

Received: 2015.07.31
Accepted: 2016.03.10
Published: 2016.06.16

Katelicyny i defensyny w regulacji aktywności przeciwdrobnoustrojowej komórek tucznych*

Cathelicidins and defensins regulate mast cell antimicrobial activity

Justyna Agier, Ewa Brzezińska-Błaszczyk

Zakład Immunologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Streszczenie

Katelicyny i defensyny, należące do grupy peptydów przeciwdrobnoustrojowych, to cząsteczki efektorowe będące jednym z najstarszych ewolucyjnie mechanizmów obronnych. Wykazują głównie działanie przeciwbakteryjne, skierowane przeciwko bakteriom Gram-dodatnim i Gram-ujemnym, ale także przeciwwirusowe i przeciwgrzybicze. Mechanizm ich aktywności przeciwdrobnoustrojowej polega głównie na destrukcji błony komórkowej patogenów i neutralizacji endotoksyny. Coraz więcej danych wskazuje, że oprócz bezpośrednich właściwości przeciwdrobnoustrojowych, peptydy te wykazują również właściwości immunomodulujące warunkujące koordynację mechanizmów obronnych, a także wpływają na przebieg odpowiedzi wrodzonej i nabytej. Udokumentowany wpływ katelicyn i defensyn na różne subpopulacje komórek obejmuje m.in. chemotaksję, hamowanie apoptozy i wytwarzanie ROS. Ponadto, peptydy te w sposób bezpośredni aktywują komórki do wytwarzania i uwalniania mediatorów zarówno o charakterze prozapalnym jak i immunoregulacyjnym. Należy podkreślić, że te peptydy mogą również pobudzać komórki do wytwarzania cytokin przeciwzapalnych. Obecnie dobrze udokumentowano, że komórki tuczne odgrywają podstawową rolę w mechanizmach obronnych skierowanych przeciwko patogenom, głównie przez ekspresję receptorów rozpoznających wzorce molekularne związane z patogenami oraz przez wytwarzanie mediatorów i cytokin o bardzo szerokim oddziaływaniu biologicznym. W pracy omówiono najnowszy stan wiedzy na temat katelicyn i defensyn jako cząsteczek efektorowych oraz wpływ tych peptydów na komórki tuczne.

Słowa kluczowe:

komórki tuczne • katelicyny • defensyny • receptory rozpoznające wzorce molekularne związane z patogenami

Summary

Cathelicidins and defensins are the multifunctional host defense molecules essential for immune response to infection. In recent years they have been shown to be natural, broad-spectrum antimicrobials against both Gram-positive and Gram-negative bacteria, enveloped viruses, and fungi. These small peptides kill the invaded pathogens by destroying their cell membranes and can neutralize biological activities of endotoxin. Apart from exerting direct antimicrobial effects, cathelicidins and defensins can also trigger innate and adaptive defense responses in the host. The functions of the host derived peptides in immunomodulation have been also investigated. Reported activities of these peptides include chemoattractant function, inhibition of neutrophil apoptosis, and ROS production. These peptides directly activate inflammatory cells to production and release of different pro-inflammatory and

*Praca finansowana przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi (grant nr 503/6-164-01/503-01).

	immunoregulatory mediators, cytokines, and chemokines, however cathelicidins and defensins might mediate the generation of anti-inflammatory cytokines, as well. Insights into the miscellaneous functions of mast cells have exposed that they possess the ability to respond to pathogens and modulate immune response. These immune sentinel cells play a pivotal role in defense mechanisms mainly through the presence of pattern recognition receptors and by release different preformed and newly synthesized mediators and cytokines. The present review provides an introduction to the field of cathelicidins and defensins in general and discusses their impact on mast cells.
Keywords:	mast cells • cathelicidins • defensins • pattern recognition receptors
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1205357
Word count:	6082
Tables:	2
Figures:	1
References:	120

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: **BMMC** – komórki tuczne wywodzące się ze szpiku kostnego (bone marrow-derived mast cells), **BPI** – czynnik bakteriobójczy zwiększający przepuszczalność (bactericidal/permeability increasing factor), **CBMC** – komórki tuczne hodowane z krwi pępowinowej (cord blood-derived mast cells), **CLR** – receptor lektynopodobny typu C (C-type lectin receptor), **CRAMP** – cathelicidin-related antimicrobial peptide, **cysLT** – leukotrien cysteinylowy (cysteinyl leukotriene), **DAMP** – wzorzec molekularny związany z zagrożeniem (danger-associated molecular patterns), **dsRNA** – dwuniciowy RNA (double-stranded RNA), **ECM** – macierz pozakomórkowa (extracellular matrix), **EGFR** – receptor czynnika wzrostu naskórka (epidermal growth factor receptor), **ERK** – kinaza aktywowana przez sygnały zewnątrzkomórkowe (extracellular signal-regulated kinase), **FGF** – czynnik wzrostu fibroblastów (fibroblast growth factor), **FimH** – bakteryjna lektyna wiążąca mannozę związaną z fimbriami typu 1, **FLMP** – *N*-formylowany peptyd (*N*-formyl peptide), **FPR** – receptor *N*-formylowanych peptydów (*N*-formyl peptide receptor), **GM-CSF** – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), **GPCR** – receptor sprzężony z białkami G (G protein-coupled receptor), **hBD** – ludzkie defensyny b (human b defensins), **HCMC** – ludzkie komórki tuczne wyprowadzone z komórek progenitorowych CD34⁺ (human cultured mast cells), **HD** – ludzkie defensyny (human defensins), **HNP** – peptydy ludzkich neutrofilów (human neutrophil peptides), **HSP** – białko szoku cieplnego (heat-shock protein), **IFN** – interferon (interferon), **IGF-1R** – receptor insulinopodobnego czynnika wzrostu (insulin-like growth factor 1 receptor), **IL** – interleukina (interleukin), **JNK** – kinaza c-Jun N-terminalna (c-Jun-N-terminal-kinase), **LAM** – lipoarabinomannan (lipoarabinomannan), **LL-37** – leucyna-leucyna-37 (leucine-leucine-37), **LPR1** – receptor dla lipoprotein niskiej gęstości (low density lipoprotein receptor-related protein), **LPS** – lipopolisacharyd (lipopolysaccharide), **LT** – leukotrien (leukotriene), **LTA** – kwas lipotejchowy (lipoteichoic acid), **MBL** – białko wiążące mannozę (mannose binding lectin), **MDA5** – melanoma differentiation-associated gene 5, **MDP** – dipeptyd muramylowy (muramyl dipeptide), **MMP** – metaloproteinaza (metalloproteinase), **MrgX₂** – mas-related gene X₂, **NGF** – czynnik wzrostu nerwów (nerve growth factor), **NLR** – receptor NOD-podobny (NOD-like receptor), **PAF** – czynnik aktywujący płytki krwi (platelet activating factor), **PAMP** – molekularne wzorce związane z patogenami (pathogen associated molecular patterns), **PAR** – receptor aktywowany przez proteazy (protease-activated receptor), **PBMC** – jedonajdrzaste komórki krwi obwodowej (peripheral blood mononuclear cells), **PG** – prostaglandyna (prostaglandin), **PGN** – peptydoglikan (peptidoglycan), **PI3K** – kinaza 3-fosfatydylinozytolu (phosphatidylinositol 3-kinase), **PL** – fosfolipaza (phospholipase), **PRR** – receptory rozpoznające wzorce (pattern recognition receptors), **PTX** – toksyna krztuścowa (pertussis toxin), **RIG-I** – retinoic acid-inducible gene I, **RRL** – receptor RIG-I-podobny (RIG-like receptors), **ROS** – reaktywne formy tlenu (reactive oxygen species), **SCF** – czynnik komórek macierzystych (stem cell factor), **ssRNA** – jednoniciowy RNA (single-stranded RNA), **TGF** – transformujący czynnik wzrostu (transforming growth factor), **TLR** – receptor Toll-podobny (Toll-like receptor), **TNF** – czynnik martwicy

nowotworu (tumor necrosis factor), **TX** – tromboksan (thromboxane), **VCAM** – cząsteczka adhezji komórkowej naczyń (vascular cell adhesion molecule), **VEGF** – czynnik wzrostu śródbłónki naczyń (vascular endothelial growth factor).

WSTĘP

Mechanizmy obronne uruchamiane w odpowiedzi na infekcję są niezwykle zróżnicowane i złożone. Rozwijają się w dwóch kolejnych, ale zależnych od siebie, etapach. Początkowo są aktywowane procesy odporności wrodzonej, które szybko i bardzo skutecznie, chociaż bez selektywnego rozpoznania patogenu, prowadzą do eliminacji czynnika infekcyjnego. W drugim etapie rozwijana jest odporność nabyta, ściśle ukierunkowana na dany patogen. Ważne znaczenie w obronie przeciwko drobnoustrojom mają również różnorodne bariery mechaniczne – skóra, nabłonek, błony śluzowe, tkanka limfatyczna błon śluzowych, a także funkcjonalne – odruchy kichania i kaszlu, perystaltyka jelit, kwaśne pH skóry, pochwy i żołądka, łzy, ślina, pot, łój. Szczególną barierą ochronną jest bez wątpienia fizjologiczna mikroflora (mikrobiom) skóry, przewodu pokarmowego, górnych dróg oddechowych i pochwy. W procesach obronnych skierowanych przeciwko drobnoustrojom uczestniczą różne populacje komórkowe, w tym komórki stacjonarne – nabłonek, śródbłonek, keratynocyty i fibroblasty oraz neutrofile, eozynofile, bazofile, monocyty i makrofagi, komórki NK, komórki dendrytyczne, limfocyty T i limfocyty B. W odpowiedzi przeciwzakaznej współuczestniczą również komórki tuczne. Należy podkreślić przy tym, iż rozwój odpowiedzi przeciwzakaznej jest w znacznym stopniu determinowany rodzajem patogenu (bakteria zewnątrzkomórkowa, bakteria wewnątrzkomórkowa, wirus, grzyb), a także budową drobnoustroju (bakterie Gram-dodatnia i Gram-ujemna, bakteria atypowa, obecność lub brak osłonki lipidowej wirusa). Istotne znaczenie ma również to, czy infekcja ma charakter ostry czy przewlekły. Przebieg odpowiedzi immunologicznej na zakażenie zależy również od wielu czynników humoralnych. W tej grupie wymienić należy przede wszystkim białka układu dopełniacza, białka ostrej fazy, alarminy, w tym białka szoku cieplnego, cytokiny, interferony i chemokiny. Wymienione wyżej czynniki humoralne, syntetyzowane przez wiele komórek biorących udział w odpowiedzi na infekcję, w różnorodny sposób, bezpośrednio i pośrednio, wspomagają, ukierunkowują i modulują procesy obronne skierowane przeciwko patogenom, głównie przez regulację aktywności komórek obronnych. Szczególną rolę w procesach obronnych odgrywają również substancje/peptydy/białka, które bezpośrednio oddziałują na patogen prowadząc do jego uszkodzenia i eliminacji lub działając pośrednio hamując wzrost drobnoustroju. W tej grupie trzeba wymienić przede wszystkim reaktywne formy tlenu (ROS) o właściwościach toksycznych w stosunku do bakterii, grzybów i pasożytów, które powstają w komórkach żernych w przebiegu fagocytozy mikroorganizmów, a więc anionorodnik ponadtlenkowy, nadtlenek wodoru, rodnik hydroksylowy oraz tlen singletowy, ale także kwas

podchloryny i chloraminy. W eozynofilach, z udziałem peroksydazy, są wytwarzane kwas podbromowy oraz bromaminy o właściwościach bakteriobójczych. Ważnymi mediatorami o bezpośrednim działaniu bakteriobójczym są także wytwarzane w makrofagach, neutrofilach oraz w komórkach śródbłónki naczyniowej tlenek azotu oraz dwutlenek azotu. Istotną grupę białek o bezpośrednim działaniu bójczym w stosunku do mikroorganizmów stanowią białka enzymatyczne magazynowane przede wszystkim w ziarnach komórek fagocytykujących, w tym również w cytoplazmatycznych ziarnistościach komórek tucznych. W tej grupie można wymienić katepsynę G, lizozym, elastazę, kolagenazę, czynnik bakteriobójczy zwiększający przepuszczalność (BPI) i lipazy. Ważnymi białkami pośrednio hamującymi rozwój drobnoustrojów są m.in. laktoferyna i transferyna, które wiążąc jony Fe^{3+} niezbędne do wzrostu bakterii wykazują działanie bakteriostatyczne, kalprotektyna działająca bakteriostatycznie przez chelatowanie jonów cynku, czy też tetryny blokujące namnażanie niektórych wirusów.

Bardzo ciekawą grupą czynników humoralnych współuczestniczących w procesach obronnych są peptydy przeciwdrobnoustrojowe, w tym przede wszystkim katelicydyny i defensyny. Peptydy te, zwyczajowo nazywane naturalnymi antybiotykami, cechują się niską masą cząsteczkową, mają charakter kationowy, a syntetyzowane są przez wiele komórek organizmu w postaci dużych nieaktywnych pre-pro-peptydów, co pozwala na kontrolę transkrypcyjną i potranskrypcyjną oraz chroni przed ich niekontrolowaną aktywnością. Katelicydyny i defensyny wykazują wielokierunkowe, bezpośrednie i pośrednie, działanie przeciwdrobnoustrojowe, ale także regulują wiele istotnych procesów obronnych skierowanych przeciwko patogenom.

STRUKTURA I DZIAŁANIE PRZECIWDROBNOUSTROJOWE KATELICYDYN ORAZ DEFENSYN

Katelicydyny i defensyny, należące do najstarszych ewolucyjnie mechanizmów obronnych, to bardzo liczna grupa stosunkowo małych peptydów wytwarzanych przez różne populacje komórek ssaków, w tym także człowieka. Te naturalne antybiotyki są przeważnie zbudowane z 12-50 reszt aminokwasowych, a ich masa cząsteczkowa mieści się w granicach 3-10 kDa. Ze względu na obecność 2-9 ładunków dodatnich, co jest skutkiem występowania aminokwasów zasadowych (głównie argininy i lizyny), peptydy te są często nazywane peptydami kationowymi. Aminokwasy hydrofobowe, do których są zaliczane cysteina czy prolina, stanowią około 40-50% wszystkich aminokwasów [18,110].

Katelicydyny tworzą grupę wysoce zróżnicowanych peptydów, które wyizolowano z organizmów wielu gatun-

ków ssaków w tym królików, koni, świń, szczurów, małp, bydła, a także ludzi. Geny odpowiedzialne za syntezę katelicydyn mają wielkość około 2000 pz i są zbudowane z czterech eksonów i trzech intronów. Prekursor katelicydyn składa się z wysoce konserwatywnego segmentu N-końcowego (peptyd sygnałowy), sekwencji katelinowej i domeny C-końcowej, która jest regionem zmiennym. Domena N-końcowa zawiera 29-30 reszt aminokwasowych i warunkuje odpowiednie uwalnianie biologicznie aktywnego peptydu. Domena katelinowa jest zbudowana z 94-144 reszt aminokwasowych i wykazuje 70% podobieństwo strukturalne do wyizolowanej po raz pierwszy z neutrofilów świni kateliny. Funkcja tej domeny nie jest jednoznacznie określona, jednak zakłada się, że jest odpowiedzialna za ochronę tkanek gospodarza przed proteolizą. Bardzo różnorodna domena C-końcowa, zbudowana z 12-100 reszt aminokwasowych, stanowi dojrzały peptyd uwalniany z prekursora w wyniku działania enzymów proteolitycznych. Peptydy z grupy katelicydyn mają strukturę α -helisy i są wytwarzane przez neutrofile, komórki nabłonkowe, keratynocyty, makrofagi, komórki tłuszczne, komórki NK, komórki dendrytyczne i limfocyty [54].

