

JADWIGA WĘCŁAWEK-TOMPOL, ALICJA CHYBICKA, BLANKA RYBKA,
DOROTA NOWOROLSKA-SAUREN, RENATA RYCZAN

Rola komórek dendrytycznych w układzie odpornościowym

Dendritic Cells Function in Immunological System

Katedra i Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej AM we Wrocławiu

Streszczenie

Komórki dendrytyczne (KD) są heterogenną populacją leukocytów, zróżnicowaną pod względem fenotypowym i funkcjonalnym, wyspecjalizowaną w kontroli pierwotnej i wtórnej odpowiedzi układu odpornościowego oraz w powstawaniu zjawisk tolerancji immunologicznej. KD należą do układu komórek prezentujących antygen (APCs – antigen presenting cells) i mają, jako jedyne, zdolność aktywacji dziewiczych limfocytów T. Warunkiem niezbędnym do zainicjowania odpowiedzi immunologicznej jest rozpoznanie antygeny przez komórki efektorowe. Limfocyty T wymagają zaprezentowania antygeny przez profesjonalne komórki APC. Limfocyty B mogą same rozpoznawać antygeny przez powierzchniowe receptory immunoglobulinowe, mogą też ulegać aktywacji w obecności cytokin wydzielanych przez limfocyty Th (IL-4, IL-5, IL-10), aktywowane limfocyty B (IL-4) oraz aktywowane KD (IL-12). Komórki NK wykazują zdolność do spontanicznego zabijania komórek docelowych, przy czym KD zwiększają aktywność cytotoksyczną komórek NK przez bezpośrednie oddziaływania oraz za pośrednictwem wydzielanych cytokin (IFN- α , IL-12, IL-15, IL-18). KD w wyniku interakcji z limfocytami T, B, komórkami NK powodują ich aktywację, różnicowanie i zwiększenie funkcji efektorowych, przez co odgrywają kluczową rolę w regulacji odpowiedzi immunologicznej. W pracy przedstawiono charakterystykę fenotypową i funkcjonalną KD, współczesne teorie dotyczące pochodzenia oraz różnicowania ludzkich KD, a także wzajemne relacje między KD a komórkami efektorowymi odpowiedzi immunologicznej (*Adv Clin Exp Med* 2004, 13, 4, 651–662).

Słowa kluczowe: komórki dendrytyczne, prezentacja antygeny, limfocyty, tolerancja immunologiczna.

Abstract

Dendritic cells (DCs) constitute heterogeneous leukocyte population with various functional and phenotypic characteristics. They play a fundamental role in induction and control of primary and secondary immune response and may be also important for the induction of immunologic tolerance. DCs are antigen-presenting cells (APCs) with a unique ability to prime naive T cells. The recognition of antigen is critical for the initiation of immune response. T lymphocytes require Ag-presentation by professional APCs. B lymphocytes may recognize the antigen, may also undergo activation under the influence of cytokines secreted by Th lymphocytes (IL-4, IL-5, IL-10), activated B lymphocytes (IL-4) and activated DCs (IL-12). NK cells are able to kill target cells spontaneously, but DCs increase cytolytic activity of these cells through indirect interactions and secreted cytokines (IFN- α , IL-12, IL-15, IL-18). DCs interact with T and B lymphocytes as well as with NK cells to promote activation and augment effector function of these cells. In this article, phenotypic and functional characteristics of DCs, origin and differentiation of human DCs and interactions between DCs and effector cells during immune response, were presented (*Adv Clin Exp Med* 2004, 13, 4, 651–662).

Key words: dendritic cells, antigen presentation, lymphocytes, immunologic tolerance.

Komórki dendrytyczne (KD) zostały po raz pierwszy opisane przez Langerhansa w 1868 r.; były to KD zlokalizowane w naskórku. W 1973 r. Steinman i Cohn zidentyfikowali KD śledziony myszy. Dało to początek serii eksperymentów,

w wyniku których ustalono, że KD pochodzące z tkanek limfatycznych indukują pierwotną odpowiedź immunologiczną. W kolejnych badaniach stwierdzono obecność KD w tkankach Nielimfatycznych u gryzoni i ludzi oraz wykazano, że KD

są silnymi stymulatorami w mieszanej reakcji limfocytów i odgrywają ważną rolę w reakcji odrzucania przeszczepu allogenicznego [1, 2]. Doniesienia te stały się punktem wyjścia do badań nad udziałem KD w odpowiedzi immunologicznej oraz doprowadziły do ustalenia zasadniczej definicji KD.

Komórki dendrytyczne są heterogenną populacją leukocytów wyspecjalizowaną w prezentacji antygenów (Ag) limfocytom T, odgrywają kluczową rolę w regulacji pierwotnej i wtórnej odpowiedzi immunologicznej oraz w rozwoju tolerancji immunologicznej. KD jako jedyne spośród komórek APC mają zdolność do aktywacji dziewiczych limfocytów T [1–3].

Budowa morfologiczna i charakterystyka cytochemiczna KD

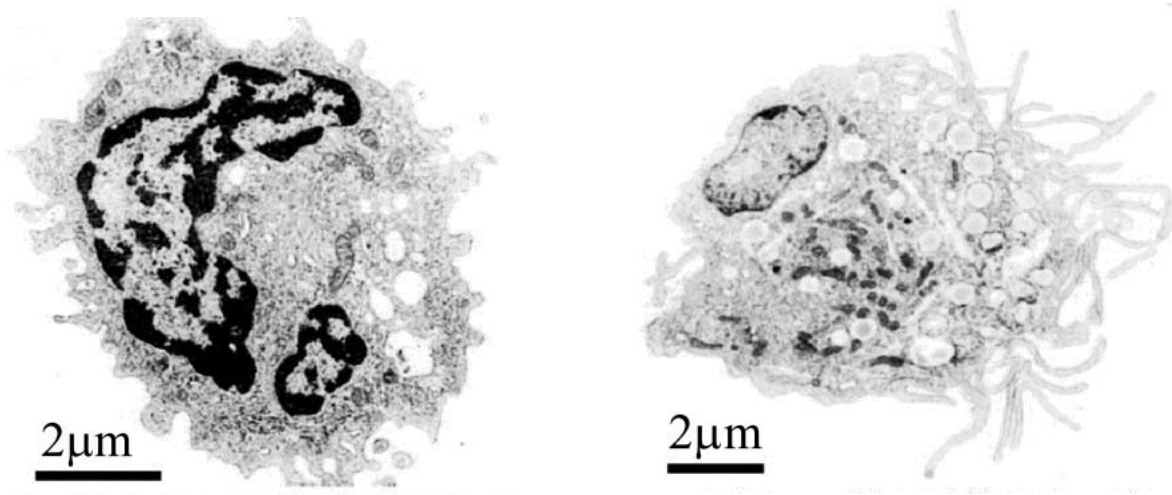
KD charakteryzują się znaczną różnorodnością morfologiczną, która wynika z ich stanu czynnościowego oraz rozmieszczenia w organizmie. KD obecne *in situ* w skórze, drogach oddechowych, narządach limfatycznych posiadają kształt gwiaździsty. KD uzyskane w wyniku izolacji, oglądane w mikroskopie świetlnym i kontrastowo-fazowym, mają nieregularny kształt i liczne wypustki błony komórkowej: kolczaste „dendryty” (stąd pochodzi nazwa KD), bulwiaste pseudopodia, lamellipodia i wypustki welonowate. W obrazie z mikroskopu elektronowego w KD są widoczne liczne mitochondria, endosomy i lizosomy niezbędne w procesie „obróbki” antygenów (Ag) (ryc. 1). Cechą charakterystyczną wypustek błony komórkowej KD

jest ich nieustanna ruchliwość, która wiąże się z zaangażowaniem w proces pochłaniania Ag i jego prezentacji limfocytom T [1, 2].

