Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta
Katedra bunečné biologie

Interleukín 33 - nový člen rodiny IL-1 cytokínov

Bakalárska práca

Miroslava Kardošová

Školiteľ: Doc. MUDr. Ilja Stříž, CSc.

Praha 2008

Obsah:

1. **Zoznam skratiek** 2
2. **Abstrakt** 5
3. **Abstract** 5
4. **Úvod** 6
5. **Kľúčové slová** 6
6. **IL-1 rodina cytokínov** 7
   - *6.1. Lokalizácia na chromozóme a štruktúra génov* 7
   - *6.2. Štruktúra cytokínov IL-1rodiny a ich receptorov* 8
   - *6.3. Syntéza* 10
   - *6.4. Receptory cytokínov IL-1 rodiny* 12
   - *6.5. Signálne kaskády* 13
7. **Členovia IL-1 rodiny cytokínov** 14
   - *7.1. IL-1α* 14
   - *7.2. IL-1β* 15
   - *7.3. IL-Ra* 16
   - *7.4. IL-18* 16
   - *7.5. IL-F5* 17
   - *7.6. IL-F6* 17
   - *7.7. IL-F7* 17
   - *7.8. IL-F8* 17
   - *7.9. IL-F9* 18
   - *7.10. IL-F10* 18
8. **Interleukín 33** 18
   - *8.1. Expresia IL-33* 18
   - *8.2. ST2 receptor* 19
   - *8.3. Biologický účinok IL-33* 20
   - *8.4. IL-33 v úlohe jadrového faktoru* 21
9. **Záver** 23
10. **Poďakovanie** 25
11. **Zoznam použitej literatúry** 26
    - *11.1. Priame citácie* 26
    - *11.2. Nepriame citácie* 31

1. Zoznam skratiek

ASC	proteín asociovaný s apoptózou vyzerajúci ako škvrna obsahujúci CARD doménu (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD domain)
ATP	adenozíntrifosfát
calpain	neutrálna proteáza aktivovaná vápnikom (calcium-activated neutral protease)
CARD	doména viažuca kaspázu (caspase recruitment domain)
cDNA	komplementárna DNA (complementary DNA)
COX-2	cyklooxygenáza 2
DAMP	štruktúra charakteristická pre situáciu, keď je organizmus v ohrození (danger-associated molecular pattern)
FGF	rastový faktor fibroblastov (fibroblast growth factor)
FMF	familiárna stredomorská horúčka (familial Mediterranean fever)
HMGB1	high mobility group box 1 proteín
ICAM-1	medzibunková adhezívna molekula-1 (intercellular adhesive molecule-1)
ICE	enzým štiepiaci IL-1β (IL-1β converting enzyme)
IFN	interferón
Ig	imunoglobulín
IKK	kináza fosforylujúca IκB (IκB kinase)
IL-1	interleukín-1
IRAK	kináza viažuca sa na IL-1 receptor (IL-1R associated kinase)
IL-18BP	proteín viažuci sa na IL-18 (IL-18 binding protein)

IL-1R IL-1 receptor typu I., alebo aj označenie pre rodinu receptorov viažucich sa na IL-1

IL-1Ra antagonista receptoru pre IL-1
(IL-1 receptor antagonist)

IL-1Rrp2 proteín príbuzný IL-1R - 2
(IL-1R related protein)

IL-1R-AcP prídavný proteín IL-1R
(IL-1 receptor accessory protein)

iNOS indukovateľná syntáza oxidu dusnatého
(inducible nitric oxide synthase)

JNK c-Jun N-terminálna kináza

LPS lipopolysacharid

LRR doména bohatá na leucín
(leucin-rich-repeat domain)

Mal adaptorová molekula podobná MyD88
(MyD88-adapter-like)

MAP-kináza mitogénom aktivovaná proteínkináza
(mitogen-activated protein kinase)

mRNA informačná ribonukleová kyselina
(messenger ribonucleic acid)

MyD88 faktor podieľajúci sa na diferenciácii myeloidnej línie buniek-88
(myeloid diferentiation factor-88)

NACHT doména prítomná v proteínoch NAIP, CIITA, HET-E a v proteíne asociovanom s telomerázou
(domain present in NAIP, CIITA, HET-E and telomerase-associated protein)

NAIP proteín inhibujúci neuronálnu apoptózu
(neuronal apoptosis inhibitory protein)

NALP proteín obsahujúci domény NACHT, LRR a PYD
(NACHT, LRR and PYD containing protein)

NFκB jadrový faktor κB
(nuclear factor κB)

NIK kináza indukujúca signálne kaskády vedúce k aktivácii NFκB
(NFκB-inducing kinase)

NLR	receptor skupiny Nod (Nod-like receptor)
NLS	jadrová lokalizačná sekvencia (nuclear localization sequence)
Nod	oligomerizujúca doména viažuca nukleotid (nucleotide-binding oligomerization domain)
PAF	faktor aktivujúci krvné doštičky (platelet activated factor)
PAMP	štruktúra charakteristická pre patogénne mikroorganizmy (pathogen-associated molecular pattern)
PBMC	mononukleárne bunky periférnej krvi (peripheral blood mononuclear cells)
PCAF	p300/CBP [cyclic adenosine monophosphate (cAMP) response element–binding protein (CREB)–binding protein] associated factor
pDC	plazmacytoidné dendritické bunky
PGE2	prostaglandín E2
PRM	molekula rozpoznávajúca určité štruktúry (pattern recognition molecule)
PYD	pyrínová doména (pyrin domain)
RAGE	receptor viažuci sa na AGE proteíny (receptor for advanced glycation end products)
sIL-1R	solubilná molekula IL-1R
TLR	receptor skupiny Toll (Toll-like receptor)
TNF	faktor nekrotizujúci nádory (tumor necrosis factor)
TRAF6	faktor asociovaný s TNF receptorom-6 (TNF-receptor associated factor 6)
VCAM-1	cievna adhezívna molekula -1 (vascular cell adhesion molecule-1)
VEGF	rastový faktor cievneho epitelu (vascular endothelial growth factor)

2. Abstrakt:

Interleukín 1 (IL-1) rodina cytokínov zahrňuje molekuly, ktoré sú si štruktúrne podobné a viažu sa na rovnaký typ receptorov (IL-1R). Medzi klasické cytokíny IL-1 rodiny radíme IL-1α, IL-1β a taktiež IL-18, ktoré majú kľúčovú rolu v procesoch prirodzenej aj adaptívnej imunity. IL-1Ra sa naväzuje na rovnaký receptorový komplex ako IL-1α a IL-1β, ale neprenáša signál ďalej do bunky, čiže pôsobí ako ich antagonista. Ďalších šesť členov (IL-1F5-10) bolo objavených pomerne nedávno. Zatiaľ je známa ich prítomnosť v rôznych tkanivách ľudského tela, ale ich úloha v imunitných reakciách nebola preukázaná. Najnovším prírastkom IL-1 rodiny je IL-33, ktorý signalizuje prostredníctvom ST2 receptoru. Vo svojej bakalárskej práci stručne približujem rodinu IL-1 cytokínov a podrobnejšie sa zaoberám práve IL-33. Táto veľmi zaujímavá molekula pôsobí pomocou dvoch mechanizmov- autokrinne a parakrinne ako solubilný cytokín sekretovaný z buniek a zároveň môže pôsobiť aj intrakrinne ako jadrový faktor . V závere práce sa na základe vlastností lepšie preskúmaných molekúl či známych mechanizmov snažím odhadnúť možné charakteristiky a rolu IL-33 v zápalovej odpovedi organizmu.

3. Abstract:

Interleukin 1 (IL-1) family of cytokines includes molecules with structural similarities which bind to the same type of receptors (IL-1R). The classical IL-1 family cytokines, IL-1α and IL-1β, as well as IL-18, play a key role both in the innate and adaptive immune responses. IL-1Ra binds to the same receptor complex as IL-1α and IL-1β do, but is unable to initiate signalling, thus effectively antagonizes their activity. Recently, other six members of the IL-1 family have been identified. They are expressed in different tissues of human body, but evidence for their role in immune reactions is lacking. The newest member of IL-1 family is IL-33, which signals via the IL-1 receptor-related protein ST2. In this article I summarize basic information about IL-1 family of cytokines with special attention to IL-33. This interesting molecule has a dual activity- it is secreted as soluble cytokine from cells to elicit its effect in an autocrine and paracrine manner but also it can act in an intracrine nonsecreted manner as nuclear factor. In the conclusion I try to assess possible characteristics of IL-33 and its role in inflammatory responses with respect to relative molecules and already characterized mechanisms.

4. Úvod

Molekulárna imunológia zažíva v súčasnosti obrovský rozmach. Aby sa nám podarilo pochopiť, ako sa vlastne naše telo dokáže brániť proti patogénom číhajúcim všade naokolo, musíme sa pozrieť až na úroveň molekúl. Pomocou nich sa bunky orientujú v prostredí, navzájom spolu komunikujú a dokážu vytvoriť tak zložitý a pritom fungujúci celok, akým ľudské telo či akýkoľvek iný organizmus je. Jednými zo základných „komunikačných" molekúl sú cytokíny. Je to veľmi rôznorodá skupina proteínov sekretovaných najmä leukocytmi, ale aj inými typmi buniek. Pôsobia prostredníctvom špecifických receptorov a tak zaisťujú medzibunkovú komunikáciu v rámci imunitného systému a jeho prepojenie s ďalšími telovými sústavami. Cytokíny štruktúrne podobné interleukínu 1 (IL-1 rodina) majú dôležitú funkciu v efektorovej fáze imunitnej odpovede a aj pri regulácii imunitných reakcií. IL-1α, IL-1β a taktiež IL-18 sú známe už dlhšie a sú pomerne dobre preskúmané. Hrajú kľúčovú rolu pri zápalovej reakcii a dysregulácia ich expresie môže viesť k patologickým zmenám. Významný je aj IL-1Ra (antagonista receptoru pre IL-1), ktorý reguluje aktivitu IL-1. Jeho rekombinantné formy sú účinne využívané pri terapiách rôznych imunitných chorôb. Ďalšie cytokíny z tejto rodiny (IL-1 F5-10) boli objavené pomerne nedávno na základe homologických sekvencii, 3D štruktúry, väzby na už známe receptory či vďaka tomu, že ich gény sa nachádzajú na rovnakom chromozóme ako IL-1α a IL-1β. Najnovší prírastok rodiny IL-1 cytokínov, IL-33, bol identifikovaný vďaka štruktúrnej a funkčnej podobnosti s ostatnými členmi rodiny. Zdieľa s nimi mnoho vlastností, ale na druhej strane je v mnohých ohľadoch unikátny.

