

MAGDALENA KACZMARCZYK¹, PAULINA NIEDŹWIEDZKA², WIESŁAW DEPTUŁA²

Characteristics of Dendritic Cells

Charakterystyka komórek dendrytycznych

¹ Absolwentka studiów licencjackich kierunku biotechnologia Wydziału Nauk Przyrodniczych USz

² Katedra Mikrobiologii i Immunologii Wydziału Nauk Przyrodniczych USz

Streszczenie

Komórki dendrytyczne są wysoko wyspecjalizowanymi elementami przedstawiającymi antygen, mającymi między innymi podstawowe znaczenie w tworzeniu skutecznej swoistej odpowiedzi komórek T i B. Umieszczenie ich w obrębie barier anatomiczno-fizjologicznych oraz w innych częściach układu immunologicznego zapewnia utrzymanie równowagi między odpornością na patogeny a tolerancją na struktury własne, chroniąc makroorganizm nie tylko przed zakażeniem, ale także przed zbyt intensywną odpowiedzią układu immunologicznego. Przyjmuje się obecnie, że komórki dendrytyczne, określane także jako leukocyty dendrytyczne, są wytwarzane przez komórki Langerhansa, śródmiąższowe komórki dendrytyczne, komórki dendrytyczne rdzenia grasicy, komórki dendrytyczne spletające się, komórki dendrytyczne grudek oraz krwi i welonowate (**Adv Clin Exp Med 2006, 15, 5, 871–879**).

Słowa kluczowe: komórki dendrytyczne, pochodzenie, charakterystyka i funkcje DC.

Abstract

Dendritic cells are highly specialized elements antigen presenting, having a fundamental meaning for creating effective specific response of T and B cells. Due to localization them within anatomic and physiologic barriers of immune system, they guarantee homeostasis between the resistance to pathogens and tolerance of one's own structures, what helps to protect the macroorganism not only against infection but also against to strong immunity response. Nowadays, dendritic cells are understood as dendritic leukocytes that are created by Langerhans cells, interstitial DC, thymus DC, interdigitating DC, follicular DC, blood DC and veiled DC (**Adv Clin Exp Med 2006, 15, 5, 871–879**).

Key words: dendritic cells (DC), origin, characteristics and functions of DC.

Makroorganizmy żywe nieustannie są narażone na oddziaływanie bytujących w środowisku drobnoustrojów oraz substancji. W toku ewolucji układ odpornościowy (u.o.) przystosował się do tych warunków, tak aby umożliwić skuteczną walkę i chronić je przed tymi czynnikami. U.o. ssaków (człowieka i zwierząt) ma niezwykle złożoną strukturę i jest systemem ochronnym, funkcjonującym na wielu poziomach, zabezpieczającym organizm przed naruszeniem integralności oraz wykazującym zjawisko tolerancji na struktury własne. W ostatnim czasie dużą rolę w regulowaniu skutecznych swoistych reakcji u.o. oraz modulowaniu działania wielu jego elementów przypisuje się komórkom dendrytycznym (DC – *dendritic cells*), określanym także jako leukocyty dendrytyczne

(DL – *dendritic leukocytes*). Elementy te wraz z makrofagami, monocytami i komórkami B są populacją profesjonalnych komórek przedstawiających antygen (APC – *antigen presenting cells*) (tab. 1), których nadrzędną funkcją jest regulowanie odpowiedzi komórek T i B w stosunku do określonych antygenów, dzięki zdolności do ich rozpoznania, pochłaniania, fragmentacji oraz przedstawiania w kontekście molekuł zgodności tkankowej klasy II (MHC – *major histocompatibility complex class II*) [1–4]. DC dzięki swoistym właściwościom nie tylko warunkują powstawanie precyzyjnego instruktażu dla swoistej odpowiedzi immunologicznej, ale również uczestniczą w rozwoju tolerancji na struktury własne. Jako jedyne są zdolne do wywołania pierwotnej odpowiedzi

Tabela 1. Podział komórek przedstawiających antygen (APC) [1, 3, 7, 12–15, 22–34]**Table 1.** Classification of antigen presenting cells [1, 3, 7, 12–15, 22–34]

Komórki przedstawiające antygen (antigen presenting cells)	Występowanie (Localization)
A. Komórki dendrytyczne – DC, leukocyty dendrytyczne – DL)	
1. Komórki narządów nielimfatycznych: komórki Langerhansa – LC Śródmiaższowe komórki DC	naskórek (3–8%), skóra właściwa (niewiele), błona śluzowa jamy ustnej i przełyku, nabłonki wyściełające przewód pokarmowy i drogi moczowo-płciowe, węzły i naczynia chłonne, grasica, tkanka łączna narządów, takich jak: serce, nerki, płuca, przewód pokarmowy
2. Komórki narządów limfatycznych: komórki DC rdzenia grasicy komórki DC palczaste – IDC komórki DC grudek – folikularne – FDC	grasica strefa grasicozależnych węzłów chłonnych i śledziony grudki limfatyczne (ośrodki rozmnażania)
3. Komórki układu krążenia: komórki DC krwi (prekursorowe DC i DC „dojrzałe”, wykazujące ruch w kierunku narządów limfatycznych) komórki welonowate – VC	krew chłonka naczyń limfatycznych doprowadzających krew
B. Inne komórki APC	
1. Limfocyty B 2. Makrofagi 3. Nietypowe APC (pobudzone limfocyty T, komórki PMN, monocyty, komórki śródbłonna, enterocyty, keratynocyty, oligodendrocyty, chondrocyty, fibroblasty, astrocyty, komórki mezangium, komórki nabłonkowe tarczycy, kanalików nerkowych, jelit, dróg żółciowych, oka, gruczołu sutkowego i mlekowego)	krew, chłonka, narządy i tkanki limfatyczne – węzły chłonne, śledziona, migdałki, grasica, jama opłucnowa i otrzewnowa krew, skóra, wątroba, o.u.n., inne tkanki oraz jama opłucnowa i otrzewnowa krew, chłonka, skóra, tkanki limfatyczne i nielimfatyczne oraz inne swoiste miejsca, np. o.u.n., tarczyca, gruczoł mlekowy

immunologicznej przez aktywację dziewiczych limfocytów T i B, „zezwalając” na zaistnienie zjawisk pamięci immunologicznej i regulacji wtórnej odpowiedzi immunologicznej. Przez sekrecję cytokin lub w bezpośrednim kontakcie wpływają także na odporność wrodzoną, oddziałując tym samym na homeostazę całego ustroju [1–7]. Różnorodność pełnionych przez DC funkcji oraz ich zróżnicowanie morfologiczne wynika z ich ścisłej specjalizacji w organizmie, która jest zależna także od mikrośrodowiska oraz natury antygeny, który oddziałuje na nie [1, 3, 5, 6, 8–12].