W badaniach reaktywności cytochemicznej KD nie wykazują obecności markerów enzymatycznych pozwalających na jednoznaczną charakterystykę tych komórek. Najczęściej podkreśla się różnice istniejące między KD a monocytami/makrofagami, np. KD wykazują mały poziom aktywności 5-nukleotyduazy, dipeptydylopeptyduazy 1 (DPP-1) i katepsyny B oraz brak wykrywalnej mieloperoksydazy. Inne enzymy wewnątrzkomórkowe, takie jak: neuronswoista enolaza (NSE), fosfataza alkaliczna lub antygeny lizosomalne, np. CD68, mogą być obecne w KD, ale w mniejszych stężeniach lub posiadać odmienną dystrybucję wewnątrzkomórkową w porównaniu do monocytów/makrofagów. Aktywność NSE obniża się wraz ze wzrostem aktywacji KD [2].

Charakterystyka antygenowa KD

Komórki dendrytyczne charakteryzują się ekspresją: antygenów swoistych dla KD: CD83, CMRF-44, CMRF-56; antygenów układu zgodności tkankowej MHC klasy I i II, licznych cząsteczek pomocniczych, które biorą udział w interakcjach z receptorami na limfocycie T, wzmagając adhezję: CD54 (ICAM-1), CD102 (ICAM-2), CD50 (ICAM-3), CD58 (LFA-3), DC-SIGN (dendritic cell-specific, ICAM-3 grabbing nonintegrin), CD11a (LFA-1), CD11b, CD11c, CD44 i przekazywanie sygnałów (kostymulację): CD80 (B7.1), CD86 (B7.2), CD40, OX40-L, RANK (receptor



Ryc. 1. Ludzkie KD krwi o morfologii monocytoidalnej w obrazie z mikroskopu elektronowego: 1 – bezpośrednio po izolacji, 2 – po dwudniowej hodowli w obecności GM-CSF i IL-4

Fig. 1. Human monocyte blood DC, picture in electron microscopy: 1 – freshly isolated, 2 – after 2-days culture with presence of GM-CSF and IL-4

activator of NF- κ B), 4-1BBL; receptorów uczestniczących w procesach endocytozy: DEC-205 (receptor dla mannozy), FcR – receptorów dla fragmentu Fc przeciwciała (Fc γ RI, Fc γ RII, Fc ϵ RI); receptorów dla chemokin, np.: CCR1, CCR2, CCR5, CCR6, CCR4, CCR7 oraz receptorów Toll podobnych (TLR – Toll-like receptors) odpowiedzialnych za rozpoznawanie określonych struktur drobnoustrojów, np. lipolisachrydów ścian bakteryjnych (LPS) [1–6]. Poszczególne subpopulacje ludzkich KD wykazują ponadto różną ekspresję antygenów charakterystycznych dla komórek linii mieloidalnej i limfoidalnej [2–5].

Profil antygenowy KD wykazuje dużą zależność od ich stanu czynnościowego (ryc. 2). „Niedojrzałe” KD, pełniące funkcję wartowniczą, obecne w naskórku – komórki Langerhansa (KL) oraz w narządach Nielimfatycznych – śródmiąższowe KD, odznaczają się dużymi zdolnościami do endocytozy zależnej od receptorów, fagocytozy i pinoocytozy oraz wysoką ekspresją receptorów dla chemokin zapalnych: CCR1, CCR2, CCR5. Proces pochłonięcia Ag wywołuje w komórce wiele procesów określanych mianem aktywacji/„dojrzenia”, co powoduje zmiany w budowie fenotypowej, polegające na spadku liczby receptorów zaangażowanych w proces endocytozy oraz wzroście ekspresji antygenów MHC klasy I i II, cząsteczek adhezyjnych i kostymulujących, antygeny CD83 – charakterystycznego dla „dojrzałych” KD, receptorów dla chemokin limfoidalnych. Chemokiny limfoidalne sterują precyzyjnie migracją KD z tkanek do obwodowych narządów limfatycznych. Wraz z osiągnięciem stanu „dojrzałości” KD nabywają właściwości prezentacji Ag limfocytom T [7, 8]. Szacuje się, że jedna KD jest w stanie pobudzić 100–3000 limfocytów T [6], a czas trwania

kompleksów MHC–Ag na KD jest 10–100 razy dłuższy niż na innych komórkach prezentujących antygen (APC – antigen-presenting cell) [1].

Pochłonięcie Ag, a następnie jego przetworzenie inicjują dojrzewanie KD. Uważa się, że czynnikami silnie wpływającymi na aktywację KD są: LPS, bakteryjne DNA, TNF- α , IL-1, CD40L, zewnątrzkomórkowy ATP, natomiast IL-10, czynnik wzrostu śródbłonnka naczyń (VEGF – vascular endothelial growth factor), IL-6, czynnik stymulujący tworzenie kolonii makrofagów (M-CSF – macrophage colony stimulating factor) i β_2 -mikroglobulina wywierają hamujący wpływ na dojrzewanie i prezentację Ag przez KD [1, 3, 4, 6, 9].

Lokalizacja KD

Rozmieszczenie KD w organizmie oraz ich stan czynnościowy są wynikiem funkcji nadzorczej tych komórek w układzie odpornościowym. W szpiku kostnym oraz we krwi występują prekursorowe KD. W naskórku oraz w błonach śluzowych wyszczelniających przewód pokarmowy i drogi moczowo-płciowe są zlokalizowane KL charakteryzujące się ekspresją antygeny CD1a, E-kadheryny, langeryny oraz obecnością ziarnistości Birbecka. McDermott et al., prowadząc badania na ludzkich KL, wykazali, że ziarnistości Birbecka stanowią endogenne przedział błon komórkowych, w obrębie którego dochodzi do akumulacji langeryny (CD207) – białka swoistego dla KL [10]. KL oraz obecne w tkance łącznej narządów Nielimfatycznych śródmiąższowe KD, pod względem czynnościowym stanowią pulę „niedojrzałych KD”, mających duże zdolności do pochłaniania i przetwarzania Ag, wykazujących tendencję do gromadzenia się w obrę-

Zmiana fenotypu i funkcji	
KD niedojrzała	KD dojrzała
Duża zdolność fagocytozy	mała zdolność fagocytozy i przetwarzania antygeny
MAŁA ZDOLNOŚĆ PREZENTACJI ANTYGENU	PREZENTACJA ANTYGENU
Wysoka ekspresja cytoplazmatycznych MHC klasy II	wzrost ekspresji powierzchniowych MHC klasy I i II
Wysoka ekspresja DEC 205, FCR, CCR1, CCR5, CCR6	spadek ekspresji DEC 205, FCR, CCR1, CCR5, CCR6
Niska ekspresja CCR7, CCR4	wzrost ekspresji CCR7, CCR4
Niska ekspresja cząsteczek kostymulujących i adhezyjnych	wzrost ekspresji cząsteczek adhezyjnych i kostymulujących
Niska ekspresja CD40 i CD83	wzrost ekspresji CD40 i CD83

Ryc. 2. Charakterystyka fenotypowa i funkcjonalna dojrzałych i niedojrzałych KD

Fig. 2. Phenotypic and functional characteristics of mature and immature DC

bie ognisk zapalnych i martwiczych. W naczyniach limfatycznych doprowadzających oraz we krwi występują migrujące KD, w których zachodzą procesy dojrzewania/aktywacji. W obwodowych naczyniach limfatycznych są obecne dwa rodzaje KD: 1) KD splatające się, wyspecjalizowane w prezentacji Ag limfocytom T, które powstają z KD migrujących do stref grasiczozależnych węzłów chłonnych i śledziony, oraz 2) KD grudek, zlokalizowane w ośrodkach rozmnażania grudek limfatycznych, uczestniczące w rozwoju odpowiedzi humoralnej. KD grasicy są zaangażowane w selekcję negatywną limfocytów T [1–6, 11].

