

Nyirokszöveti stromasejtek

Balogh Péter

Immunológiai és Biotechnológiai Intézet

Pécsi Tudományegyetem

balogh.peter@pte.hu



Áttekintés

Nyirokszöveti stroma – definíció, típusok

A thymus stroma-elemei és szerepük – T-sejt determináció, reciprok limfocita-függés

Perifériás nyirokszövetek – a stromális összetétel szövet-specifikus eltérései

Harmadlagos/ektopiás nyirokszövetek kialakulása – a stromális transzformáció mint kórtani összetevő

Immunológiai öregedés és stroma

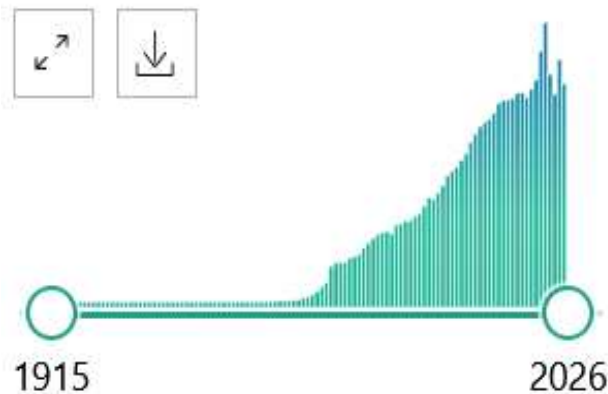
“non-hematopoietic immune cells distinct from sessile hematopoietic cells (tissue macrophages, resident lymphocytes)” (Owens & Simmons MI 2013)



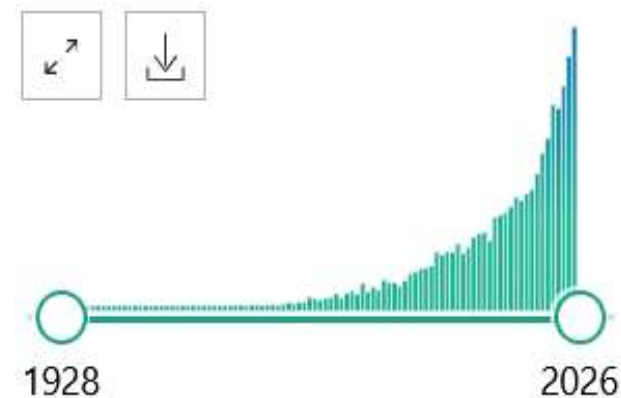
Stroma – típusok, összetétel

Szerv/szövet	Eredet	Funkció
Thymus	Endodermális hám eredetű kéreg/velőállományi alapállomány, dúcléc eredetű kötőszövet, mezodermális mikroérrendszer	T-sejtérés, szelekció
Csontvelő	Mezodermális/MSC eredetű alapállomány (oszteogén, adipogén)	Vérsejtfejlődés, HSC homeosztázis
Lép, nyirokcsomó	Mezodermális eredetű alapállomány, kompartment-specifikus differenciálódás (T/B zóna), specializált mikroérrendszer (HEV:PNAd)	Nyirokszövetfejlődés, limfocitátúlélés, adaptív immunválaszok
MALT	Endodermális hám (bél), mezodermális eredetű alapállomány, kompartment-specifikus differenciálódás (T/B zóna), specializált mikroérrendszer (HEV:MAdCAM-1)	Nyirokszövetfejlődés, adaptív immunválaszok

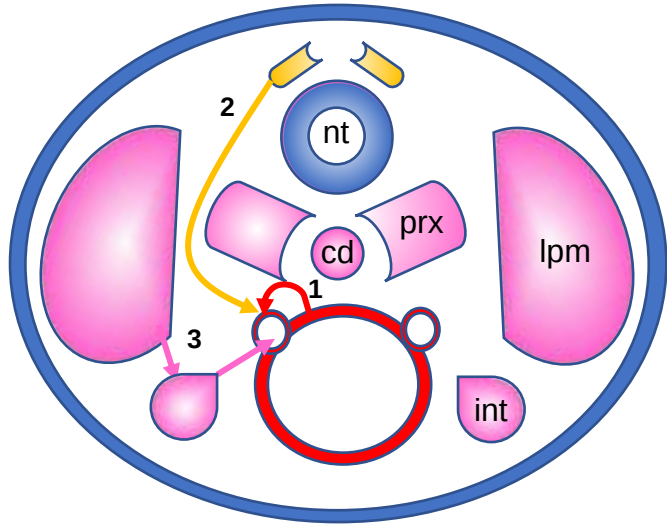
RESULTS BY YEAR



RESULTS BY YEAR



Thymus fejlődés – kapcsolt limfocita:hám stroma differenciálódás

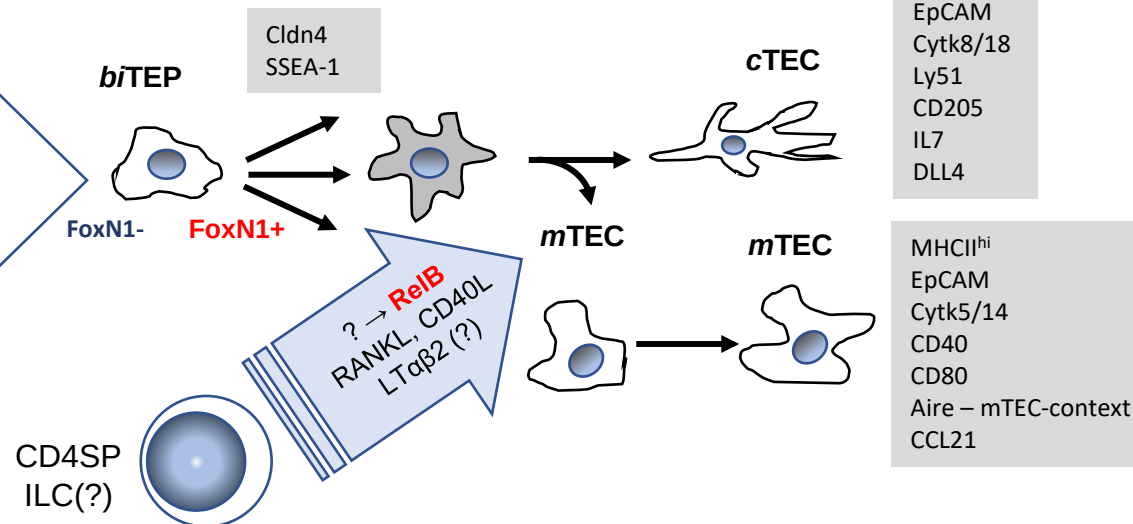


1. 3-4. garattasak hám– thymus epitélium (FoxN1)
2. Dúcléc – perivaszkuláris kötőszövet
3. Oldallemez mezoderma/AGM/FL – vérképző sejtek
4. Carotis-eredetű TGF- β /BMP ligandok – ventrális/caudális irányú vándorlás

TEP/TEC differenciálódás: indukált specializáció

3-4. garattasak hám-specializálódás

- HOXA3 és paraloggjai: szegmentális specifikáció
- Hex: A/P pozicionálás
- Pbx1: kofaktor

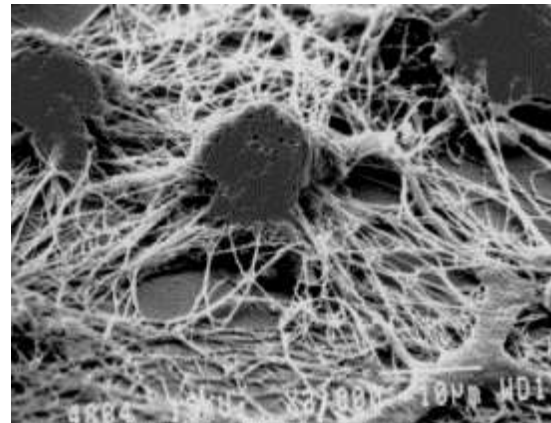


Perifériás nyirokszöveti stroma - visszatekintés

- **1985-95:** FDC - CD21⁺; T-sejt zóna conduit (ECM által kialakított csatornarendszer [ELMI, IHC])
- **2008:** MRC - VCAM/ICAM/MAdCAM/RANKL⁺ stroma előalak [FCM, IHC]
- **2012:** ImmGen konzorcium - BEC, LEC, TRC, FDC (gp38/CD31)
- **2018:** MedRC (plazma sejt), DZ/LZ FDC alcsoportok - CXCL12/CXCL13 [lineage tracing/Tg]

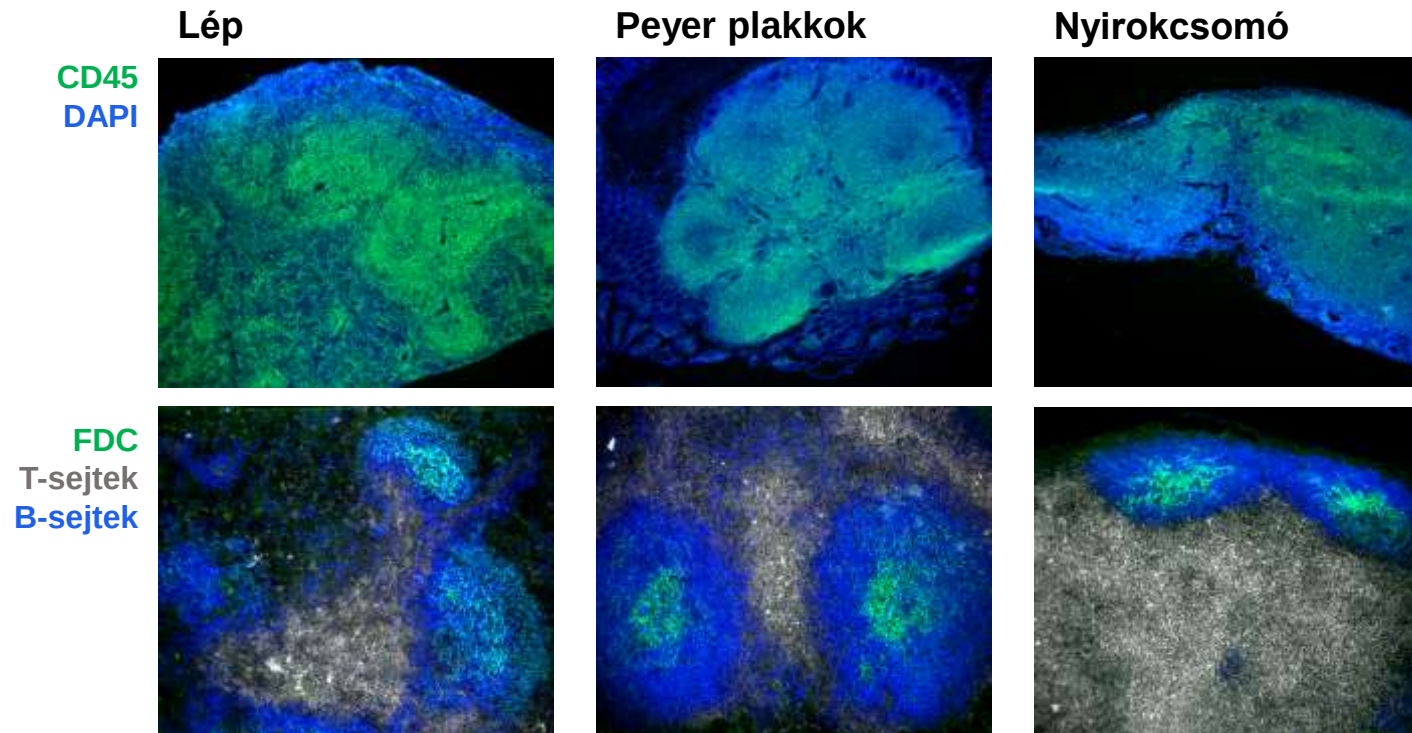


Andras K. Szakal
(1938-2021)