U człowieka opisano dotychczas tylko jedną katelicydynę LL-37 (leucyna-leucyna-37), która powstaje z białka prekursorowego hCAP18 z udziałem proteiny 3. Nazwa prekursora odwołuje się do masy cząsteczkowej peptydu (18 kDa) i jego kationowego charakteru. Jedyny gen kodujący ludzką katelicydynę jest umiejscowiony na chromosomie 3. Obecność LL-37 i jej prekursora stwierdzono w różnych komórkach, tkankach i płynach ustrojowych. Katelicydyna jest wytwarzana konstytutywnie lub syntetyzowana w odpowiedzi na obecność bakterii lub ich produktów. Wytwarzanie konstytutywne udokumentowano w odniesieniu do neutrofilów, a indukowaną udowodniono w monocytach, komórkach NK, tłuszcznych, limfocytach B, a także enterocytach jelita, komórkach nabłonka i keratynocytach. Cząsteczkę wykryto także w płynie wysiękowym z ran, osoczu, nasieniu oraz aspiratach z tchawicy noworodków. Ekspresja LL-37 może być regulowana przez wiele czynników endogennych, w tym prozapalnych cytokin, czynników wzrostowych i aktywnej postaci witaminy D [103].

Bardzo liczna i zróżnicowana jest grupa peptydów przeciwdrobnoustrojowych zaliczanych do defensyn. Peptydy te cechują się bardzo niską masą cząsteczkową, 3-5 kDa, obecnością przeważnie sześciu reszt cysteinowych tworzących trzy mostki disiarczkowe i charakterystycznym uformowaniem łańcucha w strukturę β -harmonijki. Geny kodujące te cząsteczki znajdują się u człowieka na 8 chromosomie. Ze względu na strukturę prekursorów defensyn, długość łańcucha aminokwasowego oraz umiejscowienie wiązań disiarczkowych, u kręgowców peptydy te podzielono na 3 grupy - α -defensyny, β -defensyny oraz θ -defensyny [46].

Defensyny α , nazywane defensynami klasycznymi, mają masę cząsteczkową około 3-4 kDa i 29-35 reszt amino-

kwasowych w cząsteczce. Sześć reszt cysteinowych połączonych jest trzema mostkami disiarczkowymi (Cys1-Cys6, Cys2-Cys4, Cys3-Cys5), co warunkuje utworzenie potrójnie skręconej struktury β -kartki z charakterystyczną „szpilką” do włosów. Warto podkreślić, iż taka konformacja w dużej mierze przypomina strukturę chemokin, co może sugerować możliwość interakcji α -defensyn z receptorami tych cząsteczek [75]. Pre-pro-peptydy α -defensyn są zbudowane z 90-100 reszt aminokwasowych. W ich skład wchodzi prekursor zawierający sekwencję sygnałową utworzoną z 19 reszt aminokwasowych, anionowy propeptyd zbudowany z 5 reszt aminokwasowych oraz w C-końcu kationowa sekwencja kodująca dojrzały peptyd. U człowieka opisano sześć peptydów z grupy defensyn α . W ziarnistościach azurofilnych neutrofilów człowieka zidentyfikowano cztery α -defensyny oznaczone jako HNP-1, HNP-2, HNP-3 i HNP-4, a w komórkach Panetha oraz komórkach nabłonka układu moczowo-płciowego udokumentowano obecność α -defensyn HD-5 i HD-6. Peptydy konstytutywnie syntetyzowane przez neutrofile mogą być również wytwarzane przez monocyty i limfocyty T CD8⁺ pod wpływem stymulacji cytokinami prozapalnymi i lipopolisacharydem (LPS). Peptydy z grupy β -defensyn mają masę cząsteczkową 4-5 kDa i są zbudowane z 38-42 reszt aminokwasowych. Mają podobną strukturę trzeciorzędową jak α -defensyny, jednak mostki disiarczkowe są umiejscowione między resztami Cys1 a Cys5, Cys2 a Cys4 oraz Cys3 a Cys6. Struktura prekursora tych peptydów jest prostsza niż defensyn β . U człowieka najlepiej poznanymi β -defensynami są hBD-1, hBD-2, hBD-3 i hBD-4. Defensyna hBD-1 jest ekspresjonowana konstytutywnie przez keratynocyty i komórki nabłonka, ale może być również syntetyzowana przez monocyty i komórki dendrytyczne w odpowiedzi na aktywację przez cytokiny prozapalne i LPS. Synteza defensyn hBD-2-4 przez keratynocyty, komórki nabłonka, monocyty, komórki tłuszczne i komórki dendrytyczne jest indukowana przez cytokiny. Najmniej poznana i opisana grupa defensyn są θ -defensyny. Peptydy te mają kolistą strukturę, która powstaje przez połączenie dwóch peptydów składających się z 9 reszt aminokwasowych każdy; aktywny peptyd jest zbudowany więc z 18 reszt aminokwasowych. Defensyny te występują u małp; nie opisano ich u człowieka [46,57].

Bezpośrednie oddziaływanie katelicydyn i defensyn na mikroorganizmy prowadzi przede wszystkim do dezintegracji osłon komórkowych (ściany komórkowej, błony komórkowej, otoczki lipidowej), aż do śmierci komórki. Peptydy te wiążą się z błoną komórkową patogenów dzięki oddziaływaniom elektrostatycznym między ujemnie naładowanymi lipidami błon komórkowych mikroorganizmów a kationowymi peptydami. Co ważne, peptydy przeciwdrobnoustrojowe mogą się wiązać również z cząsteczkami budującymi ścianę komórkową wykazującymi ładunek ujemny, w tym anionowymi fosfolipidami, grupami fosforanowymi LPS bakterii Gram-ujemnych, kwasami teichojowymi i lipoteichojowymi (LTA) wchodzącymi w skład ściany komórkowej bakte-

rii Gram-dodatnich. Peptydy kationowe tworzą pory w błonie mikroorganizmów za pośrednictwem trzech, nieco odmiennych, mechanizmów. Mechanizm „klepacza beczi” zakłada, że peptydy wbudowują się w błonę komórkową bakterii prostopadle tak, by ich elementy niepolarne oddziaływały z lipidami błony komórkowej, a części hydrofilowe były skierowane do światła kanału tworząc szczelinę w błonie. Według modelu „dywanowego” peptydy są umiejscowione równolegle do błony komórkowej wywierając na nią tak silny nacisk, że dochodzi do przerwania ciągłości jej struktury. Trzeci mechanizm, tzw. „model porów toroidalnych”, zakłada tworzenie porów w błonie komórkowej w taki sposób, iż hydrofilowe fragmenty peptydów oddziałują z resztami fosfolipidowymi natomiast części hydrofobowe z lipidami [110].

Katelicydyny i defensyny wykazują przede wszystkim działanie przeciwbakteryjne, ale także przeciwwirusowe - szczególnie wobec wirusów osłonkowych, przeciwgrzybicze i przeciw pasożytnicze. Należy jednak podkreślić, iż przeciwdrobnoustrojowe peptydy kationowe cechują się pewną selektywnością i zróżnicowaną aktywnością w stosunku do różnych mikroorganizmów. Zaobserwowano na przykład, iż spośród defensyn α najwyższą aktywność bakteriobójczą wobec *Staphylococcus aureus* ma HNP-2, a najniższą HNP-4. W stosunku do *Escherichia coli* oraz *Enterobacter aerogenes* najwyższą aktywność wykazuje defensyna HNP-4, a najniższą defensyny HNP-1 i HNP-3. Wykazano także, że defensyny HD-5 i HNP-2 są bardzo aktywne wobec bakterii Gram-ujemnych; defensyna HD-6 cechuje się selektywną aktywnością w stosunku do *Bacillus cereus* [29]. Defensyny β są aktywne wobec bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych, ale także wykazują działanie bójcze w stosunku do drożdżaków [46]. Wydaje się przy tym ważne, że β -defensyny wykazują większą aktywność w stosunku do drobnoustrojów tlenowych niż beztlenowych [47]. Defensyny HNP-(1-4) cechują się działaniem przeciwdrobnoustrojowym także w stosunku do wirusów HSV-1, HSV-2 i CMV oraz bakterii z rodzaju *Mycobacterium* [84,108].

Działanie przeciwdrobnoustrojowe katelicydyn i defensyn wynika również z tego, iż są zdolne do wnikania do wnętrza komórki drobnoustroju. W ten sposób mogą hamować syntezę DNA i RNA, syntezę białek, składników ściany komórkowej. Niektóre z nich blokują działanie pewnych enzymów wewnątrzkomórkowych. Katelicydyny mogą również wiązać i w ten sposób neutralizować endotoksyny bakteryjne, w tym LPS, LTA i lipoarabomannan (LAM) [80]. Defensyny α neutralizują toksynę *B. anthracis* [50]. Wydaje się niezwykle istotne, że omawiane peptydy hamują powstawanie biofilmów [26,56]. Wykazano ponadto, iż katelicydyny i defensyny mogą nawet niszczyć już powstałe biofilmy [26,56].

KATELICYDYN I DEFENSYN W IMMUNOMODULACJI

Coraz więcej danych wskazuje, że oprócz właściwości przeciwdrobnoustrojowych katelicydyny i defen-

syny mogą w różnorodny sposób modulować przebieg odpowiedzi przeciwzakaźnej. Obecnie te peptydy są rozważane jako ważne cząsteczki efektorowe zdolne do kontrolowania odpowiedzi immunologicznej oraz przebiegu infekcji. Bardzo dużo danych dowodzi, że katelicydyny i defensyny wpływają szczególnie na przebieg zapalenia.

Wyniki wielu badań wykazały, że katelicydyny i defensyny są chemoatraktantami komórek odczynu zapalnego. Katelicydyna człowieka LL-37 [23,96,118], myszy CRAMP (cathelicidin-related antimicrobial peptide) [55] oraz świni PR-39 [41] indukują migrację neutrofilów. Peptydy LL-37 i CRAMP działają chemotaktycznie również wobec monocytów [23,55,118] i makrofagów [55], podobnie jak katelicydyna wołu Bac7 [104]. LL-37 może indukować napływ do miejsca zapalenia eozynofilów [96] i limfocytów T CD4⁺ [23], a także pobudzać migrację i proliferację komórek nabłonka [85] i keratynocytów [24,97]. Wykazano również indukowaną przez α -defensynę HNP-1 migrację makrofagów [38]. Defensyny α [44,112] oraz defensyny β [10,113] są silnymi chemoatraktantami także dla niedojrzałych komórek dendrytycznych. β -defensyny hBD-2 i hBD-3 działają chemotaktycznie wobec ludzkich monocytów krwi obwodowej [81]. Katelicydyna LL-37 wydłuża okres przeżycia neutrofilów przez zahamowanie ich spontanicznej apoptozy, co może generować niekontrolowany wyrzut cytotoksycznych metabolitów i mediatorów zapalenia. Wykazano bowiem, że LL-37 hamuje programowaną śmierć komórek przez zwiększenie ekspresji antyapoptycznego białka Bcl-X_L oraz przez zablokowanie aktywności kaspazy 3 [5,63]. Podobnie jak ludzka katelicydyna, również β -defensyna hBD-3 hamuje apoptozę neutrofilów [62]. Warto podkreślić, że neutrofile są ważnym źródłem katelicydyny i α -defensyn, a więc wynikiem ich napływu do miejsca zapalenia oraz wydłużeniem czasu ich przeżycia może być znaczne miejscowe zwiększenie stężenia tych peptydów przeciwdrobnoustrojowych.

Katelicydyny i defensyny mogą bezpośrednio lub w sposób synergistyczny aktywować różne populacje komórek do syntezy i wydzielania mediatorów o charakterze prozapalnym i immunoregulacyjnym. Peptyd LL-37 stymuluje monocyty do syntezy interleukiny (IL)-1 β [27] oraz keratynocyty do uwalniania IL-6, -18, -20 i czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF) [12,24,70]. Co więcej, LL-37 zwiększa generowaną pod wpływem defensyn β sekrecję IL-18 [70]. Ludzka katelicydyna stymuluje eozynofile do uwalniania leukotrienu (LT)B₄ i leukotrienów cysteinylowych (cysLT), a preinkubacja tych komórek z GM-CSF lub IL-5 znacząco zwiększa sekrecję mediatorów indukowaną katelicydyną [92]. Również makrofagi wytwarzają LTB₄ oraz tromboksan (TX)B₂ w wyniku pobudzenia przez LL-37 [106]. Wykazano również, że defensyny α stymulują wydzielanie prozapalnych cytokin - czynnika martwicy nowotworu (TNF) i IL-1 β oraz cytokiny o charakterze immunomodulacyjnym IL-12p40 z komórek dendrytycznych [79]. Te defensyny indukują również zwiększenie ekspresji TNF i IL- β , z jednoczesnym

zmniejszeniem poziomu ekspresji przeciwzapalnej cytokiny IL-10, w monocytach [16].

Katelicydyny i defensyny mogą także indukować wytwarzanie chemokin podstawowych w rekrutacji komórek do miejsca zapalenia. LL-37 stymuluje neutrofile do syntezy chemokiny CXCL8 [119,120], która działając przez cząsteczkę CXCR2 indukuje chemotaksję granulocytów i stymuluje neutrofile do fagocytozy. Ten sam peptyd aktywuje również do wytwarzania CXCL8 i CCL2 monocytów [11,61] oraz do uwalniania CXCL8, CCL2, CCL5 i CCL7 jednojądrzaste komórki krwi obwodowej (PBMC) [61,116]. Chemokina CXCL8 jest syntetyzowana również przez komórki dendrytyczne [79] oraz przez komórki nabłonkowe [102] stymulowane defensynami α . Udokumentowano ponadto, że ludzka katelicydyna stymuluje keratynocyty do wytwarzania CCL2, CCL5, CCL20, CXCL8 i CXCL10 [12,24,70], a komórki nabłonka do uwalniania CXCL1 i CXCL8 [76,95]. LL-37 z IL-1 β lub GM-CSF indukuje wytwarzanie CCL2, CCL7 oraz CXCL8 przez PBMC [60,116]. Ten sam peptyd zwiększa także poziom ekspresji genów kodujących chemokiny CXCL1, CXCL8, CCL2 i CCL7 w monocytach [11,61,116]. LL-37 i hBD-3 indukują również wytwarzanie CCL2, CCL3, CCL4 i CCL22 przez monocytów i makrofagi [74]. Peptyd LL-37 stymuluje neutrofile do wytwarzania ROS [3,99,120].

Ludzka katelicydyna może także wyciszać aktywność prozapalną komórek. LL-37 zwiększa poziom transkryptów genów kodujących przeciwzapalne cytokiny IL-10 i IL-19 w monocytach [61] oraz indukuje wytwarzanie IL-10 przez keratynocyty [71]. Hamuje również indukowaną IL-32 wytwarzanie TNF, IL-1 β i IL-6 przez PBMC [19] oraz TNF i IL-12 przez stymulowane interferonem (IFN)- γ monocytów [65]. Zmniejsza także poziom ekspresji cząsteczki CXCR2 na neutrofilach i monocytach przez internalizację tego receptora [118,119] oraz hamuje syntezę CCL2 przez stymulowane IFN- γ PBMC [116]. Defensyny α stymulują komórki dendrytyczne do syntezy i wydzielania IL-10 [79], a także zmniejszają ekspresję cząsteczek adhezji komórkowej naczyń (VCAM) na komórkach śródbłonna, co może ograniczać napływ komórek z krwi do miejsca toczącego się procesu zapalnego [16]. Peptyd LL-37 aktywuje także neutrofile i PBMC do wydzielania przeciwzapalnej cytokiny IL-1Ra [37,119]. Bardzo ważna jest obserwacja, iż hBD-3 indukuje zwiększenie ekspresji i wydzielania IL-37 przez keratynocyty, cytokiny o silnym działaniu przeciwzapalnym [87].

