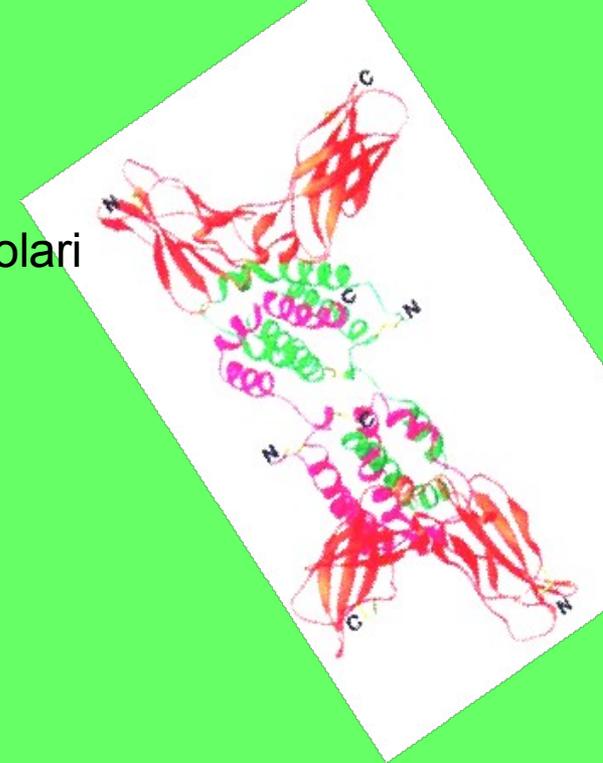


Università degli Studi di Torino  
Scuola Universitaria per le Biotecnologie  
Corso di Laurea Specialistica in Biotecnologie Molecolari

Presentazione di Immunologia Molecolare



IL-10

&

IL-9

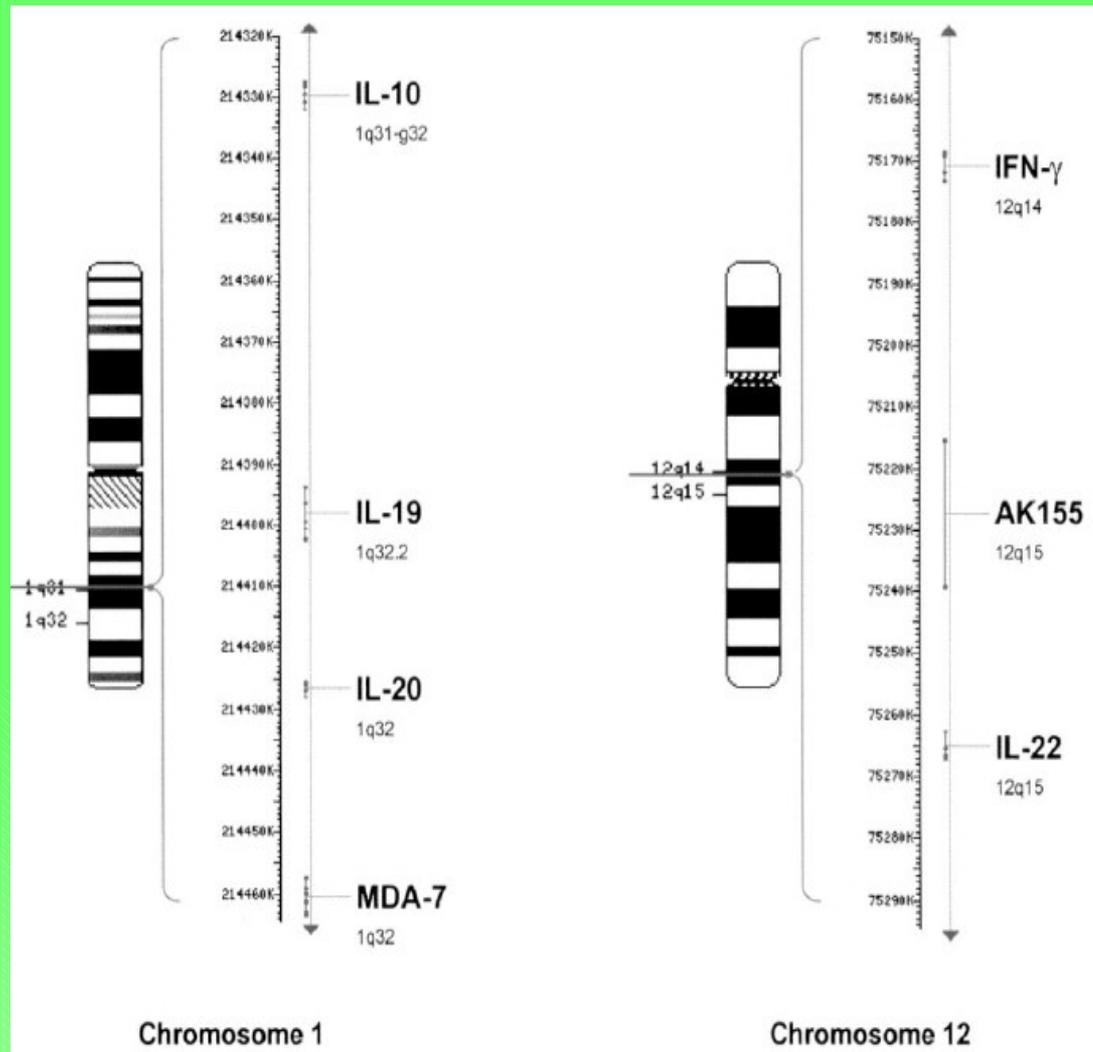
- **Marianna Sabetta**
- Bachmann Alessia
- Nai Antonella

