

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: **Speciální chemicko-biologické obory**

Studijní obor: **Molekulární biologie a biochemie organismů**



**Jan Věcek**

**Schopnost probiotik ovlivnit přirozené lymfoidní buňky typu 3**

Capacity of probiotics to affect innate lymphoid cells type 3

Typ závěrečné práce:

**Bakalářská práce**

Vedoucí práce/Školitel:

**doc. RNDr. Jiří Hrdý, Ph.D.**

Praha, 2021

**Poděkování:**

Chtěl bych poděkovat celému kolektivu laboratoře imunologie z Ústavu imunologie a mikrobiologie 1. LF UK za přátelské otevření dveří do světa experimentální vědy. Jmenovitě bych potom rád poděkoval Elišce Mikové a Viktorovi Černému za jejich ochotu a chuť diskutovat některá probíraná témata. V neposlední řadě děkuji svému školiteli Jiřímu Hrdému za rady, důvěru a trpělivost.

**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, 6.5.2021

Podpis

## **Abstrakt**

Přirozené lymfoidní buňky typu 3 (ILC3) jsou skupinou relativně nově popsaných lymfocytů, které postrádají antigenně specifický receptor. Přes to se ukazuje jejich důležitá úloha imunitních regulátorů na sliznicích. ILC3 se kromě vývoje lymfoidní tkáně při embryogenezi a následně i v průběhu ontogeneze jedince v postnatálním období podílejí na udržování vzájemných homeostatických interakcí mezi složkami mikrobioty a imunitním systémem hostitele. ILC3 produkují různé cytokiny, které stimulují okolní buňky střeva k produkci antimikrobiálních peptidů a udržují integritu epitelální stěny. Hlavní cytokin tvořený ILC3 je IL-22. Th17 lymfocyty a ILC3 si jsou v mnoha ohledech podobné, ale v některých funkcích se výrazně liší. ILC3 mají schopnost regulovat buňky adaptivní imunity směrem k antimikrobiální odpovědi bez indukce zánětu. Také jsou přímo spojené s buňkami nervové soustavy. Některé probiotické kmeny bakterií produkují metabolity, které přímo ovlivňují ILC3. Tento mechanismus by se mohl využít při nových terapeutických postupech u onemocnění, při jejichž patogenezi dochází ke změně složení a funkce mikrobioty vedoucí k indukci prozánětlivých imunitních odpovědí hostitele.

**Klíčová slova:** přirozené lymfoidní buňky, IL-22, antimikrobiální peptidy, probiotika, mikrobiota

## **Abstract**

Innate lymphoid cells type 3 (ILC3) are a group of relatively newly discovered lymphocytes that lack an antigen-specific receptor. Nevertheless, their important role of immune regulators on mucous membranes is evident. In addition to the development of lymphoid tissue in embryogenesis, and during ontogenesis, postnatally, ILC3 are mainly involved in maintaining intestinal homeostasis and controlling intestinal microbiota. ILC3 produces various cytokines that stimulate surrounding intestinal cells to produce antimicrobial peptides and maintain epithelial wall integrity. The major cytokine produced by ILC3 is IL-22. Th17 lymphocytes and ILC3 are similar in many respects but differ significantly in some functions. ILC3 can regulate adaptive immunity cells towards an antimicrobial response without inducing inflammation. They are also directly connected to cells of the nervous system. Some probiotic bacterial strains produce metabolites that directly affect ILC3. This mechanism could be used in new therapeutic approaches to ameliorate the severity of diseases where changes in microbiota composition and function are inducing proinflammatory responses of the host.

**Key words:** innate lymphoid cells; IL-22; antimicrobial peptides; probiotics; microbiota

## Seznam zkratek

**AhR** aryl hydrocarbon receptor

**AMP** antimikrobiální peptid

**APC** buňka prezentující antigen (antigen presenting cell)

**ARNTL** (aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator like protein)

**CD** Crohnova choroba (Crohn disease)

**CFU** kolonii tvořící jednotky (colony forming units)

**CHILP** společný progenitor pomocných ILC (common helper ILC progenitor)

**CLP** společný lymfoidní progenitor (common lymphoid progenitor)

**CP** (cryptopatches)

**CSR** izotypový přesmyk (class switch recombination)

**DSS** dextran sulfát sodný

**EILP** časný prekurzor přirozených lymfoidních buněk (early innate lymphoid progenitor)

**FMT** fekální mikrobiální transplantace

**Ffar2** receptor mastných kyselin s krátkým řetězcem2 (free fatty acid receptor 2)

**GF** bezmikrobní (germ free)

**GM-CSF** faktor stimulující kolonie monocytů a granulocytů (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor)

**HCC** hepatocelulární karcinom (hepatocellular carcinoma)

**IBD** idiopatické střevní záněty (inflammatory bowel disease)

**ICAM-1** (intercellular adhesion molecule 1)

**Id** (inhibitor of DNA binding)

**IEC** epiteliální buňky střeva (intestinal epithelial cells)

**IFN- $\gamma$**  interferon gama

**IgA** imunoglobulin A

**IL** interleukin

**ILC** přirozené lymfoidní buňky (innate lymphoid cells)

**ILF** izolovaný lymfoidní folikul

**KIR** (killer-immunoglobulin like receptor)

**LCN-2** (epithelial-derived lipocalin-2)

**LTi** buňky indukující vznik lymfoidní tkáně (lymphoid tissue inducer cells)

**MadCAM-1** (mucosal addressin cell adhesion molecule 1)

**MAMPs** (microbial-associated molecular patterns)

**MCMV** myší cytomegalovirus

**MHC** hlavní histokompatibilní komplex (major histocompatibility complex)

**MLN** mezenteriální lymfatická uzlina (mesenteric lymph node)

**MNP** mononukleární fagocyt (mononuclear phagocyte)

**NK buňky** přirození zabijáci (natural killer cells)  
**PCTR1** (protectin conjugates in tissue regeneration 1)  
**PLZF** (promyelocytic leukemia zinc finger)  
**PP** Peyeroovy pláty  
**RA** kyselina retinová (retinoic acid)  
**Rag** (recombination activating gene)  
**RANK** (receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B)  
**RAR** receptor kyseliny retinové (retinoic acid receptor)  
**REG3** (regenerating islet-derived protein 3)  
**ROR** (RAR-related orphan receptor)  
**SCFA** mastné kyseliny s krátkým řetězcem (short chain fatty acids)  
**SPF** (specific pathogen free)  
**sPLA<sub>2</sub>** sekreční fosfolipáza A<sub>2</sub> (secretory phospholipase A<sub>2</sub>)  
**TGF- $\beta$**  transformující růstový faktor beta (transforming growth factor beta)  
**TLR** Toll-like receptor  
**TRAIL** (TNF related apoptosis inducing ligand)  
**Treg** T regulační buňky  
**UC** ulcerózní kolitida (ulcerative colitis)  
**VCAM-1** (vascular cell adhesion molecule 1)  
**VDR** vitamin D receptor  
**VIP** vazoaktivní intestinální peptid (vasoactive intestinal peptide)  
**VIPR2** receptor pro vazoaktivní intestinální peptid (vasoactive intestinal peptide receptor)

# Obsah

Úvod.....	1
Střevní mikrobiom .....	2
Homeostáze a dysbióza.....	3
Probiotika .....	4
Přirozené lymfoidní buňky .....	4
Vývoj ILC.....	5
NK buňky .....	6
ILC1.....	7
ILC2.....	8
ILC3.....	9
ILCreg.....	9
Imunoregulační dráhy ILC3 .....	10
Efektorové molekuly ILC3 .....	10
Regulace ILC3 .....	12
Indukce lymfoidní tkáně.....	16
Regulace adaptivní imunity prostřednictvím ILC3 .....	17
Plasticita ILC3 .....	18
ILC3 a kolonizační rezistence.....	19
Patologie spojená s ILC3.....	19
ILC3 a probiotika .....	20
Výzvy do budoucna a problémy .....	22
Závěr .....	24
Literatura: .....	25

## Úvod

Střevo člověka obývají bilióny mikroorganismů, hlavně bakterií. Mezi jejich funkce patří trávení jinak nestravitelných zbytků na metabolity, které jsou pro hostitele využitelné. Mikroorganismy přítomné na sliznicích také brání kolonizaci patogenů. Bakterie mají potenciál rychlého růstu a je potřeba držet je pod kontrolou imunitním systémem, aby nedošlo k expanzi některého bakteriálního kmene. To by mohlo vést k narušení mikrobiální rovnováhy a uvolnit prostor pro patogen. Na druhou stranu je zapotřebí balancovat imunitní odpověď, protože přílišná stimulace imunitního systému vede k propagaci zánětu.

V posledních desetiletích došlo k objevení přirozených lymfoidních buněk a popsání jejich funkcí, kterými se podílejí na udržování homeostáze organismu. Ve své práci se budu zabývat přirozenými lymfoidními buňkami typu 3 (ILC3, innate lymphoid cells type 3), které se vyskytují ve střevech a podílejí se na vytvoření homeostatických podmínek v kontextu mikrobioty. Cílem práce bude stručně popsat mikrobiotu a ILC, ale hlavně mechanismy, které ILC3 regulují a jejich efektorové vlastnosti, s důrazem na interakce s mikrobiálními společenstvy. Jedním ze zajímavých příkladů je přímé spojení nervového systému s ILC3, nebo také různé mechanismy, jak ILC3 regulují buňky adaptivní imunity. Na závěr bych chtěl diskutovat schopnost probiotik modulovat ILC3. Současný výzkum věnuje samotným ILC poměrně velkou pozornost, a proto se problematika ILC velmi vyvíjí.



## Střevní mikrobiom

Mikrobiom definujeme jako charakteristickou mikrobiální komunitu okupující dobře definovaný habitat, který má charakteristické fyzikálně-chemické vlastnosti (Berg et al., 2020). Nicméně některé práce používají termín mikrobiom pro označení všech genů mikrobioty, kdy mikrobiotou rozumíme soubor všech druhů mikroorganismů daného prostoru. Lidské tělo osídluje početné skupiny různých mikroorganismů. Můžeme je najít na kůži, ve vagíně, v puse, ale hlavně ve střevech. V celém těle jsou desítky bilionů mikrobů, což početně odpovídá všem buňkám našeho těla, pokud započteme bezjaderné červené krvinky (Sender et al., 2016). Podstatnější než pouhé srovnání počtu mikroorganismů s celkovým počtem buněk lidského těla je zjištění metagenomické analýzy lidské stolice, popisující přibližně sto padesátkrát větší počet genů mikrobioty než genů lidských. 99% odhalených genů patřilo bakteriím, 0,1 procenta eukaryotním buňkám a virům, zbytek potom buňkám archea. Identifikované geny by mohly patřit asi 1150 druhům bakterií (Qin et al., 2010). V různých částech střeva můžeme najít odlišné mikrobiální zastoupení v různé četnosti. V duodenu je pro bakterie nepříznivé prostředí, musí se vypořádat se žlučovými kyselinami a pankreatickou šťávou, proto tam najdeme *Firmicutes* a *Actinobacteria* v nízké koncentraci  $10^3$  CFU (kolonii tvořící jednotky, colony forming units)/ml. V jejunu se již vyskytují skupiny zejména Gram-negativních aerobů a fakultativních anaerobů, včetně skupin *Lactobacillus*, *Streptococcus* a *Enterococcus* v koncentraci  $10^3$ - $10^7$  CFU/ml. V ileu dosahuje koncentrace mikroorganismů hodnoty  $10^9$ CFU/ml s převahou aerobních bakterií. Směrem k tlustému střevu dochází k výraznému zvýšení proporčního zastoupení anaerobů. V tlustém střevě je koncentrace  $10^{12}$ CFU/ml a početnost anaerobů je 100 až 1000 větší než aerobů (Adak and Khan, 2019). Dominantní populace tvoří *Firmicutes* a *Bacteroidetes*. Spektrum mikroorganismů je charakteristické pro každého jedince a může být ovlivněno genetickým pozadím, léčbou, environmentálními faktory a dietou (Eckburg et al., 2005). Navíc v každém jedinci je pozorovatelná změna bakteriálního složení v rámci dne. Mění se i bakteriální metabolom a biogeografické rozmístění, respektive vzdálenost mikrobů od epitelu střeva. Na jedné straně je tato skutečnost spojena s načasováním příjmu potravy, ale také závisí na cirkadiálních rytmech hostitele (Thaiss et al., 2016).

Střevní mikrobiota plní několik fyziologických funkcí. V první řadě jsou některé mikroorganismy schopny tvorby esenciálních vitamínů a živin. Také dokážou zpracovávat

složky potravy, které jsou pro člověka nestravitelné, jako třeba odolné škroby a vlákninu. V tlustém střevě je potrava fermentovaná mikrobiotou a výsledným produktem jsou mastné kyseliny s krátkým řetězcem (SCFA, short chain fatty acids), zejména acetát, propionát a butyrát. Pro člověka v západním světě představují SCFA a další živiny produkované mikrobiotou a následně absorbované epitelem tlustého střeva okolo deseti procent energetického příjmu, v rozvojových zemích SCFA reprezentují mnohem větší podíl (McNeil, 1984). Butyrát jako hlavní zdroj energie pro epitelální buňky tlustého střeva je podstatný pro udržení jejich fyziologické funkce (Pomare et al., 1985). Další, neméně důležitou funkcí, je ochrana hostitele před infekcí. Mikrobiota přímo brání patogenům v kolonizaci střeva díky obsazení prostorové a potravní niky a kompetici o zdroje (Kamada et al., 2012). Dále také produkcí baktericidních látek schopných přímo zabít buňky potenciálních patogenů. Samotné SCFA jsou schopny přímo inhibovat růst některých patogenních bakterií, například enterohemoragické *E. coli* O157:H7 (SHIN et al., 2002). Komenzálové mohou také bránit patogenům v kolonizaci nepřímo, prostřednictvím stimulace hostitelova imunitního systému k produkci antimikrobiálních peptidů (AMP) a imunoglobulinu A (IgA). Celý tento fenomén se nazývá kolonizační rezistence (Buffie and Pamer, 2013). V neposlední řadě je mikrobiální stimulace potřebná pro správný vývoj lymfoidní tkáně a imunitního systému ve střevech (Bouskra et al., 2008; Nishida et al., 2018), ale také k regulaci imunitní odpovědi a zánětu. Butyrát dokáže skrze inhibici histon deacetylázy indukovat diferenciaci T regulačních buněk (Treg) (Furusawa et al., 2013).

### Homeostáze a dysbióza

Při homeostatických podmínkách střeva člověka obývají mikroorganismy, které můžeme rozdělit do třech skupin. První skupinu představují tzv. symbionti, kteří svou přítomností přinášejí zdravotní benefity hostiteli. Další skupinu mikroorganismů označujeme jako komenzály, které nezpůsobují škody hostiteli, ale doposud nejsou známy ani výhody. A poslední skupinou jsou patobionti, kteří mají potenciál za určitých podmínek způsobovat či přispívat k rozvoji patologií, ale při homeostáze jsou regulovány konkurenčními mikroorganismy a imunitním systémem (Round and Mazmanian, 2009). Střevní dysbióza je patologický stav, který charakterizuje změna ve složení a funkci fyziologické mikrobioty. Dysbióza je spojena s určitými chorobami, např. s idiopatickými střevními záněty (IBD, inflammatory bowel disease). V zánětlivém prostředí dochází k redukci diverzity

mikroorganismů, zejména kmene *Firmicutes* a nárůstu jedinců kmene *Bacteroidetes*. Crohnova choroba (CD) potom provází zvýšení počtu *Enterobacteriaceae* (Walker et al., 2011) a i výskyt patogenů jako adhezivní-invazivní *E. coli*, kterou najdeme častěji u pacientů s CD (Darfeuille-Michaud et al., 2004). Dysbióza vede k nižší produkci SCFA, vyšší permeabilitě střevní stěny, nižší maturaci Treg a snížené přítomnosti mucinu kvůli mukolytickým bakteriím a disregulované produkci (Nishida et al., 2018; Takahashi et al., 2016).

## Probiotika

Podle světové zdravotnické organizace a organizace pro potravinářství a zemědělství při Organizaci spojených národů jsou probiotika definována jako živé mikroorganismy, které při podání v adekvátním množství poskytují hostiteli zdravotní přínos. Mezi výhody, které přináší téměř všechna probiotika, patří kolonizační rezistence, produkce SCFA a ustálení mikrobioty. Běžnou vlastností většiny probiotických kmenů bakterií je syntéza vitamínů a posílení střevní bariéry. Některé kmeny potom mají potenciál přímo ovlivnit imunitní a endokrinní systém, nebo nervovou soustavu (Hill et al., 2014).