Táto práca je literárnou rešeršou zhrňujúcou základné poznatky o cytokínoch rodiny IL-1, pričom sa podrobne venuje práve IL-33. Diskutované je najmä jeho pôsobenie v úlohe transkripčného faktoru (cytokíny v tejto nezvyčajnej role sú v biológii (zatiaľ) zriedkavé) a taktiež sa snaží hypoteticky vyvodiť niektoré možné vlastnosti IL-33. Keďže cytokíny rodiny IL-1 sú úzko spojené so zahájením a vývojom zápalu, porozumenie ich biológii je základom pre vývoj postupov pri liečení autoimunitných chorôb, pri ktorých dochádza k deštruktívnym zápalom (napr. rheumatoídna arthritída, dna či periodontitis). IL-33 ako ich blízky príbuzný preto predstavuje zatiaľ neprebádanú oblasť, ktorá by mohla znamenať nové možnosti vo vývoji liečebných postupov pri týchto chorobách.

5. Kľúčové slová

IL-1, IL-33, zápal, Th2 bunky, cytokíny

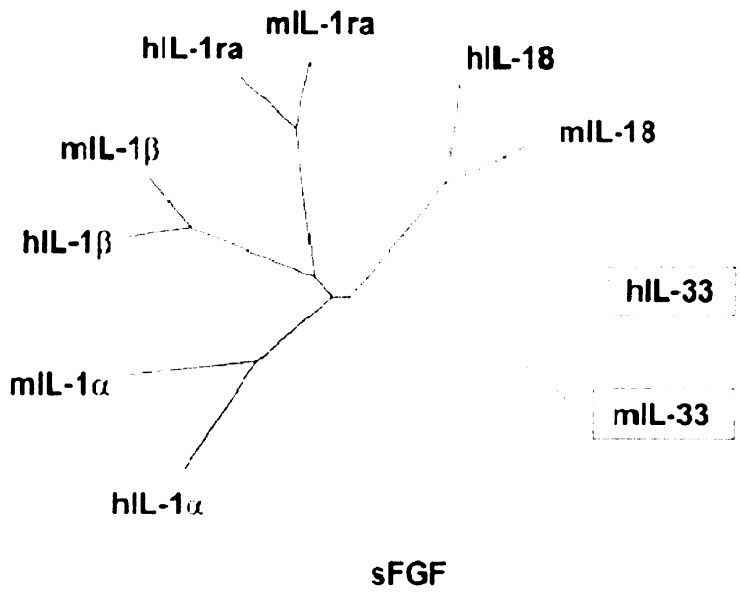
IL-1, IL-33, inflammation, Th2 cells, cytokines

6. IL-1 rodina cytokínov

6.1. *Lokalizácia na chromozóme a štruktúra génov*

Takmer všetky gény cytokínov IL-1 rodiny sú lokalizované na ľudskom chromozóme 2 *(Taylor, Renshaw, Garka, Smith, & Sims, 2002)*. Výnimkou je gén pre IL-18, ktorý sa nachádza na chromozóme 11 *(Nolan, Greaves, & Waldmann, 1998)* a gén pre IL-33 lokalizovaný na chromozóme 9 *(Schmitz, a iní, 2005)*.

Sekvencie aminokyselín a aj génová štruktúra IL-1 génov naznačuje, že všetky vznikli duplikáciou jediného génu, ktorý existoval už pred 350 miliónmi rokov. Intron-exonová organizácia je u všetkých členov podobná. Na obrázku 1 je dendrogram zahrňujúci reprezentatívne členy IL-1 rodiny vo vzťahu k IL-33. Cytokíny IL-1F5 – IL-1F10 sú viac podobné IL-1β a IL-1Ra *(Taylor, Renshaw, Garka, Smith, & Sims, 2002)*. V prípade IL-1F5 a možno aj u ďalších členov došlo ku génovej duplikácii IL-1Ra *(Mulero, Pace, & Nelken, 1999)*. Ako vidno z dendrogramu, IL 33 je príbuzný skôr k IL-18.

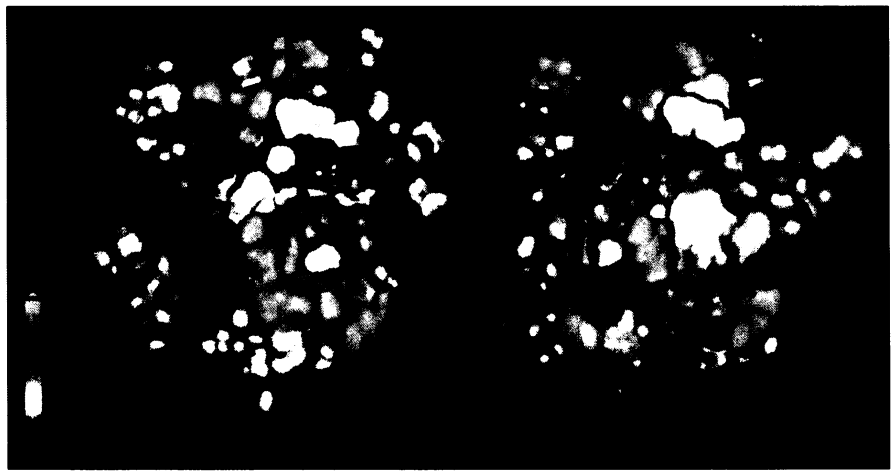


Obr.1 Fylogenetický strom reprezentatívnych členov IL-1 rodiny a IL-33. Zobrazené sú fylogenetické vzťahy medzi jednotlivými členmi IL-1 rodiny ľudských (h-human) a myších (m-mouse) génov. Dendrogram je zakorenený vzhľadom k spoločnému príbuznému- sFGF (solubilný rastový faktor fibroblastov). (podľa *Schmitza a kolektívu,2005)*

6.2. Štruktúra cytokínov IL-1 rodiny a ich receptorov

Vďaka podobnej terciárnej štruktúre a zdieľaniu signifikantných aminokyselinových homológií sa dá usudzovať, že existoval spoločný predchodca génov IL-1 rodiny a FGF rodiny (FGF- rastový faktor fibroblastov). Cytokíny IL-1 rodiny zdieľajú s FGF cytokínmi β- súdkovú štruktúru zloženú z dvanástich β- listov. Momentálne je známych 19 členov FGF rodiny a 11 členov IL-1 rodiny. Väčšina IL1/FGF proteínov je syntetizovaná v podobe intracelulárnych proteínov bez typickej hydrofóbnej sekvencie na N- konci. Všetky sú uvoľňované z buniek a pôsobia na cieľové bunky naviazaním sa na ich povrchové receptory. Aj IL-1 rodina zdieľa istú homológiu, je však obmedzená len na malé množstvo vnútorných zvyškov aminokyselín, ktoré spájajú β- súdkovú štruktúru dohromady a na spôsob, akým je rozpoznávaný receptor (Vigers, Anderson, Caffes, & Brandhuber, 1997), *(Schreuder, a iní, 1997)*.

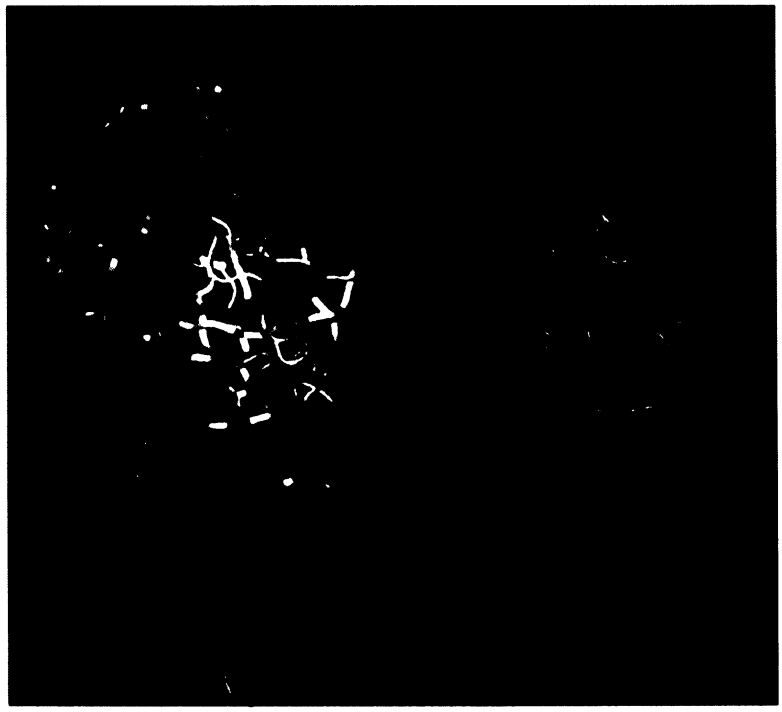
Štruktúrna analýza kryštálu maturovanej formy IL-1α je podobná IL-1β. Oba cytokíny majú dve väzbové miesta, ktorými sa viažu na IL-1 receptor. Primárne väzbové miesto IL-1α je situované na otvorenej strane súdku, podobne ale nie identicky ako u IL-1β. Na obrázku 2 je molekula nenaviazaného a aj naviazaného IL-1β, na ktorých sú znázornené práve tieto dve väzbové miesta.



Obr.2 Povrch IL-1β. Vľavo, Štruktúra nenaviazaného IL-1β, spektrálne farbenie je založené na mutagenézových experimentoch. Po zmutovaní modrých zvyškov stratil IL-1β schopnosť viazať sa na IL-1R, mutácie červených zvyškov nemali žiaden vplyv na väzobnú aktivitu IL-1β a šedé zvyšky neboli preskúmané. Vpravo, Štruktúra naviazaného IL-1β, spektrálne je zafarbená na základe zmien v prístupnosti povchu molekuly pre rozpúšťadlo (SASA- solvent-accesible surface area) po vytvorení komplexu. Modré zvyžky sa zanorili 100 Å alebo hlbšie, červené zvyšky 2Å a šedé zvyšky sa zanorili menej než 2Å. Väzbové miesto B je na vrchnej časti molekuly, väzbové miesto A je priamo oproti pozorovateľovi. (podľa Vigersa, Andersona, Caffesa a Brandhubera,1997)

IL-1 a FGF rodina zdieľa aj štruktúrnu homológiu svojich receptorov, čo sa extracelulárnej časti týka. Obe skupiny majú ligand viažucu extracelulárnu časť, ktorá sa skladá z viacerých imunoglobulínových domén, čo naznačuje, že aj mechanizmus rozpoznávania ligandu bude podobný *(Vigers, Anderson, Caffes, & Brandhuber, 1997).* Zatiaľ čo evolúcia udržala extracelulárne časti receptorov štruktúrne príbuzné, v intracelulárnych doménach sa tieto dve skupiny výrazne líšia. FGF receptory tu majú uloženú tyrozínkinázu, ktorá je stimulovaná naviazaním ligandu a iniciuje signálnu dráhu vedúcu k bunkovej proliferácii. Na rozdiel od toho, receptory IL-1 rodiny nemajú žiadnu enzymatickú aktivitu, namiesto toho po naviazaní ligandu menia svoju konformáciu a následne naviažu dve serín/threonínové proteínkinázy – kinázy viažuce sa na IL-1R (IRAK) 1 a 4 cez evolučne konzervované Toll-homologické domény.

