

Marta Cyman, Anna Kotulak,
Tomasz Ślebioda, Zbigniew Kmieć
Katedra i Zakład Histologii, Gdański Uniwersytet
Medyczny w Gdańsku

Wrodzone i nabyte mechanizmy odporności komórkowej w patogenezie przewlekłych nieswoistych zapaleń jelit

Cell-mediated innate and adaptive immune mechanisms in the pathogenesis of inflammatory bowel disease

STRESZCZENIE

Przewlekłe nieswoiste zapalenia jelit (PNZJ; IBD) stanowią grupę autoimmunologicznych schorzeń obejmujących dwie główne jednostki kliniczne: chorobę Leśniowskiego-Crohna (CD) i wrzodziejące zapalenie jelita grubego (UC). Etiologia tych chorób nie została jeszcze w pełni wyjaśniona, jednak wydaje się, że główną przyczyną jest nadmierna aktywacja układu odpornościowego skierowana przeciwko antygenom naturalnej flory bakteryjnej jelit u osób predysponowanych genetycznie. Procesy immunologiczne leżące u podstaw patomechanizmów PNZJ obejmują interakcje pomiędzy komórkami zarówno odpowiedzi wrodzonej, jak i nabytej. W ostatnich latach do klasycznych elementów układu immunologicznego, takich jak limfocyty T i B, komórki dendrytyczne i makrofagi, dołączyły tak zwane wrodzone komórki limfoidalne (ILC) oraz nowe podklasy limfocytów pomocniczych (Th) oraz regulatorowych (Treg). Niniejsza praca stanowi przegląd najistotniejszych elementów komórkowych wrodzonych i nabytych mechanizmów układu odpornościowego zaangażowanych w rozwój PNZJ. Wspomniane również zostały najważniejsze interakcje pomiędzy komórkami obu układów, ze szczególnym uwzględnieniem roli interleukin IL-22, IL-23 i IL-17 w etiologii PNZJ. Opisane patomechanizmy PNZJ mogą przyczynić się do odkrycia nowych możliwości leczenia tej grupy chorób.

Forum Medycyny Rodzinnej 2016, tom 10, nr 3, 238–247

Słowa kluczowe: przewlekłe nieswoiste zapalenia jelit, komórki dendrytyczne, makrofagi, limfocyty T, wrodzone komórki limfoidalne

Adres do korespondencji:

Prof. dr hab. n. med. Zbigniew Kmieć
Katedra i Zakład Histologii, Gdański Uniwersytet
Medyczny w Gdańsku
ul. Dębinki 1, 80–211 Gdańsk
Tel.: 58 349 14 37; faks: 58 349 14 19

ABSTRACT

Inflammatory bowel disease (IBD) is a group of chronic autoimmune conditions that include Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC). The exact aetiology of IBD has not been fully elucidated yet, although it appears that the main pathogenic factor is abnormal response of the immune system against host microflora in genetically susceptible patients. Immunological processes underlying development of IBD include interactions between the cells of both innate and adaptive immune response. Novel advances in immunology demonstrate the role of imbalance between proinflammatory and regulatory mechanisms in the chronic inflammatory conditions. Recently described innate lymphoid cells and new subclasses of T helper cell (Th) and regulatory T cells (Treg) have joined the classical components of the immune system such as T cells, B cells, dendritic cells and macrophages. This review provides an overview of the most important cellular components of the innate and the adaptive immune response involved in the pathogenesis of IBD. It also presents the role of interactions between cells of both systems, highlighting the role of IL-22, IL-23 and IL-17, in the development and progression of IBD. Described dependencies may contribute to the discovery of new treatment for this group of diseases.

Forum Medycyny Rodzinnej 2016, vol 10, no 3, 238–247

Key words: inflammatory bowel disease, dendritic cells, macrophages, T lymphocytes, innate lymphoid cells

WSTĘP

Przewlekłe nieswoiste zapalenia jelit (PNZJ; IBD, *inflammatory bowel disease*) to grupa autoimmunologicznych schorzeń, do których zalicza się chorobę Leśniowskiego-Crohna (CD, *Crohn's disease*) i wrzodziejące zapalenie jelita grubego (UC, *ulcerative colitis*). Oba schorzenia charakteryzują cykliczne nawroty i remisje objawów klinicznych. W przypadku CD proces zapalny dotyczy może każdego odcinka przewodu pokarmowego, jednak najczęściej zajmuje kątnicę i jelito kręte. Wrzodziejące zapalenie jelita grubego definiuje się jako rozlany nieswoisty proces zapalny błony śluzowej odbytnicy lub okrężnicy, prowadzący do powstania owrzodzeń u części pacjentów. Najczęstsze objawy PNZJ to bóle brzucha, zmęczenie, biegunki, utrata wagi, gorączka, a w ciężkich przypadkach krwawienia [1]. Jak dotąd nie zidentyfikowano pojedynczej przyczyny wyzwalającej PNZJ. Przypuszcza się jednak, że znaczącą rolę w patogenezie tych chorób odgrywiają interakcje pomiędzy

czynnikami genetycznymi i środowiskowymi, takimi jak zaburzenia w składzie bakteryjnej flory jelitowej, palenie tytoniu, dieta, współistniejące choroby autoimmunologiczne, które prowadzą do przedłużającej się reakcji zapalnej w obrębie błony śluzowej przewodu pokarmowego [2]. Prawdopodobnie najważniejszą rolę w rozwoju PNZJ odgrywiają zaburzenia regulacji układu immunologicznego, szczególnie odpowiedzi komórkowej, skierowanej przeciwko nieznanym jeszcze składnikom naturalnej flory jelitowej u osób predysponowanych genetycznie [3]. Reaktywność układu immunologicznego człowieka zależy od współdziałania dwóch głównych elementów: odpowiedzi nieswoistej (wrodzonej) oraz odpowiedzi swoistej (nabytej). W przypadku odpowiedzi wrodzonej, patogeny rozpoznawane są w sposób niespecyficzny, w oparciu o wykrywanie powszechnie występujących tak zwanych wzorców molekularnych na powierzchni lub wewnątrz komórek, na przykład lipopolisacharydu (LPS) w przypadku

