

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
2. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

---

# **Dendritické buňky a jejich role u vybraných patologických stavů**

Disertační práce

**PharmDr. Klára Sochorová**

Doktorské studium biomedicíny  
Oborová rada: Imunologie

Školitelka: Prof. MUDr. Jiřina Bartůňková, DrSc.

---

Praha 2009

## **Poděkování**

Děkuji své školitelce prof. Jiřině Bartůňkové za odborné vedení, podporu a vytvoření skvělých pracovních podmínek, doc. Radku Špíškovi za odbornou pomoc s navrhováním pokusů a vyhodnocováním výsledků a prof. Anně Šedivé za odbornou pomoc v projektu DC a deficit Brutonovy tyrosin kinázy.

Chtěla bych také poděkovat všem svým kolegům z Ústavu imunologie za vytvoření pohodového pracovního prostředí a za podnětné odborné diskuze. Zvláštní dík patří Daniele Rožkové za zasvěcení do laboratorních metod a trpělivost při zodpovídání veškerých dotazů.

Speciální dík za podporu a lásku v jakékoliv situaci patří Mirkovi a díky za zpestření mého postgraduálního studia patří Matyáškově.

## Obsah

1	Úvod .....	7
2	DC v imunitním systému.....	8
3	Biologie DC.....	10
3.1	Základní charakteristiky DC .....	10
3.2	Subpopulace dendritických buněk.....	11
3.3	Pohlcování, zpracování a prezentace antigenů.....	12
3.4	Maturace dendritických buněk .....	14
3.4.1	Maturační signály .....	14
3.4.1.1	Toll-like receptory.....	15
3.4.1.2	Jiné membránové receptory rozpoznávající patogenní struktury .....	18
3.4.1.3	Cytoplasmatické receptory rozpoznávající patogenní struktury .....	19
3.4.1.4	Signály zprostředkované zánětlivými faktory.....	21
3.4.1.5	Signály zprostředkované aktivovanými lymfocyty.....	22
3.4.1.6	Fc receptory .....	22
3.4.1.7	Endogenní signály.....	23
3.4.2	Změny DC v průběhu maturace.....	24
3.4.2.1	Morfologie DC .....	24
3.4.2.2	Migrace DC.....	24
3.4.2.3	Pohlcování, zpracování a prezentace antigenu .....	25
3.4.2.4	Exprese povrchových molekul.....	27
3.4.2.5	Produkce cytokinů .....	28
4	Interakce DC s T lymfocyty .....	29
4.1	Průběh adaptivní imunitní reakce.....	29
4.2	Interakce DC-T lymfocyt .....	29
4.3	Aktivační signály T lymfocytů.....	30
4.3.1	Signál 1: komplex MHC-peptid .....	30
4.3.2	Signál 2: kostimulace.....	31
4.3.3	Signál 3: cytokiny a další polarizační faktory .....	32
4.4	DC a ovlivnění charakteru T buněčné odpovědi .....	33
4.5	DC a indukce tolerance .....	34
4.5.1	Role DC v navození centrální tolerance .....	34
4.5.2	Role DC v mechanismech periferní tolerance .....	35

5	Dendritické buňky a jejich význam u vybraných patologických stavů.....	37
5.1	Dendritické buňky a primární imunodeficiencie.....	37
5.1.1	X-vázaná agamaglobulinémie (XLA).....	37
5.1.2	Běžná variabilní imunodeficiencie (CVID).....	38
5.1.3	Hyper IgM syndrom .....	38
5.1.4	Wiskottův-Aldrichův syndrom .....	39
5.1.5	IRAK-4 deficit.....	39
5.1.6	Chronická granulomatóza.....	40
5.1.7	Anhydrotická ektodermální dysplazie s imunodeficitem .....	40
5.2	Dendritické buňky a poruchy metabolismu.....	41
5.2.1	DC u metabolických poruch .....	41
5.2.2	DC a vitamin D.....	42
5.3	Dendritické buňky a nádorová onemocnění.....	44
5.3.1	Role imunitního systému v obraně proti nádorovým buňkám .....	44
5.3.2	Rozpoznání nádorových buněk imunitním systémem.....	45
5.3.3	Mechanismy úniku nádorových buněk před imunitní reakcí .....	46
5.3.4	DC a imunoterapie nádorových onemocnění .....	47
6	Cíle práce.....	50
7	Výsledky a diskuze.....	52
7.1	Snížená schopnost dendritických buněk pacientů s X-vázanou agamaglobulinémií produkovat IL-6 a TNF- $\alpha$ po stimulaci TLR8 .....	53
7.2	Paricalcitol (19-nor-1,25-dihydroxycholecalciferol) ak alcitriol (1,25- dihydroxycholecalciferol) mají imunomodulační vliv na dendritické buňky a inhibují vznik antigen specifických T lymfocytů.....	59
7.3	In vitro zhodnocení vlastností DC pulsovaných apoptotickými nádorovými buňkami s ohledem na jejich použití jako protinádorové vakcíny .....	85
8	Závěr.....	96
9	Seznam citované literatury .....	98
10	Seznam vlastních publikací.....	128

## Seznam použitých zkratk

APC	antigen prezentující buňky (antigen presenting cells)
ATP	adenosin trifosfát
btk	Brutonova tyrosin kináza
CCL	chemokin
CCR	chemokinový receptor
CD	diferenční antigen (cluster of differentiation)
CTL	cytotoxický lymfocyt
CVID	běžný variabilní imunodeficit (common variable immunodeficiency)
CXCR	chemokinová receptor
DC	dendritické buňky (dendritic cells)
DNA	deoxyribonukleová kyselina
FOXP3	transkripční faktor exprimovaný v regulačních T lymfocytech (forkhead box P3)
HLA	lidský leukocytární (histokompatibilní) antigen (human leucocyte antigen)
HMGB1	high mobility group box 1
hsp	protein tepelného šoku (heat shock protein)
ICAM	mezibuněčná adhezivní molekula (intercellular adhesion molecule)
IDO	indolamin-2,3-oxigenáza
IFN	interferon
IgA	imunoglobulin třídy A
IgG	imunoglobulin třídy G
IgM	imunoglobulin třídy M
IKK	IkappaB kinase komplex
IL	interleukin
IRF	transkripční faktor - interferon regulatory factor
LPS	lipopolysacharid
LRR	sekvence bohaté na leucin (leucin rich repeats)
mDC	myeloidní DC
MDSC	myeloidní supresorové buňky (myeloid derived supressor cells)
MHC	hlavní histokompatibilní komplex (major histocompatibility complex)
MyD88	myeloid differentiation primary response protein
NF-κB	nukleární faktor kappa B

NK	přirození zabíječi (natural killer)
NKT	přirození zabíječi nesoucí T buněčný receptor (natural killer T cell)
NLR	NOD like receptory
PBMC	periferní mononukleární buňky (peripheral blood mononuclear cells)
pDC	plasmacytoidní DC
PDL	programmed cell death ligand
PGE2	prostaglandin E2
pMHC	peptid vázaný na hlavní histokompatibilní komplex
RLH	helikázy podobné RIG (RIG like helicase)
RNA	ribonukleová kyselina
TAP	trasportér sdružený s antigenní prezentací (transporter associated with antigen processing)
TCR	T buněčný receptor (T cell receptor)
TGF	transformující růstový faktor (transforming growth factor)
Th	pomocný lymfocyt
TLR	Toll-like receptor
TNF	tumor nekrotizující faktor (tumor necrosis factor)
Treg	regulační T lymfocyt
VDR	vitamín D receptor
XLA	agamaglobulinémie vázaná na X chromozom

# 1 Úvod

Dendritické buňky (DC) jsou nepostradatelnou součástí imunitního systému. V periferní krvi se vyskytují ve velmi malém množství, avšak díky objevu metod jejich kultivace z monocytů či buněk kostní dřeně se dají získat ve velmi vysokém počtu a následně sledovat jejich funkční vlastnosti i interakce s dalšími buňkami imunitního systému. Jedná se o velmi efektivní antigen prezentující buňky představující propojení mezi mechanismy vrozené a adaptivní imunity. Jejich unikátní vlastností je schopnost aktivovat naivní T lymfocyty, a tím spouštět primární imunitní odpověď. Jsou nezbytné pro zahájení imunitní reakce proti patogenním organizmům, byla popsána jejich role v protinádorové odpovědi a také role v indukci tolerance.

Porušená funkce dendritických buněk v průběhu některých onemocnění se může výrazně podílet na jejich patogenezi a přispívat k výslednému klinickému obrazu. Škodlivá může být jak přílišná, tak nedostatečná aktivace dendritických buněk. Přílišná aktivace může vést k rozvoji autoimunitních onemocnění, nedostatečná aktivace může přispívat k rozvoji nádorových chorob nebo být zodpovědná za některé rekurentní infekce. Objasnění role DC u imunopatologických stavů může být přínosem pro jejich léčbu.

## 2 DC v imunitním systému

Imunitní systém představuje soubor buněk, orgánů a biologicky aktivních působků, jejichž hlavním úkolem je obrana organismu proti infekci. Tento systém se v primitivní formě vyskytuje již u nejjednodušších mnohobuněčných organismů. U obratlovců se jedná o velmi složitý komplex, který je tvořen dvěma základními složkami, systémem přirozené (nespecifické) a adaptivní (specifické) imunity (Hemmrich et al. 2007).

Složky nespecifické imunity jsou evolučně starší částí imunitního systému a jsou schopny okamžitě reagovat na přítomnost patogenu v organismu. Jsou aktivovány tzv. „signálem nebezpečí“, což následně vede ke spuštění efektorových mechanismů (Matzinger 2002) a eliminaci patogenních organismů. Význam přirozené imunity je podložen studiem vrozených defektů imunity u myši i u lidí (Casanova a Abel 2005; Casanova a Abel 2007). Takto postižený organismus je náchylný k infekci, a to i v případě, že jsou složky adaptivní imunity zcela v pořádku.

Základním rysem adaptivní imunity je existence ohromného množství receptorů s přesně danou antigenní specifitou, takže téměř pro každý antigen existuje v organismu specifický lymfocyt. Frekvence lymfocytů specifických pro konkrétní antigen se většinou pohybuje mezi 1-2 na 100 000 lymfocytů. Je zřejmé, že takto malý počet lymfocytů není schopen eliminace patogenu. Proto po rozpoznání antigenu dochází nejdříve ke klonální expanzi a vytvoření dostatečně velké populace efektorových buněk. Tento proces trvá přibližně 4-7 dní a v tomto období zajišťuje obranu organismu nespecifická imunita. Samotné rozpoznání antigenu a zahájení klonální expanze je složitý proces, kterého se účastní i další buňky imunitního systému. Tím je sníženo riziko, že dojde k chybné aktivaci lymfocytů s následky, jako jsou autoimunitní reakce nebo alergie.

Pro účinnou aktivaci musí být antigen lymfocytům předkládán antigen prezentujícími buňkami (APC) a zároveň musí lymfocyt od těchto buněk obdržet kostimulační signál.

APC jsou buňky schopné pohlcovat částice z okolí a vystavovat jejich fragmenty v komplexu s MHC molekulami I. a II. třídy. Zároveň po obdržení signálu nebezpečí exprimují na svém povrchu kostimulační molekuly a produkují cytokiny podporující diferenciaci a proliferaci lymfocytů. Komplexy MHC-peptid jsou rozpoznávány TCR receptory na T lymfocytech, kostimulační molekuly a cytokiny poskytují další signály, které jsou impulsem pro diferenciaci a proliferaci těchto lymfocytů (Koulova et al. 1991; Kubin et al. 1994). Mezi APC se řadí dendritické buňky, makrofágy, B lymfocyty a endoteliální buňky, u kterých je ale exprese MHC II. třídy indukována teprve po jejich aktivaci. Dendritické



buňky mají mezi APC výsadní postavení. Jsou jako jediné schopny stimulovat naivní T lymfocyty, a tím zahájit primární imunitní odpověď.

Dendritické buňky lze tedy považovat za prostředníka mezi systémy přirozené a adaptivní imunity, bez kterého se nemůže imunitní reakce plně rozvinout (Banchereau et al. 2000).

### 3 Biologie DC

#### 3.1 Základní charakteristiky DC

Dendritické buňky byly popsány v sedmdesátých letech minulého století a pojmenovány podle typického vzhledu – jedná se o buňky s dlouhými výběžky (dendrity) (Steinman a Cohn 1973). Později bylo prokázáno, že se jedná o heterogenní skupinu buněk, jejichž společným rysem je schopnost indukovat proliferaci naivních T lymfocytů (Inaba et al. 1990).

Dendritické buňky vznikají v kostní dřeni, odkud migrují krevním řečištěm do tkání. Zde se vyskytují v tzv. nezralém stavu, který je charakterizován vysokou schopností pohlcovat částice z okolí, avšak malou schopností indukovat proliferaci T lymfocytů, což se způsobeno nízkou expresí kostimulačních molekul na povrchu DC a nízkou produkcí stimulujících cytokinů. Poté co DC rozezná signál nebezpečí, prochází procesem maturace, kdy se výrazně zvýší exprese MHC molekul, kostimulačních molekul a produkce cytokinů.

Zralé DC migrují do sekundárních lymfatických orgánů, kde dochází k stimulaci T-lymfocytů (Banchereau a Steinman 1998). Interakce MHC molekul nesoucích antigen a TCR představuje první signál, který lymfocyt obdrží. Druhým signálem je interakce kostimulačních molekul s jejich partnery na povrchu lymfocytu. Třetí signál obdrží lymfocyt prostřednictvím cytokinů, které maturovaná DC produkuje. Cytokinové prostředí ovlivňuje také polarizaci T buněčné odpovědi (De Becker et al. 1998; Moser a Murphy 2000; Gutcher a Becher 2007) a určuje tak charakter imunitní odpovědi. Pro polarizaci do Th1 je důležitý zejména cytokin IL-12 (Macatonia et al. 1995), v polarizaci Th2 hraje důležitou roli IL-6 a nepřítomnost IL-12 (Diehl a Rincon 2002). Pro recentně popsanou populaci Th17 lymfocytů nebyly polarizační cytokiny ještě zcela jednoznačně určeny, důležitou roli hraje IL-23 (Harrington et al. 2005), IL-1 (Sutton et al. 2006) a IL-6, u myši navíc ještě TGF-beta (Bettelli et al. 2006; Acosta-Rodriguez et al. 2007). DC mohou také pomoci IL-10 indukovat vznik T regulačních lymfocytů Tr1 (Jonuleit et al. 2000) nebo ovlivňovat diferenciaci FOXP3 pozitivních buněk (Luo et al. 2007).

Jak bylo již zmíněno výše, DC mají jako jediné schopnost stimulovat naivní T lymfocyty a indukovat jejich proliferaci. Dosud nebyla objevena molekula specifická pro DC, která by byla za tento fenomén odpovědná. Zdá se, že tato unikátní vlastnost DC je dána spíše množstvím a spektrem produkovaných cytokinů a kvantitou exprese MHC molekul a kostimulačních molekul. Bylo zjištěno, že zralé DC exprimují 10-100x více komplexů peptid-MHC molekula než jiné APC (Inaba et al. 1997). Zralé dendritické buňky také exprimují

celou řadu adhezivních molekul, které přispívají ke stabilizaci interakce s T buňkami (Benvenuti et al. 2004).

### **3.2 Subpopulace dendritických buněk**

Dendritické buňky nepředstavují jednotnou populaci leukocytů, jedná se o několik různých subpopulací buněk, které se liší svou morfologií, lokalizací, funkcí a expresí povrchových molekul. Nomenklatura subpopulací není zcela jednotná, liší se u myši a lidí a k nejednotnosti klasifikace přispívá také snaha o zavedení nových přesnějších názvů.

Podle tradičního dělení se DC členily do třech subpopulací – plasmacytoidní a myeloidní DC a Langerhansovy buňky. Nověji byly populace myeloidních DC označeny jako konvenční DC. Tyto snahy vychází zejména z poznatků, že u myši může být prekurzorem myeloidních DC i společný lymfoidní progenitor, a proto je označení myeloidní DC zavádějící.

Plasmacytoidní DC (pDC) hrají důležitou roli v obraně proti virovým infekcím – rozpoznávají virové nukleové kyseliny a v odpovědi na ně produkují IFN $\alpha$  a IFN $\beta$ . Na svém povrchu nesou receptor pro IL-3 (CD123) (Grouard et al. 1997), lidské navíc BDCA-2 a BDCA-4 (Dzionek et al. 2000).

Charakteristické znaky myeloidních DC (mDC) se liší u lidí a myši. U myši bylo dosud popsáno 5 subpopulací, které se navzájem liší expresí znaků CD4, CD8 $\alpha$ , CD11b a CD205. Lidské myeloidní DC jsou charakteristické expresí molekuly CD11c. V lidské periferní krvi byly dosud identifikovány dva typy mDC – populace CD11c<sup>+</sup>CD1a<sup>+</sup>BDCA-1<sup>+</sup>, která představuje cca 0,6% periferních mononukleárních buněk (PBMC) a je prekurzorem Langerhansových buněk (Ito et al. 1999). Druhá populace je charakterizována fenotypem CD11c<sup>+</sup>CD1a<sup>-</sup>BDCA-3<sup>+</sup>, v periferní krvi tvoří jen 0,05% PBMC a je prekurzorem intersticiálních DC (Dzionek et al. 2000; Sato a Fujita 2007). Intersticiální DC jsou lokalizovány v tkáních a orgánech, Langerhansovy buňky, které se nacházejí v epidermis, exprimují na svém povrchu znak CD1a, langerin (CD207) a obsahují Birbeckova granula.

Vzhledem k minimálnímu počtu DC v periferní krvi a k omezeným možnostem jejich izolace byly vyvinuty způsoby, jak DC získat z CD34<sup>+</sup> prekurzorů nebo monocytů. Kultivace CD34<sup>+</sup> prekurzorů s GM-CSF a TNF dává vznik buňkám podobným cDC, a to jak intersticiálním DC, tak Langerhansovým buňkám (Caux et al. 1996). Kultivace monocytů s GM-CSF a IL-4 vede k vzniku tzv. monocytárních DC (moDC, monocyte derived), které jsou nejvíce podobné intersticiálním buňkám (Romani et al. 1996). V poslední době se však ukazuje, že mezi DC generovanými in vitro a DC izolovanými z organismu mohou být značné funkční rozdíly.

Recentně popsanou populací jsou tzv. killer-DC, neboli interferon-producing DC (IKDC). Jedná se o populaci leukocytů s vlastnostmi DC (prezentace antigenů, produkce IFN I.typu) a vlastnostmi NK buněk (exprese aktivačních receptorů NK, produkce IFN $\gamma$ , zabíjení nádorových buněk), která má v organismu odlišnou roli než mDC i pDC (Chan et al. 2006; Taieb et al. 2006).

### **3.3 Pohlcování, zpracování a prezentace antigenů**

Úkolem dendritických buněk je předávat organismu informace o skladbě vnitřního prostředí a upozornit na případné nebezpečí. To se děje prostřednictvím pohlcování, zpracování a prezentace antigenu. Za pohlcování antigenů jsou zodpovědné nezralé DC. Tato forma DC se vyskytuje v periferních tkáních a ve sliznicích, tedy tam, kde hrozí riziko vstupu infekce do organismu. Pohlcování antigenu se děje několika procesy – receptory zprostředkovanou endocytózou, fagocytózou nebo makropinocytózou.

Na endocytóze zprostředkované receptory, u níž se pro pohlcení materiál vytváří klatrinový váček, se podílejí Fc receptory (CD64, CD32) (Fanger et al. 1996) C-lektinové receptory (DEC 205, manosový receptor, DC-SIGN, langerin) (Figdor et al. 2002) a scavenger receptory (Delneste et al. 2002; Facciponte et al. 2005).

Fagocytóza umožňuje dendritickým buňkám pohlcovat pevné částice. Může být zprostředkována receptory, přičemž receptory jsou stejné jako v případě endocytózy, pouze mechanismus pohlcování se výrazně liší. DC jsou schopny fagocytovat také nekrotické nebo apoptotické buňky, a to za účasti integrinů, komplementových receptorů nebo scavenger receptorů (Guermontprez et al. 2002). Nově objevenými receptory, které hrají roli při fagocytóze apoptotických buněk, jsou receptory skupiny TAM (TYRO1, AXL, MER) a TIM receptory (v DC je exprimován TIM-4). TAM receptory jsou stimulovány ligandem, který je autokrinně produkován APC, a fosfatidylserin na povrchu apoptotických buněk stabilizuje tuto interakci natolik, že spouští signalizační kaskádu, která vyústí v pohlcení buňky. Stimulace těchto receptorů zároveň tlumí zánětlivou reakci (Lemke a Rothlin 2008). TIM-4 váže přímo fosfatidylserin a umožňuje tak pohlcení apoptotické buňky. Zároveň přispívá interakce TIM-4 s TIM-1 na povrchu T lymfocytů k aktivaci T lymfocytů a jejich delšímu přežívání (Kobayashi et al. 2007; Kuchroo et al. 2008).

Makropinocytóza představuje významný mechanismus, kterým dendritická buňka neselektivně zkoumá své okolí. Tímto procesem je buňka schopna vyměnit během jedné hodiny až 40% svého objemu. Tento proces probíhá v DC neustále a samovolně a není třeba žádných dalších stimulačních faktorů k jeho udržení. Po stimulaci PPR (pattern recognition

receptor) dochází k přechodnému zvýšení intenzity tohoto děje (maximum za 30-45 minut), avšak za několik desítek hodin je tento děj zcela utlumen (Sallusto et al. 1995; West et al. 2004).

Exogenní antigeny jsou po svém pohlcení degradovány pomocí lysosomálních enzymů na peptidy, které se následně váží na MHC molekuly II.třídy. Endogenní antigeny jsou degradovány v proteazomu pomocí proteáz, transportovány TAP transportérem do endoplasmatického retikula a zde se váží na MHC molekuly I.třídy. Antigeny asociované s MHC molekulami jsou transportovány na povrch buňky a jsou připraveny pro interakci s T lymfocyty (Larsson et al. 2001). Avšak dendritické buňky disponují ještě jedním specifickým mechanismem, který z nich činí tak efektivní a nezbytnou část imunitního systému. DC jsou schopny vystavit exogenní antigeny také na MHC molekulách I.třídy. Tento děj se označuje jako zkřížená prezentace (z angl. cross-presentation). Mechanismy tohoto děje nejsou dodnes zcela prozkoumány, avšak je zřejmé, že existují dvě různé cesty, kterými se exogenní antigen dostane k MHC molekule I.třídy.

První cesta je závislá na transportéru peptidů TAP a předpokládá, že se peptid nebo protein z fagozomu dostává do cytosolu, kde je zpracován podobně jako endogenní molekuly, tzn. štěpen proteazomem. Následně jsou vzniklé fragmenty přeneseny TAP transportérem do endoplasmatického retikula a navázány na MHC I.třídy. Jakým způsobem se protein či peptid dostane z fagozomu do cytosolu, není jednoznačně identifikováno, uvažované mechanismy zahrnují účast proteinových komplexů, které transportují proteiny z endoplasmatického retikula, autofagii nebo prasknutí fagozomu (Vyas et al. 2008). Druhá cesta je nezávislá na TAP transportéru a předpokládá, že k vazbě antigenu na MHC molekulu dochází v endosomu. Optimální štěpení proteinu zajišťují proteázy přítomné v endosomu (např. katepsin S) (Campbell et al. 2000; Kleijmeer et al. 2001).

Antigeny prezentované na MHC molekulách I. třídy jsou předkládány cytotoxickým CD8 lymfocytům, antigeny prezentované na MHC II.třídy mohou interagovat s TCR pomocných CD4 lymfocytů.

Mechanismem, jehož význam pro pohlcení a prezentaci antigenu není dodnes zcela znám, je trogocytóza. Jedná se o proces, při kterém si buňky vyměňují části cytoplasmatické membrány. Bylo prokázáno, že DC takto získávají komplexy MHC I.třídy-peptid z nádorových buněk. Tento mechanismus může v DC přispívat k efektivnější prezentaci některých antigenů (Zhang et al. 2008).

### **3.4 Maturace dendritických buněk**

V nezralém stavu vystavují DC na svém povrchu antigeny, které odráží složení okolního prostředí. Aby však byly tyto DC schopné efektivně stimulovat T lymfocyty, musí projít procesem maturace. Tento proces je pro organismus zároveň ochranou, protože jinak by docházelo k vzniku autoreaktivních klonů T a B lymfocytů i za klidového stavu, což by bylo představovalo riziko rozvoje autoimunitního onemocnění. V situaci, kdy je ohrožena existence, integrita či vývoj organismu, mění DC své morfologické i funkční vlastnosti tak, aby byly schopny co nejúčinněji podpořit rozvoj imunitní odpovědi a zamezit tak možnému poškození organismu. Tato série změn se nazývá maturace a je nezbytná pro vznik DC, které jsou schopny indukovat proliferaci antigen specifických T lymfocytů (Banchereau et al. 2000; Steinman et al. 2003). Pojem maturované DC bývá často používán i pro takové DC, které sice vykazují fenotyp maturovaných DC, ale nemají schopnost indukovat proliferaci T lymfocytů. Pro takovéto buňky je vhodnější používat označení semimaturované (Reis e Sousa 2006).

#### **3.4.1 Maturační signály**

Signály, jejichž přítomnost v organismu indukuje maturaci DC, jsou velmi různorodé, což zabezpečuje reakci DC na široké spektrum podnětů. Maturační signály můžeme rozdělit do několika skupin:

Produkty bakterií, virů a hub – označované jako pathogen associated molecular patterns (PAMPs) jsou rozpoznávány membránovými nebo cytoplasmatickými receptory, tzv. pattern recognition receptors. Mezi tyto receptory patří Toll-like receptory, C-lektiny, scavengerové receptory, NOD-like receptory, helikázy.

Faktory produkované v průběhu zánětu – zejména zánětlivé cytokiny, např. TNF, jsou produkovány hostitelským organismem v průběhu infekce a jsou rozpoznány cytokinovými receptory na povrchu DC.

Signály zprostředkované aktivovanými T lymfocyty – představují molekuly nebo cytokiny, které jsou produkovány aktivovanými lymfocyty a váží se na receptor či ligand na DC. Příkladem může být interakce CD40/CD40L.

Imunokomplexy – aktivují dendritické buňky vazbou Fc fragmentu protilátkové molekuly na Fc receptor DC.

Endogenní signály – představují heterogenní skupinu látek, které se uvolňují při poškození tkání (např. kyselina močová).

Podle teorie signálu nebezpečí prof. Matzingerové lze všechny tyto signály považovat za tzv. signály nebezpečí (z angl. danger signal). Jedině v případě, že byla DC aktivována

signálem nebezpečí, je schopna indukovat proliferaci antigen specifických T lymfocytů (Matzinger 1994).

### 3.4.1.1 Toll-like receptory

Objev Toll-like receptorů (TLR) objasnil roli dendritických buněk a jejich význam při obraně organismu proti infekci. Již před objevením TLR byla diskutována existence receptorů, pomocí nichž je imunitní systém schopen rozeznat patogenní původ antigenu (Janeway 1989), avšak definitivním potvrzením těchto domněnek bylo až objevení TLR4 (Medzhitov et al. 1997). Tomuto objevu předcházelo objevení receptoru Toll u *Drosophily*, který je jednak zodpovědný za dorsoventrální orientaci v průběhu ontogeneze, jednak hraje roli v obraně proti houbovým infekcím (Lemaitre et al. 1996). Následně byly identifikovány lidské homology tohoto receptoru a byly identifikovány jejich ligandy. Dodnes bylo popsáno 11 myších a 10 lidských TLR, společně s jejich ligandy jsou uvedeny v Tab.1.

