

Received: 2010.02.02
Accepted: 2010.03.18
Published: 2010.03.31

Oddziaływanie komórek dendrytycznych z limfocytami T regulatorowymi*

Dendritic cell – regulatory T-cell interaction

Justyna Wojas, Elżbieta Pajtasz-Piasecka

Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu

Streszczenie

Jednym z głównych sposobów zabezpieczenia prawidłowego funkcjonowania organizmu jest utrzymanie stanu dynamicznej równowagi między reakcjami odpornościowymi, zaangażowanymi do eliminacji patogenów, a mechanizmami odpowiedzialnymi za wyciszenie odpowiedzi odpornościowej. W trakcie indukcji odpowiedzi i podczas powstawania tolerancji, komórki dendrytyczne (DC) i limfocyty T oddziałują ze sobą. DC wpływają na różnicowanie, migrację i aktywność limfocytów T CD4⁺ zarówno poprzez bezpośredni kontakt, jak i przez wytwarzanie cytokin. W odpowiednim mikrośrodowisku, w limfocytach T może dojść do indukcji czynnika transkrypcyjnego FoxP3 (forkhead box P3), który decyduje o regulatorowych właściwościach tych komórek. Jednak nadal pozostaje niepewne, czy za indukcję komórek T regulatorowych (Treg) w większym stopniu jest odpowiedzialny odpowiedni zestaw cytokin obecnych w środowisku, stymulacja DC należących do określonej subpopulacji, czy może rodzaj antygeny prezentowanego przez DC. Zarówno powstające w grasicy, naturalne komórki Treg (nTreg), jak i indukowane w tkankach obwodowych limfocyty Treg (iTreg) wykorzystują podobne mechanizmy pobudzania tolerancji. Ich aktywność jest związana z wytwarzaniem cytokin przeciwzapalnych, takich jak TGF- β (transforming growth factor β) i interleukina 10 lub bezpośrednim kontaktem z komórką docelową. W ostatnim czasie pojawiły się doniesienia mówiące o tym, że komórki Treg pod wpływem odpowiednich cytokin (np. interleukiny 6) mogą utracić zdolność do ekspresji czynnika transkrypcyjnego FoxP3, co może pociągnąć za sobą zanik funkcji supresorowych w stosunku do proliferujących limfocytów T.

Słowa kluczowe: komórki dendrytyczne • limfocyty T regulatorowe • nTreg • iTreg • tolerancja immunologiczna

Summary

The one of the main modes of homeostasis protection is maintaining the balance between anti-microbial immunological reactions and mechanisms involved in immune response suppression. The interaction between dendritic and T cells plays a crucial role in inducing both an immune response and immunological tolerance. Dendritic cells are also able to affect the differentiation, migration, and activation of CD4⁺ T cells using cell-to-cell contact and/or cytokine production. The proper cytokine microenvironment can influence the induction of FoxP3 transcription factor in T cells, determining the regulatory properties of these cells. However, it is still unclear what is more substantial for Treg induction: the cytokines in the microenvironment, stimulation by a specific DC population, or the type of antigens presented by DC. Activated natural Treg as well as induced Treg cells use similar mechanisms to generate tolerance, for example by the production of such anti-inflammatory cytokines as TGF- β or IL-10 and by direct contact with target cells. Recently, some reports have described the possibility that Treg cells lose FoxP3 expression followed by loss of suppressive function directed against proliferating T lymphocytes.

Key words: dendritic cells • DC • regulatory T cells • nTreg • iTreg • immunological tolerance

* Praca finansowana przez MNiSW (grant nr N N401 235334).

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=907948>

Word count: 2777

Tables: 2

Figures: 1

References: 57

Adres autorki: dr Elżbieta Pajtasz-Piasecka, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L.Hirsfelda, ul. Weigla 12, 53-114 Wrocław; e-mail: pajtasz@iitd.pan.wroc.pl

Wykaz skrótów: **APC** – komórki prezentujące antygen (antigen presenting cells); **CTLA-4** – antygen 4-cytotoksycznego limfocyty T (cytotoxic T lymphocyte antigen-4); **DC** – komórki dendrytyczne (dendritic cells); **FoxP3** – czynnik transkrypcyjny limfocytów T regulatorowych (forkhead box P3); **GALT** – tkanka limfatyczna związana z jelitami (gut-associated lymphoid tissue); **GITR** – receptor czynnika martwicy nowotworu (glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor); **IBD** – przewlekła choroba układu pokarmowego (inflammatory bowel disease); **IDO** – indoloamino-2,3-dioksygenaza (indoleamine 2,3-dioxygenase); **IL** – interleukina; **LC** – komórki Langerhansa (Langerhans cells); **MHC** – główny układ zgodności tkankowej (major histocompatibility complex); **mTECs** – komórki epitelialne rdzenia grasicy (medullary thymic epithelial cells); **NK** – naturalne komórki cytotoksyczne (natural killers); **Nrp-1** – neuropilina 1 (neuropilin 1); **RA** – kwas retinowy (retinoic acid); **TCR** – receptor limfocyty T (T cell receptor); **TGF** – transformujący czynnik wzrostu (transforming growth factor); **TSLP** – limfopoetyna zrębu grasicy (thymic stromal lymphopoietin).

WPROWADZENIE

Jednym z głównych sposobów zabezpieczenia prawidłowego funkcjonowania organizmu jest utrzymanie stanu dynamicznej równowagi między reakcjami odpornościowymi, zaangażowanymi do eliminacji patogenów, a mechanizmami odpowiedzialnymi za wyciszenie odpowiedzi odpornościowej. Zaburzenie takiego stanu równowagi może prowadzić do rozwoju chorób o podłożu autoimmunologicznym [9,39].

Do walki z patogenami układ odpornościowy, oprócz odpowiedzi nieswoistej, wykorzystuje mechanizmy odpowiedzi swoistej, umożliwiającej precyzyjne rozpoznanie antygeny. Istotną rolę w tym procesie odgrywają limfocyty T CD4⁺ zdolne do wytwarzania interferonu γ (IFN- γ) i promujące odpowiedź komórkową (określane jako limfocyty pomocnicze typu 1 – Th1), a także limfocyty odpowiedzialne za powstawanie odpowiedzi humoralnej (określane jako limfocyty pomocnicze typu 2 – Th2), wytwarzające IL-4. Badania prowadzone w ciągu ostatnich lat wykazały, że w polaryzacji odpowiedzi swoistej uczestniczą również inne subpopulacje limfocytów CD4⁺, takie jak Th9 (zwalczanie pasożytów, przewlekłe alergie), Th17 (odpowiedź przeciwbakteryjna i przeciwgrzybicza), Th22 (procesy zapalne w skórze, łuszczyca) oraz komórki T regulatorowe odpowiedzialne za wyciszenie odpowiedzi i indukowanie tolerancji immunologicznej. Pojawienie się tych subpopulacji limfocytów jest wynikiem bezpośrednich interakcji z komórkami dendrytycznymi (DC – dendritic cells) oraz obecności odpowiednich cytokin (rycina 1).

