

Received: 2009.11.19  
Accepted: 2009.12.29  
Published: 2010.01.20

## Receptory Toll-podobne (TLR) komórek tucznych\*

### Mast cell Toll-like receptors (TLRs)

Ewa Brzezińska-Błaszczyk, Maciej Wierzbicki

Zakład Immunologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

#### Streszczenie

Biorąc pod uwagę, że komórki tuczne pełnią ważną rolę w różnych procesach fizjologicznych i patologicznych oraz w mechanizmach obronnych wydaje się niezwykle istotne, aby poznać receptory komórek tucznych i ich rolę w aktywacji tych komórek. W ostatnich kilku latach udowodniono, że komórki tuczne wykazują ekspresję receptorów Toll-podobnych (TLR), cząsteczek odgrywających główną rolę w aktywacji mechanizmów odpowiedzi wrodzonej skierowanej przeciwko patogenom, a także biorących udział w rozwoju odporności nabytej. Udokumentowano, że komórki tuczne wykazują ekspresję cząsteczek TLR2, TLR4, TLR1 i TLR6. Są także dane, że komórki tuczne mają TLR5, TLR3 i TLR9. Obecność cząsteczek TLR7 i TLR10 na komórkach tucznych nie jest do końca wyjaśniona. Istnieją dane wskazujące, że ekspresja TLR na komórkach tucznych może być modulowana przez różne cytokiny, takie jak czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF) i interferon (IFN)- $\gamma$ , katelicydynę LL-37, jak również przez niektóre składniki bakterii. Wiadomo obecnie, że cząsteczki TLR biorą udział w odpowiedzi komórek tucznych na stymulację przez bakterie; niektóre dane wskazują, że TLR uczestniczą także w aktywacji komórek tucznych przez wirusy. Co więcej, obecnie wskazuje się, że TLR mogą regulować stymulację komórek tucznych zależną od reakcji IgE-Fc $\epsilon$ RI. Dalsze badania są konieczne, aby w pełni zrozumieć i opisać rolę TLR w biologii komórek tucznych.

Słowa kluczowe:

komórki tuczne • receptory Toll-podobne (TLR) • bakterie • wirusy • alergia

#### Summary

Taking into account the role of mast cells in different physiological and pathological processes, as well as in host defense it seems very important to recognize mast cell receptors and their role in activation of these cells. In the last few years it has been indicated that mast cells can express Toll-like receptors (TLRs), molecules that play an essential role in the activation of innate immune response to microbial pathogens and take part in the development of adaptive immunity, as well. It has been defined that mast cells express TLR2, TLR4, TLR1 and TLR6. There is also some data proving that mast cells possess TLR5, TLR3 and TLR9 molecules. The presence of TLR7, TLR9, and TLR10 on mast cells is still unclear. Some data indicate that TLR expression by mast cells can be modulated by various cytokines, such as granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) and interferon (IFN)- $\gamma$ , cathelicidin LL-37 as well as by some bacterial components. It is now established that TLRs are involved in mast cell response to bacterial stimulation; some data also indicate that TLRs take part in virus-induced mast cell activation. What is more, it is now suggested that TLRs might regulate IgE-Fc $\epsilon$ RI-dependent mast cell stimulation. Further research is needed to fully understand and describe the role of TLRs in mast cell biology.

Key words:

mast cells • Toll-like receptors (TLRs) • bacteria • viruses • allergy

\* Praca finansowana przez MNiSW (grant nr N N401 010236) oraz Uniwersytet Medyczny w Łodzi (grant nr 502-12-759).

**Full-text PDF:** <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=902998>**Word count:** 5039**Tables:** 1**Figures:** –**References:** 110**Adres/ autorki:** prof. dr hab. Ewa Brzezińska-Błaszczyk, Zakład Immunologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź; e-mail: ewab@csk.umed.lodz.pl

**Wykaz skrótów:** **bFGF** – zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (basic fibroblast derived growth factor); **BMMC** – mysie komórki tuczne wywodzące się ze szpiku kostnego (bone marrow-derived mast cells); **CBMC** – ludzkie komórki tuczne hodowane z krwi pępowinowej (cord blood-derived mast cells); **CRH** – kortykoliberyna (corticotropin-releasing hormone); **ECM** – macierz pozakomórkowa (extracellular matrix); **ET** – endotelina (endothelin); **FSMC** – komórki tuczne izolowane ze skóry płodów (fetal skin-derived mast cells); **GM-CSF** – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor); **hBD** –  $\beta$ -defensyna (human beta-defensin); **HCMC** – komórki tuczne wyprowadzone z komórek progenitorowych CD34<sup>+</sup> uzyskanych z krwi obwodowej (human cultured mast cells); **HMC** – linia niedojrzałych ludzkich mastocytów (human mast cell); **IFN** – interferon (interferon); **IL** – interleukina (interleukin); **LAD** – linia niedojrzałych ludzkich mastocytów (laboratory of allergic disease mast cells); **LAM** – lipoarabinomannan (lipoarabinomannan); **LT** – leukotrien (leukotriene); **LPS** – lipopolisacharyd (lipopolysaccharide); **LTA** – kwas lipoteichoowy (lipoteichoic acid); **MMP** – metaloproteinaza (metalloprotease); **NDV** – wirus choroby Newcastle (Newcastle disease virus); **NGF** – czynnik wzrostu nerwów (nerve growth factor); **PAF** – czynnik aktywujący płytki (platelet activating factor); **PBMC** – komórki tuczne hodowane z krwi obwodowej (peripheral-blood-derived mast cells); **PDGF** – płytkopochodny czynnik wzrostu (platelet-derived growth factor); **PG** – prostaglandyna (prostaglandin); **PGN** – peptydoglikan (peptidoglycan); **PMC** – komórki tuczne izolowane z jamy otrzewnej (peritoneal mast cells); **RSV** – wirus syncytium nabłonka oddechowego (respiratory syncytial virus); **SCF** – czynnik komórek macierzystych (stem cell factor); **TGF** – transformujący czynnik wzrostu (transforming growth factor); **TLR** – receptor Toll-podobny (Toll-like receptor); **TNF** – czynnik martwicy nowotworu (tumor necrosis factor); **TX** – tromboksan (thromboxane); **VEGF** – czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (vascular endothelial growth factor).

## WSTĘP

Odkrycie cząsteczek Toll-podobnych (TLR) w znacznym stopniu zmieniło nasze poglądy na przebieg wielu procesów zachodzących w organizmach. Cząsteczki TLR występują na różnych populacjach komórek, a ich ekspresja jest szczególnie duża na komórkach bezpośrednio lub pośrednio zaangażowanych w przebieg procesów immunologicznych i obronnych, takich jak komórki dendrytyczne, monocyty i makrofagi, neutrofile, komórki NK, limfocyty B i T, komórki nabłonka i śródbłonna [53,95]. Dlatego uważa się, że TLR pełnią ważną rolę w regulacji odpowiedzi immunologicznej, a także aktywnie uczestniczą w modulacji przebiegu procesu zapalnego.

Komórki tuczne (mastocyty) są źródłem wielu mediatorów, cytokin i chemokin o niezwykle szerokim zakresie oddziaływań [33,66,87]. Do grupy mediatorów preformowanych, magazynowanych w ziarnistościach cytoplazmatycznych zalicza się histaminę, proteoglikany (heparyna i/lub siarczan chondroityny), obojętne proteazy (tryptaza, chymaza i karboksypeptydaza), metaloproteinazy (MMP) 2, 3 i 9, kwaśne hydrolazy (arylosulfataza B,  $\beta$ -glukuronidaza,  $\beta$ -heksozaminidaza i  $\beta$ -galaktozydaza),

elastazę, katepsynę G i kininogenezę, a także peroksydazę i dysmutazę nadtlenkową. W grupie mediatorów preformowanych znajdują się również cytokiny, takie jak czynnik martwicy nowotworu (TNF), interleukiny (IL) 3, 4, 5, 6, 10, czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF), czynnik wzrostu nerwów (NGF), transformujący czynnik wzrostu (TGF- $\beta$ ) i zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (bFGF) oraz chemokina CXCL8. Do mediatorów wtórnych syntetyzowanych przez mastocyty w wyniku przemian fosfolipidów błonowych należą leukotrieny (LT), głównie LTB<sub>4</sub> i LTC<sub>4</sub>, prostaglandyny (PG)D<sub>2</sub> i PGE<sub>2</sub>, tromboksan (TX) A<sub>2</sub> oraz czynnik aktywujący płytki (PAF). Po aktywacji komórki tuczne syntetyzują także *de novo* liczne cytokiny (IL-1, -2, -3, -4, -5, -6, -9, -10, -12, -13, -15, -16, -18, -25), TNF, interferon (IFN)- $\gamma$ , NGF, TGF- $\beta$ , czynnik komórek macierzystych (SCF), płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF), czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF) oraz chemokiny CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL20 i CXCL8.

Są także dane, że komórki tuczne syntetyzują i wydzielają kortykoliberynę (CRH) [34], endotelinę (ET)-1 [51], osteopontynę [75] i amfiredulinę [82,102] oraz chemokinę CXCL5 [52]. Mastocyty mogą również syntetyzować

granzym B [85]. Ludzkie mastocyty wydzielają  $\beta$ -defensyny (hBD) 2 i 4 oraz białko katelicyny LL-37 [16], komórki tuczne gryzoni natomiast białko z grupy katelicyny CRAMP [46].

Należy podkreślić, że wiele mediatorów komórek tucznych, na przykład histamina, LT, PG, TNF, IL-1 $\beta$ , IL-6 i chemokiny, silnie działa prozapalnie, natomiast niektóre mediatory, na przykład IL-10 i TGF- $\beta$ , wywierają efekt przeciwzapalny i immunoregulacyjny. Niektóre mediatory, w tym obojętne proteazy i metaloproteiny, biorą udział w przebudowie tkanek i degradacji białek macierzy pozakomórkowej (ECM). Wydaje się także interesujące, że mastocyty są źródłem zarówno cytokin wytwarzanych przez limfocyty Th1 (IL-18, IFN- $\gamma$ ), jak i syntetyzowanych przez limfocyty Th2 (IL-4, IL-5, IL-13).