TLR	Ligand	Původ ligandu
TLR1	Triacyl peptidy	bakterie
TLR2	Lipoproteiny, lipopeptidy	různé patogeny
	Peptidoglykan	Gram-pozitivní bakterie
	Lipoteichoová kyselina	Gram-pozitivní bakterie
	Lipoarabinomannan	mykobakterie
	Poriny	Neisseria
	Fosfolipomanan	<i>Candida albicans</i>
	Zymosan	houby
TLR3	Dvojřetězcová RNA	viry
TLR4	Lipopolysacharid (LPS)	Gram-negativní bakterie
	Glykoinositolfosfolipidy	<i>Trypanosoma</i>
	Manan	<i>Candida albicans</i>
TLR5	Flagellin	enterobakterie
TLR6	Diacyl peptidy	mykoplasmata
	Lipoteichoová kyselina	Gram-pozitivní bakterie
	Zymosan	houby
TLR7	Loxoribine	syntetický ligand
	Jednořetězcová RNA	viry
TLR8	Jednořetězcová RNA	viry

TLR9	CpG obsahující DNA	bakterie, viry
	Hemozoin	Plasmodium
TLR10	neznámý	
TLR11	profilin-like molekula	Toxoplasma gondii
	neznámý	uropatogenní bakterie

**Tab. 1** Ligandy TLR receptorů

Některé práce ukazují, že TLR jsou aktivovány také molekulami, které se běžně vyskytují v těle hostitele – proteiny tepelného šoku (heat shock protein, hsp) (Srivastava 2002), fibrinogenem, kyselinou hyaluronovou (Beg 2002), HMGB1 (high mobility group box 1) (Park et al. 2006). Dodnes však nebyly zcela vyvráceny pochyby, zda se jedná o stimulaci TLR těmito látkami, nebo zda byl TLR stimulován LPS (Marincek et al. 2008) či mykoplasmaty (Salio et al. 2000), jimiž mohly být použité látky kontaminovány.

TLR jsou transmembránové glykoproteinové receptory, které se na základě homologie cytoplasmatické části zařazují do nadrodiny interleukin-1 receptorů (IL-1R). Cytoplasmatickou část receptoru tvoří evolučně stabilní region o cca 200 aminokyselinách, nazývaný Toll/IL-1R doména (TIR). Extracelulární respektive intraorganelární doménu TLR tvoří tzv. na leucin bohaté sekvence (leucin-rich repeats LRR). LRR jsou přímo zodpovědné za rozeznání konkrétního patogenu. Přestože jsou si tyto sekvence u jednotlivých TLR velmi podobné, dokážou tyto receptory rozeznat celou řadu strukturně odlišných ligandů (Medzhitov 2001; Akira a Takeda 2004).

Z hlediska výskytu na subcelulární úrovni lze TLR rozdělit na dvě skupiny. TLR1,2,4,5,6 jsou lokalizovány v cytoplasmatické membráně buněk a jejich LRR doména se nachází v extracelulárním prostoru. A právě v extracelulárním prostoru je největší pravděpodobnost výskytu jejich ligandu. Naopak všechny domény TLR3,7,8,9 se nacházejí intracelulárně, receptor je ukotven v membráně organel. TIR doména se nachází v cytoplasmě, LRR jsou situovány do vnitřní části organel. TLR9 byl prokázán v endoplasmatickém retikulu, všechny čtyři receptory pak v endosomech (Ahmad-Nejad et al. 2002; Heil et al. 2003; Matsumoto et al. 2003; Latz et al. 2004). Opět platí, že lokalizace těchto receptorů odpovídá výskytu jejich ligandů – viry jsou lokalizovány intracelulárně (Akira a Takeda 2004). Zároveň je lokalizace těchto receptorů uvnitř organel ochranou před rozpoznáním vlastních nukleových kyselin (Barton et al. 2006). Lokalizace TLR10 a 11 není dosud známa.

Exprese TLR se liší na jednotlivých subpopulacích dendritických buněk, čímž je dána specializace jednotlivých subtypů na různý typ infekce (Pulendran 2006). Plasmacytoidní DC

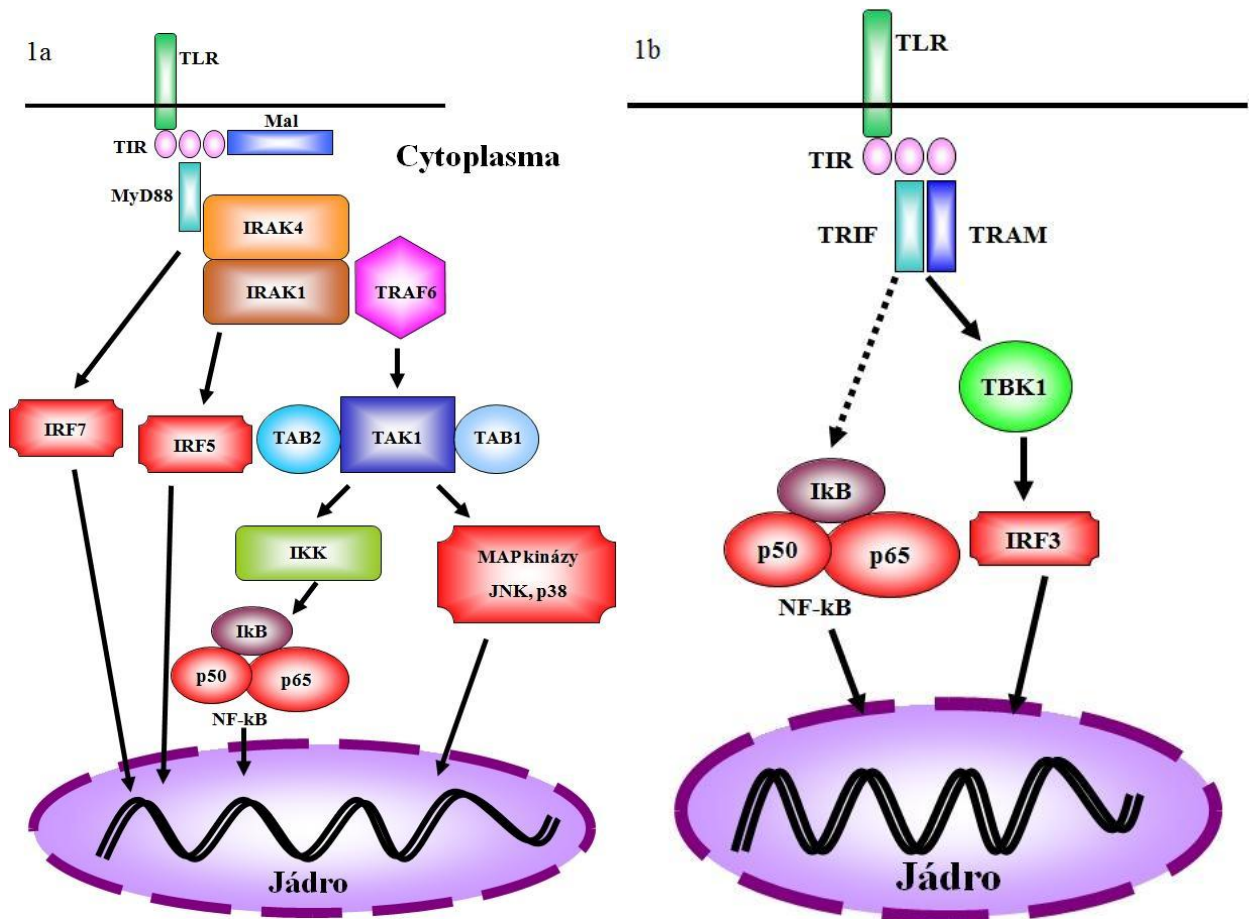


exprimují TLR7 a TLR9, které jsou stimulovány virovými nukleovými kyselinami (Jarrossay et al. 2001), hrají významnou roli v zahájení protivirové odpovědi (Colonna et al. 2004). Myeloidní DC exprimují zbývající TLR a jsou schopny zahájit imunitní reakci proti širokému spektru patogenů.

Po navázání ligandu na příslušný receptor může dojít k vytvoření homodimeru, čímž je spuštěna signalizační kaskáda (TLR4 a TLR5), zatímco pro aktivaci jiných TLR je třeba vytvoření heterodimeru (TLR1-TLR2, TLR6-TLR2) (Janssens a Beyaert 2003). Tato synergie má význam hlavně pro rozlišení jednotlivých patogenů. TLR1-TLR2 komplex je stimulován triacyl lipopeptidy přítomnými ve strukturách Gram negativních bakterií a komplex TLR6-TLR2 je stimulován diacyl lipopeptidy vyskytujícími se ve strukturách mykoplazmat (Medzhitov 2001; Takeda a Akira 2005).

Za přenos signálu je zodpovědná cytoplasmatická doména – TIR doména. Dodnes byly popsány 2 signalizační cesty spouštěné aktivací TLR – MyD88 dependentní a MyD88 independentní cesta (Medzhitov 2001). Obě tyto signalizační kaskády jsou znázorněny na Obr. 1a a 1b. Výsledkem stimulace TLR je aktivace transkripčních faktorů a následné ovlivnění genové exprese. V případě MyD88 dependentní cesty jsou aktivovány transkripční faktory NF- $\kappa$ B, AP2, po stimulaci TLR4,7,8,9 také IRF5, po stimulaci TLR9 je aktivován transkripční faktor IRF7 (Medzhitov 2001; Akira a Takeda 2004; Kawai et al. 2004; Takaoka et al. 2005; Takeda a Akira 2005; O'Neill a Bowie 2007). Aktivace IRF vede k produkci interferonů I. typu a je tudíž nezbytnou součástí protivirové odpovědi. Aktivace MyD88 independentní cesty vede k aktivaci transkripčních faktorů NF- $\kappa$ B a IRF3 (Fitzgerald et al. 2003; Akira a Takeda 2004).

TLR2, 5, 7 a 9 využívají při své aktivaci pouze MyD88 dependentní cestu, aktivace této cesty u TLR4 je nutná pro indukci transkripce prozánětlivých cytokinů. Naopak tato cesta není vůbec zapojena v TLR3 signalizaci (Akira a Takeda 2004). MyD88 independentní cesta je jedinou signalizační kaskádou TLR3 a signalizační kaskádou indukující transkripci IFN po TLR4 stimulaci. Důležitými součástmi signalizačních kaskád jsou adaptorové proteiny MyD88, MAL, TRIF, TRAM a SARM. Jejich asociace s různými TLR má podíl na diverzitě odpovědi na různé patogeny.



*Obr. 1a Schéma MyD88 dependentní cesty aktivace TLR 1b Schéma Myd88 independentní cesty aktivace TLR*

V nedávné době byla také popsána role Brutonovy tyrosin kinázy (btk) v TLR signalizaci. Bylo prokázáno, že btk je asociována s některými proteiny signalizační kaskády TLR a že ovlivňuje také fosforylaci transkripčního faktoru NF- $\kappa$ B (Jefferies et al. 2003; Doyle et al. 2005). Důsledkem toho je, že dendritické buňky bez btk nejsou schopny produkovat prozánětlivé cytokiny IL-6 a TNF $\alpha$  v odpovědi na TLR8 stimulaci (Sochorova et al. 2007).

Signalizační kaskáda TLR je ovlivňována a regulována mnoha dalšími proteiny a představuje jemně vyladěný systém schopný přesně reagovat na hrozící nebezpečí (O'Neill a Bowie 2007).

### **3.4.1.2 Jiné membránové receptory rozpoznávající patogenní struktury**

Po objevu TLR byly postupně objeveny další receptory, které hrají v rozpoznání patogenu. Na povrchu dendritických buněk jsou exprimovány lektiny typu C a scavengerové receptory, v cytoplasmě se nachází NOD-like receptory a helikázy podobné RIG.

## **Lektiny typu C**

Lektiny typu C jsou molekuly, které svou CRD oblastí (carbohydrate recognition domain) reagují s cukernými zbytky molekul patogenů. Účastní se také receptory zprostředkované endocytózy. Mezi tyto receptory patří např. dectin-1, DEC-205, DC-SIGN a manosový receptor. V nedávné době bylo prokázáno, že dectin-1 se také podílí na signalizaci. Po navázání beta-glukanu z hub a dimerizaci s TLR2 dochází k aktivaci signalizační cesty, která využívá CARD9 (caspase-recruitment domain) k aktivaci NF- $\kappa$ B (Gross et al. 2006).

### **Scavengerové receptory**

Proteiny z rodiny scavengerových receptorů SR-A (SR-A I a II, Macrophage scavenger receptor) jsou schopny vázat molekuly s polyanionickým charakterem např. kyselinu lipoteichoovou, dvouvláknovou RNA nebo lipid A (složka lipopolysacharidu). Bylo prokázáno, že myši bez SR-A receptoru jsou více náchylné k infekcím např. infekci vyvolané *Listeria monocytogenes* nebo *Staphylococcus aureus* (Mukhopadhyay a Gordon 2004). Nejnovější výzkumy prokazují, že se také scavenger receptor CD36 podílí na rozpoznávání patogenních struktur, konkrétně Gram negativních bakterií, a jeho aktivace vede k aktivaci c-JNK (Baranova et al. 2008).

#### **3.4.1.3 Cytoplasmatické receptory rozpoznávající patogenní struktury**

Protože některé viry a bakterie jsou schopny uniknout z endosomálního kompartmentu a perzistovat v cytoplasmě, vyvinuly si hostitelské organismy mechanismy, kterými jsou schopny i tyto patogeny odhalit.

### **NLR (NOD-like receptors)**

Významnou skupinou cytoplasmatických receptorů jsou NLR (NACHT-LRR, CATEPILLER). Názvosloví těchto receptorů není dodnes sjednoceno, a tak je běžné, že pro jeden receptor je současně používáno několik označení. Dodnes bylo identifikováno více jak 20 lidských NLR. Tyto receptory jsou charakteristické svou trojdoménovou strukturou. Obsahují N-terminální efektorovou doménu, která je zodpovědná za indukci signálu, protože interaguje s kinázami signalizační kaskády. Prostřední doména (NOD=NACHT) hraje roli v oligomerizaci receptoru. C-terminální doména obsahuje, podobně jako Toll-like receptor, sekvence LRR, které jsou nezbytné pro rozpoznání patogenní struktury.

Rodinu NLR lze rozdělit na tři skupiny receptorů s ohledem na to, kterou efektorovou doménu obsahují. Proteiny rodiny NOD obsahují efektorovou doménu CARD, v proteinech rodiny NALP se vyskytuje pyrin a v proteinech NAIP je efektorovou doménou BIR (Sirard et al. 2007).

Jako ligandy NOD proteinů byly identifikovány složky buněčné stěny bakterií – NOD1 rozpoznává dipeptid odvozený od peptidoglykanu Gram negativních bakterií, NOD2 váže muramyl dipeptid, který je složkou peptidoglykanů Gram pozitivních i Gram negativních bakterií. Po navázání ligandu na receptor dojde k asociaci RIP kinázy s receptorem. Následně interaguje RIP kináza s IKK, jejíž aktivitou dojde k uvolnění a translokaci NF- $\kappa$ B do jádra, kde dochází k ovlivnění genové exprese. Zároveň RIP aktivuje MAP kinázy, což vede k dalšímu ovlivnění genové exprese buňky (Mathews et al. 2008; Wilmanski et al. 2008). Zajímavým faktem, poukazujícím na důležitou roli NOD proteinů v imunitní reakci, je, že mutace v NOD2 proteinu je asociována s výskytem autoimunitních onemocnění, konkrétně Crohnovy choroby a Blauova syndromu (Hugot et al. 2001; Miceli-Richard et al. 2001; Ogura et al. 2001), zatím však není vyřešena role NOD2 v patogenezi těchto onemocnění.

Druhou rodinu tvoří proteiny NALP, jejichž aktivace je spojena se vznikem inflamazomu - proteinového komplexu tvořeného receptorem, kaspázou 1 a 5 a adaptorovým proteinem ASC. Kaspázy následně štěpí proIL-1 $\beta$  a vzniká aktivní forma IL-1 $\beta$ , prozánětlivého cytokinu. Dva nejvíce prozkoumané proteiny této rodiny jsou NALP1 a NALP3. Ligandem NALP1 je muramyl dipeptid a také část anthraxového toxinu (Martinon et al. 2004; Boyden a Dietrich 2006). Ligandy NALP3 jsou předmětem stálé diskuse. Bylo prokázáno, že NALP3 je aktivován bakteriální RNA, krystaly kyseliny močové a pyrofosfát dihydrátu, ATP nebo některými toxiny (Kanneganti et al. 2006; Mariathasan et al. 2006; Martinon et al. 2006). Receptor také reaguje na změny intracelulární hladiny draslíku. Předpokládá se, že některé toxiny a také ATP neaktivují receptor přímo, ale právě tím, že ovlivní hladinu draslíku v buňce (Mariathasan et al. 2006). Další otázkou je, zda je pro tvorbu IL-1 $\beta$  potřebná současná aktivace TLR, nebo zda je samotná aktivace NALP3 dostačující. Recentní studie nicméně ukazují, že k zahájení produkce IL-1 $\beta$  je dostačující samostatná aktivace NALP3 (Kanneganti et al. 2007). Zatímco toxiny nebo bakteriální RNA, interagující s NALP3, jsou látkami produkovanými patogenem, krystaly kyseliny močové a pyrofosfát dihydrátu jsou vytvářeny hostitelským organismem. Jedná se o endogenní signál nebezpečí, upozorňující na poškození organismu, protože kyselina močová i pyrofosfát dihydrát se sice běžně vyskytují v organismu, avšak pouze za stresových podmínek se v organismu vytváří krystaly, které spouští mechanismy přirozené imunity (Shi et al. 2003; Meylan et al. 2006).

Třetí skupinou NLR receptorů jsou NAIP proteiny, jejichž ligandem je flagelin, protein z bičíku bakterií. Zda se v signalizaci přes tyto receptory uplatňuje také kaspáza 1, nebylo dosud jednoznačně potvrzeno ani vyvráceno (Zamboni et al. 2006; Lamkanfi et al. 2007).

## **Helikázy podobné RIG**

Nejnověji objevenou skupinou receptorů rozpoznávajících patogenní struktury jsou helikázy podobné RIG, označované také jako RLH (RIG-like helicases). Tyto helikázy rozpoznávají dvouvláknovou RNA a nezávisle na TLR spouštějí protivirovou imunitní reakci (Yoneyama et al. 2004). Mezi tyto receptory patří RIG-1 a MDA5, které obsahují 2 CARD domény, které využívají adaptorový protein Cardif k aktivaci IRF3 a NF- $\kappa$ B a následně k produkci interferonů I. typu. Třetím zástupcem této skupiny je LGP2, v jehož molekule se CARD doména nevyskytuje a není zatím zřejmé, jak dochází k přenosu signálu (Meylan et al. 2006). Zdá se, že to, jaké receptory jsou použity k rozpoznání virové RNA, koreluje s typem DC – myeloidní DC využívají k rozpoznání virů receptory RLH, zatímco plasmacytoidní DC využívají TLR (Kato et al. 2005).

Množství známých receptorů, které rozpoznávají patogenní struktury nebo endogenní signály nebezpečí, a množství poznatků o nich neustále narůstá. Stále zůstává mnoho nezodpovězených otázek – jak receptory rozlišují vlastní a virovou RNA, jak organismus odlišuje komenzální bakterie od patogenů, jak je regulována odpověď na stimulaci jednotlivých receptorů či zda je pro úplnou aktivaci imunitní odpovědi nutná stimulace více receptorů.

### ***3.4.1.4 Signály zprostředkované zánětlivými faktory***

Kromě signálů nebezpečí, které obdrží DC prostřednictvím receptoru rozpoznávajících patogen, mohou dendritické buňky rozpoznat nebezpečí také nepřímo. V případě infekce produkují makrofágy, NK buňky, NKT buňky, žírné buňky a endotelie prozánětlivé cytokiny (např. TNF, IL-1 $\beta$ , IFN $\alpha$  a IFN $\beta$ ), které se váží na příslušné receptory na DC a tím DC aktivují. Tímto způsobem může také docházet k amplifikaci odpovědi, protože se DC, které rozpoznaly patogen pomocí svých PPR, stávají producenty těchto cytokinů a mohou parakrinně aktivovat další DC či autokrinní stimulací ještě více podpořit vlastní aktivaci.

DC aktivované zánětlivými faktory však nejsou plně maturované, nejsou totiž schopny produkovat IL-12 p70, hlavní Th1 polarizační cytokin, a tak poskytnout polarizační signál T lymfocytům (Sporri a Reis e Sousa 2005).

Údaje o vlivu dalších zánětlivých faktorů (např. C-reaktivní protein) jsou protichůdné, a proto nelze efekt těchto faktorů jednoznačně vyhodnotit (Tobiasova-Czetoova et al. 2005; Zhang et al. 2006; Van Vre et al. 2008).

### **3.4.1.5 Signály zprostředkované aktivovanými lymfocyty**

Aktivované lymfocyty mají taktéž schopnost indukovat maturaci dendritických buněk. Aktivované pomocné CD4 lymfocyty na svém povrchu nesou molekulu CD40L, která svou vazbou na CD40 na povrchu dendritických buněk indukuje upregulaci kostimulačních molekul CD80, CD86 a spouští produkci polarizačního cytokinu IL-12 p70 (Koch et al. 1996; O'Sullivan a Thomas 2003). Některé práce však poukazují na to, že *in vivo* je nezbytná současná stimulace mikrobiálními produkty, aby byla indukována produkce IL-12 p70 (Schulz et al. 2000). Zároveň ligace přes CD40 uschopňuje DC k tomu, aby mohly plně aktivovat cytotoxické CD8 lymfocyty (CTL). Původní model aktivace CTL předpokládal, že CTL jsou aktivovány pomocnými T lymfocyty, které tuto schopnost získávají interakcí s aktivovanými DC. Bylo však prokázáno přesně opačné fungování této interakce, a to, že CTL jsou aktivovány stykem DC, které byly předtím stimulovány pomocnými T lymfocyty přes interakci CD40-CD40L (Schoenberger et al. 1998; Toes et al. 1998). Další molekulou, která je exprimována aktivovanými lymfocyty a která ovlivňuje maturaci dendritických buněk, je RANKL (TRANCE). Jedná se o protein z rodiny TNF, jehož receptor RANK je exprimován také na DC. Vazba RANK-RANKL vede ke zvýšení exprese kostimulačních molekul a CD83 na povrchu DC (Schiano de Colella et al. 2008). Práce o vlivu této interakce na produkci cytokinů včetně IL-12 jsou však rozporuplné (Josien et al. 1999; Schiano de Colella et al. 2008). RANK-RANKL interakce ovlivňuje kromě maturace DC také jejich přežívání. Bylo zjištěno, že touto interakcí dochází v DC k zvýšení exprese Bcl-xL, který je chrání před apoptózou (Wong et al. 1997).

Aktivované Th1 lymfocyty a CTL produkují IFN $\gamma$ , který také aktivuje DC. Rovněž CTL mají schopnost maturovat DC přímou interakcí, přesný mechanismus této interakce však není znám (Ruedl et al. 1999).

NK buňky, NKT buňky a  $\gamma\delta$  T buňky, tzv. lymfocyty přirozené imunity, mají po své aktivaci také schopnost maturovat DC. Děje se tak zřejmě prostřednictvím TNF a IFN $\gamma$ , které po aktivaci produkují všechny tři výše zmíněné skupiny lymfocytů. V případě NKT buněk je maturace podpořena i vazbou CD40L (Munz et al. 2005).

### **3.4.1.6 Fc receptory**

Bylo prokázáno, že myeloidní DC na svém povrchu exprimují Fc $\gamma$ I (CD64), Fc $\gamma$ IIa a Fc $\gamma$ IIb (CD32) receptory, pDC exprimují pouze minimální množství Fc $\gamma$ IIa (Boruchov et al. 2005). Kromě Fc $\gamma$ IIb se jedná o aktivační receptory, které o navázání imunokomplexu způsobují zvýšení exprese kostimulačních molekul, produkci prozánětlivých cytokinů, avšak

nejsou schopny indukovat produkci IL-12 (Banki et al. 2003; Dhodapkar et al. 2005). Vazba imunokomplexu na Fc $\gamma$ IIb inhibuje maturaci indukovanou přes Fc $\gamma$ IIa a sama o sobě přispívá k zachování nezralého stavu DC. Exprese Fc $\gamma$ IIa a Fc $\gamma$ III se zvyšuje v přítomnosti IFN $\gamma$ , exprese FcII $\gamma$ b v přítomnosti vysokých koncentrací IgG. Poměr Fc $\gamma$ IIa a Fc $\gamma$ IIb ovlivňuje, zda převáží inhibiční nebo aktivační signály (Boruchov et al. 2005).

#### **3.4.1.7 Endogenní signály**

O endogenních látkách jako maturačních signálech bylo částečně pojednáno v rámci kapitol o TLR a NLR, nutno však podotknout, že se jedná o jedno z kontroverzních témat imunologie DC. Dodnes existují pochyby, zda nebyla imunitní reakce vyvolaná endogenním signálem spíše reakcí organismu na kontaminaci v použitém materiálu (Salio et al. 2000; Marincek et al. 2008). Kandidáti na endogenní signály nebezpeční představují molekuly, které se v případě ohrožení organismu vyskytují v odlišné formě (kyselina močová, pyrofosfát dihydrát) nebo v odlišné lokalizaci (hsp, HMGB1, ATP). Nezodpovězenou otázkou stále zůstává, jaké situace představují ohrožení organismu. Nejčastěji jsou endogenní signály nebezpečí spojovány s obranou proti nádorovým onemocněním. Většina prací se shoduje v tom, že se v případě, kdy buňka umírá nekrotickou smrtí, vyvolá její smrt reakci imunitního systému. V případě apoptotické smrti buněk se data rozcházejí. Rozhodující může být fakt, že v případě masivní apoptózy nejsou fagocytující buňky schopny pohltit veškerý apoptotický materiál, a tak dochází k jeho sekundární nekrotizaci a následné stimulaci DC (Brusa et al. 2008). Pokud dochází k smrti buňky nekrotizací, uvolňují se z buněk proteiny tepelného šoku a z chromatinu se uvolňuje HMGB1. Ty mohou následně stimulovat receptory na povrchu DC a indukovat tak jejich maturaci. Receptorem hsp60 a hsp70 je zřejmě TLR4, některé práce uvádějí také TLR2 (Ohashi et al. 2000; Vabulas et al. 2001; Vabulas et al. 2002). Receptorem pro hsp gp96 je molekula CD91 (Binder et al. 2000), HMGB1 působí přes TLR2 a TLR4 (Park et al. 2006).

Dalším možným endogenním signálem je extracelulární ATP. V případě stresové situace (poškození buňky apod.) se ATP uvolňuje do extracelulárního prostoru a aktivací purinergního receptoru na DC ovlivňuje jejich maturaci – zvyšuje expresi kostimulačních molekul, avšak nedochází k produkci prozánětlivých cytokinů ani IL-12, je potlačena Th1 odpověď a preferována odpověď Th2 (la Sala et al. 2001; Wilkin et al. 2002; Idzko et al. 2007).

Jak bylo zmíněno výše (kap. 3.4.1.3), kyselina močová a pyrofosfát dihydrát se v organismu vyskytují běžně, avšak za stresových podmínek vytvářejí krystaly, které stimulují NALP3, a tak aktivují DC.

### **3.4.2 Změny DC v průběhu maturace**

Poté co DC obdrží maturační signál, je zahájen proces maturace, jehož výsledkem jsou takové DC, které jsou schopny účinně stimulovat naivní T lymfocyty. Maturace DC je komplexním procesem, v jehož průběhu dochází ke změně exprese několika stovek genů (Granucci et al. 2001).

Pro získání schopnosti stimulovat naivní T lymfocyty jsou klíčové následující změny:

- změna morfolgie DC
- změna migračních vlastností DC
- změna pohlcování a prezentace antigenu
- zvýšená exprese kostimulačních molekul
- produkce prozánětlivých a polarizačních cytokinů

#### **3.4.2.1 Morfolgie DC**

V průběhu maturace dochází v DC k reorganizaci aktinové části cytoskeletárního aparátu. DC získávají charakteristický tvar s výběžky – dendrity. Tento tvar zabezpečuje lepší pohyblivost a schopnost migrace a zároveň zvětšuje plochu, která může být využita pro styk DC s T lymfocitem. Jako kontrolní činitel v remodelaci cytoskeletu působí fascin, protein umožňující propojení aktinových vláken (Ross et al. 1998; Ross et al. 2000). V promotorové oblasti fascinu byla identifikována regulační místa, na která se mohou vázat transkripční faktory zahrnuté v signalizačních kaskádách některých PPR (Bros et al. 2003). Druhým proteinem, jehož exprese výrazně stoupá po maturaci DC a který hraje roli v organizaci aktinu, je cofilin, který podporuje disociaci aktinových monomerů z aktinového vlákna (Verdijk et al. 2004).