W połowie lat 90 ub.w. Sakaguchi i wsp. odkryli, że komórki T o fenotypie CD4⁺CD25⁺ wykazują właściwości immunoregulacyjne i nazwali je limfocytami T regulatorowymi (Treg) [37]. Szeroko zakrojone badania nad zakresem działania tej subpopulacji wykazały, że ma ona decydujący udział w indukowaniu tolerancji organizmu na

własne antygeny. Należy jednak podkreślić, że funkcje regulatorowe nie są ograniczone jedynie do tej subpopulacji limfocytów T. Podobne właściwości mogą wykazywać niektóre subpopulacje komórek T CD8⁺, limfocytów T $\delta\gamma$, naturalnych komórek cytotoksycznych (NK – natural killers), komórek dendrytycznych oraz limfocyty B wytwarzające interleukinę (IL) 10 [33]. Aktywność supresyjną względem limfocytów Th2 wykazują limfocyty Th1, a limfocyty Th2 względem Th1 [30].

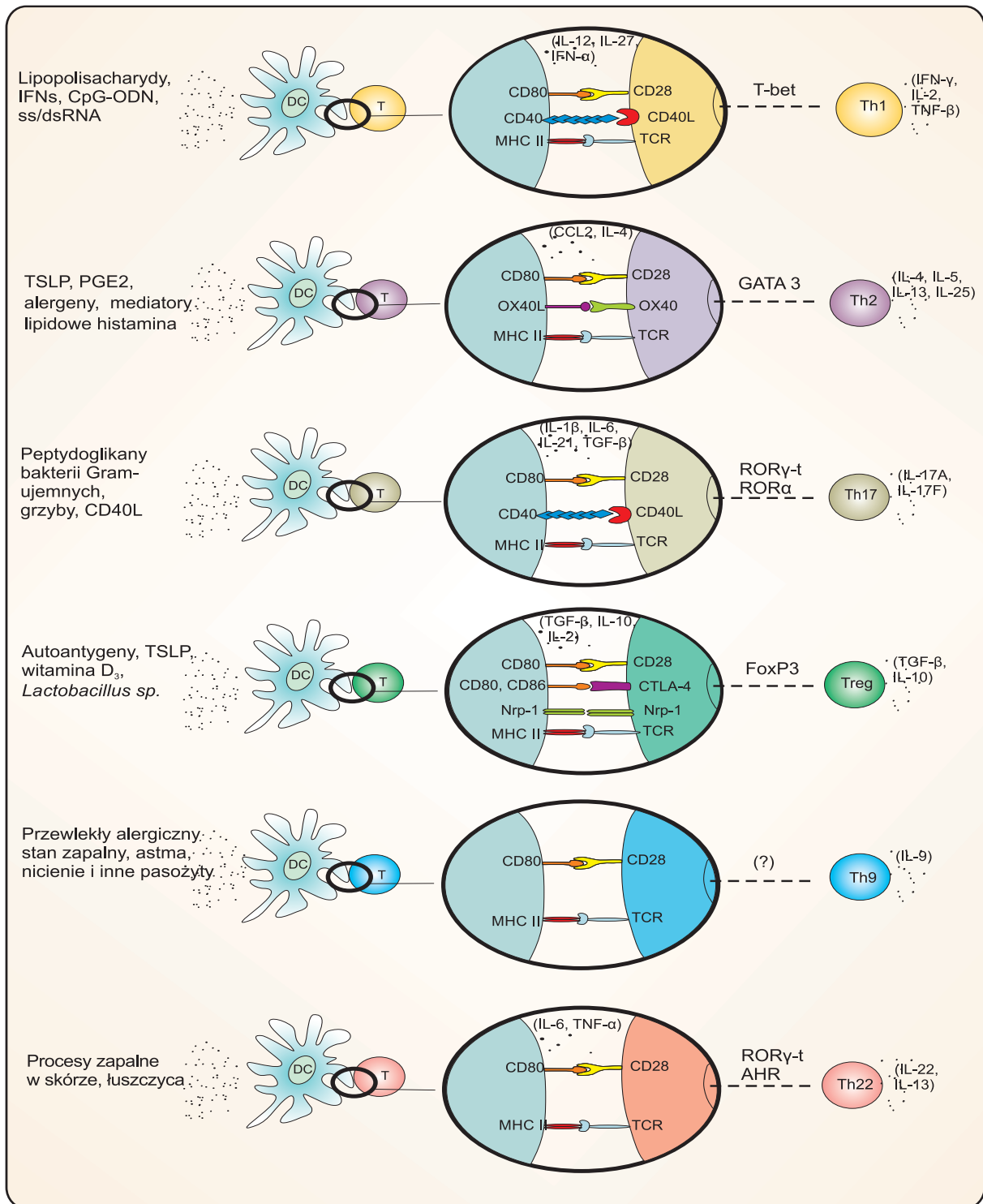
Tak jak w przypadku pozostałych komórek CD4⁺, różnicowanie, migracja i aktywność limfocytów Treg są kontrolowane zarówno przez czynniki stanowiące mikrośrodowisko cytokinowe, jak i przez DC (rycina 1). Stopień dojrzałości DC oraz miejsce ich oddziaływania z limfocytami decydują o powstaniu i podtrzymywaniu stanu tolerancji [54].

Krótką charakterystykę komórek dendrytycznych oraz subpopulacji limfocytów T regulatorowych przedstawiono w tabelach 1 i 2.

ROLA CZYNNIKA FoxP3 W IMMUNOSUPRESYJNEJ AKTYWNOŚCI LIMFOCYTÓW TREG

Limfocyty Treg wykazują ekspresję takich markerów jak CD4, CD25 (łańcuch α receptora IL-2), CD122 (łańcuch β receptora IL-2), CD27 (tumor necrosis factor receptor – TNFR), GITR (glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor, TNFR SF18 – tumor necrosis factor receptor superfamily 18), CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte antigen-4) oraz niską ekspresję cząsteczki CD127 (łańcuch α receptora IL-7 i TSLP – thymic stromal lymphopoietin) [19,24,49].