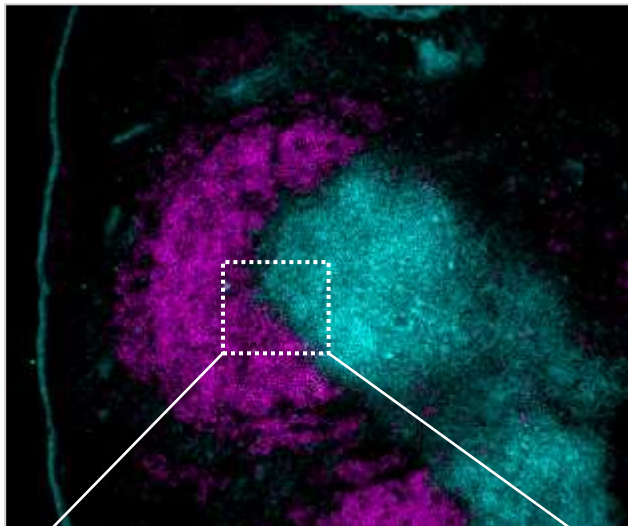
Emlősök perifériás nyirokszövet-fejlődésének formái

- Egyedi szerv-fejlődés, változó élettani szerepekkel – lép
- Szegmentális megoszlás, inkomplett érés – nyálkahártya-asszociált nyirokszövetek (Peyer-plakkok és CP→ILF spektrum)
- Fej-farok irányú kialakulás és multiplex helyi differenciálódás – nyirokcsomók

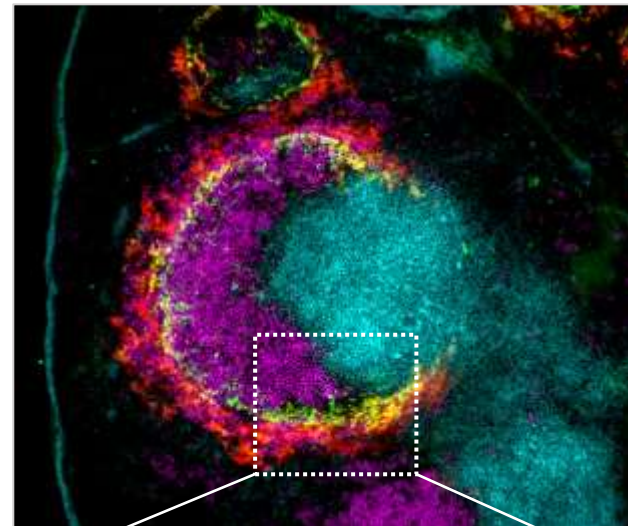
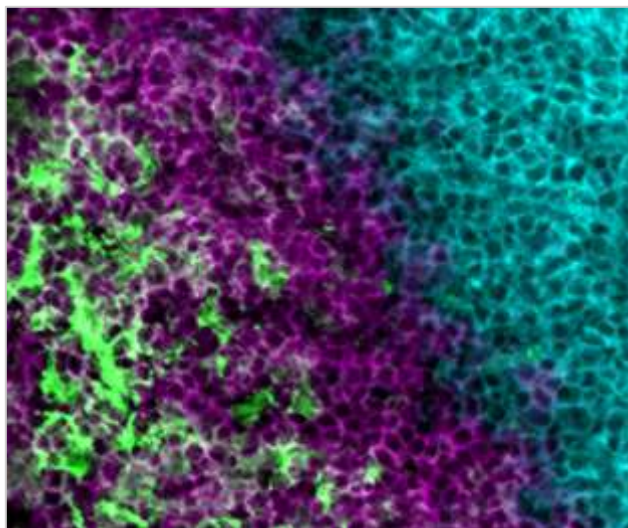


Kompartmentalizáció – kapcsolt limfoid/mieloid/stromális elkülönülés

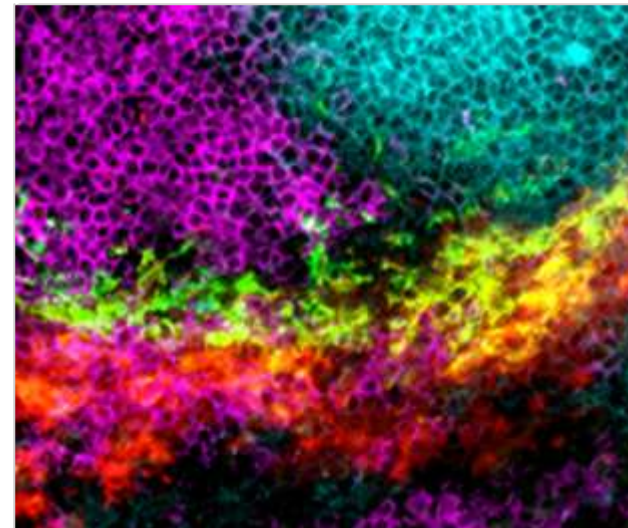
B220
Thy-1.2/CD90 (#IBL-1)



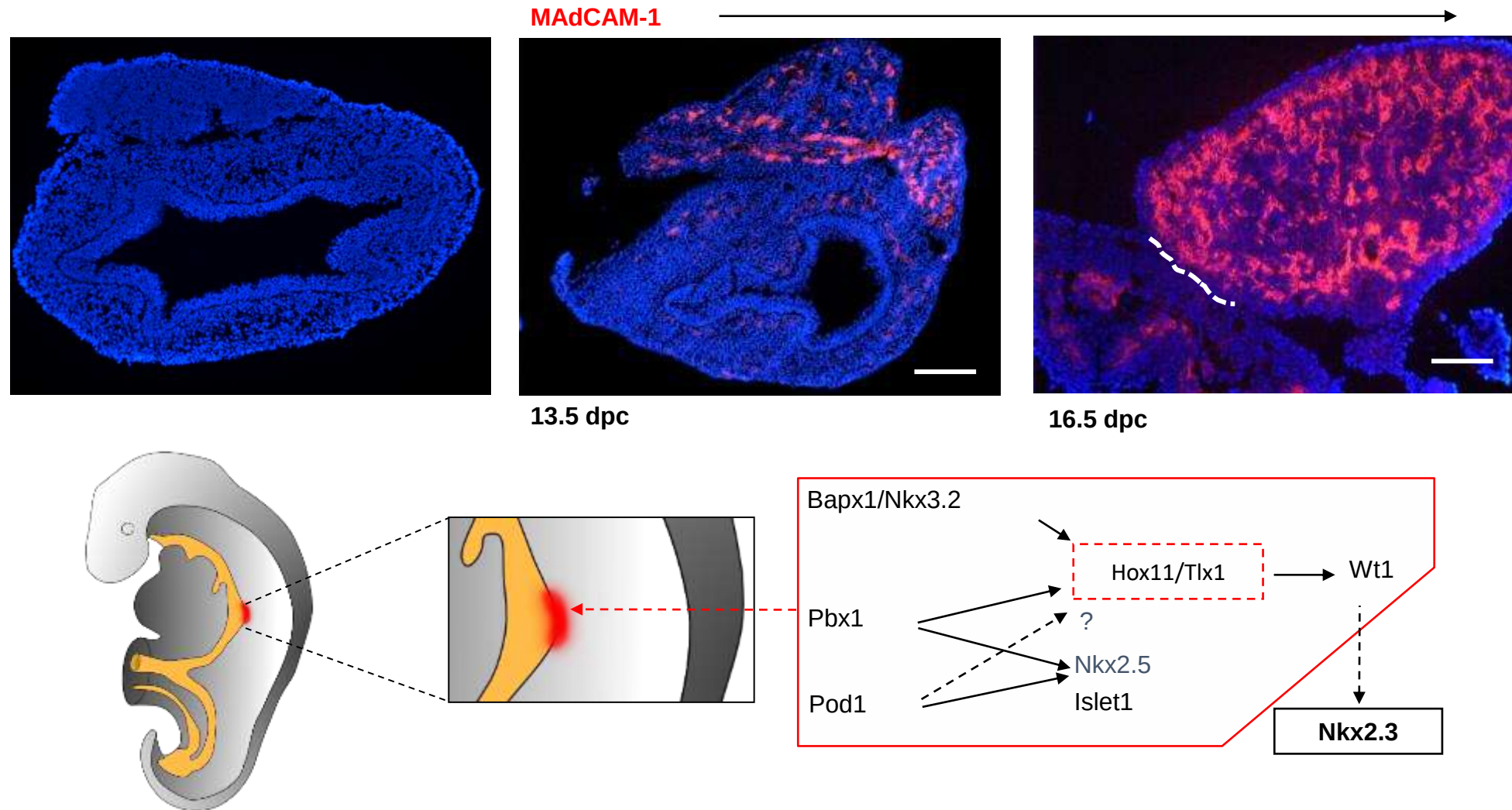
B220
Thy-1.2/CD90 (#IBL-1)
CR1.2



MARCO (#IBL-12)
B220
Thy-1.2/CD90 (#IBL-1)
Sn/CD169 (#IBL-13)



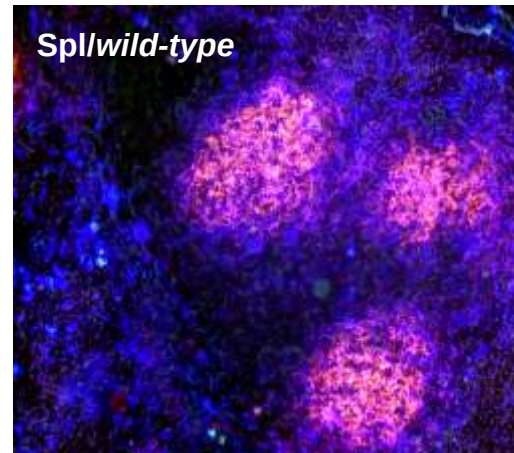
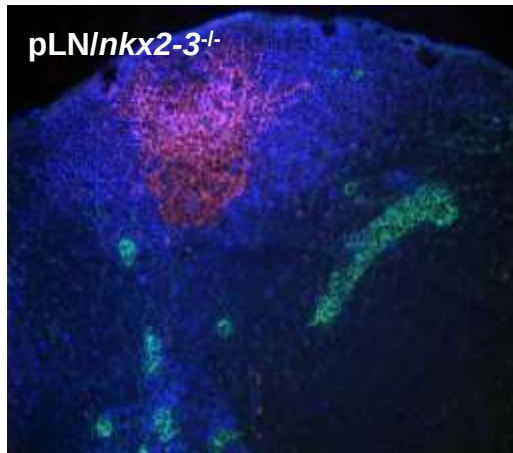
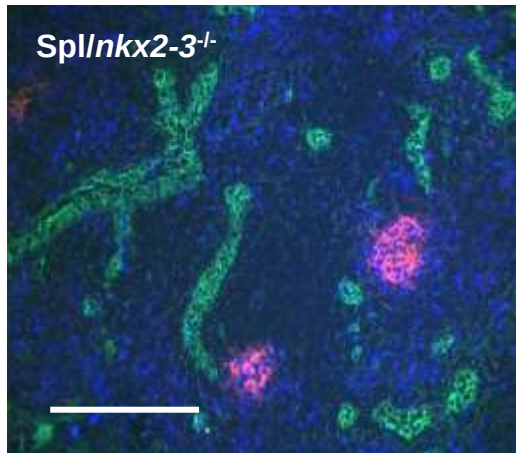
Lép – autonom transzkripcionális szabályozás