#### **3.4.2.2 Migrace DC**

Nezralé dendritické buňky se vyskytují v periferních tkáních a ve sliznicích, kde je největší šance styku s antigenem. Tato lokalizace na periférii zároveň omezuje možnost jejich setkání s lymfocyty. Proto je nezbytné, aby DC po rozpoznání hrozícího nebezpečí změnilы svou lokalizaci a putovaly do míst, kde je příležitost na setkání s lymfocyty vysoká – do T



zóny sekundárních lymfatických orgánů. Migrace DC je řízena chemokiny a expresí jejich receptorů na povrchu DC.

Nezralé DC na svém povrchu exprimují CCR1, CCR5 a CCR6, jejichž ligandy MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , MCP-1 a 3, RANTES a MIP-3 $\alpha$  jsou produkovány v periferních tkáních v případě zánětu. Jejich zdrojem jsou buňky imunitního systému, endotelie a buňky epitelu (Dieu et al. 1998). Bylo prokázáno, že některé chemokiny (MCP-1, RANTES, IL-8) jsou epitelem produkovány konstitutivně (Sallusto et al. 1998). Po maturaci DC dochází ke změně v expresi chemokinových receptorů, snižuje se exprese CCR1, CCR5 a CCR6 a naopak se výrazně zvyšuje exprese CCR7, mírně pak také exprese CXCR4. Ligandy CCR7 jsou chemokiny CCL19 (MIP-3 $\beta$ , ELC) a CCL21 (SLC), které jsou produkovány buňkami v T zóně sekundárních lymfatických orgánů, takže zralé DC jsou atrahovány právě do této oblasti (Dieu et al. 1998; Sallusto et al. 1998). Aktivace CCR7 představuje pro DC také antiapoptotický signál (Sanchez-Sanchez et al. 2004) a hraje rovněž roli v regulaci endocytózy (Iijima et al. 2005).

Mimo DC je CCR7 exprimován také na povrchu naivních T lymfocytů, což podporuje směřování DC a naivních T lymfocytů do stejného místa, a zvyšuje tak pravděpodobnost setkání DC s T lymfocytem (Britschgi et al. 2008). V pozdějších fázích maturace začínají DC samy CCL19 a CCL21 produkovat, čímž je ještě více podpořena možnost interakce DC-T lymfocyt. Jedná se o třetí vlnu v produkci chemokinů dendritickou buňkou, která nastupuje po 24-48 hodinách, když už DC dosáhla sekundárního lymfatického orgánu. První vlna chemokinové produkce se dostavuje za 2-4 hodiny od aktivace virovým agens a jsou produkovány zejména chemokiny atrahující neutrofile. Druhá vlna chemokinové produkce nastupuje za 8-12 hodin a produkované chemokiny přitahují zejména efektorové lymfocyty (Piqueras et al. 2006).

Koncept založený na změně exprese CCR7 v průběhu maturace je poněkud nabourán faktem, že i v sekundárních lymfatických orgánech se vyskytují nezralé DC, které prezentují antigen zde přítomným T lymfocytům a indukují toleranci (Reis e Sousa 2006). Zdá se však, že v případě nezralých DC je jejich migrace řízena jinými chemokiny a CCR7 v této migraci roli nehraje (Bonasio et al. 2006).

### **3.4.2.3 Pohlcování, zpracování a prezentace antigenu**

Znakem maturovaných DC je nízká schopnost pohlcovat antigeny (Sallusto et al. 1995). Avšak bylo prokázáno, že krátce po aktivaci DC maturačním signálem dochází k výraznému zvýšení makropinocytární aktivity buňky. Dochází zároveň k remodelaci aktinu

v podosomech, které přechodně zcela vymizí. To zřejmě umožní buňce krátkodobě zvýšit kapacitu endocytózy (West et al. 2004). Tímto zvýšením kapacity buňka pohltí velké množství materiálu, který se nacházel v její blízkosti v okamžiku, kdy došlo ke stimulaci DC. Zvyšuje se tak pravděpodobnost, že DC pohltí část patogenu, který její aktivaci vyvolal (van Niel et al. 2008). Vystavení části patogenu vyvolávajícího maturaci je zabezpečeno také tím, že v případě, kdy jsou pohlceny částice obsahující a neobsahující TLR ligand, je komplex MHC-peptid vytvářen pouze v těch endosomech, ve kterých byl TLR ligand přítomen (Blander a Medzhitov 2006).

V průběhu maturace také dochází ke změnám ve zpracování a prezentaci antigenu. Exprese MHC I. a II. třídy se na povrchu DC zvyšuje až stonásobně (Kukutsch et al. 2000; West et al. 2004). V případě MHC I. třídy je toto zvýšení způsobeno zvýšením syntézy MHC molekul (Rescigno et al. 1998) a také zvýšenou expresí aktivátoru proteazomu PA28, což dramaticky zvýší počet peptidů produkovaných proteasomem. Zvýšena je také exprese transportéru TAP, který transportuje vzniklé peptidy z cytoplasmy do endoplasmatického retikula, kde dochází k jejich vazbě na MHC I. třídy (Granucci et al. 2001). V průběhu maturace DC se také přibližně trojnásobně prodlužuje doba, po kterou je MHC molekula I. třídy exprimována na buněčném povrchu (Rescigno et al. 1998).

V případě MHC II. třídy je situace komplikovanější. Původně se předpokládalo, že zvýšená povrchová exprese je také výsledkem zvýšené transkripce MHC genů (Rescigno et al. 1998), data z expresního profilování však ukázala, že k zvýšení transkripce těchto genů nedochází (Granucci et al. 2001). Jedná se zřejmě o ochranný mechanismus, aby při zvýšené syntéze de novo nedošlo k rychlému nahrazení MHC s pohlceným a již zpracovaným peptidem novými MHC molekulami, které by však nesly jiný antigen (Wilson et al. 2004). Zvýšená povrchová exprese MHC II. třídy je důsledkem několika jevů. V lysosomech dochází po maturaci DC k aktivaci vakuolární protonové pumpy, čímž je sníženo pH v lysosomech a podpořeno štěpení proteinů a peptidů na fragmenty, které budou vázány na MHC (Trombetta et al. 2003). Významnější roli však zřejmě hraje prodloužení doby exprese MHC II. třídy na povrchu buňky. U nezralých DC jsou MHC II. třídy rychle internalizovány, zatímco na povrchu maturovaných DC zůstávají ve stabilní formě i několik dní (Cella et al. 1997). Prodloužení času, po který je komplex peptid-MHC (pMHC) exprimován na povrchu DC, je výsledkem potlačené endocytózy těchto komplexů v maturovaných DC. Endocytóza MHC komplexů je řízena pomocí ubiquitinylace. Pokud je na  $\beta$  řetězec MHC komplexu navázán ubiquitin, je molekula určena k endocytóze a degradaci. Za ubiquitinylací je zodpovědná ligáza MARCHE-1, jejíž aktivita se v průběhu maturace snižuje. Tento jev vede ke snížené

endocytóze MHC komplexu, a tím k prodloužení doby exprese molekul MHC II.třídy na povrchu DC (Shin et al. 2006; De Gassart et al. 2008). Za další mechanismus vedoucí k zvýšené expresi MHC II.třídy po maturaci DC bylo považováno zadržování nově syntetizovaných MHC molekul v endosomech. Tento model předpokládal, že poté co buňka obdrží maturační signál, dojde k vazbě peptidu na nahromaděné MHC molekuly, k uvolnění komplexů pMHC z endosomálního kompartmentu a k jejich vystavení na povrch DC (Inaba et al. 2000). Novější práce však tuto teorii spíše vyvracejí a největší důležitost je přikládána prodloužené expresi MHC II.třídy na povrchu DC (Villadangos et al. 2005)

#### **3.4.2.4 *Expresa povrchových molekul***

Dendritické buňky exprimují po maturaci velké množství kostimulačních molekul CD80 (B7.1) a CD86 (B7.2). Tyto molekuly jsou kriticky důležité v indukci imunitní odpovědi, jejich vazebné protějšky jsou CD28 a CTLA-4 na povrchu T lymfocytů (Greenwald et al. 2005). V nedávné době byly popsány další molekuly z rodiny B7 – B7-H1 (PD-L1, CD274) a B7-DC (PD-L2, CD273). Jejich ligandem je PD-1 na povrchu T lymfocytů. PD-L1 je exprimován na nezralých DC a jeho exprese se po aktivaci ještě zvyšuje, zatímco PD-L2 není na povrchu nezralých DC přítomen a k jeho expresi dochází až po aktivaci DC (Sharpe et al. 2007). Na rozdíl od CD80/86 a PDL se exprese ICOSL, další molekuly z rodiny B7 s funkcí v interakci s lymfocyty, v průběhu maturace DC nemění (Greenwald et al. 2005). Kromě kostimulačních molekul z rodiny B7 se na povrchu DC vyskytuje kostimulační molekula CD40. Její exprese narůstá při aktivaci DC, což koresponduje s tím, že hraje důležitou roli v interakci s T lymfocyty. Prostřednictvím CD40 obdrží DC „licenci“ ke stimulaci CTL („licence to kill“) (O'Sullivan a Thomas 2003).

V průběhu maturace dochází také k expresi molekuly CD83. Její funkce nebyla dosud jednoznačně určena. Recentní práce ukazují na roli CD83 v regulaci T i B lymfocytární odpovědi (Prechtel a Steinkasserer 2007). Specifická exprese molekuly CD83 v maturovaných DC z ní činí vhodný znak pro identifikaci této populace.

Maturované DC také exprimují více adhezivních molekul podílejících se na vytvoření synapse mezi DC a T lymfocyty. Jedná se zejména o CD11a (LFA-1), CD54 (ICAM-1), CD58 (LFA-3), na interakci s T lymfocyty se podílí také CD2, CD50 (ICAM-2), CD102 (ICAM-3) a integriny  $\alpha$  a  $\beta$ , jejichž exprese se však v průběhu maturace výrazně nemění (Hart 1997; Lindstedt et al. 2002).

### 3.4.2.5 *Produkce cytokinů*

Po obdržení maturačního signálu produkují DC různé cytokiny, které následně ovlivňují rozvoj a charakter imunitní odpovědi. Jedná se o prozánětlivé cytokiny IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TNF, které fungují jako lokální i systémové mediátory zánětu (Granucci et al. 2001). Druhou velkou skupinu tvoří cytokiny imunoregulační (IL-12, IL-18, IL-23, IL-15, IFN $\alpha$ , IL-10, IL-6), které ovlivňují další komponenty imunitního systému a podílejí se tak na modulaci imunitní odpovědi. IL-12 polarizuje imunitní odpověď směrem k Th1 (Macatonia et al. 1995), synergicky působí IL-18, cytokiny IL-23 a IL-1 hrají roli v proliferaci Th17 lymfocytů (Harrington et al. 2005; Sutton et al. 2006; Stritesky et al. 2008). IL-12, IL-18, IL-15 a IFN $\alpha$  podporují aktivitu NK buněk (Walzer et al. 2005). IL-10 indukuje vznik regulačních Tr1 lymfocytů (Jonuleit et al. 2000; Belardelli a Ferrantini 2002). Efekt IL-6 je pleiotropní. IL-6 napomáhá diferenciaci B lymfocytů, působí jako prozánětlivý faktor, který indukuje produkci proteinů akutní fáze v játrech. Také bylo prokázáno, že IL-6 hraje, spolu s TGF $\beta$ , roli v indukci Th17 lymfocytů (Blanco et al. 2008). Navíc se ukazuje, že IL-6 dokáže zvrátit imunosupresivní působení FOXP3+ T regulačních lymfocytů (Pasare a Medzhitov 2003). Kromě toho produkují maturované DC IL-2, které přímo ovlivňují klonální expanzi lymfocytů (Granucci et al. 2003). DC jsou však pouze minoritním producentem těchto cytokinů a význam této produkce nebyl dodnes objasněn.

Zásadní schopností maturovaných DC je indukovat proliferaci a polarizovat Th lymfocyty. Pro polarizaci Th0 nediferencovaných lymfocytů do fenotypu Th1 je klíčový cytokin IL-12 p70. Bylo prokázáno, že pouze DC maturované signály PAMPs nebo CD40L jsou schopny produkovat IL-12 v odpovědi na tyto signály. DC, u nichž došlo ke stimulaci prozánětlivými faktory, exprimují sice velká množství MHC II. třídy, kostimulačních molekul i prozánětlivých cytokinů, IL-12 však nejsou schopny produkovat. Z nedávných pozorování je také zřejmé, že i jednotlivé TLR ligandy se mohou lišit tím, zda a jak výraznou produkci IL-12 vyvolají (Sporri a Reis e Sousa 2005). Ve světle objevu Th17 lymfocytů lze předpokládat, že rozpoznání některých patogenů (identifikovány byly bakterie rodu *Bordetella*, *Klebsiela*, *Citrobacter* a kvasinky *Candida*) nepovede k produkci IL-12, ale k produkci cytokinů potřebných právě pro Th17 polarizaci (Fedele et al. 2008; Curtis a Way 2009). Kritickým faktorem pro úspěšné zahájení imunitní reakce je zřejmě setkání DC a patogenem. Aktivace DC prozánětlivými cytokiny může adaptivní imunitní reakci posléze pouze amplifikovat (Sporri a Reis e Sousa 2005).

## 4 Interakce DC s T lymfocyty

Jak již bylo zmíněno výše, základní funkcí dendritických buněk je pohlcovat antigeny, prezentovat je T lymfocytům a v případě nebezpečí účinně zahájit adaptivní imunitní reakci.

### 4.1 Průběh adaptivní imunitní reakce

Interakce DC s T lymfocyty, která zahajuje adaptivní imunitní odpověď, se odehrává v sekundárních lymfatických orgánech. Lymfocyty specifické pro určitý antigen se v periferní krvi vyskytují s frekvencí 1/100 tis. Díky migraci maturovaných DC do T zóny sekundárních lymfatických orgánů je však příležitost setkání DC se specifickým T lymfocytům vyšší. Maturovaná DC se zde za hodinu setká s přibližně 5000 lymfocyty (Miller et al. 2004). Po rozpoznání antigenu příslušnými specifickými lymfocyty dochází k jejich expanzi v takové míře, že až 70% lymfocytů může být specifických pro antigen, který byl prezentován na povrchu DC (Murali-Krishna et al. 1998). DC stimulují pomocné CD4 nebo cytotoxické CD8 lymfocyty. Cytotoxické lymfocyty přímo zabíjejí cílové buňky, pomocné lymfocyty produkují cytokiny, které podporují aktivitu dalších složek imunitního systému. Po eliminaci patogenu dochází k apoptóze antigen-specifických lymfocytů, avšak část těchto lymfocytů přežívá a vytvářejí se z nich paměťové lymfocyty. Efektorové paměťové buňky se vyskytují na periférii a jsou připraveny ihned po opětovném rozpoznání antigenu vykonávat své efektorové funkce. Centrální paměťové buňky jsou lokalizovány v sekundárních lymfoidních orgánech a v případě rozpoznání antigenu prolifерují a dávají vznik efektorovým buňkám (Lanzavecchia a Sallusto 2005).

### 4.2 Interakce DC-T lymfocyt

Interakce mezi DC a T lymfocytům není pouhou interakcí mezi MHC molekulou a TCR receptorem. Imunologické synapse se účastní také kostimulační a adhezivní molekuly. Již 5 sekund po prvním kontaktu dochází v T lymfocytech k formaci mikroclusterů, které jsou bohaté na TCR-CD3, ZAP 70, LAT, SLP-76 a další molekuly podílející se na TCR signalizaci. Teprve po 5-10 minutách dochází k pohybu mikroclusterů a vytvoření prstencové struktury supramolekulárního clusteru (SMAC). Do tohoto clusteru však nejsou translokovány všechny molekuly z mikroclusterů, proteiny ZAP70 a SLP-76, klíčové pro zahájení TCR signalizace, nejsou součástí těchto clusterů (Yokosuka et al. 2005). To podporuje předpoklad, že TCR signalizace je zahájena ihned poté, co dojde k interakci TCR-MHC, a nikoli až po vytvoření SMAC (Varma et al. 2006). Vnitřní část synapse tvoří

centrální SMAC (cSMAC), vnější stranu prstence představuje periferní SMAC (pSMAC). V centrálním clusteru jsou lokalizovány MHC molekuly s navázaným peptidem, komplex TCR-CD3, koreceptory CD4 nebo CD8, dále kostimulační molekuly CD80, CD86 a jejich vazební partneři CD28, CTLA-4. Kromě toho se zde vyskytují adhezivní molekuly s kratším řetězcem - CD2 vážící se na CD58. Z vnitřní strany membrány T lymfocytu jsou ke clusteru přidruženy protein-kináza PKC- $\theta$ , Lck a některé další proteiny účastnící se TCR signalizace. Na periférii imunologické synapse se pak nacházejí adhezivní molekuly LFA-1, ICAM-1 (Yokosuka et al. 2005). Byla popsána také účast molekul ICAM-3 a DC-SIGN (Geijtenbeek et al. 2000). Molekuly CD43 a CD45, které mají dlouhé negativně nabitě řetězce, jsou z imunologické synapse vyloučeny. Jak v DC, tak v T lymfocytech byla prokázána aktivní role aktinu na formaci supramolekulárních clusterů (Al-Alwan et al. 2003; Campi et al. 2005).

### **4.3 Aktivační signály T lymfocytů**

Aby došlo k aktivaci T lymfocytů, musí lymfocyty obdržet od DC několik aktivačních signálů. První signál představuje vazba komplexu MHC-peptid na TCR, další signály poskytují kostimulační molekuly a imunoregulační cytokiny.

#### **4.3.1 Signál 1: komplex MHC-peptid**

Bylo zjištěno, že k aktivaci TCR stačí velmi malé množství komplexu MHC-peptid (pMHC), což vede k předpokladu, že jedna molekula pMHC může postupně interagovat s mnoha TCR (Valitutti et al. 1995). Interakce TCR a pMHC není pouze aktivačním signálem, ale rozhoduje také o charakteru odpovědi, která bude či nebude spuštěna. O tom, jak bude vypadat odpověď T lymfocytu na stimulaci, rozhoduje několik faktorů, které spolu vzájemně souvisí – afinita a avidita vazby MHC-peptid a TCR, poločas interakce těchto dvou molekul a také rychlost jejich asociace a disociace. Vzhledem k metodické náročnosti pokusů prováděných v této oblasti a odlišným postupům nejsou získané výsledky konzistentní, a tak není role jednotlivých faktorů přesně definována (Stone et al. 2009). Některé práce předpokládají rozhodující vliv poločasu interakce, který je určen afinitou komplexu MHC-peptid a TCR. Příliš krátký poločas vazby není dostatečný pro kompletní spuštění signalizační kaskády, příliš dlouhý poločas interakce může snížit počet TCR, které jsou jedním komplexem pMHC aktivovány (Kalergis et al. 2001).

### 4.3.2 Signál 2: kostimulace

Druhý signál obdrží T lymfocyt přes kostimulační receptory. Původně bylo předpokládáno, že pokud jsou DC maturované, nesou na svém povrchu kostimulační molekuly, jejichž prostřednictvím obdrží lymfocyt potvrzení a dojde k jeho aktivaci. Naopak nezralé DC kostimulační molekuly neexprimují, a tudíž jejich interakce s T lymfocyty nevyvolává žádnou odezvu, protože T lymfocyt neobdrží potvrzující signál. Dnes je však potvrzeným faktem, že kromě toho, že mohou kostimulační molekuly poskytnout DC pozitivní signál, existují také molekuly, které aktivitu T lymfocytů ovlivňují negativně. Předpokládá se proto, že výsledek kostimulace je určen poměrem jednotlivých kostimulačních a koinhibičních molekul (Subudhi et al. 2005). Dnes jsou známy dvě skupiny kostimulačních molekul – rodina B7, vážící kostimulační receptory příbuzné CD28, a rodina TNF, vážící se na molekuly příbuzné TNF receptoru.

Mezi molekuly rodiny B7 patří CD80 (B7-1), CD86 (B7-2), PDL-1 (B7-H1, CD274), PD-L2 (B7-DC, CD273), ICOS ligand (ICOSL), B7-H3 a B7-H4. Výlučně antigen prezentujícími buňkami jsou exprimovány molekuly CD80 a CD86, ostatní molekuly mohou být exprimovány i mimo lymfoidní tkáň. Receptory těchto molekul na povrchu T lymfocytů jsou proteiny rodiny CD28 – CD28, CTLA-4, PD-1, ICOS, BTLA (Greenwald et al. 2005).

Základní roli v kostimulaci T lymfocytů hrají kostimulační molekuly CD80 a CD86. Jejich interakce kostimulačním receptorem CD28 je nezbytná pro aktivaci T lymfocytu. Zajímavé je, že po aktivaci T lymfocytů dochází k expresi koinhibičního receptoru CTLA-4 na jejich povrchu, přičemž ligandy tohoto receptoru jsou opět molekuly CD80 a CD86. Jedná se zřejmě o součást regulační negativní zpětné vazby. CD80 vykazuje vyšší afinitu k CTLA-4, zatímco CD86 k CD28 (Judge et al. 1999; Rogers et al. 2005). Recentní data poukazují na roli CD80 v indukci regulačních T lymfocytů (Perez et al. 2008) a také na možnou interakci s PDL-1, která vede k inhibičnímu působení na T lymfocyty (Butte et al. 2007).

V plasmacytoidních DC je pro kostimulaci klíčová ještě jedna molekula – ICOSL. Receptor této molekuly, ICOS, je také exprimován T lymfocyty a jeho aktivace vede k podobným účinkům jako aktivace CD28 (Janke et al. 2006).

Předpokládá se, že další molekuly z rodiny B7, PDL-1 a PDL-2 mají na T lymfocyty spíše koinhibiční efekt, i když některé práce uvádějí také efekt kostimulační (Butte et al. 2007). Jako možné vysvětlení se nabízí fakt, že dosud byl popsán pouze jeden receptor těchto molekul – PD-1, avšak existence dalšího receptoru se předpokládá (Liu et al. 2003). Jeho stimulace může mít zcela odlišný efekt než stimulace PD-1.

Novější práce poukazují na fakt, že interakce molekul z rodin CD28 a B7 není důležitá jen pro T lymfocyty, ale že také DC obdrží prostřednictvím této interakce signál, který ovlivní jejich aktivitu. Přesný význam této signalizace však není ještě znám, v případě PD-L se jedná zřejmě o supresivní působení (Kuipers et al. 2006). Vazba CTLA-4 na CD80/CD86 vede k indukci enzymu IDO (indolamine-2,3-dioxygenáza), který inhibuje efektorovou T buněčnou odpověď (Grohmann et al. 2002).

Kostimulační molekuly rodiny TNF – CD70, OX40L, 4-1BB, LIGHT, CD30L a GITRL - nejsou přímo nezbytné pro aktivaci T lymfocytů, avšak poskytují lymfocytům ve všech stádiích jejich života signály potřebné pro jejich přežití. Na rozdíl od rodiny B7, u molekul z rodiny TNF bylo dosud popsáno pouze kostimulační působení, podpora aktivace lymfocytů a je jim také přisuzována role v regulaci Th1/Th2 polarizace. Na povrchu aktivovaných T lymfocytů jsou v závislosti na jejich aktivačním stavu exprimovány receptory výše uvedených kostimulačních molekul - CD27, OX40 (CD134), CD137 (4-1BB), HVEM, CD30 a GITR .

### **4.3.3 Signál 3: cytokiny a další polarizační faktory**

Cytokiny produkované DC po jejich maturaci ovlivňují polarizaci imunitní odpovědi.

Pro polarizaci Th1 je nezbytný IL-12 (Macatonia et al. 1995). Působí přímo na aktivované T lymfocyty, které následně diferencují do fenotypu Th1 a produkují cytokiny, které zpětně podpoří další produkci IL-12 v DC. V roce 2006 byla publikována práce, která uvádí, že DC produkují IL-12 až poté, co jsou kromě maturačního signálu vystaveny působení IFN $\gamma$  (Abdi et al. 2006), takže pro spuštění aktivace a polarizace T lymfocytu je třeba účast třetí buňky (Corthay 2006). DC jsou schopny polarizovat imunitní odpověď také směrem k Th2, avšak IL-4 zodpovědný za polarizaci Th2 není produkován dendritickými buňkami, pro polarizaci je zřejmě nutná účast třetí buňky (Corthay 2006). Jiné práce poukazují na roli IL-6 a nepřítomnost IL-12 při Th2 polarizaci (Diehl a Rincon 2002). Roli IL-6 v Th2 polarizaci potvrzuje také recentní publikace, která identifikovala expresi a vzájemnou interakci c-Kit a jeho ligandu SCF jako způsob, kterým je regulována produkce IL-6 po maturaci DC. Exprese c-Kit je ovlivněna charakterem signálu, který vyvolal maturaci DC (Krishnamoorthy et al. 2008). Některé práce uvádějí, že v polarizaci Th2 hraje roli OX40L. Novější studie však identifikovala OX40L spíše jako kostimulační molekulu, která je nezbytná pro aktivaci Th2 lymfocytů. V případě, že jsou buňky patogenem ovlivněny tak, aby směřovaly T buněčnou odpověď k Th2, a zároveň jsou tyto buňky deficitní v expresi OX40L, nedochází k indukci T buněčné odpovědi (Jenkins et al. 2007). Role v polarizaci se přisuzovala také Notch ligandu



Jagged-2, avšak recentní výzkumy ukazují, že exprese Jagged-2 sice koreluje s polarizací směrem Th2, ale pro indukci Th2 není nezbytná (Krawczyk et al. 2008; Worsley et al. 2008).

Recentně popsanou populací T lymfocytů jsou Th17 buňky. Jaké cytokiny hrají roli v polarizaci imunitní odpovědi tímto směrem, není ještě jednoznačně potvrzeno, avšak IL-23 (Harrington et al. 2005), IL-1 (Sutton et al. 2006) a IL-6, u myši navíc ještě TGF- $\beta$  (Bettelli et al. 2006; Acosta-Rodriguez et al. 2007) byly potvrzeny jako cytokiny nezbytné pro polarizaci a proliferaci Th17 lymfocytů.

Pokud byly DC ošetřeny tak, že produkují velké množství IL-10 a žádné nebo malé množství IL-12, vede jejich setkání s T lymfocyty k jejich polarizaci k regulačním lymfocytům Tr1 (Jonuleit et al. 2000).

K uvedenému přehledu je třeba dodat, že výsledky jednotlivých studií se zásadně liší u lidí a u myši.

#### **4.4 DC a ovlivnění charakteru T buněčné odpovědi**

Ačkoli byly identifikovány tři signály nezbytné pro aktivaci T lymfocytů, dodnes nejsou jednoznačně popsány faktory, kterými dendritická buňka ovlivní charakter imunitní odpovědi. Kromě toho, jak přesně ovlivňují DC polarizaci lymfocytů, zůstává nezodpovězena také otázka, jaká je role DC v indukci paměťových T lymfocytů.

Pro způsob, kterým DC ovlivňují polarizaci T lymfocytů, byly postupně postulovány 3 teorie. In vivo je zřejmě polarita lymfocytů určována kombinací těchto mechanismů. První z teorií předpokládala, že polarizace je důsledkem aktivace určitého typu DC - myeloidní DC směřují odpověď směrem k Th1, plasmacytoidní k Th2 (Liu 2001). Dnes je však potvrzeno, že i pDC mohou polarizovat imunitní odpověď směrem k Th1. Druhá teorie vycházela z faktu, že po určité době od maturace dochází v DC k útlumu produkce IL-12p70. Autoři se proto domnívali, že DC získává během maturace potenciál produkovat IL-12p70 a polarizovat imunitní odpověď směrem k Th1. Teprve po určitém čase, kdy dojde k útlumu produkce IL-12p70, jsou tyto buňky schopny polarizovat T buněčnou odpověď směrem k Th2 (Langenkamp et al. 2000; Langenkamp et al. 2002). Jedná se však zřejmě pouze o ochranný mechanismus, který chrání DC před vyčerpáním. Třetí teorie předpokládá, že polarizaci Th1 i Th2 může indukovat stejná populace DC, která je charakterem maturačního signálu ovlivněna tak, aby spouštěla typ odpovědi účinný na konkrétní patogenní organismus, který maturaci vyvolal (Kalinski et al. 1999).