## Přirozené lymfoidní buňky

Přirozené lymfoidní buňky (ILC, innate lymphoid cells) byly nedávno objeveny jako podstatná část buněčné složky slizniční imunity hrající důležitou roli při udržení homeostáze a při tkáňové remodelaci. Jejich morfologie odpovídá lymfoidním buňkám, ale ILC postrádají T-buněčný receptor i B-buněčný receptor. ILC patří k přirozenému imunitnímu systému. Charakteristický znak pro „pomocné“ ILC je CD (cluster of differentiation) 127 (IL-7 receptor). ILC svojí funkcí zrcadlí jednotlivé subpopulace T lymfocytů.

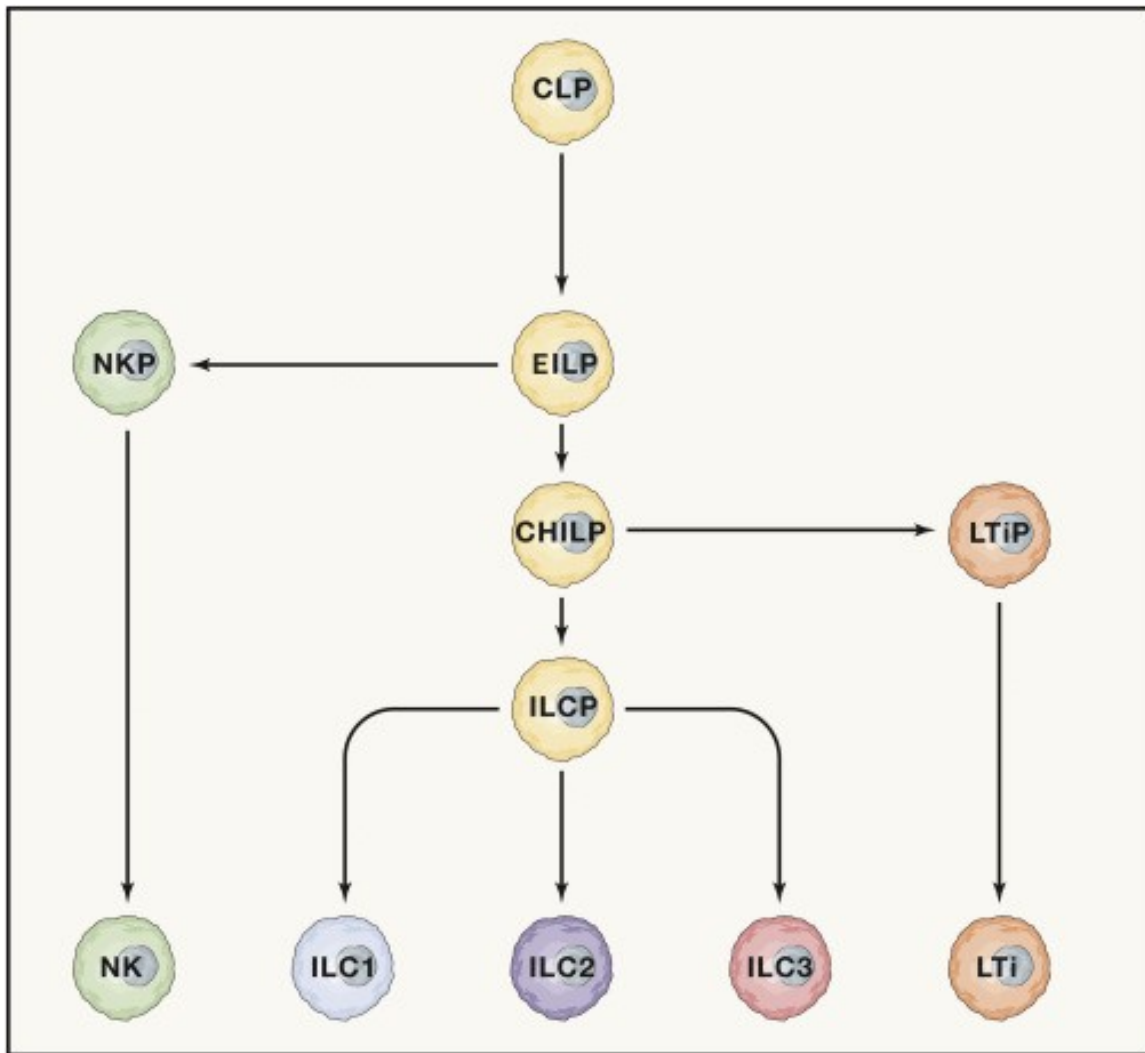
Přirozené lymfoidní buňky typu 1 (ILC1) sekretují interferon gama (IFN- $\gamma$ ) a mají transkripční faktor T-bet charakterizující fenotyp ILC1 podobně jako u Th1 buněk. NK buňky (natural killer cells) jsou podobné CD8+ cytotoxickým T buňkám. Někteří je řadí mezi ILC1. Přirozené lymfoidní buňky druhého typu (ILC2) vyžadují pro svou existenci transkripční faktor GATA3 stejně jako ROR $\alpha$  (RAR-related orphan receptor alpha) a sekretují cytokiny stejné jako Th2 buňky. Přirozené lymfoidní buňky třetího typu (ILC3) se podobají populaci Th17 buněk. Jejich hlavní charakteristikou je transkripční faktor ROR $\gamma$ t (RAR-related orphan receptor gamma t) a sekrece interleukinu (IL) 17 a IL-22. Buňky indukující vznik lymfoidní tkáně (LTI, lymphoid tissue inducer cells) patří také do skupiny ILC3 (Spits et al., 2013). Je nutno

podotknout, že zde popsané dělení je pouze zjednodušující. ILC tvoří heterogenní populace a plasticita mezi jednotlivými vývojovými stádii je možná (Björklund et al., 2016; Gury-BenAri et al., 2016; Muraoka et al., 2020). O tom, jestli jsou NK buňky podskupinou ILC1, není z mého pohledu stále jasno kvůli rozdílnému vývoji a přítomnosti jednotlivých znaků. Proto je budu v této práci popisovat separátně. Nedávno byly popsány regulační přirozené lymfoidní buňky (ILCreg), které sekretují IL-10 a TGF- $\beta$  (transformující růstový faktor beta, transforming growth factor beta), ale na rozdíl od Treg nemají transkripční faktor FOXP3 (forkhead box P3) charakteristický pro Treg. Pro ILCreg je charakteristický transkripční regulátor Id3 (S. Wang et al., 2017).

### Vývoj ILC

Jako každá lymfoidní buňka, všechny ILC se vyvíjejí ze společného lymfoidního progenitoru (CLP, common lymphoid progenitor) v kostní dřeni. CLP má na svém povrchu receptor pro IL-7 (IL-7R), což je důkazem potřeby IL-7 při vzniku lymfoidních buněk. Vývoj NK buněk se odděluje od ostatních ILC ve fázi časného prekursoru přirozených lymfoidních buněk (EILP, early innate lymphoid progenitor) a vede skrze NK prekurzory. EILP vykazuje nízkou míru exprese IL-7R (Zook and Kee, 2016). V kostní dřeni se nachází prekurzorové buňky společné pro všechny pomocné ILC. Tyto prekurzorové buňky jsou závislé na transkripčním regulátoru Id2 (inhibitor of DNA binding 2) a rovněž exprimují IL-7R. Nazýváme je společný progenitor pomocných ILC (CHILP, common helper ILC progenitor) (Klose et al., 2014). Následně se vývojová linie větví na PLZF (promyelocytic leukemia zinc finger)<sup>+</sup> přirozený lymfoidní progenitor (ILCP, innate lymphoid cell progenitor) a progenitor LT<sub>i</sub>, který dává vzniknout LT<sub>i</sub> buňkám. Z ILCP vznikají všechny ostatní ILC. Schématické zobrazení vývoje ILC viz Obrázek 1. Vypadá to, že vývoj ILCreg se odlišuje od ostatních ILC ve fázi CHILP (Constantinides et al., 2014; S. Wang et al., 2017).

Lim a kolektiv našli v lidské pupečnickové krvi a periferní krvi dospělých jedinců cirkulující subtyp ILCP, které po patřičné stimulaci cytokiny *in vitro* dávají vzniknout všem subpopulacím ILC včetně NK buněk (Lim et al., 2017). Scoville a jeho kolegové popsali v sekundární lymfoidní tkáni ROR $\gamma$ t<sup>+</sup> stage 2 IL-1R<sup>+</sup> buňky, ze kterých také můžou vzniknout všechny přirozené lymfoidní buňky (Scoville et al., 2016). Tyto objevy jsou mimořádné, ale přináší ještě více otázek ohledně vývoje ILC, a tedy potřebnost dalšího výzkumu, aby byly zodpovězeny.



**Obrázek 1:** Na obrázku můžeme vidět vývojové větve přirozených lymfoidních buněk (ILC, innate lymphoid cells) vycházející z CLP (common lymphoid progenitor). Dále vedou přes EILP (early innate lymphoid progenitor), CHILP (common helper ILC progenitor) a ILCP (innate lymphoid cell progenitor) ke vzniku třech základních typů ILC. NK buňky (natural killer cells) vznikají z NK prekurzorů (NKP) a jejich vývoj se odlišuje od ostatních ILC ve fázi EILP. LTi (buňky indukující vznik lymfoidní tkáně, lymphoid tissue inducer cells) mají vlastní LTi progenitor (LTiP). LTiP vzniká z CHILP. Obrázek byl před úpravou převzat z publikace Vivier et al., 2018.

## NK buňky

NK buňky byly poprvé objeveny v roce 1975 (Kiessling et al., 1975). Svojí funkcí se podobají cytotoxickým  $CD8^+$  T lymfocytům. NK buňky produkují  $IFN-\gamma$  a jsou schopné cytotoxické aktivity. Nezbytné transkripční faktory pro vývoj NK jsou T-bet a Eomes (Gordon et al., 2012). Jejich aktivace, a tedy i cytotoxicita, závisí na integraci signálu aktivačních a inhibičních receptorů. Aktivační receptory jsou přirozené cytotoxické receptory NKp44 a NKp46 u lidí, NKp46 potom u myši. Další aktivační receptory NK buněk jsou lektinové receptory C typu NKG2D a CD94-NKG2C. NKG2D rozeznává neklasické MHC (hlavní histokompatibilní

komplex, major histocompatibility complex) I molekuly, které neprezentují peptidy. Mezi Inhibiční receptory řadíme KIR (killer-immunoglobulin like receptor) u lidí, Ly49 u myši, které rozeznávají vlastní MHC I molekuly na cílových buňkách. Další inhibiční receptor je lektinový receptor C typu CD94-NKG2A (Klose and Artis, 2020; Mandal and Viswanathan, 2015). Podle práce publikované Horowitzem a kolegy se v lidském těle nachází něco mezi 6 000 a 30 000 odlišných populací NK buněk v závislosti na fenotypu, které se navíc liší mezi každým jedincem, včetně jednovaječných dvojčat. Tyto populace NK buněk můžeme charakterizovat podle stádia maturace a exprese jednotlivých aktivačních nebo inhibičních receptorů. Některé NK buňky zajišťují specifitu a paměť proti abnormalitám a různé expresi ligandů pro aktivační a inhibiční znaky na cílové buňce, způsobenou přítomností patogenu nebo rakovinné transformace (Horowitz et al., 2013).

Cytotoxicita je zajištěna dvěma možnými dráhami. Po vytvoření imunologické synapse mezi cílovou buňkou a NK buňkou aktivovaná NK buňka sekretuje perforiny, které umožní vstup serinových proteáz-granzymů do cílové buňky. Ty aktivují kaspázu 3 a buněčná smrt odpovídá spíše pyroptóze, respektive nekróze (Liesche et al., 2018). Alternativní dráha spočívá ve vystavení CD95L (FasL) na povrchu NK buňky po vytvoření imunologické synapse a aktivaci NK buňky. CD95L interaguje s CD95 - receptorem buněčné smrti a následně dochází k aktivaci kaspázy 8 a apoptóze cílové buňky (Prager et al., 2019). U některých myších NK buněk se nachází Ly49H receptor, který dokáže specificky rozpoznat protein myšího cytomegaloviru (MCMV) m157 na povrchu infikované buňky. Po takovémto rozpoznání dojde ke klonální expanzi Ly49H<sup>+</sup> NK buněk, podobně jako při adaptivní imunitní odpovědi. Při dalším setkání s virem vykazují tyto „paměťové“ NK buňky lepší vlastnosti než NK buňky naivní (Sun et al., 2009).

## ILC1

Přirozené lymfoidní buňky typu 1 (ILC1) se účastní imunitní odpovědi proti intracelulárním patogenům. Charakteristický transkripční faktor pro ILC1 je T-bet. ILC1 sekretují IFN- $\gamma$ , cytokin charakteristický pro Th1 imunitní odpověď. ILC1 jsou aktivovány IL-15 a IL-12 skrze STAT signalizační kaskády (Fuchs et al., 2013) a exprimují receptory podobně jako NK buňky (např. NKp46, NKG2D nebo NK1.1) (Klose and Artis, 2020). ILC1 v játrech exprimují TRAIL (TNF related apoptosis inducing ligand) a jsou schopny cytotoxické aktivity, důležité

pro eliminaci nádorových buněk. I když v citované publikaci byly popsány jako nezralé NK buňky (Takeda et al., 2005). Expres TRAIL je závislá na expresi NKp46 (Almeida et al., 2018).

ILC1 se podílí na progresi střevních zánětů nejen sekrecí IFN- $\gamma$ , ale také produkují TGF- $\beta$ , který stimuluje proliferaci buněk v kryptách střeva (Jowett et al., 2021). Bylo dokázáno, že IL-18R<sup>+</sup> ILC1 v játrech po infekci MCMV vykazovaly vyšší míru aktivace po stimulaci NK1.1 *ex vivo* nebo při další infekci MCMV *in vivo*. Tento fenomén závisí na MCMV proteinu m12. Buňky vystavené infekci vykazovaly odlišný transkripční profil oproti naivním ILC1. Tato forma paměti ILC1 je přítomna pouze při homologních infekcích, a tak se stejně jako u NK buněk podobá spíše adaptivní paměti T a B buněk (Weizman et al., 2019).

## ILC2

Přirozené lymfoidní buňky typu 2 se vyznačují sekrecí cytokinů z rodiny Th2: IL-5, IL-9 a IL-13. Další sekretovanou molekulou je amfiregulin, důležitý při remodelaci tkáně a hojení poškozené tkáně (Enomoto et al., 2009). Pro správný vývoj ILC2 jsou nezbytné transkripční faktory jako GATA3 a ROR $\alpha$ . Hlavní úloha ILC2 spočívá v ochraně organismu před extracelulárními parazity. Na druhou stranu hrají svoji roli při vzniku alergií, například astmatu. ILC2 jsou aktivovány IL-25 a IL-33, což jsou cytokiny produkované plicními epiteliálními buňkami, aktivovanými přítomností parazita, nebo také alergenu (Halim et al., 2012). Aktivované ILC2 rekrutují do tkáně eosinofily skrze sekreci IL-5.

ILC2, které se setkaly se zvýšenou hladinou IL-33 díky intranasální injekci zmíněného cytokinu nebo alergenu, při další stimulaci vykazují vyšší sekreci cytokinů než buňky bez předchozí zkušenosti. Dalo by se tedy hovořit o paměti ILC2 (Martinez-Gonzalez et al., 2016). V tenkém střevě při parazitární infekci produkují chomáčkové buňky IL-25. IL-25 aktivuje ILC2 a ILC2 sekretují IL-13, který stimuluje chomáčkové a pohárkové buňky k proliferaci. Tato pozitivní zpětná vazba způsobuje hyperplazii chomáčkových a pohárkových buněk, což vede k eradikaci parazita (von Moltke et al., 2016).

MHC II se nachází na povrchu ILC2, společně s kostimulačními molekulami CD80 a CD86. Pokud dojde k rozeznání prezentovaného peptidu Th2 buňkou, T buňka se aktivuje a tvoří IL-2, které následně stimuluje ILC2 a dochází k sekreci IL-13 a eliminaci parazita (Oliphant et al., 2014).

ILC2 exprimují VIPR2 (receptor pro vazoaktivní intestinální peptid, vasoactive intestinal peptide receptor), který odpovídá na neuropeptid VIP (vazoaktivní intestinální peptid,

vasoactive intestinal peptide). Hladina VIP se ve střevě i v plicích v průběhu dne mění v závislosti na příjmu potravy, respektive na cirkadiálním rytmu. To ve výsledku vede k periodické aktivaci ILC2 a následnému zvýšení hladiny IL-5, která koreluje s výskytem eozinofilů v krvi (Nussbaum et al., 2013).

