

Citokinek, citokin receptorok

Dr. Boldizsár Ferenc

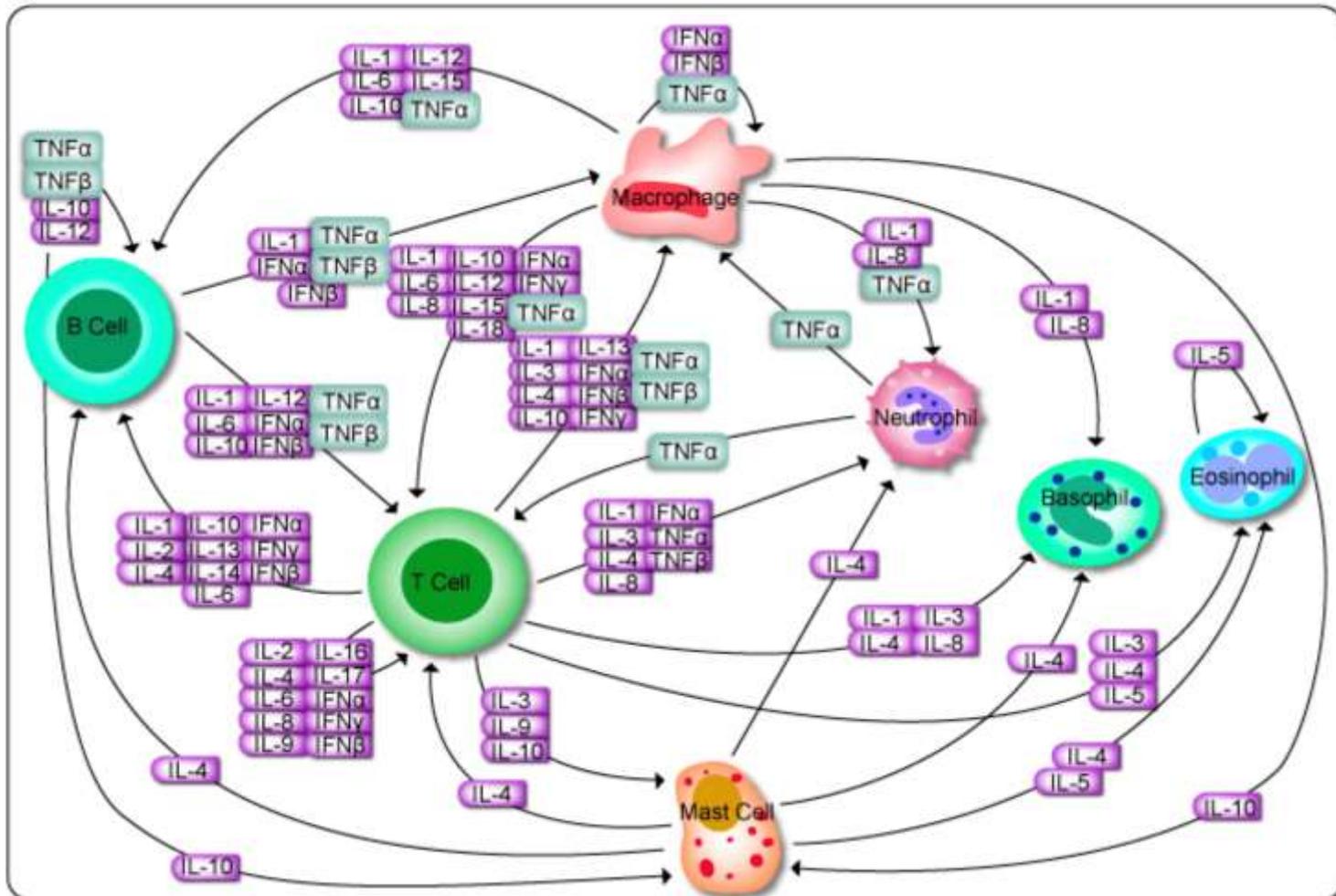
Pécsi Tudományegyetem, KK, Immunológiai és
Biotechnológiai Intézet



The interaction among cells of the immune response are mediated by 2 mechanisms:

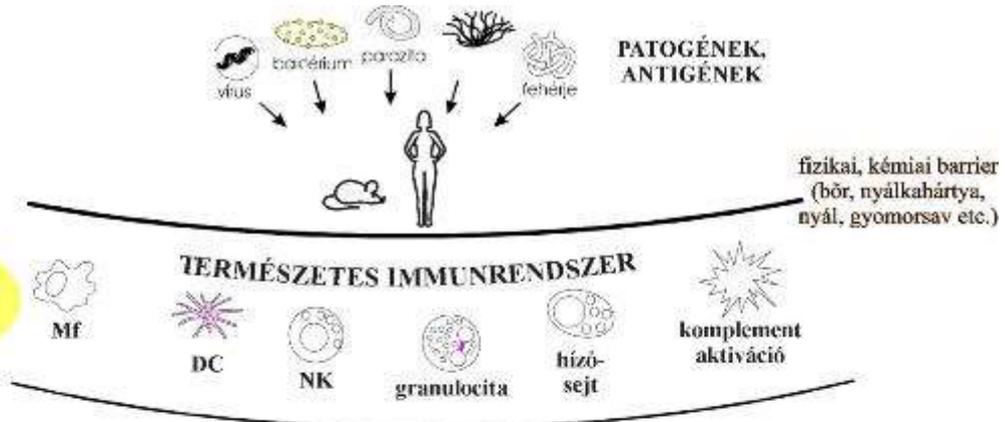
1. By direct cell-cell interactions: through **adhesion molecules**
2. By low MW regulatory proteins, called **cytokines**: messengers of the immune system

Cytokine network

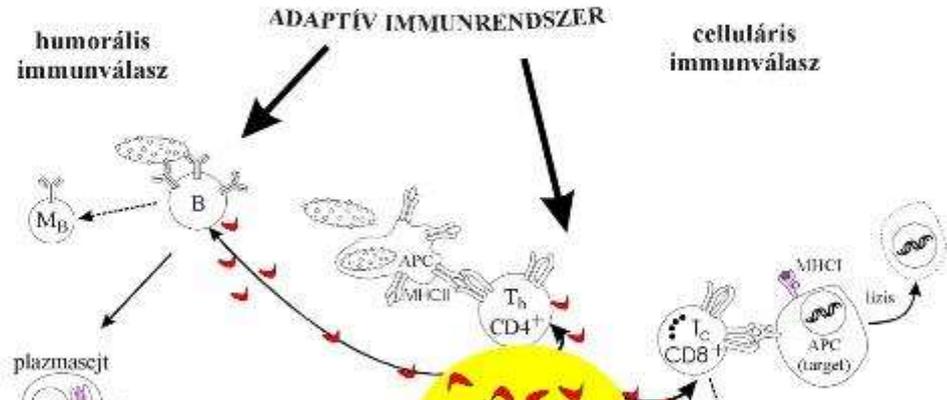


A citokinek az immunválasz minden fázisában hatnak:

Felismerés:



Aktiváció:



Effektor fázis:



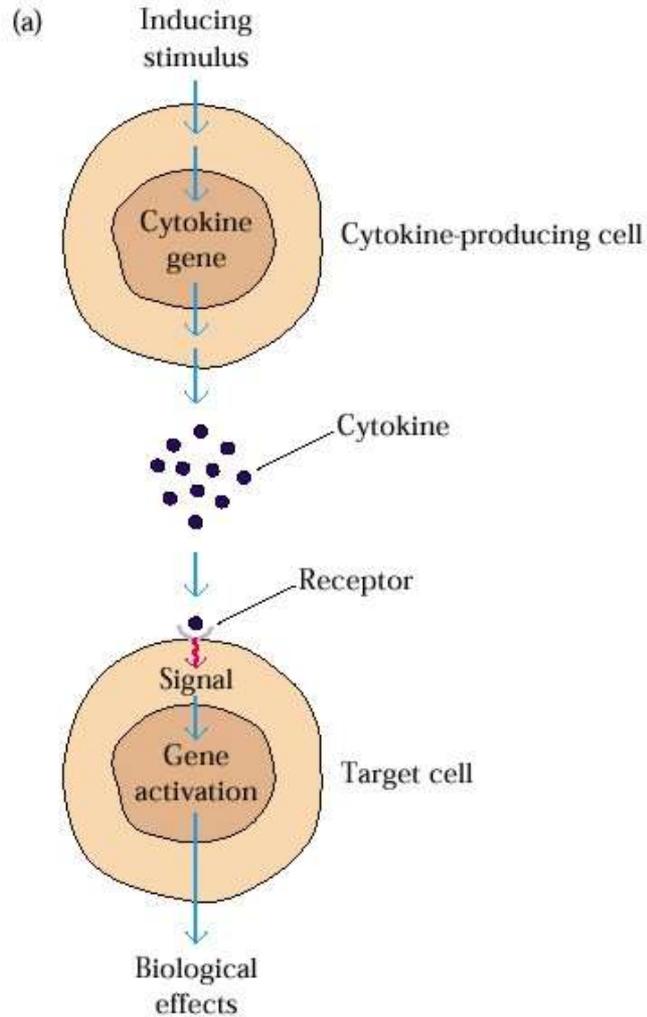
A citokinek általános jellemzői:

- Kis molekulásúly (10-40 kDa)
- Glikoproteinek
- Izolált sejtek termelik aktiváció hatására
- Sejtek közötti kapcsolatokat közvetítik:
 - információ továbbítás
 - immunválasz szabályozása
- Hatásmód: - átmeneti génaktiváció termékei
 - receptorokon keresztül
 - nagy affinitás
 - pikomoláris cc.-ban

A citokinek funkcionális csoportosítása

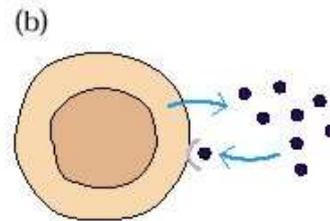
<p>I. Természetes immunitásban és gyulladásos folyamatokban résztvevők</p>	<p>IFNα, IFNβ TNFα, IL-1α, IL-1β, IL-6, IL-17</p> <p>Kemokinek: CXCL8(IL-8), CCL3,4 (MCP, MIF)</p>
<p>II. A limfociták aktivációját és differenciálódását szabályozók</p>	<p>Th1: IL-2,, INFγ, TNFβ, IL-12 Th2: IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, Treg: IL-10, TGFβ, IL-35</p>
<p>III. Az immunsejtekérésére hatók</p>	<p>SCF, GM-CSF, IL-3, IL-7</p>

A citokinek hatásmódja I.:



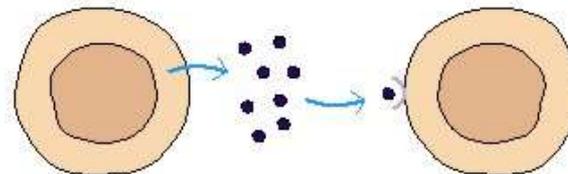
Citokint termelő sejt:

Célsejt:



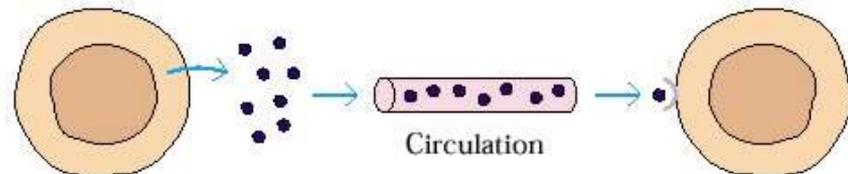
Autokrin hatás

a citokint termelő sejt



Parakrin hatás

közeli sejt



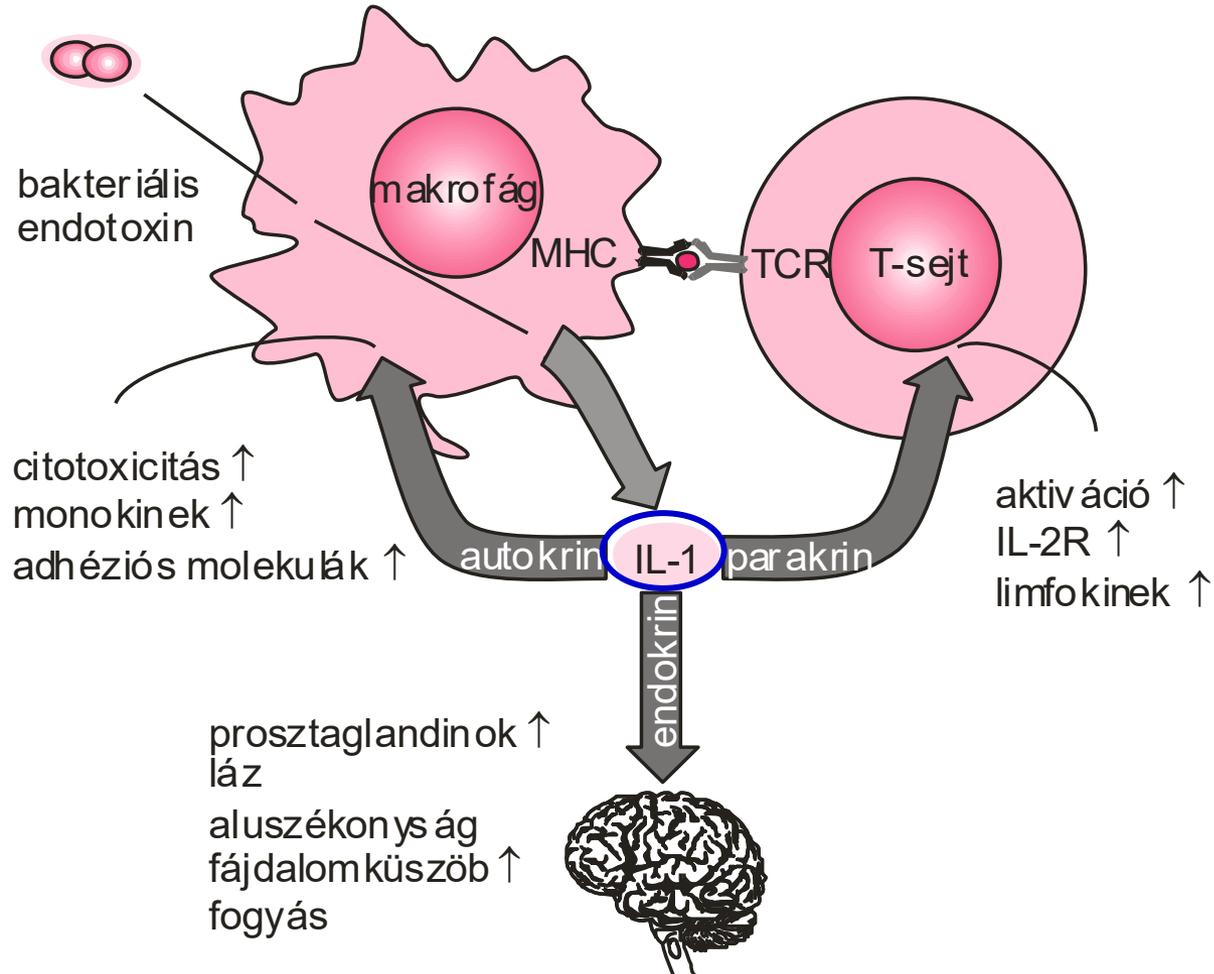
Endokrin hatás

Circulation

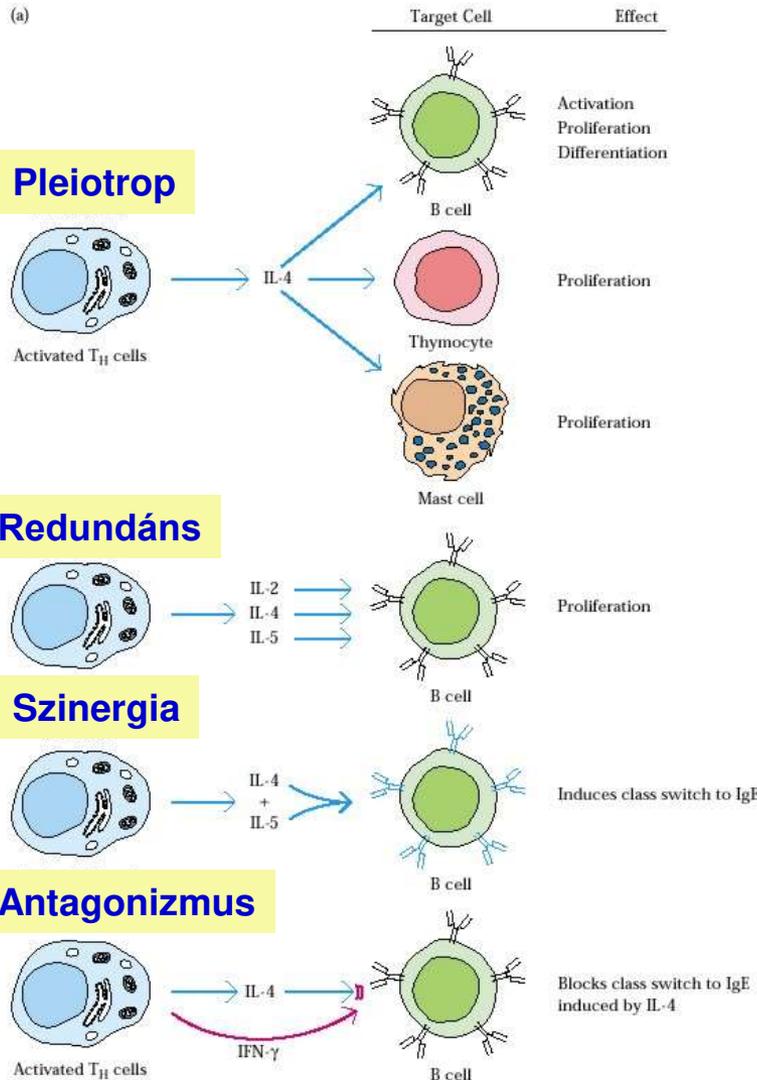
Distant cell

távol levő sejt

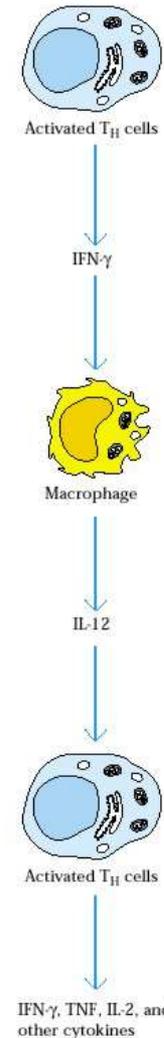
Az IL-1 autokrin, parakrin és endokrin hatása