Mechanismů, kterými je ovlivněna polarizace T lymfocytů, je široká škála. O charakteru T buněčné odpovědi rozhodují parametry interakce TCR a pMHC, spektrum exprimovaných

kostimulačních molekul, produkované cytokiny, ale i okolní mikroprostředí, které je utvářeno dalšími buňkami. Zřejmě nejzásadnější roli však hraje charakter patogenu, který je rozpoznán dendritickou buňkou. První ovlivnění vyplývá již z faktu, že plasmacytoidní a konvenční DC exprimují rozdílnou škálu TLR. Plasmacytoidní DC exprimují TLR7 a TLR9, které rozpoznávají molekuly charakteristické pro viry, konvenční DC exprimují širší spektrum TLR a rozpoznávají patogeny bakteriálního, houbového i virového původu. Aktivace různých TLR vyústí ve spuštěné odlišného typu odpovědi. Podobně se liší i exprese ostatních receptorů rozpoznávajících patogen (Netea et al. 2005).

Dlouhou dobu se předpokládalo, že maturace DC a následná interakce s T lymfocyty vyústí vždy v Th1 odpověď. Dnes je však prokázáno, že aktivace některých TLR ovlivní DC tak, že polarizují imunitní odpověď do Th2 fenotypu (Pulendran et al. 2001). Je možné, že jsou za tyto odlišnosti zodpovědné právě adaptorové proteiny ovlivňují signalizační dráhy TLR (Netea et al. 2005). Jestli jsou jednotlivé adaptory striktně vázány na TLR nebo je jejich asociace s TLR sice možná, ale využitá v případě aktivace konkrétním patogenem, není zcela známo.

Dalším mechanismem v diverzifikaci reakce organismu na patogenní organismus je součinnost receptorů. Zymosan, složka buněčné stěny kvasinek, je rozpoznáván pomocí TLR2, ale také pomocí dectinu-1 (C-lektin). Reakce organismu je pak výsledkem kombinace signálů z obou receptorů (Gantner et al. 2003). V součinnosti s TLR zřejmě pracují také ostatní receptory rozpoznávající patogen (Netea et al. 2005; Benko et al. 2008; Magalhaes et al. 2008).

## **4.5 DC a indukce tolerance**

### **4.5.1 Role DC v navození centrální tolerance**

Tolerance vůči autoantigenům je v organismu zajištěna na dvou úrovních – na úrovni centrální a periferní. Centrální tolerance je navozena v thymu mechanismem negativní selekce. Na tomto procesu se podílejí kromě jiných také dendritické buňky, a to jak DC trvale usazené v thymu, tak DC z periferních tkání. Rezidentní DC prezentují vyvíjejícím se T lymfocytům antigeny, které jsou ektopicky exprimovány v medulárních epiteliálních buňkách thymu a následně jsou transportovány do DC a předkládány T lymfocytům (Gallegos a Bevan 2004). Bylo však prokázáno, že také DC z periferie se podílejí na negativní selekci. Tyto DC se v periferních tkáních setkávají s autoantigeny, které následně vystavují na svém povrchu. Vzhledem k tomu, že zároveň s pohlcením antigenu nebyl rozpoznán signál nebezpečí,

zůstávají tyto DC v nezralém stavu a nemají tedy schopnost indukovat T buněčnou odpověď. V rámci recirkulace se dostávají do krve a pomocí P-selektinu, VLA-4 a zatím neidentifikovaného chemoatraktantu do thymu. Zde se prezentací antigen získaných na periférii podílí na negativní selekci autoreaktivních T lymfocytů (Bonasio et al. 2006).

#### **4.5.2 Role DC v mechanismech periferní tolerance**

Periferní tolerance je zabezpečena několika mechanismy. Jedná se o delecii autoreaktivních klonů, jejich anergii nebo jejich potlačení regulačními T lymfocyty. Dlouhou dobu se předpokládalo, že nezralé dendritické buňky jsou zodpovědné za navození tolerance včetně indukce regulačních T lymfocytů, zatímco zralé DC spouští imunitní odpověď. Ve světle recentních výzkumů se však tato teorie ukazuje jako nepřesná (Cools et al. 2007).

DC kontinuálně pohlcují autoantigeny (např. apoptotické buňky) a vystavují je na svém povrchu. Protože však zároveň nedošlo k rozpoznání signálu nebezpečí, zůstává exprese kostimulačních molekul na nízké úrovni a také produkce cytokinů není ovlivněna. V tomto stavu není DC schopna poskytnout T lymfocytu 2. signál v podobě kostimulačních molekul CD80 a CD86 nebo molekul ovlivňujících přežití T lymfocytu – OX40l, 4-BB1L, a proto lymfocyt následně hyne nebo upadá do stavu anergie (Peng et al. 2007; Proietto et al. 2008). Avšak také maturované DC jsou schopny vyvolat anergii či delecii lymfocytů. Využívají k tomu expresiIDO, která se účastní katabolismu tryptofanu, přičemž vznikají produkty potlačující aktivaci lymfocytů a zároveň jsou lymfocyty vystaveny nedostatku esenciální aminokyseliny tryptofanu, což také přispívá k útlumu jejich funkce (Munn et al. 2002; Mellor a Munn 2004). Zvýšená expreseIDO je v DC vyvolána vazbouCTLA-4 na kostimulační molekulyCD80/86 (Boasso et al. 2005). Také zvýšená expreseFasL (Suss a Shortman 1996) nebo produkce solubilníCD25 (von Bergwelt-Baildon et al. 2006) byly identifikovány jako mechanismy podílející se na regulaci T buněčné odpovědi maturovanými DC.

Regulační lymfocyty představují účinný nástroj, jak zamezit škodlivému působení autoreaktivních lymfocytů, které unikly mechanismu negativní selekce. K jejich vzniku dochází jednak v thymu – tzv. přirozenéCD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> regulační lymfocyty (Treg), ale také v periferních tkáních a sekundárních lymfatických orgánech – tzv. indukované regulační lymfocyty (Tr1 a Th3). Toto rozdělení poněkud nabourává fakt, že také Treg mohou vznikat na periférii. Supresivní působení Treg je podmíněno přímým kontaktem s ovlivňovanou buňkou, zatímco Tr1 a Th3 produkují velká množství supresivně působících cytokinů (IL-10 a TGF- $\beta$  resp. TGF- $\beta$ ). Bylo prokázáno, že se na vzniku obou typů

regulačních lymfocytů podílí také DC. Do nejasností ohledně T regulačních lymfocytů přispívají i nové poznatky o regulačních vlastnostech CD8+ lymfocytů.

Na vzniku Treg v thymu se podílejí DC, které se nachází v blízkosti Hasallových tělísek. V těchto tělískách je exprimován thymický stomální lymfopoetin (TSLP), který zvyšuje expresi kostimulačních molekul na povrchu DC. T lymfocyty, které se setkají s těmito DC a rozpoznají antigen na jejich povrchu, nejsou negativně selektovány, ale přežívají a získávají regulační fenotyp (Watanabe et al. 2005; Proietto et al. 2008). Některé práce poukazují také na účast periferních dendritických buněk a s nimi i periferních antigenů při vzniku Treg v thymu (Goldschneider a Cone 2003).

Mechanismy indukce regulačních T lymfocytů na periférii nejsou dodnes zcela jednoznačně popsány. Teorie, že nezralé DC indukují vznik regulačních T lymfocytů, zatímco maturované DC spouštějí imunitní odpověď, byla nabourána pracemi, které prokazují, že i maturované DC mohou vyvolat vznik regulačních T lymfocytů (Banerjee et al. 2006). Některé práce poukazují také na to, že síla interakce mezi lymfocylem a nezralou DC je slabá, přičemž DC nejsou schopny poskytnout T lymfocytům ani 1. signál, který je nezbytný pro vznik regulačních buněk (Benvenuti et al. 2004).

Mezi mechanismy, které zřejmě přispívají k indukci T regulačních lymfocytů dendritickými buňkami, patří expreseIDO a ovlivnění metabolismu tryptofanu v lymfocytech (Park et al. 2008b), produkce supresivního cytokinu IL-10 a utlumená produkce IL-12 (Cools et al. 2007). Také exprese kostimulačních a koinhibičních molekul hraje roli v indukci tolerance. Recentně byly popsány role PDL-1 a CD80 v indukci regulačních T lymfocytů (Perez et al. 2008; Wang et al. 2008).

Postupně jsou také identifikovány faktory, které ovlivňují DC tak, aby využily výše zmíněných schopností a indukovaly vznik regulačních T lymfocytů. Velkou roli při vzniku tolerogenních DC hraje cytokinové prostředí obklopující DC (Rutella et al. 2006), popsána byla role molekuly ILT3 a její upregulace (Chang et al. 2002; Suciú-Foca a Cortesini 2007). Recentně byla v indukci regulačních T lymfocytů popsána také role Jagged-1. Dendritické buňky maturované tímto Notch ligandem podporují přežití a proliferaci Treg a tlumí proliferaci CD25- lymfocytů (Bugeon et al. 2008). Také glukokortikoidy nebo vitamín D indukují vznik tolerogenních DC (Penna et al. 2007; Bosma et al. 2008). Bohužel nádorové buňky nebo některé patogenní organismy ovlivňují DC tak, že indukují vznik regulačních lymfocytů a brání tak spuštění imunitní reakce.

## 5 Dendritické buňky a jejich význam u vybraných patologických stavů

Primární poruchy dendritických buněk mohou být příčinou různých onemocnění a naopak, různé patologické procesy v organismu mohou sekundárně funkce DC ovlivňovat. Poruchy DC jsou podkladem některých primárních imunodeficitů a autoimunitních onemocnění, funkce DC jsou ovlivněny v průběhu akutních a zejména chronických infekcí, v průběhu nádorových onemocnění nebo v důsledku rozvratu vnitřního prostředí organismu. Vzhledem k ústřední roli DC v imunitním systému s sebou přináší jakékoliv ovlivnění funkce dendritických buněk závažné důsledky.

### 5.1 Dendritické buňky a primární imunodeficiencie

Jednotlivé složky imunitního systému jsou vzájemně provázány, proto defekt v jakékoliv buňce imunitního systému může ovlivnit i DC. Většina molekul je exprimována několika buněčnými populacemi, a tak je výsledný klinický obraz mozaikou různých projevů. Zajímavým faktem také je, že sekundárním projevem některých imunodeficitů je autoimunitní onemocnění, což poukazuje na roli poškozených struktur v regulaci imunitní odpovědi. Některé mutace dokonce vedou přímo k rozvoji autoimunitního onemocnění, neprojeví se jako imunodeficiencie, tedy sníženou odolností k infekcím, přestože by to bylo možno z charakteru postižené molekuly očekávat. Příkladem takové vrozené poruchy je mutace genu CARD15, která je asociována s rozvojem Crohnovy choroby nebo Blauova syndromu. Přitom doména CARD15 je důležitou součástí NLR - cytoplasmatických receptorů rozpoznávajících patogen.

#### 5.1.1 X-vázaná agamaglobulinémie (XLA)

Tento deficit byl popsán již v roce 1952 a teprve později byla určena molekula, jejíž mutace je příčinou tohoto deficitu – Brutonova tyrosin kinasa. Je nezbytná při diferenciaci B lymfocytů, její mutace vede k bloku ve vývoji B lymfocytů a k následné hypo- či agamaglobulinémii. Nedávno byla popsána také role btk v signalizaci přes TLR receptory (Jefferies et al. 2003). Choroba se projevuje obvykle po půl roce věku dítěte, nejčastěji jako opakovaná infekční onemocnění se závažným průběhem - otitidy, bronchitidy, pneumonie a meningitidy. Původcem těchto onemocnění je nejčastěji *Streptococcus pneumoniae* nebo *Haemophilus influenzae*. Terapie agamaglobulinémie spočívá v substituci imunoglobulinovými preparáty. I přes tuto substituci trpí pacienti závažnými onemocněními

(encefalitida, myelitida), které jsou vyvolány překvapivě nikoliv bakteriálními, ale virovými organismy, a to konkrétně enteroviry.

Funkce dendritických buněk je v případě tohoto onemocnění ovlivněna jednak přímo, a to defektem v TLR signalizaci (Sochorova et al. 2007; Taneichi et al. 2008), jednak nepřímo, protože nedostatek protilátek třídy IgG snižuje maturační schopnosti DC (Elluru et al. 2008).

### **5.1.2 Běžná variabilní imunodeficience (CVID)**

CVID je skupina onemocnění s heterogenní příčinou a symptomy. Základní charakteristikou je deficit protilátek IgG a IgA, který může být provázen dalšími poruchami ve funkci T a B lymfocytů. Pacienti trpí opakovanými bakteriálními infekcemi, v 25 % případů CVID se rozvíjí autoimunitní onemocnění, Pacienti mají zvýšené riziko výskytu některých malignit a plicních komplikací (Park et al. 2008a). Terapie je jako u jiných protilátkových poruch substituční, podávají se imunoglobulinové preparáty.

V současnosti už jsou známy některé příčiny CVID, avšak u části pacientů jsou genové mutace vedoucí k deficitu protilátek zatím neznámé. Známými příčinami jsou mutace CD19, mutace proteinů TACI a BAFF-R z TNFR rodiny a mutace ICOS (Schaffer et al. 2007).

Ačkoliv se v případě CVID jedná o onemocnění s heterogenní etiologií, publikované práce se shodují v tom, že při tomto onemocnění je ovlivněna funkce DC. Po maturaci DC zůstává exprese kostimulačních molekul na nízké úrovni, je produkováno malé množství IL-12 a stimulace allogenních T lymfocytů je velmi slabá (Bayry et al. 2004; Cunningham-Rundles a Radigan 2005). V případě pDC je po stimulaci TLR9 snížena produkce IFN $\alpha$  a také nedochází ke zvýšené expresi kostimulačních molekul (Cunningham-Rundles et al. 2006). Zřejmě se jedná o důsledek nepřítomnosti některých solubilních faktorů nebo protilátek v plazmě osob postižených CVID (Nourizadeh et al. 2007).

### **5.1.3 Hyper IgM syndrom**

Hyper IgM syndrom je, stejně jako CVID, heterogenní onemocnění. V laboratorním nálezu dominuje zvýšená hladina IgM v krvi, ale hladiny IgG, IgA i IgE jsou velmi nízké. Kromě oportunních infekcí vyvolaných intracelulárními parazity *Cryptosporidium* a *Pneumocystis* může vést tato porucha k autoimunitním chorobám, jako jsou cytopenie, artritidy nebo zánětlivá onemocnění střev. Jedinou účinnou léčbou je transplantace kostní dřeně, nadějně se jeví také postupy genové terapie. Genetickým podkladem tohoto onemocnění jsou mutace v molekulách CD40, CD40L nebo AID (aktivací indukovaná cytidin deaminasa) a z nich vyplývající porucha izotypového přesmyku B lymfocytů (Fontana et al.

2003). Pokud je příčinou onemocnění deficit AID, je porucha vázána pouze na B lymfocyty, ostatní buňky imunitního systému nejsou postiženy a pacient není ohrožen oportunními infekcemi (Revy et al. 1998; Revy et al. 2000). V případě deficitu CD40 nebo CD40L je porušena také interakce mezi T lymfocyty a dendritickými buňkami. V případě mutace v CD40 je změněna odpověď DC na LPS nebo TNF. DC sice exprimují maturační marker CD83, ale exprese kostimulačních molekul je stejně jako produkce IL-12 snížena (Fontana et al. 2003).

#### **5.1.4 Wiskottův-Aldrichův syndrom**

Wiskottův-Aldrichův syndrom je onemocnění způsobené mutací WASp (Wiskott Aldrich syndrom protein) genu a je vázáno na X chromozom. Protein WAS je zodpovědný za regulaci polymerizace aktinu v hematopoetických buňkách. Projevy tohoto onemocnění jsou závislé na genové mutaci – pokud WASp zcela chybí nebo je výrazně zkrácen, jsou projevy závažnější než v případě, že je protein chybně exprimován, přičemž má normální délku. V nejzávažnější formě se onemocnění projevuje jako trombocytopenie s opakujícími se infekcemi a ekzémem, doprovázená zvýšeným výskytem autoimunitních a nádorových onemocnění. Mírnější formy se mohou projevovat pouze intermitentní trombocytopenií. Jedinou účinnou terapií tohoto syndromu je transplantace kostní dřeně, vzhledem k charakteru onemocnění se jako nadějný způsob jeví také genová terapie (Notarangelo et al. 2008).

WASp je exprimován také v DC, ve kterých ovlivňuje tvorbu podosomů (Calle et al. 2004). DC pacientů s Wiskott-Aldrichovým syndromem vykazují defekt v migraci do sekundárních lymfoidních orgánů a porušenou schopnost aktivovat T lymfocyty, která je zřejmě zapříčiněna chybnou organizací cytoskeletu při tvorbě imunologické synapse (de Noronha et al. 2005; Bouma et al. 2007; Pulecio et al. 2008).

#### **5.1.5 IRAK-4 deficit**

Jedná se o recentně popsany autozomálně recesivní imunodeficit, který ovlivňuje signalizační dráhu všech TLR využívajících v aktivaci MyD88 dependentní cestu aktivace. Bylo prokázáno, že pacienti trpící tímto deficitem jsou náchylní k infekcím vyvolaným *Streptococcus pneumoniae* a *Staphylococcus aureus*. DC postižených pacientů nejsou schopny po stimulaci TLR1/2, 2/6, 3, 4, 5 a 9 produkovat prozánětlivé cytokiny ani IL-12. Stimulace TLR3 a 4 vede pouze k produkci IFN $\alpha$  a IFN $\beta$  (Ku et al. 2007). Některé práce uvádějí, že také produkce IFN $\alpha/\beta$  je po stimulaci TLR3 nízká nebo chybějící. Proti tomuto zjištění však stojí fakt, že dosud nebyla prokázána role IRAK-4 v signalizaci přes TLR3. Také po stimulaci

TLR7, 8 a 9 je produkce IFN $\alpha/\beta$  velmi nízká nebo zcela chybí (McDonald et al. 2006). V souladu s tím je i práce, které popisuje sníženou aktivaci proteinů signalizační kaskády TLR7 (Koziczak-Holbro et al. 2007).

Vzhledem k rozsahu postižení TLR signalizace a klinickým projevům nemoci, kterými jsou pouze infekce vyvolané výše zmíněnými bakteriemi, lze usuzovat, že zřejmě existuje IRAK-4 independentní způsob obrany proti infekcím (Ku et al. 2007).

### **5.1.6 Chronická granulomatóza**

Chronická granulomatóza je onemocnění způsobené defekty v enzymatickém systému NADPH oxidázy, který je nezbytný v tvorbě kyslíkových radikálů. Postiženy jsou fagocytující buňky (zejména monocyty, makrofágy a neutrofilny), které nejsou schopny zabít některé pohlčené patogenní mikroorganismy. Pacienti opakovaně trpí závažnými bakteriálními nebo houbovými infekcemi, které vedou v organismu k tvorbě granulomů. V granulomu jsou koncentrovány buňky lymfatického systému s pohlčenými patogeny, které nemohou degradovat. Pacienti často trpí kolitidou, která je velmi podobná Crohnově chorobě.

Bylo prokázáno, že komplex NADPH oxidázy hraje důležitou roli při zpracování antigenu v dendritických buňkách. Přispívá k acidifikaci fagosomu. Ve fagozomech DC pacientů s chronickou granulomatózou je vyšší pH než u zdravých kontrol a byla popsána porucha zkřížené prezentace (Mantegazza et al. 2008). Recentní data poukazují na možnou roli komplexu NADPH oxidázy v tolerogenních DC, které indukují apoptózu T lymfocytů (Kuang et al. 2008).

### **5.1.7 Anhydrotická ektodermální dysplazie s imunodeficitem**

Anhydrotická ektodermální dysplazie s imunodeficitem je velmi vzácné onemocnění způsobené mutací v genu kódujícím protein NEMO (NF- $\kappa$ B essential modulator) nebo mutací v genu pro I $\kappa$ B. NEMO je součástí komplexu IKK, který umožňuje tak translokaci NF- $\kappa$ B do jádra. Výše zmíněné mutace výrazně omezují aktivaci NF- $\kappa$ B a jeho translokaci do jádra, což představuje zablokování jednoho z klíčových míst aktivační kaskády TLR receptorů. Kromě mnoha příznaků, které nejsou typickými projevy poruchy funkce imunitního systému (nesnášenlivost tepla, ztráta ochlupení, defekty zubů), patří do klinického obrazu infekce opouzdřenými bakteriemi a netypickými mykobakteriemi, které krevní cestou infikují vnitřní orgány (Ku et al. 2005). Funkce DC u těchto pacientů nebyla dosud zhodnocena zejména vzhledem k velmi nízkému počtu postižených osob. Za podobné projevy mohou být zodpovědné také další mutace proteinů ovlivňující aktivaci NF- $\kappa$ B.



## 5.2 *Dendritické buňky a poruchy metabolismu*

### 5.2.1 DC u metabolických poruch

Vnitřní prostřední organismu ovlivňuje fungování jednotlivých buněk. Také DC mohou být výrazně ovlivněny změnami, které doprovázejí některá onemocnění. Zřejmě nejčastějšími a nejzávažnějšími stavy jsou hyperglykémie, změny pH vnitřního prostředí, poruchy funkce štítné žlázy a změny vyvolané selháním ledvin.

Zhodnocení vlivu hyperglykémie na DC je složité zejména u diabetu I. typu, protože se jedná o autoimunitní onemocnění, jehož příčinou může být také primární porucha funkce DC. Existuje jen velmi málo prací, které se zabývají vlivem hyperglykémie na DC. Studie provedená s monocytárními DC kultivovanými v médiu s vysokým obsahem glukózy ukázala, že takto ošetřené DC exprimují kostimulační molekuly a také produkují cytokiny včetně IL-12, přestože jim nebyl poskytnut jiný maturační signál (Yao et al. 2006). Podobný efekt má na DC také hyperinzulinémie, která provází některé formy diabetu II. typu (Lu et al. 2007).

V případě acidózy, snížení pH krve, nebyla funkce DC dosud sledována. Bylo však potvrzeno, že v případě zánětu, autoimunitní reakce nebo v prostředí tumoru může být pH sníženo podstatně více než v krvi. Ve studii, která sledovala vliv nízkého pH na DC, bylo prokázáno, že přechodné vystavení dendritických buněk pH 6,5 vede k jejich fenotypické maturaci a produkci IL-12. Trvalé vystavení DC takto nízkému pH však maturaci DC neindukuje (Martinez et al. 2007). Vliv alkalózy na funkci DC nebyl dosud hodnocen.

Poruchy funkce štítné žlázy vedou buď k hypotyreóze nebo hypertyreóze. Oba stavy mohou být zapříčiněny také autoimunitním onemocněním, u něž může porucha DC hrát primární roli. Teprve v nedávné době bylo potvrzeno, že DC exprimují receptor pro trijodtyronin. Fyziologická hladina trijodtyroninu přispívá k zvýšení exprese MHC a kostimulačních molekul, k zvýšení produkce IL-12 a k stimulaci T lymfocytů (Mascanfroni et al. 2008). Vliv hyper- nebo hypotyreózy na DC nebyl dosud sledován.

Selhání ledvin vede k výrazným změnám vnitřního prostředí, což může výrazně ovlivňovat také imunitní systém. Při selhání ledvin se zvyšuje hladina kreatininu, močoviny, draslíku a dalších toxických látek. V případě chronického selhání dochází i k dalším metabolickým změnám – poškozené ledviny nejsou schopny produkovat erythropoetin a také nejsou schopny syntetizovat aktivní formu vitamínu D. Tyto faktory mohou ovlivňovat funkci DC. Recentní studie prokázaly vliv vysoké hladiny močoviny i dalších vysoko i nízkomolekulárních toxinů na DC. Tyto látky inhibují maturaci DC vyvolanou LPS, snižují expresi kostimulačních molekul a schopnost DC stimulovat T lymfocyty. Účinnější dialyzační

postupy, během kterých jsou odstraněny nízkomolekulární toxiny, vedou k obnovení funkce konvenčních DC, zatímco funkce plasmacytoidních DC zůstává porušena (Lim et al. 2007a; Lim et al. 2007b).

Dalším faktorem, který může výrazně ovlivňovat funkci DC v průběhu chronického selhání, je deficit aktivní formy vitamínu D, kalcitriolu.

### **5.2.2 DC a vitamin D**

Vitamin D je v lidském těle syntetizován v několika krocích – syntéza prekurzoru z cholesterolu probíhá v kůži za přítomnosti UV záření, následuje hydroxylace v játrech a posledním krokem je hydroxylace 1-hydroxylázou v ledvinách. Potravou přijímaný vitamin D není účinný, do aktivní formy musí také projít hydroxylací v ledvinách. Porucha funkce ledvin vede k bloku v posledním kroku syntézy – v hydroxylaci - a k deficitu aktivní formy vitamínu D. Kromě chronického renálního selhání může být hypovitaminóza vitamínu D způsobena dalšími faktory. Vzhledem k tomu, že vitamin D není klasickým vitamínem – lidské tělo ho umí také syntetizovat - bývají příčiny nedostatku komplexnějšího charakteru. Vliv na jeho hladinu má zejména strava a expozice slunečnímu záření.

Bylo prokázáno, že receptor vitamínu D (VDR) je exprimován některými buňkami imunitního systému. Velké množství VDR je exprimováno v CD8 T lymfocytech, dále je VDR exprimován také v CD4 lymfocytech, monocyttech, makrofázích a dendritických buňkách (Veldman 2000). Některé buňky imunitního systému včetně DC mají také schopnost aktivní formu vitamínu D, kalcitriolu, syntetizovat. Na rozdíl od syntézy v ledvinách není extrarenální syntéza striktně kontrolována hladinami kalcia, fosforu a PTH v krvi (Holick 2004; Holick 2005).

Kalcitriol ovlivňuje zejména antigen prezentující buňky - monocyty, makrofágy a dendritické buňky. Přímou vazbou tohoto vitamínu na VDR je potlačena exprese MHC molekul II. třídy, které jsou zodpovědné za prezentaci antigenu T lymfocytům. Rovněž je snížena exprese kostimulačních molekul, které poskytují T lymfocytům 2. signál, nezbytný pro jejich úplnou aktivaci. Ovlivněním cytokinové produkce - snížením IL-12 a zvýšením IL-10 - je potlačen vývoj Th1 lymfocytů a stimulován vývoj Th2 lymfocytů, čímž je celá imunitní reakce směřována do Th2 typu. Th1 odpověď je navíc přímo oslabena, protože vlivem kalcitriolu nejsou lymfocyty schopny produkovat klíčové cytokiny Th1 odpovědi - IL-2 a IFN $\gamma$ . Naopak Th2 odpověď je vlivem kalcitriolu podpořena, a to především proto, že lymfocyty v prostředí kalcitriolu zvyšují produkci IL-4, IL-5 a IL-10 (Adorini 2002; Adorini 2005) (van Etten a Mathieu 2005). Toto zjednodušené schéma vyplývá z řady

experimentálních prací in vitro. Ve skutečnosti jsou účinky kalcitriolu v organismu komplexnější a závisí na celé řadě okolností.

Bylo prokázáno, že vitamín D ovlivňuje imunitní odpověď v případě infekce, v průběhu autoimunitní reakce, hraje také roli v reakci organismu na transplantát a v protinádorové imunitní reakci. Důležitost vitamínu D pro protiinfekční imunitu nejlépe vystihuje přísloví „Kam nechodí slunce, tam chodí lékař“. Snížená expozice slunečnímu záření vede k deficitu vitamínu D a k rozvoji infekcí, které jsou zapříčiněny zejména mykobakteriemi.

