

Rola komórek dendrytycznych w wirusowych zakażeniach układu oddechowego

The role of dendritic cells in viral respiratory infections

MARIUSZ GRONKOWSKI ¹, ALEKSANDRA SZCZEPANKIEWICZ ², ANNA BRĘBOROWICZ ³

¹ student Analityki Medycznej, Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

² Pracownia Badań Komórkowych i Molekularnych Kliniki Pneumonologii, Alergologii Dziecięcej i Immunologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

³ Klinika Pneumonologii, Alergologii Dziecięcej i Immunologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

Streszczenie

Komórki dendrytyczne stanowią integralny element układu odpornościowego kierując rozwojem odpowiedzi immunologicznej. Celem pracy jest przedstawienie funkcji oraz biologii różnych subpopulacji komórek dendrytycznych w zwalczaniu zakażeń wirusowych. W pracy przeanalizowano wpływ patogenów na aktywację różnych subpopulacji komórek dendrytycznych ze szczególnym uwzględnieniem oddziaływania komórek dendrytycznych na pozostałe elementy układu odpornościowego (np. makrofagi). Wywołaną przez komórki dendrytyczne odpowiedź immunologiczną rozpatrywano pod kątem strukturalnych i funkcjonalnych cech tych komórek. W pracy zwrócono uwagę na związek rozwoju odpowiedzi immunologicznej z funkcją pełnioną przez komórki dendrytyczne znajdujące się na określonym etapie dojrzałości. Scharakteryzowano rolę komórek dendrytycznych w rozpoznaniu i prezentacji antygenów limfocytom T, uwzględniając proces migracji do obwodowych narządów limfoidalnych. Opisano czynniki wpływające na inicjację syntezy interferonu (szlak białka adapterowego MyD88, szlak związany z helikazą RIG-I, oraz szlak związany z białkiem adapterowym TRIF) oraz rolę interferonu w odpowiedzi na infekcję wirusowe. Liczne badania nad biologią komórek dendrytycznych dają szansę na zrozumienie patogenyzy zakażeń wirusowych układu oddechowego i opracowanie nowych środków zwalczania tych zakażeń.

Słowa kluczowe: komórki dendrytyczne, interferon, patogeny, odpowiedź immunologiczna

Summary

Dendritic cells, the integral element of immune system, are responsible for immunological response. The aim of the paper is to describe the function and biology of different subpopulations of dendritic cells in fighting viral infections. In the paper we have analyzed the role of pathogens in the activation of various subpopulations of dendritic cells, with focus on the influence of dendritic cells on other elements of the immune system (e.g. macrophages). We have analyzed the relationship between the development and functions of dendritic cells with regard to their maturation stage. We characterized the role of dendritic cells in identification and presenting antigens, including their migration process, to the lymphoid tissues. The factors determining the initiation of the synthesis of interferon (MyD88 adaptor-protein pathway, RIG-I helicase pathway, TRIF adaptor-protein pathway) and its role in combating viral infections have been described. Numerous studies on the dendritic cells biology offer an opportunity to understand the pathogenesis of viral infections in the airways and develop novel methods to fight them.

Keywords: dendritic cells, interferon, pathogens, immune response

© *Alergia Astma Immunologia* 2012, 17 (2): 77-82

www.alergia-astma-immunologia.eu

Przyjęto do druku: 11.01.2012

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Dr Aleksandra Szczepankiewicz

Pracownia Badań Komórkowych i Molekularnych Kliniki Pneumonologii, Alergologii Dziecięcej i Immunologii Klinicznej III Katedry Pediatrii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań

tel. (061) 8491311, fax (061) 8480111

e-mail: alszczep@amp.edu.pl

Wprowadzenie

Komórki dendrytyczne (DC) zostały po raz pierwszy opisane przez Langerhansa w 1868 r. w skórze, na podstawie reakcji z solami złota [1]. Wówczas uważano, że są to komórki pochodzenia nerwowego. Dopiero w 1973 r. badania prowadzone na Uniwersytecie Rockefellera w Nowym Jorku wyjaśniły ich pochodzenie. Nazwa komórki dendrytyczne oddaje morfologiczny obraz populacji adherentnych komórek wyizolowanych z obwodowych narządów limfatycznych

i wykrytych przez Steinmana oraz Cohna przy użyciu mikroskopu z kontrastem fazowym.

Komórki dendrytyczne w drogach oddechowych są narażone na ciągły kontakt z patogenami, ponieważ układ oddechowy stanowi dużą powierzchnię kontaktu ze środowiskiem zewnętrznym. Heterogenność populacji komórek dendrytycznych oraz ich szybkie tempo wymiany (85% populacji wymieniana jest w czasie 72 godzin) [2] predysponuje je do kompleksowego i szybkiego działania w przy-

padku infekcji. Komórki DC rezydujące w nabłonku oskrzeli wykazują cechy występujących powszechnie w naskórku komórek należących do populacji komórek dendrytycznych tzw. komórek Langerhansa. Charakteryzują się ekspresją CD1a oraz obecnością ziarnistości Birbecka zawierających białko langerynę [3]. W stanie homeostazy liczba komórek DC waha się od kilku tysięcy komórek na milimetr kwadratowy w oskrzelach do stu komórek na milimetr kwadratowy w obwodowych drogach układu oddechowego [4].

