

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Veronika Miltrová

Terciární lymfoidní orgány v zánětlivé reakci

Tertiary lymphoid organs in inflammatory reaction

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Školitel: RNDr. Magdaléna Krulová, Ph.D.

Praha, 2017

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 20.8.2017

.....

Poděkování:

Ráda bych poděkovala své školitelce RNDr. Magdaleně Krulové, Ph.D. za věnovaný čas, trpělivost, ochotu a odborné vedení při zpracování bakalářské práce. Dále bych ráda poděkovala své rodině, která mě v průběhu mého studia podporovala.

Abstrakt

Terciární lymfoidní orgány (TLOs) jsou spojené se zánětlivými reakcemi u autoimunitních onemocnění nebo chronických zánětů. Tyto organizované T a B buněčné agregáty se strukturně i funkčně podobají sekundárním lymfoidním orgánům (SLOs). TLOs díky svému umístění v periferních tkáních umožňují imunitnímu systému reagovat rychleji a efektivněji na antigeny a patogeny vyskytující se v organismu a rozvíjet adaptivní imunitní odpovědi. V současné době je diskutabilní, zda TLOs mají patogenní či ochranné funkce. Tato práce je zaměřená na postnatální vznik těchto nových struktur, tak zvanou neogenezi a interakce buněk, cytokinů a chemokinů vyskytujících se v TLOs. A v neposlední řadě dopad TLOs se zaměřením na transplantační reakce.

Klíčová slova:

terciární lymfoidní orgány, imunitní systém, zánětlivá reakce, lymfatická neogeneze

Abstract

Tertiary lymphoid organs (TLOs) are associated with inflammatory reactions in autoimmune diseases or chronic inflammation. These organized T and B cell aggregates are structurally and functionally similar to secondary lymphoid organs (SLOs). TLOs, due to their location in peripheral tissues, enable the immune system to respond more quickly and effectively to antigens and pathogens occurring in the body and to develop adaptive immune response. It is currently debatable whether TLOs have pathogenic or protective functions. This work focuses on the postnatal emergence of these new structures, the so-called neogenesis and interaction of cells, cytokines and chemokines occurring in TLOs. And last but not least, the impact of TLOs on the transplant response.

Keywords:

tertiary lymphoid organs, immune system, inflammatory reaction, lymphoid neogenesis

Obsah

Seznam zkratk	6
1. Úvod	8
2. Charakteristika terciárních lymfoidních orgánů	9
3. Vývoj lymfatických orgánů	10
3.1. Sekundární lymfatické orgány a jejich organogeneze	13
3.2. Lymfatická neogeneze	14
4. Buněčné typy v terciárních lymfatických orgánech	16
4.1. Dendritické buňky	18
4.2. B buňky	18
4.3. Makrofágy	19
4.4. Folikulární dendritické buňky	19
5. Terciární lymfoidní orgány při transplantaci	20
6. Závěr	21
Seznam použité literatury	22

Seznam zkratek:

APCs	buňky prezentující antigen (antigen-presenting cells)
BALT	bronchiální lymfatická tkáň (bronchus-associated lymphoid tissue)
CD	diferenční antigen (cluster of differentiation)
CLPs	lymfoidní progenitory (common lymphoid progenitors)
DCs	dendritické buňky (dendritic cells)
FDCs	folikulární dendritické buňky (follicular dendritic cells)
FRCs	fibroblastické retikulární buňky (fibroblastic reticular cells)
GCs	germinální centra
gp	glykoprotein
HEVs	venuly s vysokým endotelem (high endothelial venules)
HLA	lidský leukocytární antigen (human leukocyte antigen)
ICAM	mezibuněčná adhezivní molekula (intercellular adhesive molecule)
ICs	imunitní komplexy (immune complexes)
iBALT	indukovaná bronchiální lymfatická tkáň (induced bronchus-associated lymphoid tissue)
Id	inhibitor DNA vazby (inhibitor of DNA binding)
IL	interleukin
IL-R	receptor interleukinu
IS	imunitní systém
LECs	lymfatické endotelové buňky (lymphatic endothelial cells)
LN	lymfatické uzliny (lymph nodes)
LT	lymfotoxin
LTi	lymfoidní tkáňový induktor
LTo	lymfoidní tkáňový organizátor
LT β R	receptor lymfotoxinu β (lymphotoxin beta receptor)
LV	lymfatická céva (lymphatic vessel)
MAdCAM	mukózní adhezivní molekula (mucosal adherence cell adhesion molecule)
MALT	slizniční lymfatická tkáň (mucosa-associated lymphoid tissue)
MHC	hlavní histokompatibilitní komplex (major histocompatibility complex)
NALT	nosní lymfatická tkáň (nasal-associated lymphoid tissue)

NF- κ B	nukleární faktor kappa B
NOD	neobézní diabetické
PNAd	adresin periferních uzlin (peripheral node addressin)
ROR γ t	retinoic acid receptor-related orphan receptor gamma
SCS	subkapsulární sinus (subcapsular sinus)
SLOs	sekundární lymfoidní orgány
Tfh	folikulární pomocný T lymfocyt (follicular helper T-cell)
TLOs	terciární lymfoidní orgány
TNF	faktor nekrotizující nádory (tumor necrosis factor)
TRANCE	TNF-related activation-induced cytokine
VCAM	cévní adhezivní molekula (vascular cell adhesion molecule)

1. Úvod

Imunitní systém (IS) je souhrn mechanismů zajišťující integritu organismu. IS má schopnost rychle a efektivně reagovat na cizorodé patogeny a poškození organismu. Patří mezi základní homeostatické mechanismy organismu. IS využívá dva základní mechanismy k udržování homeostatického prostředí – vrozený (neadaptivní) a adaptivní (antigen specifický). Hlavními složkami IS jsou lymfatické tkáně a orgány, buňky imunitního systému (imunocyty) a molekuly imunitního systému.

Jako primární lymfatické orgány označujeme kostní dřeň a thymus. Slouží jako místa vzniku, diferenciací a zrání imunokompetentních buněk. Hlavními místy, kde probíhají antigenně specifické imunitní odpovědi jsou sekundární lymfatické orgány (SLOs). Mezi SLOs řadíme slezinu, lymfatické uzliny a slizniční tkáň. K tvorbě těchto lymfatických orgánů dochází již v prenatálním období procesem označovaným jako organogeneze. Oproti tomu v postnatálním období může docházet ke vzniku nových lymfatických struktur, které dnes označujeme nejčastěji jako terciární lymfoidní orgány (TLOs).

TLOs jsou rozpoznávány jako společný rys mnoha chronických zánětlivých onemocnění. Výskyt TLOs je detekován v mnoha rozmanitých patologických stavech, často bývají spojeny s autoimunitními, ale i s infekčními onemocněními. Momentálně jednou z nejvýznamnějších otázek je, jaký vliv mají TLOs na další průběh onemocnění a zda můžeme léčbu cíleně směřovat na mechanismy probíhající v TLOs. Destrukce již vytvořených TLOs nebo prevence nového vzniku TLOs může být prospěšná u autoimunitních onemocnění a ostatních zánětlivých stavů, kde TLOs mají negativní účinky (např. rejekce štěpu, roztroušená skleróza). Naopak jinde může být přítomnost TLOs spojena s pozitivním dopadem na průběh onemocnění – například u aterosklerózy, rakoviny.