Najpreskúmanejším receptorom je IL-1R. Ligand sa na IL-1R viaže so stechiometriou 1:1. Kryštálová štruktúra ukazuje, že IL-1R sa skladá z troch imunoglobulínových domén, ktoré sa



Obr.3 sIL-1R naviazaný na IL-1 β. Vľavo, Stužkový diagram sIL-1R naviazaného na IL-1β. Imunoglobulínové domény receptoru 1, 2 a 3 sú modré, IL-1β je žltej farby. Zvyšky väzbovej oblasti A sú vyznačené zelenou farbou , zvyšky väzbovej oblasti B sú červené. Vpravo, Štruktúrny stužkový diagram sIL-1R naviazaného na IL-1β. B-listy sú zelené, α-helixy červené a spájacie slučky sú fialové. Štruktúra je orientovaná tak, že karboxylový koniec sIL-1R, teda miesto, kde je cytoplazmatická membrána je orientované na spodnej strane obrázku. (podľa Vigersa, Andersona, Caffesa a Brandhubera,1997)

akoby omotajú okolo IL-1β odlišným spôsobom od už známych cytokín-receptorových komplexov. Väzbová oblasť A sa viaže na prvé dve domény receptoru a väzbová oblasť B len na tretiu imunoglobulínovú doménu *(Vigers, Anderson, Caffes, & Brandhuber, 1997).* IL-1Ra je štruktúrne príbuznejší IL-1β. Jeho unikátna štruktúra mu umožňuje naviazať sa na IL-1 receptor, ale pretože nemá druhé väzobné miesto na zadnej strane molekuly, nemôže transdukovať signál ďalej do bunky *(Evans, Bray, & Childs).*

6.3. Syntéza

Cytokíny IL-1β a IL-18 sú syntetizované vo forme prekurzorov bez signálneho peptidu. Až po odštiepení terminálnej N-sekvencie špecifickými proteázami sa z nich stávajú maturované proteíny.

Napr. 31 kDa dlhý prekurzor proIL-1β je biologicky neaktívny až kým nedôjde k jeho štiepeniu špecifickou intracelulárnou cysteínovou proteázou nazývanou ICE (enzým štiepiaci IL-1β). ICE, taktiež nazývaný kaspáza 1, sa podieľa aj na štiepení prekurzoru proIL-18, dlhého 24 kDa. Výsledkom štiepenia sú maturované formy, molekula IL-1β dlhá 17,5 kDa a molekula IL-18 dlhá 18 kDa *(Ghayur, a iní, 1997)*, *(Gu, a iní, 1997).* Táto proteáza štiepi za miestom so zvyškom kyseliny asparágovej. Význam funkcie ICE bol preukázaný zistením, že vírus kravských kiahní (cowpox virus) kóduje vysokošpecifický inhibítor tohto enzýmu, ktorý výrazne potláča imunitnú odpoveď hostiteľa *(Ray, a iní, 1992).* ICE štiepi cytokínové prekurzory výhradne intracelulárne, iné proteázy fungujú v extracelulárnom priestore (napr. proteáza 3 tu štiepi proIL-1β) *(Coeshott, Ohnemus, & Pilyavskaya, 1999).*

IL-1α je taktiež štiepený proteázou calpain, ale už prekurzor proIL-1α je biologicky aktívny. Štiepna reakcia určuje, či bude IL-1α pôsobiť ako transkripčný faktor či ako solubilný cytokín.

IL-1Ra je syntetizovaný so signálnym peptidom a je sekretovaný tradičnou cestou cez endoplazmatické retikulum *(Eisenberg, a iní, 1990).*

IL-1F5-10 s výnimkou IL-1F7 neobsahujú prodoménu ani signálny peptid. IL-1F7 má prodoménu, ktorá je pravdepodobne štiepená kaspázou 1 (ICE) alebo kaspázou 4 *(Kumar, a iní, 2002).*

Aj IL-33 je produkovaný vo forme prekurzoru, ten je 30 kDa dlhý. Inkubácia in vitro s kaspázou 1 viedla k jeho štiepeniu na maturovaný proteín dlhý 18 kDa *(Schmitz, a iní, 2005).*

Avšak in vivo nebolo ešte dokázané, že je tento proteín štiepený ICE. Napríklad Dinarello sa domnieva, že štiepenie ICE je pre IL-33 nevyhnutné *(Dinarello C. , 2005)*. Pre hovorí najmä skutočnosť, že v prekurzore sa nachádza štiepne miesto s kyselinou asparágovou vhodné práve pre ICE, ale snaha získať objektívny dôkaz zatiaľ zlyhala *(Carriere, a iní, 2007)*.

Inflamazómy

V procesoch, ktoré ovplyvňujú štiepenie IL-1β a IL-18 a ich sekréciu, hrajú významnú rolu inflamazómy. Sú to veľké, multimérne proteínové komplexy, ktoré v podstate prepájajú rozpoznanie mikrobiálnych produktov či metabolického stresu s proteolytickým štiepením prekurzorov na ich maturovanú formu pomocou kaspázy 1.

Existuje viacero druhov inflamazómov, v závislosti na tom, aké proteíny ich tvoria. Vždy však obsahujú tieto tri zložky: proteín z rodiny NALP (NALP1 alebo NALP3), ASC proteín a kaspázu 1 (ICE). NALP proteíny sú najväčšou subrodinou NLR rodiny (receptory príbuzné proteínu Nod), ktorá patrí medzi PRM (molekuly rozpoznávajúce určité štruktúry) *(Martinon, Gaide, Pétrilli, Mayor, & Tschopp, 2007)*. NALP proteíny (proteíny obsahujúce domény NACHT, LRR a PYD) dostali svoje meno na základe troch domén, ktoré obsahujú. ASC má na N-konci taktiež PYD doménu, na C-konci CARD (doména viažuca kaspázu) *(Dowds, Masumoto, Zhu, Inohara, & Núñez, 2004)*. Vďaka nim má ASC v inflamazómoch funkciu adaptoru - cez PYD doménu interaguje s NALP proteínmi, cez CARD viaže kaspázu 1. Aktivácia IL-1β prebieha nasledovne: na LRR doménu NALP proteínu sa naviaže ligand (intracelulárna molekula signalizujúca prítomnosť baktérii či tkanivové poranenie – bakteriálna RNA, ATP, kryštáliky kyseliny močovej či nízka koncentrácia draslíka), následne sa začnú tvoriť oligoméry z konkrétneho NALP proteínu, dochádza k naviazaniu ASC a pomocou neho k naviazaniu kaspázy 1. V rámci kompletných inflamazómov dochádza k štiepeniu kaspáz na ich aktívnu formu, ktorá je schopná rozštiepiť pro-IL-1β *(Martinon & Tschopp, 2007)*. Nakoniec je IL-1β sekretovaný spolu s aktívnou formou kaspázy 1 *(Martinon F. B., 2002)*.

Neskôr sa zistilo, že rovnakým mechanizmom je cez inflamazómy regulovaná aj sekrécia IL-18 *(Ghayur, a iní, 1997)*, *(Gu, a iní, 1997)*. O podobnom procese prebiehajúcom u IL-33 sa zatiaľ špekuluje.

6.4. Receptory cytokínov rodiny IL-1

Cytokíny rodiny IL-1 vyvolávajú biologickú odpoveď v efektorových bunkách naviazaním sa na extracelulárnu doménu IL-1 receptorov (IL-1R). Signalizačný komplex tvorí heterodimér: jeden z reťazcov naviaže ligand a druhý je nevyhnutný ako koreceptor pre úspešný prenos signálu do bunky.

Konkrétne IL-1 sa naviaže na extracelulárnu doménu IL-1R, vďaka čomu dôjde ku konformačným zmenám umožňujúcim vytvorenie heterodiméru s odlišným proteínovým reťazcom, ktorý je nazvaný IL-1R-AcP (prídavný proteín IL-1R) *(Greenfeder, Nunes, & Kwee, 1995).* Tesne po naviazaní ligandu je komplex IL-1/IL-1R držaný pohromade pomerne slabou interakciou, po naviazaní IL-1R-AcP sa vytvorí väzba s vysokou afinitou. Toll-homologické domény oboch proteínov sa k sebe priblížia a ich vzájomná interakcia umožní transdukciu signálu. Na tento komplex sa viažu IL-1α a IL-1β ako agonistické ligandy. Taktiež ich prirodzený antagonista IL-1Ra sa viaže na molekulu IL-1R, ale neprenáša ďalej signál, naopak zabraňuje tvorbe komplexu. Rovnaký mechanizmus sa uplatňuje aj u IL-18, ten sa viaže na proteín IL-18Rα , ktorý následne tvorí heterodimér s IL-18Rβ *(Torigoe, a iní, 1997)*, *(Born, Thomassen, Bird, & Sims, 1998).*
IL-1F6, 8 a 9 sa viažu na receptor IL-1Rrp2 (proteín príbuzný IL-1R-2), ktorý je taktiež súčasťou IL-1R rodiny. Ako koreceptor slúži opäť IL-1R-AcP *(Towne, Garka, Renshaw, Virca, & Sims, 2004).*

Pre IL-1α a IL-1β existujú dva odlišné typy receptorov. Oba sa zhodujú v tom, že v extracelulárnom segmente sa nachádzajú tri imunoglobulínové domény.

IL-1 receptor typu I. (IL-1RI, v mojej práci aj vo väčšine literatúry označovaný ako IL-1R)- v cytoplazmatickom segmente sa nachádza Toll-homologická doména, ktorá sa nachádza aj v cytoplazmatickej časti všetkých TLR (recptory skupiny Toll). Je nevyhnutná k transdukcii signálu *(Heguy, Baldari, & Macchia, 1992).*

IL-1 receptor typu II. (IL-1RII)- okrem obligátnych extracelulárnych domén sa skladá z krátkej cytoplazmatickej domény, ktorá nie je Toll-homologická *(McMahan, a iní, 1991).* Preto tento receptor nie je schopný prenášať signál a funguje ako negatívny receptor. Vlastne vyväzuje IL-1α či IL-1β a tak zabraňuje ich spojeniu s IL-1R a následnej transdukcii signálu do bunky *(Colotta, Re, & Muzio, 1993)*, *(Colotta, Dower, Sims, & A., 1994)*, (Re, a iní, 1996).