Pochodzenie i rozwój KD

Pochodzenie, a zwłaszcza poszczególne etapy rozwoju ludzkich KD *in vivo* to jeden z najbardziej kontrowersyjnych problemów we współczesnej immunologii, ponieważ:

1) badania nad pochodzeniem ludzkich KD opierają się na fakcie, że różne subpopulacje KD mają wyjątkową charakterystykę fenotypową, funkcjonalną i rozmieszczenie w organizmie,

2) rozwój badań nad ich biologią i funkcją był długo utrudniony z powodu braku wysoce czułych i swoistych metod izolacji KD z łatwo dostępnych tkanek, ich dystrybucji (np. KD krwi stanowią około 1% komórek jednojądrzastych krwi) oraz poszukiwań markerów charakteryzujących poszczególne subpopulacje KD (np. markery swoiste dla subpopulacji KD krwi [BDCA – blood dendritic cells antigen]: BDCA2, BDCA3, BDCA4 zostały opisane dopiero w 2000 r. przez Dzionka et al. [12]); nie można ponadto wykluczyć wpływu stosowanych metod izolacji na fenotyp i funkcję KD [2, 12],

3) zasadniczo doniesienia dotyczące rozwoju i różnicowania KD pochodzą z badań *in vitro* [2, 6, 8, 11, 13, 14], co powoduje, że nasilenie sygnałów biorących udział w procesie różnicowania KD w warunkach eksperymentalnych jest inne niż w warunkach *in vivo* [8, 12]; obserwacje dotyczące różnicowania KD *in vivo* są oparte głównie na modelach zwierzęcych [2, 8].

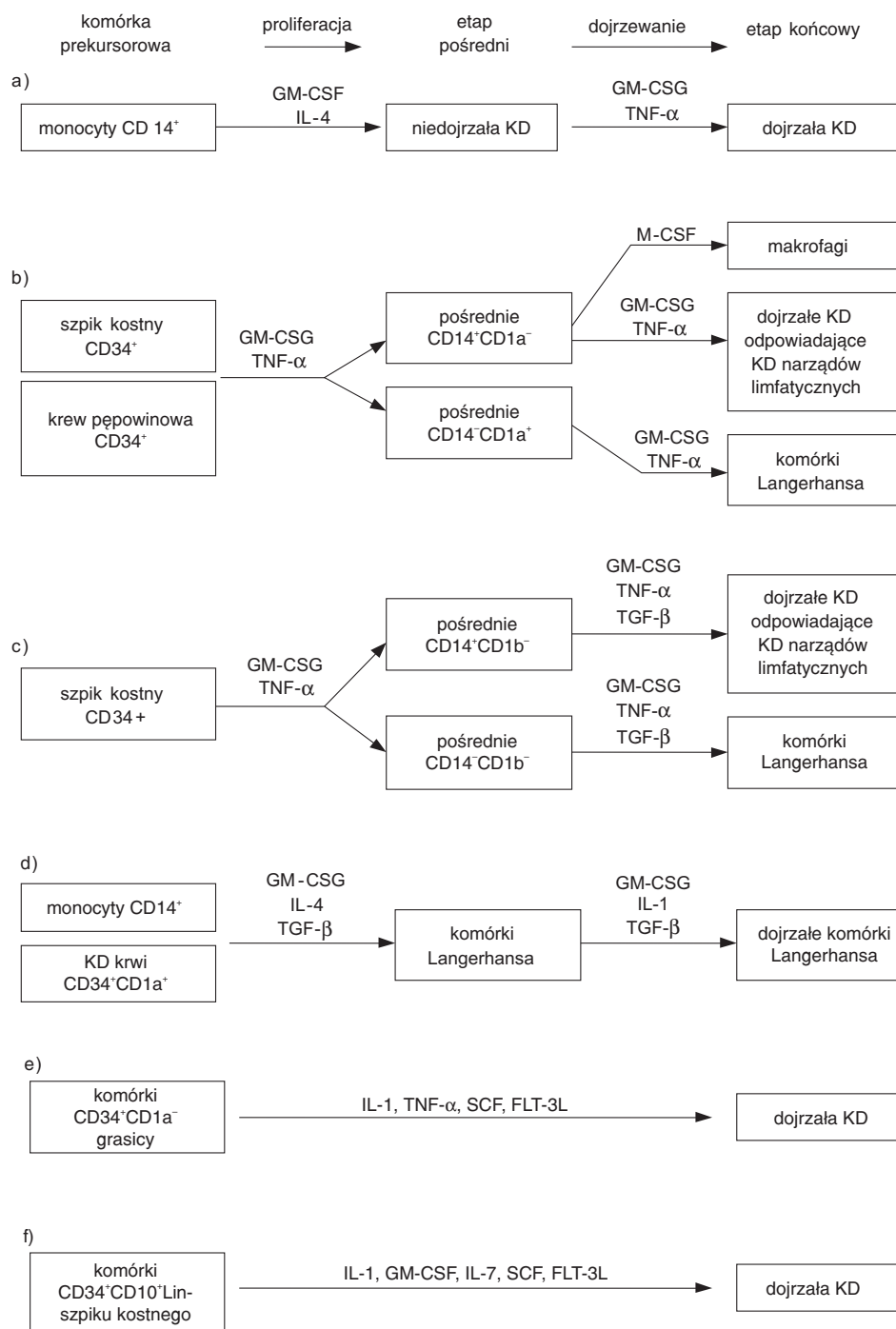
Podobieństwa między KD i monocytami/makrofagami w rozmieszczeniu w obrębie tkanek limfatycznych, morfologii, aktywności enzymatycznej, zdolności do endocytozy i fagocytozy sugerują mieloidalne pochodzenie KD. Istnieją eksperymentalne dowody, opierające się na badaniach nad różnicowaniem KD z monocytów lub innych pośrednich mieloidalnych prekursorów potwierdzające, że pewne subpopulacje KD są pochodzenia mieloidalnego. Uzyskiwane w ten sposób KD zachowywały zdolność do różnicowania się w kierunku makrofagów [2, 8, 11]. Scharakteryzowano

również bipotencjalną komórkę progenitorową dla linii makrofagów i KD pochodzącą z mysiego szpiku oraz donoszono o różnicowaniu skórných komórek fagocytarnych CD11bF4/80⁺ do KD po ich migracji do węzłów chłonnych [1]. Istnieją jednak wyniki badań uzyskane na modelach mysich i ludzkich *in vivo* i *in vitro* wskazujące, że KD mogą być generowane z prekursorów limfoidalnych [1, 2, 8, 11]. Pierwszy dowód na limfoidalne pochodzenie KD wynika z badań nad wewnątrzgrasiczym modelem różnicowania grasiczych KD. Badania te były oparte na hipotezie, że KD grasicy, będąc zaangażowane w negatywną selekcję limfocytów T, powinny rozwijać się wewnątrzgrasiczo. Doświadczenia prowadzone na naświetlonych myszach wykazały, że grasicze komórki prekursorowe, tzw. CD4^{low}, zdolne do generowania limfocytów T, B, komórek NK, ale nie komórek mieloidalnych, podane tym myszom dograsiczo powodują pełną rekonstrukcję populacji grasiczych KD, wykazujących ekspresję CD8. Fakt ten może wskazywać na limfoidalne pochodzenie grasiczych KD [2, 8]. Podobne wyniki uzyskano następnie *in vitro* dla ludzkich wczesnych grasiczych komórek prekursorowych oraz prekursorowych limfoidalnych komórek szpiku, co wskazuje na istnienie ludzkich limfoidalnych KD [13]. Ludzkie KD wykazujące ekspresję markerów mieloidalnych były generowane zarówno z mieloidalnych, jak i limfoidalnych prekursorów [8]. Badania na modelach doświadczalnych umożliwiają określenie pochodzenia oraz etapów rozwoju KD. Można jednak przypuszczać, że różnicowanie poszczególnych subpopulacji KD w warunkach eksperymentalnych z mieloidalnych i/lub limfoidalnych prekursorów może nie odzwierciedlać stanu fizjologicznego powodując, że rozwój KD *in vivo* pozostaje niewyjaśniony. Uwzględniając, że różne populacje KD wykazują odmienną charakterystykę czynnościową, ważne jest ustalenie odpowiedzi na pytanie, czy pochodzenie oraz sposób różnicowania KD determinują ich szczególne funkcje.

