



Przemysław Jacek Kotyla¹, Olga Gumkowska-Sroka²

¹Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Reumatologii i Immunologii Klinicznej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

²Oddział Reumatologii Szpital Wojewódzki nr 5 w Sosnowcu

Rola odporności wrodzonej w twardzinie układowej

The role of innate immune response in the pathogenesis of systemic sclerosis

STRESZCZENIE

W pracy przedstawiono najnowsze poglądy dotyczące udziału układu odporności wrodzonej w patogenezie twardziny układowej. Szczególną uwagę poświęcono roli receptorów rozpoznających wzorce oraz znaczeniu zjawiska sygnatury interferonu. Wyniki najnowszych

badań wskazują także na rosnące znaczenie niektórych populacji komórek odporności wrodzonej jak mastocyty, miofibroblasty oraz komórki NK.

Forum Reumatol. 2020, tom 6, nr 2: 70–79

Słowa kluczowe: twardzina układowa; odporność wrodzona; sygnatura interferonu; limfocyty odpowiedzi nieswoistej

WSTĘP

Odporność wrodzona stanowi pierwszą linię obrony przeciw patogenom i czynnikom zagrożenia. Mechanizmy odpowiedzi nieswoistej rozwijają się niemal natychmiast po kontakcie z antygenem. Reakcje te są zaprogramowane, stereotypowe, nie podlegają modyfikacjom i mają ograniczoną swoistość. Układ odporności wrodzonej wykorzystuje dwie strategie rozpoznania, polegające przede wszystkim na pozytywnej identyfikacji struktur typowych dla drobnoustrojów lub na rozpoznaniu braku antygenów własnych (głównie MHC klasy I) na komórkach ustroju. Utrata antygenów własnych towarzyszy niektórym typom zakażeń. Oba typy odporności, nieswoisty i swoisty, wzajemnie ze sobą współdziałają, a podstawowe komórki odpowiedzi wrodzonej, makrofagi i komórki dendrytyczne, inicjują precyzyjną odpowiedź swoistą (adaptacyjną).

Twardzina układowa jest układową zapalną chorobą tkanki łącznej, w przebiegu której

występuje zaburzenie immunologiczne, polegające na syntezie przeciwciał skierowanych wobec składników jader komórkowych, nadmierne niekontrolowane włóknienie prowadzące do uszkodzenia narządów wewnętrznych i ich krańcowej niewydolności oraz zaburzenia naczyniowe o typie mikroangiopatii dotyczącej mikrokrążenia i tak zwanej waskulopatii uszkodzającej naczynia większego kalibru. Chociaż coraz powszechniej akceptowana jest teza o autoimmunologicznym podłożu choroby, to jednak mechanizmy zapoczątkowujące chorobę i warunkujące jej określony przebieg nie zostały wystarczająco poznane, a wielość koncepcji patogenetycznych jasno wskazuje, że żadna z nich nie jest absolutnie prawdziwa.

Badania ostatnich lat zwróciły uwagę na rolę układu odpowiedzi nieswoistej w patogenezie twardziny układowej. Mechanizmy odporności wrodzonej są tu postrzegane jako spoiwa łączące zjawiska włóknienia, syntezy autoprzeciwciał, produkcji cytokin i aktywacji limfocytów T i B [1, 2].

Adres do korespondencji:

Przemysław Jacek Kotyla
Katedra i Klinika Chorób
Wewnętrznych, Reumatologii
i Immunologii Klinicznej Śląskiego
Uniwersytetu Medycznego
ul. Ziołowa 45/47
40–635 Katowice
e-mail: pjkotyla@onet.eu@gmail.com

ROLA RECEPTORÓW TOLL-PODOBNYCH

Układ odporności wrodzonej reaguje szybko na obecność pewnych struktur i wzorców molekularnych, wysoce konserwatywnych, obecnych jedynie u drobnoustrojów, na przykład: nieetylowany DNA bogaty w di nukleotydy CpG, dsRNA i składniki ściany bakteryjnej. Struktury te noszą nazwę wzorców molekularnych związanych z patogenami (PAMPs, *pathogen-associated molecular patterns*). Odgrywają one kluczową rolę w metabolizmie drobnoustrojów i nie ulegają zmianom.

Wzorce molekularne związane z patogenami rozpoznawane są przez receptory rozpoznające wzorce (PRRs, *pattern recognition receptors*), wśród których można wyróżnić 3 grupy.

1. **PRR — znajdujące się zarówno na powierzchni komórek gospodarza, jak i wewnątrzkomórkowo.** Rozpoznanie PAMPs przez te receptory powoduje aktywację czynnika jądrowego NF- κ B, co uaktywnia szereg genów kodujących białka o działaniu bakteriobójczym oraz cytokiny prozapalne (TNF- α , IL-1, IL-8 i IL-12) i chemokiny. Do grupy tej należą receptory TLR (receptory Toll-podobne), występujące zarówno na powierzchni, jak i wewnątrz komórek, oraz receptory NOD (*nucleotide-binding oligomerization domain*), zlokalizowane w cytoplazmie komórek i odpowiedzialne za rozpoznanie bakterii chorobotwórczych, które wniknęły do wnętrza komórki gospodarza.

Nazwę Toll nadano zmutowanemu genowi kodującemu białko receptorowe, które uczestniczy w rozwoju embrionalnym muszki owocowej (*Drosophila melanogaster*). W połowie lat 90. XX wieku wykazano, że receptory o podobnej budowie i funkcji występują także u człowieka — nazwano je receptorami Toll-podobnymi (TLR, *Toll-like receptors*).

Receptory Toll-podobne występują zarówno na powierzchni komórek (rozpoznają składniki ściany komórkowej drobnoustrojów), jak i we wnętrzu komórek, w błonie endosomów i rozpoznają struktury kwasów nukleinowych (TLR 3, TLR 7-9).

Rozpoznanie PAMPs oraz cząsteczek zagrożenia DAMPs (*danger-associated molecular patterns*) przez TLR skutkuje produkcją prozapalnych cytokin i chemokin przez makrofagi i komórki dendrytyczne, zwiększeniem ekspresji MHC I, MHC II i molekuł kostymulujących, co pozwala na indukcję mechanizmów swoistych.

2. **PRR występujące na powierzchni makrofagów, neutrofilów oraz komórek dendrytycznych**, odpowiedzialne za internalizację drobnoustroju i jego wewnątrzkomórkowe zabicie.
3. **PRR — wydzielnicze** — są to białka ostrej fazy, na przykład białko C-reaktywne, produkowane przez hepatocyty, które zapoczątkowuje klasyczną drogę aktywacji dopełniacza.

Aktywacja TLR prowadzi do produkcji i sekrecji wielu prozapalnych cytokin, w tym IFN I. Receptory TLR (poza TLR3) wywierają swoje działanie przez cząsteczkę MyD88 (*myeloid differentiation factor 88*) [3].

Jest coraz więcej dowodów, że aktywacja układu immunologicznego w twardzinie układowej poprzez TLR jest zależna od czynnika infekcyjnego lub cząstek DAMPs [4, 5]. Podkreśla się rolę wirusa Epstein-Barr (EBV), który aktywuje TLR9. Sugeruje się także udział zakażeń wirusem cytomegalii (CMV), parwowirusem B19, a także *Toxoplasma gondii* [6, 7].

