

**Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Martin Havlík

Úloha buněčného prionového proteinu v buňkách imunitního systému

The role of the cellular prion protein in the cells of the immune system

Bakalářská práce

Vedoucí práce/Školitel:
doc. Ing. Karel Holada, Ph.D.

Praha, 2018

Prohlášení:

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

V Praze, 16.8.2018

Podpis:

Poděkování:

Mé poděkování patří doc. Ing. Karlu Holadovi, Ph.D., za užitečné rady, které pomohly k určení směru a sepsání této bakalářské práce. Dále bych chtěl poděkovat Mgr Zdeňce Bačkovské Hanusové za velkou trpělivost, pomoc a ochotu při přípravě této práce.

Abstrakt

Prionový protein (PrP^C) je spojen především s původem transmisivních spongiformních encefalopatií (TSE), smrtelných onemocnění, jejichž molekulární podstatou je konverze buněčné formy proteinu PrP^C na infekční formu PrP^{TSE}. Ta je odolná vůči proteázám a běžným dekontaminačním metodám, hromadí se v tkáních a způsobuje degenerativní poškození centrální nervové soustavy. Potenciální fyziologická funkce PrP^C v buňkách organismů zůstává nejasná, i když výzkumu tohoto tématu bylo v posledních letech věnováno značné úsilí. Exprese PrP^C byla detekována především v nervových buňkách, vysoké hladiny proteinu se však vyskytují i v různých buňkách imunitního systému. Zatímco některé imunokompetentní buňky byly již široce zkoumány, jiné zůstávají z hlediska funkce PrP^C nepoznány. PrP^C zřejmě hraje roli při diferenciaci a aktivaci řady typů imunitních buněk, podílí se na regulaci produkce cytokinů a dalších imunitních procesů, ovlivňuje růst populace CD4⁺ T-buněk a také utváření sekundárních lymfatických orgánů. V této bakalářské práci byly shrnuty dosavadní poznatky z oblasti výzkumu úlohy PrP^C v imunitních buňkách, jež je důležitý i z hlediska výzkumu diagnostiky a léčby prionových chorob.

Klíčová slova: prionový protein, PrP^C, PrP^{TSE}, prionové choroby, imunitní systém, imunokompetentní buňky, fagocyty, lymfocyty, T-buňky

Abstract

Prion protein (PrP^C) is connected with the origin of transmissible spongiform encephalopathies (TSEs), fatal diseases that are on the molecular level based on the conversion of the cellular form of prion protein, PrP^C, into the infectious form, PrP^{TSE}. This isoform, exhibiting increased resistance against proteases and common decontamination methods, accumulates in tissues and causes degenerative damages of the central nervous system. Potential physiological function of PrP^C in cells remains unclear, though many efforts have been focused on this research area in past years. Expression of PrP^C was detected especially in neurons, high levels of PrP^C are also present in different types of cells of immune system. Whereas some immunocompetent cells were widely examined, the relationship of PrP^C with the function of others was not studied. PrP^C probably plays a role in differentiation and activation of some immune cells, participates in regulation of cytokine production and other immune processes, affects grow of CD4⁺ T-cell population and also takes a part in formation of secondary lymphatic organs. This bachelor thesis is focused on summarization of existing knowledge describing the role of the cellular prion protein in cells of immune system, which is important also from the point of view of diagnosis and treatment of TSEs.

Keywords: prion protein, PrP^C, PrP^{TSE}, prion diseases, immune system, immunocompetent cells, phagocytes, lymphocytes, T-cells

Obsah

1	Úvod.....	9
2	Prionová onemocnění.....	11
2.1	Léčba prionových chorob	11
2.2	Diagnostika prionových chorob.....	12
2.3	Šíření PrP ^{TSE} v organismu	13
3	Úloha buněčného prionového proteinu v nervových buňkách	14
4	Úloha buněčného prionového proteinu v buňkách imunitního systému.....	14
4.1	Původ a funkce diskutovaných buněk imunitního systému.....	15
4.2	Role PrP ^C ve fagocytech.....	17
4.2.1	Role PrP ^C v monocytech a makrofázích	17
4.2.2	Role PrP ^C v mikroglíích	18
4.2.3	Role PrP ^C v dendritických buňkách	19
4.2.4	Role PrP ^C ve folikulárních dendritických buňkách.....	19
4.2.5	Role PrP ^C v plasmacytoidních dendritických buňkách	20
4.2.6	Role PrP ^C v neutrofilních granulocytech.....	20
4.2.7	Role PrP ^C v mastocytech.....	20
4.3	Role PrP ^C v NK buňkách.....	21
4.4	Role PrP ^C v T-lymfocytech	21
4.5	Role PrP ^C v B-lymfocytech	23
5	Závěr	23
6	Reference	25

Seznam zkratek

AD	Alzheimerova choroba
BSE	bovinní spongiformní encefalopatie
CCL21	chemokine (C-C motif) ligand 21
CD	diferenciační skupina
CJD	Creutzfeldt-Jacobova nemoc
CNS	centrální nervová soustava
CWD	chronické chřadnutí jelenovitých
CXCL13	chemokine (C-X-C motif) ligand 13
CXCR5	chemokin (C-X-C motif) receptor 5
DC	dendritická buňka
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
ERK-1/2	extracellular signal-regulated protein kinases 1 and 2
FFI	familiární fatální insomnie
Fc-PrP ^C	rekombinantní solubilní buněčný prionový protein
FDC	folikulární dendritické buňky
FoxP3	forkhead box P3
GPI	glykosylfosfatidylinositol
GSH	glutathion
GSS	Gerstmann–Sträussler–Scheinkerův syndrom
Hsp70	heat shock protein 70
ICAM	intercellular adhesion molecule 1
IFN- γ	interferon γ
IL	interleukin
JNK	c-Jun N-terminal kinase
LPS	lipolysacharid
LTi	lymphoid tissue inducer
LT α	lymfotoxin α
MAPK	mitogen-activated protein kinases
M-buňka	microfold buňka
MHC	major histocompatibility complex
NCAM	neural cell adhesion molecule
NMDA	N-metyl-D-aspartát

NK	natural killer
NOS2	nitridoxidsyntáza 2
pDC	plasmacytoidní dendritické buňky
PMA	forbol-12-myristát-13-acetát
PPS	pentosan polysulfát
PrP	prionový protein
PrP ^C	buněčný prionový protein
PrP ^{TSE}	infekční forma prionového proteinu
Pyk 2	protein tyrozin kináza 2
rPrP	rekombinantní prionový protein
rPrP ^{TSE}	rekombinantní infekční prionový protein
RT-QuIC	real-time quaking-induced conversion
sCJD	sporadická Creutzfeldt-Jacobova nemoc
Sirpa	signální regulační glykoprotein α
Syk	slezinná tyrozin kináza
TGF- β	transformující růstový faktor β
Th	pomocná T-buňka
ThT	thioflavin T
TLR4	Toll-like receptor 4
TNF- α	tumor necrosis factor α
TNFR	tumor necrosis factor receptor
TSE	transmisivní spongiformní encefalopatie
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule 1

1 Úvod

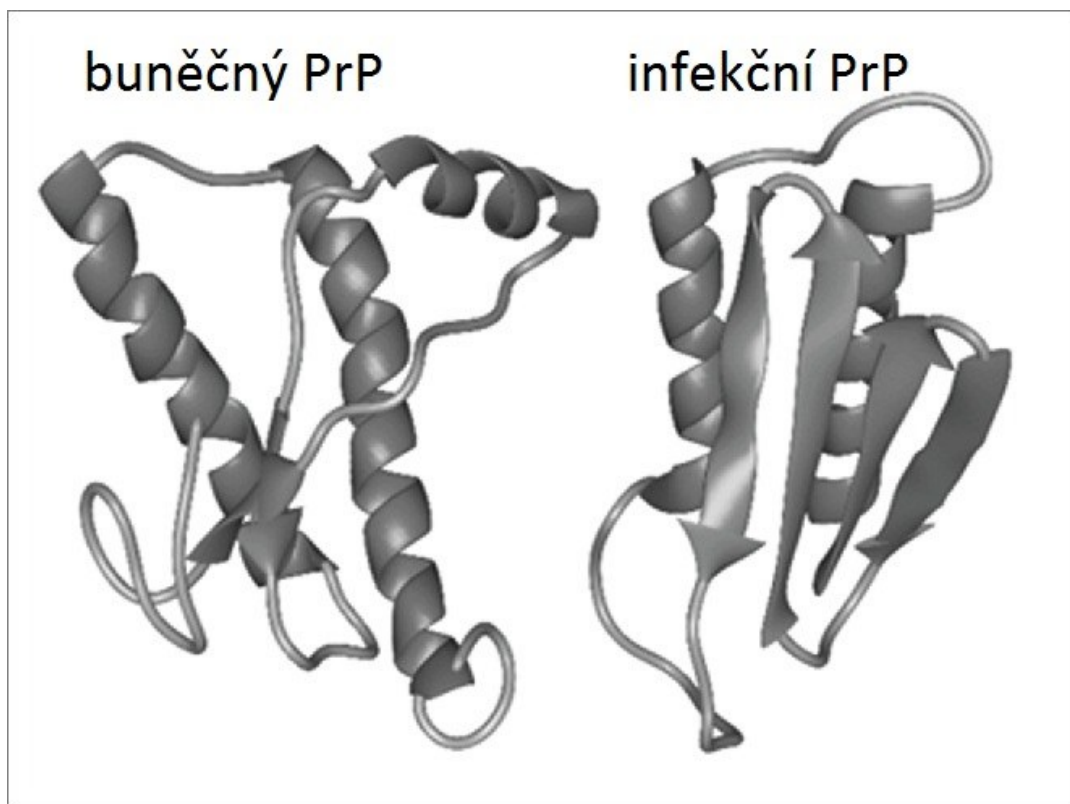
Buněčný prionový protein (PrP^C) je glykoprotein o velikosti 30–35 kDa, ukotvený glykosylfosfatidylinositolovou kotvou (GPI) kotvou na vnějších membránách buněk (Stahl et al., 1987) (Prusiner, 1991). PrP^C je exprimován především buňkami nervového a imunitního systému, krevního oběhu, kostní dřeně a dalších tkání, jako jsou např. Sertoliho buňky, spermatocyty, svalové buňky nebo buňky vlasového folikulu (Ford et al., 2002) (Bendheim et al., 1992).

Sekundární struktura PrP^C obsahuje tři α -helixy a jeden dvouvláknový antiparalelní β -list tvořící globulární doménu (Zahn et al., 2000), díky sekvenční homologii vysoce konzervovanou mezi různými druhy organismů. Ve struktuře je prokázán výskyt jednoho disulfidického můstku, který stabilizuje 3D strukturu proteinu, a dvou N-glykosylačních míst – v buňkách organismů se tedy PrP^C může vyskytovat jako non-, mono- či diglykosylovaný (Linden et al., 2008a). N-koncová oblast proteinu je bohatá na oktapeptidové opakující se sekvence, které mají schopnost vázat dvojmocné kationty jako je měď, zinek, mangan a nikl (Choi et al., 2006). Lidský PrP^C je exprimován z genu *PRNP*, který obsahuje dva exony (Linden et al., 2008b) a nachází se na chromozomu 20 v pozici 20p13. Dosud bylo popsáno více než 30 patologických mutací tohoto genu, které jsou důvodem vzniku familiárních a genetických variant prionových onemocnění (viz kapitola 2) (Mastrianni, 2010). Myší prionový protein je produkován z genu *Prnp* lokalizovaného na chromozomu 2 a složeného ze tří exonů; jak myší, tak lidský prionový protein jsou přepisovány z jediného kódujícího exonu (Linden et al., 2008).

Výzkum prionového proteinu se začal intenzivně rozvíjet především po formulaci tzv. prionové hypotézy, označující prionovou bílkovinu jako původce infekčních onemocnění (Prusiner, 1982). Bylo zjištěno, že PrP^C může z prozatím neznámých příčin autokatalyticky konvertovat na konformaci, ve které se zvyšuje počet β -listů, ale její primární struktura se nemění (Prusiner, 1996) (Obrázek 1). Vzniká tak patologický PrP^{TSE}, který je díky pozměněné sekundární struktuře v porovnání s PrP^C podstatně odolnější vůči proteolytickému štěpení; navíc je tato izoforma odolná vůči působení UV a ionizujícího záření, formaldehydu nebo extrémním výkyvům teplot – sucho, mráz, var (Prusiner, 1998). PrP^{TSE} se hromadí v tkáních ve formě amyloidových fibril tím, že svou konformaci předává dalším molekulám buněčné varianty proteinu, PrP^C (Kupfer et al., 2009). Tak dochází ke vzniku prionových chorob neboli transmisivních spongiformních encefalopatií (TSE), smrtelných onemocnění nervové soustavy. Dlouhé inkubační doby TSE a odolnost PrP^{TSE} vůči běžným

dekontaminačním metodám velmi komplikují včasnou diagnostiku, zastavení přenosu a šíření prionové infekce, proto je třeba intenzivně zkoumat patogenezi, diagnostiku a anti-TSE terapii, stejně tak jako je třeba porozumět fyziologické úloze tohoto proteinu v živočišných buňkách a tkáních.

Cílem této práce je přiblížit potenciální úlohu buněčného prionového proteinu se zaměřením na buňky imunitního systému, neboť tato oblast je v posledních letech široce zkoumána. PrP^{TSE} se akumuluje nejen v centrálním nervovém systému (CNS), ale i sekundárních lymfatických orgánech a dalších buňkách imunitního systému, lze tedy předpokládat, že buněčná varianta PrP^C zde také bude mít svou roli. Dalším cílem je nastínit možné postupy diagnostiky a léčby prionových onemocnění, které jsou vzhledem k charakteristice prionových chorob velmi obtížné.



Obrázek 1. Zatímco buněčná forma prionového proteinu má především α -helikální konformaci, při její konverzi dochází ke konformačním změnám a sekundární struktura infekční formy PrP je naopak bohatá na přítomnost β -listů. (převzato a upraveno z (Atkinson et al., 2016).