Charakterystyka komórek dendrytycznych

Komórki dendrytyczne po raz pierwszy opisał Langerhans w 1868 r. w skórze, przez długi okres jednak zaliczano je do komórek pochodzenia nerwowego [7, 13]. Dopiero w 1973 r., izolując pierwsze DC ze śledziony myszy, udokumentowano, że

pochodzą one ze szpiku kostnego [13, 14], z prekursorowej linii mieloidalnej i rozwojowych linii limfoidalnych [13, 14]. Doprowadziło to do wyodrębnienia rodziny komórek dendrytycznych (DC) lub leukocytów dendrytycznych (DL), do których zaliczono występujące w obszarach limfocytów B, DC grudek – to jest FDC (*follicular dendritic cells*), palczaste DC obszarów T zależnych – IDC (*interdigitating cells*) oraz skórne (nabłonkowe) komórki Langerhansa (LC – *Langerhans cells*), a także welonowate DC (VC – *veiled cells*) występujące w limfie i krwi [13, 14]. Obecnie, uwzględniając ich umiejscowienie anatomiczne oraz morfologię i fenotyp, podzielono je na komórki narządów nielimfatycznych, limfatycznych i krwi (tab. 1). Przy ich podziale należy uwzględnić także ich heterogenność, wynikającą z ich stadiów rozwojowych [1, 3, 10]. Należy wyjaśnić, że nazwa komórek (leukocytów) dendrytycznych pochodzi od podobnych do dendrytów wypustek błony cytoplazmatycznej, których nieregularny kształt zapewnia zwiększoną powierzchnię kontaktu z anty-

genami i limfocytami, ich nieustanny ruch natomiast stwarza warunki do skutecznego wyłapywania tych pierwszych ze środowiska [7, 15]. DC opisano głównie u myszy i człowieka, u innych zwierząt natomiast są stosunkowo mniej poznane, choć także rola ich jest bardzo znacząca [3, 16]. Budowa i właściwości DC wynikają bezpośrednio z funkcji, jakie pełnią w danej chwili w organizmie [1, 7, 17–18]. Ponieważ za podstawową ich funkcję uważa się przedstawianie antygenów komórkom T, stąd w swojej budowie mają organelle, które biorą udział w procesie fragmentacji antygenów, są to m.in. aparat Golgiego, mitochondria, endosomy, lizosomy, zawierające liczne enzymy trawienne (np. katepsyny H, D, S i L) i wspomagające ten proces, oraz struktury komórkowe, takie jak ziarna Birbecka [7, 14, 19]. Komórki te charakteryzują się również sekrecją wielu substancji, w tym interleukin (IL) (IL-1, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 18), chemokin (RANTES, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , I-309, DC-CK1, SLC, MDC, TARC) oraz innych cytokin (limfotoksyny, TGF- β , IFN- α , IFN- γ , G-CSF, GM-CSF, TNF- α), które modulują odpowiedź immunologiczną, w tym są czynnikami chemotaktycznymi dla wielu elementów u.o. [1, 4, 7, 9, 20]. Na powierzchni DC wykazano wiele receptorów uczestniczących w procesach adhezji i przekazywaniu sygnałów limfocytom T (m.in. CD1a, CD40, CD45, CD54, CD58, CD80, CD83, CD86, DC-SIGN), w procesach endocytozy (m.in. DEC-205 oraz Fc γ typu I i III) oraz migracji w kierunku ogniska zapalnego bądź węzłów chłonnych (m.in. MIP-3 α , CCR1, CCR2, CCR5, CCR6, CCR4, CCR7, CXCR1, CXCR2, CXCR4) [1–2, 7, 9, 16–17, 20–23]. DC odznaczają się brakiem markerów charakterystycznych dla linii komórek hematopoetycznych CD3, CD19, CD14, CD15, CD16 i M-CSFR (CD115) oraz obecnością cząstek głównego układu zgodności tkankowej MHC klasy II i I oraz nieklasycznych markerów CD1, bezpośrednio zaangażowanych w przedstawianie antygenów komórkom T lub NK [1–2, 4, 7, 12, 17, 21, 23–26]. Mają one także receptory Toll-podobne (TLR – *Toll-like receptors*), odpowiedzialne za rozpoznawanie struktur drobnoustrojów określonych jako PAMP (*pathogen associated molecular patterns*), np. bakteryjnego lipopolisacharydu (LPS), węglowodanów i wirusowych nici RNA i DNA, a także inne niż TLR receptory PRR (*pattern recognition receptors*), takie jak C-lektyny, zapewniające skuteczną adhezję antygeny oraz aktywację komórek DC [1, 7, 18, 21, 27]. Spośród opisanych 13 receptorów TLR [27], komórki DC mają tylko receptory TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9 i TLR10, przez które wiążą wiele bakteryjnych, grzybiczych oraz wirusowych ligandów [3, 21–22, 27–28]. Należy do-

dać, że poszczególne subpopulacje ssaczych DC wykazują znaczną różnorodność w ekspresji markerów powierzchniowych, w zależności od pochodzenia oraz stadiów ich rozwoju i dojrzewania [3, 17, 28].

