



Kandidaatintutkielma

# Immuunijärjestelmän solut ja elimet

Markku Pollari

Oulun yliopisto  
Biokemian ja molekyyli lääketieteen tiedekunta  
2022

# Sisällysluettelo

Käytetyt lyhenteet

<b>1. Immuunijärjestelmän solut.....</b>	<b>- 7 -</b>
1.1. Alkuperä.....	- 8 -
1.2. Solutyypit.....	- 9 -
1.2.1. Basofiilit .....	- 10 -
1.2.2. Neutrofiilit .....	- 11 -
1.2.3. Eosinofiilit .....	- 11 -
1.2.4. Dendriittisolut.....	- 13 -
1.2.5. Monosyytit .....	- 13 -
1.2.6. Makrofaagit .....	- 14 -
1.2.7. Mastosyytit .....	- 15 -
1.2.8. Lymfosyytit .....	- 16 -
1.2.9. Natural Killer solut .....	- 22 -
1.2.10. Luontaiset lymfoidiset solut .....	- 23 -
<b>2. Elimet ja kudokset .....</b>	<b>- 28 -</b>
2.1. Luuydin.....	- 31 -
2.2. Kateenkorva.....	- 34 -
2.3. Perna.....	- 36 -
2.4. Imusuonet ja -solmukkeet.....	- 38 -
2.5. Risakudokset.....	- 44 -
2.6. Maksa.....	- 47 -
2.7. Peyerin plakit .....	- 48 -
2.8. Cryptopatchit ja lymfoidirakkulat.....	- 50 -
<b>3. Kirjallisuusviitteet .....</b>	<b>- 53 -</b>

## Käytetyt lyhenteet

HSC	Hematopoeettinen kantasolu (Hematopoietic Stem Cell)
ILC	Luontainen lymfoidinen solu (Innate Lymphoid Cell)
NK	Luontainen tappajasolu (Natural Killer)
CDX	Cluster of differentiation X, missä X on numeromääritys
IL-X	Interleukiini-X, missä X on numeromääritys (Interleukin)
IgX	Immunoglobuliini X, missä X on A, D, E, G tai M
TSLP	Tyyminen stromaalinen lymfopoietiini (Thymic Stromal Lymphopoietin)
PMN	Polymorfonukleaarinen (Polymorphonuclear)
NET	Neutrofiilin solunulkoisen ansa (Neutrophil Extracellular Trap)
NADPH	Nikotiiniamidiadeniininukleotidifosfaatin pelkistynyt muoto (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Hydrogen)
GM-CSF	Granulosyytti-Makrofaagi pesäkkeen muodostumista stimuloiva tekijä (Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor)
MBP	Major Base Protein
ECP	Eosinofiilin kationinen proteiini (Eosinophil Cationic Protein)
EPO	Eosinofiiliperoksidaasi (Eosinophil Peroxidase)
EET	Eosinofiilin solunulkoisen ansa (Eosinophile Extracellular Trap)
TGF- $\beta$	Transformoiva kasvutekijä $\beta$ (Transforming Growth Factor $\beta$ ),
DC	Dendriittisolun solu (Dendritic Cell)
PRR	Hahmontunnistusreseptori (Pattern Recognition Receptor)
Fk3L	FMS-like tyrosine kinase 3 Ligand
IRF4	Interferon Regulatory Factor 4
IRF8	Interferon Regulatory Factor 8
PU.1	Purine Rich Box-1
ID2	Inhibitor Of DNA Binding 2
E2-2	E2 family transcription factor
ZEB2	Zinc Finger E-Box Binding Homeobox 2
KLF4	Kruppel-like factor 4
IKZF1	IKAROS Family Zinc Finger 1
BATF3	Basic Leucine Zipper ATF-Like Transcription Factor 3
CMP	Common Myeloid Progenitor

Th1	Type 1 T helper cell
Th2	Type 2 T helper cell
IFN- $\gamma$	Interferon gamma
TNF- $\alpha$	Tumor Necrosis Factor alpha
TCA	Sitruunahappokierto (Tricarboxylic Acid Cycle)
HIF1 $\alpha$	Hypoxia-Inducible Factor 1-alpha
LC	Langerhansin solu
IDEC	Inflammatory Dendritic Epidermal Cell
MC	Syöttösolu, eli mastosyytti (Mast Cell)
MCp	Mast Cell progenitor
c-KIT	Stem cell factor binding receptor, CD117
Fc $\epsilon$ RI	High-affinity IgE receptor
MRGPRX2	Mas-Related G-Protein coupled Receptor member X2
PGD2	Prostaglandin D2
LTC4	Leukotriene C4
LTD4	Leukotriene D4
LTE4	Leukotriene E4
TXA2	Thromboxane A2
RNA	Ribonucleic acid
miRNA	MicroRNA
BCR	B Cell Reseptor
TCR	T Cell Reseptor
FOB	Follicular B cell
MZB	Marginal Zone B cell
Breg	Regulatory B cell
MHC	Major Histocompatibility Complex
TI	T-solu riippumaton luokka
TD	T-solu riippuva luokka
Th	CD4+ T- $\alpha\beta$ auttajasolu, T-auttajasolu
Tmem	Memory T cell
DLL4	Notch ligandi Delta-tyyppi 4
mTEC	Kateenkorvan ytimen epiteelisolujen alajoukko
APC	Antigeeniä esittelevä solu (Antigen presenting cell)
Treg	Regulatory T cell
TcX	Sytotoksinen T lymfosyytti (CD8+) X, missä X on luokan numeromäärä
Tn	Periferaalinen naiivi T-solu
ATP	Adenosine triphosphate
mTORC1	mammalian Target Of Rapamycin Complex 1

mTOR	mammalian Target Of Rapamycin
PI3K	Fosfoinositidi-3-kinaasi (Phosphoinositide 3-kinase)
AKT	Proteiinikinaasi B (Protein kinase B)
CLP	Common lymphoid progenitor
NCAM	Hermosolujen adheesiomolekyyli
SLT	Sekundäärinen lymfoidikudos (Secondary lymphoid tissue)
MALT	Limakalvoon assosioitu lymfoidikudos
LTi	Lymfoidikudoksen indusoijasuolu
S1P	Sfingosiini-1-fosfaatti
PLZF	Promyelocytic Leukemia Zinc Finger (protein)
T-bet	T-box-expressed-in-Tcells
S1PR	Sfingosiini-1-fosfaattireseptori
TRAIL	TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand
nILC2	Luonnollinen ILC2, normaalitilassa
iILC2	Tulehduksellinen ILC2
KLRG1	Killer Cell Lectin Like Receptor G1
NCR+/-	Natural Cytotoxicity Receptor positive/negative (cell)
ROR $\gamma$ t	RAR-related Orphan Receptor gamma second isoform
STAT4	Signal Transducer and Activator of Transcription 4
PFT	Huokosia muodostava toksiini (Pore-Forming Toxin)
BM	Luuydin (Bonemarrow)
Mki67	Lisääntyvien solujen merkkiaine (Marker Of Proliferation Ki-67)
EdU	Osoitus DNA-replikaatiosta (5-Ethynyl-2-deoxyuridine)
Lepr	Leptin Receptor
SCF	Kantasolutekijä (Stem Cell Factor)
VCAM-1	Cascular Cell Adhesion Molecule 1
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule 1
GMP	Granulocyte-Monocyte Progenitor
VLA-X	Very Late Antigen-X, missä X on numeromääräite (cell surface integrin)
HSCP	Hematopoieettiset kanta- ja esiastesolut
cTEC	Kortikaalinen kateenkorvan epiteelisolu
mTEC	Medullaarinen kateenkorvan epiteelisolu
TRANCE	TNF-related activation-induced cytokine (aka RANKL)
RANK	Receptor Activator of NF- $\kappa$ B
AIRE	Autoimmune regulator
WP	Pernan valkoinen massa
RP	Pernan punainen massa
MZ	Marginal zone

LN	Imusolmuke (Lymph Node)
SCS	Subkapsulaarinen sinus
HEV	Pikkulaskimo (High Endothelial Venules)
LEC	Lymfaattinen endoteelisolu
PLVAP	PlasmaLemma Vesicle-Associated Protein
FRC	Fibroblastinen retikulaarisolu
CLEC2	C-type lectin-like receptor 2
PDPN	Podoplaaniini
GC	Germinaalikeskus
Tfh	follikulaarinen (Th) T-auttajasolu
Tfr	Follikulaarinen (Treg) T-säätelijäsolu
gLN	Suolen imusolmuke
FAE	Follikkeliin assosioitu epiteeli
KC	Kupfferin solu
iNKT	invariantti natural killer T-solu
PP	Peyerin plakki
SED	Epiteelin alainen kupu (Subepithelial dome)
SILT	Yksittäinen suoliston lymfoidikudos (Solitary Intestinal Lymphoid Tissue).
CP	Cryptopatch
ILF	Eristetty lymfoidirakkula (Isolated Lymphoid Follicle)
LT $\beta$	Lymfotoksiini-beta
TLR	Toll-like-reseptori

## 1. Immuunijärjestelmän solut

Luontaisen ja adaptiivisen immuunijärjestelmän soluja sijaitsee kaikkialla kehossa. Niitä kiertää veressä ja imusuoniston imunesteessä, ja niitä on hajanaisesti kaikissa kudoksissa. Näiden solujen järjestäytyminen kehossa ja kyky siirtyä veren, imunesteen ja kudosten välillä muodostaa immuunijärjestelmän perustan. Immuunijärjestelmällä on useita haasteita suojata kehoa patogeenejä vastaan. Vaste pitää pystyä muodostamaan nopeasti laajaa yhtäaikaista infektiivaa joukkoa vastaan kaikkialla kehossa. Adaptiivinen vaste pitää rakentaa, sillä naiivit lymfosyytit eivät itsessään tunnista ja reagoi useimpiin antigeeneihin. Adaptiivisen vasteen toiminnallinen osa, vasta-aineet ja T-solut, joutuu paikantamaan mikrobit usein kaukaakin siitä lokaatiosta mistä immuunivaste sai alkunsa. Siksi luontainen immuunijärjestelmä on välttämätön puolustuksessa mikrobeja vastaan ensimmäisten tuntien ja päivien aikana infektiosta, eli ennen kuin adaptiivinen puolustus ehtii kehittyä. Luontainen immunitetti välittyy mekanismien avulla, jotka ovat nimensä veroisesti paikallaan jo ennen infektion sattumista, ja mahdollistaa nopean vasteen hyökkääviä mikrobeja vastaan. Verrattuna luontaiseen immunitettiin on myös vasteita, joita stimuloi altistuminen taudinaiheuttajille, ja ne kasvavat laajuudessaan ja tehokkuudessaan kunkin altistumisen myötä tietyille mikrobille. Koska immunitetti kehittyy vasteena infektiin ja adaptoituu siihen, on sen nimikin sitä kuvaava, eli adaptiivinen tai hankittu immunitetti. Adaptiivinen immuunijärjestelmä tunnistaa ja reagoi suureen määrään mikrobisia ja myös ei-mikrobisia aineita, jotka tunnetaan antigeeneinä. Vaikka moni patogeeni on kehittynyt sietämään luontaisia immuunivasteita, adaptiivinen immuunivaste kykenee hävittämään niitä, sillä se on vahvempi ja erikoistuneempi hyökkääjää kohtaan. Luontaisten ja adaptiivisten immuunivasteiden välillä on lukuisia yhteyksiä ja riippuvuuksia. Luontainen immuunivaste tuottaa mm. varoitussignaaleja, jotka stimuloivat adaptiivisen immuunivasteen. Vastaavasti, adaptiivinen immuunivaste usein tehostaa luontaisen immuunivasteen mekanismeja. (Abbas et al. 2021)

Immuunijärjestelmä toimii siis puolustusmuurina ulkoisia ja sisäisiä tekijöitä vastaan, ja se jaetaan toiminnallisuuden mukaan luontaiseen ja adaptiiviseen osaan. Puolustuksen lisäksi immuunijärjestelmällä on tehtäviä mm. kasvainten kehittymisen estossa ja kehon homeostaasin ylläpidossa, kuten kulloiden solujen poistossa ja kudosten korjauksessa. Päätoimijoina näissä immuunireaktioissa ovat kehon, tai spesifemmin immuunijärjestelmän solut. Koordinoitu immuunivaste vaatii immuunijärjestelmän solujen

keskeistä yhteistyötä ja myös yhteistyötä kehon muiden solujen kanssa.

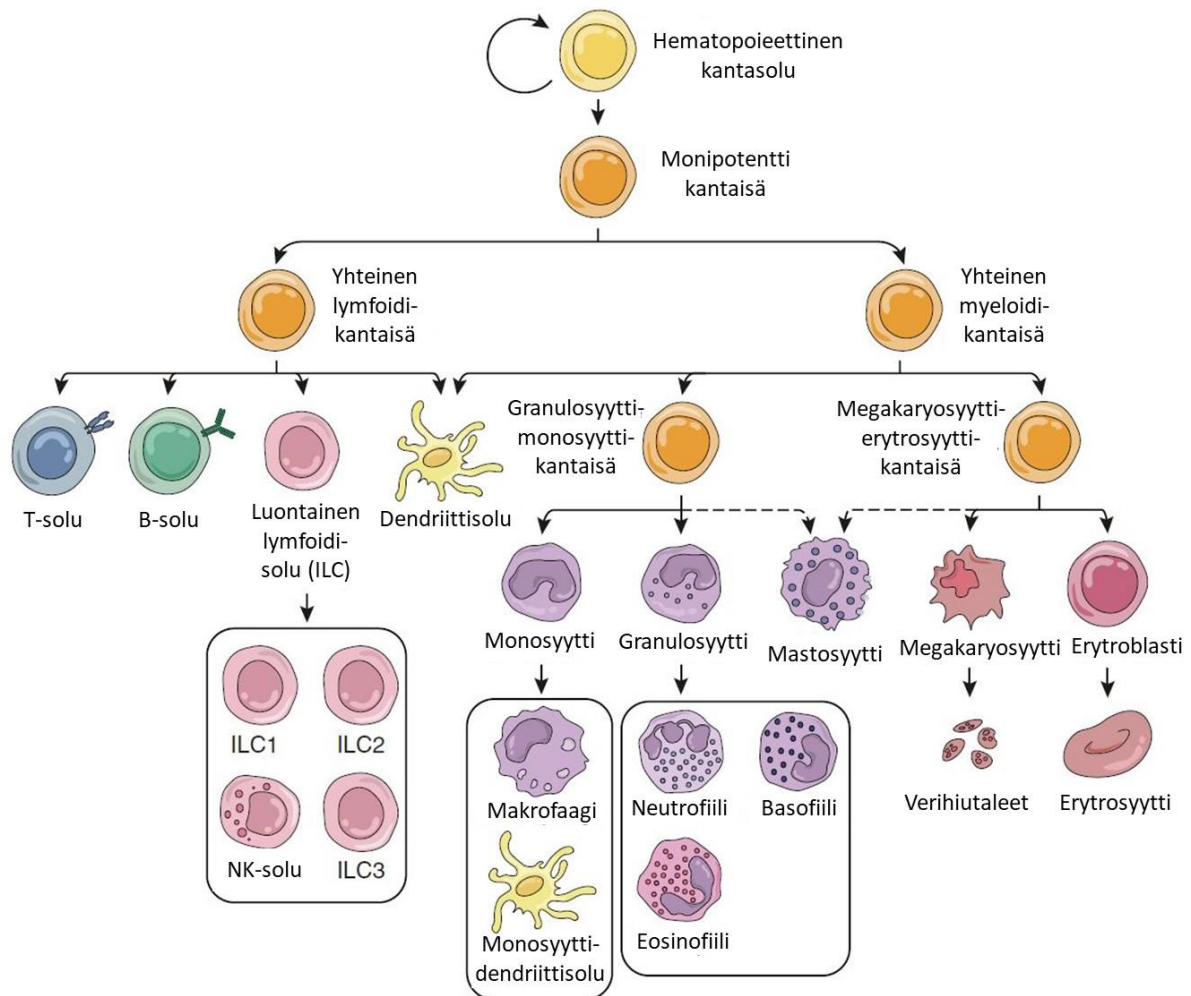
## 1.1. Alkuperä

Useimmat immuunijärjestelmän soluista saavat alkunsa luuytimessä, ja monet myös kehittyvät ja kypsyvät siellä. Osa sen sijaan, kuten eräät kudosspesifiset makrofaagipopulaatiot (esim. keskushermoston microglia), ovat lähtöisin alkionkehityksen aikaisesta raskuaispussista tai sikiön maksan soluista. Niitä leviää kudoksiin ennen syntymää, ne uusiutuvat ja niitä ylläpidetään elämän läpi. Kypsyyden saavuttaneita immuunisoluja tavataan ääreiskudoksissa, verenkierrossa ja imunestekierrossa. Imusuonisto kerää solunulkoista nestettä ja immuunisoluja kudoksista ja kuljettaa ne imunesteessä, josta ne päätyvät lopuksi takaisin verenkiertoon. (Murphy et al. 2017). Vaikka useimmat näistä soluista löytyvätkin verestä, tapahtuu lymfosyytien vaste antigeeneihin imunesteessä ja muissa kudoksissa, joten niiden määrät verenkierrossa eivät aina anna oikeaa kuvaa (Abbas et al. 2021).

Kaikki veren solumaiset elementit, mukaan lukien punasolut, verihiutalet ja valkosolut, ovat lähtöisin hematopoieettisista kantasoluista (HSC). Laajan erilaistumiskykynsä takia niitä kutsutaankin usein monipotenttisiksi hematopoieettisiksi soluiksi. HSC-solut toimivat lähteenä kehitysrajoittuneimmille solulinjoille, joita ovat punasolujen kantaisäsolut, verihiutaleiden kantaisät sekä lymfoidinen ja myeloidinen solulinja. HSC:n monipotenssi jakautuu kahteen immuunikantasolulinjaan. Yhteinen lymfoidinen kantaisälinja tuottaa osan valkosoluista eli leukosyyteistä. Näitä ovat luontaiset lymfoidiset solut (ILC) sisältäen Natural Killer -solut (NK), sekä T- ja B-lymfosyytit. Näistä T- ja B-solut ovat antigeenispesifisiä, mutta ILC- ja NK-soluilta tämä spesifisyys puuttuu. Yhteinen myeloidinen kantaisälinja puolestaan tuottaa erytrosyytit, megakaryosyytit ja loput leukosyyteistä, joita ovat monosyytit, dendriittisolut, neutrofiilit, eosinofiilit ja basofiilit. Kolme viimeisintä kiertää verenkierrossa ja niitä kutsutaan granulosityteiksi niissä olevien sytoplasmisten jyvästen vuoksi, tai polymorfonukleaariksi niiden epäsäännöllisen muotoisen tuman vuoksi. Suurin osa dendriittisoluista on peräisin yhteisestä myeloidisesta kantaisästä, mutta osa voi erilaistua myös yhteisestä lymfoidisesta kantaisästä. Epäkypsät dendriittisolut ovat fagosyyttisiä soluja, jotka siirtyvät kudoksiin, joissa ne kypsyvät kohdattuun patogeeniin. Monosyytit erilaistuvat fagosyyttisiksi makrofaageiksi tai dendriittisoluiksi siirtyessään kudoksiin. Myös mastosyytit kypsyvät loppuun kudoksissa. (Murphy et al. 2017) Yllä mainittujen



immuunijärjestelmän solujen erilaistumislinjat yleisellä tasolla on esitetty **Kuva 1**:ssä.



**Kuva 1.** Immuunijärjestelmän solujen erilaistumislinjat. Hematopoieettinen kantasolu jakautuu lymfoidi- ja myeloidisolulinjoiksi. Kumpikin linja jatkaa erilaistumistaan tuottaen veren valkosolut sekä erytrosyytit ja megakaryosyytit. (Lähteestä: Krause, P. J., Kavathas, P. B., & Ruddle, N. H. (Eds.). (2019). *Immunoepidemiology*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-25553-4>)

## 1.2. Solutyypit

Solut jakautuvat myeloidisen ja lymfoidisen linjan välille, ja kustakin linjasta jatkoerikoistuu laaja kirjo toiminnallisia soluja. Kalvoproteiinien ekspressiolla voidaan määritellä immuunijärjestelmän solujen tyyppejä. Useimmat auttaja-T-solut esimerkiksi tuottavat CD4-proteiinia ja useimmat sytotoksiset T-lymfosyytit puolestaan tuottavat CD8-pintaproteiinia. Näitä ja monia muita pintaproteiineja kutsutaan markkereiksi, joilla

tunnistetaan eri solupopulaatiot. Tunnistuksen ohella näillä proteiineilla on tärkeitä toiminnallisia rooleja. Tavanomaisin tapa tunnistaa, tuottaako solu tiettyä markkeria on kokeilla sitoutuvatko tietyille markkereille spesifiset vasta-aineet soluun. Tässä kontekstissa vasta-aineita voidaan käyttää analyttisesti. Onkin olemassa lukuisa joukko valmiita monoklonaalisia vasta-aineita merkittynä spesifisillä tunnisteilla, joita voidaan havaita. (Abbas et al. 2021)

### **1.2.1. Basofiilit**

Basofiilit ovat granulosyyttejä, jyväsiä sisältäviä soluja. Ne eivät normaalisti sijaitse kudoksissa, mutta voivat siirtyä kuitenkin tulehdusalueille. Basofiileilla on tärkeä ja ei-redundanttinen rooli immuunijärjestelmässä, vaikka ne ovatkin harvinaisin granulosyyteistä, 1 % ääreisverenkierron leukosyyteistä. Vasteena stimulaatioon basofiilit vapauttavat toiminnallisia molekyylejä, joita ne ovat varastoineet sytoplasman jyväsiinsä: välittäjäaineita, proteaaseja, sekä sytokiineja ja kemokiineja. Basofiilit pystyvät tuottamaan suuria määriä interleukiini neljää (IL-4) ja ovatkin sen tärkeä lähde kehossa. Basofiililähdenäisen IL-4:n on osoitettu säätelevän muita immuunijärjestelmän soluja mukaan lukien T- ja B-solut, ryhmän 2 luontaiset lymfoidiset solut, monosyytit ja makrofaagit. Se voi myös vaikuttaa ei-hematopoeettisiin soluihin kuten fibroplasteihin ja endoteelin soluihin. Säädellyt solut osallistuvat immuunivasteen ohjaukseen puolustuksessa parasitteja ja bakteereja vastaan, allergiavasteissa ja autoimmuunisairauksissa. Basofiileilla on laaja vaikutus immuunijärjestelmässä. (Yamanishi & Karasuyama 2016).