Peptydy należące do rodziny katelicydyn modulują również odpowiedź komórek mediowaną przez receptory Toll-podobne (TLR). Peptyd LL-37, w kombinacji z agonistą cząsteczki TLR5, zwiększa syntezę CXCL8 w keratynocytach [31]. Udokumentowano także, iż LL-37 zwiększa wytwarzanie CXCL8 i IL-6 w komórkach nabłonka stymulowanych flageliną lub LPS [76,86]. Jednak LL-37 i CRAMP hamują syntezę CXCL8, IL-6 i TNF w komórkach dendrytycznych stymulowanych agonistami cząsteczek TLR - LPS, LTA i flageliną [24,48,61,65]. LL-37

hamuje także syntezę i uwalnianie CXCL8, IL-1 β , IL-6 i TNF z PBMC stymulowanych LPS lub LTA [60]. Ta katelicydyna silnie hamuje indukowane przez LPS, LTA i flagelinę wytwarzanie IL-12 - cytokiny o właściwościach immunoregulacyjnych, promującej różnicowanie limfocytów T w kierunku komórek Th1 [48,65].

Należy dodatkowo podkreślić, iż defensyny α wiążą składową dopełniacza C1q oraz białko wiążące mannozę (MBL) hamując tym samym aktywację drogi klasycznej i lektynowej dopełniacza [39,101]. Wykazano ponadto, że defensyna HNP-1 może wzmacniać zdolności fagocytarne makrofagów [42]. Soehnlein i wsp. [88] udokumentowali także, że HNP-1, HNP-2 i HNP-3 znacząco zwiększają fagocytozę zopsonizowanych IgG *S. aureus* bezpośrednio przez zwiększanie błonowej ekspresji cząsteczek CD32 i CD64, czyli receptorów dla IgG Fc γ RII i Fc γ RI oraz pośrednio przez indukcję wydzielania TNF i IFN- γ - cytokin zwiększających ekspresję tych cząsteczek.

Niektóre dane wskazują, iż katelicydyny i defensyny w różnorodny sposób mogą wpływać na przebieg odpowiedzi swoistej. Jak wspomniano wcześniej zarówno defensyny α [44,112], jak i defensyny β [10,113] indukują napływ komórek dendrytycznych. Co więcej, mogą wpływać na dojrzewanie i różnicowanie komórek dendrytycznych i znacząco zmieniać ich fenotyp modulując tym samym efektywność komórek dendrytycznych w prezentacji antygenów oraz w indukcji odporności nabytej. Wykazano ponadto, że katelicydyna LL-37 istotnie zwiększa poziom ekspresji HLA-DR oraz cząsteczek kostymulujących CD86 [4]. Także β -defensyna hBD-3 zwiększa ekspresję cząsteczek kostymulujących CD80, CD86 i CD40 na komórkach dendrytycznych, ale również na monocytach [34]. Istotne są obserwacje, iż niskie stężenia defensyn α indukują zwiększenie ekspresji HLA-DR oraz CD83 i CD86 podczas gdy wysokie stężenia tych peptydów powodują obniżenie ekspresji HLA-DR oraz CD86 [79]. Katelicydyna LL-37 silnie moduluje odpowiedź monocytów, makrofagów, komórek dendrytycznych oraz limfocytów B na IFN- γ wpływając tym samym na ich zdolność do indukcji odpowiedzi nabytej [65]. Zaobserwowano ponadto, iż pod wpływem peptydu LL-37 komórki dendrytyczne wydzielają cytokiny ukierunkowujące różnicowanie limfocytów w stronę komórek o profilu Th1, to jest IL-12 i IL-6 [21]. Katelicydyny, α -defensyny i β -defensyny są również silnymi chemoatraktantami limfocytów T [23,112,113]. Badania Kin i wsp. [51] wydają się ponadto wskazywać, iż mysia katelicydyna CRAMP może wpływać na aktywność limfocytów B i modulować syntezę przeciwciał. Ważne są dane, iż α -defensyny oraz β -defensyny mogą wpływać adiuwantowo zwiększając zarówno poziom syntezy swoistych przeciwciał IgG, jak i proliferację swoistych limfocytów T [13,94].

RECEPTORY DLA KATELICYDYN I DEFENSYN

Mimo że coraz więcej informacji wskazuje, iż zarówno katelicydyny, jak i defensyny znacząco modulują aktyw-

ność różnych populacji komórek nie ma dzisiaj jednoznacznych danych, które cząsteczki błonowe i/lub receptory komórkowe biorą udział w rozpoznawaniu i wiązaniu tych peptydów przeciwdrobnoustrojowych. Niektóre informacje wydają się wskazywać, iż potencjalnym receptorem dla katelicydyn oraz defensyn mogą być cząsteczki należące do nadrodziny receptorów sprzężonych z białkami G (GPCR) bowiem zastosowanie toksyny krztuścowej (PTX), która blokuje podjednostkę α białka G, znacznie lub całkowicie hamuje skutki działania peptydów. Kurosaka i wsp. [55] jednoznacznie wykazali, z zastosowaniem PTX, że stymulacja PBMC, w tym ludzkich monocytów i neutrofilów oraz mysich leukocytów do migracji pod wpływem mysiej katelicydyny CRAMP przebiega ze współudziałem cząsteczek z grupy GPCR. Zaobserwowano także, że peptyd LL-37, *via* GPCR, mediuje zwiększenie błonowej ekspresji cząsteczek CD11b i CD86 w trakcie różnicowania komórek dendrytycznych [21]. Stwierdzono również, iż aktywacja keratynocytów przez katelicydynę LL-37 oraz β -defensyny hBD-2, hBD-3 i hBD-4, prowadząca do syntezy cytokin IL-6 i IL-10 oraz chemokin CCL2, CCL5, CCL20, CXCL8 i CXCL10, przebiega z udziałem receptora z grupy GPCR [12,71]. Podobnie, z zastosowaniem PTX wykazano, że stymulacja migracji makrofagów przez α -defensynę HNP-1 [38] oraz limfocytów T CD3⁺ i niedojrzałych komórek dendrytycznych przez defensyny α HNP-1, HNP-2 i HNP-3 [112] przebiega poprzez cząsteczkę z rodziny GPCR.

Do rodziny cząsteczek GPCR należą m.in. receptory *N*-formylowanych peptydów (FPR). Początkowo receptory te opisano jedynie w monocytach, makrofagach i neutrofilach, jednak obecnie wiadomo, że są ekspresjonowane również przez inne komórki, w tym komórki dendrytyczne, nabłonka i śródbłónka, mikrogleju, limfocyty T i B, hepatocyty, fibroblasty i astrocycy. U człowieka i innych naczelników wyróżniono trzy receptory należące do tej podgrupy - cząsteczkę FPR1 (poprzednie nazwy: FMLP, FPR), cząsteczkę FPR2 (poprzednie nazwy: FPRL1, LXA4R) oraz cząsteczkę FPR3 (poprzednia nazwa: FPRL2). Receptory FPR cechują się niewielką swoistością i rozpoznają różnorodne pod względem struktury i pochodzenia ligandy. Biorą udział w rozpoznawaniu *N*-formylowanych peptydów (FMLP) uwalnianych z komórek bakteryjnych, ale również endogennych peptydów pochodzących z uszkodzonych komórek organizmu. Receptory FPR pełnią ważną rolę w mediowaniu odpowiedzi komórek immunologicznych na infekcję. Aktywacja kaskady sygnałowej związanej z receptorami FPR prowadzi do uwolnienia z komórek licznych mediatorów, wytworzenia reaktywnych form tlenu oraz nasilenia procesu fagocytozy. Coraz więcej danych wskazuje, że cząsteczka FPR2 może być funkcjonalnym receptorem wiążącym także katelicydyny. De Yang i wsp. [23] przekonująco udowodnili, że peptyd LL-37 stymuluje neutrofile, monocyty oraz limfocyty T CD4⁺ izolowane z krwi obwodowej do migracji oddziałując przez FPR2. Wykazano także, iż komórki linii HEK293 transfekowane genem recep-

tora FPR2 migrują pod wpływem ludzkiej katelicydyny, podczas gdy komórki tej linii bez cząsteczki FPR2 nie są aktywowane przez LL-37 do migracji. Stwierdzono ponadto, że peptyd LL-37 indukuje mobilizację jonów Ca²⁺ jedynie w komórkach HEK293 transfekowanych genem cząsteczki FPR2. Autorzy zaobserwowali również mobilizację jonów Ca²⁺ w monocytach pod wpływem zarówno katelicydyny, jak i swoistego agonisty receptora FPR2. Co więcej, udowodniono krzyżową desensytyzację FPR2 indukowaną LL-37 i danym agonistą. Podobnie Tjabringa i wsp. [96] wykazali, że peptyd LL-37 działa chemotaktycznie wobec neutrofilów oraz eozynofili. Udokumentowano jednocześnie, iż blokowanie ścieżki sygnałowej cząsteczek z grupy GPCR toksyną PTX oraz zastosowanie swoistego antagonisty cząsteczki FPR2 powoduje całkowite zahamowanie indukowanej katelicydyną chemotaksji tych komórek. Kurosaka i wsp. [55] wykazali, że mysia katelicydyna CRAMP indukuje migrację komórek linii HEK293 transfekowanych zarówno receptorem FPR2, jak i receptorem mFPR2 (mysi ortolog ludzkiego receptora FPR2), a agonista FPR2, podobnie jak mysia CRAMP, indukuje wewnątrzkomórkową mobilizację jonów wapnia. Są również informacje, że adhezja monocytów do komórek śródbłónki pod wpływem LL-37 oraz CRAMP jest mediowana poprzez receptor FPR2 bowiem blokowanie tego receptora z zastosowaniem swoistego antagonisty hamuje adhezję indukowaną katelicydynami [107]. Peptyd LL-37, poprzez receptor FPR2, stymuluje również proliferację komórek raka jajnika i zwiększa ich potencjał przerzutowy [20]. Istotna jest informacja, że surowica zawierająca przeciwciała anti-FPR2 blokuje proliferację komórek śródbłónki indukowaną działaniem LL-37 [53]. Jednoznacznie wykazano także, iż katelicydyna LL-37 stymuluje eozynofile do syntezy i wydzielania cysLT wpływając przez cząsteczkę FPR2. Syntezę tych mediatorów obserwowano nie tylko pod wpływem LL-37, ale także w odpowiedzi na działanie syntetycznego agonisty FPR2. Odpowiedź eozynofili na działanie LL-37 była hamowana zarówno przez PTX, jak i antagonistę cząsteczki FPR2 [92]. Wykazano ponadto, że ludzka katelicydyna wydłuża okres przeżycia neutrofilów działając przez cząsteczkę FPR2 bowiem antagonistą tego receptora, związek WRW₄, hamuje działanie LL-37 [5,63].

Nieliczne dane wydają się wskazywać, że także receptor purynergiczny P2X₇ może wiązać katelicydyny. Peptyd LL-37, poprzez P2X₇, stymuluje monocyty do syntezy IL-1 β [27]. Fibroblasty aktywowane LL-37 wytwarzają chemokinę CXCL8, a przeciwciała blokujące P2X₇ hamują to działanie katelicydyny [59]. W odpowiedzi na działanie LL-37 makrofagi wytwarzają LTB₄ oraz TXB₂ przy czym inhibitor receptora P2X₇ oraz swoisty antagonistą blokują ten efekt [106]. Ludzka katelicydyna poprzez receptor P2X₇ aktywuje proliferację komórek linii NIH 3T3 oraz komórek linii HEK293 transfekowanych genem P2X₇, a zastosowanie inhibitorów tego receptora hamuje działanie LL-37 [98]. Udokumentowano również, że hamowanie spontanicznej apoptozy neutrofilów indu-

kowane LL-37 przebiega z udziałem nie tylko cząsteczki FPR2, ale również z udziałem receptora P2X₇. Nie wiadomo jednak, jaki jest mechanizm kooperacji obu cząsteczek [5,63].

Niewiele jest informacji wskazujących, że LL-37 może indukować odpowiedź komórek oddziaływając poprzez receptory o aktywności kinazy tyrozynowej, tj. receptor czynnika wzrostu naskórka (EGFR) oraz receptor insulino podobnego czynnika wzrostu (IGF-1R). Tjabringa i wsp. [95] udokumentowali, że peptyd LL-37, przez EGFR, aktywuje komórki raka płuc linii NCI-H292 do syntezy i wydzielania chemokiny CXCL8, a zastosowanie swoistego inhibitora tego receptora blokuje obserwowany efekt. Shaykhiev i wsp. [85] dowiedli, że inhibitor EGFR blokuje proliferację komórek NCI-H292 mediowaną ludzką katelicydyną. Należy również nadmienić, że LL-37 indukuje fosforylację EGFR, a inhibitory tej cząsteczki blokują indukowaną przez LL-37 migrację keratynocytów [97]. EGFR bierze ponadto udział w generacji przez keratynocyty CXCL8 w odpowiedzi na działanie LL-37, a zastosowanie inhibitora tego receptora doprowadza do hamowania syntezy tej chemokiny [12]. Nie jest pewne czy EGFR pełni funkcję receptora α -defensyn. Aarbiou i wsp. [2] zaobserwowali, iż defensyny HNP-1, HNP-2 i HNP-3 indukują proliferację komórek nabłonka dróg oddechowych linii NCI-H292, a inhibitor EGFR blokuje to działanie. Ta sama grupa badaczy wskazała jednocześnie, że te defensyny indukują proliferację komórek raka płuc linii A549, ale nie jest to mediowane przez cząsteczkę EGFR [1]. Równie interesujące są niedawne doniesienia, że katelicydyna LL-37 wykazuje bardzo wysokie powinowactwo do cząsteczki IGF-1R ekspresjonowanej przez komórki raka piersi linii MCF-7 [19].

Nieliczne dane wskazują, że β -defensyny mogą się wiązać do cząsteczek z nadrodziny GPCR - receptorów dla chemokin CCR6 i CCR2. Z zastosowaniem przeciwciał neutralizujących oraz swoistego liganda CCR6 i chemokiny CCL20, jednoznacznie udokumentowano, że hBD-3 hamuje apoptozę neutrofilów i aktywność kaspazy-3 działając poprzez CCR6 [62]. W tej samej pracy wskazano, że przeciwciała anti-CCR6 znacząco hamują indukowaną hBD-3 migrację oraz wewnątrzkomórkową mobilizację jonów wapnia w neutrofilach. Defensyna hBD-2 stymuluje chemotaksję komórek linii HEK293 transfekowanych genem CCR6 oraz komórek dendrytycznych wykazujących konstytutywną ekspresję cząsteczek CCR6, przy czym zarówno PTX, jak i przeciwciała neutralizujące CCR6 blokują migrację tych komórek [113]. Peptyd hBD-3, działając poprzez CCR6, indukuje również zwiększenie ekspresji cytokiny IL-37 w keratynocytach [87]. Röhr i wsp. [81] udokumentowali natomiast, że β -defensyny człowieka hBD-2 i hBD-3 oraz myszy mBD-4 i mBD-14 wiążą się z komórkami linii HEK293, które ekspresjonują na swojej powierzchni receptor CCR2 i, poprzez ten receptor, indukują chemotaksję komórek HEK293 oraz ludzkich monocytów krwi obwodowej. Autorzy wykazali także, że te same defensyny stymulują poprzez CCR2, migrację komórek otrzewnej myszy, a agonista

tego receptora - chemokina CCL2 - blokuje indukowaną defensynami migrację.