# IL-10

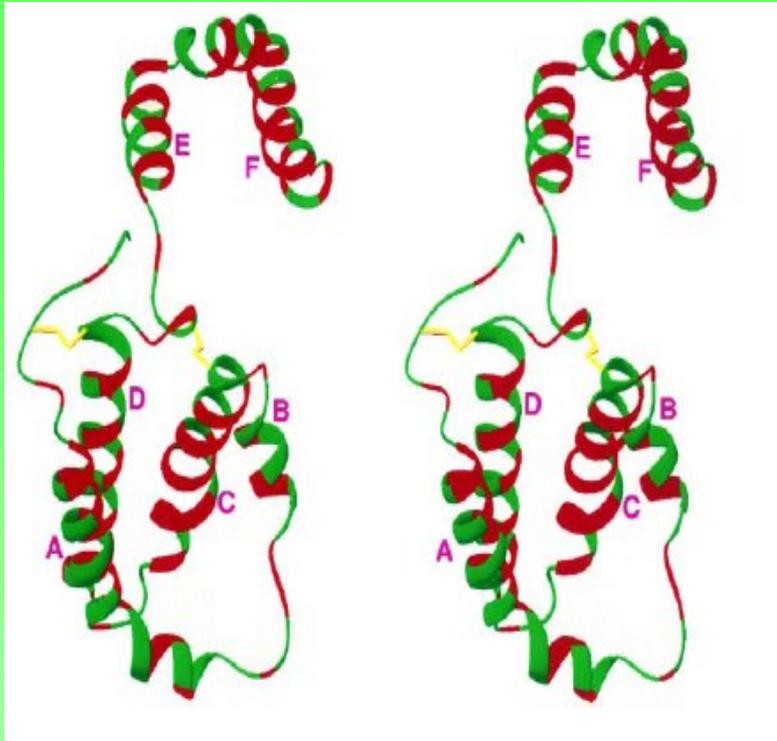
Chiave regolatoria della risposta immunitaria

- Identificata come CSIF → **fattore inibitorio della sintesi di citochine.**
- Successivamente è stato identificato un ruolo importante di IL-10 anche nella proliferazione e nella maturazione di alcune cellule del sistema immunitario.