W rozwoju twardziny układowej szczególną rolę przypisuje się TLR4 — receptor ten rozpoznaje cząsteczki uszkodzenia (DAMPs) uwalniane z uszkodzonych tkanek. Endogennymi ligandami dla TLR4 są: białka szoku cieplnego (HSP22, HSP60, HSP70 [*heat shock proteins*]), ale także fibronektyna, tenascyna, małowcząsteczkowe kwasy hialuronowe (LMWHA, *low-molecular hyaluronic acid*). Uważa się, że niektóre DAMPs są uwalniane z komórek endotelium (ECs, *endothelial cells*) jako wynik uszkodzenia, co jest głównym czynnikiem wyzwalającym zarówno reakcje zapalne, jak i nieprawidłowe procesy naprawcze, skutkujące nadmiernym włóknieniem [8, 9].

Bhattacharyya i wsp. opisali nadekspresję receptora TLR4 w skórze i płucach chorych na SSc [10]. Wskazuje się również nadekspresję TLR3 w fibroblastach skóry u chorych z SSc w porównaniu z grupą zdrowych ochotników [11].

Interferon indukują także syntezę wielu cytokin istotnych w patogenezie twardziny układowej, wśród których IL-6 odgrywa istotną rolę w inicjacji i rozwoju włóknienia w SSc [12]. Surowicze stężenia IL-6 oraz rozpuszczalnego receptora dla IL-6 (IL-6R) były znacznie wyższe u chorych z SSc, a stężenia IL-6R korelowały z ciężkością włóknienia płuc u chorych [13]. Surowicze stężenia IL-6 mogą być czynnikiem prognostycznym w ocenie progresji śródmiąższowej choroby płuc u chorych na SSc [14]. Interleukina 6 powoduje różnicowanie limfocytów w wykazujące profibrotyczne

działanie limfocyty Th2 [15] oraz polaryzację limfocytów Th w Th17 [16].

Znaczenie poszczególnych cytokin udowodniono ostatnio w badaniu GENIOS (*Genetics versus Environment in Scleroderma Outcome Study*), w którym wykazano, że chorzy na SSc mieli wyższe stężenia chemokin indukowanych przez IFN. Nie wykazano natomiast związku z czasem trwania i typem choroby, stwierdzono natomiast pozytywną korelację z jej ciężkością ocenianą według skali Medsgera w domenach dotyczących mięśni, zakresu zajęcia skóry oraz płuc, a także aktywności kinazy kreatyninowej CK. Wykazano negatywną korelację pomiędzy stężeniami chemokin a wskaźnikami czynności płuc FVC (*forced vital capacity*) i DLCO (*diffusing capacity for carbon monoxide*). Wyniki te potwierdzają sugestię, że aktywacja IFN wiąże się z cięższą formą SSc. Nie zaobserwowano zmienności pomiędzy stężeniem chemokin indukowanych IFN a czasem trwania choroby, co sugeruje, że „sygnatura interferonowa” jest stabilnym markerem dla cięższego przebiegu choroby, a nie zależnych od czasu dysregulacji immunologicznych, mogących uleżeć poprawie po wstępnej fazie choroby [17].

Niższe stężenia chemokin zależnych od IFN obserwowano u chorych z obecnością przeciwciał przeciwko RNA — polimerazie III, co może mieć istotne znaczenie, ponieważ ich obecność wiąże się z ciężkim zajęciem skóry i nieobecnością ciężkiego śródmiąższowego zajęcia płuc.

Efekt aktywacji receptorów TLR zależy od wielu czynników: czasu trwania stymulacji (ostra czy przewlekła), rodzaju komórek biorących udział w odpowiedzi (komórki związane z układem immunologicznym lub nie), etapu zaawansowania choroby (faza zapalna czy faza włóknienia).

Profibrotyczny efekt stymulacji TLR wydaje się być najbardziej związany z aktywacją fibroblastów i makrofagów w kontekście przewlekłej stymulacji [18, 19].

Receptory rozpoznające wzorce i ich szlaki sygnałowe mogą stać się nowymi celami terapeutycznymi w SSc.

SYGNATURA INTERFERONOWA W SSC

Jest coraz więcej dowodów, że interferony mogą odgrywać istotną rolę w patogenezie choroby oraz stanowić pomost łączący uszkodzenie tkanek z mechanizmami nieprawidłowej regeneracji tkanek, prowadzącymi do niekontrolowanego włóknienia [20, 21].

Interferony to heterogenna grupa cytokin różniących się pochodzeniem, właściwościami fizykochemicznymi, lecz mającą podobny mechanizm działania. Jest to ważny czynnik obrony nieswoistej. Interferony typu I, do których należą IFN- α , β oraz ω , to grupa cytokin, które wpływają na różnicowanie i proliferację komórek, a także syntezę cytokin prozapalnych. Wiele badań dostarczyło dowodów dotyczących roli IFN-I oraz ich wpływu na ekspresję genów w patogenezie chorób autoimmunologicznych, w tym twardziny układowej [22, 23].

Interferony są odpowiedzialne za zwiększenie ekspresji TLR, co zwiększa rozpoznawanie cząstek DAMPs, pierwotnie uwolnionych z uszkodzonych tkanek. Ponadto biorą udział w dojrzewaniu komórek dendrytycznych, co przyczynia się do zwiększonej prezentacji antygenów komórkom T. Interferony są także ważnymi czynnikami antyangiogennymi, co zyskuje szczególne znaczenie SSc, gdzie angiogeneza jest upośledzona. Aktywują także syntezę czynnika jądrowego NF κ B, który istotnie nasila włóknienie, zwiększa także syntezę uczestniczących we włóknieniu cytokin, takich jak IL-1, IL-6 [24].

Około połowa chorych z SSc wykazuje zwiększoną ekspresję genów indukowanych IFN w komórkach krwi obwodowej (co określa się mianem „sygnatury interferonowej”) [25]. Ostatnie badania wykazały, że plazmatyczne komórki dendrytyczne (pDCs) są głównym źródłem IFN- α [26]. Opisywano także przypadki rozwoju SSc u chorych po leczeniu IFN [27].

Mimo że rola IFN w rozwoju SSc jest niezaprzeczalna, dokładny mechanizm wpływu na mechanizmy włóknienia jest wciąż nieznan.

M2 — MAKROFAGII, PŁYTKI KRWI, MASTOCYTY I NEUTROFILE

Na udział makrofagów w patogenezie twardziny układowej po raz pierwszy zwrócono uwagę ponad 20 lat temu, opisując nacieki makrofagów w skórze, szczególnie w okolicach okołonaczyniowych. Obecnie szczególną uwagę zwraca się na rolę alternatywnie aktywowanych makrofagów (M2) w patogenezie choroby. Markerem tych komórek jest rozpuszczalna cząsteczka CD163, której stężenia są zwiększone we krwi chorych na SSc i związane z gorszym rokowaniem [28]. Ostatnio przeprowadzone badania genetyczne wykazały zjawisko „sygnatury M2 makrofagów”, szczególnie w skórze i płucach chorych na SSc. M2 makrofagi są bardziej związane z produkcją pro-fibrotycznie

działających cytokin, takich jak TGF- β , a także IL-4, IL-6 i IL-13, niż z działaniem prozapalnym [29]. W badaniu FASSCINATE blokada receptora dla IL-6 przez tocilizumab spowodowała redukcję nacieków makrofagów w skórze [30]. Podobne obserwacje płyną z badania nad nintedanibem — inhibitorem kinazy tyrozynowej, blokującym działanie receptorów dla VEGF i PDGF, który również zmniejsza akumulację makrofagów w zajętych tkankach [31].

Choć dokładna rola makrofagów w rozwoju włóknienia nie jest znana, jednym z możliwych mechanizmów jest produkcja przez makrofagi M2 białka, które stymuluje produkcję enzymu hydroksylazy lizylowej (*lysyl-hydroxylase-2*), która nasila tworzenie wiązań krzyżowych produkowanego przez fibroblasty kolagenu [32].