Populacja ludzkich komórek DC rekrutowana jest do nabłonka dróg oddechowych z układu krążenia dzięki obecności na ich powierzchni receptora CCR6. Produkowana przez nabłonek dróg oddechowych defensyna 2 jest ligandem odpowiedzialnym za chemotaksję komórek DC [5]. W patogenezie alergii wykazano, że drobne cząsteczki pochodzące z powietrza stymulują komórki nabłonka do produkcji chemokiny CCL20, która łączy się z receptorem CCR6 powodując wzrost ilości komórek DC [6].

Dla rozwoju komórek DC w płucach ważny jest fakt, że komórki układu oddechowego charakteryzują się wysoką ekspresją czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF). Stężenie tego głównego czynnika wzrostu komórek DC ulega znacznemu zwiększeniu w czasie wirusowej infekcji układu oddechowego. W badaniach eksperymentalnych na myszach z nadekspresją GM-CSF w płucach wykazano, że w przebiegu infekcji dochodzi do masowej aktywacji i rekrutacji mieloidalnych komórek DC (mDC), a w efekcie do rozwinięcia odpowiedzi Th1 [7]. Dowiedziono, że w wyniku infekcji wirusem RSV duża ilość prekursorowych DC w trakcie różnicowania wykazuje ekspresję cząsteczki CD11b+ oraz brak MHC klasy II, a do ich pełnego przekształcenia w funkcjonalne mDC potrzebny jest wydzielany w wyniku infekcji GM-CSF. Subpopulacja mieloidalnych DC powstająca w opisanych warunkach jest zdolna do aktywacji dziewięciu limfocytów T CD4+ [8].

Badania przeprowadzone na myszach pozbawionych wtórnych narządów limfatycznych (śledziony i węzłów chłonnych) wskazały, że rozwój efektywnej odpowiedzi immunologicznej zachodzi w obrębie strefy iBALT (ang. *inducible bronchus-associated lymphoid tissue*), która wykazuje zdolność produkcji limfocytów T i B. Rozwój odpowiedzi swoistej ze strony limfocytów T CD8+ w obrębie płuc ogranicza aktywację ogólnoustrojowego układu odpornościowego i podkreśla decydującą rolę komórek dendrytycznych rezydujących w układzie oddechowym w lokalnej odpowiedzi immunologicznej [9].

Aktywacja i dojrzewanie komórek dendrytycznych w przebiegu zakażeń wirusowych

W rozwoju komórek dendrytycznych można wyróżnić cztery fazy: progenitorowe komórki szpiku, prekursorowe DC we krwi i chłonce oraz tkankach limfoidalnych, niedojrzałe DC zlokalizowane w tkankach, nazywane również spoczynkowymi, oraz dojrzałe DC rezydujące we wtórnych narządach limfatycznych [10,11]. Obecnie wyróżniono jeszcze inną istotną frakcję komórek DC o niepełnym stopniu

dojrzałości (ang. *semi-mature*). Wykazano, że ta grupa komórek bierze udział w indukcji tolerancji, w przeciwieństwie do immunogennych dojrzałych komórek DC [12].

Migracja DC jest wieloczynnikowo sterowanym procesem, który decyduje o odpowiedzi immunologicznej. Zainicjowanie migracji grupy komórek DC o niepełnym stopniu dojrzałości, zdolnych do prezentacji antygenów w kompleksie z MHC klasy II, ale nie produkujących TNF α , IL-6 i IL-12, prowadzi do anergii limfocytów T, potwierdzając udział migrujących komórek DC w indukcji tolerancji immunologicznej [13]. Proces rozwoju i migracji obrazuje rolę DC w komunikacji między centralnymi organami limfatycznymi oraz obwodowymi elementami układu odpornościowego [14,15].

Komórki DC wpływają kompleksowo na regulację odpowiedzi immunologicznej. Dzięki zdolności do wydzielania licznych interleukin (IL-1, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 18), chemokin (ang. *Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted*, RANTES), MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , I-309, DC-CK1, SLC, MDC, TARC) oraz cytokin (limfotoksyny, TGF- β , IFN- α , IFN- γ , G-CSF, GM-CSF, TNF- α), komórki DC działają chemotaktycznie na wiele komórek układu odpornościowego [10,11].

Na błonie komórkowej DC znajdują się tzw. receptory rozpoznające wzorce (ang. *pattern-recognition receptor*, PRR), wśród których fundamentalne znaczenie mają receptory Toll-podobne (TLR) wiążące struktury drobnoustrojów zaliczone do grupy PAMP (ang. *pathogen associated molecular patterns*) np. bakteryjne lipopolisacharydy, węglowodany i wirusowe cząsteczki RNA i DNA [10,11,16]. Aby nastąpiła aktywacja komórek DC, musi dojść do rozpoznania struktur drobnoustrojów z wykorzystaniem różnych receptorów. Receptory TLR posiadają konserwatywną domenę TIR, która jest kluczowa w przekazywaniu sygnału aktywacji do wnętrza komórki. Komórki DC posiadają receptory TLR 2, 3, 5, 7, 8, 9, 10 [16]. Oprócz receptorów TLR istnieją także receptory lektynowe, za pomocą których zachodzi endocytosis antygenów. Węglowodanowe ugrupowania bakterii i grzybów rozpoznawane są przez receptory C-lektynowe, do których zaliczają się DC-SIGN, dektyna-1, receptor dla mannozy oraz DEC-205 [10,17]. Na powierzchni komórek DC wykryto również receptory dla lipidów, tzw. zmiatacze klasy b (scavenger) CD36 oraz SR-BI [18].

