

Argomento della lezione

**CITOCHINE
DELL'IMMUNITÀ INNATA**

II parte

Chemochine

Le chemochine sono una grande famiglia di circa 50 citochine, omologhe per la struttura, che hanno il compito di:

- **Richiamare i leucociti nel sito dell'infezione**
- **Mediare il traffico dei linfociti**

Sono prodotte da differenti tipi di leucociti e da cellule di vari tessuti

Suddivisione in quattro famiglie di chemochine in base al numero e alla posizione dei residui di cisteina

CXC (Chr4,10)		IL-8 IP-10, SDF1 BCA-1	Neu T, NK B	CXCR1,2 CXCR3,4 CXCR5
CC (Chr17,16,9,2)		MCP, MIP, 6CCKs	Mo, DC, T, B, NK, Eo, Ba	CCR1-10
C (Chr1)		Linfotattina	T, NK	XCR1
CX3C (Chr16)		Fractalkine	T, NK, Mo	CX3CR1

Recettori

I loro recettori hanno una struttura caratteristica a sette domini ad α -elica di transmembrana, associate alle proteine G. Sono denominati aggiungendo una R ad una sottofamiglia: (es famiglia CXC, recettore CXCR)

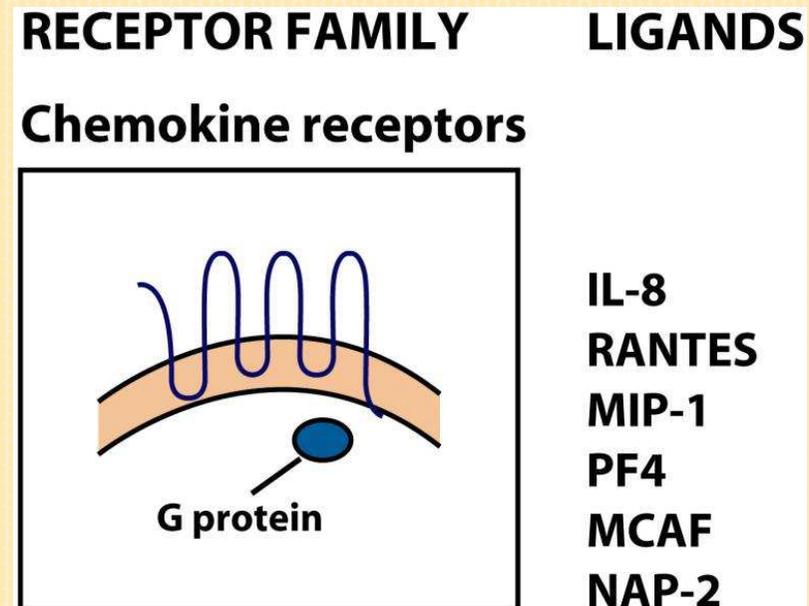


Figure 12-6e
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Sottofamiglia α - chemochine C-X-C (CXCL)
(Due residui di cisteina separati da un amminoacido qualsiasi)

CXC Family

Human Ligand	Receptor
GRO α	CXCR2>CXCR1
GRO β	CXCR2>CXCR1
GRO γ	CXCR2>CXCR1
PF4	?
ENA-78	CXCR2, CXCR1
GCP-2	CXCR1, CXCR2
NAP-2	CXCR2
IL-8	CXCR1, CXCR2
MIG	CXCR3
IP-10	CXCR3
I-TAC	CXCR3
SDF-1 α/β	CXCR4

Corecettore per il virus HIV

IL-8

ENA-78 (peptide di derivazione epiteliale attivante i neutrofili)

PF-4 (il fattore piastrinico- 4)

GRO- α (il fattore stimolante la crescita del melanoma)

Generalmente i membri della **famiglia α** sono prodotti dai **fagociti mononucleati**, dalle **cellule endoteliali** e dai **fibroblasti** attivati dal **TNF- α** e **IL-1** e sono citochine **attivatrici e chemiotattiche per i neutrofili** (sono mediatori dell'inflammatione acuta).

Sottofamiglia β - chemochine C-C (CCL)

Due residui di cisteina adiacenti

CC Family

Human Ligand	Receptor
I-309	CCR8
MCP-1	CCR2
MIP-1 α	CCR1, CCR5
MIP-1 β	CCR5
RANTES	CCR1, CCR3, CCR5
MCP-3	CCR1, CCR2, CCR3
MCP-2	CCR3
Eotaxin	CCR3
MCP-4	CCR2, CCR3
HCC-1	CCR1
MIP-1 δ , Lkn-1	CCR1, CCR3
TARC	CCR4, CCR8
MIP-3 β	CCR7
MIP-3 α	CCR6

Corecettore
per HIV

RANTES

MCP-1, MCP-2, MCP-3 (il fattore chemiotattico ed attivante i macrofagi)

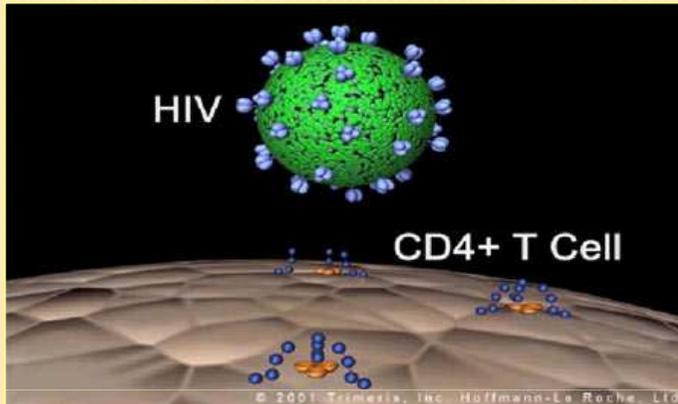
MIP-1 α , MIP-1 β (le proteine infiammatorie per i macrofagi)

eotassina (fattore chemiotattico ed attivante per gli eosinofili).