Ważnymi składowymi wrodzonego układu odporności są mastocyty. W skórze chorych na SSc oraz w modelach zwierzęcych twardziny układowej wykazano także nacieki z mastocytów [33]. Obecność tych komórek była związana z cięższymi postaciami choroby. Mastocyty są ważnym źródłem TGF- β , co tłumaczy ich rolę w patogenezie włóknienia [34]. Mastocyty są także źródłem PAF (*platelet-activating factor*), który stymuluje degranulację płytek krwi i uwolnienie wielu czynników wzrostu, takich jak TGF- β , PDGF i fibronektyny. Wszystkie te cytokiny mogą także stymulować tworzenie miofibroblastów, których rolę w patogenezie twardziny opisano poniżej. Podkreśla się także ich rolę w inicjacji zapalenia oraz nasilania produkcji ECM przez fibroblasty. Mastocyty produkują także tryptazę, proteinazę serynową, która stymuluje proliferację fibroblastów i produkcję kolagenu [35, 36] oraz histaminę, która indukuje proliferację fibroblastów w płucach [37].

Kolejnym produktem mastocytów oraz płytek krwi jest serotonina, której rola w procesach włóknienia jest znana od dawna. Wykazano, że serotonina bezpośrednio zwiększa produkcję macierzy pozakomórkowej przez fibroblasty skóry, działając poprzez receptor 5H-T_{2b9}. Zablokowanie tego receptora skutkuje zmniejszoną produkcją kolagenu i fibronektyny przez fibroblasty [38].

Kolejnymi komórkami odpowiedzi nieswoistej, które mogą również odgrywać rolę promującą włóknienie są neutrofile. Komórki te produkują różne profibrotycznie działające cytokiny (TGF β , IL-6, VEGF) [39]. Ponadto aktywowane neutrofile, podobnie jak makrofagii, uwalniają cząstki ROS (*reactive oxygen*

species), które aktywują fibroblasty i stymulują włóknienie [40]. Neutrofile chorych na SSc uwalniają więcej ROS niż neutrofile osób zdrowych. Produkowana przez neutrofile elastaza nasila transformację fibroblastów w miofibroblasty i wzmacnia włóknienie w płucach [41].

LIMFOCYTY ODPOWIEDZI NIESWOISTEJ (ILC, INNATE LYMPHOID CELL; ILL, INNATE-LIKE LYMPHOCYTES)

Jest to grupa limfocytów, których receptory antygenowe mają ograniczoną różnorodność, brakuje im specyficznej lokalizacji oraz nie wykazują ekspansji klonalnej w odpowiedzi na napotkany antygen. Do tej grupy zalicza się limfocyty T $\gamma\delta$, w większości podwójnie negatywne (CD4⁻ CD8⁻), limfocyty B1 oraz limfocyty NKT. U ludzi limfocyty T $\gamma\delta$ produkują czynnik wzrostu tkanki łącznej, odgrywając istotną rolę w procesie gojenia ran oraz czynnik wzrostu keratynocytów i biorą udział w mechanizmach naprawczych nabłonków. Limfocyty B1 to subpopulacja limfocytów B, które posiadają typowy dla wszystkich limfocytów B antygen powierzchniowy CD19 oraz charakterystyczne tylko dla nich cząsteczki CD5. Komórki B1, w odróżnieniu od klasycznych limfocytów B, nie przekształcają się w komórki pamięci oraz nie zmieniają klasy i powinowactwa syntetyzowanych przez siebie przeciwciał. Część produkowanych przez limfocyty B1 przeciwciał ma charakter auto-przeciwciał, które odgrywają rolę w eliminacji z ustroju autoantygenów pochodzących z rozpadłych komórek i tkanek. Limfocyty NKT to subpopulacja limfocytów T $\alpha\beta$, które mają na swojej powierzchni markery typowe dla komórek NK, większość z nich jest podwójnie negatywna (CD4⁻ CD8⁻). Komórki te produkują IL-4, IL-10, IL-13 oraz prozapalnie działający IFN- γ . Odgrywają istotną rolę w regulacji odpowiedzi immunologicznej [3, 42].

W ostatnich latach opisano kolejną funkcję komórek ILC, których rola polega na współdziałaniu z limfocytami T pomocniczymi (Th). Są one definiowane przez ekspresję cząsteczki CD127 (IL-7). Niektórzy badacze, między innymi Wohlfahrt i wsp., wykazali zwiększoną liczebność komórek ILC zarówno we krwi obwodowej, jak i w skórze u chorych z SSc w porównaniu z osobami zdrowymi, a ich liczba korelowała ze stopniem zwłóknienia skóry [43]. Nie wszystkie badania potwierdziły jednak te obserwacje [44].

Komórki ILC pod wpływem IL-25 i IL-33 są źródłem IL-13, co nasila syntezę kolagenu oraz powoduje różnicowanie makrofagów w profibrotyczny podtyp [45].

Komórki ILCs są także źródłem IL-17A, której rola w włóknieniu płuc i skóry jest znana [46]. Wiele obecnie prowadzonych badań koncentruje się nad lokalizacją i rolą poszczególnych ILCs w patogenezie SSc oraz potencjalnymi możliwościami blokowania ich funkcji efektorowych.

MIOFIBROBLASTY

Pierwsze sugestie dotyczące roli miofibroblastów w patogenezie twardziny układowej pojawiły się już w 1972 roku. Stwierdzono wówczas, że fibroblasty skóry chorych na SSc produkują więcej kolagenu niż u osób zdrowych [47]. W 1990 roku używając technik immunohistochemicznych, wykazano, że fibroblasty zlokalizowane w skórze i płucach chorych na twardzinę układową zawierają włókna aktywne mięśni gładkich i są miofibroblastami [48].

Tworzenie, przeżycie i aktywność miofibroblastów jest w SSc zwiększona.

Obecność miofibroblastów w tkance śródmiąższowej płuc u chorych na SSc oraz w BAL koreluje z progresją śródmiąższowej choroby płuc [49, 50]. Komórki te są także ważnym źródłem endoteliny 1 (ET-1), ważnego czynnika kurczącego naczynia, co powoduje zmniejszenie płucnego przepływu naczyniowego i wzrost oporów w krążeniu płucnym, przyczyniając się do rozwoju tętniczego nadciśnienia płucnego.

Endotelina 1 także stymuluje tworzenie nowych miofibroblastów. Miofibroblasty produkują VEGF [51], co jest istotne w procesach naprawczych tkanek po uszkodzeniu, angiopoetynę 1 i 2, które stymulują tworzenie nowych naczyń [52] oraz TGF-. Dla utrzymania prawidłowej homeostazy łożyska naczyniowego potrzebna jest bardzo precyzyjna regulacja wszystkich tych składowych. Nadmierna produkcja tych cytokin przez miofibroblasty może prowadzić do nieprawidłowego remodelingu naczyniowego, na przykład niekontrolowane wytwarzanie VEGF może być przyczyną waskulopatii opisywanej w SSc [53].

Kolejną lokalizacją miofibroblastów jest ściana przełyku i żołądka u chorych z nasilonym włóknieniem [54]. Konsekwencją są zaburzenia perystaltyki oraz refluks żołądkowo-przełykowy.