### ILC3

Přirozené lymfoidní buňky třetího typu (ILC3) uvolňují zejména cytokiny IL-17, IL-22 a faktor stimulující kolonie monocytů a granulocytů (GM-CSF, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor). ROR $\gamma$ t je charakteristický transkripční faktor ILC3. Cytokiny IL-1 $\beta$ , IL-18 a IL-23 podporují diferenciaci, proliferaci a aktivaci ILC3. Hlavními funkcemi ILC3 jsou nepřímá regulace mikrobioty zprostředkovaná produkcí antimikrobiálních látek např. enterocyty a udržování homeostáze epiteliálních buněk (Satoh-Takayama et al., 2008). Také se účastní vývoje lymfoidní tkáně. Na základě jejich schopnosti indukovat lymfoidní tkáň a odlišnosti v expresi přirozeného cytotoxického receptoru (NKp46, respektive NKp44) je můžeme rozdělit na tři podskupiny u myši a na dvě podskupiny u lidí (Spits et al., 2013). Jednu podskupinu tvoří LTi a jsou esenciální pro vývoj mízních uzlin a Peyerových plátů v embryu prostřednictvím sekrece LT $\alpha\beta$  (Eberl et al., 2004). Klose a kolektiv ukázali, že rozdělení dalších dvou podskupin u myši závisí na zmíněném NKp46, ale také chemokinovém receptoru CCR6. CCR6 je charakteristický znak pro LTi a LTi-podobné buňky, které se následně liší v expresi CD4. U ILC3 populace NKp46<sup>+</sup> CCR6<sup>-</sup> se ve valné většině případů vyskytuje T-bet jako transkripční faktor a dochází k sekreci IFN- $\gamma$  v závislosti na signálech z prostředí. U NKp46<sup>-</sup> CCR6<sup>+</sup> ILC3 najdeme T-bet pouze ve zlomku případů, nicméně jsou schopné sekretovat IL-17. Klose a Artis také zastávají názor, že CCR6<sup>+</sup> NKp46<sup>-</sup> ILC3 osídlují primárně oblasti střeva zvané cryptopatches (CP) a lymfoidní tkáň, populace NKp46<sup>+</sup> CCR6<sup>-</sup> je rozptýlena v lamina propria střeva (Klose et al., 2013; Klose and Artis, 2016).

### ILCreg

Objev ILCreg, které by funkčně odpovídaly T-regulačním buňkám, byl publikován v roce 2017 Wangem a spol. Jak již bylo zmíněno, neexprimují FOXP3, ale charakteristický regulátor jejich vzniku je Id3 (inhibitor of DNA binding 3). Sekretují IL-10 a TGF- $\beta$  a jsou stimulovány IL-2 a autokrinní odpovědí na TGF- $\beta$ . V pozdější fázi zánětu dochází k většímu proporčnímu zastoupení ILCreg, které regulují ILC1 a ILC3 skrze IL-10. Na ILC-2 vliv nemají, díky absenci IL-10R na povrchu ILC2. Ukázalo se, že u ILC3 a ILC1 suprimují produkci prozánětlivých cytokinů



IFN- $\gamma$  a IL-17A, ale produkci IL-22 nijak neovlivňují (S. Wang et al., 2017). Pochybnosti k tomuto zjištění přináší práce Banda a kolektivu, protože se jim při veškeré snaze nepovedlo najít populaci popsanou Wangem a jako IL-10<sup>+</sup> ILC ve střevě popsali ILC2 (Bando et al., 2019). Další výzkum snad objasní tuto problematiku.

### Imunoregulační dráhy ILC3

Pro zajištění správně fungující slizniční imunity a střevní homeostáze je zapotřebí kooperace mezi různými senzory a signalizačními drahami. ILC3 jsou důležitým článkem tohoto systému, ať už vlastní schopností recepce molekul z okolí nebo zpracováním signálu od jiných buněk. Funkční efekt ILC3 spočívá v sekreci efektorových molekul na jedné straně, na druhé dokáže přímo ovlivňovat buňky adaptivní imunity. Schématické znázornění základních imunoregulačních drah ILC3 viz Obrázek 2.

#### Efektorové molekuly ILC3

##### IL-17

Do rodiny cytokinů IL-17 se řadí celkem šest strukturně podobných molekul, IL-17A (dále také jako IL-17), IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E (IL-25) a IL-17F. Komplex pro vazbu IL-17A a zároveň IL-17F je přítomný na široké paletě buněk od epiteliálních po hematopoetické. IL-17A spouští kaskádu vedoucí k indukci zánětlivé odpovědi proti patogenu, rekrutování neutrofilů do poškozeného místa pomocí chemokinů a produkci antimikrobiálních proteinů (AMP). Mezi další funkce IL-17A patří schopnost podporovat remodelaci tkáně (Eyerich et al., 2017). IL-17A a IL-17F si jsou funkčně podobné a ILC3, stejně jako Th17 buňky a  $\gamma\delta$ T lymfocyty, je produkují společně. Nicméně IL-17F může být na rozdíl od IL-17A produkován i jinými buňkami, jako jsou monocyty nebo epiteliální buňky střeva (IEC, intestinal epithelial cells). Při homeostatických podmínkách je v tlustém střevě nízká sekrece IL-17A, ale produkce IL-17F je zvýšená a podílí se na tvorbě AMP (Tang et al., 2018).

##### IL-22

Heterodimer pro vazbu IL-22 se skládá z  $\beta$  podjednotky receptoru pro IL-10 (IL-10R $\beta$ ) a druhá podjednotka je receptor pro IL-22 (IL-22R). Zatímco IL-10R $\beta$  se vyskytuje na širokém spektru buněk, prevalence IL-22R se omezuje na buňky epiteliálního původu.

Ve střevě má důležitou úlohu epiteliální regenerace zejména při poškození. Při této obnově se uplatňuje signalizace závislá na STAT3 dráze v kmenových buňkách střeva

(Lindemans et al., 2015). IL-22 je také nezbytný pro ochranu střevního epitelu před genotoxickým materiálem, a stimuluje opravné mechanismy DNA. Sekreci IL-22 v tomto případě zajišťují ILC3 a  $\gamma\delta$ T lymfocyty, které mají přítomný aryl hydrocarbon receptor (AhR). Glukosináty, častý zdroj genotoxického stresu, se váží právě na AhR (Gronke et al., 2019).

IL-22 také stimuluje produkci mucinu u IEC i proliferaci pohárkových buněk (Sugimoto et al., 2008). IL-22 spouští produkci AMP, podobně jako IL-17A a IL-17F (Keir et al., 2020). V neposlední řadě podporuje IL-22 fukosylaci IEC. Fukóza může sloužit jako zdroj energie pro komenzální bakterie, které brání kolonizaci střeva patogenem (Pickard et al., 2014).

IL-22 také spouští expresi kladinu 2. Kladiny řadíme mezi iontové kanály podílející se na vzniku těsných spojů (TJ, tight junction), na druhé straně zvyšují propustnost membrány pro ionty a následně i pro vodu. V případě narušení střevní homeostáze iniciuje zvýšená produkce IL-22 snahu „vypláchnout“ patogen ze střeva (Y. Wang et al., 2017). Může se stát, že patogen prolomí střevní bariéru a dostane se do krevního oběhu. V tomto případě IL-22 stimuluje produkci proteinu komplementového systému C3 (Hasegawa et al., 2014) a také hemopexinu, který snižuje koncentraci železa v krvi, limitního prvku pro bakteriální růst (Sakamoto et al., 2017).

### **GM-CSF**

ILC3 produkují další důležitou molekulu, GM-CSF. Myeloidní buňky uvolňují IL-1 $\beta$ , který stimuluje ILC3 k sekreci GM-CSF. Na počátku navíc stojí stimulace myeloidních buněk mikrobiotou skrze Toll-like receptory (TLR). Mortha a kolektiv prokázali důležitost GM-CSF při indukci orální tolerance, stimulování tolerogenních dendritických buněk a diferenciaci Treg (Mortha et al., 2014). Na druhé straně při zánětlivých podmínkách působí GM-CSF na makrofágy a zapíná prozánětlivý antimikrobiální M1 transkripční program, který aktivně potlačuje reparační procesy jako tvorbu kolagenu nebo faktorů stimulujících fibroblasty. GM-CSF v zánětlivém kontextu brání tvorbě tkáňové fibrózy, komplikaci provázející nemoci typu IBD (Castro-Dopico et al., 2020).

### **IFN- $\gamma$**

ILC3 můžou také za jistých okolností fungovat jako potentní producenti IFN- $\gamma$ . IFN- $\gamma$  je znám jako prozánětlivý cytokin. Zvyšuje míru prezentace antigenů na MHC I i MHC II, aktivuje NK buňky a u makrofágů zapíná jejich antimikrobiální programy - sníží se pH fagolysosomů a

zvýší se produkce reaktivních forem kyslíku a reaktivních intermediátů dusíku (Kak et al., 2018). IFN- $\gamma$  také ovlivňuje růst a apoptózu okolních buněk, včetně spouštění autofágie, jako ochrany proti intracelulárním patogenům (Gutierrez et al., 2004; Li et al., 2012). Navíc snižuje míru infekce buněk lidským papillomavirem 16 pseudovirem nebo virem chřipky typu A. Děje se tak díky změně transkripčního programu buněk hostitele, který naruší životního cyklu viru (Day et al., 2017). IFN- $\gamma$  také porušuje integritu střevní bariéry zajišťovanou IEC. Při nižší koncentraci IFN- $\gamma$  dochází ke štěpení kladinů, proteinů zajišťujících TJ epiteliálních buněk (Bardenbacher et al., 2019). Při vysoké koncentraci indukuje IFN- $\gamma$  apoptózu IEC (Nava et al., 2010).

### **Antimikrobiální proteiny**

ILC3 neprodukují AMP přímo, ale ovlivňují jejich produkci u ostatních buněk. Společně se sekrečním IgA se jedná o humorální nástroje imunity, které regulují mikrobiotu ve střevě a udržují homeostázu. Některé AMP mají enzymatickou aktivitu, například lysozym, hydrolizující peptidoglykan, nebo sPLA<sub>2</sub> (sekreční fosfolipáza A<sub>2</sub>, secretory phospholipase A<sub>2</sub>) štěpící fosfolipidy. Oba proteiny jsou produkovány Panethovými buňkami. Velká skupina AMP se váže na povrch bakterií a zamezuje jim prostoupit vrstvou mucinu, případně způsobují permeabilizaci bakteriálních membrán. Jsou to proteiny rodiny REG3 (regenerating islet-derived protein 3), proteiny S100 nebo různé  $\alpha$  a  $\beta$  defenziny (Mukherjee and Hooper, 2015). Další AMP je LCN-2 (epithelial-derived lipocalin-2), chráníci hostitele díky neutralizaci enterobactinu, sideroforu Gram-negativních bakterií. K produkci některých AMP dochází pouze po stimulaci IEC kombinací různých cytokinů. Například pro produkci  $\beta$  defenzinu hBD-2 je zapotřebí přítomnost IL-17A, IL-22, TNF i IFN- $\gamma$ , kdežto k zvýšené sekreci LCN-2 stačí IL-22 a IL-17A (Coorens et al., 2019).

### **Regulace ILC3**

#### **Přímá regulace**

AhR byl zmíněn už výše. Jedná se o cytosolický receptor, jehož ligandem jsou malé polycyklické aromatické organické molekuly, známé též jako xenobiotika. Ty se mohou nacházet v rostlinné stravě, nebo být produkty metabolismu mikroorganismů. Buňce vlastní metabolity tryptofanu ale také slouží jako ligandy AhR. Po navázání ligandu na receptor se komplex translokuje do jádra, kde působí jako transkripční faktor. Jeho přítomnost je nezbytná pro vývoj NKp46<sup>+</sup> ILC3 i LT $\alpha$  buněk (Lee et al., 2011). Signály z prostředí stimulující Ahr zvyšují

sekreci IL-22 u ILC3 (Gronke et al., 2019). Agüero a kolektiv popsali, že nově narozené bezmikrobní (GF, germ free) myši mají větší populace ILC3, pokud jejich matky byly kolonizovány bakteriemi, oproti nově narozeným GF myším nekolonizovaných matek. Podobný trend vykazovaly myšky GF matek, kterým bylo podáno sérum z kolonizovaných matek. Následná analýza ukázala, že by za to mohla být zodpovědná právě signalizace skrze AhR (Agüero et al., 2016).

Další molekulou nepostradatelnou pro vývoj a fungování ILC3 je kyselina retinová (RA), která přímo působí na ROR $\gamma$ t. nebo na receptor pro RA (RAR). Prenatální vyšší dostupnost RA *in utero* vede k větším sekundárním lymfoidním orgánům a vyváženější imunitní odpovědi u myši, skrze aktivaci LT $\alpha$  buněk (van de Pavert et al., 2014). RA je také potřebná k postnatálnímu vývoji lymfoidní tkáně a vede k početnějším populacím ILC3 (Goverse et al., 2016). V mezenterálních lymfatických uzlinách (MLN, mesenteric lymph node) má RA sekretovaná DC další efektorovou funkci ovlivňující ILC3, ale také ILC1. Potlačuje expresi chemokinového receptoru CCR7 a propaguje CCR9, což vede k migraci ILC3 z MLN do střeva (Kim et al., 2015).

Stejně jako většina imunitních buněk i ILC třetí skupiny disponují jaderným receptorem pro vitamín D (VDR). Jeho funkce se zdá být spíše regulační, protože myš s chybějícím genem pro VDR (VDR $^{-/-}$ ) myši jsou rezistentní vůči kolonizaci *C. rodentium*, díky vyšší produkci IL-22 a následné produkci antimikrobiálních peptidů (Chen et al., 2015). Další studie prokázala, že při stimulaci ILC3 *in vitro* prostřednictvím IL-23 se zvýší exprese VDR, a po přidání vitamínu D se sníží výskyt IL-23R na povrchu ILC3. Výsledkem je regulace sekrece cytokinů (Konya et al., 2018).

Významným receptorem spřaženým s G-proteinem, který snímá prostředí a stimuluje ILC3, je receptor mastných kyselin s krátkým řetězcem Ffar2 (free fatty acid receptor 2). SCFA jsou nejčastěji produktem anaerobního metabolismu mikroorganismů ve střevě, zejména tedy v tlustém střevě, na rozdíl od RA. Ffar2 signalizace spouští kaskádu dějů, od aktivace pSTAT3 přes modulace exprese ROR $\gamma$ t až po sekreci IL-22 (Chun et al., 2019). Jsou ale také důkazy, že butyrát snižuje frekvenci výskytu ILC3 v Peyerových plátech (PP) v tenkém střevě. To se děje skrze receptor spřažený s G-proteinem 109a, který moderuje snížení exprese genu *Rorc*, zejména tedy u NKp46 $^{+}$  ILC3. Celá tato skutečnost vede k nižší hladině GM-CSF a nižšímu výskytu Treg v PP v částech střeva s vysokým výskytem butyrátu (Kim et al., 2017). Co se týče mikrobiální komunity, prostředí ilea vyhovuje aerobním bakteriím. Dala by se tam tedy

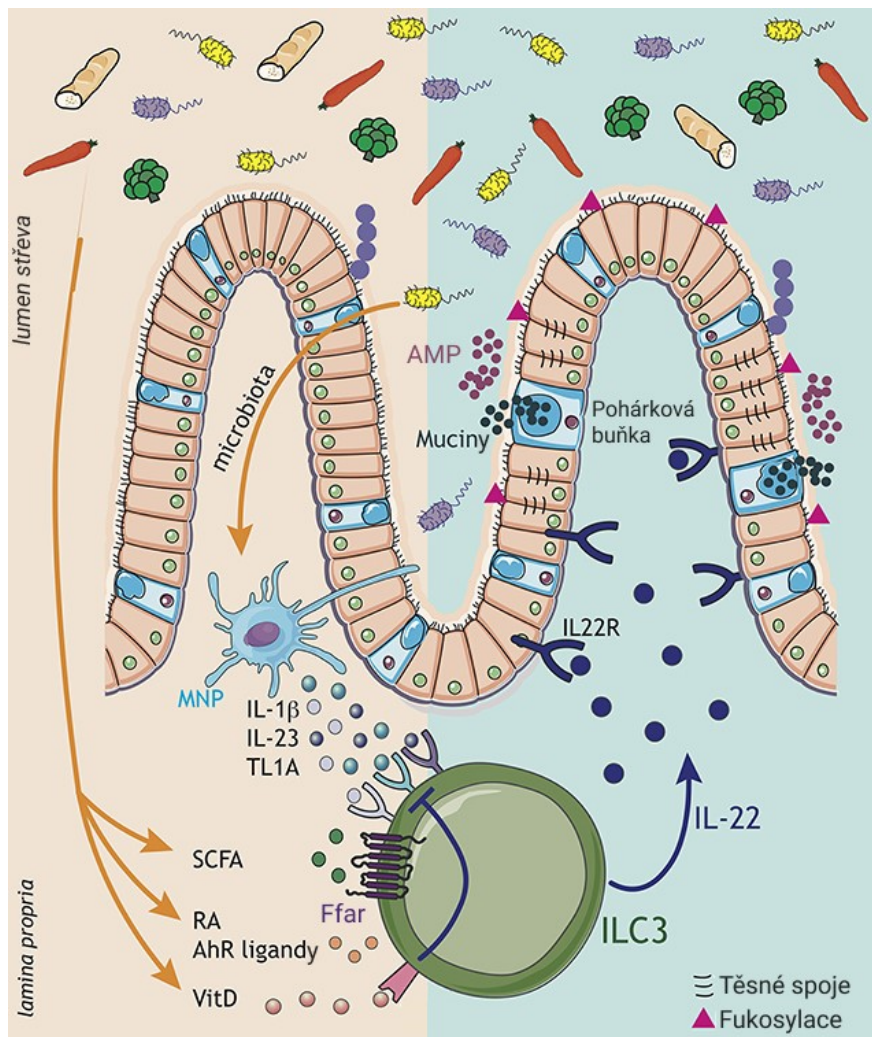
očekávat vyšší koncentrace kyslíku. V tom případě by tam neměl být produkován butyrát, produkt fermentace. Otázkou ale zůstává, jestli se jedná o mechanismus selekce aerobních bakterií v ileu, protože to hostiteli přinese výhodu, nebo jde o snahu zredukovat bakterie v ileu bez ohledu na jejich metabolismus.