Aktywacja komórek dendrytycznych, spowodowana pobudzeniem receptorów, indukuje wewnątrzkomórkowy sygnał o aktywacji czynników transkrypcyjnych i transkrypcji szeregu genów. Wykazano, że liczba genów, które ulegają ekspresji w celu uzyskania pełnej dojrzałości przez DC wynosi około 6000 [19]. Sygnałem do aktywacji są produkty metabolizmu patogenów, sygnały zagrożenia, cytokiny oraz interakcje z innymi komórkami [19].

Na znaczenie tzw. sygnałów zagrożenia (ang. *danger signals*) w aktywacji komórek DC zwrócili uwagę Gallucci i Matzinger w 2001 roku. Sygnały te zostały podzielone na endogenne (np. białka szoku cieplnego, nukleotydy, reaktywne formy tlenu, pozakomórkowe produkty rozpadu macierzy komórkowej, cytokiny oraz neuromediatory) oraz na egzogenne wytworzone przez patogeny [20]. W wyni-

ku kontaktu komórek DC z antygenem w obecności tzw. sygnałów zagrożenia (np. angażujących receptory rozpoznające wzorce, PAMP) rozpoczyna się proces dojrzewania komórek DC. Wykazano, że albumina jaja kurzego podana myszom do płuc wywołuje rozwój tolerancji na ten antygen. Dopiero podanie albuminy jaja kurzego w obecności wirusa grypy spowodowało prezentację antygeny przez komórki DC oraz aktywną odpowiedź ze strony limfocytów T CD4+ i T CD8+ [21], co potwierdza teorię sygnału zagrożenia i konieczność kontaktu komórek DC z patogenami w celu aktywacji.

W procesie aktywacji komórki DC przechodzą szereg zmian. Dojrzewanie komórek DC wiąże się ze zmianą charakteru komórek z pochłaniających i przetwarzających antygen na komórki prezentujące antygen. W trakcie tego procesu komórki DC ulegają wielu zmianom fenotypowym. Zmiany morfologiczne dotyczą reorganizacji cytoszkieletu, utraty struktur adherentnych oraz uzyskania dużej ruchliwości przez komórki [10]. Aktywowane komórki DC tracą zdolność endocytozy, następuje stymulacja ekspresji białek umożliwiających interakcje z limfocytami T takich jak białka z rodziny B7 (CD80, CD86, PD-L2/B7-DC, ICOS-L) oraz TNF (CD137/4-1BBL, CD134/ OX40L, CD70) [22]. W procesie dojrzewania komórka dendrytyczna migruje do wtórnych narządów limfatycznych. Na jej powierzchni pojawiają się receptory CCR7 warunkujące ruch w kierunku cytokin CCL19 i CCL21, obecnych w węzłach chłonnych [10].

Cząsteczką, która pozwala odróżnić dojrzałe komórki DC od niedojrzałych jest CD83, ponieważ wykazano, że ekspresja CD83 występuje tylko na dojrzałych DC i jest związana z kostymulacją limfocytów T [23].

Aktywowane komórki DC migrują do lokalnych węzłów chłonnych lub śledziony, gdzie tworzą frakcję dojrzałych DC, które za pomocą chemokin przyciągają limfocyty T. Badania wykazały, że wśród grupy chemokin takich jak RANTES, MIP-1 α , interleukiny-8 i DC-CK1, ta ostatnia przyciąga dziewicze limfocyty T [24]. Jest to ważny etap odpowiedzi immunologicznej, który prowadzi do rekrutacji limfocytów T. Przykładowo wykazano, że komórki DC pozyskane od CMV-pozytywnych pacjentów stymulowane LPS wydzielają duże ilości chemokiny prozapalnej CCL2. Chemokina ta promuje transport monocytów, limfocytów T oraz komórek NK do miejsca infekcji. Z wykorzystaniem analogicznego mysiego modelu udokumentowano, że wydzielanie chemokin prozapalnych skutkuje rozsiewem wirusa EBV oraz infekcją monocytów, w których wirus przechodzi w formę uśpioną [25].

Analiza wpływu innych komórek układu odpornościowego na aktywację komórek DC wymaga dokładnego poznania interakcji zachodzących między komórkami. Zarówno w płucach myszy, jak i człowieka, komórki DC występują w nabłonku dróg oddechowych, w przegrodach pęcherzyków płucnych oraz w tkance łącznej otaczającej naczynia płucne [26]. W procesie aktywacji komórek DC biorą udział różne komórki występujące w płucach. Dobrym przykładem są makrofagi, które występują w świetle pęcherzyków płucnych i są oddalone od komórek DC tylko o mikrometry. Makrofagi w płucach są w stanie hamować funkcje DC przez produkcję rozpuszczalnych mediatorów oraz tlenu

azotu, który zatrzymuje ekspresję MHC klasy II [27]. Dodatkowo, supresyjne działanie na komórki dendrytyczne wywierają wydzielane przez makrofagi prostaglandyny, nadtlenek wodoru, TGF- β oraz IL-10 [26,28]. Makrofagi mają więc szereg właściwości umożliwiających zapobieganie aktywacji komórek DC. Godny uwagi jest fakt, że w przypadku zniszczenia bariery nabłonka zawierającego makrofagi oraz surfaktant, zmienia się środowisko cytokin i możliwa jest aktywacja komórek DC. Dodatkowo, makrofagi mogą wspomóc komórki dendrytyczne w aktywacji oraz prezentacji antygeny przez wstępną obróbkę peptydów na mniejsze fragmenty [29].