W zdrowych tkankach obecność miofibroblastów jest bardzo rzadka, gdyż ulegają one apoptozie, gdy nie są już potrzebne w pro-

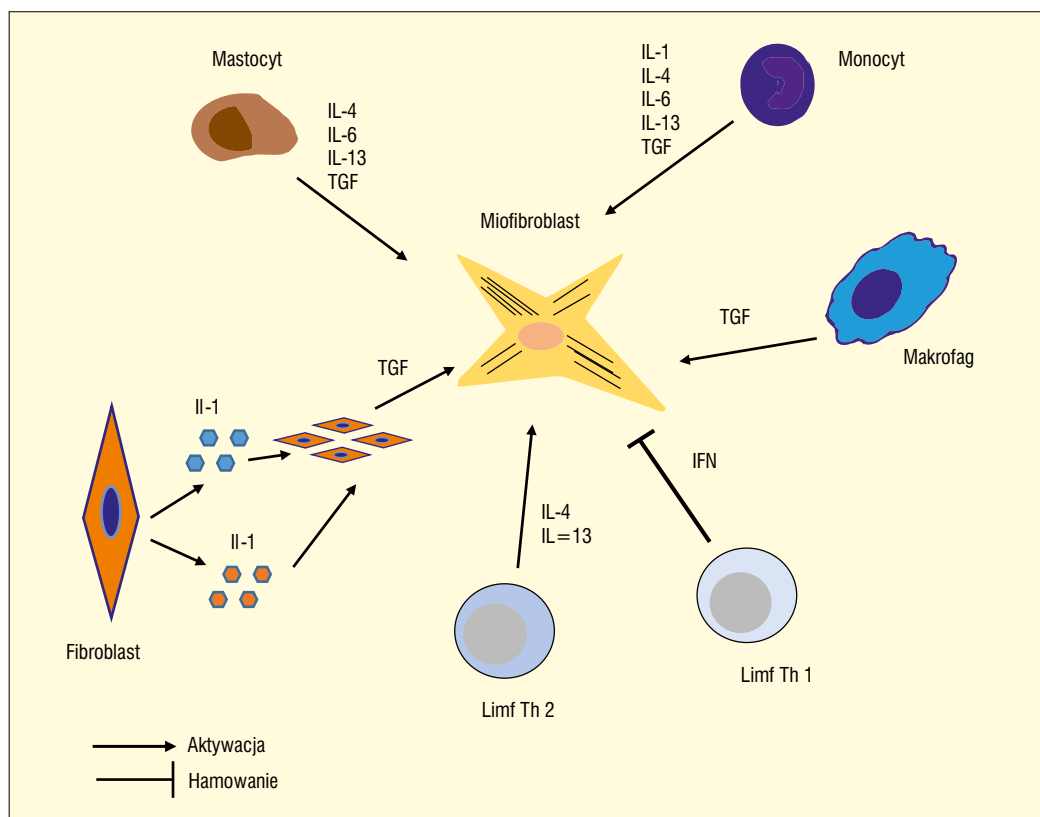
cesach naprawczych tkanek. Jednakże pewna pula tych komórek (rezydualna) pozostaje na przykład w przewodach pęcherzykowych w płucach, gdzie pozwala regulować ich funkcje.

Na zwiększoną ilość miofibroblastów w SSc wpływa fakt, że komórki te nie podlegają prawidłowym procesom apoptozy, ponadto zwiększona pozostaje ich proliferacja. Aktywność metaboliczna miofibroblastów w twardzinie ulega również zwiększeniu — komórki produkują większą ilość macierzy pozakomórkowej (np. kolagenu typu I) [55]. Wiele cytokin (m.in. TGF- β , PDGF, IL-6) nasila aktywność miofibroblastów oraz pobudza ich tworzenie. IL-4 i IL-13 indukują ekspresję włókien aktynowych- α (α SMA) i transformację fibroblastów w miofibroblasty [56]. Miofibroblasty pełnią także funkcje immunomodulujące. Produkują IL-1, która w zależności od warunków mikrośrodowiska, może zarówno indukować, jak i hamować produkcję kolagenu, IL-6, IL-8 oraz MCP-1 (*monocyte chemoattractive protein 1*, CCL2). Interleukina 8 i CCL2 są chemokinami, powodującymi przyciągnięcie neutrofilii, monocytów i limfocytów T i nasilenie odpowiedzi zapalnej [57].

Interleukina 1 i IL-6 nasilają ekspresję prozapalnych genów w komórkach immunokompetentnych. Ponadto mogą uczestniczyć w różnicowaniu monocytów w makrofagi i odgrywać rolę w różnicowaniu komórek T naiwnych w podtypy wykazujące różne funkcje efektorowe [58] (ryc. 1).

KOMÓRKI NK

Komórki NK (*Natural killer*) i limfocyty T $\gamma\delta$ stanowią pomost pomiędzy odpornością wrodzoną i nabytą [59, 60]. Komórki NK wykazują ekspresję cząsteczki CXCR3, która wiąże różne prozapalne cytokiny, między innymi CXCL4 — biomarker SSc [61]. Identyfikacja szlaku fraktalkina/CX3CR1 otworzyła nowe możliwości ingerencji terapeutycznych. Fraktalkina jest zarówno rozpuszczalną chemokiną, jak i molekułą adhezyjną, związaną z błoną komórek endotelium. CX3CR1 jest receptorem, który umożliwia migrację komórek NK w odpowiedzi na działanie fraktalkiny. Mutacje genu kodującego CX3CR1 zostały zidentyfikowane jako czynnik indywidualnej podatności na rozwój SSXC, a zwłaszcza tętniczego nadciśnienia płucnego związanego z SSc [62]. Komórki NK indukują także uwalnianie EMPs (*endothelial microparticles*), będących markerem uszkodzenia endotelium. EMPs uważane są za „miniaturowe komórki” prze-



Rycina 1. Wpływ komórek immunokompetentnych na tworzenie i funkcje miofibroblastów

ładowane bioaktywnymi cząsteczkami (RNA, białkami, cytokinami, lipidami), których rola polega na regulacji oddziaływań międzykomórkowych i regulacji procesów zapalenia, angiogenezy i włóknienia [63]. Opisano związek EMPs z włóknieniem płuc i skóry [64]. Ostatnio uważa się, że zwiększone stężenia fraktalkiny i EMPs są markerem zapalnej aktywacji śródbłonna i zaburzonej homeostazy u chorych na SSc oraz biomarkerem zajęcia narządowego oraz ciężkości choroby [65]. Krążące komórki NK u chorych na SSc wykazują zmniejszoną ekspresję receptora dla fraktalkiny CX3CR1. Komórki NK uwalniają także IL-6, która nasila uwalnianie EMPs i zapalną aktywację śródbłonna [66].

Komórki NK jednakże mogą także przeciwdziałać włóknieniu, poprzez produkcję IFN- γ , który hamuje transformację fibroblastów w miofibroblasty oraz nasila ich apoptozę. W SSc zdolność do produkcji IFN- γ przez komórki NK jest jednak zmniejszona [67].

INTERLEUKINA 33

Do rodziny IL-1 należy także IL-33. Receptorem dla tej cytokiny jest cząsteczka ST-2, która u chorych na SSc ulega nadekspresji

w makrofaqach, mastocytach, fibroblastach i miofibroblastach. Interleukina 33 wykazuje silne działanie prozapalne i nasilające włóknienie [68]. Surowicze stężenia IL-33 są znacznie zwiększone u chorych na SSc, głównie na wczesnych etapach choroby. Wykazano istotny związek pomiędzy IL-33 a zmianami naczyniowymi w SSc, zwłaszcza owrzodzeniami palców rąk, co może sugerować wybitnie naczyniowe oddziaływanie tej cytokiny [69].