A citokinek hatásmódja II.:



Kaszád elindítása



Egy citokin különböző célsejten, különböző hatást vált ki

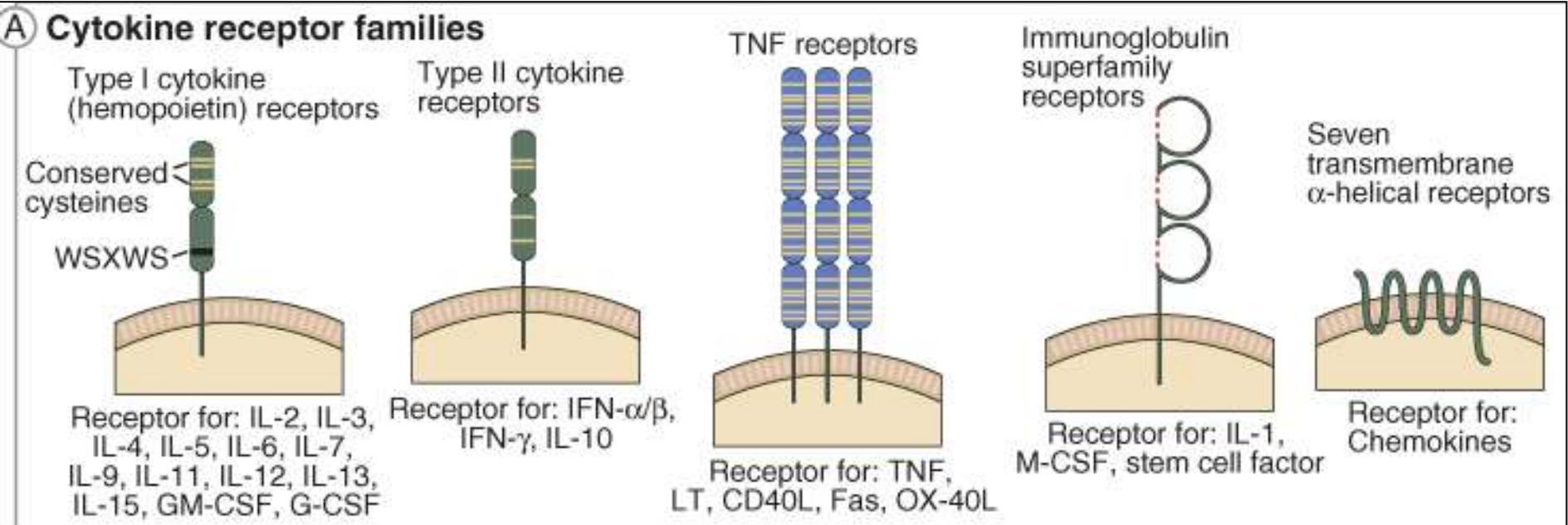
Több citokin hatása a célsejten azonos

Két citokin együttes hatása nagyobb a célsejten additív hatásuknál

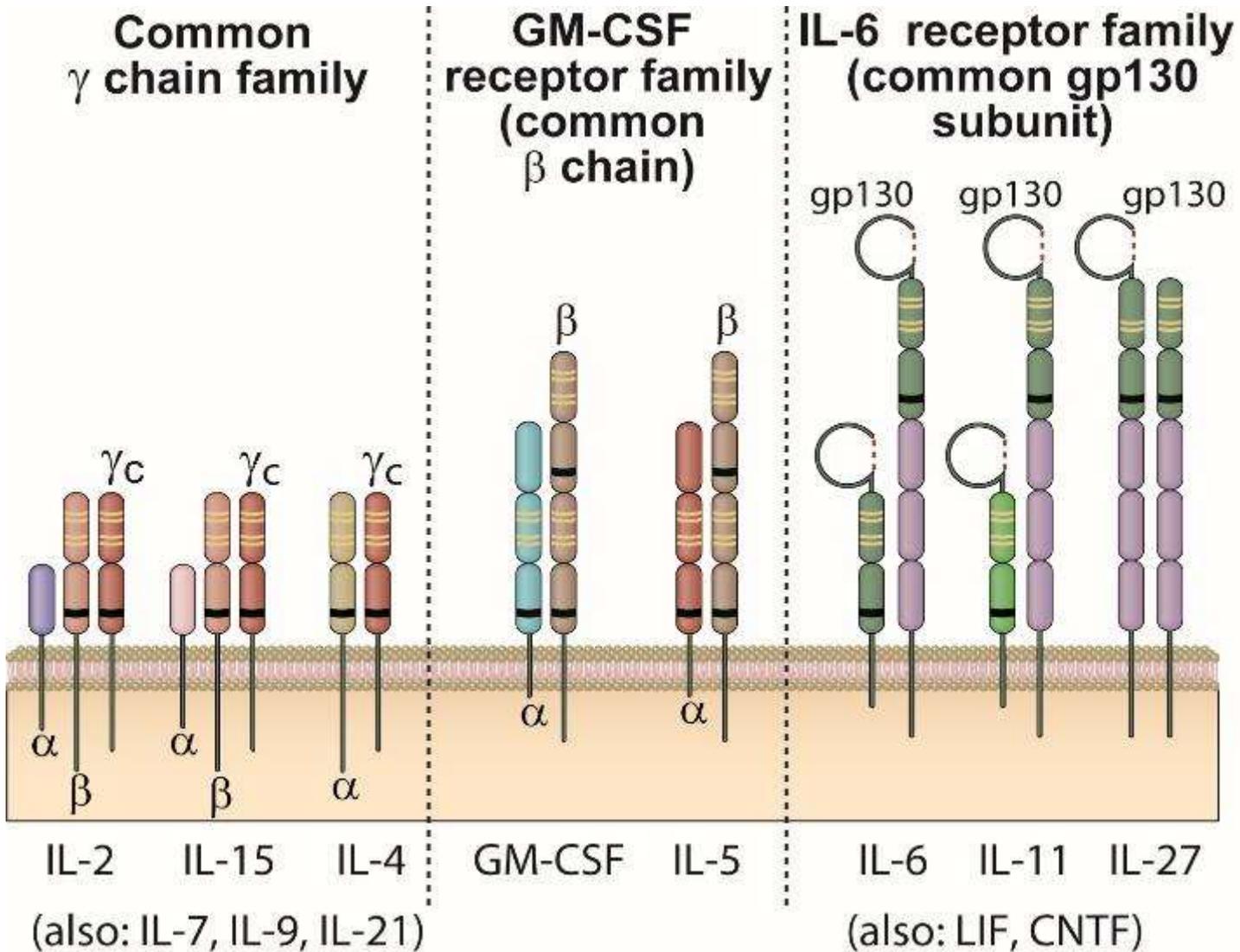
A célsejten egyik citokin gátolja a másik hatását

Citokin receptorok

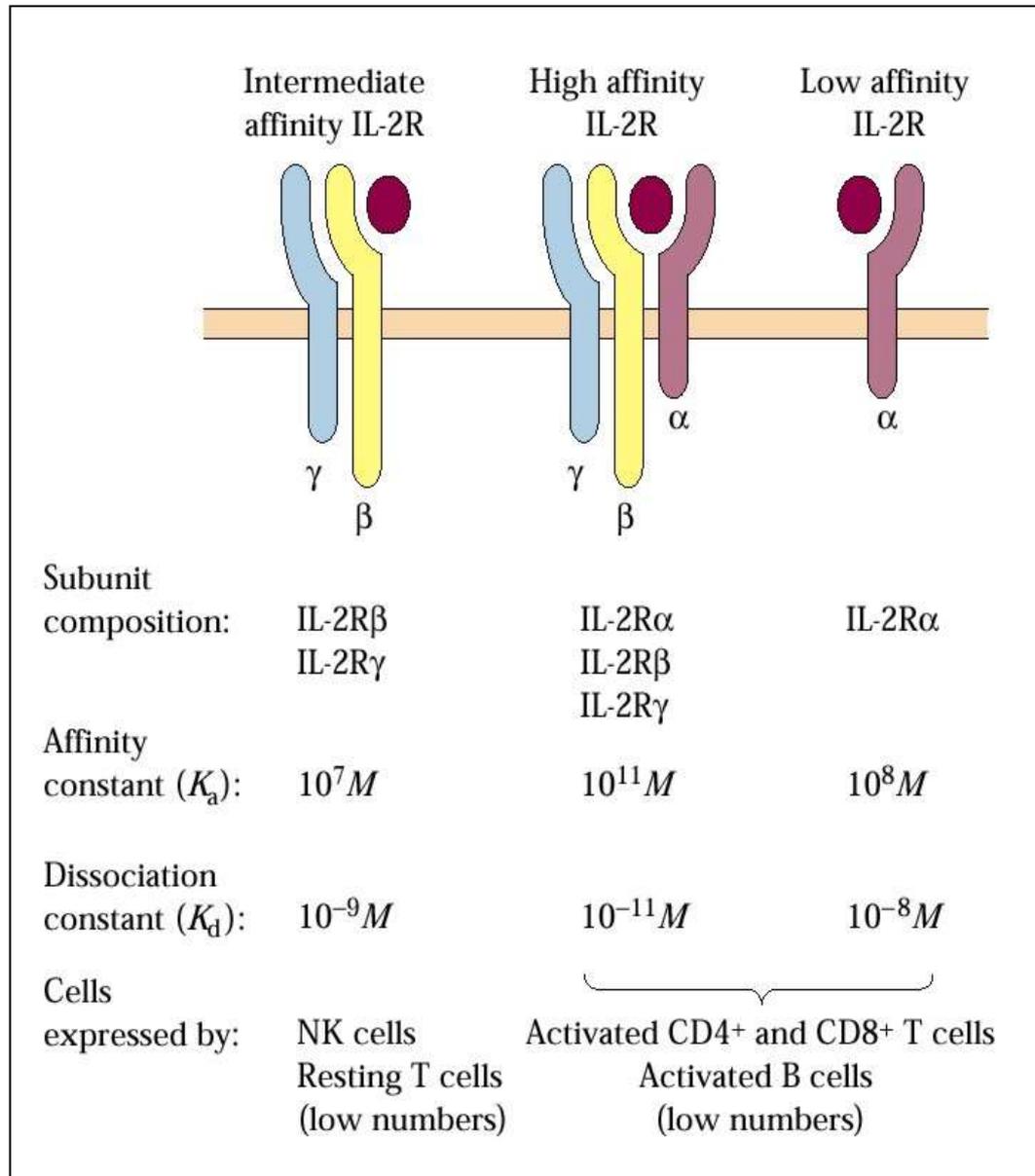
Citokin receptorok



A többláncú citokin receptorok jellemzői



IL-2 receptor láncok:



Cytokine Induction of JAK-STAT Signaling

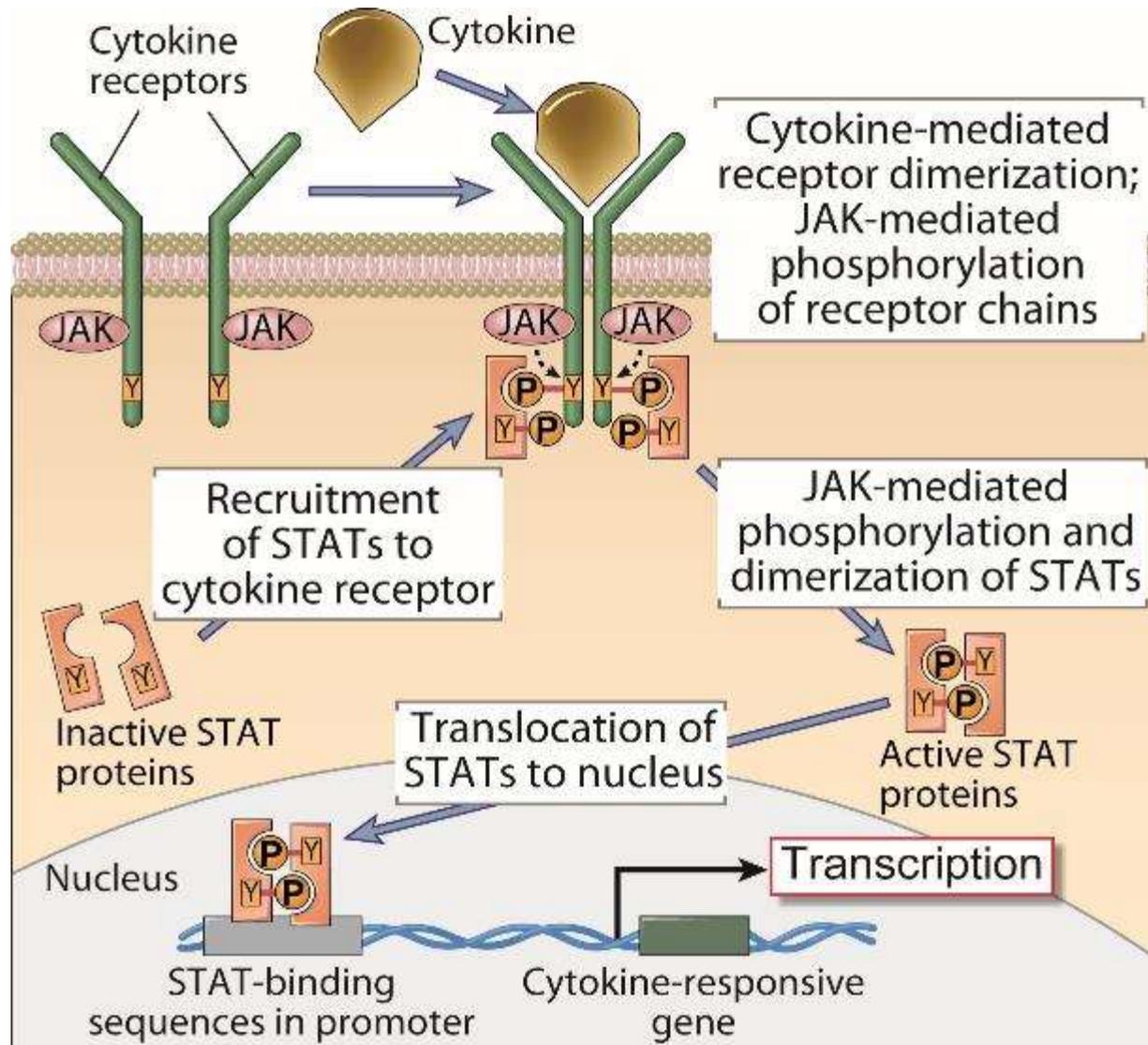


Fig. 7-25

TNF Receptor Signaling

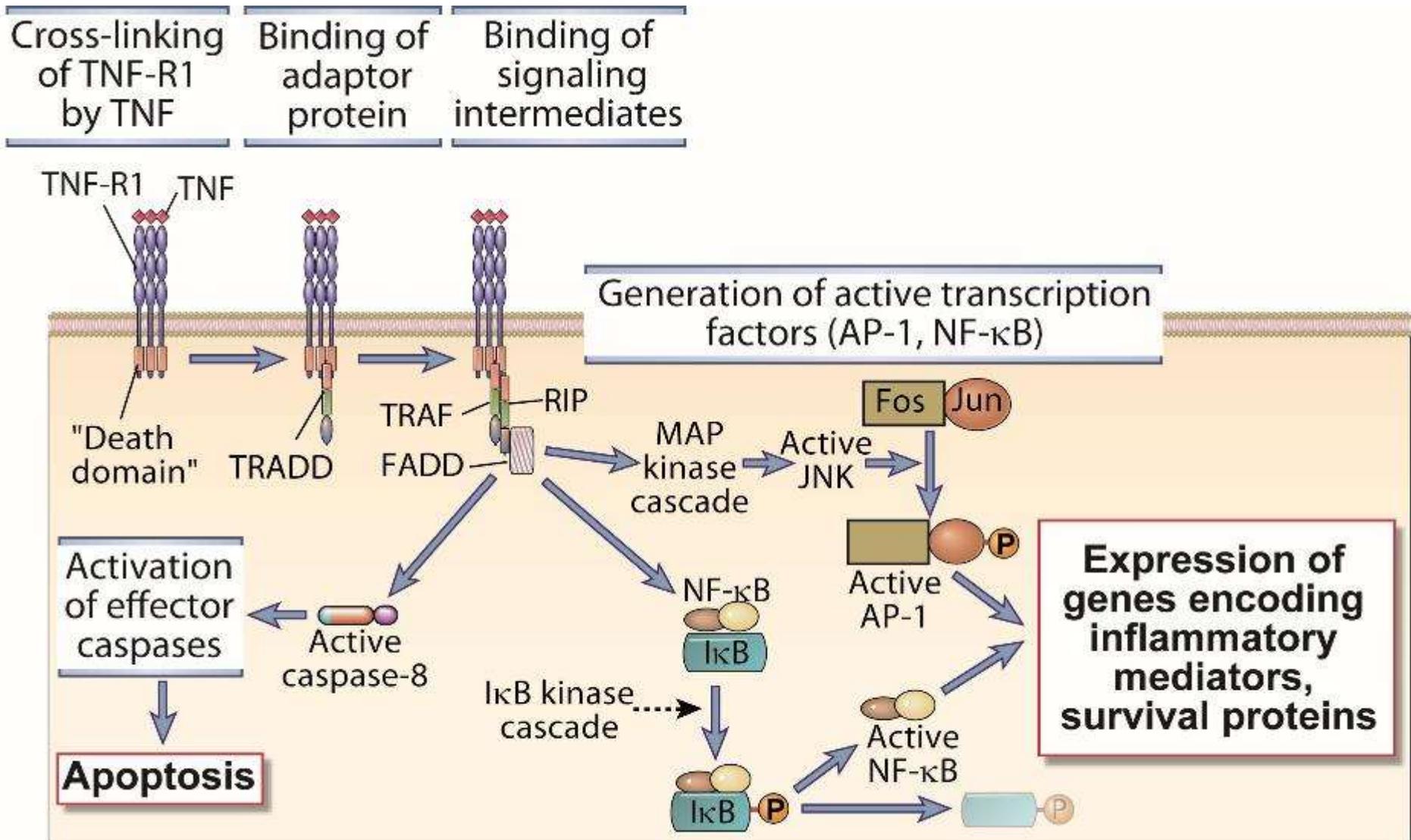
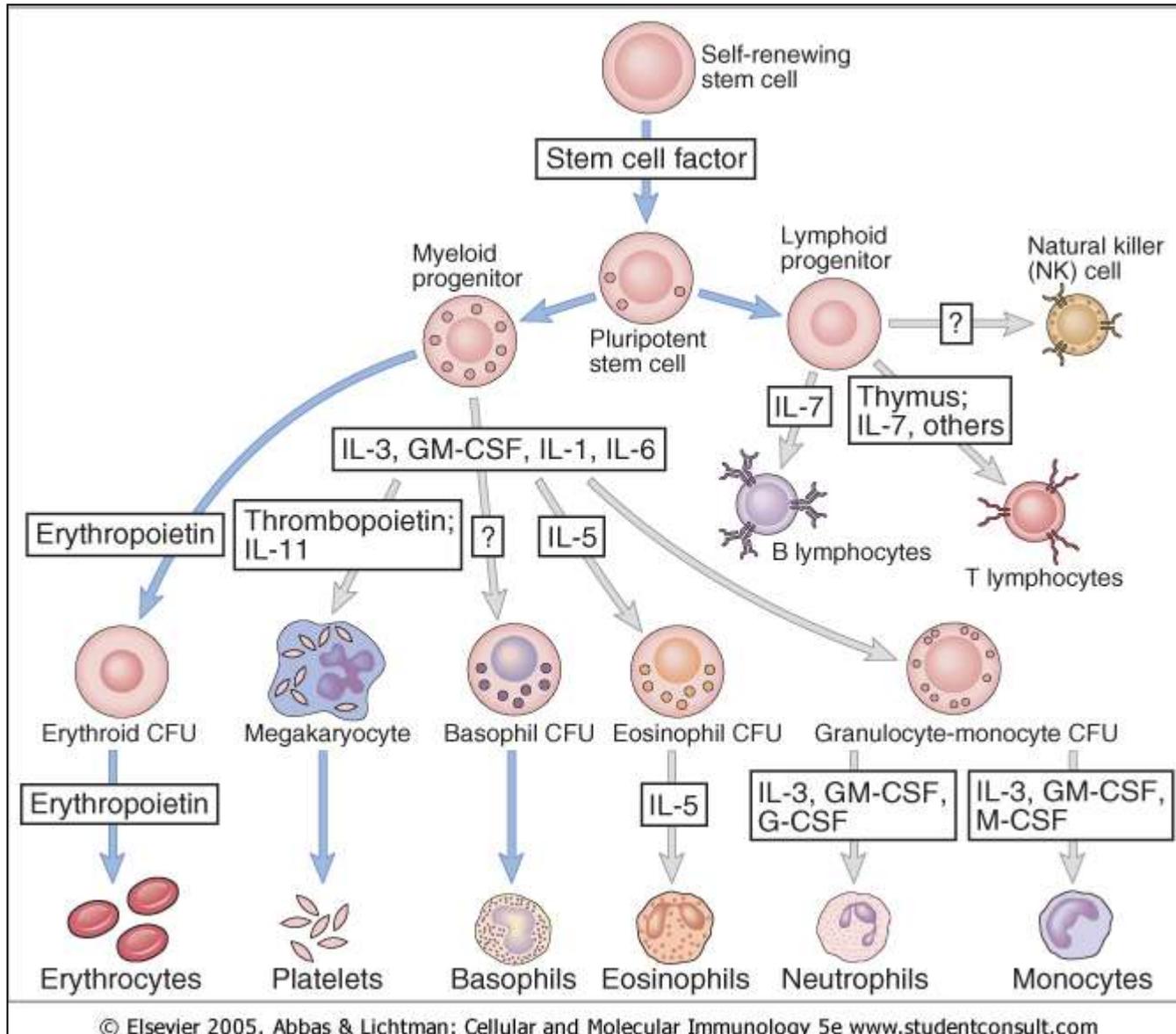