Pamiętając, iż komórki tuczne mogą wydzielać tak wiele różnorodnych czynników humoralnych wydaje się oczywiste, że komórki te współuczestniczą w różnorodnych procesach w organizmie. Z pewnością mastocyty biorą udział w utrzymywaniu prawidłowej homeostazy [39,63,66,68], uczestniczą w tworzeniu nowych naczyń [13], współuczestniczą w procesie gojenia ran oraz regeneracji i przebudowie tkanek [79]. Komórki te odgrywają niezwykle istotną rolę w obronie gospodarza skierowanej przeciwko patogenom, zwłaszcza w mechanizmach obrony wrodzonej [7,25]. Mastocyty współuczestniczą także w wielu procesach patologicznych, w tym w mechanizmach nadwrażliwości typu I [4,91], a także w procesach przebiegających ze współudziałem procesów zapalnych [13,36,67].

Biorąc pod uwagę tak olbrzymią rolę komórek tucznych w organizmie niezwykle istotna wydaje się wiedza na temat receptorów błonowych tych komórek warunkujących ich aktywność i wydzielanie mediatorów, cytokin i chemokin.

#### **EKSPRESJA CZĄSTECZEK TLR NA KOMÓRKACH TUCZNYCH**

W oparciu o współczesne dane literaturowe upoważnione wydaje się stwierdzenie, że komórki tuczne wykazują ekspresję cząsteczek TLR4, receptorów rozpoznających m.in. lipopolisacharydy (LPS) i kwasy lipotejchajowe (LTA). Należy jednak podkreślić, że zdecydowana większość badań była prowadzona na mastocytach niedojrzałych, a oceniano głównie poziom ekspresji mRNA, a nie ekspresję funkcjonalnego białka błonowego. Obecność transkryptu TLR4 wykazano w niedojrzałych mysich komórkach tucznych wywodzących się ze szpiku kostnego (BMMC) [30,62,64,72,90,94] oraz w mysich komórkach hodowlanych linii MC/9 [64]. Przy zastosowaniu metod biologii molekularnej, technik RT-PCR lub PCR w czasie rzeczywistym, występowanie mRNA cząsteczki TLR4 potwierdzono również w niedojrzałych ludzkich mastocytach linii HMC-1 [41] oraz LAD [41,108], a także w ludzkich niedojrzałych komórkach tucznych wyprowadzonych z komórek progenitorowych CD34<sup>+</sup> uzyskanych z krwi obwodowej (HCMC) [42], komórkach hodowlanych z krwi pępowinowej (CBMC) [31,92,101] i komórkach hodowlanych z krwi obwodowej (P BMC) [31,81].

Znacznie mniej danych dokumentuje obecność transkryptu cząsteczki TLR4 w dojrzałych tkankowych komórkach tucznych. Matsushima i wsp. [62] wykazali mRNA dla

TLR4 w mastocytach myszy izolowanych ze skóry płodów (FSMC), a Inomata i wsp. [31] udokumentowali obecność mRNA tego receptora w komórkach tucznych izolowanych z tkanki płucnej człowieka.

Badania z zastosowaniem technik cytofluorymetrii przepływową, immunofluorescencji i western-blotting wskazały także, że komórki tuczne, zarówno niedojrzałe jak i dojrzałe, wykazują ekspresję funkcjonalnego białka receptorowego. Cząsteczki TLR4 wykazano na niedojrzałych mysich komórkach BMMC [62] i ludzkich CBMC [101], HMC-1 [41] oraz LAD [41,108,109]. Obecność białka TLR4 udokumentowano również na mysich komórkach FSMC i izolowanych z jamy otrzewnej (PMC) [62].

Nieliczni autorzy analizowali ekspresję cząsteczek MD-2 i CD14, koreceptorów TLR4, w komórkach tucznych. Badania na poziomie molekularnym udokumentowały obecność mRNA cząsteczki MD-2 w ludzkich komórkach tucznych linii KU812 oraz CBMC [65]. Mysie komórki tuczne, zarówno BMMC [30,64,100], jak i linii MC/9 [64], także wykazują ekspresję transkryptu cząsteczki MD-2. Nie ma jednak danych o ekspresji tego białka w błonie mastocytów. Podobnie w komórkach BMMC stwierdzono obecność transkryptu cząsteczki CD14 [30,90], jednak – jak się wydaje – komórki te nie wykazują ekspresji funkcjonalnej cząsteczki CD14 [64,90]. Także Varadarajalu i wsp. [101] nie obserwowali ekspresji tego białka w komórkach CBMC.

Mastocyty charakteryzują się również ekspresją cząsteczki TLR2 rozpoznającej peptydoglikan (PGN) i lipoproteiny bakterii Gram-dodatnich. Obecność transkryptu tego receptora wykazano w niedojrzałych mysich komórkach BMMC [30,62,64,72,94] oraz linii MC/9 [64]. Metodami biologii molekularnej potwierdzono występowanie mRNA dla TLR2 także w ludzkich niedojrzałych komórkach tucznych, takich jak LAD i HMC-1 [41,108], CBMC [31,65,92,101], HCMC [42] i KU812 [65]. Matsushima i wsp. [62] stwierdzili obecność mRNA dla tego receptora w mysich mastocytach FSMC, natomiast Kulka i Metcalfe [44] wykazali transkrypt TLR2 w dojrzałych ludzkich komórkach tucznych skóry i płuc. Powyższe obserwacje zostały dodatkowo potwierdzone oceną ekspresji cząsteczki TLR2 na komórkach tucznych. Yoshioka i wsp. [108,109] opisali obecność tego receptora na komórkach LAD, natomiast Kubo i wsp. [41] także na komórkach linii HMC-1. Kulka i wsp. [42] udokumentowali ekspresję TLR2 na niedojrzałych komórkach HCMC, Inomata i wsp. [31] na komórkach CBMC, a Mrabet-Dahbi i wsp. [72] zarówno na komórkach BMMC, jak i dojrzałych mastocytach izolowanych z jamy otrzewnej myszy. Przy zastosowaniu metod immunohistochemicznych obecność cząsteczek TLR2 wykazano również na dojrzałych natywnych mastocytach izolowanych z polipów nosa człowieka [65] oraz na komórkach tucznych jelita myszy [21].

Wielu autorów stwierdziło, że komórki tuczne wykazują ekspresję mRNA TLR6, cząsteczki tworzącej funkcjonalny heterodimer z TLR2. Transkrypt TLR6 opisano w niedojrzałych mastocytach BMMC [30,62,64,72,94], komórkach linii MC/9 [64], komórkach KU812 [65], a także w ludzkich komórkach CBMC [31,65], P BMC [31], HCMC [42] oraz dojrzałych mastocytach myszy izolowanych ze skóry

[62]. Wydaje się niezwykle interesujące, że nie stwierdzono obecności mRNA TLR6 w dojrzałych mastocytach izolowanych ze skóry i tkanki płucnej człowieka [44]. Nie ma danych na temat ekspresji białka TLR6 w błonie komórek tucznych. Jedynie Kulka i wsp. [42] opisali występowanie tego receptora na niedojrzałych komórkach linii HMC-1, HCMC oraz LAD.

Cząsteczka TLR2 może utworzyć heterodimer również z TLR1. W świetle dostępnych danych wydaje się, że niedojrzałe ludzkie komórki tuczne LAD [108], CBMC i KU812 [65] oraz HCMC [42] mają transkrypt TLR1. Także dojrzałe mastocyty skóry myszy wykazują ekspresję mRNA TLR1 [62], natomiast dojrzałe ludzkie komórki tuczne skóry i płuc nie mają transkryptu tego receptora [44]. Obecność błonowej cząsteczki TLR1 na komórkach linii LAD wykazali jedynie Yoshioka i wsp. [108,109].

Brak jest obecnie jednoznacznych danych o ekspresji na komórkach tucznych cząsteczki TLR5 rozpoznającej i wiążącej bakteryjną flagelinę. Pierwsze prace Supajatura i wsp. [94] oraz McCurdy i wsp. [64] wskazały, że komórki BMMC i linii MC/9 nie wykazują ekspresji mRNA dla tej cząsteczki. Obserwacje te potwierdzili następnie Ikeda i Funaba [30]. Matsushima i wsp. [62] udokumentowali, że nie tylko komórki BMMC, ale także dojrzałe komórki FSMC nie mają transkryptu TLR5. Prace z ostatnich lat wskazują jednak, że TLR5 występuje w komórkach tucznych, tak na poziomie transkryptu, jak i błonowego białka. Kulka i wsp. [42,44] stwierdzili obecność mRNA TLR5 w niedojrzałych hodowlanych ludzkich komórkach HCMC i w dojrzałych komórkach tucznych izolowanych z płuc i skóry człowieka, a także obecność zarówno transkryptu TLR5, jak i białka w komórkach linii LAD i HMC-1. Także Yoshioka i wsp. [108,109] opisali występowanie transkryptu TLR5 i funkcjonalnego białka błonowego w komórkach LAD.

Nie ma informacji na temat ekspresji cząsteczki TLR10 w mastocytach. Jedynie Kulka i Metcalfe [44] udokumentowali obecność mRNA TLR10 w dojrzałych ludzkich komórkach tucznych izolowanych ze skóry i tkanki płucnej wskazując przy tym, że poziom ekspresji transkryptu tego receptora jest wyższy w mastocytach płuc niż skóry.

Dane, choć stosunkowo nieliczne, wskazują, że komórki tuczne wykazują ekspresję cząsteczek TLR zaliczanych do grupy receptorów wewnątrzkomórkowych i biorących udział w rozpoznawaniu kwasów nukleinowych pochodzenia wirusowego i bakteryjnego. Ciekawa grupa badań dotyczy cząsteczki TLR3. Kulka i Metcalfe [44] udokumentowali obecność transkryptu TLR3 w dojrzałych komórkach tucznych izolowanych ze skóry i tkanki płucnej człowieka, a Matsushima i wsp. [62] także w dojrzałych mastocytach FSMC. mRNA TLR3 jest obecny również w cytoplazmie komórek linii LAD, HMC-1 i HCMC; wykazano również występowanie białka TLR3 w cytoplazmie komórek HCMC po 8 tygodniach hodowli [42]. Ekspresję zarówno transkryptu TLR3, jak i białka opisano w komórkach linii P815 [107]. Niezwykle ciekawe dane uzyskali Orinska i wsp. [83]. Autorzy wykazali obecność mRNA cząsteczki TLR3 w cytoplazmie komórek BMMC, natomiast obecność białka nie tylko w komórkach BMMC, ale również w dojrzałych komórkach tucznych myszy

uzyskanych z jamy otrzewnej. Co więcej, autorzy ci udokumentowali, że białko TLR3 występuje nie tylko w cytoplazmie, ale również w błonie tych komórek. Wcześniej ekspresję cząsteczki TLR3 w błonie fibroblastów opisali Matsumoto i wsp. [61], a w błonie linii komórek nabłonkowych Morris i wsp. [71].