Basofiilit on tunnistettu tärkeäksi osaksi allergista tulehdusta. Basofiilit kykenevät aloittamaan ja laajentamaan tulehdusta tuottamalla sytokiineja ja proteaaseja ja ne assosiodaan auttaja-T-2-soluimmuunivasteisiin. Basofiilipopulaatiossa esiintyy heterogeenisyyttä. Basofiileilla on tärkeä osa immunoglobuliini E (IgE) -välitteisissä allergisissa tulehduksissa ja tyyminen stromaalinen lymfopoietiini (TSLP) -sytokiinivälitteisissä IgE-riippumattomissa tulehduksissa. TSLP on epiteelisolujohdannainen sytokiini, jota ekspressoivat iho, suoli, keuhkot ja kateenkorva. Basofiilit ovat osallisina myös iholiitännäisissä taudeissa. Niiden vastuulle kuuluu muiden tulehdusvasteen solujen kuten makrofaagien, eosinofiilien ja fibroplastien kutsuminen paikalle. (Nakashima et al. 2018)

Niiden rakenne ja toiminnallisuus ovat samankaltaista syöttösolujen kanssa. Kuten

syöttösolut, basofiilit tuottavat IgE-reseptoreita, ja voivat aktivoitua antigeenin sitoutuessa kyseiseen reseptoriin.

### ***1.2.2. Neutrofiilit***

Neutrofiilit kuuluvat polymorfonukleaaristen (PMN) solujen joukkoon, niiden nukleus voi saada monia muotoja, ja ne sisältävät jyväsiä. Kyseiset jyväset sisältävät voimakkaita hapettajia, joiden avulla neutrofiilit suorittavat tehtäviään. Solutyyppiä löytyy runsaasti, jopa 50–70 % kaikista leukosyyteistä, verenkierrosta, jossa ne syövät ja tuhoavat mikro-organismeja (Liew & Kubes 2019). Ne kykenevät kulkemaan infektiopaikalle minuuteissa ja siirtymään kudokseen.

Neutrofiilit hyödyntävät tiedettävästi fagosytoosia ja degranulaatiota, ja ne muodostavat neutrofiilin solunulkoisia ansoja (NET:sejä). NET:sit ovat neutrofiilien vapauttamia solun ulkoisia, kromatiinia, mikrobisidiproteiineja ja hapettavia entsyymejä sisältäviä verkkoja, joilla on tarkoitus hillitä ja eristää infektoita. Neutrofiilit säätelevät luontaista ja adaptiivista immuunivastetta tuottamalla sytokiinejä, reaktiivisia happilajeja ja NET:sejä. Neutrofiilit ja niiden tuottamat NET:sit edistävät makrofaagien sytokiineritystä, ja samalla lisäävät dendriittisolujen värväystä ja niiden antigeenin käsittelyä ja esittelyä. Lisäksi ne triggeröivät B-solujen värväystä ja vasta-ainetuotantoa. Tuotetut sytokiinit vaikuttavat myös T-solujen sytokiinin tuottamiseen ja erikoistumiseen. Neutrofiileillä on fagosomimembraanilla NADPH-oksidaasikomplekseja, jotka tuottavat superoksidgeja, joita metaboloidaan mm. vetyperoksidiksi, joka vuorostaan ruokkii myeloperoksidaaseja tuottaen mm. hypokloriittia. Neutrofiilit ovatkin tehokkaimpia fagosyyttejä kehossa, ja ne ovat myös ensimmäisenä paikalla infektiossa. (Burn et al. 2021)

### ***1.2.3. Eosinofiilit***

Eosinofiilit ovat evoluutionsa myötä kehittäneet spesifistä toiminnallisuutta säilyttäen silti granulosyyttiperimänsä toimintoja. Neutrofiilien tavoin, vaikkakin heikommin, eosinofiilit voivat fagosytoida patogeeneja, ja tuhota niitä solunsisäisesti tuomalla ”major base protein” (MBP:tä) ja eosinofiilien kationista proteiinia (ECP:tä) fagosomeihin. Tämä mahdollistaa antigeenien tarjoilemisen. Niillä on myös solunulkoisia tuhoamistapoja kuten solunyrkkyjen vapauttaminen degranulaation kautta ja happiradikaalien massatuotanto eosinofiiliperoksidaasin (EPO:n) avulla, ja ne voivat muodostaa eosinofiilin solunulkoisia

ansoja (EET:tä). Degranulaatio on tarkoin säädelty, useimmiten pieni määrä spesifisiä jyväsia vapautetaan solunulkoiseen tilaan. Eosinofiilit muodostavat inflammaatiassa EET:tä, jonka erikoisuutena on immunogeenisen mitokondriaalisen DNA:n käyttö nukleaarisen DNA:n sijasta. (Ramirez et al. 2018)

Eosinofiilien kehitys ja kypsyminen tapahtuu luuytimessä arviolta viikossa sen jälkeen, kun myeloidinen esiaste on altistunut granulositytti-makrofaagipesäkkeitä stimuloivalle tekijälle (GM-CSF) sekä IL-3 ja IL-5 tekijöille. IL-5 on relevantti eosinofiilin erikoistumisen viimeisessä vaiheessa, ja käynnistää eosinofiilien migraation verenkiertoon. Lisäksi IL-5 -sytokiini on avainasemassa kierrossa olevien eosinofiilien selviytymisen ja pysyvyyden kannalta, sillä se estää apoptoosia ja lisää solujen aktiivisuutta. (Ramirez et al. 2018)

Fysiologisissa oloissa eosinofiileja on useissa elimissä, missä ne hoitavat homeostaasiin liittyviä tehtäviä. Eosinofiili normaalitasoa säätelee tyypin 2 ILC -solujen aktiivisuus, joka puolestaan seuraa muutoksia ravinnon saannissa ja vuorokausirytmää. Eosinofiilit kertyvät primäärisiin ja sekundäärisiin lymfoidisiin elimiin kuten kateenkorva, imusolmukkeet, perna ja suolen Peyerin plakit, jossa niiden uskotaan auttavan muita immuunijärjestelmän soluja kypsymisessä ja kohdennuksessa. Eosinofiilit lisäävät plasmamolujen selviytymistä luuytimessä ja suolessa, ja huolehtivat T-auttaja- ja T-säätelijä-solujen tasapainosta suolessa ja keuhkoissa. Ne pystyvät muokkaamaan immuunivasteen tyyppiä antigeenejä tarjoilemalla. Immunologisten toimintojen ohella eosinofiilit tukevat ei-lymfoidisten elinten kuten rasvakudoksen toimintaa, jossa ne säätelevät glukoositoleranssia torjuen liikalihavuutta. Ne ovat tarpeen myös rintarauhasen kehittämisessä. Eosinofiileja tavataan myös kohdussa, mutta homeostaasirooli siellä on epäselvä. Eosinofiilit tuottavat useita kasvuhormoneja vaikuttaen potentiaalisesti kudosten korjaukseen. (Ramirez et al. 2018)

Tulehtuneissa kudoksissa eosinofiilit voivat myös aiheuttaa kudonsvaurioita synnyttämällä oksidatiivista stressiä EPO:n kautta ja häiritsemällä solunulkoisen matriisin organisaatiota aiheuttamalla sytotoksisuutta jyväsproteiini ECP:n kautta. Eosinofiilien aikaansaamalla verihituleväälitteisellä mitogeenien vapautumisella on keskeinen rooli pitkäaikaisessa kudosten uudelleen muokkaamisessa, erityisesti kroonisissa sairauksissa kuten astmassa. Lisäksi eosinofiilien aiheuttama tromboosi voi johtaa toiminnallisen kudoksen menettämiseen iskemian seurauksena. Niillä on osansa myös fibroosissa, jota eosinofiilit voivat edistää suoraan vapauttamalla transformatiivista kasvutekijää  $\beta$ :aa (TGF- $\beta$ ), IL4:ää ja IL13:a, tai epäsuorasti stimuloimalla kudoksessa olevia epiteelisoluja MBP:n tai

EPO:n kautta ekspressoimaan profibroottisia välittäjäaineita. (Ramirez ym. 2018)

#### **1.2.4. Dendriittisolut**

Dendriittisolut (DC) ovat antigeeniä tarjoivia soluja, jotka partioivat kudoksissa etsien antigeenejä, joilla aktivoida efektorisoluja. DC:t ovat kriittinen tekijä solu- ja humoraalisen immuunivasteen aloituksessa ja suojassa infektioita ja syöpiä vastaan. DC:t voivat kaapata antigeenejä pintareseptoreillaan kuten endosytoosi, fagosytoosi ja C-tyypin lektiini -reseptoreilla. Niillä on laaja kirjo solun ulkoisia ja sisäisiä patogeenin tunnistusreseptoreja (PRR). Aktivoiduttuaan ne tuottavat sytokiinejä ja kemokiinejä, ja prosessoivat kaappaamansa antigeenin ja siirtyvät imusolmukkeeseen, jossa ne esittelevät antigeenit CD8 ja CD4 T-soluille. Dendriittisolut jaotellaan alaluokkiin niiden pintafenotyypin mukaan, niiden tuottamien uniikkien ja konservoituneiden molekyylien mukaan ja toiminnallisuuden mukaan. Jaottelu tehdään karkeasti tavanomaisiin dendriittisoluihin, joilla on kaksi alaluokkaa DC1 ja DC2, sekä plasmasytoidisiin DC, inflammatio DC ja Langerhansin soluihin. (Balan et al. 2019) Langerhansin solujen identiteetti osana dendriittisoluja on tosin kyseenalaistettu, sillä lisääntyvät todisteet osoittavat niiden alkuperän olevan makrofaagilinjassa (Otsuka et al. 2018).

Dendriittisolut ovat peräisin luuytimen HSC-soluista, ja niiden erikoistumista säätelee ”FMS-like tyrosine kinase 3 ligand” (Flt3L). Kukin dendriittisolujen alijoukko kehittyy useiden erinäisiä tasoja sisältävien transkriptiotekijöiden (IRF8 ja IRF4 yhdessä PU.1:n, ID2:n, E2-2:n, ZEB2:n, KLF4:n, IKZF1:n ja BATF3:n kanssa) vaikutuksesta. Dendriittisolujen hematopoiesi on säilynyt nisäkkäillä yhdenmukaisena ja eriaa monosyyttien kehityksestä. Monosyytit voivat silti erilaistua dendriittisoluiksi, erityisesti inflammatioissa. DC-aliluokan tunnistamista varten on laaja pintamarkkerikirjo, siitä huolimatta DC2- ja monosyyttijohdannaisdendriittisoluja on hankala erottaa toisistaan. (Colling & Bigley 2018)

#### **1.2.5. Monosyytit**

Monosyytit ovat osa luontaisen immuunijärjestelmän myeloidista solulinjaa. Monosyyttien joukossa on heterogeenisyyttä, joka selittää niiden toiminnallista monimuotoisuutta. Niiden rooleihin kuuluu kudosten kehitys ja homeostaasi, luonnollisesti puolustus, tulehdusten aloitus ja päätös, ja kudosten korjaus. Nekin tuotetaan hematopoieettisista kantasoluista luuytimessä. Tuotantoa lisätään monopoiesissa vasteena muun muassa

infektioon ja tulehdusärsykkeeseen, kasvainten läsnäollessa ja kroonisessa psykososiaalisessa stressissä. Määrällisten muutosten ohessa kuormitus vaikuttaa myös laadullisesti, jolloin toiminnaltaan erilaisia monosyyttejä ja niistä johdettuja soluja tuotetaan vasteena. (Wolf et al. 2019)

Monosyytit johdetaan ”common myeloid progenitor” (CMP) -soluista kuten neutrofiilit ja dendriittisolut. Monosyytteillä on kaksi kehityspolkua: granulositytti-monosyytti-kantaisä, josta erikoistuu monosyyttejä ja neutrofiilejä, ja monosyytti-dendriittisolu-kantaisä, josta saadaan monosyyttien ohella tavanomaisia dendriittisoluja ja plasmasytoidisia dendriittisoluja. Aikuisen perna toimii monosyyttien varastona tapaturman tai tulehduksen sattuessa. Luuytimen ulkoista monopoiesia on havaittu muun muassa hiirten pernassa tulehduksen, kasvainten, stressin ja vanhenemisen yhteydessä. (Wolf et al. 2019)

#### **1.2.6. Makrofaagit**

Makrofaagit ovat heterogeeninen joukko fagosytoottisia soluja, jossa fenotyyppiä ja toiminnallisuutta säätelee ympäröivä mikroympäristö. Ne kaappaavat patogeenejä kuten bakteereja ja sieniä sisäänsä ja pilkkovat niitä sytotoksisilla kemikaaleillaan, ja niiden vastuulla on korjata tulehduksen aiheuttamia vahinkoja. Ne toimivat läheisessä yhteistyössä T-solujen kanssa ja elävät kauemmin kuin neutrofiilit, ja ovatkin tärkeitä hitaasti kasvavien ja kroonisten infektioiden tuhoamisessa.

Makrofaageja esiintyy kahdessa aliluokassa: M1-makrofaagit, jotka edistävät tulehdusreaktiota, ja M2-makrofaagit, jotka heikentävät tulehdusreaktiota. M1-polarisaatioon vaikuttavat lipopolysakkaridit yhdessä Th1-sytokiinien IFN- $\gamma$  ja GM-CSF kanssa. M2-polarisaatioon vaikuttavat puolestaan Th2-sytokiinit kuten IL-4 ja IL-13. M1/M2 -makrofaagibalanssi vastaa tulehdusissa ja kudovahingoissa elinten immuunivasteen säätelystä. Kun infektio on vahva, makrofaageja esiintyy ensin M1-fenotyyppisinä ja ne vapauttavat IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-2, IL-12, IL-23 ja TNF- $\alpha$  -sytokiineja. Infektion jatkuessa M1-vaihe voi aiheuttaa kudovahinkoja, siksi M2-makrofaagit erittävät suuria määriä IL-10:tä ja TGF- $\beta$ :tä supresseerimaan tulehdusta ja edistämään kudosten korjausta, muokkausta ja vaskulogeneesiä (suonten muodostuksen esivaihetta) homeostaasin säilyttämiseksi. (Shapouri-Moghaddam et al. 2018)

Kun tulehdusprosessi käynnistyy kudoksen tasapainon järkkyyessä, luuytimeä johdetut verenkierron monosyytit houkuttelevat paikalla spesifisten tulehduskemokiinien

avulla, joita kudoksessa olevat makrofaagit sekä tukikudoksen ja epiteelin solut erittävät. Tulehtuneessa kudoksessa monosyytit erikoistuvat makrofaageiksi, jotka yhteistyössä kudoksen muiden makrofaagien kanssa pyrkivät hoitamaan tulehduksen ja kudosaauriot.

Makrofaagien energiametaboliassa tapahtuu merkittäviä muutoksia fenotyypin muuttuessa. M1-makrofaagit saavat energiansa glykolyysistä. Niiden TCA-kierrossa on kaksi muutosta, jotka johtavat itakonaatin (mikrobisidinen yhdiste) ja sukkinaiin kertymiseen. Ylimääräinen sukkinaii johtaa hypoksiajohdannaisen tekijän  $1\alpha$  (HIF1 $\alpha$ ) stabiloitumiseen aktivoitujen glykolyttisiä geenejä. Tämä ylläpitää glykolyysimetaboliaa M1-makrofaageissa. M2-makrofaagit ovat enemmän riippuvaisia oksidatiivisesta fosforylaatiosta, niiden TCA-kierto on normaali toimittaen substraatteja elektroninsiirtoketjulle. Lisäksi tulehdusta edistäviä ja torjuvia makrofaageja karakterisoi lipidien ja aminohappojen metaboliapolut. (Viola et al. 2019)

Langerhansin solut (LC) sisältyvät myös makrofaageihin. LC:n migraatio-ominaisuuden vuoksi sen on oletettu olevan DC-solu. Tutkimukset ovat kuitenkin osoittaneet niiden erikoistuvan makrofaagisolulinjasta, sikiön maksan kantaisäsolusta. LC-soluja pidetään nykyään kudosspesifisinä makrofaageina. Niitä on epidermiksessä antigeeniä tarjoavina soluina monosyyttijohdannaisten LC:n kaltaisten solujen ja IDEC-solujen kanssa. IDEC ja LC:n kaltaiset solut ovat läsnä normaalisti mutta erityisesti tulehduksissa kuten dermatiitissa, UV-vahingossa ja psoriasiksessa. LC:llä on kaksoisidentiteettiä makrofaagina ja dendriittisoluna, sillä se on ainut kudosten makrofaagi, jolla on dendriittisolun migraatio-ominaisuus. (Otsuka et al. 2018)

### **1.2.7. Mastosyytit**

Syöttösolut eli mastosyytit (MC) ovat tunnettuja roolistaan allergisissa taudeissa. Ne ovat tärkeässä asemassa homeostaasin säätelyssä ja sisäisten ja ulkoisten ärsykkeiden havainnoinnissa ja torjunnassa. Ne kykenevät vapauttamaan jyväsistään välittäjäaineita, jotka vaikuttavat niin immuunijärjestelmän kuin muihinkin kehon soluihin mukaan lukien hermosolut, fibroplastit, endoteelin solut, sileät lihassolut ja epiteelin solut. (Dahlin et al. 2021)

Syöttösolujen alkuperä oli mysteeri pitkään. Useimmat hematopoieettiset solut vapautetaan verenkiertoon tunnistettavassa kypsässä muodossaan. Syöttösolut johdetaan HSC-soluista muiden tavoin, mutta ne kypsyvät välivaiheina syöttösolujen kantaisästä (MCp) ääreiskudoksissa. Hematopoiesin aikana kehittyneet MCp-solut siirtyvät

kudoksiin siis kypsymättöminä. Useimmat MCp-solut kudoksissa tuottavat c-KIT ja FcεRI -reseptoreja, kuten kypsyneet syöttösolutkin. Niissä ei kuitenkaan ole yhtä paljon tai ollenkaan jyväsia. Tulehdus stimuloi MCp-solujen migraatiota johtaen syöttösolujen määrän kasvuun kudoksessa (Dahlin & Hallgren 2015).

MC-soluilla on laajasti reseptoreita, joilla havaita ja reagoida moninaisiin ärsykkeisiin. FcεRI-reseptorin ohella toinen kiinnostuksen alainen reseptori on MRGPRX2. Se on G-proteiiniliitännäinen reseptori, jolla MC tunnistaa muun muassa useita pseudoallergisia oireita tuottavia lääkeaineita. MRGPRX2 sitoo myös substanssi P:tä, neuropeptidiä, jota löytyy hyönteisten myrkyistä, eosinofiilien erittämistä tuotteista ja muista kationisista peptideistä. MRGPRX2-reseptori on yhdistetty neurogeeniseen tulehdukseen, kipuun ja kutinaan ja se kontribuoi myös allergisen tulehduksen kehittymisessä. Muita IgE-riippumattomia reseptoreja ovat IL-33, jolla MC havaitsee soluvahinkoja ja säätelee IgE-välitteisiä vasteita, ja PRR-reseptorit. Havaittuaan keholle sisäisen tai ulkoisen ärsykkeen, MC reagoi vapauttamalla välittäjäaineita kolmea pääpolkua käyttäen. Nopein vaste saadaan degranulaatiolla eli solusisäisten jyvästen eksosytoosilla. Vapautettavia välittäjäaineita ovat histamiini, proteaasit ja hepariini. Toinen polku on lipidipohjaisten, pääasiassa eikosanodien, kuten PGD<sub>2</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>, ja TXA<sub>2</sub> de novo -synteesi ja erityisesti MC:t kykenevät lisäksi tuottamaan useita sytokiineja, kemokiineja, interferoneita ja kasvutekijöitä. Kolmas polku on MC:n erittämät vesikkelit, kuten eksosomit, jotka voivat kuljettaa proteiineja, entsyymejä, RNA:ta ja miRNA:ta toisiin soluihin. (Dahlin et al. 2021)

### **1.2.8. Lymfosyytit**

Lymfosyytit ovat ainoita immuunijärjestelmän soluja, jotka pystyvät spesifisesti tunnistamaan antigeenejä. Lymfosyyttipopulaatio koostuu useista klooneista, joista jokaisella on uniikki spesifisyys. Kaksi pääluokkaa ovat T- ja B-solut, joilla on omat antigeenireseptorinsa ja toiminnallisuutensa. (Abbas et al. 2021) Useimmat kehossa kiertävät lymfosyytit ovat pieniä soluja, joilla on vain muutamia sytoplasman organelleja ja kondensoitunut inaktiivisen oloinen tuman kromatiini. Lymfosyytit tekevät hyvin vähän ennen kuin ne kohtaavat spesifisen antigeenin, joka vuorovaikuttaa antigeenireseptorin kanssa solun pinnalla. (Murphy et al. 2017)

T- ja B-solut poikkeavat muista leukosyyteistä omaamalla antigeenireseptorin, ja toisistaan toiminnallisuuden ja erilaistumispaikkansa osalta, ensin mainitulla se on



kateenkorvassa ja jälkimmäisellä luuytimessä. Kohdattuaan antigeenin B-solut erilaistuvat vasta-aineita erittäviin plasmasoluihin ja T-solut puolestaan efektori T -soluiksi. ILC- ja NK-soluilta tällainen antigeenispesifisyys puuttuu yhteisestä kehityslinjasta huolimatta. B-solun antigeenireseptori (BCR) muodostuu samojen geenien toimesta, jotka koodaavat vasta-aineita eli immunoglobuliiniproteiineja. Siten B-lymfosyytin reseptori tunnetaan myös kalvoimmunoglobuliinina. T-solun reseptori (TCR) on sukua immunoglobuliineille, mutta se on rakenteeltaan ja tunnistusominaisuuksiltaan erilainen. (Murphy et al. 2017)

### *B-lymfosyytit*

B-solujen alaluokkia ovat B-1, B-2 ja regulatiiviset B-solut. B-1-solut ovat peräisin sikiön maksan soluista ja sisältävät B1a- ja B1b-alaluokat. B-2-solut erilaistuvat luuytimeä ja ne voidaan eritellä folliculaarisiksi (FOB) ja marginal zone (MZB) B-soluiksi. Regulatiiviset B-solut (Bregs) taas suppressoivat immuunivasteita, pääosin tuottamalla anti-inflammaattosytokiini IL-10:tä. B-solu-toleranssi, self-reaktiivisuuden esto, varmistetaan useassa tarkistuspisteessä: B-solun kehittyessä luuytimessä ja B-solun kypsyessä ja aktivoituessa. (Wang et al. 2020)

Humoraalisen immuunivasteen initiaatio vaatii ”harvinaisen” antigeenireaktiivisen naiivin B-solun kohtaamisen antigeenin kanssa. Kohtaamiset tapahtuvat etupäässä toissijaisissa lymfoidikudoksissa mukaan lukien perna, imusolmukkeet ja Peyerin plakit. Kaksi ydinprosessia ohjaa kohtaamista. Ensinnä lymfoidinen kudokse on erikoistunut suodattamaan kehon nesteitä eli verta, imunestettä ja limakalvojen sisältöä, ja vangitsemaan ja esittelemään antigeenejä B-soluille. Toiseksi nämä kudokset tukevat jatkuvaa lymfosyytien houkuttelemista verenkierrosta sisäänsä erikoistuneiden lymfosyytteja sitovien endoteelisolujen avulla ja niiden siirtämistä lymfoidisiin follicelleihin, joihin antigeenit ovat fokuoituneet. (Cyster & Allen 2019). Kohtaamisen jälkeen ja sidottuaan antigeenin B-solu lisääntyy ja erilaistuu plasmasoluksi, nämä ovat efektori B-lymfosyytteja. Niiden immunoglobuliinituotanto on säädetty kohti liukoisia muotoja, eli eritettäviä vasta-aineita, geenin C-domainin vaihtoehdoisen silmukoinnin kautta. Sama antigeeni, joka aktivoi B-solun on siis kohde plasmasolun vasta-aineille. (Murphy et al. 2017)