Pochodzenie DC

Ludzkie i mysie komórki dendrytyczne *in vivo*, różniąc się z komórek progenitorowych CD34⁺ szpiku kostnego pod wpływem ligandu Flt3, czynnika komórek macierzystych (SCF – *stem cell factor*), czynnika pobudzającego tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF), czynnika martwicy nowotworu (TNF- α) oraz IL-4, przechodzą następnie do krwi i to jest początkiem ich cyklu w organizmie [14, 21]. Wykazano jednak, że powstają one z dwu odmiennych linii rozwojowych, to jest z komórek mieloidalnych (CMP – *common myeloid progenitors*) i limfoidalnych (CLP – *common lymphoid progenitors*) [21, 29]. W dalszym czasie w wyniku odmiennych warunków środowiskowych, m.in. obecności GM-CSF, IL-4 lub IL-3 oraz CD40L, tworzą dwie populacje komórek, które u myszy charakteryzują się receptorem CD8 α i CD4, a u człowieka, m.in. markerem CD11c i wykazują odmienne właściwości antygenowe oraz funkcjonalne [1, 3, 16, 21–22, 25, 28–29]. Obecnie wśród tych komórek u myszy, m.in. przez znaczniki CD4, CD11b i B220, wyodrębniono co najmniej sześć różnych ich podtypów [22, 28, 30].

Przyjmuje się, że DC pochodzenia mieloidalnego mają fenotyp CD11c⁺ i u ludzi mają markery CD4⁺CD45RO⁺GM-CSFR α CD11c⁻, u myszy natomiast CD11c⁺CD11b⁺CD8 α ⁻ i tworzą DC śródmiąższowe, w wyniku działania natomiast na te same komórki prekursorowe, TGF- β powstają komórki Langerhansa (LC) skóry, o fenotypie CD1⁺CD4⁺, wykazujące ekspresję receptorów C3R, FcIgG oraz FcIgE [13–14]. Obie populacje, to jest DC śródmiąższowe i LC, charakteryzują się ekspresją markerów typowych dla komórek linii mieloidalnej CD11b, CD13, CD14, CD33, CD45RO oraz ekspresją łańcucha α receptora GM-CSF [1, 13–15, 17, 25, 29]. *In vitro* stwierdzono, że śródmiąższowe DC, m.in. w środowisku GM-CSF, TNF, SCF oraz IL-4, mogą rozwinąć się bezpośrednio z progenitorowych kultur monocytarnych lub pośrednio z dojrzałych makrofagów i pod działaniem na nie ligandem CD40 (CD40L) lub LPS przekształcają się w populację mieloidalnych DC, to jest tzw. DC1, wykazujących duże podobieństwa do komórek MN i PMN [3–4, 10, 17, 28–31]. Stwierdzono, że różnicowanie prekursorowych komórek mieloidalnych w makrofagi

lub DC zależy od obecności wytwarzanej przez fibroblasty IL-6, która wzmacnia ekspresję receptora M-CSF na ich powierzchni, odpowiadając tym samym za regulację dojrzewania DC oraz makrofagów [31]. Komórki dendrytyczne obecne w nie-limfoidalnych tkankach obwodowych (np.: naskórek, skóra, tkanki łączne narządów) określa się jako DC spoczynkowe (nieodjrzałe), występujące natomiast w obrębie węzłów chłonnych nazywa się DC aktywowane (dojrzałe) [1, 10]. Przyjmuje się również, że populacja monocytów skóry może być zdolna do różnicowania się w DC węzłów chłonnych, a wspomniane wyżej prekursorowe komórki CD11c⁺, w wyniku oddziaływania M-CSF, mogą różnicować się także w makrofagi [1, 10]. Wykazano, że populacja DC o receptorach CD8α⁺ wykazuje zależną od CCR5 sekrecję IL-12, dzięki czemu przez regulację wytwarzania IFN-γ w odpowiedzi na patogeny wewnątrzkomórkowe, tworzą skuteczną odporność komórek Th₁ [9]. Interleukina 12 wydzielana jest także w początkowej fazie odpowiedzi tych komórek, pod wpływem pobudzenia LPS, poli I:C lub CD40L, a następnie ustaje i wtedy komórki DC wzmagają polaryzację limfocytów Th₂ (*exhausted DC*). Interleukina 12 nie wydzielana jest w przypadku pobudzenia DC takimi czynnikami, jak TNF-α, IL-1, strzępkami grzybnymi oraz produktami nicieni i jest inhibowana przez witaminę D₃, prostaglandyną-E₂ oraz toksynę *Vibrio cholera*, które wzmagają syntezę w komórkach DC cyklicznego AMP [9, 30].

Populacja DC serii limfoidalnej ma w odróżnieniu od DC linii mieloidalnej, fenotyp CD11c⁻, z tym że u ludzi komórki te mają markery CD4⁺CD45⁺RA⁺IL-3Rα⁺(CD123)⁺ILT3⁺ILT1⁻CD11c⁻, u myszy zaś znaczniki CD11c⁺CD11b⁻CD8α⁺ i tworzą plazmacytoidalne DC (pDC), określane także jako DC2, których ścieżka różnicowania jest obecnie nie w pełni poznana [21, 28]. Komórki te wykazują typową ekspresję markerów limfoidalnych, to jest CD4⁺ i CD10⁺ oraz ligandu CD62 (CD62L), jak również ekspresję łańcucha α receptora IL-3 i ekspresję typowych dla tej linii komórek transkryptów ich genów [8, 15, 17, 21, 25, 29]. Wykazano, że hodowla progenitorowych pDC z krwi i migdałków bardzo zależy od obecności IL-3 oraz CD154 (CD40L), gdyż substancje te warunkują ich przeżywalność oraz różnicowanie ich w komórki mające duże podobieństwo do komórek B, T i NK [3, 17, 21, 23, 28–29]. Komórki pDC są głównym źródłem IFN typu I i charakteryzują się wysoką sekrecją IFN-α w odpowiedzi na niektóre zakażenia wirusowe, w wyniku czego często są rozpoznawane jako naturalne komórki wytwarzające interferon (IPC – *interferon producing cells*) [1, 21–22, 25, 29, 32]. Stwierdzono, że pDC u ludzi znajdują się

we krwi obwodowej, limfie, obszarach komórek T węzłów chłonnych, tkankach limfoidalnych błon śluzowych oraz w wątrobie płodowej, grasicy i szpiku kostnym [15, 17, 21, 25, 29]. Wykazano także, że komórki te w późnej fazie odpowiedzi, wykazują wyższą ekspresję receptora CD86 oraz charakteryzują się brakiem odpowiedzi na CD40L i brakiem sekrecji cytokin – poza IL-8 [30].