W czasie procesu uszkodzenia tkanek IL-33 jest uwalniana do przestrzeni międzykomórkowej i działa tam jak alarmina, nasilając produkcję markerów zagrożenia. Działa także jako czynnik jądrowy regulujący transkrypcję genów [70]. Odgrywa istotną rolę w procesach zapalenia. Ostatnie badania wskazują, że odgrywa także istotną rolę w inicjacji i rozwoju procesów włóknienia. Interleukina ta produkowana jest głównie przez komórki śródbłonna, miofibroblasty, a także komórki nabłonkowe. U chorych na SSc surowicze stężenia IL-33 są zwiększone [71] i dodatkowo korelują z zaawansowaniem zwłóknienia skóry, nasileniem zwłóknienia płuc i zajęciem naczyń [72, 73]. Interleukina 33 może także indukować produkcję TGF- β przez M2 makrofaq i nasilać ekspansję ILC-2 (*innate lymphoid*

cells type 2) oraz produkcję IL-13 przez te komórki [74]. Ekspresja genu dla IL-33 może podlegać regulacji przez IFN, między innymi IFN- γ . Interleukina 33 jest potencjalnym biomarkerem służącym do monitorowania aktywności choroby [75]. Inhibitor IL-33 (CNTO-7160), obecnie w trakcie badań klinicznych, może być nowym lekiem przeciwdziałającym włóknieniu u chorych na SSc [76].

ESTROGENY

W związku z przewagą kobiet wśród chorych na twardzinę układową zaczęto rozważać rolę estrogenów w patogenezie tej choroby.

Estrogeny są znanymi regulatorami reakcji immunologicznych, szczególnie 17- β estradiol bezpośrednio reguluje funkcje komórek układu immunologicznego poprzez receptor estrogenowy (ER). Estrogeny zwiększają przeżycie oraz aktywność limfocytów B. Nasiloną konwersja androgenów do estrogenów przez aromatazę, która zachodzi w tkankach obwodowych w warunkach zapalenia (nasilona przez IL-6), także promuje zjawiska autoimmunizacji. Wiele badań wykazało, że stosowanie estrogenów w terapiach hormonalnych zwiększa produkcję kolagenu w skórze [77].

W surowicy chorych na SLE oraz SSc wykazano także obecność autoprzeciwciał skierowanych przeciwko receptorowi ER- α . Przeciwciała te działają jak estrogeny i mogą nasilać proliferację limfocytów T. Przeciwciała

te stwierdzono zwłaszcza u chorych z postacią uogólnioną twardziny, obecnością przeciwciał anty-SCI-70 oraz zaawansowanymi zmianami w kapilaroskopii (*late pattern*). Obecność autoprzeciwciał skierowanych przeciwko ER- α nasila apoptozę limfocytów T. Nasilenie procesów apoptozy obserwowane w chorobach autoimmunologicznych, może prowadzić do zjawiska „przeładowania” autoantygenami, nasilania odpowiedzi autoimmunologicznych i uszkodzenia tkanek [78]. Limfocyty T, które uległy apoptozie, mogą być źródłem cytokin, między innymi TGF- β , który odgrywa istotną rolę w patogenezie włóknienia w SSc [79].

Przeciwciała skierowane przeciwko ER- α mogą więc być obiecującym markerem progresji twardziny układowej, a także modulatorami odpowiedzi immunologicznej w tej chorobie.

PODSUMOWANIE

Jest coraz więcej dowodów na udział mechanizmów odporności wrodzonej w patogenezie twardziny układowej. Badania ostatnich lat koncentrują się na zrozumieniu związków pomiędzy immunizacją, zapaleniem a włóknieniem. Badane są też nowe możliwości terapeutyczne, obejmujące oddziaływanie na receptory TLR, a także inhibitory IFN. Coraz lepsze zrozumienie mechanizmów leżących u podłoża tej ciągle tajemniczej choroby pozwoli na opracowanie skutecznych strategii leczenia.

ABSTRACT

The paper presents the newest ideas on pathogenesis of systemic sclerosis. The special emphasis has been put upon the role of pattern recognition receptors and interferon signature phenomenon. The results of recent research

indicates also the role of some populations of immunocompetent cells as mastocytes, myofibroblasts and NK cells.

Forum Reumatol. 2020, tom 6, nr 2: 70–79

Słowa kluczowe: systemic sclerosis; innate immune response; interferon signature; innate lymphoid cells

Piśmiennictwo

1. Jiménez-Dalmaroni MJ, Gerswhin ME, Adamopoulos IE. The critical role of toll-like receptors--From microbial recognition to autoimmunity: A comprehensive review. *Autoimmun Rev.* 2016; 15(1): 1–8, doi: [10.1016/j.autrev.2015.08.009](https://doi.org/10.1016/j.autrev.2015.08.009), indexed in Pubmed: 26299984.
2. Otyła P. Systemic Sclerosis : An Autoimmune Disease Without a known pathology and to be conquered. Mosaic of Autoimmunity. . <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814307-0.00049-9>.
3. Ptak W, Ptak M, Szczepanik M. Mechanizmy odporności nieswoistej. W: Podstawy immunologii. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2017: 113–134.
4. Dowson C, Simpson N, Duffy L, et al. Innate Immunity in Systemic Sclerosis. *Curr Rheumatol Rep.* 2017; 19(1): 2, doi: [10.1007/s11926-017-0630-3](https://doi.org/10.1007/s11926-017-0630-3), indexed in Pubmed: 28116578.
5. Lafyatis R. New Insights into the Mechanisms of Innate Immune Receptor Signalling in Fibrosis. *The*