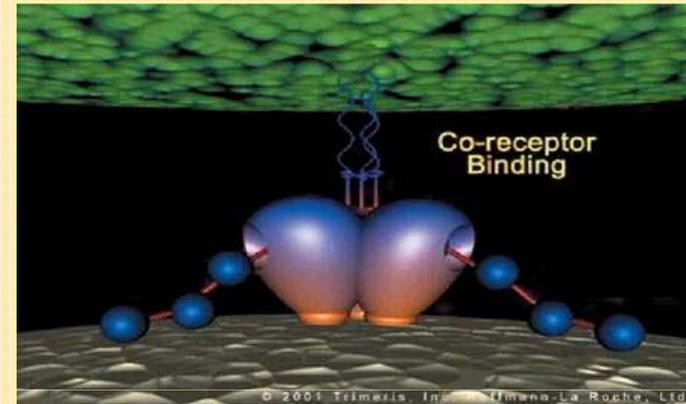
I membri della famiglia β sono prodotti dai linfociti T attivati e sono chemiotattici per i monociti e per gli stessi linfociti T.

Ingresso cellulare di HIV

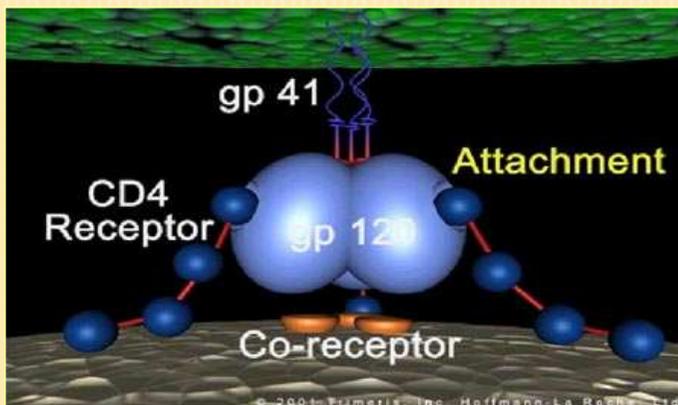
1) Avvicinamento HIV alla cellula bersaglio (Linfocita T-helper)



3) Legame col corecettore CCR5 o CXCR4



2) Interazione tra recettore CD4 e gp120 virale



4) Fusione tra le due membrane



Sottofamiglia γ - chemochine C (CL)

Un solo residuo di cisteina

C Family

Human Ligand	Receptor
Lp1n	XCR1
SCM-1 β	XCR1

Linfoactina (prodotto dai linfociti e fattore chemiotattico per gli stessi linfociti).

Chemochine CX₃C

Due residui di cisteina separati da 3 aminoacidi

CX₃C Family

Human Ligand	Receptor
Fractalkine	CX3CR1

Fractalina (prodotto dalle cellule endoteliali attivate e fattore chemiotattico per cellule NK, monociti e linfociti CD8⁺).

Denominazione attuale

β

α

γ

Chemokine	Original name	Chemokine receptor	Major function
CC chemokines			
CCL1	I-309	CCR8	Monocyte recruitment and endothelial cell migration
CCL2	MCP-1	CCR2	Mixed leukocyte recruitment
CCL3	MIP-1a	CCR1, CCR5	Mixed leukocyte recruitment
CCL4	MIP-1b	CCR5	T cell, dendritic cell, monocyte, and NK recruitment; HIV coreceptor
CCL5	RANTES	CCR1, CCR3, CCR5	Mixed leukocyte recruitment
CCL7	MCP-3	CCR1, CCR2, CCR3	Mixed leukocyte recruitment
CCL8	MCP-2	CCR3, CCR5	Mixed leukocyte recruitment
CCL9/CCL10		CCR1	?
CCL11	Eotaxin	CCR3	Eosinophil, basophil, and T _H 2 recruitment
CCL12	Unknown	CCR2	Mixed leukocyte recruitment
CCL13	MCP-4	CCR2, CCR3	Mixed leukocyte recruitment
CCL14	HHC-1	CCR1, CCR5	?
CCL15	MIP-1d	CCR1, CCR3	Mixed leukocyte recruitment
CCL16	HHC-4	CCR1, CCR2	?
CCL17	TARC	CCR4	T cell and basophil recruitment
CCL18	DC-CK1	?	Lymphocyte and dendritic cell homing
CCL19	MIP-3b/ELC	CCR7	T cell and dendritic cell migration into parafollicular zones of lymph nodes
CCL20	MIP-3a	CCR6	?
CCL21	SLC	CCR7	T cell and dendritic cell migration into parafollicular zones of lymph nodes
CCL22	MDC	CCR4	T cell and basophil recruitment
CCL23	MPIF-1	CCR1	?
CCL24	Eotaxin 2	CCR3	Eosinophil, basophil, and T _H 2 recruitment
CCL25	TECK	CCR9	Astrocyte migration
CCL26	Eotaxin-3	CCR3	Eosinophil, basophil, and T _H 2 recruitment
CCL27	CTACK	CCR10	Dermal cell migration
CCL28	MEC	CCR10	Dermal cell migration
CXC chemokines			
CXCL1	GROα	CXCR2	Neutrophil recruitment
CXCL2	GROβ	CXCR2	Neutrophil recruitment
CXCL3	GROγ	CXCR2	Neutrophil recruitment
CXCL4	PF4	CXCR3B	Platelet aggregation
CXCL5	ENA-78	CXCR2	Neutrophil recruitment
CXCL6	GCP-2	CXCR1, CXCR2	Neutrophil recruitment
CXCL7	NAP-2	CXCR2	Neutrophil recruitment
CXCL8	IL-8	CXCR1, CXCR2	Neutrophil recruitment
CXCL9	Mig	CXCR3	Effector T cell recruitment
CXCL10	IP-10	CXCR3, CXCR3B	Effector T cell recruitment
CXCL11	I-TAC	CXCR3	Effector T cell recruitment
CXCL12	SDF-1a/b	CXCR4	Mixed leukocyte recruitment; HIV coreceptor
CXCL13	BCA-1	CXCR5	B cell migration into follicles
CXCL14	BRAK		?
CXCL16	-	CXCR6	?
C chemokines			
XCL1	Lymphotactin	XCR1	T cell and NK cell recruitment
XCL2	SCM-1b	XCL1	?
CX₃C chemokines			
CX ₃ CL1	Fractalkine	CX ₃ CR1	T cell, NK cell, and macrophage recruitment; CTL and NK cell activation

Attività biologiche delle chemochine

Nei processi infiammatori le chemochine sono prodotte dai leucociti in risposta a stimoli esogeni

Le chemochine che regolano il traffico cellulare sono prodotte in assenza di stimoli esogeni (cioè sono espresse costitutivamente) dai diversi tipi cellulari presenti negli organi

Le chemochine promuovono l'angiogenesi e il riparo delle ferite

L'INTERFERON

INTERFERENZA VIRALE

- Cellule infettate da virus non possono essere ulteriormente infettate da ceppi omologhi (1935), né da ceppi virali antigenicamente diversi (1937)
- Il fattore che determina resistenza alla superinfezione (INTERFERENZA) è un fattore proteico solubile rilasciato nel mezzo di coltura (INTERFERON) (1957)
- Lo stato di resistenza antivirale può essere trasferito anche a colture di cellule non infette, incubate con terreno contenente l'Interferon

INTERFERONI

Gli interferoni (IFNs) sono stati divisi in due gruppi:

- l'**IFN- α** e l'**IFN- β** (**Tipo I**)
- l'**IFN- γ** (**Tipo II**), detto anche **IFN immune**

I due Tipi di IFN possono essere distinti in base al peso molecolare, alla sensibilità al pH acido, al calore e alla diversa capacità antivirale.

