

Lék od mořského hada a další překvapení

Peptid z jedu hada vodnáře účinkuje proti mikroorganismům a příliš mnoho soli v potravě může způsobit zánět plic. Jednou ze zbraní proti autoimunitním chorobám je „holení“ klíčových proteinů z povrchu dendritických buněk. A uměle vytvořený interleukin může potlačovat nežádoucí imunitní reakci. Další porce imunologických novinek:

text **VÁCLAV HOŘEJŠÍ**

ANTIMIKROBIÁLNÍ PEPTIDY (dlouhé zhruba 10–50 aminokyselin) jsou zajímavou a hlavním proudem imunologie trochu přehlíženou skupinou molekul, podílející se na obraně proti patogenním mikroorganismům. Tyto molekuly jsou díky specifickému uspořádání hydrofobních a pozitivně, resp. negativně nabitých aminokyselinových zbytků v polypeptidovém řetězci schopny vázat se na povrchové membrány některých mikroorganismů, vytvářet v nich póry a tím je hubit.

Pozoruhodná je selektivita tohoto působení – tyto peptidy samozřejmě nesmějí napadat buňky organismu vlastní, ale pouze buňky potenciálních škůdců; dosáhnout toho zjevně lze v důsledku odlišnosti lipidového a proteinového složení povrchových membrán buněk vlastních a mikrobiálních.

Antimikrobiální peptidy byly izolovány a charakterizovány např. z hemolymfy

hmyzu (cekropiny, moricin), hmyzího jedu (melitin) či kůže obojživelníků (magainin, dermaseptin, buforin). Máme je ale i my savci, a to jak v lyzozomech fagocytů, tak především ve většině epitelálních buněk; převaha z nich spadá do skupin tzv. kantelicidinů a defensinů.

Nedávno byl objeven velmi zajímavý a potenciálně prakticky využitelný antimikrobiální peptid ze skupiny kantelicidinů v jedu mořského hada vodnáře modroskrvného (*Hydrophis cyanocinctus*).¹ Je složen z třiceti aminokyselin, účinkuje proti širokému spektru bakterií, kvasinek a plísní a téměř neubližuje savcím buňkám. Pozoruhodné je, že je schopen nejen proděravět mikrobiální membrány, ale má i výrazné protizánětlivé účinky, protože inhibuje produkci zánětlivých cytokinů (TNF- α , IL-1 β , IL-6) vyvolanou bakteriálními lipopolysacharidy. Hadí kantelicidin se totiž váže na molekuly

lipopolysacharidů gramnegativních bakterií a tím zabraňuje jejich agonistické vazbě na receptor TL4. Tento unikátní peptid má tedy evidentně zajímavý terapeutický potenciál, a to zvláště v nynější době, kdy vzrůstá odolnost bakterií proti běžným antibiotikům.

Antibakteriální peptidy se dají poměrně snadno uměle syntetizovat (nebylo by tedy třeba masově lovit vodnáře nebo zřizovat jejich chovy), avšak jsou dosti citlivé ke štěpení různými proteolytickými enzymy. Tato nevýhoda by se ale jistě dala minimalizovat některými syntetickými úpravami.

OSOLENÉ MAKROFÁGY

Všichni víme, že přílišné solení pokrmů zvyšuje riziko řady chorob. Není však příliš jasné, jaké buněčné mechanismy jsou za to odpovědné. Recentní studie čínského výzkumného týmu ukazuje, že zvýšená koncentrace chloridu sodného výrazně negativně ovlivňuje chování myšičích i lidských makrofágů.²

Je dobře známo, že existují dva základní typy těchto buněk – makrofágy typu M1 typicky stimulují zánětlivé reakce a intenzivně fagocytují, zatímco buňky typu M2 mají protizánětlivé účinky, uplatňují se při

hojení tkání poškozených zánětlivou reakcí a bohužel také podporují vznik a vývoj nádorů. Makrofágy vystavené zvýšené koncentraci soli mají podle nové studie prozánětlivý charakter podobný, ale odlišný od M1. Obzvláště výrazně se projevuje u makrofágů plicních a přispívá k vzniku patologických zánětů tohoto životně důležitého orgánu.