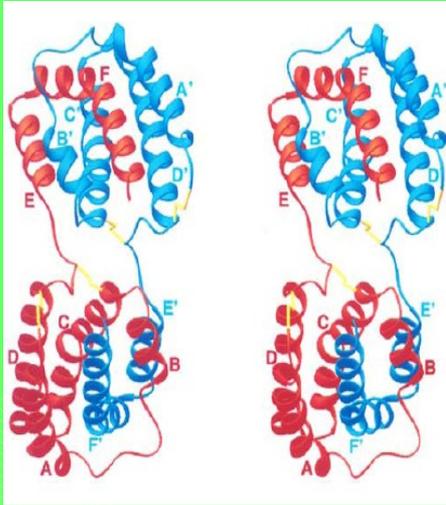
# LOCI GENETICI DELLE CITOCHINE DELLA FAMIGLIA IL-10



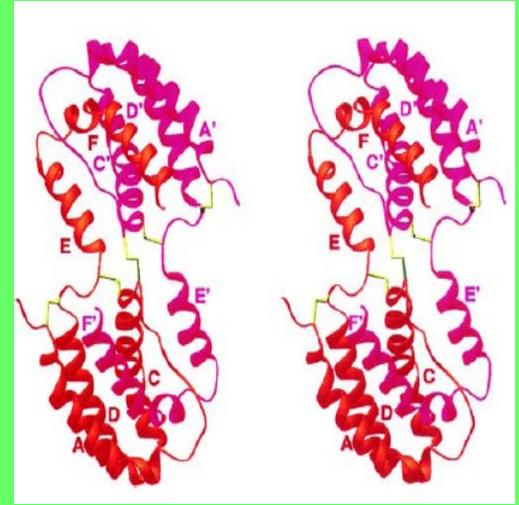
# STRUTTURA PROTEICA DELL'IL-10



# EBVIL-10 E CMVIL-10:



a) EBVIL-10 (85% di identità aminoacidica con IL-10)



b) CMVIL-10 (27% di identità aminoacidica con IL-10)

Alcuni virus umani, tra cui l'Epstein Barr virus (EBV) e i citomegalovirus (CMV), codificano per degli omologhi virali di IL-10 come EBVIL-10 e CMVIL-10 con funzioni simili alla citochina endogena. Questi virus usano gli omologhi virali per sopprimere la produzione precoce di citochine immunoregolatorie, portando così ad un'inefficace risposta immunitaria.

IN CHE MODO?



Possono legarsi al complesso recettoriale dell'IL-10 e utilizzare le sue stesse vie di segnalazione.

# IL-10 può essere prodotta da un gran numero di tipi cellulari:

- Linfociti T e Th2;
- Linfociti B;
- Cellule NK;
- Cheratinociti;
- Eosinofili;
- Cellule epiteliali;
- Macrofagi/monociti;

## La produzione di IL-10 può essere indotta da:

- **PATOGENI:** possono attivare macrofagi, monociti, cellule B e cellule T
- **CITOCHINE:** IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, IL-7, IL-12, IL-15
- **ORMONI:** in condizioni di stress up-regolano la sintesi di IL-10 nei monociti, nei macrofagi e nei linfociti T

## La produzione di IL-10 può essere inibita da:

- IL-4, IL-13 e  $\text{INF}\gamma$ : bloccano la produzione di IL-10 a livello dei monociti
- IL-10