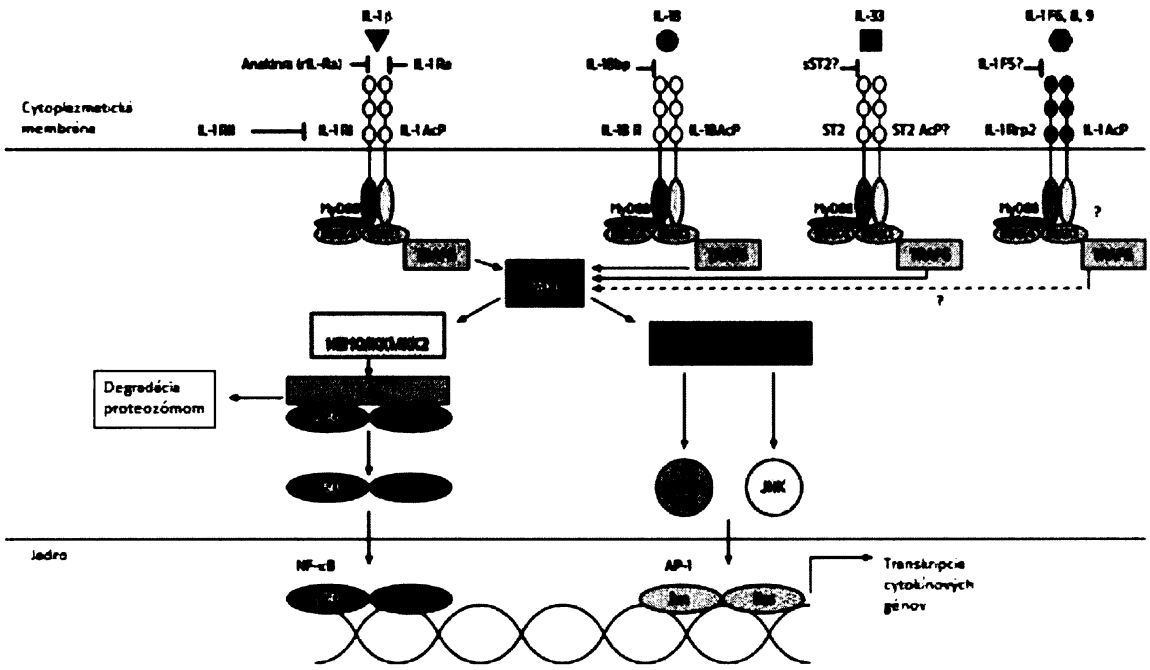
Aj pre IL-18 existuje negatívny receptor, je ním IL-18BP (proteín viažuci sa na IL-18). V určitých aminokyselinových úsekoch je homologický s IL-1RII *(Novick, 1999)*. Nemá však transmembránovú doménu, takže nie je viazaný na bunkový povrch, ale je sekretovaný ako solubilný receptor. V skutočnosti má len jedinú imunoglobulínovú doménu, ktorá sa s vysokou afinitou viaže na IL-18 a zabraňuje jeho väzbe na IL-18α *(Kim, a iní, 2000)*. Keďže sa nachádza v pomerne veľkom množstve v plazme zdravých jedincov, pôsobí teda pravdepodobne ako regulátor IL-18 (Novick, a iní, 2001).

6.5. Signálne kaskády

Ako som už spomínala, prenos signálu je závislý na vytvorení heterodiméru z molekuly, na ktorú sa naviaže ligand a z koreceptoru. Pre jednotlivé cytokíny IL-1 rodiny sú tieto receptory odlišné, ale dráhy, ktoré indukujú, sú spoločné. Heterodimér umožní naviazanie cytoplazmatickej adaptorovej molekuly MyD88 (faktor podieľajúci sa na diferenciácii myeloidnej línie buniek 88) *(Wesche, Henzel, Shillinglaw, Li, & Cao, 1997)*. Ďalej sa k tomuto komplexu naviažu IL-1R aktivované kinázy 1 a 4 (IRAK), ktoré sa môžu následne fosforylovať *(Kanakaraj, a iní, 1999)*. Fosforylované IRAK sa potom uvoľnia a spoja sa s faktorom asociovaným s TNF receptorom-6 (TRAF6) *(Cao, Xiong, Takeuchi, Kurama, & Goeddel, 2006)*, *(Kojima, a iní, 1998)*. TRAF 6 je vďaka tomu schopný fosforylovať kinázu NIK a NIK fosforyluje inhibičné IκBα kinázy (IKK-1 a IKK-2). IKK sú následne degradované ubiquitínovou cestou a ich degradáciou sa uvoľní NFκB, ktorý pôsobí ako jadrový transkripčný faktor *(Robinson, a iní, 1997)*, *(Matsumoto, a iní, 1997)*.

Ďalšou možnosťou je aktivácia mitogén aktivovaných proteínkináz (MAP-kináz). Signál cez IL-1 vyvoláva fosforyláciu c-Jun N-terminálnej kinázy (JNK), kináz $p44^{erk-1}$ a $p42^{erk-21}$ či p38 kinázy. p 38 kináza má rôzne substráty, jedným z nich je MAP-kinázou aktivovaný proteín 2 a ten ďalej fosforyluje hsp-27 *(Kalina, a iní, 2000)*.

Schmitz a jeho kolegovia sa domnievajú, že indukcia signálu vyvolaného pomocou IL-33 aktivuje rovnaké dráhy ako ostatné cytokíny IL-1 rodiny *(Schmitz, a iní, 2005)*.



Obr.3 Signálne kaskády IL-1 rodiny cytokínov, Zobrazené sú receptorové komplexy jednotlivých cytokínov IL-1 rodiny a signálne kaskády vedúce k aktivácii NFκB, či signálne dráhy MAP kináz. Znázornené sú aj molekuly regulujúce IL-1 cytokíny, ako napr. IL-1Ra či rekombinantný IL-1Ra- Anakinra, ktorý je využívaný na terapeutické účely. NIK spomínaná v texte je tu pomenovaná ako TAK1. Zatiaľ vedecky nepodložené prvky na obrázku sú označené otáznikom (podľa Barksbyho, Lea, Preshawa a Taylora, 2007).

7. Členovia rodiny IL-1 cytokínov

Momentálne je známych 11 členov IL-1 rodiny, ale intenzívne sa skúma päť z nich – IL-1α, IL-1β, IL-18, IL-1Ra a IL-33. U ostatných je známa len ich prítomnosť v rôznych tkanivách ľudského tela, ale ich úloha v imunitných reakciách zatiaľ nebola preukázaná.

7.1. IL-1 α

Väčšina cytokínov sprostredkováva svoju aktivitu naviazaním sa na povrchové receptory cieľových buniek. Novinkou v biológii sú cytokíny žijúce akoby dvojitý život- sú sekretované, aby mohli sprostredkovať svoju autokrinnú či parakrinnú funkciu, ale taktiež majú intrakrinnú úlohu, bez sekrécie pôsobia na materskú bunku ako jadrové faktory. IL-1α je prvým cytokínom, u ktorého bola zistená takáto aktivita. Po stimulácii IL-1α bolo pozorované naakumulovanie IL-1α v jadre *(Mizel, Kilian, Lewis, Paganelli, & Chizzonite, 1987)*. IL-1α v úlohe jadrového faktoru podnecuje transkripciu génov prozápalových cytokínov. Ako IL-

1β, IL-18 a IL-33, aj IL-1α je syntetizovaný vo forme prekurzorového proteínu. Pro-IL-1α je dlhý 31 kDa a je štiepený calpain proteázou (neutrálna proteáza aktivovaná vápnikom). Calpain proteáza odstráni N-terminálnu prodoménu a tak vzniká maturovaný proteín, ktorý je sekretovaný a účinkuje ako prozápalový cytokín. V niektorých typoch buniek (napr. endoteliálne bunky) k tomuto štiepeniu nedochádza a v bunke sa hromadí prekurzor IL-1α. A pretože na N-terminálnej doméne sa nachádza jadrová lokalizačná sekvencia (NLS), prekurzory sa dostávajú do jadra a tu sa prostredníctvom N-terminálnej kyslej domény viažu na rôzne jadrové cieľové proteíny vrátane histónových acetyltransferáz p300 a PCAF a zatiaľ neznámym mechanizmom rozbiehajú expresiu prozápalových génov *(Buryskova, Pospisek, Grothey, Simmet, & Burysek, 2004), (Maier, Statuto, & Ragnotti, 1994), (Dinarello C. , 1998), (Werman, a iní, 2004).*

IL-1α sa len zriedka nachádza v extracelulárnom priestore, skôr ho nájdeme v cytoplazme či jadre buniek, kde plní svoju intrakrinnú úlohu , alebo je viazaný k cytoplazmatickej membráne. Nachádza sa na povrchu monocytov a makrofágov po stimulácii in vitro. Táto membránová forma je biologicky aktívna, napr. zvyšuje produkciu IL-8 *(Dinarello C. , 1996), (Kaplanski, a iní, 1994).*

7.2. IL-1β

IL-1β je multifunkčný cytokín, ktorý má vplyv na takmer všetky typy buniek. Pôsobí samostatne, ale aj v kombinácii s inými cytokínmi. Je predovšetkým hlavným mediátorom zápalu a iniciuje a/alebo amplifikuje široké spektrum mechanizmov spojených s prirodzenou imunitou a so schopnosťou organizmu odpovedať na prítomnosť mikroorganizmov a tkanivového poškodenia. Má aj pyrogénne účinky, už v minimálnych koncentráciách spôsobuje horúčku, hypotenziu, produkciu proteínov akútnej fázy a produkciu prozápalových cytokínov ako je napríklad IL-6. Produkovaný je najmä krvnými monocytmi.

Konkrétne napríklad iniciuje aktivitu cyklooxygenázy 2 (COX-2), fosfolipázy typu 2 a inducibilnej syntázy oxidu dusnatého (iNOS). Pre bunky to znamená, že po pôsobení IL-1β začnú produkovať veľké množstvo prostaglandínu E2 (PGE2), faktoru aktivujúceho krvné doštičky (PAF) a oxidu dusnatého (NO). Zvyšuje aj produkciu adhezívnych molekúl ako je intercelulárna adhezívna molekula 1 (ICAM-1) na mezenchymálnych bunkách alebo vaskulárna adhezívna molekula 1 (VCAM-1) na epiteliálnych bunkách. To umožňuje vstup zápalových a imunokompetentných buniek do extravaskulárneho priestoru. Funguje aj ako

angiogenetický faktor - zvyšuje expresiu vaskulárneho endotelového rastového faktoru (VEGF) a tak podporuje rast ciev. To znamená, že sa podieľa na kontrole angiogenézy nádorov a ovplyvňuje aj invazívnosť rôznych nádorových buniek *(Voronov, a iní, 2003)*. Taktiež hrá úlohu pri chorobách poškodzujúcich kĺby a kosti, pretože indukuje produkciu kolagenáz synoviálnymi bunkami a metaloproteináz chondrocytmi *(Verbruggen, 2006)*. Zvýšené hladiny tohto cytokínu boli nájdené v sérach pacientov viacerých dedičných chronických autoimunitných syndrómov- napr. familiárna stredomorská horúčka (FMF), dna, systémová juvenilná idiopatická artritída, Muckle –Wellsov syndróm a mnohé iné *(Church, Cook, & McDermott, 2008)*. U všetkých týchto chorôb bolo potvrdené, že nadmerná produkcia IL-1β je nielen príznakom, ale aj samotnou príčinou týchto chorôb.