- Open Rheumatology Journal. 2012; 6(1): 72–79, doi: [10.2174/1874312901206010072](https://doi.org/10.2174/1874312901206010072).
6. Grossman C, Dovrish Z, Shoenfeld Y, et al. Do infections facilitate the emergence of systemic sclerosis? *Autoimmun Rev*. 2011; 10(5): 244–247, doi: [10.1016/j.autrev.2010.09.010](https://doi.org/10.1016/j.autrev.2010.09.010), indexed in Pubmed: [20863912](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20863912/).
 7. Randone SB, Guiducci S, Cerinic MM. Systemic sclerosis and infections. *Autoimmun Rev*. 2008; 8(1): 36–40, doi: [10.1016/j.autrev.2008.07.022](https://doi.org/10.1016/j.autrev.2008.07.022), indexed in Pubmed: [18706530](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18706530/).
 8. Bhattacharyya S, Midwood KS, Yin H, et al. Toll-Like Receptor-4 Signaling Drives Persistent Fibroblast Activation and Prevents Fibrosis Resolution in Scleroderma. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2017; 6(10): 356–369, doi: [10.1089/wound.2017.0732](https://doi.org/10.1089/wound.2017.0732), indexed in Pubmed: [29062592](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29062592/).
 9. Bhattacharyya S, Varga J. Endogenous ligands of TLR4 promote unresolving tissue fibrosis: Implications for systemic sclerosis and its targeted therapy. *Immunol Lett*. 2018; 195: 9–17, doi: [10.1016/j.imlet.2017.09.011](https://doi.org/10.1016/j.imlet.2017.09.011), indexed in Pubmed: [28964818](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28964818/).
 10. Bhattacharyya S, Kelley K, Melichian DS, et al. Toll-like receptor 4 signaling augments transforming growth factor- β responses: a novel mechanism for maintaining and amplifying fibrosis in scleroderma. *Am J Pathol*. 2013; 182(1): 192–205, doi: [10.1016/j.ajpath.2012.09.007](https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2012.09.007), indexed in Pubmed: [23141927](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23141927/).
 11. Agarwal SK, Wu M, Livingston CK, et al. Toll-like receptor 3 upregulation by type I interferon in healthy and scleroderma dermal fibroblasts. *Arthritis Res Ther*. 2011; 13(1): R3, doi: [10.1186/ar3221](https://doi.org/10.1186/ar3221), indexed in Pubmed: [21223583](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21223583/).
 12. Saito F, Tasaka S, Inoue KI, et al. Role of interleukin-6 in bleomycin-induced lung inflammatory changes in mice. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2008; 38(5): 566–571, doi: [10.1165/rcmb.2007-0299OC](https://doi.org/10.1165/rcmb.2007-0299OC), indexed in Pubmed: [18096870](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18096870/).
 13. Hasegawa M, Sato S, Ihn H, et al. Enhanced production of interleukin-6 (IL-6), oncostatin M and soluble IL-6 receptor by cultured peripheral blood mononuclear cells from patients with systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)*. 1999; 38(7): 612–617, doi: [10.1093/rheumatology/38.7.612](https://doi.org/10.1093/rheumatology/38.7.612), indexed in Pubmed: [10461473](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10461473/).
 14. De Lauretis A, Sestini P, Pantelidis P, et al. Serum interleukin 6 is predictive of early functional decline and mortality in interstitial lung disease associated with systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 2013; 40(4): 435–446, doi: [10.3899/jrheum.120725](https://doi.org/10.3899/jrheum.120725), indexed in Pubmed: [23378460](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23378460/).
 15. Glimcher LH, Murphy KM. Lineage commitment in the immune system: the T helper lymphocyte grows up. *Genes Dev*. 2000; 14(14): 1693–1711.
 16. Laurence A, O'Shea JJ. T(H)-17 differentiation: of mice and men. *Nat Immunol*. 2007; 8(9): 903–905, doi: [10.1038/ni0907-903](https://doi.org/10.1038/ni0907-903), indexed in Pubmed: [17712339](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17712339/).
 17. Liu X, Mayes MD, Tan FK, et al. Correlation of interferon-inducible chemokine plasma levels with disease severity in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 2013; 65(1): 226–235, doi: [10.1002/art.37742](https://doi.org/10.1002/art.37742), indexed in Pubmed: [23055137](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23055137/).
 18. He Z, Zhu Y, Jiang H. Inhibiting toll-like receptor 4 signaling ameliorates pulmonary fibrosis during acute lung injury induced by lipopolysaccharide: an experimental study. *Respir Res*. 2009; 10: 126, doi: [10.1186/1465-9921-10-126](https://doi.org/10.1186/1465-9921-10-126), indexed in Pubmed: [20017955](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20017955/).
 19. Luckhardt TR, Coomes SM, Trujillo G, et al. TLR9-induced interferon β is associated with protection from gammaherpesvirus-induced exacerbation of lung fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair*. 2011; 4: 18, doi: [10.1186/1755-1536-4-18](https://doi.org/10.1186/1755-1536-4-18), indexed in Pubmed: [21810214](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21810214/).
 20. Dantas AT, Goncalves SM, Pereira MC, et al. Interferon sans systemic sclerosis: correlation between interferon gamma and interferon lambda 1 (IL-29). *Autoimmunity*. 2015; 48(7): 429–433.
 21. Wu M, Assassi S. The role of type 1 interferon in systemic sclerosis. *Front Immunol*. 2013; 4: 266, doi: [10.3389/fimmu.2013.00266](https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00266), indexed in Pubmed: [24046769](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24046769/).
 22. Farina GA, York MR, Di Marzio M, et al. Poly(I:C) drives type I IFN- and TGF β -mediated inflammation and dermal fibrosis simulating altered gene expression in systemic sclerosis. *J Invest Dermatol*. 2010; 130(11): 2583–2593, doi: [10.1038/jid.2010.200](https://doi.org/10.1038/jid.2010.200), indexed in Pubmed: [20613770](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20613770/).
 23. Higgs BW, Liu Z, White B, et al. Patients with systemic lupus erythematosus, myositis, rheumatoid arthritis and scleroderma share activation of a common type I interferon pathway. *Ann Rheum Dis*. 2011; 70(11): 2029–2036, doi: [10.1136/ard.2011.150326](https://doi.org/10.1136/ard.2011.150326), indexed in Pubmed: [21803750](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21803750/).
 24. O'Sullivan BJ, Pai S, Street S, et al. Immune deficiency or hyperactivity-Nf-kappab illuminates autoimmunity. *J Autoimmun*. 2008; 31(3): 245–251, doi: [10.1016/j.jaut.2008.04.012](https://doi.org/10.1016/j.jaut.2008.04.012), indexed in Pubmed: [18539434](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18539434/).
 25. Eloranta ML, Franck-Larsson K, Lövgren T, et al. Type I interferon system activation and association with disease manifestations in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2010; 69(7): 1396–1402, doi: [10.1136/ard.2009.121400](https://doi.org/10.1136/ard.2009.121400), indexed in Pubmed: [20472592](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20472592/).
 26. Kim D, Peck A, Santer D, et al. Induction of interferon-alpha by scleroderma sera containing autoantibodies to topoisomerase I: association of higher interferon-alpha activity with lung fibrosis. *Arthritis Rheum*. 2008; 58(7): 2163–2173, doi: [10.1002/art.23486](https://doi.org/10.1002/art.23486), indexed in Pubmed: [18576347](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18576347/).
 27. Solans R, Bosch JA, Esteban I, et al. Systemic sclerosis developing in association with the use of interferon alpha therapy for chronic viral hepatitis. *Clin Exp Rheumatol*. 2004; 22(5): 625–628, indexed in Pubmed: [15485018](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15485018/).
 28. Frantz C, Pezet S, Avouac J, et al. Soluble CD163 as a Potential Biomarker in Systemic Sclerosis. *Dis Markers*. 2018; 2018: 8509583, doi: [10.1155/2018/8509583](https://doi.org/10.1155/2018/8509583), indexed in Pubmed: [29805720](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29805720/).
 29. Arango Duque G, Descoteaux A. Macrophage cytokines: involvement in immunity and infectious diseases. *Front Immunol*. 2014; 5: 491, doi: [10.3389/fimmu.2014.00491](https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00491), indexed in Pubmed: [25339958](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25339958/).
 30. Khanna D, Denton CP, Jhreis A, et al. Safety and efficacy of subcutaneous tocilizumab in adults with systemic sclerosis (faSScinate): a phase 2, randomised, controlled trial. *Lancet*. 2016; 387(10038): 2630–2640, doi: [10.1016/S0140-6736\(16\)00232-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00232-4), indexed in Pubmed: [27156934](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27156934/).
 31. Huang J, Maier C, Zhang Y, et al. Nintedanib inhibits macrophage activation and ameliorates vascular and fibrotic manifestations in the Fra2 mouse model of systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2017; 76(11): 1941–1948, doi: [10.1136/annrheumdis-2016-210823](https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2016-210823), indexed in Pubmed: [28814429](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28814429/).
 32. Knipper JA, Willenborg S, Brinckmann J, et al. Interleukin-4 Receptor α Signaling in Myeloid Cells Controls Collagen Fibril Assembly in Skin Repair. *Immunity*. 2015; 43(4): 803–816, doi: [10.1016/j.immuni.2015.09.005](https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.09.005), indexed in Pubmed: [26474656](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26474656/).
 33. Yukawa S, Yamaoka K, Sawamukai N, et al. Dermal mast cell density in fingers reflects severity of skin sclerosis in systemic