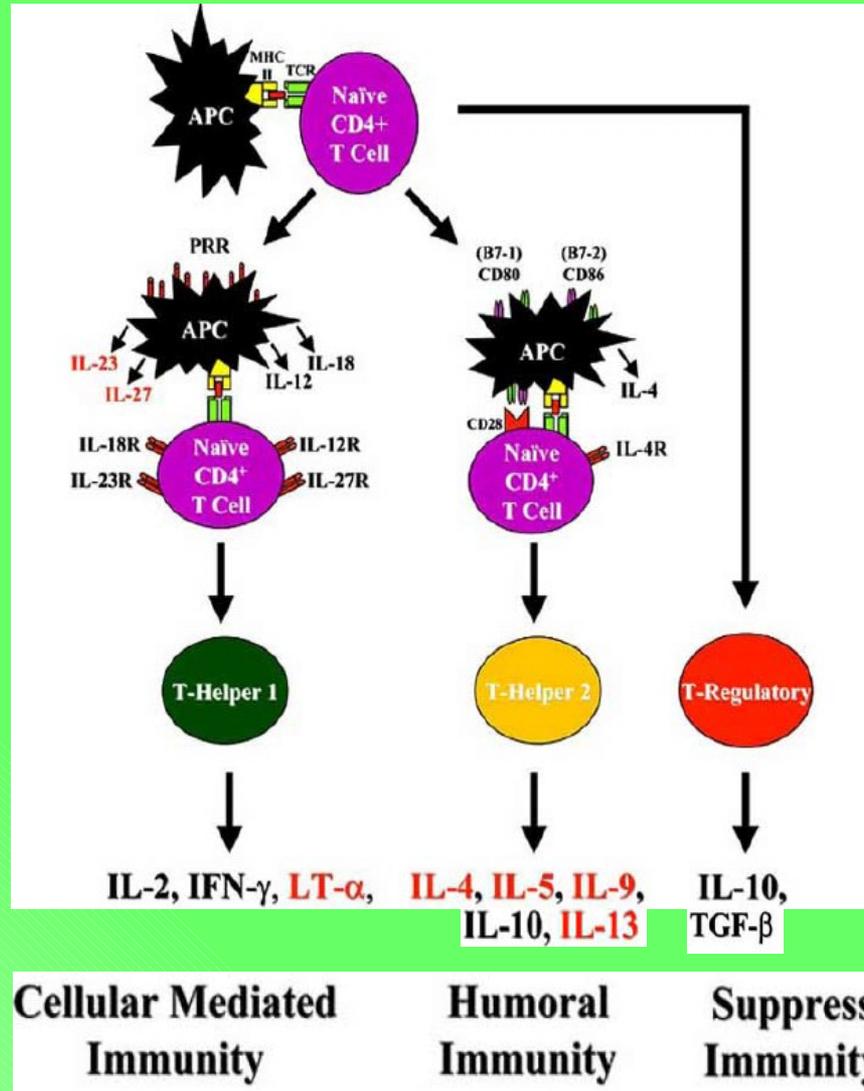
# COME VIENE REGOLATA L'ESPRESSIONE DI IL-10?

Il promotore dell'IL-10 contiene alcuni elementi che partecipano alla regolazione dell'espressione del gene come:

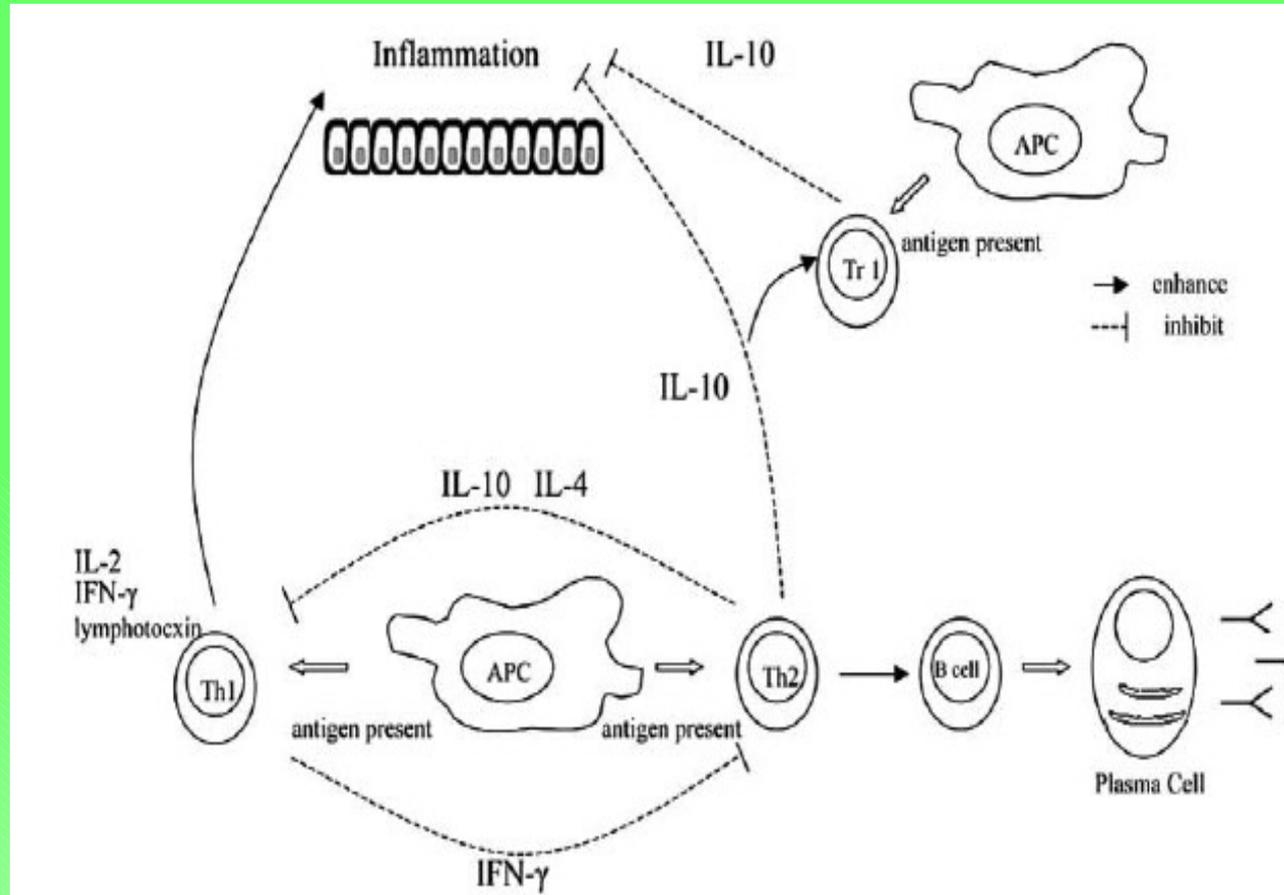
2. **cAMP response element (CRE):** gli ormoni aumentano il livello di cAMP citoplasmatico questo porta all'attivazione della chinasi PKA che fosforila CREB (cAMP-response element binding protein). CREB fosforilato si trova nella forma attiva quindi lega CRE e induce l'espressione di IL-10.
3. **NF-KB binding sites:** LPS, TNF $\alpha$ , UV e EBV attivano NF-KB, questo si lega a NF-KB binding site sul promotore per IL-10 e induce la sua sintesi.
4. **Glucocorticoide response element (GRE):** i glucocorticoidi si legano a GRE e inducono l'espressione di IL-10.

Una volta prodotta IL-10  
su quali cellule agisce e  
come?

# Th1 & Th2



# EFFETTI DI IL-10 NELL'EQUILIBRIO Th1/Th2 E NELLA REAZIONE INFIAMMATORIA



Zhou X. Et al., Boosting Interleukin-10 production: Therapy Effects and Mechanisms, Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord, 5:465, 2005

## ALTRI EFFETTI DI IL-10:

- Inibisce la sintesi di citochine da parte di: macrofagi ( $\text{TNF}\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12), neutrofili e cellule NK
- Riduce l'espressione superficiale dei recettori TNF
- Riduce la produzione dei mediatori dell'infiammazione come ossido nitrico, radicali liberi e prostaglandine

# PER LE SUE IMPORTANTI PROPRIETA' ANTINFIAMMATORIE ED IMMUNOSOPPRESSIVE IL-10 E' COINVOLTA IN NUMEROSE MALATTIE

- SIDS (sudden infant death syndrome);
- ARTRITE REUMATOIDE;
- IDDM (diabete mellito insulina dipendente);
- PSORIASI;
- IBD (inflammatory bowel diseases);
- EAE (encefalo mielite autoimmune).

# SIDS



Sono stati individuati a livello del promotore di IL-10 23 single nucleotide polymorphisms (SNPs). Questi polimorfismi influenzano i livelli di produzione di IL-10 e sembrano essere associati a diverse malattie.