bakterii Gram-ujemnych. Do elementów komórkowych odpowiedzi nieswoistej należą aktywność fagocytarna makrofagów i granulocytów obojętnochłonnych, cytotoksyczna aktywność komórek NK (naturalni zabójcy; NKC, *natural killer cells*) oraz wydzielanie sekretoryjnej immunoglobuliny A (sIgA) i peptydów przeciwdrobnoustrojowych, w tym defensyn i lizozymu przez komórki nabłonków błon śluzowych. Istotną rolę pełnią również mechanizmy niekomórkowe, na które składa się nieprzepuszczalność nabłonka jelitowego, dzięki obecności obwódek zamykających pomiędzy enterocytami, a także obecność warstwy śluzu na powierzchni nabłonka przewodu pokarmowego. Mechanizm nabytej odporności zakłada precyzyjne rozpoznawanie specyficznych antygenów przez receptory limfocytów T lub limfocytów B. W warunkach fizjologicznych w błonie śluzowej jelit utrzymywany jest stan tak zwanego zapalenia o niskim nasileniu, polegający na utrzymywaniu homeostazy pomiędzy naturalną florą jelitową a odpowiedzią jelitowego układu immunologicznego (GALT, *gut-associated lymphoid tissue*). U podłoża PNZJ leży zachwianie tej równowagi i w konsekwencji występowanie nadmiernie nasilonej odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciwko własnej mikroflorze bakteryjnej lub nieznanym jeszcze antygenom pokarmowym. Odpowiedzi swoista i nieswoista są ze sobą ściśle powiązane, elementem łączącym te dwa mechanizmy są komórki dendrytyczne i makrofagi, które pełnią funkcje komórek prezentujących antygeny limfocytom T, ale także wydzielają cytokiny aktywujące komórki odpowiedzi wrodzonej. Do nadmiernego pobudzenia odpowiedzi immunologicznej w PNZJ dochodzi na skutek prezentacji antygenów bakteryjnych lub pokarmowych wnikających przez uszkodzony nabłonek jelitowy, lub szerzej, wskutek zaburzenia bariery jelitowej. W procesy immunologiczne, na których podłożu dochodzi do rozwoju PNZJ, zaangażowane są zarówno mechanizmy odpowiedzi komórkowej, jak

i humoralnej. Istotną rolę w patogenezie PNZJ odgrywa zaburzenie równowagi pomiędzy swoistą odpowiedzią komórkową indukowaną przez limfocyty pomocnicze CD4⁺ a aktywnością supresorową limfocytów T regulatorowych FoxP3⁺CD4⁺CD25⁺, które zmniejszają nasilenie odpowiedzi immunologicznej. Proces rozpoznania antygeny, który przeniknął przez barierę nabłonka jelit do błony śluzowej, zapoczątkowuje jego prezentacja na powierzchni komórek dendrytycznych lub makrofagów, te z kolei migrują do krezkowych węzłów chłonnych, gdzie zainicjowana zostaje swoista odpowiedź poprzez aktywację tak zwanych limfocytów T naiwnych. Komórki te, po kontakcie z antygenem, różnicują się w komórki pamięci immunologicznej oraz limfocyty T efektorowe, zdolne do uruchomienia mechanizmów zmierzających do neutralizacji patogenów. Komórki efektorowe uwalniane są z węzłów chłonnych do limfy, skąd przechodzą do krwi i docierają z nią do ściany jelita. Przechodzenie limfocytów T efektorowych ze światła naczyń włosowatych i żyłek zawłościnkowych do blaszki właściwej błony śluzowej jelita jest możliwe dzięki interakcji pomiędzy białkami adhezyjnymi limfocytów (integriny oraz selektyny) oraz odpowiadającym im cząsteczkom na powierzchni komórek śródbłonka naczyń krwionośnych i limfatycznych. Procesy immunologiczne leżące u podstaw patomechanizmów PNZJ obejmują interakcje pomiędzy komórkami zarówno odpowiedzi swoistej, jak i nieswoistej, które współdziałają ze sobą poprzez wydzielanie cytokin, czyli peptydów i białek o bardzo zróżnicowanych aktywnościach biologicznych, występujących zarówno w błonie śluzowej jelit, jak i poza nią [4]. Najważniejsze rodzaje komórek odpowiedzialnych za rozwój odpowiedzi zapalnej w PNZJ oraz wydzielane przez nie cytokiny zostały przedstawione na rycinie 1.