Różnicowanie ludzkich KD z komórek macierzystych krwi CD34⁺ w warunkach hodowli *in vitro*

Komórki macierzyste krwi, o fenotypie CD34⁺, uzyskane w wyniku separacji z krwi pępowinowej, szpiku kostnego lub z krwi obwodowej, różnicują się pod wpływem GM-CSF (granulocyte-macrophage colony stimulating factor) i TNF- α do dwóch niezależnych subpopulacji pośrednich komórek prekursorowych dla KD, różniących się

ekspresją antygenów CD14 i CD1a: komórek CD14⁺CD1a⁻ i CD14⁺CD1a⁺. Komórki CD14⁺CD1a⁻ pod wpływem dalszej ekspozycji na GM-CSF i TNF- α generują dojrzałe KD niewykazujące ekspresji E-kadheryny, odpowiadające pod względem fenotypowym śródmiąższowym KD lub KD narządów limfatycznych [8]. W obecności M-CSF prekursorzy te różnicują się w kierunku makrofagów [1, 8]. Prekursory KD CD14⁺CD1a⁺ pod wpływem TGF- β różnicują się do komórek odpowiadających KL, wykazujących ekspresję E-kadheryny, langedryny oraz obecność ziarnistości Birbecka (ryc. 3b) [8]. KL mogą być także uzyskiwane z frakcji CD11b⁻ komórek CD14⁺CD1a⁻ pod wpływem działania TGF- β (ryc. 3c) [8], podobnie jak z monocytów lub KD CD11c⁺CD1a⁺ krwi przy zastosowaniu GM-CSF, IL-4 i TGF- β (ryc. 3d) [8] oraz z komórek CD34⁺ w obecności ligandu FLT3 (FLT3-L), TGF- β , TNF- α , GM-CSF [14], jak również GM-CSF, TNF- α i IL-4 [60]. KL w wyniku inkubacji z TNF- α i IL-1 mogą generować komórki o fenotypie dojrzałych KD [8].



Ryc. 3. Główne metody uzyskiwania ludzkich KD w warunkach *in vitro*

Fig. 3. Main *in vitro* differentiation pathways for human dendritic cells

Istnieje zasadnicza różnica funkcjonalna między KD wywodzącymi się z prekursorów CD1a⁺CD14⁺ a KL – tylko te pierwsze mogą bezpośrednio stymulować dziewicze limfocyty B do różnicowania w kierunku komórek plazmatycznych [1, 7].

Różnicowanie KD z monocytów krwi obwodowej CD14⁺ w warunkach *in vitro*

Monocyty krwi obwodowej CD14⁺ pod wpływem GM-CSF i IL-4 różnicują się do „niedojrzałych” KD, które następnie w wyniku działania TNF- α (ryc. 3a), a także LPS, IFN- γ , CD40L, ATP podlegają procesowi aktywacji/dojrzenia [24]. Uważa się, że KD powstałe pod wpływem GM-CSF i IL-4 mogą ulec odróżnicowaniu do monocytów w przypadku wyczerpania tych cytokin w środowisku [8]. Istnieją również doniesienia o możliwości uzyskania KL z monocytów z użyciem IL-15 i GM-CSF [15].

Różnicowanie KD z limfoidalnych prekursorów w warunkach *in vitro*

Wczesne komórki CD34⁺CD10⁺ szpiku niewykazujące jeszcze ekspresji charakterystycznych markerów liniowych (Lin⁻), zdolne do rozwoju w kierunku limfocytów T, B, komórek NK (natural killer cell), ale nie w kierunku komórek mieloidalnych, mogą się różnicować do KD w wyniku działania IL-1 β , IL-7, GM-CSF, czynnika komórek macierzystych (SCF – stem cell factor) i FLT3-L (ryc. 3f) [8, 13]. Pochodzące z grasicy komórki prekursorowe o fenotypie CD34⁺CD1a⁻ w wyniku hodowli w obecności IL-7, TNF- α , SCF i FLT3-L mogą różnicować się w kierunku KD (ryc. 3e) [8].

Uważa się, że KD o morfologii plazmacytoidalnej i charakterystycznym fenotypie CD11c⁺CD4⁺CD123⁺CD45RA⁺HLA-DR⁺ są pochodzenia limfoidalnego, ponieważ prekursorowe komórki, z których się wywodzą: 1) charakteryzują się brakiem ekspresji antygenów mieloidalnych CD13 i CD33, 2) wykazują obecność transkryptu pre-TCR α , 3) ich rozwój zależy od działania IL-3, ale nie od GM-CSF, 4) czynniki Id2, Id3 wiążące się z DNA blokują rozwój plazmacytoidalnych KD, podobnie jak limfocytów B i T, nie wpływając na rozwój komórek mieloidalnych [3, 8]. Plazmacytoidalne KD mają zdolność do wydzielania IFN- α i - β po stymulacji antygenami wirusowymi [3, 4, 16].

Cytokiny a rozwój KD

GM-CSF jest wymagany do różnicowania KD z komórek prekursorowych CD34⁺ oraz z monocytów krwi obwodowej w warunkach *in vitro*. Cytokina ta nie jest natomiast niezbędna do generowania KD z prekursorów limfoidalnych, chociaż w tym przypadku jej obecność może poprawiać wyniki hodowli [8] i zwiększać ekspresję cząstek kostymulujących na uzyskiwanych w ten sposób KD [17]. Istnieją doniesienia, że KD mogą rozwijać się z prekursorów szpikowych bez obecności GM-CSF, co sugeruje, że jego działanie może być zastąpione przez inne cytokiny, np. FLT3-L [8].

TNF- α jest czynnikiem odgrywającym istotną rolę w generowaniu KD z komórek CD34⁺. TNF- α powoduje dojrzewanie KD, zwiększa wrażliwość wczesnych komórek prekursorowych na GM-CSF przez indukcję ekspresji łańcucha β receptora dla GM-CSF, a ponadto hamuje różnicowanie w kierunku granulocytów [6, 8, 11].

IL-4 odgrywa kluczową rolę w indukcji różnicowania KD z monocytów CD14⁺, ponieważ hamuje ich rozwój w kierunku makrofagów [8]. Na podstawie różnych modeli doświadczalnych wykazano, że obecność TGF- β jest wymagana w różnicowaniu KL [6, 8, 14]. Potwierdzają to wyniki badań na myszach niewykazujących ekspresji genu dla TGF- β , u których w skórze nie stwierdza się obecności KL [14, 18]. Rozwój KD z limfoidalnych prekursorów nie wymaga obecności GM-CSF, jest natomiast zależny od FLT3-L, IL-3 i IL-7 [6, 8, 11].

Funkcja KD w układzie odpornościowym

KD wpływają wielokierunkowo na przebieg odpowiedzi w układzie immunologicznym. Oddziaływania te mogą mieć charakter bezpośrednich interakcji z komórkami efektorowymi lub/i mogą być realizowane albo za pośrednictwem cytokin uwalnianych przez KD, albo przez inne komórki aktywowane pod wpływem kontaktu z KD, np. limfocyty pomocnicze T (Th). Na podstawie różnych modeli doświadczalnych, obejmujących również badania KD izolowanych z ludzkich tkanek (np. krwi, migdałków) wykazano, że KD mają zdolność do wytwarzania wielu cytokin: IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-7, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18, TNF- α , TGF- β , M-CSF, GM-CSF, G-CSF, IFN- α , IFN- β , IFN- γ [16, 19, 20].