Transkripcia IL-1β môže byť spustená rôznymi podnetmi, napríklad cez PAMP ako je napríklad lipopolysacharid (LPS), alebo je idukovaná rôznymi prozápalovými cytokínmi ako TNFα, IFNα, IFNβ a aj samotným IL-1β. Bunky ako napr. monocyty vyžadujú ešte aj pomocný signál- nestačí im len indukcia jedným z PAMPs. Napríklad stimulácia LPS spôsobí len nízku hladinu sekrécie IL-1β, zatiaľ čo v cytoplazme sa nahromadí množstvo pro-IL-1β. Pomocným signálom môže byť extracelulárne ATP, ktoré cez receptor P2X7R spôsobí eflux K^+ katiónov a tak aktivuje ICE a následnú masívnu sekréciu IL-1β *(Ferrari, a iní, 2006)*.

7.3. IL-1Ra

Pôsobí ako antagonista IL-1α/β. Kompetitívne sa viaže na rovnaké receptory, ale nevyvoláva transdukciu signálu do bunky, pretože nedôjde k tvorbe komplexu IL-1R a IL-1AcP. Takto znižuje aktivitu týchto cytokínov. V súčasnosti sa klinicky testuje jeho rekombinantná forma Anakinra ako terapeutický prostriedok liečby chorôb, ktoré sa vyznačujú nadmernou produkciou IL-1β (napr. periodická horúčka, dna). Anakinra zabraňuje signalizácii cez IL-1R a tak sa neprejavia patologické dôsledky nadprodukcie IL-1β. Zatiaľ sa zdá, že sa jedná o veľmi účinnú terapiu *(Hoffman, a iní, 2004)*.

7.4. IL-18

IL-18 je súčasťou prirodzenej, ale aj špecifickej imunity a funguje ako prozápalový cytokín. Jeho účinok je závislý aj na prítomnosti iných cytokínov, v kombinácii s nimi má množstvo biologických funkcií. Medzi najdôležitejšie patrí indukcia produkcie γ-interferónu u T-buniek, ale iba v kombinácii s IL-12. Sám indukuje produkciu TNF-α, IL-1β a oba druhy chemokínov, CC aj CXC. Ďalej stimuluje aktivitu cytotoxických T-lymfocytov a NK-buniek

tým, že zvýši expresiu Fas ligandu na ich povrchu *(Dinarello, a iní, 1998)*. Aktivuje aj neutrofily. Podobne ako IL-1 podporuje produkciu adhezívnych molekúl na bunkách cievneho epitelu *(Gracie, Robertson, & McInnes, 2003)*.

7.5. IL-1F5

Je zo 47% homologický v aminokyselinách s IL-1Ra. Prevažne je exprimovaný v embryonálnych a epiteliálnych tkanivách kože, pľúc a žalúdka. Nízka hladina expresie bola zaznamenaná u keratinocytov, v placente, slezine, mozgu a taktiež u buniek imunitného systému - leukocytov a makrofágov. Výrazne zvýšená hladina tohto cytokínu bola zaznamenaná v kožných léziách pacientov chorých na psoriázu, čo môže znamenať, že IL-1F5 hrá rolu v patogenéze tejto kožnej choroby *(Debets, a iní, 2001)*.

7.6. IL-1F6

Z 26% identický s IL-1Ra, exprimuje sa v lymfoidných orgánoch,v lymfoidných bunkových líniách a v mnohých ďalších tkanivách, napríklad v trachei a v thyme. Významná je ich expresia v T-bunkách *(Smith, Renshaw, Ketchem, Kubin, Garka, & Sims, 2000)*.

7.7. IL-1F7

Je síce z 36% štruktúrne príbuzný s IL-1Ra, ale viaže sa k reťazcu receptoru IL-18, čo poukazuje na jeho príbuznosť s IL-18. Je syntetizovaný vo forme s prodoménou, enzým štiepiaci tento peptid je pravdepodobne ICE, pretože obsahuje miesto vhodné pre štiepenie touto kaspázou. Exprimuje sa v B-bunkách, placente, semenníkoch, lymfatických uzlinách a v pľúcach. Po indukcii je exprimovaný aj periférnymi lymfocytmi (PBMC) a dendritickými bunkami. Nedávno bolo zistené, zatiaľ len na myších modeloch, že tento cytokín má antitumorogénne účinky *(Gao, Kumar, Lotze, Hanning, Robbins, & Gambotto, 2003)*.

7.8. IL-1F8

Z 25% identický s IL-1Ra, neobsahuje prodoménu alebo signálny peptid. Exprimuje sa najmä v kostrových svaloch a v gliových bunkách. Nízke hladiny expresie boli zaznamenané v kostnej dreni, srdci, placente, pľúcach, semenníkoch a hrubom čreve *(Kumar, a iní, 2000)*.

7.9. IL-1F9

Je z 25% identický s aminokyselinovou sekvenciou IL-1Ra a rovnako ako ostatné neobsahuje signálny peptid. Je konštitutívne exprimovaný v placente a v odlupujúcom sa epitele pažeráka. Pomerne vysokú hladinu expresie preukazujú aj keratinocyty a epiteliálne bunky sliznice žalúdka a pľúc *(Debets, a iní, 2001)*, *(Kumar, a iní, 2000)*.

7.10. IL-1F10

Tento proteín je z 32% homologický s IL-1Ra, neobsahuje signálny peptid a syntetizuje sa v už hotovej forme. Je sekretovaný a exprimovaný v bunkách kože, sleziny a mandlí *(Lin, a iní, 2001)*.

8. Interleukín 33

Interleukín 33, pomenovaný aj IL-1F11, v súlade s nomenklatúrou IL-1 rodiny *(Sims, a iní, 2001)*, je najnovšie objaveným cytokínom, ktorý patrí do štruktúrnej rodiny cytokínov podobných interleukínu 1 (IL-1 family) *(Schmitz, a iní, 2005)*. Zatiaľ toho o ňom veľa nevieme, ale aj to málo informácii naznačuje, že má veľmi dôležitú úlohu v reakciách imunitného systému.

8.1. Expresia IL-33

Narozdiel od IL-1β a IL-18, ktoré sú exprimované najmä v hematopoietických bunkách, mRNA kódujúca IL-33 sa exprimuje v bunkách hladkého svastva v rôznych orgánoch, taktiež v epitelových bunkách bronchiol a dolných dýchacích ciest. Po aktivácii cytokínmi TNFα a IL-1β bola pozorovaná expresia mRNA v pľúcach, dermálnych fibroblastoch a keratinocytoch. Expresia v týchto bunkách naznačuje, že IL-33 by mohol mať nejakú rolu v regulácii funkcie mukóznych orgánov. Aktivované dendritické bunky a makrofágy sú jediné hematopoietické bunky, ktoré vykazujú nízku hladinu expresie mRNA IL-33 *(Schmitz, a iní, 2005)*.

Iná skupina vedcov detegovala expresiu IL-33 v bunkách HEV (high endothelial venules) z mandlí, lymfatických uzlín a Peyerových plakov, v bunkách ciev zapálených mandlí, v čreve pacientov s Crohnovou chorobou a v synoviu pacientov s reumatoídnou artritídou. To

naznačuje , že prítomnosť IL-33 koreluje so zápalom v rôznych tkanivách *(Carriere, a iní, 2007).*

IL-33 je v keratinocytoch a fibroblastoch indukovateľný TNFα a IL-1β, v dendritických bunkách a makrofágoch bola po indukcii LPS zistená len nízka hladina expresie mRNA IL-33.

8.2. ST2 receptor

Množstvo poznatkov o IL-33 nám poskytujú štúdie jeho receptoru. IL-1 receptor ST2 je známy už viac než 18 rokov. Pôvodne bol objavený ako proteín Fos sekretovaný myšími fibroblastami *(Bergers, Reikerstorfer, Braselmann, Graninger, & Busslinger, 1994).* Napriek tomu, že jeho ligand IL-33 bol objavený až v roku 2005, bol intenzívne študovaný a patrí medzi najlepšie preskúmané IL-1R.

Tento receptor má dve izoformy, každá z nich je regulovaná iným promótorom: transmembránovú (ST2L) a solubilnú (sST2). Vznikajú alternatívnym splicingom pre-mRNA. Transmembránová isoforma ST2L je inkorporovaná v membráne. Extracelulárna časť sa skladá z troch imunoglobulínových domén, ďalej má jednu transmembránovú doménu a intracelulárnu Toll-homologickú doménu, rovnako ako ostatné receptory rodiny IL-1R. Solubilný sST2 funguje podobne ako IL-1R typu II- vyväzuje IL-33 a pôsobí tak ako negatívny receptor. Nemá transmembránovú ani Toll-homologickú doménu *(Iwahana, a iní, 1999).* Pôsobenie sST2 na signalizáciu IL-33 je teda inhibičné - to sa potvrdilo zníženou produkciou Th2 cytokínov uvoľňovaných Th2 bunkami v prítomnosti sST2 *(Hayakawa, Hayakawa, Kume, & Tominaga, 2007).* Existuje ešte aj tretia forma vST2, ale o jej pôsobení sa zatiaľ nič nevie.

Transmembránová forma ST2 sa nachádza na povrchu mastocytov (zrelých, ale aj prekurzorových) . Tento receptor odlišuje aj populácie pomocných Th buniek. Zatiaľ čo na Th2 lymfocytoch sa nachádza, na Th1 lymfocytoch nie je. Je úzko spätý s funkciou Th2 buniek v imunitnej odpovedi – dokáže ich zaktivovať a indukuje vylučovanie cytokínov typických pre Th2 bunkovú odpoveď (IL-4,IL-5,IL-10). Na Th1 bunky nemá žiaden vplyv *(Coyle, a iní, 1999), (Lohning, a iní, 1998), (Lohning, a iní, 1999), (Moritz, Rodewald, Gheyselinck, & Klemenz, 1998), (Townsend, Fallon, Matthews, Jolin, & McKenzie, 2000), (Xu, a iní, 1998).*

Nielen bunky imunitného systému majú na svojom povrchu ST2 receptor, nachádza sa napríklad aj na kardiomyocytoch *(Weinberg, a iní, 2002).* Práve u nich bol potvrdený význam

signalizácie IL-33/ST2, pretože bolo zistené, že parakrinná signalizácia medzi kardiomyocytmi a srdcovými fibroblastmi sprostredkovaná IL-33/ST2 funguje protektívne pri mechanickom preťažení *(Sanada, Hakuno, Higgins, Schreiter, McKenzie, & Lee, 2007)*. IL-33 by tak mohol byť využitý pri regulácii odpovede myokardu na mechanické preťaženie.
Mechanizmus prenosu signálu je identický ako u ostatnýchčlenov IL-1 rodiny- po naviazaní IL-33 zmení ST2 svoju konformáciu a to mu umožní vytvoriť heterodimér s IL-1R-AcP *(Chackerian, Oldham, Murphy, Schmitz, Pflanz, & Kastelein, 2007)*, následne dôjde k transdukcii signálu do bunky- aktivujú sa bunkové signalizačné dráhy (ich súčasťou sú MAP-kinázy, NFκB).