Plasmasoluilla on suuri tuma ja endoplasmakalvosto sekä lukuisia ribosomeja. Nämä ominaisuudet kuvastavat sen ominaisuutta tuottaa suuria määriä vasta-aineita. Vasta-aineita tuotetaan solukalvo- ja liukoisessa muodossa. Kalvolla ne ovat antigeenin BCR:ää

ja liukoisina ne ovat humoraalisen immuunitien toimijoita, jotka sitovat mikrobeja ja myrkkyyjä. (Abbas et al. 2021)

Naiivin ja kypsyneen B-solun BCR:n välillä on perustavanlaatuisia eroja. Naiivi BCR on aina IgD- tai IgM-tyyppinen, mutta kypsynyt BCR voi olla myös IgA, IgE ja IgG. Muutosta kutsutaan isotyypin vaihdoksi, ja se on avainasemassa B-solun kypsymisessä ja immuunivasteen tyypissä. Tosin riippumatta isotyypistä kaikki kalvolla olevat Igt ovat aina monomeereja, mutta eritettynä IgA ja IgM voivat muodostaa myös useamman yksikön kvaternäärirakenteita. IgD:tä ei eritetä, ja sitä esiintyy vain naiivilla B-solulla. (Abbas et al. 2021)

BCR asettaa joitain rajoituksia antigeenien tunnistukselle, mutta huomattavasti vähemmän kuin TCR. BCR:n tunnistamat antigeenit, epitoopit eli antigeenin osaset, voivat olla lineaarisia tai laskostuneita peptidejä, myös polysakkaridit, lipidit, nukleiinihapot ja pienet kemikaalimolekyylit toimivat. Ne voivat olla solujen pinnalla tai liukoisina eikä niitä tarvitse esitellä B-soluille MHC:n avulla. B-solun tarvitsee kuitenkin vähintään kahden BCR:n sitoutumisen antigeeniin signaloimien aloittamiseksi. Tämän vuoksi antigeenejä lajitellaan T-solu riippumattomiin (TI) ja T-solu riippuviin (TD) luokkiin. TI-antigeenit ovat yleensä pitkiä polymeerirakenteita, joihin kahden BCR:n on helppo tarttua. TD-antigeenit ovat yleensä liian pieniä aktivoitakseen kahta reseptoria, ja ne tarvitsevat aktivaatioon auttaja-T-solun (Th) apua. Aktivaatio on useampivaiheinen. Aluksi B-solu tunnistaa antigeenin BCR:llä, prosessoi sen sisäisesti ja esittelee sen peptidi-MHC-II kompleksina Th-solulle, joka tunnistaa sen TCR:llä. Samalla B-solu kostimuloi Th-solua aktivoitakseen sen täysin tuottamaan tarvitsemiaan sytokiineja ja signaaleja. Saatuaan ne B-solu aktivoituu ja erikoistuu plasmak soluksi. (Abbas et al. 2021)

B-solujen tuottamat vasta-aineet vaikuttavat useilla tavoilla; ne neutralisoivat mikrobeja ja toksiineja, opsonisoivat mikrobeja johtaen fagosytoosiin toisten solujen toimesta, aktivoivat vasta-aineriippuvaisen sytotoksisuuden (NK-solu kohdentuu ja tuhoaa), sekä aktivoivat komplementti järjestelmän, joka voi johtaa mikrobin paloitteluun, fagosytoosiin opsonoinnin kautta ja tulehdusvasteen aktivointiin. (Abbas et al. 2021)

### *T-lymfosyytti*

T-lymfosyytit ovat lähtöisin luuytimen kantaisäsoluista, jotka siirtyvät kateenkorvaan kypsymään ja valikoitumaan, ja jatkavat sieltä muualle kehoon. Perifeerin T-solut sisältävät useita aliluokkia mukaan lukien naiivit T-solut, joilla on kyky reagoida uusiin

antigeeneihin, muisti-T-soluja (T<sub>mem</sub>), jotka erikoistuvat edellisistä antigeeniaktiivoinnin jälkeen ja säilyttävät pitkäaikaista immuniteettia, ja regulatiivisista T-soluista, jotka säätelevät immuunivastetta. (Kumar et al. 2018)

T-solut saavat alkunsa lymfoidisista kantaisäsoluista, jotka pystyvät vaeltamaan luumenista kateenkorvaan, jossa T-solureseptorin selektio ja kypsyminen näiviksi T-soluksi tapahtuu. Lymfopoiesi alkaa kun kantaisäsolu siirtyy kateenkorvan kuorikerrokseen ja ilmentää CD2:tä, CD5:tä, CD7:ää ja sytoplasmista CD3:a. (Mousset et al. 2019) Interaktiot kuoren epiteelisolujen kanssa tarjoavat vaaditut ympäristösignaalit T-solun erikoistumiseen. Tärkeimmät näistä ovat Notch ligandi Delta-tyyppi 4 (DLL4), sytokiini Kit ligandi ja sytokiini IL-7, tukevan kemokiini CXCL12:n kanssa. Useiden päivien jatkuva tai toistuva interaktio DLL4- ja Notch1-reseptorien välillä hematopoieettisten esiastesolujen solukalvoilla on kriittinen komponentti interaktiossa, joka ohjaa solut T-solu-spesifiseen geeniekspressioon. (Rothenberg 2019) Tässä vaiheessa tapahtuu TCR:ien muodostus  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, ja  $\delta$ -ketjujen järjestäytymisen myötä, johtuen T-soluihin, joilla on  $\gamma\delta$ -ketju (epätavalliset) ja T-soluihin, joilla on  $\alpha\beta$ -ketju (tavanomaiset) (Mousset et al. 2019). TCR $\alpha$ - ja TCR $\beta$ -lokusten V(D)J-segmenttien uudelleen järjestäytyminen esitymosyyteissä mahdollistaa laajan esimääritetyn TCR-tunnistusspesifisyyden, ja näiden tymsyyttien kehityskohtalo määräytyy tämän spesifisyyden mukaan (Kondo et al. 2019).

TCR:n muodostumisprosessissa esiaste-T-solut ilmentävät CD3:a pienissä määrin pinnallaan ja käyvät läpi nopean transition, jossa ensin CD8:n ja sitten CD4:n ilmentämiskyky saadaan. Koska CD8:n ekspressio voi tapahtua ennen tai jälkeen TCR:n järjestäytymisen, T- $\gamma\delta$ -solut voivat myös irtaantua  $\alpha\beta$ -polusta CD8:n ylössäätelyn jälkeenkin. Tämän myötä noin 30 % T- $\gamma\delta$ -soluista on CD8<sup>+</sup>. Yleisempää kuitenkin on, että T- $\gamma\delta$ -solut ovat tuplanegatiivisia. CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> -tuplapositiiviset T- $\alpha\beta$ -solut jatkavat kehittymistä käymällä läpi positiivisen valikoitumisen joko peptidi:MHC luokka I -kompleksi-interaktion kautta johtuen CD8:n ilmentymiseen, tai peptide:MHC luokka II -kompleksin kanssa johtuen CD4:n ilmentymiseen. (Mousset et al. 2019) Vuorovaikutus matalalla affiniteetillä self-peptidi MHC luokka I ja II -kompleksien kanssa säästää nämä valikoidut solut solukuolemalta (Kondo et al. 2019). Valitut T- $\alpha\beta$ -solut siirtyvät kateenkorvan medullaan, jossa ne käyvät läpi negatiivisen klonaalisen valikoitumisen, jonka tarkoitus on poistaa T-solut, jotka osoittavat korkeata affiniteettia omia antigeenejä vastaan (Mousset et al. 2019). Siirtymisen mahdollistaa se, että valitut tymsyytit alkavat ilmentämään kemokiinireseptori CCR7:ää ja koska kateenkorvan ytimen epiteelisolujen

(mTEC) alajoukko tuottaa CCR7-ligandeja, mukaan lukien CCL21-ligandia, se näin ollen houkuttaa positiivisen valinnan tymosyyttejä. Kateenkorvan medullassa mTEC-solujen alajoukko tuottaa laaja-alaisesti kehon omia proteiineja, mukaan lukien kudosspesifisiä proteiineja, ja esittelee näitä self-antigeeneinä dendriittisolujen avustuksella. Medulla-ympäristössä tymosyytit joiden TCR:t vuorovaikuttavat korkealla affiniteetillä self-peptidi MHC -kompleksien kanssa tuhoetaan joko apoptoosilla tai niistä kehittyy säätelijä-T-soluja tai agonistivalittuja epätavallisia-T-soluja, joiden molempien tehtävät ovat immuunivasteen säätelyssä. Kateenkorvan negatiivinen valintaprosessi viittaa perinteisesti self-antigeeni-pohjaiseen korkean TCR-affiniteetin omaavien tymosyyttien tuhoamiseen apoptoosilla. (Kondo et al. 2019) Lopuksi kypsät yksittäin positiiviset CD4+ ja CD8+ T- $\alpha\beta$ -solut vapautetaan verenkiertoon. Pieni prosentuaalinen osa, alle 1 %, veren T- $\alpha\beta$ -soluista ei ilmennä kumpaakaan CD4- tai CD8-markkeria. (Mousset et al. 2019)

CD8+ T- $\alpha\beta$ -solut tunnistavat siis MHC luokka I:n esittelemiä antigeenejä, ja koska MHC-I:tä ekspressoidaan kaikissa tumallisissa soluissa, ne pystyvät vangitsemaan solun sisäiset antigeenit ja varmistamaan että kaikki virusten ja solunsisäisten bakteerien saastuttamat solut voidaan tunnistaa ja tuhota sytotoksisten (CD8+) T-solujen toimesta. CD4+ T- $\alpha\beta$ -solut tunnistavat vastaavasti MHC luokka II:n esittelemiä antigeenejä, mutta MHC II:ta tuottavat vain immuunivasteisiin osallistuvat antigeenejä esittelevät solut (APC), joita ovat mm. dendriittisolut ja makrofaagit. Ne varmistavat, että solunulkoiset mikrobit syödään ja esitellään CD4+ T- $\alpha\beta$ -soluille. CD4+ -solut reagoivat erikoistumalla alaluokkaan, jonka vaste sopii hyökkääjää kohtaan, sekä tuottamalla immuunivastetta vahvistavia sytokiinejä. CD4+ T-solujen erikoistumista nimitetään myös polarisoitumiseksi. Kolme yleistä luokkaa ovat Th1-luokka vasteena viruksiin, solunsisäisiin bakteereihin ja loisiin, Th2-luokka vasteena matolisiin ja joihinkin heikkoihin antigeeneihin, jotka eivät riitä Th1- tai Th17-vasteen aikaansaamiseksi, ja Th17-luokka vasteena APC-solujen tuottamiin sytokiineihin bakteereja ja sieniä vastaan. Th17 on vasteena vahvempi kuin Th1 ja Th2 mutta epäsosifisempi. (Mousset et al. 2019)

T- $\gamma\delta$ - ja T- $\alpha\beta$ -solut voidaan kategorisoida virtausytometrialla käyttämällä CD3 ja  $\gamma\delta$ -TCR:ä tai  $\alpha\beta$ -TCR:ä portteina. Yleisin strategia erotella CD4+ T- $\alpha\beta$ -auttajasolujen (Th) alaluokat Th1, Th2, Th9, Th17 ja Th22, sekä regulatiiviset T-solut (Treg) perustuu niiden toiminnallisuuden eriyvyyteen. Vastaavaa erottelua voidaan käyttää myös CD8+ T- $\alpha\beta$ -solujen eli sytotoksisten T-lymfosyyttien Tc1, Tc2, Tc9 ja Tc17, sekä CD8+ Treg-solujen kanssa. Erottelu perustuu pääosin solunulkoisiin markkereihin, solunsisäisiin transkriptioprofiileihin ja sytokiini tuotantoprofiileihin. (Mousset et al. 2019)

Periferaaliset naiivit T-solut (T<sub>n</sub>) kiertävät kehossa etsien antigeenejä. Nämä solut ottavat sisäänsä pieniä määriä glukoosia ajaakseen TCA- ja oksidatiivista fosforylaatiokiertoaan generoidakseen ATP:tä. Signaalisytokiinien kuten IL-7:n ohella heikko interaktio T-solureseptorin ja MHC-molekyylien esittelemien omien peptidien välillä ylläpitää selviytymistä ja homeostaasia T<sub>n</sub>-soluissa. Sensitiivisyyttä näitä signaaleja kohtaan reguloidaan, jotta T<sub>n</sub>-solun metabolinen tila saadaan ylläpidettyä, kunnes riittävän voimakas TCR-signaali aktivoi solun kokonaan. (Geltink et al. 2018)

Seuraavina viikkoina kun T<sub>n</sub>-solut ovat lähteneet kateenkorvasta, ne ovat vähemmän aktiivisia metabolisesti kuin muut kierrossa olevat kypsemmät T<sub>n</sub>-solut, mistä kertoo niiden vähäisempi glykolyysin määrä. Tämä metabolinen fenotyyppi seuraa vähäisemmästä mTORC1-signaloinnista ja c-Myc-transkriptiotekijän ekspressiosta. Nämä tekijät ovat tärkeimmät positiiviset säätelijät T-solun glykolyttisessä metaboliassa. Vähentynyttä mTOR- ja c-Myc-aktiivisuutta voi paikata altistuminen CD4<sup>+</sup> efektori-T-solun IL-2:lle. Kateenkorvaan saapuvien T-solujen riippuvuus IL-2:ta tuottavista CD4<sup>+</sup> efektori-T-soluista optimaaliselle aktivaatiolle osoittaa, miten sytokiinit ohjaavat metaboliaa, joka säätelee toiminnallisuutta. Metaboliset prosessit tuottavat kiertäville T<sub>n</sub>-soluille tarpeellisen energian liikkua kudoksissa ja pysyä elossa. Ne myös pitävät T<sub>n</sub>-solut uinussa ennen tarvetta. (Geltink et al. 2018)

Antigeenien tunnistuksessa T-solut vaativat MHC-kompleksien tukea, naiivin T-solun TCR voi aktivoitua vain, jos se sitoutuu antigeenin epitooppiin spesifisen MHC-osan kanssa, pois lukien T- $\gamma\delta$ - ja NK-solut. Koska MHC:n antigeenitasku on lyhyt ja lineaarinen, myös tunnistetun antigeenin pitää olla lyhyt ja lineaarinen. MHC-komplekseja esiintyy vain solujen pinnalla. Niinpä T-solut eivät voi tunnistaa liukoisia antigeenejä. T-solut ovat siis MHC-rajoitettuja.

T<sub>n</sub>-solun kohdatessa antigeeninsä ja antigeeniä tarjoavan solun TCR:n affiniteetti antigeeniin aiheuttaa TCR-klusteroitumisen ja immuunisynapsin muodostumisen. Tulehdustilassa TCR-signalointi yhteisstimuloinnin kanssa johtaa T-solujen metabolian kasvamiseen. Prosessi on riippuvainen PI3K/AKT/mTOR polusta. TCR-signalointi indusoi c-Myc-geeniä, joka säätelee T-solun aktivoitumiselle kriittisiä metabolian geenejä. TCR-välitteiset signaalit indusoivat glykolyttistä ja mitokondrionaalista metaboliaa. Jälkimmäinen johtaa kalsiumriippuvaisen ROS:n nousuun, joka on oleellinen osa T-solun aktivaatiossa. (Geltink et al. 2018) Kun naiivi T-solu kohtaa antigeenin ja kostimuloivan solun ligandin, aktivaatio johtaa IL-2:n tuotantoon, T-solujen lisääntymiseen ja erikoistumiseen efektorisoluiksi, jotka vaeltavat kehossa edesauttaen patogeenien

tuhoamista. Aktivoidut efektorisolut ovat lyhytikäisiä, pois lukien muisti-T-solut, jotka jatkavat olemassaoloaan osana heterogeenistä joukkoa. (Kumar et al. 2018)

### **1.2.9. Natural Killer solut**

Natural Killer -solut (NK) ovat ILC-soluja, jotka ovat ratkaisevassa asemassa isäntäelion puolustuksessa ja immuuniseurannassa. NK-solun aktivoivien ja rajoittavien reseptorien homeostaattinen modulointi määrittää näiden ILC-solujen kyvyn säästää omia soluja ja tuhota virusperäisiä, kasvainmuuntuneita ja muita heterogeenisiä kohdesoluja. (Di Vito et al. 2019) NK-solut eivät pelkästään pysty tuhoamaan kasvain- ja pahanlaatuisia soluja, ne ovat osallisina solunsisäisten patogeenien säätelyssä ja säätelevät immuunijärjestelmän homeostaasia tuhoamalla useantyyppisiä aktivoituja immuunijärjestelmän soluja. Näitä toimintoja varten NK-solut sisältävät useita tunnistinjärjestelmiä, kuten solun pinnan aktivoivat ja inhiboivat reseptorit, joilla ne valikoivat kohteensa. (Zitti & Bryceson 2018)

Immuunisolujen hematopoiesin alkuvaiheen HSC-solujen muutos NK-soluksi on riippuvainen niiden erilaistumisesta lymfoidilinjaan. Seuraavaksi CD34/CD133/CD224-positiiviset solut saavuttavat CD45RA-ilmentymisen ja muuttuvat ”common lymphoid progenitor” (CLP) -soluiksi. CLP-soluilla on potentiaali erilaistua B-, T- ja ILC-soluiksi. (Di Vito et al. 2019) T-solujen kypsymisen TCR:ien muodostumisvaiheessa NK-solut erilaistuvat CD3:a ilmentävistä kantaisä-T-soluista ilmentämällä spesifistä  $\alpha$ -ketjua, joka pariutuu glykolipidi CD1d:n kanssa  $\beta$ -ketjun interaktion kautta. Kehityksen myötä NK-solut pystyvät tuottamaan mm. neuraalisolu-adheesiomolekyylä NCAM:ää, joka tunnetaan myös CD56:na. (Mousset et al. 2019) NK-solujen kehitys ei ole tarkasti kudusrajoittunutta, tosin kudosspesifisestä NK-solukehityksestä on kirjoitettu, kuten myös NK-solujen opetuksesta self-toleranssin varmistamiseksi tietyissä kudoksissa. Aikaiset vaiheet NK-solun kehityksestä tapahtuvat luuytimessä. Myöhemmät erilaistumisvaiheet voivat tapahtua sekundaarisessa lymfoidikudoksessa (SLT), maksassa, limakalvoon assosioidussa lymfoidikudoksessa (MALT) ja kohdussa. Erityisesti nielurisat, perna ja imusolmukkeet ovat SLT-kudoksia, joissa luuytimen ulkoinen NK-erilaistuminen ja kypsyminen tapahtuu. Imusolmukkeiden T-solujen populoimat parafollikulaariset alueet ovat NK-rikkaita; siellä yli 90 % NK-solujen fenotyypistä on CD56<sup>bright</sup>, eli ne ilmentävät korkeita määriä CD56:ta, ja ne kykenevät erilaistumaan kypsäksi CD56<sup>dim</sup>, kiertäväksi, NK-soluksi IL-2 stimulaatiolla. Nämä CD56<sup>bright</sup> NK-solut myös ilmentävät korkeaa määrää CD62L:ää, reseptoria, jota tarvitaan lymfosyytin ohjautumisessa

sekundäärisiin lymfoidisiin kudoksiin. Löydökset osoittavat, että imusolmukkeet ovat yksi merkittävä ääreiskudos NK-kehityksessä. Löydöstä tukee todisteet siitä, että ihmisen imusolmukkeissa on CD34dim/CD45Rab<sup>r</sup> hematopoieettisia kantaisäsoluja, jotka ovat todennäköisesti peräisin luuytimen HSC-soluista ja ovat matkanneet SLT-kudoksiin. Imusolmuissa ne voivat erilaistua CD56bright NK-soluiksi imusolmukepaikallisen T-solun aktivaation kautta. (Zitti & Bryceson 2018, Di Vito et al. 2019)

NK-solut koostuvat kahdesta aliluokasta, ja ne määritellään CD56- ja CD16-markkerien pintaekspressiolla. Sytotoksinen CD56dim/CD16pos-populaatio kattaa jopa 90 % kierrossa olevista NK-soluista, ja CD56bright/CD16neg on regulatiivien populaatio. Regulaatiivinen alijoukko tuottaa suuria määriä tulehdussytokiineja kuten IFN- $\gamma$ :aa. Alijoukot eroavat lisäksi useiden NK-reseptoreiden osalta, jotka määrittävät vasteita ärsykkeisiin. (Di Vito et al. 2019)

NK-solut ovat välttämätön osa immuunijärjestelmää. Molekulaarisen havainnointijärjestelmänsä avulla ne toimivat vartijoina poikkeavia soluja vastaan. Niiden aktivaatiossa kohdesoluja tuhotaan perforiinia ja granzymiä sisältävien sytotoksisten jyvästen avulla. NK-solut pystyvät erittämään IFN- $\gamma$ :aa ja TNF:ää, säätelysytokiineja IL-5, IL-10 ja IL-13, kasvutekijää GM-CSF, kemokiineja CCL3, CCL4 ja CCL5 sekä IL-8:aa. Ne ekspressoivat aktivoivaa Fc $\gamma$ -reseptori CD16:ta, joka vastaa monista efektoritoiminnoista. Erittämisominaisuuksiensa kautta NK-solut voivat ajaa tulehdusreaktiota, ja muokata ja säädellä muiden immuunisolujen toimia. NK-solut vastaavat myeloidisolujen, kuten dendriittisolujen, makrofaagien ja plasmasytoidisten dendriittisolujen, ja infektoidun kudoksen tuottamiin IL-12- ja IL-18-sytokiineihin. NK-solut aktivoivat myeloidisoluja PRR-reseptoreillaan ja ne välittävät ja vahvistavat tärkeitä sytokiineja kuten IFN- $\gamma$ :aa. Ihmisissä NK-solut kykenevät osoittamaan sytotoksisuutta CD4<sup>+</sup> ja CD8<sup>+</sup> T-soluja ja myeloidisia soluja vastaan. Tämän myötä NK-solujen sytotoksisuus pystyy tasapainottamaan immuunivastetta taaten efektiivisen vasteen välttämällä ylenmääräisen tulehduksen ja ylläpitämään self-toleranssia. (Zitti & Bryceson 2018)