ILC3 přítomné ve tkáni lidských mandlí disponují na svém povrchu TLR2, jehož aktivace v kontextu stimulace IL-2, IL-15 nebo IL-23 vede k produkci IL-22 (Crellin et al., 2010). V biopsii lidského duodena byla u ILC3 popsána přítomnost TLR2, stejně jako TLR3 a TLR9 (Marafini et al., 2015). Oproti tomu v lidském tlustém střevě ILC3 postrádaly TLR specifické pro bakteriální znaky (Castleman et al., 2019).

### **Zprostředkovaná regulace ILC3**

ILC3 jsou regulovány širokou paletou molekul produkovanou jinými buňkami. Myeloidní buňky, hlavně CX3CR1<sup>+</sup> mononukleární fagocyty (MNP, mononuclear phagocyte) sekretují IL-23, IL-1 $\beta$  a TL-1A v závislosti na mikrobiálních signálech z prostředí. Výsledkem je stimulace ILC3 a sekrece IL-22 (Longman et al., 2014). TL-1A působí na receptor DR3 a jeho funkce je důležitá při aktivaci T buněk prostřednictvím ILC3. Epiteliální buňky zase můžou produkovat IL-1 $\alpha$ , který působí na IL-1R a stimuluje ILC3 (Klose and Artis, 2016). Další molekulou sekretovanou CX3CR<sup>+</sup> MNP je CXCL16, chemokin působící na CXCR6. CXCR6 se nachází na povrchu NKp46<sup>+</sup> ILC3 a ovlivňuje lokalizaci NKp46<sup>+</sup> ILC3 v rámci lamina propria jako odpověď na aktivaci CX3CR1<sup>+</sup> MNP (Satoh-Takayama et al., 2014).

Na povrchu CCR6<sup>+</sup> ILC3 se nachází membránový protein RANK (receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B) i jeho ligand RANKL. Podílejí se na vývoji lymfoidní tkáně u embrya, ale také slouží k vzájemné interakci mezi CCR6<sup>+</sup> ILC3 v rámci CP. Při stimulaci RANK ligandem se snižuje exprese ROR $\gamma$ t a cytokinů IL-22 a IL-17. Také se sníží proliferace ILC3 (Bando et al., 2018).



**Obrázek 2:** Na obrázku můžeme vidět základní imunoregulační dráhy přirozených lymfoidních buněk typu 3 (ILC3). Po setkání s mikrobiálními znaky produkují mononukleární fagocyty (MNP) cytokiny IL-1 $\beta$ , IL-23 a TL-1A. Ty následně stimulují ILC3 k sekreci IL-22. Aktivaci ILC3 zároveň regulují některé molekuly z lumen střeva, například vitamín D (VitD), kyselina retinová (RA), ligandy AhR (aryl hydrocarbon receptor) nebo mastné kyseliny s krátkým řetězcem (SCFA) přes Ffar2 (free fatty acid receptor 2). IL-22 působí na epiteliální a pohárkové buňky a stimuluje produkci antimikrobiálních proteinů (AMP) a mucinu. Zároveň IL-22 ovlivňuje těsné spoje mezi epiteliálními buňkami a také jejich fukosylaci. Obrázek byl před úpravou převzat z publikace Domingues and Hepworth, 2020.

### Neuroimunitní regulace ILC3 a cirkadiální regulace

Další buňky, které regulují aktivaci ILC3, jsou neurony a gliové buňky. Ve střevě dokážou gliové buňky přímo snímat MAMPs (microbe-associated molecular patterns) z lumen střeva skrze TLR. Po jejich aktivaci dochází k sekreci neurotrofních faktorů z rodiny GDNF (glial cell line derived neurotrophic factor). Ten působí na RET - receptor hojně exprimovaný na LT $\alpha$  buňkách a NKp46 $^+$  ILC3. Výsledkem signalizace je STAT3 aktivita a sekrece IL-22. RET $^+$  ILC3 se nacházejí v těsném kontaktu s GDNF $^+$  gliovými buňkami v rámci CP a střevní lymfoidní tkáň (Ibiza et al., 2016). V embryu jsou neurony ve střevě zdrojem RA, která ovlivňuje homing LT $\alpha$

buněk a vývoj lymfoidní tkáně (van de Pavert et al., 2009), jak bude pojednáno níže. Také bylo popsáno že ILC3 můžou být stimulovány k produkci PCTR1 (protectin conjugates in tissue regeneration 1) skrze acetylcholin sekretovaný neurony nervu vágu při peritoneální infekci. PCTR1 je mediátor podporující rezoluci zánětu (Dalli et al., 2017).

Velice zajímavým fenoménem, který provází ILC3 podobně jako ILC2, je periodická změna aktivity a sekrece cytokinů v rámci dne. ILC3 exprimují geny regulující cirkadiální rytmy v rámci samotné buňky, zejména pak ARNTL (aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator like protein). Tyto cirkadiální regulátory jsou řízeny superchiasmatickým centrem mozku, částí, která odpovídá na světlo. *Arntl*<sup>-/-</sup> myši měly pozmeněné proporční zastoupení populací ILC3 (Godinho-Silva et al., 2019), ale rozdíly v hladině IL-22 byly ovlivněny jen málo. Seillet a kolegové zjistili, že za aktivaci ILC3 je zodpovědný neuropeptid VIP, sekretovaný střevními neurony a VIPR2 receptor, přítomný na CCR6<sup>+</sup> ILC3. Produkce VIP je navíc závislá na načasování příjmu potravy, ne na cirkadiálních rytmech (Seillet et al., 2020). Úplně opačný trend ale popsal Talbot a kolegové. V jejich experimentech byla přítomnost VIP spojena s menším počtem CCR6<sup>+</sup> ILC3 tvořících IL-22 a větší propustností bariéry IEC (Talbot et al., 2020). Design experimentů byl odlišný a dá se předpokládat, že bude záležet na dalším kontextu. Osobně si myslím, že obě zjištění dávají smysl, protože po příjmu potravy je nutné zvýšit propustnost střevní bariéry pro transport živin, na druhé straně je zapotřebí regulovat množící se mikroorganismy, které také využívají přítomných nutrientů. Tyto zdánlivě protichůdné výsledky by mohla osvětlit detailní analýza exprese IL-22 v čase v různých částech střeva.

### Indukce lymfoidní tkáně

U embrya stojí na počátku vývoje lymfoidní tkáně (Peyerových plátů a mizních uzlin) výše zmíněná sekrece RA neurony a následná produkce CXCL13 mesenchymálními buňkami. CXCL13 atrahuje LT<sub>i</sub> do daného místa skrze receptor CXCR5. Mesenchymální buňky také sekretují CCL21, ligand pro CCR7. Tyto dvě dráhy se vzájemně doplňují i zastupují (van de Pavert et al., 2009). RANKL a ligandy pro IL-7R $\alpha$  spouští v LT<sub>i</sub> expresi povrchového proteinu LT $\alpha$ 1 $\beta$ 2, který interaguje s LT $\beta$ R na mesenchymálních buňkách, u kterých spustí expresi adhezivních molekul VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule 1), ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1), MadCAM-1 (mucosal addressin cell adhesion molecule 1) a dalších chemokinů CXCR13, CCL19 a CCL21. Ty rekrutují adaptivní lymfocyty, což je další krok ve vývoji lymfoidní tkáně (van de Pavert and Mebius, 2010; Yoshida et al., 2002). U myši se do pár týdnů

po narození vyvíjejí CP a izolované lymfoidní folikuly (ILF) díky LT<sub>i</sub>, respektive CCR6<sup>+</sup> ILC3. IEC produkují CCL20, ligand CCR6. Díky tomu migrují CCR6<sup>+</sup> ILC3 do střeva a dochází k formování CP. Při další stimulaci ILC3 myeloidními buňkami dochází k rekrutování B buněk a formování ILF. Celý tento proces může být ovlivněn NOD1 receptorem u epiteliálních buněk, který rozeznává MAMPs (Bouskra et al., 2008). Formace CP a ani ILF se neobejde bez AhR (Lee et al., 2011).

### Regulace adaptivní imunity prostřednictvím ILC3

Některé populace ILC mají schopnost exprimovat MHC II a mohou působit jako buňky prezentující antigen (APC, antigen presenting cell). O této schopnosti ILC2 bylo pojednáno výše. Další populací jsou CCR6<sup>+</sup> ILC3, ale jejich úloha je oproti MHC II<sup>+</sup> ILC2 rozdílná, ovšem neméně zajímavá. Při homeostatických podmínkách prezentují CCR6<sup>+</sup> ILC3 antigeny ze střeva, ovšem bez kostimulačních molekul. To vede k depleci CD4<sup>+</sup> T lymfocytů, které by rozeznávaly bezpečné antigeny (Hepworth et al., 2013). CCR6<sup>+</sup> MHCII<sup>+</sup> ILC3 mají podobnou schopnost jako epiteliální buňky brzlíku - tj. negativní selekci T lymfocytů které by rozeznávaly nežádoucí molekuly, v tomto případě antigeny komenzálních bakterií. Mechanismus deplece spočívá v přítomnosti CD25, vysoce afinního receptoru pro IL-2, na povrchu ILC3. Při rozpoznání antigenu prezentovaného ILC3 T lymfocitem dojde k vyvázání IL-2 na CD25 z okolí T lymfocytu, což vede k jeho apoptóze, protože stimulace IL-2 je nezbytná pro přežití T buněk (Hepworth et al., 2015). V periferních lymfatických uzlinách byly objeveny buňky exprimující autoimunitní regulátor a MHC II, které jsou fenotypově podobné ILC3. Postrádají ale IL-7R $\alpha$  a jsou vývojově odlišné od klasických ILC3. Zdá se, že také regulují CD4<sup>+</sup> T lymfocyty, ale konkrétní podrobnosti o jejich funkci nejsou známy (Yamano et al., 2019). Pokud ale MNP produkují TL-1A, například díky patogenní bakterii adherující na epiteliální buňky, ILC3 spustí expresi OX40L, koaktivačního znaku CD4<sup>+</sup> T buněk, a místo deplece dojde k aktivaci T lymfocytu rozeznávajícího prezentovaný peptid (Castellanos et al., 2018). U MHC II<sup>+</sup> ILC3 ve slezině dochází k expresi konvenčních kostimulačních znaků CD80 a CD86 po aktivaci prostřednictvím IL-1 $\beta$  (Burg et al., 2014). V tenkém střevě jsou ILC3 dominantním zdrojem IL-2, cytokinem, který také aktivuje Treg a přispívá k homeostáze tenkého střeva. Produkce IL-2 je závislá na signalizaci IL-1 $\beta$ , dokáže tedy odpovídat na mikrobiální signály skrze MNP. Navíc není specifická pro nějakou z populací ILC3 (Zhou et al., 2019).



Ve střevě mají CCR6<sup>+</sup> ILC3 schopnost rekrutovat B buňky do CP a následně vytvořit ILF. Také dokáží s pomocí stromálních buněk a MNP poskytnout signál pro izotypový přesmyk (CSR, class switch rekombination) na IgA, naprosto nezávislou na T buňkách (Tsuji et al., 2008). Nepostradatelnou součástí této události je přítomnost LT $\alpha$ 1 $\beta$ 2 na povrchu ILC3 (Kruglov et al., 2013). IgA tohoto původu vykazuje polyreaktivitu a nízkou afinitu k antigenům, přesto mají schopnost neutralizovat většinu komenzálních mikroorganismů a pohotově reagovat na nové antigeny. IgA T-nezávislého původu se vyskytuje zejména v tenkém střevě (Bunker et al., 2017). V tlustém střevě je situace zcela jiná, většina produkce IgA je závislá na T buňkách a antigen prezentující ILC3 ji regulují. K IgA CSR dochází zejména v MLN, která je příslušná pro tlusté střevo. U myši, která postrádala MHC II<sup>+</sup> ILC3, došlo k zvětšení populace IgA<sup>+</sup> plazmatických buněk a také neutralizace komenzálních bakterií protilátkami v tlustém střevě se zvýšila (Melo-Gonzalez et al., 2019).

### Plasticita ILC3

Velké téma, které provází lymfoidní buňky podobně jako CD4<sup>+</sup> efektorové lymfocyty, je jejich plasticita. Při analýze ILC v tenkém střevě pomocí single-cell RNA sekvenace a dalších pokročilých metod byly ILC rozděleny do 15 odlišných populací, včetně populace přechodových stavů mezi ILC1/ILC2 a ILC1/ILC3. ILC3 byly nejpočetnější, a všechny populace vykazovaly rozdílné zastoupení u SPF (specific pathogen free) myši, GF myši a myši po antibiotické kůře (Gury-BenAri et al., 2016). V lamina propria lidského střeva byly zase identifikovány různé populace ILC1 a ILC3 s jasně pozorovatelnými přechodovými stavy mezi jednotlivými transkripčními profily (Cella et al., 2019). V další studii publikovali, že při injekci IL-23 do kůře v myším modelu psoriázy dochází k postupné změně celé palety ILC buněk směrem k fenotypu podobnému ILC3 a produkci cytokinů IL-22, IL-17A a IL-13, což přispívá k rozvoji patologické reakce podporující vznik kožních lézí (Bielecki et al., 2021).

Bylo popsáno že infekce tlustého střeva bakterií *C. jejuni* vedla skrze cytokiny IL-12, IL-15 a IL-18 a Notch signalizaci ke zvýšení exprese transkripčního faktoru T-bet a snížení exprese ROR $\gamma$ t u NKp46<sup>+</sup> ILC3, což způsobilo přechod NKp46<sup>+</sup> ILC3 k fenotypu ILC1. Vzniklá populace se označuje jako ex-ILC3 a produkuje patologické množství IFN- $\gamma$  (Muraoka et al., 2020). Další práce ukázala, že přeměna z NKp46<sup>+</sup> ILC3 na ILC1 je závislá na tkáni, ve které se ILC3 nachází, a jedním z mediátorů podporujících tuto změnu je TGF- $\beta$  ve vzájemné vazbě s IL-23. Zdá se, že IL-23 zvyšuje schopnost NKp46<sup>+</sup> ILC3 odpovědět na TGF- $\beta$  a exprimovat T-bet a Aiolos (Cella

et al., 2019). Byla pozorována i změna z ILC1 k NKp46<sup>+</sup> ILC3 pomocí cytokinů IL-1 $\beta$  a paradoxně i IL-23. Tento přechod urychluje RA (Bernink et al., 2015).

Možná se v budoucnosti ukáže, že rozdělení ILC do několika funkčních skupin je veskrze umělé a vrhá stín na skutečnost širokého plastického spektra přirozených lymfoidních buněk, které mají schopnosti se dynamicky měnit a odpovídat na signály podle potřeby. Uvidíme, co přinesou nové metody a další výzkum.

