

# Autophagie a imunitní odpověď



**Miroslav Průcha**

Klinická imunologie  
Nemocnice Na Homolce, Praha

Ostrava, 29. ledna 2019

# Historie



Nobel Prize 2016  
Yoshinori Ōsumi

<https://www.nobelprize.org/uploads/2018/06/ohsumi-lecture-slides.pdf>

# Autophagy wins the 2016 Nobel Prize in Physiology or Medicine: Breakthroughs in baker's yeast fuel advances in biomedical research

Beth Levine<sup>a,b,c,1</sup> and Daniel J. Klionsky<sup>d</sup>

Edited by Inder Verma, The Salk Institute for Biological Studies, La Jolla, CA, and approved December 7, 2016 (received for review December 2, 2016)

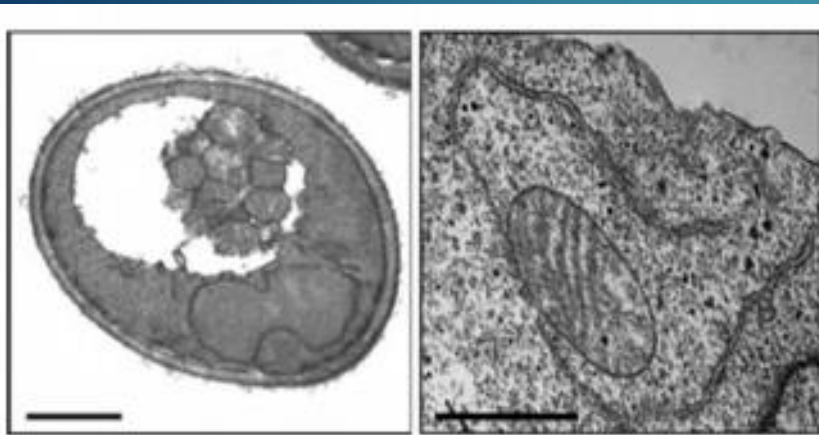


Fig. 1. Ultrastructure of autophagy in yeast and mammalian cells. (Left) Electron micrograph of a yeast (*S. cerevisiae*) cell with autophagic bodies in the vacuole during nitrogen starvation. Reproduced with permission from ref. 54. (Right) Electron micrograph of a forming autophagosome in an amino acid-starved *beclin 1*-deficient human breast cancer cell expressing exogenous Beclin 1. Courtesy of X. H. Liang, N. Furuya, Y. Wei, and B. Levine. (Scale bars, 1  $\mu\text{m}$ .)