- sclerosis. *Mod Rheumatol*. 2013; 23(6): 1151–1157, doi: [10.1007/s10165-012-0813-8](https://doi.org/10.1007/s10165-012-0813-8), indexed in Pubmed: [23271169](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23271169/).
34. Hügler T, Hogan V, White KE, et al. Mast cells are a source of transforming growth factor β in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 2011; 63(3): 795–799, doi: [10.1002/art.30190](https://doi.org/10.1002/art.30190), indexed in Pubmed: [21360509](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21360509/).
 35. Ruoss SJ, Hartmann T, Caughey GH. Mast cell tryptase is a mitogen for cultured fibroblasts. *J Clin Invest*. 1991; 88(2): 493–499, doi: [10.1172/JCI115330](https://doi.org/10.1172/JCI115330), indexed in Pubmed: [1864960](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1864960/).
 36. Cairns JA, Walls AF. Mast cell tryptase stimulates the synthesis of type I collagen in human lung fibroblasts. *J Clin Invest*. 1997; 99(6): 1313–1321, doi: [10.1172/JCI119290](https://doi.org/10.1172/JCI119290), indexed in Pubmed: [9077541](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9077541/).
 37. Jordana M, Befus AD, Newhouse MT, et al. Effect of histamine on proliferation of normal human adult lung fibroblasts. *Thorax*. 1988; 43(7): 552–558, doi: [10.1136/thx.43.7.552](https://doi.org/10.1136/thx.43.7.552), indexed in Pubmed: [3212752](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3212752/).
 38. Dees C, Akhmetshina A, Zerr P, et al. Platelet-derived serotonin links vascular disease and tissue fibrosis. *J Exp Med*. 2011; 208(5): 961–972, doi: [10.1084/jem.20101629](https://doi.org/10.1084/jem.20101629), indexed in Pubmed: [21518801](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21518801/).
 39. Tecchio C, Micheletti A, Cassatella MA. Neutrophil-derived cytokines: facts beyond expression. *Front Immunol*. 2014; 5: 508, doi: [10.3389/fimmu.2014.00508](https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00508), indexed in Pubmed: [25374568](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25374568/).
 40. Richter K, Kietzmann T. Reactive oxygen species and fibrosis: further evidence of a significant liaison. *Cell Tissue Res*. 2016; 365(3): 591–605, doi: [10.1007/s00441-016-2445-3](https://doi.org/10.1007/s00441-016-2445-3), indexed in Pubmed: [27345301](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27345301/).
 41. Takemasa A, Ishii Y, Fukuda T. A neutrophil elastase inhibitor prevents bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *Eur Respir J*. 2012; 40(6): 1475–1482, doi: [10.1183/09031936.00127011](https://doi.org/10.1183/09031936.00127011), indexed in Pubmed: [22441751](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22441751/).
 42. Spits H, Artis D, Colonna M, et al. Innate lymphoid cells--a proposal for uniform nomenclature. *Nat Rev Immunol*. 2013; 13(2): 145–149, doi: [10.1038/nri3365](https://doi.org/10.1038/nri3365), indexed in Pubmed: [23348417](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23348417/).
 43. Wohlfahrt T, Usherenko S, Englbrecht M, et al. Type 2 innate lymphoid cell counts are increased in patients with systemic sclerosis and correlate with the extent of fibrosis. *Ann Rheum Dis*. 2016; 75(3): 623–626, doi: [10.1136/annrheumdis-2015-207388](https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2015-207388), indexed in Pubmed: [26338035](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26338035/).
 44. Roan F, Stoklasek TA, Whalen E, et al. CD4+ Group 1 Innate Lymphoid Cells (ILC) Form a Functionally Distinct ILC Subset That Is Increased in Systemic Sclerosis. *J Immunol*. 2016; 196(5): 2051–2062, doi: [10.4049/jimmunol.1501491](https://doi.org/10.4049/jimmunol.1501491), indexed in Pubmed: [26826243](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26826243/).
 45. Hams E, Armstrong ME, Barlow JL, et al. IL-25 and type 2 innate lymphoid cells induce pulmonary fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014; 111(1): 367–372, doi: [10.1073/pnas.1315854111](https://doi.org/10.1073/pnas.1315854111), indexed in Pubmed: [24344271](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24344271/).
 46. Lei L, Zhao C, Qin F, et al. Th17 cells and IL-17 promote the skin and lung inflammation and fibrosis process in a bleomycin-induced murine model of systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol*. 2016; 34(Suppl 100): 14–22.
 47. Leroy EC. Connective tissue synthesis by scleroderma skin fibroblasts in cell culture. *J Exp Med*. 1972; 135(6): 1351–1362, doi: [10.1084/jem.135.6.1351](https://doi.org/10.1084/jem.135.6.1351), indexed in Pubmed: [4260235](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4260235/).
 48. Sappino AP, Masouyé I, Saurat JH, et al. Smooth muscle differentiation in scleroderma fibroblastic cells. *Am J Pathol*. 1990; 137(3): 585–591, indexed in Pubmed: [1698026](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1698026/).
 49. Beon M, Harley RA, Wessels A, et al. Myofibroblast induction and microvascular alteration in scleroderma lung fibrosis. *Clin Exp Rheumatol*. 2004; 22(6): 733–742, indexed in Pubmed: [15638048](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15638048/).
 50. Ludwicka A, Ohba T, Trojanowska M, et al. Growth and characterization of fibroblasts obtained from bronchoalveolar lavage of patients with scleroderma. *J Rheumatol*. 1992; 19(11): 1716–1723, indexed in Pubmed: [1491389](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1491389/).
 51. Distler O, Distler JHW, Scheid A, et al. Uncontrolled expression of vascular endothelial growth factor and its receptors leads to insufficient skin angiogenesis in patients with systemic sclerosis. *Circ Res*. 2004; 95(1): 109–116, doi: [10.1161/01.RES.0000134644.89917.96](https://doi.org/10.1161/01.RES.0000134644.89917.96), indexed in Pubmed: [15178641](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15178641/).
 52. Staton CA, Valluru M, Hoh L, et al. Angiotensin-1, angiotensin-2 and Tie-2 receptor expression in human dermal wound repair and scarring. *Br J Dermatol*. 2010; 163(5): 920–927, doi: [10.1111/j.1365-2133.2010.09940.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2010.09940.x), indexed in Pubmed: [20633009](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20633009/).
 53. Distler O, Distler JHW, Scheid A, et al. Uncontrolled expression of vascular endothelial growth factor and its receptors leads to insufficient skin angiogenesis in patients with systemic sclerosis. *Circ Res*. 2004; 95(1): 109–116, doi: [10.1161/01.RES.0000134644.89917.96](https://doi.org/10.1161/01.RES.0000134644.89917.96), indexed in Pubmed: [15178641](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15178641/).
 54. Manetti M, Neumann E, Milia AF, et al. Severe fibrosis and increased expression of fibrogenic cytokines in the gastric wall of systemic sclerosis patients. *Arthritis Rheum*. 2007; 56(10): 3442–3447, doi: [10.1002/art.22940](https://doi.org/10.1002/art.22940), indexed in Pubmed: [17907149](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17907149/).
 55. Denton CP, Ong VH, Xu S, et al. Therapeutic interleukin-6 blockade reverses transforming growth factor-beta pathway activation in dermal fibroblasts: insights from the faSScinate clinical trial in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2018; 77(9): 1362–1371, doi: [10.1136/annrheumdis-2018-213031](https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2018-213031), indexed in Pubmed: [29853453](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29853453/).
 56. Hashimoto S, Gon Y, Takeshita I, et al. IL-4 and IL-13 induce myofibroblastic phenotype of human lung fibroblasts through c-Jun NH2-terminal kinase-dependent pathway. *J Allergy Clin Immunol*. 2001; 107(6): 1001–1008, doi: [10.1067/mai.2001.114702](https://doi.org/10.1067/mai.2001.114702), indexed in Pubmed: [11398077](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11398077/).
 57. Kendall RT, Feghali-Bostwick CA. Fibroblasts in fibrosis: novel roles and mediators. *Front Pharmacol*. 2014; 5: 123, doi: [10.3389/fphar.2014.00123](https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00123), indexed in Pubmed: [24904424](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24904424/).
 58. Arango Duque G, Descoteaux A. Macrophage cytokines: involvement in immunity and infectious diseases. *Front Immunol*. 2014; 5: 491, doi: [10.3389/fimmu.2014.00491](https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00491), indexed in Pubmed: [25339958](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25339958/).
 59. Vivier E, Raulet DH, Moretta A, et al. Selective associations with signaling proteins determine stimulatory versus costimulatory activity of NKG2D. *Nat Immunol*. 2002; 3(12): 1142–1149, doi: [10.1038/ni858](https://doi.org/10.1038/ni858), indexed in Pubmed: [12426565](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12426565/).
 60. Chien Yh, Meyer C, Bonneville M. $\gamma\delta$ T cells: first line of defense and beyond. *Annu Rev Immunol*. 2014; 32: 121–155, doi: [10.1146/annurev-immunol-032713-120216](https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120216), indexed in Pubmed: [24387714](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24387714/).
 61. van Bon L, Affandi AJ, Broen J, et al. Proteome-wide analysis and CXCL4 as a biomarker in systemic sclerosis. *N Engl J Med*. 2014; 370(5): 433–443, doi: [10.1056/NEJMoa1114576](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1114576), indexed in Pubmed: [24350901](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24350901/).
 62. Marasini B, Cossutta R, Selmi C, et al. Polymorphism of the fractalkine receptor CX3CR1 and systemic sclerosis-asso-