INTERFERONI UMANI

TABELLA 14-3

Caratteristiche degli interferoni umani

CARATTERISTICA	INTERFERONI		
	ALFA	BETA	GAMMA
Precedente denominazione	IFN-leucocitario	IFN-fibroblastico	IFN-immunitario
Geni	Tipo I > 20	Tipo I 1	Tipo II 1
Peso molecolare "dalton"*			
Sottotipi principali	16.000-23.000	23.000	20.000-25.000
Clonati †	19.000	19.000	16.000
Glicosilazione	No ‡	Sì	Sì
Stabilità a pH 2	Stabile ‡	Stabile	Labile
Induzione	Virus	Virus	Attivazione immunitaria
Principale fonte	Epitelio, leucociti	Fibroblasti	Linfociti
Presenza di introni nel gene	No	No	Sì
Grado di omologia con IFN-alfa	100%	30-50%	< 10%

Da White DO: *Antiviral chemotherapy, interferons and vaccines*, Basel, 1984, Karger; and Samuel CE: *Virology* 183: 1-11, 1991.
IFN, Interferone.

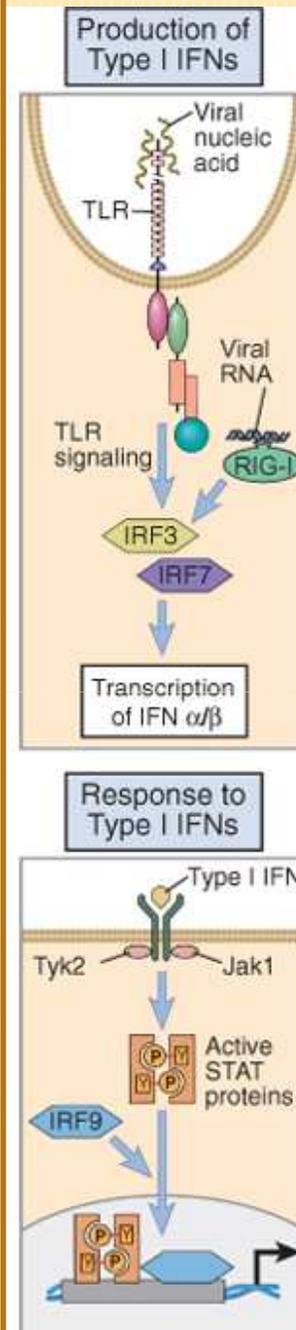
* Peso molecolare della forma monomerica. Gli interferoni sono spesso ritrovati sotto forma di polimeri.

† Forma non glicosilata, come viene prodotta per tecniche di ricombinazione genica in batteri.

‡ La maggior parte dei sottotipi, ma non tutti.

- **IFN α, β** : prodotti da quasi tutti i tipi di cellule infette
- **IFN γ** : prodotto solo dai linfociti Th1 attivati e cellule NK

Gli Interferon di tipo I sono prodotti dalle cellule infettate dai virus in risposta agli acidi nucleici virali che si legano ai vari PRR intracellulari TLR3, TLR7, TLR9, RIG-I, che portano all'attivazione del fattore di trascrizione IRF3/7