Niezwykle intrygujące są obserwacje Biragyn i wsp. [9], że mysia β -defensyna 2 indukuje dojrzewanie komórek dendrytycznych działając poprzez cząsteczki TLR4. Ważna jest również informacja, iż adhezja leukocytów do komórek śródbłonka pod wpływem α -defensyn jest mediowana przez receptor dla lipoprotein o niskiej gęstości (LRP1) [77], receptor występujący na większości komórek organizmu [32].

Komórki tuczne w obronie przeciwko patogenom

Komórki tuczne odgrywają niezwykle ważną rolę w utrzymaniu homeostazy organizmu oraz współuczestniczą w wielu procesach fizjologicznych. Mediatorzy komórek tucznych regulują bowiem napięcie i przepuszczalność naczyń krwionośnych, wpływają na procesy fizjologicznej przebudowy i regeneracji tkanek, a także biorą udział w procesach angiogenezy. Mastocyty współuczestniczą również w różnych procesach patologicznych [35,52,100]. Obecnie coraz więcej danych wskazuje, iż komórki te odgrywają niezwykle istotną rolę w obronie gospodarza skierowanej przeciwko patogenom [22,109].

Ważną przesłanką wskazującą na rolę komórek tucznych w mechanizmach obronnych jest ich lokalizacja. Mastocyty są bardzo liczne szczególnie w skórze oraz bezpośrednio pod nabłonkiem wyściełającym drogi oddechowe, przewód pokarmowy i drogi moczowo-płciowe. W tkankach komórki te są bardzo liczne w sąsiedztwie naczyń krwionośnych i limfatycznych. Taka strategiczna lokalizacja, właściwie we wrotach zakażenia, pozwala im na bardzo łatwy i szybki kontakt z wnikającymi do organizmu patogenami. Wydaje się przy tym niezwykle istotne, iż komórki tuczne cechują się ekspresją receptorów, które rozpoznają i wiążą zarówno wzorce molekularne obecne na powierzchni drobnoustrojów (PAMP), jak i wzorce molekularne związane z uszkodzeniem/niebezpieczeństwem (DAMP). Te wyspecjalizowane receptory rozpoznające wzorce (PRR) to transmembranowe białka jednokrotnie perforujące błonę komórkową (cząsteczki TLR i receptory lektynopodobne typu C - CLR) i błonę endosomów (cząsteczki TLR) oraz cząsteczki występujące w cytoplazmie (receptory RIG-I-podobne - RLR i receptory NOD-podobne - NLR).

Najlepiej i najszerzej opisaną grupą cząsteczek PRR ekspresjonowaną w komórkach tucznych są cząsteczki TLR. Charakteryzują się domenami bogatymi w powtórzenia reszt leucynowych od zewnętrznej strony błony oraz wewnątrzcytoplazmatyczną konserwatywną sekwencją wykazującą homologię z domeną obecną w cząsteczce IL-1R. Wielu autorów dokumentuje obecność w mastocytach 10 typów receptorów należących do tej rodziny - TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 i TLR10, które znajdują się w błonie komórkowej oraz TLR3, TLR7, TLR8 i TLR9, które są umiejscowione w błonie endosomów. Obecnie najwięcej informacji zgromadzono o cząsteczce TLR2;

jej obecność w mastocytach potwierdzono na poziomie transkryptu oraz białka. Receptor opisano zarówno w niedojrzałych, jak i dojrzałych mastocytach myszy, komórkach tucznych wyizolowanych ze skóry, płuc i polipów nosa człowieka oraz różnych ludzkich liniach komórkowych mastocytów. TLR2 tworzy heterodimery z cząsteczkami TLR1 i TLR6, istnieją jednak fragmentaryczne dane potwierdzające obecność funkcjonalnej postaci białka TLR6 w błonie komórek tucznych, a ekspresję funkcjonalnej cząsteczki TLR1 wykazano jedynie w komórkach linii LAD. Drugą dobrze opisaną cząsteczką należącą do tej rodziny receptorów jest TLR4. Obecność transkryptu tej cząsteczki potwierdzono w mysich komórkach tucznych wywodzących się ze szpiku kostnego (BMMC), mysich komórkach linii MC/9, ludzkich komórkach tucznych hodowanych z krwi pępowinowej (CBMC), ludzkich komórkach tucznych wyprowadzonych z komórek progenitorowych CD34⁺ (HCMC), ludzkich komórkach tucznych hodowanych z krwi obwodowej oraz liniach hodowlanych HMC-1 i LAD. Ponadto mRNA tego receptora potwierdzono w mastocytach izolowanych ze skóry płodów myszy, a także w komórkach tucznych izolowanych z tkanki płucnej człowieka. Co więcej, wykazano obecność funkcjonalnego białka TLR4 w BMMC, CBMC, HMC-1 i LAD. Ekspresję cząsteczki TLR4 wykazano także na mysich komórkach tucznych izolowanych ze skóry płodów i jamy otrzewnej. Nieliczne dane odnoszą się do ekspresji receptorów TLR3 i TLR5 w mastocytach. Dojrzałe ludzkie komórki tuczne izolowane z płuc i skóry człowieka zawierają transkrypt dla TLR3; mRNA tego receptora występuje także w niedojrzałych ludzkich komórkach HCMC, LAD i HMC-1. Funkcjonalne białko TLR3 zidentyfikowano w mastocytach linii P815, komórkach BMMC i dojrzałych komórkach tucznych myszy izolowanych z jamy otrzewnej. Receptor TLR5 występuje zarówno na poziomie transkryptu, jak i funkcjonalnego białka na ludzkich komórkach HCMC, LAD i HMC-1 oraz komórkach tucznych izolowanych z płuc i skóry człowieka.

Mysie komórki BMMC i P815 oraz komórki człowieka HCMC, HMC-1 i LAD, a także mastocyty izolowane ze skóry myszy oraz ze skóry i płuc człowieka ekspresjonują transkrypt cząsteczki TLR7. Obecność funkcjonalnego białka TLR7 stwierdzono w ludzkich komórkach HCMC, HMC-1 i LAD oraz mysich komórkach linii P815. Dane dotyczące TLR8 wskazują jedynie na występowanie mRNA tego receptora w komórkach BMMC. Fragmentaryczne informacje wskazują, że transkrypt TLR9 jest obecny w komórkach HCMC, CBMC, HMC-1 i LAD, jak i mysich komórkach BMMC i linii P815. Ponadto mRNA tego receptora opisano w mastocytach skóry myszy oraz ludzkich komórkach tucznych izolowanych ze skóry i płuc. Obecność białka TLR9 wykazano w komórkach HCMC, LAD i HMC-1, a mRNA TLR10 udokumentowano jedynie w dojrzałych ludzkich komórkach tucznych izolowanych ze skóry i tkanki płucnej [15,82].

Druga rodzina transbłonowych cząsteczek PRR, których obecność udokumentowano w komórkach tucznych, to

cząsteczki CLR. Ich cechą charakterystyczną jest obecność domen wiążących węglowodany, a nazwę „typ C” wprowadzono w celu rozróżnienia wiązania węglowodanów zależnego (cząsteczki CLR) i niezależnego (lektyny) od jonów wapnia. Grupa cząsteczek CLR liczy 15 białek, jednak w mastocytach wykazano ekspresję jedynie dwóch cząsteczek należących do tej rodziny - dektyny-1 i MINCLE. W ludzkich komórkach tucznych hodowanych z krwi obwodowej, komórkach CBMC i KU812 oraz mysich komórkach BMMC potwierdzono obecność mRNA i funkcjonalnego białka dektyny-1. Posługując się metodami biologii molekularnej wykazano obecność transkryptu i białka MINCLE w ludzkich komórkach tucznych wyizolowanych z krwi obwodowej [64,73,78,114].

Do rodziny cytoplazmatycznych receptorów RLR, nazywanych często helikazami, zaliczono cząsteczkę RIG-I (retinoic acid-inducible gene 1), cząsteczkę MDA5 (melanoma differentiation-associated gene 5) i cząsteczkę LGP2. Cząsteczki RIG-I i MDA5 są zbudowane z dwóch N-terminalnych domen aktywacji i rekrutacji kaspaz CARD, centralnej domeny DExD/H o aktywności helikazy zależnej od ATP i C-terminalnej domeny regulatorowej. Nieliczne dane wskazują, że mastocyty ekspresjonują w cytoplazmie obydwa te receptory, co potwierdzono w komórkach BMMC oraz CBMC, zarówno na poziomie mRNA, jak i białka [14,33]. Receptory NLR, podobnie jak cząsteczki RLR, znajdują się w cytoplazmie i są zbudowane z N-terminalnej domeny warunkującej transdukcję sygnału, domeny centralnej wiążącej nukleotydy (NOD) oraz licznych powtórzeń bogatych w leucynę od strony C-końca. U ssaków liczną grupę cząsteczek NLR podzielono na cztery grupy ze względu na typ domeny N-terminalnej. Receptory należące do tej rodziny, które są ekspresjonowane w komórkach tucznych, to cząsteczki NOD1 i NOD2. Autorzy dokumentują obecność mRNA receptorów NOD1 i NOD2 w komórkach tucznych myszy oraz mastocytach człowieka wyizolowanych z płuc, a także komórkach CBMC i HMC-1. Funkcjonalne białko tych receptorów zidentyfikowano w mysich i szczurzych komórkach tucznych, a także w komórkach CBMC oraz izolowanych z płuc człowieka [28,30,40,72,111,117]. W tabeli 1 przedstawiono dane dotyczące ekspresji cząsteczek z grupy PRR w komórkach tucznych.

Ekspresja tak wielu różnych cząsteczek z grupy PRR warunkuje możliwość rozpoznania przez komórki tuczne rozmaitych drobnoustrojów. Mastocyty biorą udział w mechanizmach obronnych skierowanych przeciwko bakteriom przede wszystkim dzięki ekspresji cząsteczek z grupy TLR i NLR wiążących ligandy bakteryjne. Receptor TLR2 identyfikuje i wiąże peptydoglikan (PGN), LTA, lipoproteiny oraz LAM. Heterodimer TLR2-TLR1 może rozpoznawać różne lipopeptydy pochodzenia bakteryjnego, m.in. z *Mycoplasma* sp. i lipoproteiny *Neisseria meningitidis*, a cząsteczka TLR2 z TLR6 wiąże rozpuszczalny czynnik tuberkulinowy *M. tuberculosis*. Cząsteczka TLR4 jest receptorem dla LPS, który jest składnikiem ściany komórkowej bakterii Gram-

Tabela 1. Ekspresja receptorów PRR w komórkach tucznych

Receptor	mRNA	Białko	Piśmiennictwo
TLR			
TLR1	CBMC, FSMC, HCMC, KU812, LAD	LAD	
TLR2	BMMC, CBMC, HCMC, HMC-1, KU812, LAD, MC/9, izolowane ze skóry i płuc człowieka	CBMC, HCMC, HMC-1, LAD, izolowane z płuc, polipów nosa człowieka oraz jelit myszy	
TLR3	BMMC, HCMC, HMC-1, LAD, P815, izolowane ze skóry i płuc człowieka	BMMC, P815, izolowane z jamy otrzewnej myszy	
TLR4	BMMC, CBMC, HCMC, HMC-1, LAD, MC/9, izolowane z płuc człowieka	BMMC, CBMC, HMC-1, LAD, izolowane z jamy otrzewnej myszy	
TLR5	HCMC, HMC-1, LAD, izolowane ze skóry i płuc człowieka	HMC-1, LAD	6,16,90
TLR6	BMMC, CBMC, HCMC, KU812, MC/9	HCMC, HMC-1, LAD	
TLR7	BMMC, HCMC, HMC-1, LAD, P815, izolowane ze skóry i płuc człowieka	HMC-1, HCMC, LAD, P815	
TLR8	BMMC	-	
TLR9	BMMC, CBMC, HCMC, HMC-1, LAD, P815, izolowane ze skóry i płuc człowieka	LAD, HCMC, HMC-1	
TLR10	izolowane ze skóry i płuc człowieka	-	
CLR			
dektyna 1	BMMC, CBMC, KU812, ludzkie komórki hodowane z krwi obwodowej	BMMC, CBMC, KU812, ludzkie komórki hodowane z krwi obwodowej	6,12,14,15
MINCLE	ludzkie komórki hodowane z krwi obwodowej	ludzkie komórki hodowane z krwi obwodowej	6,13
RLR			
RIG-I	BMMC, CBMC	BMMC	60,63
MDA5	BMMC, CBMC	BMMC	60,63
NLR			
NOD1	BMMC	BMMC, CBMC, RPMC	66,69
NOD2	CBMC, HMC-1, izolowane z płuc człowieka	CBMC, RPMC, izolowane z płuc człowieka	60,64,65,67

-ujemnych. Warto podkreślić, że ligandami TLR2 i TLR4 są także czynniki pochodzenia endogennego, które powstają w czasie urazu oraz podczas stresu komórkowego, m.in. białka szoku cieplnego HSP60 i HSP70, fibrynogen oraz siarczan heparanu. Dwie kolejne czą-

steczki zaangażowane w rozpoznawanie bakteryjnych cząsteczek PAMP to TLR5 i TLR9. Jedynym ligandem dla cząsteczki TLR5 jest białko budujące wici wielu bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych, czyli flagelina, natomiast cząsteczki TLR9 rozpoznają bakteryjne nie-

metylowane dinukleotydy CpG DNA [15,82]. Mastocyty rozpoznają ligandy bakteryjne również przez cząsteczki NOD1 i NOD2. Oba receptory wiążą PGN bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych, przy czym cząsteczka NOD1 rozpoznaje kwas mezo-diaminopimelinowy PGN, charakterystyczny dla wszystkich bakterii Gram-ujemnych i występujący w ścianie komórkowej tylko niektórych bakterii Gram-dodatnich, a cząsteczka NOD2 jest konserwatywnym dipeptydem muramylowym (MDP) PGN występujący u wszystkich bakterii [43]. W rozpoznawaniu infekcji bakteryjnej może brać również udział dektyna-1, cząsteczka z rodziny CLR, rozpoznająca β -1,3-glukan występujący w ścianie komórkowej *M. tuberculosis* oraz *M. abscessus* [36].