### ***1.2.10. Luontaiset lymfoidiset solut***

Luontaiset lymfoidiset solut (ILC) ovat laaja perhe kudospaikallisia immuunisoluja, jotka muistuttavat fenotyypiltään ja toiminnaltaan T-soluja. Niiden tehtäviin kuuluu kudospuurin ylläpito patogeeneja vastaan, ja ne edistävät immuunivasteita erittämällä

efektorisytokiineja ja säätelemällä muiden luontaisten ja adaptiivisten immuunisolujen toimintoja. (Karagiannis & Wilhelm 2018, Panda & Colonna 2019) ILC-solut toimivat välittäjinä erilaisten fysiologisten signaalien integraatiossa immuniteetin muodostuksessa rajapinnoilla (Karagiannis & Wilhelm 2018). Vaikka ILC:n runsaus lymfoidikudoksissa on alhainen verrattuna T-soluihin, rajapinnoilla kuten ihossa, keuhkoissa, suolistossa ja myös rasvakudoksissa on huomattava määrä ILC-soluja (Karagiannis & Wilhelm 2018). Niitä on erityisen runsaasti limakalvoilla, joissa ne kohtaavat allergeeneja, mikrobeja ja muita patogeeneja (Panda & Colonna 2019). Tämä kudosesidonnainen on sopuinnossa keskeisen roolin kanssa kudosten ylläpitämisessä ja suojaamisessa tunkeutuvia taudinaiheuttajia vastaan. Rajapintakudosten lisäksi ILC-soluja on myös maksassa ja aivojen kalvoilla, ja niillä on tärkeä rooli kudosten homeostaasin ylläpitämisessä. (Karagiannis & Wilhelm 2018)

ILC:t ovat valmiita erittämään sytokiineja, jotka reagoivat nopeasti patogeenisiin kudovaurioihin ja muokkaavat myöhempää adaptiivista immuunivastetta (Trabanelli et al. 2018, Panda & Colonna 2019). ILC:t havaitsevat reseptoreillaan kudovauriossa vapautuvia sytokiineja sekä laajan kirjon ravintoainekomponentteja, mikrobien tuotteita, lipidivälittäjäaineita ja hermosolujen välittäjäaineita. (Panda & Colonna 2019) Sen lisäksi, että ILC:t reagoivat patogeeneihin ja vaurioihin liittyviin molekyyliin, niiden reseptorit mahdollistavat vuorovaikutuksen kudoksen muiden solujen kanssa ja sytokiiniin erityksen kalibroinnin. Ekspressoidut hermopeptidireseptorit mahdollistavat ristipuhelun ILC-solujen ja ääreishermoston, mukaan lukien hermosolut ja gliasolut, välillä. Erityisiä reseptoriryhmiä ne käyttävät havaitsemaan solutiheyttä, hermosolujen signaaleja, tulehdusvälittäjiä, patogeeneihin ja kudovaurioihin liittyviä molekyyliä ja angiogeenisiä tekijöitä. Nämä ominaisuudet huomioon ottaen ILC:t toimivat vartiosoluina, jotka reagoivat nopeasti kudomuutoksiin palauttamalla homeostaasin tai tarvittaessa aktivoimalla immuunijärjestelmää ja värväämällä erilaisia immuunisoluja verenkierrosta. (Colonna 2018)

ILC-solujen tuottamien tunnusomaisten sytokiiniin, fenotyypin ja kehityspolkujen perusteella ILC:t jaetaan kolmeen pääryhmään: ILC1, 2 ja 3. Kaksi muuta immuunisolutyyppiä, NK-solut ja lymfoidikudoksen indusoijaset (LTi), sisällytetään yleensä ILC-perheeseen koska niiden fenotyypissä, kehityksessä ja toiminnallisuudessa on päällekkäisyyttä ILC1:n ja ILC3:n kanssa. (Panda & Colonna 2019)

ILC-solujen olennainen piirre on, että ne sijaitsevat kudoksissa. Vain erittäin harvinaisia ILC-kantasoluja ja ILC2-soluja on tavattu ääreisverenkierrosta, kun taas ILC3-



tai ILC1-soluja ei ole havaittu. Onkin osoitettu, että IL-25:lla tai helmintti-infektiolla stimuloitaessa suoliston "tulehdukselliset" ILC2:t lisääntyvät, poistuvat suolen limakalvon tukikerroksesta (lamina propria) imusuoniston kautta ja siirtyvät verenkiertoon. Tämä prosessi riippuu sfingosini-1-fosfaatti (S1P) -välitteisestä kemotaksista. Vereen joutuessaan tulehdukselliset ILC2-solut kulkeutuvat keuhkoihin ja muihin perifeerisiin kudoksiin, joissa ne edistävät helminttivastaista puolustusta ja kudosten korjausta. Siten ILC:t voivat tietyissä olosuhteissa käyttäytyä kuin T-solut ja siirtyä immuunipuolustuksen aikaansaamiseksi. (Colonna 2018)

ILC-lymfosyyttiperheen jäsenille on tunnusomaista yleinen riippuvuus signaloinnista IL-7-reseptorin (CD127) tai IL-15-reseptorin (CD122) kautta ja ne vaativat sytokiinireseptori IL-2  $\gamma$ -ketjun ja transkription säätelijä Id2:n ja PLZF:ää kehittyäkseen. Toisin kuin adaptiiviset lymfosyytit, niiltä puuttuu somaattisesti uudelleenjärjestäytyneiden antigeenireseptorien ilmentyminen ja sen seurauksena niillä ei ole minkäänlaista antigeenispesifisyyttä. (Trabanelli et al. 2018, Karagiannis & Wilhelm 2018)

ILC-solujen jako kolmeen ryhmään perustuu niiden fenotyyppien ja toiminnallisuuksien samankaltaisuuksiin T-auttajasolujen kanssa. Ne heijastavat CD4+ T-auttajasolujen toiminnallisia polarisaatioita Th1, Th2 ja Th17/22. Tämän luokituksen mukaan LTI-solut on sisällytetty ILC3-populaatioon, kun taas NK-solut ovat osa ILC1-alajoukkoa, vaikka ne edustavat "sytotoksisia" ILC-soluja, jotka ovat CD8+ sytotoksisten T-solujen vastineita (Trabanelli et al. 2018).

Ryhmän 1 ILC:lle (ILC1), mukaan lukien NK-solut, on tunnusomaista T-soluissa ekspressoituvan transkriptiotekijän T-box-expressed-in-Tcells (T-bet) ilmentäminen. ILC1:n tuottama tunnusomainen efektorisytokiini on interferoni IFN- $\gamma$ , joka toimii ensisijaisesti immuunivasteiden lisäämiseksi solunsisäisiä patogeenejä, kuten viruksia tai solunsisäisiä bakteereja, vastaan. (Karagiannis & Wilhelm 2018) IFN- $\gamma$  edistää makrofaagien ja DC-solujen kykyä eliminoida solunsisäisiä bakteereja ja esitellä antigeenejä indusoimalla MHC- ja adheesiomolekyylien ilmentymistä. ILC1-soluille tyypilliset ominaisuudet ja toiminnot menevät pitkälti päällekkäin NK-solujen kanssa. (Panda & Colonna 2019) Kuten ILC1:t, luonnolliset tappajasolut (NK:t) tuottavat IFN- $\gamma$ :aa. NK-solut ovat kuitenkin erikoistuneet myös perforiinia ja grantsyymejä sisältävien lyttisten lysosomien vapauttamiseen, ja siksi niitä pidetään sytotoksisten CD8+ T-solujen luontaisina vastineina. Ihmisellä molemmat solutyypit ilmentävät CD56:ta ja NKp46:ta, on myös ILC1:n osajoukko, joka ekspressoi CD127:ää muttei CD56:ta. ILC1:t ilmentävät

kudosresidenssimarkkereita, kuten CD49a:ta ja CD103:a, sekä kudosten retentiomarkkeria, CD69, kun taas NK-solut ilmentävät verenkiertoon liittyviä markkereita, mukaan lukien CD62L, CCR7 ja S1PR. Perforiinin ja grantsyymien korkeamman ekspression perusteella NK-soluilla on enemmän sytolyttistä potentiaalia kuin ILC1-soluilla. ILC1:t tosin voivat tappaa kohdesoluja solukuolemaa indusoivan TRAIL-molekyylin kautta. (Panda & Colonna 2019)

Ryhmän 2 ILC (ILC2) ekspressoivat transkriptiotekijää GATA-3 ja tuottavat sytokiineja interleukiini IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 ja amfreguliinia. ILC2:t ovat vastuussa kudosten korjauksen edistämisestä ja suojaamisesta helmintti-infektioita ja allergeeneja vastaan. Ne voivat myös lisätä patogeenisia vasteita johtaen allergioihin ja astmaan. (Karagiannis & Wilhelm 2018) Vaikka ILC2-soluja pidetään homogeenisina, ne luokitellaan kahteen ryhmään sen perusteella, miten ne reagoivat IL-33:een ja IL-25:een. Normaalitilassa olevia IL-33-responsiivisiä ILC2-soluja kutsutaan luonnollisiksi ILC2:ksi (nILC2), kun taas IL-25-reaktiivisia ILC2:ia, jotka ilmaantuvat altistuksessa IL-25:lle tai helmintti-infektioille, kutsutaan tulehdukselliseksi ILC2:ksi (iILC2). nILC2:ta havainnollistaa kohonnut Thy1:n ja ST2:n sekä suhteellisen vähäinen KLRG1:n ekspressio, vastaavasti iILC2:t ekspressoivat enemmän KLRG1:tä, vähemmän Thy1:tä ja lähestulkoon ei lainkaan ST2:ta solun pinnalla. IL-10:tä (ILC210) tuottava ILC2:n alapopulaatio on myös tunnistettu. ILC210 voidaan indusoida IL-33:lla tai papaiinilla ja ne ovat transkriptionaalisesti erilaisia. Lisäksi tämä populaatio supistuu, kun ärsyke poistetaan, ja muutama jäljellä oleva ILC210 voidaan aktivoida välittömästi uudelleenstimulaatiolla. (Panda & Colonna 2019)

Ryhmän 3 ILC:t (ILC3) sisältävät lymfoidikudos-induktorisolut (LTI) sekä luonnolliset sytotoksisuusreseptoriposiitiiviset (NCR+) ja -negatiiviset (NCR-) ILC3-solut. Kaikki ILC3-alajoukot jakavat sukulinjan määrittävän transkriptiotekijän ROR $\gamma$ t ekspression. Lisäksi NCR+ ILC3:t espressoivat T-bet-tekijää, ja ne tuottavat sytokiinejä IL-22 ja IL-17. (Karagiannis & Wilhelm 2018) IL-22 stimuloi antimikrobisten peptidien eritystä epiteelisoluissa ja limantuotantoa pikarisoluissa (goblet cells), mikä tukee suoliston eheyttä (Panda & Colonna 2019). Se myös edistää epiteelisolujen erilaistumista suoliston kantasoluista, ja lisäksi IL-22 indusoi fukosyyli transferaasi 2:n ekspressiota suoliston epiteelisoluissa, mikä edistää eritettävien pintaproteiinien fukosylaatiota. Näistä fukosyloiduista proteiineista vapautuu fukoosia, jota mikrobit metaboloivat energialähteenä. Fukoosin metabolian on osoitettu estävän virulenttien geenien ilmentymistä kommensaalibakteereissa. (Panda & Colonna 2019) IL-17 puolestaan edistää

granulopoiesia (jyväsolu muodostusta) ja neutrofiili kemoattraktantin erittymistä. ILC3:t tuottavat myös muita sytokiinejä, kuten IL-26:ta, GM-CSF:ää ja TNF- $\alpha$ :aa. GM-CSF ylläpitää myeloidisolujen, kuten suoliston DC-solujen, muodostumista ja selviytymistä, jotka edistävät kommensaalisetöisten T-solujen muodostumista. (Panda & Colonna 2019) ILC3-solujen päätehtävä on suojella isäntää bakteeri-infektioilta ja estää patogeenien siirtyminen rajapintakudosten yli. (Trabanelli et al. 2018, Karagiannis & Wilhelm 2018) LTi-soluja pidetään osana ILC3-ryhmää, koska ne ovat riippuvaisia ROR $\gamma$ t:stä kehityksessään, erittävät IL-17:ää ja IL-22:ta ja ilmentävät useita ILC3-soluille ominaisia solun pintamarkkereita. (Colonna 2018) Alkiossa LTi ohjaa sekundääristen lymfoidielinten, mukaan lukien imusolmukkeiden ja Peyerin plakkien, kehitystä lymfotoksiinin ekspression kautta, joka kytkeytyy LT $\beta$ -reseptoriin stroomasoluissa. Aikuisella LTi-solut ryhtyvät muodostaen suoleen cryptopatcheja, jotka kehittyvät B-solurikkaiksi eristetyiksi lymfoidirakkuloiksi. (Panda & Colonna 2019) Lymfoidisen organogeneesiroolinsa lisäksi LTi-soluilla on myös erikoistuneita toimintoja adaptiivisessa immuunijärjestelmässä, mukaan lukien vaikutus T- ja B-solujen kehitykseen, aktivaatioon ja toimintaan. Samoin kuin antigeeniä esittelevät solut (APC:t), MHC-II:ta ilmentävät LTi-solut pystyvät esittelemään antigeenejä CD4<sup>+</sup> T-soluille. Kuitenkin toisin kuin klassiset APC:t, LTi-solut eivät ilmennä kostimulatorisia molekyylejä CD40, CD80 ja CD86. Siten LTi-solujen antigeenin esittely ilman kostimulaatiota voi indusoida T-solukuoleman ja siten rajoittaa CD4<sup>+</sup> T-soluvasteita. Suolen limakalvon tukikerroksesta, jossa LTi-soluja on runsaasti, tällainen toleranssimekanismi on ratkaiseva suoliston paikallisen homeostaasin ylläpitämisessä. Suurin osa ILC3:sta lymfoidielimissä, kuten pernassa ja imusolmukkeissa, ovat CCR6<sup>+</sup> LTi-soluja. Kuten suolistossa asuvat LTi-solut, lymfoidielinten ILC3:t voivat myös ottaa sisään antigeenejä ja esitellä niitä CD4<sup>+</sup> T-soluille, mikä johtaa T-soluriippuvaiseen vasta-ainetuotantoon. Suolistosta poiketen ILC3:t lymfoidielimissä alkavat ekspressoida kostimulatorisia molekyylejä CD80 ja CD86 IL-1 $\beta$ :n läsnä ollessa ja tuottavat sytokiinejä, kuten IL-2, IFN- $\gamma$  ja TNF- $\alpha$  ja voivat siten täysin aktivoida T-soluja. (Zhong et al. 2018)

Luokittelunsa mukaan ILC1:n sytokiinituotantoa voidaan stimuloida IL-12:lla, IL-15:llä ja IL-18:lla, kun taas IL-25, IL-33 ja TSLP stimuloivat ILC2:ta. ILC3 puolestaan reagoi nopeasti stimulaatioon IL-1:llä ja IL-23:lla (Colonna 2018, Karagiannis & Wilhelm 2018, Zhong et al. 2018). Kudonvaurion tai patogeenien immuuniaktivaation yhteydessä tuotettujen sytokiinien on havaittu toimivan ILC-välitteisen immunitetin tärkeimpinä säätelijöinä. (Karagiannis & Wilhelm 2018)

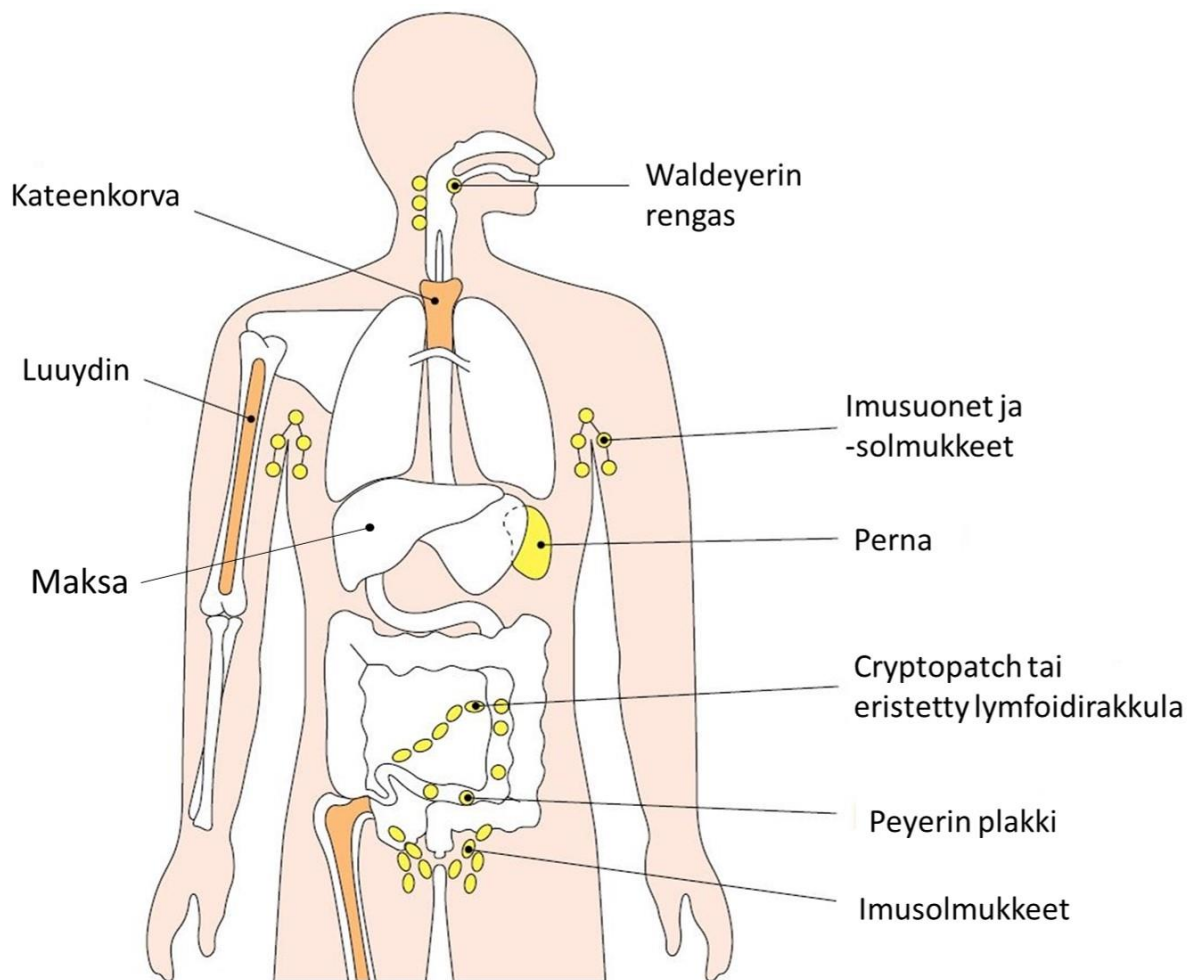
Monet ILC-fenotyypit saattavat heijastaa saman solutyypin mukautumista erilaisiin kudosempäristöihin, mikä tunnetaan toiminnallisena plastisuutena. ILC-alajoukot ovat toiminnallisesti plastisia, koska ne muuttuvat muiksi alaryhmiksi sopivilla sytokiiniärsykkeillä (Colonna 2018, Zhong et al. 2018). Esimerkiksi ROR $\gamma$ <sup>+</sup> ILC3:t muuttuvat ILC1:n kaltaisiksi soluiksi, jotka reagoivat IL-12:een ja tuottavat IFN- $\gamma$ :aa, kun niitä viljellään IL-2:n tai IL-15:n kanssa, mikä indusoi T-bet-transkriptiotekijän sekä IL-12-reseptori (IL-12R)  $\beta$ 2:n lisääntymistä. ILC3:n viljely IL-23:n kanssa puolestaan mahdollistaa ILC1:ksi konversiota, vaikka IL-23 on tärkeä ärsyke laukaisemaan IL-22:n erittymistä ILC3-soluista. Tämä IL-23:n paradoksaalinen vaikutus riippuu STAT4-transkriptiotekijän korkeasta ilmentymisestä ILC3:ssa. Näin ollen ILC3-solujen jatkuva altistuminen IL-23:lle johtaa STAT4:n aktivaatioon, joka indusoi tyypin 1 polarisaatiota. (Colonna 2018)

## 2. Elimet ja kudokset

Immuunijärjestelmän elimet ja kudokset muodostavat tarvittavan interaktiivisen ympäristön immuunisolujen syntymiseen, kehitykseen, aktivoitumiseen ja tehtävien suoritukseen.

Generatiiviset lymfoidiset elimet, tunnetaan myös primäärisinä tai keskuslymfoidisina eliminä. Lymfosyytit ilmentävät antigeenireseptoreitaan (B- ja T-solut) ensimmäistä kertaa luytimessä ja kateenkorvassa, ja saavuttavat toiminnallisen kypsyyden. B-lymfosyytit kypsyvät osittain luytimessä, siirtyvät verenkiertoon ja kulkeutuvat pernaan saattamaan kypsymisen loppuun ja sieltä ne siirtyvät sekundäärisiin lymfoidisiin elimiin. T-lymfosyytit kypsyvät kateenkorvassa ja kulkeutuvat sitten lymfoidisiin elimiin. Ensisijaisten elinten kaksi tärkeää funktiota on tuottaa kasvutekijöitä ja molekulaarisia signaaleja lymfosyyttien kasvattamiseksi ja esitellä self-antigenejä kypsyvien lymfosyyttien tunnistukseen ja valintaan. (Abbas et al. 2021) Toissijaset (tai perifeeriset) lymfoidiset elimet imusolmukkeet, perna ja limakalvojen immuunijärjestelmän komponentit, mm. Peyerin plakit ja risat (Waldeyerin renkaan komponentit), kehittyvät ennalta määrätyissä paikoissa alkionkehityksen aikana ja tarjoavat mikroympäristöt, joissa lymfosyyttien vasteet omiin ja vierasperäisiin antigeeneihin saavat alkunsa ja kehittyvät (Buettner & Lochner 2016, Krishnamurty & Turley 2020, Abbas et al. 2021). Nämä elimet sijaitsevat anatomisesti optimaalisissa paikoissa soluinteraktiolle, joka aloittaa adaptiivisen immuunivasteen mahdollistaen

näytteenoton omista ja ulkoisista antigeeneistä, jotka saavuttavat nämä elimet verenkierron (pernan tapauksessa) tai afferenttien (tuova) imusuonten kautta, jotka myös kuljettavat antigeeniä esitteleviä soluja kudoksista niitä kohti (Buettner & Lochner 2016). Näissä elimissä lymfositit ja APC-solut keskittyvät rajatuille alueille, joihin myös antigeenit kuljetetaan. Tämä takaa, että antigeenit ja antigeenispesifiset naiivit lymfositit tapaavat ja adaptiivinen immuunivaste saadaan aikaan. Lymfoidisten elinten anatomia myös mahdollistaa T- ja B-solujen interaktion, kun ne on aktivoitu antigeenillä. (Abbas et al. 2021) Mainitut ensisijaiset ja toissijaiset, mukaan lukien maksa vaikkei se varsinaisesti toimi kuin paikkana vasteelle, immuunijärjestelmän tärkeimmät elimet ja kudokset on esitetty **Kuva 2**:ssa.