Cílem této práce je shrnout dosud známé poznatky o vzniku, udržování a funkci TLOs. Pokusit se objasnit, proč je pro organismus výhodné budovat tak složité struktury mimo klasické lymfatické tkáně. Jaký je význam TLOs v imunitní odpovědi na patogeny a jak můžeme v budoucnu využít funkce TLOs ve prospěch léčebných postupů.

2. Charakteristika terciárních lymfoidních orgánů

TLOs, jindy označované také jako terciární lymfatické struktury nebo ektopické lymfoidní struktury, se anatomicky podobají SLOs. Vykazují různé stupně organizace, často mají oddělené T a B buněčné zóny, germinální centra (GCs), síť folikulárních dendritických buněk (FDCs), podpůrné stromální retikulum a venuly s vysokým endotelem (HEVs). TLOs, ovšem na rozdíl od SLOs, nejsou zapouzdřené a postrádají nezávislou vaskulární síť.

TLOs se tvoří až v postembryonálním životě v reakci na specifické patogenní odpovědi. Vznikají na periférii tkání lymfatickou neogenezí. TLOs se mohou vyvinout v různých zanícených tkáních s velmi odlišnou frekvencí v závislosti na anatomickém místě a onemocnění. Díky své plasticitě se mohou utvářet v mnoha nelymfoidních tkáních (Ruddle, 2016). Často se vyskytují u chronických zánětů, rakoviny, rejekce štěpu, autoimunitních onemocnění a mnoha dalších patologických stavů (Brown et al., 2011; Mitsdoerffer and Peters, 2016).

Prostřednictvím TLOs může docházet k omezení patogenní buněčné aktivity nebo se zde naopak mohou patogenní buňky generovat v závislosti na charakteru onemocnění, kde se TLOs vyskytují. Předpokládá se, že TLOs fungují jako místa, která poskytují lokální zdroj protilátek, vytvořených jako výsledek prezentace antigenu, aktivace a maturace lymfocytů v nově vytvořených strukturách (Hughes et al., 2016). Tyto lymfoidní struktury mohou v úplné nepřítomnosti SLOs poskytnout homeostatické prostředí naivním CD8 buňkám, které se diferencují do paměťových buněk, prolifерují a následně odstraní vyvolávající infekci. Bylo také demonstrováno, že se v GCs TLOs tvoří plazmatické buňky vylučující specifické dlouhožijící protilátky nezávisle na SLOs (Moyron-Quiroz et al., 2006).

Pro lepší komunikaci s okolím mají složitěji strukturované TLOs vlastní HEVs, které umožňují vstup naivních lymfocytů a lymfatické cévy umožňující vstup buněk prezentující antigen (APCs). Přítomnost HEVs může být dokonce považována za rozlišovací znak TLOs od akutního zánětu (Ruddle, 2016).

Obecný vliv TLOs na vývoj a průběh onemocnění není v současné době přesně určen. Je snaha určit dopad přítomnosti TLOs u konkrétních onemocnění, ale i zde je to dosti problematické. Jak moc TLOs přispívají k pokračování zánětu a poškození tkáně? U odmítnutí lidského štěpu je tvorba TLOs spojována s negativním vlivem v průběhu imunitní reakce, kdy dochází ke generaci buněčné autoimunitní odpovědi (Koenig and Thauat, 2016). V jiných studiích byla tvorba TLOs u transplantátů spojena s regulačními účinky imunitní

odpovědi (Brown et al., 2011). Problematika tvorby TLOs spojená s rejekcí štěpu je podrobněji popsána níže.

Roztroušená skleróza je onemocnění spojované s těžším průběhem v přítomnosti B buněčných agregátů v mozkových plenách připomínající TLOs. Znamenalo by to, že k diferenciaci autoreaktivních T lymfocytů a B buněk prezentující autoantigeny, může docházet i uvnitř centrálního nervového systému. Buněčné agregáty mohou poskytnout výhodné mikroprostředí pro interakci B buněk s T buňkami a FDCs, které umocňuje patogenezí roztroušené sklerózy a dochází k trvalému poškození neuronů (Mitsdoerffer and Peters, 2016). Podobné negativní účinky TLOs byly zkoumány u neobězných diabetických (NOD) myší, kde autoreaktivní T buňky ničí pankreatickou tkáň (Lee et al., 2006). U NOD myší byli prováděny další studie, jak TLOs přesněji ovlivňují průběh diabetu a zda je možné docílit preventivní léčby prostřednictvím TLOs (Penaranda et al., 2010). Zatím ale nebyly popsány jednoznačné výsledky.

TLOs asociované s rakovinou jsou naopak obecně spojovány s lepší prognózou onemocnění (Hiraoka et al., 2015; Wirsing et al., 2014). TLOs zpočátku mohou reagovat na sekundární chronické zánětlivé změny tkání v okolí rakoviny, následně však mohou udržovat vývoj nádorově specifických efektorových a paměťových buněk (Gu-Trantien and Willard-Gallo, 2013). Pozitivní vliv přítomnosti TLOs byl oproti očekávaným výsledkům zaznamenán i v sítnici myší, které vykazovaly méně aktivní zánět a pomalejší zhoršení zrakové funkce, než sítnice myší bez těchto struktur (Kielczewski et al., 2016).