Fig. 7-24

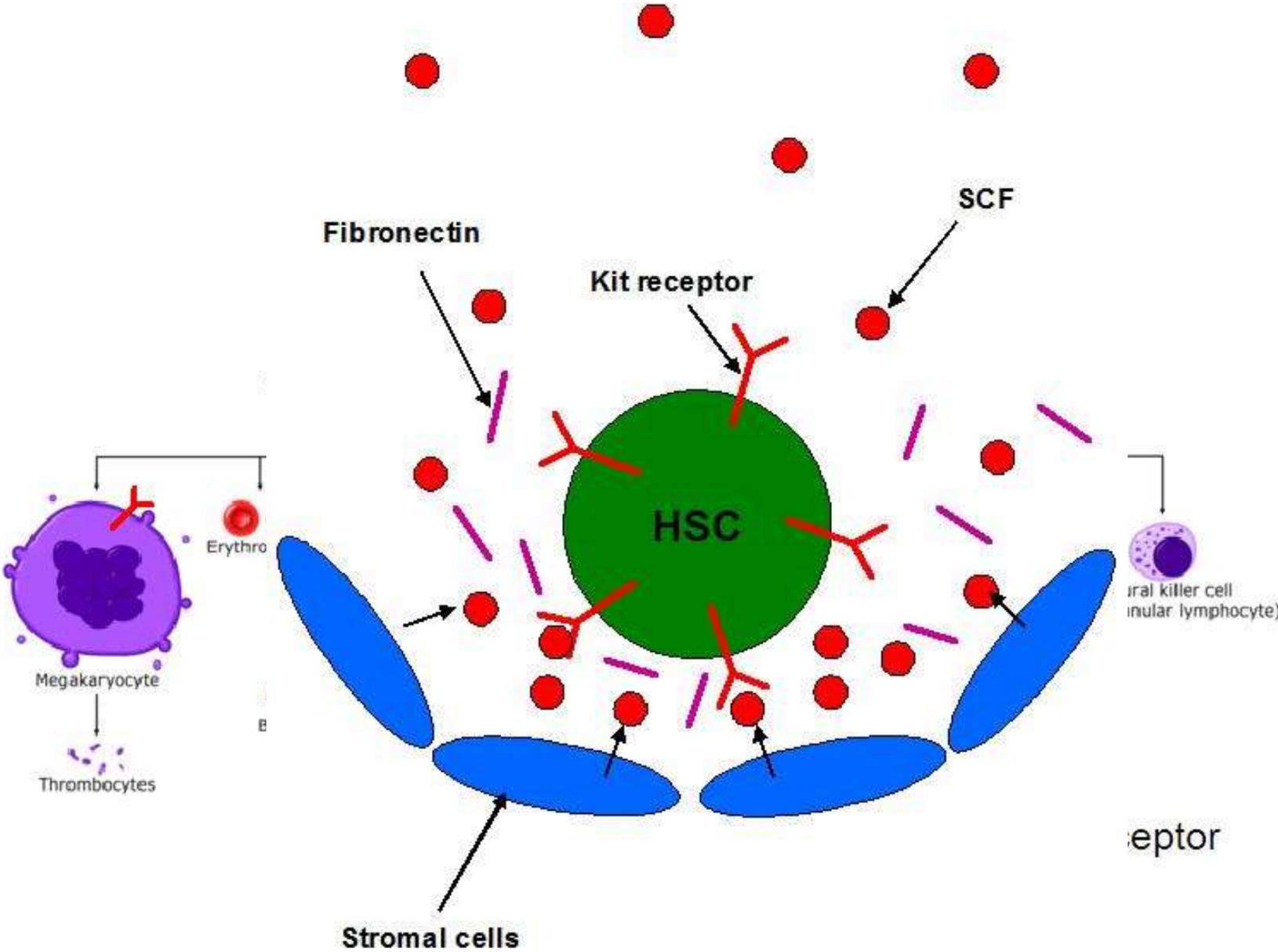
A citokinek funkcionális csoportjai:

**1. Haematopoetikus citokinek –
növekedési faktorok**

Az immunsejtek érésére ható citokinek



Stem cell factor receptor = c-KitR



Immunsejtek érésére ható citokinek = hemopoetikus növekedési faktorok

CSF Colony Stimulating Factor

a csontvelpő progenitor sejtjeire hatnak

SCF, GM-CSF, IL-3 = multi-lineage (több-vonalon ható növekedési faktorok)CSF

M-CSF

G-CSF

EPO

TPO

IL-5

Lineage-specifikus (egy vonalra ható növekedési faktorok)

Hasonló szerkezet: monomer

4 α helikális rész

IL-7

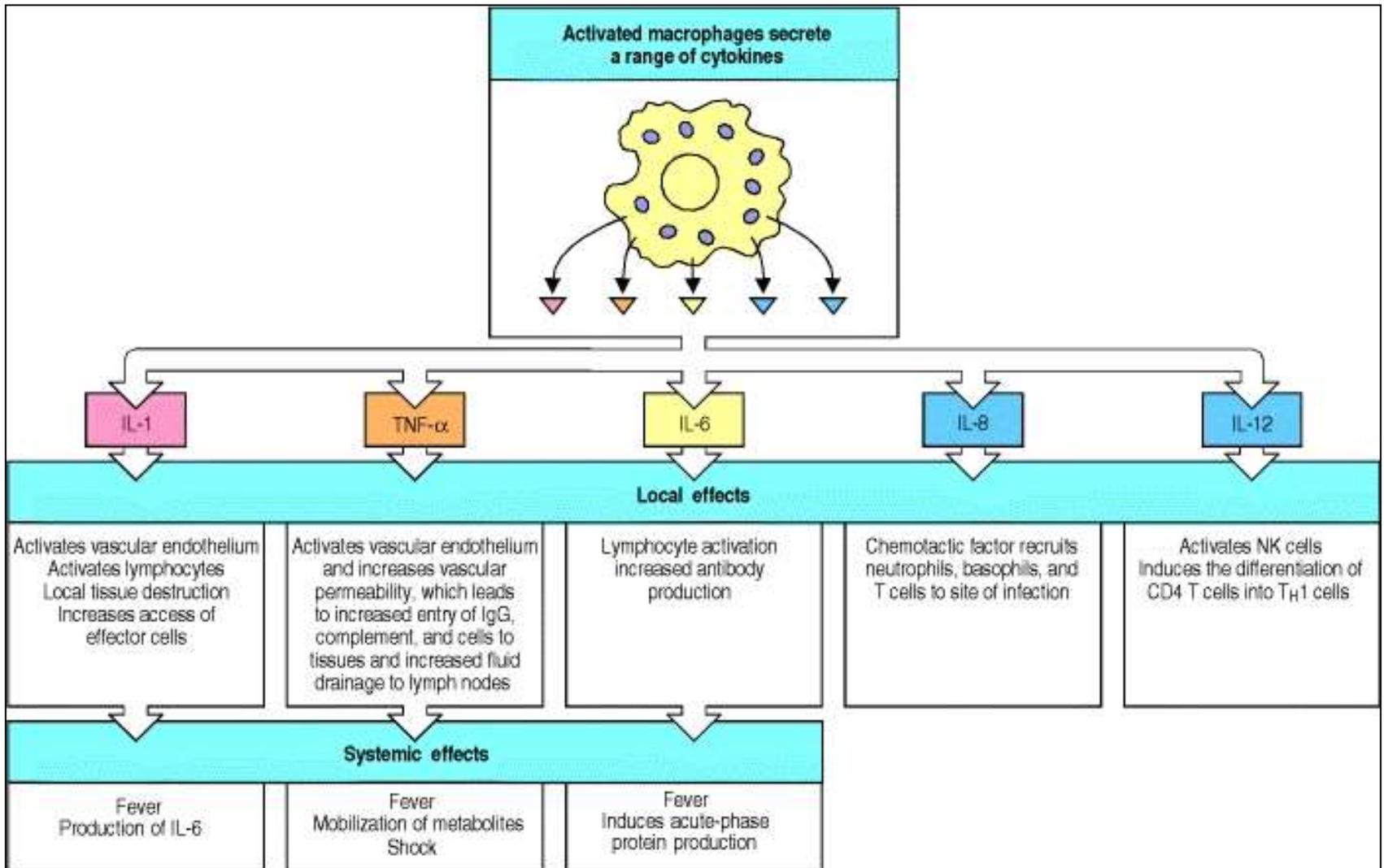
T sejt

B sejt érés

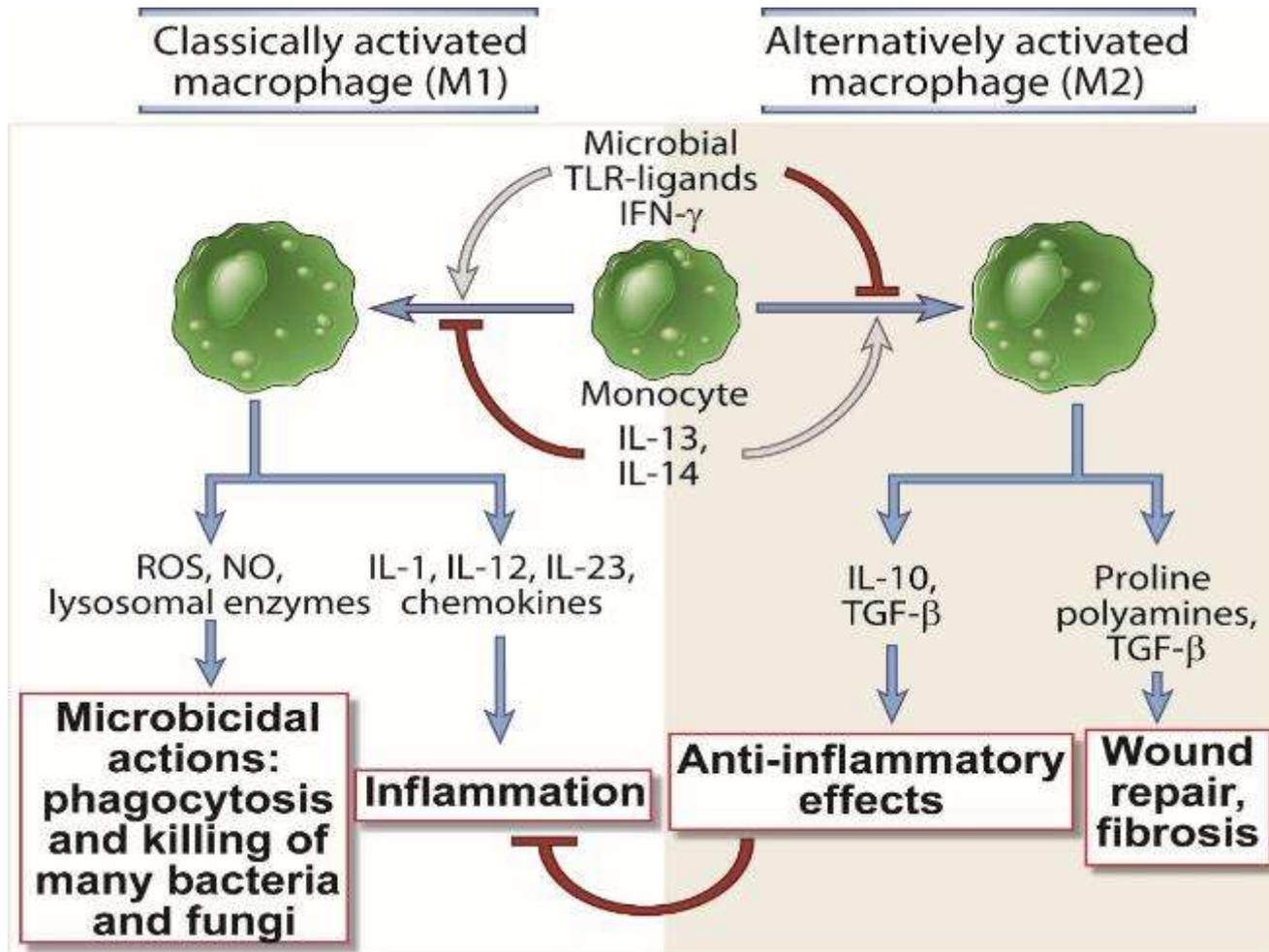
A citokinek funkcionális csoportjai:

2. Gyulladásos citokinek, kemokinek

I.1. A gyulladásoos citokinek: $\text{TNF}\alpha$, IL-1, IL-6 → az akut fázis reakció