Żaden z wymienionych antygenów nie jest charakterystyczny jedynie dla limfocytów Treg, występują one także na innych komórkach układu odpornościowego. Jednak dokładniejsza analiza stopnia ekspresji danego antygeny



Ryc. 1. Wpływ mikrośrodowiska na zdolność komórek dendrytycznych do indukowania różnicowania naiwnych limfocytów T CD4⁺.

W wyniku kontaktu z antygenami obecnymi w środowisku, komórki dendrytyczne dojrzewają, nabywają zdolności do prezentacji naiwnym limfocytom T CD4 pochłoniętego antygeny w kontekście cząsteczek klasy II głównego układu zgodności tkankowej (MHC). W interakcji DC z komórkami T uczestniczą również cząsteczki kostymulujące i odpowiednie cytokiny. W wyniku oddziaływania tych komórek w limfocytach T dochodzi do indukcji odpowiedniego czynnika transkrypcyjnego, który determinuje kierunek różnicowania naiwnych limfocytów T CD4⁺, a w rezultacie prowadzi do polaryzacji odpowiedzi lub powstania tolerancji immunologicznej; **AHR** – receptor węglowodórów arylowych jako czynnik transkrypcyjny limfocytów Th22 (aryl hydrocarbon receptor); **FoxP3** – czynnik transkrypcyjny limfocytów T regulatorowych (forkhead box P3); **GATA3** – czynnik transkrypcyjny limfocytów Th2 (GATA binding protein 3); **IFN** – interferon; **ODN** – oligodeksynukleotydy; **PGE2** – prostaglandyna E2; **ss/dsRNA** – jedno/dwuniciowy kwas rybonukleinowy (single stranded/double-stranded ribonucleic acid); **ROR** – receptor jądrowy (retinoid-related orphan receptor); **T-bet** – czynnik transkrypcyjny limfocytów Th1 (T-box expressed in T-cells); **TGF** – transformujący czynnik wzrostu (transforming growth factor); **TSLP** – limfopoetyna zębu grasicy (thymic stromal lymphopoietin) [na podst. 10,34,42,45]

Tabela 1. Podstawowe informacje dotyczące komórek dendrytycznych [wg 1,13]

Komórki dendrytyczne (DC, dendritic cells), zależnie od linii rozwojowej, z której się wywodzą, mogą być podzielone na komórki plazmacytoidalne (pDC), określane również jako limfoidalne i komórki mieloidalne (konwencjonalne, cDC). Cechami umożliwiającymi rozróżnienie tych subpopulacji są różnice w fenotypie i zdolności do wytwarzania cytokin, np. IFN- α .

DC występują niemal we wszystkich tkankach organizmu. Konwencjonalne DC uważane są za profesjonalne komórki prezentujące antygen. Jako niedojrzałe pochłaniają antygen i migrują z nielimfoidalnych tkanek obwodowych do węzłów chłonnych. Tam, jako dojrzałe cDC prezentują antygen naiwnym limfocytom T.

Cechy cDC	Niedojrzałe DC	Dojrzałe DC
Zdolność do endocytozy	silna	brak
Ekspresja receptorów PRR (pattern-recognition receptors), takich jak: lektyny typu C, TLR (Toll-like – receptors)	wysoka	brak
Ekspresja receptorów chemokin (m.in. CCR2, CCR5, CCR6)	wysoka	niska
Ekspresja receptora CCR7	brak	obecna
Ekspresja cząsteczek kostymulujących CD80, CD86	niska	wysoka
Ekspresja CD1a	wysoka	niska
Ekspresja CD11c	wysoka	wysoka
Zdolność do prezentacji antygenu	słaba	silna
Zdolność do wytwarzania cytokin, m. in. IL-4, IL-6, IL-12, IFN- γ	słaba	silna

Tabela 2. Podstawowe informacje dotyczące limfocytów T regulatorowych [wg 9,17,49,57]

Komórki T regulatorowe (Treg) są limfocytami odpowiedzialnymi za indukowanie tolerancji wobec tkanek organizmu poprzez bezpośrednie hamowanie aktywności autoagresywnych limfocytów T, a także za wyciszenie trwającej odpowiedzi odpornościowej oraz wytwarzanie cytokin immunosupresyjnych. Efektem ich działania jest indukowanie tolerancji pokarmowej, tolerancji wobec przeszczepu lub nowotworu oraz ochrona płodu. Wśród komórek regulatorowych można wyróżnić tzw. naturalne komórki T regulatorowe pochodzące z grasicy (**nTreg**) oraz indukowane, powstające w tkankach obwodowych (**iTreg**).

	nTreg	iTreg	
		Th3	Tr1
Główne markery	CD4, CD25, FoxP3 (forkhead box P3)	CD4, FoxP3	CD4
Wytwarzane cytokiny	TGF- β (transforming growth factor) i IL-10 (niewielkie ilości)	TGF- β	IL-10
Sposób działania	bezpośredni kontakt z komórką docelową	głównie uwalnianie cytokin	głównie uwalnianie cytokin
Skutek aktywności	tolerancja wobec autoantygenów	tolerancja pokarmowa	hamowanie aktywności komórek Th1, Th2 i DC

niejednokrotnie pozwala na wyróżnienie komórek T regulatorowych. Na przykład wśród ludzkich limfocytów CD4⁺ krwi obwodowej istnieje subpopulacja charakteryzująca się niską ekspresją tego antygeny (CD4^{low}). Bryl i wsp. dowiedli, że komórki CD4^{low} mają charakterystykę komórek T regulatorowych (wykazując ekspresję czynnika FoxP3 – forkhead box P3, a także wysoką ekspresję markera CD25) [5]. Podobnie w przypadku antygenów CD25 i CD127, które występują zarówno na komórkach Treg, jak i na aktywowanych limfocytach T efektorowych. Rozróżnienie obu subpopulacji limfocytów jest możliwe dzięki różnicy w intensywności ekspresji receptora CD127. Komórki T CD25⁺ o wysokiej ekspresji cząsteczki

CD127 są komórkami efektorowymi, natomiast limfocyty CD25⁺ o niskiej ekspresji markera CD127 są komórkami regulatorowymi [18,20,31]. Zjawisko to zostało potwierdzone w badaniach przeprowadzonych przez Liu i wsp., którzy wykazali ponadto odwrotną korelację w ekspresji antygeny CD127 i czynnika transkrypcyjnego FoxP3. Dowiedli oni także, że precyzyjne zdefiniowanie subpopulacji komórek Treg CD4⁺ należy wiązać bardziej z poziomem ekspresji antygeny CD127 i czynnika FoxP3 niż antygeny CD25. Subpopulacja limfocytów T regulatorowych CD4⁺FoxP3⁺ w większym stopniu odpowiada zatem populacji CD4⁺CD127^{low} niż populacji komórek CD4⁺CD25^{+/high} [26].