Komórki tuczne cechują się również ekspresją cząsteczki TLR9. Transkrypt TLR9 wykazano zarówno w niedojrzałych mastocytach linii HMC-1 [42], P815 [107] i LAD [42,108], jak i komórkach hodowlanych BMMC [29,62], HCMC [42] i CBMC [92]. Obecność mRNA cząsteczki TLR9 udokumentowano również w dojrzałych komórkach mysich FSMC [62] oraz ludzkich izolowanych ze skóry i płuc [44]. Yoshioka i wsp. [108,109] opisali obecność białka TLR9 w cytoplazmie komórek linii LAD, natomiast Kulka i wsp. [42] także w komórkach HMC-1 i HCMC.

Niewiele danych dotyczy ekspresji cząsteczek TLR7 i TLR8 w komórkach tucznych. Obecność transkryptu TLR7 opisano w niedojrzałych komórkach linii BMMC [62], HMC-1, LAD i HCMC [42] oraz P815 [107], a także dojrzałych mastocytach FSMC [62] i izolowanych ze skóry i płuc człowieka [44]. Kulka i wsp. [42] stwierdzili obecność białka TLR7 w komórkach linii LAD i HMC-1 oraz w hodowlanych komórkach HCMC, natomiast Yang i wsp. [107] wykazali występowanie tego białka w komórkach P815. Kulka i wsp. [42] opisali występowanie mRNA TLR8 w komórkach BMMC, natomiast Supajatura i wsp. [94] stwierdzili, że dojrzałe mastocyty ludzkie nie wykazują ekspresji transkryptu TLR8.

#### POZIOM EKSPRESJI CZĄSTECZEK TLR NA KOMÓRKACH TUCZNYCH

Dane na temat poziomu ekspresji cząsteczek TLR w komórkach tucznych są dzisiaj jeszcze bardzo ograniczone. Matsushima i wsp. [62] w dobrze zaplanowanych i przeprowadzonych doświadczeniach porównali poziom ekspresji zarówno transkryptów różnych cząsteczek TLR, jak i białka w mysich niedojrzałych komórkach BMMC i dojrzałych komórkach tucznych FSMC. Autorzy udokumentowali, że poziom mRNA TLR7, TLR9 i TLR3 jest istotnie wyższy w komórkach FSMC, odpowiednio 183, 60 i 10 razy, niż w komórkach BMMC. Poziom transkryptów TLR2 i TLR4 w komórkach FSMC jest około 4,5 razy większy niż w komórkach BMMC, natomiast ekspresja mRNA TLR6 jest nieco niższa w komórkach dojrzałych niż w niedojrzałych. W pracy wykazano również, że ekspresja białka TLR4 w komórkach BMMC, FSMC i mastocytach PMC myszy jest na porównywalnym poziomie, natomiast poziom ekspresji białka TLR9 jest mniejszy w komórkach BMMC niż w komórkach dojrzałych. Podobnie Mrabet-Dahbi i wsp. [72] opisali wyższy poziom ekspresji TLR2 na dojrzałych mastocytach jamy otrzewnej myszy w porównaniu z niedojrzałymi komórkami BMMC. Kulka i Metcalfe [44] zaobserwowali, że komórki tuczne izolowane ze skóry człowieka charakteryzują się wyższym poziomem ekspresji mRNA TLR9, ale niższym TLR7 i TLR10 niż mastocyty izolowane z tkanki płucnej.

Niewiele jest także informacji na temat wpływu różnych czynników na poziom ekspresji cząsteczek TLR na komórkach tucznych. Ciekawe badania w tym zakresie przeprowadzili Yang i wsp. [107] nad wpływem GM-CSF na

poziom ekspresji TLR3, TLR7 i TLR9 w komórkach linii P815. Autorzy wykazali, że GM-CSF, w zakresie stężeń 1–100 ng/mL, zwiększa poziom ekspresji mRNA dla TLR3 i TLR7, a wzrost ten jest zależny od dawki i od czasu inkubacji. GM-CSF nie wpływa na ekspresję transkryptu TLR9. Autorzy udokumentowali również, że ta cytokina indukuje także znaczące zwiększenie ekspresji białek TLR3 i TLR7, odpowiednio o 52 i 96%. Okumura i wsp. [81] stwierdzili, że inkubacja ludzkich komórek tucznych z IFN- $\gamma$  powoduje 3-krotny wzrost poziomu mRNA TLR4 w tych komórkach. Niezwykle interesujące wydaje się wnioski, że czynnikami wpływającymi na ekspresję cząsteczek TLR w komórkach tucznych mogą być niektóre peptydy przeciwbakteryjne syntetyzowane i wydzielane przez komórki obronne i nabłonkowe w odpowiedzi na infekcję [110]. W ciekawie zaplanowanych doświadczeniach Yoshioka i wsp. [109] wykazali, że inkubacja komórek LAD z katelicydyną LL-37 powoduje zależne od dawki zwiększenie ekspresji TLR4, tak na poziomie transkryptu, jak i białka; LL-37 nie wpływa natomiast na poziom ekspresji cząsteczek TLR1, TLR2, TLR5 oraz TLR9.

Nieliczne dane wskazują, że poziom ekspresji cząsteczek TLR na mastocytach może być również regulowany przez agonistów tych receptorów, to jest antygeny pochodzenia bakteryjnego lub wirusowego. Wpływ antygenów pochodzenia bakteryjnego na ekspresję TLR4 przedstawili niedawno Kubo i wsp. [41]. Autorzy stwierdzili, że LPS w niskim stężeniu (1 ng/mL) nie powoduje znamienych statystycznie zmian w ekspresji mRNA dla tego receptora w komórkach linii HMC-1, natomiast inkubacja tych komórek z LPS w stężeniu 10 ng/mL skutkuje zależnym od czasu wzrostem poziomu ekspresji mRNA TLR4. Także LTA, w stężeniach 3  $\mu$ g/mL i 30  $\mu$ g/mL, indukuje wzrost poziomu transkryptu TLR4, natomiast PGN nie wpływa na poziom ekspresji tego transkryptu. W podobnie zaprojektowanej serii doświadczeń autorzy stwierdzili, że LPS i LTA zwiększają poziom mRNA TLR4 także w komórkach linii LAD. LPS, ale nie LTA, indukuje również zwiększenie poziomu ekspresji białka TLR4 w komórkach LAD. Orsinka i wsp. [83] opisali wzrost poziomu mRNA TLR3 w komórkach BMDC pod wpływem stymulacji tych komórek ligandem receptora poli(I: C), a Kulka i Metcalfe [44] wykazali zwiększenie ekspresji TLR3 w ludzkich komórkach tucznych w odpowiedzi na działanie tego ligandu.

#### ROLA CZĄSTECZEK TLR W AKTYWACJI KOMÓREK TUCZNYCH

Informacje, aczkolwiek jeszcze niepełne, o ekspresji cząsteczek TLR w komórkach tucznych wskazują, że cząsteczki te mogą współuczestniczyć w mechanizmach aktywacji mastocytów, a także mogą modulować udział tych komórek w różnorodnych procesach w organizmie. Dane na ten temat są jednak bardzo nieliczne i słabo udokumentowane i często mają charakter raczej spekulatywny. Na podstawie współczesnych informacji można jednak dyskutować o udziale cząsteczek TLR w stymulacji komórek tucznych przez bakterie i wirusy, a także, co wydaje się niezwykle ciekawe, o roli tych cząsteczek w regulacji aktywności mastocytów w przebiegu procesów alergicznych.

Od wielu lat wskazywano, że bakterie żywe lub zabite ciepłem lub formaliną, aktywują komórki tuczne do degranulacji i uwalniania mediatorów preformowanych. Bakterie

Gram-ujemne, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella oxytoca*, *K. pneumoniae*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *B. fragilis* i *Borrelia burgdorferi* indukują sekrecję histaminy, serotoniny lub  $\beta$ -heksosaminidazy z mastocytów myszy [55,96], szczura [6,96] i człowieka [12]. Degranulację komórek tucznych i w konsekwencji wydzielanie histaminy, serotoniny lub  $\beta$ -heksosaminidazy obserwowano również pod wpływem bakterii Gram-dodatnich takich jak *Staphylococcus aureus* [32,80], *S. epidermidis* [12], *Bifidobacterium adolescentis* [6], *Streptococcus pneumoniae* [3] i *Mycobacterium tuberculosis* [73]. Także bakterie atypowe *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* i *M. pneumoniae* bezpośrednio aktywują mastocyty szczura do degranulacji [10,26,103]. Stymulacja komórek tucznych *S. aureus*, *S. faecium*, *K. pneumoniae*, *Citrobacter freundii* lub *E. coli* prowadzi również do sekrecji preformowanego TNF [1,18,55].

W toku prac udokumentowano także, iż *E. coli* aktywuje mastocyty do syntezy i wydzielania znaczących ilości LT [54]. Co więcej, wskazano, że komórki bakteryjne mogą stymulować syntezę *de novo* i wydzielanie wielu cytokin przez komórki tuczne. Bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *C. freundii*), a także *S. aureus*, *S. faecium*, *M. tuberculosis*, *B. burgdorferi* i *Bordetella pertussis* indukują syntezę i wydzielanie TNF [1,69,73,96]. Hoek i wsp. [26] wskazali, że żywe bakterie *M. pneumoniae* indukują w mastocytach wzrost ekspresji mRNA nie tylko TNF, ale także IL-4 i IL-6. Obserwowano również syntezę i sekrecję IL-6 i chemokiny CCL2 przez mastocyty stymulowane *Moraxella catarrhalis* i *B. pertussis* [40,69] oraz syntezę i wydzielanie cytokin IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  i GM-CSF oraz chemokiny CCL20 w odpowiedzi na działanie *Pseudomonas aeruginosa* [48,49].