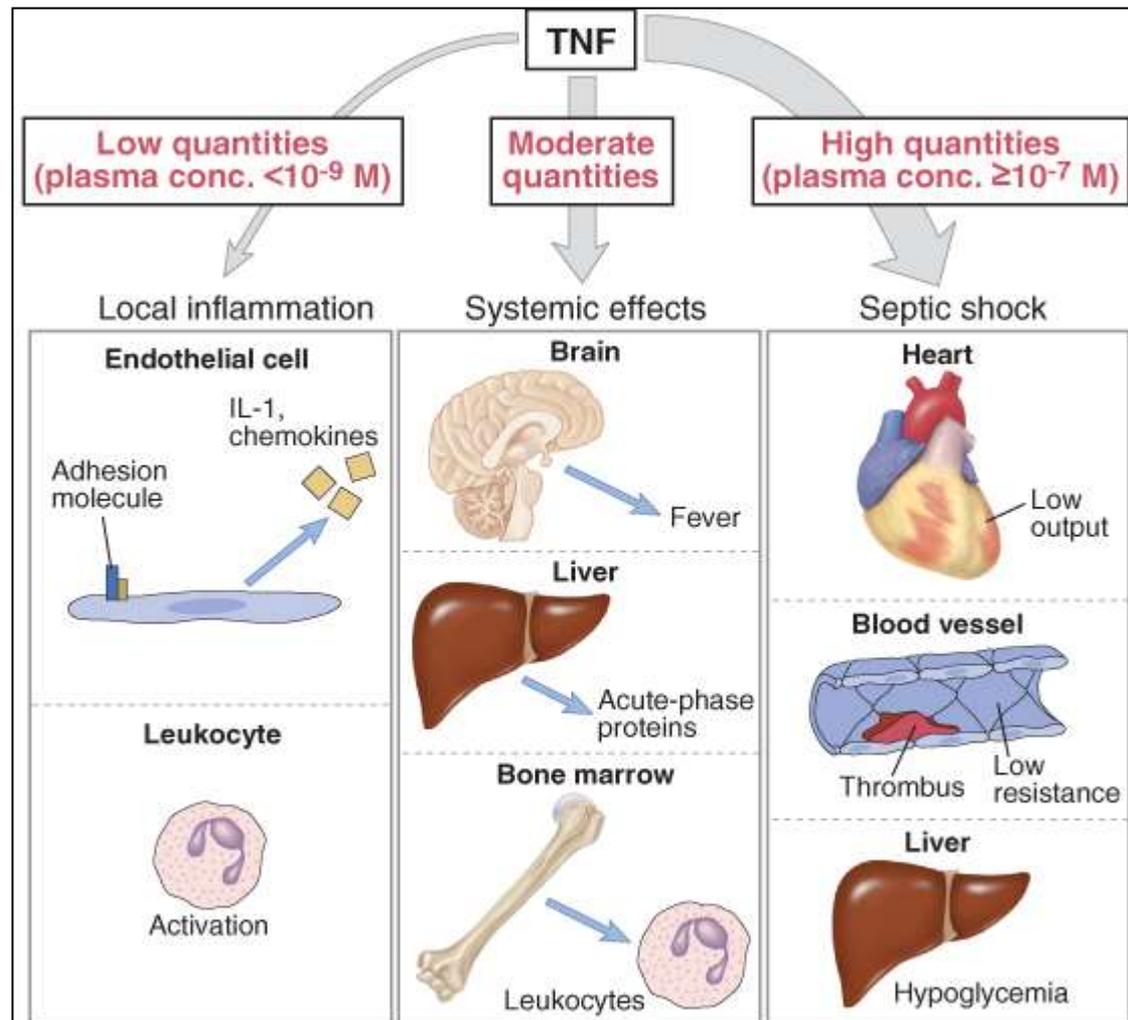
Makrofág polarizáció a gyulladásban



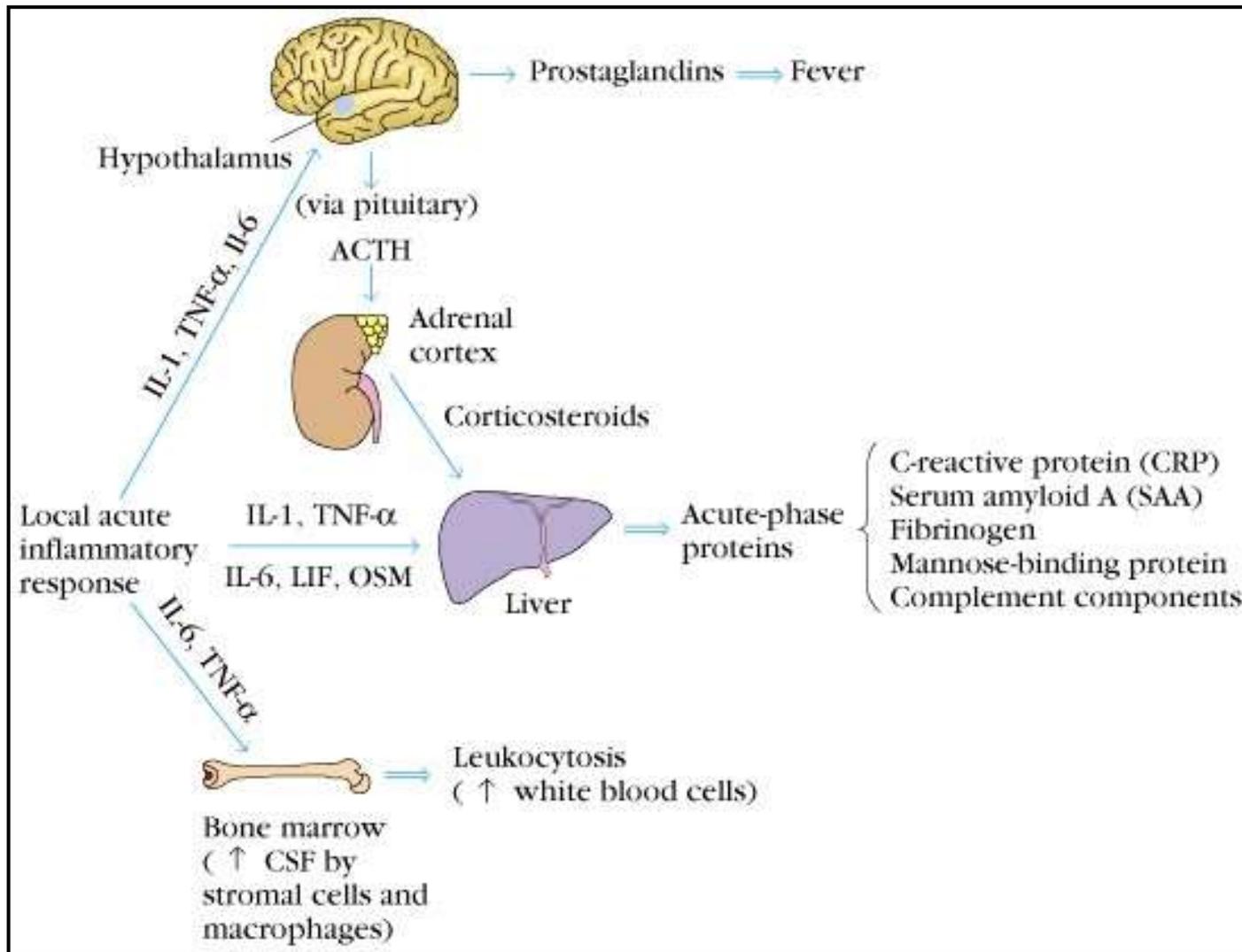
Abbas, Lichtman, Pillai: Cellular and Molecular Immunology 7th Edition, 2012.

Janeway CA Jr, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. Immunobiology, 2005.

A TNF koncentráció függő hatásai gyulladásos reakcióban



A gyulladási citokinek szisztémás hatásai

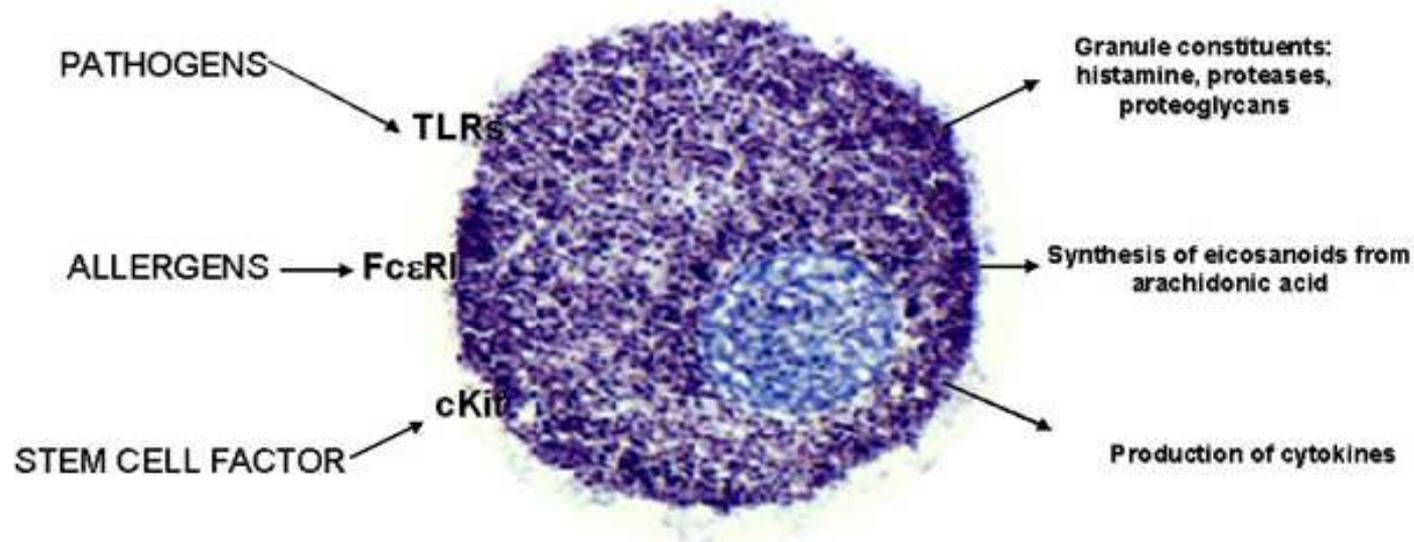


Hízósejt aktiváció mechanizmusa és a citokinek

TLR4 – LPS → IL-1 β , TNF- α , IL-6 and IL-13, without mast cell degranulation

TLR2 – peptidoglycan → mast cell degranulation and production of IL-4 and IL-5, IL-6, IL-13

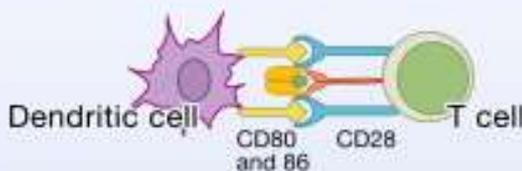
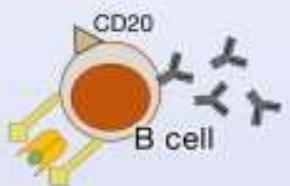
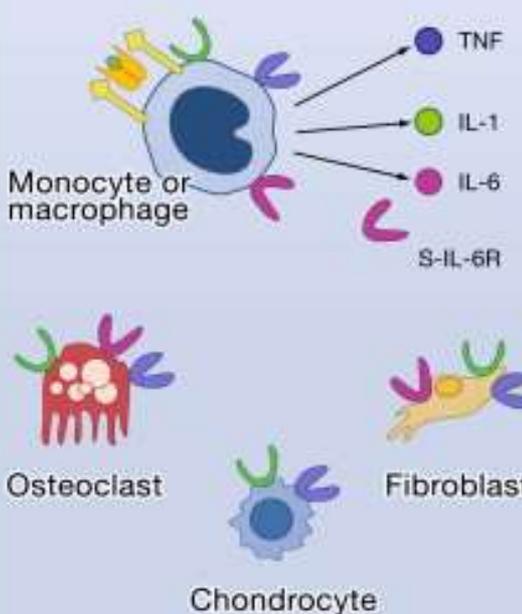
TLR3,7,9 – Poly (I:C), CpG oligonucleotid → release of pro-inflammatory cytokines and chemokines

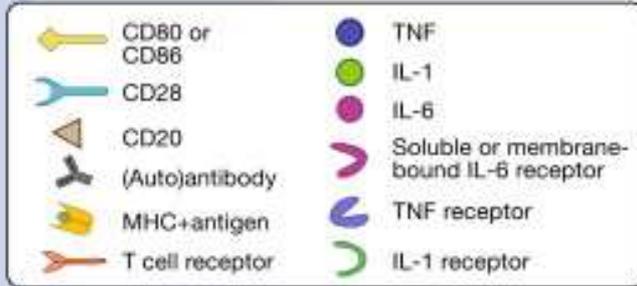


they express several hundred thousand high affinity receptors for IgE (Fc ϵ R1) and thus respond to IgE-directed antigens

express the pathogen-recognizing Toll-like receptors (TLRs) which probably account for the ability of mast cells to mount an effective innate immune response

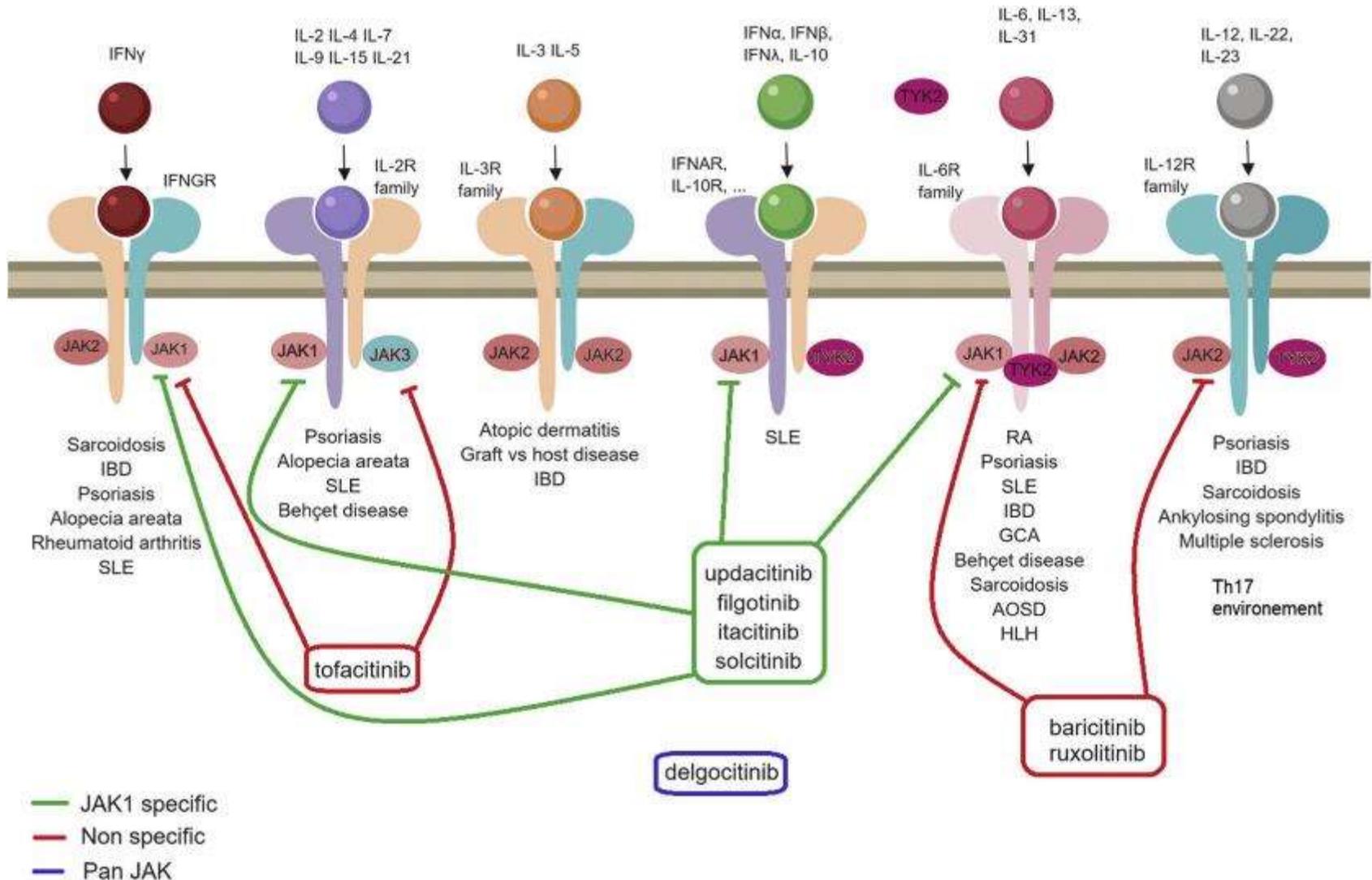
Terápiás célpontok immun-mediált gyulladáso kórképekben (IMID: RA, SLE, IBD, JIA, PsA)

Cell type or Cell interaction	Therapeutic	Proposed mechanism
 <p>Dendritic cell</p> <p>CD80 and 86</p> <p>CD28</p> <p>T cell</p>	CTLA-4Ig (Abatacept)	Binds CD80 and 86 and inhibits CD80 and 86 - CD28 interaction
 <p>CD20</p> <p>B cell</p>	Anti-CD20 (Rituximab)	Depletes B cells
 <p>Monocyte or macrophage</p> <p>TNF</p> <p>IL-1</p> <p>IL-6</p> <p>s-IL-6R</p> <p>Osteoclast</p> <p>Fibroblast</p> <p>Chondrocyte</p>	<p>TNF inhibitors (Adalimumab, Etanercept, Infliximab)</p> <p>IL-1Ra (Anakinra)</p> <p>Anti-IL6R (Tocilizumab)</p>	<p>Binds TNF and blocks binding to TNFR</p> <p>Engages IL-1R and blocks IL-1 binding to IL-1R</p> <p>Binds IL-6R and s-IL-6R and prevents IL-6 binding to IL-6R</p>



- CD80 or CD86
- CD28
- CD20
- (Auto)antibody
- MHC+antigen
- T cell receptor
- TNF
- IL-1
- IL-6
- Soluble or membrane-bound IL-6 receptor
- TNF receptor
- IL-1 receptor

JAK inhibitorok



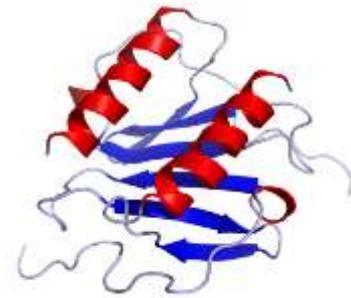
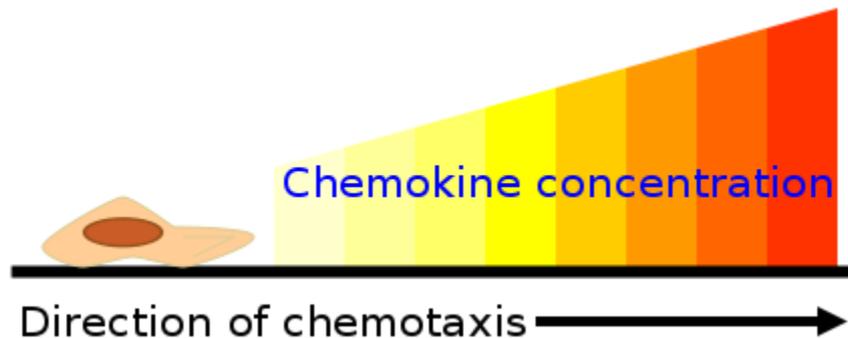
A JAK inhibitorok olyan kináz gátló szerek, amelyeket a citokin jelpályák gátlására használnak csontvelői vérbépzési betegségek (pl. policitémia vera) vagy gyulladásos/autoimmun kórképek kezelésére.