Prezentacja Ag limfocytom T – regulacja odpowiedzi limfocytów T przez KD

Celem prezentacji Ag limfocytom T jest ich aktywacja. Jest to proces złożony, będący wynikiem wzajemnych oddziaływań między KD a limfocytom T. Warunkiem niezbędnym do zapoczątkowania aktywacji dziewiczego limfocytu T jest otrzymanie co najmniej dwóch sygnałów od KD. Są to: interakcja między Ag prezentowanym w kontekście cząsteczek MHC i receptorem limfocytu T (TCR – T cell receptor) – pierwszy sygnał aktywacji oraz kostymulacja, w której kluczową rolę przypisuje się oddziaływaniom między antygenem CD28 na limfocycie T oraz CD80/CD86 na KD – drugi sygnał aktywacji. Limfocyty CD8⁺ rozpoznają Ag związane z MHC klasy I, limfocyty CD4⁺ wymagają prezentacji Ag w kontekście MHC klasy II (ryc. 4).

Prezentacja Ag z udziałem cząsteczek MHC klasy II dotyczy przede wszystkim Ag zewnątrzkomórkowych, ale również autoantygenów uwolnionych z różnych komórek organizmu. Jest to proces złożony, który obejmuje: 1) pochłonięcie Ag na drodze endocytozy, 2) proteolizę Ag zachodzącą w endosomach, 3) związanie powstałych peptydów przez cząsteczki MHC klasy II w obrębie specjalnych endosomów określanych mianem „przedziału MHC klasy II”, 4) transport powstałych kompleksów MHC klasy II – Ag na powierzchnię błony komórkowej, gdzie zachodzi prezentacja Ag [1–3, 5].

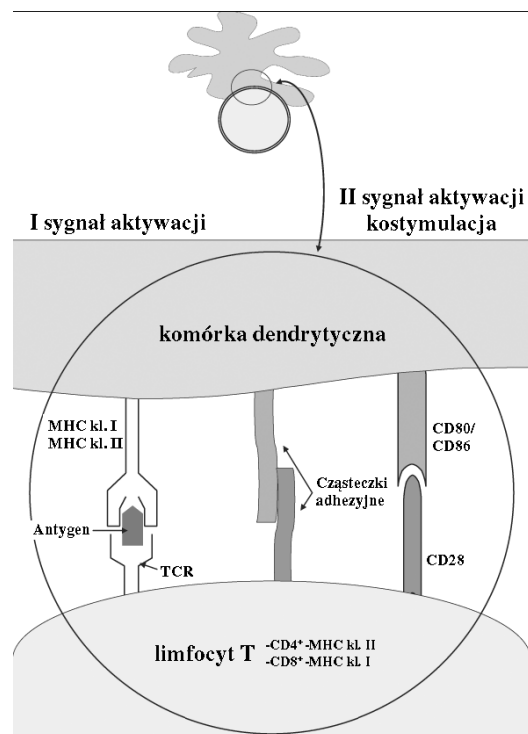
Za pośrednictwem cząsteczek MHC klasy I są głównie prezentowane Ag pochodzenia endogennego, np. Ag wirusowe lub Ag komórek nowotworowych. Ag prezentowane w ten sposób podlegają: 1) proteolizie w obrębie cytoplazmy (kompleks proteasomu), 2) transportowi z udziałem białek TAP (transporter associated with antigen processing) do siateczki śródplazmatycznej, 3) łączenia się z cząsteczkami MHC klasy I, 4) przenoszeniu w tej postaci na powierzchnię błony komórkowej. W wyniku prezentacji Ag z udziałem cząsteczek MHC klasy I dochodzi do aktywacji cytotoksycznych limfocytów T, co prowadzi do zniszczenia komórki docelowej [22]. KD mogą prezentować Ag limfocytom T za pomocą cząsteczek CD1 (CD1a, CD1b, CD1c, CD1d), prezentacja ta dotyczy przede wszystkim Ag lipidowych i glikolipidowych [3–5, 21].

Reakcja między kompleksem Ag–MHC na KD a TCR na limfocytach T rozpoczyna proces tworzenia synapsy immunologicznej obejmujący: polaryzację limfocytu T, adhezję limfocytu T i KD

oraz etap dojrzewania synapsy. Limfocyt T wykazuje zagęszczenie TCR na powierzchni kontaktu z KD. W obu komórkach dochodzi do wzrostu ekspresji cząsteczek adhezyjnych, których oddziaływanie stabilizują układ MHC–Ag–TCR oraz białek odpowiedzialnych za przekazywanie sygnałów do jądra komórki. Transdukcja pierwszego sygnału aktywacji do wnętrza dziewiczego limfocytu T powoduje syntezę niewielkich ilości IL-2. Brak drugiego sygnału aktywacji powoduje przejście tego limfocytu w stan anergii, co w przyszłości oznacza utratę zdolności do aktywacji nawet po kostymulacji wystarczającej do aktywacji dziewiczego limfocytu T. Pod wpływem drugiego sygnału aktywacji limfocyt T powiększa swoje rozmiary, rozpoczyna proliferację, zwiększa sekrecję: IL-2, IL-4, IL-5, IL-13, IFN- γ , TNF, GM-CSF oraz ekspresję CD40L, IL-2R. Na powierzchni aktywowanych limfocytów T pojawia się również ekspresja antygeny 4 związanego z cytotoksycznym limfocytom T (CTLA-4 – cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4), którego rola polega na przekazaniu sygnału hamującego aktywację do wnętrza komórki [2, 4, 5, 22].

Do rozpoczęcia proliferacji przez limfocyty T pamięci oraz limfocyty T pozostające w stanie aktywacji potrzebne jest tylko rozpoznanie kompleksu MHC–Ag przez TCR [5].

Wiązanie CD80 i CD86 z CD28 powoduje w limfocytach T stabilizację mRNA dla IL-2 i innych cytokin, co przedłuża dostarczanie sygnałów aktywacji [23]. Kostymulacja drogą CD28 wzma-



Ryc. 4. Aktywacja dziewiczych limfocytów T

Fig. 4. Scheme of naive lymphocytes T activation

ga ponadto ekspresję genu dla Bcl-x_L. Ekspresja Bcl-x_L chroni limfocyty T przed indukowaną przez Fas (CD95) apoptozą i wpływa na ich przeżycie uzależnione od obecności IL-2 [24].

Wykazano, że oddziaływanie między CD28 a CD80 promuje odpowiedź Th1, a reakcja z CD86 – odpowiedź Th2 [25]. Pashenkov et al., analizując fenotyp i aktywność KD krwi pochodzących od zdrowych dawców, obserwowali w przypadku KD kobiet wyższą ekspresję CD80 oraz cytoplazmatycznych IL-10, IL-15 w porównaniu do mężczyzn. Fakt ten, zdaniem autorów, może w pewnym stopniu tłumaczyć zwiększoną predyspozycję do występowania chorób autoagresyjnych u kobiet [19]. Wykazano, że KD mogą odgrywać istotną rolę w rozwoju schorzeń autoagresyjnych [2, 3].

Aktywowane limfocyty T mają wysoki poziom ekspresji antygeny CD26. CD26 jest białkiem o właściwościach enzymatycznych (część zewnątrzcytoplazmatyczna ma aktywność dipeptydylopeptydazy IV). Jego konstytutywne występowanie stwierdza się na wielu typach komórek (wątroba, jelita, nerki), ale na limfocytach T ekspresja tego antygeny ściśle zależy od ich aktywacji. CD26 jest cząsteczką zaangażowaną w szlaki przekazywania sygnału aktywacji do wnętrza komórki. Obecność CD26 na limfocytach T pamięci CD4⁺ znacznie nasila ich odpowiedź wtórną na Ag [5, 26].