Produkcja interferonu typu I w zakażeniach wirusowych

Szerokie spektrum działania interferonu (IFN) na komórki oraz zróżnicowane reakcje organizmu w odpowiedzi na interferon wskazują na kluczową rolę tej cytokiny we wrodzonej odpowiedzi przeciwwirusowej. IFN wywiera swoje działanie poprzez receptor dla IFN α i γ , IFNAR, co powoduje regulację odpowiedzi ze strony innych komórek. Wykazano, że IFN typu I stymuluje komórki układu odpornościowego do produkcji cytokin IL-6, TNF i IL-15 [30]. Na przykładzie myszy zakażonych wirusem limfocytarnego zapalenia splotu naczyniówkowego i opon mózgowych (LCMV) wykazano, że istnieje populacja komórek, których charakterystyczną cechą jest produkcja interferonu, ograniczającego replikację wirusów [31]. Są to plazmocytoidalne komórki DC (pDC), które w wyniku infekcji zdolne są do produkcji IFN typu I w ilościach nawet 100-krotnie większych niż w innych komórkach. Po związaniu antygeny, pDC są zdolne do migracji do węzłów chłonnych, głównie w celu kierowania odpornością nabytą (sekrecja IFN α i IL-12), a w mniejszym stopniu w celu prezentacji antygenów [32].

Najważniejszy dla zwalczania infekcji jest złożony proces syntezy IFN typu I, który zachodzi w wyniku aktywacji wielu szlaków. Najlepiej zbadane i najistotniejsze szlaki transdukcji sygnału to: szlak białka adaptorowego MyD88 (ang. *myeloid differentiation primary response gene*) (88), szlak związany z helikazą RIG-I (ang. *retinoic acid inducible gene 1*), oraz szlak związany z białkiem adaptorowym TRIF (ang. *TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- β*) [33].

Produkcja IFN klasy I w komórkach pDC odbywa się przede wszystkim drogą zależną od białka MyD88. W wyniku związania cząsteczek patogenów przez receptor z rodziny Toll-pochodnych zachodzi kaskada sygnału zapoczątkowana przez białko adaptorowe MyD88. Następuje aktywacja czynników transkrypcyjnych, takich jak NF- κ B, niezbędnych do ekspresji genów odpowiedzialnych za stan zapalny [34]. Dodatkowo, szlak ten aktywuje czynnik RF-7, inicjując produkcję dużych ilości IFN γ po stymulacji receptorów TLR7 i TLR9 [35]. Ponadto, komórki pDC płuc oraz dróg oddechowych człowieka są zdolne do produkcji IFN typu I po związaniu ligandy przez receptory TLR9 oraz TLR7, co ma istotne znaczenie dla odpowiedzi na wirusowe zakażenia układu oddechowego [36,37].

Drugi szlak syntezy IFN typu I w przebiegu infekcji wywołanej przez wirusowe dsRNA zachodzi dzięki transdukcji sygnału poprzez TLR w komórkach pDC oraz szlak RIG-I-zależny w komórkach mDC. Mieloidalne komórki mDC wykazują ekspresję receptora TLR 7, ale co ciekawe, produkcja IFN γ odbywa się na drodze niezależnej od receptora Toll-podobnego. Indukcja ekspresji IFN γ zachodzi w wyniku ekspozycji na produkty replikacji wirusa we wnętrzu komórki. dsRNA pochodzenia wirusowego wiąże się z helikazą RIG-I, która aktywuje czynnik transkrypcyjny IRF3 (ang. *interferon regulatory factor 3*), indukując produkcję IFN γ [38].

Syntezę dużych ilości IFN typu I zaobserwowano również po stymulacji receptorów TLR3 i TLR4, dzięki obecności domeny TIR (ang. *Toll/Interleukin-1 receptor*), która umożliwia transdukcję sygnału z udziałem białka adaptorowego (TRIF), aktywując ekspresję genów zawierających promotor zależny od NF- κ B. Dodatkowo, pobudzenie białka adaptorowego TRIF na skutek stymulacji TLR3 powoduje aktywację powiązanej z TRIF kinazy trzeciego czynnika transkrypcyjnego interferonu (ang. *Interferon regulatory factor 3*, IRF-3), który jest kluczowy dla ekspresji IFN- β [39]. W ten sposób dochodzi do aktywacji promotora i produkcji dużych ilości IFN- β . W przypadku patogenów blokujących funkcję białka MyD88 jest to alternatywna droga w produkcji IFN klasy I, ponieważ odbywa się na drodze niezależnej od MyD88.

Związanie IFN typu I z wymienionymi receptorami inicjuje kaskadę sygnałową STAT1/STAT2 [40]. Wykazano, że kinaza tyrozynowa Janus w odpowiedzi na IFN typu I powoduje fosforylację i aktywację STAT1/STAT2, które migrują do jądra, gdzie indukują ekspresję wielu genów odpowiedzialnych za odpowiedź antywirusową [41].