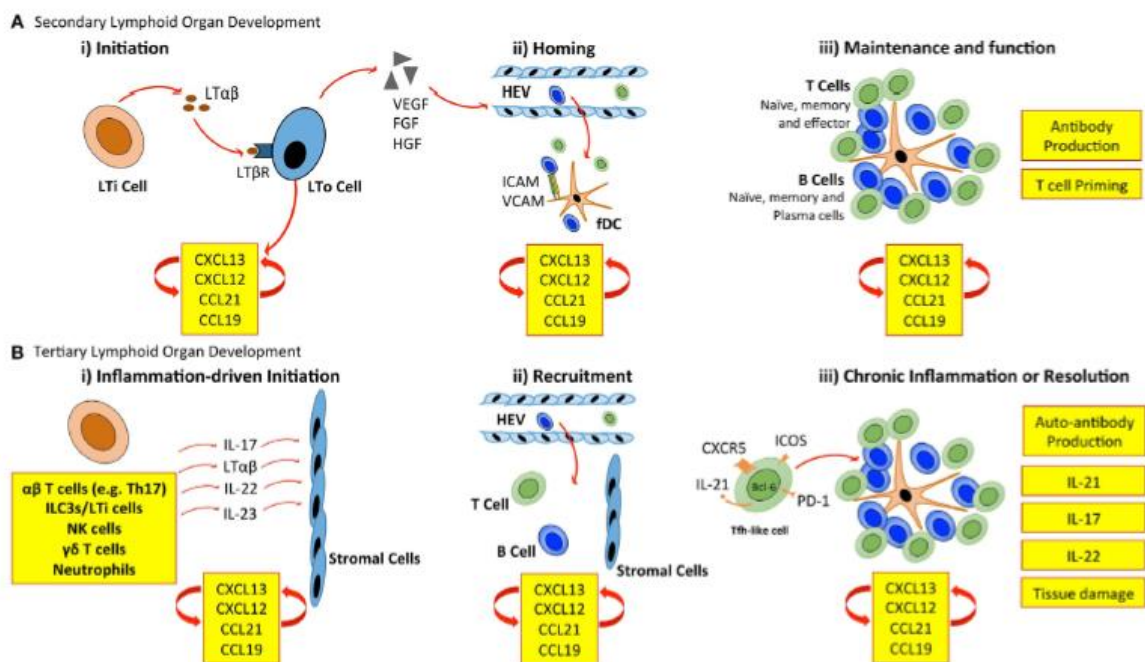
3. Vývoj lymfatických orgánů

SLOs se vyvíjejí během embryogeneze nebo v časném postnatálním období. Vývoj je zahájen interakcemi mezi hematopoetickými buňkami nově vznikajícími ve fetálních játrech a nezralými mesenchymálními nebo stromálními buňkami nacházejících se v místě budoucího lymfoidního orgánu. Jejich tvorba není závislá na rozpoznání antigenů nebo patogenů (Randall et al., 2008).

TLOs jsou spíše indukované v reakci na zánětlivé stimuly, a proto mají potenciál k rozvoji v jakékoliv tkáni, kde jsou trvalé známky zánětu (Jones et al., 2016). Jak již bylo zmíněno TLOs vytvářejí méně strukturně uspořádané jednoduché T a B buněčné agregáty nebo naopak vysoce organizované a segregované struktury zahrnující HEVs, aktivní GCs a

často také síť FDCs. Tato různorodost může odrážet pouze skutečnost, že byly pozorovány různé fáze TLOs, ve kterých byly prováděny biopsie tkání. Různá strukturní uspořádanost může představovat vývojová stádia TLOs v odlišných časových bodech (Jones et al., 2016).

Dnes se předpokládá, že TLOs zesilují imunitní odpověď v bezprostřední blízkosti zánětu, a to podobnými mechanismy jako u SLOs. Proto se také dost často vychází z předpokladu, že by TLOs měli i podobnými mechanismy vznikat. Aby mohla být tato hypotéza blíže studována, je potřeba znát základní principy vzniku SLOs, které se následně porovnají s těmi u formujících se TLOs – pro lepší vizualizaci poslouží obrázek 1.



Obrázek 1 Buněčná kontrola vývoje lymfoidních orgánů. (A) Sekundární lymfoidní orgány: Lymfoidní tkáňové indukční (LTi) buňky se hromadí v místech vývoje SLO a vylučují lymfotoxin (LT) $\alpha\beta$, který se váže na receptor $LT\beta$ ($LT\beta R$) exprimovaný na lymfoidních tkáňových organizačních (LTo) stromálních buňkách. LTo buňky reagují uvolněním homeostatických chemokinů, dalším atrahováním a prostorovým uspořádáním hematopoetických buněk do lymfatických orgánů. Uvolňování růstových faktorů LTo stromálními buňkami podporuje vývoj HEVs. Exprese mezibuněčných adhezních molekul (ICAM) a cévních adhezních molekul (VCAM) na FDCs a rezidentních stromálních buňkách dále podporuje vtok leukocytů. Stromální LTo buňky jsou také schopné diferencovat buněčné linie (např. FDCs), které podporují vývoj SLOs. SLOs jsou místa pro aktivaci a diferenciaci T buněk. Folikulární pomocné T lymfocyty (Tfh) podporují vývoj a udržování GCs a interagují s B buňkami pro tvorbu vysoce afinitních protilátek. **(B) Terciární lymfoidní orgány:** Při vývoji TLOs mohou imunitní buňky nahradit konvenční buňky, které se podílejí na lymfoidní organogenezi. Akumulace imunitních buněk iniciujících TLOs v místech zánětu a jejich interakce s tkáňovými rezidentními a stromálními buňkami iniciuje uvolňování homeostatických chemokinů, které se podílejí na atrahování a prostorové organizaci buněk do TLOs. Plastičnost T buněk může přispívat k rozvoji TLOs prostřednictvím získání podobných Tfh buněk s charakteristikami, které podporují aktivitu B buněk a tvorbu protilátek. Stejně jako u SLOs, FDCs mohou podporovat vývoj a údržbu TLOs prostřednictvím produkce chemokinů a poskytnout buněčnou síť pro migraci B buněk.

(převzato z: Jones, G. W., Hill, D. G., & Jones, S. A. (2016). Understanding Immune Cells in Tertiary Lymphoid Organ Development: It Is All Starting to Come Together. *Frontiers in Immunology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00401>)

3.1. Sekundární lymfatické orgány a jejich organogeneze

Slezina je SLO s jedinečnou strukturou, která je dokonale uzpůsobena k vyšetřování antigenů z krevního řečiště. Slizniční lymfatické tkáně (MALT) jsou více či méně organizované shluky lymfoidních folikulů mezi něž patří Peyeroovy pláty, apendix, mandle, nosní lymfatická tkáň (NALT) a bronchiální lymfatická tkáň (BALT). Díky vysoce organizované buněčné struktuře a strategickému umístění, vytvářejí SLOs optimální prostředí pro buněčnou komunikaci a generování APCs. SLOs zprostředkovávají komunikaci mezi naivními lymfocyty a APCs, vedoucí k zahájení adaptivní imunitní odpovědi (van de Pavert and Mebius, 2010). Již během embryonálního vývoje se cirkulující hematopoetické buňky akumulují na předem strategicky určených místech po celém organismu, kde jsou posléze uspořádány do T a B buněčně specifických oblastí (Mebius, 2003).

Organogeneze je velice složitý proces, kdy každý SLO vyžaduje trochu odlišné signály vedoucí k jeho správné tvorbě. K rozvoji lymfoidních tkání jsou nezbytné adhezní molekuly, cytokiny, chemokiny a interakce mezi $CD3^+CD4^+CD45^+$ LT_i buňkami a LTO buňkami (Mebius, 2003). V procesu je nezbytný $LT\alpha_1\beta_2$ signalizující přes receptor $LT\beta R$ přítomný na cirkulujících buňkách (Mebius, 2003). První hematopoetické buňky jsou do místa tvorby lymfatických uzlin (LNs) přitahovány chemokiny produkovanými stromálními buňkami (van de Pavert and Mebius, 2010). Po interakci mezi hematopoetickými buňkami a okolními stromálními buňkami dochází k vytvoření primitivní struktury, která nakonec vede ke vzniku lymfatického orgánu. Tato interakce mimo jiné spouští a zesiluje expresi adhezních molekul (VCAM1, ICAM1, mukózních adhezních molekul – MAdCAM1) a homeostatických chemokinů [CC-ligand 19 (CCL19), CCL21 a CXC chemokinový ligand 13 (CXCL13)], které jsou nutné pro atrahování a setrvání dalších hematopoetických buněk v místě vzniku SLOs (van de Pavert and Mebius, 2010).