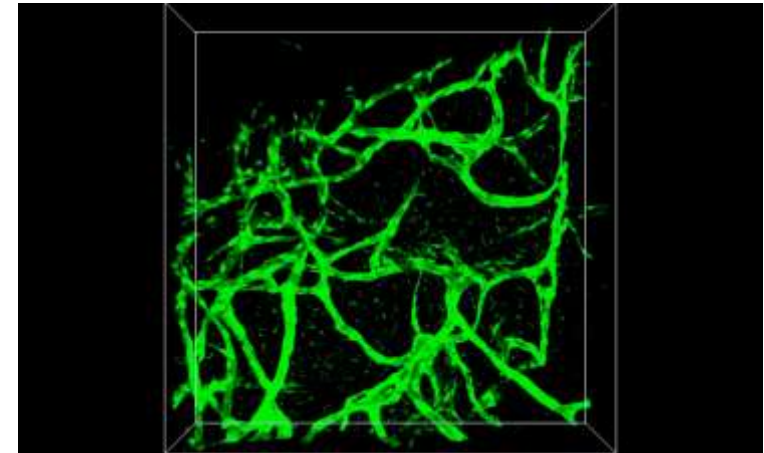
Nkx2-3 – lép vaszkuláris identitás meghatározása

- Hiányában nyirokcsomó-szerű érmintázat-váltás és a vörös pulpa érfejlődési zavara és a marginális zóna hiánya figyelhető meg;
- Károsodott extramedulláris stressz vérképzés és indukált thrombopoézis;
- $Cdh5^{Cre};Nkx2-3^{Fl/Fl}$ egérben a Nkx2-3 null-mutációhoz hasonló fenotípus alakul ki

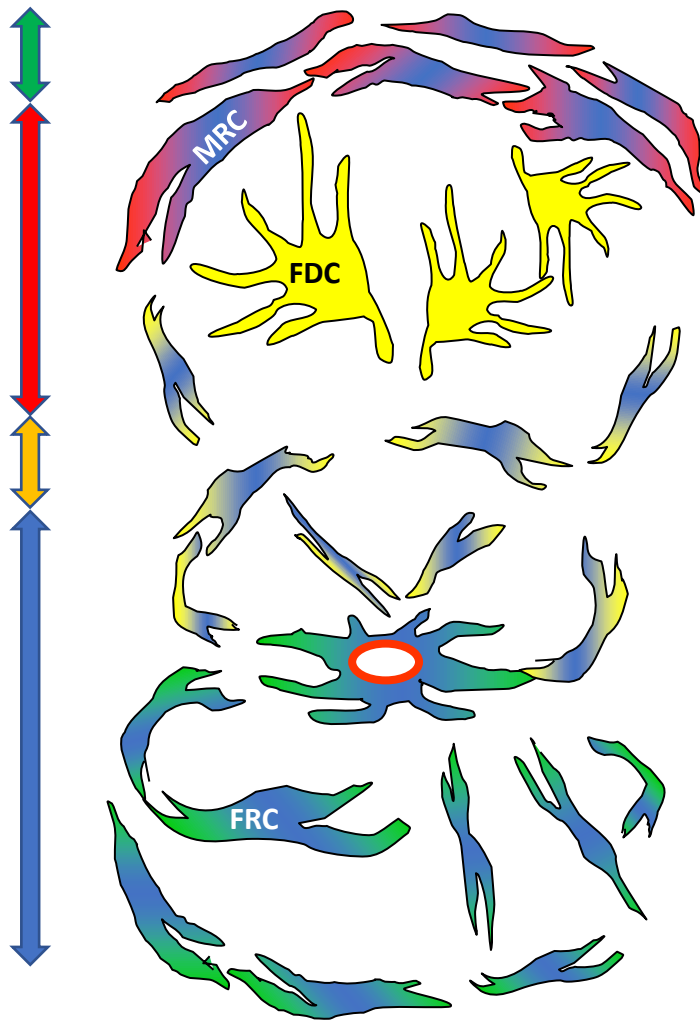
PNAd/CR1.2/IgM



Prox-1^{eGFP}



A lép stroma azonosítására alkalmas markerek (egér)



Parenchima

■ *Marginális zóna*

■ *Nyiroktüsző*

■ *T/B határterület*

■ *T-sejt zóna*

Sejttípus

MRC

FDC, CRC*

VSC

FRC

ÉR szegmentum

Endotél

Centrális arteriola

Fehér pulpa arteriola

Marginális szinusz

Vörös pulpa szinusz

Marker

MAdCAM-1, VCAM-1, **CXCL13**

CR1.2, FDC-M1/M2, **CXCL13**, **CXCL12***, MAdCAM-1*, VCAM-1*

BP-3/CD157, **CXCL12**

Podoplanin/gp38, PDGFR α , **CCL19**, **CCL21**

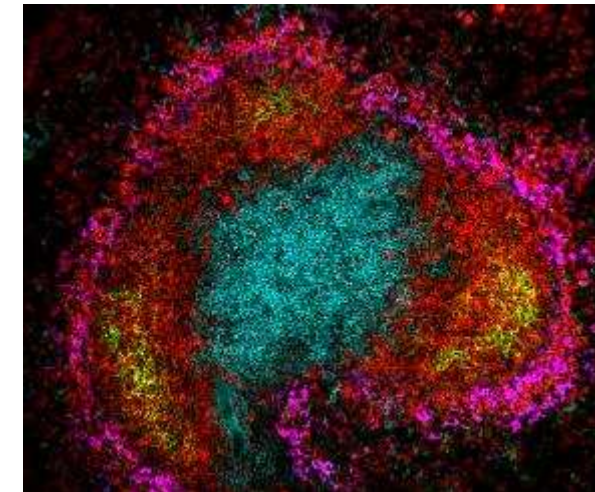
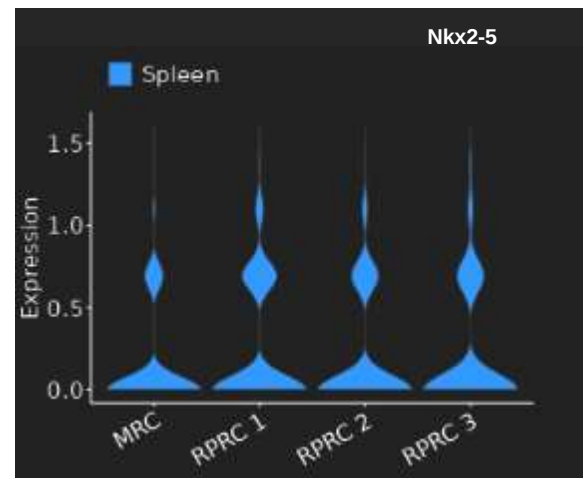
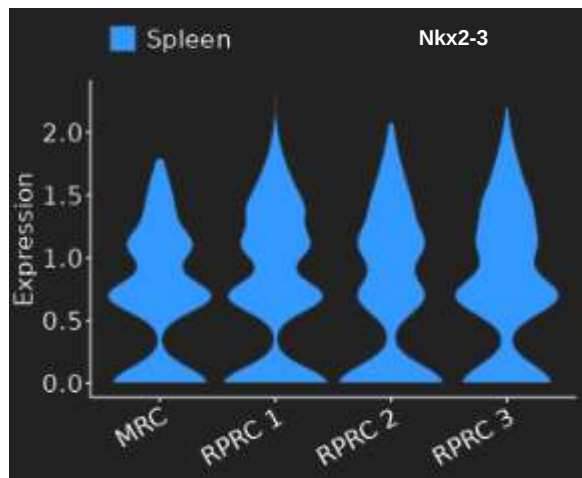
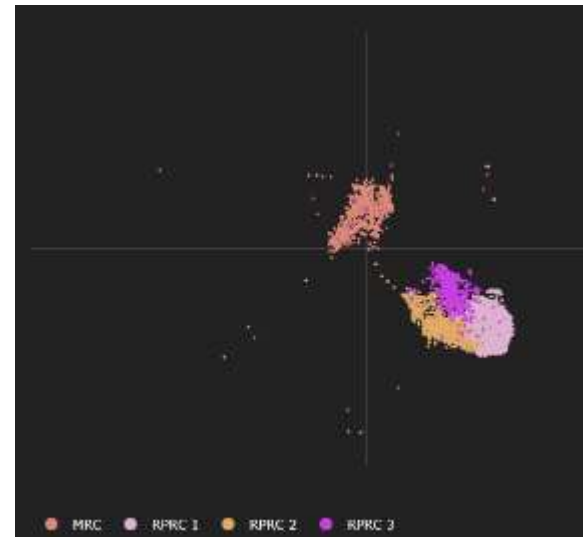
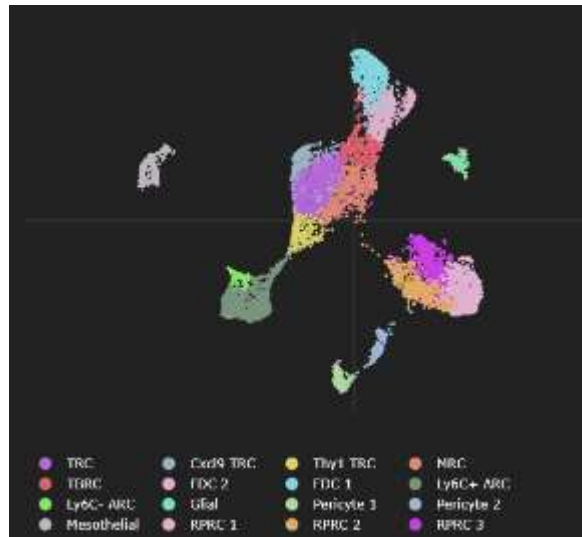
CD31, CD144, VEGFR-2/flk1