Zmíněná studie se nezabývala tím, jak se tyto „osolené“ makrofágy chovají ve vztahu k nádorovým buňkám. Otázku, jak přeměnit tlumivé (a nádorům pomáhající) makrofágy typu M2 na prozánětlivé (a protinádorový) typ M1, řešili autoři jiné recentní studie, která ukázala, že toho lze docílit působením polysacharidu β -glukanu izolovaného z kvasinek.³ Tato charakteristická komponenta buněčných stěn kvasinek a hub je rozpoznávána lektinovým receptorem přítomným na povrchu makrofágů, dendritických buněk a granulocytů a je samozřejmě signálem pro zahájení imunitní reakce proti kvasinkovému a plísněnému patogenům. Blahodárným vedlejším účinkem zřejmě je i posílení protinádorových imunitních mechanismů demonstrováné v nynější práci: β -glukan podávaný experimentálním zvířatům perorálně, nebo injekčně významně potlačoval růst nádorů.

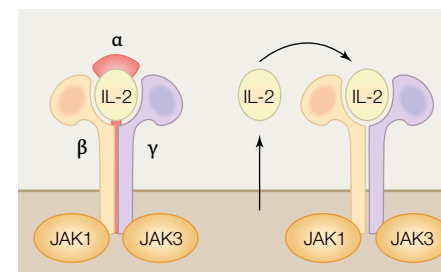
Mimochodem bohatým zdrojem β -glukanu s imunomodulačními a údajně protinádorovými účinky je také např. chutná houba hlíva ústříčná (*Pleurotus ostreatus*).

REGULAČNÍ T-LYMFOCYTY V AKCI

Několik typů regulačních T-lymfocytů (Treg) má zásadní důležitost pro kontrolu toho, aby imunitní reakce nebyly příliš intenzivní a nepůsobily tak více škody než užítka a aby nevznikaly autoimunitní choroby. Správně by se jim tedy mělo říkat tlumivé nebo supresorové T-lymfocyty, ale ze zajímavých historických důvodů se jim tak neříká (Vesmír 78, 565, 1999/10).

Buňky Treg jsou schopny tlumit imunitní reakce na několika úrovních: Produkují tlumivé cytokiny, které poskytují některým typům imunitních buněk negativní, tlumivé signály. Dále vychytávají aktivační cytokin IL-2 (viz níže), kterého se pak nedostává ostatním T-lymfocytům. A také produkují enzym, který rozkládá aminokyselinu tryptofan potřebnou pro zdárnou aktivaci T-lymfocytů.

Velmi důležité je ale také to, že Treg negativně ovlivňují dendritické buňky, spolupracovnice T-lymfocytů nezbytné pro jejich aktivaci a diferenciaci. Hlavní mechanismus tohoto děje je založen na tom, že na povrchu Treg je velké množství proteinu CTLA-4, který silně váže povrchové



2. CYTOKIN IL-2 působí na cílové buňky prostřednictvím dvou typů receptorů. První je přítomen na povrchu mnoha typů leukocytů a skládá se z podjednotek β a γ . Aktivované T-lymfocyty mají na svém povrchu kromě toho vysokofinální receptor, který obsahuje navíc ještě třetí podjednotku α . Vnitrobuněčné úseky obou receptorů jsou asociovány s kinázami JAK1 a JAK3, které se po navázání IL-2 na receptor aktivují a zahajují signalizaci. Jak je schématicky znázorněno na obrázku, IL-2 je tzv. autokrinní růstový faktor – je produkován T-lymfocyty, které jej samy využívají pro posílení své aktivity.

stimulační proteiny dendritických buněk zvané CD80 a CD86. V nepřítomnosti Treg se tyto stimulační proteiny vážou na receptor CD28, který pak poskytuje T-lymfocytům silný aktivační signál. Buňky Treg pomocí povrchového proteinu CTLA-4 tedy soutěží s CD28 o limitované množství převelice důležitých proteinů CD80 a CD86 (obr. 1).

Protein CTLA-4 je poněkud neobvyklý tím, že velmi rychle recykluje – je z povrchu buněk Treg pohlcován endocytózou a poté se opět vrací na buněčný povrch. Smysl tohoto chování byl doposud nejasný. Nyní byl důvod objeven – ukázalo se totiž, že protein CTLA-4 se na své ligandy CD80/CD86 nejen pevně váže, ale z povrchu dendritických buněk je doslova vytrhává (i s kouskem okolní membrány).⁴ Po endocytickém pohlcení komplexu CTLA-4-CD80/86 dojde k rozštěpení molekuly CD80/86 a návratu ke štěpení odolného CTLA-4 na buněčný povrch, kde může vbrzku ulovit další molekuly CD80 nebo CD86. Buňky Treg tak doslova selektivně oholí z povrchu dendritických buněk většinu těchto funkčně nezastupitelných molekul.