Klasyczne populacje leukocytów dendrytycznych pochodzenia mieloidalnego (DC śródmiąższowe) i limfoidalnego (pDC), wykazują obecność cząstek MHC klasy II oraz cząstek kostymulujących CD86 i CD40 [1, 4, 16–17, 21]. Inne markery, takie jak DEC-205 i CD1d, występują w większym stopniu na limfoidalnych DC, lecz udowodniono także, że istnieje możliwość „wywołania” w kulturach *in vitro* pod wpływem np. LPS ich ekspresji na powierzchni mieloidalnych DC [1, 21]. Wykazano, iż DC pochodzenia mieloidalnego są zdolne do chwytania antygenów „na obwodzie”, tzn. w tkankach, skąd migrują do organów limfoidalnych, inicjując w ten sposób odporność, podczas gdy DC pochodzenia limfoidalnego są obecne w grasicy i obszarach komórek T węzłów chłonnych, uczestnicząc w selekcji negatywnej limfocytów T i odpowiadają tym samym za regulację zjawiska tolerancji [7, 23]. Wykazano, że pDC są mało wydajne w przedstawianiu antygenów komórkom T [21], ale mają zdolność indukcji różnicowania komórek Th₂, podczas gdy DC linii mieloidalnej indukują komórki Th₁ [3, 4, 10, 16–17, 21, 30]. Inne badania [10, 21–22] wskazują jednak na dużą plastyczność w zakresie „wznoszenia” odpowiedzi komórek Th przez obie populacje. Dowiedzono także istotnej roli histaminy w procesach aktywacji, dojrzewania i przedstawiania antygenów komórkom Th₁/Th₂ przez DC [33]. Plazmacytoidalne DC u myszy dzielą większość morfologicznych, fenotypowych i funkcjonalnych cech ze swoimi ludzkimi odpowiednikami, z wyjątkiem braku ekspresji na powierzchni tych komórek receptorów B220 oraz Ly6C, a także wyraźnej zdolności sekrecji IL-12 w odpowiedzi na wirus grypy, aczkolwiek ludzkie populacje w wyniku pobudzenia receptorów CD40 i TLR9 wykazują sekrecję IL-12 [21, 22]. pDC ponadto nie wykazują ekspresji CD123 (IL-3Rα), poza sytuacją, w której były traktowane Flt3L [21]. Egzogenna aktywacja pDC [21] zwiększa ich żywotność w kulturze, wzmacnia ekspresję MHC klasy II i molekuł kostymulujących oraz receptora CD8α, co warunkuje możliwość zwiększania odpowiedzi komórek Th, w mniejszym stopniu jednak niż jest to wywoływane przez mieloidalne DC.

Ostatnie badania sugerują [28, 29, 34], że DC, różniąc się z komórek prekursorowych, nie muszą być przekształcane w „ściśle” funkcjonalne

DC linii mieloidalnej lub limfoidalnej. Stwierdzono, że zakażenie wirusem LCMV może reprogramować pDC szpiku kostnego do przekształcania się w mieloidalne DC [21, 29, 34]. Przyjęto więc hipotezę [3], że zmiany i modulacje w obrębie fenotypu, morfologii, stanu dojrzewania i różnicowania DC zależą przede wszystkim od mikrośrodowiska i występujących w nim cytokin, chemokin, molekuł adhezyjnych, a także patogenów i ich produktów. Sugeruje się zatem, że podział DC na dwie odrębne populacje wymaga dalszej analizy, aby określić szczegółową charakterystykę poszczególnych podtypów tych komórek, co doprowadziło do przyjęcia obecnie trzech hipotez odnośnie do pochodzenia pDC. Założenie pierwsze zakłada istnienie powszechnego prekursora DC w krwi, który może dać wzrost dwóm subpopulacjom tych komórek. Założenie drugie sugeruje, że pDC wzrastają jednakże z komórek linii limfoidalnej, a założenie trzecie zakłada, że populacja ta ma możliwość ulegania konwersji w komórki linii mieloidalnej, co wykazano podczas zakażenia wirusem LCMV [21, 28–29, 34].

Funkcjonalność DC

Charakteryzując rolę DC, należy podkreślić, że jest ona związana z ich heterogennością, a także warunkowana „stanem fizjologicznym”, w jakim występują DC przed i po pochłonięciu obcego antygeny [17, 19]. Obecnie wyróżniono cztery etapy rozwoju DC: progenitorowe komórki szpiku kostnego, prekursorowe DC patrolujące krew i limfę oraz tkanki limfoidalne, które po rozpoznaniu patogenów, uwalniają duże ilości cytokin, np. IFN, „niedojrzałe” DC osadzone w tkankach, określane jako spoczynkowe, które mają zdolność do endocytozy, fagocytozy oraz pinocytozy, umożliwiające skuteczne chwytanie antygenów, oraz dojrzałe DC obecne w drugorzędowych narządach limfoidalnych, charakteryzujące się wysoką ekspresją molekuł kostymulacyjnych zezwalających na przedstawianie antygenów [1, 7, 36]. Opisano również istnienie pół dojrzałej (*semi-mature*) formy DC, która może być zaangażowana w tworzenie zjawiska tolerancji komórek Th [36]. Proces morfologicznego różnicowania DC, potocznie nazywany „dojrzewaniem”, warunkuje większość wykazywanych przez nie funkcji, w tym wyciszenie mechanizmów, dzięki którym spoczynkowe DC są endocytarnie wydajną populacją komórek pochłaniających antygeny. Jednocześnie proces ten prowadzi do wzmożenia ekspresji cząsteczek MHC oraz receptorów chemokinowych (np. CCR7, CCR4) i kostymulujących (np. CD40, CD54, CD58, CD80, CD83, CD86) warunkujących m.in. procesy migracji