Z uwagi na zdolność IFN typu I do stymulacji odpowiedzi ze strony różnych komórek układu odpornościowego oraz zdolności stymulacji ekspresji cząsteczek MHC oraz cząsteczek kostymulujących CD80 i CD86 na powierzchni komórek DC, IFN typu I jest określane mianem endogennego adjuwantu [42]. Jednakże do osiągnięcia stanu pełnej dojrzałości komórek DC, oprócz IFN typu I, niezbędna jest stymulacja patogenami np. wirusowym dsRNA lub bakteryjnym LPS [43], co dowodzi, że sam IFN typu I nie jest w stanie w pełni zainicjować prezentacji antygenów przez komórki DC. Ponadto, działanie jedynie interferonem typu I na komórki mDC nie indukuje produkcji cytokin prozapalnych [44], a efektywną odpowiedź immunologiczną można uzyskać w przypadku infekcji wirusem grypy lub wirusem Sendai u myszy z defektem receptorów dla IFN typu I [45]. Przykład ten pokazuje, że IFN typu I usprawnia proces dojrzewania komórek DC i rozwój nabytej odpowiedzi immunologicznej, ale nie jest niezbędny dla ich przebiegu.

Prezentacja antygeny

Wszystkie subpopulacje komórek dendrytycznych pod względem funkcjonalnym zaliczamy do grupy komórek prezentujących antygen. Prezentacja odbywa się zarówno w kompleksie z MHC (z ang. *major histocompatibility complex*) klasy I i klasy II. MHC klasy II prezentuje głównie antygeny zewnątrzkomórkowe, ale również autoantygeny

uwolnione np. z komórek nekrotycznych. Proces, podobnie jak dla MHC klasy I, zachodzi w czterech etapach. Najpierw następuje pochłonięcie antygeny na drodze endocytozy i proteoliza antygeny w endosomach, następnie związanie peptydów przez MHC klasy II w określonych przedziałach komórkowych, a później transport kompleksu antygen-MHC klasy II na powierzchnię błony komórkowej w celu prezentacji antygeny limfocytom T CD4+ [46,47].

Połączenie kompleksu antygen-MHC klasy II z receptorem TCR ma charakter specyficzny i jest określane mianem synapsy immunologicznej. Tworzenie synapsy immunologicznej inicjuje polaryzację limfocyta T oraz zapewnia ściśle oddziaływanie między komórkami poprzez adhezję limfocyta T do komórki DC. Interakcję rozpoczyna przekazanie pierwszego sygnału aktywacji do wnętrza dziewiczego limfocyta T, inicjując syntezę IL-2. Dalszy postęp interakcji warunkowany jest otrzymaniem przez limfocyt T drugiego sygnału kostymulującego, który indukuje jego proliferację, powiększenie jego rozmiarów, zwiększenie wydzielania IL-2, IL-4, IL-5, IL-13, IFN γ , TNF α , GM-CSF oraz ekspresję CD40L i IL-2R. Dodatkowo ekspresji ulega antygen 4 związany z cytotoksycznym limfocytom T CTLA-4 (ang. *cytotoxic T-lymphocyte associated antigen-4*), którego zadaniem jest zatrzymanie aktywacji limfocyta T [10].

W interakcji z limfocytom T również komórka DC otrzymuje sygnały promujące jej przeżywalność. Aktywowany limfocyt T jest zdolny do produkcji cytokin TRANCE (ang. *TNF-related activation induced cytokine*), które są wiązane przez receptor RANK (ang. *Receptor Activator of Nuclear Factor κ B*) na powierzchni komórek DC, hamując ich apoptozę oraz sekrecję cytokin IL-1, IL-6, IL-12. Bardzo ważne w oddziaływaniu między limfocytom T a komórką dendrytyczną są interakcje między CD40L limfocyta a CD40 należącym do komórki DC. Oddziaływanie to nasila prezentację antygeny, w wyniku zwiększenia ekspresji antygenów MHC, cząsteczek kostymulujących, IL-1, TNF, chemokin i IL-12 [10,47].

Efektom powstającej synapsy immunologicznej jest wzrost ekspresji antygeny CD40L na dziewiczych limfocytach T CD4+, co umożliwia limfocytom Th2 oddziaływanie z limfocytami B posiadającymi receptory CD40 wiążące ligand (CD40L) aktywując proliferację limfocytów B [47]. Taki pośredni wpływ DC na aktywację limfocytów B jest tylko wstępnym etapem inicjacji produkcji przeciwciał wywołanym przez komórki dendrytyczne i dowodzi istotnej roli komórek DC w kształtowaniu odpowiedzi immunologicznej. Ponadto, subpopulacja grudkowych komórek DC ma zdolność wiązania na swojej powierzchni kompleksów przeciwciało-antygen, które mogą zostać pobrane przez limfocyty B oraz zaprezentowane w kompleksie z MHC limfocytom T. Powoduje to stymulację najbardziej efektywnych szczepów do produkcji przeciwciał. Limfocyty B, które nie otrzymały takiego „potwierdzenia” ulegają apoptozie lub fagocytozie przez makrofagi, a kompleks przeciwciała z antygenem na grudkowych komórkach DC stanowi rezerwuuar niezbędny do wytworzenia limfocytów B pamięci [47].