Tento jev (vytrhávání kousků membrány ze sousední buňky při mezibuněčném kontaktu) je ovšem již poměrně dlouho znám – říká se mu trogocytóza a je to zjevně způsob, jak si buňky mohou vyměňovat některé své povrchové molekuly. Klidně se pak např. na povrchu T-lymfocytu může nacházet značné množství některých molekul typických pro lymfocyt B.

VYLADĚNÝ INTERLEUKIN-2

Interleukin-2 (IL-2) byl objeven již před více než 35 lety jako jeden z prvních cytokinů. Je produkován aktivovanými T-lymfocyty

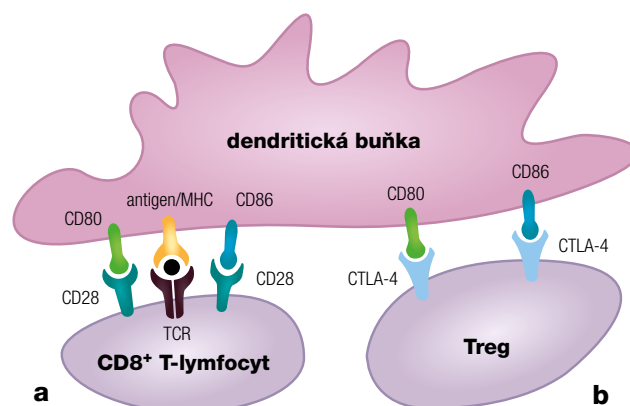
a podporuje další zesílení aktivity jak těch T-lymfocytů, které jej produkují (působí tedy jako tzv. autokrinní růstový faktor), tak jiných lymfocytů T, B, a NK. Je obzvláště důležitý pro normální přežívání regulačních T-lymfocytů (Treg), které chrání organismus před propuknutím autoimunitních chorob.

IL-2 působí na cílové buňky prostřednictvím dvou typů receptorů. První z nich, tzv. středněafinní, je přítomen na povrchu mnoha typů leukocytů a skládá se ze dvou podjednotek, β a γ . Aktivované T-lymfocyty mají na svém povrchu kromě toho vysokofinální receptor, který obsahuje navíc ještě třetí podjednotku α , což výrazně zvyšuje jeho afinitu k IL-2 (obr. 2). Vzhledem k jeho schopnosti posilovat funkce T-lymfocytů vědci věnovali mnoho úsilí pokusům o jeho terapeutické využití, a to zvláště v imunoterapii nádorů. V roce 1992 bylo skutečně schváleno jeho použití pro léčbu metastatického karcinomu ledvin, avšak vzhledem k poměrně závažným vedlejším účinkům vyšších dávek IL-2 jsou výsledky této terapie dosti skromné.

IL-2 byl testován také v experimentální imunoterapii pomocí tzv. LAK („lymphokine activated killer“) nebo TIL („tumor infiltrating lymphocytes“) buněk, tedy lymfocytů T a NK izolovaných z krve, resp. nádorového infiltrátu onkologických pacientů a in vitro inkubovaných s IL-2, což vedlo k posílení jejich protinádorových účinků. Účinnost IL-2 je možno výrazně zvýšit mutací několika klíčových aminokyselin tak, že takto uměle pozměněný „superkin“ se s vysokou afinitou váže i na onen jednodušší receptor složený z podjednotek β a γ .⁵

Před několika měsíci byla popsána další zajímavá uměle vytvořená varianta IL-2, která se sice silně váže na receptor, avšak takovým způsobem, že nedochází k normálnímu přenosu aktivačního signálu.⁶ Funkce receptoru je tak blokována (mutantní derivát IL-2 nedovolí ani vazbu normálního IL-2) a aktivace T-lymfocytů potlačena. Toho by bylo možno využít v situacích, kdy potřebujeme omezit nežádoucí imunoreaktivitu (např. při transplantaci kostní dřeně, u některých autoimunitních chorob), nebo potlačit množení leukemických T-lymfocytů.

Principiálně podobné cílené změny biologických aktivit bude určitě možno využít i u mnoha jiných cytokinů, což v budoucnosti jistě významně obohatí náš arzenál imunomodulačních léčiv. ●



1) <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M115.642645>.
2) <http://dx.doi.org/10.1038/cr.2015.87>.
3) <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.1501158>.
4) <http://dx.doi.org/10.1126/science.aaa1663>.
5) <http://dx.doi.org/10.1038/nature10975>.
6) <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2015.04.018>.