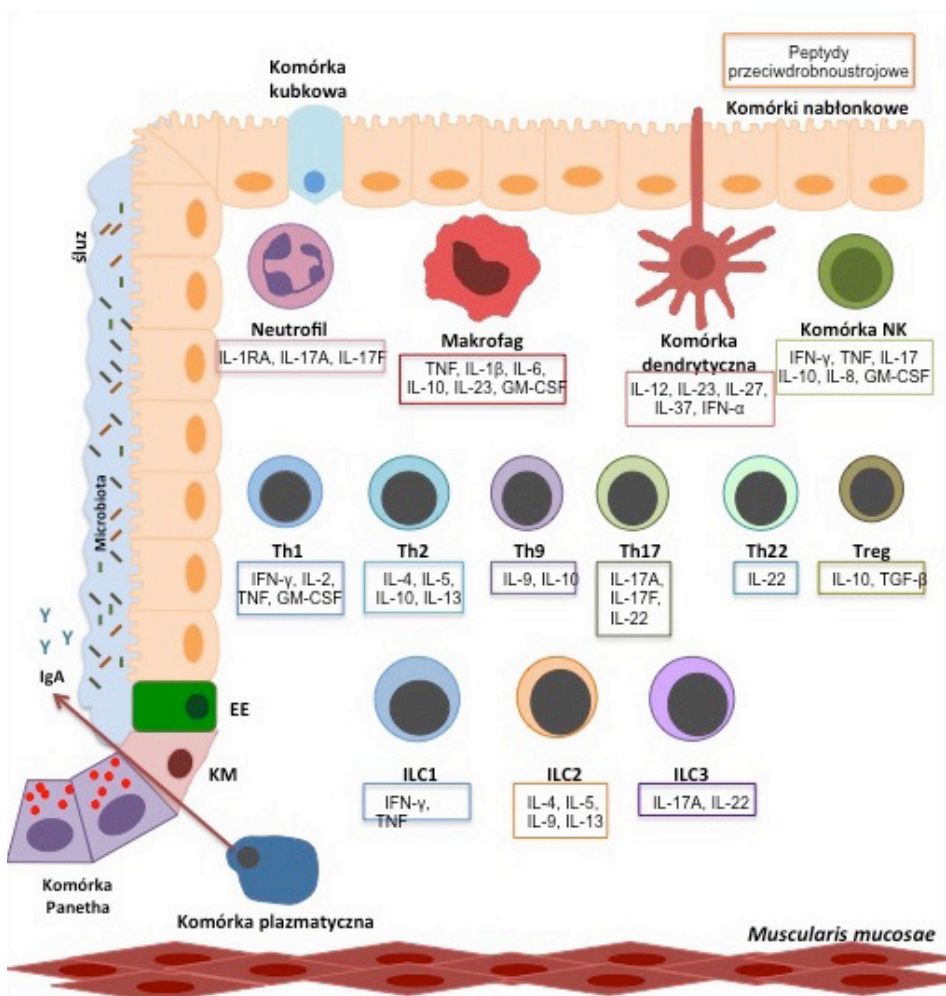
Mechanizmy fazy efektorowej zapalenia w obrębie ściany jelita, takie jak zjawisko diapedezy (przenikania) leukocytów przez

ścianę naczyń błony śluzowej, aktywność limfocytów B i T oraz wielu cytokin prozapalnych stanowią ugruntowaną część wiedzy o mechanizmach rozwoju PNZJ. W ostatnich latach do tych klasycznych elementów dołączyły informacje o nowo odkrytych tak zwanych wrodzonych komórkach limfoidalnych (ILC, *innate lymphoid cells*) oraz o podklaszach limfocytów Th, które zmieniły dotychczasowe poglądy o patomechanizmach rozwoju PNZJ.

KOMÓRKI NIESWOISTEJ ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ W PATOGENIE PNZJ

■ Komórki dendrytyczne

Główną funkcją komórek dendrytycznych (DC, *dendritic cells*) jest prezentacja antygenów limfocytom. Biorą także udział w procesie dojrzewania limfocytów T w grasicy oraz indukcji swoistej odpowiedzi immunologicznej poprzez limfocyty T i B. Komórki dendrytyczne charakteryzują się obecnością



Rycina 1. Rodzaje komórek wrodzonej i nabytej odporności komórkowej zaangażowanych w rozwój odpowiedzi zapalnej w PNZJ oraz wydzielane przez nie cytokiny. Objasnienia skrótów: EE — komórka enteroendokryna, GM-CSF (*granulocyte and macrophage colony stimulating factor*) — czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów, IFN — interferon, IgA — immunoglobulina A, IL — interleukina, ILC (*innate lymphoid cells*) — wrodzone komórki limfoidalne, komórka NK (*natural killer cell*) — komórka naturalny zabójca, KM — komórka macierzysta, TGF (*transforming growth factor*) — transformujący czynnik wzrostu, TNF (*tumor-necrosis factor*) — czynnik martwicy nowotworów, Th — limfocyty pomocnicze, Treg — limfocyty regulatorowe

cząsteczek MHC (*major histocompatibility complex*) klasy II oraz markerów powierzchniowych CD11b, CD11c i CD103 [5]. Przed zaprezentowaniem antygenów przez DC musi jednak dojść do ich aktywacji dzięki obecności receptorów rozpoznających wzorce molekularne charakterystyczne między innymi dla mikroorganizmów, takich jak powierzchniowe receptory TLR (*Toll-like receptors*) lub wewnątrzkomórkowe receptory NOD (*nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein*), które po związaniu odpowiedniego liganda (na przykład bakteryjnych niemetylowanych sekwencji CpG w przypadku receptora TLR9 lub LPS w przypadku receptora TLR4) indukują ekspresję cytokin prozapalnych, cząsteczek MHC klasy II oraz cząsteczek stymulujących aktywację limfocytów T. Aktywowane DC oprócz indukcji rozwoju limfocytów T pomocniczych, T regulatorowych oraz T cytotoksycznych (oznaczanych odpowiednio jako komórki Th, Treg i Tc), wspomagają również produkcję sekrecyjnej IgA oraz pośrednio indukują ekspresję receptorów chemotaktycznych na limfocytach T, które umożliwiają ich powrót do ściany jelita w wyniku diapedezy [6]. Komórki dendrytyczne można podzielić na cztery podtypy: konwencjonalne (cDC), plazmocytoidalne (pDC), mieloidalne (mDC) oraz komórki Langerhansa zasiedlające skórę. Komórki dendrytyczne zasiedlające jelita biorą udział w zachowaniu tolerancji immunologicznej w przewodzie pokarmowym, głównie dzięki wydzielaniu przeciwzapalnej interleukiny 10 (IL-10) [7]. Zauważono, że u pacjentów z PNZJ wzrasta miano komórek dendrytycznych o fenotypie prozapalnym, co prowadzi do nadwrażliwości i zachwiania homeostazy immunologicznej w ścianie jelit [8].