Na začátku se lymfatické struktury jeví jako jednoduché a homogenní buněčné agregáty, které se ale později definují do rozdělených T a B buněčných zón. Pro počáteční tvorbu oddělených folikulů je vyžadována signalizace $LT\alpha_1\beta_2$, ale není nutná přítomnost maturovaných T a B buněk. Zralé T a B buňky vstupující do již vytvořené lymfatické tkáně jsou ihned distribuovány do svých cílových buněčných zón (Hashi et al., 2001).

LT_i buňky jsou generovány z lymfoidních progenitorů (CLPs), které se nacházejí ve fetálních játrech a kostní dřeni (Constantinides et al., 2014; Mebius, 2003). Pro správnou

tvorbu LT_i buněk z CLPs je zapotřebí postupné a přesně načasované zapojení Notch, Id2 a ROR γ t signalizace (Cherrier et al., 2012). LT_i buňky se působením cytokinů (TRANCE a IL-7) diferencují na buňky exprimující LT $\alpha_1\beta_2$ a poté jsou pomocí homeostatických chemokinů (včetně CXCL13, CCL19 a CCL21) přitahovány do místa vzniku lymfatického orgánu (Randall et al., 2008). Z VCAM1⁺ICAM1⁺ LTo buněk, přítomných v rozvíjejících se lymfatických tkáních, můžou vzniknout různé stromální buněčné linie nacházející se později ve zralých lymfatických tkáních – FDCs, fibroblastické retikulární buňky (FRCs), buňky lymfatického a vaskulárního endotelu (Mebius, 2003).

Jak už bylo naznačeno, signální dráha lymfotoxinu je důležitá díky své schopnosti indukovat diferenciaci mezenchymálních buněk, HEVs a FDCs a expresi homeostatických chemokinů. LT není důležitý pouze v počáteční fázi vývoje SLOs, ale jeho exprese udržuje lymfoidní strukturu a segregaci T a B buněčných oblastí i v dospělosti (Randall et al., 2008). Signalizace receptoru LT β R spouští expresi adhezních molekul, chemokinů a také spouští transkripční dráhy NF- κ B vedoucí k expresi VCAM1 a k indukci chemokinů (Mebius, 2003).

Pro správný vývoj jednotlivých SLOs jsou požadavky na cytokiny a chemokiny velmi podobné. Výjimkou je ale NALT, která ke svému vývoji potřebuje výrazně odlišné vývojové dráhy oproti konvenčním lymfatickým tkáním. Organogeneze NALT není závislá na signálech zprostředkovaných z IL-7R a signalizační dráhy LT $\alpha_1\beta_2$ a jeho LT β R receptoru (Fukuyama et al., 2002). Vývoj NALT je někdy přirovnáván k vývoji nově vznikajících TLOs. Pro správný vývoj lymfatických uzlin a Peyeroých plátů jsou nezbytné intracelulární molekuly jako jsou ROR γ t, Id2 a Ikaros a signalizační dráha CXCL13 zprostředkovaná CXCR5 receptorem (Mebius, 2003).

3.2. Lymfatická neogeneze

Lymfatická neogeneze je proces tvorby nových struktur s lymfatickým charakterem. Dochází k postupnému uspořádání imunitních efektorů do funkčních ektopických lymfoidních struktur (Koenig and Thauat, 2016). Molekulární mechanismy podílející se na organizaci a udržování TLOs jsou podobné jako u SLOs, zahajovací kaskáda bude ale pravděpodobně jiná. Vývoj obou lymfatických struktur je závislý na homeostatických chemokinech (např. CXCL13, CCL19, CCL21 a CXCL12) a cytokinech (např. LT $\alpha\beta$). Zatímco mechanismy u TLOs jsou indukovány zánětlivými spouštěči, tak u SLOs jsou již

předem vývojově naprogramované (Jones et al., 2016). Z toho vyplývá, že jsou známy mechanismy, které vytvářejí a následně se i podílejí na architektonickém uspořádání TLOs, ale není moc poznatků o událostech, které tyto mechanismy aktivují.

TLOs se mohou vyvinout během chronického zánětu podobnými mechanismy jako SLOs, ale za působení odlišných lymfocytů nebo lymfatických buněk (Lochner et al., 2011). Tvorba TLOs může být indukována nezávisle na ROR γ t a LTi buňkách. Například u střevních TLOs mohou B buňky exprimovat LT $\alpha_1\beta_2$ a nahradit tak funkci LTi buněk (Lochner et al., 2011). V některých případech může být stimulace iniciující lymfoidní neogenezi v infikovaných tkáních faktorem indukujícím a zároveň udržujícím pozitivní zpětnovazebnou smyčku, která zahrnuje aktivaci imunitních buněk (Aloisi and Pujol-Borrell, 2006).

Při vývoji TLOs ve štítné žláze bylo zjištěno, že nejsou vyžadovány konvenční LTi buňky, ale proces je iniciován maturovanými CD3⁺CD4⁺ T buňkami (Marinkovic et al., 2006). Vstup T a B lymfocytů z periferie umožňuje mimo jiné exprese L-selektinu na jejich povrchu, který se váže na molekulu adresinu periferních uzlin (PNAd) na HEVs (Xu et al., 2003). Interakce mezi CD3⁺CD4⁺ T buňkami a dendritickými buňkami vstupujícími z PNAd⁺ cév umožňuje sekreci dalších chemokinů, které rekrutují lymfocyty a dendritické buňky (DCs) z periferie (Marinkovic et al., 2006).

Jeden z nejdůležitějších cytokinů jak v organogenezi, tak v neogenezi je LT α . Zánět vyvolaný expresí LT α pod kontrolou potkaního inzulinového promotoru má několik charakteristik lymfatických orgánů – buněčnou kompozici, naivní a paměťové T buňky, B buňky, DCs a FDCs a chemokinovou indukci. Důležitým chemokinem pro správnou organizaci lymfatických tkání a nábor B buněk je CXCL13 konstitutivně produkováný stromálními buňkami a CCL21 exprimovaný HEVs a stromálními buňkami v T buněčné zóně. Podobně jako v LNs mají chemokiny CCL19 a CCL21 úlohu směřovat T buňky a DCs do kortexu a CXCL13 směřovat B buňky do buněčných folikulů (Hjelmström et al., 2000). Nedávno bylo zjištěno, že časná exprese IL-22 je nezbytná pro produkci CXCL13 stromálními buňkami. Tato úloha IL-22 je důležitá, protože ovlivňuje akumulaci B buněk, organizaci a zrání v rámci TLOs (Barone et al., 2015).