Ligandy pochodzenia wirusowego są rozpoznawane przez ekspresjonowane mastocyty receptory z rodziny TLR i RLR. Ligandem dla cząsteczki TLR3 jest podwójna nić wirusowego RNA (dsRNA), a TLR7 i TLR8 rozpoznają jednonicie RNA (ssRNA) wirusów. Cząsteczki TLR3, TLR7 i TLR9 mogą rozpoznawać ligandy endogenne, w tym endogenne informacyjny kwas nukleinowy (TLR3) i kompleksy immunologiczne zawierające kwasy nukleinowe (TLR7 i TLR9). Cząsteczka TLR4 jest receptorem dla białka fuzyjnego wirusa RSV [15,82]. Cząsteczki RLR - RIG-I i MDA5 są odpowiedzialne za identyfikację i wiązanie zarówno długich jak i krótkich fragmentów dsRNA oraz ssRNA z wolnym ufosforylowanym końcem 5'. Takie fragmenty powstają w cytoplazmie komórek gospodarza jedynie w czasie infekcji wirusowych. RIG-I jest receptorem dla ssRNA i krótkich fragmentów dsRNA wirusów z rodziny *Paramyxoviridae* (wirus Sendai, wirus choroby Newcastle), *Orthomyxoviridae* (wirus grypy), *Rhabdoviridae* oraz *Flaviviridae* (wirus zapalenia wątroby typu C). Cząsteczka MDA5 może wiązać długie fragmenty dsRNA wirusów należących do rodziny *Picornaviridae*. Zarówno RIG-I, jak i MDA5 są zdolne do rozpoznawania wirusa dengi [45,93].

Mastocyty rozpoznają także ligandy grzybów, bowiem ekspresjonują cząsteczki z rodziny CLR. Dektyna-1 wiąże β -1,3-glukan budujący ścianę komórkową grzybów m.in. *Candida albicans* i *Aspergillus fumigatus* [36]. Receptor MINCLE wiąże przede wszystkim α -mannozę *Malassezia* sp. [36]. W rozpoznawanie infekcji grzybiczej przez komórki tuczne może brać udział również heterodimer TLR2-TLR6 wiążący zymosan - składnik ściany grzybów, natomiast TLR2 wiąże fosfolipomannan *C. albicans* [15,82].

Rozważając udział mastocytów w mechanizmach obronnych skierowanych przeciwko patogenom należy pamiętać, iż komórki te są źródłem wielu mediatorów, cytokin i chemokin, które nie tylko promują rozwój zapalenia, ale także modulują przebieg procesów immunologicznych i wpływają na aktywność różnych populacji komórek [35,52,100]. Z naciskiem trzeba podkreślić, iż wiele mediatorów i cytokin/chemokin jest zmagazynowana w ziarnistościach cytoplazmatycznych komórek tucznych i może być wydzielana do otaczających

tkanek bardzo szybko, już w czasie kilkunastu sekund po rozpoznaniu patogenu. W grupie mediatorów preformowanych są m.in. histamina, tryptaza, chymaza, karboksypeptydaza A3, metaloproteinaza (MMP)9 oraz TNF, IL-4, -5, -6, -10, czynnik wzrostu fibroblastów (FGF), czynnik wzrostu śródbłónki naczyń (VEGF), transformujący czynnik wzrostu (TGF)- β i chemokina CXCL8. Mastocyty syntetyzują *de novo* i wydzielają do tkanek także czynnik aktywujący płytki krwi (PAF), LTB_4 , cysLT, prostaglandynę (PG) D_2 oraz wiele cytokin i chemokin. Histamina PAF, LTC_4 , PGD_2 , IL-1 β i VEGF indukują rozszerzenie drobnych naczyń krwionośnych oraz wzrost ich przepuszczalności. Dochodzi do spowolnienia przepływu krwi oraz zwiększenia przylegania leukocytów do śródbłónki. Co więcej, mediatory mastocytów, w tym histamina, tryptaza, TNF, IL-1 β , IL-4 i IFN- γ , zwiększają ekspresję cząsteczek adhezyjnych komórek śródbłónki naczyniowego oraz leukocytów, co ułatwia diapedezę komórek z łożyska naczyniowego do tkanek. Należy podkreślić, że wiele mediatorów komórek tucznych ma silne właściwości chemotaktyczne wobec leukocytów indukując migrację tych komórek do miejsca toczącego się procesu zapalnego. Spośród nich najbardziej istotne są IL-3, IL-4, IL-5, CCL2, CCL3, CCL5, CXCL8, GM-CSF, histamina, tryptaza i PAF. Należy także podkreślić, że wiele mediatorów komórek tucznych, np. histamina, LTB_4 , PAF, czynnik komórek macierzystych (SCF), TNF, czynnik wzrostu nerwów (NGF), IL-3 oraz chemokiny CCL2, CCL5 i CXCL8 może indukować migrację mastocytów, a chemokina CXCL8 jest silnym chemoatraktantem komórek NK. Jednocześnie mediatory te mogą zwiększać aktywność napływających komórek, zwłaszcza neutrofiliów i makrofagów. Ponadto niektóre mediatory wydzielane przez mastocyty, w tym tryptaza, chymaza, karboksypeptydaza A3 i MMP9, biorą udział w degradacji białek macierzy pozakomórkowej (ECM), co ułatwia napływ komórek odczynu zapalnego oraz przyspiesza rozprzestrzenianie się czynników humoralnych modulujących jego przebieg. Tak więc mediatory komórek tucznych w istotny sposób promują rozwój zapalenia, a to ma podstawowe znaczenie w obronie skierowanej przeciwko bakteriom i wirusom. Trzeba jednak podkreślić, iż wydzielane przez mastocyty IL-10 oraz TGF- β działają przeciwzapalnie.

Wydzielane przez komórki tuczne mediatory/cytokiny/chemokiny mogą również wpływać na rozwój odpowiedzi nabytej. Chemokiny CXCL10 i CCL5 są chemoatraktantami limfocytów T CD8⁺, natomiast CCL3 reguluje ich funkcje efektorowe. Histamina, TNF i CCL20 wzmagają prezentację antygenów przez komórki dendrytyczne i indukują ich rekrutację do węzłów chłonnych.

Wydzielanie mediatorów komórek tucznych do tkanek jest wynikiem aktywacji tych komórek poprzez interakcję cząsteczek PAMP patogenów lub endogennych cząsteczek powstających w odpowiedzi na infekcję z cząsteczkami PRR. Trzeba jednak podkreślić, iż aktywacja mastocytów może przebiegać również z udziałem ekspresjonowanych przez te komórki cząsteczek CD48 rozpoznających lektynę bakteryjną wiążącą man-

nozę związaną z fimbriami typu 1 (FimH). Wydzielanie mediatorów przez komórki tuczne może być również wynikiem aktywacji przez swoiste przeciwciała IgG lub IgE wytwarzane przeciwko antygenom patogenów i wiążące się do błonowych receptorów FcγRI, FcγRII i FcεRI. Opisano również, iż niektóre antygeny patogenów, np. białko *A. S. aureus*, aktywuje komórki tuczne oddziałując jako superantigen. Wreszcie, komórki tuczne ekspresjonują receptory dla niektórych białek układu dopełniacza, to jest C3aR, C5aR, CR2, CR4, C1qR, a więc w trakcie infekcji może dochodzić do ich aktywacji przez powstające anafilatoksyny.

Wiele informacji wskazuje, że komórki tuczne są zdolne do fagocytozy patogenów i ich wewnątrzkomórkowego zabijania, zarówno za pośrednictwem mechanizmów tlenowych jak i pozatlenowych [22]. Najnowsze dane sugerują, że mastocyty mogą wykazywać aktywność bakteriobójczą także w wyniku zewnątrzkomórkowych mechanizmów niezależnych od fagocytozy związanych z wytwarzaniem pozakomórkowych struktur podobnych do zewnątrzkomórkowej sieci neutrofilów [105]. Wiadomo ponadto, że komórki tuczne wspomagają procesy odpowiedzi nabytej, gdyż mogą prezentować antygeny w kontekście cząsteczek głównego układu zgodności tkankowej MHC klasy I i MHC klasy II. Wreszcie, z naciskiem trzeba zaznaczyć, iż te komórki są ważnym źródłem defensyn i katelicydyn [25,58].

WPŁYW KATELICYDYN I DEFENSYN NA KOMÓRKI TUCZNE

Mastocyty wykazują konstytutywną ekspresję różnych typów receptorów z nadrodziny GPCR. Należy wymienić między innymi receptory adenozynowe, histaminowe, kannabinoidowe, neurokininowe, β₂-adrenergiczne, receptory aktywowane przez proteazy (PAR), receptory dla chemokin, prostaglandyn oraz leukotrienów, a także receptor MrgX₂ (mas-related gene X₂) (tabela 2). W świetle danych, które wskazują, że komórki mogą być pobudzane przez katelicydyny i defensyny na drodze sygnału płynącego od receptora GPCR, można teoretycznie zakładać, iż każda z wyżej wymienionych cząsteczek mogłaby pośredniczyć w aktywacji mastocytów. Z naciskiem należy podkreślić, że w grupie receptorów GPCR, które zidentyfikowano w komórkach tucznych, są także cząsteczki FPR2 oraz P2X₇. Za pomocą techniki RT-PCR jednoznacznie udokumentowano, że komórki LAD ekspresjonują zarówno receptor FPR2, jak i receptor P2X₇ [115]. Obecność cząsteczek FPR2 nie została jednak potwierdzona na mastocytach jamy otrzewnej szczura [67]. Najnowsze doniesienia Subramanian i wsp. [90,91] wskazują na udział w aktywacji komórek tucznych przez katelicydyny i defensyny receptora MrgX₂. Ekspresję tego receptora wykazano na mastocytach skóry, komórkach CBMC, HCMC oraz LAD. Chociaż komórki tuczne ekspresjonują różne receptory wiążące chemokiny to nie wykazano ekspresji cząsteczki CCR6, która potencjalnie może wiązać β-defensyny [66]. Mastocyty wykazują natomiast ekspresję receptorów o aktywności kinazy

tyrozynowej, tj. EGFR oraz IGF-1R, które, jak wykazano w badaniach na innych populacjach komórek, mogą wiązać katelicydyny i defensyny α [2,12,37,85,95,97]. Bardzo ciekawe wnioski płyną z badań Niyonsaba i wsp. [66,67], w których wykazano, że na komórkach tucznych znajdują się miejsca wiążące zarówno LL-37, jak i β-defensynę. Autorzy sugerują przy tym, że mogą one mieć związek z receptorami z nadrodziny GPCR.

Nieliczne dane sugerują, iż katelicydyny mogą pełnić funkcję chemoatraktantów mastocytów. W 2002r. została opublikowana praca Niyonsaba i wsp. [67], w której wykazano, że ludzka katelicydyna LL-37, w zakresie stężeń 1-20 μg/ml, indukuje ukierunkowaną migrację (chemotaksję) komórek tucznych wyizolowanych z jamy otrzewnej szczura; optymalna dawka peptydu indukująca maksymalną migrację komórek wynosiła 5 μg/ml. Przeciwciała anti-LL-37 całkowicie blokowały migrację mastocytów. Autorzy przekonująco udokumentowali ponadto, iż LL-37 oddziałuje poprzez receptor z grupy GPCR, bowiem zastosowanie PTX powodowało hamowanie migracji komórek, a w ścieżce sygnałowej współuczestniczy fosfolipaza (PL)C. Migrację mastocytów pod wpływem LL-37, zastosowaną w zakresie stężeń od 1 do 40 μg/ml, wykazały również Bąbołewska i wsp. [6] dokumentując równocześnie przy zastosowaniu wybranych inhibitorów cząsteczek sygnałowych, iż transdukcja sygnału przebiega z udziałem kinaz aktywowanych przez sygnały zewnątrzkomórkowe (ERK1/2, kinazy 3-fosfatydylinozytolu (PI3K) oraz PLC/A₂). Interesująco opisano również migrację transfekowanych genem MrgX₂ komórek HMC-1 w odpowiedzi na działanie LL-37, podczas gdy komórki nietransfekowane tym genem nie migrowały pod wpływem katelicydyny [90]. W zakresie stężeń 3-40 μg/ml migrację komórek tucznych szczura indukuje również szczurza katelicydyna CRAMP, a transdukcja sygnału przebiega z udziałem cząsteczek ERK1/2, PI3K oraz PLC/A₂ [7]. Autorzy wskazali, że przeciwzapalna/immunomodulacyjna cytokina IL-10 znacząco hamuje migrację komórek tucznych pod wpływem CRAMP.

Nieliczne dane dokumentują, że katelicydyny indukują degranulację i uwalnianie z komórek tucznych mediatorów preformowanych. LL-37 w zakresie stężeń 1-10 μM stymuluje degranulację i uwalnianie β-heksozaminidazy z mastocytów jamy otrzewnej szczura, komórek LAD [83,90] oraz ludzkich mastocytów izolowanych z płuc [83]. Subramanian i wsp. [90] udokumentowali przy tym, że w aktywacji komórek tucznych współuczestniczy receptor GPCR. Bąbołewska i wsp. [6] udowodniły, że LL-37, w zakresie stężeń 1-20 μg/ml, indukuje degranulację komórek tucznych jamy otrzewnej szczura i uwalnianie histaminy. Uwalnianie histaminy pod wpływem LL-37 w stężeniu 1 μg/ml z komórek tucznych jamy otrzewnej szczura zaobserwowali także Niyonsaba i wsp. [68]. Autorzy wskazali ponadto, iż pod wpływem LL-37 dochodzi do szybkiej mobilizacji jonów wapnia wewnątrzkomórkowego, a chelatacja Ca²⁺ powoduje hamowanie uwalniania histaminy. Przy zastosowaniu swoistych inhibitorów

Tabela 2. Receptory z nadrodziny GPCR ekspresjonowane w komórkach tucznych [22,35,52,100,109]

Receptor(y)	Ligand(y)
adenozynowe A2A, A2B, A3	adenozyna
β_2 -adrenergiczny	adrenalina
kannabinoidowy CB ₂	2-arachidonoglicerol anandamid
dla chemokin CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4 CX3CR1 CCR1, CCR3, CCR4, CCR5	CXCL(1-12), CCL11, CCL21 CX3CL1 CCL(2-16), CCL(21-26)
dla leukotrienów CYSLTR1, CYSLTR2, GPR17 LTB4R, LTB4R2	LTC ₄ , LTD ₄ , LTE ₄ LTB ₄
histaminowe H ₁ , H ₂ , H ₄	histamina
MrgX ₂	somatostatyna substancja P czynnik płytkowy
neurokininowe NK1R, NK2R, NK3R	substancja P NGF
aktywowane przez proteazy PAR(1-4)	proteazy serynowe (m.in. trypsyna, tryptaza)
dla prostaglandyny E ₂ EP ₂ , EP ₃ , EP ₄	prostaglandyna E ₂
purynergiczne P2Y ₁ , P2Y ₁₂ , P2Y ₁₃ , P2Y ₂ , P2Y ₁₁	ADP, ATP, UTP

wskazano, że obserwowana aktywacja mastocytów przez LL-37 jest zależna od receptora z grupy GPCR oraz przebiega z udziałem PLC. Subramanian i wsp. [90] udokumentowali natomiast, że szczurze komórki tuczne linii RBL-2H3, które ekspresjonują receptor MrgX₂, degranulują pod wpływem LL-37, a w komórkach LAD ekspresjonujących ten receptor obserwuje się mobilizację jonów wapnia pod wpływem LL-37. W komórkach LAD z wyciszoną ekspresją receptora MrgX₂ obserwowano zahamowanie wewnątrzkomórkowej mobilizacji Ca²⁺ pod wpływem LL-37.