8.3. Biologický účinok IL-33

Pre rozvoj imunitnej odpovede typu Th2 je nevyhnutná prítomnosť ST2 receptoru na Th2 bunkách *(Trajkovic, Sweet, & Xu, 2004)*. Po stimulácii Th2 buniek pomocou IL-33 došlo k zvýšeniu produkcie IL-5 a IL-13. Oba tieto cytokíny patria do skupiny cytokínov spojených s imunitnou odpoveďou typu Th2. Taktiež sa zvýšila hladina sérových imunoglobulínov. U buniek Th 1 nedošlo k výraznej zmene, mierne bola znížená produkcia IFNγ. Z toho vyplýva, že IL-33, narozdiel od IL-1β a IL-18, ktoré podporujú prozápalový a Th1 asociovaný typ imunitnej odpovede *(Robinson, a iní, 1997)*, je skôr imunoregulačný cytokín, ktorý kontroluje produkciu cytokínov asociovaných s Th2 typom imunitnej odpovede a zvyšuje hladinu imunoglobulínov v sére *(Schmitz, a iní, 2005)*. Je aj účinným chemoatraktantom Th2 buniek, pravdepodobne však nevedie k ich rozvoju či dozrievaniu (Komai-Koma, Xu, Li, McKenzie, McInnes, & Liew, 2007).

IL-33 pôsobí aj na mastocyty, na ktorých je vystavený ST2 receptor *(Allakhverdi, Smith, Comeau, & Delespesse, 2007)*. Expresia tohto receptoru bola detekovateľná veľmi dobre intracelulárne prietokovou cytometriou, ale takmer vôbec sa nedá detekovať na bunkovom povrchu. Napriek tomu je známe, že IL-33 indukuje fosforyláciu Erk, p38, a Jnk kináz v mastocytoch, zvyšuje ich životnosť a podporuje ich väzbu k fibronektínu . Ďalej indukuje v mastocytoch produkciu IL-8 a IL-13 a zvyšuje ich produkciu v prípade, že mastocyty boli IgE/anti-IgE stimulované. Nepodporuje sekréciu PGD2 či histamínu. Dôležité je, že IL-33, rovnako ako IL-1β indukuje produkciu cytokínov v mastocytoch, aj keď stimul z receptoru FcεRI absentuje. To znamená, že IL-33 podporuje funkciu mastocytov v alergických reakciách aj v neprítomnosti kostimulačného signálu prijímaného cez IgE/antigén- FcεRI komplex *(Iikura, a iní, 2007)*.

Pokiaľ bol IL-33 podávaný myšiam v dlhšom časovom úseku, došlo k výrazným anatomickým zmenám, napríklad k zväčšeniu sleziny, žalúdka a v duodene sa nachádzal hlien a žlč. Taktiež došlo k histologickým zmenám v slizničných tkanivách pľúc, pažeráka a tenkého čreva. V pľúcach došlo aj k vaskulárnym zmenám *(Schmitz, a iní, 2005)*.

8.4. IL 33 v úlohe jadrového faktoru

Podobne ako IL-1α, aj IL-33 patrí medzi hŕstku cytokínov, ktoré pôsobia nielen ako klasické cytokíny pôsobením cez svoj receptor, ale aj ako jadrové faktory. IL-33 sa hromadí v jadre a asociuje s heterochromatínom a aj s mitotickým chromatínom. Za túto aktivitu je zodpovedná N-terminálna časť IL-33(65 aminokyselinových zvyškov), ktorá je evolučne konzervovaná a má helix-turn-helix štruktúru, ktorá obsahuje dva bipartitné jadrové lokalizačné signály. Táto doména je zodpovedná aj za transkripčne- represorovú aktivitu IL-33 *(Carriere, a iní, 2007)*.

Stále sa však nevie, aký má vlastne asociácia IL-33 s chromatínom fyziologický efekt. Massimo Gadina a Caroline A. Jefferiesová (Gadina & Jefferies, 2007) sa snažili tento problém vyriešiť na základe štúdií iného proteínu, ktorý vystupuje tiež súčasne v dvoch rolách. High mobility group box 1 proteín (HMGB1) bol objavený ako jadrový faktor, ktorý stabilizuje vytváranie a funkciu nukleozómov ako transkripčný regulátor a taktiež je sekretovaný myšími makrofágmi v prítomnosti lipopolysacharidu (LPS), čiže pôsobí ako neskorý mediátor zápalovej odpovede *(Lotze & Tracey, 2005)* Extracelulárna funkcia HMGB1 je tak trochu kontroverzná. Momentálne sa špekuluje, že ak je HMGB1 uvoľnený z mŕtvych alebo zomierajúcich buniek, tento inak intracelulárny proteín sa podieľa na vzniku zápalu v miestach, kde je tkanivo poškodené. Zaujímavé je, že HMGB1 vykazuje túto funkciu len v kontexte so zápalom. Pravdepodobne prepája dráhy pre detekciu poškodenia a detekciu patogénu cez cross-talk medzi HMGB1 receptorom, receptorom RAGE (receptor for advanced glycation end products) a Toll-like receptormi (TLRs). Bolo dokázané, že aj keď je HMGB1 uvoľňovaný z nekrotických buniek, pri absencii zápalu nie je schopný vyvolať produkciu interferonu α (IFN-α) plazmacytoidnými dendritickými bunkami (pDC) (špecializovaná frakcia dendritických buniek, ktorá má morfológiu podobnú ako plazmatické bunky a reaguje na tkanivové poškodenie alebo na prítomnosť vírusovej DNA produkciou veľkého množstvo interferónov typu I). Akonáhle je HMGB1 uvoľňovaný počas zápalu, viaže sa na bakteriálnu alebo vírusovú DNA. Následne sa viaže na RAGE receptor pDC

buniek a tak umožňuje prezentáciu cudzej DNA receptoru TLR 9, ktorý je kľúčovým pre rozpoznanie vírusovej či bakteriálnej DNA a následnú reakciu v podobe stimulácie tvorby interferónov. Vlastne má úlohu koreceptoru TLR9 *(Tian, a iní, 2007)*. Tým istým mechanizmom dokáže HMGB1 reagovať aj na vlastnú DNA uvoľnenú z mŕtvych alebo zomierajúcich buniek. Tieto zistenia podporujú zaradenie HMGB1 do skupiny danger-associated molecular patterns proteínov (DAMPs), ktoré informujú imunitný systém o bunkovom alebo tkanivovom poškodení *(Bianchi, 2007)*.

Na základe podobnosti HMGB1 a IL-33 a na základe týchto zistení môžeme predpokladať, že aj IL-33 by mohol byť členom DAMP rodiny. Z toho vyplýva, že skôr než ako cytokín hrajúci úlohu v spúšťaní zápalovej odpovede, by úloha IL-33 mohla spočívať v limitácii zápalovej odpovede a to pomocou dvoch mechanizmov - ako klasický antizápalový cytokín pôsobiaci cez svoj receptor ST2 a ako jadrový represor transkripcie génov prozápalových cytokínov. A ak vezmeme do úvahy, že dráhy medzi DAMP receptormi a pathogen recognition receptormi (PRR) sa krížia a navzájom ovplyvňujú, IL-33 može pôsobením cez ST2 nielen podporovať Th2 typ imunitnej odpovede, ale zároveň aj rušiť prozápalové procesy vyvolané TLR. Tento predpoklad je podporený prácou Brinta a jeho spolupracovníkov, ktorí demonštrovali prepojenie dráhy pôsobiacej cez ST2 a dráhy pre TLR4. Pôsobením na ST2 dochádza k signalizácii cez adaptorové proteíny Mal a MyD88. Oba proteíny sú nevyhnutné aj pre signálnu dráhu vyvolanú pôsobením PAMPs na TLR4. Dráha pôsobiaca cez ST2 teda vychytáva Mal a MyD88 a tak inhibuje aktiváciu NF-κB a následnú expresiu génov pre prozápalové cytokíny vyvolanú TLR4 *(Brint, a iní, 2004)*. A keďže jediným známym ligandom ST2 pôsobiacim na dráhu NF-κB je IL-33, je veľmi pravdepodobné, že práve on stojí za antagonistickým pôsobením na dráhu TLR4.

9. Záver:

IL-33 bol objavený len nedávno, ale aj to málo poznatkov, ktoré o ňom máme, naznačuje, že sa jedná o veľmi zaujímavý a medzi ostatnými členmi rodiny IL-1 nevšedný cytokín.

Ak sa pozrieme na aktivitu solubilného IL-33, zistíme, že na rozdiel od všetkých ostatných cytokínov IL-1 rodiny neovplyvňuje imunitnú odpoveď asociovanú s Th1 bunkami. Stimulácia pomocou IL-33 vedie k produkcii IL-5 a IL-13 a k zvýšeným hladinám imunoglobulínov v sére, čo je typické pre Th2 bunkovú odpoveď. Na rozdiel od svojich blízkych príbuzných teda nie je prozápalovým cytokínom, ale má úlohu skôr ako imunoregulačný cytokín podieľajúci sa na kontrole Th2 bunkovej imunitnej odpovede. O biologickom účinku exogénneho IL-33 zatiaľ toho veľa nevieme. Naopak o jeho receptore ST2, ktorý bol objavený už dávnejšie a bol intenzívne študovaný, máme množstvo informácii. Je veľmi pravdepodobné a v niektorých prípadoch aj potvrdené, že keďže IL-33 je jeho ligandom, bude mať rovnaké antizápalové účinky, aké boli zistené pri pridaní ST2 k bunkám.

Ďalšou zaujímavou otázkou je, aké faktory ovplyvňujú, či je IL-33 sekretovaný von z bunky alebo sa hromadí v jadre. Ak sa obrátime na už spomínaný proteín HMGB1, pripadá do úvahy nasledovná hypotéza: ak je IL-33 uvoľňovaný z mŕtvych či zomierajúcich buniek (ako HMGB1), pôsobí ako výstražný signál pre imunitný systém, a súčasne svojou aktivitou ako represor transkripcie limituje silu imunitnej odpovede.