Czynnik FoxP3 jest uznawany obecnie za najbardziej charakterystyczny marker limfocytów T regulatorowych. Jego ekspresja indukowana jest przez TGF- β (transforming growth factor β) [36,43]. U myszy czynnik FoxP3 występuje w limfocytach Treg zarówno CD4⁺, jak i CD8⁺ [35,50,51]. W ludzkich komórkach jego ekspresja jest zmienna i w znacznym stopniu podatna na wpływ środowiska cytokinowego. Obserwowano bowiem ekspresję czynnika FoxP3 w aktywowanych komórkach efektorowych oraz niektórych typach komórek nowotworowych [51]. Jednak wykazano możliwość obniżenia jego ekspresji w komórkach Treg, co pociągało za sobą ich przemianę w komórki niewykazujące zdolności do indukowania tolerancji [56].

Białko FoxP3 jest głównym czynnikiem transkrypcyjnym, regulującym ekspresję genów związanych z aktywnością immunoregulacyjną limfocytów [38]. Czynnik ten indukuje ekspresję licznych genów zarówno cząsteczek powierzchniowych, jak i czynników wewnątrzcytoplazmatycznych, m.in. Fgl2 (fibrinogen-like protein 2), CD73 (L-VAP-2, lymphocyte-vascular adhesion protein-2), CD39 (vascular ATP diphosphohydrolase), TRAIL (TNF-related apoptosis inducing ligand) i CTLA-4 [33]. Ponadto moduluje ekspresję genu neuropiliny 1 (Nrp-1). Odkryto, że Nrp-1 występuje na mysich komórkach T regulatorowych, lecz nie na naiwnych limfocytach T. Sarris i wsp. zaproponowali mechanizm, poprzez który Nrp-1 wpływa na powstawanie tolerancji. Wydaje się, że mechanizm ten zależy od mikrośrodowiska cytokinowego. Jeśli w środowisku występują czynniki prozapalne, homotypowe oddziaływanie neuropiliny obecnej na powierzchni komórek Treg i DC około dwukrotnie wydłuża czas interakcji między nimi w porównaniu do czasu trwania kontaktu DC z naiwnymi limfocytami T [40].

Mimo że czynnik FoxP3 wciąż jest najbardziej charakterystycznym markerem limfocytów T regulatorowych, coraz częściej pojawiają się doniesienia, że niektóre typy komórek regulatorowych mogą nie wykazywać ekspresji tego czynnika. Na przykład jego brak obserwowany jest w przypadku komórek Tr1, jednej z subpopulacji indukowanych limfocytów T regulatorowych (tabela 2) [50].

POWSTAWANIE NATURALNYCH LIMFOCYTÓW TREG (nTREG) W GRASICY

Za prawidłowe różnicowanie się i dojrzewanie większości limfocytów T są odpowiedzialne procesy zachodzące w grasicy. Do selekcji limfocytów T dochodzi w zależności od powinowactwa receptora limfocytu T (T cell receptor – TCR) do kompleksu autoantygen-cząsteczka głównego układu zgodności tkankowej (major histocompatibility complex – MHC) na powierzchni komórki prezentującej antygen (antigen presenting cell – APC). Pozytywna selekcja występuje w przypadku średniego powinowactwa, a komórki, które jej ulegną, opuszczają grasicę i zasilają pulę limfocytów T w tkankach obwodowych. Natomiast negatywnej selekcji poddawany jest limfocyt, który nie rozpoznaje cząsteczki MHC, wskutek czego ulegnie apoptozie (zjawisko określane jako „śmierć z zaniedbania”) oraz w przypadku zbyt dużego powinowactwa do własnych antygenów. Dochodzi wówczas do delecji danego klonu komórek T, co zabezpiecza organizm przed atakiem zbyt reaktywnych limfocytów na własne tkanki [15,27]. Zatem za

prawidłową reaktywność limfocytów T odpowiada zachodząca w grasicy delecja klonalna, a po opuszczeniu przez limfocyty grasicy – anergia klonalna. Jednak komórki epithelialne rdzenia grasicy (medullary thymic epithelial cells – mTECs) u myszy oraz mTECs i komórki dendrytyczne u ludzi mają zdolność do pozytywnego selekcjonowania limfocytów o dużym powinowactwie do autoantygenów, wskutek czego grasicę opuszczają limfocyty T o charakterystyce komórek regulatorowych [15]. W latach 80. XX wieku Taguchi zaobserwował, że u myszy poddanych tymektomii trzeciego dnia po urodzeniu rozwijają się choroby autoimmunologiczne [46]. Zgodnie z zaproponowanym przez niego wyjaśnieniem, powstawanie tolerancji mogłoby być związane z aktywnością komórek pochodzących z grasicy. Dalsze badania dowiodły, że istnieje populacja tzw. naturalnych limfocytów regulatorowych (nTreg), które różnicują się w grasicy, a ich nieprawidłowy rozwój prowadzi do alergii, chorób o podłożu autoimmunologicznym, chorób nowotworowych i ma wpływ na odrzucanie przeszczepu (tabela 2) [27,33].

Wytwarzana przez komórki ciała Hassala, TSLP jest jedną z cytokin wpływających na zdolność DC do indukowania różnicowania limfocytów CD4⁺CD25⁻ do komórek regulatorowych CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺. W jej obecności wzrasta ekspresja cząsteczek kostymulujących CD80 i CD86 na DC, zwiększając efektywność tych komórek w indukowaniu Treg [21,25,47,52,55]. Do prawidłowego rozwoju limfocytów nTreg w grasicy niezbędna jest również IL-2, za jej wytwarzanie odpowiedzialna jest populacja dojrziałych limfocytów T obecnych w części rdzeniowej grasicy. Obserwacje te zostały potwierdzone na myszach pozbawionych genu kodującego łańcuch β receptora IL-2, które nie były zdolne do generowania limfocytów T regulatorowych [30,55]. Ponadto wydaje się, że rolą IL-2 w grasicy jest indukowanie supresorowych funkcji limfocytów CD4⁺CD25⁺ [30].

Po opuszczeniu grasicy naturalne Treg nie proliferują, jednocześnie są zdolne do hamowania proliferacji efektorowych limfocytów CD4⁺ i CD8⁺ [28].