■ Makrofagi

Makrofagi wraz z komórkami dendrytycznymi, jako komórki prezentujące antygeny (APC, *antigen-presenting cells*), są elementem łączącym swoistą i nieswoistą odpowiedź im-

munologiczną. Stanowią one silnie zróżnicowaną grupę komórek wywodzących się z linii monocytarnej szpiku kostnego, które można podzielić na dwie duże podgrupy: komórki M1 oraz M2. Makrofagi M1 to „klasyczne” komórki fagocytyczne, które w wyniku stymulacji przez interferon gamma (IFN- γ) lub LPS wydzielają cytokiny prozapalne, między innymi czynnik martwicy nowotworu (TNF, *tumor-necrosis factor*), IL-1 β , IL-23, chemokiny oraz reaktywne formy tlenu. Komórki M1 zaangażowane są również w odpowiedź immunologiczną typu Th1 i Th17. Komórki M2 wykazują działanie przeciwzapalne, wydzielają IL-10 oraz chemokiny w odpowiedzi na IL-4, IL-13 oraz TGF- β (transformujący czynnik wzrostu beta; *transforming growth factor* β), a także biorą udział w odpowiedzi immunologicznej typu Th2 [9]. Makrofagi można również podzielić na makrofagi krążące oraz osiadłe w tkankach. Największą populację makrofagów osiadłych stanowią komórki rezydujące w błonie śluzowej jelit [10]. Makrofagi obecne w ścianie jelit wymykają się z klasycznego podziału na komórki M1 i M2, wykazując zarówno cechy pierwszych (wysoka ekspresja MHC klasy II, wydzielanie TNF), jak i drugich (sekrecja cytokiny przeciwzapalnej IL-10) [11]. Pełnią one ważną rolę zarówno w utrzymaniu homeostazy tkanek, jak i w obronie przeciw drobnoustrojom [9]. U pacjentów z PNZJ wykazano, że makrofagi błony śluzowej jelit pod wpływem TGF- β i IL-8 transformują w typowe, prozapalne makrofagi M1, wydzielające duże ilości IL-6, IL-23 oraz TNF. Kamada i wsp. zauważyli, że przekształcone makrofagi tkankowe wykazują zwiększoną cytotoksyczność wobec naturalnej flory jelitowej u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna [12]. Ostatnie badania wskazują, że w przypadku PNZJ dochodzi do zachwiania równowagi pomiędzy makrofagami o charakterze pro- i przeciwzapalnym oraz do gromadzenia się cytotoksycznych komórek M1 we wszystkich warstwach ściany jelit [13].

■ Wrodzone komórki limfoidalne

Wrodzone komórki limfoidalne (ILC) zidentyfikowano jako niecytotoksyczne komórki, które przypominają morfologicznie limfocyty, lecz nie mają receptorów TCR lub BCR, typowych dla limfocytów T lub B [14]. Wrodzone komórki limfoidalne (ILC) pełnią ważną rolę w nieswoistej odpowiedzi immunologicznej organizmu skierowanej przeciwko zakażeniom bakteryjnym, wirusowym, grzybiczym oraz pasożytniczym, współtworząc tkankę limfoidalną. Ponadto, ILC biorą udział w remodelowaniu uszkodzonych tkanek oraz utrzymywaniu homeostazy macierzy pozakomórkowej [15]. W 2013 roku Spits i wsp. [16] zaproponowali uniwersalną klasyfikację ILC opartą o różnice w produkcji czynników efektorowych, markerów powierzchniowych oraz czynników transkrypcyjnych kontrolujących różnicowanie tych komórek. Wszystkie znane komórki o fenotypie i funkcji ILC, w tym klasyczne komórki NK, zostały zakwalifikowane do trzech głównych grup: ILC1, ILC2 oraz ILC3 [16].

■ Grupa pierwsza ILC

Najlepiej poznaną grupą komórek należących do wrodzonych komórek limfoidalnych jest grupa pierwsza (ILC1), do której zaliczane są przynajmniej trzy rodzaje komórek wydzielających IFN- γ [16]. Do ILC1 należą komórki NK, wykazujące typowe dla tych komórek markery powierzchniowe: CD16, CD56 oraz CD94 [17, 18]. Oprócz IFN- γ , komórki NK wydzielają TNF, czynniki wzrostu GM-CSF i G-CSF, chemokiny, a także interleukiny IL-10 oraz IL-8 [19]. Do grupy pierwszej ILC należą również dwie inne populacje komórkowe o fenotypie Nkp44⁺CD103⁺CD127⁻ oraz Nkp44⁻CD103⁻CD127⁺ charakteryzujące się zdolnością do produkcji IFN- γ , oraz — w przeciwieństwie do komórek NK — brakiem zdolności do produkcji cytokin IL-10 oraz IL-17 [20]. ILC1s różnią się również pod względem lokalizacji: komórki Nkp44⁺CD103⁺CD127⁻ zasiedlają głównie

nabłonek jelitowy oraz migdałki, natomiast komórki Nkp44⁻CD103⁻CD127⁺ kumulują się w błonie śluzowej jelita cienkiego i grubego [20, 21].