Tutti gli IFN di tipo I si legano ai recettori di tipo II

RECEPTOR FAMILY

**Class II cytokine receptors
(interferon)**

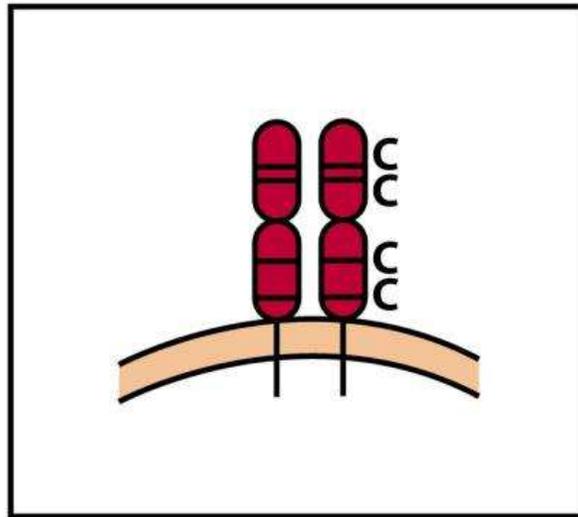


Figure 12-6c
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

LIGANDS

IFN- α

IFN- β

IFN- γ

IL-10

IL-19

IL-20

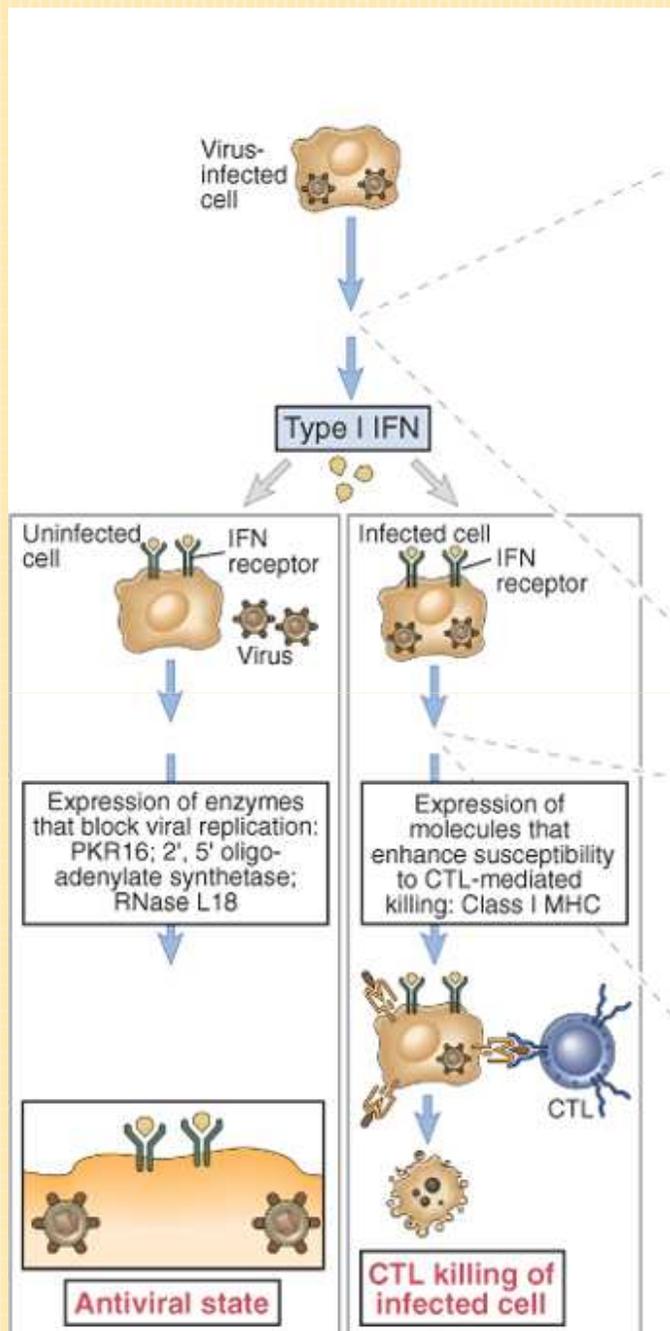
IL-22

IL-24

IL-26

IL-28

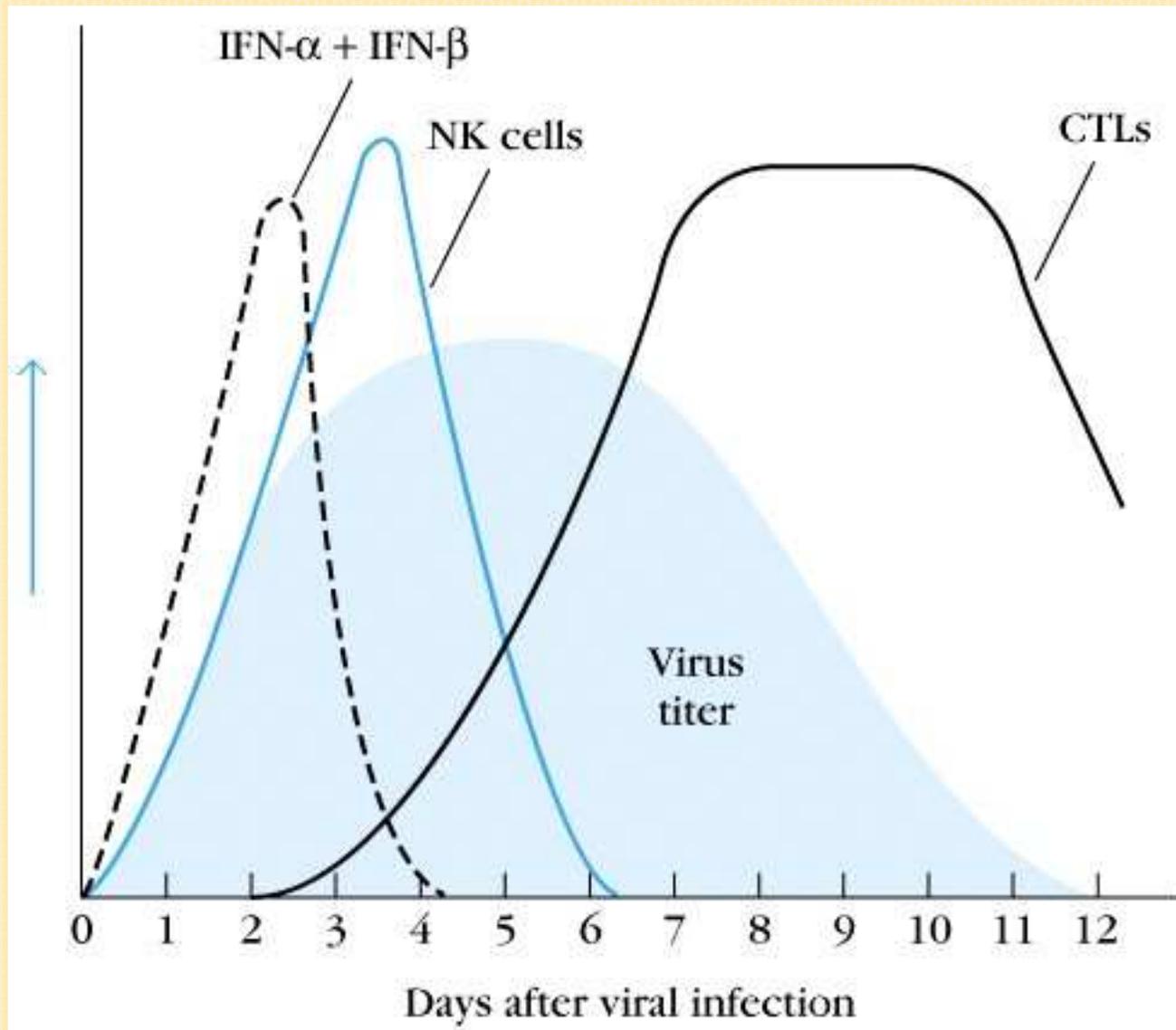
IL-29



Gli Interferon di tipo I svolgono due funzioni principali:

1. **Inibiscono la replicazione del virus;**
2. **Potenziano l'espressione delle molecole MHC di classe I con conseguente aumento dell'attività citotossica del CTL**

Attività biologica degli Interferoni			
	IFN-α	IFN-β	IFN-γ
Attività antivirale	si	si	si
Attività antiproliferativa su cellule normali e neoplastiche	si	si	si
Aumento dell'espressione MHC di classe I	si	si	si
Aumento citotossicità delle cellule CTL	si	si	si
Induzione ed aumento MHC di classe II	no	no	si
Attivazione macrofagi	no	no	si
Induzione scambio isotipico (IgG2) nelle cellule B	no	no	si
Aumento espressione CD64 e CD32	no	no	si
Antagonista degli effetti dell'IL-4 sui linfociti B	no	no	si
Inibitore della sottopopolazione Th2	no	no	si



