer ST et al. The omentum is a site of protective IgM production during intracellular bacterial infection.

- Infect Immun 2015; 83(5): 2139–2147. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1128/IAI.00295-15>>.
13. Montecino-Rodriguez E, Dorshkind K. B-1 B cell development in the fetus and adult. *Immunity* 2012; 36(1): 13–21. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2011.11.017>>.
  14. Kasaian MT, Casali P. Autoimmunity-prone B-1 (CD5 B) cells, natural antibodies and self recognition. *Autoimmunity* 1993; 15(4): 315–329.
  15. Tierens A, Delabie J, Michiels L et al. Marginal-zone B cells in the human lymph node and spleen show somatic hypermutations and display clonal expansion. *Blood* 1999; 93(1): 226–234.
  16. Dono M, Zupo S, Leanza N et al. Heterogeneity of tonsillar subepithelial B lymphocytes, the splenic marginal zone equivalents. *J Immunol* 2000; 164(11): 5596–5604.
  17. Weller S, Braun MC, Tan BK et al. Human blood IgM „memory“ B cells are circulating splenic marginal zone B cells harboring a prediversified immunoglobulin repertoire. *Blood* 2004; 104(12): 3647–3654. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2004-01-0346>>.
  18. Kurosaki T, Kometani K, Ise W. Memory B cells. *Nat Rev Immunol* 2015; 15(3): 149–159. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nri3802>>.
  19. Seifert M, Kuppers R. Human memory B cells. *Leukemia* 2016; 30(12): 2283–2292. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/leu.2016.226>>.
  20. Nathan C, Ding A. Nonresolving inflammation. *Cell* 2010; 140(6): 871–882. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2010.02.029>>.
  21. Rosser EC, Mauri C. Regulatory B cells: origin, phenotype, and function. *Immunity* 2015; 42(4): 607–612. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2015.04.005>>.
  22. Kumar BV, Connors TJ, Farber DL. Human T Cell Development, Localization, and Function throughout Life. *Immunity* 2018; 48(2): 202–213. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2018.01.007>>.
  23. Gao YL, Chai YF, Qi AL et al. Neupilin-1highCD4(+)/CD25(+) Regulatory T Cells Exhibit Primary Negative Immunoregulation in Sepsis. *Mediators Inflamm* 2016; 2016: 7132158. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1155/2016/7132158>>.
  24. van den Braber I, Mugwagwa T, Vrsekoop N et al. Maintenance of peripheral naive T cells is sustained by thymus output in mice but not humans. *Immunity* 2012; 36(2): 288–297. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2012.02.006>>.
  25. van den Broek T, Borghans JAM, van Wijk F. The full spectrum of human naive T cells. *Nat Rev Immunol* 2018; 18(6): 363–373. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41577-018-0001-y>>.
  26. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW et al. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986; 136(7): 2348–2357.
  27. Zhu J, Paul WE. Heterogeneity and plasticity of T helper cells. *Cell Res* 2010; 20(1): 4–12. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/cr.2009.138>>.
  28. Kallies A, Good-Jacobson KL. Transcription Factor T-bet Orchestrates Lineage Development and Function in the Immune System. *Trends Immunol* 2017; 38(4): 287–297. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.it.2017.02.003>>.
  29. Eberl G. Immunity by equilibrium. *Nat Rev Immunol* 2016; 16(8): 524–532. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nri.2016.75>>.
  30. Schmitt E, Klein M, Bopp T. Th9 cells, new players in adaptive immunity. *Trends Immunol* 2014; 35(2): 61–68. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.it.2013.10.004>>.
  31. Kaplan MH, Hufford MM, Olson MR. The development and in vivo function of T helper 9 cells. *Nat Rev Immunol* 2015; 15(5): 295–307. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nri3824>>.
  32. Colonna M. Skin function for human CD1a-reactive T cells. *Nat Immunol* 2010; 11: 1079–1080.
  33. Sonnenberg GF, Fouser LA, Artis D. Border patrol: regulation of immunity, inflammation and tissue homeostasis at barrier surfaces by IL-22. *Nat Immunol* 2011; 12(5): 383–390. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/ni.2025>>.