Podczas procesu aktywacji limfocyt T wchodzi w interakcje z komórką prezentującą antygen przez produkowane cytokiny, np. TRANCE (TNF-related activation induced cytokine) lub przez kontakt bezpośredni, np. przez oddziaływanie cząsteczki CD40L z CD40 na KD. Reakcja RANK, cząsteczki należącej do rodziny receptorów dla TNF, występującej na KD z jej ligandem – TRANCE/RANK, obecnym na aktywowanym limfocycie T, stymuluje sekrecję cytokin: IL-1, IL-6, IL-12 przez KD oraz powoduje wzrost przeżywalności KD przez zahamowanie apoptozy. Oddziaływanie w układzie CD40-CD40L zwiększa ekspresję antygenów MHC oraz cząsteczek kostymulujących na KD, wzmacnia sekrecję cytokin przez KD: IL-1, TNF, chemokin i IL-12 [1, 4–6], oraz powoduje wzrost ekspresji cząsteczki OX40L na KD, przez którą zostaje przekazany sygnał dziewczym limfocytom T do wytwarzania IL-4 [4]. Interakcjom między CD40L-CD40 w układzie limfocyt T CD4⁺-KD-limfocyt T CD8⁺ przypisuje się istotną rolę w aktywacji limfocytów T CD8⁺ do komórek cytotoksycznych. W warunkach *in vivo* aktywacja limfocytów Tc wymaga pośrednictwa limfocytów Th i może odbywać się z udziałem cytokin wydzielanych przez aktywowane w pobliżu limfocyty Th, głównie IL-2 lub/i przez bezpośrednie oddziaływanie Th na KD, w wyniku którego

dochodzi do wzrostu ekspresji cząsteczek kostymulujących na KD, co może umożliwiać tym komórkom bezpośrednią aktywację limfocytów Tc (udział ten może być zastąpiony przez przeciwciała anty-CD40). Badania eksperymentalne wykazały, że aktywujący wpływ limfocytu Th na KD może być ominięty przez modulację CD40 lub na skutek zakażenia wirusowego KD, co może wyjaśniać obserwacje, że odpowiedź Tc przeciwko wirusom może być również Th-niezależna [27–29]. Dojrzałe KD wykazują również ekspresję 4-1BBL, ligandu dla cząsteczki 4-1BB, obecnej na aktywowanych limfocytach T CD4⁺ i CD8⁺. Przekazanie sygnału kostymulacji przez 4-1BB – 4-1BBL preferencyjnie indukuje proliferację limfocytów T CD8⁺ i powoduje wzrost wydzielania IFN-γ (ale nie IL-4), co prowadzi *in vivo* do amplifikacji odpowiedzi cytotoksycznej limfocytów T [4, 30]. To może mieć znaczenie w chorobie przeszczep przeciw gospodarzowi (GvHD – graft versus host disease) i w reakcji odrzucania przeszczepu allogenicznego [4].

KD CD11c⁺ ukierunkowują aktywację dziewiczych limfocytów T CD4⁺ przede wszystkim do limfocytów Th1, KD CD11c⁻ pobudzają natomiast limfocyty T CD4⁺ głównie do wydzielania cytokin Th2 [31]. Aktywacja różnicowania w kierunku limfocytów Th1 odbywa się za pośrednictwem IL-12 [3, 4, 31]. Wykazano, że KD CD11c⁺, w odróżnieniu od KD CD11c⁻, są zdolne do sekrecji IL-12 [31]. Należy jednak podkreślić, że *in vivo* relacja między udziałem reakcji Th1 i Th2 w odpowiedzi immunologicznej zależy od aktualnych warunków w mikrośrodowisku, w którym zachodzi.

Wydzielana przez KD IL-18 działa synergicznie z IL-12 przez indukcję wytwarzania IFN-γ przez limfocyty Th1, blokuje również syntezę IgE przez komórki plazmatyczne. IL-7 aktywuje dziewicze limfocyty Th do wytwarzania IL-4 i jest zaangażowana w rozwój odpowiedzi Th2. Wykazano, że KD różniące się z prekursorów CD14⁺CD1a⁻ mają zdolność do wydzielania IL-10, która może być zaangażowana w kontrolę poziomu aktywacji limfocytów T indukowanej przez KD. IL-10 działa hamująco na dojrzewanie KD, co może wywoływać w limfocytach T stan anergii na skutek braku odpowiedniej kostymulacji ze strony KD [32].

Udział KD w regulacji odpowiedzi limfocytów B

KD wywierają istotny wpływ na regulację odpowiedzi humoralnej. Przez aktywację dziewiczych limfocytów T CD4⁺ i różnicowanie ich

w kierunku limfocytów Th2, aktywowane limfocyty T, wykazujące wysoką ekspresję CD40L, mogą również stymulować proliferację limfocytów B za pośrednictwem obecnej na ich powierzchni cząsteczki CD40 [1, 3]. Wykazano również, że KD mogą bezpośrednio wpływać na aktywację dziewiczych limfocytów B i limfocytów B pamięci. KD wzmagają różnicowanie aktywowanych *via* CD40 limfocytów B pamięci w kierunku komórek wydzielających IgG przez sekrecję rozpuszczalnej formy łańcucha α IL-6R – sIL-6R α gp80 [4, 33]. sIL-6R α wiąże się z IL-6, a następnie łączy się z obecnym na limfocycie B IL-6R β , odpowiadającym za przekazanie sygnału do wnętrza komórki [5]. KD biorą udział w różnicowaniu zaktivowanych dziewiczych limfocytów B do komórek plazmatycznych, przy czym pomoc ta jest uwarunkowana działaniem IL-12 oraz IL-6/IL-6R α . KD indukują powierzchniową ekspresję IgA na aktywowanych drogą CD40 dziewiczych limfocytach B. Proces ten jest niezależny od udziału IL-10 i IL-12, wydaje się, że bierze w nim udział TGF- β , IL-10 jest niezbędna jednak do dalszego różnicowania limfocytów B do komórek wydzielających IgA. KD w obecności IL-10 i TGF- β powodują różnicowanie aktywowanych limfocytów B do komórek wydzielających zarówno IgA1, jak i IgA2, co sugeruje ich udział w rozwoju odpowiedzi humoralnej związanej z błonami śluzowymi [4, 7, 33].

Wyniki badań doświadczalnych wskazują, że limfocyty B aktywowane przez receptor limfocyty B (BCR – B-cell receptor) także wykazują wzrost proliferacji pod wpływem działania KD. KD mogą indukować aktywację limfocytów B w warunkach *in vitro* bez udziału egzogennych cytokin. Mechanizm ten jest związany z uwalnianiem przez KD CD40-niezależnych, nie do końca scharakteryzowanych, rozpuszczalnych mediatorów, różnych od IL-6, IL-10 i IL-12. KD mogą wzmacniać proliferację aktywowanych przez CD40 limfocytów B w odpowiedzi na IL-4, IL-13 i IL-10. W obecności KD limfocyty B, aktywowane drogą CD40, proliferują w odpowiedzi na IL-2. W procesie tym kluczową rolę odgrywają IL-12 i sIL-6R α uwalniane przez KD [33].

W ośrodkach rozmnażania grudek są obecne KD centrów germinalnych oraz KD grudek, określane mianem follikularnych KD (FKD), które różnią się między sobą pod względem fenotypu i funkcji. KD centrów germinalnych z udziałem IL-12 stymulują proliferację CD40 aktywowanych limfocytów B w ośrodkach rozmnażania i powodują ich różnicowanie do komórek plazmatycznych. Ponadto powodują przełączenie klas syntetyzowanych przeciwciał w kierunku IgG1 [4]. FKD charakteryzują się obecnością długich wypustek (15–20 μ m) wykazujących wysoką ekspresję receptorów dla

fragmentów Fc przeciwciał (FcR) i dla komplementu, przez co posiadają zdolność do wiązania i przetrzymywania kompleksów immunologicznych zawierających Ag. Połączenia te są określane mianem ikosomów (immune complex coated bodies), a zawarte w nich Ag prezentowane są w tej postaci limfocytom B. Wydaje się, że ikosomy zawierające Ag są rozpoznawane przez BCR limfocytów B, następnie ulegają endocytozie i degradacji, po których mogą być prezentowane limfocytom T [1, 3, 5].