Kemokinek

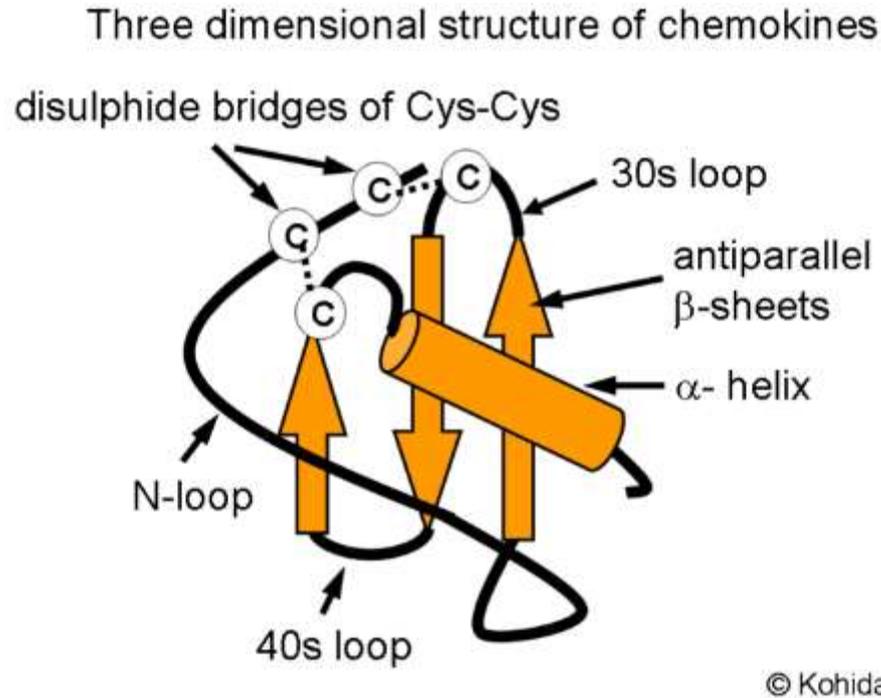
- Kemotaktikus citokinek: „csalogató” molekulák

Funkciójuk: Kemotaxis indukálása: - sejtek vándorlásának
- toborzásának irányítása
- adhéziójának fokozása

- Limfociták vándorlása a nyirokcsomóba
- Effektor limfociták „homing”-ja
- Fagocita sejtek vándorlása a gyulladásos területre
- Homeosztatis kemokinek: normál immunszöveti szerkezet



Kemokinek szerkezete



- „kis citokinek”: MW: (8-10 kD)
- 4 konzervált helyen levő cisztein (C)→
- Görög kulcshoz hasonló harmadlagos szerkezet

„C” elhelyezkedése alapján csoportosítás:

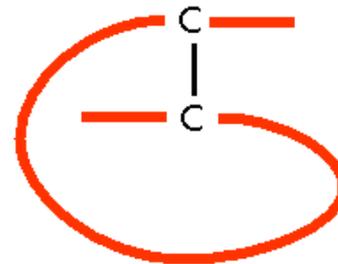
(Cysteinek megjelenése)

a kemokinek (CXC)

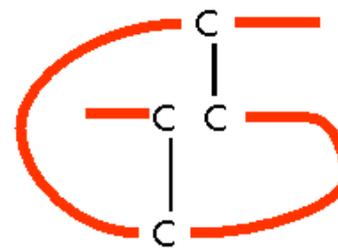
b kemokinek (CC)

g, d kemokinek

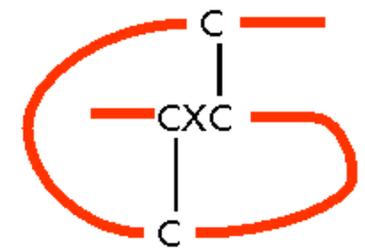
Structure of chemokine classes



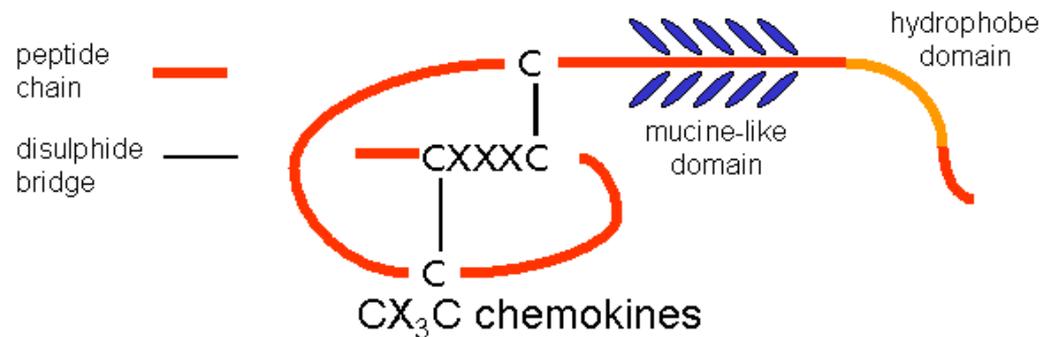
C chemokines



CC chemokines



CXC chemokines

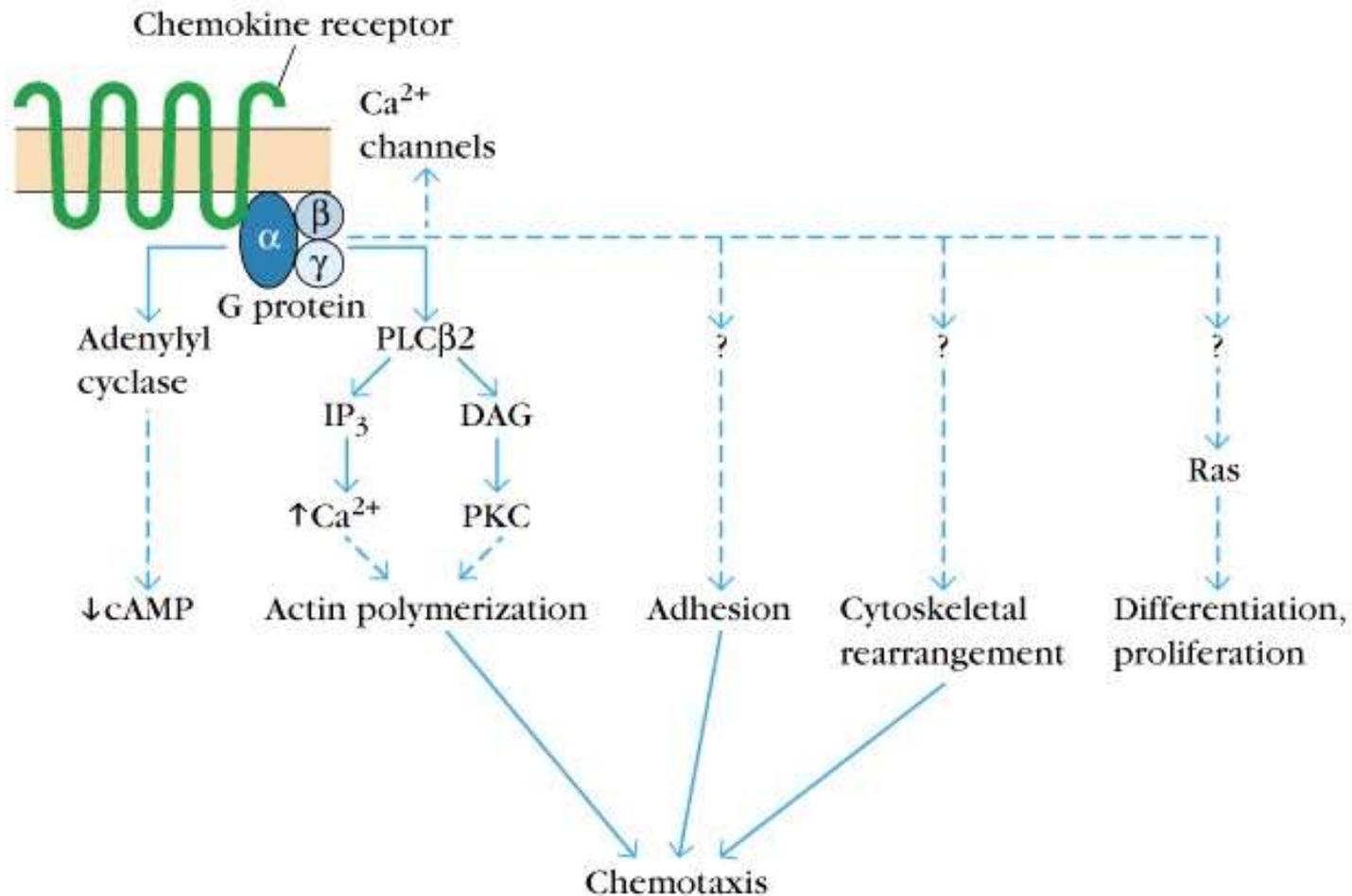


CX₃C chemokines

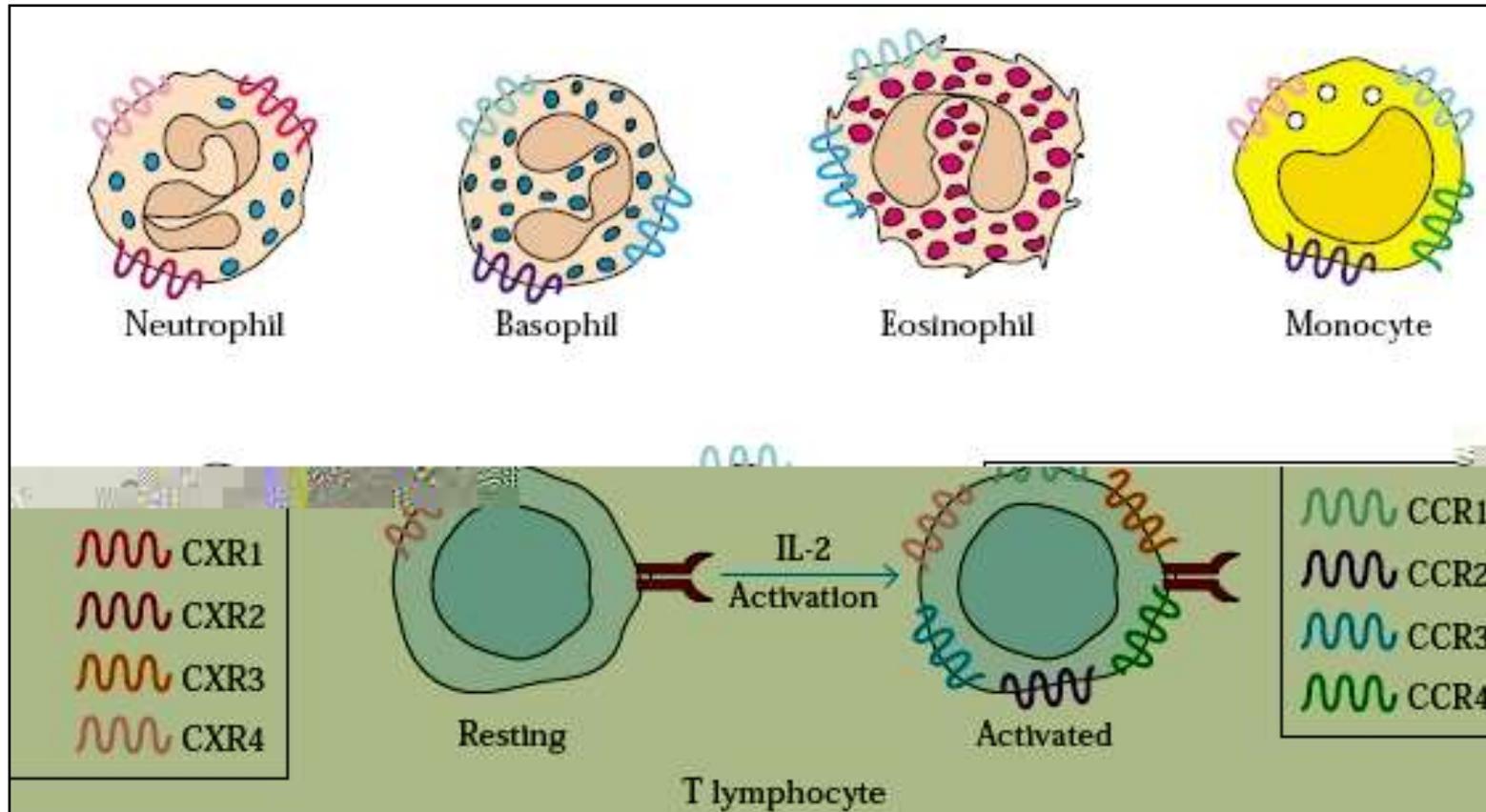
© Kohidai, L.

CXCL8(IL-8), CCL3,4 (MCP, MIF)

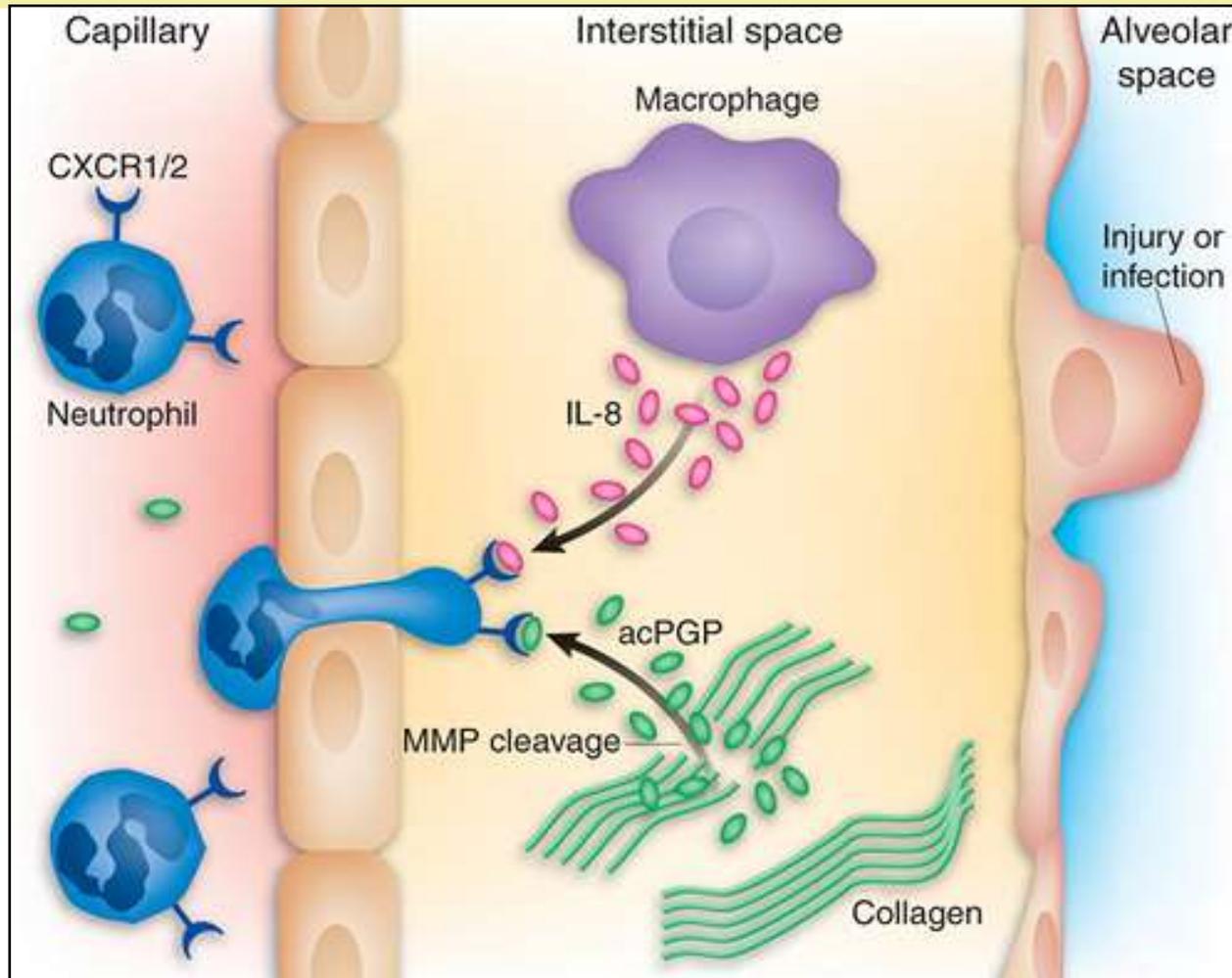
Chemokines signal through receptors coupled with G-proteins



Kemokin receptor expresszió aktiváció hatására

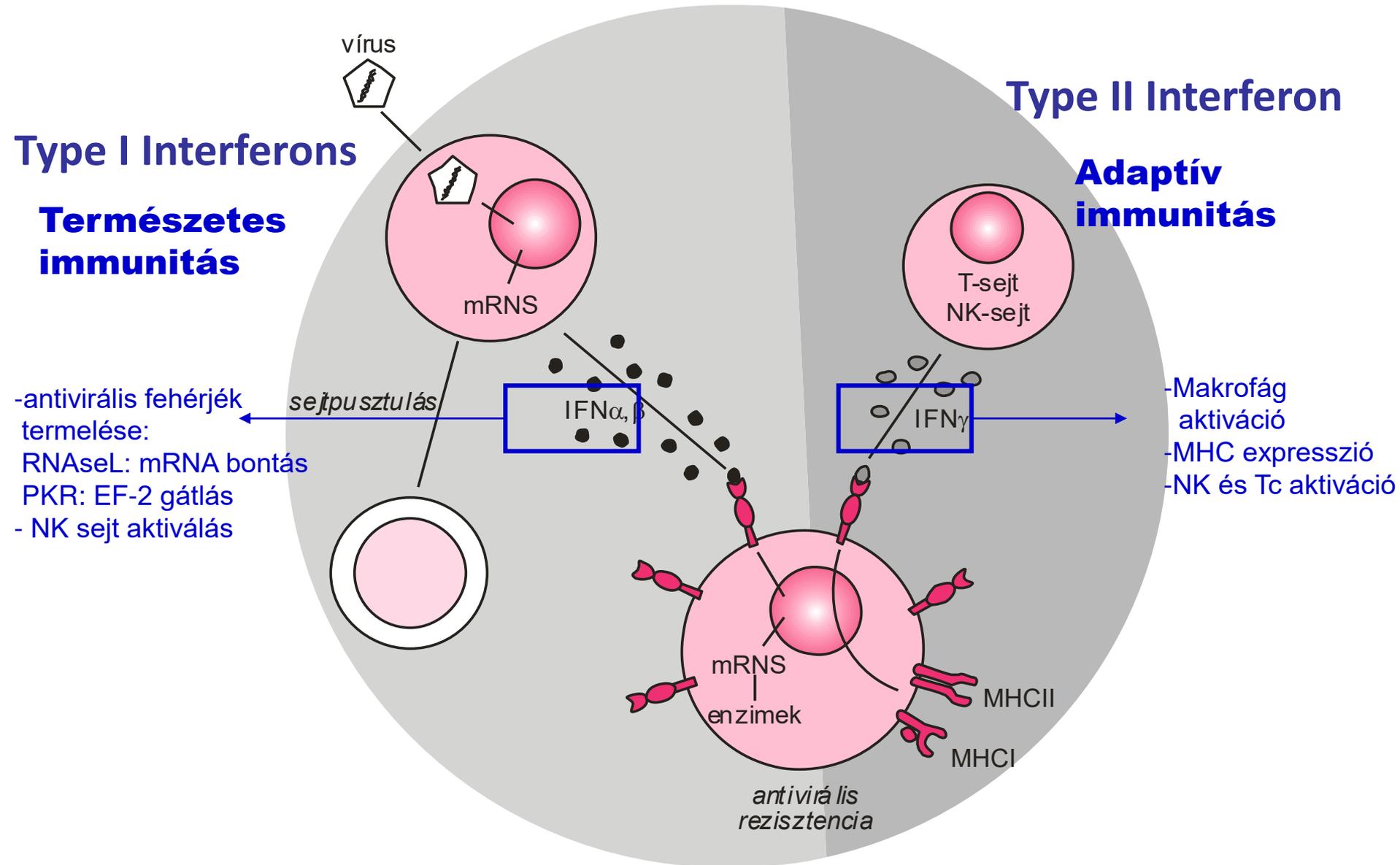


Recruitment of neutrophil granulocytes to the site of inflammation



CXCL8(IL-8), CCL3,4 (MCP, MIF), C3a, C5a

Az interferonok antivirális hatásai:



Biologic Actions of Type I Interferons (2)

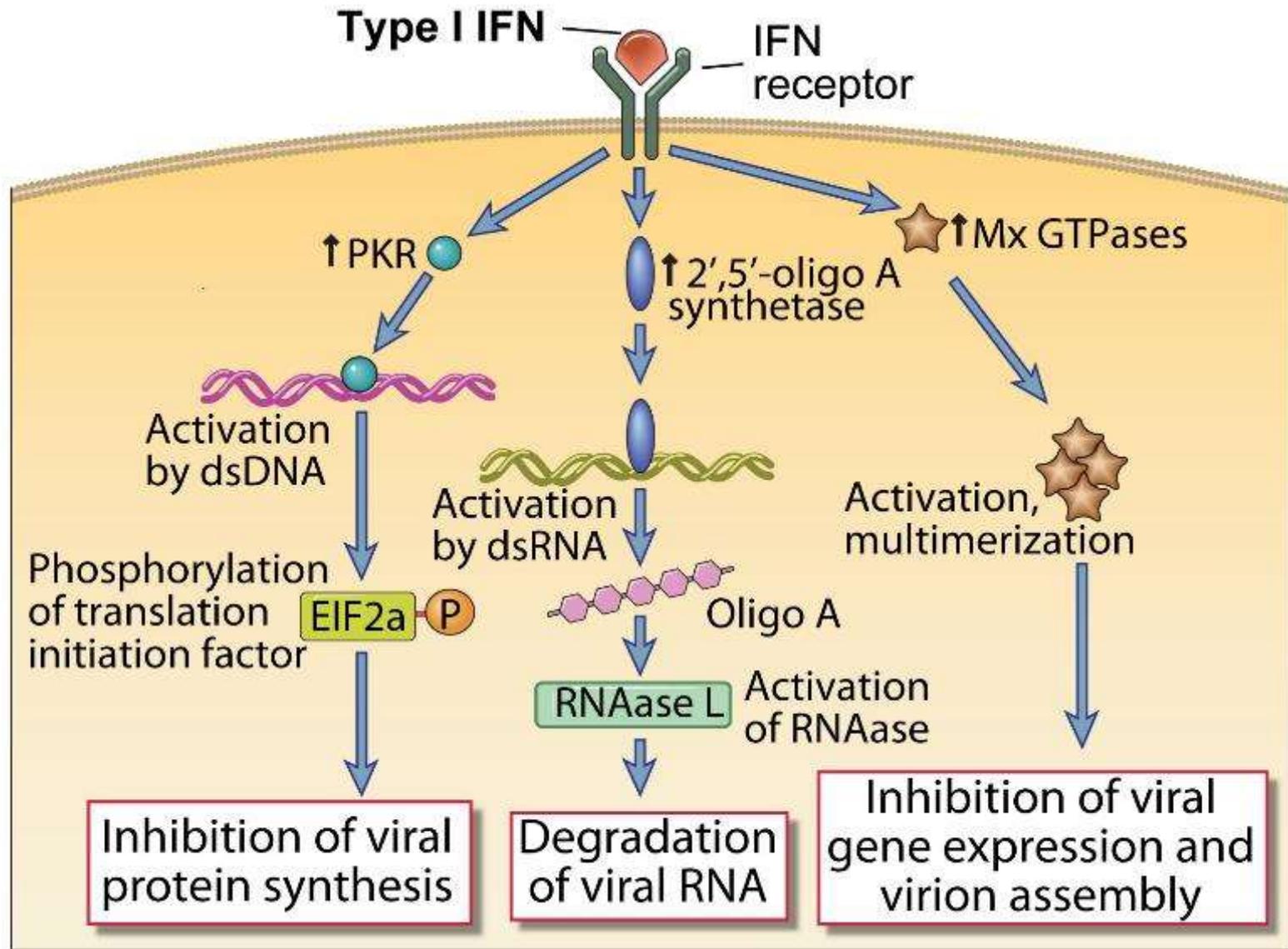


Fig. 4-15

A citokinek funkcionális csoportjai:

**3. A specifikus immunválaszt
szabályozó citokinek**



T_H1 , T_H2 , and T_H17 Subsets of $CD4^+$ T Cells

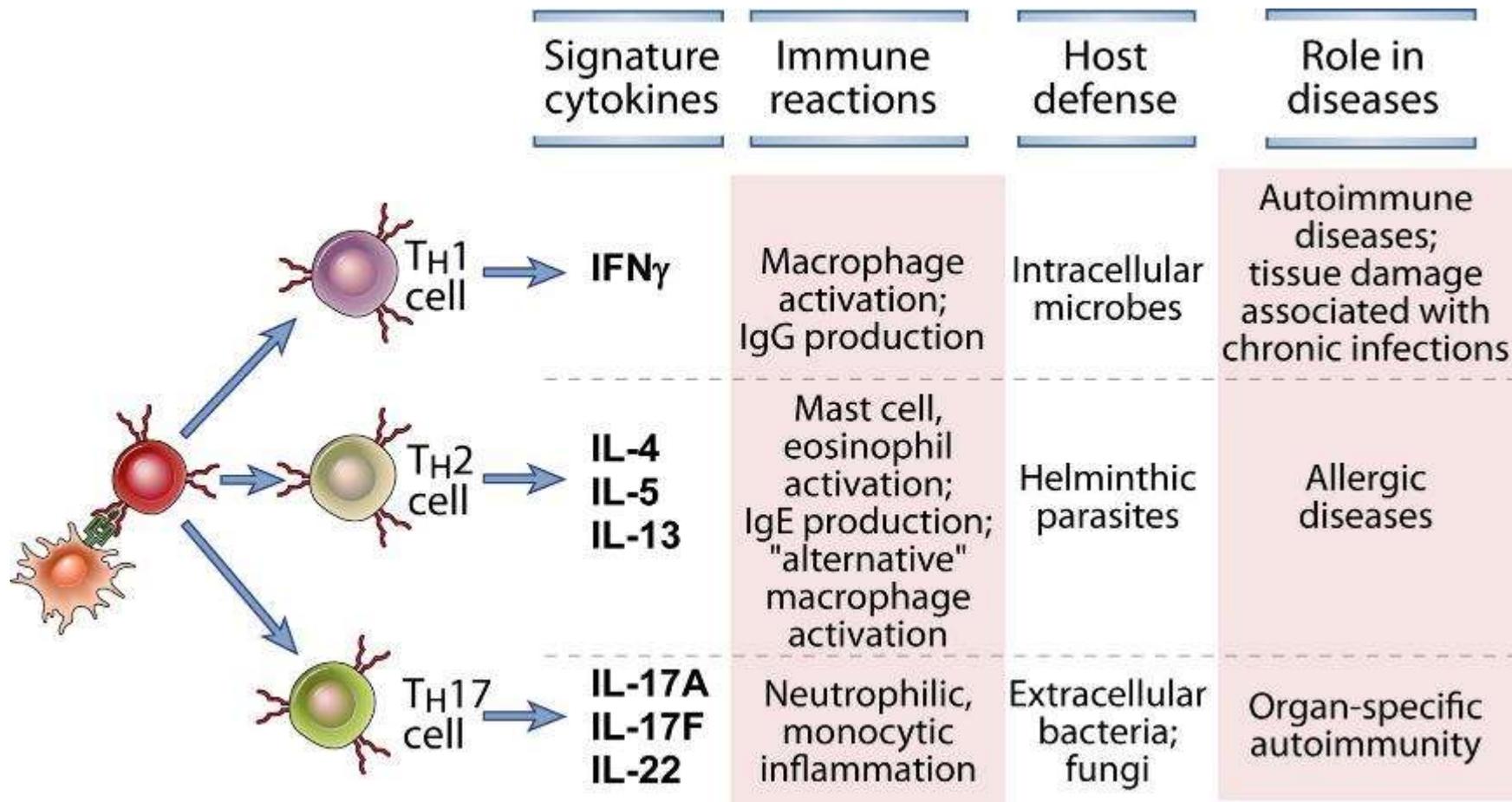
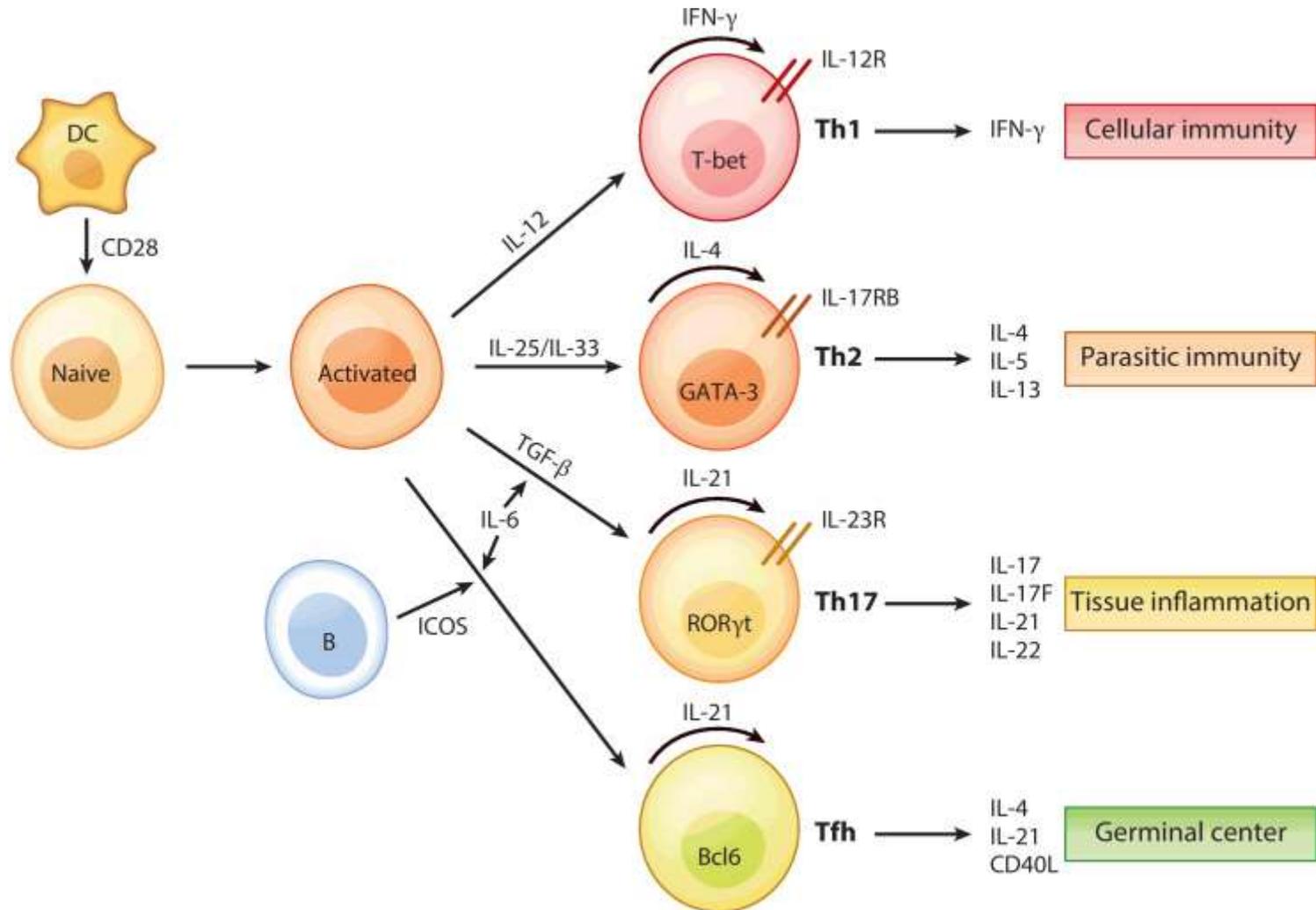
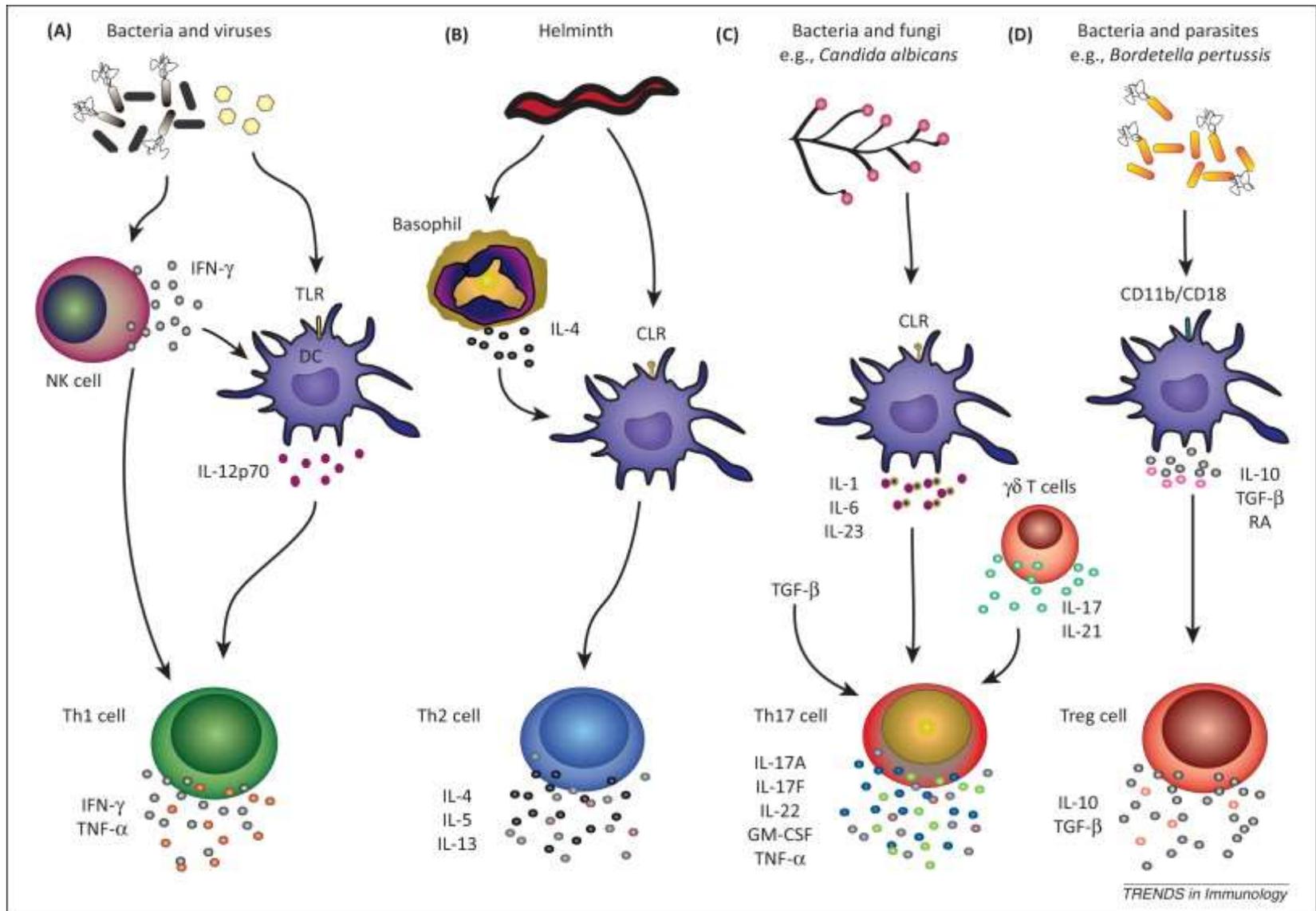