■ Grupa druga ILC

Do grupy drugiej ILC2 zaliczane są komórki, które w odpowiedzi na stymulację cytokinami IL-25 oraz IL-33 produkują cytokiny charakterystyczne dla komórek Th2, to jest IL-4, IL-5, IL-9, IL-13. Ponadto, ILC2 mają zdolność wydzielania amfireguliny — epidermalnego czynnika wzrostu dla fibroblastów zaangażowanego w odbudowę tkanek uszkodzonych w wyniku infekcji wirusowych [22, 23].

■ Grupa trzecia ILC

Komórki należące do grupy trzeciej ILC (ILC3) definiowane są przez zdolność do produkcji IL-17A i/lub IL-22. ILC3 stanowią najbardziej zróżnicowaną grupę ILC, zaliczane do niej są komórki LTi (komórki T indukujące tkankę limfoidalną) oraz dwie podgrupy komórek ROR γ t-zależnych różniące się obecnością receptora naturalnej cytotoxyczności (NCR, *natural cytotoxicity receptor*). ILC3s NCR⁺ występują w przewodzie pokarmowym, skórze, migdałkach oraz krezkowych węzłach chłonnych [18] i wydzielają duże ilości IL-22, natomiast niewielkie ilości IL-17. Komórki NCR⁺IL-22⁺ biorą udział w ochronie komórek nabłonka jelitowego przeciwko infekcjom bakteryjnym. Izolowane z ludzkich migdałków komórki ILC3 NCR⁺ cechowało wydzielanie cytokin IL-2, IL-5, IL-8, TNF oraz IL-13, co może wskazywać na ich potencjalną rolę w rozwoju efektorowych lub regulatorowych limfocytów T w błonach śluzowych [15]. ILC3 NCR⁻ zasiedlające głównie dolny odcinek przewodu pokarmowego wydzielają prozapalne cytokiny IL-17 oraz IFN- γ w odpowiedzi na stymulację IL-23 [24]. Wykazano, że ILC3 NCR⁻ występują szczególnie obficie w błonie śluzowej chorych na PNZJ, a interakcja pomiędzy tymi komórkami

a IL-23 może stanowić istotny czynnik w patogenezie tych chorób [25].

ELEMENTY SWOISTEJ ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ W PATOGENEZIE PNZJ

■ Limfocyty T pomocnicze

Limfocyty T CD4⁺ to małe, jądrzaste krwinki białe, wśród których wyróżnia się trzy główne subklasy: limfocyty T pomocnicze (Th, *Thelper cells*), limfocyty T regulatorowe (Treg, *regulatory T cells*) oraz limfocyty T pomocnicze folikularne (Tfh, *follicular helper T cells*). Ponadto limfocyty Th można podzielić na pięć podtypów (Th1, Th2, Th9, Th17 i Th22), które różnią się profilem wydzielanych cytokin.

■ Limfocyty Th1

Limfocyty Th1 to komórki odpowiedzialne za pośredniczenie w komórkowej odpowiedzi immunologicznej oraz reakcji nadwrażliwości typu IV. Główne cytokiny wydzielane przez komórki Th1 to IL-2 oraz IFN- γ , ponadto dowiedziono, że syntetyzują również TNF, limfotoksynę oraz GM-CSF. Limfocyty Th1 uważane są za jeden z czynników biorących udział w rozwoju chorób autoimmunologicznych. Ma to związek z wydzielaniem prozapalnego IFN- γ , odgrywającego istotną rolę w patogenezie takich chorób o podłożu autoimmunologicznym, jak reumatoidalne zapalenie stawów (RZS), stwardnienie rozsiane, choroba Leśniowskiego-Crohna i cukrzyca typu 1 [26].

■ Limfocyty Th2

Limfocyty Th2 wykazują cechy antagonistyczne w stosunku do komórek Th1. Głównie pośredniczą w odpowiedzi typu humoralnego, aktywując limfocyty B poprzez sekrecję IL-4 i IL-10. Ponadto uważa się, że biorą one udział w obronie przed zakażeniami pasożytniczymi oraz w reakcjach alergicznych. Oprócz wspomnianych cytokin, Th2 produkują IL-5, IL-13, IL-21 oraz IL-25, które hamują rozwój limfocytów Th1, a tym samym od-

powieź komórkową, aktywując jednocześnie makrofagi typu M2 [26].

■ Limfocyty Th9

Stosunkowo niedawno wyodrębniono wśród komórek pomocniczych limfocyty Th9, którym przypisuje się rolę w obronie przed zakażeniami wywołanymi przez pasożyty jelitowe oraz udział w rozwoju astmy. Ostatnie doniesienia sugerują, że Th9 mogą również brać udział w mechanizmach przeciwnowotworowych [27]. Cytokinami wydzielanymi przez komórki Th9 są IL-9 i IL-10. Rola tych komórek nie została jeszcze w pełni opisana, jednak istnieją doniesienia o zwiększonej liczbie limfocytów Th9 u pacjentów z alergią oraz o prawdopodobnym prozapalnym charakterze IL-9 [27].

■ Limfocyty Th17

Limfocyty Th17 wydzielają cytokiny o charakterze prozapalnym należące do rodziny IL-17 (między innymi IL-17A, IL-17F), a także IL-22. Komórki Th17 pełnią ważną rolę w obronie błony śluzowej jelit przeciwko zakażeniom bakteryjnym i grzybiczym. Ponadto, ze względu na wydzielanie wielu chemokin, Th17 biorą także udział w aktywacji neutrofilów i limfocytów T regulatorowych [26].