Szczególnie istotne w procesie dojrzewania komórek DC jest mikrośrodowisko. IL-12 jest główną cytokiną indukującą polaryzację limfocytów Th1 [48].

W wyniku infekcji wirusem grypy dochodzi do sekrecji szeregu cytokin. Komórki pDC płuc produkują CCL3, CCL4 oraz CCL5, stymulując ruch limfocytów T, eozynofiliów, monocytów oraz komórek NK do miejsca infekcji [49]. Subpopulacje komórek DC wykazują we wczesnej fazie infekcji produkcję CXCL9, CXCL10 oraz CXCL11, chemokin wiązanych przez receptor CXCR3 obecny na komórkach NK oraz aktywowanych komórkach Th1. Produkcja chemokin ulega zmianie po 24-48 godzinach od infekcji. Następuje sekrecja CCL19 oraz CXCL13 odpowiedzialna za rekrutację limfocytów T oraz limfocytów B do węzłów chłonnych [50]. Nieprzypadkowo wydzielanie tych cytokin jest powiązane w czasie z pojawieniem się migrujących, zdolnych do prezentacji antygenów komórek dendrytycznych z płuc. Działanie chemokin, analizowane na podstawie infekcji wirusem grypy, obrazuje rolę komórek dendrytycznych w rekrutacji komórek odpowiedzialnych za nabytą odpowiedź przeciw-wirusową.

Perspektywy zastosowania komórek DC w terapii

Obecnie w opracowaniu znajdują się sztuczne immunomodulatory, które w sposób analogiczny do naturalnych aktywatorów takich jak lipopolisachary (LPS) mogłyby kształtować odpowiedź immunologiczną. Do takich cząsteczek należą pochodne substancji pochodzenia bakteryjnego. Przykładowo, pochodna muramylodipeptydu (mura-butyd), warunkuje dojrzałość komórek DC, kompetencję do aktywacji limfocytów T, produkcję cytokin oraz fosforylację niektórych klas kinaz MAP [51]. Kolejną pochodną jest MDP-C (N2-[a-O-Benzyl-N-(acetylmuramyl)-L-alanylo-D-isoglutaminylo]-N6-trans-(m-nitrocinnamoylo)-L-lizyna), która pobudza aktywację komórek DC. Wykazano, że pochodne MDP zawierające łańcuchy kwasów tłuszczowych, działają antagonistycznie na receptory TLR2 i TLR4 oraz są w stanie indukować dojrzewanie komórek DC [52]. Dobrym immunomodulatorem wydają się również fragmenty oligonukleotydów CpG pochodzenia bakteryjnego, których immunogenność zapewnia brak metylacji. Takie fragmenty, po związaniu z TLR9, mogą wywoływać wielokierunkową

odpowiedź immunologiczną [53]. Przy użyciu syntetycznych niemetylowanych oligonukleotydów CpG można zatem indukować produkcję IFN typu I lub dojrzewanie komórek DC poprzez stymulację ekspresji MHC i cząsteczek kostymulujących [54]. Efektywne działanie oligonukleotydów CpG skupia się przede wszystkim na komórkach dendrytycznych pochodzenia limfoidalnego, które wykazują wysoką ekspresję TLR9.

Badania wyjaśniające proces aktywacji komórek DC ujawniły obecność wielu związków chemicznych, produktów metabolizmu patogenów, które potrafią blokować ten kluczowy dla odpowiedzi immunologicznej proces [55]. Przykładem takiego patogenu jest wirus opryszczki pospolitej HSV-1 (ang. *herpes simplex virus*), który hamuje szlak transdukcji sygnału niezbędny do aktywacji komórek DC, czy wirus ospy, który indukuje produkcję i sekrecję białek wiążących i hamujących IFN typu I oraz IL-1, istotnych w procesie dojrzewania komórek dendrytycznych [56].

W przyszłości badania nad opracowaniem nowych modulatorów aktywacji komórek dendrytycznych mogą pomóc w zwalczaniu nowotworów oraz przewlekłych infekcji wirusowych. Zrozumienie procesu aktywacji umożliwi wykonanie stymulacji komórek dendrytycznych pacjenta *in vitro*, które następnie będą zdolne do wywołania odpowiedzi w organizmie.

Podsumowanie

Dotychczasowe badania wykazały, że komórki dendrytyczne biorą udział w procesie polaryzacji immunologicznej. Poprzez regulację sekrecji cytokin komórki DC mogą modyfikować odpowiedź immunologiczną co wydaje się szczególnie istotne w rozwoju alergii, w której rola stymulacji limfocytów Th2 przez komórki dendrytyczne jest szczególnie widoczna. Komórki dendrytyczne, pośrednicząc w rozwoju odpowiedzi wrodzonej jak i nabytej, stanowią integrujący element układu odpornościowego. Zdolność do produkcji interferonu oraz szerokie spektrum jego działania również predysponuje komórki dendrytyczne do odgrywania kluczowej roli w obliczu infekcji wirusowych.