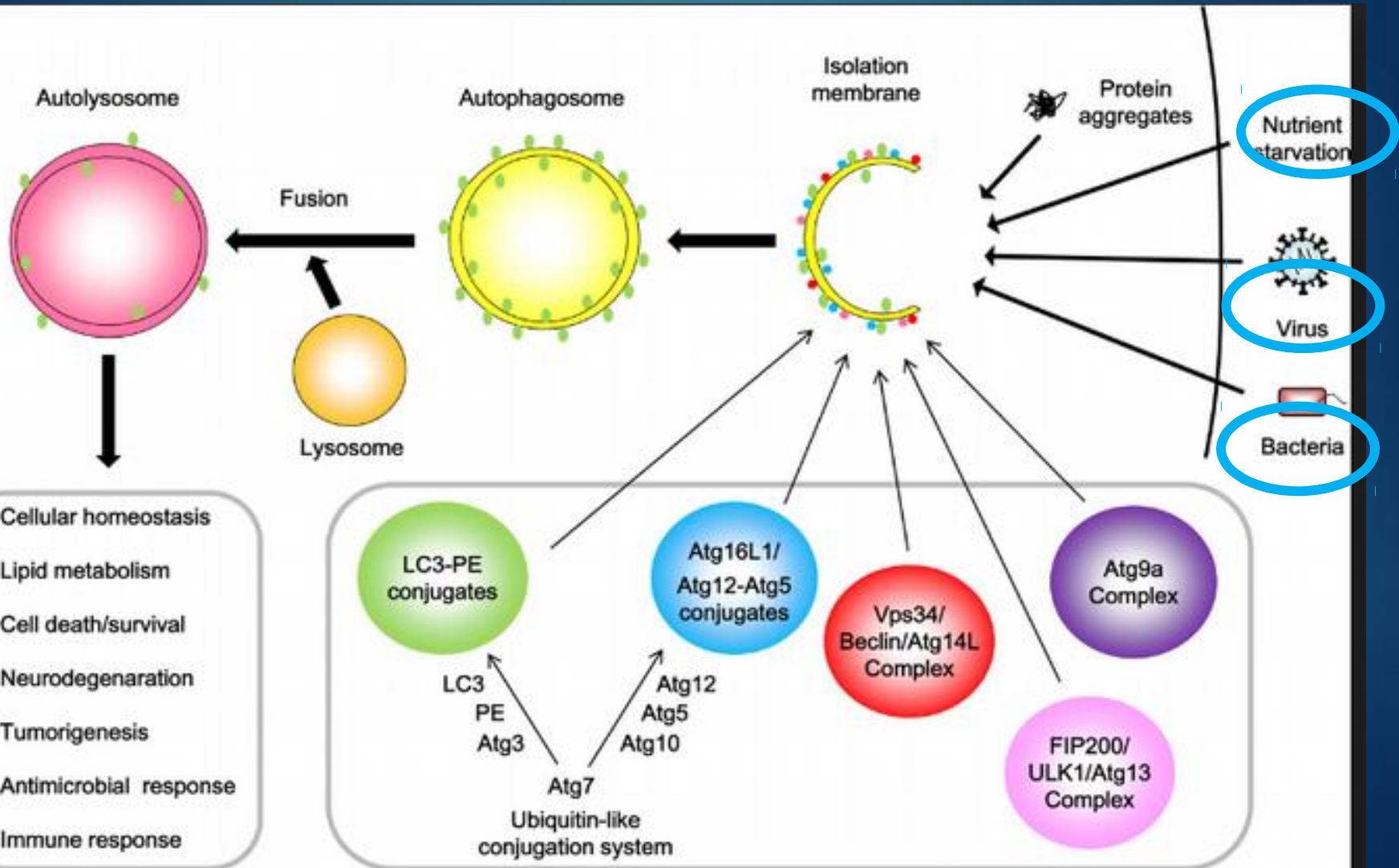
Jíst ...“phagy“ a „auto“

Lysosomální degradace

Obecný neselektivní  
mechanismus zachování  
homeostázy u eukaryotických  
organismů



# Autofagie jako univerzální mechanismus buněčné homeostázy



# Buněčná homeostáza

- ▶ Rovnováha mezi anabolickými a katabolickými pochody v buňce
- ▶ Katabolické - autofagicko-lysozomální cesta
  - ubiquitin-proteázový systém

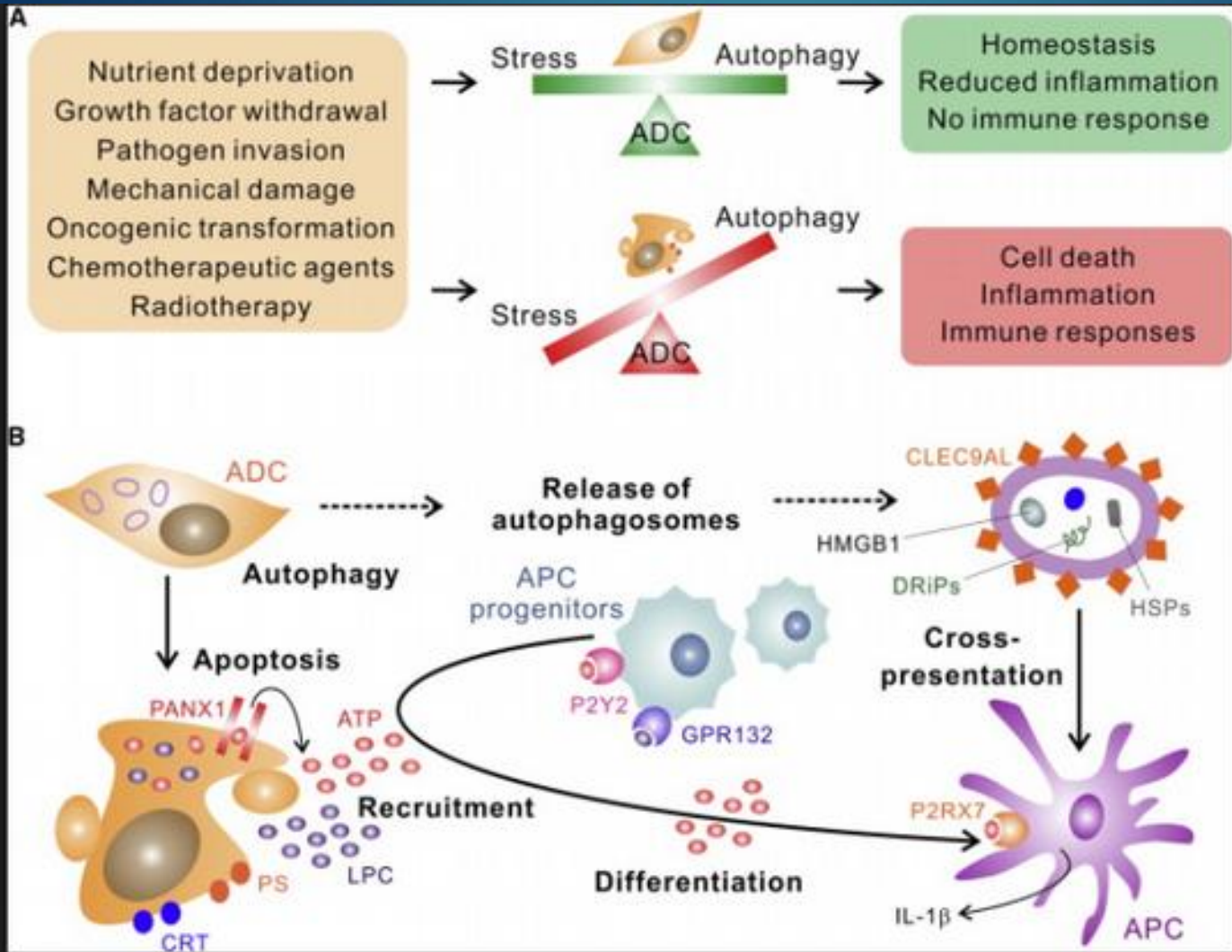
UPS – nevezikulární cytosolický mechanismus pro degradaci proteinů transkripce a buněčného cyklu (krátce žijící)

ALP – využívá vezikulární transport pro lysozomální degradaci a degraduje velké proteinové agregáty, poškozené orgány a cizorodý materiál (patogeny)