■ Limfocyty Th22

Komórki Th22 wykazują pewne podobieństwo w fenotypie i pełnionych funkcjach do limfocytów Th17, jednak Th22 wykazują znacznie niższy poziom ekspresji ROR γ t, czynnika transkrypcyjnego niezbędnego do prawidłowego dojrzewania Th17. W odróżnieniu od innych cytokin, interleukina 22, główny produkt limfocytów Th22, oddziałuje głównie na komórki śródbłonna oraz fibroblasty. Komórki Th22 to nie jedyne limfocyty Th zdolne do wydzielania IL-22, jednak w odróżnieniu od Th1 i Th2 syntetyzują ją niezależnie od obecności w otoczeniu IFN- γ i IL-17 [26, 28]. Komórki Th22 biorą udział w procesie gojenia się ran oraz wspomagają obronę błon śluzowych przeciwko zakaże-

niom bakteryjnym, wirusowym i grzybiczym. Zachwianie równowagi pomiędzy ochronnym działaniem IL-22 a cytokinami prozapalnymi może stanowić jedną z przyczyn rozwoju PNZJ.

■ **Limfocyty T regulatorowe**

Limfocyty T regulatorowe wyciszają nadmierną odpowiedź immunologiczną, utrzymują tolerancję wobec własnej mikroflory bakteryjnej oraz zapobiegają rozwojowi chorób autoimmunologicznych. Treg pełnią swoje funkcje dzięki produkcji cytokin o charakterze przeciwapalnym: IL-10, IL-35 i TGF- β . Limfocyty Treg są jednym z głównych elementów tkanki limfoidalnej w błonie śluzowej jelit. Wykazano, że mutacje w genie IL-10, głównej cytokiny wydzielanej przez Treg, prowadzą u ludzi do klinicznej manifestacji choroby Leśniowskiego-Crohna, jednak dokładna rola IL-10 w rozwoju PNZJ nie została dotąd wyjaśniona [29]. Liczba komórek Treg była większa w tkance objętej zapaleniem i niezapalnej u pacjentów z PNZJ w porównaniu do błony śluzowej osób zdrowych, jednak ich zdolność do hamowania proliferacji limfocytów *in vitro* była znacznie obniżona [30]. Ponadto limfocyty Treg uzyskane z błony śluzowej chorych na PNZJ szybciej ulegają apoptozie w porównaniu do zdrowej tkanki jelita [31]. Powyższe doniesienia wskazują, że zaburzenia w obrębie limfocytów T regulatorowych potencjalnie mają znaczenie w rozwoju chorób z grupy PNZJ.

INTERAKCJE WRODZONYCH KOMÓREK LIMFOIDALNYCH I LIMFOCYTÓW W PATOGENEZIE PNZJ

Wykazano, że ILC1 gromadzą się w błonach śluzowych pacjentów z przewlekłymi stanami zapalnymi, takimi jak PNZJ, co może wskazywać na ich potencjalną rolę w patomechanizmie chorób o podłożu autoimmunologicznym [20]. Ostatnie doniesienia wskazują, że w utrzymywaniu równowagi immunologicznej w zdrowej błonie śluzowej jelit oraz objętej procesem zapalnym, ważną rolę pełnią interakcje pomiędzy ILC, makrofagami tkankowymi

oraz komórkami dendrytycznymi. W przypadku choroby Leśniowskiego-Crohna, wykazano, że makrofagi, wydzielając cytokiny prozapalne (IL-23, IL-1 β , IL-6, TNF, TL1A), powodują aktywację prozapalnych wrodzonych komórek limfoidalnych ILC3. Obserwacje te potwierdzono w badaniach *in vitro*, w których udowodniono zależność stymulacji ILC3 od aktywności makrofagów [32]. Przyjmuje się, że w przypadku CD zapalenie generowane jest na podłożu odpowiedzi komórkowej typu Th1, co potwierdzają badania izolowanych z tkanki zapalnej limfocytów CD4+, charakteryzujących się produkcją dużych ilości cytokin IFN- γ , IL-12, TNF oraz IL17A. Natomiast we wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego dominuje głównie charakter humoralny odpowiedzi immunologicznej, na drodze niezależnej od limfocytów Th1 reakcji cytokinowej. Limfocyty CD4+ izolowane z błony śluzowej pacjentów z UC cechuje produkcja cytokin Th2-zależnych, to jest IL-4, IL-5, IL-13 oraz IL-17A. Jednak odkrycie ILC oraz częściowe poznanie złożonych interakcji pomiędzy komórkami swoistej i nieswoistej odpowiedzi immunologicznej, spowodowało odejście od klasycznej hipotezy zakładającej, że rozwój PNZJ zależy od zaburzeń równowagi pomiędzy odpowiedzią typu Th1 i Th2.

ODDZIAŁYWANIA INTERLEUKINY 17 ORAZ INTERLEUKINY 23 W PRAWIDŁOWEJ I ZAPALNIE ZMIENIONEJ BŁONIE ŚLIZOWEJ JELIT

Jednym z czynników biorących udział w patomechanizmach PNZJ są oddziaływania pomiędzy komórkami Th17 a IL-23. W przewodzie pokarmowym pacjentów z PNZJ zaobserwowano znaczny wzrost poziomu cytokin z rodziny IL-17, w szczególności IL-17A i IL-17F oraz aktywowanych limfocytów Th17. Jednocześnie stwierdzono podwyższone stężenie IL-23, cytokiny pobudzającej odpowiedź immunologiczną typu Th17 i Th1 [33]. W przypadku chorób autoimmunologicznych IL-17 wydzielana przez komórki Th17, poza aktywacją limfocytów B, neutrofilów i komó-

rek ILC3, powoduje wyrzut cytokin prozapalnych (TNF, IL-1 β) i innych mediatorów zapalenia oraz stymulowanie metaloproteinaz do trawienia tkanek [34]. Do aktywacji Th17 dochodzi po związaniu się IL-23 wydzielanej przez komórki dendrytyczne i makrofagi ze swoistym receptorem IL-23R. Rolę IL-23 w patomechanizmie PNZJ potwierdzono w badaniach *Genome-Wide Association Study* (GWAS), w których wykazano silną koreację między mutacjami w genie IL-23R a rozwojem PNZJ [35]. IL-23 może również oddziaływać na inne komórki efektorowe, takie jak limfocyty cytotoksyczne CD8⁺, limfocyty T $\gamma\delta$ oraz ILC. W badaniach GWAS wykazano, że zaburzenia w szlaku IL-23R pełnią istotną rolę nie tylko w rozwoju PNZJ, ale także innych chorób o podłożu autoimmunologicznym, takich jak łuszczyca, łuszczycowe zapalenie stawów oraz cukrzyca typu 1 [36, 37].