2 Prionová onemocnění

Prionová onemocnění postihují především savce (klusavka neboli scrapie ovcí, bovinní spongiformní encefalopatie (BSE), chronické chřadnutí jelenovitých (CWD), ...) (Aguilar-Calvo et al., 2015) i člověka (sporadická, variantní či familiární Creutzfeldt–Jacobova nemoc (CJD), fatální familiární insomnie (FFI), Gerstmann–Sträussler–Scheinkerův syndrom (GSS), kuru, ...) (Imran and Mahmood, 2011). Nové případy kuru se již nevyskytují, neboť tato nemoc byla šířena prostřednictvím kanibalismu v oblasti Papuy-Nové Guiney, kde zdejší kmeny pojídaly mozky svých zesnulých příbuzných (Collinge et al., 2006). Lidské prionové choroby celosvětově postihují průměrně 1–2 osoby na milion obyvatel ročně, přičemž většinu onemocnění tvoří sporadická forma CJD (sCJD). Familiární nebo genetická onemocnění způsobená mutacemi v genu *PRNP* a jejich možným dědičným přenosem tvoří asi 10 % případů ročně, zatímco získaná forma onemocnění činí 2–5 % případů. Prionová onemocnění se projevují především progresivní demencí, poškozením zraku a funkce mozečku, poruchami inervace svalových tkání aj. (Chen and Dong, 2016). V České republice je za klinickou diagnostiku prionových chorob zodpovědná Národní referenční laboratoř pro lidská prionová onemocnění při Oddělení patologie a molekulární medicíny Thomayerovy nemocnice, Praha, která od roku 2002 do roku 2014 evidovala 146 případů sCJD a několik desítek případů familiárních a genetických prionových chorob s celkovou prevalencí přibližně 13 případů za rok; od roku 2009 je v České republice pozorováno zvýšení prevalence, související zřejmě s rozvojem diagnostiky těchto onemocnění (Rohan et al., 2015).

2.1 Léčba prionových chorob

Zatím nebyl patentován žádný lék či způsob léčby, který by tato smrtelná onemocnění zdárně vyléčil. Zkoumáno bylo působení řady různých molekul na prionový protein, prozatím bez uspokojujících výsledků (Giles et al., 2017). Výzkum byl zaměřen např. na možnou blokaci konverze PrP^C na PrP^{TSE}, kterou dle výsledků inhiboval také quinacrine (Korth et al., 2001), (Doh-Ura et al., 2000). V několika aplikovaných případech prionových onemocnění však neměl žádaný účinek (Haik et al., 2004). Další testovanou molekulou byl pentosan polysulfát (PPS), který kompetuje s endogenním heparansulfátem, buněčným receptorem pro prionový protein (PrP) (Larramendy-Gozalo et al., 2007). Při testování na pacientech s CJD měl nicméně PPS sporné výsledky, které doprovázely komplikace zdravotního stavu během léčby (Bone et al., 2008). Jakožto zástupce antibiotik byl testován amfotericin B, který také nezlepšil prognózu onemocnění u pacientů s CJD (Masullo et al., 1992), i když při testování

na zvířatech byl úspěšnější (Pocchiari et al., 1987). Další alternativou testovanou na buněčné úrovni byla léčba chloridem lithným v kombinaci s rapamycinem. Obě látky indukují autofáгии, jež následně vedla k redukci množství PrP^{TSE} v nervových buňkách. Zaznamenána byla také mírná redukce hladiny PrP^C v buňkách (Heiseke et al., 2009), což by zde mohlo mít vliv na fyziologickou funkci PrP^C, která je zatím nejasná.

Dalšími zkoumanými a nadějnými metodami jsou postupy pasivních imunizací proti PrP^{TSE} (Panegyres and Burchell, 2016). Pasivní imunizace, jejíž největší výzvou je najít vhodný epitop jako cíl pro přípravu protilátky specifické vůči PrP^{TSE}, byly již několikrát testovány na zvířatech. Příkladem může být hovězí protilátka SN6b, která byla jako vakcína testována na Tga20 myších overexprimujících PrP^C, po jejímž podání nebyl zaznamenán žádný rozvoj indukovaného prionového onemocnění (Määttänen et al., 2013). Také další výzkumy ukázaly, že je možné zpomalit replikaci PrP^{TSE} a prodloužit životaschopnost testovaných myší prostřednictvím protilátek proti prionovému proteinu (White et al., 2003), nicméně bude třeba dalšího výzkumu k zjištění toho, jaké vedlejší účinky by tato terapie mohla mít na člověka.

V léčbě prionových chorob by mohly mít uplatnění také metody aktivní imunizace, avšak vzhledem k nastavené vysoké toleranci T- a B-lymfocytů k PrP^C je nezbytné tuto toleranci obejít. Výzkum nabídl hned několik možností. Působení CpG oligodeoxynukleotidů v kombinaci s různými polypeptidovými sekvencemi PrP vedlo k navození imunitní Th a protilátkové odpovědi v myších (Rosset et al., 2004). Užití atenuované bakterie *Salmonella typhimurium* jako vektoru pro přenos genu *Prnp* do myši a následná exprese rekombinantní formy PrP v myši také navozovala protilátkovou odpověď (Goñi et al., 2005), stejně tak jako užití virové částice retroviru, kde se rekombinantní PrP zainkorporoval do povrchu virové částice, byl vystaven imunitnímu systému myši a úspěšně indukoval tvorbu protilátek (Nikles et al., 2005). Další zkoumanou možností byla imunizace rekombinantním dimerickým PrP, tzv. tandemovým PrP, který za působení CpG oligodeoxynukleotidů též indukoval Th buněčnou odpověď v myších (Kaiser-Schulz et al., 2007). Využit byl i hovězí rekombinantní prionový protein, který po injekci stimuloval tvorbu protilátek efektivněji, než myší a ovčí rekombinantní PrP, a významně prodloužil dobu do projevu příznaků prionového onemocnění v myších (Ishibashi et al., 2007). Existují i další alternativy imunizačních schémat podobných těmto a výzkum v této oblasti neustále probíhá.

2.2 Diagnostika prionových chorob

Intravitální diagnostika prionových onemocnění je stále ve stádiu rozvoje. V pokročilé

fázi lze pravděpodobnou prionovou infekci klinicky diagnostikovat prostřednictvím několika metod, které dokáží identifikovat netypické struktury v CNS pomocí magnetické rezonance (Meissner et al., 2009), nestandardní aktivitu neuronů v mozku neinvazivní metodou elektroencefalografie (Wang et al., 2008), a také analýzou nepřímých markerů (hladina proteinu 14-3-3) v mozkomíšním moku (Zerr et al., 2000). Definitivní diagnóza probíhá *post mortem* laboratorními metodami imunohistochemie, Western blotting či ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), kde se k detekci infekčních částic PrP^{TSE} po rozštěpení PrP^C proteinázou K využívají specifické protilátky proti prionovému proteinu. Existují i analýzy založené na měření amplifikace patologických amyloidů a agregátů PrP^{TSE} ve vzorku za přítomnosti rekombinantního prionového proteinu (rPrP) (Colby et al., 2007), nebo normálního mozkového homogenátu (Saá et al., 2006) jako substrátu. Optimalizace těchto metod vedla k vývoji nového testu, tzv. RT-QuIC (real-time quaking-induced conversion). Principem testu je detekce amyloidových fibril tvořených díky agregaci rPrP (substrát), ke které dochází při výskytu infekční partikule PrP^{TSE} (templát) ve vzorku. Během inkubace vznikající shluky amyloidů jsou průběžně intenzivně protřepávány, čímž dochází k jejich dělení na menší části, které mohou opět sloužit jako templát. Proces akumulace rPrP^{TSE} se detekuje fluorescenčním barvivem thioflavinem T (ThT), který je schopný vázat tvořící se amyloidové fibrily. Výsledkem diagnostiky je graf závislosti intenzity fluorescence na čase, z něž lze odvodit přítomnost či absenci infekčních partikul (Atarashi et al., 2011). Tento postup byl již s úspěchem testován například na buňkách čichového epitelu (Orrú et al., 2014), v mozkomíšním moku (Orrú et al., 2015) a vzorcích kůže (Orrú et al., 2017) člověka, nebo v moči (John et al., 2013) a slinách jelena (Henderson et al., 2013).

2.3 Šíření PrP^{TSE} v organismu

Před infekcí nervové soustavy včetně mozku může dojít k nakažení organismu priony periferně. PrP^{TSE} se poté akumuluje a replikuje v některých buňkách imunitního systému, především ve folikulárních dendritických buňkách a v sekundárních lymfatických orgánech. Infekční agens se dále šíří přes sympatický nervový systém do centrální nervové soustavy zřejmě prostřednictvím exosomů, mezibuněčných spojů či tzv. „tunnelling nanotubes“ a cílová oblast postihu je tedy mícha a mozek (Aguzzi et al., 2013). Byl prokázán také iatrogenní přenos prionů, kdy k infekci pacienta dochází štepy oční rohovky nebo dura mater, hormonálními přípravky z lidských hypofýz, prostřednictvím neurochirurgických nástrojů a také transfúzí krve (Brown et al., 2012). Imunitní systém má zřejmě v patogenezi TSE duální roli. Dle některých studií jsou určité součásti imunitního systému, např. folikulární

dendritické buňky (Mabbott et al., 2003), (Montrasio et al., 2000), M-buňky (Donaldson et al., 2012), Peyerovy pláty (Prinz et al., 2003), komplement (Klein et al., 2001) či sekundární lymfatické orgány (Hilton et al., 1998), (Sigurdson et al., 1999) zodpovědné za šíření infekčního agens; oproti tomu naopak T- lymfocyty zřejmě nemají vliv na akumulaci PrP^{TSE} v organismu (Raeber et al., 1999).

3 Úloha buněčného prionového proteinu v nervových buňkách

Kromě patologického PrP^{TSE} se výzkum obrátil i na buněčný PrP^C, jeho specifickou expresi a potenciální funkci v buňkách a tkáních. Četné výzkumy nasvědčují tomu, že mnoho funkcí PrP^C zastává v centrální nervové soustavě, kde je hojně exprimován. PrP^C má pravděpodobně neuroprotektivní roli, kdy chrání nervové buňky před apoptotickými faktory (Bounhar et al., 2001); oktapeptidová oblast PrP^C je také spojována s vlivem na ochranu buněk proti oxidačnímu stresu (BROWN et al., 1999), (White et al., 1999). PrP^C se zřejmě podílí na regulaci cirkadiálních rytmů (Tobler et al., 1996) a synaptického přenosu (Hu et al., 2007); PrP^C-deficientní myši také vykazovaly poruchy v učení, paměti a spánku (Wulf et al., 2017). Je zřejmé, že svou úlohu buněčný prionový protein plní při embryonální neurogenезi, kde byl PrP^C při vývoji CNS detekován v silné míře jak v myších (Manson et al., 1992), tak u člověka (Adle-Biassette et al., 2006). V průběhu vývoje centrální nervové soustavy PrP^C působí zřejmě jako součást signální kaskády, neboť se váže na protein NCAM (neural cell adhesion molecule), který se posléze inkorporuje do lipidových raftů neuronů a zde tento komplex aktivuje kinázu Fyn, což má za následek mj. růst neuritů (Santucci et al., 2005). Možná je i účast PrP^C na další intracelulární signalizaci nervových buněk – na plazmatické membráně buněk totiž pravděpodobně vytváří vysokoafinní komplex se solubilními oligomery amyloidu β (A β) (Zou et al., 2011), jejichž hromadění a neurotoxické působení způsobuje neurodegenerativní Alzheimerovu chorobu (AD) (Walsh et al., 2002). S tímto komplexem pravděpodobně interaguje kináza Fyn, která nadměrně aktivována těmito komplexy přes momentálně neznámý intermediát posléze nadstandardně fosforyluje podjednotky NMDA (N-metyl-D-aspartát) receptorů neuronů, čímž naruší normální funkci a excitabilitu neuronů (Um et al., 2012), (Chin et al., 2005) a dochází k projevům nervové disfunkce charakteristické pro AD.