Mykobakteria jsou v organismu rozpoznávána makrofágy, jejich eliminace z organismu je ale problematická, protože žijí intracelulárně. K jejich účinné eliminaci je zapotřebí souhry dobré funkce makrofágů a Th1 lymfocytů. Ty poskytují produkcí interferonu gama stimulus pro indukci intracelulární tvorby NO (oxidu dusnatého), který je pro mykobakteria baktericidním faktorem. I když z experimentů vyplývá, že vitamín D potlačuje funkci Th1 lymfocytů a produkci interferonu gama, v tomto případě zřejmě převládá jeho přímý vliv na produkci NO (Waters et al. 2004). Další mechanismus eliminace mykobakterií spočívá v následujícím pochodu: pokud makrofág rozpozná ve svém okolí mykobakteria, zahájí imunitní reakci, jejíž součástí je zvýšená exprese 1-hydroxylázy a VDR. Tím se zvýší lokální produkce kalcitriolu a citlivost makrofágů na tento působek. Vazba kalcitriolu na VDR indukuje expresi cathelicidinu, který se vyznačuje přímou mikrobicidní aktivitou a je schopen likvidovat i intracelulárně lokalizovaná mykobakteria. Zároveň působí jako chemokin a ovlivňuje migraci lymfocytů do místa infekce. Předpokládá se, že hraje roli také v regulaci dalších protizánětlivých pochodů (Liu et al. 2006).

Pokud jde o autoimunitní onemocnění, zdá se, že při ochraně organismu před autoimunitními onemocněními se uplatňuje spíše imunosupresivní účinek kalcitriolu. Bylo prokázáno, že lidé žijící ve vyšších zeměpisných šířkách jsou více ohroženi autoimunitními onemocněními, protože se u nich častěji vyskytuje deficit vitamínu D v souvislosti s nedostatkem slunečního záření. U obyvatel nižších zeměpisných šířek (0-35°) je riziko rozvoje prototypu orgánově specifické autoimunitní choroby - roztroušené sklerózy - poloviční v porovnání se skupinou obyvatel vyšších zeměpisných šířek. Navíc byl popsán sezónní výskyt tohoto onemocnění - v létě je incidence nízká, v zimním období dosahuje maxima. Zvýšený příjem vitamínu D (400 IU/den) snižuje riziko výskytu o více než 40% (Holick 2005). Pro léčbu relapsů roztroušené sklerózy se jako vhodný lék jeví biologicky aktivní forma vitamínu D kalcitriol, problémem při jeho použití je výskyt hyperkalcémie (Wingerchuk et al. 2005). Podobná souvislost jako v případě roztroušené sklerózy byla

zjištěna u diabetu 1. typu. Deficit vitamínu D výrazně zvyšuje riziko rozvoje diabetu u dětí, suplementace vitamínem D toto riziko snižuje (Mathieu et al. 1994; Hypponen et al. 2001).

Podobný efekt vitamínu D lze očekávat i v prevenci dalších autoimunitních onemocnění, jako jsou např. revmatoidní artritida, Crohnova choroba, ulcerózní kolitida nebo systémový lupus erytematoses. V případě těchto onemocnění však nebyla souvislost mezi deficitem či suplementací vitamínem D a rozvojem onemocnění jednoznačně prokázána, zatím se jedná pouze o údaje zjištěné studiem zvířecích modelů (Seibert et al. 2005).

Zajímavá je také role vitamínu D v prevenci hypertenze a aterosklerózy. I ateroskleróza je dnes považována za částečně autoimunitní onemocnění. Kalcitriol negativně reguluje produkci reninu, působí na buňky srdečního svalu a zároveň svým imunosupresivním účinkem tlumí zánětlivou reakci probíhající ve stádiu vzniku aterosklerózy (Holick 2005).

Je zřejmé, že i u autoimunitních chorob hraje důležitou patogenetickou roli dysfunkce DC navozená mj. nedostatkem aktivní formy vitamínu D.

### **5.3 Dendritické buňky a nádorová onemocnění**

#### **5.3.1 Role imunitního systému v obraně proti nádorovým buňkám**

Nádorové onemocnění představuje svým charakterem velmi specifickou formu onemocnění. Vzhledem k tomu, že je způsobeno vlastními buňkami organismu, které jsou transformované v buňky nádorové, je pro imunitní systém situace velmi odlišná od případu, kdy je původce cizí exogenní činitel. Otázkou je, zda je imunitní systém vybaven tak, aby byl schopen účinně eliminovat transformované buňky. Odpověď na tuto otázku poskytuje fakt, že u imuno-deficitních jedinců je incidence některých typů nádorů vyšší než u jedinců s normálním imunitním systémem (Beral a Newton 1998). Také na RAG deficitních myších modelech, které postrádají T a B lymfocyty, byla potvrzena role imunitního systému v obraně proti nádorovým buňkám. Tyto myši vyvíjely mnohem více spontánních nádorů a také chemicky indukované tumory se vyvíjely rychleji a s větší frekvencí než u imunokompetentních kontrol (Shankaran et al. 2001). Podobné výsledky byly získány studiem myších modelů postrádajících NK a NKT buňky (Smyth et al. 2000). Taktéž byla prokázána role IFN $\gamma$  (Shankaran et al. 2001) a perforinu v protinádorové imunitní reakci (Street et al. 2001).

Původní teorie o imunitním dozoru (Burnet 1970), která předpokládala existenci buněk, které permanentně kontrolují, zda nedošlo k nádorové transformaci, byla postupně rozšířena a upřesněna. Zdá se, že imunitní systém vyvíjí na nádorové buňky neustálý selekční tlak, který

ovšem vede k selekci takových variant transformovaných buněk, které dokážou uniknout protinádorovým mechanismům imunitního systému. Podle nové hypotézy, tzv. „Cancer immune editing“, editace nádoru imunitním systémem lze rozlišit tři různé stavy boje imunitního systému s transformovanými buňkami. Jedná se o eliminaci transformované buňky, ustavení rovnováhy mezi nádorovými buňkami a imunitním systémem a únik transformované nádorové buňky před imunitním systémem. Ve většině případů jsou transformované buňky včas rozpoznány imunitním systémem a eliminovány z organismu. Může však dojít k ustavení rovnováhy, tato fáze může být velmi dlouhá, případně i trvalá, může však vést k eliminaci transformovaných buněk nebo naopak k úniku transformovaných buněk a rozvoji nádorového onemocnění (Dunn et al. 2002).

### **5.3.2 Rozpoznání nádorových buněk imunitním systémem**

Bylo prokázáno, že hlavní roli v obraně proti nádorovým onemocněním hrají cytotoxické lymfocyty, kterým je antigen prezentován dendritickými buňkami (Ikeda et al. 2004). Nádorové buňky sice exprimují na svém povrchu tumor specifické antigeny, avšak nemohou samy o sobě fungovat jako antigen prezentující buňky, neboť na svém povrchu nenesou kostimulační molekuly nutné pro plnou aktivaci T lymfocytů. Aby mohla být zahájena imunitní reakce, musí být nádorová buňka pohlcena DC, na jejímž povrchu jsou následně části nádorových buněk vystaveny. V této formě jsou pak části nádorových buněk prezentovány T lymfocytům a může být zahájena specifická imunitní reakce proti nádoru. Za tu jsou zodpovědné zejména cytotoxické lymfocyty. Problémem však zůstává, že pro plné rozvinutí imunitní odpovědi musí být prezentující DC aktivovány. Endogenní signály nebezpečí, jakými jsou kyselina močová, dihydrogen pyrofosfát nebo proteiny teplotního šoku mají však mnohem menší aktivační potenciál než struktury patogenních organismů (Shi et al. 2003; Meylan et al. 2006).

Nádorové buňky mohou být rozpoznány a zničeny také pomocí NK buněk, a to v případě, že je eliminována exprese MHC molekul na jejich povrchu. Nedochozí tak k vazbě MHC na inhibiční KIR receptor NK buňky, ta je aktivována a svými cytotoxickými mechanismy nádorovou buňku zničí (Ljunggren a Malmberg 2007). Zároveň mohou být NK buňky aktivovány pomocí aktivačních receptorů. Nejlépe popsáním aktivačním receptorem je NKG2D, jehož ligandy, molekuly podobné MHC I.třídy, jsou zřídka exprimovány na normálních buňkách, zatímco jejich exprese na povrchu nádorových buněk je velmi častá (Waldhauer a Steinle 2008).

### 5.3.3 Mechanismy úniku nádorových buněk před imunitní reakcí

Ke svému přežití vyvinuly nádorové buňky řadu mechanismů, kterými se snaží uniknout před zničením efektorovými mechanismy imunitního systému. Nádory ovlivňují zejména lymfocyty a antigen prezentující buňky. V případě ovlivnění T lymfocytů dochází ke změnám v signalizační kaskádě TCR, inhibici cytotoxických mechanismů, indukci Treg nebo indukci apoptózy. V případě ovlivnění DC se jedná o snížení počtu DC, inhibici diferenciaci, maturace nebo migračních schopností.

Nádorové a stromální buňky produkují celou řadu působků, kterými ovlivňují funkci imunitního systému. Produkci TGF- $\beta$ , M-CSF (macrophage-colony stimulating factor), IL-6, VEGF (vascular endothelial grow factor), IL-1 a PGE2 je inhibována diferenciaci DC. Některé působky ovlivňují také funkční vlastnosti DC a T lymfocytů (Gabilovich et al. 1996a; Rabinovich et al. 2007; Gottfried et al. 2008). Také produkce kyseliny mléčné nádorovými buňkami ovlivňuje funkci CTL – snižuje produkci cytokinů a inhibuje cytotoxické mechanismy (Fischer et al. 2007).

Dalším mechanismem, kterým nádorové buňky ovlivňují T lymfocyty, je exprese IDO a následná inhibice funkce T lymfocytů vyplývající z nedostatku tryptofanu a přebytku některých inhibičních metabolitů (Uyttenhove et al. 2003).

Nádory mohou inhibovat T lymfocyty také pomocí exprese koinhibičních molekul PD-L1 s B7-H4 (Dong et al. 2002; Zou a Chen 2008) a mohou navozovat apoptózu T lymfocytů prostřednictvím exprese molekul FasL, TRAIL a RANTES (Hahne et al. 1996; Giovarelli et al. 1999; Mellado et al. 2001).

Mechanismem, který využívají nádorové buňky zejména k úniku před NK buňkami, je produkce HLA-G, které inhibuje funkci NK buněk a CTL, a také produkce solubilní formy MICA (homolog MHC molekul I.třídy), která vede ke snížení počtu aktivačních receptorů na povrchu NK (Groh et al. 2002; Seliger 2005).

Recentně popsanou populací buněk, která přispívá k úniku nádorových buněk dozoru imunitního systému, jsou supresorové buňky odvozené z myeloidních prekurzorů (MDSC, myeloid-derived suppressor cells). Jedná se o heterogenní populaci nezralých makrofágů, granulocytů, DC a dalších myeloidních buněk. U zdravých jedinců se tyto buňky vyskytují pouze ve slezině a v kostní dřeni a dávají vzniknout zralým myeloidním buňkám. Tyto buňky antigen specificky ovlivňují schopnost CTL produkovat IFN $\gamma$  - brání jeho produkci u těch buněk, jejichž TCR reaguje s komplexem peptid-MHC I.třídy na povrchu MDSC (Rabinovich et al. 2007). Tento děj je závislý na produkci peroxidu vodíku v MDSC (Kusmartsev a

Gabrilovich 2003). Interakce T lymfocytů s těmito buňkami může vést k indukci Treg nebo k vytvoření anergických T lymfocytů. Předpokládá se, že v indukci populace MDSC hrají roli solubilní faktory produkované nádorem, dosud však nebyl určen konkrétní působe zodpovědný za tento jev. Kandidátními působky jsou zejména molekuly ze skupiny růstových faktorů, které jsou produkovány v mnoha typech nádorů (Marigo et al. 2008).

### **5.3.4 DC a imunoterapie nádorových onemocnění**

Jelikož v rozvoji nádorového onemocnění i ochraně proti němu hraje výraznou roli imunitní systém, nabízí se možnost využít modulaci imunitních funkcí jako terapeutický postup pro léčbu těchto onemocnění. Tyto postupy se dají rozdělit do tří velkých skupin: postupy vedoucí k indukci imunogenní smrti nádorových buněk, postupy podporující prezentaci nádorových antigenů a aktivaci T lymfocytů, a postupy, které se snaží antagonistovat imunosupresivní účinek nádoru. Stále jsou však objevovány nové způsoby, kterými se nádory brání před zničením, a tak lze předpokládat, že účinný terapeutický postup nebude využívat jediného mechanismu, ale bude kombinovat účinky ve všech třech výše zmíněných oblastech (Stagg et al. 2007).

Dendritické buňky se významnou měrou podílí na protinádorové imunitní odpovědi (Dhodapkar et al. 2008). Imunoterapie založená na dendritických buňkách se proto nabízí jako vhodný postup. Základní myšlenka tohoto postupu je velmi jednoduchá - dendritické buňky jsou ovlivněny tak, aby na svých MHC molekulách prezentovaly nádorové antigeny. Poté díky tomuto ovlivnění spustí imunitní odpověď zaměřenou proti nádoru. DC mohou být upraveny in vitro a vráceny zpět do těla pacienta, existují však postupy, kdy jsou DC ovlivněny přímo in vivo.

Původně byly používány nezralé DC s navázaným antigenem, avšak později se začaly využívat postupy, při kterých docházelo zároveň k maturaci DC, aby bylo zamezeno indukci Treg nezralými DC (McIlroy a Gregoire 2003).

Postupně bylo zjištěno, že účinnost protinádorové vakcíny ovlivňuje celá řada faktorů. Prvním z nich je volba zdroje DC – ty lze získat izolací z krve, kultivací z monocytů nebo CD34+ buněk kostní dřeně. Izolace DC z periferní krve je z výše uvedených postupů nejméně vhodná, a to zejména kvůli velmi nízkému počtu DC v periferní krvi. Navíc již mohou být tyto buňky ovlivněny supresivním působením nádoru (Gabrilovich et al. 1996b).

V případě imunoterapie pomocí DC je také třeba zvolit vhodnou formu nádorového antigenu – buď je využíván konkrétní nádorový antigen, případně definovaná směs, nebo jsou používány celé nádorové buňky, přičemž se jedná o nedefinovatelnou směs mnoha různých

antigenů. V prvním případě může být peptid nebo protein podán DC přímo nebo může být jeho exprese vyvolána transfekcí dendritických buněk RNA nebo DNA, která kóduje daný protein nebo peptid. Nukleová kyselina kódující nádorový antigen může být do buňky vpravena také pomocí virových vektorů (Osada et al. 2006). Postupem testovaným pouze na myších modelech je doručení antigenu v komplexu s protilátkou třídy IgG (Kalergis a Ravetch 2002; Schuurhuis et al. 2006). Pohlcení a prezentace peptidu může být podpořeno jeho navázáním na molekulu vážící se na C-lektinový receptor CD205 (Bozzacco et al. 2007) nebo DC-SIGN (Tacke et al. 2005), jako varianta se nabízí také navázání peptidu na ligand TLR (Khan et al. 2007). V případě použití nádorových buněk jako zdroje antigenů je možné využít buněčné lyzáty, nekrotické nebo apoptotické nádorové buňky (Osada et al. 2006). Některé postupy je možno využít pouze in vitro, jiné in vitro i in vivo.

U obou postupů je třeba zajistit, aby bylo dosaženo fenotypické i funkční maturace DC. Proto je velmi důležitým faktorem ovlivňujícím účinnost vakcíny volba maturačního činidla. Využívány jsou ligandy TLR receptorů nebo různé směsi cytokinů. Jako zlatý standard je používána kombinace IL-1 $\beta$ , TNF, IL-6, PGE-2 (Jonuleit et al. 1997), přičemž přítomnost PGE-2 je poněkud problematická. DC maturované bez přítomnosti PGE-2 nejsou schopny exprimovat chemokinový receptor CCR7, který je nezbytný pro migraci DC do sekundárních lymfatických orgánů (Luft et al. 2002). Na druhou stranu PGE-2 snižuje produkci IL-12 v DC (Jongmans et al. 2005). TLR ligandy se jeví jako vhodnější maturační činidla vzhledem jejich schopnosti indukovat plnou fenotypickou i funkční maturaci DC. LPS jako látka s extrémním účinkem na imunitní systém je k použití ve imunoterapeutických vakcínách vhodná jen za určitých okolností. V případě použití imunokomplexů není nutná další stimulace DC, protože DC jsou aktivovány prostřednictvím svých Fc receptorů, které reagují s imunokomplexy (Schuurhuis et al. 2006).

Účinnost protinádorové vakcíny může být ovlivněna také způsobem podání, počtem podaných buněk nebo frekvencí a počtem opakování (Osada et al. 2006). Dosud nebyl stanoven postup, který by vedl k optimálnímu výsledku a protokoly jednotlivých laboratoří se velmi liší – například dávka podávaných DC se pohybuje mezi 1-200 miliony DC. Optimalizace postupu přípravy protinádorové vakcíny je předmětem studia mnoha pracovišť.

Jak ukazují metaanalýzy provedených studií, samotná imunoterapie DC má nejvyšší účinnost mezi imunoterapeutickými postupy – cca 12%. Přesto je to vcelku nízká účinnost vyplývající z celé řady důvodů (aplikace v pokročilých stádiích onemocnění, různé výrobní postupy aj.). Vzhledem ke komplexním mechanismům protinádorové imunity se novější postupy zaměřují nejen na aplikaci samotné vakcíny z DC, ale kombinují se postupy vedoucí



např. k redukcí Treg ev. jiné doplňkové postupy (Stagg et al. 2007). Jako nadějná se jeví kombinace s chemoterapií, přičemž se využívá indukce imunogenní smrti nádorových buněk pomocí chemoterapie (Spisek et al. 2007; Zitvogel et al. 2008).

Je zřejmé, že díky své roli v imunitním systému jsou DC nástrojem, který může být využit k léčbě řady onemocnění. Na druhou stranu je třeba stále obezřetnosti vzhledem k možnosti indukovat zcela odlišné typy reakce.

## 6 Cíle práce

V teoretické části této práce jsou shrnuty současné poznatky o dendritických buňkách a jejich funkci v imunitním systému. Jsou zde popsány signály vedoucí k maturaci DC, změny vyvolané maturací DC a následné ovlivnění aktivity T lymfocytů s cílem zdůraznit důležitost každého kroku v rozvoji adekvátní imunitní reakce. Je zřejmé, že porušení funkce dendritických buněk může přispívat k patogenezi některých onemocnění, stejně tak jako může být funkce DC některými patologickými stavy ovlivněna.

Cílem této práce bylo rozšířit poznatky o roli dendritických buněk v patogenezi některých onemocnění, zhodnotit možnosti ovlivnění DC s cílem normalizovat jejich porušenou funkci a případně je využít k terapii základního onemocnění. Konkrétně je řešena problematika shrnuta do tří bodů:

### **Sledování funkce dendritických buněk u pacientů Brutonovou agamaglobulinémií**

Pacienti s Brutonovou agamaglobulinémií trpí i přes substituční léčbu imunoglobuliny velmi závažnými virovými infekcemi postihujícími zejména centrální nervový systém. V nedávné době byla popsána asociace Brutonovy tyrosin kinázy, jejíž mutace je příčinou onemocnění, s proteiny signalizační kaskády TLR receptorů. Cílem naší práce bylo stanovit, zda je u pacientů ovlivněna funkce DC. Porušená schopnost DC maturovat v odpovědi na patogenní stimulaci by mohla být příčinou výše zmíněných závažných komplikací.

### **Zhodnocení vlivu kalcitriolu a jeho analogu na dendritické buňky**

Kalcitriol (1,25 dihydroxycholecalciferol), aktivní forma vitamínu D, je látkou s prokázanými imunoregulačními vlastnostmi. Hypovitaminóza, která je velmi často důsledkem chronického ledvinového selhání z důvodů poruchy  $1\alpha$ -hydroxylace cholecalciferolu v ledvinách, výrazně ovlivňuje také funkci DC. Použití aktivní formy vitamínu D v substituční terapii je omezeno kvůli jeho hyperkalcemickému efektu. Paricalcitol, analog kalcitriolu, vykazuje podstatně nižší hyperkalcemický efekt a pacienti léčení tímto analogem mají nižší riziko kardiovaskulárních komplikací. Abychom potvrdili vhodnost terapie paricalcitem také z hlediska účinků na imunitní systém, porovnali jsme účinek kalcitriolu a jeho analogu paricalcitolu na dendritické buňky.

### **Možnost přípravy protinádorové vakcíny pro pacientky s karcinomem ovaria**

Příprava vakcíny z dendritických buněk se jeví jako možný terapeutický postup některých nádorových onemocnění. Dendritickým buňkám je předložen nádorový antigen a buňky jsou následně maturovány. Cílem naší práce bylo zhodnotit vlastnosti dendritických buněk připravených kultivací s apoptotickými nádorovými buňkami a maturovaných ligandem

TLR3. Byl sledován maturační stav DC a jejich schopnost indukovat antigen specifickou protinádorovou odpověď. Jednalo se o první krok vývoje protinádorové vakcíny, jehož cílem byla optimalizace parametrů spojených s podáváním antigenu a maturací DC.

## **7 Výsledky a diskuze**

Výsledky této práce byly shrnuty do tří publikací otištěných v zahraničních impaktovaných časopisech. Použitá metodika i konkrétní výsledky práce jsou vždy popsány v samotné práci, ke každé publikaci je připojen krátký komentář, který diskutuje dosažené výsledky a význam práce.

## **7.1 Snížená schopnost dendritických buněk pacientů s X-vázanou agamaglobulinémií produkovat IL-6 a TNF- $\alpha$ po stimulaci TLR8**

Brutonova tyrosin kináza je klíčovým proteinem ve vývoji B lymfocytů. Mutace v genu kódujícím tento protein je příčinou X-vázané agamaglobulinémie (XLA), která je charakterizována absencí B lymfocytů v periferní krvi a z toho vyplývající hypogamaglobulinémií. Pacienti jsou po celý život odkázáni na substituční léčbu imunoglobulinovými preparáty. Přes tuto léčbu jsou ohroženi závažnými virovými infekcemi.

Kromě B lymfocytů je btk exprimována také v myeloidních buňkách. V nedávné době byly publikovány práce, které prokázaly, že btk je asociována s některými proteiny signalizační kaskády TLR. Proto jsme se rozhodli sledovat vliv mutace btk na signalizaci přes TLR v myeloidních dendritických buňkách. Zaměřili jsme se na vlastnosti DC, které se výrazně mění během maturace DC vyvolané stimulací TLR ligandy. Jednalo se o sledování fenotypických charakteristik, endocytární aktivity, produkce cytokinů a schopnosti indukovat proliferaci alogenních lymfocytů. Vzhledem k existenci prací poukazujících na možnou roli btk v diferenciaci DC jsme zhodnotili také počty dendritických buněk v periferní krvi pacientů a spektrum TLR exprimovaných myeloidními DC.

Prokázali jsme, že pacienti s XLA mají v periferní krvi normální počet myeloidních i plasmacytoidních DC. Také exprese TLR byla v myeloidních dendritických buňkách pacientů shodná jako v myeloidních DC zdravých kontrol. Vliv btk na diferenciaci dendritických buněk jsme v naší práci nepotvrdili. Po stimulaci většinou TLR ligandů jsme prokázali u DC pacientů shodné maturační charakteristiky jako u dendritických buněk zdravých kontrol. V případě stimulace TLR8 analogem virové RNA jsme však našli výrazný defekt v produkci cytokinů IL-6 a TNF $\alpha$  u pacientů s XLA. Použití specifického inhibitoru btk potvrdilo, že tento defekt v produkci IL-6 a TNF $\alpha$  je opravdu důsledkem nefunkčnosti btk.

V naší práci jsme potvrdili roli btk v TLR signalizaci a popsali dosud neznámé důsledky deficitu btk na signalizaci přes TLR8. Před námi se vlivem deficitu btk na funkci buněk zabývalo několik vědeckých skupin, většinou se však jejich pozornost zaměřovala na jiné populace myeloidních buněk (monocyty, makrofágy). S myeloidními DC byla provedena pouze jediná studie, při níž byl však ke stimulaci DC použit pouze LPS a žádný defekt v TLR signalizaci zaznamenán nebyl. Závěry této studie potvrdila i naše práce. Vzhledem k tomu, že jsme použili širší spektrum TLR ligandů, bylo možno sledovat vliv deficitu btk na signalizační dráhy několika TLR. V případě stimulace TLR8 byla u pacientů s XLA zaznamenána výrazně snížená produkce IL-6 a TNF $\alpha$ . Zajímavým faktem je, že závažné

virové infekce postihující pacienty navzdory substituční léčbě jsou způsobeny enteroviry, za jejichž rozpoznání je zodpovědný TLR8. Námí objevená porucha v signalizaci přes TLR8 může být jednou z příčin vážných komplikací pacientů s X-vázanou agamaglobulinémií.

## **7.2 Paricalcitol (19-nor-1,25-dihydroxycholecalciferol) ak alcitriol (1,25-dihydroxycholecalciferol) mají imunomodulační vliv na dendritické buňky a inhibují vznik antigen specifických T lymfocytů**

Jak bylo uvedeno v kapitole 5.2.2, aktivní forma vitamínu D, kalcitriol, je nezbytná pro normální fungování imunitního systému. Dendritické buňky obsahují nitrobuněčný receptor pro kalcitriol, VDR. Dendritické buňky ovlivněné kalcitriolem mají tolerogenní charakter, je potlačena zejména indukce Th1 imunitní odpovědi. Deficitem kalcitriolu jsou výrazně ohroženi zejména pacienti trpící chronickým selháním ledvin. Substituční léčba podávaná těmto pacientům má korigovat sekundární hyperparatyreoidismus a renální osteodystrofii. Ukazuje se však, že substituční léčba může být přínosem také svým působením na buňky imunitního systému. Pro své imunomodulační účinky by terapie kalcitriolem mohla být přínosem také v léčbě některých autoimunitních chorob. Problémem podávání kalcitriolu je však jeho výrazný hyperkalcemický efekt, který může vést až ke kalcifikacím vnitřních orgánů a ovlivnění kardiovaskulární morbidity a mortality. Novější preparáty – analoga kalcitriolu - mají redukováný hyperkalcemický efekt se zachovanou schopností vázat se na VDR, avšak jejich účinek na imunitní systém nebyl dosud popsán.

V naší práci jsme porovnali účinek kalcitriolu a jeho analogu paricalcitolu (aktivátory VDR) na funkční a morfologické vlastnosti DC. Dendritické buňky derivované z krevních monocytů byly vystaveny *in vitro* působení kalcitriolu nebo paricalcitolu a následně maturovány pomocí lipopolysacharidu. Následně byly sledovány jejich fenotypové charakteristiky, produkce IL-12, schopnost indukovat antigenně specifickou imunitní odpověď a schopnost indukovat vznik FOXP3+ regulačních T lymfocytů.

V naší práci jsme potvrdili imunomodulační vliv kalcitriolu na DC – ošetřené DC exprimovaly podstatně méně kostimulačních molekul a MHC II.třídy a produkovaly méně IL-12 než kontrolní DC. Podobný efekt jsme zaznamenali také u paricalcitolu. Sledovali jsme také vliv obou léčiv na expresi PDL na povrchu DC, protože tyto molekuly hrají zřejmě roli v indukci periferní tolerance. Zatímco exprese PDL-1 nebyla použitými léčivy ovlivněna, exprese PD-L2 byla snížena. Vliv kalcitriolu a jeho analogů na indukci antigen specifické imunitní odpovědi nebyl dosud sledován. Zjistili jsme, že kalcitriol i paricalcitol výrazně snižují schopnost DC indukovat proliferaci antigenně specifických T lymfocytů produkujících IFN $\gamma$ . Další sledovanou vlastností ovlivněných DC byla schopnost indukovat vznik FOXP3+ regulačních T lymfocytů po stimulaci definovanými antigeny. Přes schopnost inhibice vzniku antigenně specifických T lymfocytů nebyla v porovnání s kontrolami snížena frekvence T

regulačních lymfocytů, což může svědčit o schopnost aktivátorů VDR inhibovat vznik specifické imunitní reakce při zachování indukce regulačních buněk.