**Kuva 2.** Immuunijärjestelmälitännäiset tärkeimmät elimet ja kudokset. Interaktiivisen ympäristön muodostavat primääriset elimet (luuydin ja kateenkorva), sekundaariset elimet (imusolmukkeet ja suonet, perna, Peyerin plakit ja risat (Waldeyerin rengas

nielussa) ja tertiäriset kudokset (cryptopatchit ja eristetyt lymfoidirakkulat). Maksa ei ole varsinainen immuunijärjestelmän elin, mutta sillä on olennainen rooli immuunivasteiden muodostuksessa. (Muokattu ja suomennettu lähteestä: Male, D. (2021). *Immunology: An Illustrated Outline* (6th ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003137658>)

Alkionkehityksen aikaisen lymfoidisten elinten muodostumisen lisäksi tiedetään, että strukturoituja lymfoidisia elimiä voi kehittyä myös syntymän jälkeen vasteena jatkuvalla tulehdusreaktiolle. Nämä järjestäytyneet lymfoidiaggregaatit muistuttavat toissijaisia elimiä ja osaa niistä kutsutaan tertiärisiksi lymfoidielimiksi tai -rakenteiksi. Erityisesti suolisto on kehittänyt joukon ainutlaatuisia tertiärisiä lymfoidirakenteita, mikä heijastaa suoliston immuunijärjestelmän poikkeuksellista haastetta ylläpitää toleranssia ruoka-antigeeneille ja monimutkaiselle kommensaalille mikrobistolle, säilyttäen samalla kudosten eheyden ja kyvyn taistella haitallisia taudinaiheuttajia vastaan. (Buettner & Lochner 2016) Nämä tertiäriset lymfoidielimet ovat jatkuvasti riippuvaisia tulehdusellisista ärsykkeistä ja häviävät, kun tulehdus on ratkaistu. Niitä voidaan havaita tulehduskohdissa, jotka kehittyvät esimerkiksi vasteena infektiolle tai autoimmuunivasteille, ja myös kasvainten mikroympäristöissä. Niiden karakterisointi sisältää haasteita, sillä ne määrittävät lymfosyyttien ja myeloidisolujen aggregaateiksi tulehtuneissa kudoksissa, jotka muistuttavat toissijaisia lymfoidielimiä. Ne muodostavat kapseloimattomia rakenteita, joilla on vaihteleva organisoitumisaste voiden vaihdella yksinkertaisista B/T-soluklustereista, joissa on alkeellista segregatiota, monimutkaisempiin, kypsempiin rakenteisiin, joissa on pikkuvaltimoita (HEV), B-solurakkuloita, joissa on germinaalitukerkuksia ja toisinaan imusuonet. Tämän laajan määrittelyn lisäksi niiden rakennetta, toimintaa ja muodostumista moduloivat todennäköisesti sekä sijainti että spesifiset tulehdusärsykkeet, aiheuttaen vaihtelua eri kudosten ja eri sairauksien välillä. (Gago da Graça et al. 2021)

Nykyinen immuunijärjestelmän ymmärrys on fokusoitunut paljolti vereen ja toissijaisiin lymfoidisiin elimiin. Silti kaikilla elimillä on paikallinen immuunisolupopulaationsa. Immuunitoiminnallisuus elimissä ei ole rajoittunut vain immuunisoluihin, vaan myös muut solut suorittavat osansa. Esimerkiksi lantion alueen epiteelisolut munuaisessa tuottavat antimikrobisia peptidejä ja neutrofiileja huokuttavia kemokineja, joilla se puolustautuu infektiota vastaan. Endoteelisoluilla, fibroplasteilla ja epiteelisoluilla, joilla on tavanomaisesti rakenteellinen rooli, on myös rooli elinspesifisessä

immuunivasteessa. (Krausgruber et al. 2020) Lisäksi hermostolla on merkittävä rooli immuunivasteiden hallinnassa ja generoinnissa. Vaikka hermostoa ja immuunijärjestelmää on perinteisesti pidetty toiminnallisesti ja anatomisesti erillisinä, on olemassa yhä enemmän näyttöä tarttuvien patogeenien aiheuttamasta aistihermosolujen suorasta aktivoinnista. Rajapintakudoksissa olevien nosiseptorien on mm. osoitettu havaitsevan bakteerituotteita, kuten huokosia muodostavia toksiineja (PFT), N-formyylipeptidejä ja endotoksiinia. Lisäksi yhä enemmän tiedetään siitä, miten kaksisuuntainen viestintä ääreishermoston ja immuunijärjestelmän välillä mm. pernassa, luuytimessä, suolistossa, hengitysteissä, keuhkoissa ja ihossa moduloi immuuni- ja tulehdusprosesseja. (Huang et al. 2021)

## 2.1. Luuydin

Koko elämän ajan luuydin (BM) on hematopoieettisten solujen, mukaan lukien lymfosyyttien, alkulähde. Luuydin ei ole yhteydessä imusuonijärjestelmään, mutta se on kiinteästi yhteydessä verenkiertoon, mikä tarjoaa nopean pääsyn systeemisesti levinneeseen antigeneihin. (Chang & Radbruch 2021) Luuytimestä esiintyy kahta muotoa, keltaista luuydintä, joka sisältää pääosin adiposyyttejä, ja hematopoieettista punaista luuydintä. Ihmisellä punaista luuydintä löytyy läpi luurangon alkionkehityksessä ja muutaman ensimmäisen vuoden ajan. Aikuisilla punainen luuydin säilyy kylkiluissa, solisluisissa, lapaluissa, olkaluissa, lantiossa ja selkärangassa, kuten myös rintalastassa ja reisiluun proksimaalipäässä. (Pabst 2018) Luuytimen tilavuus on verrannollinen kehon kokoon, joten se sopii hyvin hematopoieettisten osastojen koon määrittämiseen. Sen perussolukkoa organisoivat mesenkymaalisten stroomasolujen verkosto, jotka muodostavat vain muutaman prosentin kaikista luuytimen soluista. Kyseisen verkoston stroomasolut eivät vaikuta lisääntyvän, sillä ne eivät ekspressoi Mki67:ää, lisääntyvien solujen merkkiainetta, eivätkä ne sisällä EdU:ta, mikä olisi osoitus DNA:n replikaatiosta. Sellaisenaan stroomasoluverkko on vakaa ajan suhteen ja joustava tilavuuden suhteen. (Chang & Radbruch 2021)

Luuytimessä on erityiset mikroympäristöolosuhteet HSC-solujen pluripotenssin ja uusiutumisen ylläpitämiseksi sekä esiastesolujen asianmukaisen erilaistumisen varmistamiseksi kutakin hematopoieettista linjaa kohti. (Gomes et al. 2021) Nämä vaatimukset voidaan ekstrapoloida immunologisen muistin ylläpitämiseen eliniän ajan; antigeenin puuttuessa lepotilassa olevat B- ja T-lymfosyytit on pidettävä valmiina

aktivoitumaan uudelleen. (Chang & Radbruch 2021) Infektiot ovat yksi haasteista, joihin hematopoiesin on vastattava, jotta immuunijärjestelmällä olisi riittävästi toiminnallisia soluja. (Gomes et al. 2021) Mm. muisti-T-solujen, joilla on tietty spesifisyys, on osoitettu rajoittuvan luuytimeen. Valtaosa luuytimen muisti- CD4<sup>+</sup> T-lymfosyyteistä ylläpitääkin pitkäaikaista muistia systeemisiä taudinaiheuttajia kuten tuhkarokkoa vastaan. Samoin epiteelikudoksia infektoiville patogeeneille spesifisiä muisti-T-soluja löytyy suurelta osin epiteelikudoksista, kun taas niitä on vähemmän luuytimessä. (Chang & Radbruch 2021)

Luuytimen mesenkymaaliset stroomasolut siis tarjoavat ympäristön, lokeron, leptilassa oleville B- ja T-lymfosyyteille, sekundääristen immuunireaktioiden päätekijöille, ja muistiplasmasoluille, jotka ylläpitävät jatkuvaa humoraalista immuniteettia. (Chang & Radbruch 2021) Hematopoieettinen lokero on dynaaminen yksikkö, jossa eri solutyypit vuorovaikuttavat ja kommunikoivat. Yksi hematopoieettisen lokeron merkittävä piirre on kahden tyyppisten kantasolujen HSC:n ja MSC:n rinnakkaiselo ja keskinäinen säätely. Lokeron paikallistaminen on ollut haastavaa. Lymfodielinten kuten kateenkorvan, pernan ja imusolmukkeiden tapauksessa erilliset alueet voidaan tunnistaa selvästi joko niiden erilaisen solutiheyden tai stromaalisien solujakauman perusteella. Luuytimen tapauksessa tällaisia alueita ei kuitenkaan ole tunnistettu. Kahta erillistä HSC:tä koskevaa lokeroa on ehdotettu: endosteaalinen lokero, joka koostuu Ng2<sup>+</sup>-perisytytien ympäröimistä pikkuvaltimoista, jossa lepäävä HSC sijaitsee, ja perivaskulaarinen lokero, jossa lisääntyvä HSC sijaitsee lähellä Lepr<sup>+</sup>-soluja. (Gomes et al. 2021) HSC:n ylläpito ja säätely hematopoieettisessa lokerossa vaatii liukoiset tekijät, kantasolutekijän (SCF) ja CXC kemokiiniligandin 12 (CXCL12). Nestin<sup>+</sup> mesenkymaalisten kantasolujen (MSC) on osoitettu sijaitsevan lähellä HSC:tä ja ekspressoivan mainittuja HSC-ylläpito genejä CXCL12 ja SCF. Yhdessä nämä tulokset identifioivat MSC:t hematopoieettisen lokeron hoitosoluiksi, ja siten paljastivat, että tämä lokero sisältää itse asiassa kaksi erityyppistä kantasolua. (Gomes et al. 2021)

Luuytimessä muistiplasmasolut sekä muisti- B- ja T-lymfosyytit sijaitsevat hajanaisesti kaikkialla parenkyymissa, ja niiden yleisyys on noin 1 %:n tasoa. Ne kiinnittyvät stroomasoluihin, ilmeisesti yksi kerrallaan. Käytettävissä olevien dedikoitujen stroomasolujen määrä määrittää näin immuunimuistin koon. Syy tälle rajoitukselle ei ole tällä hetkellä selvä, mutta mahdollisesti muistisolujen ja stroomasolujen välisen synapsin kriittinen elementti rajoittuu synapsiin tehden tietyn stroomasolun näkymättömäksi muille muistisolulle tai muutoin kykenemättömäksi isännöimään niitä. Stroomasolun ja muisti-immunisolun välinen synapsi on monimutkainen, eikä sen molekyyliuonnetta ole vielä



täysin selvitetty. Stroomasolun VCAM-1:n ja ICAM-1:n sitoutuminen plasmakosolun VLA-4:ään ja LFA-1:een on ilmeisesti välttämätöntä selviytymiselle. Stroomakosolujen ekspressoima laminiini näyttää olevan myös välttämätön IgG:tä erittävälle luuytimen muistiplasmakosoluille, vaikka sen plasmakosolureseptori on vielä arvoituksellinen. CXCL12:n sitoutuminen plasmakosolujen CXCR4:ään on välttämätön aktivoituneiden B-kosolujen ja plasmablastien sijoittumiselle luuytimeen. Muisti-T-lymfosyyteillä VLA-4 ja VLA-2, jotka yhdistävät ne VCAM-1:een ja kollageeniin 2 ja 11, on tunnistettu osaksi niiden synapsia stroomakosolujen kanssa. Muisti-T-lymfosyytit myös ilmentävät CXCR4:ää ja se on välttämätön niidenkin sijoittumiselle luuytimeen. Lisäksi niiden suuntautuminen luuytimeen riippuu niiden CD69:n ekspressiosta. CD69:n estäminen tai sen poistaminen estää niiden pääsyn luuytimeen, ja se estää luultavasti mekanismia, jolla CD69 sitoutuu luuytimen sinusoidien (hiussuonten) endoteeliskosolujen myosiinin kevytketjuihin 9 ja 12. (Chang & Radbruch 2021)

Useilla hematopoieettisilla linjoilla näyttää olevan ainakin yksi tietynlainen erilaistumislokero. Sitä vastoin granulokosyyttien ja monokosyyttien yhteiset esiastesolut (GMP:t) löydettiin yksittäin hajallaan BM-parenkymistä ilman erityistä jakautumismallia suhteessa luhun, verisuoniin tai lokeroa tukevaan MSC:hen. Nämä havainnot voisivat selittää aikaisemmat tulokset, jotka osoittivat suuremman myeloidituoton verrattuna lymfaattiseen tuotantoon. Lisäksi hajallaan olevan GMP:n olemassaolo voi olla etu, joka mahdollistaa nopean erilaistumisen vasteena infektiolle. Yhteenvetona voidaan todeta, että hematopoieettinen lokero sisältää ainakin HSC:n, MSC:n ja varhaisia hematopoieettisia esiastesoluja. (Gomes et al. 2021)

Ylläpidon osalta luuydinpaikallisten muistilymfosyyttien ylläpitävää proliferaatiota ei ole havaittu määrittämällä kosolujen frekvenssiä kosusyklin S- tai G2M-vaiheissa eikä määrittämällä Ki67:n ilmentymistä, joka on proteiini, jota ekspressoivat vain solut kosusyklissä, eivät G0:ssa uinuvat solut. (Nolte et al. 2017, Siracusa et al. 2018, Chang & Radbruch 2021) Muistikosolujen paikallisuudesta ja liikkuvuudesta taas on paljon eriäviä näkemyksiä, ja ne jakautuvat karkeasti staattisen ja dynaamisen välille. Staattisen puolella näkemys on että, muistikosolut eivät vaihdu muiden kudosten kanssa, eivätkä siis poistu aktivoituttuaan luuytimeestä osallistuakseen paikallisiin immuunivasteisiin (Pabst et al. 2017, Siracusa et al. 2018). Dynaamisempi näkemys on, että muistikosolut osallistuvat mahdollisesti immuunivasteisiin luuytimen ulkopuolella (Nolte et al. 2017, Chang & Radbruch 2021) ja että niillä on vaihtuvuutta muiden kudosten kanssa myös lepotilassa (Nolte et al. 2017).

Riittävän hematopoieettisten kanta- ja esistasolujen (HSPC) varannon ylläpitoa varten luuytimeen vaikuttaa antigeeniaktivaation ohella myös hermosto. Kohdatessaan antigeenin luuytimessä, joka kulkee sinne joko veren kautta tai kulkeutuu sinne antigeeniä esittelevien solujen mukana, antigeenispesifiset muisti- T- ja B-solut aktivoituvat uudelleen. (Chang & Radbruch 2021) T-soluaktivaatio voi suoraan vaikuttaa HSPC-solujen erilaistumiseen ja lisääntymiseen. Muisti- CD8+ T-soluilla on myös myönteinen vaikutus HSPC-solujen eloonjäämiseen ja ylläpitoon. (Nolte et al. 2017) Tämän lisäksi luun ja luuytimen laaja hermotus sekä autonomisten että sensoristen hermosäikeiden osalta tarjoaa selkeän anatomisen perustan fysiologisten prosessien kuten luun muodostumisen, hematopoiesin ja immuunitoiminnan hermosäätelylle. Sympaattiset hermosäikeet voivat estää luun muodostumista noradrenaliinin vapautumisen ja siihen liittyvän  $\beta$ 2-adrenergisen reseptorin signaloinnin kautta osteoblasteissa.  $\beta$ 2-adrenergisten reseptorien aktivointi noradrenaliinilla johtaa osteoblastien toiminnan estämiseen ja kemokiini CXCL12, HSPC-retentiotekijän, vähentyneeseen synteesiin. Näin tehdessään sympaattiset hermosäikeet siis säätelevät HSPC-solujen siirtymistä luuytimestä verenkiertoon. (Jung et al. 2017)

Mesenkymaalisilla kantasoluilla, jotka ekspressoivat  $\beta$ 3-adrenergistä reseptoria, on myös rooli HSPC:n mobilisaation säätelyssä erityisesti vaurion jälkeen, ja ne tekevät sen vähentämällä HSPC-retentiotekijöiden tuotantoa. On osoitettu, että neuropeptidin, NPY:n, vapautuminen sympaattisista hermopäätteistä säätelee luuytimen mikroympäristön proteolyttistä luonnetta lisäämällä matriksin metalloproteinaasi-9:n aktiivisuutta, johtaen HSPC-retentiotekijöiden lisääntyneeseen hajottamiseen ja siten näiden solujen vapautumiseen lokeroistaan verenkiertoon. Yhteenvedona voidaan todeta, että sympaattisen hermoston aktivoituminen vasteena fysiologiselle stressille ja/tai kudospuuriolle saa aikaan solu- ja molekyyli muutoksia vapauttamalla noradrenaliinia ja bioaktiivisia neuropeptidejä, kuten NPY:tä. Nämä yhdessä johtavat mikroympäristöön, joka suosii HSPC-solujen vapautumista luuytimestä verenkiertoon. (Jung et al. 2017)

## 2.2. Kateenkorva

Kateenkorva sijaitsee ylärintakehässä ja se käsittää kaksi lohkoa, joista kutakin ympäröi kapseli. Rakenteessa on kaksi erillistä vyöhyketyyppiä, korteksi ja medulla. Lohkoja halkoo juosteet (trabekulaarit), jotka ovat kapselin laajennuksia korteksiin ja medullaan, ja verisuonet ja hermot kulkevat niissä elimeen. Ihmisellä kateenkorvan organogeneesi

tapahtuu aikaisessa alkiovaiheessa, ja elimelle ominainen surkastuminen jatkuu elinkaaren läpi. Luonnollinen kateenkorvan kutistuminen tapahtuu ikääntyessä, ja se laskee huomattavasti elimen toiminnallisuutta elinkaaren aikana. Kateenkorvan epiteelisolujen (TEC) lisääntymistä tarvitaan kateenkorvan normaaliin kasvuun ja organogeneesin alkuvaiheen nopeaa jakautumista ohjaa Myc-transkriptiotekijä. Myc-ekspressio on korkeaa alkiovaiheessa ja sen ekspressio hiipuu ikääntyessä. Tämä kasvua säätelevä tekijä voi olla osatekijä myös ikäliitännäisessä kutistumisessa. (Alawam et al. 2020) Hitaista muutoksista huolimatta kateenkorvan strooman määrittävät piirteet pysyvät suhteellisen vakioina, mukaan lukien kaksi tärkeää fibroplastien tukemaa endodermijohdettua epiteelisolutyyppiä. Nämä ovat kortikaalinen (cTEC) ja medullaarinen kateenkorvan epiteelisolu (mTEC), jotka saavat alkunsa yhteisestä kaksoispotentista esisolusta (Alawam et al. 2020). Muita suhteellisen vakioina pysyviä piirteitä ovat hermostopienajohdannaiset perivaskulaariset solut, endoteeli ja muut lyhytaikaiset ei-T-tyyppiset hematopoieettiset solut. (Rothenberg 2019)

T-solujen kehittymiseksi lymfoidiset kantaisäsolut siirtyvät luuytimestä ja löytävät tiensä kateenkorvan stroomaan, jossa ne kypsyvät. Strooman kortikaaliset ja medullaariset mikroympäristöt koordinoivat T-solu-populaation syntyä. (Kondo et al. 2019) Nämä mikroympäristöt muodostuvat kateenkorvan organogeneesissä ja säilyvät läpi eliniän (Alawam et al. 2020) Kateenkorvan kuori tarjoaa uniikin proteiineja hajottavan koneiston cTEC-solujen sytoplasmassa ja endosomi-lysosomi-lumenissa, jolla se edistää self-peptidien esittelyä T-soluille positiivisen valinnan aikaansaamiseksi, jolla tuotetaan toiminnallisesti kompetentteja T-soluja. Medullassa puolestaan mTEC-soluilla on uniikki proteiinituotantokoneisto, jolla se myös edistää sekalaisten self-peptidien esittelyä, jolla varmistetaan T-solujen itsesietokyky. cTEC- ja mTEC-solujen koneistot poikkeavat toisistaan toiminnallisuudeltaan, mutta ne jakavat vastuun kehon itsensä esittelystä kehittyville T-soluille. (Kondo et al. 2019)

Tärkeän osan self-peptidien mahdollistamisessa tekevät LTi-solut. Alkiovaiheessa LTi-soluja ilmaantuu kateenkorvaan alkaen E14:sta ja ne säilyvät aikuisiän ajan. Ne ovat fenotyypiltään samanlaisia kuin LTi-solut muissa imukudoksissa. Nämä LTi-solut ilmentävät myös TRANCE:a kuten muut LTi-solut, mikä mahdollistaa vuorovaikutuksen kateenkorvan ytimen epiteelisolujen kanssa, jotka ilmentävät TRANCE-reseptoria, eli reseptori aktivaattori NF- $\kappa$ B:tä (RANK). TRANCE/RANK-vuorovaikutuksen käynnistämä signaali edistää autoimmunisäätelijän, AIRE:n, ekspressiota medullan epiteelisoluissa, mahdollistaen kudosrajoitettujen self-antigeenien ekspressioon, joita

tarvitaan negatiiviseen valintaan T-solujen kehityksen aikana. Siten kateenkorvan LTi-solut ovat osallisina T-solujen keskeisen toleranssin säätelyssä omia antigeenejä kohtaan vuorovaikuttamalla kateenkorvan medullan epiteelisolujen kanssa. (Zhong et al. 2018)

### 2.3. Perna

Perna on suurin toissijainen lymfoidinen elin kehossa. Se sisältää laajan immunologisen toiminnallisuuden punasolujen siivouksen ja varastona toimimisen ohella, ja se toimii myös paikkana hematopoiesille alkionkehityksessä. Pernan fysiologinen rakenne mahdollistaa patogeeneiden ja epänormaalien solujen suodattamisen sekä muutoin matalan todennäköisyyden interaktiot antigeeniä esittelevien solujen (APC) ja vastinkappalelymfosyyttien välillä. Nämä spesifiset APC:t säätelävät T- ja B-soluvastetta veren antigeenejä vastaan. (Lewis et al. 2019)

Perna jaetaan toiminnallisuuden ja rakenteen mukaan punaiseen massaan (RP, red pulp), valkoiseen massaan (WP, white pulp) ja niiden väliseen marginaalialueeseen (MZ). Pernan ympärillä on sidekuduskapseli, josta ulottuu juosteita (trabekulaareja) elimeen. Veri tulee ja poistuu pernasta sen mediaalipinnan puolelta, pernan portista. Pernavaltimo kulkee trabekulaarin sisällä ja johtaa verta marginaalialueen avoimiin pikkuvaltimoihin, joista veri pääsee avoimeen järjestelmään RP:hen suodattumaan. Kierrätetty veri poistuu pernalaskimon kautta. WP kattaa alle neljänneksen pernan kudoksesta ja muodostuu pääasiassa lymfosyyteistä. Suurin osa kudoksesta on RP:tä, joka suodattaa verestä ikääntyneet tai vahingoittuneet punasolut, kuolleet ja opsonoidut solut sekä mikro-organismit samalla seuraten patogeenejä. RP toimii myös varastona punasoluille ja monosyyteille ja kierrättää rautaa. Poiketen imusolmuista, pernalla ei ole imusuonia, jonka vuoksi kaikki solut ja antigeenit tulevat sinne verenkierrosta. (Lewis et al. 2019)