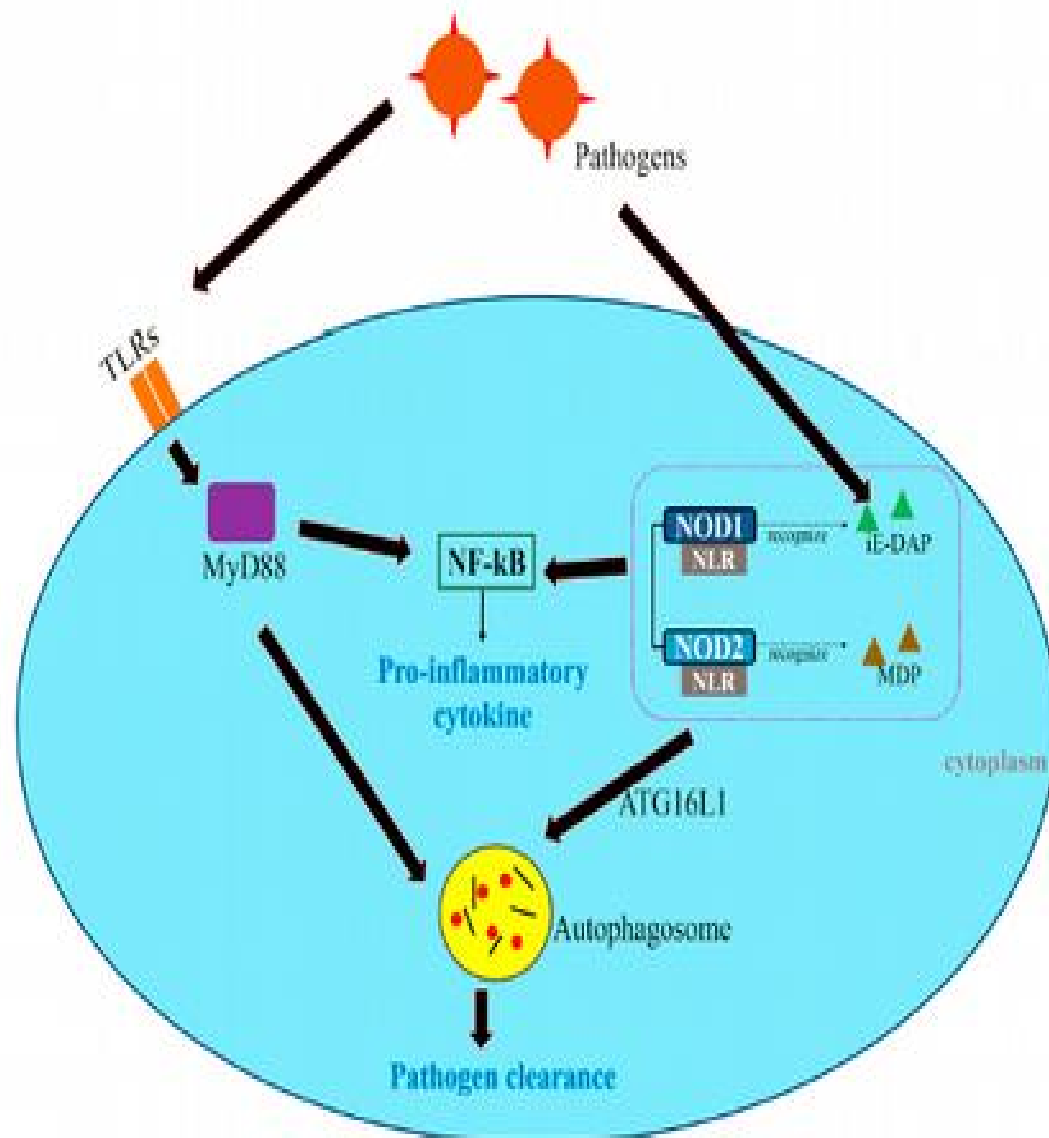
# Autofagie – cesta stresové odpovědi

- ▶ Buněčná homeostáza – dynamický stav , kde intrabuněčné mechanismy nepřetržitě odpovídají na vnitřní a vnější stimuly a udržují buňku ve stavu equilibria, který je kompatibilní s viabilitou buňky
- ▶ Za příznivých podmínek- přísunu živin nebo růstových faktorů buňky proliferují , akumulují energii a dosahují nového stavu homeostázy
- ▶ Za nepříznivých podmínek-stresu buňka alteruje intrabuněčné mechanismy, aby dosáhla taktéž stavu homeostázy