### ILC3 a kolonizační rezistence

Správná funkce ILC3 ve střevě je důležitou součástí kolonizační rezistence vůči některým patogenům. U *Rorc<sup>cre</sup>Id2<sup>fl/fl</sup>* myši nedochází k expresi *Id2* v ROR $\gamma$ t<sup>+</sup> buňkách, což vede k defektní funkci ILC3. Tato myš je potom mnohem náchylnější k infekci *C. rodentium*. ILC3 brání kolonizaci přímou produkcí IL-22, díky následné tvorbě různých AMP a mucinu. Na druhé straně zase AMP pomáhají formovat střevní mikrobiotu, která potom dokáže potlačit přítomnost patogenu (Guo et al., 2015). Podobně je tomu u *S. typhimurium*. ILC3 indukují fukosylaci IEC zprostředkovanou IL-22, ale také produkcí LT $\alpha$ . Fukózu využívají komenzální mikroorganismy a brání *S. typhimurium* v kolonizaci (Goto et al., 2014). IEC po stimulaci mediovanou ILC3 produkují kromě jiných AMP i LCN-2, který předchází infekcím některými bakteriemi z *Enterobacteriaceae* (Coorens et al., 2019).

### Patologie spojená s ILC3

Mezi IBD se řadí CD a ulcerózní kolitida (UC). CD provází cytokiny typické pro Th1 odpověď. Pro UC je charakteristická Th2 odpověď. U obou dvou skupin pacientů s IBD byla zvýšená hladina IL-17A (Geremia et al., 2014)\*. ILC3 jsou mediátory imunitní odpovědi, na jedné straně udržují homeostázu střeva, na druhé potom propagují zánět. Nadměrná stimulace, která přispívá k příliš vysoké sekreci efektorových molekul, vede k patologii. V souladu s tímto tvrzením je fakt, že pacienti s IBD mají značně zvýšený počet IL-22<sup>+</sup> ILC3 v tlustém střevě, než stejně staří zdraví jedinci (Longman et al., 2014). ILC3 jsou díky nadprodukcí IL-22 zodpovědné za rozvoj IL-23R dependentní kolitidy u modelu založeném na podávání anti-CD40 (Eken et al., 2014). Při indukci kolitidy u myši pomocí dextransu sulfátu sodného (DSS) nebo *C. rodentium* v modelu UC je situace opačná. IL-22 hraje spíše protektivní roli, díky zvýšení produkci mucinu (Mielke et al., 2013). Dalším modelem UC, kde ILC3 přispívají ke vzniku patologie, je *Rag2* (recombination activating gene 2)<sup>-/-</sup> *T-bet*<sup>-/-</sup> myš, u které se spontánně vyvine kolitida. Je způsobena hlavně TNF, ale kromě toho i nadprodukcí IL-17A

sekretovaného CCR6<sup>+</sup> ILC3 po stimulaci IL-1 $\beta$  a IL-23. IL-17A aktivuje další buňky imunitního systému k sekreci cytokinů a rekrutuje neutrofilů do tlustého střeva (Ermann et al., 2014). Ve střevě pacientů s CD byly objeveny početnější populace IFN- $\gamma$  produkujících NKp44<sup>+</sup> ILC1, které odpovídaly úbytku NKp44<sup>+</sup> ILC3. Při Crohnově chorobě tedy dochází k přeměně ILC3 na ILC1 pod vlivem IL-12, což vede k patologické produkci IFN- $\gamma$  (Bernink et al., 2015). Ustekinumab, protilátka proti p40, což je společná podjednotka IL-12 i IL-23, je jednou z možností léčby CD u lidí (Sandborn et al., 2012).

U pacientů s hepatocelulárním karcinomem (HCC, hepatocellular carcinoma) byla objevena zvýšená hladina IL-23. Následně bylo u myšího modelu HCC prokázáno, že IL-22 vede ke stimulaci NCR<sup>-</sup> ILC3 a produkci IL-17A, který inhibuje cytotoxicitu CD8<sup>+</sup> T buněk a vytváří mikroprostředí přispívající k rozvoji nádoru. Jedná se tak o další možnou patologii dráhy IL-23/IL-17 (Liu et al., 2019).

Další onemocnění, ve kterém ILC3 přispívají k patologii, je psoriáza. V biopsii kůže byla nalezena mnohem větší proporce NKp44<sup>+</sup> ILC3 u pacientů s psoriázou oproti zdravým jedincům. U vzorků kožní léze nebyl rozdíl v proporcí signifikantní, ale absolutní počty se lišily výrazně. NKp44<sup>+</sup> ILC3 tedy přispívají k indukci zánětu při psoriáze a následným kožním lézím (Villanova et al., 2014).

## ILC3 a probiotika

Schopnost ILC3 rozpoznávat specifické znaky mikroorganismů je omezená. V distálním ileu a tlustém střevě, kde je koncentrace bakterií největší, postrádají ILC3 PRR a jejich aktivace je v tomto ohledu závislá na MNP, IEC a gliových buňkách. Při kultivaci ILC3 s mononukleárními buňkami z lamina propria v přítomnosti různých bakterií *in vitro* nebyl pozorován rozdíl, jestli se jedná o bakterii Gram-pozitivní nebo negativní, ani jestli se jedná o patogenní nebo komenzální bakterii (Castleman et al., 2019). Funkcí ILC3 je spíše systémově regulovat bakteriální populace na základě signálů od jiných buněk nežli přinášet specifickou odpověď díky rozpoznání jednotlivých probiotických kmenů.

ILC3 jsou v normálních podmínkách aktivovány metabolity bakterií, jako jsou SCFA nebo deriváty tryptofanu působící na AhR. Produkce SCFA odpovídá širokému spektru bakteriálních kmenů, přítomných při homeostatických podmínkách, přesto ale dochází k zvýšení produkce IL-22 u některých bakteriálních kmenů. Po podání třech probiotických kmenů *L. acidophilus*, *L. casei* a *L. rhamnosus* člověku a následné transkriptomické analýze

střevní biopsie došlo ke zvýšení exprese IL-22 pouze u kmene *L. casei* (Baarlen et al., 2011). Nadstandardní stimulace ILC3 je pravděpodobně způsobena stimulací AhR a je specifická pro jednotlivé kmeny bakterií.

Děje se tomu tak i v žaludku, kde některé acidorezistentní kmeny, například *Lactobacillus reuteri* nebo *L. johnsonii* metabolizují tryptofan na indol-3-aldehyd, ligand AhR. To vede k produkci IL-22 a následně i mucinů a AMP. Výsledek je rezistence před kolonizací *C. albicans*. K podobným závěrům dospěla studie s využitím myších střevních organoidů. Kultivace organoidů v přítomnosti lymfocytů izolovaných z lamina propria, včetně ILC3, a kmene *L. reuteri* vedla k vyšší proliferaci a regeneraci poškození střevního epitelu skrze IL-22 a stimulaci kmenových buněk (Hou et al., 2018). Některé kmeny *Lactobacillus* produkují L-Ornithine. Bylo objeveno, že spouští v IEC produkci indolamin-2,3-dioxygenázy, nezbytné pro syntézu L-kynureninu z tryptofanu. L-kynurenin je ligand pro AhR, který opět stimuluje produkci IL-22 u ILC3. Jedná se o pozitivní zpětnou vazbu, protože IL-22 spouští expresi REG3A, AMP který nepoškozuje bakterie kmene *Lactobacillus*, a tak jim přináší kolonizační výhodu nad jinými mikroorganismy (Qi et al., 2019).

V nedávné době se zjistilo, že mikrobiota hraje zásadní roli v přežití hostitelského organismu po vystavení vysoké dávce radioaktivního záření. Smrt po ozáření se převážně děje díky nedostatečné hematopoéze a poškození IEC. Podání jednotlivých probiotických kmenů *Lachnospiraceae*, *E. faecalis*, *L. rhamnosus* nebo *B. fragilis* před vysokou dávkou ozáření zvýšilo šanci na přežití a snížilo poškození střeva u myší. Analýza metabolomu přeživších myší ukázala vyšší koncentraci SCFA a metabolitů tryptofanu. Samotné podání acetátu, propionátu nebo butyrátu zvýšilo šanci na přežití u myší. Ještě lepších výsledků dosáhlo podávání H-indol-3-karboxyaldehydu a kyseliny kynureninové (Guo et al., 2020). V citované práci nebyla zmíněna zvýšená exprese IL-22 ani aktivace ILC3. Nicméně důkaz o důležitosti IL-22 v přežití ozáření přináší další studie, která využívá laboratorní kmen *E. coli* K12 nebo probiotický kmen *L. reuteri* jako nosiče plazmidu a producenty rekombinantního IL-22. Podání těchto kmenů markantně zvýšilo přežití u ozářených myší (ZHANG et al., 2020). Zmíněná probiotika by mohla v budoucnu provázet léčbu ozářením u onkologických pacientů a ulevit jim od problémů s tím spojených.

Jeden z terapeutických přístupů pro léčbu disbiózy je fekální mikrobiální transplantace (FMT). U myší po podání DSS dochází ke vzniku indukované kolitidy. Při následné FMT došlo

ke zvýšené produkci IL-10 a zmírnění závažnosti kolitidy. Také se snížila předtím vysoká početnost ILC2 a ILC3 způsobená zánětem (Burrello et al., 2018). V další studii prováděli FMT včetně podání probiotické bakterie *C. butyricum* a kvasinky *S. boulardii* u nově narozených selat. Byla pozorována regulace složení mikrobiomu, a vyšší sekrece cytokinů asociovaných s ILC3, tedy IL-22, IL-17 a IFN- $\gamma$ . Je potřeba zmínit že hladina cytokinů byla stanovena z krve, což není úplně standardní pro výzkum ILC3 (Xiang et al., 2020).

Mezi schopnosti ILC3 patří kromě udržování homeostáze střeva také indukce lymfoidní tkáně. Mikrobiota je nezbytná pro správný vývoj lymfoidní tkáně ve střevech, a u GF myši se lymfoidní tkáň vyvíjí velmi omezeně. Tuto skutečnost můžeme zvrátit podáním probiotického kmene *E. coli* Nissle 1917, nebo *B. distasonis*, a to dokonce v osmém týdnu věku myši. Děje se to díky peptidoglykanům bakterií, jež působí jako ligandy pro NOD1 receptor epiteliálních buněk a stimulují CCR6<sup>+</sup> LTi k indukci ILF (Bouskra et al., 2008).

### Výzvy do budoucna a problémy

ILC jsou velice podobné T lymfocytům a vytvořit model, který by umožnil jejich ablacii, bývá komplikované (Cording et al., 2018). Pro studium efektorových funkcí ILC se častokrát využívá Rag<sup>-/-</sup> myš, u které je imunitní pozadí značně ovlivněno, a tak nevíme, jak moc je úloha ILC artificiální. Co se týče probiotik, není výjimkou, že se jako model využívá GF myš. To nám pomůže pozorovat mechanismus účinku, ale opět se jedná o artificiální prostředí a o účinku u SPF myši potom můžeme diskutovat. Jako další problém vnímám to, že mapování efektorových vlastností ILC3 se většinou redukuje pouze na produkci IL-22, bez důrazu na další cytokiny nebo produkci AMP ve střevě.

O probiotikách jako o producentech rekombinantního IL-22 jsem se zmínil výše. Velice zajímavý přístup je využít tolerogenní bakteriální kmen a vnést do něho geny pro alergen. Takto připravená bakterie může předcházet polysenzitizaci hostitele skrze sekreci IL-10 a Treg (Sarate et al., 2019). Zatím ale nevíme, jestli probiotická bakterie dokáže ovlivnit schopnost CCR6<sup>+</sup> MHCII<sup>+</sup> ILC3 jakožto APC a depletovat antigenně specifické CD4<sup>+</sup> T lymfocyty. Toto zjištění by mohlo přinést novou možnost terapeutického přístupu k léčbě alergií nebo autoimunitních onemocnění. Další výzva týkající se probiotik, která nebyla zmapována, je možnost modulace plasticity ILC ve střevě.

Stále ještě nemáme uspokojivou odpověď na otázku, k čemu jsou ILC, když máme adaptivní lymfocyty. Kotas a Locksley přináší zajímavou hypotézu. Před narozením jsou ve

tkáních rozmístěny ILC, které po porodu značně expandují a vytváří cytokinovou niku pro lymfocyty. S postupným dozráváním imunitního systému a setkáváním s cizorodými antigeny postupně T lymfocyty nahrazují ILC (Kotas and Locksley, 2018). Je známo, že mikrobiota ovlivňuje spektrum ILC ve střevě. Jak je tomu ale u novorozence, zůstává záhadou.

## Závěr

ILC3 jsou důležitou součástí střevní slizniční imunity a jejich aktivace závisí na mikrobiotě. Ať už přímo, nebo prostřednictvím MNP a gliových buněk. Hlavní efektorovou funkcí ILC3 je sekrece cytokinů IL-22 a IL-17, které ovlivňují prostředí střeva, hlavně aktivováním IEC k produkci AMP. IL-22 se také podílí na regeneračních procesech střevního epitelu. AMP redukuje a formují populace střevních mikrobů, a tím přímo i nepřímo přispívají ke střevní homeostázi a rezistenci vůči kolonizaci patogenem. Intenzita aktivity ILC3 závisí krom jiného i na načasování příjmu potravy signalizací s neurony, aby došlo k regulovanému příjmu živin z lumen střeva, a zároveň se regulovala expanze mikrobů po přílivu živin. ILC3 a jejich vlastnosti se liší v rámci jednotlivých částí střeva. Populace ILC ve střevě jsou plastické a regulované mikrobiotu. Po infekci patogenem v zánětlivém prostředí dochází k přeměně ILC3 na ILC1. Mikrobiota je také zásadní pro formaci ILF ve střevech, a u GF myši může být i v dospělosti restaurována po podání probiotik.

Co se týče probiotik a ILC3, doposud není známo příliš mnoho podrobností ohledně mechanismů vzájemné interakce a zbývá ještě velký prostor pro výzkum. Jejich úlohu ale nemůžeme přeceňovat. Přesto můžeme říct, že některé probiotické kmeny, například z kmene *Lactobacillus*, dokážou stimulovat ILC3 k produkci IL-22, prostřednictvím AhR a metabolitů tryptofanu. To má za následek kolonizační rezistenci proti patogenům, a zároveň dochází k urychlení regenerace střevního epitelu a reparace DNA. Podávání takových probiotik může mít terapeutický potenciál u onkologických pacientů po radioterapii.

Bude zajímavé sledovat, kam se posunou poznatky o ILC3 v dalších letech. Osobně jsem zvědavý na hypotézu obsazení lymfocytární niky ILC v období porodu a následnou změnu tkáňového osídlení ve prospěch T lymfocytů. Způsob, jakým dochází k nezářlivé, fyziologické interakci mezi hostitelem a nesčetným množstvím cizorodých mikroorganismů a jejich antigenů v takové blízkosti, jako je tomu ve střevě, je stále velkou otázkou moderní imunologie. ILC3 jsou jedním ze střípků rozsáhlé skládačky. A budoucí výzkum snad přesněji ukáže, o jak velký díl se jedná.