  34. Vinuesa CG, Tangye SG, Moser B et al. Follicular B helper T cells in antibody responses and autoimmunity. *Nat Rev Immunol* 2005; 5(11): 853–865. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nri1714>>.
  35. Barry M, Bleackley RC. Cytotoxic T lymphocytes: all roads lead to death. *Nat Rev Immunol* 2002; 2(6): 401–409. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nri819>>.
  36. Josefowicz SZ, Lu LF, Rudensky AY. Regulatory T cells: mechanisms of differentiation and function. *Annu Rev Immunol* 2012; 30: 531–564. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.immunol.25.022106.141623>>.
  37. Buc M. Role of regulatory T cells in pathogenesis and biological therapy of multiple sclerosis. *Mediators Inflamm* 2013; 2013: 963748. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1155/2013/963748>>.
  38. Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T et al. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell* 2008; 133(5): 775–787. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2008.05.009>>.
  39. Pepper M, Jenkins MK. Origins of CD4(+) effector and central memory T cells. *Nat Immunol* 2011; 12(6): 467–471.
  40. Finlay D, Cantrell DA. Metabolism, migration and memory in cytotoxic T cells. *Nat Rev Immunol* 2011; 11(2): 109–117. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nri2888>>.
  41. Sallusto F, Lenig D, Forster R et al. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature* 1999; 401(6754): 708–712.
  42. Mueller SN, Mackay LK. Tissue-resident memory T cells: local specialists in immune defence. *Nat Rev Immunol* 2016; 16(2): 79–89. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nri.2015.3>>.
  43. Ciofani M, Zuniga-Pflucker JC. Determining gammadelta versus alphabeta T cell development. *Nat Rev Immunol* 2010; 10(9): 657–663. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nri2820>>.
  44. Nielsen MM, Witherden DA, Havran WL.  $\gamma\delta$  T cells in homeostasis and host defence of epithelial barrier tissues. *Nat Rev Immunol* 2017; 17(12): 733–745. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nri.2017.101>>.
  45. Caligiuri MA. Human natural killer cells. *Blood* 2008; 112(3): 461–469. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2007-09-077438>>.
  46. Vivier E, Tomasello E, Baratin M et al. Functions of natural killer cells. *Nat Immunol* 2008; 9(5): 503–510. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/ni1582>>.
  47. Poli A, Michel T, Patil N et al. Revisiting the Functional Impact of NK Cells. *Trends Immunol* 2018; 39(6): 460–472. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.it.2018.01.011>>.
  48. O'Sullivan TE, Sun JC, Lanier LL. Natural Killer Cell Memory. *Immunity* 2015; 43(4): 634–645. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2015.09.013>>.
  49. Cerwenka A, Lanier LL. Natural killer cell memory in infection, inflammation and cancer. *Nat Rev Immunol* 2016; 16(2): 112–123. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nri.2015.9>>.
  50. Brennan PJ, Brigl M, Brenner MB. Invariant natural killer T cells: an innate activation scheme linked to diverse effector functions. *Nat Rev Immunol* 2013; 13(2): 101–117. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nri3369>>.
  51. Birkholz AM, Kronenberg M. Antigen specificity of invariant natural killer T-cells. *Biomed J* 2015; 38(6): 470–483. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bj.2016.01.003>>.
  52. Rossjohn J, Pellicci DG, Patel O et al. Recognition of CD1d-restricted antigens by natural killer T cells. *Nat Rev Immunol* 2012; 12(12): 845–857. <<http://dx.doi.org/10.1038/nri3328>>.
  53. Bendelac A, Savage PB, Teyton L. The biology of NKT cells. *Annu Rev Immunol* 2007; 25: 297–336. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.immunol.25.022106.141711>>.
  54. Gold MC, Eid T, Smyk-Pearson S et al. Human thymic MR1-restricted MAIT cells are innate pathogen-reactive effectors that adapt following thymic egress. *Mucosal Immunol* 2013; 6(1): 35–44. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/mi.2012.45>>.
  55. Treiner E, Duban L, Bahram S et al. Selection of evolutionarily conserved mucosal-associated invariant T cells by MR1. *Nature* 2003;