Indications for Interferon Therapy

- ❖ IFN alpha
 - ❖ Hepatitis B & C, Hairy cell leukemia, Chronic myeloid leukemia, multiple myeloma, low grade lymphomas, Kaposi's Sarcoma, Melanoma
- ❖ IFN beta
 - ❖ Multiple Sclerosis, (Ulcerative colitis)
- ❖ IFN gamma
 - ❖ Chronic granulomatous disease, Chronic Myeloid Leukemia, Renal cell Carcinoma

INTERLEUCHINA-10 (IL-10)

L'interleuchina-10 (IL-10) è una **citochina anti-infiammatoria**, prodotta dai macrofagi attivati e dai linfociti Th regolatori, ed è implicata sia nel controllo dell'immunità innata che in quello dell'immunità acquisita cellulo-mediata.

Si lega ai recettori di tipo I.

Agisce

inibendo:

- la produzione di molte citochine infiammatorie, come il TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 (CXCL8) e IL-12;
 - la produzione delle prostaglandine E₂;
 - la produzione dell'anione superossido e dei metaboliti reattivi dell'ossigeno (ROI);
- L'espressione di molecole co-stimolatorie e delle molecole MHC di classe II nei macrofagi e cellule dendritiche
 - La trascrizione del gene per l'IL-2

Interleuchina-12

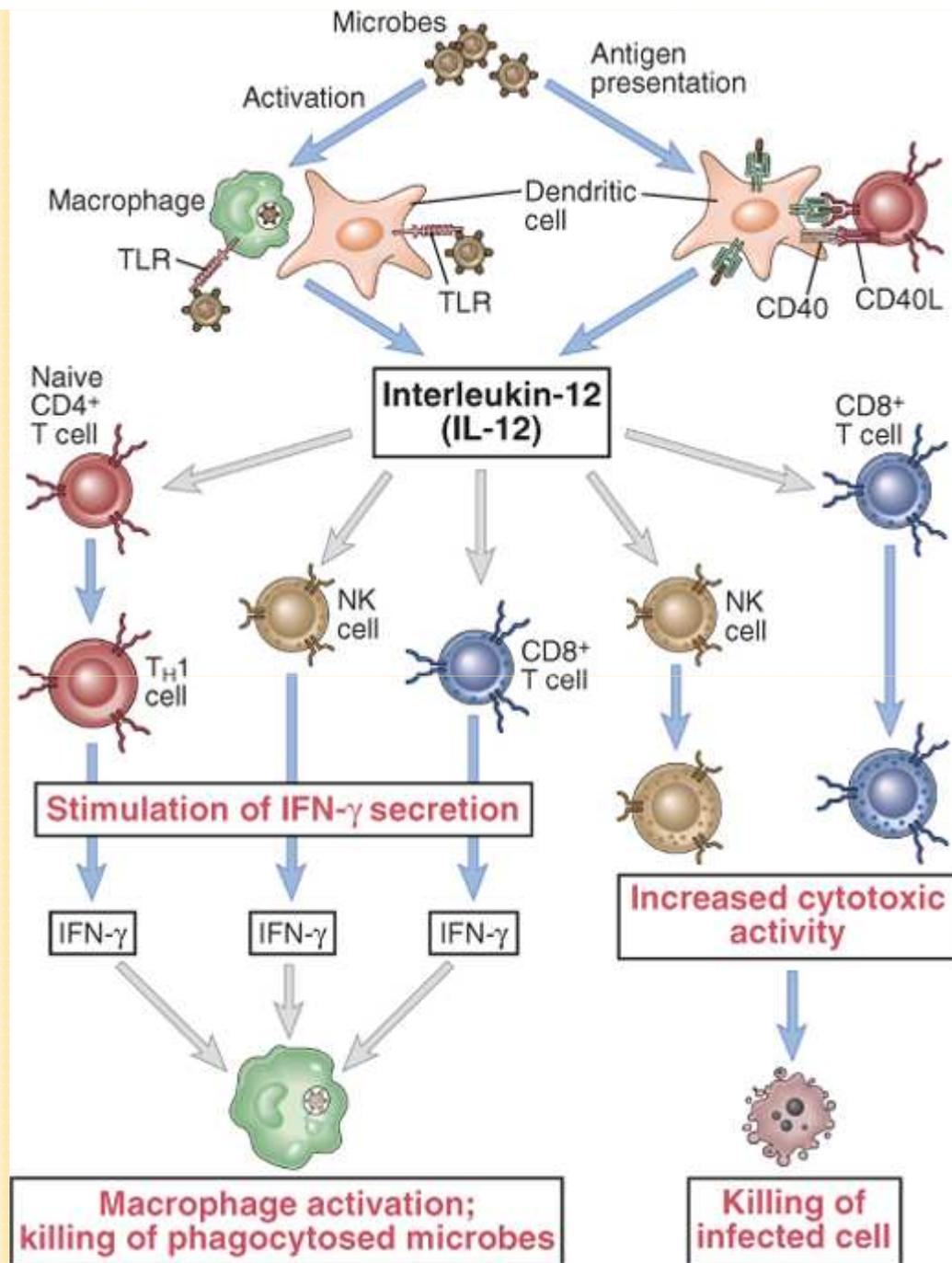
L'IL-12 è una citochina pro-infiammatoria, prodotta dai fagociti mononucleati e cellule dendritiche attivate.

E' il principale mediatore delle prime fasi delle risposte innate contro i **microrganismi intracellulari**.