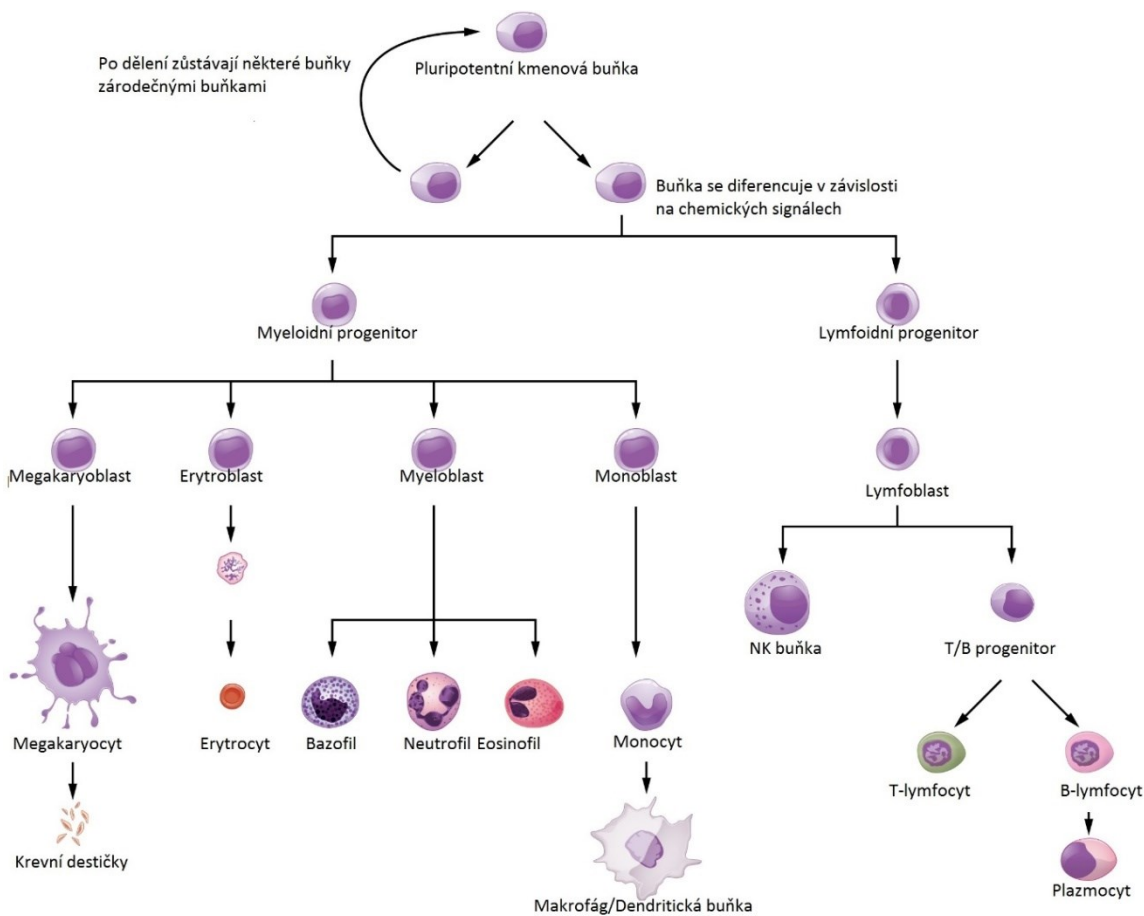
4 Úloha buněčného prionového proteinu v buňkách imunitního systému

Výzkumy ukazují, že buněčný prionový protein je v různé míře produkován řadou

imunitních buněk, přičemž hladina jeho exprese se v průběhu vývoje a dozrávání buněk může měnit. Pr^{PC} tedy zřejmě v imunitním systému může ovlivňovat řadu dějů v různých typech buněk, o kterých budou pojednávat následující kapitoly. Poznání fyziologické role prionového proteinu v imunitním systému může přispět nejen k lepšímu pochopení patogeneze prionových onemocnění, ale i k vývoji nových postupů jejich léčby včetně identifikace případných nežádoucích účinků na organismus pacienta.

4.1 Původ a funkce diskutovaných buněk imunitního systému

Většina imunitních buněk vzniká z hematopoetických, krvetvorných kmenových buněk kostní dřeně. Z nich odvozené myeloidní prekurzory a lymfoidní progenitory dávají vznik červeným krvinkám, bílým krvinkám a krevním destičkám (Klein, 1990), (Mosaad, 2014). Z myeloidního prekurzoru vznikají erytrocyty, megakaryocyty, mastocyty, granulocyty a monocyty, které se později diferencují na dendritické buňky (DC) či makrofágy. Lymfoidní progenitorová buňka se může diferencovat na B-lymfocyty, T-lymfocyty a tzv. „natural killer“ (NK) buňky (Bellantuono, 2004) (Obrázek 2).



Obrázek 2. Schéma znázorňující vznik krevních a imunitních buněk z pluripotentních; různé typy zralých buněk se diferencují ve dvou základních větvích – myeloidní a lymfoidní linií (převzato a upraveno z OpenStax College).

Monocyty jsou spojovány především s jejich transformací na tkáňové makrofágy (Ginhoux and Williams, 2016), které mají širokou škálu receptorů sloužících k regulaci fagocytózy a antigenem zprostředkované exprese zánětlivých cytokinů (Gordon, 2002). Z monocytů se mohou diferencovat také dendritické buňky (Lenicov et al., 2018). DC jsou považovány za spojovací most mezi antigeně nespecifickou a specifickou imunitní odpovědí. Jako nezralé buňky mají schopnost fagocytózy, nicméně po rozpoznání cizorodé částice či nekróze vlastních buněk se aktivují, a jako zralé buňky jsou nejúčinnějšími antigenprezentujícími buňkami zprostředkovávajícími kontakt s antigenem naivním T-lymfocytům (Cella et al., 1997). DC hrají roli také v imunitní toleranci (Brocker, 1997). Odlišné typy DC a makrofágů mohou prostřednictvím exprimovaných cytokinů aktivovat různé typy T-lymfocytů, které mohou posléze působit jako cytotoxické T-lymfocyty, nebo jako různé druhy pomocných (Th) T-lymfocytů (Iwasaki and Medzhitov, 2015). Přirozeně cytotoxické NK buňky jsou součástí vrozené imunity a kromě schopnosti zabíjet ostatní buňky mají díky produkci cytokinů, jako je např. interferon γ (IFN- γ), také imunoregulační roli (Campbell and Hasegawa, 2013). Neutrofilní granulocyty jsou v organismu platné především v obraně proti extracelulárním patogenům, při které jsou schopné je likvidovat fagocytózou následovanou oxidativním vzplanutím (Lee et al., 2003) či degranulací a uvolněním antimikrobiálních látek do extracelulárního prostředí (Brinkmann et al., 2004). Mastocyty, neboli žírné buňky, zřejmě mají v organismu pestrou škálu úloh; jejich významnou úlohou je však zabezpečovat homeostázu organismu a chránit ho před parazitární invazí (Maurer et al., 2004). Zatímco všechny tyto uvedené typy buněk imunitního systému v různé míře exprimují PrP^C, dle dostupných informací se zdá, že eosinofilní granulocyty známky exprese PrP^C nevykazují (Barclay et al., 2002); o bazofilních granulocytech se literatura nezmiňuje.

Mezi buňky imunitního systému neřadíme erytrocyty (červené krvinky) a trombocyty (krevní destičky), které však také PrP^C exprimují, přičemž hladina exprese se liší nejen mezi buněčnými typy, ale také mezi jednotlivými organismy. Výsledky experimentů naznačují, že exprese PrP^C v lidských lymfocytech, monocytech a krevních destičkách je mnohokrát větší oproti buňkám myši a křečka (Holada and Vostal, 2000). V porovnání se naopak zřejmě lidské krevní destičky a erytrocyty produkují méně PrP^C (Holada et al., 2007); lidské erytrocyty dle výsledných hodnot vykazují nižší expresi, než krevní destičky (Panigaj et al., 2011). Expresí PrP^C v erytrocytech byla v minulosti velmi diskutována, neboť některé výzkumy nasvědčovaly tomu, že erytrocyty PrP^C neexprimují (Barclay et al., 1999), (Dodelet and Cashman, 1998), zatímco jiné ukázaly opak (MacGregor et al., 1999), (Panigaj et al., 2011).

4.2 Role PrP^C ve fagocytech

4.2.1 Role PrP^C v monocytech a makrofázích

U monocytů byla prokázána exprese PrP^C *in vivo* (Barclay et al., 1999). Je známo, že monocyty se přichycují na endoteliální stěnu prostřednictvím svých povrchových β 1-integrinů, které se váží k molekulám VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule 1) na endoteliích (Carlos and Harlan, 1990). Bylo zjištěno, že PrP^C kolokalizuje mj. právě s integriny v lipidových raftech membrán monocytů, a že blokace membránového PrP^C protilátkami či silencing genu *PRNP* v monocytech vede ke zvýšené motilitě těchto buněk z důvodu narušení jejich vazby ke tkáním; dochází tedy ke ztrátě funkce integrinů. Navíc utlumení exprese PrP^C vede k poruše tvorby uropodia, formaci důležité při samotném procesu migrace monocytů do poškozených tkání (Richardson et al., 2015). Při blokaci PrP^C protilátkami došlo dle měření k narušení migrace monocytů (Viegas et al., 2006); tyto výsledky naznačují, že během trans-endoteliální migrace monocytů je tedy role PrP^C zřejmě podpůrná. V membráně monocytů by mohl buněčný prionový protein zastávat také úlohu signalizační, neboť výzkum ukázal, že při vazbě fúzních proteinů na PrP^C v monocytech dochází k výrazné fosforylaci proteinů, a prokázány byly aktivace signálních drah prostřednictvím tyrosinkináz Syk a Pyk2 (Krebs et al., 2006). Syk hraje roli mimo jiné ve vývoji T-lymfocytů a jejich signalizaci přes antigenně specifické receptory (Sada et al., 2001). Také je dokázáno, že PrP^C je naopak aktivně sekretován prostřednictvím exosomů pocházejících z monocytů, a to za účasti Hsp70 (heat shock protein 70), který s PrP^C interaguje; tento děj může mimo jiné naznačovat jeden z možných způsobů šíření prionové infekce v organismu (Wang et al., 2011a). Z výše uvedeného lze soudit, že PrP^C by se mohl účastnit některých základních procesů vrozené imunitní odpovědi.

Široce byla zkoumána úloha exprese PrP^C při procesu fagocytózy makrofágů. Bylo ukázáno, že PrP^C-deficientní makrofágy vykazují při uměle vyvolané apoptóze neuronálních a dalších buněk větší fagocytickou aktivitu než makrofágy exprimující PrP^C. Stejný efekt byl pozorován i při odstranění GPI-vazebných proteinů (včetně PrP^C) na makrofázích (de Almeida et al., 2005). Tyto výsledky jsou však diskutabilní, vzhledem k tomu, že enzym užitý při štěpení GPI kotvy, fosfolipáza C, odštěpuje z buněčného povrchu například i molekulu CD48 (Cebecauer et al., 1998), která také souvisí s fagocytickou aktivitou buněk (Shin et al., 2000). Další výzkum nasvědčující úloze PrP^C ve fagocytóze byl výzkum rozdílného chování myších makrofágů po infekci *Escherichia coli* (*E. coli*), kdy makrofágy s vyřazeným genem *Prnp* vykazovaly vyšší fagocytickou aktivitu co do počtu pohlcených *E. coli* a zároveň tyto

buňky více potlačovaly proliferaci *E. coli*. Makrofágy vykazovaly zvýšenou expresi proteinů Rab7, Rab5a a EEA1, které jsou spojovány se zráním fagozomů, byla také detekována vzrůstající exprese prozánětlivých cytokinů interleukinu (IL) 1 β , IL-6 a TNF- α (tumor necrosis factor α) (Wang et al., 2014). Získané výsledky však staví do jiného světla výzkum, který zjistil, že odlišnosti v procesu fagocytózy u PrP^C-deficientních makrofágů nebyly způsobeny pouhým vyřazením genu *Prnp*, ale podmíněny polymorfismem lokusu pro signální regulační glykoprotein α (Sirpa) (Nuvolone et al., 2013). Sirpa je protein, který je exprimovaný hlavně v dendritických buňkách (Saito et al., 2010) a je mj. spojován s regulací fagocytózy v DC a makrofázích, kde tvoří komplex s molekulou CD47 (Oldenborg et al., 2001). Role proteinu Sirpa ve fagocytické regulaci PrP^C-deficientních myší je tak nadřazena nepřítomnosti PrP^C.

4.2.2 Role PrP^C v mikroglíích

Mikroglie jsou buňky vyskytující se v různých částech CNS a tvoří několik různých morfologických typů (Lawson et al., 1990). Do CNS putují zřejmě postnatálně (Perry et al., 1985), i když některé výzkumy nasvědčují výskytu malého množství mikroglíí v mozku již v prenatálním období (Alliot et al., 1999). Mikroglie zastávají v CNS důležité imunitní funkce, jako je například fagocytóza (Koizumi et al., 2007). Během zkoumání PrP^C-deficientních mikroglíí nebyly zaznamenány žádné zásadní změny ohledně jejich fagocytické funkce, migrace ani změn v jejich morfologii či adhezi (Pinheiro et al., 2015). Dle výzkumu měl však silencing *Prnp* v myších mikroglíích vliv na působení aktivačního a stimulačního cytokinu IFN- γ , kdy mikroglie následně vykazovaly slabší expresi TNF- α a enzymu NO-syntázy 2 (NOS2), a na působení pleiotropního cytokinu IL-4, kdy se snížila exprese hydrolytického enzymu arginázy 1 (*Arg1*) a manózoového receptoru 1 (*Mrc1*), a naopak se markantně zvýšila exprese NOS2 vůči kontrolám (Shi et al., 2013). Všechny tyto molekuly jsou spojené s aktivací mikroglíí a imunitními procesy ve tkáních a dle výsledků se tedy PrP^C zřejmě regulace těchto procesů účastní.

Také v nervových buňkách byla zjištěna souvislost mezi expresí PrP^C a zánětlivým působením TNF- α na buňky. PrP^C deficiencie v nervových buňkách vedla pravděpodobně k blokaci štěpení membránových receptorů TNF (TNFR), čímž se zvýšila citlivost nervových buněk k TNF- α (Ezpeleta et al., 2017). TNFR jsou za fyziologických podmínek štěpeny α -sekretázou za vzniku volného TNFR produktu, který snižuje citlivost nervových buněk k TNF- α , který zde působí jako prozánětlivý faktor (Ezpeleta et al., 2017). To ukazuje na tkáňově specifickou roli PrP^C – v mikroglíích zřejmě PrP^C podporuje produkci TNF- α zprostředkovanou IFN- γ , zatímco v nervových buňkách má PrP^C zřejmě funkci v ochraně

buněk před působením TNF- α . Vysvětlením by mohla interakce PrP^C s různými typy regulačních molekul, které se daných procesů v jednotlivých buňkách účastní.