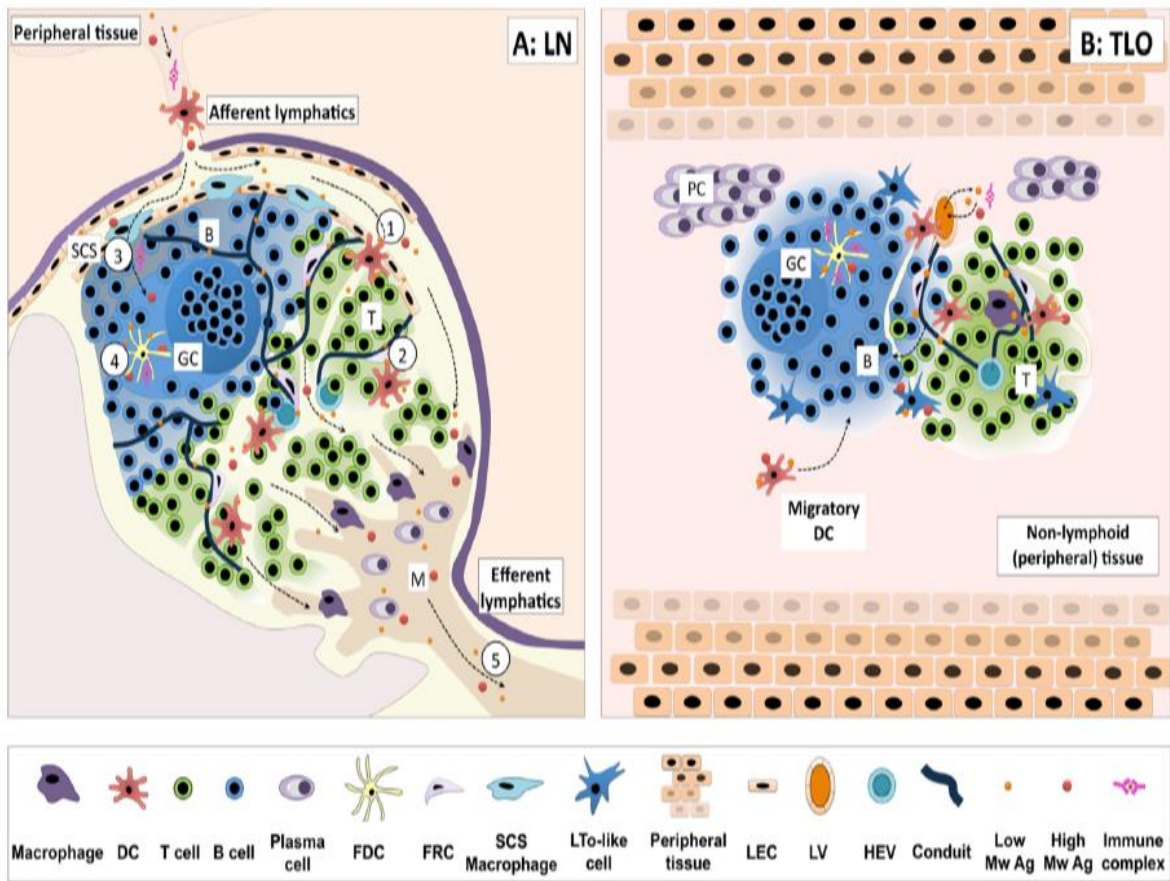
Pro správnou tvorbu a udržení GCs jsou vyžadovány Tfh, které také umožňují poskytnutí ochranné imunologické paměti (Kielczewski et al., 2016). Tfh buňky pomáhají

B lymfocytům v konečné diferenciaci na plazmatické buňky a v produkci velkého množství protilátek.

HEVs v TLOs fungují podobně jako v LN, umožňují naivním a paměťovým buňkám opustit krevní řečiště a vstoupit do parenchymu tkáně, kde mohou interagovat se svým antigenem (Martinet et al., 2012; Ruddle, 2016). Kompletní vývoj HEVs je indukován expresí LT $\alpha\beta$ (Drayton et al., 2003).

4. Buněčné typy v terciárních lymfatických orgánech

Imunitní odpověď je zprostředkovaná mnoha typy buněk a molekul a jejich vzájemnými interakcemi. K vzájemným interakcím dochází na úrovni SLOs, popřípadě TLOs, pokud se v tkáních nacházejí. TLOs reagující na lokální imunitní odpověď se vyskytují blíže zánětlivým lézím a mohou efektivněji a rychleji poskytnout cílenou imunitní reakci (Jones et al., 2016). Mezi jejich další výhody můžeme započítat i to, že nejsou zapouzdřené, tudíž jsou přímo vystaveny signalizaci, jako jsou stimulační molekuly a cytokiny. A v neposlední řadě je jejich výhodou také přímo mikroprostředí, kde se nacházejí. Srovnání mikroprostředí a buněčného zastoupení v klasické lymfatické uzlině a v TLOs je ukázáno na obrázku 2, kde je také znázorněno zpracování antigenu v těchto lymfoidních strukturách.



Obrázek 2 Presentace antigenu v LNs a TLOs. (A) Lymfatická uzlina: Antigen přichází do LNs aferentní lymfatickou cévou (LV), transportovaný pomocí DCs nebo volně odváděný z periferních tkání. DCs projdou podkapsulárním sinem a vstupují do kortexu (oblast T buněk), migrují v reakci na vhodné chemotaktické podněty (1). Zde dochází k interakci T buněk s peptidovými-MHC (2). Kromě toho mohou být malé rozpustné antigeny zpřístupněny B buňkám prostřednictvím pórů v endotelové vrstvě nebo transportovány pomocí makrofágů, stejně jako u větších antigenů a imunních komplexů (ICs) (3). Takový antigen může být dále přenesen na FDCs pro prezentaci B-buňkám (4). Volně odváděný antigen může také vystoupit z LN eferentní LV a dosáhnout další lymfatické uzliny v pořadí (5). **(B) Terciární lymfoidní orgány:** Obecně TLOs postrádají definovanou kapsuli, což může umožnit volnější průchod antigenu strukturou. V TLOs byly identifikovány lymfatické struktury a struktury podobné kanálům a mohou fungovat podobně jako v SLOs, ačkoli to dosud nebylo formálně prokázáno. Migrace DCs z okolních tkání do TLOs byla skutečně pozorována u několika modelů tvorby TLOs. TLOs tedy pravděpodobně sdílejí společné dráhy pro manipulaci s buněčně asociovanými a volnými antigeny, aby optimalizovaly fungování adaptivní imunitní odpovědi.

Zkratky použité v popisu obrázku 2: B – B buněčné folikuly; T – T buněčné oblasti; SCS – subkapsulární sinus; GC – germinální centrum; DC – dendritická buňka; FDC – folikulární dendritická buňka; FRC – fibroblastické retikulární buňky; LTo – organizátor lymfoidní tkáně; LEC – lymfatická endotelová buňka; LV – lymfatická céva; HEV – vysoký endotelový žilka

(převzato z: Hughes, C.E., Benson, R.A., Bedaj, M., and Maffia, P. (2016). Antigen-Presenting Cells and Antigen Presentation in Tertiary Lymphoid Organs. *Front. Immunol.* 7.)