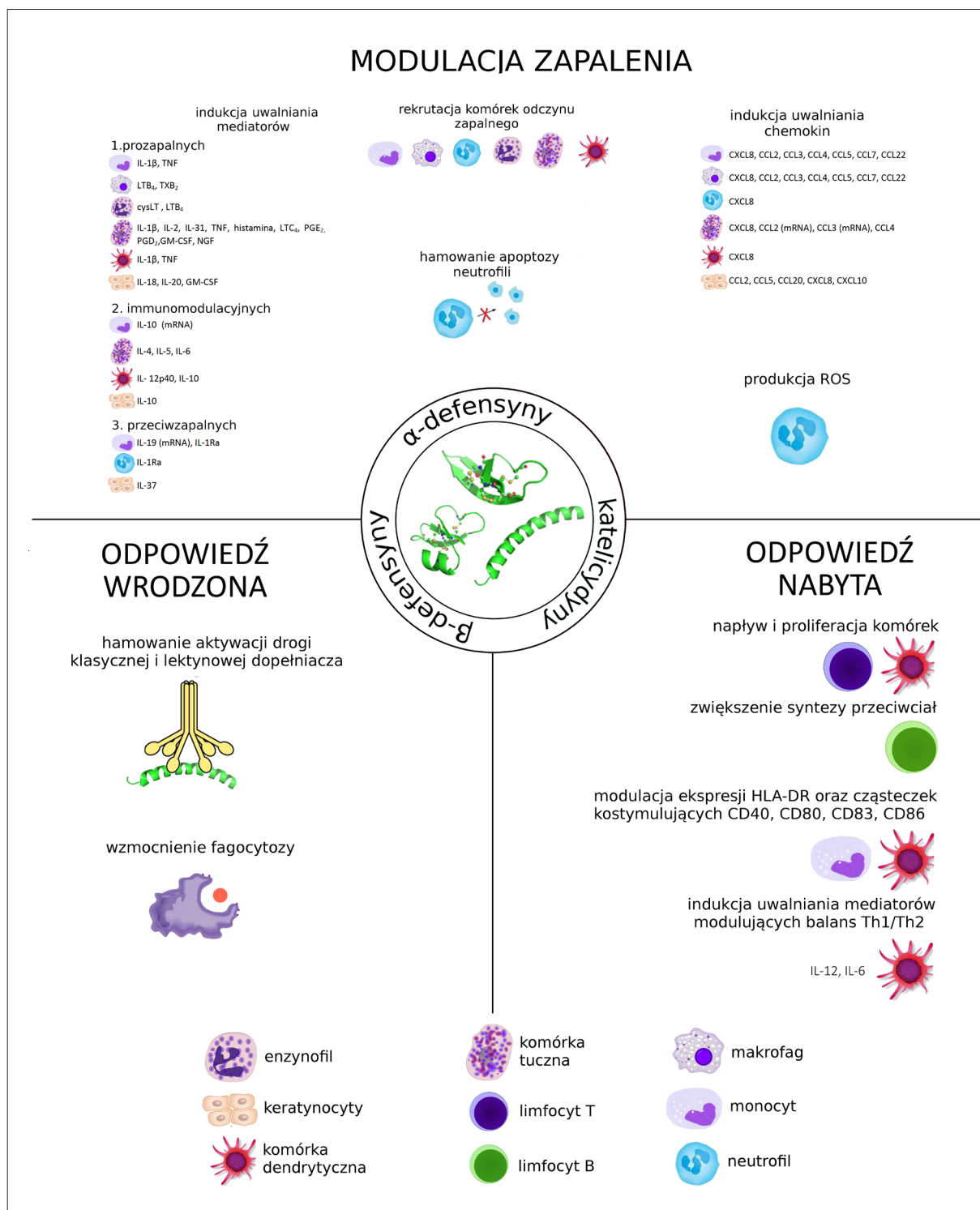
Katelicydyna LL-37, w stężeniu 1 µg/ml, stymuluje komórki LAD do syntezy wielu cytokin, w tym przeciwzapalnych IL-2, IL-4 [69,115], IL-5 [115] oraz prozapalnych, takich jak TNF [69,115], IL-1β [115], IL-6 [69]. Ludzka katelicydyna indukuje także wytwarzanie chemokiny CXCL8 oraz czynników wzrostu GM-CSF i NGF przez komórki LAD [69]. Interesujące są obserwacje, że wstępna 6-godzinna preinkubacja komórek LAD z katelicydyną LL-37, a następnie 24-godzinna stymulacja LPS

doprowadziła do znaczącego spadku wytwarzania IL-4 oraz IL-5, przy czym synteza IL-1β nie ulegała zmianie [115]. Ludzka katelicydyna indukuje syntezę i wydzielanie TNF i IL-6 oraz stymuluje wzrost ekspresji mRNA IL-1β, CCL2 i CCL3 w mastocytach jamy otrzewnej szczura [6]. Także szczurza katelicydyna CRAMP aktywuje komórki tuczne do wytwarzania TNF, w czym współuczestniczą ścieżki sygnałowe z udziałem cząsteczek ERK1/2, PLC i PI3K, oraz indukuje zwiększoną ekspresję transkryptów dla IL-1β, GM-CSF, CCL2 oraz CCL3 w komórkach tucznych jamy otrzewnej szczura [7]. Co ciekawe, LL-37 aktywuje transfekowane genem MrgX₂ komórki HMC-1 do wytwarzania CCL4 [90]. Peptyd LL-37 powoduje zwiększenie ekspresji mRNA i białka IL-31 w komórkach LAD oraz w szczurzych komórkach tucznych skóry *in vivo* [69]. Autorzy zaobserwowali ponadto, iż PTX hamuje wytwarzanie IL-31 pod wpływem ludzkiej katelicydyny, co sugeruje udział receptora z nadrodziny GPCR i wskazali, iż w przekazywaniu sygnału współuczestniczą cząsteczki PI3K, p38, ERK i JNK (c-Jun-N-terminal-kinase). Warto odnotować, iż kostymulacja

uczulonych IgE komórek LAD anti-IgE oraz LL-37 prowadzi do zwiększenia wytwarzania IL-31 [69].

Niewiele jest informacji dokumentujących wpływ katelicydyn na syntezę pochodnych fosfolipidów błonowych. Bąbolewska i wsp. [7] udowodniły, że szczurzy CRAMP,

w zakresie stężeń 2-40 $\mu\text{g/ml}$, indukuje wytwarzanie cysLT przez mastocyty jamy otrzewnej szczura, a w proces aktywacji włączone są cząsteczki ERK1/2 i PLC/ PLA_2 . Niyonsaba i wsp. [69] obserwowali także wydzielanie LTC_4 i PGE_2 przez komórki LAD pod wpływem LL-37. Udokumentowano również, że peptyd LL-37 indukuje



Ryc. 1. Immunomodulacyjna rola katelicydyn i defensyn

wzrost poziomu ekspresji mRNA i białka TLR4, jednak nie wpływa znacząco na poziom ekspresji TLR1, TLR2, TLR5 i TLR9 [115].

Analiza danych pozwala na stwierdzenie że podobnie jak katelicydyny, także β -defensyny mogą indukować migrację komórek tucznych. Udokumentowano, że β -defensyny hBD-2 [66] oraz hBD-3 i hBD-4 [17], w zakresie stężeń odpowiednio 1-10 $\mu\text{g/ml}$, 5-40 $\mu\text{g/ml}$ oraz 10-40 $\mu\text{g/ml}$, indukują chemotaksję dojrzałych tkankowych mastocytów jamy otrzewnej szczurów. Wykazano także, iż β -defensyny hBD-1, -2, -3 i -4, w stężeniu 1 $\mu\text{g/ml}$, stymulują migrację komórek BMMC oraz HMC-1 [89]. Po zastosowaniu swoistych inhibitorów udokumentowano, że transdukcja sygnału aktywującego przebiega z udziałem kinaz p38, ERK1/2 oraz JNK. Autorzy zaobserwowali przy tym, iż stymulacja komórek BMMC przez jonofor wapnia jonomycynę lub poprzez receptor FcR1 znacząco zwiększyła migrację tych komórek indukowaną defensynami β . Chen i wsp. [17] opisali również migrację komórek linii LAD w odpowiedzi na działanie hBD-3. Przy zastosowaniu inhibitorów PTX i U-73122 wykazano, że β -defensyny oddziałują poprzez receptor GPCR, a w transdukcję sygnału włączona jest PLC [17,66]. Migrację komórek tucznych w odpowiedzi na działanie hBD-2 wykazano również w warunkach *in vivo* [89]. Grigat i wsp. [38] udokumentowali natomiast, iż także defensyny- α -HNP-1, HNP-2 oraz HD-5 są chemoatraktantami komórek HMC-1, a działanie HNP-1 jest mediuwane poprzez cząsteczkę z nadrodziny GPCR.

Peptydy z grupy β -defensyn mogą także bezpośrednio aktywować komórki tuczne do syntezy i uwalniania mediatorów. Danych w tym zakresie jest jednak niewiele. Chen i wsp. [17] udowodnili, że β -defensyny hBD-3 i hBD-4, w zakresie stężeń 1-20 $\mu\text{g/ml}$, indukują degranulację komórek tucznych jamy otrzewnej szczura oraz komórek LAD i uwalnianie β -heksozoaminidazy. Wykazano przy tym, że degranulacja indukowana tymi peptydami jest zależna od receptora z grupy GPCR, a w ścieżce sygnałowej współuczestniczy PLC. Niyonsaba i wsp. [68] także opisali uwalnianie histaminy z komórek tucznych jamy otrzewnej szczura pod wpływem hBD-2 wskazując na udział w tym procesie zarówno GPCR, jak PLC. Podobne obserwacje przedstawili Kase i wsp. [49]. Stymulacja mastocytów β -defensynami prowadzi równocześnie do mobilizacji wewnątrzkomórkowych zasobów jonów wapnia [17,68]. Peptydy hBD-3 i hBD-4 indukują fosforylację cząsteczek ERK1/2 i p38 [17]. Ciekawe obserwacje przedstawili Subramanian i wsp. [91]. Autorzy udokumentowali, iż w komórkach LAD z wyciszoną ekspresją receptora MrgX_2 dochodziło do zahamowania degranulacji pod wpływem hBD-2 i hBD-3, natomiast w komórkach transfekowanych cDNA kodującym MrgX_2 te peptydy indukowały znaczącą degranulację komórek tucznych z równoczesnym zwiększeniem stę-

żenia jonów wapnia w komórkach. Befus i wsp. [8] udokumentowali, że również α -defensyny królika NP-3a, NP-3b i NP-1, świnki morskiej GPCS-2 i GPCS-3 oraz człowieka HNP-1 i HNP-2 generują uwalnianie histaminy z komórek tucznych jamy otrzewnej szczura. Wykazano ponadto, iż stymulacja komórek odbywa się poprzez cząsteczkę z nadrodziny GPCR.

Defensyny hBD-(1-4) stymulują komórki LAD także do syntezy cytokin IL-2, IL-4 i IL-6 [69]. Te peptydy indukują również wytwarzanie chemokiny CXCL8 oraz czynników wzrostu GM-CSF i NGF przez komórki LAD [69]. Podobnie jak w przypadku katelicydyny LL-37, defensyny hBD-(1-4) indukują zwiększenie ekspresji transkryptu i białka IL-31 w komórkach LAD [69]. PTX oraz wortmanina hamują wytwarzanie IL-31 pod wpływem β -defensyn, co sugeruje udział receptora z nadrodziny GPCR oraz cząsteczki PI3K. Autorzy udokumentowali, iż w ścieżce przekazywania sygnału współuczestniczą również kinazy ERK i JNK. Defensyny hBD-2, hBD-3 oraz hBD-4 indukują syntezę i wydzielanie pochodnych fosfolipidów błonowych: PGD_2 , PGE_2 i LTC_4 przez komórki tuczne jamy otrzewnej szczura i komórki LAD [17,49,69]. Wskazano również, iż proces ten zależy od aktywacji receptora z grupy GPCR i szlaku wewnątrzkomórkowego powiązanego z PLC [17].

UWAGI KOŃCOWE

Defensyny i katelicydyny pierwotnie opisano jako naturalne peptydy kationowe o silnym bezpośrednim działaniu przeciwdrobnoustrojowym. Przedstawione wyżej informacje jednoznacznie dokumentują, że w istocie te peptydy należy uważać przede wszystkim za ważne endogenne czynniki humoralne regulujące wiele procesów fizjologicznych i patologicznych. Z pewnością katelicydyny, defensyny α i defensyny β w znacznym stopniu wpływają na przebieg procesów zapalnych, a także wykazują silne działanie immunomodulacyjne bowiem wpływają na aktywność wielu populacji komórek (ryc. 1). Szczególnie w różnorodny sposób modulują aktywność sekrecyjną mastocytów oraz indukują ich migrację. Dobrze wiadomo, że komórki tuczne odgrywają ważną rolę w przebiegu zapalenia, a w konsekwencji współuczestniczą w patomechanizmie wielu chorób o podłożu zapalnym. Mastocyty biorą także udział w procesach fizjologicznych i w regulacji homeostazy organizmu. Co więcej, komórki te uczestniczą aktywnie w mechanizmach obronnych rozwijanych w przebiegu infekcji. Rozważając tak różnorodną rolę komórek tucznych w organizmie wydaje się, iż poznanie czynników i mechanizmów regulujących aktywność tych komórek w tkankach jest niezwykle istotne. Aktualne dane wskazują, iż katelicydyny i defensyny należą do ważnych czynników endogennych wpływających na biologię mastocytów.