RÓZNICOWANIE LIMFOCYTÓW TREG W TKANKACH OBWODOWYCH (iTREG)

Limfocyty T CD4⁺ mogą nabyć zdolności immunoregulacyjnych także poza grasicą. Naiwny limfocyt T po kontakcie z antygenem prezentowanym na powierzchni DC, w odpowiednim mikrośrodowisku cytokinowym może ulec delecji, bądź zróżnicować się do komórki efektorowej lub regulatorowej (rycina 1) [51]. Tolerogenne DC znajdujące się w tkankach limfatycznych, a także komórki Langerhansa (LC) wykazują ekspresję cząsteczki DEC-205 (CD205), będącej receptorem lektynowym, uczestniczącym w pochłanianiu antygenu [31]. Tak więc, znaczący wpływ na indukowanie komórek regulatorowych ma stopień dojrzałości komórek prezentujących antygen. Występujące w tkankach obwodowych, niedojrzałe DC wykazują niską ekspresję cząsteczek kostymulujących, w związku z tym nie mają zdolności do pełnego pobudzenia limfocytów T efektorowych. Niedojrzałe DC mają jednak znaczenie w utrzymywaniu aktywnej tolerancji wobec własnych tkanek poprzez stymulowanie różnicowania naiwnych limfocytów do komórek regulatorowych Tr1 CD4⁺CD25⁺ [14,42].

Sposób, w jaki dochodzi do śmierci komórki w tkankach obwodowych wpływa na typ generowanej odpowiedzi. W zależności od tego, czy komórka umiera w wyniku apoptozy czy nekrozy, organizm decyduje o tym, czy zostanie pobudzona odpowiedź odpornościowa, czy też rozwinię się tolerancja. W przypadku apoptozy, komórki dendrytyczne pochłaniają pojawiające się w tkance ciała apoptotyczne i migrują do węzłów chłonnych. Antygeny pochodzące z ciałek apoptotycznych prezentowane są z udziałem cząsteczek MHC, jednak bez udziału cząsteczek kostymulujących, skutkiem czego indukowana jest tolerancja wobec tych antygenów [22]. Apoptozie towarzyszy również wzrost stężenia czynników przeciwzapalnych (np. IL-10 lub TGF- β) w środowisku [53]. Tarbell i wsp. sugerują, że pochłanianie ciałek apoptotycznych przez DC o fenotypie CD8⁺CD205⁺ inicjuje wytwarzanie TGF- β przez te komórki [47], co może mieć wpływ na różnicowanie komórek FoxP3⁺ z naiwnych limfocytów T [22]. Gdy śmierć komórek następuje w wyniku nekrozy, uwalniane związki (m.in. kwas moczowy) indukują pełne dojrzewanie DC, dochodzi więc do pełnej prezentacji pochłoniętego antygeny z udziałem cząsteczek kostymulujących, a w rezultacie do aktywacji odpowiedzi immunologicznej [22].

Komórki regulatorowe, które różnicują się w obwodowych tkankach limfatycznych, wykazują dużą swoistość antygenową i oddziałują głównie na limfocyty rozpoznające te same antygeny. Swoistość ta prawdopodobnie jest związana z udziałem DC, które pochłaniając antygeny pochodzące z określonego narządu lub tkanki, indukują różnicowanie komórek Treg o swoistości odpowiedniej prezentowanym antygenom tkankowym. Proces ten wydaje się szczególnie ważny w powstawaniu tolerancji wobec przeszczepów [16].

Indukowanie limfocytów Treg przez DC śledziony

W śledzionie występują dwie subpopulacje DC: o fenotypie CD8⁺CD205⁺ oraz CD8⁺DCIR-2⁺ (dendritic cell inhibitory receptor-2). Obie subpopulacje wpływają na różnicowanie limfocytów T, przy czym komórki CD8⁺CD205⁺ indukują wytwarzanie IFN- γ przez limfocyty Th1, a komórki CD8⁺DCIR-2⁺ generują odpowiedź typu Th2. Komórki dendrytyczne o fenotypie CD8⁺CD205⁺ mogą także indukować limfocyty T FoxP3⁺. Yamazaki i wsp. dowiedli, że w procesie tym bierze udział TGF- β wytwarzany przez DC CD8⁺, natomiast nie uczestniczy IL-10 [7,48].

Indukowanie tolerancji w skórze

Komórki dendrytyczne i limfocyty T regulatorowe uczestniczą w utrzymaniu homeostazy w skórze. W tym narządzie niezwykle istotne jest, aby poza tolerancją wobec własnych tkanek, rozwijała się tolerancja względem antygenów i mikroorganizmów, które dostają się z zewnątrz i nie wykazują właściwości patogennych. Limfocyty Treg FoxP3⁺ dzięki obecności receptora CCR4 i wysokiej ekspresji cząsteczki CD103 (integryny zbudowanej z łańcuchów $\alpha\beta$ 7) mogą migrować i gromadzić się w skórze, aktywnie utrzymując stan tolerancji. Dodatkowo, komórki LC poprzez wytwarzanie TGF- β wpływają na indukowanie limfocytów Treg w skórze. W warunkach fizjologicznych komórki LC oddziałują na limfocyty Treg także poprzez bezpośredni kontakt, prezentując niektóre antygeny w kontekście cząsteczek MHC klasy II [55].

Pod wpływem aktywnej postaci witaminy D3 (1,25-dihydroksy witamina D3, 1,25(OH)2D3, kalcytriol) spada ekspresja cząsteczek kostymulujących na mieloidalnych DC skóry oraz na LC i komórki dendrytyczne stają się komórkami tolerogennymi [12]. Kalcytriol jest odpowiedzialny również za wzrost wytwarzania IL-10 przez DC, czego następstwem jest wzrost liczby i aktywności komórek T regulatorowych [3,6]. Bezpośrednio pod wpływem kalcytriolu komórki T regulatorowe mogą migrować do węzłów chłonnych związanych ze skórą i tam aktywnie hamować proliferację i różnicowanie limfocytów T [12].

Oddziaływanie DC-iTreg – powstawanie tolerancji pokarmowej

Specyficzne środowisko, jakie panuje w jelicie, a zwłaszcza obecność dużej liczby mikroorganizmów powoduje, że decyzja o rozwoju w tym miejscu odpowiedzi odpornościowej, bądź alternatywnie – tolerancji jest niezwykle istotna. Nadmierna aktywacja układu odpornościowego może doprowadzić do rozwoju przewlekłych chorób układu pokarmowego (inflammatory bowel disease – IBD) [3].

Różnicowanie limfocytów do komórek Treg zachodzi w tkance limfatycznej związanej z jelitem (gut-associated lymphoid tissue – GALT). Prawdopodobnie, powstające w tej tkance limfocyty T regulatorowe mają zdolność do migracji poza układ pokarmowy, powiększając w ten sposób pulę krążących komórek Treg [3]. Ozdemir i wsp. donieśli, że DC wyizolowane z blaszki właściwej (*lamina propria*) mają większe zdolności do indukowania komórek Treg niż DC pochodzące z narządów limfatycznych [33]. Belkaid i wsp. donieśli natomiast, że w regulacji odpowiedzi biorą udział także makrofagi z blaszki właściwej, które są zdolne do stymulacji różnicowania komórek FoxP3⁺ *in vitro* w obecności TGF- β [3].