4.2.3 Role PrP^C v dendritických buňkách

Dendritické buňky slizničního a zažívacího traktu jsou spojovány s šířením patologické varianty PrP^{TSE} do dalších tkání, a to vzhledem k jejich lokalizaci, migraci a expresi PrP^C (Huang et al., 2002). Bylo také zjištěno, že PrP^C je hojně exprimován při diferenciaci monocytů na dendritickou buňku; jeho exprese se při tomto procesu zvýšila čtyřikrát a po působení lipopolysacharidu (LPS) na DC dokonce až osmkrát, což nasvědčuje úloze PrP^C při regulaci zrání a diferenciaci DC (Burthem et al., 2001). PrP^C by mohl hrát roli také v interakcích mezi DC a T-lymfocyty. Bylo prokázáno, že působením concanavalinu A *in vitro* se v myších dendritických buňkách zvýšila produkce PrP^C a dalších molekul, které doprovází zrání DC – CD80, CD86 a MHC (major histocompatibility complex) molekul; stejně tak došlo ke zvýšení jejich exprese v CD4⁺ a CD8⁺ T-lymfocytech. Sledováním distribuce PrP^C při vzájemné stimulaci DC a T-lymfocytů bylo prostřednictvím protilátek proti PrP^C prokázáno, že až 70 % imunokomplexů PrP^C se vyskytovalo v kontaktu mezi těmito buňkami a že tyto protilátky inhibovaly proliferaci T-lymfocytů. Navíc byla popsána méně efektivní stimulace T-lymfocytů PrP^C-deficientními DC oproti stimulaci prostřednictvím normálních DC *in vivo* i *in vitro*; jejich interakce byla možná, ale limitující (Ballerini et al., 2006).

4.2.4 Role PrP^C ve folikulárních dendritických buňkách

Folikulární dendritické buňky (FDC) jsou důležitým článkem nejen v imunitní odpovědi. FDC jsou schopné zachycovat antigen a prezentovat ho B-lymfocytům (Kosco et al., 1992), které směřují do lymfatických folikulů (Wang et al., 2011b). Při výzkumu PrP^C-deficientních myší nebyly pozorovány žádné změny ve funkci vazby imunokomplexů FDC, tvorbě struktury lymfoidních folikulů ani počtu FDC zde přítomných oproti kontrolám (McCulloch et al., 2013). Deficience PrP^C neměla vliv ani na zrání FDC, kdy byly zjištěny téměř stejné hodnoty exprese adhezivních molekul ICAM (intercellular adhesion molecule 1) a VCAM a také Toll-like receptoru 4 (TLR4) jako v kontrolních buňkách (McCulloch et al., 2013). Doposud nebyla zveřejněna další pozorování týkající se funkce PrP^C v FDC, ačkoli tyto buňky exprimují velké množství buněčného PrP^C a jsou zřejmě jedním z hlavních článků šíření prionové infekce v organismech (McCulloch et al., 2011).

4.2.5 Role PrP^C v plasmacytoidních dendritických buňkách

V plasmacytoidních dendritických buňkách (pDC), izolovaných ze sleziny, brzlíku a mezenterálních lymfatických uzlin, byly zaznamenány nízké až nedetekovatelné hladiny exprimovaného PrP^C, jež nezměnily ani aktivace buněk působením LPS či maturace působením CpG oligodeoxynukleotidů (Martínez del Hoyo et al., 2006). To je však pozoruhodné, neboť při porovnání infekčních titrů myších buněk (DC, pDC, NK, makrofágy, T- a B-lymfocyty) po infekci scrapie došlo ve 30-denní době až k několikanásobné akumulaci PrP^{TSE}, v největší míře právě u pDC a také u NK buněk (Castro-Seoane et al., 2012). Tato skutečnost podporuje teorii o přenosu infekční varianty PrP^{TSE} mezi buňkami prostřednictvím mezibuněčných kontaktů (Kanu et al., 2002), „tunneling nanotubes“ (Gousset et al., 2009) nebo uvolňováním exosomů z buněk (Fevrier et al., 2004).

4.2.6 Role PrP^C v neutrofilních granulocytech

Neutrofilní granulocyty se vyskytují v krevním oběhu i tkáních, kde bývají zpravidla mezi prvními buňkami reagujícími v zánětu a v konečné fázi při zánětlivých procesech tvoří majoritní část hnisu. Za normálního stavu exprimují nízké hladiny PrP^C v porovnání s monocyty, T- a B-lymfocyty, nicméně vzhledem ke své početnosti, kdy tvoří 50–70 % celkového počtu kolujících leukocytů v lidském těle a 10–25 % v myších (Mestas and Hughes, 2004), (Doeing et al., 2003), významně přispívají k celkovému množství PrP^C v krvi (Barclay et al., 1999). Při zánětu indukovaném prostřednictvím LPS za přítomnosti séra obsahujícího TGF- β (transforming growth factor β) a glukokortikoidy byla v myších neutrofilních granulocytech pozorována zvýšená exprese PrP^C, při LPS indukovaném zánětu bez séra naopak nebyla zvýšená exprese PrP^C prokázána (Mariane et al., 2012). Můžeme se domnívat, že v těchto buňkách bude funkce PrP^C protizánětlivá a exprese bude silně regulována neuroimunoendokrinními dráhami. Na možné funkce PrP^C v neutrofilních granulocytech, resp. na fenotypové projevy PrP^C deficiencie v neutrofilech, nebyl dosud zveřejněn žádný další výzkum, který by nasvědčoval např. úloze PrP^C ve fagocytóze či degranulaci neutrofilů.

4.2.7 Role PrP^C v mastocytech

Dle dostupného zdroje je PrP^C exprimován také v mastocytech, které vykazují relativně vysoké hladiny tohoto proteinu, jež může být z buněk uvolňován v závislosti na jejich aktivačním stavu. Bylo však také zjištěno, že PrP^C-deficientní mastocyty nevykazovaly změny v růstu ani deficity v diferenciaci (Haddon et al., 2009). Další výzkum potenciálních funkcí PrP^C v těchto buňkách by mohl být zaměřen nejen na vliv PrP^C na imunitní procesy,

ale také na další děje, které mastocyty ovlivňují, jako je např. angiogeneze, obnova tkání, udržování homeostázy či regulace nervového systému (da Silva et al., 2014).

4.3 Role PrP^C v NK buňkách

Afinitu k povrchu NK buněk vykazoval rekombinantní solubilní Fc-PrP^C, připravený fúzí PrP^C s Fc částí imunoglobulinu IgG1. Výsledkem této vazby byla aktivace NK buněk, při které začaly buňky produkovat zvýšené množství cytokinů, a chemokinů (např. IFN- γ , TNF- α) a vykazovaly zvýšenou degranulaci a s tím spojené uvolňování cytotoxického granzymu B. Tato uměle navozená aktivace byla pro zprostředkována ERK-1/2 (extracellular signal-regulated protein kinases 1 and 2) a JNK (c-Jun N-terminal kinase) signálními dráhami (Seong et al., 2015).

4.4 Role PrP^C v T-lymfocytech

V brzlíku se T-lymfocyty diferencují také na prekurzory Th buněk, které exprimují receptor CD4. Th lymfocyty se mohou přeměnit na paměťové buňky, které pravděpodobně exprimují více PrP^C než naivní T-lymfocyty (Li et al., 2001). Regulační T-lymfocyty potlačují aktivitu jiných efektorových T-lymfocytů a antigen-prezentujících buněk. Patří mezi ně i CD4⁺CD25⁻ naivní T-lymfocyty, které se diferencují na regulační CD4⁺CD25⁺ T-lymfocyty působením mimo jiné faktoru FoxP3 (forkhead box P3), který je pro vývoj těchto buněk nezbytný. Byla prokázána asi desetkrát vyšší hladina exprese PrP^C v buňkách CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ oproti buňkám CD4⁺ naivních T-lymfocytů; deficience *Prnp* u myši však neměla vliv na funkci ani počet CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ buněk v uzlinách, brzlíku ani slezině (Isaacs et al., 2008).

LTi (lymphoid tissue inducer) buňky jsou spojovány s vývojem a utvářením struktury lymfatických orgánů, jako je například slezina (Kim et al., 2007). Bílá pulpa je částí sleziny, která obklopuje větvičky artérií vstupující do sleziny. Tato pulpa se skládá mj. z T- a B-lymfatických zón, které jsou tvořeny shluky těchto lymfocytů tvořících se za působení molekul CXCL13 (chemokine (C-X-C motif) ligand 13) a CCL21 (chemokine (C-C motif) ligand 21), které chemotakticky směřují B-lymfocyty do B- zóny a T- lymfocyty do T- zóny (Gunn et al., 1999), (Förster et al., 1999). Výsledky dalších studií ukázaly, že PrP^C-deficientní myši měly snížený počet standardních CD4⁺ T-lymfocytů a LTi buněk ve slezině; na počet CD8⁺ T-lymfocytů neměla deficience vliv. Navíc se změnila struktura sleziny ustupováním bílé pulpy a T-lymfocytárních zón, což bylo doprovázeno sníženou expresí CXCR5 (chemokine (C-X-C motif) receptor 5) a lymfotoxinu α (LT α), proteinů důležitých pro správné vytváření sleziny (Kim et al., 2016). PrP^C by se zde tedy hypoteticky mohl účastnit

tvorby T-lymfocytárních zón a struktury bílé slezinné pulpy.

Podobné výsledky byly překvapivě pozorovány i při zkoumání vlivu overexprese PrP^C v Tga20 transgenních myších. Ukázalo se, že overexprese v porovnání s kontrolou měla negativní vliv na počet akumulovaných CD4⁺ a CD8⁺ T-lymfocytů. Také v lymfatických uzlinách byl pozorován pokles počtu CD4⁺ a CD8⁺ T lymfocytů; v PrP^C deficientní myši byl naopak počet těchto buněk v normě. Overexprese PrP^C dále zapříčinila ztrátu funkce migrace lymfocytů vyzrávajících v brzlíku (thymocytů) zprostředkovanou lamininem (Terra-Granado et al., 2007), který se váže na PrP^C (Graner et al., 2000). Laminin je svou lokalizací a funkcí spojený s brzlíkem a vyskytuje se zde v několika formách, které mají funkci v migraci a diferenciaci T-lymfocytů (Savino et al., 2004). Je zajímavé, že nadměrná exprese PrP^C má podobný vliv na počet T-lymfocytů v lymfatických uzlinách a v brzlíku, jako PrP^C-deficience na počet T-lymfocytů ve slezině. Tyto výsledky potvrzuje výzkum, který ukázal, že overexprese PrP^C v myši způsobuje atrofii brzlíku a nižší počet lymfocytů zde přítomných oproti kontrole; slezina naopak nevykazovala známky defektů. Dále zde byly zaznamenány změny poměrů v expresi povrchových CD molekul T-lymfocytů oproti kontrolám a byla zde pravděpodobně narušená diferenciace CD4⁺ a CD8⁺ T-lymfocytů (Jouvin-Marche et al., 2006).

Zkoumána byla i role PrP^C v aktivaci T-lymfocytů a jejich proliferaci. PrP^C je zřejmě důležitý při mitogenezi lymfocytů, neboť při stimulaci concanavalinem A a jinými mitogeny byla pozorována inhibice mitogeneze u lymfocytů při působení anti-PrP^C protilátky (Cashman et al., 1990). Po působení concanavalinu A nebo kombinace forbol-12-myristát-13-acetát (PMA)/ionomycinu byl prokázán velký nárůst v expresi IFN- γ v PrP^C-exprimujících slezinných T-lymfocytech oproti PrP^C-deficientní kontrole, což by nasvědčovalo roli PrP^C v odpovědi T-lymfocytů na uvedené mitogeny zprostředkované IFN- γ (Bainbridge and Walker, 2005). Při porovnání se značně zeslabenou produkcí TNF- α díky odpovědi na působení IFN- γ v mikroglíích s utlumenou expresí PrP^C (viz kapitola 4.2.2) lze predikovat úlohu buněčného prionového proteinu ve vztahu k IFN- γ minimálně ve dvou buněčných typech v organismu; v jednom typu se PrP^C zřejmě podílí na zvýšení odpovědi buněk zprostředkované IFN- γ , zatímco v jiných buňkách dochází k nárůstu exprese IFN- γ při jejich aktivaci. Na T-lymfocytární aktivaci se pravděpodobně podílí i gangliosidy GM1 a GM3; výsledkem testování jejich interakce s PrP^C byly silné vzájemné vazby a společné lokalizace (Mattei et al., 2004). To opět ukazuje na roli PrP^C v signalizačních procesech, neboť gangliosid GM3 je spojován s membránovým signalizačním komplexem, jež se podílí na mezibuněčných interakcích (Sorice et al., 2004), pravděpodobně se ale nepodílí na funkci

imunologické synapse (Paar et al., 2007). GM1 je gangliosid, který byl při pokusech během hypotermální stimulace T-lymfocytů při 4 °C rovnoměrně rozptýlen po plazmatické membráně, zatímco při skokové změně teploty na 37 °C tvoří membránovou čepičkovou strukturu, ve které byl také prokázán výskyt CD3 molekuly a membránově vázaného PrP^C. Tato struktura je spojována se signální kaskádou MAPK (mitogen-activated protein kinases) (Wurm et al., 2004). Není však jasné, zda by se tato čepičková struktura podmíněná specifickou termální stimulací tvořila i bez prionového proteinu.

Bylo zjištěno, že overexprese PrP^C v myších měla za následek mimo jiné zvýšenou koncentraci mědi v mozku a brzlíku myši oproti kontrolním jedincům, což nasvědčuje vazbě mědi na PrP^C a možné roli PrP^C v udržování redoxní rovnováhy v buňkách organismů (Jouvin-Marche et al., 2006). Na tento výzkum navazuje zjištění, že PrP^C-deficientní thymocyty z brzlíku myši reagují odlišně na oxidativní stres indukovaný peroxidem vodíku (H₂O₂), kdy byl během indukovaného stresu rychle vyčerpán a nedostatečně doplňován glutathion (GSH). Hladina GSH v PrP^C-deficientních thymocytech se přitom před působením H₂O₂ se shodovala s kontrolami. Zajímavý je též fakt, že přidáním mědi k PrP^C-deficientním buňkám se hladina redukováného GSH zvýšila do normálního stavu srovnatelného s kontrolou (Aude-Garcia et al., 2011). Souvislosti mezi schopností PrP^C vázat měď a ovlivňovat hladiny buněčného GSH by tedy mohly ukazovat na roli PrP^C v udržování redoxní homeostázy organismů (Aude-Garcia et al., 2011).