# 2 rozdílné odpovědi na stres – fyziologická a patologická s různými důsledky



# Imunitní odpověď u sepsy





# Autofagie a „antigen donor cells“

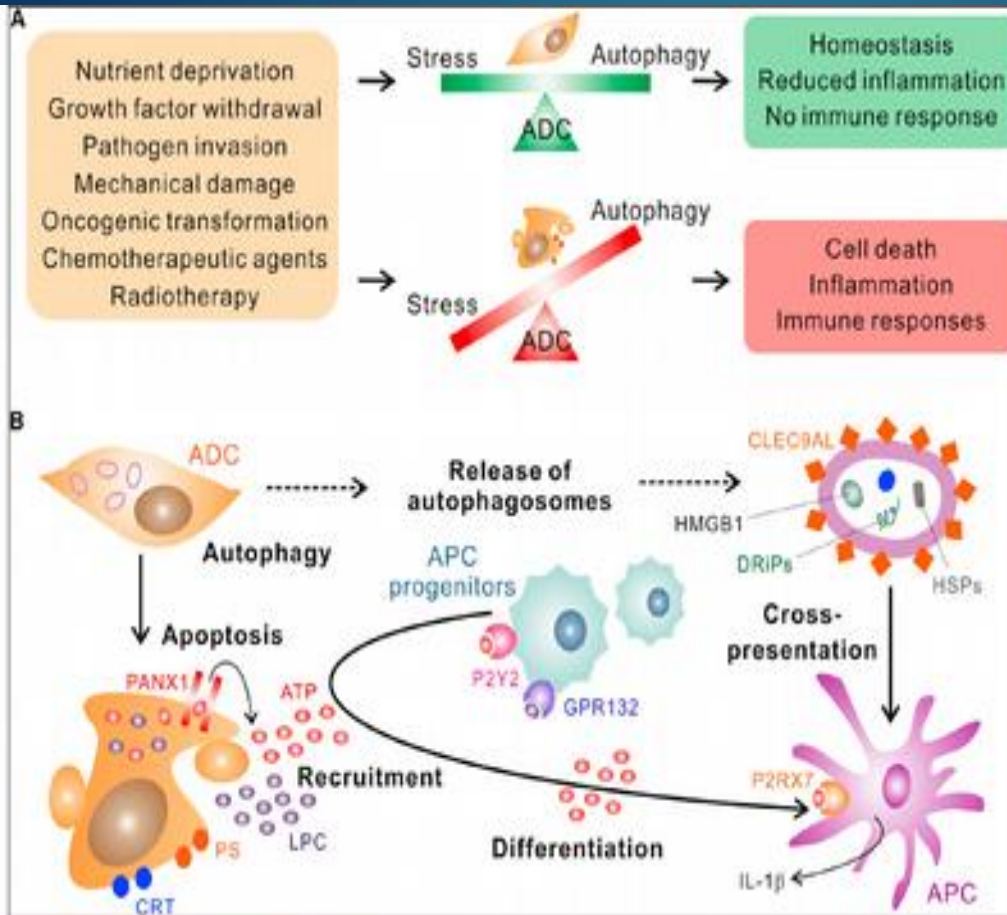
**SIGNÁLY**

„find me“  
uvolnění ATP a LPC  
(lysophosphatidylcholin)

„eat me“  
calreticulin a  
phosphatidylserin

Fungují jako  
chemoatraktanty  
pro APC....a usnadňují  
absorbci antigenů

Mrtvé ADC uvolňují intaktní  
autophagosom s obsahem  
antigenů patogenů, HSP,  
HMGB 1 .....