W mysim układzie pokarmowym występuje subpopulacja komórek dendrytycznych charakteryzująca się ekspresją cząsteczki powierzchniowej CD103. Komórki te uczestniczą w powstawaniu tolerancji pokarmowej poprzez silne indukowanie czynnika FoxP3 w limfocytach CD4⁺ w obecności TGF- β oraz metabolitów witaminy A (głównie kwasu retinowego – RA, retinoic acid, jako kofaktora) [53]. Komórki dendrytyczne CD103⁺ prawdopodobnie nie wymagają, aby TGF- β i RA były już obecne w środowisku, ponieważ same są zdolne do wytwarzania tych czynników [55]. Kwas retinowy może wpływać na regulację odpowiedzi przez pobudzanie ekspresji receptora TGF- β na limfocytach lub przez blokowanie działania cytokin efektorowych, które mogłyby hamować aktywność komórek Treg [3]. Wpływa również na aktywność komórek Th17, blokując ekspresję czynnika ROR γ (retinoid-related orphan receptor gamma) regulującego różnicowanie tych limfocytów. Kwas retinowy może regulować odpowiedź odpornościową także bezpośrednio przez promowanie ekspresji czynnika FoxP3, a co za tym idzie różnicowanie limfocytów Treg [10].

AKTYWNOŚĆ LIMFOCYTÓW TREG

Pojawia się coraz więcej doniesień o tym, że komórki Treg mogą aktywnie uczestniczyć w regulacji odpowiedzi poprzez hamowanie proliferacji limfocytów T efektorowych CD4 i CD8, proliferacji i wytwarzaniu przeciwciał przez

limfocyty B, a także aktywności cytotoksycznej komórek NK lub eliminację komórek docelowych w wyniku uwalniania perforyny i granzymów [5,15] lub poprzez oddziaływanie Fas–FasL (CD95–CD178) [2,15,49].

Zarówno naturalne, jak i indukowane limfocyty T regulatorowe wykorzystują podobne mechanizmy pobudzania tolerancji, jednak komórki nTreg w większym stopniu działają w wyniku bezpośredniego kontaktu z komórką docelową, ich aktywność jest w mniejszym stopniu związana z wytwarzaniem cytokin. Komórki nTreg wykazują wprawdzie zdolność do wytwarzania TGF- β , jednak czynnik ten nie jest uwalniany do środowiska, ale znajduje się na powierzchni komórek [15,23,32,38]. Natomiast w przypadku limfocytów iTreg, wytwarzane przez nie cytokiny przeciwzapalne odgrywają główną rolę w indukowaniu tolerancji [8,31,49]. Interleukina 10 hamuje wytwarzanie cytokin prozapalnych przez limfocyty efektorowe, monocyty i makrofagi, obniża również zdolność APC do ekspresji cząsteczek MHC klasy II. TGF- β natomiast wpływa hamująco na proliferację limfocytów T, B i komórek NK oraz – podobnie jak IL-10 – hamuje ekspresję cząsteczek MHC klasy II na komórkach APC.

Coraz częściej podnoszona jest możliwość konwersji komórek T regulatorowych FoxP3⁺ w limfocyty Th17. Dowiedziono, że limfocyty Treg mogą pod wpływem IL-6 utracić zdolność do ekspresji czynnika FoxP3, a co za tym idzie także cząsteczek powierzchniowych charakterystycznych dla tej subpopulacji limfocytów. Komórki Th17 są indukowane w środowisku, w którym występuje TGF- β i IL-6 (u myszy) lub IL-21 (u człowieka), podczas gdy limfocyty Treg są indukowane w obecności jedynie TGF- β . Prowadzi to do stanu, w którym różnica między odpowiedzią prozapalną i proregulatorową zależy od obecności w środowisku pojedynczej cytokiny – IL-6 lub IL-21 [4,34,39,56].

Oddziaływanie limfocytów Treg na DC

W trakcie tworzenia się tolerancji immunologicznej komórki Treg i DC oddziałują wzajemnie na siebie [7,16,28,29,44]. Odbywać się to może poprzez wytwarzanie cytokin, takich jak IL-10 czy TGF- β . Kolejnym przykładem wzajemnego oddziaływania komórek Treg i DC jest wykorzystanie antygeny CTLA-4 przez komórki nTreg oraz iTreg do wiązania cząsteczek CD80 i CD86 na powierzchni

DC. Efektem tego jest pobudzenie wytwarzania enzymu rozkładającego tryptofan (indoleamine 2,3-dioxygenase – IDO) przez DC [21,22,31,49]. Enzym IDO wpływa na regulację reakcji odpornościowych w dwojaki sposób. Z jednej strony efektem jego aktywności jest usuwanie tryptofanu ze środowiska, co uniemożliwia limfocytom T przejście w stan aktywacji. Z drugiej zaś, metabolity tryptofanu (zwłaszcza kinerunina), pojawiające się w środowisku promują aktywację komórek Treg [22,28,31]. Do ekspresji genów IDO dochodzi w mysich komórkach śledziony o fenotypie CD8⁺ oraz niektórych subpopulacjach niedojrzałych DC [22].