CD31, CD144, VEGFR-2/flk1

MAdCAM-1

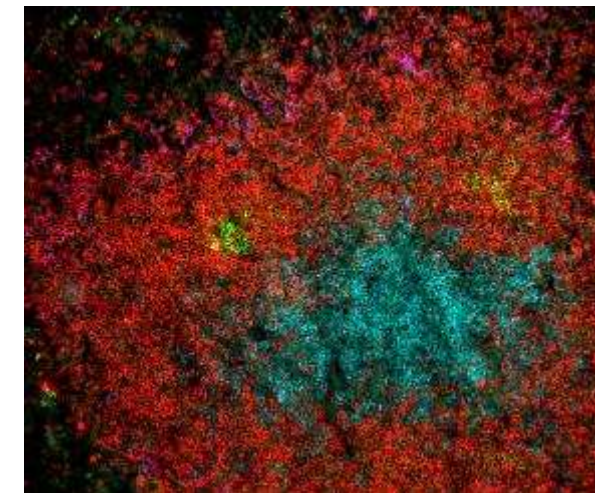
CD31, CD144, VEGFR-2/flk1

A lép stroma-alcsoportok azonosítása scRNAseq eljárással



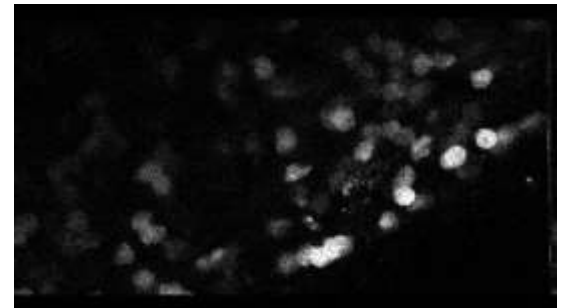
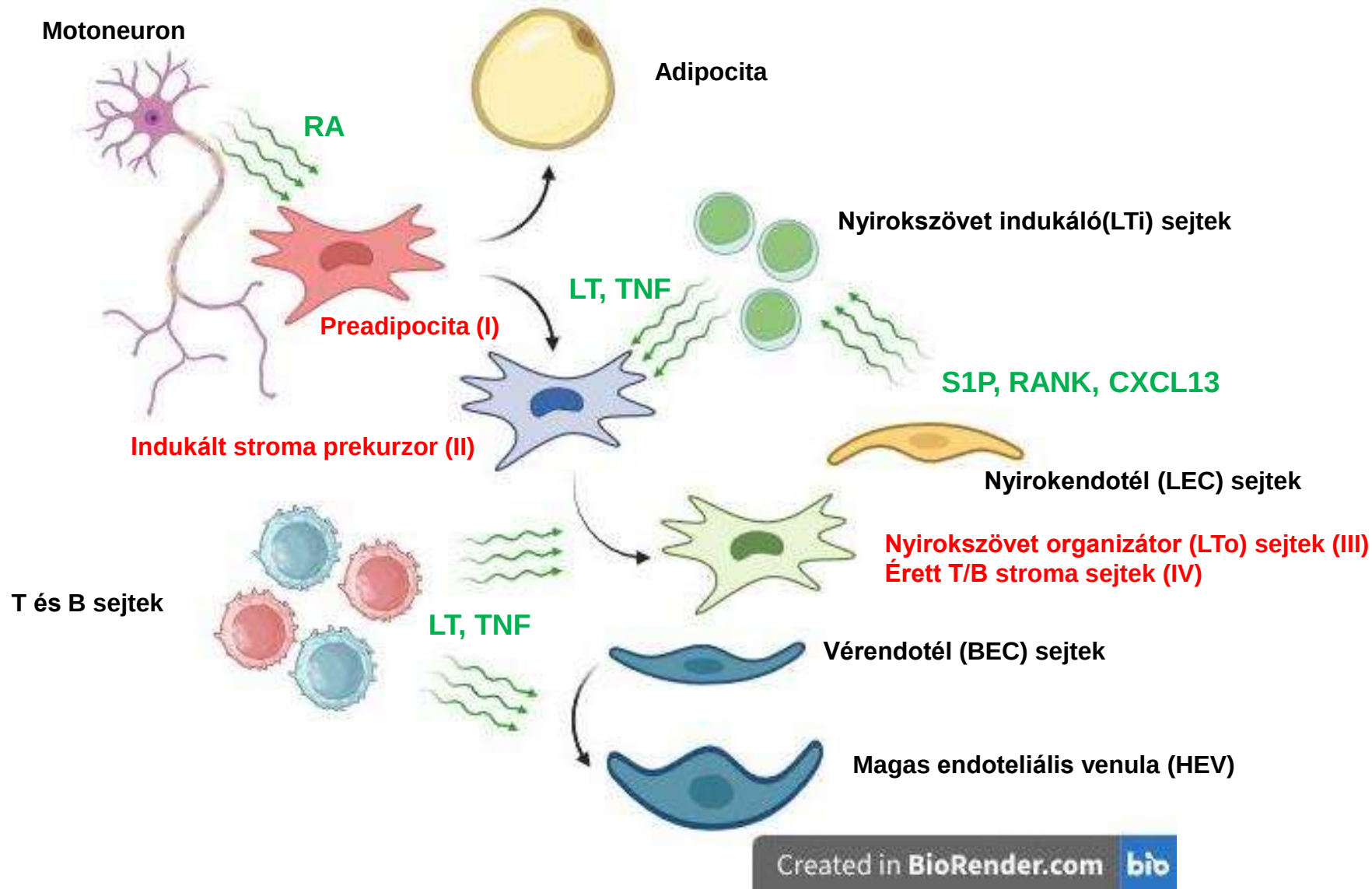
BALB/c

IgM
CD90/Thy-1.2
CR1.2
MARCO

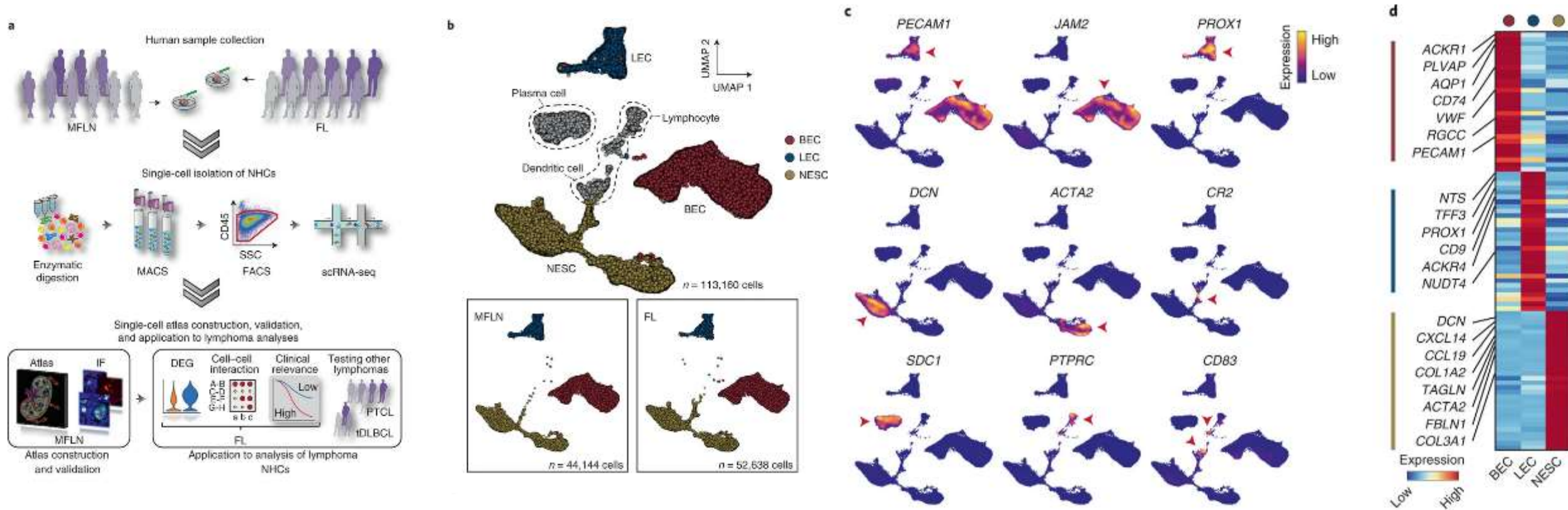


Cdh5^{Cre}:Nkx2-3^{F/FI}

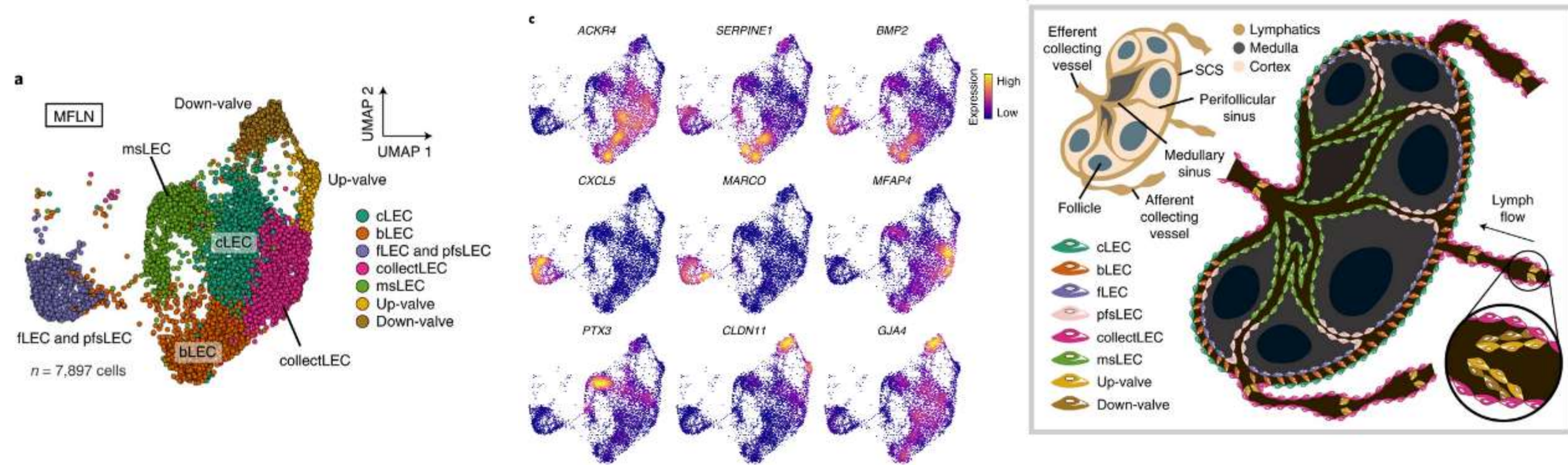
Nyirokcsomó-fejlődés – multicelluláris kölcsönhatások