W bardziej szczegółowych badaniach prowadzonych na różnych populacjach komórek tucznych analizowano wpływ poszczególnych składników ścian komórek bakteryjnych, będących ligandami cząsteczek TLR, na aktywację mastocytów. Zaobserwowano, że główny składnik ścian bakterii Gram-dodatnich PGN nie indukuje bezpośrednio degranulacji mastocytów [65,101,104], chociaż Supajatura i wsp. [93] oraz Varadaradjalu i wsp. [101] opisali uwalnianie mediatorów preformowanych z niedojrzałych komórek tucznych w odpowiedzi na stymulację PGN. Także inny składnik ścian bakterii Gram-ujemnych LTA nie aktywuje komórek tucznych do sekrecji mediatorów preformowanych [9,72,108]. W badaniach własnych udokumentowaliśmy także, że ważny składnik ścian *Mycobacterium lipoarabinomannan* (LAM) również nie wywołuje degranulacji mastocytów [104]. Wielu autorów wskazało również, że główny składnik ścian bakterii Gram-ujemnych LPS nie aktywuje różnych populacji mastocytów, zarówno niedojrzałych, jak i dojrzałych, do degranulacji [8,30,41,65,72,93,94,101,104].

Wpływ składników ścian komórek bakteryjnych na wytwarzanie i wydzielanie z mastocytów metabolitów kwasu arachidonowego był rzadko badany. McCurdy i wsp. [65] wykazali, że PGN stymuluje komórki CBMC do syntezy i wydzielania LTC<sub>4</sub>, a Kikawada i wsp. [35] obserwowali syntezę i wydzielanie LTC<sub>4</sub> i PGD<sub>2</sub> z mysich komórek BMDC w odpowiedzi na działanie tego antygeny.

W badaniach własnych ustaliliśmy, że PGN aktywuje do wydzielania LTC<sub>4</sub> także dojrzałe mastocyty jamy otrzewnej szczura [104]. W naszych badaniach udokumentowaliśmy także, że dojrzałe komórki tuczne szczura syntetyzują i uwalniają LTC<sub>4</sub> również w odpowiedzi na aktywację pod wpływem LPS różnych gatunków i szczepów bakterii [8,104], LAM [104] i LTA [8,9], a Mrabet-Dahbi i wsp. [72] wykazali, że LTA aktywuje dojrzałe mastocyty myszy do wydzielania PGD<sub>2</sub>.

Wielu autorów stwierdziło, że składniki ścian bakterii stymulują komórki tuczne do syntezy *de novo* i wydzielania cytokin i chemokin. W badaniach prowadzonych na różnych populacjach mastocytów udokumentowano, że pod wpływem PGN dochodzi do wydzielania TNF, GM-CSF, IL-1 $\beta$ , IL-4, -5, -6, -10 i -13 [64,65,93,101] natomiast LPS stymuluje te komórki do sekrecji TNF, GM-CSF, IL-1 $\beta$ , -5, -6, -9, -10, -12, -13 i -15 [38,45,58,60,64,70,72,81,90,93,94,101] oraz chemokin CXCL8 [38], CCL1 i CCL5 [81]. Ostatnio Mrabet-Dahbi i wsp. [72] wskazali, że LTA aktywuje komórki tuczne do syntezy i wydzielania IL-1, IL-6, IL-10, IL-17 oraz TNF, IFN- $\gamma$  i GM-CSF.

Biorąc pod uwagę, iż komórki tuczne wykazują ekspresję cząsteczek TLR4, TLR2, TLR6 i TLR1, a także TLR5 oraz TLR9 wydaje się bardzo prawdopodobne, iż obserwowane efekty działania bakterii i/lub ich antygenów na komórki tuczne są mediowane przez aktywację tych receptorów. Dotychczas jednak w bardzo nielicznych pracach udokumentowano jednoznacznie, iż w mechanizmach aktywacji komórek tucznych przez składniki ścian bakterii do syntezy i wydzielania eikozanoidów oraz do syntezy *de novo* i wydzielania cytokin i chemokin bezpośrednio biorą udział cząsteczki TLR. Varadaradjalou i wsp. [101] stwierdzili, iż preinkubacja ludzkich komórek CBMC z przeciwciałami blokującymi cząsteczki TLR4 lub TLR2 prowadzi odpowiednio do całkowitego zahamowania syntezy i wydzielania TNF pod wpływem LPS i istotnego zmniejszenia wydzielania tej cytokiny w odpowiedzi na działanie PGN. W badaniach na komórkach tucznych pochodzących ze szpiku kostnego myszy z genetycznym defektem cząsteczki TLR4 wykazano, że w odpowiedzi na działanie LPS nie dochodzi do syntezy i sekrecji IL-13 oraz transkrypcji mRNA IL-5 i IL-10 [60], syntezy i wydzielania IL-6 i TNF [64] oraz IL-1 $\beta$ , IL-6 i IL-13 [94]; u myszy dzikich obserwowano syntezę i wydzielanie tych cytokin [29,64,94]. Podobne obserwacje przedstawili Supajatura i wsp. [93]; mysie komórki BMMC po aktywacji LPS wydzielają TNF, IL-1 $\beta$ , IL-6 i IL-13, a po stymulacji PGN IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 i TNF, podczas gdy w tych samych warunkach nie obserwowano takich efektów po stymulacji BMMC pochodzących od myszy odpowiednio bez TLR4 lub TLR2. Także Nigo i wsp. [78] wykazali, że w komórkach BMMC pochodzących od myszy dzikich dochodzi do znaczącego wzrostu mRNA IL-4, IL-5, IL-13 oraz CCL11 w odpowiedzi na stymulację poprzez reakcję IgE-antygen, podczas gdy w komórkach pochodzących od myszy bez TLR4 obserwuje się jedynie zwiększenie ilości transkryptu IL-4 i IL-13, ale nie IL-5 lub CCL11. Ushio i wsp. [100] udokumentowali również, że komórki tuczne myszy pozbawione cząsteczki MD-2 nie wytwarzają TNF, IL-1 $\beta$ , IL-6 i IL-13 po aktywacji LPS. W badaniach Kikawada i wsp. [35] zaobserwowano natomiast, że aktywacja komórek BMMC syntetycznym lipopeptydem Pam3CSK4,

agonistą heterodimeru TLR1/TLR2, prowadzi do syntezy i wydzielania zarówno LTC<sub>4</sub>, jak i PGD<sub>2</sub>, podczas gdy komórki tuczne myszy bez TLR2 w tych warunkach nie wydzielają tych eikozanoidów.

Niektórzy autorzy sugerują, że komórki tuczne biorą udział nie tylko w mechanizmach obronnych skierowanych przeciwko bakteriom [7,20,25], ale także odgrywają rolę w obronie przeciwvirusowej [14,57]. Jednoznacznych dowodów na poparcie tej tezy, a zwłaszcza roli cząsteczek TLR3, TLR7 i TLR9 rozpoznających wirusowe RNA w aktywacji komórek tucznych jest bardzo mało. Obecnie wiadomo, że niektóre wirusy, takie jak wirus dengi [37], adenowirusy, rinowirusy [28], reowirusy [11], a także HIV [2,47,92,97], mogą wnikać do mastocytów, a następnie je aktywować. Wskazuje się nawet, że komórki tuczne mogą być rezerwuarem HIV [92]. Ciekawe przy tym wydają się obserwacje Sundstroma i wsp. [92], że aktywacja komórek CBMC zainfekowanych HIV ligandami cząsteczek TLR2, TLR4 lub TLR9 prowadzi do replikacji tego wirusa w komórce.

Infekcja komórek tucznych wirusem dengi [37], rinowirusem [28] lub HIV [92] nie indukuje degranulacji tych komórek. Co więcej, stymulacja zarówno mysich niedojrzałych komórek BMMC, jak i ludzkich komórek linii LAD i HCMC oraz dojrzałych komórek FSMC i PMC myszy agonistą TLR3 nie prowadzi do uwalniania mediatorów preformowanych [42,62,83]. Podobnie aktywacja komórek tucznych ligandami cząsteczek TLR3 i TLR9 nie indukuje degranulacji [29,62]. Stymulacja mastocytów poprzez cząsteczkę TLR3 [42] lub TLR9 [29] nie wpływa również na proces degranulacji tych komórek w odpowiedzi na aktywację IgE-zależną.

Aktywacja komórek tucznych agonistami cząsteczek TLR3, TLR7 lub TLR9 prowadzi natomiast do syntezy *de novo* i wydzielania niektórych cytokin, a zwłaszcza chemokin. W odpowiedzi na stymulację przez cząsteczkę TLR3 komórki P815 syntetyzują IL-6 [107], a komórki FSMC IL-6 i TNF [62]. Także agoniści TLR7 i TLR9 indukują syntezę i wydzielanie IL-6 i TNF przez niedojrzałe (linia P815 komórki BMMC) i dojrzałe (komórki FSMC) mastocyty [29,62,107]. Matsushima i wsp. [62] udokumentowali, że zablokowanie dróg sygnałowych TLR3, TLR7 i TLR9 całkowicie hamuje wydzielanie IL-6 z komórek FSMC. King i wsp. [37] stwierdzili, że komórki CBMC zakażone wirusem dengi syntetyzują znaczące ilości chemokin CCL3 i CCL5, a Burke i wsp. [11] opisali wydzielanie CXCL8 przez te komórki w odpowiedzi na infekcję reowirusem. Zakażone wirusem choroby Newcastle (NDV) komórki BMMC syntetyzują i wydzielają CCL4 i CCL5 [83]. Wykazano również, że stymulacja komórek BMMC agonistą TLR3 poli(I: C) prowadzi do syntezy mRNA CXCL10 i CCL5 oraz do wydzielania CCL4 i CCL5 [83]. Niedojrzałe komórki CBMC syntetyzują CCL4, CXCL8 i CXCL10 po stymulacji poli(I: C) [11], a dojrzałe komórki FSMC wydzielają CCL3, CCL5 i CXCL1 po aktywacji agonistami cząsteczek TLR3, TLR7 i TLR9, przy czym zablokowanie dróg przekazywania sygnału całkowicie hamuje syntezę CXCL1 [62].