## Literatura

\* označuje sekundární zdroj

- \*Adak, A., Khan, M.R., 2019. An insight into gut microbiota and its functionalities. *Cell. Mol. Life Sci.* 76, 473–493. <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2943-4>
- Agüero, M.G. de, Ganal-Vonarburg, S.C., Fuhrer, T., Rupp, S., Uchimura, Y., Li, H., Steinert, A., Heikenwalder, M., Hapfelmeier, S., Sauer, U., McCoy, K.D., Macpherson, A.J., 2016. The maternal microbiota drives early postnatal innate immune development. *Science* 351, 1296–1302. <https://doi.org/10.1126/science.aad2571>
- Almeida, F.F., Tognarelli, S., Marçais, A., Kueh, A.J., Friede, M.E., Liao, Y., Willis, S.N., Luong, K., Faure, F., Mercier, F.E., Galluso, J., Firth, M., Narni-Mancinelli, E., Rais, B., Scadden, D.T., Spallotta, F., Weil, S., Giannattasio, A., Kalensee, F., Zöller, T., Huntington, N.D., Schleicher, U., Chiocchetti, A.G., Ugolini, S., Herold, M.J., Shi, W., Koch, J., Steinle, A., Vivier, E., Walzer, T., Belz, G.T., Ullrich, E., 2018. A point mutation in the Ncr1 signal peptide impairs the development of innate lymphoid cell subsets. *Oncot Immunology* 7, e1475875. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2018.1475875>
- Baarden, P. van, Troost, F., Meer, C. van der, Hooiveld, G., Boekschoten, M., Brummer, R.J.M., Kleerebezem, M., 2011. Human mucosal in vivo transcriptome responses to three lactobacilli indicate how probiotics may modulate human cellular pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 4562–4569. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000079107>
- Bando, J.K., Gilfillan, S., Di Luccia, B., Fachi, J.L., Sécca, C., Cella, M., Colonna, M., 2019. ILC2s are the predominant source of intestinal ILC-derived IL-10. *J. Exp. Med.* 217. <https://doi.org/10.1084/jem.20191520>
- Bando, J.K., Gilfillan, S., Song, C., McDonald, K.G., Huang, S.C.-C., Newberry, R.D., Kobayashi, Y., Allan, D.S.J., Carlyle, J.R., Cella, M., Colonna, M., 2018. The Tumor Necrosis Factor Superfamily Member RANKL Suppresses Effector Cytokine Production in Group 3 Innate Lymphoid Cells. *Immunity* 48, 1208-1219.e4. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.04.012>
- Bardenbacher, M., Ruder, B., Britzen-Laurent, N., Schmid, B., Waldner, M., Naschberger, E., Scharl, M., Müller, W., Günther, C., Becker, C., Stürzl, M., Tripal, P., 2019. Permeability analyses and three dimensional imaging of interferon gamma-induced barrier disintegration in intestinal organoids. *Stem Cell Res.* 35, 101383. <https://doi.org/10.1016/j.scr.2019.101383>
- Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., Cernava, T., Vergès, M.-C.C., Charles, T., Chen, X., Cocolin, L., Eversole, K., Corral, G.H., Kazou, M., Kinkel, L., Lange, L., Lima, N., Loy, A., Macklin, J.A., Maguin, E., Mauchline, T., McClure, R., Mitter, B., Ryan, M., Sarand, I., Smidt, H., Schelkle, B., Roume, H., Kiran, G.S., Selvin, J., Souza, R.S.C. de, van Overbeek, L., Singh, B.K., Wagner, M., Walsh, A., Sessitsch, A., Schloter, M., 2020. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome* 8. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>
- Bernink, J.H., Krabbendam, L., Germar, K., de Jong, E., Gronke, K., Kofoed-Nielsen, M., Munneke, J.M., Hazenberg, M.D., Villaudy, J., Buskens, C.J., Bemelman, W.A., Diefenbach, A., Blom, B., Spits, H., 2015. Interleukin-12 and -23 Control Plasticity of CD127+ Group 1 and Group 3 Innate Lymphoid Cells in the Intestinal Lamina Propria. *Immunity* 43, 146–160. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.06.019>



- Bielecki, P., Riesenfeld, S.J., Hütter, J.-C., Torlai Triglia, E., Kowalczyk, M.S., Ricardo-Gonzalez, R.R., Lian, M., Amezcua Vesely, M.C., Kroehling, L., Xu, H., Slyper, M., Muus, C., Ludwig, L.S., Christian, E., Tao, L., Kedaigle, A.J., Steach, H.R., York, A.G., Skadow, M.H., Yaghoubi, P., Dionne, D., Jarret, A., McGee, H.M., Porter, C.B.M., Licona-Limón, P., Bailis, W., Jackson, R., Gagliani, N., Gasteiger, G., Locksley, R.M., Regev, A., Flavell, R.A., 2021. Skin-resident innate lymphoid cells converge on a pathogenic effector state. *Nature* 1–5. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03188-w>
- Björklund, Å.K., Forkel, M., Picelli, S., Konya, V., Theorell, J., Friberg, D., Sandberg, R., Mjösberg, J., 2016. The heterogeneity of human CD127 + innate lymphoid cells revealed by single-cell RNA sequencing. *Nat. Immunol.* 17, 451–460. <https://doi.org/10.1038/ni.3368>
- Bouskra, D., Brézillon, C., Bérard, M., Werts, C., Varona, R., Boneca, I.G., Eberl, G., 2008. Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis. *Nature* 456, 507–510. <https://doi.org/10.1038/nature07450>
- \*Buffie, C.G., Pamer, E.G., 2013. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens. *Nat. Rev. Immunol.* 13, 790–801. <https://doi.org/10.1038/nri3535>
- Bunker, J.J., Erickson, S.A., Flynn, T.M., Henry, C., Koval, J.C., Meisel, M., Jabri, B., Antonopoulos, D.A., Wilson, P.C., Bendelac, A., 2017. Natural polyreactive IgA antibodies coat the intestinal microbiota. *Science* 358. <https://doi.org/10.1126/science.aan6619>
- Burg, N. von, Chappaz, S., Baerenwaldt, A., Horvath, E., Dasgupta, S.B., Ashok, D., Pieters, J., Tacchini-Cottier, F., Rolink, A., Acha-Orbea, H., Finke, D., 2014. Activated group 3 innate lymphoid cells promote T-cell-mediated immune responses. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 111, 12835–12840. <https://doi.org/10.1073/pnas.1406908111>
- Burrello, C., Garavaglia, F., Cribiù, F.M., Ercoli, G., Lopez, G., Troisi, J., Colucci, A., Guglietta, S., Carloni, S., Guglielmetti, S., Taverniti, V., Nizzoli, G., Bosari, S., Caprioli, F., Rescigno, M., Facciotti, F., 2018. Therapeutic faecal microbiota transplantation controls intestinal inflammation through IL10 secretion by immune cells. *Nat. Commun.* 9, 5184. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07359-8>
- Castellanos, J.G., Woo, V., Viladomiu, M., Putzel, G., Lima, S., Diehl, G.E., Marderstein, A.R., Gandara, J., Perez, A.R., Withers, D.R., Targan, S.R., Shih, D.Q., Scherl, E.J., Longman, R.S., 2018. Microbiota-Induced TNF-like Ligand 1A Drives Group 3 Innate Lymphoid Cell-Mediated Barrier Protection and Intestinal T Cell Activation during Colitis. *Immunity* 49, 1077-1089.e5. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.10.014>
- Castleman, M.J., Dillon, S.M., Purba, C.M., Cogswell, A.C., Kibbie, J.J., McCarter, M.D., Santiago, M.L., Barker, E., Wilson, C.C., 2019. Commensal and Pathogenic Bacteria Indirectly Induce IL-22 but Not IFN $\gamma$  Production From Human Colonic ILC3s via Multiple Mechanisms. *Front. Immunol.* 10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00649>
- Castro-Dopico, T., Fleming, A., Dennison, T.W., Ferdinand, J.R., Harcourt, K., Stewart, B.J., Cader, Z., Tuong, Z.K., Jing, C., Lok, L.S.C., Mathews, R.J., Portet, A., Kaser, A., Clare, S., Clatworthy, M.R., 2020. GM-CSF Calibrates Macrophage Defense and Wound Healing Programs during Intestinal Infection and Inflammation. *Cell Rep.* 32, 107857. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107857>

- Cella, M., Gamini, R., Sécca, C., Collins, P.L., Zhao, S., Peng, V., Robinette, M.L., Schettini, J., Zaitsev, K., Gordon, W., Bando, J.K., Yomogida, K., Cortez, V., Fronick, C., Fulton, R., Lin, L.-L., Gilfillan, S., Flavell, R.A., Shan, L., Artyomov, M.N., Bowman, M., Oltz, E.M., Jelinsky, S.A., Colonna, M., 2019. Subsets of ILC3–ILC1-like cells generate a diversity spectrum of innate lymphoid cells in human mucosal tissues. *Nat. Immunol.* 20, 980–991. <https://doi.org/10.1038/s41590-019-0425-y>
- Chen, J., Waddell, A., Lin, Y.-D., Cantorna, M.T., 2015. Dysbiosis caused by vitamin D receptor deficiency confers colonization resistance to *Citrobacter rodentium* through modulation of innate lymphoid cells. *Mucosal Immunol.* 8, 618–626. <https://doi.org/10.1038/mi.2014.94>
- Chun, E., Lavoie, S., Fonseca-Pereira, D., Bae, S., Michaud, M., Hoveyda, H.R., Fraser, G.L., Comeau, C.A.G., Glickman, J.N., Fuller, M.H., Layden, B.T., Garrett, W.S., 2019. Metabolite-Sensing Receptor Ffar2 Regulates Colonic Group 3 Innate Lymphoid Cells and Gut Immunity. *Immunity* 51, 871-884.e6. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.09.014>
- Constantinides, M.G., McDonald, B.D., Verhoef, P.A., Bendelac, A., 2014. A committed precursor to innate lymphoid cells. *Nature* 508, 397–401. <https://doi.org/10.1038/nature13047>
- Coorens, M., Rao, A., Gräfe, S.K., Unelius, D., Lindforss, U., Agerberth, B., Mjösberg, J., Bergman, P., 2019. Innate lymphoid cell type 3–derived interleukin-22 boosts lipocalin-2 production in intestinal epithelial cells via synergy between STAT3 and NF- $\kappa$ B. *J. Biol. Chem.* 294, 6027–6041. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.007290>
- Cording, S., Medvedovic, J., Lécuyer, E., Aychek, T., Déjardin, F., Eberl, G., 2018. Mouse models for the study of fate and function of innate lymphoid cells. *Eur. J. Immunol.* 48, 1271–1280. <https://doi.org/10.1002/eji.201747388>
- Crellin, N.K., Trifari, S., Kaplan, C.D., Satoh-Takayama, N., Santo, J.P.D., Spits, H., 2010. Regulation of Cytokine Secretion in Human CD127+ LTI-like Innate Lymphoid Cells by Toll-like Receptor 2. *Immunity* 33, 752–764. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.10.012>
- Dalli, J., Colas, R.A., Arnardottir, H., Serhan, C.N., 2017. Vagal Regulation of Group 3 Innate Lymphoid Cells and the Immunosolvent PCTR1 Controls Infection Resolution. *Immunity* 46, 92–105. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.12.009>
- Darfeuille-Michaud, A., Boudeau, J., Bulois, P., Neut, C., Glasser, A.-L., Barnich, N., Bringer, M.-A., Swidsinski, A., Beaugerie, L., Colombel, J.-F., 2004. High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn’s disease. *Gastroenterology* 127, 412–421. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2004.04.061>
- Day, P.M., Thompson, C.D., Lowy, D.R., Schiller, J.T., 2017. Interferon Gamma Prevents Infectious Entry of Human Papillomavirus 16 via an L2-Dependent Mechanism. *J. Virol.* 91. <https://doi.org/10.1128/JVI.00168-17>
- Domingues, R.G., Hepworth, M.R., 2020. Immunoregulatory Sensory Circuits in Group 3 Innate Lymphoid Cell (ILC3) Function and Tissue Homeostasis. *Front. Immunol.* 11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00116>
- Eberl, G., Marmon, S., Sunshine, M.-J., Rennert, P.D., Choi, Y., Littman, D.R., 2004. An essential function for the nuclear receptor ROR $\gamma$ t in the generation of fetal lymphoid tissue inducer cells. *Nat. Immunol.* 5, 64–73. <https://doi.org/10.1038/ni1022>

- Eckburg, P.B., Bik, E.M., Bernstein, C.N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., Gill, S.R., Nelson, K.E., Relman, D.A., 2005. Diversity of the Human Intestinal Microbial Flora. *Science* 308, 1635–1638. <https://doi.org/10.1126/science.1110591>
- Eken, A., Singh, A.K., Treuting, P.M., Oukka, M., 2014. IL-23R + innate lymphoid cells induce colitis via interleukin-22-dependent mechanism. *Mucosal Immunol.* 7, 143–154. <https://doi.org/10.1038/mi.2013.33>
- Enomoto, Y., Orihara, K., Takamasu, T., Matsuda, A., Gon, Y., Saito, H., Ra, C., Okayama, Y., 2009. Tissue remodeling induced by hypersecreted epidermal growth factor and amphiregulin in the airway after an acute asthma attack. *J. Allergy Clin. Immunol.* 124, 913-920.e7. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.08.044>
- Ermann, J., Staton, T., Glickman, J.N., Malefyt, R. de W., Glimcher, L.H., 2014. Nod/Ripk2 signaling in dendritic cells activates IL-17A–secreting innate lymphoid cells and drives colitis in T-bet–/–.Rag2–/– (TRUC) mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 111, E2559–E2566. <https://doi.org/10.1073/pnas.1408540111>
- \*Eyerich, K., Dimartino, V., Cavani, A., 2017. IL-17 and IL-22 in immunity: Driving protection and pathology. *Eur. J. Immunol.* 47, 607–614. <https://doi.org/10.1002/eji.201646723>
- Fuchs, A., Vermi, W., Lee, J.S., Lonardi, S., Gilfillan, S., Newberry, R.D., Cella, M., Colonna, M., 2013. Intraepithelial Type 1 Innate Lymphoid Cells Are a Unique Subset of IL-12- and IL-15-Responsive IFN- $\gamma$ -Producing Cells. *Immunity* 38, 769–781. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.02.010>
- Furusawa, Y., Obata, Y., Fukuda, S., Endo, T.A., Nakato, G., Takahashi, D., Nakanishi, Y., Uetake, C., Kato, K., Kato, T., Takahashi, M., Fukuda, N.N., Murakami, S., Miyauchi, E., Hino, S., Atarashi, K., Onawa, S., Fujimura, Y., Lockett, T., Clarke, J.M., Topping, D.L., Tomita, M., Hori, S., Ohara, O., Morita, T., Koseki, H., Kikuchi, J., Honda, K., Hase, K., Ohno, H., 2013. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature* 504, 446–450. <https://doi.org/10.1038/nature12721>
- \*Geremia, A., Biancheri, P., Allan, P., Corazza, G.R., Di Sabatino, A., 2014. Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease. *Autoimmun. Rev.* 13, 3–10. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2013.06.004>
- Godinho-Silva, C., Domingues, R.G., Rendas, M., Raposo, B., Ribeiro, H., da Silva, J.A., Vieira, A., Costa, R.M., Barbosa-Morais, N.L., Carvalho, T., Veiga-Fernandes, H., 2019. Light-entrained and brain-tuned circadian circuits regulate ILC3s and gut homeostasis. *Nature* 574, 254–258. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1579-3>
- Gordon, S.M., Chaix, J., Rupp, L.J., Wu, J., Madera, S., Sun, J.C., Lindsten, T., Reiner, S.L., 2012. The Transcription Factors T-bet and Eomes Control Key Checkpoints of Natural Killer Cell Maturation. *Immunity* 36, 55–67. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2011.11.016>
- Goto, Y., Obata, T., Kunisawa, J., Sato, S., Ivanov, I.I., Lamichhane, A., Takeyama, N., Kamioka, M., Sakamoto, M., Matsuki, T., Setoyama, H., Imaoka, A., Uematsu, S., Akira, S., Domino, S.E., Kulig, P., Becher, B., Renaud, J.-C., Sasakawa, C., Umesaki, Y., Benno, Y., Kiyono, H., 2014. Innate lymphoid cells regulate intestinal epithelial cell glycosylation. *Science* 345, 1254009. <https://doi.org/10.1126/science.1254009>
- Goverse, G., Labao-Almeida, C., Ferreira, M., Molenaar, R., Wahlen, S., Konijn, T., Koning, J., Veiga-Fernandes, H., Mebius, R.E., 2016. Vitamin A Controls the Presence of ROR $\gamma$ +