4.5 Role PrP^C v B-lymfocytech

U B-lymfocytů se zkoumala především jejich potence v infektivitě a přenosu PrP^{TSE}. Bylo potvrzeno, že infekční forma PrP^{TSE} se při přenosu scrapie u ovcí akumuluje v B-lymfocytech (Edwards et al., 2010), oproti tomu při infekci sCJD nebyla akumulace PrP^{TSE} v lidských B-lymfocytech potvrzena, i když v nich byla exprese buněčné formy PrP^C detekována (Choi et al., 2009). O fyziologické úloze PrP^C v B-lymfocytech nicméně není zatím v literatuře dostatek dostupných zdrojů.

5 Závěr

Buněčná varianta prionového proteinu (PrP^C) je všeobecně známá především díky své schopnosti konverze na patologickou infekční izoformu (PrP^{TSE}), jež způsobuje neurodegenerativní onemocnění lidí a dalších savců. Ač je světová incidence prionových onemocnění, tzv. transmisivních spongiformních encefalopatií (TSE), u lidí nízká, fatálnost těchto chorob pohání kupředu vývoj nových diagnostických, a především terapeutických

metod, které by tyto nemoci dokázaly včasné detekovat a léčit. V souvislosti s identifikací buněčné formy prionového proteinu jako substrátu pro vnik infekčních částic způsobujících TSE se výzkum obrátil i na zkoumání fyziologické funkce PrP^C v organismech, která je však prozatím nedostatečně zdokumentována. Výsledky ukazují, že PrP^C je exprimován především v centrální nervové soustavě, ale i v imunitním systému a dalších periferních tkáních. V CNS je jeho role studována nejvíce a četné výzkumy dokazují, že PrP^C se zde účastní regulace mnoha procesů souvisejících s neurogenézí a zráním neuronů, funkcí synapsí, cirkadiánními rytmy, spánkem či aktivací různých signálních kaskád.

Buňkám imunitního systému byla v rámci výzkumu role PrP^C věnována značná pozornost, ačkoliv i zde je stále mnoho příležitostí pro další bádání. Několik provedených studií naznačilo potenciální roli PrP^C ve fagocytujících buňkách, kde by PrP^C mohl působit jako pozitivní regulátor extravazace monocytů a usměrňující regulátor fagocytózy u makrofágů. Proti tomu však vystupuje výzkum odhalující význam nadřazenosti polymorfismu proteinu Sirpa nad regulační funkcí nepřítomnosti exprese PrP^C při fagocytóze PrP^C-deficientních makrofágů. Data ohledně vlivu PrP^C na fagocytózu u dalších fagocytů jako jsou DC, FDC, pDC nebo neutrofilní granulocyty zatím nejsou dostupná. Absence PrP^C navíc neměla dle výzkumu vliv na fagocytózu v mikroglii. Pozorován však byl vliv PrP^C na stimulaci T-lymfocytů dendritickými buňkami.

Role PrP^C v T-lymfocytech je patrně velmi pestrá, buněčně a tkáňově specifická. Zdá se, že exprese PrP^C regulačními T-lymfocyty nemá vliv na jejich supresorovou funkci, i když jeho exprese v těchto buňkách je vyšší, než v pomocných CD4⁺ lymfocytech. U těch je však zřejmé, že vliv PrP^C na jejich životaschopnost a počet je významnější, neboť deficiencie či naopak overexprese PrP^C v těchto buňkách vede k abnormalitám v růstu populace těchto buněk a v utváření sekundárních lymfatických orgánů jimi osídlených, jako jsou brzlík, slezina a lymfatické uzliny. Výzkumy nasvědčují i účasti PrP^C v signálních drahách, buněčné aktivaci a udržování redoxní rovnováhy lymfocytů.

Úloha buněčného prionového proteinu v imunokompetentních buňkách je zřejmě velmi komplexní a pravděpodobně zahrnuje mnohé regulační činnosti, které buňkám imunitního systému přispívají k plnění jejich funkce ku prospěchu organismu. Výzkum fyziologických funkcí PrP^C v jednotlivých typech imunitních buněk však stále nabízí mnoho příležitostí ke studiu, které by pomohlo pochopit celkovou roli PrP^C v imunitním systému a jeho buňkách v širších souvislostech.

6 Reference

- Adle-Biassette, H., Verney, C., Peoc'h, K., Dauge, M. C., Razavi, F., Choudat, L., Gressens, P., Budka, H. and Henin, D.** Immunohistochemical expression of prion protein (PrPC) in the human forebrain during development. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2006 Jul;65(7):698-706.
- Aguilar-Calvo, P., García, C., Espinosa, J. C., Andreoletti, O. and Torres, J. M.** (Prion and prion-like diseases in animals. *Virus Res.* 2015 Sep 2;207:82-93. doi: 10.1016/j.virusres.2014.11.026.
- Aguzzi, A., Nuvolone, M. and Zhu, C.** The immunobiology of prion diseases. *Nat. Rev. Immunol.* 2013 Dec;13(12):888-902. doi: 10.1038/nri3553.
- Alliot, F., Godin, I. and Pessac, B.** Microglia derive from progenitors, originating from the yolk sac, and which proliferate in the brain. *Dev. Brain Res.* 1999 Nov 18;117(2):145-52.
- Atarashi, R., Satoh, K., Sano, K., Fuse, T., Yamaguchi, N., Ishibashi, D., Matsubara, T., Nakagaki, T., Yamanaka, H., Shirabe, S., et al.** Ultrasensitive human prion detection in cerebrospinal fluid by real-time quaking-induced conversion. *Nat. Med.* 2011 Feb;17(2):175-8. doi: 10.1038/nm.2294.
- Atkinson, C. J., Zhang, K., Munn, A. L., Wiegmans, A. and Wei, M. Q.** Prion protein scrapie and the normal cellular prion protein. *Prion.* 2016;10(1):63-82. doi: 10.1080/19336896.2015.1110293.
- Aude-Garcia, C., Villiers, C., Candéias, S. M., Garrel, C., Bertrand, C., Collin, V., Marche, P. N. and Jouvin-Marche, E.** Enhanced susceptibility of T lymphocytes to oxidative stress in the absence of the cellular prion protein. *Cell. Mol. Life Sci.* 2011 Feb;68(4):687-96. doi: 10.1007/s00018-010-0477-5
- Bainbridge, J. and Walker, K. B.** The normal cellular form of prion protein modulates T cell responses. *Immunol. Lett.* 2005 Jan 15;96(1):147-50.
- Ballerini, C., Gourdain, P., Bachy, V., Blanchard, N., Levavasseur, E., Grégoire, S., Fontes, P., Aucouturier, P., Hivroz, C. and Carnaud, C.** Functional implication of cellular prion protein in antigen-driven interactions between T cells and dendritic cells. *J. Immunol.* 2006 Jun 15;176(12):7254-62.
- Barclay, G. R., Hope, J., Birkett, C. R. and Turner, M. L.** Distribution of cell-associated prion protein in normal adult blood determined by flow cytometry. *Br J Haematol* 107, 804–814. 1999 Dec;107(4):804-14.
- Barclay, G. R., Houston, E. F., Halliday, S. I., Farquhar, C. F. and Turner, M. L.** Comparative analysis of normal prion protein expression on human, rodent, and ruminant blood cells by using a panel of prion antibodies. *Transfusion* 2002 May;42(5):517-26.
- Bellantuono, I.** Haemopoietic stem cells. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2004 Apr;36(4):607-20.

- Bendheim, P. E., Brown, H. R., Rudelli, R. D., Scala, L. J., Goller, N. L., Wen, G. Y., Kascsak, R. J., Cashman, N. R. and Bolton, D. C.** Nearly ubiquitous tissue distribution of the scrapie agent precursor protein. *Neurology*. 1992 Jan;42(1):149-56
- Bone, I., Belton, L., Walker, A. S. and Darbyshire, J.** Intraventricular pentosan polysulphate in human prion diseases: An observational study in the UK. *Eur. J. Neurol*. 2008 May;15(5):458-64. doi: 10.1111/j.1468-1331.2008.02108.x.
- Bounhar, Y., Zhang, Y., Goodyer, C. G. and LeBlanc, A.** Prion protein protects human neurons against Bax-mediated apoptosis. *J. Biol. Chem*. 2001 Oct 19;276(42):39145-9
- Brinkmann, V., Reichard, U., Goosmann, C., Fauler, B., Uhlemann, Y., Weiss, D. S., Weinrauch, Y. and Zychlinsky, A.** Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria. *Science*. 2004 Mar 5;303(5663):1532-5.
- Brocker, T.** Survival of mature CD4 T lymphocytes is dependent on major histocompatibility complex class II-expressing dendritic cells. *J. Exp. Med*. 1997 Oct 20;186(8):1223-32.
- Brown, P., Brandel, J. P., Sato, T., Nakamura, Y., MacKenzie, J., Will, R. G., Ladogana, A., Pocchiari, M., Leschek, E. W. and Schonberger, L. B.** Iatrogenic creutzfeldt-Jakob disease, final assessment. *Emerg. Infect. Dis*. 2012 Jun;18(6):901-7. doi: 10.3201/eid1806.120116.
- BROWN, D. R., WONG, B.-S., HAFIZ, F., CLIVE, C., HASWELL, S. J. and JONES, I. M.** Normal prion protein has an activity like that of superoxide dismutase. *Biochem. J*. 1999 Nov 15;344 Pt 1:1-5.
- Burthem, J., Urban, B., Pain, A. and Roberts, D. J.** The normal cellular prion protein is strongly expressed by myeloid dendritic cells. *Blood* **98**, 3733–3738. 2001 Dec 15;98(13):3733-8.
- Campbell, K. S. and Hasegawa, J.** Natural killer cell biology: an update and future directions. *J. Allergy Clin. Immunol*. 2013 Sep;132(3):536-544. doi: 10.1016/j.jaci.2013.07.006.
- Carlos, T. M. and Harlan, J. M.** Membrane Proteins Involved in Phagocyte Adherence to Endothelium. *Immunol. Rev*. 1990 Apr;114:5-28.
- Cashman, N. R., Loertscher, R., Nalbantoglu, J., Shaw, I., Kascsak, R. J., Bolton, D. C. and Bendheim, P. E.** Cellular isoform of the scrapie agent protein participates in lymphocyte activation. *Cell* **61**, 185–192. 1990 Apr 6;61(1):185-92.
- Castro-Seoane, R., Hummerich, H., Sweeting, T., Tattum, M. H., Linehan, J. M., de Marco, M. F., Brandner, S., Collinge, J. and Klöhn, P. C.** Plasmacytoid dendritic cells sequester high prion titres at early stages of prion infection. *PLoS Pathog*. 2012 Feb;8(2):e1002538. doi: 10.1371/journal.ppat.1002538.
- Cebecauer, M., Černý, J. and Hořejší, V.** Incorporation of leucocyte GPI-anchored proteins and protein tyrosine kinases into lipid-rich membrane domains of COS-7 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1998 Feb 24;243(3):706-10.

- Cella, M., Sallusto, F. and Lanzavecchia, A.** Origin, maturation and antigen presenting function of dendritic cells. *Curr. Opin. Immunol.* 1997 Feb;9(1):10-6.
- Chen, C. and Dong, X.-P.** Epidemiological characteristics of human prion diseases. *Infect. Dis. Poverty* 5, 47. 2016 Jun 2;5(1):47. doi: 10.1186/s40249-016-0143-8.
- Chin, J., Palop, J. J., Puoliväli, J., Massaro, C., Bien-Ly, N., Gerstein, H., Scarce-Levie, K., Masliah, E. and Mucke, L.** Fyn kinase induces synaptic and cognitive impairments in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J. Neurosci.* 2005 Oct 19;25(42):9694-703.
- Choi, C. J., Kanthasamy, A., Anantharam, V. and Kanthasamy, A. G.** Interaction of metals with prion protein: Possible role of divalent cations in the pathogenesis of prion diseases. *Neurotoxicology* 27, 777–787. Sep;27(5):777-87.
- Choi, E. M., Geschwind, M. D., Deering, C., Pomeroy, K., Kuo, A., Miller, B. L., Safar, J. G. and Prusiner, S. B.** Prion proteins in subpopulations of white blood cells from patients with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Lab Invest.* 2009 Jun;89(6):624-35. doi: 10.1038/labinvest.2009.30.
- Colby, D. W., Zhang, Q., Wang, S., Groth, D., Legname, G., Riesner, D. and Prusiner, S. B.** Prion detection by an amyloid seeding assay. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2007 Dec 26;104(52):20914-9.
- Collinge, J., Whitfield, J., McKintosh, E., Beck, J., Mead, S., Thomas, D. J. and Alpers, M. P.** Kuru in the 21st century-an acquired human prion disease with very long incubation periods. *Lancet.* 2006 Jun 24;367(9528):2068-74.
- da Silva, E. Z. M., Jamur, M. C. and Oliver, C.** *Mast Cell Function: A New Vision of an Old Cell.* 2014 Oct;62(10):698-738. doi: 10.1369/0022155414545334.
- de Almeida, C. J. G., Chiarini, L. B., da Silva, J. P., e Silva, P. M. R., Martins, M. A. and Linden, R.** The cellular prion protein modulates phagocytosis and inflammatory response. *J. Leukoc. Biol.* 77, 238–246. 2005 Feb;77(2):238-46.
- Dodelet, V. C. and Cashman, N. R.** Prion protein expression in human leukocyte differentiation. *Blood* 91, 1556–61. 1998 Mar 1;91(5):1556-61.
- Doering, D. C., Borowicz, J. L. and Crockett, E. T.** Gender dimorphism in differential peripheral blood leukocyte counts in mice using cardiac, tail, foot, and saphenous vein puncture methods. *BMC Clin. Pathol.* 2003 Sep 12;3(1):3.
- Doh-Ura, K., Iwaki, T. and Caughey, B.** Lysosomotropic agents and cysteine protease inhibitors inhibit scrapie-associated prion protein accumulation. *J. Virol.* 2000 May;74(10):4894-7.
- Donaldson, D. S., Kobayashi, A., Ohno, H., Yagita, H., Williams, I. R. and Mabbott, N. A.** M cell-depletion blocks oral prion disease pathogenesis. *Mucosal Immunol.* 2012 Mar;5(2):216-25. doi: 10.1038/mi.2011.68.
- Edwards, J. C., Moore, S. J., Hawthorn, J. A., Neale, M. H. and Terry, L. A.** PrPScis associated with B cells in the blood of scrapie-infected sheep. *Virology.* 2010 Sep 15;405(1):110-9. doi: 10.1016/j.virol.2010.05.023