MOŻLIWOŚCI WYKORZYSTANIA TOLEROGENNYCH DC LUB LIMFOCYTÓW TREG W TERAPII

W przypadku wielu chorób, np. alergii, chorób o podłożu autoimmunologicznym lub nowotworowych [11,41], dowiedziono zaburzenia funkcji lub obecność nieprawidłowej liczby limfocytów Treg. Możliwość indukowania lub wyciszania aktywności zarówno limfocytów Treg, jak i tolerogennych komórek dendrytycznych może przynieść wiele korzyści w terapii tych schorzeń. Badania prowadzone na modelach zwierzęcych dowiodły skuteczności manipulowania limfocytami T regulatorowymi zarówno w pobudzaniu odpowiedzi przeciwnowotworowej, jak i w indukowaniu tolerancji wobec przeszczepianych narządów. Nadzieje związane są również z zastosowaniem komórek Treg w zwalczaniu chorób o podłożu autoimmunologicznym i alergii. Jednak konieczne jest dokładniejsze poznanie biologii zarówno tolerogennych DC jak i limfocytów Treg, aby z pełną odpowiedzialnością móc wykorzystywać obie te populacje. Mechanizmy odpowiedzialne za regulację odpowiedzi odpornościowej są coraz intensywniej badane. Wiadomo już, że zarówno niedojrzałe, jak i dojrzale DC mogą indukować tolerancję. Jednak nadal pozostaje niepewne, który czynnik ma decydujące znaczenie w powstawaniu prawidłowej odpowiedzi lub tolerancji – stymulacja przez DC należące do określonej subpopulacji, rodzaj prezentowanego antygeny, czy może cytokiny obecne w mikrośrodowisku. Pojawiły się doniesienia mówiące o tym, że komórki Treg mogą utracić zdolność do ekspresji czynnika transkrypcyjnego FoxP3, a następnie do ekspresji cząsteczek, takich jak CD25, GITR i CTLA-4. Może to pociągnąć za sobą utratę funkcji supresorowych w stosunku do proliferujących limfocytów T.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Alvarez D., Vollmann E.H., von Andrian U.H.: Mechanisms and consequences of dendritic cell migration. *Immunity*, 2008; 29: 325–342
- [2] Baatar D., Olkhanud P., Sumitomo K., Taub D., Gress R., Biragyn A.: Human peripheral blood T regulatory cells (Tregs), functionally primed CCR4⁺ Tregs and unprimed CCR4⁺ Tregs, regulate effector T cells using FasL. *J. Immunol.*, 2007; 178: 4891–4900
- [3] Belkaid Y., Oldenhove G.: Tuning microenvironments: induction of regulatory T cells by dendritic cells. *Immunity*, 2008; 29: 362–371
- [4] Bluestone J.A., Mackay C.R., O'Shea J.J., Stockinger B.: The functional plasticity of T cell subsets. *Nat. Rev. Immunol.*, 2009; 9: 811–816
- [5] Bryl E., Daca A., Jóźwik A., Witkowski J.M.: Human CD4 low CD25 high regulatory T cells indiscriminately kill autologous activated T cells. *Immunology*, 2009; 128 (Suppl. 1): e287–e295
- [6] Cantorna M.T., Mahon B.D.: Mounting evidence for vitamin D as an environmental factor affecting autoimmune disease prevalence. *Exp. Biol. Med.*, 2004; 229: 1136–1142
- [7] Coquerelle C., Moser M.: Are dendritic cells central to regulatory T cell function? *Immunol. Lett.*, 2008; 119: 12–16
- [8] Corthay A.: How do regulatory T cells work? *Scand. J. Immunol.*, 2009; 70: 326–336
- [9] Diebold S.S.: Determination of T-cell fate by dendritic cells. *Immunol. Cell Biol.*, 2008; 86: 389–397
- [10] Elias K.M., Laurence A., Davidson T.S., Stephens G., Kanno Y., Shevach E.M., O'Shea J.J.: Retinoic acid inhibits Th17 polarization and enhances FoxP3 expression through a Stat-3/Stat-5 independent signaling pathway. *Blood*, 2008; 111: 1013–1020
- [11] Giannopoulos K., Schmitt M., Kowal M., Wlasiuk P., Bojarska-Junak A., Chen J., Rolinski J., Dmoszynska A.: Characterization of regulatory T cells in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Oncol. Rep.*, 2008; 20: 677–682