Adaptiiviset immuunivasteet antigeenejä vastaan alkavat WP:ssä, jossa T- ja B-solu alueet ovat jakautuneet erillisiksi alueiksi samaan tapaan kuin imusolmukkeissa. RP puolestaan sisältää neutrofiilejä, monosyyttejä, dendriittisoluja,  $\gamma\delta$ T-soluja ja makrofaageja. (Lewis et al. 2019) Verivälitteiset infektiot voivat johtaa sepsikseen, jonka estämiseksi aiheuttajapatogeeni pitää pystyä eliminoimaan nopeasti. Suonensisäiset makrofaagit maksassa ja pernan punaisessa massassa ja marginaalialueella poistavat pääosan mikro-organismeista. Esimerkiksi ihon ja suolen omat bakteerit perna yleensä poistaa muutamissa minuuteissa. Patogeeneiden totaalinen poisto vaatii spesifisiä vasta-aineita. Pernan marginaalialueen B-solut tuottavatkin IgM- ja IgG2-vasta-aineita, jotka

kohdistuvat verivälitteisiin patogeeneihin muutaman päivän sisällä infektiosta. Pernan valkoisen massan follikkelien B-solut puolestaan tuottavat spesifisiä IgG-vasta-aineita. (Kashimura 2020)

Varhaiset immunohistokemialliset tutkimukset paljastivat tiheän sympaattisten noradrenergisten kuitujen verkoston kulkevan pernan hermon kautta, ja suuri osa verkosta liittyi läheisesti pernan valtimoon ja sen haaroihin. Vaikka osa keskusvaltimoiden kautta tulevista hermokuiduista jakautuu pernan kapseliin, trabekuloihin ja suoniin, suurin osa liittyy valkoiseen massaan. Valkoisen massan sisällä nämä kuidut leviävät keskusvaltimon haarojen kautta ympäröivään periarteriolariseen lymfoidiseen tuppeen (PALS) ja follikkeihin, joissa löytyy T- ja B-lymfosyyttejä. Valkoisen massan sympaattiset hermokuidut ulottuvat toisinaan marginaalivyöhykkeisiin (MZ) ja kulkevat parafollikulaarisia vyöhykkeitä pitkin, joissa MZ-makrofaagit, MZ-B-lymfosyytit ja follikkeliperäiset B-solut sijaitsevat. Tyrosiinihydroksylaasipositiiviset noradrenergiset kuidut voivat luoda suoria yhteyksiä pernan immuunisoluihin, mikä on merkittävää ottaen huomioon, että neuropeptidin vapautuminen sympaattisista synapseista (esim. NPY ja VIP) voi suoraan moduloida immuunisolujen toimintaa. Samoin kuin luuytimessä, noradrenergisten kuitujen anatominen jakautumismalli pernan osastoissa tukee mallia keskushermoston pernan immuunisoluaktiivisuuden suorasta tai epäsuorasta modulaatiosta. (Jung et al. 2017)

Pernan hermoston inervaation merkitys immuunitoiminnassa on ehkä parhaiten tutkittu ja ymmärretty ns. tulehduksellisen refleksin yhteydessä. Pernalla on avainrooli akuutissa (perifeerisessä) tulehduksellisessa vasteessa immunologisiin haasteisiin ja kudosaaurioihin, joihin sisältyy kasvaimen nekroottisen tekijä- $\alpha$ n (TNF- $\alpha$ ) tuottaminen. Pernan tulehduksellinen refleksi on melko monimutkainen ja sisältää sekä hermo- että ei-neuraalisia elementtejä. Se koostuu noradrenergisistä (sympaattisista) ja kolinergisista (parasympaattisista) neuroneista sekä pernan T-soluista ja makrofageista. Vaikka pernan tulehduksellisen refleksin ymmärtämisessä on vielä työtä, on selvää, että autonomisella hermostolla on kriittinen rooli tulehduksellisen sytokiinimiljöön hallitsemisessa permassa, mikä puolestaan vaikuttaa makrofaagien polarisaatioon, T- ja B-solujen aktivaatioon ja vasta-aineiden tuotantoon. (Jung et al. 2017)

## 2.4. Imusuonet ja -solmukkeet

Imusuonet muodostavat laajan verkoston, joka helpottaa ääreisverisuonistosta vuotaneen plasman poistumista ja sen takaisinottoa laskimoiden verenkiertoon nesteen homeostaasin ylläpitämiseksi. Lisäksi ne muodostavat immuunijärjestelmän olennaisen osan, tarjoten kanavia mm. antigeeniladattujen dendriittisolujen, muisti- ja säätely-T-solujen (T<sub>mem</sub> ja T<sub>reg</sub>) ja neutrofiilien kuljettamiseen tyhjentäviin imusolmukkeisiin (LN) immuuniprosessin aktivoinnin, modulaation ja perifeerisen toleranssin aikana. Imusuonet siis täyttävät elintärkeän fysiologisen tehtävän kanavina, joiden kautta leukosyytit kulkevat kudosten ja tyhjennysimusolmukkeiden välillä immuunivasteiden käynnistämiseksi ja moduloimiseksi. Tämä lymfaattinen verkosto eroaa verisuonistosta sekä rakenteeltaan että fysiologialtaan. Imusuonet alkavat umpikujamaisina kapillaareina, jotka läpäisevät vapaasti nesteitä, ja niissä on epäjatkuvat, päällekkäiset liitokset, jotka ovat sopeutuneet solujen kulkeutumiseen, toisin kuin perinteiset tiiviit liitokset, jotka eristävät useimmat verisuonet. (Jackson 2019)

Suurimmat normaaleissa affereenteissa (tuovissa) imusuonissa kulkevat solupopulaatiot ovat T-solut (80–90 %), seuraavaksi ovat antigeeniä esittelevät DC:t ja lopuksi hyvin pienet määrät B-soluja, jotka yhdessä muodostavat suurimman osan jäljellä olevasta 10–20 prosentista. CD4-alajoukon lymfosyyttejä on affereenteissa imusuonissa noin viisinkertaisesti enemmän kuin sytotoksisen CD8-alaryhmän lymfosyyttejä, ja vain pieni määrä naiiveja T-soluja on yleensä läsnä affereenteissa imusuonissa. Toisin kuin afferentti imusuonisto, leukosyyttipopulaatiot, jotka ovat läsnä imusolmukkeen efferenttissä (poistavassa) imusuonessa, ovat enimmäkseen naiiveja T- ja B-soluja. Ne ovat tulleet imusolmukkeisiin tutkiakseen korteksissa ja parakorteksissa olevien DC:iden esittelemiä antigeenejä, ja ne palautetaan lopulta verenkiertoon. Tulehduksen aikana T-solujen ja DC:iden määrä affereenteissa imusuonissa kasvaa moninkertaiseksi samalla kun imusuonten läpäisevyys ja imusuonten virtausnopeus lisääntyy. (Jackson 2019)

Imunesteessä kulkevien leukosyyttien tärkein kohde on imusolmuke, pienen pavun kokoinen elin useimmissa ääreiskudoksissa. Imusolmukkeessa solut saapuvat subkapsulaariseen sinukseen (SCS), sokkeloiseen osastoon, joka on jatkumoa affereenteille imusuonille ja sijaitsee heti imusolmun ulkokapselin alla. Sieltä ne kulkevat SCS-endoteelin läpi päästäkseen runsaasti T- ja B-soluja sisältävään korteksiin, DC-solujen ja neutrofiilien tapauksessa T-solujen immuunivasteiden käynnistämiseksi tai uudelleenaktivoimiseksi, ja T<sub>mem</sub> ja T<sub>reg</sub> solujen tapauksessa vaikuttamaan vasteeseen tai

hillitäkseen vastetta, ennen poistumista takaisin kudoksiin. Verenkiertoon palanneet aktivoituneet lymfosyytit puolestaan kulkevat tulehduskohteisiin. (Jackson 2019)

LN:t sijaitsevat strategisesti imusuonten ja verisuonten haarautumiskohtien läheisyydessä antigeenien suodattamiseksi ja immuunisolujen sisään pääsyn helpottamiseksi ympäröivistä kudoksista. Samaa tarkoitusta tukemaan LN:t sijaitsevat strategisesti eri puolilla kehoa nopean ja tehokkaan vastustuskyvyn helpottamiseksi. (Krishnamurty & Turley 2020) Ihmisessä imusolmukkeista on havaittu noin 400. (Jalkanen & Salmi 2020) LN:t toimivat siis vartioelimiä, jotka keräävät, suodattavat ja valvovat jatkuvaa interstitiaalisen neste (imunesteen) virtausta, jota afferentit imusuonet poistavat perifeerisistä kudoksista. (Huang et al. 2021) Useimmat, elleivät kaikki, leukosyyttipopulaatiot kulkeutuvat imunesteessä. Antigeenit ja muut interstitiaalisen nesteen liukoiset molekyylit valuvat myös afferentteihin imusuoniin. Imusolmukkeisiin tarkoitettujen molekyylit ja solut kuljetetaan sitten tyhjentäviin imusolmukkeisiin yksisuuntaisen imunesteen virtauksen avulla. (Jackson 2019, Jalkanen & Salmi 2020) Imusuonten kautta kulkemisen lisäksi monet lymfosyyttityypit, kuten naiivit solut ja muistisolut, sekä muut leukosyyttityypit ja niiden esiasteet pääsevät LN:ään verestä pikkulaskimoiden (HEV, high endothelial venules) kautta, joita reunustavat verisuonten endoteelisolut, jotka ovat erikoistuneet tukemaan monivaiheista leukosyyttien ekstravasaatiokaskadia (Jalkanen & Salmi 2020, Huang et al. 2021). Ihmisen LN:ien pikkulaskimot sijaitsevatkin T-soluvyöhykkeellä sekä perifollikulaarisilla alueilla, ja ne ovat usein läheisesti yhteydessä follikkeleihin (Park et al. 2021). LN:t ovatkin adaptiivisten immuunivasteiden tärkeimmät aloituslokaatiot ja niitä tarvitaan myös ylläpitämään perifeeristä toleranssia omia antigeenejä kohtaan (Huang et al. 2021).

LN-parenkyymä on rakenteellisesti organisoitunut kolmeen osastoon: korteksiin, parakorteksiin ja medullaan, joista jokaisessa on erilaisia immuunisolujen alaryhmiä. Korteksissa, joka sijaitsee välittömästi subkapsulaariseen sinuksen alapuolella, on B-soluja yksittäisissä B-solurakkuloissa (follikkeleissa). Ihmisellä follikkeleita on myös syvemmillä parenkyymassa lähellä medullaa (Park et al. 2021). Korteksin alla on parakorteksi, jossa T-solut ja DC:t ensisijaisesti sijaitsevat. Medulla sijaitsee LN:n tyviosassa, ja sieltä löytyy makrofageja ja plasmasoluja. Se sisältää medullan sinuksia, jotka helpottavat imunesteen virtausta kortikaalin sinuksista ja ulos efferentti imusuonen kautta. Tässä ketjussa efferentistä tulee lopulta afferentti imusuoni seuraavalle, proksimaalisemmalle LN:lle tyhjentävien LN:ien ketjussa. Uloimpana koko elin on peitetty kollageenirikkaalla kapselilla, jonka läpi kulkevat afferentit imusuonet. (Krishnamurty & Turley 2020,

Jalkanen & Salmi 2020, Huang et al. 2021) Subkapsulaaristen ja medullan sinusten lisäksi LN:ssä on kuvattu kaksi muuta sinusjärjestelmää: poikittaiset ja äsken mainitut kortikaaliset sinukset. Poikittaiset sinukset (tunnetaan myös nimellä trabekulaariset ontelot tai kortikaaliset aukot) ovat syviä, säteittäisiä subkapsulaarisen sinuksen invaginaatioita, jotka joskus sijaitsevat trabekuloissa tai väliseimissä. Poikittaiset sinukset muodostavat avoimia kanavia subkapsulaarisesta sinuksesta aina medullan sinukseen asti. Kortikaaliset sinukset (tunnetaan myös lymfaattisina tai parakortikaalisina onteloina) ovat LN:n parakortikaalisella alueella olevia pusseja. Kortikomedullaarisessa liitoksessa myös nämä sinukset valuvat medullaan. Kortikaaliset sinukset muodostavat tiheän imukanavien verkoston, jota myöten lymfösytyt poistuvat LN:n parenkyymistä. (Jalkanen & Salmi 2020)

LN:n sinusjärjestelmiä reunustaa lymfaattisten endoteelisolujen (LEC) kerros muodostaen litteän solukerroksen myös subkapsulaarisen sinuksen ja LN-parenkyymien väliin. Lisäksi SCS:n LEC:t sisältävät endoteelin aukkoja ja transendotelialaisia kanavia, joita laajentavat kalvot, jotka tarjoavat suoria reittejä SCS:n alaiseen tilaan. Kalvot ovat kärrynpyörän kaltaisia suodattimia, jotka koostuvat plasmalemman vesicle-associated protein (PLVAP) -fibrilleistä (puolista). Suurin kaaren pituus yksittäisten puolien välillä kalvossa on noin 7–8 nm muodostaen aukon, joka on samanlainen kuin 70 kDa:n pallomaisen proteiinin säde. Siksi sinuskalvot voivat fyysisesti tai fyysikaalis-kemiallisesti edistää molekyylien 70 kDa:n kokoselektiivistä siirtoa LEC pohjan läpi. (Jalkanen & Salmi 2020, Krishnamurthy & Turley 2020, Novkovic et al. 2020) SCS:n parenkyymien puolta päällystävät LEC:t voivat myös ekspressoida CCL21:tä ohjaamaan DC:itä, kun ne tulevat afferenttien imusolmukkeiden kautta ja kulkevat LN:n parakorteksiin. Ei-parenkyymien SCS:n LEC:t auttavat tehostamaan DC-rekrytointia ekspressoimalla epätyypillistä CCL19- ja CCL21-kemokiinireseptoria ACKR4 (tunnetaan myös nimellä CCRL1), joka hajottaa kemokiineja muodostaen kemokiinigradientin SCS:n pohjan poikki. (Krishnamurthy & Turley 2020) Toinen merkittävä solujoukko, fibroblastiset retikulaarisolut (FRC:t), tuottavat kollageenipohjaisen johdinjärjestelmän, antavat rakenteellista tukea elimelle ja tarjoavat eloonjäämissignaaleja ja kulkureittejä leukosyyttien siirtymiselle LN:n eri osastojen välillä (Jalkanen & Salmi 2020). FRC:iden tuottama mikrotubulaarinen kanavajärjestelmä tyhjentää imusolmukkeen nestettä putkimaisen järjestelmän kautta pienten molekyylien ja antigeenien jakamiseksi LN:n sisällä, tarjoten tärkeitä kemotaktisia selviytymis- ja säätelysignaaleja immuunisoluille (Krishnamurthy & Turley 2020, Novkovic et al. 2020).



Fysiologisissa olosuhteissa imuneste sisältää yli tuhat erilaista proteiinia ja useita muita biomolekyylejä, jotka edustavat plasman ultrasuodoksen ja parenkymaalisten solujen tuottamien liukoisten molekyylien yhdistelmää. Imuneste kuljettaa myös liukenematonta materiaalia, mukaan lukien tietyt antigeenit, bakteerit ja virukset, tyhjennysimusolmuihin. Useimmat endogeeniset ja eksogeeniset imunesteen kuljettamat proteiinit osoittavat huomattavaa pitoisuuden laskua afferentin ja efferentin imusolmukkeen välillä, mikä on osoitus niiden tehokkaasta puhdistumasta tyhjentävässä LN:ssä. Subkapsulaarisessa sinuksessa imusuonten kautta kulkevat molekyylit ja hiukkaset voivat edetä viidellä vaihtoehoisella, mutta ei toisiaan poissulkevalla, reitillä. Ne voidaan fagosytoida subkapsulaaristen sinusmakrofaagien ja -dendriittisolujen avulla, joiden ulokkeet skannaavat jatkuvasti luminaalista sisältöä LEC-solukerroksen yläpuolella. Lisäksi subkapsulaariset sinusmakrofaagit kuljettavat pinnallaan olevia immuunikomplekseja B-solurakkuloihin. Sinuksen LEC:t ohjaavat suoraan kolmea muuta makrofaageista riippumatonta reittiä, jotka ovat sinuksen johtimien (johdinkanavat) välittämä siirto, transsytoosi sinuksen pohjan (parenkyyman puolen) läpi ja suora siirtyminen efferenttiin imusuoneen. Erityisesti monet proteiinit ja oligosakkaridit sijaitsevat tyhjentävien LN:ien parenkyymissa muutamassa sekunnissa ihonalaisesta injektioista, mikä tarkoittaa erittäin nopeita lajittelupäätöksiä sinusalueella. (Jalkanen & Salmi 2020)

Lymfaattisen ja laskimojärjestelmän välinen suora yhteys tapahtuu subclavian laskimoiden risteysten kautta (Novkovic et al. 2020). Tosin imuneste pysyy lokeroituna, kunnes se saavuttaa suurimman imusuonirungon eli rintatiehyen (Esterházy et al. 2019). Vain osa imunesteestä saadaan talteen efferentin imusuonen kautta ja proteiinipitoisuus efferentissä imunesteessä on korkeampi kuin imusolmukkeisiin menevässä nesteessä. Itse LN:ssä täytyy siis olla muita kanavia, jotka helpottavat alhaisen proteiinipitoisuuden nesteiden imeytymistä. Vaikuttaa, että LN:n kanavajärjestelmä tuottaa tärkeitä oikoteitä tälle fysiologisesti prosessille yhdistämällä imunesteen subkapsulaarisessa sinuksessa suoraan laskimojärjestelmään. Immuni järjestelmä käyttää tätä "putkistoa" ottaakseen näytteitä ja jakaakseen immunologisesti merkityksellistä tietoa perifeerin kudoksista. Lisäksi näyttää siltä, että kanavajärjestelmä tarjoaa erityisiä sisäänottokohtia immuunisolujen LN-parenkyymassa tuottamien suurempien molekyylien kuljettamiseen, jotta ne voidaan nopeasti välittää verenkiertoon. (Novkovic et al. 2020)

Infektion tai immunisoinnin jälkeen LN:n vaatimukset muuttuvat merkittävästi. Immunisoinnissa imusuonten koon ja imusolmukkeen nesteen virtauksen kasvu johtaa

naiivien lymfosyyttien ja vaeltavien DC:iden virtaamiseen LN-parenkyymaan. Lisääntynyt nestevirtaus voi puolestaan aktivoida lisääntyntä CCL21:n ekspressiota FRC:iden toimesta välittäen edelleen CCR7:ää ekspressoivien DC:iden ja naiivien lymfosyyttien värväämistä ja vangitsemista LN-parenkyymassa. Infektion tai tulehduksen alkaessa tämän kierrättävän populaation ulosvirtaus imusolmukkeesta pysähtyy tilapäisesti (3–4 päivää) pidentääkseen niiden viipymisaikaa ja siten parantaakseen immuunitunnistuksen tehokkuutta (Jackson 2019). Vastatakseen tähän lisääntyneeseen tarpeeseen LN:ien koko kasvaa ja johdinverkko uudistetaan ja laajennetaan merkittävästi. DC:iden kypsyminen antigeenin sisäänoton ja tulehduksen yhteydessä tehostaa DC:iden CLEC2 ekspressiota, joka sitoo PDPN:ää FRC:hin ja siten estää niiden supistumiskykyä. Seurauksena FRC:t venyvät ja pidentyvät, retikulaarisolujen verkko siten rentoutuu ja LN:t turpoavat. Tämä puolestaan helpottaa DC- ja T-solujen liikkuvuutta ja tehostaa DC-välitteistä T-soluaktivaatiota ja -proliferaatiota. (Krishnamurthy & Turley 2020)

Kuten T-soluaktivaatiossa, infektion tai immunisoinnin yhteydessä stroomasolut B-solurakkuloissa muokkaavat retikulaarisolujen verkkoja ja ekspressoivat migraatiomerkkejä helpottaakseen follikulaaristen B-solujen ja T-solujen välisiä vuorovaikutuksia B-soluaktivaation edistämiseksi. Aktivoiduttuaan B-solut siirtyvät takaisin follikkelikeskukseen käymään läpi nopean proliferaation ja germinaalikeskuksen (GC) muodostumisen korkean affiniteetin vasta-aineiden ja pitkäikäisten plasma- ja muisti-B-solupopulaatioiden tuottamiseksi. (Krishnamurthy & Turley 2020, Park et al. 2021) Antigeenin etsimisen jälkeen B-solut, jotka eivät kohtaa antigeeniä siirtyvät kortikaalisiin havaitsemalla sfingosini-1-fosfaattia (S1P) luontaisen S1P-reseptori 1:n (S1PR1) ekspression avulla, mikä johtaa niiden poistumiseen LN:istä. S1P-gradientin säätely on myös ratkaisevan tärkeää germinaalikeskusvasteiden aikana, koska GC:iden uskotaan olevan LN:n lokero, jossa on alhaisimmat S1P-pitoisuudet, ja ne säilyttävät GC B-solut, kunnes ne erilaistuvat. (Park et al. 2021) Germinaalikeskus on mikroanatominen lokaatio, jossa aktivoidut B-solut saavat satunnaisia somaattisia mutaatioita immunoglobuliinigeeneihinsä, mitä seuraa affiniteettiin perustuva valinta (Liu & Shulman 2022).

Humoraalinen immunitetti on riippuvainen follikulaarisista T-auttajasoluista (Tfh), jotka ovat osa CD4<sup>+</sup> T-soluja, jotka sijaitsevat follikkeleissa ja tarjoavat apua B-soluille sytokiinin, kuten IL-4:n ja IL-21:n, erittymisen ja kostimulatoristen molekyylien, varsinkin CD40L:n, ekspression kautta. Tfh-solujen lisäksi imusolmukkeista ja verestä on löydetty CD4<sup>+</sup> säätely-T-solujen (Treg solujen) osajoukko, jota kutsutaan follikulaariseksi

säätelijä-T-soluksi (Tfr) ja niiden on osoitettu suppressoivan humoraalista immunitettä. Ne sijaitsevat T-soluvyöhykkeen ja B-solufollikkelin välisellä rajalla, ja vain hyvin vähän löytyy germinaalikeskuksista. Tfr-solut siis säilyttävät T-B- ja GC-vaipan rajoilla, missä ne toimivat immunosuppressiivisina portinvartijoina rajoittaen Tfh- ja B-solujen erilaistumista, sisään pääsyä ja toimintaa reaktiivisissa LN:issä. Tfr-solut säätelevät humoraalista immuunivastetta ”ulkopuolelta sisään”. (Sayin et al. 2018)

On osoitettu, että stroomasolut erityisesti FRC:t ja LEC:t, voivat kontrolloida ja poistaa itsereaktiivisia CD8<sup>+</sup> T-soluja esittelemällä suoraan ääreiskudoksiin rajoitettuja antigeenejä MHC-I:n avulla. Toisin kuin kateenkorvassa, omien antigeenien esittelyminen MHC-I:ssä ei ole riippuvainen autoimmunisäätelijägeenistä (AIRE:sta), jota ei ilmennetä stroomasoluissa, vaan transkriptiotekijästä Deaf-1, joka säätelee kudusrajoitettua antigeenin ekspressiota. Myös LEC:t voivat ekspressoida inhiboivaa molekyyliä PD-L1 sitoutuakseen PD-1:een CD8<sup>+</sup> T-soluissa yhdessä MHC-I:n kanssa itsereaktiivisuuden rajoittamiseksi.