4.1. Dendritické buňky

DCs jsou klasické APCs, které zprostředkovávají interakci mezi rychlou vrozenou a pomalejší antigenně specifickou imunitní odpovědí. Vyskytují se téměř ve všech orgánech a neustále kolují v krvi a v lymfě.

Podle některých dat, jsou DCs nezbytnou součástí mechanismů udržující homeostázu indukované bronchiálně asociované lymfatické tkáně (iBALT) a humorální imunity proti chřipkovému viru. Tato struktura je forma TLO indukovaná v plicích po infekci chřipkovým virem. Jak ukazují různé studie, DCs výrazně přispívají k organizaci a udržení iBALT, a to i dlouho po odstranění viru z plic. DCs exprimují receptor $LT\beta R$ a homeostatické chemokiny (CXCL-12, CXCL-13 a CCL-19 a CCL-21). Eliminace DCs po odstranění viru z plic měla za následek rozpad iBALT a snížení počtu reakcí v GCs. Pomocí použití indukované deplece DCs došlo k odstranění iBALT struktur, ale nikoliv SLOs. Tato studie prokázala roli těchto struktur při lokální i humorální imunitě proti chřipkovému viru (GeurtsvanKessel et al., 2009). V jiné studii, kdy došlo k delecí $CD11c^+$ DCs z plicní tkáně působením difterie toxinem, bylo prokázáno, jaký vliv mají DCs na iBALT. Došlo zde totiž k velkému snížení celkové velikosti iBALT struktury, zatímco celkový počet iBALT struktur zůstal stejný jako u neléčených zvířat (Halle et al., 2009).

Další studie popisují důležitý význam DCs při tvorbě a diferenciaci nových LVs v TLOs (Muniz et al., 2011). Lymfangiogeneze je závislá na přílivu $CD11c^+$ DCs z periferie do štítné žlázy pomocí atraktivního CCL21 chemokinů. $CD3^+CD4^+$ T buňky mohou usnadňovat vstup DCs z periferie do štítné žlázy (Marinkovic et al., 2006). $CD3^+CD4^+$ T buňky také podporují klastrování DCs. Vznik klastrů je spojován se zvýšenou expresí ICAM a VCAM, expresí chemokinů a diferenciací LECs.

Všechny zde popsané poznatky dokazují, jaký vliv mají DCs na stimulaci TLOs. Je patrné, že DCs se mohou přímo podílet na neogenezi TLOs v zánětlivé reakci.

4.2. B buňky

Naivní B buňky se vyvíjejí v kostní dřeni, následně osidlují lymfatické orgány, kde probíhá somatická hypermutace a afinitní zrání v GCs. B buňky, které se střetly s antigenem se diferencují na vysokoafinitní plazmatické buňky produkující specifické protilátky. Část B lymfocytů se po střetu s antigenem diferencuje na paměťové buňky (zprostředkovávají

tzv. imunologickou paměť). Jednou z hlavních úloh B buněk je zprostředkovat prezentaci antigenu CD4+ T buňkám pomocí molekuly MHC glykoproteinu (gp) II. třídy.

U vysoce organizovaných TLOs se mohou vyskytovat B buněčné folikuly s GCs, které jsou strukturně a funkčně podobné GCs v SLOs (Srikakulapu et al., 2016). V GCs terciárních lymfatických orgánů může probíhat také reakce na antigen, afinitní zrání a izotopový přesmyk B lymfocytů a docházet zde ke generování plazmatických a paměťových buněk. A to i přes to, že lokální typ B buněk se může nepatrně odlišovat od typů v SLOs a kostní dřeni (Srikakulapu et al., 2016). Dále bylo prokázáno, že B buňky jsou vyžadovány při expanzi LNs, lymfangiogenezi a zvyšování migrace DCs z periferie po zánětlivé reakci v tkáni (Angeli et al., 2006).

4.3. Makrofágy

Makrofágy jsou dlouhožijící buňky schopné fagocytózou odstranit buněčný odpad. V případě infekce se stávají makrofágy součástí první obranné linie. Mají schopnost koordinovat zánětlivou odpověď – produkují cytokiny a další prozánětlivé či protizánětlivé signály.

Podle studie je jedna z možných rolí makrofágů ve formování TLOs působení jako LTI buňky (Guedj et al., 2014). Při zkoumání této možné funkce makrofágů, se prokázalo, že zvyšují produkci TNF- α a LT- α , což jsou dva klíčové indukující cytokiny. Bylo také prokázáno, že při tvorbě aortálních TLOs není vyžadována signalizace přes receptor LT β R. Ukázalo se, že do odpovědi buněk hladkých svalů cév na zánětlivé makrofágy jsou zapojeny TNF receptory. Makrofágy jsou schopné exprimovat lymfatické endotelové markery a hrají tak důležitou úlohu v lymfangiogenezi (Utrera-Barillas et al., 2010).

4.4. Folikulární dendritické buňky

FDCs mají schopnost vázat ICs v B buněčných folikulech. V minulosti byly mylně považovány za typ DCs, ale ukázalo se, že FDCs jsou stromálního původu. Vznikají z perivaskulárních prekurzorů exprimující receptor β růstového faktoru produkovaný destičkami. Prekurzory FDCs se vyskytují i v nelymfoidních orgánech, a to může poskytnout vysvětlení rychlého formování TLOs v místech chronického zánětu. Generování časných

perivaskulárních prekurzorů je nezávislé na LT, další procesy zrání již vyžadují signalizaci LT a členů TNF rodiny.

FDCs umí prezentovat nezpracované antigeny ve formě ICs. Díky této prezentaci antigenů, produkci chemokinů a adhezivních molekul, umožňují FDCs formování B buněčné odpovědi a modelování lokálního mikroprostředí (Krautler et al., 2012).

5. Terciární lymfoidní orgány při transplantaci

Transplantace je nejlepší možnost léčby u pacientů trpících selháním životně důležitých orgánů. Při transplantaci dojde k obnově fyziologických funkcí prostřednictvím chirurgického nahrazení defektního orgánu funkčním štěpem od dárce (Koenig and Thauat, 2016). Síla imunitní odpovědi na alogenní transplantát závisí na úrovni genetických rozdílů HLA mezi dárce a příjemcem. Pacient musí mít po zbytek života potlačen IS pomocí imunosupresivní léčby. Dnes jsou imunosupresiva zaměřena především na T buněčnou odpověď, díky tomu dochází ke snížení akutní rejekci štěpu (reakce a zničení transplantátu nastává několik dní až měsíců po transplantaci).

I u rejekce alogenního transplantátu může docházet neogenezi k tvorbě TLOs v důsledku vyššího množství antigenů v daném místě. Uspořádání lymfoidní struktury je spojováno s negativním účinkem na imunitní odpověď, kdy B buňky z TLOs přispívají k akutní a chronické rejekci alogenního transplantátu. V GCs nově vzniklé lymfatické tkáni se naivní B buňky diferencují na HLA – specifické plazmatické buňky a paměťové B buňky (Thauat et al., 2010). Ve studii využívající transplantaci kožního transplantátu bylo dokázáno, že TLOs jsou schopny v nepřítomnosti SLOs udržovat imunitní odpověď a podporovat akutní rejekci štěpu a vytvářet paměťové buňky z naivních T lymfocytů (Nasr et al., 2007). Jako jeden z možných terapeutických cílů byl navržen LTβR, který by mohl zabránit dokončení vývoje TLOs a předcházet tak zesílení adaptivní imunitní odpovědi a následné akutní rejekci alogenního transplantátu (Thauat et al., 2010).