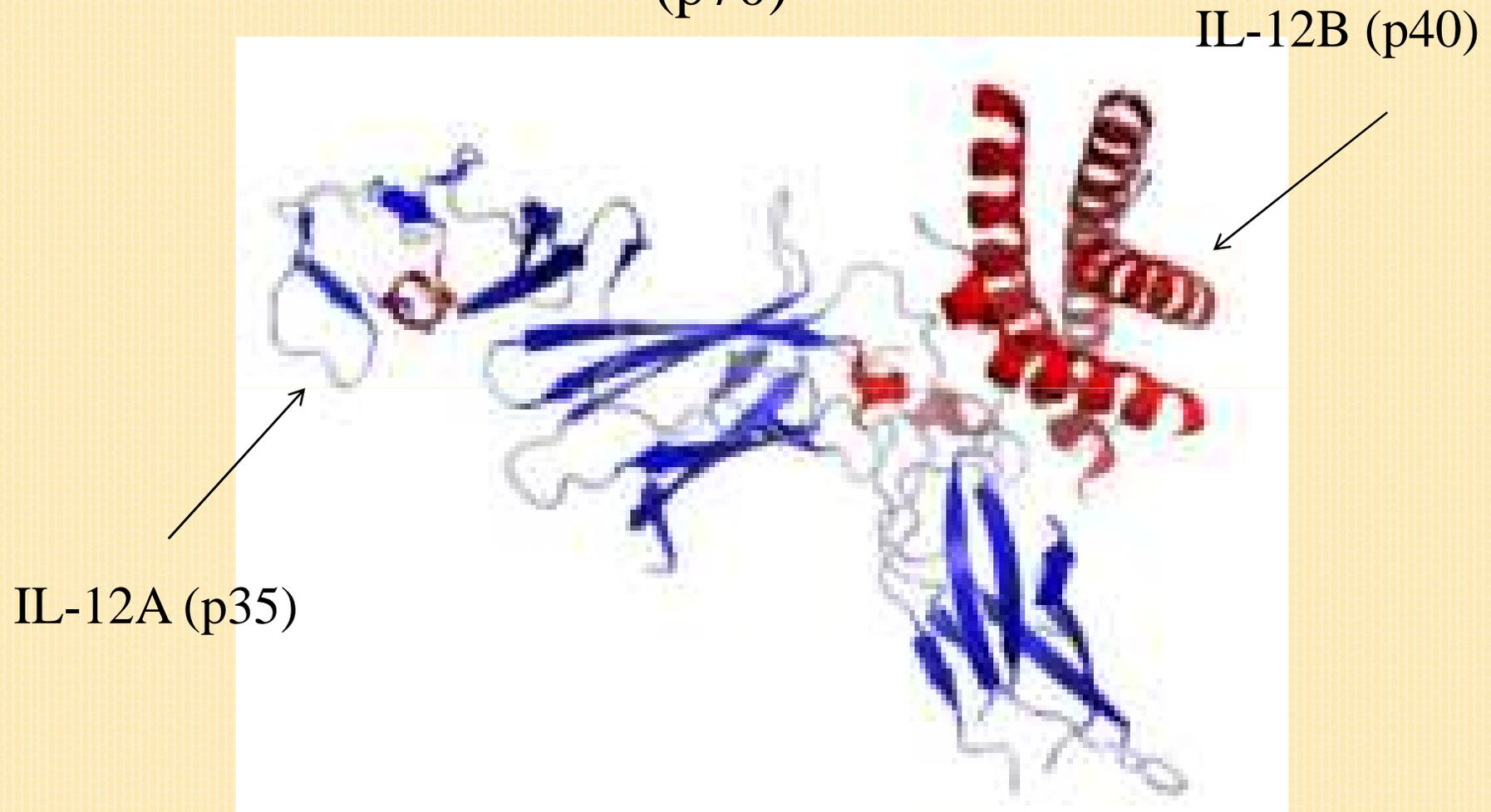
Svolge un ruolo centrale nell'induzione delle risposte cellulo-mediate.

Stimola la produzione di IFN- γ nei linfociti T e cellule NK. Insieme all' IFN- γ induce la differenziazione in Th1.

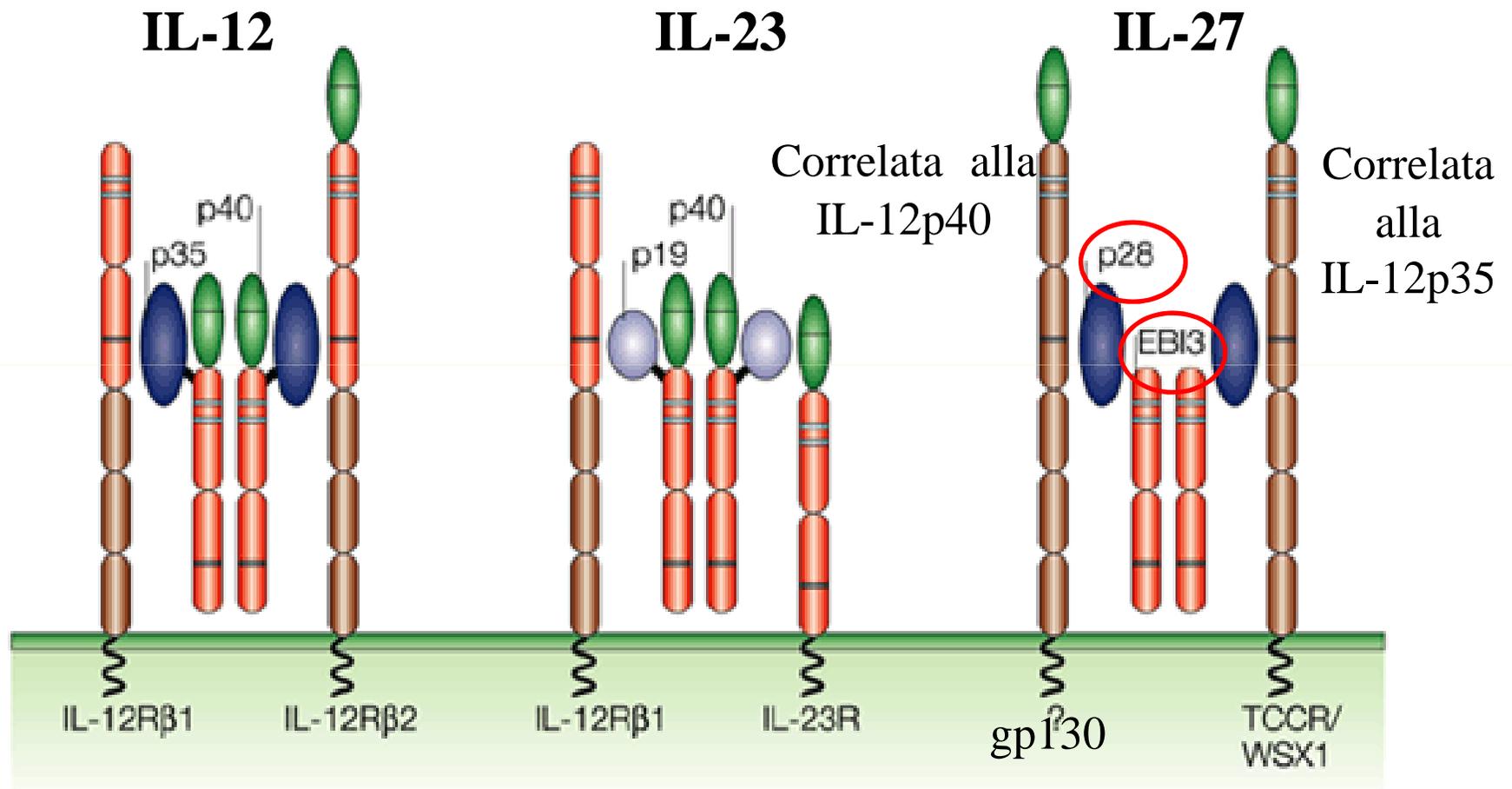
Potenzia l'attività citotossica delle cellule NK e dei CTL.