Piśmiennictwo

1. Paul Langerhans. Uber die Nerven der menschlichen Haut. Virchows Archiv fur pathologische Anatomie und Physiologie, und fur klinische Medicin 1868; 44: 325-37.
2. Holt PG, Haining S, Nelson DJ, Sedgwick JD. Origin and steady-state turnover of class II MHC-bearing dendritic cells in the epithelium of the conducting airways. J Immunol. 1994; 153: 256-61.
3. Demedts IK, Brusselle GG, Vermaelen KY, Pauwels RA. Identification and characterization of human pulmonary dendritic cells. Am J Respir Cell Mol Biol. 2005; 32: 177-84.
4. Schon-Hegrad MA, Oliver J, McMenamin PG, Holt PG. Studies on the density, distribution, and surface phenotype of intraepithelial class II major histocompatibility complex antigen (Ia)-bearing dendritic cells (DC) in the conducting airways. J Exp Med. 1991; 173: 1345-56.
5. Yang D, Chertov O, Bykovskaia SN i wsp. Beta-defensins: linking innate and adaptive immunity through dendritic and T cell CCR6. Science 1999; 286: 525-8.
6. Reibman J, Hsu Y, Chen LC i wsp. Airway epithelial cells release MIP-3alpha/CCL20 in response to cytokines and ambient particulate matter. Am J Respir Cell Mol Biol. 2003; 28: 648-54.
7. Wang J, Snider DP, Hewlett BR i wsp. Transgenic expression of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor induces the differentiation and activation of a novel dendritic cell population in the lung. Blood 2000; 95: 2337-45.
8. Wang H, Peters N, Laza-Stanca V i wsp. Local CD11c+ MHC class II-precursors generate lung dendritic cells during respiratory viral infection, but are depleted in the process. J Immunol 2006; 4: 2536-42.
9. Moyron-Quiroz JE, Rangel-Moreno J, Kusser K i wsp. Role of inducible bronchus associated lymphoid tissue (iBALT) in respiratory immunity. Nat Med 2004; 9: 927-34.
10. Banchereau J, Briere F, Caux C i wsp. Immunobiology of dendritic cells. Annu Rev Immunol 2000; 18: 767-811.
11. Węclawek-Tompol J, Chybicka A, Rybka B i wsp. Dendritic Cells Function in Immunological System. Adv Clin Exp Med. 2004; 13: 651-62.