Self-reaktiivisia CD4<sup>+</sup> T-soluja voidaan myös siedättää stroomasolujen toimesta. FRC:t ja LEC:t voivat hankkia self-peptidi:MHC-II-komplekseja DC:istä esitelläkseen ja siedättääkseen antigeenispesifisiä CD4<sup>+</sup> T-soluja. Käänteisesti LEC:t myös toimivat antigeenivarastona ja voivat siirtää oman antigeenin DC:hin suoraa self-peptidi:MHC-II:n esittämistä varten CD4<sup>+</sup> T-soluille. Stroomasolut voivat rajoittaa poikkeavaa T-soluaktivaatiota omien antigeenien MHC-II-esittelyllä indusoidakseen homeostaattisen Foxp3<sup>+</sup> säätelijä-T-solujen (Treg) lisääntymisen. Toleranssi kommensaalisia antigeenejä vastaan, jota havaitaan erityisesti suoliliepeen LN:issä, tehostetaan myös stroomasolujen kautta erittämällä Treg-soluja indusoivaa sytokiinia transformoivaa kasvutekijä-β:aa (TGF-β). (Krishnamurthy & Turley 2020)

Suoliston immuunijärjestelmällä on haastava tehtävä sietää vieraita ravintoaineita ja kommensaalista mikrobistoa ja samalla poistaa tai eliminoida nieltä taudinaiheuttajia. Kudosten eheyden ylläpitämiseksi on käytössä useita immuunimekanismeja, mukaan lukien efektori-T-solujen (Th) ja Foxp3<sup>+</sup> säätely-T-solujen tasapainoinen tuotanto, jotka tuovat vastustuskykyä patogeenejä kohtaan ja hillitsevät liiallista immuuniaktivaatiota. Suolen tyhjennysisolmukkeet (gLN:t) ovat kriittisiä kohtia mukautuvan immunitetin järjestämisessä. gLN:t ovat immunologisesti ainutlaatuisia niiden tyhjentämisen toiminnallisen suolisegmentin mukaan. Stroomasolujen ja dendriittisolujen geenien ekspressio sekä T-solupolarisaatio samaa (luminaalista) antigeeniä vastaan eroaa gLN:iden välillä, proksimaalisen ohutsuolen tyhjentävät gLN:t aiheuttavat ensisijaisesti

tolerogeenisiä ja distaaliset gLN:t tulehdusta edistäviä T-soluvasteita. (Esterházy et al. 2019)

LEC- solujen tärkeys LN:n säätelyssä korostuu myös hermoston toimesta, ja sensoristen neuronien pääkohteena se onkin looginen, koska LEC:t säätelevät antigeenin, imunesteen ja lymfositien virtauksia LN:ien kautta. Sensoriset neuronit voivat vaikuttaa lymfositiliikkeitään säätelemällä SIP-välitteistä lymfositien ulostuloa LN:istä. Sensoriset ja sympaattiset LN-hermosäikeet voivat toimia yhdessä tai itsenäisesti säädellen LN:issä kiertävien lymfositien viipymäaikaa mahdollistaen hienosäädön antigeenien kohtaamiseen. Imusolmukkeita, joihin tulee sympaattinen ja sensorinen hermotus, valvoo ainutlaatuinen valikoima sensorisia hermosoluja, joilla on paljon peptidergisiä nosiseptoreita. LN:tä hermottavat sensoriset neuronit yli ekspressoivat geenejä, joilla on tulehduksellisia tai immuunisolujen vuorovaikutusaktiiviteetteja, mm. *Tbxa2r*, *Il33*, *Ptgir* ja *CD1d*, mikä viittaa immunologisiin lisätoimintoihin, mukaan lukien kyky seurata LN:n tulehdustilaa havaitsemalla tulehduksen aiheuttamia prostanoideja, jotka voivat saavuttaa LN:tä imunesteen kautta tai jotka tuotetaan suoraan reaktiivisissa LN:issä. Sensoriset hermokuidut, erityisesti ne, jotka on upotettu LN-kapseliin, voivat myös aistia muuttuvia mekaanisia voimia tulehduksen aiheuttaman LN-laajenemisen seurauksena. Imusolmukkeen sensoriset hermosolut eivät vain havaitse solmukkeen immuunitilaa, vaan myös aktivoituessaan moduloivat geenien ilmentymistä immuuni- ja stroomasoluissa. (Huang et al. 2021)

## 2.5. Risakudokset

Yksi limakalvon immuniteetin tärkeimmistä ominaisuuksista on luontaisen lymfoidikudoksen läsnäolo. Se tunnetaan limakalvoon assosioituna lymfoidikudoksena (MALT), ja se puolestaan on follikkeliin assosioitunut epiteelin (FAE) peitossa. MALT-rakenteita löytyy nenänielun ja keuhkoputkien kudoksista ja suolesta. MALT:ia kuvattiin yli 40 vuotta sitten B-solujen ja kudosten lymfoidiaggregaattien järjestäytyneiksi klustereiksi, joissa liikenne kulkee limakalvon efektorikohtiin. MALT:n päätehtävä on suojata isäntä patogeeneiltä rikkomatta esteen eheyttä. Tästä syystä on ratkaisevan tärkeää, että se aktivoituu mahdollisesti vaarallisia antigeenejä vastaan ja osoittaa toleranssia ei-patogeeneja vastaan. (Suárez et al. 2021)

Kita- ja nielurisat ovat kompakteja, mutta fysiologisesti monimutkaisia limakalvoon assosioituja lymfoidikudoksia, jotka muodostavat osan Waldeyerin renkaasta. Osana

limakalvon immuunijärjestelmää nämä rakenteet toimivat eksogeenisten antigeenien näytteenotossa ja immuunivasteiden stimuloinnissa. Palatiinirisat (nielurisat), adenoidi (nenänielurisa eli kitarisa), korvatorven risat ja kielirisat muodostavat Waldeyerin renkaan komponentit. Se koostuu siis ei-vierekkäisistä MALT-kudoksista, jotka on järjestetty kehämäisesti nenänieluun ja suunieluun. Hengitysteiden ja ruoansulatuskanavan yhteiseen sisääntuloon sijoitettu Waldeyer-rengas näyttelee ainutlaatuista roolia eksogeenisten antigeenien seulonnassa ja suodatuksessa sekä immuunivasteiden käynnistämässä ja ylläpitämässä. Waldeyerin renkaan kitarisa sijaitsee keskiviivalla nenänielun katossa, korvatorven risat (tunnetaan myös nimellä Gerlachin risat) sijaitsevat molemmilla nenänielun sivuseinämällä välittömästi Eustachian-putken aukon takana ja läheisessä yhteydessä torus tubariukseen. Palatiinirisat sijaitsevat molemmilla lateraalisilla suunielun seinämällä etummaisesta ja takimmaisesta nielurisapilarin välissä ja kielirisat sijaitsevat kielen tyvessä vierekkäin palatiinirisojen kanssa. (Arambula et al. 2021)

Nämä tonsillat (risat) nielussa ovat immuunijärjestelmän ensimmäinen puolustus nieltyjä ja hengitettyjä patogeeniä vastaan. Kielen perän ja nielun risat ovat kapsuloimattomia lymfoidisia rakenteita, jotka sijaitsevat kerrostuneen levyepiteelilimakalvon alla, ja suun immuunivaste mikrobeja vastaan tapahtuu niissä. Suurin osa tonsillaarisesta kudoksesta koostuu lymfoidisista follikkeleista (rakkuloista), ja sisältää yleensä selviä germinalikeskuksia, joissa B-solut kypsyvät. Tonsillojen kerrostunut epiteeli muodostaa syviä kryptia risan sisään. Kielen ja nielun tonsillat reagoivat epiteelikalvon infektiioon huomattavalla turvotuksella ja vahvalla vasta-aineiden, pääasiassa IgA:n tuotannolla. B-soluaktivaatio, erilaistuminen ja IgA-luokkaan muuntautuminen tapahtuu tonsillojen germinalikeskuksissa. (Abbas et al. 2021)

Haaroittuvat kryptat, yhteensä noin 10–30 risaa kohden, antavat nielurisalle "kuoppaisen" ulkonäön niiden mediaalisella vapaalla reunalla. Kryptat muistuttavat putkimaisia divertikulaareja ja niillä on fibrovaskeaarinen ydin, jota ympäröi lymfoidikudos, ja epiteelin pinta koostuu keratinisoitumattomasta kerroksellisesta levyepiteelistä risan mediaalisella (luminaalisella) pinnalla. Itse kryptoja reunustaa epätasainen kerrostettu levyepiteeli ja verkkomainen kryptaepiteeli. Tämä jälkimmäinen epiteeli, jota kutsutaan myös lymfoepiteeliksi, on samanlaista kuin Peyerin plakit, joita löytyy maha-suolikanavasta. Verkkomainen epiteeli on vähemmän järjestynyt kuin kerrostunut levyepiteeli ja sisältää sekä epiteelisoluja että ei-epiteelisoluja, erityisesti lymfoidisoluja. Tämä epiteelikerros voi olla melko ohut, ja siitä puuttuu tyvikalvo joillakin alueilla. Kerroksen järjestely mahdollistaa eksogeenisten antigeenien nopean kuljetuksen

ja esittelyn. Lisäksi tonsillaaristen kryptien invaginoitunut rakenne lisää merkittävästi kokonaispinta-alaa, joka osallistuu tähän näytteenottoon prosessiin. Tämä on erityisen tärkeää, koska risoissa ei ole afferenttia imusolmukeverkostoa kuten muilla imusolmukkeilla ja pernalla. Kitarisalla on joitain yhtäläisyyksiä palatiinirisojen kanssa. Kitarisan vapaalle pinnalle ovat tunnusomaisia limakalvopoimut, jotka ulkonevat eteen- ja sivusuunnassa, ja niissä on paljon pienempi määrä kryptoja verrattuna palatiinirisoihin. Kitarisa koostuu pääasiassa pseudostratifoituneesta värekarvaisesta pylväsepiteelistä, jossa on lymfoidisia follikkeleja järjestettynä limakalvon poimuihin, tosin vähemmän kuin palatiinirisassa. Kapseli eristää kitarisaa ja sidekudoksenämät ulottuvat tästä kapselistarisan kudokseen ja jakavat sen 4–6 segmenttiin. (Arambula et al. 2021)

Tonsillojen epiteelillä, FAE:ssa, on erikoistuneita antigeenejä vangitsevia M-soluja (Microfold cell) jotka aloittavat limakalvon immuunivasteen. M-solut on nimetty niiden epäsäännöllisestä morfologiasta, jossa tyviplastmakalvo laskostuu muodostaen taskuja (Suárez et al. 2021). Nämä solut vangitsevat patogeenien antigeenejä ja kuljettavat ne transsytoosilla FAE:n ylitse alapuolisille antigeeniä esitteleville soluille germinaalikeskuksiin. M-solut siis saavat aikaan immuunijärjestelmän stimuloinnin ja antigeenin esittelyn B- ja T-soluille. M-soluilla on erityisiä morfologisia ominaisuuksia, jotka tekevät niistä hyvän endosytoosissa ja transsytoosissa. Niiltä puuttuu jäykkä harjasauma, eli sukasauma, ja niiden apikaalipinnan glykokalyksi ja mikrovillukset ovat alikehittyneitä, jonka ansiosta soluilla on helppo pääsy antigeeneihin. (Kimura 2018)

Kun nenä-/suunielun eksogeeniset antigeenit ylittävät luminaalisen pinnan epiteelin M-solujen toimesta, APC-solut, kuten dendriittisolut ja makrofaagit, prosessoivat ja esittelevät niitä T- ja B-soluille läheisellä follikulaarisella alueella. Jos antigeeni on tavattu aiemmin, sekundäärinen immuunivaste stimuloituu T-solujen lisääntymisen ja B-solujen sekundäärisen vasta-ainetuotannon kautta. Jos taas kohdattu antigeeni on uusi ja auttaja-T-solu tunnistaa sen omistuneesti, tapahtuu aktivaatio, proliferaatio ja erilaistuminen tälle antigeenille spesifiseksi T-solupopulaatioksi, kunhan asianmukaisia yhteisstimuloivia signaaleja on läsnä. Nämä T-solut stimuloivat naiveja B-soluja, jotka sitten kulkevat läheisiin follikkeleihin ja erilaistuvat antigeenispesifiseksi plasmasuoluksi ja muisti-B-soluksi muodostaen germinaalikeskuksen. Nämä solut voivat sitten poistua lymfoidirakenteistaan pikkulaskimoiden (HEV) kautta ja kulkeutua toisaalle limakalvolla, kuten nenän limakalvolle, missä ne vastaanottavat lisäsignaaleja erilaistuaakseen lopullisesti spesifiseksi immunoglobuliiniksi, kuten IgG:tä ja IgA:ta, tuottaviksi soluiksi. Immunoglobuliineja erittyä nielurisoista, jotta ne saavuttavat risojen pinnat

immuunivalvontaa varten, estävät antigeenin kiinnittymisen isäntäkudoksiin ja stimuloivat immuunivälitteistä tuhoa. (Arambula et al. 2021)

Kemiallisena esteenä myös syljellä on tärkeä rooli suun limakalvon päällystyksenä sen korkeiden IgA-, musiini- ja antimikrobisten peptidien pitoisuuksien vuoksi. Suussa tärkein musiini on MUC1, jota löytyy suun epiteelin pintakerroksesta ja joka sitoutuu syljen proteiineihin muodostaen sylkikalvoja. Huomionarvoista on, että MUC1:llä, kuten MUC4:llä, on rooli myös signaalinsiirrossa immuunijärjestelmässä. Esimerkiksi MUC1 sitoutuessaan adhereenien liitoskohtien B-kateniiniin ja MUC4:ään aktivoivat fosforylaation ja käynnistävät signaloinnin, toimien tärkeänä anturimekanismina vasteena epiteelin tunkeutumiseen tai vaurioitumiseen. Suun limakalvolla kalvoon ankkuroitu musiinikalvo on syljen ja epiteelikomponenttien sekoite. (Suárez et al. 2021)

## 2.6. Maksa

Maksa sijaitsee ideaalisella paikalla torjumaan suolen kautta kehoon tulleita patogeenejä. Se tukee tehokasta havaitsemista, pyydystämistä, sekä bakteerien, virusten ja makromolekyylien puhdistusta. Maksa muodostaa tärkeän muurin ulkomaailmaan, sillä se sisältää suurimman joukon fagosyyttejä kehossa. Portaaliveri kuljettaa myös suuren joukon harmittomia vierasperäisiä molekyyliä (ruoan antigeenit), joten maksa onkin normaalisti anti-inflammatorinen ja immuunitolerantti, mutta se kykenee kuitenkin nopeaan ja monipuoliseen immuunivasteeseen. (Kubes & Jenne 2018)

Makrofaagien suurin populaatio sijaitsee maksassa paikallisina Kupfferin soluina (KC). KC:t kattavat noin 35 % maksan ei-peruskudoksesta ja 90 % kaikkien kudosten makrofaageista. KC-solut ilmentävät paljon niille ominaisia immunoglobuliinisuperperheen komplementtiresseptoreita (CRIg). Niille on erityistä kyky sietää hankausta säilyttäen toimintansa, ja niiden avulla KC:t vangitsevat bakteereita virtaavasta verestä. Alkujaan KC:iden uskottiin olevan lähtöisin luuytimen monosyyteistä. Kokeilla on kuitenkin saatu viitteitä niiden periytyvän maksaan siirtyneistä ruskuaispussin soluista ja replikoituvan paikallisesti maksassa. Maksa sisältää myös suurimman populaation NK-soluja kehossa. Kaikista maksan lymfosyyteistä NK-solujen osuus vaihtelee kolmasosasta puoleen. (Kubes & Jenne 2018)

Maksassa on myös eniten invariantteja natural killer T-soluja (iNKT), nämä solut partioivat jatkuvasti maksan sinusoidien (hiussuoni) endoteeleilla satunnaisesti ryömien. Ne ovat T-solujen alajoukko ja ne ovat osallisina useimmissa maksan immuunivasteissa.

iNKT-solut tuottavat vasteen lipidiantigeeneihin, joita isäntä tai mikrobi tuottaa. Niitä määrittää T-solureseptori, jolla se tunnistaa rajatun joukon glykolipidiantigeenejä joita sille esittelee solunpintamolekyylillä CD1d. iNKT-solut muodostuvat kateenkorvassa tuplanegatiivisena CD4-CD8<sup>-</sup>-soluna ja kehittyvät tuplapositiiviseksi (DP) soluksi satunnaisesti uudelleen järjestämällä TC-reseptorinsa. iNKT-solun DP-esiaste käy läpi positiivisen valinnan toisten DP-solujen ilmentävien CD1d:ien esittelemien self-lipidien avulla, siinä missä tavallinen T-solu valitaan kateenkorvan epiteelisolujen MHC I/II:n kautta. (Kubes & Jenne 2018)

## 2.7. Peyerin plakit

Peyerin plakit (PP, Peyer's patch) sijaitsevat ohutsuolessa. Vastaavia rakenteita on myös paksusuolella (colonic patch) (Buettner & Lochner 2016), ja ne ovat limakalvon assosioituja lymfoidisia kudoksia kuten risakudoksetkin ja ensisijaisia limakalvon immuunivasteen käynnistäjälokaatiota. Ne koostuvat useista klusteroituneista B-solufollikkelien muodostamista kuvuista (SED, subepithelial dome), joissa B-soluaktivaatio ja luokanvaihtorekombinaatio IgA:ksi tapahtuvat ennen GC-vaihetta, ja kupuihin sirotelluista T-solualueista eli interfollikulaarisista alueista. (Kobayashi et al. 2019) Siinä missä tyypilliset LN:t on jaettu selviin T- ja B-vyöhykkeisiin, PP:t koostuvat pääasiassa B-solurakkuloista ja hyvin pienestä T-rajaa-alueesta, jossa T- ja B-solut voivat olla vuorovaikutuksessa (Liu & Shulman 2022). Pääsy ruuansulatuskanavasta PP:hen toteutuu tunnusomaisen follikkelin assosioituneen epiteelin (FAE) avulla, joka sisältää M-soluja. (Wagner et al. 2018, Kobayashi et al. 2019, Liu & Shulman 2022) Tätä limakalvon pintaa suojaa vierasperäisiltä antigeeneiltä tehokas kokoselektiivinen kilpi, joka koostuu musiini (limaa, glykoproteiineja) ja glykokalyksi (säikeistä glykoproteiinia ja polysakkarideja) -kerroksista ja kemikaalimuureista sisältäen mm. antimikrobiaalista antigeenispesifistä eritettävää IgA:ta (S-IgA). (Kobayashi et al. 2019) Kuten risakudostenkin tapauksessa epiteelin M-solut kuljettavat pienhiukkasantigeenejä lumenista näihin epiteelin alaisiin kupuihin, joissa odottavat dendriittisolut ja makrofaagit. SED-kuvut sisältävät suuria määriä näitä soluja ja vuorovaikutuksessa M-solujen kanssa ne suorittavat immuunitoimintaa. (Wagner et al. 2018, Liu & Shulman 2022) M-solujen transsytoosi siis mahdollistaa lumenin antigeenien kuljetuksen dendriittisoluille ja makrofaageille, minkä myötä B-solut SED:ssä aktivoivat antigeenispesifisen immuunivasteen kuten S-IgA:n tuoton (Kobayashi et al. 2019). S-IgA:lla on tärkeä rooli



puolustuksessa patogeenejä vastaan ja yhteistyösuhteen muodostamisessa suolen mikrobiyhteisön kanssa, sillä vasta-aineet, jotka tukevat bakteerien toiminnan ja kasvun heikkenemistä, voivat mahdollistaa sekä bakteerien että GC-vasteiden säilymisen pitkäaikaisen keskinäisyyden ylläpitämiseksi (Kobayashi et al. 2019, Liu & Shulman 2022). M-solujen antigeenin siirtokyky on osallisena suolen immuunihomeostaasin ylläpidossa. Tosin useat patogeenit kuten Salmonella, Brucella, botuliini ja prionit hyödyntävät M-soluja invaasioväylänä. (Kobayashi et al. 2019)

Peyerin plakit sisältävät erikoistuneen kanavajärjestelmän, joka ohjaa suoliston epiteelin läpi imeytyneen veden virtausta. Huolimatta tavanomaisen afferentin imunestevirtauksen puuttumisesta, PP:itä tukee monimutkainen kollageenirikkaiden retikulaaristen kuitujen verkosto, joka on rakenteellisesti samanlainen kuin imusolmukkeissa esiintyvä johdinverkko. Nämä kuidut ulottuvat subepiteeliaalisesta kuvusta sekä B-solujen follikkeleihin että follikulaarisille T-solualueille. Nämä retikulaariset kuidut alkavat PP-kuvun päällä olevasta kollageeniverkosta ja päättyvät lopulta suoraan verisuonistoon. Kuten LN-kanavienkin kohdalla, kuidut on suojattu tyvikalvolla ja perlekaanin ja podoplaaniin (PDPN) ekspressiosta tunnistetulla toisiinsa liitettyillä FRC-solujen verkostolla. Erityisesti PP-FRC:t reagoivat kanavanesteen virtauksen mekanosensitiivisen ionikanavan Piezo1:n kautta. On huomattu, että nesteen virtauksen häiriö tai Piezo1:n geneettinen puutos CCL19:n läsnä ollessa johtaa rakenteellisiin muutoksiin perivaskulaarisissa FRC:issä ja niihin liittyvissä pikkuvaltimoissa (HEV). Tämä puolestaan heikentää lymfösyttien pääsyä PP:hin ja limakalvojen vasta-ainevasteiden alkamista. Nämä tulokset osoittavat johdinvälitteisen nestevirtauksen kriittisen roolin PP-homeostaasin ja limakalvon immuniteetin ylläpitämisessä. Kuten aiemmin kuvattiin, LN-FRC:n tuottamien kanavien toiminnallinen tunnusmerkki on kyky ohjata imunesteen virtausta imusolmukkeiden sinusten ja parenkyymien välillä, helpottaen liukoisten signaalimolekyylien ja antigeenin kuljettamista. PP-johdinverkosto näyttää suorittavan samanlaisen tehtävän, vaikkakin se imee suolen ontelosta imeytyvää nestettä afferentin imunesteen sijasta. (Chang et al. 2019)

Toisin kuin tyypilliset imusolmukkeet, PP:t isännöivät kroonisia GC-reaktioita, joita ohjaavat suolistobakteerit. Koska PP:t isännöivät kroonisia GC:itä rokotuksesta tai mikrobi-invaasiosta riippumatta, uskottiin, että näiden reaktioiden tavoitteena on ensisijaisesti lisätä reagoivien B-solujen määrää. Lisäksi suoliston lumenista tulevien bakteeriantigeenien suuren ja monipuolisen kuorman vuoksi on odotettavissa, että useita GC-vasteita tapahtuisi yhdessä GC-kohdassa. Viimeaikaiset tutkimukset ovat tosin

antaneet todisteita vasta-aineaffiniteetin paranemisesta ja kloonaisesta kilpailusta T-solujen avusta. (Liu & Shulman 2022) PP:t tukevat siis affiniteettipohjaista B-solujen kilpailua T-solujen avusta. Erityisesti B-solujen antigeenin esittelyn lisääntyminen osoittaa, että Tfh-solut GC-PP:issä voivat erottaa B-solut, jotka ekspressoivat eri tasoja peptidillä ladattua MHC-II:ta. Tämä tulos todistaa, että PP-GC:t voivat tukea B-solujen selektiokilpailua vastena vieraille antigeeneille jopa suolistosta peräisin olevien antigeenien ja useiden GC-reaktioiden läsnä ollessa. (Liu & Shulman 2022)