Humán nyirokcsomó-stroma: BEC, LEC, NEST



A nyirokendotél összetett szerveződése

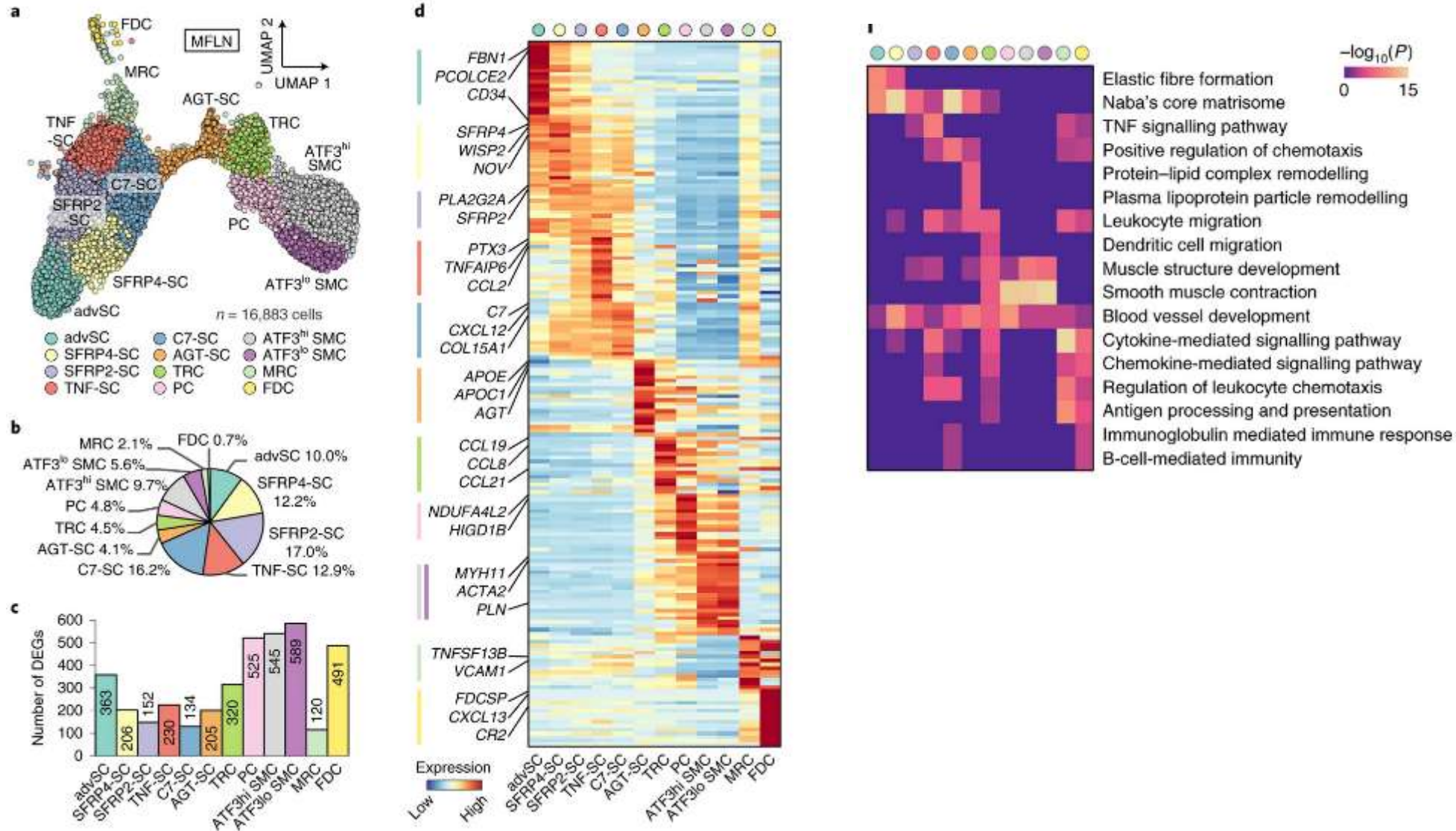


10 BEC (vérendotél) alcsoport – artériás, kapilláris, tranzicionális, HEV (3), vénás alcsoport

8 LEC (nyirokendotél)

12 NEST (retikuláris alapváz – MRC, TRC, FDC, PC)

Nem-endoteliális stromális sejt (NESt) komplexitás



Astromális differenciálódás szerepe a harmadlagos nyirokszövetek kialakulásában

- Krónikus gyulladások, autoimmun betegségek, tumorok: B- és T sejtek stabil aggregátumokat hoznak létre, T/B zóna és CG kialakulásával;
- Változó szerkezeti-lokalizációs jellemzők, nincs tok, posztnatális kialakulás;
- Másodlagos nyirokszövet stromaelemek: TRC, FDC, HEV
- Autoimmun betegségek – autoimmun klónok fenntartása;
- Tumorok – tumorelles védekezés („immune desert cancers”);
- „Immunofibroblaszt – szekunder nyirokszövetekre jellemző adhéziós molekulák, homeosztatis kemokinek, túlélési faktorok (IL-7, BAFF) ICOS – ICOSL – LT α 3;

Immunológiai öregedés és progresszív stromális defektus

- Az életkor előrehaladtával a naív T-sejtek ($CD45RA^+CD62L^+CD95^-$) gyakorisága és száma csökken (elsősorban $CD8^+$ T sejtek); exogén IL-12, IL-18 támogatja az akut fertőzésekkel szembeni $CD8^+$ T effektor program kialakulását;
- T és B kompartmentek szerkezete felbomlik, stromális dedifferenciáció nyirokcsomókban és a lép fehér pulpában, csökkent CCL19 or CCL21 expresszió;
- Csökkent FDC immunkomplex-megkötés: B-sejt aktiváló/gátló immunkomplex-sztöchiometria ($CD16/32$ vs. $CR1.2$)

Következtetések és perspektívák

- A nyirokszöveti stroma szerkezeti jelentőség mellett fontos szervfejlődési és limfocita-homeosztatikus szerepet tölt be a primer és szekunder nyirokszövetek szerveződésében; ennek fennmaradása a limfoid sejtek perzisztenciájától függ;
- A stromasejtek kemotaktikus hatásai és egyéb túléltető szignálok (pl. IL-7, BAFF) az öregkör előrehaladtával progresszív csökkenést mutatnak, ami a hematopoetikus sejtek eltéréseivel együtt fontos szerepet játszik az időskori immunválasz-képesség csökkenésében;
- A szervezet különböző helyein a krónikus gyulladásos sejtes és citokin-környezet potenciózza a nyirokszövet-típusú alapállomány kialakulását, ami az ektopiás nyirokszövetek kialakulásában meghatározó jelentőségű; ugyanakkor az átalakulásba részt vevő terápiás célpontok gátlása jelenleg kevésbé ismert.

A veleszületett limfoid sejtek (ILC) típusai, jellemzőik és szerepeik

Balogh Péter

Immunológiai és Biotechnológiai Intézet

Pécsi Tudományegyetem

balogh.peter@pte.hu



A veleszületett limfoid sejtek - jelentőségük

- Mennyire ismerjük az immunrendszer összetevőit?
- Honnan származnak a felnőtt immunrendszer sejtjei?
- Többrétegű immunrendszer – funkcionális divergencia



Corleck fej (Dublin, Írorság, 1-2. század, ismeretlen szobrász)

A veleszületett limfoid sejtek – felismerés, előbb-utóbb

European Journal of
Immunology
Basic · Clinical · Translational

Article

Seeding of neonatal lymph nodes by T cells and of a novel population of CD3⁺CD4⁺ cells

Katherine A. Kelly, Roland Scollay

First published: February 1992 | <https://doi.org/10.1002/eji.1830220207> | Cite

nature

[Explore content](#) ▾ [About the journal](#) ▾ [Publish with us](#) ▾ [Subscribe](#)

[nature](#) > [letters](#) > [article](#)

Letter | Published: 20 December 2009

Innate production of T_H2 cytokines by adipose tissue-associated c-Kit⁺Sca-1⁺ lymphoid cells

Kazuho Moro, Taketo Yamada, Masanobu Tanabe, Tsutomu Takeuchi, Tomokatsu Ikawa, Hiroshi Kawamoto, Jun-ichi Furusawa, Masashi Ohtani, Hideki Fujii & Shigeo Koyasu 

Nature **463**, 540–544 (2010) | [Cite this article](#)

26k Accesses | 1791 Citations | 20 Altmetric | [Metrics](#)

 FOCUS ON THE INBETWEENERS: INNATE-LIKE LYMPHOCYTES

REVIEWS

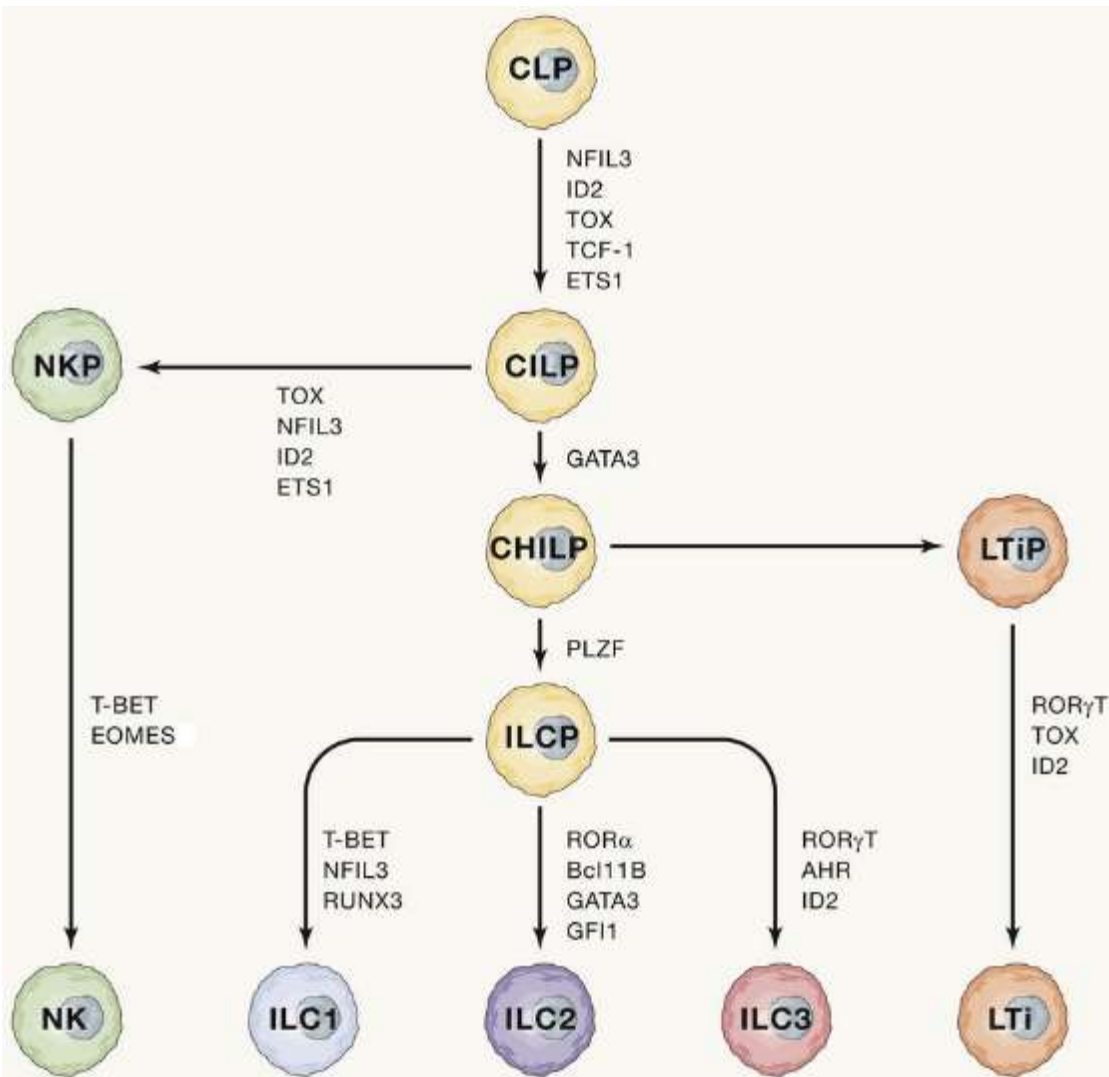
Innate lymphoid cells — how did we miss them?

Jennifer A. Walker, Jillian L. Barlow and Andrew N. J. McKenzie

Abstract | Innate lymphoid cells (ILCs) are newly identified members of the lymphoid lineage that have emerging roles in mediating immune responses and in regulating tissue homeostasis and inflammation. Here, we review the developmental relationships between the various ILC lineages that have been identified to date and summarize their functions in protective immunity to infection and their pathological roles in allergic and autoimmune diseases.