12. Lutz MB, Schuler G. Immature, semi-mature and fully mature dendritic cells: which signals induce tolerance or immunity? *Trends Immunol* 2002; 23: 445-9.
13. Lutz MB, Kurtz C. Induction of peripheral CD4+ T-cell tolerance and CD8+ T-cell cross-tolerance by dendritic cells. *Eur J Immunol* 2009; 39(9): 2325-30.
14. Moser M. Dendritic cells in immunity and tolerance – Do they display opposite functions? *Immunity* 2003; 19(1): 5–8.
15. Randolph GJ, Angeli V, Swartz MA. Dendritic-cell trafficking to lymph nodes through lymphatic vessels. *Nat Rev Immunol* 2005; 5(8): 617-28.
16. Deptuła W, Niedźwiedzka P, Tokarz-Deptuła B. Toll like receptors – a novel markers in immunology. *Alergia Astma Immunologia* 2006; 11: 23-28.
17. Jiang W, Swiggard WJ, Heufler C i wsp. The receptor DEC-205 expressed by dendritic cells and thymic epithelial cells is involved in antigen processing. *Nature* 1995; 375: 151-5.
18. Pearson AM. Scavenger receptors in innate immunity. *Curr Opin Immunol* 1996; 8: 20-8.
19. Macagno A, Napolitani G, Lanzavecchia A, Sallusto F. Duration, combination and timing: the signal integration model of dendritic cell activation. *Trends Immunol* 2007; 28(5): 227-233.
20. Gallucci S, Matzinger P. Danger signals: SOS to the immune system. *Curr Opin Immunol* 2001; 13: 114–9.
21. Brimnes MK, Bonifaz L, Steinman RM, Moran TM. Influenza virus-induced dendritic cell maturation is associated with the induction of strong T cell immunity to a coadministered, normally nonimmunogenic protein. *J Exp Med* 2003; 198: 133–44.
22. Garrett WS, Chen LM, Kroschewski R i wsp. Developmental control of endocytosis in dendritic cells by Cdc42. *Cell* 2000; 102: 325-34.
23. Scholler N, Hayden-Ledbetter M, Dahlin A i wsp. CD83 regulates the development of cellular immunity. *J Immunol* 2002; 168: 2599- 602.
24. Adema GJ, Hartgers F, Verstraten R i wsp. A dendritic-cell-derived C-C chemokine that preferentially attracts naive T cells. *Nature* 1997; 387: 713-7.
25. Saederup N, Aguirre SA, Sparer TE i wsp. Murine cytomegalovirus CC chemokine homolog MCK-2 (m131-129) is a determinant of dissemination that increases inflammation at initial sites of infection. *J Virol* 2001; 75(20): 9966-76.
26. Lipscomb MF, Pollard AM, Yates JL. A role for TGF-beta in the suppression by murine bronchoalveolar cells of lung dendritic cell initiated immune responses. *Reg Immunol* 1993; 5: 151-7.
27. Holt PG, Degebrot A, O'Leary C i wsp. T cell activation by antigen-presenting cells from lung tissue digests: suppression by endogenous macrophages. *Clin Exp Immunol* 1985; 62: 586–93.
28. Lee PT, Holt PG, McWilliam AS. Ontogeny of rat pulmonary alveolar macrophage function: evidence for a selective deficiency in IL-10 and nitric oxide production by newborn alveolar macrophages. *Cytokine* 2001; 15: 53-7.
29. Girvan A, Aldwell FE, Buchan GS i wsp. Transfer of macrophage-derived mycobacterial antigens to dendritic cells can induce naive T-cell activation. *Scand J Immunol* 2003; 57: 107–14.
30. Brassard DL, Grace MJ, Bordens RW. Interferon-alpha as an immunotherapeutic protein. *J Leukoc Biol* 2002; 71: 565-81.
31. Asselin-Paturel C, Boonstra A, Dalod M i wsp. Mouse type I IFN producing cells are immature APCs with plasmacytoid morphology. *Nat Immunol* 2001; 2(12): 1144-50.
32. Diacovo TG, Blasius AL, Mak TW i wsp. Adhesive mechanisms governing interferon-producing cell recruitment into lymph nodes. *J Exp Med* 2005; 202: 687-96.
33. Grayson MH, Holtzman MJ. Emerging role of dendritic cells in respiratory viral infection. *J Mol Med* 2007; 85: 1057-68.
34. Moynagh P N. TLR signalling and activation of IRFs: revisiting old friends from the NF-B pathway. *Trends Immunol* 2005; 26: 469-76.
35. Kawai T, Sato S, Ishii KJ i wsp. Interferon- induction through Toll-like receptors involves a direct interaction of IRF7 with MyD88 and TRAF6. *Nat Immunol* 2004; 5: 1061-8.
36. Chen L, Arora M, Yarlagadda M i wsp. Distinct responses of lung and spleen dendritic cells to the TLR9 agonist CpG oligodeoxynucleotide. *J Immunol* 2006; 4: 2373-83.
37. Masten BJ, Olson GK, Tarleton CA i wsp. Characterization of myeloid and plasmacytoid dendritic cells in human lung. *J Immunol* 2006; 11: 7784-93.
38. Kato H, Sato S, Yoneyama M i wsp. Cell type-specific involvement of RIG-I in antiviral response. *Immunity* 2005; 23: 19-28.
39. Sato S, Sugiyama M, Yamamoto M i wsp. Toll/IL-1 receptor domain-containing adaptor inducing IFN-beta (TRIF) associates with TNF receptor-associated factor 6 and TANK-binding kinase 1, and activates two distinct transcription factors, NF-kappa B and IFN-regulatory factor-3, in the Toll-like receptor signaling. *J Immunol* 2003; 171: 4304-10.
40. Marié I, Durbin JE, Levy DE. Differential viral induction of distinct interferon-alpha genes by positive feedback through interferon regulatory factor-7. *EMBO J* 1998; 17: 6660- 9.
41. Stark GR, Kerr IM, Williams BR i wsp. How cells respond to interferons. *Annu Rev Biochem* 1998; 67: 227-64.
42. Tough DF. Type I interferon as a link between innate and adaptive immunity through dendritic cell stimulation. *Leuk Lymphoma* 2004; 45: 257-64.
43. Honda K, Sakaguchi S, Nakajima C i wsp. Selective contribution of IFN-alpha/beta signaling to the maturation of dendritic cells induced by double-stranded RNA or viral infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 10872-7.
44. López CB, García-Sastre A, Williams BR, Moran TM. Type I interferon induction pathway, but not released interferon, participates in the maturation of dendritic cells induced by negative-strand RNA viruses. *J Infect Dis* 2003; 187: 1126-36.
45. López CB, Yount JS, Hermesh T, Moran TM. Sendai virus infection induces efficient adaptive immunity independently of type I interferons. *J Virol* 2006; 80: 4538-45.
46. Lipscomb MF, Masten BJ. Dendritic Cells: Immune Regulators in Health and Disease. *Physiol Rev* 2002; 82: 97-130.
47. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998; 392: 245-52.
48. Gołąb J, Jakobisiak M, Lasek W (red.). *Immunologia*. PWN: Warszawa, 2007.
49. Garrett WS, Chen LM, Kroschewski R i wsp. Developmental control of endocytosis in dendritic cells by Cdc42. *Cell* 2000; 102: 325-34.
50. Luster AD. The role of chemokines in linking innate and adaptive immunity. *Curr Opin Immunol* 2002; 14: 129-35.
51. Kudela P, Paukner S, Mayr UB i wsp. Bacterial ghosts as novel efficient targeting vehicles for DNA delivery to the human monocyte-derived dendritic cells. *J Immunother* 2005; 28: 136-43.
52. Uehori J, Fukase K, Akazawa T i wsp. Dendritic cell maturation induced by muramyl dipeptide (MDP) derivatives: monoacylated MDP confers TLR2/TLR4 activation. *J Immunol* 2005; 174: 7096-103.
53. Klinman DM, Currie D, Gursel I, Verthelyi D. Use of CpG oligodeoxynucleotides as immune adjuvants. *Immunol Rev* 2004; 199: 201-16.
54. Krieg AM. CpG motifs in bacterial DNA and their immune effects. *Annu Rev Immunol* 2002; 20: 709-60.
55. Griffin MD, Lutz W, Phan VA i wsp. Dendritic cell modulation by 1a,25 dihydroxyvitamin D3 and its analogs: a vitamin D receptor-dependent pathway that promotes a persistent state of immaturity in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 6800–5.
56. Rescigno M, Borrow P. The host-pathogen interaction: new themes from dendritic cell biology. *Cell* 2001; 106: 267-70.