i prezentację peptydów antygenowych przez „dojrzałe” DC [7, 10, 16–17, 19, 30, 35]. Istniejące w tkankach spoczynkowe DC linii mieloidalnej pełnią rolę wartowników u.o., wykazując nieustanny ruch wypustek błony plazmatycznej, co prowadzi do skutecznego łapania egzogennych i endogennych antygenów, to jest apoptycznych i nekrotycznych fragmentów komórek, a także wirusów, bakterii, grzybów oraz pasożytów za pośrednictwem procesów makropinocytozy lub endocytozy z udziałem receptorów pektynowych (mannoza R, DEC-205, langeryna i DC-SIGN), Toll-podobnych lub znaczników Fcγ typu I (CD64), II (CD32) i CR3 [1, 7, 12, 17]. Rozpoznany antygen, związany z odpowiadającym mu receptorem na powierzchni DC, podlega pochłanianiu i wewnątrzkomórkowej fragmentacji z użyciem charakterystycznych mechanizmów enzymatycznych, których aktywacja jest kluczowa dla dalszych zmian morfologicznych, zachodzących podczas dojrzewania DC [1, 12, 19, 30, 37]. W dalszej kolejności następuje migracja DC w kierunku węzłów chłonnych pod wpływem m.in. pobudzania produktami bakterii, IL-1 i TNF- α oraz chemokin obecnych w środowisku [1, 10, 12, 16, 30, 35, 37]. W obrębie migrujących DC, oprócz wyżej opisanych zmian, można zauważyć również obniżenie ekspresji E-kadheryny, wzrost ekspresji molekuł uczestniczących w adhezji (integriny $\alpha_6\beta_1$, CD44) oraz indukcję metaloproteinazy-9 [1, 10, 12, 16, 30, 35, 37]. Dojrzałe DC wykazują ekspresję molekuł CD40, TNF-R, IL-1R, czynniki te uznaje się za krytyczne dla poprawnego procesu przedstawiania antygeny limfocytom T i kierowania inicjacją odpowiedzi komórkowej i humoralnej [1, 16, 37]. Pod wpływem bezpośredniego pobudzania CD40, RANK, 4-1BBL i OX40 przez limfocyty T komórki dendrytyczne wykazują m.in. sekrecję takich cytokin, jak: TNF, IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, fraktalkiny oraz chemokin pochodzenia makrofagowego, które przyciągają komórki T oraz promują przeżywalność samych DC przez zahamowanie ich apoptozy [1]. Cykl życiowy DC zamyka się naturalną lub indukowaną zewnątrznie apoptozą, przy czym okres ich półtrwania jest różny i zależy od rodzaju komórki (IDC – 3 dni; LC – 8–11 dni lub 7–16 tygodnie; VC – 4 dni; pDC – 2 tygodnie) [1, 13, 16, 21].

Wykazano, że DC są swoistym „pomostem” w komunikacji między obwodowymi oraz centralnymi organami limfoidalnymi oraz wykazują odmienną od klasycznej parakrynną komunikację, w obrębie całego u.o. [35, 37]. DC, „zbierając” informacje na temat zakażenia z całego organizmu, pochodzących również z wrodzonych mechanizmów rozpoznawania, przekazują sygnał nie tylko limfocytom T i B tworzącym swoistą odporność,

ale również tym komórkom, będącym w stanie dziewiczym [5, 12, 17, 35]. To powoduje, że tworzą aktywną efektorową odpowiedź tych elementów oraz warunkują powstanie pamięci immunologicznej, dzięki czemu w przypadku ponownego zetknięcia się komórek T i B z patogenami zapewniają szybką i skuteczną odpowiedź immunologiczną [5, 12, 17, 35]. Należy także podkreślić udział DC jako pośrednika w poprawnym „tłumaczeniu” przechwytywanych informacji, w tym także od wrodzonych elementów rozpoznawania wielu potencjalnych patogenów, dzięki czemu DC wielokierunkowo inicjują różnicowanie komórek T, co czyni z nich bardzo swoisty element odporności przeciwzakaźnej [12]. Należy stwierdzić, że zupełnie odmiennie zachowują się w ustroju prekursorowe pDC, gdyż nie wykazują ekspresji większości markerów uczestniczących w procesach endocytozy oraz nie są zdolne do przedstawiania antygenów komórkom T w takim stopniu, co DC mieloidalne [21]. Należy podkreślić również istotną rolę pDC w indukcji elementów odporności wrodzonej w zakażeniach wirusowych, przez wzmożone wytwarzanie IFN typu I [21–22, 32]. Komórki te mają ponadto zdolność wzbudzania odpowiedzi dziewiczych limfocytów T po pochłonięciu antygeny, choć tracą wówczas zdolność sekrecji IFN typu I [21, 22, 32]. Wykazano, że zakażenie wirusem grypy powoduje znaczną sekrecję IFN typu I przez dojrzałe pDC występujące w drugorzędowych organach limfoidalnych, dowiedziono jednakże, że stan ten prowadzi do osłabienia ich roli w indukcji zjawisk tolerancji oraz polaryzacji komórek Th₂ [38].

Dowiedziano, że receptory TLR i inne PRR (np. proteinaza kinaza R – PKR, białka Nod, receptory C-lektynowe) na powierzchni DC, zwiększają ekspresję antygenów MHC i molekuł kostymulacyjnych oraz warunkują polaryzację komórek Th₁ [1, 12, 25]. Sama aktywacja natomiast receptorów PRR na ich powierzchni prowadzi do bezpośredniej ich aktywacji na czynniki takie, jak LPS oraz inne cząsteczki PAMP, a także wirusowe DNA i RNA bogate w motywy CpG [1, 12, 25, 30]. Taka aktywacja DC może następować również m.in. przez ligand CD40 (CD40L) aktywowanych komórek T, komórki nekrotyczne, „wydzielające” białka szoku termicznego (Hsp70, gp96), β-defensyny, ATP, bradykininę oraz wiele innych czynników stresowych, obecnych w zaburzonym środowisku wewnętrznym, w tym także zaburzenia w obrębie własnych endogennych markerów, a także w wyniku interakcji ich z komórkami NK oraz limfocytami Tγδ [1, 12, 25, 30]. O „zagrożeniu” DC są informowane przez cytokiny prozapalne i antyzapalne obecne w środowisku (np. TNF, IL-1, IL-6, IL-10, TGF-β) oraz inne mediatory

(np. prostaglandyny, wytwarzane m.in. przez komórki MN, PMN, NK, Tγδ, NKT), odpowiadające na egzogenne lub endogenne sygnały, co również prowadzi do ich aktywacji [1, 12, 30]. Wykazano również, że DC, prezentując antygeny komórkom Tγδ oraz NKT, otrzymują sygnały zwrotne, przez co mogą być także dodatkowo aktywowane [1, 12]. Wydzielane cytokiny w miejscu ogniska zapalnego przez komórki u.o. również wzmagają działanie przeciwzakaźne DC oraz aktywują „wczesne” efektorowe komórki u.o., jakimi są komórki PMN, MN, NK, NKT i limfocyty T z receptorem γδ [1, 12, 25]. Sytuacje te wraz z innymi ścieżkami aktywacji u.o. stają się „mostem” łączącym obie filogenetycznie odległe odporności [4, 12, 18, 22, 24], to jest odporność swoistą i nieswoistą, a także wrodzoną i nabytą.