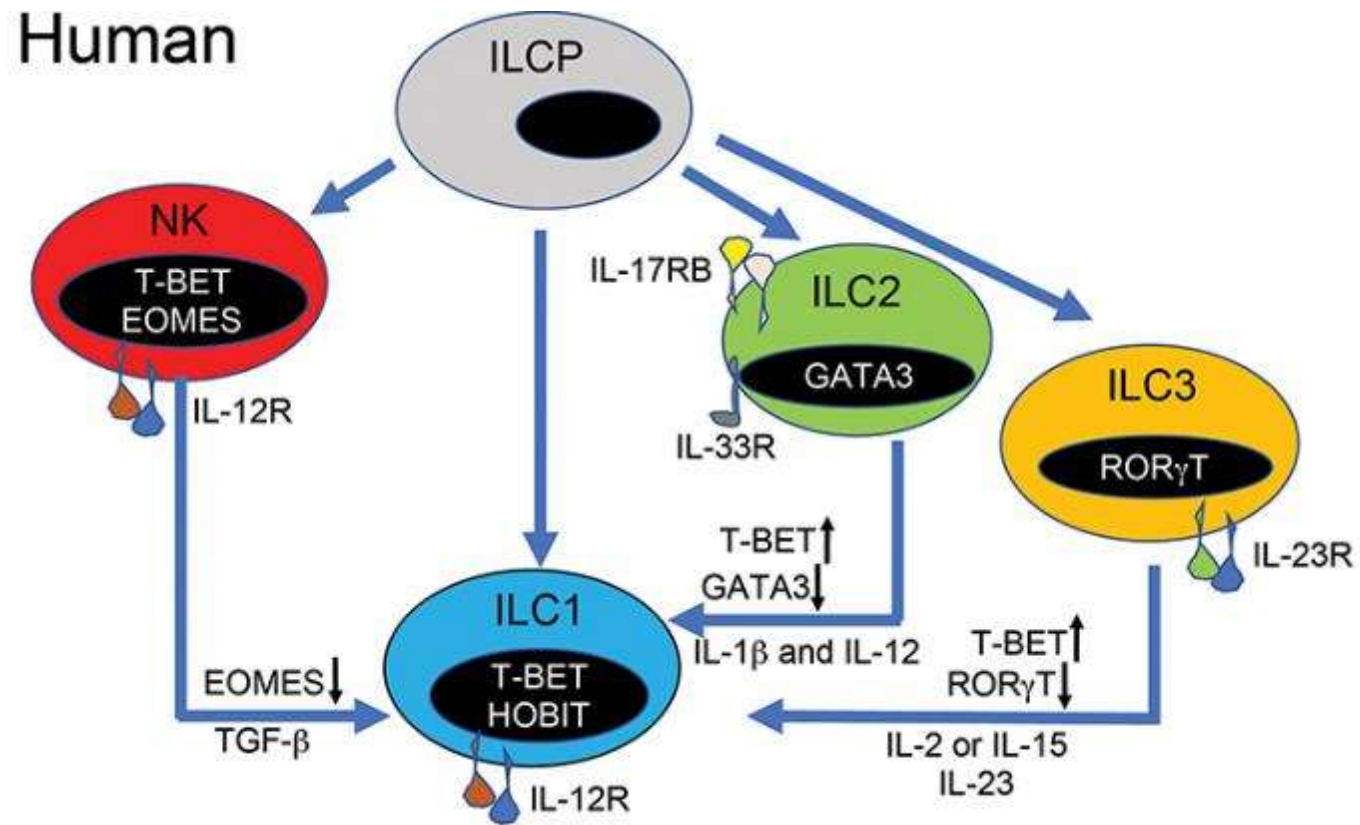
So, ILCs — how did we miss them? Well, **we had just gated them out, assuming that we already knew all the players.** Who knows what other unknowns wait to be discovered within the LIN⁺ population?

Veleszületett limfoid sejtek – ILC alcsoportok és funkciók

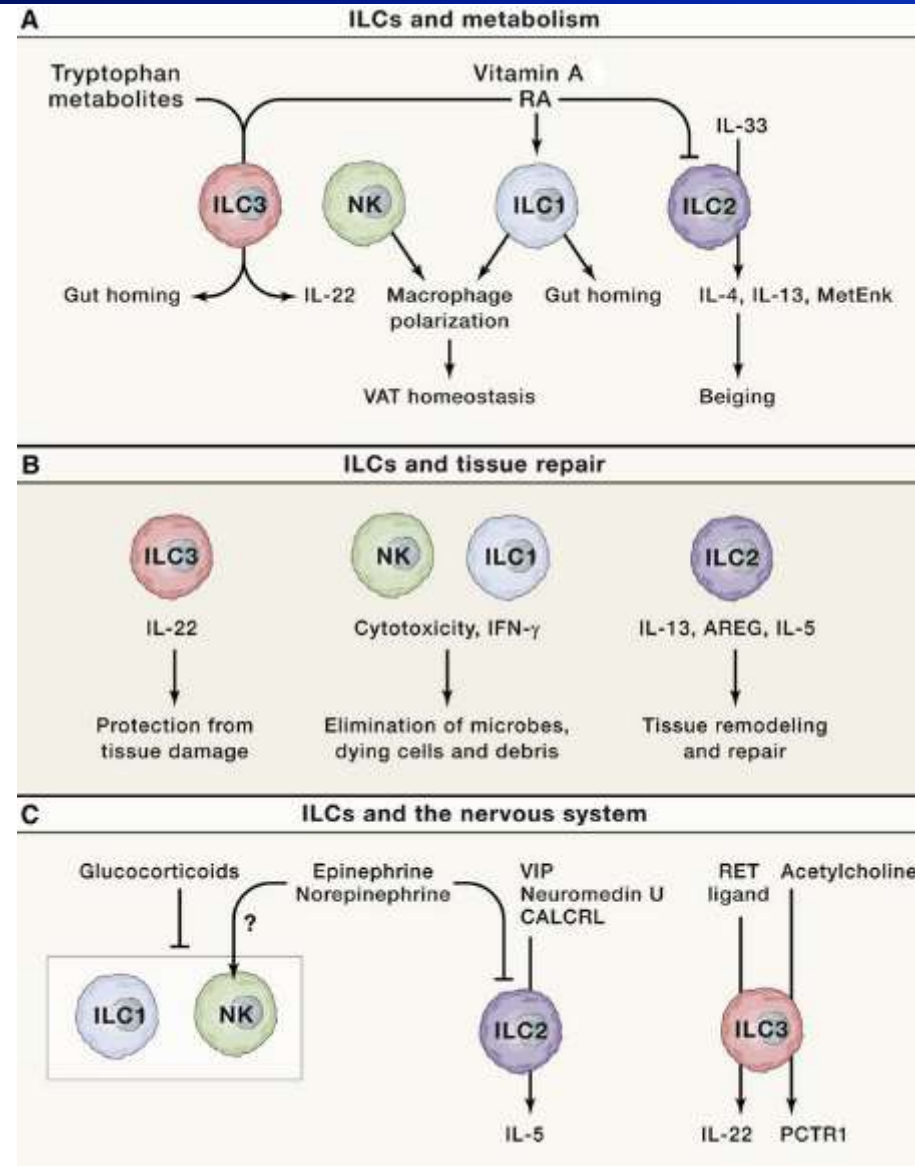


Stimuli		Mediators	Immune function
Tumors, intracellular microbes (Virus, bacteria, parasites)	→	NK, ILC1 IFN- γ Granzymes Perforin	Type 1 immunity (Macrophage activation, cytotoxicity)
Large extracellular parasites and allergens	→	ILC2 IL-4 IL-5 IL-13 IL-9 AREG	Type 2 immunity (Alternative macrophage activation)
Mesenchymal organizer cells (Retinoic acid, CXCL13, RANK-L)	→	LTi RANK Lymphotoxin TNF IL-17 IL-22	Formation of secondary lymphoid structures
Extracellular microbes (Bacteria, fungi)	→	ILC3 IL-22 IL-17 GM-CSF Lymphotoxin	Type 3 immunity (Phagocytosis, antimicrobial peptides)

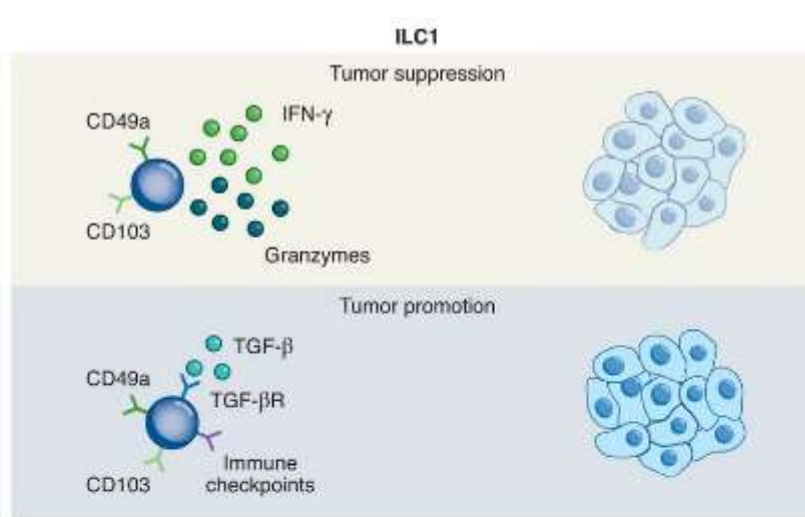
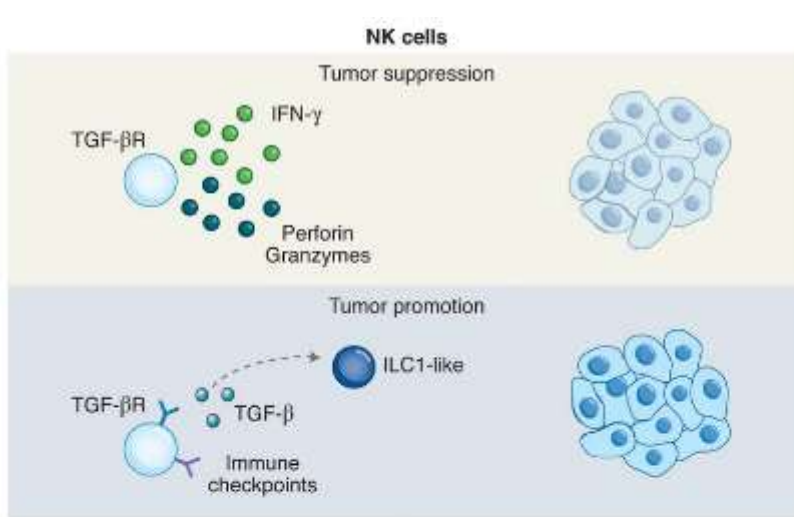
ILC – plaszticitás: citokinhatás és TF konvergencia



ILC funkciók a Th/Tc szabályozási párhuzam mellett



ILC és tumorok – változó szerepek

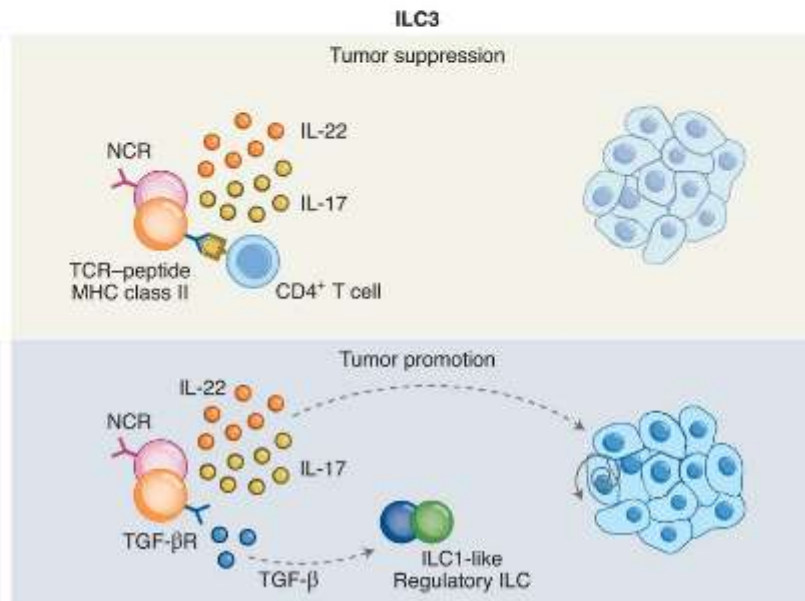
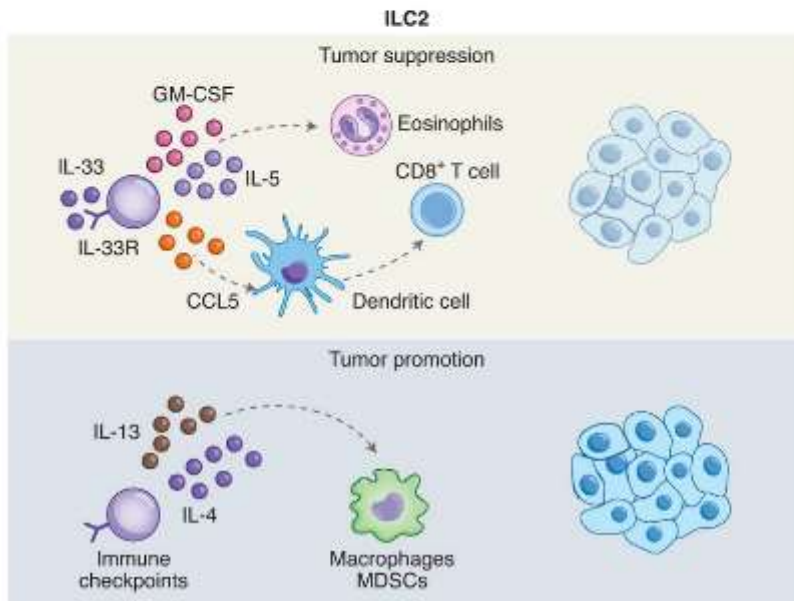