Získané výsledky dokumentují, že efekt kalcitriolu a paricalcitolu na imunitní systém je totožný. Potvrzení toho, že také paricalcitol je schopen inhibovat Th1 imunitní odpověď, otevírá možnosti jeho použití v léčbě některých autoimunitních onemocnění, protože na rozdíl od kalcitriolu má tento lék velmi redukováný hyperkalcemický efekt.



### ***7.3 In vitro zhodnocení vlastností DC pulsovaných apoptotickými nádorovými buňkami s ohledem na jejich použití jako protinádorové vakcíny***

Imunoterapie dendritickými buňkami představuje jeden z nadějných postupů, který by mohl být vhodným doplněním klasických forem léčby. O tom, jak účinný bude tento postup, rozhoduje mnoho faktorů. V přípravě protinádorové vakcíny jsou to zejména zdroj a forma nádorových antigenů, které jsou dendritickým buňkám předkládány, a činidlo, které je využito k maturaci DC.

V naší práci jsme se zaměřili na zhodnocení vlastností DC pulsovaných apoptotickými nádorovými buňkami a maturovaných pomocí poly(I:C), analogu virové RNA. Sledovali jsme fenotyp dendritických buněk a spektrum produkovaných cytokinů. Schopnost dendritických buněk vyvolat antigen specifickou protinádorovou odpověď byla zhodnocena kvantifikací IFN $\gamma$  produkujících T lymfocytů pomocí metody ELISPOT.

V naší práci jsme prokázali, že více jak 30% dendritických buněk, jimž byl předložen nádorový antigen, tento antigen pohltilo, avšak apoptotické buňky samy o sobě neindukovaly maturaci DC. Pomocí maturačního činidla poly(I:C) bylo dosaženo maturace DC – byla zvýšena exprese kostimulačních molekul, DC produkovaly TNF $\alpha$  a také IL-12p70, i když v menším množství než DC, které nebyly pulzovány nádorovými buňkami. Proliferace antigen specifických lymfocytů bylo dosaženo u většiny pacientek.

Prokázali jsme, že zvolený postup přípravy protinádorové vakcíny vede k vzniku maturovaných dendritických buněk, které jsou schopny indukovat proliferaci antigen specifických T lymfocytů produkujících IFN $\gamma$ .

Výsledky této práce položily základ dalším optimalizačním pokusům prováděným na Ústavu imunologie UK 2.LF a FN Motol. Dlouhodobým cílem našeho pracoviště je příprava protinádorové vakcíny pro pacientky s karcinomem ovaria za podmínek správné výrobní praxe.

## 8 Závěr

V současné době je již jednoznačně potvrzena významná role dendritických buněk v imunologických reakcích. Na jednu stranu hrají tyto buňky roli v imunitní odpovědi zaměřené proti patogenům či nádorovým buňkám, na druhou stranu mají schopnost indukovat toleranci vůči některým antigenům. Je zřejmé, že porušení funkce dendritických buněk může mít pro organismus fatální následky. Nedostatečná aktivace dendritických buněk může přispívat k rozvoji nádorových onemocnění nebo se podílet na zvýšené náchylnosti organismu k infekčním onemocněním. Naopak přílišná aktivace dendritických buněk může být příčinou autoimunitního onemocnění. Odlišným případem je situace, kdy je funkce dendritických buněk ovlivněna sekundárně, a to v důsledku onemocnění, která poruší vnitřní rovnováhu organismu.

Studium dendritických buněk, jejich role a ovlivnění v průběhu patologických stavů bylo hlavním předmětem této disertační práce. Závěry práce lze rozdělit do tří částí:

V první části byla zhodnocena funkce dendritických buněk u pacientů s deficitem Brutonovy tyrosin kinázy. In vivo jsme sledovali vliv deficitu na zastoupení populací DC v periferní krvi. In vitro jsme sledovali schopnost nezralých DC maturovat po aktivaci různými agonisty TLR ligandů. V naší práci jsme potvrdili roli btk v TLR signalizaci a popsali dosud neznámé důsledky deficitu btk na signalizaci přes TLR8. Po stimulaci dendritických buněk s deficitem btk analogem virové RNA (TLR8) je výrazně snížena produkce cytokinů IL-6 a TNF $\alpha$ . Tato porucha v signalizaci přes TLR8 může být jednou z příčin vážných infekčních komplikací pacientů s deficitem btk.

Druhou částí práce bylo porovnání účinku kalcitriolu a jeho analogu paricalcitolu (aktivátory VDR) na funkční a morfologické vlastnosti DC. Prokázali jsme, že syntetický analog kalcitriolu paricalcitol má na dendritické buňky stejný vliv jako přirozený kalcitriol – inhibuje jejich maturaci. Obě léčiva zároveň výrazně potlačovala vznik antigen specifických lymfocytů. Potvrzení toho, že také paricalcitol je schopen inhibovat Th1 imunitní odpověď, otevírá možnosti jeho použití v léčbě některých autoimunitních onemocnění, protože na rozdíl od kalcitriolu má tento lék velmi redukováný hyperkalcemický efekt.

Náplní třetí části práce bylo navržení postupu, jehož výsledkem je ovlivnění funkčních vlastností dendritických buněk tak, že jsou schopny indukovat antigen specifickou imunitní reakci zaměřenou proti nádorovým buňkám. Nezralým dendritickým buňkám byl předložen antigen ve formě apoptotických nádorových buněk a následně byly DC maturovány pomocí ligandu TLR3. Výsledky této práce položily základ dalším optimalizačním pokusům

prováděným na Ústavu imunologie UK 2.LF a FN Motol. Dlouhodobým cílem našeho pracoviště je příprava protinádorové vakcíny pro pacientky s karcinomem ovaria za podmínek správné výrobní praxe.

## 9 Seznam citované literatury

- Abdi, K., N. Singh and P. Matzinger (2006). T-cell control of IL-12p75 production. *Scand J Immunol* 64(2): 83-92.
- Acosta-Rodriguez, E. V., G. Napolitani, A. Lanzavecchia and F. Sallusto (2007). Interleukins 1beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells. *Nat Immunol* 8(9): 942-9.
- Adorini, L. (2002). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 analogs as potential therapies in transplantation. *Curr Opin Investig Drugs* 3(10): 1458-63.
- Adorini, L. (2005). Intervention in autoimmunity: the potential of vitamin D receptor agonists. *Cell Immunol* 233(2): 115-24.
- Ahmad-Nejad, P., H. Hacker, M. Rutz, S. Bauer, R. M. Vabulas and H. Wagner (2002). Bacterial CpG-DNA and lipopolysaccharides activate Toll-like receptors at distinct cellular compartments. *Eur J Immunol* 32(7): 1958-68.
- Akira, S. and K. Takeda (2004). Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol* 4(7): 499-511.
- Al-Alwan, M. M., R. S. Liwski, S. M. Haeryfar, W. H. Baldrige, D. W. Hoskin, G. Rowden and K. A. West (2003). Cutting edge: dendritic cell actin cytoskeletal polarization during immunological synapse formation is highly antigen-dependent. *J Immunol* 171(9): 4479-83.
- Banerjee, D. K., M. V. Dhodapkar, E. Matayeva, R. M. Steinman and K. M. Dhodapkar (2006). Expansion of FOXP3<sup>high</sup> regulatory T cells by human dendritic cells (DCs) in vitro and after injection of cytokine-matured DCs in myeloma patients. *Blood* 108(8): 2655-61.
- Banchereau, J., F. Briere, C. Caux, J. Davoust, S. Lebecque, Y. J. Liu, B. Pulendran and K. Palucka (2000). Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol* 18: 767-811.
- Banchereau, J. and R. M. Steinman (1998). Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 392(6673): 245-52.

- Banki, Z., L. Kacani, B. Mullauer, D. Wilflingseder, G. Obermoser, H. Niederegger, H. Schennach, G. M. Sprinzl, N. Sepp, A. Erdei, M. P. Dierich and H. Stoiber (2003). Cross-linking of CD32 induces maturation of human monocyte-derived dendritic cells via NF-kappa B signaling pathway. *J Immunol* 170(8): 3963-70.
- Baranova, I. N., R. Kurlander, A. V. Bocharov, T. G. Vishnyakova, Z. Chen, A. T. Remaley, G. Csako, A. P. Patterson and T. L. Eggerman (2008). Role of human CD36 in bacterial recognition, phagocytosis, and pathogen-induced JNK-mediated signaling. *J Immunol* 181(10): 7147-56.
- Barton, G. M., J. C. Kagan and R. Medzhitov (2006). Intracellular localization of Toll-like receptor 9 prevents recognition of self DNA but facilitates access to viral DNA. *Nat Immunol* 7(1): 49-56.
- Bayry, J., S. Lacroix-Desmazes, M. D. Kazatchkine, L. Galicier, Y. Lepelletier, D. Webster, Y. Levy, M. M. Eibl, E. Oksenhendler, O. Hermine and S. V. Kaveri (2004). Common variable immunodeficiency is associated with defective functions of dendritic cells. *Blood* 104(8): 2441-3.
- Beg, A. A. (2002). Endogenous ligands of Toll-like receptors: implications for regulating inflammatory and immune responses. *Trends Immunol* 23(11): 509-12.
- Belardelli, F. and M. Ferrantini (2002). Cytokines as a link between innate and adaptive antitumor immunity. *Trends Immunol* 23(4): 201-8.
- Benko, S., Z. Magyarics, A. Szabo and E. Rajnavolgyi (2008). Dendritic cell subtypes as primary targets of vaccines: the emerging role and cross-talk of pattern recognition receptors. *Biol Chem* 389(5): 469-85.
- Benvenuti, F., C. Lagaudriere-Gesbert, I. Grandjean, C. Jancic, C. Hivroz, A. Trautmann, O. Lantz and S. Amigorena (2004). Dendritic cell maturation controls adhesion, synapse formation, and the duration of the interactions with naive T lymphocytes. *J Immunol* 172(1): 292-301.
- Beral, V. and R. Newton (1998). Overview of the epidemiology of immunodeficiency-associated cancers. *J Natl Cancer Inst Monogr*(23): 1-6.
- Bettelli, E., Y. Carrier, W. Gao, T. Korn, T. B. Strom, M. Oukka, H. L. Weiner and V. K. Kuchroo (2006). Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 441(7090): 235-8.

- Binder, R. J., D. K. Han and P. K. Srivastava (2000). CD91: a receptor for heat shock protein gp96. *Nat Immunol* 1(2): 151-5.
- Blanco, P., A. K. Palucka, V. Pascual and J. Banchereau (2008). Dendritic cells and cytokines in human inflammatory and autoimmune diseases. *Cytokine Growth Factor Rev* 19(1): 41-52.
- Blander, J. M. and R. Medzhitov (2006). Toll-dependent selection of microbial antigens for presentation by dendritic cells. *Nature* 440(7085): 808-12.
- Boasso, A., J. P. Herbeuval, A. W. Hardy, C. Winkler and G. M. Shearer (2005). Regulation of indoleamine 2,3-dioxygenase and tryptophanyl-tRNA-synthetase by CTLA-4-Fc in human CD4+ T cells. *Blood* 105(4): 1574-81.
- Bonasio, R., M. L. Scimone, P. Schaerli, N. Grabie, A. H. Lichtman and U. H. von Andrian (2006). Clonal deletion of thymocytes by circulating dendritic cells homing to the thymus. *Nat Immunol* 7(10): 1092-100.
- Boruchov, A. M., G. Heller, M. C. Veri, E. Bonvini, J. V. Ravetch and J. W. Young (2005). Activating and inhibitory IgG Fc receptors on human DCs mediate opposing functions. *J Clin Invest* 115(10): 2914-23.
- Bosma, B. M., H. J. Metselaar, N. M. Nagtzaam, R. de Haan, S. Mancham, L. J. van der Laan, E. J. Kuipers and J. Kwekkeboom (2008). Dexamethasone transforms lipopolysaccharide-stimulated human blood myeloid dendritic cells into myeloid dendritic cells that prime interleukin-10 production in T cells. *Immunology* 125(1): 91-100.
- Bouma, G., S. Burns and A. J. Thrasher (2007). Impaired T-cell priming in vivo resulting from dysfunction of WASp-deficient dendritic cells. *Blood* 110(13): 4278-84.
- Boyden, E. D. and W. F. Dietrich (2006). Nalp1b controls mouse macrophage susceptibility to anthrax lethal toxin. *Nat Genet* 38(2): 240-4.
- Bozzacco, L., C. Trumpfheller, F. P. Siegal, S. Mehandru, M. Markowitz, M. Carrington, M. C. Nussenzweig, A. G. Piperno and R. M. Steinman (2007). DEC-205 receptor on dendritic cells mediates presentation of HIV gag protein to CD8+ T cells in a spectrum of human MHC I haplotypes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(4): 1289-94.

- Britschgi, M. R., A. Link, T. K. Lissandrin and S. A. Luther (2008). Dynamic modulation of CCR7 expression and function on naive T lymphocytes in vivo. *J Immunol* 181(11): 7681-8.
- Bros, M., X. L. Ross, A. Pautz, A. B. Reske-Kunz and R. Ross (2003). The human fascin gene promoter is highly active in mature dendritic cells due to a stage-specific enhancer. *J Immunol* 171(4): 1825-34.
- Brusa, D., S. Garetto, G. Chiorino, M. Scatolini, E. Migliore, G. Camussi and L. Matera (2008). Post-apoptotic tumors are more palatable to dendritic cells and enhance their antigen cross-presentation activity. *Vaccine* 26(50): 6422-32.
- Bugeon, L., L. M. Gardner, A. Rose, M. Gentle and M. J. Dallman (2008). Cutting Edge: notch signaling Induces a distinct cytokine profile in dendritic cells that supports T cell-mediated regulation and IL-2-dependent IL-17 production. *J Immunol* 181(12): 8189-93.
- Burnet, F. M. (1970). The concept of immunological surveillance. *Prog Exp Tumor Res* 13: 1-27.
- Butte, M. J., M. E. Keir, T. B. Phamduy, A. H. Sharpe and G. J. Freeman (2007). Programmed death-1 ligand 1 interacts specifically with the B7-1 costimulatory molecule to inhibit T cell responses. *Immunity* 27(1): 111-22.
- Calle, Y., H. C. Chou, A. J. Thrasher and G. E. Jones (2004). Wiskott-Aldrich syndrome protein and the cytoskeletal dynamics of dendritic cells. *J Pathol* 204(4): 460-9.
- Campbell, D. J., T. Serwold and N. Shastri (2000). Bacterial proteins can be processed by macrophages in a transporter associated with antigen processing-independent, cysteine protease-dependent manner for presentation by MHC class I molecules. *J Immunol* 164(1): 168-75.
- Campi, G., R. Varma and M. L. Dustin (2005). Actin and agonist MHC-peptide complex-dependent T cell receptor microclusters as scaffolds for signaling. *J Exp Med* 202(8): 1031-6.
- Casanova, J. L. and L. Abel (2005). Inborn errors of immunity to infection: the rule rather than the exception. *J Exp Med* 202(2): 197-201.
- Casanova, J. L. and L. Abel (2007). Primary immunodeficiencies: a field in its infancy. *Science* 317(5838): 617-9.

- Caux, C., B. Vanbervliet, C. Massacrier, I. Durand and J. Banchereau (1996). Interleukin-3 cooperates with tumor necrosis factor alpha for the development of human dendritic/Langerhans cells from cord blood CD34+ hematopoietic progenitor cells. *Blood* 87(6): 2376-85.
- Cella, M., A. Engering, V. Pinet, J. Pieters and A. Lanzavecchia (1997). Inflammatory stimuli induce accumulation of MHC class II complexes on dendritic cells. *Nature* 388(6644): 782-7.
- Colonna, M., G. Trinchieri and Y. J. Liu (2004). Plasmacytoid dendritic cells in immunity. *Nat Immunol* 5(12): 1219-26.
- Cools, N., P. Ponsaerts, V. F. Van Tendeloo and Z. N. Berneman (2007). Balancing between immunity and tolerance: an interplay between dendritic cells, regulatory T cells, and effector T cells. *J Leukoc Biol* 82(6): 1365-74.
- Corthay, A. (2006). A three-cell model for activation of naive T helper cells. *Scand J Immunol* 64(2): 93-6.
- Cunningham-Rundles, C. and L. Radigan (2005). Deficient IL-12 and dendritic cell function in common variable immune deficiency. *Clin Immunol* 115(2): 147-53.
- Cunningham-Rundles, C., L. Radigan, A. K. Knight, L. Zhang, L. Bauer and A. Nakazawa (2006). TLR9 activation is defective in common variable immune deficiency. *J Immunol* 176(3): 1978-87.
- Curtis, M. M. and S. S. Way (2009). Interleukin-17 in host defence against bacterial, mycobacterial and fungal pathogens. *Immunology* 126(2): 177-85.
- De Becker, G., V. Moulin, F. Tielemans, F. De Mattia, J. Urbain, O. Leo and M. Moser (1998). Regulation of T helper cell differentiation in vivo by soluble and membrane proteins provided by antigen-presenting cells. *Eur J Immunol* 28(10): 3161-71.
- De Gassart, A., V. Camosseto, J. Thibodeau, M. Ceppi, N. Catalan, P. Pierre and E. Gatti (2008). MHC class II stabilization at the surface of human dendritic cells is the result of maturation-dependent MARCH I down-regulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105(9): 3491-3496.



- de Noronha, S., S. Hardy, J. Sinclair, M. P. Blundell, J. Strid, O. Schulz, J. Zwirner, G. E. Jones, D. R. Katz, C. Kinnon and A. J. Thrasher (2005). Impaired dendritic-cell homing in vivo in the absence of Wiskott-Aldrich syndrome protein. *Blood* 105(4): 1590-7.
- Delneste, Y., G. Magistrelli, J. Gauchat, J. Haeuw, J. Aubry, K. Nakamura, N. Kawakami-Honda, L. Goetsch, T. Sawamura, J. Bonnefoy and P. Jeannin (2002). Involvement of LOX-1 in dendritic cell-mediated antigen cross-presentation. *Immunity* 17(3): 353-62.
- Dhodapkar, K. M., J. L. Kaufman, M. Ehlers, D. K. Banerjee, E. Bonvini, S. Koenig, R. M. Steinman, J. V. Ravetch and M. V. Dhodapkar (2005). Selective blockade of inhibitory Fc $\gamma$  receptor enables human dendritic cell maturation with IL-12p70 production and immunity to antibody-coated tumor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(8): 2910-5.
- Dhodapkar, M. V., K. M. Dhodapkar and A. K. Palucka (2008). Interactions of tumor cells with dendritic cells: balancing immunity and tolerance. *Cell Death Differ* 15(1): 39-50.
- Diehl, S. and M. Rincon (2002). The two faces of IL-6 on Th1/Th2 differentiation. *Mol Immunol* 39(9): 531-6.
- Dieu, M. C., B. Vanbervliet, A. Vicari, J. M. Bridon, E. Oldham, S. Ait-Yahia, F. Briere, A. Zlotnik, S. Lebecque and C. Caux (1998). Selective recruitment of immature and mature dendritic cells by distinct chemokines expressed in different anatomic sites. *J Exp Med* 188(2): 373-86.
- Dong, H., S. E. Strome, D. R. Salomao, H. Tamura, F. Hirano, D. B. Flies, P. C. Roche, J. Lu, G. Zhu, K. Tamada, V. A. Lennon, E. Celis and L. Chen (2002). Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med* 8(8): 793-800.
- Doyle, S. L., C. A. Jefferies and L. A. O'Neill (2005). Bruton's tyrosine kinase is involved in p65-mediated transactivation and phosphorylation of p65 on serine 536 during NF $\kappa$ B activation by lipopolysaccharide. *J Biol Chem* 280(25): 23496-501.
- Dunn, G. P., A. T. Bruce, H. Ikeda, L. J. Old and R. D. Schreiber (2002). Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol* 3(11): 991-8.

- Dzionek, A., A. Fuchs, P. Schmidt, S. Cremer, M. Zysk, S. Miltenyi, D. W. Buck and J. Schmitz (2000). BDCA-2, BDCA-3, and BDCA-4: three markers for distinct subsets of dendritic cells in human peripheral blood. *J Immunol* 165(11): 6037-46.
- Elluru, S. R., J. Vani, S. Delignat, M. F. Bloch, S. Lacroix-Desmazes, M. D. Kazatchkine, S. V. Kaveri and J. Bayry (2008). Modulation of human dendritic cell maturation and function by natural IgG antibodies. *Autoimmun Rev* 7(6): 487-90.
- Facciponte, J. G., I. J. MacDonald, X. Y. Wang, H. Kim, M. H. Manjili and J. R. Subjeck (2005). Heat shock proteins and scavenger receptors: role in adaptive immune responses. *Immunol Invest* 34(3): 325-42.
- Fanger, N. A., K. Wardwell, L. Shen, T. F. Tedder and P. M. Guyre (1996). Type I (CD64) and type II (CD32) Fc gamma receptor-mediated phagocytosis by human blood dendritic cells. *J Immunol* 157(2): 541-8.
- Fedele, G., M. Nasso, F. Spensieri, R. Palazzo, L. Frasca, M. Watanabe and C. M. Ausiello (2008). Lipopolysaccharides from *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis* differently modulate human dendritic cell functions resulting in divergent prevalence of Th17-polarized responses. *J Immunol* 181(1): 208-16.
- Figdor, C. G., Y. van Kooyk and G. J. Adema (2002). C-type lectin receptors on dendritic cells and Langerhans cells. *Nat Rev Immunol* 2(2): 77-84.
- Fischer, K., P. Hoffmann, S. Voelkl, N. Meidenbauer, J. Ammer, M. Edinger, E. Gottfried, S. Schwarz, G. Rothe, S. Hoves, K. Renner, B. Timischl, A. Mackensen, L. Kunz-Schughart, R. Andreesen, S. W. Krause and M. Kreutz (2007). Inhibitory effect of tumor cell-derived lactic acid on human T cells. *Blood* 109(9): 3812-9.
- Fitzgerald, K. A., S. M. McWhirter, K. L. Faia, D. C. Rowe, E. Latz, D. T. Golenbock, A. J. Coyle, S. M. Liao and T. Maniatis (2003). IKKepsilon and TBK1 are essential components of the IRF3 signaling pathway. *Nat Immunol* 4(5): 491-6.
- Fontana, S., D. Moratto, S. Mangal, M. De Francesco, W. Vermi, S. Ferrari, F. Facchetti, N. Kutukculer, C. Fiorini, M. Duse, P. K. Das, L. D. Notarangelo, A. Plebani and R. Badolato (2003). Functional defects of dendritic cells in patients with CD40 deficiency. *Blood* 102(12): 4099-106.

- Gabrilovich, D. I., H. L. Chen, K. R. Girgis, H. T. Cunningham, G. M. Meny, S. Nadaf, D. Kavanaugh and D. P. Carbone (1996a). Production of vascular endothelial growth factor by human tumors inhibits the functional maturation of dendritic cells. *Nat Med* 2(10): 1096-103.
- Gabrilovich, D. I., S. Nadaf, J. Corak, J. A. Berzofsky and D. P. Carbone (1996b). Dendritic cells in antitumor immune responses. II. Dendritic cells grown from bone marrow precursors, but not mature DC from tumor-bearing mice, are effective antigen carriers in the therapy of established tumors. *Cell Immunol* 170(1): 111-9.
- Gallegos, A. M. and M. J. Bevan (2004). Central tolerance to tissue-specific antigens mediated by direct and indirect antigen presentation. *J Exp Med* 200(8): 1039-49.
- Gantner, B. N., R. M. Simmons, S. J. Canavera, S. Akira and D. M. Underhill (2003). Collaborative induction of inflammatory responses by dectin-1 and Toll-like receptor 2. *J Exp Med* 197(9): 1107-17.
- Geijtenbeek, T. B., R. Torensma, S. J. van Vliet, G. C. van Duijnhoven, G. J. Adema, Y. van Kooyk and C. G. Figdor (2000). Identification of DC-SIGN, a novel dendritic cell-specific ICAM-3 receptor that supports primary immune responses. *Cell* 100(5): 575-85.
- Giovarelli, M., P. Musiani, G. Garotta, R. Ebner, E. Di Carlo, Y. Kim, P. Cappello, L. Rigamonti, P. Bernabei, F. Novelli, A. Modesti, A. Coletti, A. K. Ferrie, P. L. Lollini, S. Ruben, T. Salcedo and G. Forni (1999). A "stealth effect": adenocarcinoma cells engineered to express TRAIL elude tumor-specific and allogeneic T cell reactions. *J Immunol* 163(9): 4886-93.
- Goldschneider, I. and R. E. Cone (2003). A central role for peripheral dendritic cells in the induction of acquired thymic tolerance. *Trends Immunol* 24(2): 77-81.
- Gottfried, E., M. Kreutz and A. Mackensen (2008). Tumor-induced modulation of dendritic cell function. *Cytokine Growth Factor Rev* 19(1): 65-77.
- Granucci, F., S. Feau, V. Angeli, F. Trottein and P. Ricciardi-Castagnoli (2003). Early IL-2 production by mouse dendritic cells is the result of microbial-induced priming. *J Immunol* 170(10): 5075-81.

- Granucci, F., C. Vizzardelli, E. Virzi, M. Rescigno and P. Ricciardi-Castagnoli (2001). Transcriptional reprogramming of dendritic cells by differentiation stimuli. *Eur J Immunol* 31(9): 2539-46.
- Greenwald, R. J., G. J. Freeman and A. H. Sharpe (2005). The B7 family revisited. *Annu Rev Immunol* 23: 515-48.
- Groh, V., J. Wu, C. Yee and T. Spies (2002). Tumour-derived soluble MIC ligands impair expression of NKG2D and T-cell activation. *Nature* 419(6908): 734-8.
- Grohmann, U., C. Orabona, F. Fallarino, C. Vacca, F. Calcinaro, A. Falorni, P. Candeloro, M. L. Belladonna, R. Bianchi, M. C. Fioretti and P. Puccetti (2002). CTLA-4-Ig regulates tryptophan catabolism in vivo. *Nat Immunol* 3(11): 1097-101.
- Gross, O., A. Gewies, K. Finger, M. Schafer, T. Sparwasser, C. Peschel, I. Forster and J. Ruland (2006). Card9 controls a non-TLR signalling pathway for innate anti-fungal immunity. *Nature* 442(7103): 651-6.
- Grouard, G., M. C. Rissoan, L. Filgueira, I. Durand, J. Banchereau and Y. J. Liu (1997). The enigmatic plasmacytoid T cells develop into dendritic cells with interleukin (IL)-3 and CD40-ligand. *J Exp Med* 185(6): 1101-11.
- Guermontprez, P., J. Valladeau, L. Zitvogel, C. Thery and S. Amigorena (2002). Antigen presentation and T cell stimulation by dendritic cells. *Annu Rev Immunol* 20: 621-67.
- Gutcher, I. and B. Becher (2007). APC-derived cytokines and T cell polarization in autoimmune inflammation. *J Clin Invest* 117(5): 1119-27.
- Hahne, M., D. Rimoldi, M. Schroter, P. Romero, M. Schreier, L. E. French, P. Schneider, T. Bornand, A. Fontana, D. Lienard, J. Cerottini and J. Tschopp (1996). Melanoma cell expression of Fas(Apo-1/CD95) ligand: implications for tumor immune escape. *Science* 274(5291): 1363-6.
- Harrington, L. E., R. D. Hatton, P. R. Mangan, H. Turner, T. L. Murphy, K. M. Murphy and C. T. Weaver (2005). Interleukin 17-producing CD4<sup>+</sup> effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol* 6(11): 1123-32.
- Hart, D. N. (1997). Dendritic cells: unique leukocyte populations which control the primary immune response. *Blood* 90(9): 3245-87.