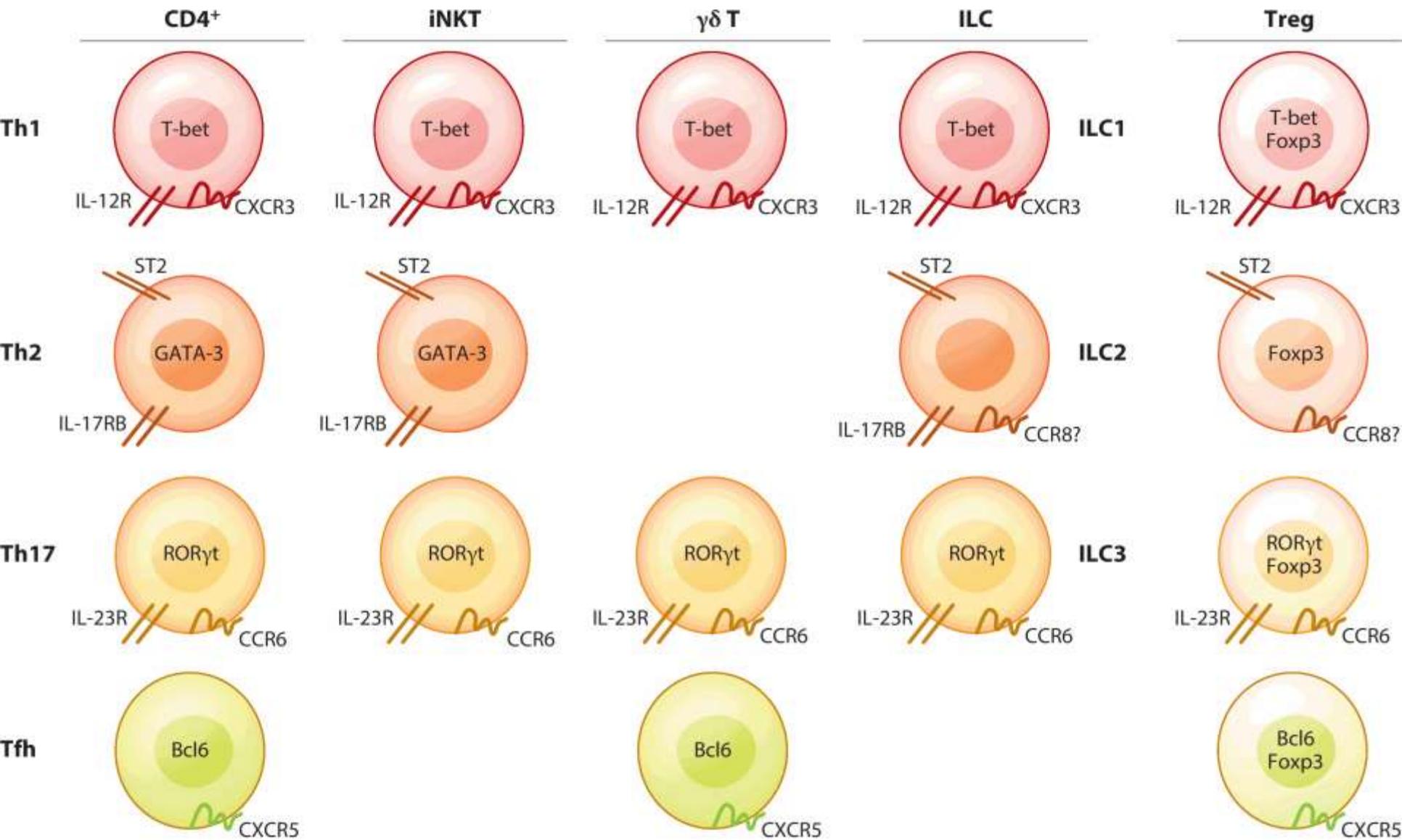
Fig. 9-13

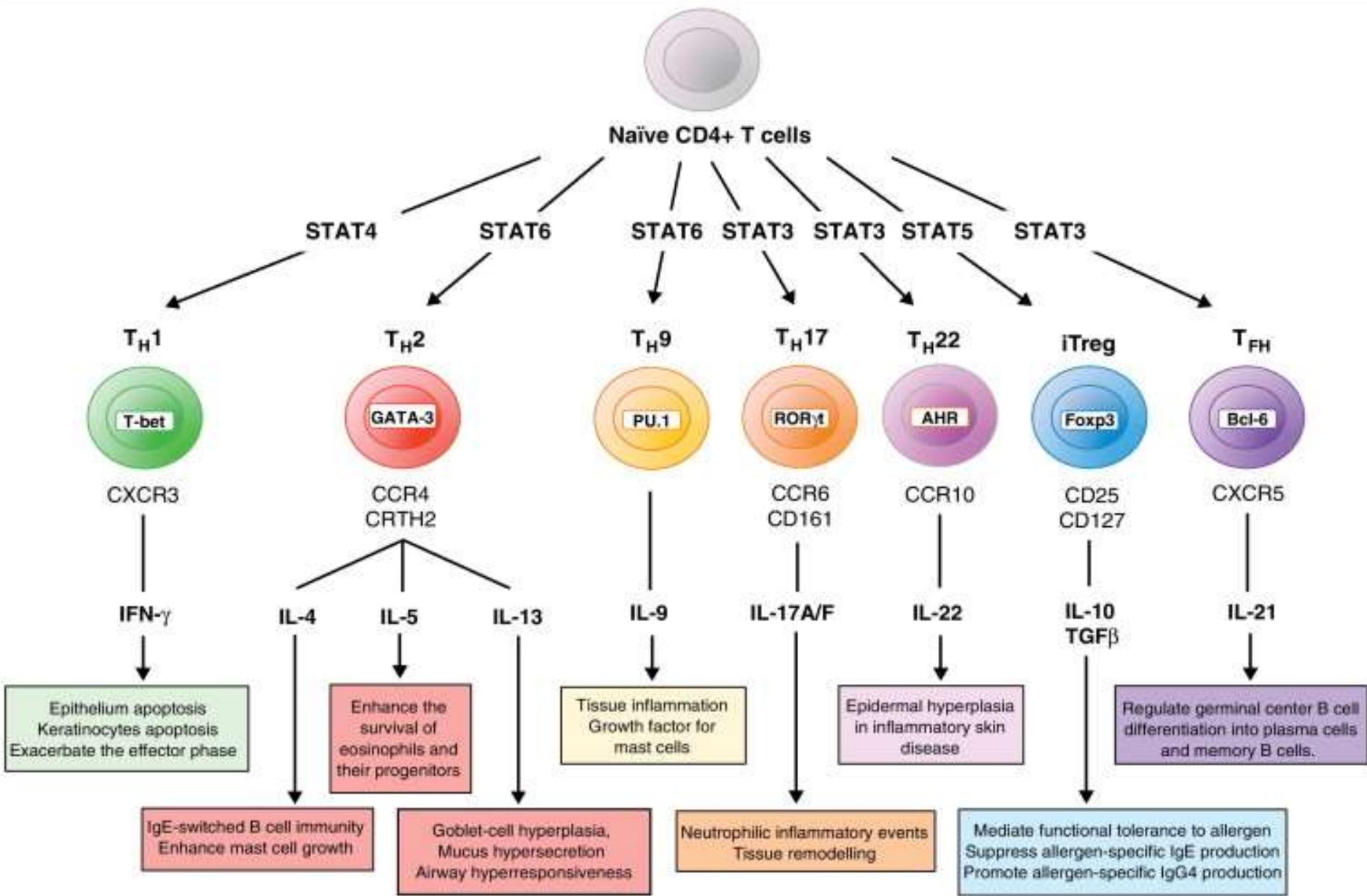
T helper sejt polarizáció



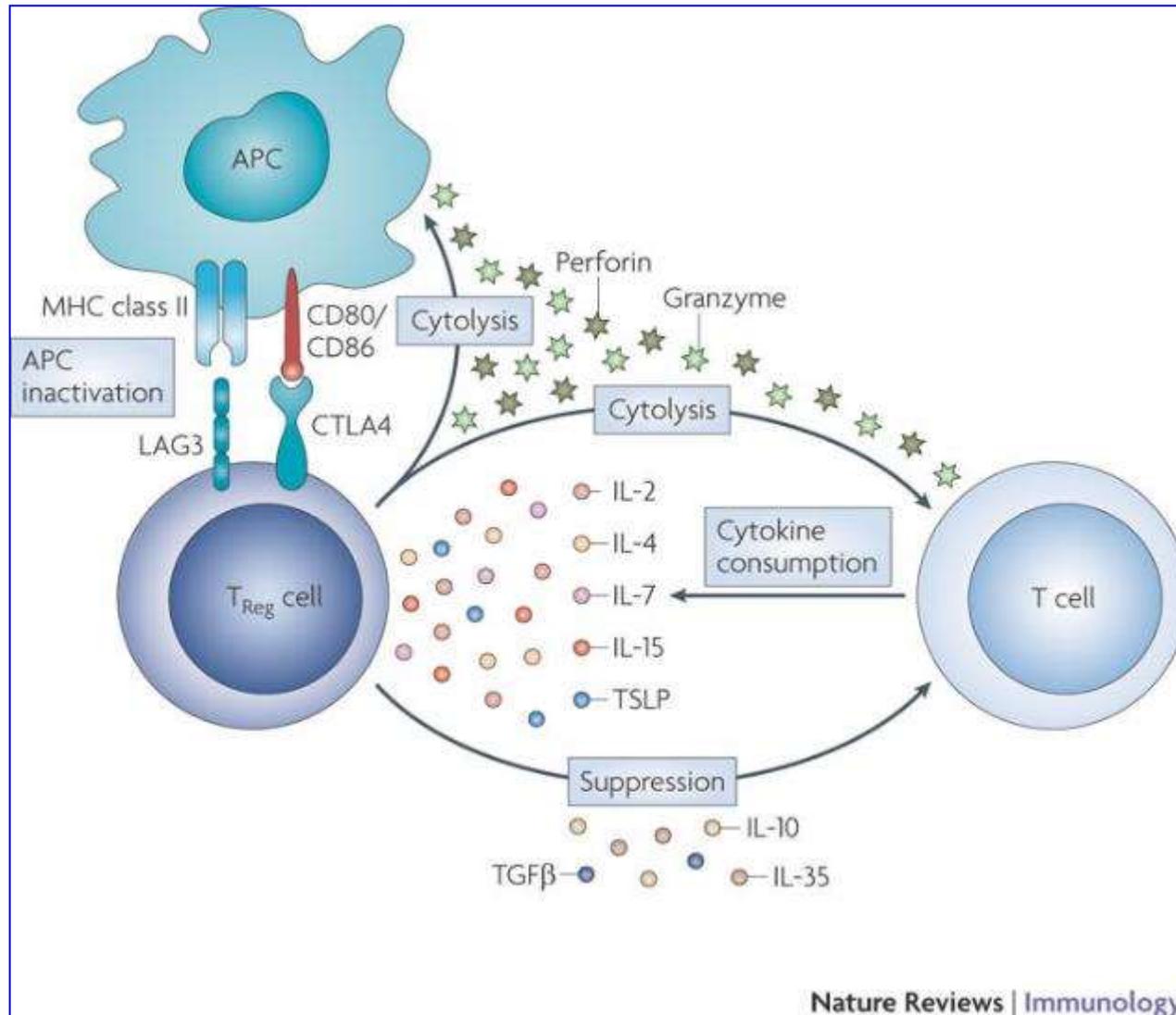
Dendritikus sejt polarizáció



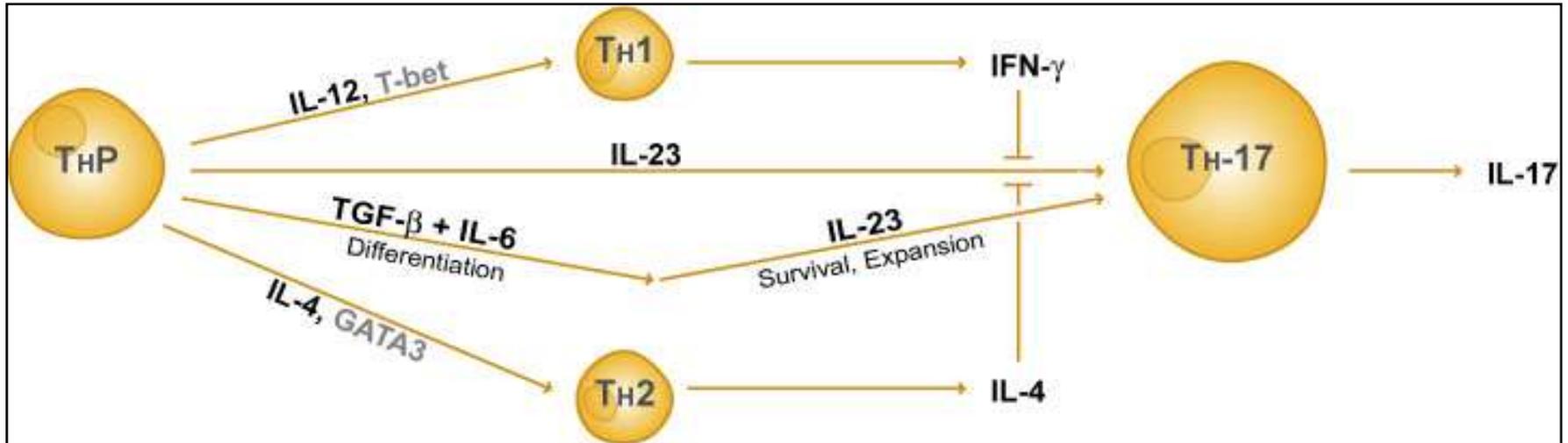




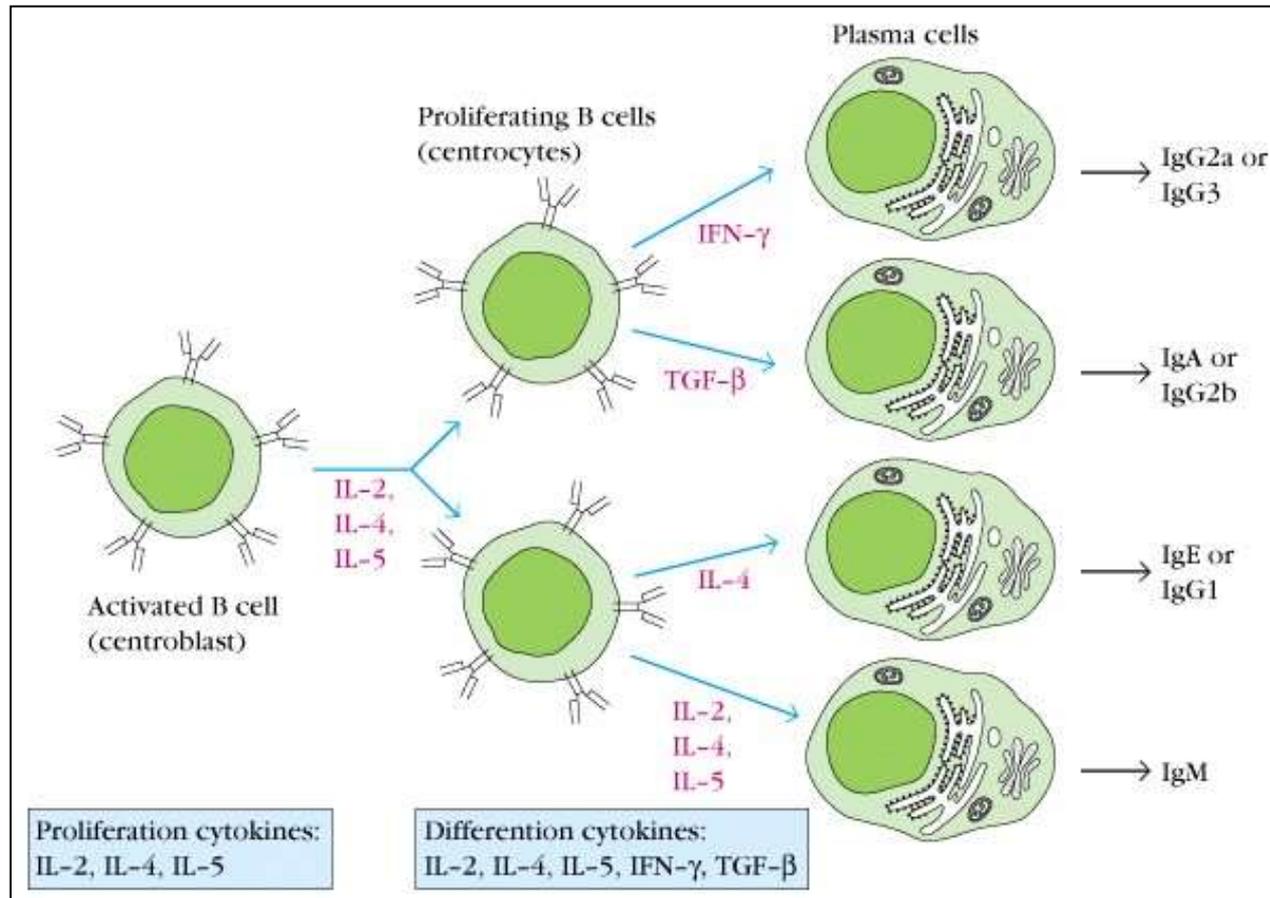
Mechanisms of T cell regulation by Treg cells



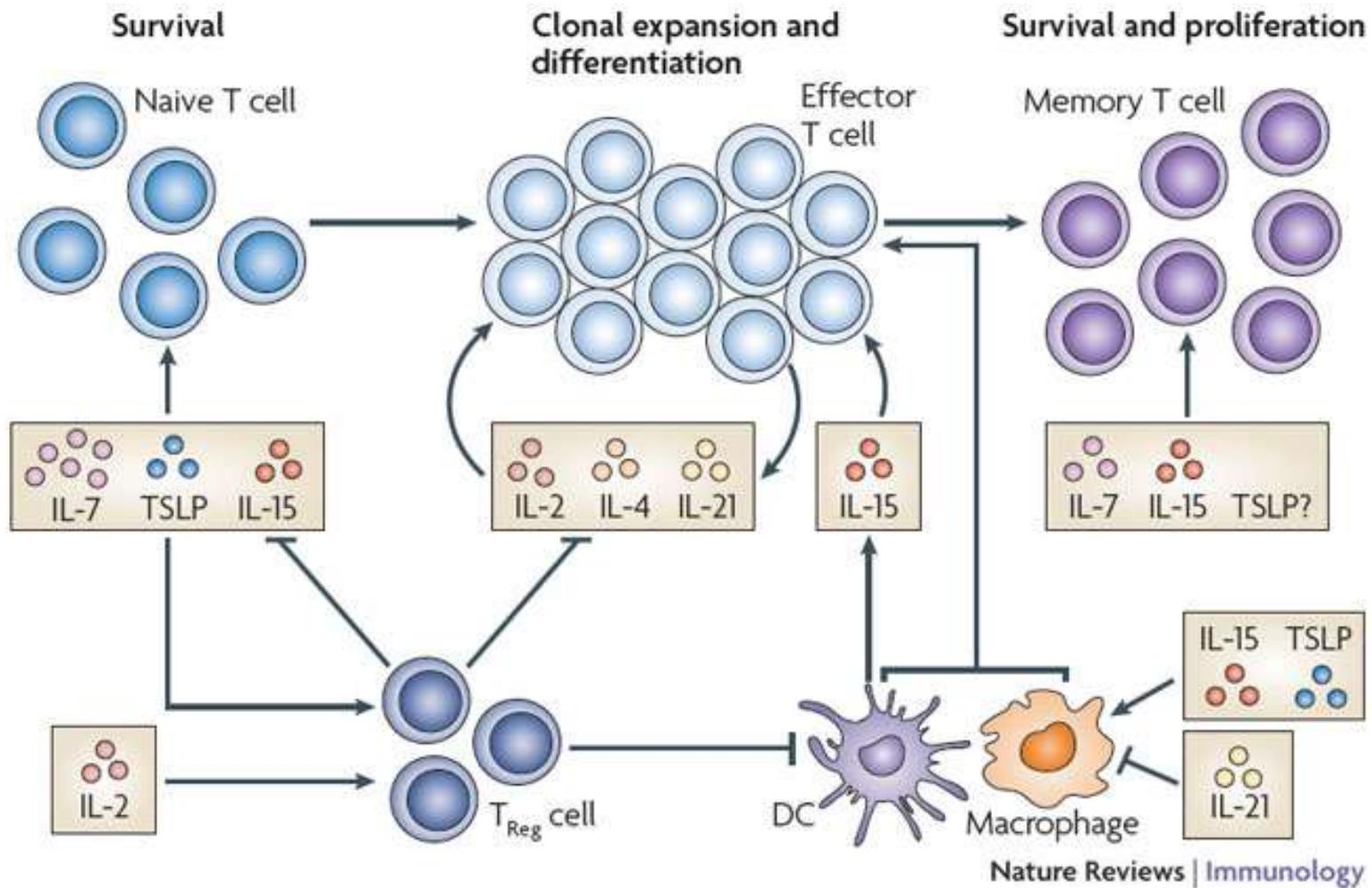
A CD4+ IL-17 termelő Th17 sejtek kialakulása