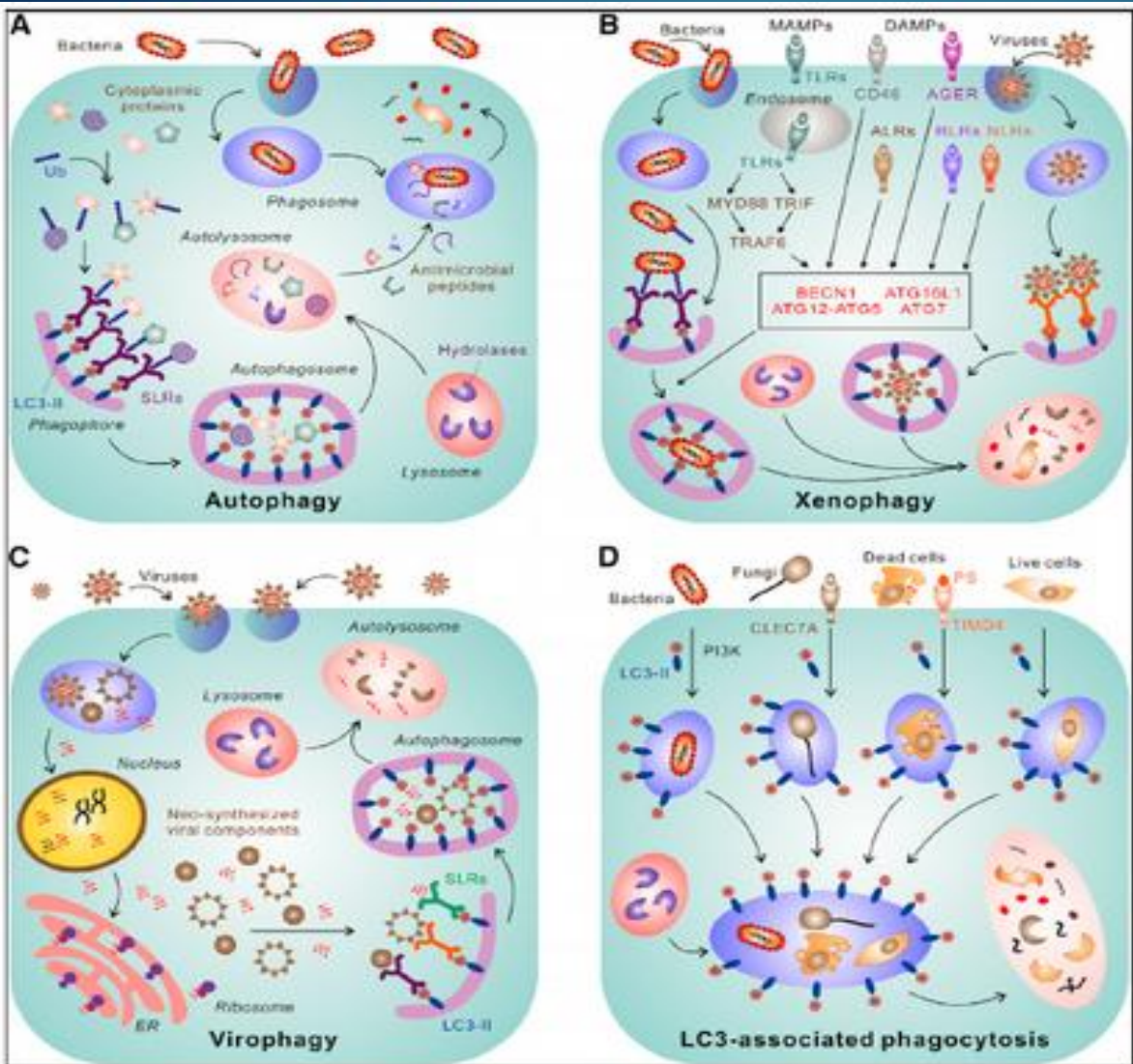


**Figure 3. Impact of Autophagy on Antigen Donor Cells**

(A) The life/death switch. In response to stressful conditions, including nutrient deprivation, growth-factor withdrawal, pathogen invasion, mechanical damage, oncogenic transformation, and exposure to chemotherapeutic agents or radiotherapy, autophagy is activated as a means of reestablishing cellular homeostasis and preventing inflammatory or immune responses. However, when stress conditions are too harsh or prolonged, the autophagic machinery is overwhelmed and thus fails to reestablish homeostasis. In this setting, the death of antigen donor cells (ADCs) is inevitable and is accompanied by the elicitation of inflammatory or immune responses.

(B) Autophagy in ADCs and its impact on immune responses. Premortem autophagic responses in ADCs enhance the release of "find-me" signals, such as ATP and lysophosphatidylcholine (LPC), as well as of "eat-me" signals, such as calreticulin (CRT) and phosphatidylserine (PS), which attract antigen-presenting cell (APC) progenitors and facilitate antigen uptake, respectively. ATP also stimulates the local differentiation of APCs as well as the activation of their inflammasome, resulting in the secretion of interleukin-1 $\beta$ . Dying ADCs can also release intact autophagosomes that contain not only multiple antigens but also heat-shock proteins (HSPs), CRT, high-mobility group box 1 (HMGB1), and defective ribosomal initiation products (DRIPs). Because C-type lectin domain family 9, member A (CLEC9A) ligand (CLEC9AL) is expressed on their surface, autophagosomes can be taken up by APCs, resulting in the crosspresentation of their antigenic cargo. Abbreviations are as follows: GPR132, G protein-coupled receptor 132; and PANX1, pannexin 1.

# I. Autofagie jako proces eliminace infekčních agens



A. Specif. ribosomální komponenty a cytosolické proteiny jsou cestou sequestosome –like proteinů dopraveny do autolysosomu, kde jsou konvertovány do antimikrobiálních peptidů, které působí jako endogenní ATB

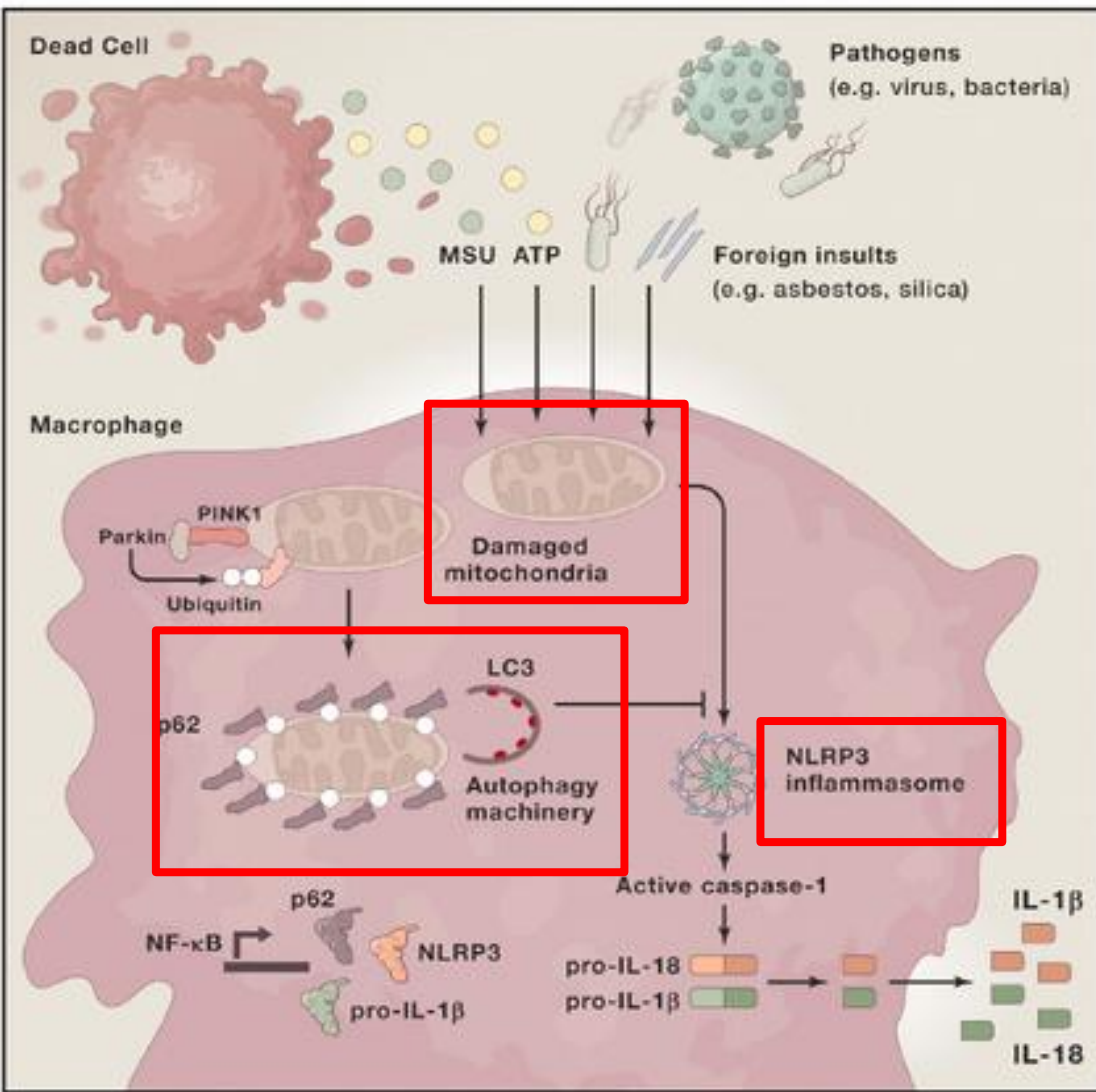
B. Xenofagie MAMPS nebo DAMPS se váží na PRRs a aktivuje se autofagie s lysosomální degradací patogenů