Do generowania odpowiedzi humoralnej potrzebna jest interakcja Ag-swoistych limfocytów Th i Ag-swoistych limfocytów B. Uważa się, że KD splatające się, obecne w strefach grasiczoza-
leżnych obwodowych narządów limfatycznych, kooperują w tej reakcji przez prezentację Ag [4, 5].

Interakcje KD z komórkami NK i NKT

KD wpływają na funkcję komórek NK zarówno przez bezpośrednie interakcje, jak i za pośrednictwem cytokin. Dojrzałe KD regulują aktywność komórek NK przez wytwarzanie IL-12, IL-15, IL-18 [4, 7, 19, 34, 35]. KD CD11c⁺ wykazują zdolność do wydzielania IFN- α i - β pod wpływem stymulacji antygenami wirusowymi, przez co mogą zwiększać aktywność cytotoksyczną komórek NK [3, 4, 16]. Mechanizm bezpośredniego, aktywującego wpływu KD na komórki NK nie został jeszcze ostatecznie ustalony, uważa się jednak, że za efekt ten są odpowiedzialne przede wszystkim cząsteczki kostymulujące, zwłaszcza oddziaływania w układzie CD40-CD40L [34, 36].

Kooperacja między komórkami NK i KD ma charakter dwustronny. Komórki NK przez liż komórek nowotworowych, bakteryjnych lub zakażonych wirusem dostarczają KD materiału antygenowego przetwarzanego w procesie prezentacji Ag oraz czynników stymulujących dojrzewanie KD. Aktywne komórki NK wzmagają wydzielanie IL-12 przez KD [7, 34, 35]. Gerosa et al. wykazali, że komórki NK aktywowane IL-2 mogą aktywować niedojrzałe KD, jeżeli nie ma innych czynników stymulujących dojrzewanie KD. Efekt tej aktywacji zależał nie tylko od IFN- γ i TNF- α wydzielanych przez aktywowane IL-2 komórki NK, ale również w znacznym stopniu od bezpośrednich oddziaływań między badanymi typami komórek, ponieważ nie był znoszony przez dodanie przeciwciał anti-IFN- γ i anti-TNF- α . Oczywiście, obecność obu tych cytokin w badanym układzie znacznie wzmacniała proces dojrzewania KD [7].

Komórki NKT charakteryzują się zdolnością do wytwarzania IL-4 i IFN- γ . Pod wpływem KD CD11c⁺ komórki NKT wydzielają przede wszyst-

kim IFN- γ , KD CD11c⁻ natomiast stymulują preferencyjnie wydzielanie IL-4 [4].

Udział KD w procesach tolerancji immunologicznej

Indukcja tolerancji względem własnych antygenów jest mechanizmem zapobiegającym reakcjom autoagresywnym i warunkuje utrzymanie równowagi immunologicznej organizmu.

KD grasicy uczestniczą w rozwoju tolerancji centralnej przez udział w selekcji negatywnej dojrzewających limfocytów T. Selekcja negatywna limfocytów T polega na eliminacji w wyniku apoptozy tych komórek, które wiążą się ze zbyt dużym powinowactwem z własnym MHC lub rozpoznają własne antygeny w kontekście cząsteczek MHC [3–5, 22, 37, 38].

Udział KD w rozwoju tolerancji obwodowej jest słabiej poznany. Jednym z podstawowych mechanizmów fizjologicznej tolerancji własnych antygenów na obwodzie jest anergia limfocytów T na skutek braku odpowiedniej kostymulacji.

W stanie zdrowia niedojrzałe KD obecne w narządach Nielimfatycznych wychwytyują antygeny wziewne, pokarmowe oraz powstałe w wyniku apoptozy własnych komórek. W przypadku braku sygnałów zagrożenia stymulujących aktywację KD (zakażenia, martwica tkanek) KD zachowują właściwości komórek niedojrzałych, mogą jednak migrować do węzłów chłonnych i prezentować antygeny dziewiczym limfocytom T bez odpowiedniej kostymulacji [22, 38]. Uważa się, że niedojrzałe KD mogą w takich warunkach indukować różnicowanie regulatorowych limfocytów T [38].

Przypuszcza się, że w stanie zdrowia podstawową funkcją KD jest udział w generowaniu tolerancji obwodowej [38, 39].

Kluczowa pozycja KD w inicjacji i kontroli odpowiedzi immunologicznej sprawia, że w ostatnich latach stały się one przedmiotem licznych badań doświadczalnych i klinicznych, podejmujących z jednej strony problem ich udziału w patogenezie wielu schorzeń (chorób autoimmunologicznych, zakażeń wirusowych, nowotworów, histiocytozy komórek Langerhansa, reakcji odrzucania przeszczepu), z drugiej – próby terapeutycznego wykorzystania, zwłaszcza w leczeniu chorób nowotworowych (szczepionki przeciwnowotworowe).

Piśmiennictwo

- [1] **Banchereau J, Steinman RM:** Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998, 392, 245–252.
- [2] **Hart DNJ:** Dendritic Cells: Unique Leukocyte Populations which Control the Primary Immune Response. *Blood* 1997, 90, 3245–3287.
- [3] **Lipscomb MF, Masten BJ:** Dendritic Cells: Immune Regulators in Health and Disease. *Physiol Rev* 2002, 82, 97–130.
- [4] **Banchereau J, Briere F, Caux Ch, Davoust J, Lebecque S, Liu Y-J, Pulendran B, Palucka K:** Immunobiology of Dendritic Cells. *Ann Rev Immunol* 2000, 18, 767–811.
- [5] **Gołąb J, Jakóbsiak M, Lasek W:** Immunologia. PWN, Warszawa 2002.
- [6] **Hus I:** Komórki dendrytyczne – rozwój i funkcja (Część I). *Acta Haematol Pol* 2000, 31, 4, 361–369.
- [7] **Gerosa F, Baldani-Guerra B, Nisii C, Marchesini V, Carra G, Trinchieri G:** Reciprocal Activating Interaction between Natural Killer Cells and Dendritic Cells. *J Exp Med* 2002, 195, 327–333.
- [8] **Ardavin C, Martínez del Hoyo G, Martín P, Anjuere F, Arias CF, Marín AR, Ruiz S, Parrillas V, Hernández H:** Origin and differentiation of dendritic cells. *Trends Immunol* 2001, 22, 691–700.
- [9] **Oyama T, Ran S, Ishida T, Nadaf S, Kerr L, Carbone DP, Gabrilovich DI:** Vascular Endothelial Growth Factor Affects Dendritic Cell Maturation Through the Inhibition of Nuclear Factor- κ B Activation in Hemopoietic Progenitor Cells. *J Immunol* 1998, 160, 1224–1232.
- [10] **McDermott RR, Ziylan U, Spehner D, Bausinger H, Lipsker D, Mommaas M, Cazenave J-P, Raposo G, Godt B, de la Salle H, Salamero J, Hanau D:** Birbeck Granules Are Subdomains of Endosomal Recycling Compartment in Human Epidermal Langerhans Cells, which Form where Langerin Accumulates. *Molecular Biol Cell* 2002, 13, 317–335.
- [11] **Kohrgruber N, Halanek N, Gröger M, Winter D, Rappersberger K, Schmitt-Egenolf M, Stingl G, Maurer D:** Survival, Maturation, and Function of CD11c⁻ and CD11c⁺ Peripheral Blood Dendritic Cells Are Differentially Regulated by Cytokines. *J Immunol* 1999, 163, 3250–3259.
- [12] **Dzionek A, Fuchs A, Schmidt P, Cremer S, Zysk M, Miltenyi S, Buck DW, Schmitz J:** BDCA2, BDCA3 and BDCA4: Three Markers for Distinct Subsets of Dendritic Cells in Human Peripheral Blood. *J Immunol* 2000 165, 6037–6046.
- [13] **Galy A, Christopherson I, Ferlazzo G, Liu G, Spits H, Georgopoulos K:** Distinct signals control the hematopoiesis of lymphoid-related dendritic cells. *Blood* 2000, 95, 128–137.
- [14] **Strobl H, Bello-Fernandez C, Riedl E, Pickl WF, Majdic O, Lyman SD, Knapp W:** flt3 Ligand in Cooperation with Transforming Growth Factor- β 1 Potentiates *In Vitro* Development of Langerhans-Type Dendritic Cells and Allows Single-Cell Dendritic Cell Cluster Formation under Serum-Free Conditions. *Blood* 1997, 90, 1425–1434.