- Ezpeleta, J., Boudet-Devaud, F., Pietri, M., Baudry, A., Baudouin, V., Alleaume-Butaux, A., Dagoneau, N., Kellermann, O., Launay, J. M. and Schneider, B.** Protective role of cellular prion protein against TNF α -mediated inflammation through TACE α -secretase. *Sci. Rep.* 7, 1–13. 2017 Aug 9;7(1):7671. doi: 10.1038/s41598-017-08110-x.
- Fevrier, B., Vilette, D., Archer, F., Loew, D., Faigle, W., Vidal, M., Laude, H. and Raposo, G.** Cells release prions in association with exosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2004 Jun 29;101(26):9683-8.
- Ford, M. J., Burton, L. J., Morris, R. J. and Hall, S. M.** Selective expression of prion protein in peripheral tissues of the adult mouse. *Neuroscience.* 2002;113(1):177-92.
- Förster, R., Schubel, A., Breitfeld, D., Kremmer, E., Renner-Müller, I., Wolf, E. and Lipp, M.** CCR7 coordinates the primary immune response by establishing functional microenvironments in secondary lymphoid organs. *Cell.* 1999 Oct 1;99(1):23-33.
- Giles, K., Olson, S. H. and Prusiner, S. B.** Developing therapeutics for PrP prion diseases. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2017 Apr 3;7(4). pii: a023747. doi: 10.1101/cshperspect.a023747.
- Ginhoux, F. and Guilliams, M.** Tissue-Resident Macrophage Ontogeny and Homeostasis. *Immunity.* 2016 Mar 15;44(3):439-449. doi: 10.1016/j.immuni.2016.02.024.
- Goñi, F., Knudsen, E., Schreiber, F., Scholtzova, H., Pankiewicz, J., Carp, R., Meeker, H. C., Rubenstein, R., Brown, D. R., Sy, M. S., et al.** Mucosal vaccination delays or prevents prion infection via an oral route. *Neuroscience.* 2005;133(2):413-21.
- Gordon, S.** Pattern recognition receptors: Doubling up for the innate immune response. *Cell.* 2002 Dec 27;111(7):927-30.
- Gousset, K., Schiff, E., Langevin, C., Marijanovic, Z., Caputo, A., Browman, D. T., Chenouard, N., de Chaumont, F., Martino, A., Enninga, J., et al.** Prions hijack tunnelling nanotubes for intercellular spread. *Nat. Cell Biol.* 2009 Mar;11(3):328-36. doi: 10.1038/ncb1841.
- Graner, E., Mercadante, A. F., Zanata, S. M., Martins, V. R., Jay, D. G. and Brentani, R. R.** Laminin-induced PC-12 cell differentiation is inhibited following laser inactivation of cellular prion protein. *FEBS Lett.* 2000 Oct 6;482(3):257-60.
- Gunn, M. D., Kyuwa, S., Tam, C., Kakiuchi, T., Matsuzawa, A., Williams, L. T. and Nakano, H.** Mice Lacking Expression of Secondary Lymphoid Organ Chemokine Have Defects in Lymphocyte Homing and Dendritic Cell Localization. *J. Exp. Med.* 1999 Feb 1;189(3):451-60.
- Haddon, D. J., Hughes, M. R., Antignano, F., Westaway, D., Cashman, N. R. and McNagny, K. M.** Prion Protein Expression and Release by Mast Cells After Activation. *J. Infect. Dis.* 200, 827–831. 2009 Sep 1;200(5):827-31. doi: 10.1086/605022.
- Haïk, S., Brandel, J. P., Salomon, D., Sazdovitch, V., Delasnerie-Lauprêtre, N., Laplanche, J. L., Faucheux, B. A., Soubrié, C., Boher, E., Belorgey, C., et al.**

Compassionate use of quinacrine in Creutzfeldt-Jakob disease fails to show significant effects. *Neurology*. 2005 May 24;64(10):1824; author reply 1824.

Heiseke, A., Aguib, Y., Riemer, C., Baier, M. and Schätzl, H. M. Lithium induces clearance of protease resistant prion protein in prion-infected cells by induction of autophagy. *J. Neurochem*. 2009 Apr;109(1):25-34. doi: 10.1111/j.1471-4159.2009.05906.x.

Henderson, D. M., Manca, M., Haley, N. J., Denkers, N. D., Nalls, A. V., Mathiason, C. K., Caughey, B. and Hoover, E. A. Rapid antemortem detection of CWD prions in deer saliva. *PLoS One*. 2013 Sep 11;8(9):e74377. doi: 10.1371/journal.pone.0074377.

Hilton, D. A., Fathers, E., Edwards, P., Ironside, J. W. and Zajicek, J. Prion immunoreactivity in appendix before clinical onset of variant Creutzfeldt-lakob disease. *Lancet*. 1998 Aug 29;352(9129):703-4.

Holada, K. and Vostal, J. G. Different levels of prion protein (PrPc) expression on hamster, mouse and human blood cells. *Br. J. Haematol*. 2000 Aug;110(2):472-80.

Holada, K., Simak, J., Brown, P. and Vostal, J. G. Divergent expression of cellular prion protein on blood cells of human and nonhuman primates. *Transfusion*. 2007 Dec;47(12):2223-32. Epub 2007 Aug 21.

Hu, W., Rosenberg, R. N. and Stüve, O. Prion proteins: A biological role beyond prion diseases. *Acta Neurol. Scand*. 2007 Aug;116(2):75-82.**Adle-Biassette, H., Verney, C., Peoc'h, K., Dauge, M. C., Razavi, F., Choudat, L., Gressens, P., Budka, H. and Henin, D.** (2006). Immunohistochemical expression of prion protein (PrPC) in the human forebrain during development. *J. Neuropathol. Exp. Neurol*.

Aguilar-Calvo, P., García, C., Espinosa, J. C., Andreoletti, O. and Torres, J. M. (2015). Prion and prion-like diseases in animals. *Virus Res*.

Aguzzi, A., Nuvolone, M. and Zhu, C. (2013). The immunobiology of prion diseases. *Nat. Rev. Immunol*. 13, 888–902.

Alliot, F., Godin, I. and Pessac, B. (1999). Microglia derive from progenitors, originating from the yolk sac, and which proliferate in the brain. *Dev. Brain Res*.

Atarashi, R., Satoh, K., Sano, K., Fuse, T., Yamaguchi, N., Ishibashi, D., Matsubara, T., Nakagaki, T., Yamanaka, H., Shirabe, S., et al. (2011). Ultrasensitive human prion detection in cerebrospinal fluid by real-time quaking-induced conversion. *Nat. Med*.

Atkinson, C. J., Zhang, K., Munn, A. L., Wiegmanns, A. and Wei, M. Q. (2016). Prion protein scrapie and the normal cellular prion protein. *Prion*.

Aude-Garcia, C., Villiers, C., Candéias, S. M., Garrel, C., Bertrand, C., Collin, V., Marche, P. N. and Jouvin-Marche, E. (2011). Enhanced susceptibility of T lymphocytes to oxidative stress in the absence of the cellular prion protein. *Cell. Mol. Life Sci*. 68, 687–696.

Bainbridge, J. and Walker, K. B. (2005). The normal cellular form of prion protein modulates T cell responses. *Immunol. Lett*. 96, 147–150.

Ballerini, C., Gourdain, P., Bachy, V., Blanchard, N., Levavasseur, E., Grégoire, S., Fontes, P., Aucouturier, P., Hivroz, C. and Carnaud, C. (2006). Functional implication of cellular prion protein in antigen-driven interactions between T cells and dendritic cells. *J. Immunol*. 176, 7254–62.

Barclay, G. R., Hope, J., Birkett, C. R. and Turner, M. L. (1999). Distribution of cell-associated prion protein in normal adult blood determined by flow cytometry. *Br J Haematol* 107, 804–814.

- Barclay, G. R., Houston, E. F., Halliday, S. I., Farquhar, C. F. and Turner, M. L.** (2002). Comparative analysis of normal prion protein expression on human, rodent, and ruminant blood cells by using a panel of prion antibodies. *Transfusion* **42**, 517–526.
- Bellantuono, I.** (2004). Haemopoietic stem cells. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*
- Bendheim, P. E., Brown, H. R., Rudelli, R. D., Scala, L. J., Goller, N. L., Wen, G. Y., Kacsak, R. J., Cashman, N. R. and Bolton, D. C.** (1992). Nearly ubiquitous tissue distribution of the scrapie agent precursor protein. *Neurology*.
- Bone, I., Belton, L., Walker, A. S. and Darbyshire, J.** (2008). Intraventricular pentosan polysulphate in human prion diseases: An observational study in the UK. *Eur. J. Neurol.*
- Bounhar, Y., Zhang, Y., Goodyer, C. G. and LeBlanc, a** (2001). Prion protein protects human neurons against Bax-mediated apoptosis. *J. Biol. Chem.*
- Brinkmann, V., Reichard, U., Goosmann, C., Fauler, B., Uhlemann, Y., Weiss, D. S., Weinrauch, Y. and Zychlinsky, A.** (2004). Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria. *Science* (80-).
- Brocker, T.** (1997). Survival of mature CD4 T lymphocytes is dependent on major histocompatibility complex class II-expressing dendritic cells. *J. Exp. Med.*
- Brown, P., Brandel, J. P., Sato, T., Nakamura, Y., MacKenzie, J., Will, R. G., Ladogana, A., Pocchiari, M., Leschek, E. W. and Schonberger, L. B.** (2012). Iatrogenic creutzfeldt-Jakob disease, final assessment. *Emerg. Infect. Dis.*
- BROWN, D. R., WONG, B.-S., HAFIZ, F., CLIVE, C., HASWELL, S. J. and JONES, I. M.** (1999). Normal prion protein has an activity like that of superoxide dismutase. *Biochem. J.*
- Burthem, J., Urban, B., Pain, A. and Roberts, D. J.** (2001). The normal cellular prion protein is strongly expressed by myeloid dendritic cells. *Blood* **98**, 3733–3738.
- Campbell, K. S. and Hasegawa, J.** (2013). Natural killer cell biology: an update and future directions. *J. Allergy Clin. Immunol.*
- Carlos, T. M. and Harlan, J. M.** (1990). Membrane Proteins Involved in Phagocyte Adherence to Endothelium. *Immunol. Rev.*
- Cashman, N. R., Loertscher, R., Nalbantoglu, J., Shaw, I., Kacsak, R. J., Bolton, D. C. and Bendheim, P. E.** (1990). Cellular isoform of the scrapie agent protein participates in lymphocyte activation. *Cell* **61**, 185–192.
- Castro-Seoane, R., Hummerich, H., Sweeting, T., Tattum, M. H., Linehan, J. M., de Marco, M. F., Brandner, S., Collinge, J. and Klöhn, P. C.** (2012). Plasmacytoid dendritic cells sequester high prion titres at early stages of prion infection. *PLoS Pathog.* **8**.
- Cebecauer, M., Černý, J. and Hořejší, V.** (1998). Incorporation of leucocyte GPI-anchored proteins and protein tyrosine kinases into lipid-rich membrane domains of COS-7 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*
- Cella, M., Sallusto, F. and Lanzavecchia, A.** (1997). Origin, maturation and antigen presenting function of dendritic cells. *Curr. Opin. Immunol.*
- Chen, C. and Dong, X.-P.** (2016). Epidemiological characteristics of human prion diseases. *Infect. Dis. Poverty* **5**, 47.
- Chin, J., Palop, J. J., Puoliväli, J., Massaro, C., Bien-Ly, N., Gerstein, H., Scarce-Levie, K., Masliah, E. and Mucke, L.** (2005). Fyn kinase induces synaptic and cognitive impairments in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J. Neurosci.*
- Choi, C. J., Kanthasamy, A., Anantharam, V. and Kanthasamy, A. G.** (2006). Interaction of metals with prion protein: Possible role of divalent cations in the pathogenesis of prion diseases. *Neurotoxicology* **27**, 777–787.
- Choi, E. M., Geschwind, M. D., Deering, C., Pomeroy, K., Kuo, A., Miller, B. L., Safar, J. G. and Prusiner, S. B.** (2009). Prion proteins in subpopulations of white blood cells