Percentage frequencies of IL-10 haplotypes in different populations

Population	GCC	ACC	ATA
England (Manchester)	51	28	21
Australia	51	28	21
England (Northwest)	51	25	24
Finland	42.9	35.1	22
Ireland	57.5	24.2	18.3
Kwa-Zulu	38.1	28	33.9
Oman	34.8	40.5	24.7
China	2.5	30.2	67.3
Mexico	35.9	23.1	41.0
England	49	24	26
Poland	44	34	23
Japan	4	27	69
Spain	38.2	36.1	25.7
Norway	51.4	28.7	19.9

Il polimorfismo ATA altera i livelli di produzione di IL-10 e di conseguenza anche i livelli di altre citochine compromettendo la risposta del sistema immunitario dei pazienti a eventuali infezioni.

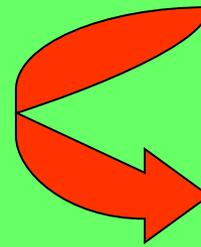
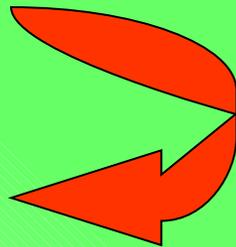
# DIABETE MELLITO INSULINA DIPENDENTE



Malattia cronica autoimmune che porta alla distruzione delle cellule  $\beta$  pancreatiche che secernono insulina. Il ruolo di IL-10 nella patogenesi del diabete non è ancora molto chiaro....

**GLI STUDI  
SPERIMENTALI  
HANNO  
EVIDENZIATO  
RISULTATI  
CONTRASTANTI**

La somministrazione sottocutanea di IL-10 in topi NOD ha ridotto l'incidenza del diabete.



L'espressione transgenica di IL-10 in cellule  $\beta$  accelera lo sviluppo del diabete nei topi NOD.

# IL-10 E L'ANGIOGENESI



IL-10 inibisce la produzione di una grande varietà citochine ed è un potente inibitore dell'angiogenesi in vari tipi di tumori. IL-10 down regola la produzione di fattori pro-tumorali derivati dai macrofagi come VEGF, TNF- $\alpha$  e IL-6 contrastando così la crescita tumorale e la formazione di metastasi.

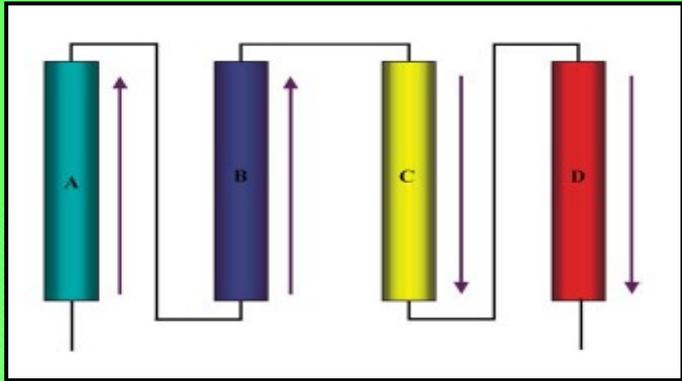
# IL-10 E IL RIGETTO DEI TRAPIANTI



In studi condotti in passato (Matsuda et al.,1994) si è osservato che IL-10 protegge le cellule target dall'attacco di cellule T citotossiche. Questo ha suggerito che IL-10 potesse giocare un ruolo protettivo nel rigetto di trapianti....