La molecola dell'IL-12 è un eterodimero
(p70)



THE IL-12 CYTOKINE FAMILY



Trinchieri, Nat Rev Immunol 2003, 19;641

INTERLEUCHINA-23

eterodimero: p19 and p40 (p40 come IL-12) e i loro recettori condividono la subunità IL-12R β 1

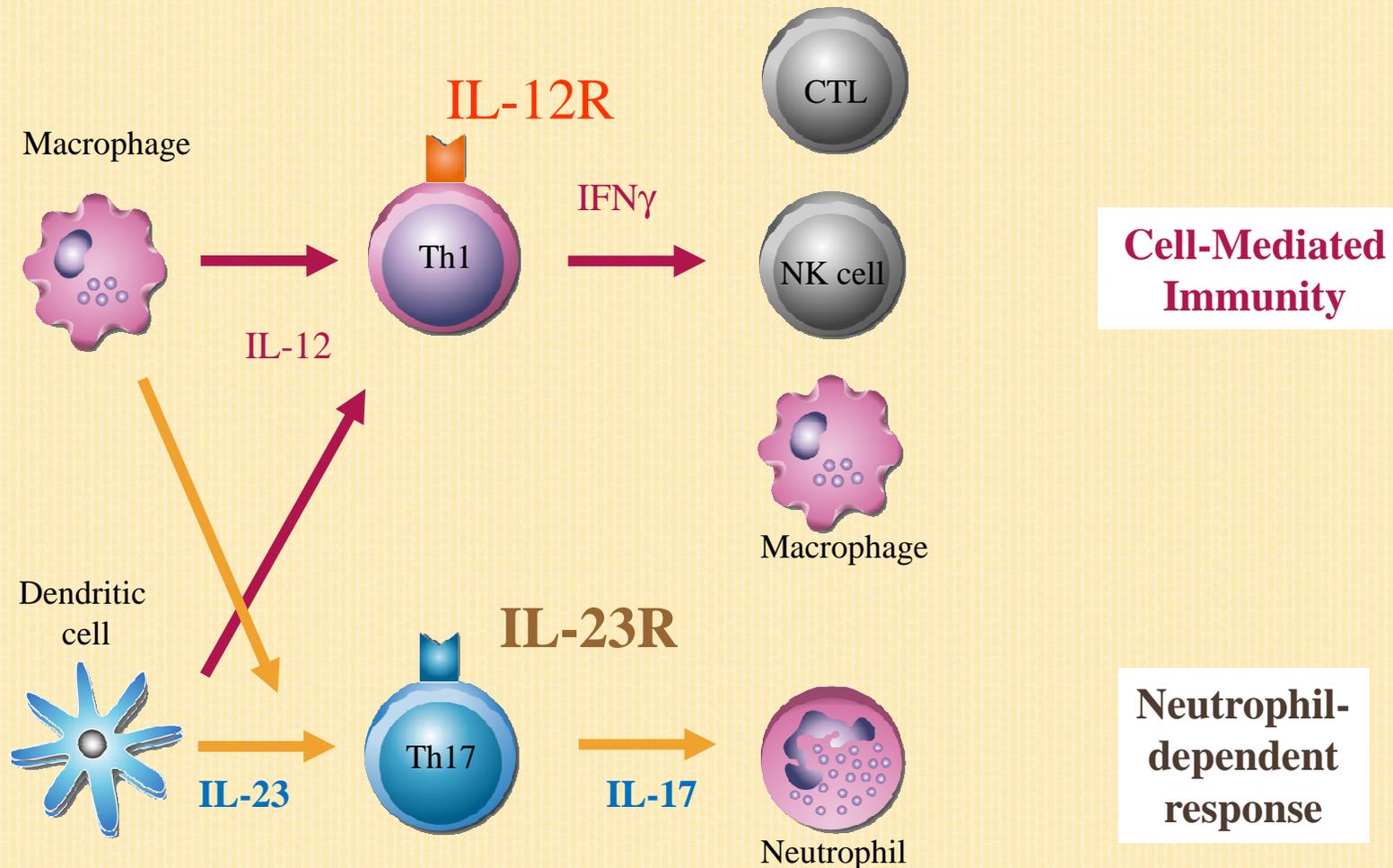
Prodotta dalle cellule dendritiche e dai macrofagi in risposta ad infezioni microbiche

Il recettore per l'IL-23 è espresso dai linfociti T e NK

Induce la sintesi della citochina pro-infiammatoria (IL-17) da parte dei CD4⁺ Th17

E' implicata nella manifestazioni infiammatorie abnormi, per es. nelle malattie autoimmuni

Synergistic Roles of IL-12 and IL-23 in Anti-Microbial Defenses



Adapted from Iwakura & Ishigame, J Clin Invest 116:1218-1222 (2006)

INTERLEUCHINA-27

E' un eterodimero composto da p28 (correlata alla IL-12p40) e da EBI3 (correlata alla IL-12p35) il suo recettore condivide la subunità gp130 con IL-6