- from patients with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Lab Invest.*
- Colby, D. W., Zhang, Q., Wang, S., Groth, D., Legname, G., Riesner, D. and Prusiner, S. B.** (2007). Prion detection by an amyloid seeding assay. *Proc. Natl. Acad. Sci.*
- Collinge, J., Whitfield, J., McKintosh, E., Beck, J., Mead, S., Thomas, D. J. and Alpers, M. P.** (2006). Kuru in the 21st century-an acquired human prion disease with very long incubation periods. *Lancet.*
- da Silva, E. Z. M., Jamur, M. C. and Oliver, C.** (2014). *Mast Cell Function: A New Vision of an Old Cell.*
- de Almeida, C. J. G., Chiarini, L. B., da Silva, J. P., e Silva, P. M. R., Martins, M. A. and Linden, R.** (2005). The cellular prion protein modulates phagocytosis and inflammatory response. *J. Leukoc. Biol.* **77**, 238–246.
- Dodelet, V. C. and Cashman, N. R.** (1998). Prion protein expression in human leukocyte differentiation. *Blood* **91**, 1556–61.
- Doeng, D. C., Borowicz, J. L. and Crockett, E. T.** (2003). Gender dimorphism in differential peripheral blood leukocyte counts in mice using cardiac, tail, foot, and saphenous vein puncture methods. *BMC Clin. Pathol.*
- Doh-Ura, K., Iwaki, T. and Caughey, B.** (2000). Lysosomotropic agents and cysteine protease inhibitors inhibit scrapie-associated prion protein accumulation. *J. Virol.*
- Donaldson, D. S., Kobayashi, A., Ohno, H., Yagita, H., Williams, I. R. and Mabbott, N. A.** (2012). M cell-depletion blocks oral prion disease pathogenesis. *Mucosal Immunol.*
- Edwards, J. C., Moore, S. J., Hawthorn, J. A., Neale, M. H. and Terry, L. A.** (2010). PrPScs associated with B cells in the blood of scrapie-infected sheep. *Virology.*
- Ezpeleta, J., Boudet-Devaud, F., Pietri, M., Baudry, A., Baudouin, V., Alleaume-Butaux, A., Dagoneau, N., Kellermann, O., Launay, J. M. and Schneider, B.** (2017). Protective role of cellular prion protein against TNF α -mediated inflammation through TACE α -secretase. *Sci. Rep.* **7**, 1–13.
- Fevrier, B., Vilette, D., Archer, F., Loew, D., Faigle, W., Vidal, M., Laude, H. and Raposo, G.** (2004). Cells release prions in association with exosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*
- Ford, M. J., Burton, L. J., Morris, R. J. and Hall, S. M.** (2002). Selective expression of prion protein in peripheral tissues of the adult mouse. *Neuroscience.*
- Förster, R., Schubel, A., Breitfeld, D., Kremmer, E., Renner-Müller, I., Wolf, E. and Lipp, M.** (1999). CCR7 coordinates the primary immune response by establishing functional microenvironments in secondary lymphoid organs. *Cell.*
- Giles, K., Olson, S. H. and Prusiner, S. B.** (2017). Developing therapeutics for PrP prion diseases. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*
- Ginhoux, F. and Guillemins, M.** (2016). Tissue-Resident Macrophage Ontogeny and Homeostasis. *Immunity.*
- Goñi, F., Knudsen, E., Schreiber, F., Scholtzova, H., Pankiewicz, J., Carp, R., Meeker, H. C., Rubenstein, R., Brown, D. R., Sy, M. S., et al.** (2005). Mucosal vaccination delays or prevents prion infection via an oral route. *Neuroscience.*
- Gordon, S.** (2002). Pattern recognition receptors: Doubling up for the innate immune response. *Cell.*
- Gousset, K., Schiff, E., Langevin, C., Marijanovic, Z., Caputo, A., Browman, D. T., Chenouard, N., de Chaumont, F., Martino, A., Enninga, J., et al.** (2009). Prions hijack tunnelling nanotubes for intercellular spread. *Nat. Cell Biol.*
- Graner, E., Mercadante, A. F., Zanata, S. M., Martins, V. R., Jay, D. G. and Brentani, R. R.** (2000). Laminin-induced PC-12 cell differentiation is inhibited following laser inactivation of cellular prion protein. *FEBS Lett.*
- Gunn, M. D., Kyuwa, S., Tam, C., Kakiuchi, T., Matsuzawa, A., Williams, L. T. and**

- Nakano, H.** (1999). Mice Lacking Expression of Secondary Lymphoid Organ Chemokine Have Defects in Lymphocyte Homing and Dendritic Cell Localization. *J. Exp. Med.*
- Haddon, D. J., Hughes, M. R., Antignano, F., Westaway, D., Cashman, N. R. and McNagny, K. M.** (2009). Prion Protein Expression and Release by Mast Cells After Activation. *J. Infect. Dis.* **200**, 827–831.
- Haïk, S., Brandel, J. P., Salomon, D., Sazdovitch, V., Delasnerie-Lauprêtre, N., Laplanche, J. L., Faucheux, B. A., Soubrié, C., Boher, E., Belorgey, C., et al.** (2004). Compassionate use of quinacrine in Creutzfeldt-Jakob disease fails to show significant effects. *Neurology.*
- Heiseke, A., Aguib, Y., Riemer, C., Baier, M. and Schätzl, H. M.** (2009). Lithium induces clearance of protease resistant prion protein in prion-infected cells by induction of autophagy. *J. Neurochem.*
- Henderson, D. M., Manca, M., Haley, N. J., Denkers, N. D., Nalls, A. V., Mathiason, C. K., Caughey, B. and Hoover, E. A.** (2013). Rapid antemortem detection of CWD prions in deer saliva. *PLoS One.*
- Hilton, D. A., Fathers, E., Edwards, P., Ironside, J. W. and Zajicek, J.** (1998). Prion immunoreactivity in appendix before clinical onset of variant Creutzfeldt-lakob disease. *Lancet.*
- Holada, K. and Vostal, J. G.** (2000). Different levels of prion protein (PrP_c) expression on hamster, mouse and human blood cells. *Br. J. Haematol.*
- Holada, K., Simak, J., Brown, P. and Vostal, J. G.** (2007). Divergent expression of cellular prion protein on blood cells of human and nonhuman primates. *Transfusion* **47**, 2223–2232.
- Hu, W., Rosenberg, R. N. and Stüve, O.** (2007). Prion proteins: A biological role beyond prion diseases. *Acta Neurol. Scand.* **116**, 75–82.
- Huang, F. P., Farquhar, C. F., Mabbott, N. A., Bruce, M. E. and MacPherson, G. G.** (2002). Migrating intestinal dendritic cells transport PrP^{Sc} from the gut. *J. Gen. Virol.*
- Imran, M. and Mahmood, S.** (2011). An overview of human prion diseases. *Virology* **438**, 559.
- Isaacs, J. D., Garden, O. A., Kaur, G., Collinge, J., Jackson, G. S. and Altmann, D. M.** (2008). The cellular prion protein is preferentially expressed by CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells. *Immunology* **125**, 313–319.
- Ishibashi, D., Yamanaka, H., Yamaguchi, N., Yoshikawa, D., Nakamura, R., Okimura, N., Yamaguchi, Y., Shigematsu, K., Katamine, S. and Sakaguchi, S.** (2007). Immunization with recombinant bovine but not mouse prion protein delays the onset of disease in mice inoculated with a mouse-adapted prion. *Vaccine.*
- Iwasaki, A. and Medzhitov, R.** (2015). Control of adaptive immunity by the innate immune system. *Nat Immunol.*
- John, T. R., Schätzl, H. M. and Gilch, S.** (2013). Early detection of chronic wasting disease prions in urine of pre-symptomatic deer by real-time quaking-induced conversion assay. *Prion.*
- Jouvin-Marche, E., Attuil-Audenis, V., Aude-Garcia, C., Rachidi, W., Zabel, M., Podevin-Dimster, V., Siret, C., Huber, C., Martinic, M., Riondel, J., et al.** (2006). Overexpression of cellular prion protein induces an antioxidant environment altering T cell development in the thymus. *J. Immunol.* **176**, 3490–3497.
- Kaiser-Schulz, G., Heit, A., Quintanilla-Martinez, L., Hammerschmidt, F., Hess, S., Jennen, L., Rezaei, H., Wagner, H. and Schätzl, H. M.** (2007). Polylactide-coglycolide microspheres co-encapsulating recombinant tandem prion protein with CpG-oligonucleotide break self-tolerance to prion protein in wild-type mice and induce CD4 and CD8 T cell responses. *J. Immunol.*

- Kanu, N., Imokawa, Y., Drechsel, D. N., Williamson, R. A., Birkett, C. R., Bostock, C. J. and Brookes, J. P.** (2002). Transfer of scrapie prion infectivity by cell contact in culture. *Curr. Biol.*
- Kim, M. Y., McConnell, F. M., Gaspal, F. M. C., White, A., Glanville, S. H., Bekiaris, V., Walker, L. S. K., Caamano, J., Jenkinson, E., Anderson, G., et al.** (2007). Function of CD4+CD3-cells in relation to B- and T-zone stroma in spleen. *Blood.*
- Kim, S., Han, S., Lee, Y. E., Jung, W. J., Lee, H. S., Kim, Y. S., Choi, E. K. and Kim, M. Y.** (2016). Prion protein-deficient mice exhibit decreased CD4 T and LT_i cell numbers and impaired spleen structure. *Immunobiology* **221**, 94–102.
- Klein, M. A., Kaeser, P. S., Schwarz, P., Weyd, H., Xenarios, I., Zinkernagel, R. M., Carroll, M. C., Verbeek, J. S., Botto, M., Walport, M. J., et al.** (2001). Complement facilitates early prion pathogenesis. *Nat. Med.*
- Koizumi, S., Shigemoto-Mogami, Y., Nasu-Tada, K., Shinozaki, Y., Ohsawa, K., Tsuda, M., Joshi, B. V., Jacobson, K. A., Kohsaka, S. and Inoue, K.** (2007). UDP acting at P2Y₆ receptors is a mediator of microglial phagocytosis. *Nature.*
- Korth, C., May, B. C. H., Cohen, F. E. and Prusiner, S. B.** (2001). Acridine and phenothiazine derivatives as pharmacotherapeutics for prion disease. *Proc. Natl. Acad. Sci.*
- Kosco, M. H., Pflugfelder, E. V. A. and Gray, D.** (1992). Follicular dendritic cell-dependent adhesion and proliferation of B cells in vitro. *J. Immunol.*
- Krebs, B., Dorner-Ciossek, C., Schmalzbauer, R., Vassallo, N., Herms, J. and Kretzschmar, H. A.** (2006). Prion protein induced signaling cascades in monocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **340**, 13–22.
- Kupfer, L., Hinrichs, W. and Groschup, M. H.** (2009). Prion protein misfolding. *Curr. Mol. Med.* **9**, 826–35.
- Larramendy-Gozal, C., Barret, A., Daudigeos, E., Mathieu, E., Antonangeli, L., Riffet, C., Petit, E., Papy-Garcia, D., Barritault, D., Brown, P., et al.** (2007). Comparison of CR36, a new heparan mimetic, and pentosan polysulfate in the treatment of prion disease. *J. Gen. Virol.*
- Lawson, L. J., Perry, V. H., Dri, P. and Gordon, S.** (1990). Heterogeneity in the distribution and morphology of microglia in the normal adult mouse brain. *Neuroscience.*
- Lee, W. L., Harrison, R. E. and Grinstein, S.** (2003). Phagocytosis by neutrophils. *Microbes Infect.*
- Lenicov, F. R., Paletta, A. L., Prinz, M. G., Varese, A., Pavillet, C. E., Malizia, Á. L., Sabatté, J., Geffner, J. R. and Ceballos, A.** (2018). Prostaglandin E₂ Antagonizes TGF- β actions during the differentiation of monocytes into dendritic cells. *Front. Immunol.* **9**, 1–20.
- Li, R., Liu, D., Zanusso, G., Liu, T., Fayen, J. D., Huang, J. H., Petersen, R. B., Gambetti, P. and Sy, M. S.** (2001). The expression and potential function of cellular prion protein in human lymphocytes. *Cell. Immunol.* **207**, 49–58.
- Linden, R., Martins, V. R., Prado, M. A. M., Cammarota, M., Izquierdo, I. and Brentani, R. R.** (2008a). Physiology of the Prion Protein. *Physiol. Rev.*
- Linden, R., Martins, V. R., Prado, M. A. M., Cammarota, M., Izquierdo, I. and Brentani, R. R.** (2008b). Physiology of the Prion Protein. *Physiol. Rev.* **88**, 673–728.
- Määttänen, P., Taschuk, R., Ross, L., Marciniuk, K., Bertram, L., Potter, A., Cashman, N. R. and Napper, S.** (2013). PrP^{Sc}-specific antibodies do not induce prion disease or misfolding of PrP^C in highly susceptible Tga20 mice. *Prion.*
- Mabbott, N. A., Young, J., McConnell, I. and Bruce, M. E.** (2003). Follicular Dendritic Cell Dedifferentiation by Treatment with an Inhibitor of the Lymphotoxin Pathway Dramatically Reduces Scrapie Susceptibility. *J. Virol.*