LC3 (microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3)



## II. Kontrola zánětu

### Autofagie a zánět ... potlačení intenzity zánětu



#### Figure 3. Mitophagy/Autophagy Dials Down Inflammation

Stimulation of macrophages with DAMP (e.g., ATP and uric acid), carcinogenic particles (asbestos and silica microfibers/crystals), or PAMP (e.g., bacterial toxins) results in mitochondrial damage that is characterized by loss of mitochondrial membrane potential and subsequent release of mtDNA and mtROS. These mitochondrial signals in turn activate the NLRP3 inflammasome to induce IL-1 $\beta$  and IL-18 secretion. Loss of mitochondrial membrane potential ( $\psi_m$ ) activates PINK1, a mitochondrial protein kinase that phosphorylates ubiquitin chains attached to mitochondrial outer membrane proteins. Phosphorylated ubiquitin interacts with and activates Parkin, an E3 ubiquitin ligase that further ubiquitinates mitochondrial outer membrane proteins. Ubiquitin-tagged mitochondria are recognized by the UBA domain of p62, whose expression is induced upon NF- $\kappa$ B activation. p62 also binds to LC3 and targets ubiquitinated mitochondria to autophagosomal clearance. By eliminating signal-emitting mitochondria, macrophage limits the extent of NLRP3 inflammasome activation. MSU, monosodium urate crystal; PINK1, PTEN-induced putative kinase 1; LC3, microtubule-associated protein 1A/1B light chain 3; NF- $\kappa$ B, nuclear factor-kappa B; UBA, ubiquitin association domain.