- 422(6928): 164–169. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nature01433>>. Erratum in Nature 2003; 423(6943): 1018.
56. Kjer-Nielsen L, Patel O, Corbett AJ et al. MR1 presents microbial vitamin B metabolites to MAIT cells. Nature 2012; 491(7426): 717–723. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nature11605>>.
57. Huang S, Gilfillan S, Cella M et al. Evidence for MR1 antigen presentation to mucosal-associated invariant T cells. J Biol Chem 2005; 280(22): 21183–21193. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M501087200>>.
58. Hinks TS. Mucosal-associated invariant T cells in autoimmunity, immune-mediated diseases and airways disease. Immunology 2016; 148(1): 1–12. <<http://dx.doi.org/10.1111/imm.12582>>.
59. Napier RJ, Adams EJ, Gold MC et al. The Role of Mucosal Associated Invariant T Cells in Antimicrobial Immunity. Front Immunol 2015; 6: 344. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2015.00344>>.
60. Vely F, Barlogis V, Vallentin B et al. Evidence of innate lymphoid cell redundancy in humans. Nat Immunol 2016; 17(11): 1291–1299. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/ni.3553>>. Erratum in Corrigendum: Evidence of innate lymphoid cell redundancy in humans. [Nat Immunol. 2016].
61. Bando JK, Colonna M. Innate lymphoid cell function in the context of adaptive immunity. Nat Immunol 2016; 17(7): 783–789. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/ni.3484>>.
62. Spits H, Artis D, Colonna M et al. Innate lymphoid cells – a proposal for uniform nomenclature. Nat Rev Immunol 2013; 13(2): 145–149. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nri3365>>.
63. Daussy C, Faure F, Mayol K 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): 563–577. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20131560>>.
64. Ebbo M, Crinier A, Vely F et al. Innate lymphoid cells: major players in inflammatory diseases. Nat Rev Immunol 2017; 17(11): 665–678. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nri.2017.86>>.
65. Spits H, Bernink JH, Lanier L. NK cells and type 1 innate lymphoid cells: partners in host defense. Nat Immunol 2016; 17(7): 758–764. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/ni.3482>>.
66. Fuchs A. ILC1s in Tissue Inflammation and Infection. Front Immunol 2016; 7: 104. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2016.00104>>.
67. Buc M. Crohns disease and ulcerative colitis – current view on genetic determination, immunopathogenesis and biologic therapy. Epidemiol Mikrobiol Immunol 2017; 66(4): 189–197.
68. Monticelli LA, Sonnenberg GF, Abt MC et al. Innate lymphoid cells promote lung-tissue homeostasis after infection with influenza virus. Nat Immunol 2011; 12(11): 1045–1054. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/ni.2131>>.
69. Klose CS, Artis D. Innate lymphoid cells as regulators of immunity, inflammation and tissue homeostasis. Nat Immunol 2016; 17(7): 765–774. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/ni.3489>>.
70. Licona-Limon P, Kim LK, Palm NW et al. TH2, allergy and group 2 innate lymphoid cells. Nat Immunol 2013; 14(6): 536–542. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/ni.2617>>. Erratum in Nat Immunol 2014; 15(1): 109.
71. Mebius RE. Organogenesis of lymphoid tissues. Nat Rev Immunol 2003; 3(4): 292–303. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nri1054>>.
72. van de Pavert SA, Mebius RE. New insights into the development of lymphoid tissues. Nat Rev Immunol 2010; 10(9): 664–674. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nri2832>>.
73. Yazdani R, Sharifi M, Shirvan AS et al. Characteristics of innate lymphoid cells (ILCs) and their role in immunological disorders (an update). Cell Immunol 2015; 298(1–2): 66–76. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cellimm.2015.09.006>>.
74. Dudakov JA, Hanash AM, van den Brink MR. Interleukin-22: immunobiology and pathology. Annu Rev Immunol 2015; 33: 747–785. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1146/annurev-immunol-032414-112123>>.
75. Korn T, Bettelli E, Oukka M et al. IL-17 and Th17 Cells. Annu Rev Immunol 2009; 27: 485–517. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132710>>.
76. Buc M. Charakteristika a funkcia ILC-buniek za fyziologických a patologických podmienok. Alergie 2017; 19(1): 24–30.

**prof. MUDr. Milan Buc, DrSc.**

✉ [milan.buc@fmed.uniba.sk](mailto:milan.buc@fmed.uniba.sk)

Imunologický ústav LF UK v Bratislave, Slovenská republika

**[www.fmed.uniba.sk](http://www.fmed.uniba.sk)**

*Doručeno do redakce 8. 6. 2018*

*Přijato po recenzii 26. 11. 2018*