Merkittäviä eroja varhaisten tapahtumien välillä tapahtuu PP:ssä verrattuna tyhjennysimulosmukkeisiin. Tyypillisessä immuunivasteessa alhaisen affiniteetin reseptorilla varustetut B-solut tai B-solut, jotka eivät pysty vastaanottamaan voimakasta T-soluapua, voivat monistua imulosmukkeiden GC:issä tehokkaasti ei-kilpailevissa olosuhteissa. PP:issä matala-affiniteettiset kloonit pystyvät reagoimaan antigeeniin, lisääntymään nopeasti ja laajentumaan merkittävästi SED:ssä. Tässä osastossa alhaisen affiniteetin omaaviin klooneihin eivät vaikuta korkean affiniteetin kloonit, mikä viittaa siihen, että SED:ssä ei tapahdu affiniteettipohjaista kilpailua. Kilpailuolosuhteissa alhaisen affiniteetin kloonit itse asiassa valtaavat SED-osaston, kun taas korkean affiniteetin variantit etenevät GC-lokeroon. Alhaisen affiniteetin kloonit epäonnistuvat kuitenkin GC-vaiheessa, vaikka PP:issä ei olisi korkeamman affiniteetin klooneja. Siten PP:iden sisällä absoluuttisella BCR-affiniteetilla on tärkeä rooli B-solukloonien valinnassa varhaisessa vasteessa, kun taas suhteellinen affiniteetti on tärkeämpi varhaisissa tapahtumissa tyhjennysimulosmukkeissa ja perässä. (Liu & Shulman 2022)

Myös Peyerin plakkien makrofaageilla on erityisiä piirteitä, jotka erottavat ne muiden kudosten makrofaageista. IL-10-riippuvaisten geenien sijaan ns. LysoMac-makrofaagi ilmentää INF-riippuvaisia antimikrobialisia geenejä. Lisäksi stimuloitaessa ne erittävät tulehdusta edistäviä sytokiinejä IL-6 ja TNF. Ne eivät siis muiden suoliston makrofaagien tavoin esitä tulehdusta estäviä ominaisuuksia, vaan ne säilyttävät kyvyn edistää tulehdusta. Niillä on myös dendriittisoluille tyypillisiä markkereita kuten CD11c ja MHC-II. (Wagner et al. 2018)

## 2.8. Cryptopatchit ja lymfoidirakkulat

Suolen immuunijärjestelmä on kehittänyt useita spesifisiä lymfaattisia rakenteita, jotka edistävät homeostaasia mikrobien kolonisaation ja ravinnosta peräisin olevan antigeenisen altistuksen edessä. Yksi näistä on lymfoidikudosten verkosto, jota kutsutaan yleisesti

yksittäisiksi suoliston lymfoidikudoksiksi (SILT). SILT koostuu dynaamisesta jatkumosta rakenteita, jotka vaihtelevat pienistä cryptopatcheista (CP) suuriin, kypsien eristettyihin lymfoidirakkuloihin (ILF). Vaikka PP:n ja SILT:n kehitys noudattaa samanlaisia periaatteita, kuten lymfoidikudoksen indusoijisolujen (LTi) klusteroitumista ja lymfotoksiini-beta (LT $\beta$ ) -reseptorivälitteistä signalointia, CP:n muodostuminen ja kypsyminen edelleen ILF:ksi vaatii vielä lisäksi sisäisiä ja ympäristöstä peräisin olevia signaaleja. Lisäksi viimeaikaiset tiedot osoittavat myös, että ohutsuolen ja paksusuolen välillä on erityisiä eroja ILF:n muodostumisen säätelyssä. (Buettner & Lochner 2016)

Toisin kuin useimmat muut kehon lymfoidikudoksista, kuten vaikkapa Peyerin plakit, ILF:n muodostuminen suolistossa alkaa vasta syntymän jälkeen, tarkemmin, kun vastaanotetaan ympäristösignaaleja, jotka liittyvät ravintoperäisten yhdisteisiin ja mikrobien kolonisaatioon. Näistä eroista huolimatta ILF:ää voidaan pitää toissijaisena lymfoidikudoksena, koska niiden kehittyminen ehdottomasti edellyttää LTi-soluriippuvaista CP:n muodostusta. SILT:n kehitys ohutsuolessa alkaa varhaisen postnataalisien vaiheiden aikana ROR $\gamma$ t+ IL-7R $\alpha$ + LTi -solujen kerääntymisenä pieniksi klusteriksi nimeltä cryptopatch. Nimi tulee niiden anatomisen sijainnin mukaan, sillä ne sijaitsevat suolen kryptojen pohjalla. Ensimmäisinä syntymän jälkeisinä päivinä suolen lymfosyyttejä löytyy lähes yksinomaan kehityksessä olevista PP:istä. CP:t puolestaan alkavat hankkia lymfosyyttejä seuraavien viikkojen aikana ja kehittyvät ILF:iksi. CP:n kehittyminen noudattaa samanlaisia periaatteita kuin PP:n kehitys, kuten LTi-solujen ekspressoiman LT $\alpha$ 1 $\beta$ 2:n vuorovaikutus VCAM-1+ stromaalisten LTo-solujen LT $\beta$ R:n kanssa. Huomion arvoista on, että CP:iden kehittyminen, vaikka se alkaa syntymän jälkeen, etenee ilman eksogeenisiä tulehdusärsykejä. Kehittyminen CP:stä ILF:ään taas riippuu stroomasolujen ja CD11c+ DC:iden B-solujen väräyskemokiinin CXCL13:n erityksestä. Näin ollen joko CXCL13:n tai sen reseptorin CXCR5:n puute johtaa ILF:n puuttumiseen, kun taas CP:iden määrään ne eivät vaikuta. Toinen edellytys ILF:ien kehitykselle ovat useat reseptorit ja adapterimolekyylit, jotka osallistuvat bakteereista peräisin olevien molekyyli- ja signaalimolekyylien tunnistamiseen, mukaan lukien Toll-like-reseptorit (TLR) 2 ja 4, myeloididifferentiaatio-primaarivastegeeni (MyD) 88 ja nukleotideja sitova oligomerisaatiodomeenia sisältävä proteiini (NOD) 2, ja näin ollen ne myötävaikuttavat suolen pienten ILF:n kypsymiseen. Lisäksi CP:iden varhaisessa siirtymisessä epäkypsiksi ILF:iksi NOD1:llä, joka tunnistaa gram-negatiivisista bakteereista peräisin olevia peptidoglykaaneja, on merkittävä rooli. (Buettner & Lochner 2016)

Suuremmat, kypsät ILF:t sisältävät pääasiassa B-soluja sekä joukon siroteltuja LTi-

soluja ja muutamia CD4+ T-soluja, jotka eivät kuitenkaan erotu T-soluvyöhykkeeksi. ILF ja niiden CP-prekursorit sisältävät myös CD11c+ CD11b- DC:itä, joilla on tärkeä rooli ILF:ien kehityksessä ja rakenteen ylläpidossa. Suurin osa ILF:n B-soluista on tavanomaisia B-2-luokan B-soluja, joista noin 10 % on IgA+ plasmak soluja. Sen mukaisesti kypsien ILF:iden on osoitettu sisältävän germinaalikeskuksia ja toimivan induktiivisina kohtina antigeenispesifisille IgA-vasteille. Lisäksi ILF:n on esitetty olevan tärkeä paikka T-soluista riippumattomalle B-soluluokan vaihtamiselle IgA:han. Samoin kuin PP:iden tapauksessa, kypsän ILF:n epiteeli on tyypiltään follikkeliin assosioitunutta (FAE) ja sisältää M-soluja, nämä ominaisuudet mahdollistavat antigeenien oton suolen lumenista. Vakaisissa olosuhteissa SILT toimii pääasiassa dynaamisena laajennettavana järjestelmänä, joka myötävaikuttaa suoliston kormensaalisien mikrobiston säätelyyn IgA:n erityksellä. (Buettner & Lochner 2016)

### 3. Kirjallisuusviitteet

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2021). *Cellular and molecular immunology* (Tenth edition.). Elsevier.
- Alawam, A. S., Anderson, G., & Lucas, B. (2020). Generation and Regeneration of Thymic Epithelial Cells. *Frontiers in immunology*, 11, 858. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00858>
- Arambula, A., Brown, J. R., & Neff, L. (2021). Anatomy and physiology of the palatine tonsils, adenoids, and lingual tonsils. *World journal of otorhinolaryngology - head and neck surgery*, 7(3), 155–160. <https://doi-org.pc124152.oulu.fi:9443/10.1016/j.wjorl.2021.04.003>
- Buettner, M., & Lochner, M. (2016). Development and Function of Secondary and Tertiary Lymphoid Organs in the Small Intestine and the Colon. *Frontiers in immunology*, 7, 342. <https://doi-org.pc124152.oulu.fi:9443/10.3389/fimmu.2016.00342>
- Burn, G. L., Foti, A., Marsman, G., Patel, D. F. & Zychlinsky, A. (2021). The Neutrophil. *Immunity* (Cambridge, Mass.), 54(7), 1377-1391. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.06.006>
- Balan, S., Saxena, M., & Bhardwaj, N. (2019). Dendritic cell subsets and locations. *International review of cell and molecular biology*, 348, 1–68. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2019.07.004>
- Chang, J. E., Buechler, M. B., Gressier, E., Turley, S. J., & Carroll, M. C. (2019). Mechanosensing by Peyer's patch stroma regulates lymphocyte migration and mucosal antibody responses. *Nature immunology*, 20(11), 1506–1516. <https://doi-org.pc124152.oulu.fi:9443/10.1038/s41590-019-0505-z>
- Chang, H. D., & Radbruch, A. (2021). Maintenance of quiescent immune memory in the bone marrow. *European journal of immunology*, 51(7), 1592–1601. <https://doi-org.pc124152.oulu.fi:9443/10.1002/eji.202049012>
- Collin, M., & Bigley, V. (2018). Human dendritic cell subsets: an update. *Immunology*, 154(1), 3–20. <https://doi.org/10.1111/imm.12888>
- Colonna M. (2018). Innate Lymphoid Cells: Diversity, Plasticity, and Unique Functions in Immunity. *Immunity*, 48(6), 1104–1117. <https://doi-org.pc124152.oulu.fi:9443/10.1016/j.immuni.2018.05.013>
- Cyster, J. G., & Allen, C. (2019). B Cell Responses: Cell Interaction Dynamics and Decisions. *Cell*, 177(3), 524–540. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.03.016>
- Dahlin, J. S., & Hallgren, J. (2015). Mast cell progenitors: origin, development and migration to tissues. *Molecular immunology*, 63(1), 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2014.01.018>
- Dahlin, J. S., Maurer, M., Metcalfe, D. D., Pejler, G., Sagi-Eisenberg, R. & Nilsson, G.

- (2021). The Ingenious Mast Cell: Contemporary insights into mast cell behavior and function. *Allergy (Copenhagen)*. <https://doi.org/10.1111/all.14881>
- Di Vito, C., Mikulak, J., & Mavilio, D. (2019). On the Way to Become a Natural Killer Cell. *Frontiers in immunology*, 10, 1812. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01812>
- Esterházy, D., Canesso, M., Mesin, L., Muller, P. A., de Castro, T., Lockhart, A., ElJalby, M., Faria, A., & Mucida, D. (2019). Compartmentalized gut lymph node drainage dictates adaptive immune responses. *Nature*, 569(7754), 126–130. <https://doi-org.pc124152.oulu.fi:9443/10.1038/s41586-019-1125-3>
- Fuchs, O. (2020). Development of Neutrophils and Their Role in Hematopoietic Microenvironment Regulation. *Cells of the Immune System*; IntechOpen: London, UK, 2020.
- Gago da Graça, C., van Baarsen, L., & Mebius, R. E. (2021). Tertiary Lymphoid Structures: Diversity in Their Development, Composition, and Role. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 206(2), 273–281. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.2000873>
- Geltink, R., Kyle, R. L., & Pearce, E. L. (2018). Unraveling the Complex Interplay Between T Cell Metabolism and Function. *Annual review of immunology*, 36, 461–488. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-042617-053019>
- Gomes, A. C., Saraiva, M., & Gomes, M. S. (2021). The bone marrow hematopoietic niche and its adaptation to infection. *Seminars in cell & developmental biology*, 112, 37–48. <https://doi-org.pc124152.oulu.fi:9443/10.1016/j.semcdb.2020.05.014>
- Huang, S., Ziegler, C., Austin, J., Mannoun, N., Vukovic, M., Ordovas-Montanes, J., Shalek, A. K., & von Andrian, U. H. (2021). Lymph nodes are innervated by a unique population of sensory neurons with immunomodulatory potential. *Cell*, 184(2), 441–459.e25. <https://doi-org.pc124152.oulu.fi:9443/10.1016/j.cell.2020.11.028>
- Jackson D. G. (2019). Leucocyte Trafficking via the Lymphatic Vasculature- Mechanisms and Consequences. *Frontiers in immunology*, 10, 471. <https://doi-org.pc124152.oulu.fi:9443/10.3389/fimmu.2019.00471>
- Jalkanen, S., & Salmi, M. (2020). Lymphatic endothelial cells of the lymph node. *Nature reviews. Immunology*, 20(9), 566–578. <https://doi-org.pc124152.oulu.fi:9443/10.1038/s41577-020-0281-x>
- Jung, W. C., Levesque, J. P., & Ruitenberg, M. J. (2017). It takes nerve to fight back: The significance of neural innervation of the bone marrow and spleen for immune function. *Seminars in cell & developmental biology*, 61, 60–70. <https://doi-org.pc124152.oulu.fi:9443/10.1016/j.semcdb.2016.08.010>
- Karagiannis, F., & Wilhelm, C. (2018). Innate lymphoid cells-key immune integrators of overall body homeostasis. *Seminars in immunopathology*, 40(4), 319–330. <https://doi-org.pc124152.oulu.fi:9443/10.1007/s00281-018-0684-y>
- Kashimura, M. (2020). The human spleen as the center of the blood defense system.

International journal of hematology, 112(2), 147-158. <https://doi.org/10.1007/s12185-020-02912-y>

Kimura, S. (2018). Molecular insights into the mechanisms of M-cell differentiation and transcytosis in the mucosa-associated lymphoid tissues. *Anatomical science international*, 93(1), 23-34. <https://doi.org/10.1007/s12565-017-0418-6>

Kobayashi, N., Takahashi, D., Takano, S., Kimura, S. & Hase, K. (2019). The Roles of Peyer's Patches and Microfold Cells in the Gut Immune System: Relevance to Autoimmune Diseases. *Frontiers in immunology*, 10, 2345. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02345>

Kondo, K., Ohigashi, I. & Takahama, Y. (2019). Thymus machinery for T-cell selection. *International immunology*, 31(3), 119-125. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxy081>

Krausgruber, T., Fortelny, N., Fife-Gernedl, V., Senekowitsch, M., Schuster, L. C., Lercher, A., Nemc, A., Schmidl, C., Rendeiro, A. F., Bergthaler, A., & Bock, C. (2020). Structural cells are key regulators of organ-specific immune responses. *Nature*, 583(7815), 296–302. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2424-4>

Krishnamurty, A. T., & Turley, S. J. (2020). Lymph node stromal cells: cartographers of the immune system. *Nature immunology*, 21(4), 369–380. <https://doi.org/10.1038/s41590-020-0635-3>

Kubes, P. & Jenne, C. (2018). Immune Responses in the Liver. *Annual review of immunology*, 36(1), 247-277. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-051116-052415>

Kumar, B. V., Connors, T. J., & Farber, D. L. (2018). Human T Cell Development, Localization, and Function throughout Life. *Immunity*, 48(2), 202–213. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.01.007>

Lewis, S. M., Williams, A. & Eisenbarth, S. C. (2019). Structure and function of the immune system in the spleen. *Science immunology*, 4(33), eaau6085. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aau6085>

Liu, J., & Shulman, Z. (2022). Affinity-based clonal selection in Peyer's patches. *Current opinion in immunology*, 74, 100–105. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2021.11.002>

Liew, P. X., & Kubes, P. (2019). The Neutrophil's Role During Health and Disease. *Physiological reviews*, 99(2), 1223–1248. <https://doi.org/10.1152/physrev.00012.2018>

Mousset, C. M., Hobo, W., Woestenenk, R., Preijers, F., Dolstra, H., & van der Waart, A. B. (2019). Comprehensive Phenotyping of T Cells Using Flow Cytometry. *Cytometry. Part A : the journal of the International Society for Analytical Cytology*, 95(6), 647–654. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.23724>

Murphy, K. k., Weaver, C., Mowat, A., Berg, L. & Chaplin, D. (2017). *Janeway's immunobiology* (9th edition.). Garland Science/Taylor & Francis Group, LLC.

Nakashima, C., Otsuka, A., & Kabashima, K. (2018). Recent advancement in the

- mechanism of basophil activation. *Journal of dermatological science*, 91(1), 3–8. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2018.03.007>
- Nolte, M. A., Goedhart, M., & Geginat, J. (2017). Maintenance of memory CD8 T cells: Divided over division. *European journal of immunology*, 47(11), 1875–1879. <https://doi-org.pc124152.oulu.fi:9443/10.1002/eji.201747249>
- Novkovic, M., Onder, L., Bocharov, G., & Ludewig, B. (2020). Topological Structure and Robustness of the Lymph Node Conduit System. *Cell reports*, 30(3), 893–904.e6. <https://doi-org.pc124152.oulu.fi:9443/10.1016/j.celrep.2019.12.070>
- Otsuka, M., Egawa, G., & Kabashima, K. (2018). Uncovering the Mysteries of Langerhans Cells, Inflammatory Dendritic Epidermal Cells, and Monocyte-Derived Langerhans Cell-Like Cells in the Epidermis. *Frontiers in immunology*, 9, 1768. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01768>
- Pabst R. (2018). The bone marrow is not only a primary lymphoid organ: The critical role for T lymphocyte migration and housing of long-term memory plasma cells. *European journal of immunology*, 48(7), 1096–1100. <https://doi.org/10.1002/eji.201747392>
- Panda, S. K., & Colonna, M. (2019). Innate Lymphoid Cells in Mucosal Immunity. *Frontiers in immunology*, 10, 861. <https://doi-org.pc124152.oulu.fi:9443/10.3389/fimmu.2019.00861>
- Park, S. M., Brooks, A. E., Chen, C. J., Sheppard, H. M., Loef, E. J., McIntosh, J. D., Angel, C. E., Mansell, C. J., Bartlett, A., Cebon, J., Birch, N. P., & Dunbar, P. R. (2021). Migratory cues controlling B-lymphocyte trafficking in human lymph nodes. *Immunology and cell biology*, 99(1), 49–64. <https://doi-org.pc124152.oulu.fi:9443/10.1111/imcb.12386>
- Ramirez, G. A., Yacoub, M., Ripa, M., Mannina, D., Cariddi, A., Saporiti, N., . . . Dagna, L. (2018). Eosinophils from Physiology to Disease: A Comprehensive Review. *BioMed research international*, 2018, 9095275-28. <https://doi.org/10.1155/2018/9095275>
- Rothenberg, E. V. (2019). Programming for T-lymphocyte fates: Modularity and mechanisms. *Genes & development*, 33(17-18), 1117-1135. <https://doi.org/10.1101/gad.327163.119>
- Sayin, I., Radtke, A. J., Vella, L. A., Jin, W., Wherry, E. J., Buggert, M., Betts, M. R., Herati, R. S., Germain, R. N., & Canaday, D. H. (2018). Spatial distribution and function of T follicular regulatory cells in human lymph nodes. *The Journal of experimental medicine*, 215(6), 1531–1542. <https://doi-org.pc124152.oulu.fi:9443/10.1084/jem.20171940>
- Shapouri-Moghaddam, A., Mohammadian, S., Vazini, H., Taghadosi, M., Esmacili, S. A., Mardani, F., Seifi, B., Mohammadi, A., Afshari, J. T., & Sahebkar, A. (2018). Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *Journal of cellular physiology*, 233(9), 6425–6440.
- Siracusa, F., McGrath, M. A., Maschmeyer, P., Bardua, M., Lehmann, K., Heinz, G., Durek, P., Heinrich, F. F., Mashreghi, M. F., Chang, H. D., Tokoyoda, K., & Radbruch,



A. (2018). Nonfollicular reactivation of bone marrow resident memory CD4 T cells in immune clusters of the bone marrow. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(6), 1334–1339. <https://doi.org/10.1073/pnas.1715618115>

Suárez, L. J., Arboleda, S., Angelov, N., & Arce, R. M. (2021). Oral Versus Gastrointestinal Mucosal Immune Niches in Homeostasis and Allostasis. *Frontiers in immunology*, 12, 705206. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.705206>

Trabanelli, S., Gomez-Cadena, A., Salomé, B., Michaud, K., Mavilio, D., Landis, B. N., Jandus, P., & Jandus, C. (2018). Human innate lymphoid cells (ILCs): Toward a uniform immune-phenotyping. *Cytometry. Part B, Clinical cytometry*, 94(3), 392–399. <https://doi.org/10.1002/cyto.b.21614>

Viola, A., Munari, F., Sánchez-Rodríguez, R., Scolaro, T., & Castegna, A. (2019). The Metabolic Signature of Macrophage Responses. *Frontiers in immunology*, 10, 1462. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01462>

Wagner, C., Bonnardel, J., Da Silva, C., Martens, L., Gorvel, J. & Lelouard, H. (2018). Some news from the unknown soldier, the Peyer's patch macrophage. *Cellular immunology*, 330(SI), 159-167. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2018.01.012>

Wang, Y., Liu, J., Burrows, P. D., & Wang, J. Y. (2020). B Cell Development and Maturation. *Advances in experimental medicine and biology*, 1254, 1–22. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-3532-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-981-15-3532-1_1)

Wolf, A. A., Yáñez, A., Barman, P. K. & Goodridge, H. S. (2019). The Ontogeny of Monocyte Subsets. *Frontiers in immunology*, 10, 1642. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01642>

Yamanishi, Y., & Karasuyama, H. (2016). Basophil-derived IL-4 plays versatile roles in immunity. *Seminars in immunopathology*, 38(5), 615–622. <https://doi.org/10.1007/s00281-016-0568-y>

Zhong, C., Zheng, M., & Zhu, J. (2018). Lymphoid tissue inducer-A divergent member of the ILC family. *Cytokine & growth factor reviews*, 42, 5–12. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2018.02.004>

Zitti, B. & Bryceson, Y. T. (2018). Natural killer cells in inflammation and autoimmunity. *Cytokine & growth factor reviews*, 42, 37-46. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2018.08.001>