ROLA IL-22 W ODDZIAŁYWANIACH POMIĘDZY WRODZONYMI KOMÓRKAMI LIMFOIDALNYMI, MAKROFAGAMI A LIMFOCYTAMI T POMOCNICZYMI W PATOGENEZIE PNZJ

IL-22 należy do rodziny cytokin IL-10 i produkowana jest przez dojrzałe komórki Th1, Th17, limfocyty T $\gamma\delta$ oraz ILC. W odróżnieniu od innych cytokin, IL-22 oddziałuje głównie na komórki śródbłonna oraz fibroblasty poprzez swoisty heterodimeryczny receptor powierzchniowy IL-22R1. Związanie się IL-22 z receptorem powoduje aktywację szlaku STAT3 oraz MAPK i w konsekwencji indukuje wydzielanie peptydów przeciwdrobnoustrojowych, IL-10 oraz śluzu. IL-22 pośredniczy w procesie gojenia ran oraz wspomaga utrzymywanie bariery jelitowej poprzez nadekspresję białka klaudyny-2 [28]. Zachwianie równowagi pomiędzy ochronnym

działaniem IL-22 a cytokinami prozapalnymi może stanowić jeden z mechanizmów rozwoju PNZJ. W modelach eksperymentalnych UC potwierdzone zostały właściwości protekcyjne IL-22 wobec błony śluzowej jelit, związane z podwyższoną ekspresją reguliny Reg1 α [28]. Wielu badaczy zanotowało znacznie obniżony odsetek komórek Th22 u chorych na UC, co było prawdopodobnie spowodowane zwiększoną ekspresją TGF- β , działającego hamująco na limfocyty Th22 [38].

PODSUMOWANIE

W ciągu ostatnich lat wzbogacenie wiedzy na temat mechanizmów rozwoju PNZJ o oddziaływania pomiędzy odpowiedzią wrodzoną i nabytą oraz poznanie nowych elementów komórkowych, takich jak ILC, pozwoliło na zaproponowanie nowych celów terapii. Jednym z możliwych punktów uchwytu dla nowych leków jest blokowanie ekspresji czynnika transkrypcyjnego ROR γ t, który jest niezbędny do różnicowania się komórek Th17 i ILC3. Badania na komórkach izolowanych z błony śluzowej jelita dzieci chorych na CD wykazały, że podanie cząsteczki blokującej ROR γ t nie wpływa na liczbę komórek ILC3, produkcję IL-22 czy TNF, natomiast obniża liczbę prozapalnych komórek Th22 i Th17. Wykazano też, że związki anty-ROR γ t mogą selektywnie redukować liczbę komórek Th17 w błonie śluzowej jelit u chorych na PNZJ [39]. Hamowanie dojrzewania komórek odpornościowych jest obiecującą alternatywą w leczeniu PNZJ, jednak dopiero właściwie prowadzone badania kliniczne wykażą rzeczywistą efektywność terapeutyczną leków wpływających na szlaki molekularne istotne dla rozwoju swoistej i nieswoistej odpowiedzi immunologicznej.