Nedoriešená je aj syntéza maturovanej formy IL-33. In vitro bolo potvrdené, že svoju aktivitu nadobudne IL-33 až po rozštiepení jeho prekurzoru proteinázou ICE. Ale snaha získať dôkaz, že k tomuto štiepeniu dochádza aj in vivo, bola zatiaľ márna. Štiepenie IL-1β a IL-18 je regulované aktivitou ICE, ktorá je obsiahnutá v multiproteínovom komplexe známom ako inflamazóm. Môžeme len špekulovať, že aj IL-33 má svoj vlastný inflamazóm, ktorý hrá rolu v regulácii jeho aktivity.

Nesporne najzaujímavejšou vlastnosťou IL-33 je jeho schopnosť fungovať ako jadrový faktor. Zatiaľ bola potvrdená jeho asociácia s heterochromatínom a mitotickými chromozómami. Neznámy je ale mechanizmus pôsobenia IL-33 pri inhibícii transkripcie a ako vlastne táto inhibícia ovplyvňuje zápalovú odpoveď. V tomto prípade máme viac informácií o pôsobení príbuzného cytokínu IL-1α, ktorý sa viaže na histónovú acetyltransferázu p300 a PCAF. Výskum v tejto oblasti je potrebný, aby ozrejmil funkčné dôsledky aktivity IL-33 ako

represoru transkripcie. Aby sme lepšie porozumeli biológii IL-33, zostáva nám zodpovedať ešte množstvo otázok.

Molekuly fungujúce súčasne oboma mechanizmami (ako klasické cytokíny a ako transkripčné faktory) sú v biológii zaujímavou novinkou, ktorá opäť komplikuje a zamotáva naše bádanie v už aj tak zložitej cytokínovej sieti, ale na druhej strane otvára ďalšiu rovinu regulácie imunitnej odpovede. Budúcnosť ukáže, či podobná vlastnosť nebude odhalená aj u ďalších cytokínov.

10. Poďakovanie

Na tomto mieste by som chcela poďakovať svojmu školiteľovi Doc. MUDr. Iljovi Střížovi, CSc. za mnoho užitočných rád a čítanie mojej bakalárskej práce. A vďaka patrí aj mojim najbližším - rodičom a súrodencom za neutíchajúcu podporu.

11. Zoznam použitej literatúry

11.1. Priame citácie

Allakhverdi, Z., Smith, D., Comeau, M., & Delespesse, G. (2007). Cutting edge: The ST2 ligand IL-33 potently activates and drives maturation of human mast cells. *J Immunol. 197* , s. 2051-4.

Barksby, H. E., Lea, S. R., Preshaw, P. M., & Taylor, J. (2007). The expanding family of interleukin-1 cytokines and their role in destructive inflammatory disorders. *Clin. Exp. Immunol.* , s. 217-225.

Bergers, G., Reikerstorfer, A., Braselmann, S., Graninger, P., & Busslinger, M. (1994). Alternative promoter usage of the fosresponsivegene Fit-1 generates mRNA isoforms coding for eithersecreted or membrane-bound proteins related to the IL-1 receptor. *EMBO J. 13* , s. 1176–1188.

Bianchi, M. (2007). DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J. Leukoc. Biol.* , s. 1-5.

Born, T., Thomassen, E., Bird, T., & Sims, J. (1998). Cloning of a novel receptor subunit, AcPL, required for interleukin-18 signaling. *J Biol Chem.* , s. 29445-29450.

Brint, E., Xu, D., Liu, H., Dunne, A., McKenzie, A., O'Neill, L., a iní. (2004). ST2 is an inhibitor of interleukin 1 receptor and Toll-like receptor 4 signaling and maintains endotoxin tolerance. *Nat. Immunol.* , s. 373-379.

Buryskova, M., Pospisek, M., Grothey, A., Simmet, T., & Burysek, L. (2004). Intracellular interleukin-1alpha functionally interacts with histone acetyltransferase complexes. *J Biol Chem.* , s. 4017-4026.

Cao, Z., Xiong, J., Takeuchi, M., Kurama, T., & Goeddel, D. V. (2006). TRAF6 is a signal transducer for interleukin-1. *Nature* , s. 443-446.

Carriere, V., Roussel, L., Ortega, N., Lacorre, D., Americh, L., Aguilar, L., a iní. (2007). IL-33, the IL-1-like cytokine ligand for ST2 receptor, is a chromatin-associated nuclear factor in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* , s. 282-7.

Coeshott, C., Ohnemus, C., & Pilyavskaya, A. e. (1999). Converting enzyme - independent release of TNF and IL-1β from a stimulated human monocytic cell line in the presence of activated neutrophils or purified protease 3. *Proc. Natl Sci. USA 96* , s. 6261-6266.

Colotta, F., Re, F., & Muzio, M. e. (1993). Interleukin-1 type II receptor: a decoy target for IL-1 that is regulated by IL4. *Science 261* , s. 472-475.

Coyle, A., Lloyd, C., Tian, J., Nguyen, T., Erikkson, C., Wang, L., a iní. (1999). Crucial role of the interleukin 1 receptor family member T1/ST2 in T helper cell type 2-mediated lung mucosal immune responses. *J. Exp. Med.* , s. 895–902.

Debets, R., Timans, J., Homey, B., Zurawski, S., Sana, T., Lo, S., a iní. (2001). Two novel IL-1 family members, IL-1 delta and IL-1 epsilon, function as an antagonist and agonist of NF-kappa B activation through the orphan IL-1 receptor-related protein 2. *J Immunol* , s. 1440-1446.

Dinarello, C. A., Novick, D., Puren, A. J., Fantuzzi, G., Shapiro, L., Muhl, H., a iní. (1998). Overview of interleukin-18: more than an interferon-gamma inducing factor. *Journal of leukocyte biology* , s. 658-664.

Dinarello, C. (2005). An IL-1 family member requires caspase-1 processing and signals through the ST2 receptor. *Immunity 23* , s. 461-462.

Dinarello, C. (1996). Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood* , s. 2095-147.

Dowds, T., Masumoto, J., Zhu, L., Inohara, N., & Núñez, G. (2004). Cryopyrin-induced interleukin 1beta secretion in monocytic cells: enhanced activity of disease-associated mutants and requirement for ASC. *J Biol Chem.* , s. 21924-8.

Eisenberg, S. P., Evans, R. J., Arend, W. P., Verderber, E., Brewer, M. T., Hannum, C. H., a iní. (1990). Primary structure and functional expression from complementary DNA of a human interleukin-1 receptor antagonist. *Nature* , s. 341-346.

Evans, R., Bray, J., & Childs, J. e. (dátum neznámy). Mapping receptor binding sites in the IL-1 receptorantagonist and IL-1b by side-directed mutagenesis: identification of a single site in IL-1. *J. Biol.Chem. 270* , s. 11477-11483.

Ferrari, D., Pizzirani, C., Adinolfi, E., Lemoli, R., Curti, A., Idzko, M., a iní. (2006). The P2X7 receptor: a key player in IL-1 processing and release. *J Immunol* , s. 3877–3783.

Gadina, M., & Jefferies, C. (2007). IL-33: a sheep in wolf's clothing? *Sci STKE. 390* , s. pe 31.

Gao, W., Kumar, S., Lotze, M., Hanning, C., Robbins, P., & Gambotto, A. (2003). Innate immunity mediated by the cytokine IL-1 homologue 4 (IL-1H4/IL-1F7) induces IL-12-dependent adaptive and profound antitumor immunity. *J Immunol.* , s. 107-113.

Ghayur, T., Banerjee, S., Hugunin, M., Butler, D., Herzog, L., Carter, A., a iní. (1997). Caspase-1 processes IFN-gamma-inducing factor and regulates LPS-induced IFN-gamma production. *Nature* , s. 619-23.

Gracie, J., Robertson, S., & McInnes, I. (2003). Interleukin 18. *J Leukoc Biol.* , s. 213-224.

Greenfeder, S., Nunes, P., & Kwee, L. e. (1995). Molecular cloning and characterization of a second subunit of the interleukin-1 receptor complex. *J. Biol. Chem. 270* , s. 13757-13765.

Gu, Y., Kuida, K., Tsutsui, H., Ku, G., Hsiao, K., Fleming, M., a iní. (1997). Activation of interferon-gamma inducing factor mediated by interleukin-1beta converting enzyme. *Science* , s. 206-9.

Hayakawa, H., Hayakawa, M., Kume, A., & Tominaga, S. (2007). Soluble ST2 blocks interleukin-33 signaling in allergic airway inflammation. *J Biol Chem.* , s. 26369-80.

Heguy, A., Baldari, C., & Macchia, G. e. (1992). Amino acids conserved in interleukin-1 receptors and the Drosophilla Toll protein are essential fol IL-1R signal transduction . *J. Biol. Chem. 267* , s. 2605-2609.

Hoffman, H., Rosengren, S., Boyle, D., Cho, J., Nayar, J., Mueller, J., a iní. (2004). Prevention of cold-associated acute inflammation in familial cold autoinflammatory syndrome by interleukin-1 receptor antagonist. *Lancet.* , s. 1779-1785.

Chackerian, A., Oldham, E., Murphy, E., Schmitz, J., Pflanz, S., & Kastelein, R. (2007). IL-1 receptor accessory protein and ST2 comprise the IL-33 receptor complex. *J Immunol.* , s. 2551-2555.

Church, L., Cook, G., & McDermott, M. (2008). Primer: inflammasomes and interleukin 1ß in inflammatory disorders. *Nat Clin Pract Rheumatol.* , s. 34-42.

Iikura, M., Suto, H., Kajiwara, N., Oboki, K., Ohno, T., Okayama, Y., a iní. (2007). IL-33 can promote survival, adhesion and cytokine production in human mast cells. *Lab Invest.* , s. 971-978.

Iwahana, H., Yanagisawa, K., Ito-Kosaka, A., Kuroiwa, K., Tago, K., Komatsu, N., a iní. (1999). Different promoter usage and multiple transcription initiation sites of the interleukin-1 receptor-related human ST2 gene in UT-7 and TM12 cells. *Eur. J. Biochem.* , s. 397–406.

Kalina, U., Kauschat, D., Koyama, N., Nuernberger, H., Ballas, K., Koschmieder, S., a iní. (2000). IL-18 activates STAT3 in the natural killer cell line 92, augments cytotoxic activity, and mediates IFN-gamma production by the stress kinase p38 and by the extracellular regulated kinases p44erk-1 and p42erk-21. *J. Immunol.* , s. 1307-1313.