Niezwykle ciekawe i kompleksowe badania w tym zakresie przeprowadzili Kulka i wsp. [42]. Autorzy wykazali, że stymulacja komórek HCMC ligandem TLR3 poli(I: C) nie

proceedzi do syntezy cytokin TNF, IL-5, IL-1 $\beta$  i GM-CSF przez te komórki, natomiast indukuje syntezę niewielkich ilości LT cysteinowych. Stymulacja HCMC przez poli(I: C) nieznacznie zwiększa syntezę TNF, IL-5 i IL-1 $\beta$  oraz leukotrienów przez te komórki w odpowiedzi na stymulację anafilaktyczną. Aktywacja komórek linii LAD i HMC-1 przez agonistę TLR3 prowadzi natomiast do syntezy mRNA IFN- $\alpha$  i IFN- $\beta$ , a komórek HCMC do zwiększenia poziomu mRNA IFN- $\alpha$  oraz do wydzielania tego białka. Kulka i wsp. [42] udokumentowali także, że zablokowanie cząsteczek TLR3 przez przeciwciała anti-TLR3 hamuje indukowaną przez poli(I: C) syntezę IFN- $\alpha$  przez komórki HCMC, a odpowiedź komórek BMHC pochodzących od myszy bez TLR3 na poli(I: C) jest istotnie mniejsza. Autorzy zaobserwowali również, że komórki HCMC syntetyzują IFN- $\alpha$  także w odpowiedzi na infekcję wirusem grypy PR8, reowirusem typu I i RSV. Syntezę IFN- $\beta$  przez komórki BMHC w odpowiedzi na poli(I: C) opisali także Orinska i wsp. [83].

Uwzględniając to, że mastocyty odgrywają główną rolę w przebiegu mechanizmów reakcji nadwrażliwości typu I i procesów alergicznych niezwykle ciekawe wydają się informacje, iż cząsteczki TLR mogą współuczestniczyć w procesach ich aktywacji w wyniku mechanizmów IgE-zależnych. Kulka i Metcalfe [44] jednoznacznie wskazali, że stymulacja komórek tucznych ligandem TLR3 poli(I: C) hamuje adhezję tych komórek do białek ECM fibronektyny i witronektyny, a przeciwciała anti-TLR3 częściowo znoszą hamujący efekt poli(I: C). Autorzy wykazali ponadto, że w obecności fibronektyny poli(I: C) hamuje degranulację mastocytów zależną od przeciwciał IgE. Rozważając dane, że adhezja komórek tucznych do białek ECM zwiększa odpowiedź tych komórek na aktywację pod wpływem IgE [86,106] badacze sugerują, że aktywacja TLR3 pod wpływem odpowiedniego agonisty bezpośrednio prowadzi do zmniejszenia adhezji mastocytów do białek ECM i w konsekwencji pośrednio do zmniejszenia degranulacji i uwalniania mediatorów preformowanych o wielokierunkowym działaniu, a więc do hamowania natężenia reakcji anafilaktycznej. Yoshioka i wsp. [108] zaobserwowali, że agonisci TLR2 LTA i PGN znamienne zmniejszają ekspresję Fc $\epsilon$ RI na komórkach LAD, a LTA nie tylko wpływa na obniżenie ekspresji Fc $\epsilon$ RI na dojrzałych komórkach tucznych izolowanych z płuc, ale także hamuje degranulację tych komórek w odpowiedzi na stymulację przez ten receptor. Zablokowanie TLR2 przez swoiste przeciwciała hamuje zmniejszenie ekspresji Fc $\epsilon$ RI indukowanej przez LTA, a także znamienne zmniejsza degranulację tych komórek i uwalnianie  $\beta$ -heksozaminidazy w reakcji IgE-zależnej. Kirshenbaum i wsp. [38] udokumentowali, że również LPS, agonista TLR4, indukuje zmniejszenie poziomu ekspresji Fc $\epsilon$ RI na komórkach HCMC, a także, iż preinkubacja tych komórek z LPS prowadzi do zahamowania uwalniania  $\beta$ -heksozaminidazy w reakcji anafilaktycznej. Warto podkreślić, że obniżenie poziomu ekspresji Fc $\epsilon$ RI oraz mRNA tego receptora w ludzkich hodowlanych komórkach tucznych, a także zmniejszenie IgE-zależnej degranulacji tych komórek jest obserwowane również w odpowiedzi na aktywację pod wpływem *E. coli* działającej przez interakcję lektyny wiążącej mannozę FimH, składnika rzęsek typu I tych bakterii i cząsteczki CD48 w błonie mastocytów [43].

Niezwykle interesujące obserwacje przedstawili niedawno Orinska i wsp. [83]. Autorzy wykazali, że stymulacja

dojrzałych otrzewnowych komórek tucznych myszy ligandem TLR3 prowadzi do zwiększenia ekspresji cząsteczek MHC klasy II na tych komórkach, a także do zwiększenia ekspresji cząsteczek kostymulujących CD80 i CD28. Można więc sugerować, że aktywacja mastocytów poprzez TLR3 zwiększa ich zdolność prezentacji antygenom.

Przebieg procesów alergicznych i zapalenia alergicznego jest w znacznym stopniu regulowany przez cytokiny i chemokiny wydzielane przez różne komórki uczestniczące w tych procesach [56,76,88], w tym zwłaszcza komórki tuczne i limfocyty Th1 i Th2. Dlatego niezwykle intrygujące wydają się przedstawione wyżej obserwacje, że bakterie i ich antygeny, a także wirusy, *via* cząsteczki TLR komórek tucznych, mogą modulować syntezę *de novo* i wydzielanie wielu cytokin i chemokin. Szczególnie istotne wydaje się to, że aktywowane poprzez reakcję IgE-antygeny komórki BMHC syntetyzują i wydzielają znamienne więcej IL-9 i IL-13 w obecności agonisty TLR4 LPS [90]. Rozważając rolę tych cytokin w promowaniu rozwoju zapalenia alergicznego [77,99,105], a zwłaszcza w indukcji rekrutacji eozynofiliów do miejsca toczącego się procesu, a także to, iż IL-9 silnie aktywuje komórki nabłonka do sekrecji chemokin [17] obserwacje te wydają się wskazywać, że stymulacja cząsteczek TLR4 na komórkach tucznych poprzez LPS prowadzi do amplifikacji procesu alergicznego.

#### PODSUMOWANIE

Współczesne dane jednoznacznie wskazują, że komórki tuczne wykazują ekspresję różnych typów cząsteczek TLR (tab. 1), chociaż informacje, szczególnie o mastocytach dojrzałych, są jeszcze dalece niewystarczające i wymagają dalszych szczegółowych badań. Rozważając olbrzymią rolę komórek tucznych w organizmie, zarówno w procesach fizjologicznych, jak i patologicznych, a także w mechanizmach obronnych poznanie przebiegu aktywacji tych komórek pod wpływem agonistów cząsteczek TLR wydaje się mieć zasadnicze znaczenie. Niezwykle istotne wydaje się także poznanie oddziaływania czynników humoralnych i samych ligandów TLR na poziom ekspresji tych cząsteczek; dotychczasowe dane w tym zakresie są bowiem nieliczne.

Na podstawie obecnych informacji trudno jest jeszcze podjąć się próby szerszego spojrzenia na rolę cząsteczek TLR w modulacji aktywności mastocytów. Bez wątplenia jednak można twierdzić, iż aktywacja komórek tucznych przez składniki ścian komórek bakteryjnych, *via* cząsteczki TLR, prowadzi do indukcji syntezy i wydzielania LT oraz wielu cytokin o działaniu prozapalnym i chemokin. Te mediatory indukują rozwój procesu zapalnego w miejscu infekcji bakteryjnej, co przeważnie prowadzi do szybkiej eliminacji patogenu. Przedstawione wyżej dane mogą również sugerować, iż cząsteczki TLR rozpoznające wirusowe RNA biorą udział w indukcji odpowiedzi obronnej komórek tucznych skierowanej przeciwko tym patogenom. W trakcie infekcji wirusowej komórki tuczne mogą być stymulowane do syntezy i wydzielania nie tylko czynników prozapalnych, takich jak cytokiny TNF i IL-6, chemokiny i leukotrieny, ale także do wydzielania IFN- $\alpha$  i IFN- $\beta$  – czynników silnie stymulujących aktywność komórek NK, a więc odgrywających główną rolę w mechanizmach obrony przeciwwirusowej.

Tabela 1. Częsteczki TLR komórek tucznych

	mRNA		Białko	
	Niedojrzałe	Dojrzałe	Niedojrzałe	Dojrzałe
TLR1	+ (LAD, CBMC, KU812, HCMC)	+ (FSMC)	+ (LAD)	
TLR2	+ (BMMC, MC/9, LAD, HMC-1, CBMC, HCMC, KU812)	+ (FSMC, izolowane ze skóry i płuc człowieka)	+ (LAD, HMC-1, HCMC, CBMC)	+ (izolowane z płuc człowieka, ludzkie polipów nosa i jelita myszy)
TLR3	+ (LAD, HMC-1, HCMC, BMMC, P815)	+ (izolowane ze skóry i płuc człowieka, FSMC, HCMC hodowane 8 tygodni)	+ (P815, BMMC)	+ (PMC)
TLR4	+ (BMMC, LAD, MC/9, HMC-1, CBMC, HCMC, PBMC)	+ (FSMC, izolowane z płuc człowieka)	+ (BMMC, HMC-1, CBMC, LAD)	+ (FSMC, PMC)
TLR5	+ (HCMC, LAD, HMC1)	+ (izolowane z płuc i skóry człowieka)	+ (LAD, HMC-1)	
TLR6	+ (BMMC, MC/9, KU812, CBMC, PBMC, HCMC)	+ (FSMC)	+ (HMC1, HCMC, LAD)	
TLR7	+ (BMMC, HMC-1, LAD, HCMC, P815)	+ (izolowane ze skóry i płuc człowieka, FSMC)	+ (LAD, HMC-1, HCMC, P815)	
TLR8	+ (BMMC)			
TLR9	+ (HMC-1, P815, LAD, BMMC, CBMC, HCMC)	+ (izolowane ze skóry i płuc człowieka, FSMC)	+ (LAD, HMC-1, HCMC)	
TLR10		+ (ludzkie izolowane z płuc i skóry)		

Należy przy tym podkreślić, że chemokina CXCL8 syntetyzowana przez mastocyty w odpowiedzi na infekcję wirusową jest jednym z istotnych czynników indukujących chemotaksję komórek NK [11,84], natomiast chemokiny, w tym szczególnie CCL5, wydzielany w odpowiedzi na stymulację agonistami cząsteczki TLR3 wpływa na rekrutację limfocytów T CD8<sup>+</sup> [83].