- Innate Lymphoid Cells and Lymphoid Tissue in the Small Intestine. *J. Immunol.* 196, 5148–5155. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1501106>
- Gronke, K., Hernández, P.P., Zimmermann, J., Klose, C.S.N., Kofoed-Branzk, M., Guendel, F., Witkowski, M., Tizian, C., Amann, L., Schumacher, F., Glatt, H., Triantafyllopoulou, A., Diefenbach, A., 2019. Interleukin-22 protects intestinal stem cells against genotoxic stress. *Nature* 566, 249–253. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-0899-7>
- Guo, H., Chou, W.-C., Lai, Y., Liang, K., Tam, J.W., Brickey, W.J., Chen, L., Montgomery, N.D., Li, X., Bohannon, L.M., Sung, A.D., Chao, N.J., Peled, J.U., Gomes, A.L.C., Brink, M.R.M. van den, French, M.J., Macintyre, A.N., Sempowski, G.D., Tan, X., Sartor, R.B., Lu, K., Ting, J.P.Y., 2020. Multi-omics analyses of radiation survivors identify radioprotective microbes and metabolites. *Science* 370. <https://doi.org/10.1126/science.aay9097>
- Guo, X., Liang, Y., Zhang, Y., Lasorella, A., Kee, B.L., Fu, Y.-X., 2015. Innate Lymphoid Cells Control Early Colonization Resistance against Intestinal Pathogens through ID2-Dependent Regulation of the Microbiota. *Immunity* 42, 731–743. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.03.012>
- Gury-BenAri, M., Thaiss, C.A., Serafini, N., Winter, D.R., Giladi, A., Lara-Astiaso, D., Levy, M., Salame, T.M., Weiner, A., David, E., Shapiro, H., Dori-Bachash, M., Pevsner-Fischer, M., Lorenzo-Vivas, E., Keren-Shaul, H., Paul, F., Harmelin, A., Eberl, G., Itzkovitz, S., Tanay, A., Di Santo, J.P., Elinav, E., Amit, I., 2016. The Spectrum and Regulatory Landscape of Intestinal Innate Lymphoid Cells Are Shaped by the Microbiome. *Cell* 166, 1231–1246.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.07.043>
- Gutierrez, M.G., Master, S.S., Singh, S.B., Taylor, G.A., Colombo, M.I., Deretic, V., 2004. Autophagy Is a Defense Mechanism Inhibiting BCG and Mycobacterium tuberculosis Survival in Infected Macrophages. *Cell* 119, 753–766. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.11.038>
- Halim, T.Y.F., Krauß, R.H., Sun, A.C., Takei, F., 2012. Lung Natural Helper Cells Are a Critical Source of Th2 Cell-Type Cytokines in Protease Allergen-Induced Airway Inflammation. *Immunity* 36, 451–463. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2011.12.020>
- Hasegawa, M., Yada, S., Liu, M.Z., Kamada, N., Muñoz-Planillo, R., Do, N., Núñez, G., Inohara, N., 2014. Interleukin-22 Regulates the Complement System to Promote Resistance against Pathobionts after Pathogen-Induced Intestinal Damage. *Immunity* 41, 620–632. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.09.010>
- Hepworth, M.R., Fung, T.C., Masur, S.H., Kelsen, J.R., McConnell, F.M., Dubrot, J., Withers, D.R., Hugues, S., Farrar, M.A., Reith, W., Eberl, G., Baldassano, R.N., Laufer, T.M., Elson, C.O., Sonnenberg, G.F., 2015. Group 3 innate lymphoid cells mediate intestinal selection of commensal bacteria-specific CD4+ T cells. *Science* 348, 1031–1035. <https://doi.org/10.1126/science.aaa4812>
- Hepworth, M.R., Monticelli, L.A., Fung, T.C., Ziegler, C.G.K., Grunberg, S., Sinha, R., Mantegazza, A.R., Ma, H.-L., Crawford, A., Angelosanto, J.M., Wherry, E.J., Koni, P.A., Bushman, F.D., Elson, C.O., Eberl, G., Artis, D., Sonnenberg, G.F., 2013. Innate lymphoid cells regulate CD4 + T-cell responses to intestinal commensal bacteria. *Nature* 498, 113–117. <https://doi.org/10.1038/nature12240>
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G.R., Merenstein, D.J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R.B., Flint, H.J., Salminen, S., Calder, P.C., Sanders, M.E., 2014. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and

- appropriate use of the term probiotic. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 11, 506–514. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>
- Horowitz, A., Strauss-Albee, D.M., Leipold, M., Kubo, J., Nemat-Gorgani, N., Dogan, O.C., Dekker, C.L., Mackey, S., Maecker, H., Swan, G.E., Davis, M.M., Norman, P.J., Guethlein, L.A., Desai, M., Parham, P., Blish, C.A., 2013. Genetic and environmental determinants of human NK cell diversity revealed by mass cytometry. *Sci. Transl. Med.* 5, 208ra145. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3006702>
- Hou, Q., Ye, L., Liu, H., Huang, L., Yang, Q., Turner, J.R., Yu, Q., 2018. Lactobacillus accelerates ISCs regeneration to protect the integrity of intestinal mucosa through activation of STAT3 signaling pathway induced by LPLs secretion of IL-22. *Cell Death Differ.* 25, 1657–1670. <https://doi.org/10.1038/s41418-018-0070-2>
- Ibiza, S., García-Cassani, B., Ribeiro, H., Carvalho, T., Almeida, L., Marques, R., Misic, A.M., Bartow-McKenney, C., Larson, D.M., Pavan, W.J., Eberl, G., Grice, E.A., Veiga-Fernandes, H., 2016. Glial-cell-derived neuroregulators control type 3 innate lymphoid cells and gut defence. *Nature* 535, 440–443. <https://doi.org/10.1038/nature18644>
- Jowett, G.M., Norman, M.D.A., Yu, T.T.L., Rosell Arévalo, P., Hoogland, D., Lust, S.T., Read, E., Hamrud, E., Walters, N.J., Niazi, U., Chung, M.W.H., Marciano, D., Omer, O.S., Zabinski, T., Danovi, D., Lord, G.M., Hilborn, J., Evans, N.D., Dreiss, C.A., Bozec, L., Oommen, O.P., Lorenz, C.D., da Silva, R.M.P., Neves, J.F., Gentleman, E., 2021. ILC1 drive intestinal epithelial and matrix remodelling. *Nat. Mater.* 20, 250–259. <https://doi.org/10.1038/s41563-020-0783-8>
- \*Kak, G., Raza, M., Tiwari, B.K., 2018. Interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ): Exploring its implications in infectious diseases. *Biomol. Concepts* 9, 64–79. <https://doi.org/10.1515/bmc-2018-0007>
- Kamada, N., Kim, Y.-G., Sham, H.P., Vallance, B.A., Puente, J.L., Martens, E.C., Núñez, G., 2012. Regulated Virulence Controls the Ability of a Pathogen to Compete with the Gut Microbiota. *Science* 336, 1325–1329. <https://doi.org/10.1126/science.1222195>
- \*Keir, M.E., Yi, T., Lu, T.T., Ghilardi, N., 2020. The role of IL-22 in intestinal health and disease. *J. Exp. Med.* 217. <https://doi.org/10.1084/jem.20192195>
- Kiessling, R., Klein, E., Wigzell, H., 1975. „Natural” killer cells in the mouse. I. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Specificity and distribution according to genotype. *Eur. J. Immunol.* 5, 112–117. <https://doi.org/10.1002/eji.1830050208>
- Kim, M.H., Taparowsky, E.J., Kim, C.H., 2015. Retinoic Acid Differentially Regulates the Migration of Innate Lymphoid Cell Subsets to the Gut. *Immunity* 43, 107–119. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.06.009>
- Kim, S.-H., Cho, B.-H., Kiyono, H., Jang, Y.-S., 2017. Microbiota-derived butyrate suppresses group 3 innate lymphoid cells in terminal ileal Peyer’s patches. *Sci. Rep.* 7, 3980. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02729-6>
- \*Klose, C.S.N., Artis, D., 2020. Innate lymphoid cells control signaling circuits to regulate tissue-specific immunity. *Cell Res.* 30, 475–491. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0323-8>
- \*Klose, C.S.N., Artis, D., 2016. Innate lymphoid cells as regulators of immunity, inflammation and tissue homeostasis. *Nat. Immunol.* 17, 765–774. <https://doi.org/10.1038/ni.3489>

- Klose, C.S.N., Flach, M., Möhle, L., Rogell, L., Hoyler, T., Ebert, K., Fabiunke, C., Pfeifer, D., Sexl, V., Fonseca-Pereira, D., Domingues, R.G., Veiga-Fernandes, H., Arnold, S.J., Busslinger, M., Dunay, I.R., Tanriver, Y., Diefenbach, A., 2014. Differentiation of Type 1 ILCs from a Common Progenitor to All Helper-like Innate Lymphoid Cell Lineages. *Cell* 157, 340–356. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.030>
- Klose, C.S.N., Kiss, E.A., Schwierzeck, V., Ebert, K., Hoyler, T., d’Hargues, Y., Göppert, N., Croxford, A.L., Waisman, A., Tanriver, Y., Diefenbach, A., 2013. A T-bet gradient controls the fate and function of CCR6 – ROR $\gamma$ t + innate lymphoid cells. *Nature* 494, 261–265. <https://doi.org/10.1038/nature11813>
- Konya, V., Czarnewski, P., Forkel, M., Rao, A., Kokkinou, E., Villablanca, E.J., Almer, S., Lindfors, U., Friberg, D., Höög, C., Bergman, P., Mjösberg, J., 2018. Vitamin D downregulates the IL-23 receptor pathway in human mucosal group 3 innate lymphoid cells. *J. Allergy Clin. Immunol.* 141, 279–292. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.01.045>
- Kotas, M.E., Locksley, R.M., 2018. Why Innate Lymphoid Cells? *Immunity* 48, 1081–1090. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.06.002>
- Kruglov, A.A., Grivennikov, S.I., Kuprash, D.V., Winsauer, C., Prepens, S., Seleznik, G.M., Eberl, G., Littman, D.R., Heikenwalder, M., Tumanov, A.V., Nedospasov, S.A., 2013. Nonredundant Function of Soluble LT $\alpha$ 3 Produced by Innate Lymphoid Cells in Intestinal Homeostasis. *Science* 342, 1243–1246. <https://doi.org/10.1126/science.1243364>
- Lee, J., Cella, M., McDonald, K., Garlanda, C., Kennedy, G.D., Nukaya, M., Mantovani, A., Kopan, R., Bradfield, C.A., Newberry, R., Colonna, M., 2011. AHR drives the development of gut ILC22 cells and postnatal lymphoid tissues via pathways dependent on and independent of Notch. *Nat. Immunol.* 13, 144–151. <https://doi.org/10.1038/ni.2187>
- Li, P., Du, Q., Cao, Z., Guo, Z., Evankovich, J., Yan, W., Chang, Y., Shao, L., Stolz, D.B., Tsung, A., Geller, D.A., 2012. Interferon-gamma induces autophagy with growth inhibition and cell death in human hepatocellular carcinoma (HCC) cells through interferon-regulatory factor-1 (IRF-1). *Cancer Lett.* 314, 213–222. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2011.09.031>
- Liesche, C., Sauer, P., Prager, I., Urlaub, D., Claus, M., Eils, R., Beaudouin, J., Watzl, C., 2018. Single-Fluorescent Protein Reporters Allow Parallel Quantification of Natural Killer Cell-Mediated Granzyme and Caspase Activities in Single Target Cells. *Front. Immunol.* 9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01840>
- Lim, A.I., Li, Y., Lopez-Lastra, S., Stadhouders, R., Paul, F., Casrouge, A., Serafini, N., Puel, A., Bustamante, J., Surace, L., Masse-Ranson, G., David, E., Strick-Marchand, H., Bourhis, L.L., Cocchi, R., Topazio, D., Graziano, P., Muscarella, L.A., Rogge, L., Norel, X., Sallenave, J.-M., Allez, M., Graf, T., Hendriks, R.W., Casanova, J.-L., Amit, I., Yssel, H., Santo, J.P.D., 2017. Systemic Human ILC Precursors Provide a Substrate for Tissue ILC Differentiation. *Cell* 168, 1086–1100.e10. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.02.021>
- Lindemans, C.A., Calafiore, M., Mertelsmann, A.M., O’Connor, M.H., Dudakov, J.A., Jenq, R.R., Velardi, E., Young, L.F., Smith, O.M., Lawrence, G., Ivanov, J.A., Fu, Y.-Y., Takashima, S., Hua, G., Martin, M.L., O’Rourke, K.P., Lo, Y.-H., Mokry, M., Romera-Hernandez, M., Cupedo, T., Dow, L.E., Nieuwenhuis, E.E., Shroyer, N.F., Liu, C., Kolesnick, R., van den Brink, M.R.M., Hanash, A.M., 2015. Interleukin-22 promotes

- intestinal-stem-cell-mediated epithelial regeneration. *Nature* 528, 560–564.  
<https://doi.org/10.1038/nature16460>
- Liu, Y., Song, Y., Lin, D., Lei, L., Mei, Y., Jin, Z., Gong, H., Zhu, Y., Hu, B., Zhang, Y., Zhao, L., Teo, H.Y., Qiu, J., Jiang, W., Dong, C., Wu, D., Huang, Y., Liu, H., 2019. NCR– group 3 innate lymphoid cells orchestrate IL-23/IL-17 axis to promote hepatocellular carcinoma development. *EBioMedicine* 41, 333–344.  
<https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.02.050>
- Longman, R.S., Diehl, G.E., Victorio, D.A., Huh, J.R., Galan, C., Miraldi, E.R., Swaminath, A., Bonneau, R., Scherl, E.J., Littman, D.R., 2014. CX3CR1+ mononuclear phagocytes support colitis-associated innate lymphoid cell production of IL-22. *J. Exp. Med.* 211, 1571–1583. <https://doi.org/10.1084/jem.20140678>
- \*Mandal, A., Viswanathan, C., 2015. Natural killer cells: In health and disease. *Hematol. Oncol. Stem Cell Ther.* 8, 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.hemonc.2014.11.006>
- Marafini, I., Monteleone, I., Fusco, D.D., Cupi, M.L., Paoluzi, O.A., Colantoni, A., Ortenzi, A., Izzo, R., Vita, S., Luca, E.D., Sica, G., Pallone, F., Monteleone, G., 2015. TNF- $\alpha$  Producing Innate Lymphoid Cells (ILCs) Are Increased in Active Celiac Disease and Contribute to Promote Intestinal Atrophy in Mice. *PLOS ONE* 10, e0126291.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126291>
- Martinez-Gonzalez, I., Mathä, L., Steer, C.A., Ghaedi, M., Poon, G.F.T., Takei, F., 2016. Allergen-Experienced Group 2 Innate Lymphoid Cells Acquire Memory-like Properties and Enhance Allergic Lung Inflammation. *Immunity* 45, 198–208.  
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.06.017>
- McNeil, N.I., 1984. The contribution of the large intestine to energy supplies in man. *Am. J. Clin. Nutr.* 39, 338–342. <https://doi.org/10.1093/ajcn/39.2.338>
- Melo-Gonzalez, F., Kammoun, H., Evren, E., Dutton, E.E., Papadopoulou, M., Bradford, B.M., Tanes, C., Fardus-Reid, F., Swann, J.R., Bittinger, K., Mabbott, N.A., Vallance, B.A., Willinger, T., Withers, D.R., Hepworth, M.R., 2019. Antigen-presenting ILC3 regulate T cell-dependent IgA responses to colonic mucosal bacteria. *J. Exp. Med.* 216, 728–742. <https://doi.org/10.1084/jem.20180871>
- Mielke, L.A., Jones, S.A., Raverdeau, M., Higgs, R., Stefanska, A., Groom, J.R., Misiak, A., Dungan, L.S., Sutton, C.E., Streubel, G., Bracken, A.P., Mills, K.H.G., 2013. Retinoic acid expression associates with enhanced IL-22 production by  $\gamma\delta$  T cells and innate lymphoid cells and attenuation of intestinal inflammation. *J. Exp. Med.* 210, 1117–1124. <https://doi.org/10.1084/jem.20121588>
- Mortha, A., Chudnovskiy, A., Hashimoto, D., Bogunovic, M., Spencer, S.P., Belkaid, Y., Merad, M., 2014. Microbiota-Dependent Crosstalk Between Macrophages and ILC3 Promotes Intestinal Homeostasis. *Science* 343, 1249288.  
<https://doi.org/10.1126/science.1249288>
- \*Mukherjee, S., Hooper, L.V., 2015. Antimicrobial Defense of the Intestine. *Immunity* 42, 28–39. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.12.028>
- Muraoka, W.T., Korchagina, A.A., Xia, Q., Shein, S.A., Jing, X., Lai, Z., Weldon, K.S., Wang, L.-J., Chen, Y., Kummer, L.W., Mohrs, M., Vivier, E., Koroleva, E.P., Tumanov, A.V., 2020. *Campylobacter* infection promotes IFN $\gamma$ -dependent intestinal pathology via ILC3 to ILC1 conversion. *Mucosal Immunol.* 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41385-020-00353-8>