ILC1:

(a) bizonytalan szerepek, tumor megtapadás/invázió fokozása (HCC, melanoma, fej-nyaki tumorok), PBMC-ben növekedése rossz prognosztikus jel;
(b) IL-15 hatására NK→ILC1 konverzió fokozott citolitikus aktivitással

ILC2:

(a) IL-13 termelés hatására mieloid eredetű szuppresszor (MDSC) megtelepedés, fokozott tumor-sejt proliferáció, Treg felhalmozódás (AML, prosztata cc, hólyag cc)
(b) Fokozott DC, eozinofil és CD8T-sejt toborzás



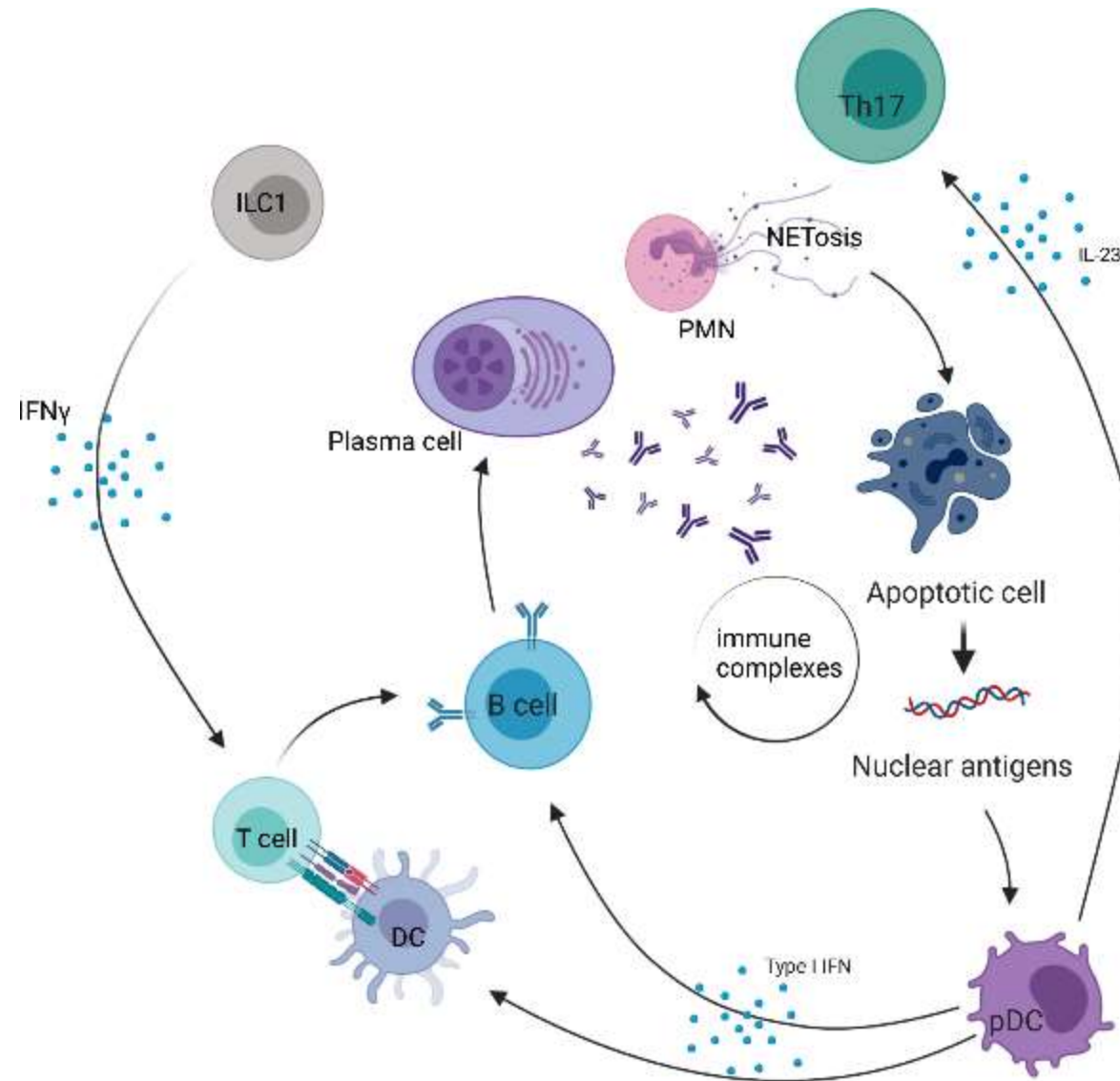
ILC3LTi:

(a) ILC3 eredetű IL-17 és IL-22 hatására gyulladás-fokozódás és tumor progresszió, regulator ILC switch után TGFβ hatásra citotoxikus (NK és CD8 T) sejt-gátlás (hasnyálmirigy cc, CRC, emlőcc).
(b) LTi hatására esetleg fokozott ektopiás nyirokszövet-képződés és tumorelles immunválasz

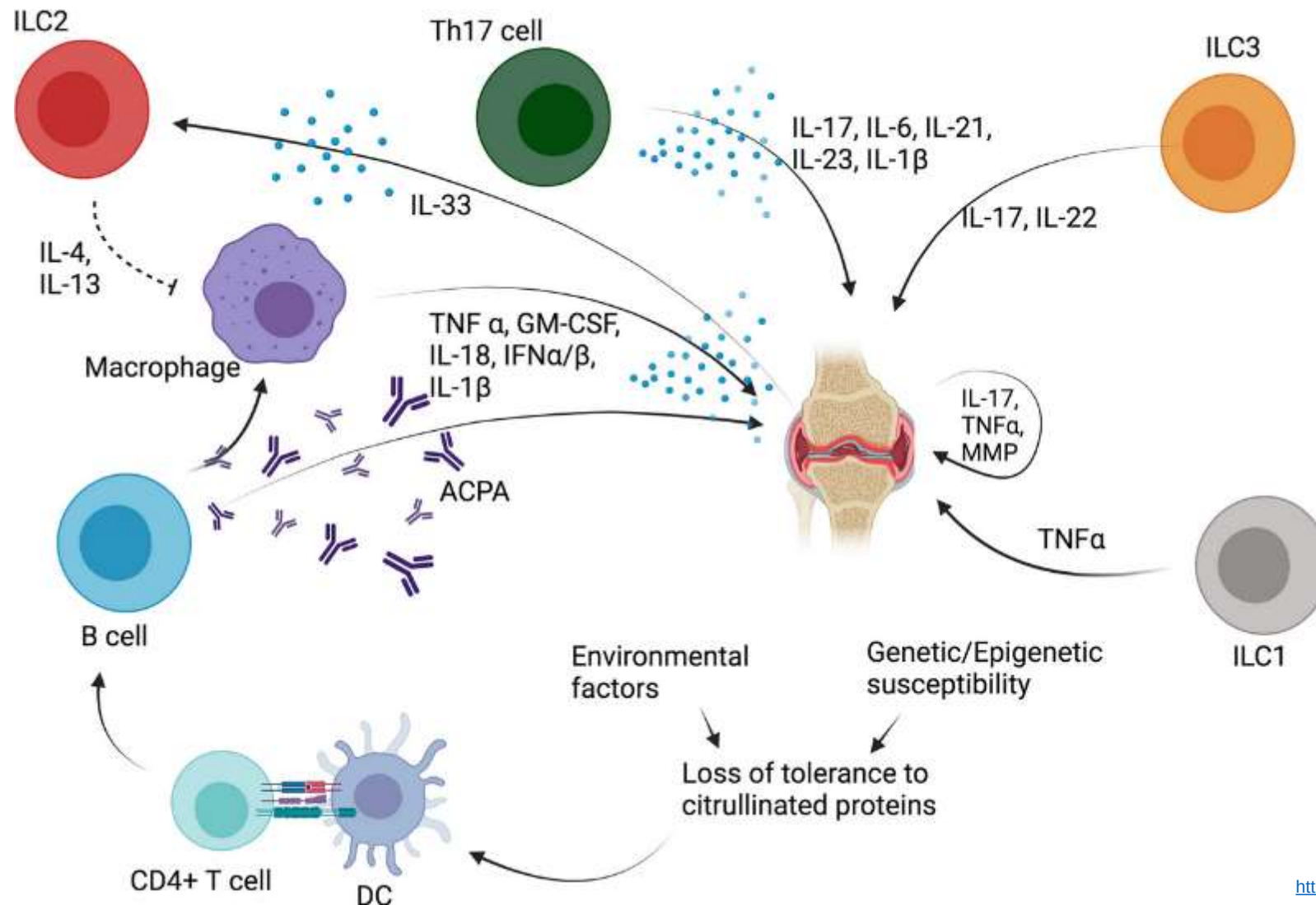
NK/CAR NK – terápiás alkalmazás:

(a) Pre-aktivált autológ, allogén, őssejt-eredetű NK és CAR NK sejtek
(b) NK-sejt aktiváló biológikumok (NKG2A gátlás) engagerek (CD16/NKp45, CD16/IL-2R)