- MacGregor, I., Hope, J., Barnard, G., Kirby, L., Drummond, O., Pepper, D., Hornsey, V., Barclay, R., Bessos, H., Turner, M., et al.** (1999). Application of a time-resolved fluoroimmunoassay for the analysis of normal prion protein in human blood and its components. *Vox Sang.*
- Manson, J., West, J. D., Thomson, V., McBride, P., Kaufman, M. H. and Hope, J.** (1992). The prion protein gene: a role in mouse embryogenesis? *Development.*
- Mariante, R. M., Nobrega, A., Martins, R. A. P., Areal, R. B., Bellio, M. and Linden, R.** (2012). Neuroimmunoendocrine regulation of the prion protein in neutrophils. *J. Biol. Chem.* **287**, 35506–35515.
- Martínez del Hoyo, G., López-Bravo, M., Metharom, P., Ardavín, C. and Aucouturier, P.** (2006). Prion protein expression by mouse dendritic cells is restricted to the nonplasmacytoid subsets and correlates with the maturation state. *J. Immunol.* **177**, 6137–42.
- Mastrianni, J. A.** (2010). The genetics of prion diseases. *Genet. Med.* **12**, 187–195.
- Masullo, C., Macchi, G., Xi, Y. G. and Pocchiari, M.** (1992). Failure to Ameliorate Creutzfeldt-Jakob Disease with Amphotericin B Therapy. *J. Infect. Dis.*
- Mattei, V., Garofalo, T., Misasi, R., Circella, A., Manganelli, V., Lucania, G., Pavan, A. and Sorice, M.** (2004). Prion protein is a component of the multimolecular signaling complex involved in T cell activation. *FEBS Lett.* **560**, 14–18.
- Maurer, M., Wedemeyer, J., Metz, M., Piliponsky, A. M., Weller, K., Chatterjea, D., Clouthier, D. E., Yanagisawa, M. M., Tsai, M. and Galli, S. J.** (2004). Mast cells promote homeostasis by limiting endothelin-1-induced toxicity. *Nature.*
- McCulloch, L., Brown, K. L., Bradford, B. M., Hopkins, J., Bailey, M., Rajewsky, K., Manson, J. C. and Mabbott, N. A.** (2011). Follicular dendritic cell-specific prion protein (PrP_c) expression alone is sufficient to sustain prion infection in the spleen. *PLoS Pathog.* **7**.
- McCulloch, L., Brown, K. L. and Mabbott, N. A.** (2013). Ablation of the cellular prion protein, PrP^C, specifically on follicular dendritic cells has no effect on their maturation or function. *Immunology* **138**, 246–257.
- Meissner, B., Kallenberg, K., Sanchez-Juan, P., Collie, D., Summers, D. M., Almonti, S., Collins, S. J., Smith, P., Cras, P., Jansen, G. H., et al.** (2009). MRI lesion profiles in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology.*
- Mestas, J. and Hughes, C. C. W.** (2004). Of Mice and Not Men: Differences between Mouse and Human Immunology. *J. Immunol.*
- Montrasio, F., Frigg, R., Glatzel, M., Klein, M. A., Mackay, F., Aguzzi, A. and Weissmann, C.** (2000). Impaired prion replication in spleens of mice lacking functional follicular dendritic cells. *Science* (80-).
- Mosaad, Y. M.** (2014). Hematopoietic stem cells: An overview. *Transfus. Apher. Sci.* **51**, 68–82.
- Nikles, D., Bach, P., Boller, K., Merten, C. A., Montrasio, F., Heppner, F. L., Aguzzi, A., Cichutek, K., Kalinke, U. and Buchholz, C. J.** (2005). Circumventing Tolerance to the Prion Protein (PrP): Vaccination with PrP-Displaying Retrovirus Particles Induces Humoral Immune Responses against the Native Form of Cellular PrP. *J. Virol.*
- Nuvolone, M., Kana, V., Hutter, G., Sakata, D., Mortin-Toth, S. M., Russo, G., Danska, J. S. and Aguzzi, A.** (2013). SIRP α polymorphisms, but not the prion protein, control phagocytosis of apoptotic cells. *J. Exp. Med.* **210**, 2539–2552.
- Oldenborg, P.-A., Gresham, H. D. and Lindberg, F. P.** (2001). Cd47-Signal Regulatory Protein α (Sirp α) Regulates Fc γ and Complement Receptor-Mediated Phagocytosis. *J. Exp. Med.*
- Orrú, C. D., Bongianini, M., Tonoli, G., Ferrari, S., Hughson, A. G., Groveman, B. R.,**

- Fiorini, M., Pocchiari, M., Monaco, S., Caughey, B., et al.** (2014). A Test for Creutzfeldt–Jakob Disease Using Nasal Brushings. *N. Engl. J. Med.*
- Orrú, C. D., Groveman, B. R., Hughson, A. G., Zanusso, G., Coulthart, M. B. and Caughey, B.** (2015). Rapid and sensitive RT-QuIC detection of human creutzfeldt-jakob disease using cerebrospinal fluid. *MBio.*
- Orrú, C. D., Yuan, J., Appleby, B. S., Li, B., Li, Y., Winner, D., Wang, Z., Zhan, Y. A., Rodgers, M., Rarick, J., et al.** (2017). Prion seeding activity and infectivity in skin samples from patients with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Sci. Transl. Med.*
- Paar, C., Wurm, S., Pfarr, W., Sonnleitner, A. and Wechselberger, C.** (2007). Prion protein resides in membrane microclusters of the immunological synapse during lymphocyte activation. *Eur. J. Cell Biol.* **86**, 253–264.
- Panegyres, P. and Burchell, J. T.** (2016). Prion diseases: immunotargets and therapy. *ImmunoTargets Ther.* **57**.
- Panigaj, M., Brouckova, A., Glierova, H., Dvorakova, E., Simak, J., Vostal, J. G. and Holada, K.** (2011). Underestimation of the expression of cellular prion protein on human red blood cells. *Transfusion* **51**, 1012–1021.
- Perry, V. H., Hume, D. A. and Gordon, S.** (1985). Immunohistochemical localization of macrophages and microglia in the adult and developing mouse brain. *Neuroscience.*
- Pinheiro, L. P., Linden, R. and Mariante, R. M.** (2015). Activation and function of murine primary microglia in the absence of the prion protein. *J. Neuroimmunol.* **286**, 25–32.
- Pocchiari, M., Schmittinger, S. and Masullo, C.** (1987). Amphotericin B delays the incubation period of scrapie in intracerebrally inoculated hamsters. *J. Gen. Virol.*
- Prinz, M., Huber, G., Macpherson, A. J. S., Heppner, F. L., Glatzel, M., Eugster, H. Pietro, Wagner, N. and Aguzzi, A.** (2003). Oral prion infection requires normal numbers of Peyer’s patches but not of enteric lymphocytes. *Am. J. Pathol.*
- Prusiner, S. B.** (1982). Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science (80-)*.
- Prusiner, S. B.** (1991). Molecular biology of prion diseases. *Science (80-)*.
- Prusiner, S. B.** (1996). Molecular biology and pathogenesis of prion diseases. *Trends Biochem. Sci.*
- Prusiner, S. B.** (1998). Prions. *Proc. Natl. Acad. Sci.*
- Raeber, A. J., Sailer, A., Hegyi, I., Klein, M. A., Rüllicke, T., Fischer, M., Brandner, S., Aguzzi, A. and Weissmann, C.** (1999). Ectopic expression of prion protein (PrP) in T lymphocytes or hepatocytes of PrP knockout mice is insufficient to sustain prion replication. *Proc Natl Acad Sci U S A.*
- Richardson, D. D., Tol, S., Valle-Encinas, E., Pleguezuelos, C., Bierings, R., Geerts, D. and Fernandez-Borja, M.** (2015). The prion protein inhibits monocytic cell migration by stimulating α 1 integrin adhesion and uropod formation. *J. Cell Sci.* **128**, 3018–3029.
- Rohan, Z., Rusina, R., Maresova, M. and Matej, R.** (2015). [Human prion diseases in the Czech Republic]. *Epidemiol. Mikrobiol. Imunol. Cas. Spol. pro Epidemiol. a Mikrobiol. Ces. Lek. Spol. J.E. Purkyne.*
- Rosset, M. B., Ballerini, C., Gregoire, S., Metharom, P., Carnaud, C. and Aucouturier, P.** (2004). Breaking immune tolerance to the prion protein using prion protein peptides plus oligodeoxynucleotide-CpG in mice. *J. Immunol.*
- Saá, P., Castilla, J. and Soto, C.** (2006). Ultra-efficient replication of infectious prions by automated protein misfolding cyclic amplification. *J. Biol. Chem.*
- Sada, K., Takano, T., Yanagi, S. and Yamamura, H.** (2001). Structure and function of Syk protein-tyrosine kinase. *J. Biochem.*
- Saito, Y., Iwamura, H., Kaneko, T., Ohnishi, H., Murata, Y., Okazawa, H., Kanazawa, Y., Sato-Hashimoto, M., Kobayashi, H., Oldenborg, P. A., et al.** (2010). Regulation by SIRP α of dendritic cell homeostasis in lymphoid tissues. *Blood.*

- Santuccione, A., Sytnyk, V., Leshchyns'ka, I. and Schachner, M.** (2005). Prion protein recruits its neuronal receptor NCAM to lipid rafts to activate p59^{fyn} and to enhance neurite outgrowth. *J. Cell Biol.*
- Savino, W., Mendes-da-Cruz, D. A., Smaniotto, S., Silva-Monteiro, E. and Villa-Verde, D. M. S.** (2004). Molecular mechanisms governing thymocyte migration: combined role of chemokines and extracellular matrix. *J. Leukoc. Biol.*
- Seong, Y. J., Sung, P. S., Jang, Y. S., Choi, Y. J., Park, B. C., Park, S. H., Park, Y. W. and Shin, E. C.** (2015). Activation of human natural killer cells by the soluble form of cellular prion protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **464**, 512–518.
- Shi, F., Yang, L., Kouadir, M., Yang, Y., Ding, T., Wang, J., Zhou, X., Yin, X. and Zhao, D.** (2013). Prion protein participates in the regulation of classical and alternative activation of BV2 microglia. *J. Neurochem.* **124**, 168–174.
- Shin, J. S., Gao, Z. and Abraham, S. N.** (2000). Involvement of cellular caveolae in bacterial entry into mast cells. *Science (80-)*.
- Sigurdson, C. J., Williams, E. S., Miller, M. W., Spraker, T. R., O'Rourke, K. I. and Hoover, E. A.** (1999). Oral transmission and early lymphoid tropism of chronic wasting disease PrP(res) in mule deer fawns (*Odocoileus hemionus*). *J. Gen. Virol.*
- Sorice, M., Longo, A., Garofalo, T., Mattei, V., Misasi, R. and Pavan, A.** (2004). Role of GM3-enriched microdomains in signal transduction regulation in T lymphocytes. In *Glycoconjugate Journal*, .
- Stahl, N., Borchelt, D. R., Hsiao, K. and Prusiner, S. B.** (1987). Scrapie prion protein contains a phosphatidylinositol glycolipid. *Cell.*
- Terra-Granado, E., Berbert, L. R., De Meis, J., Nomizo, R., Martins, V. R., Savino, W. and Silva-Barbosa, S. D.** (2007). Is there a role for cellular prion protein in intrathymic T cell differentiation and migration? *Neuroimmunomodulation* **14**, 213–219.
- Tobler, I., Gaus, S. E., Deboer, T., Achermann, P., Fischer, M., Rulicke, T., Moser, M., Oesch, B., McBride, P. A. and Manson, J. C.** (1996). Altered circadian activity rhythms and sleep in mice devoid of prion protein. *Nature.*
- Um, J. W., Nygaard, H. B., Heiss, J. K., Kostylev, M. A., Stagi, M., Vortmeyer, A., Wisniewski, T., Gunther, E. C. and Strittmatter, S. M.** (2012). Alzheimer amyloid- β 2 oligomer bound to postsynaptic prion protein activates Fyn to impair neurons. *Nat. Neurosci.*
- Viegas, P., Chaverot, N., Enslin, H., Perriere, N., Couraud, P.-O. and Cazaubon, S.** (2006). Junctional expression of the prion protein PrPC by brain endothelial cells: a role in trans-endothelial migration of human monocytes. *J. Cell Sci.* **119**, 4634–4643.
- Walsh, D. M., Klyubin, L., Fadeeva, J. V., Cullen, W. K., Anwyl, R., Wolfe, M. S., Rowan, M. J. and Selkoe, D. J.** (2002). Naturally secreted oligomers of amyloid β protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature.*
- Wang, P. S., Wu, Y. Te, Hung, C. I., Kwan, S. Y., Teng, S. and Soong, B. W.** (2008). Early detection of periodic sharp wave complexes on EEG by independent component analysis in patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *J. Clin. Neurophysiol.*
- Wang, G., Zhou, X., Bai, Y., Yin, X., Yang, L. and Zhao, D.** (2011a). Hsp70 Binds to PrPC in the Process of PrPC released via Exosomes from THP-1 monocytes. *Cell Biol Int* **35**, 553–558.
- Wang, X., Cho, B., Suzuki, K., Xu, Y., Green, J. A., An, J. and Cyster, J. G.** (2011b). Follicular dendritic cells help establish follicle identity and promote B cell retention in germinal centers. *J. Exp. Med.*
- Wang, M., Zhao, D., Yang, Y., Liu, J., Wang, J., Yin, X., Yang, L. and Zhou, X.** (2014). The cellular prion protein negatively regulates phagocytosis and cytokine expression in murine bone marrow-derived macrophages. *PLoS One* **9**, .

- White, A. R., Collins, S. J., Maher, F., Jobling, M. F., Stewart, L. R., Thyer, J. M., Beyreuther, K., Masters, C. L. and Cappai, R.** (1999). Prion protein-deficient neurons reveal lower glutathione reductase activity and increased susceptibility to hydrogen peroxide toxicity. *Am. J. Pathol.*
- White, A. R., Enever, P., Tayebi, M., Mushens, R., Linehan, J., Brandner, S., Anstee, D., Collinge, J. and Hawke, S.** (2003). Monoclonal antibodies inhibit prion replication and delay the development of prion disease. *Nature.*
- Wulf, M.-A., Senatore, A. and Aguzzi, A.** (2017). The biological function of the cellular prion protein: an update. *BMC Biol.* **15**, 34.
- Wurm, S., Paar, C., Sonnleitner, A., Sonnleitner, M., Höglinger, O., Romanin, C. and Wechselberger, C.** (2004). Co-localization of CD3 and prion protein in Jurkat lymphocytes after hypothermal stimulation. *FEBS Lett.* **566**, 121–125.
- Zahn, R., Liu, A., Lührs, T., Riek, R., von Schroetter, C., López García, F., Billeter, M., Calzolari, L., Wider, G. and Wüthrich, K.** (2000). NMR solution structure of the human prion protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*
- Zerr, I., Pocchiari, M., Collins, S., Brandel, J. P., De Pedro Cuesta, J., Knight, R. S. G., Bernheimer, H., Cardone, F., Delasnerie-Lauprêtre, N., Cuadrado Corrales, N., et al.** (2000). Analysis of EEG and CSF 14-3-3 proteins as aids to the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology.*
- Zou, W. Q., Xiao, X., Yuan, J., Puoti, G., Fujioka, H., Wang, X., Richardson, S., Zhou, X., Zou, R., Li, S., et al.** (2011). Amyloid- β 42 interacts mainly with insoluble prion protein in the Alzheimer brain. *J. Biol. Chem.*