Związanie agonisty przez cząsteczki TLR może także regulować aktywność komórek tucznych w przebiegu procesów alergicznych wpływając na poziom ekspresji FcεRI i modulując ich degranulację i uwalnianie mediatorów preformowanych. Co więcej, cytokiny i chemokiny wydzielane przez komórki tuczne w odpowiedzi na stymulację przez cząsteczki TLR mogą znacząco modulować przebieg zapalenia alergicznego, tym bardziej że komórki te w odpowiedzi na działanie LPS syntetyzują cytokiny związane z limfocytami Th2 [60]. Od dawna wskazuje się, że infekcja bakteryjna i czynniki pochodzenia bakteryjnego mogą wpływać na proces zapalenia alergicznego [5,22,27,50]. Wpływ na przebieg procesu alergicznego ma także infekcja wirusowa [59,89]. Obserwacje

te znalazły potwierdzenie w pracach doświadczalnych, w których udokumentowano, że antygeny bakteryjne, szczególnie LPS, istotnie modulują przebieg tego zapalenia [19,23]. W bardzo dobrze zaplanowanych i przeprowadzonych doświadczeniach na myszach Eisenbarth i wsp. [19] wykazali, że po uczuleniu myszy antygenem podanym razem z małą dawką LPS (1 µg) dochodzi do szybkiej infiltracji eozynofiliów w płucach, indukcji syntezy IgE i IgG1 oraz cytokin IL-5 i IL-13, a więc rozwoju zapalenia Th2-zależnego. U myszy uczulonych antygenem z dużą dawką LPS (100 µg) obserwuje się natomiast napływ neutrofilów, syntezę IFN-γ oraz przeciwciał klasy IgG2a, a więc rozwój procesu zapalnego związanego z komórkami Th1. Podobne obserwacje przedstawili inni autorzy [15,24,74]. Taylor i wsp. [98] wykazali, że także ligandy TLR2 mogą wpływać na mechanizmy alergiczne hamując odpowiedź typu Th2. Ostatnio Nigo i wsp. [78] w badaniach na myszach wykazali, że u myszy uczulonych antygenem z jednoczesnym podaniem małej dawki LPS dochodzi do rozwoju zapalenia alergicznego, natomiast w tych samych warunkach u myszy bez komórek tucznych nie dochodzi ani do napływu eozynofiliów, ani



do wzrostu stężenia IL-4, IL-5, IL-13 i CCL11. Podobne badania przeprowadzone przez Murakamiego i wsp. [74] także udokumentowały, że rozwój zapalenia alergicznego jest w znacznym stopniu regulowany przez mastocyty, a LPS aktywuje te komórki do wyraźnego zwiększenia

syntezy IL-5. Badania te wskazują, że aktywacja mastocytów pod wpływem LPS poprzez TLR4 może być ważnym elementem w procesie regulacji przebiegu zapalenia alergicznego. Bez wątplenia jednak wyjaśnienie tych procesów wymaga dalszych badań.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Arock M., Ross E., Lai-Kuen R., Averlant G., Gao Z., Abraham S.N.: Phagocytic and tumor necrosis factor alpha response of human mast cells following exposure to gram-negative and gram-positive bacteria. *Infect. Immun.*, 1998; 66: 6030–6034
- [2] Bannert N., Farzan M., Friend D.S., Ochi H., Price K.S., Sodroski J., Boyce J.A.: Human mast cell progenitors can be infected by macrophagetropic human immunodeficiency virus type 1 and retain virus with maturation *in vitro*. *J. Virol.*, 2001; 75: 10808–10814
- [3] Barbuti G., Moschioni M., Censini S., Covacci A., Montecucco C., Montemurro P.: *Streptococcus pneumoniae* induces mast cell degranulation. *Int. J. Med. Microbiol.*, 2006; 296: 325–329
- [4] Bischoff S.C.: Role of mast cells in allergic and non-allergic immune responses: comparison of human and murine data. *Nat. Rev. Immunol.*, 2007; 7: 93–104
- [5] Braun-Fahrlander C., Riedler J., Herz U., Eder W., Waser M., Grize L., Maisch S., Carr D., Gerlach F., Bufer A., Lauener R.P., Schierl R., Renz H., Nowak D., von Mutius E.: Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N. Engl. J. Med.*, 2002; 347: 869–877
- [6] Brzezińska-Błaszczak E., Olejnik A.K.: Intestinal mucosa-associated bacteria modulate rat mast cell reactivity. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, 1999; 12: 31–36
- [7] Brzezińska-Błaszczak E., Rdzany R.S.: Rola komórek tłuszcznych w nieswoistej obronie przeciwbakteryjnej. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 544–553
- [8] Brzezińska-Błaszczak E., Rdzany R.S.: Lipopolisacharydy i kwasy lipoteichoicowe stymulują komórki tłuszczne szczura do syntezy leukotrienów cysteininowych. *Med. Dosw. Mikrobiol.*, 2006; 58: 223–229
- [9] Brzezińska-Błaszczak E., Rdzany R.S.: Lipoteichoic acids selectively stimulate rat mast cells to cysteinyl leukotriene generation and affect mast cell migration after tumor necrosis factor (TNF)-priming. *Immunol. Lett.*, 2007; 109: 138–144
- [10] Brzezińska-Błaszczak E., Wasiela M.: Vaginal bacterial flora activates rat peritoneal mast cells. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, 2002; 15: 233–238
- [11] Burke S.M., Issekutz T.B., Mohan K., Lee P.W., Shmulevitz M., Marshall J.S.: Human mast cell activation with virus-associated stimuli leads to the selective chemotaxis of natural killer cells by a CXCL8-dependent mechanism. *Blood*, 2008; 111: 5467–5476
- [12] Church M.K., Norn S., Pao G.J., Holgate S.T.: Non-IgE-dependent bacteria-induced histamine release from human lung and tonsillar mast cells. *Clin. Allergy*, 1987; 17: 341–353
- [13] Crivellato E., Ribatti D.: Involvement of mast cells in angiogenesis and chronic inflammation. *Curr. Drugs Targets Inflamm. Allergy*, 2005; 4: 9–11
- [14] Dawicki W., Marshall J.S.: New and emerging roles for mast cells in host defence. *Curr. Opin. Immunol.*, 2007; 19: 31–38
- [15] Delayre-Orthez C., Becker J., de Blay F., Frossard N., Pons F.: Exposure to endotoxins during sensitization prevents further endotoxin-induced exacerbation of airway inflammation in a mouse model of allergic asthma. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2005; 138: 298–304
- [16] Di Nardo A., Vitiello A., Gallo R.L.: Cutting edge: mast cell antimicrobial activity is mediated by expression of cathelicidin antimicrobial peptide. *J. Immunol.*, 2003; 170: 2274–2278
- [17] Dong Q., Louahed J., Vink A., Sullivan C.D., Messler C.J., Zhou Y., Haczk A., Huaxu F., Arras M., Holroyd K.J., Renaud J.C., Levitt R.C., Nicolaides N.C.: IL-9 induces chemokine expression in lung epithelial cells and baseline airway eosinophilia in transgenic mice. *Eur. J. Immunol.*, 1999; 29: 2130–2139
- [18] Dreskin S.C., Abraham S.N.: Production of TNF- $\alpha$  by murine bone marrow derived mast cells activated by the bacterial fimbrial protein, FimH. *Clin. Immunol.*, 1999; 90: 420–424
- [19] Eisenbarth S.C., Piggott D.A., Huleatt J.W., Visintin I., Herrick C.A., Bottomly K.: Lipopolysaccharide-enhanced, toll-like receptor 4-dependent T helper cell type 2 responses to inhaled antigen. *J. Exp. Med.*, 2002; 196: 1645–1651
- [20] Féger F., Varadarajalou S., Gao Z., Abraham S.N., Arock M.: The role of mast cells in host defense and their subversion by bacterial pathogens. *Trends Immunol.*, 2002; 23: 151–158
- [21] Feng B.S., He S.H., Zheng P.Y., Wu L., Yang P.C.: Mast cells play a crucial role in *Staphylococcus aureus* peptidoglycan-induced diarrhea. *Am. J. Pathol.*, 2007; 171: 537–547
- [22] Gereda J.E., Leung D.Y., Liu A.H.: Levels of environmental endotoxin and prevalence of atopic disease. *JAMA*, 2000; 284: 1652–1653
- [23] Gerhold K., Blümchen K., Bock A., Franke A., Avagian A., Hamelmann E.: Endotoxins and allergy: lessons from the murine model. *Pathobiology*, 2002–2003; 70: 255–259
- [24] Gerhold K., Blümchen K., Bock A., Seib C., Stock P., Kallinich T., Löhning M., Wahn U., Hamelmann E.: Endotoxins prevent murine IgE production, TH2 immune responses, and development of airway eosinophilia but not airway hyperreactivity. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2002; 110: 110–116
- [25] Henz B.M., Maurer M., Lippert U., Worm M., Babina M.: Mast cells as initiators of immunity and host defense. *Exp. Dermatol.*, 2001; 10: 1–10
- [26] Hoek K.L., Cassell G.H., Duffy L.B., Atkinson T.P.: Mycoplasma pneumoniae-induced activation and cytokine production in rodent mast cells. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2002; 109: 470–476
- [27] Holla A.D., Roy S.R., Liu A.H.: Endotoxin, atopy and asthma. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*, 2002; 2: 141–145
- [28] Hosoda M., Yamaya M., Suzuki T., Yamada N., Kamanaka M., Sekizawa K., Butterfield J.H., Watanabe T., Nishimura H., Sasaki H.: Effects of rhinovirus infection on histamine and cytokine production by cell lines from human mast cells and basophils. *J. Immunol.*, 2002; 169: 1482–1491
- [29] Ikeda R.K., Miller M., Nayar J., Walker L., Cho J.Y., McElwain K., McElwain S., Raz E., Broide D.H.: Accumulation of peribronchial mast cells in a mouse model of ovalbumin allergen induced chronic airway inflammation: modulation by immunostimulatory DNA sequences. *J. Immunol.*, 2003; 171: 4860–4867
- [30] Ikeda T., Funaba M.: Altered function of murine mast cells in response to lipopolysaccharide and peptidoglycan. *Immunol. Lett.*, 2003; 88: 21–26
- [31] Inomata N., Tomita H., Ikezawa Z., Saito H.: Differential gene expression profile between cord blood progenitor-derived and adult progenitor-derived human mast cells. *Immunol. Lett.*, 2005; 98: 265–271
- [32] Jensen C., Norn S., Stahl Skov P., Espersen F., Koch C., Permin H.: Bacterial histamine release by immunological and non-immunological lectin-mediated reactions. *Allergy*, 1984; 39: 371–377
- [33] Kalesnikoff J., Galli S.J.: New developments in mast cell biology. *Nat. Immunol.*, 2008; 9: 1215–1223
- [34] Kempuraj D., Papadopoulou N.G., Lytinas M., Huang M., Kandere-Grzybowska K., Madhappan B., Boucher W., Christodoulou S., Athanassiou A., Theoharides T.C.: Corticotropin-releasing hormone and its structurally related urocortin are synthesized and secreted by human mast cells. *Endocrinology*, 2007; 145: 43–48
- [35] Kikawada E., Bonventre J.V., Arm J.P.: Group V secretory PLA2 regulates TLR2-dependent eicosanoid generation in mouse mast cells through amplification of ERK and cPLA2 $\alpha$  activation. *Blood*, 2007; 110: 561–567
- [36] Kinet J.P.: The essential role of mast cells in orchestrating inflammation. *Immunol. Rev.*, 2007; 217: 5–7
- [37] King C.A., Anderson R., Marshall J.S.: Dengue virus selectively induces human mast cell chemokine production. *J. Virol.*, 2002; 76: 8408–8419
- [38] Kirshenbaum A.S., Swindle E., Kulka M., Wu Y., Metcalfe D.D.: Effect of lipopolysaccharide (LPS) and peptidoglycan (PGN) on human mast cell numbers, cytokine production, and protease composition. *BMC Immunol.*, 2008; 9: 45
- [39] Krishnaswamy G., Kelley J., Johnson D., Youngberg G., Stone W., Huang S.K., Bieber J., Chi D.S.: The human mast cell: functions in physiology and disease. *Front. Biosci.*, 2001; 6: 1109–1127