Jiné studie ale ukazují, že TLOs nemusí podporovat pouze destruktivní aloimunitní odpověď, mohou přispívat i k toleranci při transplantaci štěpu ledviny (Brown et al., 2011; Xu et al., 2016). Tato pozorování naznačují, že TLOs slouží k zesílení lokální imunitní odpovědi, a to jak v negativním tak v pozitivním smyslu (Brown et al., 2011; Koenig and Thauat, 2016). Což bylo mimo jiné také potvrzeno tím, že nebyly nalezeny žádné zásadní

strukturní rozdíly mezi tolerantními TLOs a TLOs nalezenými v organismech s chronickou rejekcí (Brown et al., 2011).

6. Závěr

V této práci jsem popsala význam TLOs při vývoji adaptivní imunitní odpovědi a reakci na antigeny nebo patogeny vyskytující se u autoimunitních onemocnění nebo chronických zánětů. Oproti klasickým SLOs zprostředkovávají TLOs imunitní odpověď cílenou na konkrétní podnět, reagují rychleji a efektivněji. TLOs mají velký potenciál pro terapeutické využití, mohou podporovat žádanou imunitní odpověď. Jejich přítomnost je spojována s lepší prognózou u pacientů s rakovinou, vzhledem k jejich schopnosti generovat protinádorové protilátky. Dopad vzniku TLOs u transplantace štěpu může být dosti protichůdný – studie nám ukazují, že v některých případech dochází k lepšímu přijetí alogenního transplantátu nebo naopak mohou podporovat rejekci transplantátu. Tento případ demonstruje, že TLOs pouze zesilují imunitní odpověď a při vhodné manipulaci bychom této vlastnosti mohli využít i k léčebným účelům.

Abychom mohli uvažovat o terapeutickém využití TLOs a jejich cílené indukci v onemocnění, musíme nejprve pochopit jejich přesné mechanismy vzniku a udržování v zánětlivé tkáni. A porozumět procesům podílejícím se na vývoji adaptivní imunitní odpovědi. K pochopení mechanismů probíhajících v TLOs nám může pomoci porozumění těm v SLOs. Ale i zde bohužel s novějšími studiemi a metodami zjišťujeme, že ne všechny procesy chápeme správně, a tak jak ve skutečnosti probíhají. Pro rozklíčování těchto problémů je potřeba provést ještě mnoho studií, jak u SLOs, tak u TLOs.

Seznam použité literatury:

- Aloisi, F., and Pujol-Borrell, R. (2006). Lymphoid neogenesis in chronic inflammatory diseases. *Nat. Rev. Immunol.* 6, 205–217. (*)
- Angeli, V., Ginhoux, F., Llodrà, J., Quemeneur, L., Frenette, P.S., Skobe, M., Jessberger, R., Merad, M., and Randolph, G.J. (2006). B cell-driven lymphangiogenesis in inflamed lymph nodes enhances dendritic cell mobilization. *Immunity* 24, 203–215.
- Barone, F., Nayar, S., Campos, J., Cloake, T., Withers, D.R., Toellner, K.-M., Zhang, Y., Fouser, L., Fisher, B., Bowman, S., et al. (2015). IL-22 regulates lymphoid chemokine production and assembly of tertiary lymphoid organs. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 11024–11029.
- Brown, K., Sacks, S.H., and Wong, W. (2011). Tertiary lymphoid organs in renal allografts can be associated with donor-specific tolerance rather than rejection. *Eur. J. Immunol.* 41, 89–96.
- Cherrier, M., Sawa, S., and Eberl, G. (2012). Notch, Id2, and ROR γ t sequentially orchestrate the fetal development of lymphoid tissue inducer cells. *J. Exp. Med.* 209, 729–740.
- Constantinides, M.G., McDonald, B.D., Verhoef, P.A., and Bendelac, A. (2014). A committed hemopoietic precursor to innate lymphoid cells. *Nature* 508, 397–401.
- Drayton, D.L., Ying, X., Lee, J., Lesslauer, W., and Ruddle, N.H. (2003). Ectopic LT α β directs lymphoid organ neogenesis with concomitant expression of peripheral node addressin and a HEV-restricted sulfotransferase. *J. Exp. Med.* 197, 1153–1163.
- Fukuyama, S., Hiroi, T., Yokota, Y., Rennert, P.D., Yanagita, M., Kinoshita, N., Terawaki, S., Shikina, T., Yamamoto, M., Kurono, Y., et al. (2002). Initiation of NALT organogenesis is independent of the IL-7R, LT β R, and NIK signaling pathways but requires the Id2 gene and CD3–CD4+CD45+ cells. *Immunity* 17, 31–40.
- GeurtsvanKessel, C.H., Willart, M.A.M., Bergen, I.M., van Rijt, L.S., Muskens, F., Elewaut, D., Osterhaus, A.D.M.E., Hendriks, R., Rimmelzwaan, G.F., and Lambrecht, B.N. (2009). Dendritic cells are crucial for maintenance of tertiary lymphoid structures in the lung of influenza virus-infected mice. *J. Exp. Med.* 206, 2339–2349.
- Guedj, K., Khallou-Laschet, J., Clement, M., Morvan, M., Gaston, A.-T., Fornasa, G., Dai, J., Gervais-Taurel, M., Eberl, G., Michel, J.-B., et al. (2014). M1 macrophages act as LT β R-independent lymphoid tissue inducer cells during atherosclerosis-related lymphoid neogenesis. *Cardiovasc. Res.* 101, 434–443.
- Gu-Trantien, C., and Willard-Gallo, K. (2013). Tumor-infiltrating follicular helper T cells. *Oncoimmunology* 2.
- Halle, S., Dujardin, H.C., Bakocevic, N., Fleige, H., Danzer, H., Willenzon, S., Suezter, Y., Hämmerling, G., Garbi, N., Sutter, G., et al. (2009). Induced bronchus-associated lymphoid tissue serves as a general priming site for T cells and is maintained by dendritic cells. *J. Exp. Med.* 206, 2593–2601.
- Hashi, H., Yoshida, H., Honda, K., Fraser, S., Kubo, H., Awane, M., Takabayashi, A., Nakano, H., Yamaoka, Y., and Nishikawa, S.-I. (2001). Compartmentalization of Peyer's patch anlagen before lymphocyte entry. *J. Immunol.* 166, 3702–3709.