- ciated pulmonary arterial hypertension. *Clin Dev Immunol.* 2005; 12(4): 275–279, doi: [10.1080/17402520500303297](https://doi.org/10.1080/17402520500303297), indexed in Pubmed: [16584113](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16584113/).
63. Dignat-George F, Boulanger CM. The many faces of endothelial microparticles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011; 31(1): 27–33, doi: [10.1161/ATVBAHA.110.218123](https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.218123), indexed in Pubmed: [21160065](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21160065/).
 64. Guiducci S, Distler JHW, Jünger A, et al. The relationship between plasma microparticles and disease manifestations in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2008; 58(9): 2845–2853, doi: [10.1002/art.23735](https://doi.org/10.1002/art.23735), indexed in Pubmed: [18759303](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18759303/).
 65. Benyamine A, Magalon J, Cointe S, et al. Increased serum levels of fractalkine and mobilisation of CD34CD45 endothelial progenitor cells in systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther.* 2017; 19(1): 60, doi: [10.1186/s13075-017-1271-7](https://doi.org/10.1186/s13075-017-1271-7), indexed in Pubmed: [28320472](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28320472/).
 66. Cui Y, Zheng L, Jiang M, et al. Circulating microparticles in patients with coronary heart disease and its correlation with interleukin-6 and C-reactive protein. *Mol Biol Rep.* 2013; 40(11): 6437–6442, doi: [10.1007/s11033-013-2758-1](https://doi.org/10.1007/s11033-013-2758-1), indexed in Pubmed: [24078095](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24078095/).
 67. Horikawa M, Hasegawa M, Komura K, et al. Abnormal natural killer cell function in systemic sclerosis: altered cytokine production and defective killing activity. *J Invest Dermatol.* 2005; 125(4): 731–737, doi: [10.1111/j.0022-202X.2005.23767.x](https://doi.org/10.1111/j.0022-202X.2005.23767.x), indexed in Pubmed: [16185273](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16185273/).
 68. Manetti M, Ibba-Manneschi L, Liakouli V, et al. The IL1-like cytokine IL33 and its receptor ST2 are abnormally expressed in the affected skin and visceral organs of patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2010; 69(3): 598–605, doi: [10.1136/ard.2009.119321](https://doi.org/10.1136/ard.2009.119321), indexed in Pubmed: [19778913](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19778913/).
 69. Terras S, Opitz E, Moritz RKC, et al. Increased serum IL-33 levels may indicate vascular involvement in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2013; 72(1): 144–145, doi: [10.1136/annrheumdis-2012-201553](https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2012-201553), indexed in Pubmed: [22858587](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22858587/).
 70. Bertheloot D, Latz E. HMGB1, IL-1 α , IL-33 and S100 proteins: dual-function alarmins. *Cellular & Molecular Immunology.* 2016; 14(1): 43–64, doi: [10.1038/cmi.2016.34](https://doi.org/10.1038/cmi.2016.34).
 71. Zhang YJ, Zhang Q, Yang GJ, et al. Elevated serum levels of interleukin-1 β and interleukin-33 in patients with systemic sclerosis in Chinese population. *Z Rheumatol.* 2018; 77(2): 151–159, doi: [10.1007/s00393-016-0202-3](https://doi.org/10.1007/s00393-016-0202-3), indexed in Pubmed: [27644954](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27644954/).
 72. Terras S, Opitz E, Moritz RKC, et al. Increased serum IL-33 levels may indicate vascular involvement in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2013; 72(1): 144–145, doi: [10.1136/annrheumdis-2012-201553](https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2012-201553), indexed in Pubmed: [22858587](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22858587/).
 73. Yanaba K, Yoshizaki A, Asano Y, et al. Serum IL-33 levels are raised in patients with systemic sclerosis: association with extent of skin sclerosis and severity of pulmonary fibrosis. *Clin Rheumatol.* 2011; 30(6): 825–830, doi: [10.1007/s10067-011-1686-5](https://doi.org/10.1007/s10067-011-1686-5), indexed in Pubmed: [21246230](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21246230/).
 74. Hayakawa H, Hayakawa M, Tominaga SI. Soluble ST2 suppresses the effect of interleukin-33 on lung type 2 innate lymphoid cells. *Biochem Biophys Rep.* 2016; 5: 401–407, doi: [10.1016/j.bbrep.2016.02.002](https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2016.02.002), indexed in Pubmed: [28955848](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28955848/).
 75. Vettori S, Cuomo G, Iudici M, et al. Early systemic sclerosis: serum profiling of factors involved in endothelial, T-cell, and fibroblast interplay is marked by elevated interleukin-33 levels. *J Clin Immunol.* 2014; 34(6): 663–668, doi: [10.1007/s10875-014-0037-0](https://doi.org/10.1007/s10875-014-0037-0), indexed in Pubmed: [24760110](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24760110/).
 76. Striz I. Cytokines of the IL-1 family: recognized targets in chronic inflammation underrated in organ transplantations. *Clin Sci (Lond).* 2017; 131(17): 2241–2256, doi: [10.1042/CS20170098](https://doi.org/10.1042/CS20170098), indexed in Pubmed: [28798075](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28798075/).
 77. Aida-Yasuoka K, Peoples C, Yasuoka H, et al. Estradiol promotes the development of a fibrotic phenotype and is increased in the serum of patients with systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther.* 2013; 15(1): R10, doi: [10.1186/ar4140](https://doi.org/10.1186/ar4140), indexed in Pubmed: [23305385](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23305385/).
 78. Racanelli V, Prete M, Musaraj G, et al. Autoantibodies to intracellular antigens: generation and pathogenetic role. *Autoimmun Rev.* 2011; 10(8): 503–508, doi: [10.1016/j.autrev.2011.03.001](https://doi.org/10.1016/j.autrev.2011.03.001), indexed in Pubmed: [21397735](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21397735/).
 79. Chen W, Frank M, Jin W, et al. TGF- β Released by Apoptotic T Cells Contributes to an Immunosuppressive Milieu. *Immunity.* 2001; 14(6): 715–725, doi: [10.1016/s1074-7613\(01\)00147-9](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(01)00147-9).