PÍSMIENICTWO

- [1] Aarbiou J., Ertmann M., van Wetering S., van Noort P., Rook D., Rabe K.F., Litvinov S.V., van Krieken J.H., de Boer W.I., Hiemstra P.S.: Human neutrophil defensins induce lung epithelial cell proliferation in vitro. *J. Leukoc. Biol.*, 2002; 72: 167-174
- [2] Aarbiou J., Verhoosel R.M., van Wetering S., de Boer W.I., van Krieken J.H., Litvinov S.V., Rabe K.F., Hiemstra P.S.: Neutrophil defensins enhance lung epithelial wound closure and mucin gene expression in vitro. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.*, 2004; 30: 193-201
- [3] Alalwani S.M., Sierigk J., Herr C., Pinkenburg O., Gallo R., Vogelmeier C., Bals R.: The antimicrobial peptide LL-37 modulates the inflammatory and host defense response of human neutrophils. *Eur. J. Immunol.*, 2010; 40: 1118-1126
- [4] Bandholtz L., Ekman G.J., Vilhelmsson M., Buentke E., Agerberth B., Scheynius A., Gudmundsson G.H.: Antimicrobial peptide LL-37 internalized by immature human dendritic cells alters their phenotype. *Scand. J. Immunol.*, 2006; 63: 410-419
- [5] Barlow P.G., Li Y., Wilkinson T.S., Bowdish D.M., Lau Y.E., Cosseau C., Haslett C., Simpson A.J., Hancock R.E., Davidson D.J.: The human cationic host defense peptide LL-37 mediates contrasting effects on apoptotic pathways in different primary cells of the innate immune system. *J. Leukoc. Biol.*, 2006; 80: 509-520
- [6] Bąbolewska E., Brzezińska-Błaszczyk E.: Human-derived cathelicidin LL-37 directly activates mast cells to proinflammatory mediator synthesis and migratory response. *Cell Immunol.*, 2015; 293: 67-73
- [7] Bąbolewska E., Pietrzak A., Brzezińska-Błaszczyk E.: Cathelicidin rCRAMP stimulates rat mast cells to generate cysteinyl leukotrienes, synthesize TNF and migrate: involvement of PLC/A2, PI3K and MAPK signaling pathways. *Int. Immunol.*, 2014; 26: 637-646
- [8] Befus A.D., Mowat C., Gilchrist M., Hu J., Solomon S., Bateman A.: Neutrophil defensins induce histamine secretion from mast cells: mechanisms of action. *J. Immunol.*, 1999; 163: 947-953
- [9] Biragyn A., Ruffini P.A., Leifer C.A., Klyushnenkova E., Shakhov A., Chertov O., Shirakawa A.K., Farber J.M., Segal D.M., Oppenheim J.J., Kwak L.W.: Toll-like receptor 4-dependent activation of dendritic cells by β -defensin 2. *Science*, 2002; 298: 1025-1029
- [10] Biragyn A., Surenhu M., Yang D., Ruffini P.A., Haines B.A., Klyushnenkova E., Oppenheim J.J., Kwak L.W.: Mediators of innate immunity that target immature, but not mature, dendritic cells induce antitumor immunity when genetically fused with nonimmunogenic tumor antigens. *J. Immunol.*, 2001; 167: 6644-6653
- [11] Bowdish D.M., Davidson D.J., Speert D.P., Hancock R.E.: The human cationic peptide LL-37 induces activation of the extracellular signal-regulated kinase and p38 kinase pathways in primary human monocytes. *J. Immunol.*, 2004; 172: 3758-3765
- [12] Braff M.H., Hawkins M.A., Di Nardo A., Lopez-Garcia B., Howell M.D., Wong C., Lin K., Streib J.E., Dorschner R., Leung D.Y., Gallo R.L.: Structure-function relationships among human cathelicidin peptides: dissociation of antimicrobial properties from host immunostimulatory activities. *J. Immunol.*, 2005; 174: 4271-4278
- [13] Brogden K.A., Heidari M., Sacco R.E., Palmquist D., Guthmiller J.M., Johnson G.K., Jia H.P., Tack B.F., McCray P.B.: Defensin-induced adaptive immunity in mice and its potential in preventing periodontal disease. *Oral Microbiol. Immunol.*, 2003; 18: 95-99
- [14] Brown M.G., McAlpine S.M., Huang Y.Y., Haidl I.D., Al-Afif A., Marshall J.S., Anderson R.: RNA sensors enable human mast cell anti-viral chemokine production and IFN-mediated protection in response to antibody-enhanced dengue virus infection. *PLoS One*, 2012; 7: e34055
- [15] Brzezińska-Błaszczyk E., Wierzbicki M.: Mast cell Toll-like receptors (TLRs). *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2010; 64: 11-21
- [16] Chaly Y.V., Paleolog E.M., Kolesnikova T.S., Tikhonov I.I., Petrachenko E.V., Voitenok N.N.: Neutrophil α -defensin human neutrophil peptide modulates cytokine production in human monocytes and adhesion molecule expression in endothelial cells. *Eur. Cytokine Netw.*, 2000; 11: 257-266
- [17] Chen X., Niyonsaba F., Ushio H., Hara M., Yokoi H., Matsumoto K., Saito H., Nagaoka I., Ikeda S., Okumura K., Ogawa H.: Antimicrobial peptides human β -defensin (hBD)-3 and hBD-4 activate mast cells and increase skin vascular permeability. *Eur. J. Immunol.*, 2007; 37: 434-444
- [18] Choi K.Y., Chow L.N., Mookherjee N.: Cationic host defence peptides: multifaceted role in immune modulation and inflammation. *J. Innate Immun.*, 2012; 4: 361-370
- [19] Choi K.Y., Napper S., Mookherjee N.: Human cathelicidin LL-37 and its derivative IG-19 regulate interleukin-32-induced inflammation. *Immunology*, 2014; 143: 68-80
- [20] Coffelt S.B., Tomchuck S.L., Zwezdaryk K.J., Danka E.S., Scandurro A.B.: Leucine leucine-37 uses formyl peptide receptor-like 1 to activate signal transduction pathways, stimulate oncogenic gene expression, and enhance the invasiveness of ovarian cancer cells. *Mol. Cancer Res.*, 2009; 7: 907-915
- [21] Davidson D.J., Currie A.J., Reid G.S., Bowdish D.M., MacDonald K.L., Ma R.C., Hancock R.E., Speert D.P.: The cationic antimicrobial peptide LL-37 modulates dendritic cell differentiation and dendritic cell-induced T cell polarization. *J. Immunol.*, 2004; 172: 1146-1156
- [22] Dawicki W., Marshall J.S.: New and emerging roles for mast cells in host defence. *Curr. Opin. Immunol.*, 2007; 19: 31-38
- [23] De Yang B., Chen Q., Schmidt A.P., Anderson G.M., Wang J.M., Wooters J., Oppenheim J.J., Chertov O.: LL-37, the neutrophil granule – and epithelial cell-derived cathelicidin, utilizes formyl peptide receptor-like 1 (FPR1) as a receptor to chemoattract human peripheral blood neutrophils, monocytes, and T cells. *J. Exp. Med.*, 2000; 192: 1069-1074
- [24] Di Nardo A., Braff M.H., Taylor K.R., Na C., Granstein R.D., McInturff J.E., Krutzik S., Modlin R.L., Gallo R.L.: Cathelicidin antimicrobial peptides block dendritic cell TLR4 activation and allergic contact sensitization. *J. Immunol.*, 2007; 178: 1829-1834
- [25] Dimitriadou V., Mécheri S., Koutsilieris M., Fraser W., Al-Daccak R., Mourad W.: Expression of functional major histocompatibility complex class II molecules on HMC-1 human mast cells. *J. Leukoc. Biol.*, 1998; 64: 791-799
- [26] Dosler S., Karaaslan E.: Inhibition and destruction of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by antibiotics and antimicrobial peptides. *Peptides*, 2014; 62: 32-37
- [27] Elssner A., Duncan M., Gavrilin M., Wewers M.D.: A novel P2X7 receptor activator, the human cathelicidin-derived peptide LL37, induces IL-1 β processing and release. *J. Immunol.*, 2004; 172: 4987-4994
- [28] Enoksson M., Ejendal K.F., McAlpine S., Nilsson G., Lunderius-Andersson C.: Human cord blood-derived mast cells are activated by the Nod1 agonist M-TriDAP to release pro-inflammatory cytokines and chemokines. *J. Innate Immun.*, 2011; 3: 142-149
- [29] Ericksen B., Wu Z., Lu W., Lehrer R.I.: Antibacterial activity and specificity of the six human α -defensins. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005; 49: 269-275
- [30] Feng B.S., Zheng P.Y., Chen X., Liao X.Q., Yang P.C.: Investigation of the role of cholera toxin in assisting the initiation of the antigen-specific Th2 response. *Immunol. Invest.*, 2008; 37: 782-797
- [31] Filewod N.C., Pistolic J., Hancock R.E.: Low concentrations of LL-37 alter IL-8 production by keratinocytes and bronchial epithelial cells in response to proinflammatory stimuli. *FEMS Immunol. Med.*

Microbiol., 2009; 56: 233-240

[32] Franchini M., Montagnana M.: Low-density lipoprotein receptor-related protein 1: new functions for an old molecule. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2011; 49: 967-970

[33] Fukuda M., Ushio H., Kawasaki J., Niyonsaba F., Takeuchi M., Baba T., Hiramatsu K., Okumura K., Ogawa H.: Expression and functional characterization of retinoic acid-inducible gene-I-like receptors of mast cells in response to viral infection. *J. Innate Immun.*, 2013; 5: 163-173

[34] Funderburg N., Lederman M.M., Feng Z., Drage M.G., Jadowsky J., Harding C.V., Weinberg A., Sieg S.F.: Human β -defensin-3 activates professional antigen-presenting cells via Toll-like receptors 1 and 2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 18631-18635

[35] Galli S.J., Grimaldeston M., Tsai M.: Immunomodulatory mast cells: negative, as well as positive, regulators of immunity. *Nat. Rev. Immunol.*, 2008; 8: 478-486

[36] Geijtenbeek T.B., Gringhuis S.I.: Signalling through C-type lectin receptors: shaping immune responses. *Nat. Rev. Immunol.*, 2009; 9: 465-479

[37] Girnita A., Zheng H., Grönberg A., Girnita L., Stähle M.: Identification of the cathelicidin peptide LL-37 as agonist for the type I insulin-like growth factor receptor. *Oncogene*, 2012; 31: 352-365

[38] Grigat J., Soruri A., Forssmann U., Riggert J., Zwirner J.: Chemoattraction of macrophages, T lymphocytes, and mast cells is evolutionarily conserved within the human α -defensin family. *J. Immunol.*, 2007; 179: 3958-3965

[39] Groeneveld T.W., Ramwadhoebe T.H., Trouw L.A., van den Ham D.L., van der Borden V., Drijfhout J.W., Hiemstra P.S., Daha M.R., Roos A.: Human neutrophil peptide-1 inhibits both the classical and the lectin pathway of complement activation. *Mol. Immunol.*, 2007; 44: 3608-3614

[40] Haidl I.D., McAlpine S.M., Marshall J.S.: Enhancement of mast cell IL-6 production by combined toll-like and nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor activation. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2011; 154: 227-235

[41] Huang H.J., Ross C.R., Blecha F.: Chemoattractant properties of PR-39, a neutrophil antibacterial peptide. *J. Leukoc. Biol.*, 1997; 61: 624-629

[42] Ichinose M., Asai M., Imai K., Sawada M.: Enhancement of phagocytosis by corticostatin I (CSI) in cultured mouse peritoneal macrophages. *Immunopharmacology*, 1996; 35: 103-109

[43] Inohara N., Chamaillard M., McDonald C., Nuñez G.: NOD-LRR proteins: role in host-microbial interactions and inflammatory disease. *Annu. Rev. Biochem.*, 2005; 74: 355-383

[44] Ito T., Tanabe H., Ayabe T., Ishikawa C., Inaba Y., Maemoto A., Kono T., Ashida T., Fujiya M., Kohgo Y.: Paneth cells regulate both chemotaxis of immature dendritic cells and cytokine production from epithelial cells. *Tohoku J. Exp. Med.*, 2012; 227: 39-48

[45] Jabłońska A., Paradowska E.: Rola receptorów RIG-I-podobnych w odpowiedzi przeciwirusowej. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2014; 68: 541-556

[46] Jarczak J., Kościuczek E.M., Lisowski P., Strzałkowska N., Józwick A., Horbańczuk J., Krzyżewski J., Zwierzchowski L., Bagnicka E.: Defensins: natural component of human innate immunity. *Hum. Immunol.*, 2013; 74: 1069-1079

[47] Joly S., Maze C., McCray P.B.Jr, Guthmiller J.M.: Human β -defensins 2 and 3 demonstrate strain-selective activity against oral microorganisms. *J. Clin. Microbiol.*, 2004; 42: 1024-1029

[48] Kandler K., Shaykhiev R., Kleemann P., Kleszcz F., Lohoff M., Vogelmeier C., Bals R.: The anti-microbial peptide LL-37 inhibits the activation of dendritic cells by TLR ligands. *Int. Immunol.*, 2006; 18: 1729-1736

[49] Kase K., Hua J., Yokoi H., Ikeda K., Nagaoka I.: Inhibitory action of roxithromycin on histamine release and prostaglandin D2 production from β -defensin 2-stimulated mast cells. *Int. J. Mol. Med.*, 2009; 23: 337-340

[50] Kim C., Gajendran N., Mittrücker H.W., Weiward M., Song Y.H., Hurwitz R., Wilmanns M., Fischer G., Kaufmann S.H.: Human α -defensins neutralize anthrax lethal toxin and protect against its fatal consequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 4830-4835

[51] Kin N.W., Chen Y., Stefanov E.K., Gallo R.L., Kearney J.F.: Cathelin-related antimicrobial peptide differentially regulates T- and B-cell function. *Eur. J. Immunol.*, 2011; 41: 3006-3016

[52] Kinet J.P.: The essential role of mast cells in orchestrating inflammation. *Immunol. Rev.*, 2007; 217: 5-7

[53] Koczulla R., von Degenfeld G., Kupatt C., Krötz F., Zahler S., Gloe T., Issbrücker K., Unterberger P., Zaiou M., Lebherz C., Karl A., Raake P., Pfosser A., Boekstegers P., Welsch U. i wsp.: An angiogenic role for the human peptide antibiotic LL-37/hCAP-18. *J. Clin. Invest.*, 2003; 111: 1665-1672

[54] Kościuczek E.M., Lisowski P., Jarczak J., Strzałkowska N., Józwick A., Horbańczuk J., Krzyżewski J., Zwierzchowski L., Bagnicka E.: Cathelicidins: family of antimicrobial peptides. A review. *Mol. Biol. Rep.*, 2012; 39: 10957-10970

[55] Kurosaka K., Chen Q., Yarovsky F., Oppenheim J.J., Yang D.: Mouse cathelin-related antimicrobial peptide chemoattracts leukocytes using formyl peptide receptor-like 1/mouse formyl peptide receptor-like 2 as the receptor and acts as an immune adjuvant. *J. Immunol.*, 2005; 174: 6257-6265

[56] Lee J.K., Chang S.W., Perinpanayagam H., Lim S.M., Park Y.J., Han S.H., Baek S.H., Zhu Q., Bae K.S., Kum K.Y.: Antibacterial efficacy of a human β -defensin-3 peptide on multispecies biofilms. *J. Endod.*, 2013; 39: 1625-1629

[57] Machado L.R., Ottoloni B.: An evolutionary history of defensins: a role for copy number variation in maximizing host innate and adaptive immune responses. *Front. Immunol.*, 2015; 6: 115

[58] Malaviya R., Twisten N.J., Ross E.A., Abraham S.N., Pfeifer J.D.: Mast cells process bacterial Ags through a phagocytic route for class I MHC presentation to T cells. *J. Immunol.*, 1996; 156: 1490-1496

[59] Montreekachon P., Chotjumlong P., Bolscher J.G., Nazmi K., Reutrakul V., Krisanaprakornkit S.: Involvement of P2X₂ purinergic receptor and MEK1/2 in interleukin-8 up-regulation by LL-37 in human gingival fibroblasts. *J. Periodontol. Res.*, 2011; 46: 327-337

[60] Mookherjee N., Brown K.L., Bowdish D.M., Doria S., Falsafi R., Hokamp K., Roche F.M., Mu R., Doho G.H., Pistolic J., Powers J.P., Bryan J., Brinkman F.S., Hancock R.E.: Modulation of the TLR-mediated inflammatory response by the endogenous human host defense peptide LL-37. *J. Immunol.*, 2006; 176: 2455-2464

[61] Mookherjee N., Hamill P., Gardy J., Blimkie D., Falsafi R., Chikatamarla A., Arenillas D.J., Doria S., Kollmann T.R., Hancock R.E.: Systems biology evaluation of immune responses induced by human host defence peptide LL-37 in mononuclear cells. *Mol. Biosyst.*, 2009; 5: 483-496

[62] Nagaoka I., Niyonsaba F., Tsutsumi-Ishii Y., Tamura H., Hirata M.: Evaluation of the effect of human β -defensins on neutrophil apoptosis. *Int. Immunol.*, 2008; 20: 543-553

[63] Nagaoka I., Tamura H., Hirata M.: An antimicrobial cathelicidin peptide, human CAP18/LL-37, suppresses neutrophil apoptosis via the activation of formyl-peptide receptor-like 1 and P2X₂. *J. Immunol.*, 2006; 176: 3044-3052

[64] Nieto-Patlán A., Campillo-Navarro M., Rodríguez-Cortés O., Muñoz-Cruz S., Wong-Baeza I., Estrada-Parra S., Estrada-García I., Serafin-López J., Chacón-Salinas R.: Recognition of *Candida albicans* by Dectin-1 induces mast cell activation. *Immunobiology*, 2015; 220: 1093-1100