- Hiraoka, N., Ino, Y., Yamazaki-Itoh, R., Kanai, Y., Kosuge, T., and Shimada, K. (2015). Intratumoral tertiary lymphoid organ is a favourable prognosticator in patients with pancreatic cancer. *Br. J. Cancer* *112*, 1782–1790.
- Hjelmström, P., Fjell, J., Nakagawa, T., Sacca, R., Cuff, C.A., and Ruddle, N.H. (2000). Lymphoid tissue homing chemokines are expressed in chronic inflammation. *Am. J. Pathol.* *156*, 1133–1138.
- Hughes, C.E., Benson, R.A., Bedaj, M., and Maffia, P. (2016). Antigen-presenting cells and antigen presentation in tertiary lymphoid organs. *Front. Immunol.* *7*. (*)
- Jones, G.W., Hill, D.G., and Jones, S.A. (2016). Understanding immune cells in tertiary lymphoid organ development: it is all starting to come together. *Front. Immunol.* *7*. (*)
- Kielczewski, J.L., Horai, R., Jittayasothorn, Y., Chan, C.-C., and Caspi, R.R. (2016). Tertiary lymphoid tissue forms in retinas of mice with spontaneous autoimmune uveitis and has consequences on visual function. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* *196*, 1013–1025.
- Koenig, A., and Thauinat, O. (2016). Lymphoid neogenesis and tertiary lymphoid organs in transplanted organs. *Front. Immunol.* *7*, 646. (*)
- Krautler, N.J., Kana, V., Kranich, J., Tian, Y., Perera, D., Lemm, D., Schwarz, P., Armulik, A., Browning, J.L., Tallquist, M., et al. (2012). Follicular dendritic cells emerge from ubiquitous perivascular precursors. *Cell* *150*, 194–206.
- Lee, Y., Chin, R.K., Christiansen, P., Sun, Y., Tumanov, A.V., Wang, J., Chervonsky, A.V., and Fu, Y.-X. (2006). Recruitment and activation of naive T cells in the islets by lymphotoxin β receptor-dependent tertiary lymphoid structure. *Immunity* *25*, 499–509.
- Lochner, M., Ohnmacht, C., Presley, L., Bruhns, P., Si-Tahar, M., Sawa, S., and Eberl, G. (2011). Microbiota-induced tertiary lymphoid tissues aggravate inflammatory disease in the absence of ROR γ t and LTi cells. *J. Exp. Med.* *208*, 125–134.
- Marinkovic, T., Garin, A., Yokota, Y., Fu, Y.-X., Ruddle, N.H., Furtado, G.C., and Lira, S.A. (2006). Interaction of mature CD3⁺CD4⁺ T cells with dendritic cells triggers the development of tertiary lymphoid structures in the thyroid. *J. Clin. Invest.* *116*, 2622–2632.
- Martinet, L., Garrido, I., and Girard, J.-P. (2012). Tumor high endothelial venules (HEVs) predict lymphocyte infiltration and favorable prognosis in breast cancer. *Oncoimmunology* *1*, 789–790.
- Mebius, R.E. (2003). Organogenesis of lymphoid tissues. *Nat. Rev. Immunol.* *3*, 292–303. (*)
- Mitsdoerffer, M., and Peters, A. (2016). Tertiary lymphoid organs in central nervous system autoimmunity. *Front. Immunol.* *7*. (*)
- Moyron-Quiroz, J.E., Rangel-Moreno, J., Hartson, L., Kusser, K., Tighe, M.P., Klonowski, K.D., Lefrançois, L., Cauley, L.S., Harmsen, A.G., Lund, F.E., et al. (2006). Persistence and responsiveness of immunologic memory in the absence of secondary lymphoid organs. *Immunity* *25*, 643–654.
- Muniz, L.R., Pacer, M.E., Lira, S.A., and Furtado, G.C. (2011). A critical role for dendritic cells in the formation of lymphatic vessels within tertiary lymphoid structures. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* *187*, 828–834.
- Nasr, I.W., Reel, M., Oberbarnscheidt, M.H., Mounzer, R.H., Baddoura, F.K., Ruddle, N.H., and Lakkis, F.G. (2007). Tertiary lymphoid tissues generate effector and memory T cells that lead to allograft rejection. *Am. J. Transplant.* *7*, 1071–1079.

- van de Pavert, S.A., and Mebius, R.E. (2010). New insights into the development of lymphoid tissues. *Nat. Rev. Immunol.* *10*, 664–674. (*)
- Penaranda, C., Tang, Q., Ruddle, N.H., and Bluestone, J.A. (2010). Prevention of diabetes by FTY720-mediated stabilization of peri-islet tertiary lymphoid organs. *Diabetes* *59*, 1461–1468.
- Randall, T.D., Carragher, D.M., and Rangel-Moreno, J. (2008). Development of secondary lymphoid organs. *Annu. Rev. Immunol.* *26*, 627–650. (*)
- Ruddle, N.H. (2016). High endothelial venules and lymphatic vessels in tertiary lymphoid organs: characteristics, functions, and regulation. *Front. Immunol.* *7*. (*)
- Srikakulapu, P., Hu, D., Yin, C., Mohanta, S.K., Bontha, S.V., Peng, L., Beer, M., Weber, C., McNamara, C.A., Grassia, G., et al. (2016). Artery tertiary lymphoid organs control multilayered territorialized atherosclerosis B-cell responses in aged ApoE^{-/-} mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* *36*, 1174–1185.
- Thaunat, O., Patey, N., Caligiuri, G., Gautreau, C., Mamani-Matsuda, M., Mekki, Y., Dieu-Nosjean, M.-C., Eberl, G., Ecochard, R., Michel, J.-B., et al. (2010). Chronic rejection triggers the development of an aggressive intra-graft immune response through recapitulation of lymphoid organogenesis. *J. Immunol.* *185*, 717–728.
- Utrera-Barillas, D., Castro-Manreza, M., Castellanos, E., Gutiérrez-Rodríguez, M., Arciniega-Ruiz de Esparza, O., García-Cebada, J., Velázquez, J.R., Flores-Reséndiz, D., Hernández-Hernández, D., and Benítez-Bribiesca, L. (2010). The role of macrophages and mast cells in lymphangiogenesis and angiogenesis in cervical carcinogenesis. *Exp. Mol. Pathol.* *89*, 190–196.
- Wirsing, A.M., Rikardsen, O.G., Steigen, S.E., Uhlin-Hansen, L., and Hadler-Olsen, E. (2014). Characterisation and prognostic value of tertiary lymphoid structures in oral squamous cell carcinoma. *BMC Clin. Pathol.* *14*, 38.
- Xu, B., Wagner, N., Pham, L.N., Magno, V., Shan, Z., Butcher, E.C., and Michie, S.A. (2003). Lymphocyte homing to bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) is mediated by L-selectin/PNAd, alpha4beta1 integrin/VCAM-1, and LFA-1 adhesion pathways. *J. Exp. Med.* *197*, 1255–1267.
- Xu, X., Han, Y., Wang, Q., Cai, M., Qian, Y., Wang, X., Huang, H., Xu, L., Xiao, L., and Shi, B. (2016). Characterisation of tertiary lymphoid organs in explanted rejected donor kidneys. *Immunol. Invest.* *45*, 38–51.

(*) sekundární citace