Prodotta dalle cellule dendritiche e dai macrofagi in risposta alle infezioni

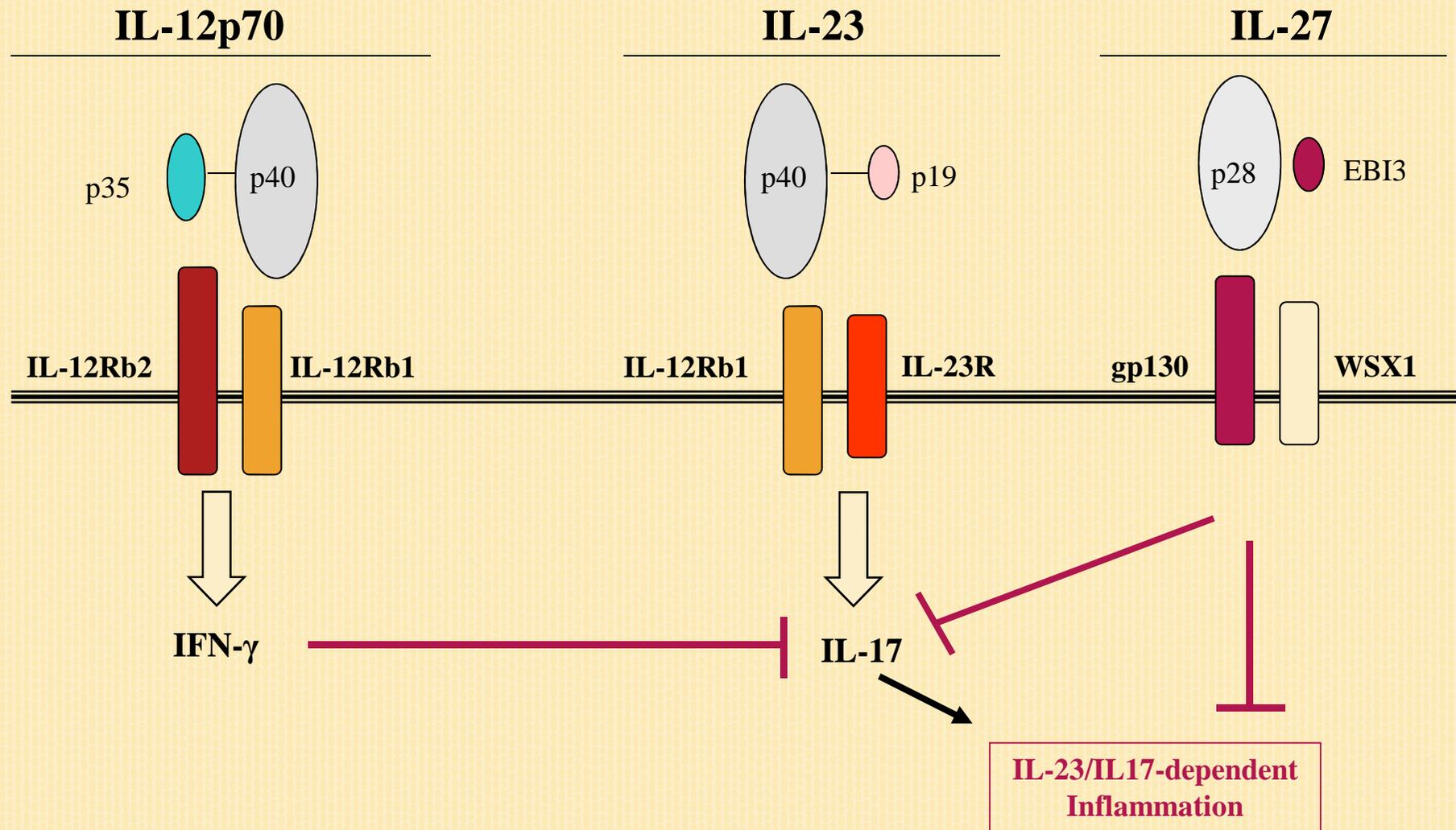
Il recettore per l'IL-27 è espresso dai linfociti T effettori, della memoria, regolatori e da cellule NK e NK-T quiescenti

Insieme all'IL-12 induce la differenziazione dei linfociti Th1 e la loro produzione di INF- γ

IL-27 ha un'azione opposta all'IL-23, in quanto inibisce la differenziazione dei Th17 e la produzione dell'IL-17.

Per questo può essere definita come una citochina pro-infiammatoria e anche anti-infiammatoria

KEY ACTIONS OF IL-12 CYTOKINE FAMILY MEMBERS



Novel Therapies Targeting IL-12 and IL-23

- Agents inhibiting both IL-12 and IL-23 through p40 blockade
 - Anti-IL-12/IL-23 p40 monoclonal antibody CNTO 1275 (human IgG1k, CentocoreR)
 - Anti-IL-12/IL-23 p40 monoclonal antibody ABT-874 (genetically modified human IgG1I, AbbottR)
 - Apilimod-STA-5326 : Oral inhibitor of IL-12p35 and IL-12/IL23 gene expression (c-Rel antagonist, Synta PharmaceuticalsR)
- Agents selectively inhibiting IL-23 through p19 blockade
 - Anti-p19 monoclonal antibody (Schering-PloughR)

IL-17

E' prodotta dalle cellule Th17

E' una citochina pro-infiammatoria. Aumenta la produzione delle chemochine come IL-8, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), e quindi promuove il reclutamento dei neutrofili e dei monociti.

Stimola, inoltre, la produzione di IL-6, di PGE2 e l'induzione della molecola ICAM, incrementando la risposta infiammatoria.

Stimola la produzione delle citochine ematopoietiche, quali G-CSF e (GM)-CSF.

Una produzione elevata dell'I'L-17 è associata con l'artrite reumatoide, la sclerosi multipla, LES e l'asma.

Interleuchina-15

L'attività dell'IL-15 è simile a quella dell'IL-2 .

E' sintetizzata precocemente nel corso delle infezioni virali e in risposta all'LPS dai fagociti mononucleati

Stimola la crescita linfociti T, soprattutto CTL e TIL e delle cellule NK.

E' chemiotattica per i linfociti T ed induce e potenzia il killing delle cellule LAK.

Interleuchina-18

Definito “fattore inducente IFN- γ ”, ha un’attività biologica simile all’IL-1.

E’ una citochina pro-infiammatoria, prodotta nell’infiammazione acuta in risposta all’LPS ed altri prodotti batterici e stimola la produzione di IFN- γ nelle cellule NK e Th, e in tal senso ha un’azione sinergica con l’IL-12.

E’ prodotta dai macrofagi e dalle cellule dendritiche, stimola la differenziazione dei linfociti Th1.

Si lega al recettore IL-1/TLR