- [12] Gorman S., Judge M.A., Burchell J.T., Turner D.J., Hart P.H.: 1,25-dihydroxyvitamin D3 enhances the ability of transferred CD4⁺ CD25⁺ cells to modulate T helper type 2-driven asthmatic responses. *Immunology*, 2010; (w druku)
- [13] Granucci F., Zanoni I., Ricciardi-Castagnoli P.: Central role of dendritic cells in the regulation and deregulation of immune responses. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2008; 65: 1683–1697
- [14] Groux H., Fournier N., Cottrez F.: Role of dendritic cells in the generation of regulatory T cells. *Semin. Immunol.*, 2004; 16: 99–106
- [15] Gupta S., Shang W., Sun Z.: Mechanisms regulating the development and function of natural regulatory T cells. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 2008; 56: 85–102
- [16] Hubert P., Jacobs N., Caberg J.H., Boniver J., Delvenne P.: The cross-talk between dendritic and regulatory T cells: good or evil? *J. Leukoc. Biol.*, 2007; 82: 781–794
- [17] Jagla M., Cichocka-Jaros E.: Limfocyty regulatorowe. *Alergia Astma Immunologia*, 2007; 12: 22–29
- [18] Jarvis L.B., Goodall J.C., Gaston J.S.: Human leukocyte antigen class I-restricted immunosuppression by human CD8⁺ regulatory T cells requires CTLA-4-mediated interaction with dendritic cells. *Hum. Immunol.*, 2008; 69: 687–695
- [19] Khattar M., Chen W., Stepkowski S.M.: Expanding and converting regulatory T cells: a horizon for immunotherapy. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 2009; 57: 199–204
- [20] Klein S., Kretz C.C., Krammer P.H., Kuhn A.: CD127(low/–) and FoxP3(+) expression levels characterize different regulatory T-cell populations in human peripheral blood. *J. Invest. Dermatol.*, 2010; 130: 492–499
- [21] Kuwana M.: Induction of anergic and regulatory T cells by plasmacytoid dendritic cells and other dendritic cell subsets. *Hum. Immunol.*, 2002; 63: 1156–1163
- [22] Lange C., Dürr M., Doster H., Melms A., Bischof F.: Dendritic cell – regulatory T-cell interaction control self directed immunity. *Immunol. Cell Biol.*, 2007; 85: 575–581
- [23] Lewkowicz P., Lewkowicz N., Tchórzewski H.: CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells: their physiology and role in modulating immune response. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 362–370
- [24] Li B., Greene M.I.: Special regulatory T-cell review: FOXP3 biochemistry in regulatory T cells – how diverse signals regulate suppression. *Immunology*, 2008; 123: 17–19
- [25] Liston A., Nutsch K.M., Farr A.G., Lund J.M., Rasmussen J.P., Koni P.A., Rudensky A.Y.: Differentiation of regulatory Foxp3⁺ T cells in the thymic cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 11903–11908
- [26] Liu W., Putnam A.L., Xu-Yu Z., Szot G.L., Lee M.R., Zhu S., Gottlieb P.A., Kapranov P., Gingeras T.R., Fazekas de St. Groth B., Clayberger C., Soper D.M., Ziegler S.F., Bluestone J.A.: CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4⁺ T reg cells. *J. Exp. Med.*, 2006; 203: 1701–1711
- [27] Maggi E., Cosmi L., Liotta F., Romagnani P., Romagnani S., Annunziato F.: Thymic regulatory T cells. *Autoimmun. Rev.*, 2005; 4: 579–586
- [28] Mahnke K., Bedke T., Enk A.H.: Regulatory conversation between antigen presenting cells and regulatory T cells enhance immune suppression. *Cell. Immunol.*, 2007; 250: 1–13
- [29] Mahnke K., Ring S., Johnson T.S., Schallenberg S., Schönfeld K., Storn V., Bedke T., Enk A.H.: Induction of immunosuppressive functions of dendritic cells *in vivo* by CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells: role of B7-H3 expression and antigen presentation. *Eur. J. Immunol.*, 2007; 37: 2117–2126
- [30] Malek T.R., Yu A., Vincek V., Scibelli P., Kong L.: CD4 regulatory T cells prevent lethal autoimmunity in IL-2Rβ-deficient mice. Implications for the nonredundant function of IL-2. *Immunity*, 2002; 17: 167–178
- [31] Matarese G., De Rosa V., La Cava A.: Regulatory CD4 T cells: sensing the environment. *Trends Immunol.*, 2008; 29: 12–17
- [32] Miyara M., Sakaguchi S.: Natural regulatory T cells: mechanisms of suppression. *Trends Mol. Med.*, 2007; 13: 108–116
- [33] Ozdemir C., Akdis M., Akdis C.A.: T regulatory cells and their counterparts: masters of immune regulation. *Clin. Exp. Allergy*, 2009; 39: 626–639
- [34] Peck A., Mellins E.D.: Plasticity of T-cell phenotype and function: the T helper type 17 example. *Immunology*, 2009; 129: 147–153
- [35] Pomić C., Ménager-Marcq I., van Meerwijk J.P.: Murine CD8⁺ regulatory T lymphocytes: the new era. *Hum. Immunol.*, 2008; 69: 708–714
- [36] Pyzik M., Piccirillo C.A.: TGF-β1 modulates Foxp3 expression and regulatory activity in distinct CD4⁺ T cell subsets. *J. Leukoc. Biol.*, 2007; 82: 335–346
- [37] Sakaguchi S., Sakaguchi N., Asano M., Itoh M., Toda M.: Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor α-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J. Immunol.*, 1995; 155: 1151–1164
- [38] Sakaguchi S., Wing K., Onishi Y., Prieto-Martin P., Yamaguchi T.: Regulatory T cells: how do they suppress immune responses? *Int. Immunol.*, 2009; 21: 1105–1111
- [39] Sallusto F., Lanzavecchia A.: Heterogeneity of CD4⁺ memory T cells: functional modules for tailored immunity. *Eur. J. Immunol.*, 2009; 39: 2076–2082
- [40] Sarris M., Andersen K.G., Randow F., Mayr L., Betz A.G.: Neuropilin-1 expression on regulatory T cells enhances their interactions with dendritic cells during antigen recognition. *Immunity*, 2008; 28: 402–413
- [41] Sasada T., Kimura M., Yoshida Y., Kanai M., Takabayashi A.: CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in patients with gastrointestinal malignancies: possible involvement of regulatory T cells in disease progression. *Cancer*, 2003; 98: 1089–1099
- [42] Schäkel K.: Dendritic cells – why can they help and hurt us. *Exp. Dermatol.*, 2009; 18: 264–273
- [43] Shevach E.M., Davidson T.S., Huter E.N., Dipaolo R.A., Andersson J.: Role of TGF-beta in the induction of Foxp3 expression and T regulatory cell function. *J. Clin. Immunol.*, 2008; 28: 640–646
- [44] Sica G.L., Choi I.H., Zhu G., Tamada K., Wang S.D., Tamura H., Chapoval A.I., Flies D.B., Bajorath J., Chen L.: B7-H4, a molecule of the B7 family, negatively regulates T cell immunity. *Immunity*, 2003; 18: 849–861
- [45] Soroosh P., Doherty T.A.: Th9 and allergic disease. *Immunology*, 2009; 127: 450–458
- [46] Taguchi O., Kojima A., Nishizuka Y.: Experimental autoimmune prostatitis after neonatal thymectomy in the mouse. *Clin. Exp. Immunol.*, 1985; 60: 123–129
- [47] Tarbell K.V., Yamazaki S., Steinman R.M.: The interactions of dendritic cells with antigen-specific, regulatory T cells that suppress autoimmunity. *Semin. Immunol.*, 2006; 18: 93–102
- [48] Velásquez-Lopera M.M., Correa L.A., García L.F.: Human spleen contains different subsets of dendritic cells and regulatory T lymphocytes. *Clin. Exp. Immunol.*, 2008; 154: 107–114
- [49] Vignali D.A., Collison L.W., Workman C.J.: How regulatory T cells work. *Nat. Rev. Immunol.*, 2008; 8: 523–532
- [50] Wang J., Ioan-Facsinay A., van der Voort E.I., Huizinga T.W., Toes R.E.: Transient expression of FOXP3 in human activated nonregulatory CD4⁺ T cells. *Eur. J. Immunol.*, 2007; 37: 129–138
- [51] Wang R.F.: CD8⁺ regulatory T cells, their suppressive mechanisms, and regulation in cancer. *Hum. Immunol.*, 2008; 69: 811–814
- [52] Watanabe N., Wang Y.H., Lee H.K., Ito T., Wang Y.H., Cao W., Liu Y.J.: Hassall's corpuscles instruct dendritic cells to induce CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in human thymus. *Nature*, 2005; 436: 1181–1185
- [53] Yamazaki S., Dudziak D., Heidkamp G.F., Fiorese C., Bonito A.J., Inaba K., Nussenzweig M.C., Steinman R.M.: CD8⁺CD205⁺ splenic dendritic cells are specialized to induce Foxp3⁺ regulatory T cells. *J. Immunol.*, 2008; 181: 6923–6933
- [54] Yamazaki S., Inaba K., Tarbell K.V., Steinman R.M.: Dendritic cells expand antigen-specific Foxp3⁺CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells including suppressors of alloreactivity. *Immunol. Rev.*, 2006; 212: 314–329
- [55] Yamazaki S., Steinman R.M.: Dendritic cells as controllers of antigen-specific Foxp3⁺ regulatory T cells. *J. Dermatol. Sci.*, 2009; 54: 69–75
- [56] Zhou X., Bailey-Bucktrout S., Jeker L.T., Bluestone J.A.: Plasticity of CD4⁺ FoxP3⁺ T cells. *Curr. Opin. Immunol.*, 2009; 21: 281–285
- [57] Żylicz M., Bocian K., Korczak-Kowalska G.: Komórki regulatorowe: powstawanie, mechanizmy i efekty działania oraz możliwe wykorzystanie w transplantologii. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 160–171

Autorki deklaruja brak potencjalnych konfliktów interesów.