Funkcjonalność DC łącząca się z bezpośrednim i pośrednim współdziałaniem ich z różnymi elementami u.o., a zwłaszcza w strukturze „synapsy immunologicznej” oraz za pośrednictwem różnych cytokin, powoduje nie tylko modulację odpowiedzi u.o. [2, 5–6, 12, 20, 24], ale także wpływa na tworzenie tolerancji na własne antygeny [5–7, 28]. Wykazano, że rola DC w regulacji mechanizmów odporności wrodzonej, wiąże się z chwytnością przez nie antygenów oraz pobudzeniem wczesnych efektorowych komórek u.o., to jest makrofagów, komórek NK i limfocytów Tγδ, głównie przez wytwarzanie IFN typu I, IL-12, IL-2, a także cytokin chemotaktycznych (MIP-1a, IL-8, MCP-1, RANTES, MDC i DC-CK1) [17–18, 24]. Udokumentowano także pośrednie, przez TNF-α, GM-CSF, IL-2, 12, 15 i 18 i bezpośrednie interakcje DC z komórkami NK [2, 4, 12, 24]. Stwierdzono, że komórki DC i NK reprezentują dwa odmienne, uzupełniające się w reakcjach przeciwwirusowych i przeciwnowotworowych komponenty wrodzonej odporności, to jest zdolność alarmowania odporności komórek T i B, w której komórki NK wykazują cechy cytotoksyczne o charakterze nieswoistym, DC natomiast przekazują komórkom tym swoisty sygnał o konkretnym antygenie [2, 4, 8, 12, 17–18, 24]. Wykazano, że przy odpowiednich stosunkach obu populacji dojrzałe DC promują przetrwanie, różnicowanie oraz aktywację cytotoksyczności i sekrecję IFN-γ przez NK, które następnie wzbudzają dojrzewanie i wytwarzanie IL-12 przez spoczynkowe DC [2, 4, 18, 24]. Wykazano *in vitro*, że komórki NK za pośrednictwem DC wzmagają zdolność aktywacji i pobudzenia limfocytów T oraz różnicowanie samych DC do bardziej skutecznej indukcji komórek CTL [1]. Opisano także, że pDC przez wytwarzanie IFN typu I, podczas interakcji z NK aktywują i wzmagają ich cytotoksyczność oraz chronią je przed działaniem cytotaktycznym niektórych wirusów, co ma

istotne znaczenie w odporności przeciwwirusowej i przeciwnowotworowej [2].

Rola komórek DC wynika także z interakcji między nimi a limfocytami T, gdyż podczas bezpośredniego kontaktu tworzy się wiele kompleksów, włączając molekuly MHC klasy I lub II, przedstawiające peptydy antygenowe receptorom TCR komórek T (sygnał 1), integryny $\beta 1/\beta 2$ oraz molekuly należące do rodziny immunoglobulinowej (CD2, CD50, CD54 i CD58), warunkujące adhezję, a także molekuly kostymulacji (CD86, CD80) oddziałujące z ligandami komórek T, konieczne do poprawnej ich aktywacji (sygnał 2) [1, 5, 20, 37]. Dowiedziono, że w zależności od molekuł kostymulujących uczestniczących w interakcji komórek DC i T dochodzi do różnych ich funkcjonalnych następstw, co prowadzi do powstania trzech sygnałów, to jest odporności, tolerancji, a przez podtrzymywanie żywotności komórek T $CD4^+$ także pamięci immunologicznej [1, 5, 8, 10, 17]. W obecności wolnego antygeny „oznakowane” przez DC limfocyty T wchodzi również w reakcję z limfocytami B, pobudzając tym samym wytwarzanie immunoglobulin [1, 10]. Wykazano również, że komórki B aktywowane przez pDC częściej wydzielają IgG niż IgM, co sugeruje, że DC mogą swoiście oddziaływać z komórkami B pamięci, dzięki czemu aktywowane pDC przez zakażenia wirusowe stają się bardzo ważne w indukcji syntezy przeciwciał przeciwwirusowych [21]. Te niezwykle złożone procesy interakcji między komórkami DC a T wskazują, że komórki dendrytyczne nie są tylko zwykłym „włącznikiem”, lecz wyjątkowymi i bardzo subtelnymi elementami odpowiedzi immunologicznej [16, 37]. Wykazano, że wpływ DC na różnicowanie limfocytów T, w tym także regulujące oddziaływanie ich na równowagę pomiędzy Th_1/Th_2 , zależy od rodzaju DC, receptorów TLR rozpoznających cząsteczki PAMP, a także dawki antygeny i siły pobudzenia, fazy odpowiedzi i długości kontaktu między molekułami MHC i TCR, w tym również obecności cytokin (np. IL-4, IL-12) w mikrośrodoisku oraz molekuł kostymulacyjnych obecnych podczas ich kontaktu [1, 6, 10, 15–16, 22, 30, 37]. Wykazano, że molekula kostymulująca CD80 powoduje aktywację komórek Th_1 , molekula CD86 natomiast prowadzi do aktywacji komórek Th_2 , przy czym w późnej fazie odpowiedzi immunologicznych komórki dendrytyczne, regulujące proliferację komórek Th_2 , są zdolne do polaryzowania wcześniej niewrażliwych komórek T, wykazujących ekspresję receptora CCR7 [15, 30]. Wykazano także *in vitro*, że DC podczas nieobecności limfocytów Th mogą bezpośrednio pobudzać proliferacją limfocytów T $CD8^+$ albo generować antygenowo swoistą odpowiedź CTL z dziewiczych