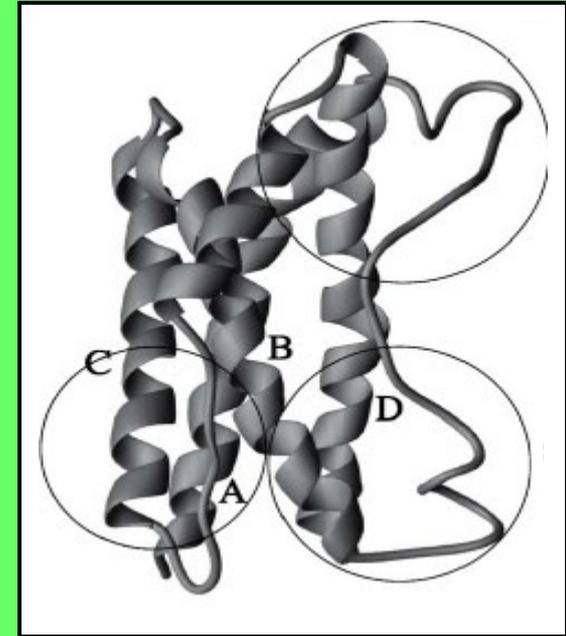


# IL-9 FA PARTE DELLE "Four Helix Bundle" Cytokines



Grotzinger J. Molecular mechanisms of cytokine receptor activation, *Biochim Biophys Acta*, 1592: 215, 2002

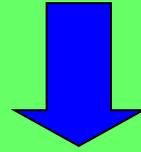
Inoltre IL-9 appartiene alla famiglia di IL-2 che al suo interno conta otto membri: IL-2, IL-4, IL-7, **IL-9**, IL-13, IL-15, IL-21 e TSLP (thymic stromal lymphopoietin).



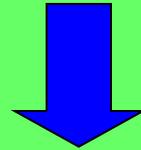
Grotzinger J. Molecular mechanisms of cytokine receptor activation, *Biochim Biophys Acta*, 1592: 215, 2002

Bird S. et al., Advances in Fish Cytokine Biology Give Clues to the Evolution of a Complex Network, *Curr Pharm Des*, 12:3051, 2006

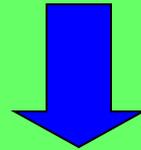
ESPRESSIONE DI IL-9: una complessa cascata di fattori agisce in modo sinergico per la produzione di IL-9 da parte dei Th2.



IL-2 prodotta dai Th1 stimola i Th2 a produrre IL-4 .



IL-2 e IL-4 agiscono in modo sinergico per stimolare i Th2 a produrre IL-10



IL-4 e IL-10 infine inducono i Th2 a produrre IL-9

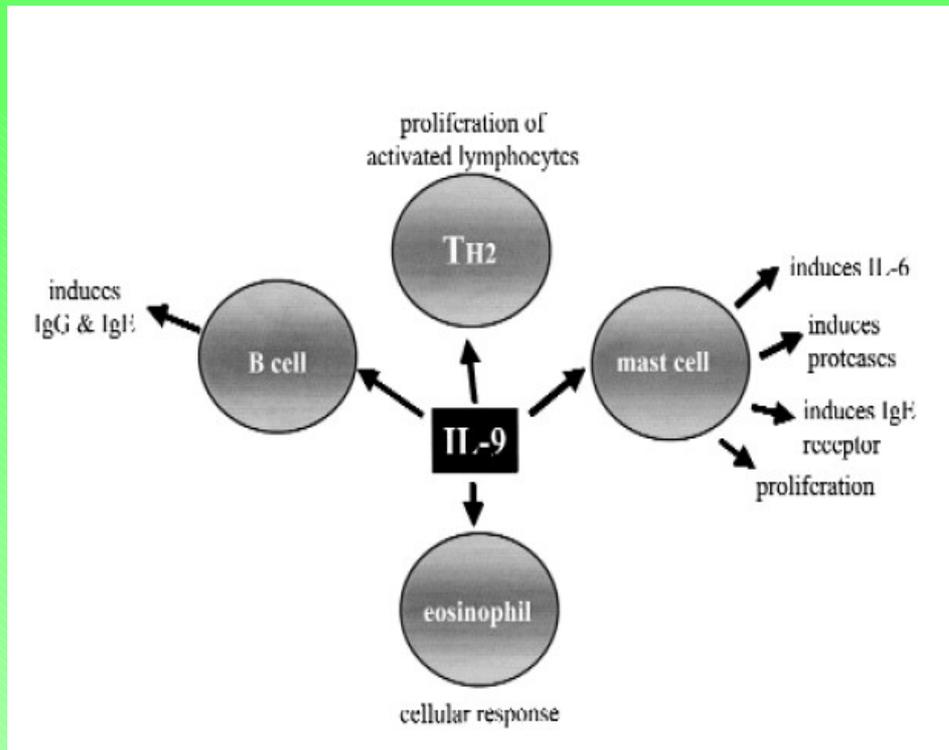
Anche le **mast cells** producono IL-9 in risposta al complesso Ag-IgE .