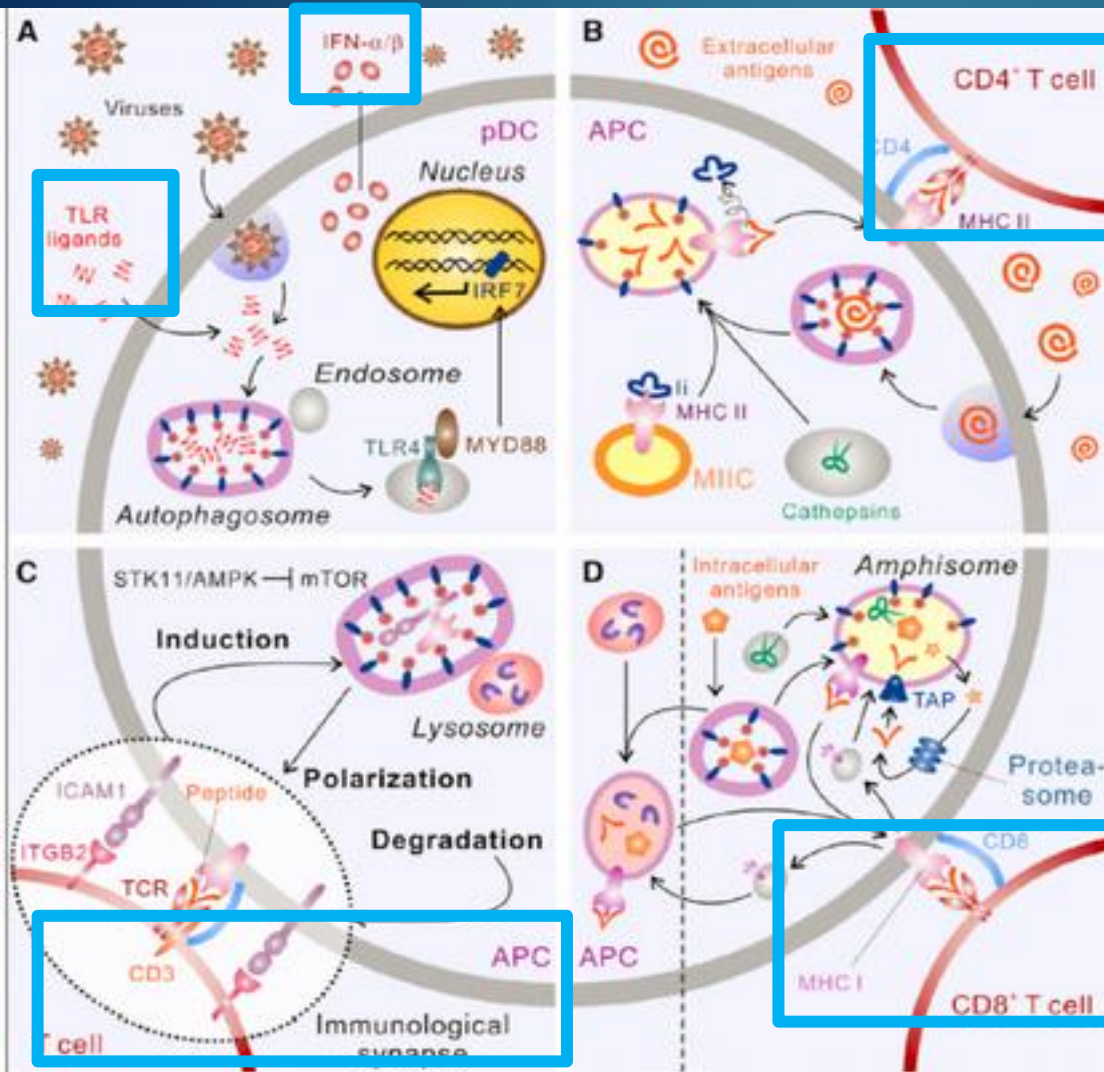
## II. Kontrola zánětu

Genetická asociace mezi geny pro autofagii u pacientů s Crohnovou chorobou, ulcerativní kolitidou nebo u tuberkulózy

Mechanismus: suprese aktivace inflamasonu



# III. Autofagie a prezentace antigenu cestou APC



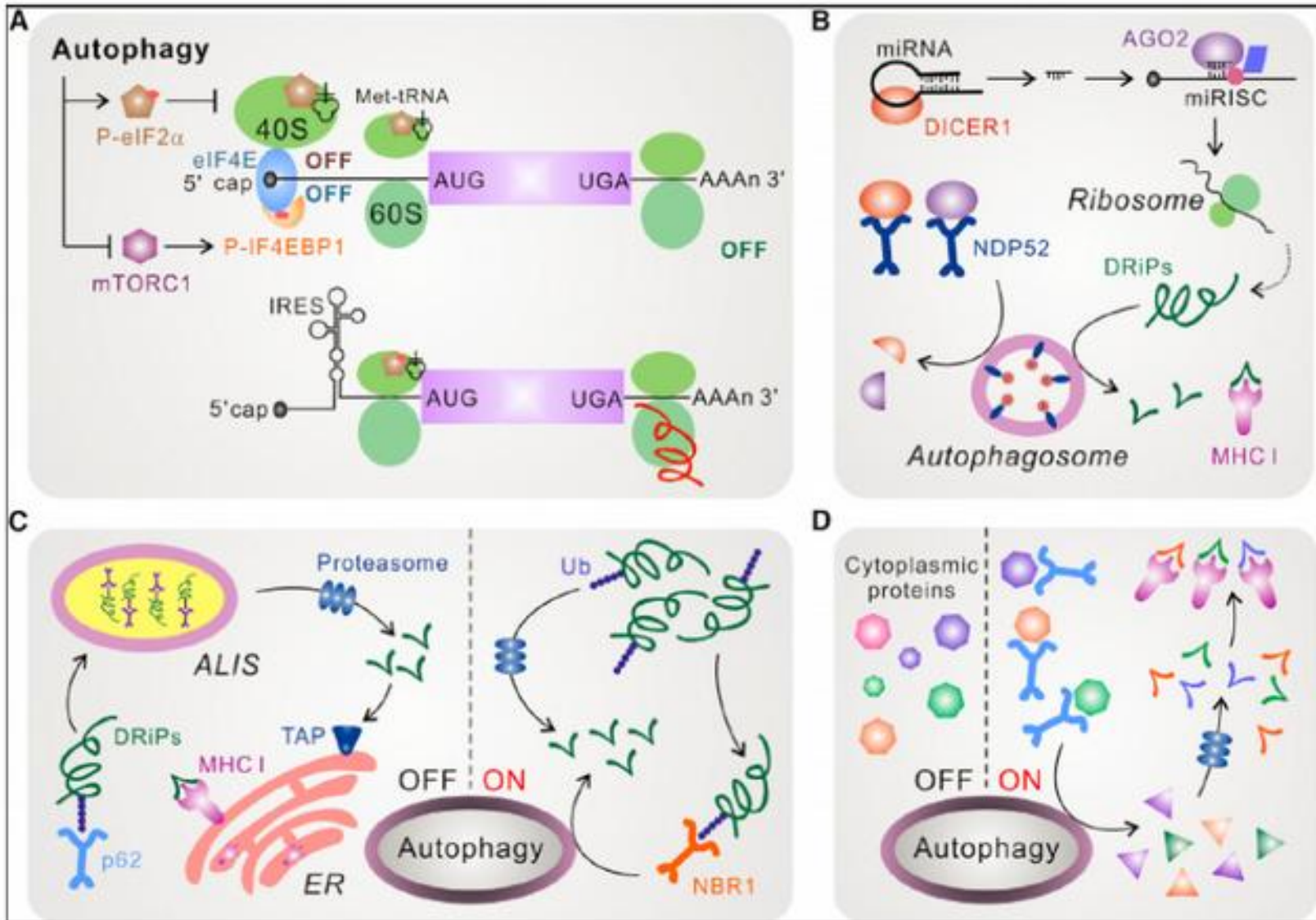
A) TLR ligandy sekvstrují do autofagosomů v důsledku se zvýšenou produkcí IFN