prekursorów [1]. Odpowiedź tę można wywołać *in vivo* przez wszczepienie noszących antygeny DC z hodowli *in vitro*, co obecnie jest wielką nadzieją w immunoterapii wielu chorób [1, 6, 10, 13, 15]. Chociaż, jak wspomniano wcześniej, DC mogą aktywować bezpośrednio limfocyty T $CD8^+$, to droga ta *in vivo* odbywa się przez komórki Th $CD4^+$ [1]. Wykazano także, że DC przez wzmożoną regulację CD40L są w stanie aktywować za pośrednictwem Th, również komórki NKT [1, 10]. Bezpośrednia interakcja DC oraz limfocytów T $CD4^+$ i T $CD8^+$ indukuje aktywację także samych DC i tworzy nabyte sygnały odpornościowe, które wraz z procesami sygnalizującymi, związanymi z odpowiedzią wrodzoną, są istotnym elementem w tworzeniu odporności warunkowanej limfocytami T i B [12]. W przypadku zakażeń wewnątrzkomórkowych jednak, np. *Leishmania sp.* lub zakażeń wirusowych, może następować supresja efektorowych funkcji tych komórek, wskutek czego informacja o zakażeniu może nie być przekazywana elementom u.o. tworzącym nabytą odporność [20]. Przyjmuje się, że regulujący wpływ DC jest związany głównie z promowaniem i supresją odpowiedzi komórek T, stan ten jednak zależy od okoliczności, wynikających także ze zdolności DC do integrowania różnych napływających sygnałów [5–6, 8, 11, 35]. Wykazano, że spoczynkowe DC są odpowiedzialne za wprowadzanie zjawisk tolerancji przez „wyłączanie” komórek, po aktywacji ich jednak są w stanie przełamać niewrażliwość komórek T na własne antygeny [8, 37]. Przyjmuje się, że mimo stosunkowo słabo poznanych molekularnych podstaw indukcji tolerancji w obwodowych narządach [8, 37], stan ten może powstawać wskutek braku kostymulacji (sygnał 2), podczas przedstawiania antygeny przez komórki DC [8, 37], delecji antygenowo reaktywnych komórek na skutek działania metabolitów tryptofanu [11] lub interakcji kompleksu Fas-FasL, a także indukcji regulatorowych komórek T (Tr_1 oraz Tr_3) [37]. Ostatnie badania wskazują również, że pod wpływem TNF- α jest indukowane stadium pół dojrzałych DC, które gdy nie ma cytokin prozapalnych i z dużym udziałem MHC klasy II oraz molekuł kostymulacyjnych wpływają na tworzenie tolerancji przez indukcję naturalnych komórek T regulatorowych $CD4^+CD25^+$ (nTr) [10, 36]. Udowodniono także, że alternatywny mechanizm anergii indukowanej spoczynkowymi DC polega na angażowaniu receptorów inhibujących, np. PD-1 i CTLA-4 komórek T przez ligandy kostymulujące, co udowodniono podczas eksperymentalnego zakażenia wirusem LCMV [8, 37, 39]. Inhibitorowe receptory mogą pośredniczyć w wzbudzeniu tolerancji, z uwagi na eliminację lub blokadę molekuł, która nakłada się z indukcją tolerancji ko-

mórek T CD8⁺ [8]. W tworzeniu odporności, tolerancji lub pamięci immunologicznej wskazuje się również na czas trwania kontaktu DC z komórkami T orazIDO (2,3-dioxygenaza) – enzymu uczestniczącego w katalizie tryptofanu w DC, który to związek prowadzi do hamowania odpowiedzi komórek T, indukując ich niewrażliwość [5, 11]. Badania wskazują również na istotną rolę prekursorowych pDC w tworzeniu zjawiska supresji, do której dochodzi przez pobudzanie komórek Tr [10, 21–22].

Podsumowanie

Prowadzone badania z zakresu biologii komórek dendrytycznych – leukocytów dendrytycznych wykazały, że są one nie tylko ważnym elementem zespołu komórek przedstawiających antygen, ale odgrywają także istotną rolę w reakcji pomostowej odporności swoistej i nieswoistej oraz nabytej i wrodzonej, a także tolerancji i pamięci immunologicznej. Mnogość funkcji, jakie pełnią DC w organizmie, powoduje że upatruje się w nich nową strategię w immunoterapii chorób zakaźnych, autoimmunologicznych, a także nowotworowych [6, 10].