- Nava, P., Koch, S., Laukoetter, M.G., Lee, W.Y., Kolegraff, K., Capaldo, C.T., Beeman, N., Addis, C., Gerner-Smidt, K., Neumaier, I., Skerra, A., Li, L., Parkos, C.A., Nusrat, A., 2010. Interferon- $\gamma$  Regulates Intestinal Epithelial Homeostasis through Converging  $\beta$ -Catenin Signaling Pathways. *Immunity* 32, 392–402. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.03.001>
- \*Nishida, A., Inoue, R., Inatomi, O., Bamba, S., Naito, Y., Andoh, A., 2018. Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Clin. J. Gastroenterol.* 11, 1–10. <https://doi.org/10.1007/s12328-017-0813-5>
- Nussbaum, J.C., Van Dyken, S.J., von Moltke, J., Cheng, L.E., Mohapatra, A., Molofsky, A.B., Thornton, E.E., Krummel, M.F., Chawla, A., Liang, H.-E., Locksley, R.M., 2013. Type 2 innate lymphoid cells control eosinophil homeostasis. *Nature* 502, 245–248. <https://doi.org/10.1038/nature12526>
- Oliphant, C.J., Hwang, Y.Y., Walker, J.A., Salimi, M., Wong, S.H., Brewer, J.M., Englezakis, A., Barlow, J.L., Hams, E., Scanlon, S.T., Ogg, G.S., Fallon, P.G., McKenzie, A.N.J., 2014. MHCII-Mediated Dialog between Group 2 Innate Lymphoid Cells and CD4+ T Cells Potentiates Type 2 Immunity and Promotes Parasitic Helminth Expulsion. *Immunity* 41, 283–295. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.06.016>
- Pickard, J.M., Maurice, C.F., Kinnebrew, M.A., Abt, M.C., Schenten, D., Golovkina, T.V., Bogatyrev, S.R., Ismagilov, R.F., Pamer, E.G., Turnbaugh, P.J., Chervonsky, A.V., 2014. Rapid fucosylation of intestinal epithelium sustains host–commensal symbiosis in sickness. *Nature* 514, 638–641. <https://doi.org/10.1038/nature13823>
- Pomare, E.W., Branch, W.J., Cummings, J.H., 1985. Carbohydrate fermentation in the human colon and its relation to acetate concentrations in venous blood. [WWW Document]. <https://doi.org/10.1172/JCI111847>
- Prager, I., Liesche, C., van Ooijen, H., Urlaub, D., Verron, Q., Sandström, N., Fasbender, F., Claus, M., Eils, R., Beaudouin, J., Önfelt, B., Watzl, C., 2019. NK cells switch from granzyme B to death receptor–mediated cytotoxicity during serial killing. *J. Exp. Med.* 216, 2113–2127. <https://doi.org/10.1084/jem.20181454>
- Qi, H., Li, Y., Yun, H., Zhang, T., Huang, Y., Zhou, J., Yan, H., Wei, J., Liu, Y., Zhang, Z., Gao, Y., Che, Y., Su, X., Zhu, D., Zhang, Y., Zhong, J., Yang, R., 2019. *Lactobacillus* maintains healthy gut mucosa by producing L-Ornithine. *Commun. Biol.* 2, 1–14. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0424-4>
- Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K.S., Manichanh, C., Nielsen, T., Pons, N., Levenez, F., Yamada, T., Mende, D.R., Li, J., Xu, J., Li, Shaochuan, Li, D., Cao, J., Wang, B., Liang, H., Zheng, H., Xie, Y., Tap, J., Lepage, P., Bertalan, M., Batto, J.-M., Hansen, T., Le Paslier, D., Linneberg, A., Nielsen, H.B., Pelletier, E., Renault, P., Sicheritz-Ponten, T., Turner, K., Zhu, H., Yu, C., Li, Shengting, Jian, M., Zhou, Y., Li, Y., Zhang, X., Li, Songgang, Qin, N., Yang, H., Wang, Jian, Brunak, S., Doré, J., Guarner, F., Kristiansen, K., Pedersen, O., Parkhill, J., Weissenbach, J., Bork, P., Ehrlich, S.D., Wang, Jun, 2010. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 464, 59–65. <https://doi.org/10.1038/nature08821>
- \*Round, J.L., Mazmanian, S.K., 2009. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat. Rev. Immunol.* 9, 313–323. <https://doi.org/10.1038/nri2515>
- Sakamoto, K., Kim, Y.-G., Hara, H., Kamada, N., Caballero-Flores, G., Tolosano, E., Soares, M.P., Puente, J.L., Inohara, N., Núñez, G., 2017. IL-22 controls iron-dependent



- nutritional immunity against systemic bacterial infections. *Sci. Immunol.* 2. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aai8371>
- Sandborn, W.J., Gasink, C., Gao, L.-L., Blank, M.A., Johans, J., Guzzo, C., Sands, B.E., Hanauer, S.B., Targan, S., Rutgeerts, P., Ghosh, S., de Villiers, W.J.S., Panaccione, R., Greenberg, G., Schreiber, S., Lichtiger, S., Feagan, B.G., 2012. Ustekinumab Induction and Maintenance Therapy in Refractory Crohn's Disease. *N. Engl. J. Med.* 367, 1519–1528. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1203572>
- Sarate, P.J., Heintz, S., Poiret, S., Drinić, M., Zwicker, C., Schabussova, I., Daniel, C., Wiedermann, U., 2019. *E. coli* Nissle 1917 is a safe mucosal delivery vector for a birch-grass pollen chimera to prevent allergic poly-sensitization. *Mucosal Immunol.* 12, 132–144. <https://doi.org/10.1038/s41385-018-0084-6>
- Satoh-Takayama, N., Serafini, N., Verrier, T., Rekiki, A., Renault, J.-C., Frankel, G., Di Santo, J.P., 2014. The Chemokine Receptor CXCR6 Controls the Functional Topography of Interleukin-22 Producing Intestinal Innate Lymphoid Cells. *Immunity* 41, 776–788. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.10.007>
- Satoh-Takayama, N., Vosshenrich, C.A.J., Lesjean-Pottier, S., Sawa, S., Lochner, M., Rattis, F., Mention, J.-J., Thiam, K., Cerf-Bensussan, N., Mandelboim, O., Eberl, G., Santo, J.P.D., 2008. Microbial Flora Drives Interleukin 22 Production in Intestinal Nkp46+ Cells that Provide Innate Mucosal Immune Defense. *Immunity* 29, 958–970. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2008.11.001>
- Scoville, S.D., Mundy-Bosse, B.L., Zhang, M.H., Chen, Li, Zhang, X., Keller, K.A., Hughes, T., Chen, Luxi, Cheng, S., Bergin, S.M., Mao, H.C., McClory, S., Yu, J., Carson, W.E., Caligiuri, M.A., Freud, A.G., 2016. A Progenitor Cell Expressing Transcription Factor ROR $\gamma$ t Generates All Human Innate Lymphoid Cell Subsets. *Immunity* 44, 1140–1150. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.04.007>
- Seillet, C., Luong, K., Tellier, J., Jacquelot, N., Shen, R.D., Hickey, P., Wimmer, V.C., Whitehead, L., Rogers, K., Smyth, G.K., Garnham, A.L., Ritchie, M.E., Belz, G.T., 2020. The neuropeptide VIP confers anticipatory mucosal immunity by regulating ILC3 activity. *Nat. Immunol.* 21, 168–177. <https://doi.org/10.1038/s41590-019-0567-y>
- Sender, R., Fuchs, S., Milo, R., 2016. Are We Really Vastly Outnumbered? Revisiting the Ratio of Bacterial to Host Cells in Humans. *Cell* 164, 337–340. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.01.013>
- SHIN, R., SUZUKI, M., MORISHITA, Y., 2002. Influence of intestinal anaerobes and organic acids on the growth of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *J. Med. Microbiol.* 51, 201–206. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-51-3-201>
- Spits, H., Artis, D., Colonna, M., Diefenbach, A., Di Santo, J.P., Eberl, G., Koyasu, S., Locksley, R.M., McKenzie, A.N.J., Mebius, R.E., Powrie, F., Vivier, E., 2013. Innate lymphoid cells — a proposal for uniform nomenclature. *Nat. Rev. Immunol.* 13, 145–149. <https://doi.org/10.1038/nri3365>
- Sugimoto, K., Ogawa, A., Mizoguchi, E., Shimomura, Y., Andoh, A., Bhan, A.K., Blumberg, R.S., Xavier, R.J., Mizoguchi, A., 2008. IL-22 ameliorates intestinal inflammation in a mouse model of ulcerative colitis. *J. Clin. Invest.* 118, 534–544. <https://doi.org/10.1172/JCI33194>
- Sun, J.C., Beilke, J.N., Lanier, L.L., 2009. Adaptive immune features of natural killer cells. *Nature* 457, 557–561. <https://doi.org/10.1038/nature07665>

- Takahashi, K., Nishida, A., Fujimoto, T., Fujii, M., Shioya, M., Imaeda, H., Inatomi, O., Bamba, S., Andoh, A., Sugimoto, M., 2016. Reduced Abundance of Butyrate-Producing Bacteria Species in the Fecal Microbial Community in Crohn's Disease. *Digestion* 93, 59–65. <https://doi.org/10.1159/000441768>
- Takeda, K., Cretney, E., Hayakawa, Y., Ota, T., Akiba, H., Ogasawara, K., Yagita, H., Kinoshita, K., Okumura, K., Smyth, M.J., 2005. TRAIL identifies immature natural killer cells in newborn mice and adult mouse liver. *Blood* 105, 2082–2089. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-08-3262>
- Talbot, J., Hahn, P., Kroehling, L., Nguyen, H., Li, D., Littman, D.R., 2020. Feeding-dependent VIP neuron–ILC3 circuit regulates the intestinal barrier. *Nature* 579, 575–580. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2039-9>
- Tang, C., Kakuta, S., Shimizu, K., Kadoki, M., Kamiya, T., Shimazu, T., Kubo, S., Saijo, S., Ishigame, H., Nakae, S., Iwakura, Y., 2018. Suppression of IL-17F, but not of IL-17A, provides protection against colitis by inducing T reg cells through modification of the intestinal microbiota. *Nat. Immunol.* 19, 755–765. <https://doi.org/10.1038/s41590-018-0134-y>
- Thaiss, C.A., Levy, M., Korem, T., Dohnalová, L., Shapiro, H., Jaitin, D.A., David, E., Winter, D.R., Gury-BenAri, M., Tatirovsky, E., Tuganbaev, T., Federici, S., Zmora, N., Zeevi, D., Dori-Bachash, M., Pevsner-Fischer, M., Kartvelishvily, E., Brandis, A., Harmelin, A., Shibolet, O., Halpern, Z., Honda, K., Amit, I., Segal, E., Elinav, E., 2016. Microbiota Diurnal Rhythmicity Programs Host Transcriptome Oscillations. *Cell* 167, 1495–1510.e12. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.11.003>
- Tsuji, M., Suzuki, K., Kitamura, H., Maruya, M., Kinoshita, K., Ivanov, I.I., Itoh, K., Littman, D.R., Fagarasan, S., 2008. Requirement for Lymphoid Tissue-Inducer Cells in Isolated Follicle Formation and T Cell-Independent Immunoglobulin A Generation in the Gut. *Immunity* 29, 261–271. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2008.05.014>
- van de Pavert, S.A., Ferreira, M., Domingues, R.G., Ribeiro, H., Molenaar, R., Moreira-Santos, L., Almeida, F.F., Ibiza, S., Barbosa, I., Goverse, G., Labão-Almeida, C., Godinho-Silva, C., Konijn, T., Schooneman, D., O'Toole, T., Mizee, M.R., Habani, Y., Haak, E., Santori, F.R., Littman, D.R., Schulte-Merker, S., Dzierzak, E., Simas, J.P., Mebius, R.E., Veiga-Fernandes, H., 2014. Maternal retinoids control type 3 innate lymphoid cells and set the offspring immunity. *Nature* 508, 123–127. <https://doi.org/10.1038/nature13158>
- \*van de Pavert, S.A., Mebius, R.E., 2010. New insights into the development of lymphoid tissues. *Nat. Rev. Immunol.* 10, 664–674. <https://doi.org/10.1038/nri2832>
- van de Pavert, S.A., Olivier, B.J., Goverse, G., Vondenhoff, M.F., Greuter, M., Beke, P., Kusser, K., Höpken, U.E., Lipp, M., Niederreither, K., Blomhoff, R., Sitnik, K., Agace, W.W., Randall, T.D., de Jonge, W.J., Mebius, R.E., 2009. CXCL13 is essential for lymph node initiation and is induced by retinoic acid and neuronal stimulation. *Nat. Immunol.* 10, 1193–1199. <https://doi.org/10.1038/ni.1789>
- Villanova, F., Flutter, B., Tosi, I., Grysb, K., Sreeneebus, H., Perera, G.K., Chapman, A., Smith, C.H., Meglio, P.D., Nestle, F.O., 2014. Characterization of Innate Lymphoid Cells in Human Skin and Blood Demonstrates Increase of NKp44+ ILC3 in Psoriasis. *J. Invest. Dermatol.* 134, 984–991. <https://doi.org/10.1038/jid.2013.477>
- Vivier, E., Artis, D., Colonna, M., Diefenbach, A., Santo, J.P.D., Eberl, G., Koyasu, S., Locksley, R.M., McKenzie, A.N.J., Mebius, R.E., Powrie, F., Spits, H., 2018. Innate Lymphoid Cells: 10 Years On. *Cell* 174, 1054–1066. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.07.017>

- von Moltke, J., Ji, M., Liang, H.-E., Locksley, R.M., 2016. Tuft-cell-derived IL-25 regulates an intestinal ILC2–epithelial response circuit. *Nature* 529, 221–225. <https://doi.org/10.1038/nature16161>
- Walker, A.W., Sanderson, J.D., Churcher, C., Parkes, G.C., Hudspith, B.N., Rayment, N., Brostoff, J., Parkhill, J., Dougan, G., Petrovska, L., 2011. High-throughput clone library analysis of the mucosa-associated microbiota reveals dysbiosis and differences between inflamed and non-inflamed regions of the intestine in inflammatory bowel disease. *BMC Microbiol.* 11, 7. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-7>
- Wang, S., Xia, P., Chen, Y., Qu, Y., Xiong, Z., Ye, B., Du, Y., Tian, Y., Yin, Z., Xu, Z., Fan, Z., 2017. Regulatory Innate Lymphoid Cells Control Innate Intestinal Inflammation. *Cell* 171, 201-216.e18. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.07.027>
- Wang, Y., Mumm, J.B., Herbst, R., Kolbeck, R., Wang, Yue, 2017. IL-22 Increases Permeability of Intestinal Epithelial Tight Junctions by Enhancing Claudin-2 Expression. *J. Immunol.* 199, 3316–3325. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1700152>
- Weizman, O.-E., Song, E., Adams, N.M., Hildreth, A.D., Riggan, L., Krishna, C., Aguilar, O.A., Leslie, C.S., Carlyle, J.R., Sun, J.C., O’Sullivan, T.E., 2019. Mouse cytomegalovirus-experienced ILC1s acquire a memory response dependent on the viral glycoprotein m12. *Nat. Immunol.* 20, 1004–1011. <https://doi.org/10.1038/s41590-019-0430-1>
- Xiang, Q., Wu, X., Pan, Y., Wang, L., Cui, C., Guo, Y., Zhu, L., Peng, J., Wei, H., 2020. Early-Life Intervention Using Fecal Microbiota Combined with Probiotics Promotes Gut Microbiota Maturation, Regulates Immune System Development, and Alleviates Weaning Stress in Piglets. *Int. J. Mol. Sci.* 21. <https://doi.org/10.3390/ijms21020503>
- Yamano, T., Dobeš, J., Vobořil, M., Steinert, M., Brabec, T., Ziętara, N., Dobešová, M., Ohnmacht, C., Laan, M., Peterson, P., Benes, V., Sedláček, R., Hanayama, R., Kolář, M., Klein, L., Filipp, D., 2019. Aire-expressing ILC3-like cells in the lymph node display potent APC features. *J. Exp. Med.* 216, 1027–1037. <https://doi.org/10.1084/jem.20181430>
- \*Yoshida, H., Naito, A., Inoue, J.-I., Satoh, M., Santee-Cooper, S.M., Ware, C.F., Togawa, A., Nishikawa, S., Nishikawa, S.-I., 2002. Different Cytokines Induce Surface Lymphotoxin- $\alpha\beta$  on IL-7 Receptor- $\alpha$  Cells that Differentially Engender Lymph Nodes and Peyer’s Patches. *Immunity* 17, 823–833. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(02\)00479-X](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(02)00479-X)
- ZHANG, X., FISHER, R., HOU, W., SHIELDS, D., EPPERLY, M.W., WANG, H., WEI, L., LEIBOWITZ, B.J., YU, J., ALEXANDER, L.M., PIJKEREN, J.-P.V., WATKINS, S., WIPF, P., GREENBERGER, J.S., 2020. Second-generation Probiotics Producing IL-22 Increase Survival of Mice After Total Body Irradiation. *In Vivo* 34, 39–50. <https://doi.org/10.21873/invivo.11743>
- Zhou, L., Chu, C., Teng, F., Bessman, N.J., Goc, J., Santosa, E.K., Putzel, G.G., Kabata, H., Kelsen, J.R., Baldassano, R.N., Shah, M.A., Sockolow, R.E., Vivier, E., Eberl, G., Smith, K.A., Sonnenberg, G.F., 2019. Innate lymphoid cells support regulatory T cells in the intestine through interleukin-2. *Nature* 568, 405–409. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1082-x>
- \*Zook, E.C., Kee, B.L., 2016. Development of innate lymphoid cells. *Nat. Immunol.* 17, 775–782. <https://doi.org/10.1038/ni.3481>