Cytokines regulate B cell activation, proliferation and isotype (class) switching

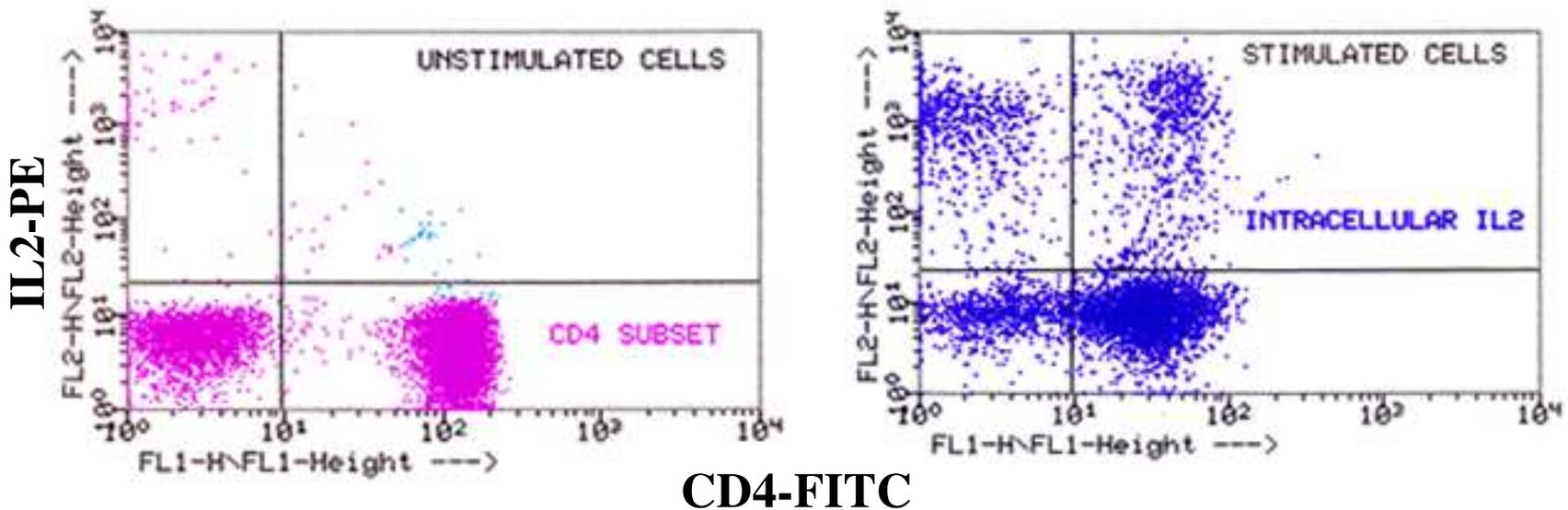


Citokinek szerepe a T sejt túlélésben: IL-7, IL-15



Citokin mérési módszerek

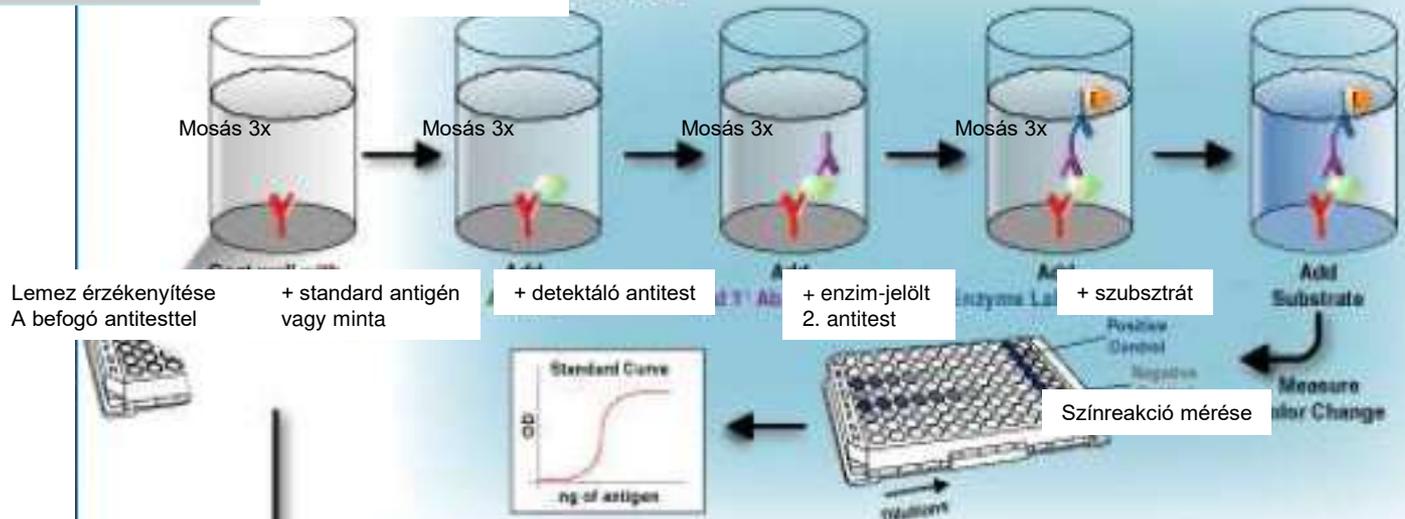
Intracelluláris citokin mérés



1. PMA/ionomycin stimulálás brefeldin jelenlétében 4-24 óra 37C
2. Sejtfelszíni jelölés: CD3/CD4
3. Intracelluláris jelölés: IL-2, IL-10, TGFbeta

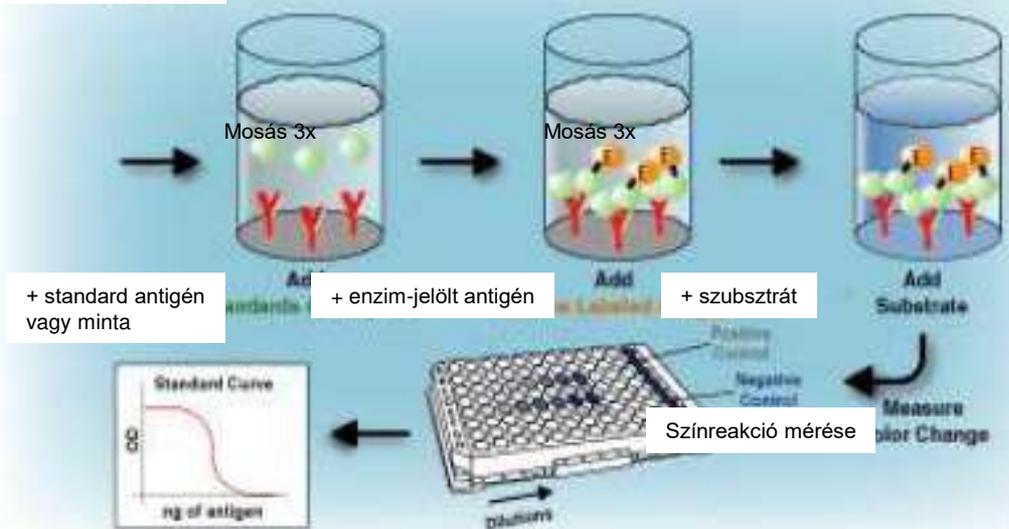
Citokin ELISA

Indirect ELISA



Kompetitív ELISA

ELISA

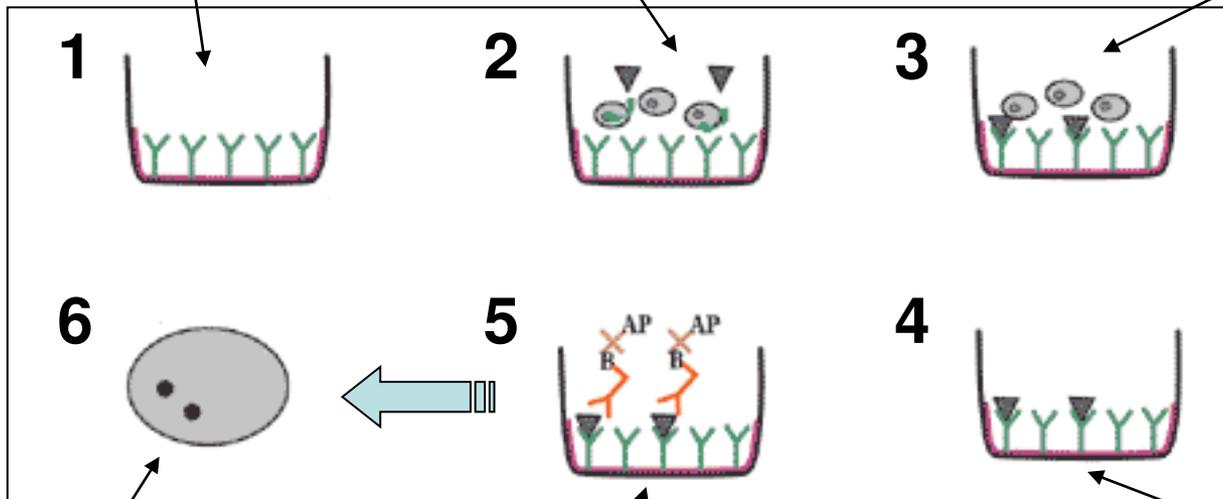


ELISPOT

Anti-humán IFN γ -val
bevont nitrocellulóz filter
a vályú alján

IFN γ -t termelő
stimulált sejtek

A szekretált IFN γ
hozzákötődik a befogó
antitesthez



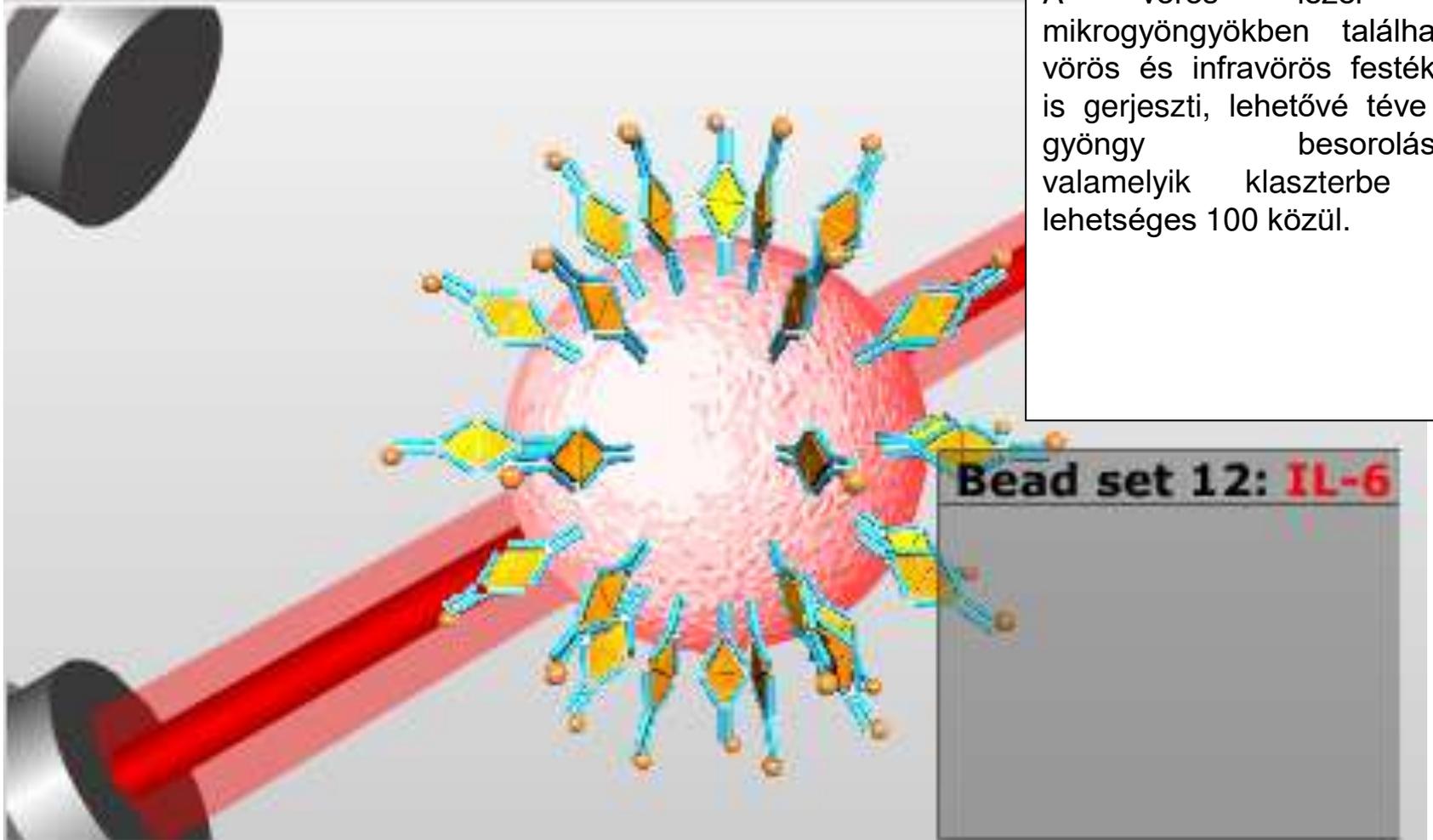
Precipitáló szubsztráttal
előhívjuk a spot-okat.

AP / HRPO enzimmel
konjugált riporter
antitesttel detektáljuk a
lekötődött IFN γ -t

A sejteket és a nem
kötődő fehérjéket
lemossuk

Mikrogyöngy klaszter detektálása

A vörös lézer a mikrogyöngyökben található vörös és infravörös festékét is gerjeszti, lehetővé téve a gyöngy besorolását valamelyik klaszterbe a lehetséges 100 közül.



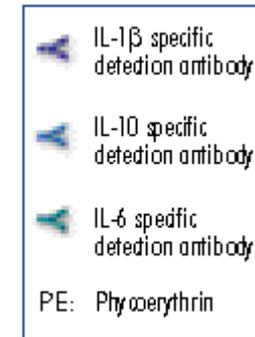
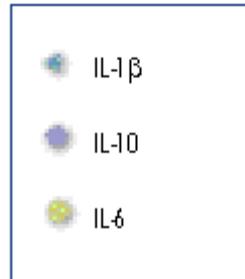
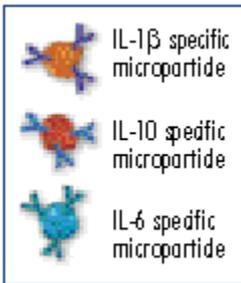
Step 1



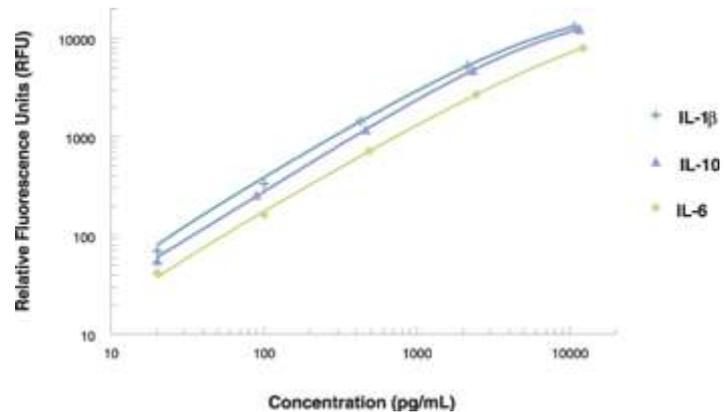
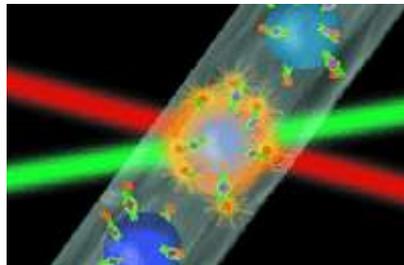
Step 2



Step 3



One laser is bead-specific and determines which cytokine is being detected. A second laser is PE-specific and determines how much cytokine is bound.



Typical standard curves for IL-1 β , IL-10 and IL-6 run simultaneously.

Vírusfehérjék mint citokin(R) homológok:

Virus	Product
Leporipoxvirus (a myxoma virus)	Soluble IFN- γ receptor
Several poxviruses	Soluble IFN- γ receptor
Vaccinia, smallpox virus	Soluble IL-1 β receptor
Epstein-Barr	IL-10 homolog
Human herpesvirus-8	IL-6 homolog; also homologs of the chemokines MIP-I and MIP-II
Cytomegalovirus	Three different chemokine receptor homologs, one of which binds three different soluble chemokines (RANTES, MCP-1, and MIP-1 α)

Cytokine-Based Therapies In Clinical Use

Agent	Nature of agent	Clinical application
Enbrel	Chimeric TNF-receptor/IgG constant region	Rheumatoid arthritis
Remicade	Monoclonal antibody against TNF- α receptor	Rheumatoid arthritis
Interferon α -2a	Antiviral cytokine	Hepatitis B Hairy cell leukemia Kaposi's sarcoma
Interferon α -2b	Antiviral cytokine	Hepatitis C Melanoma
Interferon β	Antiviral cytokine	Multiple sclerosis
Actimmune	Interferon γ	Chronic granulomatous disease (CGD) Osteopetrosis
Neupogen	G-CSF (hematopoietic cytokine)	Stimulates production of neutrophils Reduction of infection in cancer patients treated with chemotherapy
Leukine	GM-CSF (hematopoietic cytokine)	Stimulates production of myeloid cells after bone-marrow transplantation
Neumega	Interleukin 11 (IL-11), a hematopoietic cytokine	Stimulates production of platelets
Epogen	Erythropoietin (hematopoietic cytokine)	Stimulates red-blood-cell production

Aldesleukin

Interleukin 2 (IL-2)

Metastatic renal cell cc., melanoma



Köszönöm a figyelmet



Tudásközpont



Zsolnay Negyed



Kodály-Központ



Kiállító Tér