Piśmiennictwo

- [1] **Banchereau J, Briere F, Caux C, Davoust J, Lebecque S, Liu Y, Pulendran B, Palucka AK:** Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immun* 2000, 18, 767–811.
- [2] **Degli-Esposti MA, Smyth MJ:** Close encounters of different kinds: dendritic cells and NK cells take centre stage. *Nature Rev Immun* 2005, 5, 112–124.
- [3] **Liu Y, Kanzler H, Soumelis V, Gilliet M:** Dendritic cell lineage, plasticity and cross-regulation. *Nature Immun* 2001, 2, 585–589.
- [4] **Sochacka M, Blach-Olszewska Z:** Mechanizmy wrodzonej odporności. *Post Hig Med Dośw* 2005, 59, 250–258.
- [5] **Lanzavecchia A, Sallusto F:** Antigen decoding by T lymphocytes: from synapses to fate determination. *Nature Immun* 2001, 2, 487–492.
- [6] **Mowat MCI A:** Dendritic cells and immune responses to orally administered antigens. *Vaccine* 2005, 23, 1797–1799.
- [7] **Węclawek-Tompol J, Chybicka A, Rybka B, Noworolska-Sauren D, Ryczan R:** Rola komórek dendrytycznych w układzie odpornościowym. *Adv Clin Exp Med* 2004, 13, 651–662.
- [8] **Abbas AK, Sharpe AH:** Dendritic cells give and take away. *Nature Immun* 2005, 6, 227–228.
- [9] **Aliberti J, Reis e Sousa C, Schito M, Hieny S, Wells T, Huffnagle GB, Sher A:** CCR5 provides a signal for microbial induced production of IL-12 by CD8 α^+ dendritic cells. *Nature Immun* 2000, 1, 83–87.
- [10] **Banchereau J, Palucka AK:** Dendritic cells as therapeutic vaccines against cancer. *Nature Rev Immun* 2005, 5, 296–306.
- [11] **Mellor AL, Mann DH:** IDO expression by dendritic cells: tolerance and tryptophan catabolism. *Nature Rev Immun* 2004, 4, 762–774.
- [12] **Reis e Sousa C:** Activation of dendritic cells: translating innate into adaptive immunity. *Curr Opin Immun* 2004, 16, 21–25.
- [13] **Hadaczek P, Deptuła W:** Życia komórek dendrytycznych. *Problemy* 1991, 11/12, 45–51.
- [14] **Pogorzelska-Dyrbuś J, Pogorzelska-Antkowiak A, Hadas E:** Rola komórek Langerhansa w układzie immunologicznym skóry. *Przeegl Derm* 2004, 2, 147–152.
- [15] **Roliński J:** Rola komórek dendrytycznych w immunoterapii chorób rozrostowych układu krwiotwórczego. 2000, www.borgis.pl/czytelnia
- [16] **Moser M, Murphy KM:** Dendritic cell regulation of Th₁-Th₂ development. *Nature Immun* 2000, 1, 199–205.
- [17] **Clark GJ, Angel N, Kato M, Lopez JA, McDonald K, Vuckovic S, Hart DNJ:** The role of dendritic cells in the innate immune system. *Microbes Inf* 2000, 2, 257–272.
- [18] **Foti M, Granucci F, Ricciardi-Castagnoli P:** A central role for tissue-resident dendritic cells in innate responses. *Trends Immun* 2004, 25, 650–654.
- [19] **Trombetta ES, Ebersold M, Garret W, Pypayert M, Mellman I:** Activation of lysosomal function during dendritic cell maturation. *Science* 2003, 299, 1400–1403.
- [20] **Ato M, Stäger S, Engwerda CR, Kaye PM:** Defective CCR7 expression on dendritic cells contributes to the development of visceral leishmaniasis. *Nature Immun* 2002, 3, 1185–1191.
- [21] **Colonna M, Trinchieri G, Liu YL:** Plasmacytoid dendritic cells in immunity. *Nature Rev Immun* 2004, 5, 1219–1226.
- [22] **Kelsall B, Biron CA, Sharma O, Kaye P:** Dendritic cells at the host-pathogen interface. *Nature Immun* 2002, 3, 699–702.
- [23] **Santiago-Schwarz F:** Positive regulation of myeloid dendritic cells lineage. *J Leu Biol* 1999, 66, 209–216.
- [24] **Blach-Olszewska Z:** Jedność przeciwwirusowej odporności w różnorodności wrodzonych i nabytych reakcji; pomostowe funkcje komórek i cytokin w rozwoju tych reakcji. *Post Mikrobiol* 2002, 41, 19–21.
- [25] **O'Sullivan B, Thomas R:** CD 40 and dendritic cell function. *Critical Rev Immun* 2003, 23, 83–107.
- [26] **Vincent MS, Leslie DS, Gumperz JE, Xiong X, Grant EP, Brenner MB:** CD1-dependent dendritic cell instruction. *Nature Immun* 2002, 3, 1163–1168.

- [27] **Tokarz-Deptuła B, Niedźwiedzka P, Deptuła W:** Nowe receptory w immunologii. *Centaur Lubuski* 2005, 63, 12–15.
- [28] **Carbone FR, Heath WR:** The role of dendritic cells subsets in immunity to viruses. *Curr Opin Immun* 2003, 15, 416–420.
- [29] **O’Garra A, Trinchieri G:** Are dendritic cells afraid of commitment? *Nature Immun* 2004, 5, 1206–1209.
- [30] **Langenkamp A, Messi M, Lanzavecchia A, Sallusto F:** Kinetics of dendritic cell activation: impact on priming of Th₁, Th₂ and nonpolarized T cells. *Nature Immun* 2000, 1, 311–316.
- [31] **Chomarat P, Banchereau J, Davoust J, Palucka AK:** IL-6 switches the differentiation of monocytes from dendritic cells to macrophages. *Nature Immun* 2000, 1, 510–514.
- [32] **Tough DF, Kamath A:** Interferon with dendritic cells? *Nature Immun* 2001, 2, 1098–1100.
- [33] **Pavlinkova G, Yonagawa Y, Kikiuchi K, Iwabuchi K, Onoé K:** Effects of histamine on functional maturation of dendritic cells. *Immunobiol* 2003, 207, 315–325.
- [34] **Zuniga EI, McGavern DB, Pruneda-Paz JL, Teng C, Oldstone MBA:** Bone marrow plasmacytoid dendritic cells can differentiate into myeloid dendritic cells upon virus infection. *Nature Immun* 2004, 5, 1227–1234.
- [35] **Radolph GJ, Angeli V, Swartz MA:** Dendritic cell trafficking to lymph nodes through lymphatic vessels. *Nature Immun* 2005, 5, 617–628.
- [36] **Lutz MB, Schuler G:** Immature, semi-mature and fully mature dendritic cells: which signals induce tolerance or immunity. *Trends Immun* 2002, 23, 445–449.
- [37] **Moser M:** Dendritic cells in immunity and tolerance – Do they display opposite functions? *Immunity* 2003, 19, 5–8.
- [38] **Cella M, Facchetti F, Lanzavecchia A, Colonna M:** Plasmacytoid dendritic cells activated by influenza virus and CD40L drive a potent Th₁ polarization. *Nature Immun* 2000, 1, 305–310.
- [39] **Probst HC, McCoy K, Okazaki T, Honjo T, Broek van Den M:** Resting dendritic cells induce peripheral CD8⁺ T cell tolerance through PD-1 and CTLA-4. *Nature Immun* 2005, 6, 280–286.

Adres do korespondencji:

Magdalena Kaczmarczyk
Katedra Mikrobiologii i Immunologii
Wydział Nauk Przyrodniczych USz
ul. Felczaka 3a
71-412 Szczecin
tel.: +48 71 444 16 10

Conflict of interest: None declared

Praca wpłynęła do Redakcji: 16.03.2006 r.
Po recenzji: 11.08.2006 r.
Zaakceptowano do druku: 21.09.2006 r.

Received: 16.03.2006
Revised: 11.08.2006
Accepted: 21.09.2006