B) Prezentace MHC II antigenů CD4+ buňkám

C) Immunologické synapse a inhibice T buněčné aktvace

D) Prezentace MHC I antigenů CD8+ buňkám

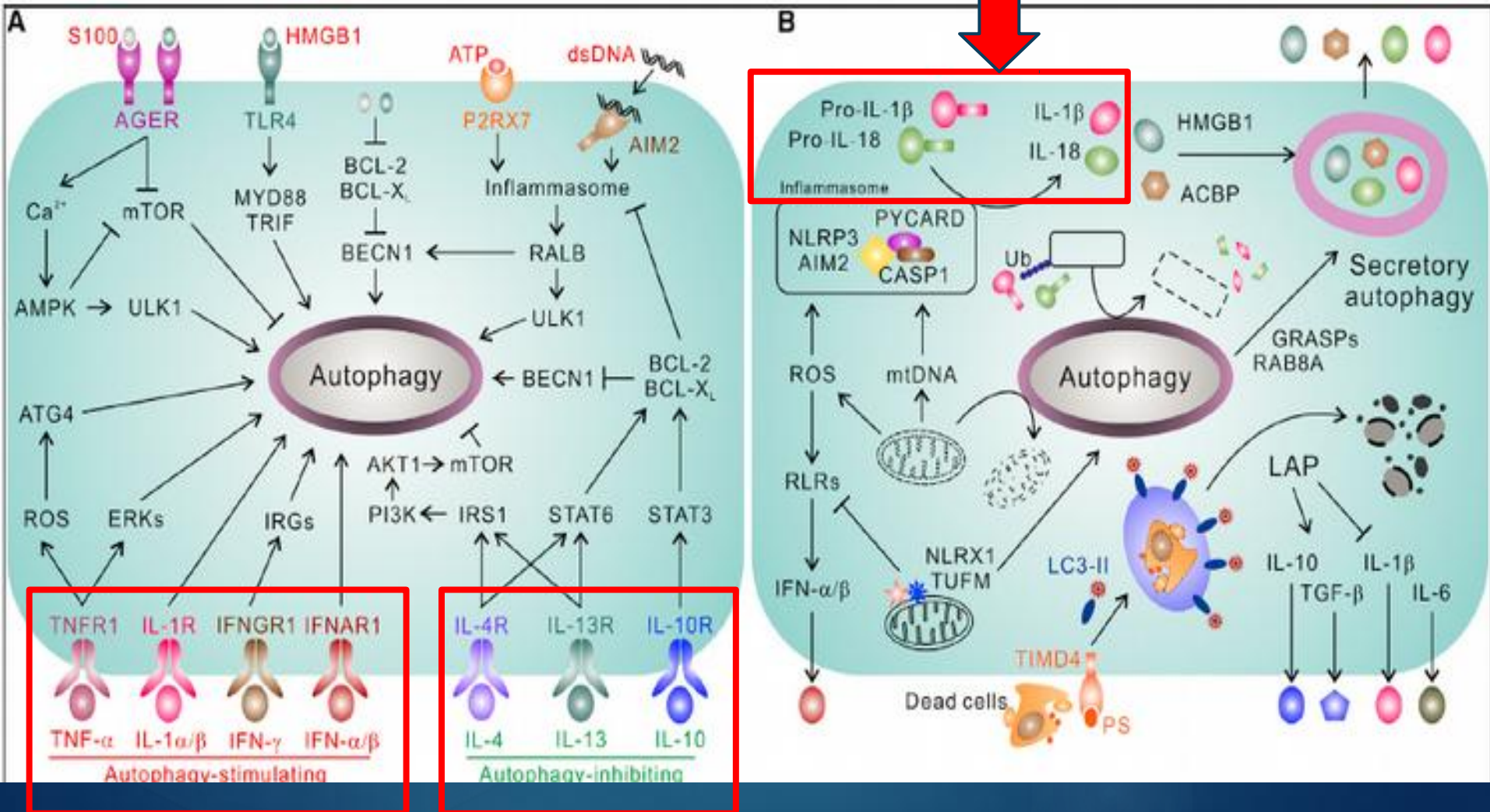
# Autofagie a vliv na imuno-peptidom – zprostředkuje degradaci některých antigenů což umožní jejich natrávení proteasomem – proces „liberalizace epitopů“





# IV. Autofagie - ovlivnění extracelulárními mediátory a její vliv na jejich produkci

INHIBICE IL-1 $\beta$  a IL-18



# SOUHRN

- ▶ Autofagie je základní eukaryotický homeostatický mechanismus, který ovlivňuje vrozenou a získanou imunitu. Autofagie je integrována s mechanismy PRR(pattern recognition receptors) a signalizací cytokinů.
- ▶ Autofagické receptory zvané sequestosome 1-like receptor cílí na intracelulární mikroorganismy mechanismem autofagie cestou ubiquitinové a galektinové cesty. Představují tak novou třídu PRR.



# SOUHRN

- ▶ Autofagie je významný protizánětlivý mechanismus, který inhibuje aktivaci inflamasomu a tak moduluje interferonovou odpověď typu I. Autofagie ovlivňuje sekreci zánětlivých a antimikrobiálních mediátorů
- ▶ Autofagie usnadňuje zrání phagosomu, ovlivňuje prezentaci antigenů, T b. homeostázu a polarizaci Th4.
- ▶ Existují genetické predispozice a fyziologické vztahy mezi autofagií a infekčními, zánětlivými a autoimunitními onemocněními u lidí

# SOUHRN

- ▶ Funkce autofagie u sepse je primárně protektivní ale dlouhodobý efekt může být škodlivý
- ▶ Nedostatečná autofagie suprimuje imunitní odpověď u sepse a zvyšuje mortalitu