- Heil, F., P. Ahmad-Nejad, H. Hemmi, H. Hochrein, F. Ampenberger, T. Gellert, H. Dietrich, G. Lipford, K. Takeda, S. Akira, H. Wagner and S. Bauer (2003). The Toll-like receptor 7 (TLR7)-specific stimulus loxoribine uncovers a strong relationship within the TLR7, 8 and 9 subfamily. *Eur J Immunol* 33(11): 2987-97.
- Hemmrich, G., D. J. Miller and T. C. Bosch (2007). The evolution of immunity: a low-life perspective. *Trends Immunol* 28(10): 449-54.
- Holick, M. F. (2004). Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 80(6 Suppl): 1678S-88S.
- Holick, M. F. (2005). Vitamin D for health and in chronic kidney disease. *Semin Dial* 18(4): 266-75.
- Hugot, J. P., M. Chamaillard, H. Zouali, S. Lesage, J. P. Cezard, J. Belaiche, S. Almer, C. Tysk, C. A. O'Morain, M. Gassull, V. Binder, Y. Finkel, A. Cortot, R. Modigliani, P. Laurent-Puig, C. Gower-Rousseau, J. Macry, J. F. Colombel, M. Sahbatou and G. Thomas (2001). Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 411(6837): 599-603.
- Hyponen, E., E. Laara, A. Reunanen, M. R. Jarvelin and S. M. Virtanen (2001). Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet* 358(9292): 1500-3.
- Chan, C. W., E. Crafton, H. N. Fan, J. Flook, K. Yoshimura, M. Skarica, D. Brockstedt, T. W. Dubensky, M. F. Stins, L. L. Lanier, D. M. Pardoll and F. Housseau (2006). Interferon-producing killer dendritic cells provide a link between innate and adaptive immunity. *Nat Med* 12(2): 207-13.
- Chang, C. C., R. Ciubotariu, J. S. Manavalan, J. Yuan, A. I. Colovai, F. Piazza, S. Lederman, M. Colonna, R. Cortesini, R. Dalla-Favera and N. Suci-Foca (2002). Tolerization of dendritic cells by T(S) cells: the crucial role of inhibitory receptors ILT3 and ILT4. *Nat Immunol* 3(3): 237-43.
- Idzko, M., H. Hammad, M. van Nimwegen, M. Kool, M. A. Willart, F. Muskens, H. C. Hoogsteden, W. Luttmann, D. Ferrari, F. Di Virgilio, J. C. Virchow, Jr. and B. N. Lambrecht (2007). Extracellular ATP triggers and maintains asthmatic airway inflammation by activating dendritic cells. *Nat Med* 13(8): 913-9.

- Iijima, N., Y. Yanagawa, J. M. Clingan and K. Onoe (2005). CCR7-mediated c-Jun N-terminal kinase activation regulates cell migration in mature dendritic cells. *Int Immunol* 17(9): 1201-12.
- Ikeda, H., K. Chamoto, T. Tsuji, Y. Suzuki, D. Wakita, T. Takeshima and T. Nishimura (2004). The critical role of type-1 innate and acquired immunity in tumor immunotherapy. *Cancer Sci* 95(9): 697-703.
- Inaba, K., J. P. Metlay, M. T. Crowley and R. M. Steinman (1990). Dendritic cells pulsed with protein antigens in vitro can prime antigen-specific, MHC-restricted T cells in situ. *J Exp Med* 172(2): 631-40.
- Inaba, K., M. Pack, M. Inaba, H. Sakuta, F. Isdell and R. M. Steinman (1997). High levels of a major histocompatibility complex II-self peptide complex on dendritic cells from the T cell areas of lymph nodes. *J Exp Med* 186(5): 665-72.
- Inaba, K., S. Turley, T. Iyoda, F. Yamaide, S. Shimoyama, C. Reis e Sousa, R. N. Germain, I. Mellman and R. M. Steinman (2000). The formation of immunogenic major histocompatibility complex class II-peptide ligands in lysosomal compartments of dendritic cells is regulated by inflammatory stimuli. *J Exp Med* 191(6): 927-36.
- Ito, T., M. Inaba, K. Inaba, J. Toki, S. Sogo, T. Iguchi, Y. Adachi, K. Yamaguchi, R. Amakawa, J. Valladeau, S. Saeland, S. Fukuhara and S. Ikehara (1999). A CD1a<sup>+</sup>/CD11c<sup>+</sup> subset of human blood dendritic cells is a direct precursor of Langerhans cells. *J Immunol* 163(3): 1409-19.
- Janeway, C. A., Jr. (1989). Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 54 Pt 1: 1-13.
- Janke, M., E. J. Witsch, H. W. Mages, A. Hutloff and R. A. Kroczeck (2006). Eminent role of ICOS costimulation for T cells interacting with plasmacytoid dendritic cells. *Immunology* 118(3): 353-60.
- Janssens, S. and R. Beyaert (2003). Role of Toll-like receptors in pathogen recognition. *Clin Microbiol Rev* 16(4): 637-46.
- Jarrossay, D., G. Napolitani, M. Colonna, F. Sallusto and A. Lanzavecchia (2001). Specialization and complementarity in microbial molecule recognition by human myeloid and plasmacytoid dendritic cells. *Eur J Immunol* 31(11): 3388-93.

- Jefferies, C. A., S. Doyle, C. Brunner, A. Dunne, E. Brint, C. Wietek, E. Walch, T. Wirth and L. A. O'Neill (2003). Bruton's tyrosine kinase is a Toll/interleukin-1 receptor domain-binding protein that participates in nuclear factor kappaB activation by Toll-like receptor 4. *J Biol Chem* 278(28): 26258-64.
- Jenkins, S. J., G. Perona-Wright, A. G. Worsley, N. Ishii and A. S. MacDonald (2007). Dendritic cell expression of OX40 ligand acts as a costimulatory, not polarizing, signal for optimal Th2 priming and memory induction in vivo. *J Immunol* 179(6): 3515-23.
- Jongmans, W., D. M. Tiemessen, I. J. van Vlodrop, P. F. Mulders and E. Oosterwijk (2005). Th1-polarizing capacity of clinical-grade dendritic cells is triggered by Ribomunyl but is compromised by PGE2: the importance of maturation cocktails. *J Immunother* 28(5): 480-7.
- Jonuleit, H., U. Kuhn, G. Muller, K. Steinbrink, L. Paragnik, E. Schmitt, J. Knop and A. H. Enk (1997). Pro-inflammatory cytokines and prostaglandins induce maturation of potent immunostimulatory dendritic cells under fetal calf serum-free conditions. *Eur J Immunol* 27(12): 3135-42.
- Jonuleit, H., E. Schmitt, G. Schuler, J. Knop and A. H. Enk (2000). Induction of interleukin 10-producing, nonproliferating CD4(+) T cells with regulatory properties by repetitive stimulation with allogeneic immature human dendritic cells. *J Exp Med* 192(9): 1213-22.
- Josien, R., B. R. Wong, H. L. Li, R. M. Steinman and Y. Choi (1999). TRANCE, a TNF family member, is differentially expressed on T cell subsets and induces cytokine production in dendritic cells. *J Immunol* 162(5): 2562-8.
- Judge, T. A., Z. Wu, X. G. Zheng, A. H. Sharpe, M. H. Sayegh and L. A. Turka (1999). The role of CD80, CD86, and CTLA4 in alloimmune responses and the induction of long-term allograft survival. *J Immunol* 162(4): 1947-51.
- Kalergis, A. M., N. Boucheron, M. A. Doucey, E. Palmieri, E. C. Goyarts, Z. Vegh, I. F. Luescher and S. G. Nathenson (2001). Efficient T cell activation requires an optimal dwell-time of interaction between the TCR and the pMHC complex. *Nat Immunol* 2(3): 229-34.

- Kalergis, A. M. and J. V. Ravetch (2002). Inducing tumor immunity through the selective engagement of activating Fcγ receptors on dendritic cells. *J Exp Med* 195(12): 1653-9.
- Kalinski, P., C. M. Hilkens, E. A. Wierenga and M. L. Kapsenberg (1999). T-cell priming by type-1 and type-2 polarized dendritic cells: the concept of a third signal. *Immunol Today* 20(12): 561-7.
- Kanneganti, T. D., M. Lamkanfi, Y. G. Kim, G. Chen, J. H. Park, L. Franchi, P. Vandenabeele and G. Nunez (2007). Pannexin-1-mediated recognition of bacterial molecules activates the cryopyrin inflammasome independent of Toll-like receptor signaling. *Immunity* 26(4): 433-43.
- Kanneganti, T. D., N. Ozoren, M. Body-Malapel, A. Amer, J. H. Park, L. Franchi, J. Whitfield, W. Barchet, M. Colonna, P. Vandenabeele, J. Bertin, A. Coyle, E. P. Grant, S. Akira and G. Nunez (2006). Bacterial RNA and small antiviral compounds activate caspase-1 through cryopyrin/Nalp3. *Nature* 440(7081): 233-6.
- Kato, H., S. Sato, M. Yoneyama, M. Yamamoto, S. Uematsu, K. Matsui, T. Tsujimura, K. Takeda, T. Fujita, O. Takeuchi and S. Akira (2005). Cell type-specific involvement of RIG-I in antiviral response. *Immunity* 23(1): 19-28.
- Kawai, T., S. Sato, K. J. Ishii, C. Coban, H. Hemmi, M. Yamamoto, K. Terai, M. Matsuda, J. Inoue, S. Uematsu, O. Takeuchi and S. Akira (2004). Interferon-α induction through Toll-like receptors involves a direct interaction of IRF7 with MyD88 and TRAF6. *Nat Immunol* 5(10): 1061-8.
- Khan, S., M. S. Bijker, J. J. Weterings, H. J. Tanke, G. J. Adema, T. van Hall, J. W. Drijfhout, C. J. Melief, H. S. Overkleeft, G. A. van der Marel, D. V. Filippov, S. H. van der Burg and F. Ossendorp (2007). Distinct uptake mechanisms but similar intracellular processing of two different toll-like receptor ligand-peptide conjugates in dendritic cells. *J Biol Chem* 282(29): 21145-59.
- Kleijmeer, M. J., J. M. Escola, F. G. UytdeHaag, E. Jakobson, J. M. Griffith, A. D. Osterhaus, W. Stoorvogel, C. J. Melief, C. Rabouille and H. J. Geuze (2001). Antigen loading of MHC class I molecules in the endocytic tract. *Traffic* 2(2): 124-37.



- Kobayashi, N., P. Karisola, V. Pena-Cruz, D. M. Dorfman, M. Jinushi, S. E. Umetsu, M. J. Butte, H. Nagumo, I. Chernova, B. Zhu, A. H. Sharpe, S. Ito, G. Dranoff, G. G. Kaplan, J. M. Casasnovas, D. T. Umetsu, R. H. Dekruyff and G. J. Freeman (2007). TIM-1 and TIM-4 glycoproteins bind phosphatidylserine and mediate uptake of apoptotic cells. *Immunity* 27(6): 927-40.
- Koch, F., U. Stanzl, P. Jennewein, K. Janke, C. Heufler, E. Kampgen, N. Romani and G. Schuler (1996). High level IL-12 production by murine dendritic cells: upregulation via MHC class II and CD40 molecules and downregulation by IL-4 and IL-10. *J Exp Med* 184(2): 741-6.
- Koulova, L., E. A. Clark, G. Shu and B. Dupont (1991). The CD28 ligand B7/BB1 provides costimulatory signal for alloactivation of CD4+ T cells. *J Exp Med* 173(3): 759-62.
- Koziczak-Holbro, M., C. Joyce, A. Gluck, B. Kinzel, M. Muller, C. Tschopp, J. C. Mathison, C. N. Davis and H. Gram (2007). IRAK-4 kinase activity is required for interleukin-1 (IL-1) receptor- and toll-like receptor 7-mediated signaling and gene expression. *J Biol Chem* 282(18): 13552-60.
- Krawczyk, C. M., J. Sun and E. J. Pearce (2008). Th2 differentiation is unaffected by Jagged2 expression on dendritic cells. *J Immunol* 180(12): 7931-7.
- Krishnamoorthy, N., T. B. Oriss, M. Paglia, M. Fei, M. Yarlagadda, B. Vanhaesebroeck, A. Ray and P. Ray (2008). Activation of c-Kit in dendritic cells regulates T helper cell differentiation and allergic asthma. *Nat Med* 14(5): 565-73.
- Ku, C. L., H. von Bernuth, C. Picard, S. Y. Zhang, H. H. Chang, K. Yang, M. Chrabieh, A. C. Issekutz, C. K. Cunningham, J. Gallin, S. M. Holland, C. Roifman, S. Ehl, J. Smart, M. Tang, F. J. Barrat, O. Levy, D. McDonald, N. K. Day-Good, R. Miller, H. Takada, T. Hara, S. Al-Hajjar, A. Al-Ghonaum, D. Speert, D. Sanlaville, X. Li, F. Geissmann, E. Vivier, L. Marodi, B. Z. Garty, H. Chapel, C. Rodriguez-Gallego, X. Bossuyt, L. Abel, A. Puel and J. L. Casanova (2007). Selective predisposition to bacterial infections in IRAK-4-deficient children: IRAK-4-dependent TLRs are otherwise redundant in protective immunity. *J Exp Med* 204(10): 2407-22.

- Ku, C. L., K. Yang, J. Bustamante, A. Puel, H. von Bernuth, O. F. Santos, T. Lawrence, H. H. Chang, H. Al-Mousa, C. Picard and J. L. Casanova (2005). Inherited disorders of human Toll-like receptor signaling: immunological implications. *Immunol Rev* 203: 10-20.
- Kuang, D. M., Q. Zhao, J. Xu, J. P. Yun, C. Wu and L. Zheng (2008). Tumor-educated tolerogenic dendritic cells induce CD3epsilon down-regulation and apoptosis of T cells through oxygen-dependent pathways. *J Immunol* 181(5): 3089-98.
- Kubin, M., M. Kamoun and G. Trinchieri (1994). Interleukin 12 synergizes with B7/CD28 interaction in inducing efficient proliferation and cytokine production of human T cells. *J Exp Med* 180(1): 211-22.
- Kuchroo, V. K., V. Dardalhon, S. Xiao and A. C. Anderson (2008). New roles for TIM family members in immune regulation. *Nat Rev Immunol* 8(8): 577-80.
- Kuipers, H., F. Muskens, M. Willart, D. Hijdra, F. B. van Assema, A. J. Coyle, H. C. Hoogsteden and B. N. Lambrecht (2006). Contribution of the PD-1 ligands/PD-1 signaling pathway to dendritic cell-mediated CD4+ T cell activation. *Eur J Immunol* 36(9): 2472-82.
- Kukutsch, N. A., S. Rossner, J. M. Austyn, G. Schuler and M. B. Lutz (2000). Formation and kinetics of MHC class I-ovalbumin peptide complexes on immature and mature murine dendritic cells. *J Invest Dermatol* 115(3): 449-53.
- Kusmartsev, S. and D. I. Gabrilovich (2003). Inhibition of myeloid cell differentiation in cancer: the role of reactive oxygen species. *J Leukoc Biol* 74(2): 186-96.
- la Sala, A., D. Ferrari, S. Corinti, A. Cavani, F. Di Virgilio and G. Girolomoni (2001). Extracellular ATP induces a distorted maturation of dendritic cells and inhibits their capacity to initiate Th1 responses. *J Immunol* 166(3): 1611-7.
- Lamkanfi, M., A. Amer, T. D. Kanneganti, R. Munoz-Planillo, G. Chen, P. Vandenabeele, A. Fortier, P. Gros and G. Nunez (2007). The Nod-like receptor family member Naip5/Birc1e restricts *Legionella pneumophila* growth independently of caspase-1 activation. *J Immunol* 178(12): 8022-7.
- Langenkamp, A., G. Casorati, C. Garavaglia, P. Dellabona, A. Lanzavecchia and F. Sallusto (2002). T cell priming by dendritic cells: thresholds for proliferation, differentiation and death and intraclonal functional diversification. *Eur J Immunol* 32(7): 2046-54.

- Langenkamp, A., M. Messi, A. Lanzavecchia and F. Sallusto (2000). Kinetics of dendritic cell activation: impact on priming of TH1, TH2 and nonpolarized T cells. *Nat Immunol* 1(4): 311-6.
- Lanzavecchia, A. and F. Sallusto (2005). Understanding the generation and function of memory T cell subsets. *Curr Opin Immunol* 17(3): 326-32.
- Larsson, M., J. F. Fonteneau and N. Bhardwaj (2001). Dendritic cells resurrect antigens from dead cells. *Trends Immunol* 22(3): 141-8.
- Latz, E., A. Schoenemeyer, A. Visintin, K. A. Fitzgerald, B. G. Monks, C. F. Knetter, E. Lien, N. J. Nilsen, T. Espevik and D. T. Golenbock (2004). TLR9 signals after translocating from the ER to CpG DNA in the lysosome. *Nat Immunol* 5(2): 190-8.
- Lemaitre, B., E. Nicolas, L. Michaut, J. M. Reichhart and J. A. Hoffmann (1996). The dorsoventral regulatory gene cassette *spatzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell* 86(6): 973-83.
- Lemke, G. and C. V. Rothlin (2008). Immunobiology of the TAM receptors. *Nat Rev Immunol* 8(5): 327-36.
- Lim, W. H., S. Kireta, E. Leedham, G. R. Russ and P. T. Coates (2007a). Uremia impairs monocyte and monocyte-derived dendritic cell function in hemodialysis patients. *Kidney Int* 72(9): 1138-48.
- Lim, W. H., S. Kireta, G. R. Russ and P. T. Coates (2007b). Uremia impairs blood dendritic cell function in hemodialysis patients. *Kidney Int* 71(11): 1122-31.
- Lindstedt, M., B. Johansson-Lindbom and C. A. Borrebaeck (2002). Global reprogramming of dendritic cells in response to a concerted action of inflammatory mediators. *Int Immunol* 14(10): 1203-13.
- Liu, P. T., S. Stenger, H. Li, L. Wenzel, B. H. Tan, S. R. Krutzik, M. T. Ochoa, J. Schaubert, K. Wu, C. Meinken, D. L. Kamen, M. Wagner, R. Bals, A. Steinmeyer, U. Zugel, R. L. Gallo, D. Eisenberg, M. Hewison, B. W. Hollis, J. S. Adams, B. R. Bloom and R. L. Modlin (2006). Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science* 311(5768): 1770-3.
- Liu, X., J. X. Gao, J. Wen, L. Yin, O. Li, T. Zuo, T. F. Gajewski, Y. X. Fu, P. Zheng and Y. Liu (2003). B7DC/PDL2 promotes tumor immunity by a PD-1-independent mechanism. *J Exp Med* 197(12): 1721-30.

- Liu, Y. J. (2001). Dendritic cell subsets and lineages, and their functions in innate and adaptive immunity. *Cell* 106(3): 259-62.
- Ljunggren, H. G. and K. J. Malmberg (2007). Prospects for the use of NK cells in immunotherapy of human cancer. *Nat Rev Immunol* 7(5): 329-39.
- Lu, H., J. Y. Qian, K. Yao, A. J. Sun, R. C. Huang, Y. Hao, H. Y. Shi, K. Q. Wang, Y. Z. Zou and J. B. Ge (2007). [Hyperinsulinemia induced immune maturation of human monocyte derived dendritic cells: bridging between diabetes and atherosclerosis]. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi* 35(12): 1151-4.
- Luft, T., M. Jefford, P. Luetjens, T. Toy, H. Hochrein, K. A. Masterman, C. Maliszewski, K. Shortman, J. Cebon and E. Maraskovsky (2002). Functionally distinct dendritic cell (DC) populations induced by physiologic stimuli: prostaglandin E(2) regulates the migratory capacity of specific DC subsets. *Blood* 100(4): 1362-72.
- Luo, X., K. V. Tarbell, H. Yang, K. Pothoven, S. L. Bailey, R. Ding, R. M. Steinman and M. Suthanthiran (2007). Dendritic cells with TGF-beta1 differentiate naive CD4+CD25- T cells into islet-protective Foxp3+ regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(8): 2821-6.
- Macatonia, S. E., N. A. Hosken, M. Litton, P. Vieira, C. S. Hsieh, J. A. Culpepper, M. Wysocka, G. Trinchieri, K. M. Murphy and A. O'Garra (1995). Dendritic cells produce IL-12 and direct the development of Th1 cells from naive CD4+ T cells. *J Immunol* 154(10): 5071-9.
- Magalhaes, J. G., J. H. Fritz, L. Le Bourhis, G. Sellge, L. H. Travassos, T. Selvanantham, S. E. Girardin, J. L. Gommerman and D. J. Philpott (2008). Nod2-dependent Th2 polarization of antigen-specific immunity. *J Immunol* 181(11): 7925-35.
- Mantegazza, A. R., A. Savina, M. Vermeulen, L. Perez, J. Geffner, O. Hermine, S. D. Rosenzweig, F. Faure and S. Amigorena (2008). NADPH oxidase controls phagosomal pH and antigen cross-presentation in human dendritic cells. *Blood* 112(12): 4712-22.
- Mariathasan, S., D. S. Weiss, K. Newton, J. McBride, K. O'Rourke, M. Roose-Girma, W. P. Lee, Y. Weinrauch, D. M. Monack and V. M. Dixit (2006). Cryopyrin activates the inflammasome in response to toxins and ATP. *Nature* 440(7081): 228-32.

- Marigo, I., L. Dolcetti, P. Serafini, P. Zanovello and V. Bronte (2008). Tumor-induced tolerance and immune suppression by myeloid derived suppressor cells. *Immunol Rev* 222: 162-79.
- Marincek, B. C., M. C. Kuhnle, C. Srokowski, H. Schild, G. Hammerling and F. Momburg (2008). Heat shock protein-antigen fusions lose their enhanced immunostimulatory capacity after endotoxin depletion. *Mol Immunol* 46(1): 181-91.
- Martinez, D., M. Vermeulen, E. von Euw, J. Sabatte, J. Maggini, A. Ceballos, A. Trevani, K. Nahmod, G. Salamone, M. Barrio, M. Giordano, S. Amigorena and J. Geffner (2007). Extracellular acidosis triggers the maturation of human dendritic cells and the production of IL-12. *J Immunol* 179(3): 1950-9.
- Martinon, F., L. Agostini, E. Meylan and J. Tschopp (2004). Identification of bacterial muramyl dipeptide as activator of the NALP3/cryopyrin inflammasome. *Curr Biol* 14(21): 1929-34.
- Martinon, F., V. Petrilli, A. Mayor, A. Tardivel and J. Tschopp (2006). Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature* 440(7081): 237-41.
- Mascanfroni, I., M. Montesinos Mdel, S. Susperreguy, L. Cervi, J. M. Ibarregui, V. D. Ramseyer, A. M. Masini-Repiso, H. M. Targovnik, G. A. Rabinovich and C. G. Pellizas (2008). Control of dendritic cell maturation and function by triiodothyronine. *FASEB J* 22(4): 1032-42.
- Mathews, R. J., M. B. Sprakes and M. F. McDermott (2008). NOD-like receptors and inflammation. *Arthritis Res Ther* 10(6): 228.
- Mathieu, C., M. Waer, J. Laureys, O. Rutgeerts and R. Bouillon (1994). Prevention of autoimmune diabetes in NOD mice by 1,25 dihydroxyvitamin D3. *Diabetologia* 37(6): 552-8.
- Matsumoto, M., K. Funami, M. Tanabe, H. Oshiumi, M. Shingai, Y. Seto, A. Yamamoto and T. Seya (2003). Subcellular localization of Toll-like receptor 3 in human dendritic cells. *J Immunol* 171(6): 3154-62.
- Matzinger, P. (1994). Tolerance, danger, and the extended family. *Annu Rev Immunol* 12: 991-1045.
- Matzinger, P. (2002). The danger model: a renewed sense of self. *Science* 296(5566): 301-5.

- McDonald, D. R., D. Brown, F. A. Bonilla and R. S. Geha (2006). Interleukin receptor-associated kinase-4 deficiency impairs Toll-like receptor-dependent innate antiviral immune responses. *J Allergy Clin Immunol* 118(6): 1357-62.
- McIlroy, D. and M. Gregoire (2003). Optimizing dendritic cell-based anticancer immunotherapy: maturation state does have clinical impact. *Cancer Immunol Immunother* 52(10): 583-91.
- Medzhitov, R. (2001). Toll-like receptors and innate immunity. *Nat Rev Immunol* 1(2): 135-45.
- Medzhitov, R., P. Preston-Hurlburt and C. A. Janeway, Jr. (1997). A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* 388(6640): 394-7.
- Mellado, M., A. M. de Ana, M. C. Moreno, C. Martinez and J. M. Rodriguez-Frade (2001). A potential immune escape mechanism by melanoma cells through the activation of chemokine-induced T cell death. *Curr Biol* 11(9): 691-6.
- Mellor, A. L. and D. H. Munn (2004). IDO expression by dendritic cells: tolerance and tryptophan catabolism. *Nat Rev Immunol* 4(10): 762-74.
- Meylan, E., J. Tschopp and M. Karin (2006). Intracellular pattern recognition receptors in the host response. *Nature* 442(7098): 39-44.
- Miceli-Richard, C., S. Lesage, M. Rybojad, A. M. Prieur, S. Manouvrier-Hanu, R. Hafner, M. Chamaillard, H. Zouali, G. Thomas and J. P. Hugot (2001). CARD15 mutations in Blau syndrome. *Nat Genet* 29(1): 19-20.
- Miller, M. J., A. S. Hejazi, S. H. Wei, M. D. Cahalan and I. Parker (2004). T cell repertoire scanning is promoted by dynamic dendritic cell behavior and random T cell motility in the lymph node. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(4): 998-1003.
- Moser, M. and K. M. Murphy (2000). Dendritic cell regulation of TH1-TH2 development. *Nat Immunol* 1(3): 199-205.
- Mukhopadhyay, S. and S. Gordon (2004). The role of scavenger receptors in pathogen recognition and innate immunity. *Immunobiology* 209(1-2): 39-49.
- Munn, D. H., M. D. Sharma, J. R. Lee, K. G. Jhaver, T. S. Johnson, D. B. Keskin, B. Marshall, P. Chandler, S. J. Antonia, R. Burgess, C. L. Slingluff, Jr. and A. L. Mellor

- (2002). Potential regulatory function of human dendritic cells expressing indoleamine 2,3-dioxygenase. *Science* 297(5588): 1867-70.
- Munz, C., R. M. Steinman and S. Fujii (2005). Dendritic cell maturation by innate lymphocytes: coordinated stimulation of innate and adaptive immunity. *J Exp Med* 202(2): 203-7.
- Murali-Krishna, K., J. D. Altman, M. Suresh, D. J. Sourdive, A. J. Zajac, J. D. Miller, J. Slansky and R. Ahmed (1998). Counting antigen-specific CD8 T cells: a reevaluation of bystander activation during viral infection. *Immunity* 8(2): 177-87.
- Netea, M. G., G. Ferwerda, D. J. de Jong, T. Jansen, L. Jacobs, M. Kramer, T. H. Naber, J. P. Drenth, S. E. Girardin, B. J. Kullberg, G. J. Adema and J. W. Van der Meer (2005). Nucleotide-binding oligomerization domain-2 modulates specific TLR pathways for the induction of cytokine release. *J Immunol* 174(10): 6518-23.
- Notarangelo, L. D., C. H. Miao and H. D. Ochs (2008). Wiskott-Aldrich syndrome. *Curr Opin Hematol* 15(1): 30-6.
- Nourizadeh, M., A. Aghamohammadi, S. M. Moazzeni, M. Mahdavi, A. Jalili, N. Rezaei and J. Hadjati (2007). Altered dendritic cell function in response to sera of common variable immunodeficiency patients. *Inflamm Res* 56(12): 527-32.
- O'Neill, L. A. and A. G. Bowie (2007). The family of five: TIR-domain-containing adaptors in Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol* 7(5): 353-64.
- O'Sullivan, B. and R. Thomas (2003). CD40 and dendritic cell function. *Crit Rev Immunol* 23(1-2): 83-107.
- Ogura, Y., D. K. Bonen, N. Inohara, D. L. Nicolae, F. F. Chen, R. Ramos, H. Britton, T. Moran, R. Karaliuskas, R. H. Duerr, J. P. Achkar, S. R. Brant, T. M. Bayless, B. S. Kirschner, S. B. Hanauer, G. Nunez and J. H. Cho (2001). A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 411(6837): 603-6.
- Ohashi, K., V. Burkart, S. Flohe and H. Kolb (2000). Cutting edge: heat shock protein 60 is a putative endogenous ligand of the toll-like receptor-4 complex. *J Immunol* 164(2): 558-61.
- Osada, T., T. M. Clay, C. Y. Woo, M. A. Morse and H. K. Lyerly (2006). Dendritic cell-based immunotherapy. *Int Rev Immunol* 25(5-6): 377-413.