- [65] Nijnik A., Pistolic J., Wyatt A., Tam S., Hancock R.E.: Human cathelicidin peptide LL-37 modulates the effects of IFN- γ on APCs. *J. Immunol.*, 2009; 183: 5788-5798
- [66] Niyonsaba F., Iwabuchi K., Matsuda H., Ogawa H., Nagaoka I.: Epithelial cell-derived human β -defensin-2 acts as a chemotaxin for mast cells through a pertussis toxin-sensitive and phospholipase C-dependent pathway. *Int. Immunol.*, 2002; 14: 421-426
- [67] Niyonsaba F., Iwabuchi K., Someya A., Hirata M., Matsuda H., Ogawa H., Nagaoka I.: A cathelicidin family of human antibacterial peptide LL-37 induces mast cell chemotaxis. *Immunology*, 2002; 106: 20-26
- [68] Niyonsaba F., Someya A., Hirata M., Ogawa H., Nagaoka I.: Evaluation of the effects of peptide antibiotics human β -defensins-1/-2 and LL-37 on histamine release and prostaglandin D2 production from mast cells. *Eur. J. Immunol.*, 2001; 31: 1066-1075
- [69] Niyonsaba F., Ushio H., Hara M., Yokoi H., Tominaga M., Takamori K., Kajiura N., Saito H., Nagaoka I., Ogawa H., Okumura K.: Antimicrobial peptides human β -defensins and cathelicidin LL-37 induce the secretion of a pruritogenic cytokine IL-31 by human mast cells. *J. Immunol.*, 2010; 184: 3526-3534
- [70] Niyonsaba F., Ushio H., Nagaoka I., Okumura K., Ogawa H.: The human β -defensins (-1, -2, -3, -4) and cathelicidin LL-37 induce IL-18 secretion through p38 and ERK MAPK activation in primary human keratinocytes. *J. Immunol.*, 2005; 175: 1776-1784
- [71] Niyonsaba F., Ushio H., Nakano N., Ng W., Sayama K., Hashimoto K., Nagaoka I., Okumura K., Ogawa H.: Antimicrobial peptides human β -defensins stimulate epidermal keratinocyte migration, proliferation and production of proinflammatory cytokines and chemokines. *J. Invest. Dermatol.*, 2007; 127: 594-604
- [72] Okumura S., Yuki K., Kobayashi R., Okamura S., Ohmori K., Saito H., Ra C., Okayama Y.: Hyperexpression of NOD2 in intestinal mast cells of Crohn's disease patients: preferential expression of inflammatory cell-recruiting molecules via NOD2 in mast cells. *Clin. Immunol.*, 2009; 130: 175-185
- [73] Olynch T.J., Jakeman D.L., Marshall J.S.: Fungal zymosan induces leukotriene production by human mast cells through a dectin-1-dependent mechanism. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2006; 118: 837-843
- [74] Petrov V., Funderburg N., Weinberg A., Sieg S.: Human β defensin-3 induces chemokines from monocytes and macrophages: diminished activity in cells from HIV-infected persons. *Immunology*, 2013; 140: 413-420
- [75] Pérez-Cañadillas J.M., Zaballos A., Gutiérrez J., Varona R., Roncal F., Albar J.P., Márquez G., Bruix M.: NMR solution structure of murine CCL20/MIP-3 α , a chemokine that specifically chemoattracts immature dendritic cells and lymphocytes through its highly specific interaction with the β -chemokine receptor CCR6. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 28372-28379
- [76] Pistolic J., Cosseu C., Li Y., Yu J.J., Filewod N.C., Gellatly S., Rehaume L.M., Bowdish D.M., Hancock R.E.: Host defence peptide LL-37 induces IL-6 expression in human bronchial epithelial cells by activation of the NF- κ B signaling pathway. *J. Innate. Immun.*, 2009; 1: 254-267
- [77] Quinn K.L., Henriques M., Tabuchi A., Han B., Yang H., Cheng W.E., Tole S., Yu H., Luo A., Charbonney E., Tullis E., Lazarus A., Robinson L.A., Ni H., Peterson B.R. i wsp.: Human neutrophil peptides mediate endothelial-monocyte interaction, foam cell formation, and platelet activation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2011; 31: 2070-2079
- [78] Ribbing C., Engblom C., Lappalainen J., Lindstedt K., Kovanen P.T., Karlsson M.A., Lundeberg L., Johansson C., Nilsson G., Lunderius-Andersson C., Scheynius A.: Mast cells generated from patients with atopic eczema have enhanced levels of granule mediators and an impaired Dectin-1 expression. *Allergy*, 2011; 66: 110-119
- [79] Rodríguez-García M., Climent N., Oliva H., Casanova V., Franco R., Leon A., Gatell J.M., García F., Gallart T.: Increased α -defensins 1-3 production by dendritic cells in HIV-infected individuals is associated with slower disease progression. *PLoS One*, 2010; 5: e9436
- [80] Rosenfeld Y., Papo N., Shai Y.: Endotoxin (lipopolysaccharide) neutralization by innate immunity host-defense peptides. Peptide properties and plausible modes of action. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 1636-1643
- [81] Röhl J., Yang D., Oppenheim J.J., Hehlhans T.: Human β -defensin 2 and 3 and their mouse orthologs induce chemotaxis through interaction with CCR2. *J. Immunol.*, 2010; 184: 6688-6694
- [82] Sandig H., Bulfone-Paus S.: TLR signaling in mast cells: common and unique features. *Front. Immunol.*, 2012; 3: 185
- [83] Schiemann F., Brandt E., Gross R., Lindner B., Mittelstädt J., Sommerhoff C.P., Schulmistrat J., Petersen F.: The cathelicidin LL-37 activates human mast cells and is degraded by mast cell tryptase: counter-regulation by CXCL4. *J. Immunol.*, 2009; 183: 2223-2231
- [84] Sharma S., Verma I., Khuller G.K.: Biochemical interaction of human neutrophil peptide-1 with *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra. *Arch. Microbiol.*, 1999; 171: 338-342
- [85] Shaykhiev R., Beisswenger C., Kändler K., Senses J., Püchner A., Damm T., Behr J., Bals R.: Human endogenous antibiotic LL-37 stimulates airway epithelial cell proliferation and wound closure. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 2005; 289: L842-L884
- [86] Shaykhiev R., Sierigk J., Herr C., Krasteva G., Kummer W., Bals R.: The antimicrobial peptide cathelicidin enhances activation of lung epithelial cells by LPS. *FASEB J.*, 2010; 24: 4756-4766
- [87] Smithrithee R., Niyonsaba F., Kiatsurayanon C., Ushio H., Ikeda S., Okumura K., Ogawa H.: Human β -defensin-3 increases the expression of interleukin-37 through CCR6 in human keratinocytes. *J. Dermatol. Sci.*, 2015; 77: 46-53
- [88] Soehnlein O., Kai-Larsen Y., Frithiof R., Sorensen O.E., Kenne E., Scharfetter-Kochanek K., Eriksson E.E., Herwald H., Agerberth B., Lindbom L.: Neutrophil primary granule proteins HBP and HNP1-3 boost bacterial phagocytosis by human and murine macrophages. *J. Clin. Invest.*, 2008; 118: 3491-3502
- [89] Soruri A., Grigat J., Forssmann U., Riggert J., Zwirner J.: β -defensins chemoattract macrophages and mast cells but not lymphocytes and dendritic cells: CCR6 is not involved. *Eur. J. Immunol.*, 2007; 37: 2474-2486
- [90] Subramanian H., Gupta K., Guo Q., Price R., Ali H.: Mas-related gene X2 (MrgX2) is a novel G protein-coupled receptor for the antimicrobial peptide LL-37 in human mast cells: resistance to receptor phosphorylation, desensitization, and internalization. *J. Biol. Chem.*, 2011; 286: 44739-44749
- [91] Subramanian H., Gupta K., Lee D., Bayir A.K., Ahn H., Ali H.: β -defensins activate human mast cells via Mas-related gene X2. *J. Immunol.*, 2013; 191: 345-352
- [92] Sun J., Dahlén B., Agerberth B., Haeggström J.Z.: The antimicrobial peptide LL-37 induces synthesis and release of cysteinyl leukotrienes from human eosinophils-implications for asthma. *Allergy*, 2013; 68: 304-311
- [93] Takeuchi O., Akira S.: Innate immunity to virus infection. *Immunol. Rev.*, 2009; 227: 75-86
- [94] Tani K., Murphy W.J., Chertov O., Salcedo R., Koh C.Y., Utsunomiya I., Funakoshi S., Asai O., Herrmann S.H., Wang J.M., Kwak L.W., Oppenheim J.J.: Defensins act as potent adjuvants that promote cellular and humoral immune responses in mice to a lymphoma idiotype and carrier antigens. *Int. Immunol.*, 2000; 12: 691-700
- [95] Tjabringa G.S., Aarbiou J., Ninaber D.K., Drijfhout J.W., Sørensen O.E., Borregaard N., Rabe K.F., Hiemstra P.S.: The antimicrobial peptide LL-37 activates innate immunity at the airway epithelial surface by transactivation of the epidermal growth factor receptor. *J. Immunol.*, 2003; 171: 6690-6696

- [96] Tjabringa G.S., Ninaber D.K., Drijfhout J.W., Rabe K.F., Hiemstra P.S.: Human cathelicidin LL-37 is a chemoattractant for eosinophils and neutrophils that acts via formyl-peptide receptors. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2006; 140: 103-112
- [97] Tokumaru S., Sayama K., Shirakata Y., Komatsuzawa H., Ouhara K., Hanakawa Y., Yahata Y., Dai X., Tohyama M., Nagai H., Yang L., Higashiyama S., Yoshimura A., Sugai M., Hashimoto K.: Induction of keratinocyte migration via transactivation of the epidermal growth factor receptor by the antimicrobial peptide LL-37. *J. Immunol.*, 2005; 175: 4662-4668
- [98] Tomasinsig L., Pizzirani C., Skerlavaj B., Pellegatti P., Gulinelli S., Tossi A., Di Virgilio F., Zanetti M.: The human cathelicidin LL-37 modulates the activities of the P2X7 receptor in a structure-dependent manner. *J. Biol. Chem.*, 2008; 283: 30471-30481
- [99] Tripathi S., Verma A., Kim E.J., White M.R., Hartshorn K.L.: LL-37 modulates human neutrophil responses to influenza A virus. *J. Leukoc. Biol.*, 2014; 96: 931-938
- [100] Tsai M., Grimaldeston M., Galli S.J.: Mast cells and immunoregulation/immunomodulation. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2011; 716: 186-211
- [101] van den Berg R.H., Faber-Krol M.C., van Wetering S., Hiemstra P.S., Daha M.R.: Inhibition of activation of the classical pathway of complement by human neutrophil defensins. *Blood*, 1998; 92: 3898-3903
- [102] Van Wetering S., Mannesse-Lazeroms S.P., Van Sterkenburg M.A., Daha M.R., Dijkman J.H., Hiemstra P.S.: Effect of defensins on interleukin-8 synthesis in airway epithelial cells. *Am. J. Physiol.*, 1997; 272: L888-L896
- [103] Vandamme D., Landuyt B., Luyten W., Schoofs L.: A comprehensive summary of LL-37, the factotum human cathelicidin peptide. *Cell Immunol.*, 2012; 280: 22-35
- [104] Verbanac D., Zanetti M., Romeo D.: Chemotactic and protease-inhibiting activities of antibiotic peptide precursors. *FEBS Lett.*, 1993; 317: 255-258
- [105] Von Köckritz-Blickwede M., Goldmann O., Thulin P., Heinemann K., Norrby-Teglund A., Rohde M., Medina E.: Phagocytosis-independent antimicrobial activity of mast cells by means of extracellular trap formation. *Blood*, 2008; 111: 3070-3080
- [106] Wan M., Soehnlein O., Tang X., van der Does A.M., Smedler E., Uhlén P., Lindbom L., Agerberth B., Haeggström J.Z.: Cathelicidin LL-37 induces time-resolved release of LTB4 and TXA2 by human macrophages and triggers eicosanoid generation in vivo. *FASEB J.*, 2014; 28: 3456-3467
- [107] Wantha S., Alard J.E., Megens R.T., van der Does A.M., Döring Y., Drechsler M., Pham C.T., Wang M.W., Wang J.M., Gallo R.L., von Hundelshausen P., Lindbom L., Hackeng T., Weber C., Soehnlein O.: Neutrophil-derived cathelicidin promotes adhesion of classical monocytes. *Circ. Res.*, 2013; 112: 792-801
- [108] Wilson S.S., Wiens M.E., Smith J.G.: Antiviral mechanisms of human defensins. *J. Mol. Biol.*, 2013; 425: 4965-4980
- [109] Witczak P., Brzezińska-Błaszczyk E.: Komórki tuczne w infekcjach wirusowych. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 231-241
- [110] Witkowska D., Bartyś A., Gamian A.: Defensyny i katelicydyny jako naturalne antybiotyki peptydowe. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 694-707
- [111] Wu L., Feng B.S., He S.H., Zheng P.Y., Croitoru K., Yang P.C.: Bacterial peptidoglycan breaks down intestinal tolerance via mast cell activation: the role of TLR2 and NOD2. *Immunol. Cell Biol.*, 2007; 85: 538-545
- [112] Yang D., Chen Q., Chertov O., Oppenheim J.J.: Human neutrophil defensins selectively chemoattract naive T and immature dendritic cells. *J. Leukoc. Biol.*, 2000; 68: 9-14
- [113] Yang D., Chertov O., Bykovskaia S.N., Chen Q., Buffo M.J., Shogan J., Anderson M., Schröder J.M., Wang J.M., Howard O.M., Oppenheim J.J.: β -defensins: linking innate and adaptive immunity through dendritic and T cell CCR6. *Science*, 286: 525-528
- [114] Yang Z., Marshall J.S.: Zymosan treatment of mouse mast cells enhances dectin-1 expression and induces dectin-1-dependent reactive oxygen species (ROS) generation. *Immunobiology*, 2009; 214: 321-330
- [115] 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: 212-216
- [116] Yu J., Mookherjee N., Wee K., Bowdish D.M., Pistolic J., Li Y., Rehaume L., Hancock R.E.: Host defense peptide LL-37, in synergy with inflammatory mediator IL-1 β , augments immune responses by multiple pathways. *J. Immunol.*, 2007; 179: 7684-7691
- [117] Zabucchi G., Trevisan E., Vita F., Soranzo M.R., Borelli V.: NOD1 and NOD2 interact with the phagosome cargo in mast cells: a detailed morphological evidence. *Inflammation*, 2015; 38: 1113-1125
- [118] Zhang Z., Cherryholmes G., Chang F., Rose D.M., Schraufstatter I., Shively J.E.: Evidence that cathelicidin peptide LL-37 may act as a functional ligand for CXCR2 on human neutrophils. *Eur. J. Immunol.*, 2009; 39: 3181-3194
- [119] Zhang Z., Cherryholmes G., Shively J.E.: Neutrophil secondary necrosis is induced by LL-37 derived from cathelicidin. *J. Leukoc. Biol.*, 2008; 84: 780-788
- [120] Zheng Y., Niyonsaba F., Ushio H., Nagaoka I., Ikeda S., Okumura K., Ogawa H.: Cathelicidin LL-37 induces the generation of reactive oxygen species and release of human α -defensins from neutrophils. *Br. J. Dermatol.*, 2007; 157: 1124-1131

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.