- [40] Krishnaswamy G., Martin R., Walker E., Li C., Hossler F., Hall K., Chi D.S.: Moraxella catarrhalis induces mast cell activation and nuclear factor kappa B-dependent cytokine synthesis. *Front. Biosci.*, 2003; 8: a40-a47
- [41] Kubo Y., Fukuishi N., Yoshioka M., Kawasoe Y., Iriguchi S., Imajo N., Yasui Y., Matsui N., Akagi M.: Bacterial components regulate the expression of Toll-like receptor 4 on human mast cells. *Inflamm. Res.*, 2007; 56: 70-75
- [42] Kulka M., Alexopoulou L., Flavell R.A., Metcalfe D.D.: Activation of mast cells by double-stranded RNA: evidence for activation through Toll-like receptor 3. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2004; 114: 174-182
- [43] Kulka M., Fukuishi N., Rottem M., Mekori Y.A., Metcalfe D.D.: Mast cells, which interact with *Escherichia coli*, up-regulate genes associated with innate immunity and become less responsive to FcεRI-mediated activation. *J. Leukoc. Biol.*, 2006; 79: 339-350
- [44] Kulka M., Metcalfe D.D.: TLR3 activation inhibits human mast cell attachment to fibronectin and vitronectin. *Mol. Immunol.*, 2006; 43: 1579-1586
- [45] Leal-Berumen I., Conlon P., Marshall J.S.: IL-6 production by rat peritoneal mast cells is not necessarily preceded by histamine release and can be induced by bacterial lipopolysaccharide. *J. Immunol.*, 1994; 152: 5468-5476
- [46] Li G., Domenico J., Jia Y., Lucas J.J., Gelfand E.W.: NF-κB-dependent induction of cathelicidin-related antimicrobial peptide in murine mast cells by lipopolysaccharide. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2009; 150: 122-132
- [47] Li Y., Li L., Wadley R., Reddel S.W., Qi J.C., Archis C., Collins A., Clark E., Cooley M., Kouts S., Naif H.M., Alali M., Cunningham A., Wong G.W., Stevens R.L., Krilis S.A.: Mast cells/basophils in the peripheral blood of allergic individuals who are HIV-1 susceptible due to their surface expression of CD4 and the chemokine receptors CCR3, CCR5, and CXCR4. *Blood*, 2001; 97: 3484-3490
- [48] Lin T.J., Garduno R., Boudreau R.T., Issekutz A.C.: *Pseudomonas aeruginosa* activates human mast cells to induce neutrophil transendothelial migration via mast cell-derived IL-1 α and β. *J. Immunol.*, 2002; 169: 4522-4230
- [49] Lin T.J., Maher L.H., Gomi K., McCurdy J.D., Garduno R., Marshall J.S.: Selective early production of CCL20, or macrophage inflammatory protein 3α, by human mast cells in response to *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect. Immun.*, 2003; 71: 365-373
- [50] Liu A.H.: Endotoxin exposure in allergy and asthma: reconciling a paradox. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2002; 109: 379-392
- [51] Liu Y., Yamada H., Ochi J.: Immunocytochemical studies on endothelin in mast cells and macrophages in the rat gastrointestinal tract. *Histochem. Cell Biol.*, 1998; 109: 301-307
- [52] Lukacs N.W., Hogaboam C.M., Kunkel S.L., Chensue S.W., Burdick M.D., Evanoff H.L., Strieter R.M.: Mast cells produce ENA-78, which can function as a potent neutrophil chemoattractant during allergic airway inflammation. *J. Leukoc. Biol.*, 1998; 63: 746-751
- [53] Majewska M., Szczepanik M.: Rola receptorów toll-podobnych (TLR) w odporności wrodzonej i nabytej oraz ich funkcja w regulacji odpowiedzi immunologicznej. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2006; 60: 52-63
- [54] Malaviya R., Abraham S.N.: Role of mast cell leukotrienes in neutrophil recruitment and bacterial clearance in infectious peritonitis. *J. Leukoc. Biol.*, 2000; 67: 841-846
- [55] Malaviya R., Gao Z., Thankavel K., van der Merwe P.A., Abraham S.N.: The mast cell tumor necrosis factor α response to FimH-expressing *Escherichia coli* is mediated by the glycosylphosphatidylinositol-anchored molecule CD48. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999; 96: 8110-8115
- [56] Mamesier E., Magnan A.: Cytokines in atopic diseases: revisiting the Th2 dogma. *Eur. J. Dermatol.*, 2006; 16: 103-113
- [57] Marshall J.S., King C.A., McCurdy J.D.: Mast cell cytokine and chemokine responses to bacterial and viral infection. *Curr. Pharm. Des.*, 2003; 9: 11-24
- [58] Marshall J.S., Leal-Berumen I., Nielsen L., Glibetic M., Jordana M.: Interleukin (IL)-10 inhibits long-term IL-6 production but not preformed mediator release from rat peritoneal mast cells. *J. Clin. Invest.*, 1996; 97: 1122-1128
- [59] Martín Mateos M.A.: Respiratory syncytial virus infection and asthma. *Allergol. Immunopathol.*, 2001; 29: 140-146
- [60] Masuda A., Yoshikai Y., Aiba K., Matsuguchi T.: Th2 cytokine production from mast cells is directly induced by lipopolysaccharide and distinctly regulated by c-Jun N-terminal kinase and p38 pathways. *J. Immunol.*, 2002; 169: 3801-3810
- [61] Matsumoto M., Kikkawa S., Kohase M., Miyake K., Seya T.: Establishment of a monoclonal antibody against human Toll-like receptor 3 that blocks double-stranded RNA-mediated signaling. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002; 293: 1364-1369
- [62] Matsushima H., Yamada N., Matsue H., Shimada S.: TLR3-, TLR7-, and TLR9-mediated production of proinflammatory cytokines and chemokines from murine connective tissue type skin-derived mast cells but not from bone marrow-derived mast cells. *J. Immunol.*, 2004; 173: 531-541
- [63] Maurer M., Theoharides T., Granstein R.D., Bischoff S.C., Bienenstock J., Henz B., Kovanen P., Piliponsky A.M., Kambe N., Vliagoftis H., Levi-Schaffer F., Metz M., Miyachi Y., Befus D., Forsythe P., Kitamura Y., Galli S.: What is the physiological function of mast cells? *Exp. Dermatol.*, 2003; 12: 886-910
- [64] McCurdy J.D., Lin T.J., Marshall J.S.: Toll-like receptor 4-mediated activation of murine mast cells. *J. Leukoc. Biol.*, 2001; 70: 977-984
- [65] McCurdy J.D., Olynych T.J., Maher L.H., Marshall J.S.: Cutting edge: distinct Toll-like receptor 2 activators selectively induce different classes of mediator production from human mast cells. *J. Immunol.*, 2003; 170: 1625-1629
- [66] Metcalfe D.D., Baram D., Mekori Y.A.: Mast cells. *Physiol. Rev.*, 1997; 77: 1033-1079
- [67] Metz M., Grimbaldeston M.A., Nakae S., Piliponsky A.M., Tsai M., Galli S.J.: Mast cells in the promotion and limitation of chronic inflammation. *Immunol. Rev.*, 2007; 217: 304-328
- [68] Metz M., Maurer M.: Mast cells – key effector cells in immune responses. *Trends Immunol.*, 2007; 28: 234-241
- [69] Mielcarek N., Hörnquist E.H., Johansson B.R., Loch C., Abraham S.N., Holmgren J.: Interaction of *Bordetella pertussis* with mast cells, modulation of cytokine secretion by pertussis toxin. *Cell. Microbiol.*, 2001; 3: 181-188
- [70] Moon T.C., Murakami M., Ashraf M.D., Kudo I., Chang H.W.: Regulation of cyclooxygenase-2 and endogenous cytokine expression by bacterial lipopolysaccharide that acts in synergy with c-kit ligand and Fcε receptor I crosslinking in cultured mast cells. *Cell. Immunol.*, 1998; 185: 146-152
- [71] Morris G.E., Parker L.C., Ward J.R., Jones E.C., Whyte M.K., Brightling C.E., Bradding P., Dower S.K., Sabroe I.: Cooperative molecular and cellular networks regulate Toll-like receptor-dependent inflammatory responses. *FASEB J.*, 2006; 20: 2153-2155
- [72] Mrabet-Dahbi S., Metz M., Dudeck A., Zuberbier T., Maurer M.: Murine mast cells secrete a unique profile of cytokines and prostaglandins in response to distinct TLR2 ligands. *Exp. Dermatol.*, 2009; 18: 437-444
- [73] Muñoz S., Hernández-Pando R., Abraham S.N., Enciso J.A.: Mast cell activation by *Mycobacterium tuberculosis*: mediator release and role of CD48. *J. Immunol.*, 2003; 170: 5590-5596
- [74] Murakami D., Yamada H., Yajima T., Masuda A., Komune S., Yoshikai Y.: Lipopolysaccharide inhalation exacerbates allergic airway inflammation by activating mast cells and promoting Th2 responses. *Clin. Exp. Allergy*, 2007; 37: 339-347
- [75] Nagasaka A., Matsue H., Matsushima H., Aoki R., Nakamura Y., Kambe N., Kon S., Uede T., Shimada S.: Osteopontin is produced by mast cells and affects IgE-mediated degranulation and migration of mast cells. *Eur. J. Immunol.*, 2008; 38: 489-499
- [76] Ngoc P.L., Gold D.R., Tzianabos A.O., Weiss S.T., Celedón J.C.: Cytokines, allergy, and asthma. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*, 2005; 5: 161-166
- [77] Nicolaides N.C., Holroyd K.J., Ewart S.L., Eleff S.M., Kiser M.B., Dragwa C.R., Sullivan C.D., Grasso L., Zhang L.Y., Messler C.J., Zhou T., Kleeberger S.R., Buetow K.H., Levitt R.C.: Interleukin 9: a candidate gene for asthma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 13175-13180
- [78] Nigo Y.I., Yamashita M., Hirahara K., Shinnakasu R., Inami M., Kimura M., Hasegawa A., Kohno Y., Nakayama T.: Regulation of allergic airway inflammation through Toll-like receptor 4-mediated modification of mast cell function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103: 2286-2291
- [79] Noli C., Miolo A.: The mast cell in wound healing. *Vet. Dermatol.*, 2001; 12: 303-313
- [80] Norn S., Stahl Skov P., Jensen C., Bøg-Hansen T.C., Lihme A., Espersen F., Permin H.: Lectin-mediated reactions in histamine release caused by bacteria. *Agents Actions*, 1984; 14: 481-483