Kanakaraj, P., Ngo, K., Wu, Y., Angulo, A., Ghazal, P., Harris, C. A., a iní. (1999). Defective interleukin (IL)-18-mediated natural killer and T helper cell type 1 responses in IL-1 receptor-associated kinase (IRAK)-deficient mice. *J.Exp.Med.* , s. 1129-1138.

Kaplanski, G., Farnarier, C., Kaplanski, S., Porat, R., Shapiro, L., Bongrand, P., a iní. (1994). Interleukin-1 induces interleukin-8 secretion from endothelial cells by a juxtacrine mechanism. *Blood* , s. 4242-4248.

Kim, S., Eisenstein, M., Reznikov, L., Fantuzzi, G., Novick, D., Rubinstein, M., a iní. (2000). Structural requirements of six naturally occurring isoforms of the IL-18 binding protein to inhibit IL-18. *Proc Natl Acad Sci U S A. 97* , s. 1190-1195.

Kojima, H., Takeuchi, M., Ohta, T., Nishida, Y., Arai, N., Ikeda, M., a iní. (1998). Interleukin-18 activates the IRAK-TRAF6 pathway in mouse EL-4 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* , s. 183-186.

Komai-Koma, M., Xu, D., Li, Y., McKenzie, A., McInnes, I., & Liew, F. (2007). IL-33 is a chemoattractant for human Th2 cells. *Eur J Immunol. 37* , s. 2779-2786.

Kumar, S., Hanning, C., Brigham-Burke, M., Rieman, D., Lehr, R., Khandekar, S., a iní. (2002). Interleukin-1F7B (IL-1H4/IL-1F7) is processed by caspase-1 and mature IL-1F7B binds to the IL-18 receptor but does not induce IFN-gamma production. *Cytokine* , s. 61-71.

Lin, H., Ho, A., Haley-Vicente, D., Zhang, J., Bernal-Fussell, J., Pace, A., a iní. (2001). Cloning and characterization of IL-1HY2, a novel interleukin-1 family member. *J Biol Chem.* , s. 20597-20602.

Lohning, M., Grogan, J., Coyle, A., Yazdanbakhsh, M., Meisel, C., Gutierrez-Ramos, J., a iní. (1999). T1/ST2 expression is enhanced on CD4+ T cells from schistosome egg-induced granulomas: analysis of Th cell cytokine coexpression ex vivo. *J. Immunol. 162* , s. 3882–3889.

Lohning, M., Stroehmann, A., Coyle, A., Grogan, J., Lin, S., Gutierrez-Ramos, J., a iní. (1998). T1/ST2 is preferentially expressed on murine Th2 cells,independent of interleukin 4, interleukin 5, and interleukin 10, andimportant for Th2 effector function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95* , s. 6930–6935.

Maier, J., Statuto, M., & Ragnotti, G. (1994). Endogenous interleukin 1 alpha must be transported to the nucleus to exert its activity in human endothelial cells. *Mol Cell Biol.* , s. 1845_51.

Martinon, F. B. (2002). The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Moll Cell.* , s. 417-26.

Martinon, F., & Tschopp, J. (2007). Inflammatory caspases and inflammasomes: master switches of inflammation. *Cell Death and Differentiation* , s. 10-22.

Martinon, F., Gaide, O., Pétrilli, V., Mayor, A., & Tschopp, J. (2007). NALP inflammasomes: a central role in innate immunity. *Semin Immunopathol.* , s. 213-29.

Matsumoto, S., Tsuji-Takayama, K., Aizawa, Y., Koide, K., Takeuchi, M., Ohta, T., a iní. (1997). Interleukin-18 activates NF-kappaB in murine T helper type 1 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun* , s. 454-457.

McMahan, C. J., Slack, J. L., Mosley, B., Cosman, D., Lupton, S. D., Brunton, L. L., a iní. (1991). A novel IL-1 receptor, cloned from B cells by mammalian expression, is expressed in many cell types. *EMBO J.* , s. 2821–2832.

Mizel, S., Kilian, P., Lewis, J., Paganelli, K., & Chizzonite, R. (1987). The interleukin 1 receptor. Dynamics of interleukin 1 binding and internalization in T cells and fibroblasts. *J Immunol.* , s. 2906-12.

Moritz, D., Rodewald, H., Gheyselinck, J., & Klemenz, R. (1998). The IL-1 receptor-related T1 antigen is expressed on immature and mature mast cells and on fetal blood mast cell progenitors. *J. Immunol. 161* , s. 4866–4874.

Mulero, J., Pace, A., & Nelken, S. e. (1999). IL1HY1: A novel interleukin- 1 receptor antagonist gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun. 263* , s. 702-706.

Ray, C., Black, R., Kronheim, S., Greenstreet, T., Sleath, P., Salvesen, G., a iní. (1992). Viral inhibition of inflammation: cowpox virus encodes an inhibitor of the interleukin-1 beta converting enzyme. *Cell* , s. 597-604.

Re, F., Sironi, M., Muzio, M., Matteucci, C., Introna, M., Orlando, S., a iní. (1996). Inhibition of interleukin-1 responsiveness by type II receptor gene transfer: a surface "receptor" with anti-interleukin-1 function. *J Exp Med. 183* , s. 1841-1850.

Robinson, D., Shibuya, K., Mui, A., Zonin, F., Murphy, E., Sana, T., a iní. (1997). IGIF does not drive Th1 development but synergizes with IL-12 for interferon-gamma production and activates IRAK and NFkappaB. *Immunity 7* , s. 571-581.

Sanada, S., Hakuno, D., Higgins, L., Schreiter, E., McKenzie, A., & Lee, R. (2007). IL-33 and ST2 comprise a critical biomechanically induced and cardioprotective signaling system. *J Clin Invest.* , s. 1538-1549.

Schmitz, J., Owyang, A., Oldham, E., Song, Y., Murphy, E., McClanahan, T. K., a iní. (2005). IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2- associated cytokines. *Immunity 25* , s. 479–490.

Schreuder, H., Tardif, C., Trump-Kallmeyer, S., Soffientini, A. E., Akeson, A., Bowlin, T., a iní. (1997). A new cytokine-receptor binding mode revealed by the crystal structure of the IL-1 receptor with an antagonist. *Nature* , s. 194-200.

Sims, J., Nicklin, M., Bazan, J., Barton, J., Busfield, S., Ford, J., a iní. (2001). A new nomenclature for IL-1-family genes. *Trends Immunol. 22* , s. 536-537.

Smith, D., Renshaw, B., Ketchem, R., Kubin, M., Garka, K., & Sims, J. (2000). Four new members expand the interleukin-1 superfamily. *J Biol Chem* , s. 1169-1175.

Taylor, S. L., Renshaw, B. R., Garka, K. E., Smith, D. E., & Sims, J. (2002). Genomic Organization of the Interleukin-1 Locus. *Genomics* , s. 726-733.

Torigoe, K., Ushio, S., Okura, T., Kobayashi, S., Taniai, M., Kunikata, M., a iní. (1997). Purification and characterization of the human interleukin-18 receptor. *J Biol Chem.* , s. 25737-25742.

Towne, J., Garka, K., Renshaw, B., Virca, G., & Sims, J. (2004). Interleukin (IL)-1F6, IL-1F8, and IL-1F9 signal through IL-1Rrp2 and IL-1RAcP to activate the pathway leading to NF-kappaB and MAPKs. *J Biol Chem.* , s. 13677–13688.

Townsend, M., Fallon, P., Matthews, D., Jolin, H., & McKenzie, A. (2000). T1/ST2-deficient mice demonstrate the importance of T1/ST2 in developing primary T helper cell type 2 responses. *J. Exp. Med. 191* , s. 1069–1076.

Trajkovic, V., Sweet, M., & Xu, D. (2004). T1/ST2-an IL-1 receptor-like modulator of immune responses. *Cytokine Growth Factor Rev. 15* , s. 87–95.

Verbruggen, G. (2006). Chondroprotective drugs in degenerative joint diseases. *Rheumatology* , s. 129-138.

Vigers, G. P., Anderson, L. J., Caffes, P., & Brandhuber, B. J. (1997). Crystal structure of the type-I interleukin-1 receptor complexed with interleukin-1beta. *Nature* , s. 190-194.

Voronov, E., Shouval, D., Krelin, Y., Cagnano, E., Benharroch, D., Iwakura, Y., a iní. (2003). IL-1 is required for tumor invasiveness and angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* , s. 2645–2650.

Weinberg, E., Shimpo, M., De Keulenaer, G., MacGillivray, C., Tominaga, S., Solomon, S., a iní. (2002). Expression and regulation of ST2, an interleukin-1 receptor family member, in cardiomyocytes and myocardial infarction. *Circulation* , s. 2961-2966.

Werman, A., Werman-Venkert, R., White, R., Lee, J., Werman, B., Krelin, Y., a iní. (2004). The precursor form of IL-1alpha is an intracrine proinflammatory activator of transcription. *Proc Natl Acad Sci U S A* , s. 2434-9.

Wesche, H., Henzel, W. J., Shillinglaw, W., Li, S., & Cao, Z. (1997). MyD88: an adapter that recruits IRAK to the IL-1 receptor complex. *Immunity* , s. 837-847.

Xu, D., Chan, W., Leung, B., Huang, F., Wheeler, R., Piedrafita, D., a iní. (1998). Selective expression of a stable cell surface molecule on type 2 but not type 1 helper T cells. *J. Exp. Med. 187* , s. 787–794.

11.2. Nepriame citácie

Colotta, F., Dower, S., Sims, J., & A., M. (1994). The type II decoy receptor: a novel regulatory pathway for interleukin 1. *Immunol. Today 15* , s. 562-566.

Dinarello, C. (1998). Interleukin-1, interleukin-1 receptors and interleukin-1 receptor antagonist. *Int Rev Immunol.* , s. 457-99.

Kumar, S., McDonnell, P., Lehr, R., Tierney, L., Tzimas, M., Griswold, D., a iní. (2000). Identification and initial characterization of four novel members of the interleukin-1 family. *J Biol Chem.* , s. 10308-10314.

Lotze, M., & Tracey, K. (2005). High-mobility group box 1 protein (HMGB1): nuclear weapon in the immune arsenal. *Nat. Rev. Immunol.* , s. 331-342.

Novick, D. K. (1999). Interleukin-18 binding protein: a novel modulator of the Th1 cytokine response. *Immunity* , s. 127-136.

Novick, D., Schwartsburd, B., Pinkus, R., Suissa, D., Belzer, I., Sthoeger, Z., a iní. (2001). A novel IL-18BP ELISA shows elevated serum IL-18BP in sepsis and extensive decrease of free IL-18. *Cytokine 14,* s. 334-342.

Tian, J., Avalos, A., Mao, S., Chen, B., Senthil, K., Wu, H., a iní. (2007). Toll-like receptor 9-dependent activation by DNA-containing immune complexes is mediated by HMGB1 and RAGE. *Nat. Immunol.* , s. 487-496.