PIŚMIENNICTWO

1. Corridoni D., Arseneau K.O., Cominelli F. Inflammatory bowel disease. *Immunol. Lett.* 2014; 161: 231–235.
2. Molodecky N.A., Kaplan G.G. Environmental risk factors for inflammatory bowel disease. *Gastroenterol. Hepatol.* 2010; 6: 339–346.
3. Strober W., Fuss I.J., Mosmann T.R. i wsp. Proinflammatory Cytokines in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology* 2011; 140: 1756–1767.
4. Geremia A., Biancheri P., Allan P., Corazza G.R., Di Sabatino A. Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease. *Autoimmun. Rev.* 2014; 13: 3–10.
5. Flannigan K.L., Geem D., Harusato A., Denning T.L. Intestinal Antigen-Presenting Cells: Key Regulators of Immune Homeostasis and Inflammation. *Am. J. Pathol.* 2015; 185: 1809–1819.
6. Ko H.-J., Chang S.-Y. Regulation of intestinal immune system by dendritic cells. *Immune. Netw.* 2015; 15: 1–8.
7. Bernardo D. Human intestinal dendritic cells as controllers of mucosal immunity. *Rev. Esp. Enferm. Dig.* 2016; 105: 279–290.
8. Magnusson M.K., Brynjólfsson S.F., Dige A. i wsp. Macrophage and dendritic cell subsets in IBD: ALDH+ cells are reduced in colon tissue of patients with ulcerative colitis regardless of inflammation. *Mucosal. Immunol.* 2016; 9: 171–182.
9. Davies L.C., Jenkins S.J., Allen J.E., Taylor P.R. Tissue-resident macrophages. *Nat. Immunol.* 2013; 14: 986–995.
10. Bain C.C., Mowat A.M. Macrophages in intestinal homeostasis and inflammation. *Immunol. Rev.* 2014; 260: 102–117.
11. Bain C.C., Scott C.L., Uronen-Hansson H. i wsp. Resident and pro-inflammatory macrophages in the colon represent alternative context-dependent fates of the same Ly6Chi monocyte precursors. *Mucosal. Immunol.* 2012; 6: 498–510.
12. Kamada N., Hisamatsu T., Okamoto S. i wsp. Unique CD14 intestinal macrophages contribute to the pathogenesis of Crohn disease via IL-23/IFN-gamma axis. *J. Clin. Invest.* 2008; 118: 2269–2280.
13. Lissner D., Schumann M., Batra A. i wsp. Monocyte and M1 Macrophage-induced Barrier Defect Contributes to Chronic Intestinal Inflammation in IBD. *Inflamm. Bowel Dis.* 2015; 21: 1297–1305.
14. Kumar V. Innate lymphoid cells: New paradigm in immunology of inflammation. *Immunol. Lett.* 2014; 157: 23–37.
15. Adamiak M., Tokarz-Deptuła B., Deptuła W. Charakterystyka naturalnych komórek limfoidalnych (ILC). *Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej* 2014; 68: 1464–1471.
16. Spits H., Artis D., Colonna M. i wsp. Innate lymphoid cells — a proposal for uniform nomenclature. *Nat. Rev. Immunol.* 2013; 13: 145–149.
17. Gordon S.M., Chaix J., Rupp L.J. i wsp. The transcription factors T-bet and Eomes control key checkpoints of natural killer cell maturation. *Immunity* 2012; 36: 55–67.
18. Salimi M., Ogg G. Innate lymphoid cells and the skin. *BMC Dermatol.* 2014; 14: 18.
19. Vivier E., Raulet D.H., Moretta A. i wsp. Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells. *Science* 2011; 331: 44–49.
20. Bernink J.H., Peters C.P., Munneke M. i wsp. Human type 1 innate lymphoid cells accumulate in inflamed mucosal tissues. *Nat. Immunol.* 2013; 14: 221–229.
21. Fuchs A., Vermi W., Lee J.S. i wsp. Intraepithelial type 1 innate lymphoid cells are a unique subset of IL-12- and IL-15-responsive IFN- γ -producing cells. *Immunity* 2013; 38: 769–781.
22. Eberl G., Colonna M., Di Santo J.P., McKenzie N.J. Innate lymphoid cells: A new paradigm in immunology. *Science* 2015; 348: aaa6566–aaa6566.
23. Artis D., Spits H. The biology of innate lymphoid cells. *Nature* 2015; 517: 293–301.
24. Hepworth M.R., Monticelli L.A., Fung T.C. i wsp. Innate lymphoid cells regulate CD4+ T cell responses to intestinal commensal bacteria. *Nature* 2013; 498: 113–117.
25. Buonocore S., Ahern P.P., Uhlig H.H. i wsp. Innate lymphoid cells drive interleukin-23-dependent innate intestinal pathology. *Nature* 2010; 464: 1371–1375.
26. Raphael I., Nalawade S., Eagar T.N., Forsthuber T.G. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases. *Cytokine* 2015; 74: 5–17.
27. Schmitt E., Klein M., Bopp T. i wsp. Th9 cells, new players in adaptive immunity. *Trends Immunol.* 2014; 35: 61–68.
28. Dudakov J.A., Hanash A.M., van den Brink M.R.M. Interleukin-22: immunobiology and pathology. *Annu. Rev. Immunol.* 2015; 33: 747–785.
29. Glocker E.O., Kotlarz D., Boztug K. i wsp. Inflammatory Bowel Disease and Mutations Affecting the Interleukin-10 Receptor. *N. Engl. J. Med.* 2009; 361: 2033–2045.
30. Saruta M., Yu Q.T., Fleshner P.R. i wsp. Characterization of FOXP3+ CD4+ regulatory T cells in Crohn's disease. *Clin. Immunol.* 2007; 125: 281–290.
31. Veltkamp C., Anstaett M., Wahl K. i wsp. Apoptosis of regulatory T lymphocytes is increased in chronic inflammatory bowel disease and reversed by anti-TNF treatment. *Gut* 2011; 60: 1345–1353.
32. Longman R.S., Diehl G.E., Victorio D.A. i wsp. CX CR1+ mononuclear phagocytes support colitis-associated innate lymphoid cell production of IL-22. *J. Exp. Med.* 2014; 211: 1571–1583.
33. Gálvez J. Role of Th17 Cells in the Pathogenesis of Human IBD. *ISRN Inflamm.* 2014; 2014: 928461.
34. Singh R.P., Hasan S., Sharma S. i wsp. Th17 cells in inflammation and autoimmunity. *Autoimmun. Rev.* 2014; 13: 1174–1181.
35. Amre D.K., Mack D., Israel D. i wsp. Association between genetic variants in the IL-23R gene and early-onset Crohn's disease: results from a case-control and family-based study among Canadian children. *Am. J. Gastroenterol.* 2008; 103: 615–620.
36. Bowes J., Budu-Aggrey A., Huffmeier U. i wsp. Dense genotyping of immune-related susceptibility loci reveals new insights into the genetics of psoriatic arthritis. *Nat. Commun.* 2015; 6: 6046.
37. Costa V.S., Santos A.S., Fukui R.T. i wsp. Protective effect of interleukin-23A (IL23A) haplotype variants on type 1A diabetes mellitus in a Brazilian population. *Cytokine* 2013; 62: 327–333.
38. Leung J.M., Davenport M., Wolff M.J. i wsp. IL-22-producing CD4+ cells are depleted in actively inflamed colitis tissue. *Mucosal. Immunol.* 2014; 7: 124–133.
39. Withers D.R., Hepworth M.R., Wang X. i wsp. Transient inhibition of ROR- γ t therapeutically limits intestinal inflammation by reducing TH17 cells and preserving group 3 innate lymphoid cells. *Nat. Med.* 2016; 22: 319–323.