ILC és autoimmunitás – SLE



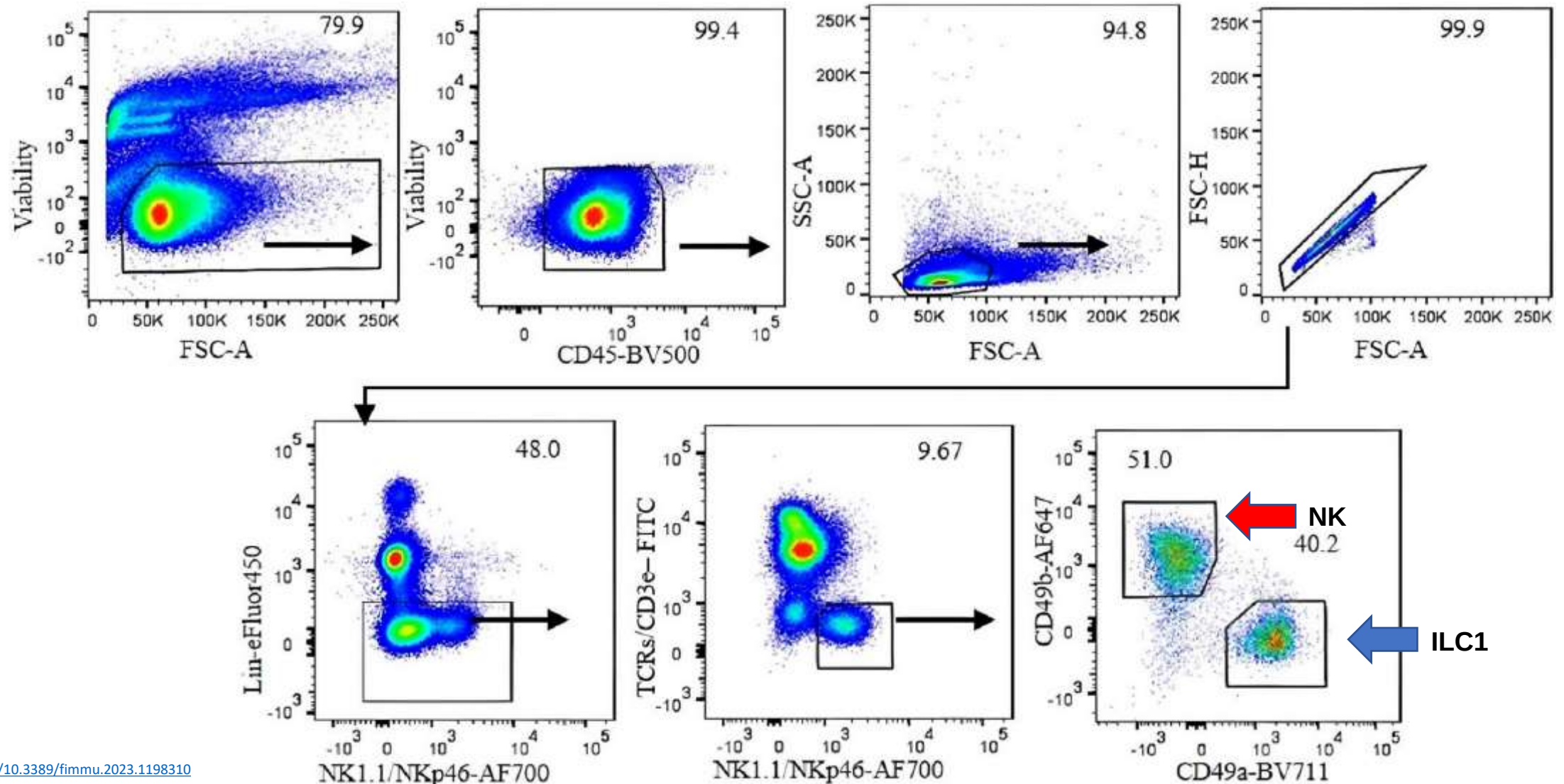
ILC és autoimmunitás – RA



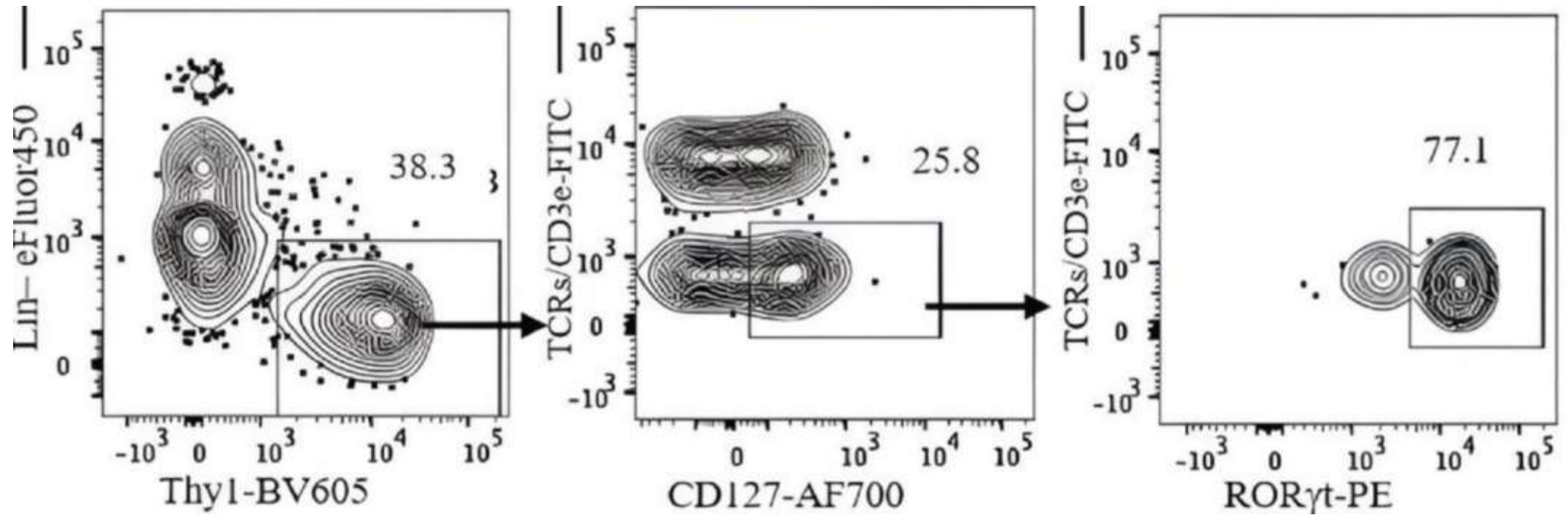
Tű a szénakazalban – ILC azonosítás

ILC1 panel											
FITC	PerCPeF710	AF647	AF-700	R780	eFlour450	BV510	BV605	BV650	BV711	PE	PECy7
CD3ε, TCRβ, TCRγδ	Eomes	CD49b	NK1.1, NKp46	Viab	Ter119, Gr-1 CD19, B220	CD45	Thy1.2	CD160	CD49a	CD127	T-bet
ILC2 panel											
FITC	PerCPeF710	R670	AF-700	R780	eFlour450	BV510	BV605	BV650	BV711	PE	PECy7
CD3ε, TCRβ, TCRγδ	ST2	GATA3	–	Viab	Ter119, Gr-1 CD19, B220, NK1.1, NKp46	CD45	Thy1.2	–	–	Rorγt	CD127
ILC3 panel											
FITC	PerCPeF710	R670	AF-700	R780	eFlour450	BV510	BV605	BV650	BV711	PE	PECy7
CD3ε, TCRβ, TCRγδ	ST2	GATA3	CD127	Viab	Ter119, Gr-1 CD19, B220	CD45	Thy1.2	–	–	Rorγt	NK1.1 (or in Lin cocktail)

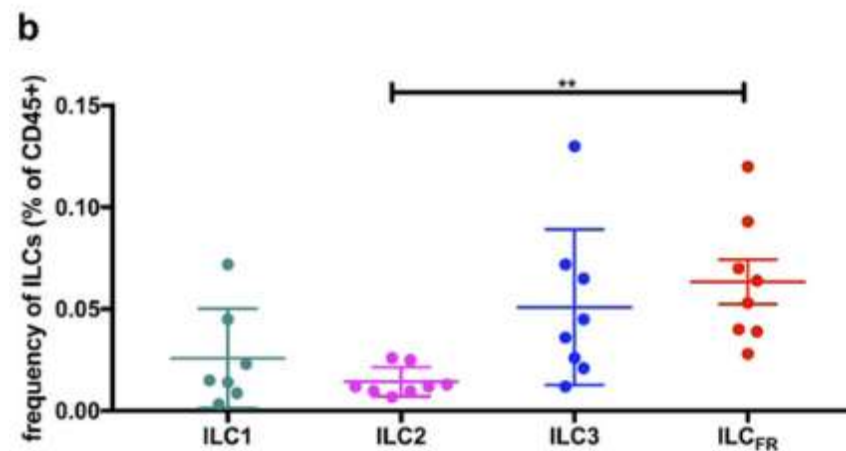
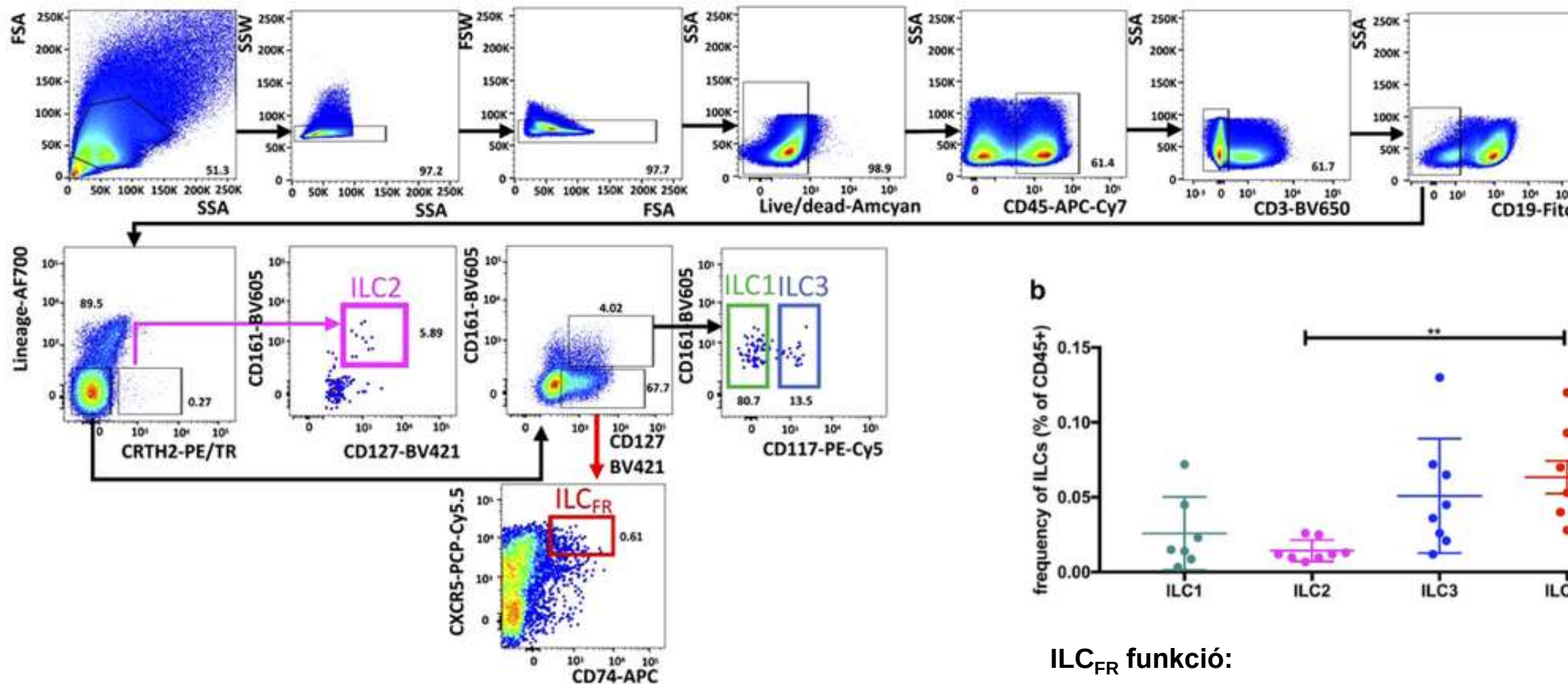
Tű a szénakazalban – máj ILC1 azonosítás



Vékonybél ILC3 azonosítás



Ritka, ritkább, legritkább: ILC_{FR}



ILC_{FR} funkció:

Ig-szekréció gátlás

Fokozott előfordulás HIV betegekben

Következtetések és perspektívák

- A veleszületett limfoid sejtek (ILC) az immunkompetens sejtek különböző differenciálódási útvonalak mentén eltérő citokin-termelő képességgel rendelkező T-sejt szerű szabályozó funkciójú alcsoportokat alkotnak;
- A jelenlegi azonosításuk bonyolult multiparametrikus eljárásokkal lehetséges, ugyanakkor a nagyfokú fenotípus és funkcionális plaszticitásuk/szöveti imprinting miatt kétséges;
- Közvetlen immunszabályozó szerepük mellett egyéb folyamatokban (nyirokszövetfejlődés, szöveti regeneráció) az ILC készlet fontos szerepet játszhat.