- Park, J. S., F. Gamboni-Robertson, Q. He, D. Svetkauskaite, J. Y. Kim, D. Strassheim, J. W. Sohn, S. Yamada, I. Maruyama, A. Banerjee, A. Ishizaka and E. Abraham (2006). High mobility group box 1 protein interacts with multiple Toll-like receptors. *Am J Physiol Cell Physiol* 290(3): C917-24.
- Park, M. A., J. T. Li, J. B. Hagan, D. E. Maddox and R. S. Abraham (2008a). Common variable immunodeficiency: a new look at an old disease. *Lancet* 372(9637): 489-502.
- Park, M. J., S. Y. Min, K. S. Park, Y. G. Cho, M. L. Cho, Y. O. Jung, H. S. Park, S. H. Chang, S. G. Cho, J. K. Min, S. H. Park and H. Y. Kim (2008b). Indoleamine 2,3-dioxygenase-expressing dendritic cells are involved in the generation of CD4+CD25+ regulatory T cells in Peyer's patches in an orally tolerized, collagen-induced arthritis mouse model. *Arthritis Res Ther* 10(1): R11.
- Pasare, C. and R. Medzhitov (2003). Toll pathway-dependent blockade of CD4+CD25+ T cell-mediated suppression by dendritic cells. *Science* 299(5609): 1033-6.
- Peng, Y., D. A. Martin, J. Kenkel, K. Zhang, C. A. Ogden and K. B. Elkon (2007). Innate and adaptive immune response to apoptotic cells. *J Autoimmun* 29(4): 303-9.
- Penna, G., S. Amuchastegui, N. Giarratana, K. C. Daniel, M. Vulcano, S. Sozzani and L. Adorini (2007). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 selectively modulates tolerogenic properties in myeloid but not plasmacytoid dendritic cells. *J Immunol* 178(1): 145-53.
- Perez, N., S. Karumuthil-Melethil, R. Li, B. S. Prabhakar, M. J. Holterman and C. Vasu (2008). Preferential costimulation by CD80 results in IL-10-dependent TGF-beta1(+)-adaptive regulatory T cell generation. *J Immunol* 180(10): 6566-76.
- Piqueras, B., J. Connolly, H. Freitas, A. K. Palucka and J. Banchereau (2006). Upon viral exposure, myeloid and plasmacytoid dendritic cells produce 3 waves of distinct chemokines to recruit immune effectors. *Blood* 107(7): 2613-8.
- Prechtel, A. T. and A. Steinkasserer (2007). CD83: an update on functions and prospects of the maturation marker of dendritic cells. *Arch Dermatol Res* 299(2): 59-69.
- Proietto, A. I., S. van Dommelen, P. Zhou, A. Rizzitelli, A. D'Amico, R. J. Steptoe, S. H. Naik, M. H. Lahoud, Y. Liu, P. Zheng, K. Shortman and L. Wu (2008). Dendritic cells in the thymus contribute to T-regulatory cell induction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105(50): 19869-74.



- Pulecio, J., E. Tagliani, A. Scholer, F. Prete, L. Fetler, O. R. Burrone and F. Benvenuti (2008). Expression of Wiskott-Aldrich syndrome protein in dendritic cells regulates synapse formation and activation of naive CD8<sup>+</sup> T cells. *J Immunol* 181(2): 1135-42.
- Pulendran, B. (2006). Division of labor and cooperation between dendritic cells. *Nat Immunol* 7(7): 699-700.
- Pulendran, B., P. Kumar, C. W. Cutler, M. Mohamadzadeh, T. Van Dyke and J. Banchereau (2001). Lipopolysaccharides from distinct pathogens induce different classes of immune responses in vivo. *J Immunol* 167(9): 5067-76.
- Rabinovich, G. A., D. Gabrilovich and E. M. Sotomayor (2007). Immunosuppressive strategies that are mediated by tumor cells. *Annu Rev Immunol* 25: 267-96.
- Reis e Sousa, C. (2006). Dendritic cells in a mature age. *Nat Rev Immunol* 6(6): 476-83.
- Rescigno, M., S. Citterio, C. Thery, M. Rittig, D. Medaglini, G. Pozzi, S. Amigorena and P. Ricciardi-Castagnoli (1998). Bacteria-induced neo-biosynthesis, stabilization, and surface expression of functional class I molecules in mouse dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95(9): 5229-34.
- Revy, P., F. Geissmann, M. Debre, A. Fischer and A. Durandy (1998). Normal CD40-mediated activation of monocytes and dendritic cells from patients with hyper-IgM syndrome due to a CD40 pathway defect in B cells. *Eur J Immunol* 28(11): 3648-54.
- Revy, P., T. Muto, Y. Levy, F. Geissmann, A. Plebani, O. Sanal, N. Catalan, M. Forveille, R. Dufourcq-Labeolouse, A. Gennery, I. Tezcan, F. Ersoy, H. Kayserili, A. G. Ugazio, N. Brousse, M. Muramatsu, L. D. Notarangelo, K. Kinoshita, T. Honjo, A. Fischer and A. Durandy (2000). Activation-induced cytidine deaminase (AID) deficiency causes the autosomal recessive form of the Hyper-IgM syndrome (HIGM2). *Cell* 102(5): 565-75.
- Rogers, N. J., D. S. Game, N. O. Camara, I. M. Jackson, G. Lombardi and R. I. Lechler (2005). Distinct effects of CD86-mediated costimulation on resting versus activated human CD4<sup>+</sup> T cells. *Eur J Immunol* 35(10): 2909-19.
- Romani, N., D. Reider, M. Heuer, S. Ebner, E. Kampgen, B. Eibl, D. Niederwieser and G. Schuler (1996). Generation of mature dendritic cells from human blood. An improved method with special regard to clinical applicability. *J Immunol Methods* 196(2): 137-51.

- Ross, R., H. Jonuleit, M. Bros, X. L. Ross, S. Yamashiro, F. Matsumura, A. H. Enk, J. Knop and A. B. Reske-Kunz (2000). Expression of the actin-bundling protein fascin in cultured human dendritic cells correlates with dendritic morphology and cell differentiation. *J Invest Dermatol* 115(4): 658-63.
- Ross, R., X. L. Ross, J. Schwing, T. Langin and A. B. Reske-Kunz (1998). The actin-bundling protein fascin is involved in the formation of dendritic processes in maturing epidermal Langerhans cells. *J Immunol* 160(8): 3776-82.
- Ruedl, C., M. Kopf and M. F. Bachmann (1999). CD8(+) T cells mediate CD40-independent maturation of dendritic cells in vivo. *J Exp Med* 189(12): 1875-84.
- Rutella, S., S. Danese and G. Leone (2006). Tolerogenic dendritic cells: cytokine modulation comes of age. *Blood* 108(5): 1435-40.
- Salio, M., V. Cerundolo and A. Lanzavecchia (2000). Dendritic cell maturation is induced by mycoplasma infection but not by necrotic cells. *Eur J Immunol* 30(2): 705-8.
- Sallusto, F., M. Cella, C. Danieli and A. Lanzavecchia (1995). Dendritic cells use macropinocytosis and the mannose receptor to concentrate macromolecules in the major histocompatibility complex class II compartment: downregulation by cytokines and bacterial products. *J Exp Med* 182(2): 389-400.
- Sallusto, F., P. Schaerli, P. Loetscher, C. Schaniel, D. Lenig, C. R. Mackay, S. Qin and A. Lanzavecchia (1998). Rapid and coordinated switch in chemokine receptor expression during dendritic cell maturation. *Eur J Immunol* 28(9): 2760-9.
- Sanchez-Sanchez, N., L. Riol-Blanco, G. de la Rosa, A. Puig-Kroger, J. Garcia-Bordas, D. Martin, N. Longo, A. Cuadrado, C. Cabanas, A. L. Corbi, P. Sanchez-Mateos and J. L. Rodriguez-Fernandez (2004). Chemokine receptor CCR7 induces intracellular signaling that inhibits apoptosis of mature dendritic cells. *Blood* 104(3): 619-25.
- Sato, K. and S. Fujita (2007). Dendritic cells: nature and classification. *Allergol Int* 56(3): 183-91.
- Seibert, E., N. W. Levin and M. K. Kuhlmann (2005). Immunomodulating effects of vitamin D analogs in hemodialysis patients. *Hemodial Int* 9 Suppl 1: S25-9.
- Seliger, B. (2005). Strategies of tumor immune evasion. *BioDrugs* 19(6): 347-54.

- Shankaran, V., H. Ikeda, A. T. Bruce, J. M. White, P. E. Swanson, L. J. Old and R. D. Schreiber (2001). IFN $\gamma$  and lymphocytes prevent primary tumour development and shape tumour immunogenicity. *Nature* 410(6832): 1107-11.
- Sharpe, A. H., E. J. Wherry, R. Ahmed and G. J. Freeman (2007). The function of programmed cell death 1 and its ligands in regulating autoimmunity and infection. *Nat Immunol* 8(3): 239-45.
- Shi, Y., J. E. Evans and K. L. Rock (2003). Molecular identification of a danger signal that alerts the immune system to dying cells. *Nature* 425(6957): 516-21.
- Shin, J. S., M. Ebersold, M. Pypaert, L. Delamarre, A. Hartley and I. Mellman (2006). Surface expression of MHC class II in dendritic cells is controlled by regulated ubiquitination. *Nature* 444(7115): 115-8.
- Schaffer, A. A., U. Salzer, L. Hammarstrom and B. Grimbacher (2007). Deconstructing common variable immunodeficiency by genetic analysis. *Curr Opin Genet Dev* 17(3): 201-12.
- Schiano de Colella, J. M., B. Barbarat, R. Sweet, J. A. Gastaut, D. Olive and R. T. Costello (2008). Rank ligand stimulation induces a partial but functional maturation of human monocyte-derived dendritic cells. *Eur Cytokine Netw* 19(2): 81-8.
- Schoenberger, S. P., R. E. Toes, E. I. van der Voort, R. Offringa and C. J. Melief (1998). T-cell help for cytotoxic T lymphocytes is mediated by CD40-CD40L interactions. *Nature* 393(6684): 480-3.
- Schulz, O., A. D. Edwards, M. Schito, J. Aliberti, S. Manickasingham, A. Sher and C. Reis e Sousa (2000). CD40 triggering of heterodimeric IL-12 p70 production by dendritic cells in vivo requires a microbial priming signal. *Immunity* 13(4): 453-62.

- Schuurhuis, D. H., N. van Montfoort, A. Ioan-Facsinay, R. Jiawan, M. Camps, J. Nouta, C. J. Melief, J. S. Verbeek and F. Ossendorp (2006). Immune complex-loaded dendritic cells are superior to soluble immune complexes as antitumor vaccine. *J Immunol* 176(8): 4573-80.
- Sirard, J. C., C. Vignal, R. Dessein and M. Chamaillard (2007). Nod-like receptors: cytosolic watchdogs for immunity against pathogens. *PLoS Pathog* 3(12): e152.
- Smyth, M. J., K. Y. Thia, S. E. Street, E. Cretney, J. A. Trapani, M. Taniguchi, T. Kawano, S. B. Pelikan, N. Y. Crowe and D. I. Godfrey (2000). Differential tumor surveillance by natural killer (NK) and NKT cells. *J Exp Med* 191(4): 661-8.
- Sochorova, K., R. Horvath, D. Rozkova, J. Litzman, J. Bartunkova, A. Sediva and R. Spisek (2007). Impaired Toll-like receptor 8-mediated IL-6 and TNF-alpha production in antigen-presenting cells from patients with X-linked agammaglobulinemia. *Blood* 109(6): 2553-6.
- Spisek, R., A. Charalambous, A. Mazumder, D. H. Vesole, S. Jagannath and M. V. Dhodapkar (2007). Bortezomib enhances dendritic cell (DC)-mediated induction of immunity to human myeloma via exposure of cell surface heat shock protein 90 on dying tumor cells: therapeutic implications. *Blood* 109(11): 4839-45.
- Sporri, R. and C. Reis e Sousa (2005). Inflammatory mediators are insufficient for full dendritic cell activation and promote expansion of CD4+ T cell populations lacking helper function. *Nat Immunol* 6(2): 163-70.
- Srivastava, P. (2002). Interaction of heat shock proteins with peptides and antigen presenting cells: chaperoning of the innate and adaptive immune responses. *Annu Rev Immunol* 20: 395-425.
- Stagg, J., R. W. Johnstone and M. J. Smyth (2007). From cancer immunosurveillance to cancer immunotherapy. *Immunol Rev* 220: 82-101.
- Steinman, R. M. and Z. A. Cohn (1973). Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J Exp Med* 137(5): 1142-62.

- Steinman, R. M., D. Hawiger, K. Liu, L. Bonifaz, D. Bonnyay, K. Mahnke, T. Iyoda, J. Ravetch, M. Dhodapkar, K. Inaba and M. Nussenzweig (2003). Dendritic cell function in vivo during the steady state: a role in peripheral tolerance. *Ann N Y Acad Sci* 987: 15-25.
- Stone, J. D., A. S. Chervin and D. M. Kranz (2009). T-cell receptor binding affinities and kinetics: impact on T-cell activity and specificity. *Immunology* 126(2): 165-76.
- Street, S. E., E. Cretney and M. J. Smyth (2001). Perforin and interferon-gamma activities independently control tumor initiation, growth, and metastasis. *Blood* 97(1): 192-7.
- Stritesky, G. L., N. Yeh and M. H. Kaplan (2008). IL-23 promotes maintenance but not commitment to the Th17 lineage. *J Immunol* 181(9): 5948-55.
- Subudhi, S. K., M. L. Alegre and Y. X. Fu (2005). The balance of immune responses: costimulation verse coinhibition. *J Mol Med* 83(3): 193-202.
- Suciu-Foca, N. and R. Cortesini (2007). Central role of ILT3 in the T suppressor cell cascade. *Cell Immunol* 248(1): 59-67.
- Suss, G. and K. Shortman (1996). A subclass of dendritic cells kills CD4 T cells via Fas/Fas-ligand-induced apoptosis. *J Exp Med* 183(4): 1789-96.
- Sutton, C., C. Brereton, B. Keogh, K. H. Mills and E. C. Lavelle (2006). A crucial role for interleukin (IL)-1 in the induction of IL-17-producing T cells that mediate autoimmune encephalomyelitis. *J Exp Med* 203(7): 1685-91.
- Tacke, P. J., I. J. de Vries, K. Gijzen, B. Joosten, D. Wu, R. P. Rother, S. J. Faas, C. J. Punt, R. Torensma, G. J. Adema and C. G. Figdor (2005). Effective induction of naive and recall T-cell responses by targeting antigen to human dendritic cells via a humanized anti-DC-SIGN antibody. *Blood* 106(4): 1278-85.
- Taieb, J., N. Chaput, C. Menard, L. Apetoh, E. Ullrich, M. Bonmort, M. Pequignot, N. Casares, M. Terme, C. Flament, P. Opolon, Y. Lecluse, D. Metivier, E. Tomasello, E. Vivier, F. Ghiringhelli, F. Martin, D. Klatzmann, T. Poynard, T. Tursz, G. Raposo, H. Yagita, B. Ryffel, G. Kroemer and L. Zitvogel (2006). A novel dendritic cell subset involved in tumor immunosurveillance. *Nat Med* 12(2): 214-9.
- Takaoka, A., H. Yanai, S. Kondo, G. Duncan, H. Negishi, T. Mizutani, S. Kano, K. Honda, Y. Ohba, T. W. Mak and T. Taniguchi (2005). Integral role of IRF-5 in the gene induction programme activated by Toll-like receptors. *Nature* 434(7030): 243-9.

- Takeda, K. and S. Akira (2005). Toll-like receptors in innate immunity. *Int Immunol* 17(1): 1-14.
- Taneichi, H., H. Kanegane, M. M. Sira, T. Futatani, K. Agematsu, M. Sako, H. Kaneko, N. Kondo, T. Kaisho and T. Miyawaki (2008). Toll-like receptor signaling is impaired in dendritic cells from patients with X-linked agammaglobulinemia. *Clin Immunol* 126(2): 148-54.
- Tobiasova-Czetoova, Z., A. Palmborg, A. Lundqvist, G. Karlsson, L. Adamson, J. Bartunkova, G. Masucci and P. Pisa (2005). Effects of human plasma proteins on maturation of monocyte-derived dendritic cells. *Immunol Lett* 100(2): 113-9.
- Toes, R. E., S. P. Schoenberger, E. I. van der Voort, R. Offringa and C. J. Melief (1998). CD40-CD40Ligand interactions and their role in cytotoxic T lymphocyte priming and anti-tumor immunity. *Semin Immunol* 10(6): 443-8.
- Trombetta, E. S., M. Ebersold, W. Garrett, M. Pypaert and I. Mellman (2003). Activation of lysosomal function during dendritic cell maturation. *Science* 299(5611): 1400-3.
- Uyttenhove, C., L. Pilotte, I. Theate, V. Stroobant, D. Colau, N. Parmentier, T. Boon and B. J. Van den Eynde (2003). Evidence for a tumoral immune resistance mechanism based on tryptophan degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Nat Med* 9(10): 1269-74.
- Vabulas, R. M., P. Ahmad-Nejad, C. da Costa, T. Miethke, C. J. Kirschning, H. Hacker and H. Wagner (2001). Endocytosed HSP60s use toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4 to activate the toll/interleukin-1 receptor signaling pathway in innate immune cells. *J Biol Chem* 276(33): 31332-9.
- Vabulas, R. M., P. Ahmad-Nejad, S. Ghose, C. J. Kirschning, R. D. Issels and H. Wagner (2002). HSP70 as endogenous stimulus of the Toll/interleukin-1 receptor signal pathway. *J Biol Chem* 277(17): 15107-12.
- Valitutti, S., S. Muller, M. Cella, E. Padovan and A. Lanzavecchia (1995). Serial triggering of many T-cell receptors by a few peptide-MHC complexes. *Nature* 375(6527): 148-51.
- van Etten, E. and C. Mathieu (2005). Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3: basic concepts. *J Steroid Biochem Mol Biol* 97(1-2): 93-101.
- van Niel, G., R. Wubbolts and W. Stoorvogel (2008). Endosomal sorting of MHC class II determines antigen presentation by dendritic cells. *Curr Opin Cell Biol* 20(4): 437-44.

- Van Vre, E. A., H. Bult, V. Y. Hoymans, V. F. Van Tendeloo, C. J. Vrints and J. M. Bosmans (2008). Human C-reactive protein activates monocyte-derived dendritic cells and induces dendritic cell-mediated T-cell activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 28(3): 511-8.
- Varma, R., G. Campi, T. Yokosuka, T. Saito and M. L. Dustin (2006). T cell receptor-proximal signals are sustained in peripheral microclusters and terminated in the central supramolecular activation cluster. *Immunity* 25(1): 117-27.
- Verdijk, P., P. A. van Veelen, A. H. de Ru, P. J. Hensbergen, K. Mizuno, H. K. Koerten, F. Koning, C. P. Tensen and A. M. Mommaas (2004). Morphological changes during dendritic cell maturation correlate with cofilin activation and translocation to the cell membrane. *Eur J Immunol* 34(1): 156-64.
- Villadangos, J. A., P. Schnorrer and N. S. Wilson (2005). Control of MHC class II antigen presentation in dendritic cells: a balance between creative and destructive forces. *Immunol Rev* 207: 191-205.
- von Bergwelt-Baildon, M. S., A. Popov, T. Saric, J. Chemnitz, S. Classen, M. S. Stoffel, F. Fiore, U. Roth, M. Beyer, S. Debey, C. Wickenhauser, F. G. Hanisch and J. L. Schultze (2006). CD25 and indoleamine 2,3-dioxygenase are up-regulated by prostaglandin E2 and expressed by tumor-associated dendritic cells in vivo: additional mechanisms of T-cell inhibition. *Blood* 108(1): 228-37.
- Vyas, J. M., A. G. Van der Veen and H. L. Ploegh (2008). The known unknowns of antigen processing and presentation. *Nat Rev Immunol* 8(8): 607-18.
- Waldhauer, I. and A. Steinle (2008). NK cells and cancer immunosurveillance. *Oncogene* 27(45): 5932-43.
- Walzer, T., M. Dalod, S. H. Robbins, L. Zitvogel and E. Vivier (2005). Natural-killer cells and dendritic cells: "l'union fait la force". *Blood* 106(7): 2252-8.
- Wang, L., K. Pino-Lagos, V. C. de Vries, I. Guleria, M. H. Sayegh and R. J. Noelle (2008). Programmed death 1 ligand signaling regulates the generation of adaptive Foxp3+CD4+ regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105(27): 9331-6.
- Watanabe, N., Y. H. Wang, H. K. Lee, T. Ito, W. Cao and Y. J. Liu (2005). Hassall's corpuscles instruct dendritic cells to induce CD4+CD25+ regulatory T cells in human thymus. *Nature* 436(7054): 1181-5.

- Waters, W. R., M. V. Palmer, B. J. Nonnecke, D. L. Whipple and R. L. Horst (2004). Mycobacterium bovis infection of vitamin D-deficient NOS2<sup>-/-</sup> mice. *Microb Pathog* 36(1): 11-7.
- West, M. A., R. P. Wallin, S. P. Matthews, H. G. Svensson, R. Zaru, H. G. Ljunggren, A. R. Prescott and C. Watts (2004). Enhanced dendritic cell antigen capture via toll-like receptor-induced actin remodeling. *Science* 305(5687): 1153-7.
- Wilkin, F., P. Stordeur, M. Goldman, J. M. Boeynaems and B. Robaye (2002). Extracellular adenine nucleotides modulate cytokine production by human monocyte-derived dendritic cells: dual effect on IL-12 and stimulation of IL-10. *Eur J Immunol* 32(9): 2409-17.
- Wilmanski, J. M., T. Petnicki-Ocwieja and K. S. Kobayashi (2008). NLR proteins: integral members of innate immunity and mediators of inflammatory diseases. *J Leukoc Biol* 83(1): 13-30.
- Wilson, N. S., D. El-Sukkari and J. A. Villadangos (2004). Dendritic cells constitutively present self antigens in their immature state in vivo and regulate antigen presentation by controlling the rates of MHC class II synthesis and endocytosis. *Blood* 103(6): 2187-2195.
- Wingerchuk, D. M., J. Lesaux, G. P. Rice, M. Kremenchutzky and G. C. Ebers (2005). A pilot study of oral calcitriol (1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>) for relapsing-remitting multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 76(9): 1294-6.
- Wong, B. R., R. Josien, S. Y. Lee, B. Sauter, H. L. Li, R. M. Steinman and Y. Choi (1997). TRANCE (tumor necrosis factor [TNF]-related activation-induced cytokine), a new TNF family member predominantly expressed in T cells, is a dendritic cell-specific survival factor. *J Exp Med* 186(12): 2075-80.
- Worsley, A. G., S. LeibundGut-Landmann, E. Slack, L. K. Phng, H. Gerhardt, C. Reis e Sousa and A. S. MacDonald (2008). Dendritic cell expression of the Notch ligand jagged2 is not essential for Th2 response induction in vivo. *Eur J Immunol* 38(4): 1043-9.
- Yao, K., J. B. Ge, A. J. Sun, X. W. Hong, H. Y. Shi, R. C. Huang, Q. Z. Jia, K. Q. Wang, C. P. Zhong, X. T. Cao and Y. Z. Zou (2006). [Effects and mechanism of hyperglycemia



- on development and maturation and immune function of human monocyte derived dendritic cells]. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi* 34(1): 60-4.
- Yokosuka, T., K. Sakata-Sogawa, W. Kobayashi, M. Hiroshima, A. Hashimoto-Tane, M. Tokunaga, M. L. Dustin and T. Saito (2005). Newly generated T cell receptor microclusters initiate and sustain T cell activation by recruitment of Zap70 and SLP-76. *Nat Immunol* 6(12): 1253-62.
- Yoneyama, M., M. Kikuchi, T. Natsukawa, N. Shinobu, T. Imaizumi, M. Miyagishi, K. Taira, S. Akira and T. Fujita (2004). The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral responses. *Nat Immunol* 5(7): 730-7.
- Zamboni, D. S., K. S. Kobayashi, T. Kohlsdorf, Y. Ogura, E. M. Long, R. E. Vance, K. Kuida, S. Mariathasan, V. M. Dixit, R. A. Flavell, W. F. Dietrich and C. R. Roy (2006). The Birle cytosolic pattern-recognition receptor contributes to the detection and control of *Legionella pneumophila* infection. *Nat Immunol* 7(3): 318-25.
- Zhang, Q. J., X. L. Li, D. Wang, X. C. Huang, J. M. Mathis, W. M. Duan, D. Knight, R. Shi, J. Glass, D. Q. Zhang, L. Eisenbach and W. A. Jefferies (2008). Trogocytosis of MHC-I/peptide complexes derived from tumors and infected cells enhances dendritic cell cross-priming and promotes adaptive T cell responses. *PLoS ONE* 3(8): e3097.
- Zhang, R., L. Becnel, M. Li, C. Chen and Q. Yao (2006). C-reactive protein impairs human CD14<sup>+</sup> monocyte-derived dendritic cell differentiation, maturation and function. *Eur J Immunol* 36(11): 2993-3006.
- Zitvogel, L., L. Apetoh, F. Ghiringhelli and G. Kroemer (2008). Immunological aspects of cancer chemotherapy. *Nat Rev Immunol* 8(1): 59-73.
- Zou, W. and L. Chen (2008). Inhibitory B7-family molecules in the tumour microenvironment. *Nat Rev Immunol* 8(6): 467-77.

## 10 Seznam vlastních publikací

### *Zahraniční publikace*

Tobiášová Z., Pospíšilová D., Miller A.M., Minárik I., **Sochorová K.**, Špíšek R., Rob L., Bartůňková J. (2007). In vitro assessment of dendritic cells pulsed with apoptotic tumor cells as a vaccine for ovarian cancer patients. *Clin Immunol* **122**(1): 18-27. **IF = 3,606**

**Sochorová K.**, Horváth R., Rožková D., Litzman J., Bartůňková J., Šedivá A., Špíšek R. (2007): Impaired Toll-like receptor 8-mediated IL-6 and TNF-alpha production in antigen-presenting cells from patients with X-linked agammaglobulinemia. *Blood* **109**(6): 2553-6. **IF = 10,896**

**Sochorová K.**, Budinský V., Rožková D., Tobiášová Z., Dusilová-Sulková S., Špíšek R., Bartůňková J. (2009): Paricalcitol (19-nor-1,25-dihydroxycholecalciferol) and calcitriol (1,25-dihydroxycholecalciferol) exert potent immunomodulatory effects on dendritic cells and inhibit induction of antigen-specific T cells. *Clin Immunol* V tisku **IF = 3,606**

### *Publikace v domácím tisku:*

**Sochorová K.**, Bartůňková J. (2007): Vitamin D a imunitní systém - teorie a vlastní zkušenosti. *Interní medicína pro praxi*, 2007, 1

**Sochorová K.**, Králíková P., Horváth R., Litzman J., Bartůňková J., Šedivá A., Špíšek R. (2008): Antigen prezentující buňky pacientů s X-vázanou agamaglobulinémií mají defekt v produkci IL-6 a TNF-alfa po stimulaci Toll like receptoru 8. *Alergie*, 2008, 3, 175-180

**Sochorová K.**, Lukášová M. (2009): Multivitaminové přípravky na českém trhu, *Praktické lékárenství*, 2009, 1