- [15] **Mohamadzadeh M, Berard F, Essert G, Chalouni C, Pulendran B, Davoust J, Bridges G, Palucka AK, Banchereau J:** Interleukin 15 Skews Monocyte Differentiation into Dendritic Cells with Features of Langerhans Cells. *J Exp Med* 2001, 194, 1013–1020.
- [16] **Siegal FP, Kadowaki N, Shodell M, Fitzgerald-Bocarsly PA, Shah K, Ho S, Antonenko S, Liu Y-J:** The nature of the principal type 1 interferon-producing cells in human blood. *Science* 1999, 284, 1835–1837.
- [17] **Vasilijic S, Colic M:** GM-CSF Modulates Phenotypic Characteristics of Thymic Dendritic Cells and Increases Their Accessory Function. *Monduzzi Editore S.p.A – Medimond Inc* 2000 295–300.
- [18] **Borkowski TA, Letterio JJ, Farr AG, Udey MC:** A Role for Endogenous Transforming Growth Factor β 1 in Langerhans Cell Biology: The Skin of Transforming Growth Factor β 1 Null Mice Is Devoid of Epidermal Langerhans Cells. *J Exp Med* 1996, 184, 2417–2422.
- [19] **Pashenkov M, Kouwenhoven MCM, Özenci V, Huang YM:** Phenotypes and cytokine profiles of enriched blood dendritic cells in healthy individuals. *Eur Cytokine Netw* 2000, 11, 456–463.
- [20] **Zhou LJ, Tedder TF:** A Distinct Pattern of Cytokine Gene Expression by Human CD83⁺ Blood Dendritic Cells. *Blood* 1995, 86, 3295–3301.
- [21] **Cao X, Sugita M, van der Wel N, Lai J, Rogers RA, Peters PJ, Brenner MB:** CD1 Molecules Efficiently Present Antigen in Immature Dendritic Cells and Traffic Independently of MHC Class II During Dendritic Cell Maturation. *J Immunol* 2002, 169, 4770–4777.
- [22] **Lanzavecchia A, Sallusto F:** Regulation of T Cell Immunity by Dendritic Cells. *Cell* 2001, 106, 263–266.
- [23] **Greenfield E, Nguyen K, Kuchroo V:** CD28/B7 costimulation: a review. *Crit Rev Immunol* 1998, 18(5), 389–398.
- [24] **Boise L, Noel P, Thompson C:** CD28 and apoptosis. *Curr Opin Immunol* 1995, 7(5), 620–643.
- [25] **Kuchroo VK, Das MP, Brown JA:** B7-1 and B7-2 costimulatory molecules activate differentially the Th1/Th2 developmental pathways; application to autoimmune disease therapy. *Cell* 2000, 80, 707–718.
- [26] **Ishii T, Ohnuma K, Murakami A, Takasawa N, Kobayashi S, Dang NH, Schlossman SF, Morimoto Ch:** CD26-mediated signaling for T cell activation occurs in lipid rafts through its association with CD45RO. *PNAS* 2001, 98, 12138–12143.
- [27] **Bennett SRM, Carbone FR, Karamalis F:** Help for cytotoxic-T-cell responses is mediated by CD40L signaling. *Nature* 1998, 393, 478–480.
- [28] **Ridge JP, Di Rosa F, Matzinger P:** A conditioned dendritic cell can be a temporal bridge between a CD4⁺ T-helper and a T-killer cell. *Nature* 1998, 393, 474–478.
- [29] **Wang B, Norbury ChC, Greenwood R, Bennink JR, Yewdell JW, Frelinger JA:** Multiple Paths for Activation of Naive CD8 T Cells: CD4-Independent Help. *J Immunol* 2001, 167, 1283–1289.
- [30] **Shuford WW, Klussman K, Tritchler DD, Loo DT, Chalupny J, Siadak AW, Brown TJ, Emswiler J, Raecho H, Larsen ChP, Pearson TC, Ledbetter JA, Aruffo A, Mittler RS:** 4-1BB Costimulatory Signals Preferentially Induce CD8⁺ T Cell Proliferation and Lead to the Amplification “in vivo” of Cytotoxic T Cell Responses. *J Exp Med* 1997, 186, 47–55.
- [31] **Rissoan MM-C, Soumelis V, Kadowaki N, Grouard G, Briere F, de Waal Malefyt R, Liu Y-J:** Reciprocal control of T helper cell and dendritic cell differentiation. *Science* 1999, 283, 1183–1186.
- [32] **de Saint-Vis B, Fugier-Vivier I, Massacrier C, Gaillard C, Vanbervliet B, Ait-Yahia S, Banchereau J, Liu Y-J, Lebecque S, Caux C:** The Cytokine Profile Expressed by Human Dendritic Cells Is Dependent on Cells Subtype and Mode of Activation. *J Immunol* 1998, 160, 1666–1676.
- [33] **Dubois b, Bridon JM, Fayette J, Barthelemy C, Banchereau J, Caux C, Briere F:** Dendritic cells directly modulate B cell growth and differentiation. *J Leukocyte Biol* 1999, 66, 224–230.
- [34] **Yu Y, Hagihara M, Ando K, Gansuvd B, Matsuzawa H, Tsuchiya T, Ueda Y, Inoue H, Hotta T, Kato S:** Enhancement of Human Cord Blood CD34 Cell-Derived NK Cell Cytotoxicity by Dendritic Cells. *J Immunol* 2001, 166, 1590–1600.
- [35] **Zitvogel L:** Dendritic and Natural Killer Cells Cooperate in the Control/Switch of Innate Immunity. *J Exp Med* 2002, 195, F9–F14.
- [36] **Carbone E, Ruggiero G, Terrazzano G, Palomba C, Manzo C, Fontana S, Spits H, Kärre K, Zappacosta S:** A New Mechanism of NK Cell Cytotoxicity Activation: The CD40–CD40 Ligand Interaction. *J Exp Med* 1997, 185, 2053–2060.
- [37] **Brocker T, Riedinger M, Karalainen K:** Targeted expression of mayor histocompatibility complex (MHC) class II molecules demonstrates that dendritic cells can induce negative but not positive selection of thymocytes “in vivo”. *J Exp Med* 1997, 185, 541–550.
- [38] **Roncarolo M-G, Levings MK, Traversari C:** Differentiation of T Regulatory Cells by Immature Dendritic Cells. *J Exp Med* 2001, 193, F5–F9.
- [39] **Hawiger D, Inaba K, Dorsett Y, Guo M, Mahnke K, Rivera M, Ravetch JV, Steinman RM, Nussenzweig MC:** Dendritic Cells Induce Peripheral T Cell Unresponsiveness Under Steady State Conditions “in vivo”. *J Exp Med* 2001, 194, 769–780.
- [40] **Strunk D, Rappersberger K, Egger C, Strobl H, Kromer E, Elbe A, Maurer D, Stingl G:** Generation of Human Dendritic Cell/Langerhans Cells From Circulating CD34⁺ Hematopoietic Progenitor Cells. *Blood* 1996, 87, 1292–1302.

Adres do korespondencji

Jadwiga Węclawek-Tompol
Katedra i Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii
i Hematologii Dziecięcej AM
ul. Bujwida 44
50-456 Wrocław

Praca wpłynęła do Redakcji: 22.10.2003 r.

Po recenzji: 28.01.2004 r.

Zaakceptowano do druku: 10.02.2004 r.

Received: 22.10.2003

Revised: 28.01.2004

Accepted: 10.02.2004