# SU QUALI CELLULE AGISCE IL-9?

1. MACROFAGI: IL-9 supporta la crescita dei macrofagi indotta da IL-3 e IL-4 e può, in assenza di altri fattori, favorire la sopravvivenza di tali cellule.
2. LINFOCITI B: IL-9 opera in modo sinergico con IL-4 stimolando i linfociti B a produrre IgG, IgM e IgE.
3. MAST CELLS: IL-9 induce la proliferazione e il differenziamento di queste cellule e anche cambiamenti funzionali come la secrezione di IL-6 e granzima B (proteasi).
4. LINFOCITI T: IL-9 sembra essere importante per la maturazione dei linfociti T a livello del timo.
5. PROGENITORI EMATOPOIETICI: IL-9 stimola la loro maturazione.
6. CELLULE EPITELIALI: IL-9 stimola le cellule epiteliali polmonari a secernere muco.

# IL-9 E L'ASMA

L'asma allergico è una malattia infiammatoria cronica mediata dai Th2.



•Elevati livelli di IgE sono considerati un fattore di rischio per l'asma

•L'aumento di eosinofili a livello bronchiale può essere associato a reazioni infiammatorie e all'asma.

Levitt RC et al., IL-9 pathway asthma: New therapeutic targets for allergic inflammatory disorders, J Allergy Clin Immunol, 103:485, 1999

Reader JR., Interleukin-9 Mucous Cell Metaplasia Independent of inflammation, Cell Mol. Biol., 28:664, 2003

# IL-9 E LA PARALISI CEREBRALE

La paralisi cerebrale è la più comune forma di invalidità motoria cronica dell'infanzia. La causa di questa complessa sindrome resta ancora un punto di dibattito. Si è notata però una correlazione tra l'aumento dei livelli di citochine circolanti, tra cui **IL-9**, e l'immediata paralisi cerebrale.

Thomson AW. & Lotze MT., The Cytokine Handbook, 4th Edition, 2003

# IL-9 E LA TUMORIGENESI

Si è osservato che le cellule trasformate dei linfomi producono in modo costitutivo IL-9. Sono stati condotti, quindi, diversi studi per cercare di accertare il coinvolgimento di IL-9 nella tumorigenesi di queste cellule e le evidenze sperimentali hanno confermato l'ipotesi che IL-9 possa agire come oncogene nei confronti delle cellule T.

# BIBLIOGRAFIA:

- Bird S. et al., Advances in Fish Cytokine Biology Give Clues to the Evolution of a Complex Network, *Curr Pharm Des*, 12: 3051, 2006
- Zhou X. Et al., Boosting Interleukin-10 production: Therapy Effects and Mechanisms, *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord*, 5: 465, 2005
- Zdanov AL., Structural Features of the Interleukin-10 Family of Cytokines, *Curr Pharm Des*, 10: 3873, 2004
- Opdal SH., IL-10 gene polymorphisms in infectious disease and SIDS, *Immunol Med Microbiol* , 42: 48, 2004
- Knoop L. and Renaud JC., IL-9 and its Receptors: From Signal Transduction to Tumorigenesis, *Growth Factors*, 22: 207, 2004
- Asadullah K. Et al., Interleukin-10 Therapy-Review of a new Approach, *Pharmacol Rev*, 55: 241, 2003
- Thomson AW. & Lotze MT., *The Cytokine Handbook*, 4th Edition, 2003
- Reader JR., Interleukin-9 Mucous Cell Metaplasia Independent of inflammation, *Cell Mol. Biol.*, 28: 664, 2003
- Fickenscher H. et al., The interleukin-10 family of cytokines, *Trends Immunol*, 23: 89, 2002
- Levitt RC et al., IL-9 pathway asthma: New therapeutic targets for allergic inflammatory disorders, *J Allergy Clin Immunol*, 103: 485, 1999