- [81] Okumura S., Kashiwakura J., Tomita H., Matsumoto K., Nakajima T., Saito H., Okayama Y.: Identification of specific gene expression profiles in human mast cells mediated by Toll-like receptor 4 and FcεRI. *Blood*, 2003; 102: 2547–2554
- [82] Okumura S., Sagara H., Fukuda T., Saito H., Okayama Y.: FcεRI-mediated amphiregulin production by human mast cells increases mucin gene expression in epithelial cells. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2005; 115: 272–279
- [83] Orinska Z., Bulanova E., Budagian V., Metz M., Maurer M., Bulfone-Paus S.: TLR3-induced activation of mast cells modulates CD8<sup>+</sup> T-cell recruitment. *Blood*, 2005; 106: 978–987
- [84] Ottaviani C., Nasorri F., Bedini C., de Pittà O., Girolomoni G., Cavani A.: CD56<sup>high</sup>CD16<sup>+</sup> NK cells accumulate in psoriatic skin in response to CXCL10 and CCL5 and exacerbate skin inflammation. *Eur. J. Immunol.*, 2006; 36: 118–128
- [85] Pardo J., Wallich R., Ebnet K., Iden S., Zentgraf H., Martin P., Ekiciler A., Prins A., Müllbacher A., Huber M., Simon M.M.: Granzyme B is expressed in mouse mast cells *in vivo* and *in vitro* and causes delayed cell death independent of perforin. *Cell Death Differ.*, 2007; 14: 1768–1779
- [86] Ra C., Yasuda M., Yagita H., Okumura K.: Fibronectin receptor integrins are involved in mast cell activation. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1994; 94: 625–628
- [87] Rao K.N., Brown M.A.: Mast cells: multifaceted immune cells with diverse roles in health and disease. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2008; 1143: 83–104
- [88] Romagnani S.: Cytokines and chemoattractants in allergic inflammation. *Mol. Immunol.*, 2002; 38: 881–885
- [89] Sigurs N., Bjarnason R., Sigurbergsson F., Kjellman B.: Respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy is an important risk factor for asthma and allergy at age 7. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2000; 161: 1501–1507
- [90] Stassen M., Müller C., Arnold M., Hültner L., Klein-Hessling S., Neudörfl C., Reineke T., Serfling E., Schmitt E.: IL-9 and IL-13 production by activated mast cells is strongly enhanced in the presence of lipopolysaccharide: NF-κB is decisively involved in the expression of IL-9. *J. Immunol.*, 2001; 166: 4391–4398
- [91] Stelekati E., Orinska Z., Bulfone-Paus S.: Mast cells in allergy: Innate instructors of adaptive responses. *Immunobiology*, 2007; 212: 505–519
- [92] Sundstrom J.B., Little D.M., Villinger F., Ellis J.E., Ansari A.A.: Signaling through Toll-like receptors triggers HIV-1 replication in latently infected mast cells. *J. Immunol.*, 2004; 172: 4391–4401
- [93] Supajatura V., Ushio H., Nakao A., Akira S., Okumura K., Ra C., Ogawa H.: Differential responses of mast cell Toll-like receptors 2 and 4 in allergy and innate immunity. *J. Clin. Invest.*, 2002; 109: 1351–1359
- [94] Supajatura V., Ushio H., Nakao A., Okumura K., Ra C., Ogawa H.: Protective roles of mast cells against enterobacterial infection are mediated by Toll-like receptor 4. *J. Immunol.*, 2001; 167: 2250–2256
- [95] Takeda K., Akira S.: Toll-like receptors in innate immunity. *Int. Immunol.*, 2005; 17: 1–14
- [96] Talkington J., Nickell S.P.: *Borrelia burgdorferi* spirochetes induce mast cell activation and cytokine release. *Infect. Immun.*, 1999; 67: 1107–1115
- [97] Taub D.D., Mikovits J.A., Nilsson G., Schaffer E.M., Key M.L., Petrow-Sadowski C., Ruscetti F.W.: Alterations in mast cell function and survival following *in vitro* infection with human immunodeficiency viruses-1 through CXCR4. *Cell. Immunol.*, 2004; 230: 65–80
- [98] Taylor R.C., Richmond P., Upham J.W.: Toll-like receptor 2 ligands inhibit TH2 responses to mite allergen. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2006; 117: 1148–1154
- [99] Temann U.A., Geba G.P., Rankin J.A., Flavell R.A.: Expression of interleukin 9 in the lungs of transgenic mice causes airway inflammation, mast cell hyperplasia, and bronchial hyperresponsiveness. *J. Exp. Med.*, 1998; 188: 1307–1320
- [100] Ushio H., Nakao A., Supajatura V., Miyake K., Okumura K., Ogawa H.: MD-2 is required for the full responsiveness of mast cells to LPS but not to PGN. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2004; 323: 491–498
- [101] Varadaradjalou S., Féger F., Thieblemont N., Hamouda N.B., Pleau J.M., Dy M., Arock M.: Toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4 differentially activate human mast cells. *Eur. J. Immunol.*, 2003; 33: 899–906
- [102] Wang S.W., Oh C.K., Cho S.H., Hu G., Martin R., Demissie-Sanders S., Li K., Moyle M., Yao Z.: Amphiregulin expression in human mast cells and its effect on the primary human lung fibroblasts. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2005; 115: 287–294
- [103] Wasiela M., Brzezińska-Błaszczak E.: The influence of anaerobic bacteria and mycoplasma isolated from the genital tract on mast cell activation. *Med. Dosw. Mikrobiol.*, 2000; 52: 389–396
- [104] Wierzbicki M., Brzezińska-Błaszczak E.: Diverse effect of bacterial cell wall component on mast cell degranulation, cysteinyl leukotriene generation and migration. *Microbiol. Immunol.*, 2009; 53: 694–703
- [105] Wills-Karp M., Luyimbazi J., Xu X., Schofield B., Neben T.Y., Karp C.L., Donaldson D.D.: Interleukin-13: central mediator of allergic asthma. *Science*, 1998; 282: 2258–2261
- [106] Wyczółkowska J., Dastych J., Ślusarczyk A., Kolago B.: Relations between FcεRI crosslinking-induced mast cell activation and adhesion to fibronectin. *J. Physiol. Pharmacol.*, 1994; 45: 501–516
- [107] Yang H., Wei J., Zhang H., Lin L., Zhang W., He S.: Upregulation of Toll-like receptor (TLR) expression and release of cytokines from P815 mast cells by GM-CSF. *BMC Cell. Biol.*, 2009; 10: 37
- [108] Yoshioka M., Fukuishi N., Iriguchi S., Ohsaki K., Yamanobe H., Inukai A., Kurihara D., Imajo N., Yasui Y., Matsui N., Tsujita T., Ishii A., Seya T., Takahama M., Akagi M.: Lipoteichoic acid downregulates FcεRI expression on human mast cells through Toll-like receptor 2. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2007; 120: 452–461
- [109] Yoshioka M., Fukuishi N., Kubo Y., Yamanobe H., Ohsaki K., Kawasoe Y., Murata M., Ishizumi A., Nishii Y., Matsui N., Akagi M.: Human cathelicidin CAP18/LL-37 changes mast cell function toward innate immunity. *Biol. Pharm. Bull.*, 2008; 31: 212–26
- [110] Zanetti M.: Cathelicidins, multifunctional peptides of the innate immunity. *J. Leukoc. Biol.*, 2004; 75: 39–48

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.