

Received: 2012.10.19  
Accepted: 2013.01.24  
Published: 2013.03.18

## Związki komórek NK z komórkami dendrytycznymi\*

### Natural killer cells complot with dendritic cells

Aleksandra Bielawska-Pohl<sup>1</sup>, Elżbieta Pajtasz-Piasecka<sup>2</sup>, Danuta Duś<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Glikobiologii i Oddziaływań Międzykomórkowych Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirszfelda we Wrocławiu

<sup>2</sup>Laboratorium Doświadczalnej Terapii Przeciwnowotworowej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirszfelda we Wrocławiu

#### Streszczenie

Komórki dendrytyczne (dendritic cells – DC) znane są głównie ze zdolności do prezentacji antygenów limfocytom T oraz udziału w polaryzacji odpowiedzi immunologicznej. Niedawne badania ujawniły jednak ich inne funkcje – immunoregulacyjne i cytotoksyczne. Z kolei komórki NK (natural killer cells – NK), uważane dotychczas za jednorodną populację limfocytów zdolnych do nieswoistego rozpoznawania i niszczenia zmienionych komórek, okazały się również zdolne do pełnienia funkcji regulatorowych. Dodatkowo, efektywność obu tych rodzajów komórek – NK i DC – zależy w znacznym stopniu od ich wzajemnych oddziaływań. Badania relacji między DC i NK umożliwiły poznanie wielu niekonwencjonalnych funkcji pełnionych przez te komórki. W wyniku tych badań pisano o możliwości istnienia populacji komórek dwutypowych będących „hybrydą” NK i DC. Ich wyróżnikami są: ekspresja powierzchniowych receptorów typowych dla komórek NK i DC, aktywność cytotoksyczna, wytwarzanie interferonów oraz zdolność do prezentacji antygeny po uprzedniej stymulacji. Nie udało się dotychczas wyjaśnić, czy za aktywności przypisywane danej populacji komórek dwutypowych odpowiedzialna jest rzeczywista dwufunkcyjność każdej z tych komórek.

Jednak mimo braku bezpośrednich dowodów, że ta sama komórka może wykazywać aktywność cytotoksyczną i jednocześnie skutecznie prezentować antygen, pojawiły się już pierwsze sugestie wykorzystania wygenerowanych *ex vivo* komórek dwutypowych w terapii przeciwnowotworowej.

#### Słowa kluczowe:

komórki dendrytyczne • limfocyty NK • cytotoksyczne komórki dendrytyczne • limfocyty NK prezentujące antygen • komórki dwutypowe

#### Summary

Dendritic cells (DC) were initially considered as antigen presenting cells participating in the polarization of the immune response. Further understanding of their biology allowed determining their additional functions such as immunoregulatory and cytotoxicity. Until recently natural killer (NK) cells were known as a homogeneous population of lymphocytes capable of non-specific recognizing and eliminating target cells. Now it is widely accepted that NK cells, as a heterogeneous population, may also possess immunomodulatory functions. Moreover, the most recent analysis of the interactions between DC and NK cells revealed the exceptional functions of these cells. As a result of these studies the existence of bitypic cell population was postulated. The distinguishing features of these hybrid cells are: the expression of surface receptors typical for NK cells and DC, the cytotoxic activity, the production of interferons as well as their ability to present antigen after prior stimulation.

\*Artykuł finansowany z grantu badawczego nr NN401316239 Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

<b>Keywords:</b>	Despite the lack of strong direct evidence that the same cell can be both cytotoxic and effectively present the antigen at the same time, there are experimental findings suggesting that generated <i>ex vivo</i> bitypic cells may be used in antitumor therapy. <b>dendritic cells • NK cells • cytotoxic dendritic cells • NK cells presenting antigens • bitypic cells</b>
<b>Full-text PDF:</b>	<a href="http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1040434">http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1040434</a>
<b>Word count:</b>	2165
<b>Tables:</b>	3
<b>Figures:</b>	3
<b>References:</b>	57
<b>Adres autorki:</b>	dr Aleksandra Bielawska-Pohl, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda, ul. Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław; e-mail: <a href="mailto:aleksandra.bielawska@iitd.pan.wroc.pl">aleksandra.bielawska@iitd.pan.wroc.pl</a>

### KOMÓRKI DENDRYTYCZNE I LIMFOCYTY NK

Układ odpornościowy kręgowców ma zdolność odróżniania antygenów obcych od własnych struktur antygenowych. Prawidłowa odpowiedź na obce antygeny, prowadząca do generowania odpowiedzi odpornościowej jest w znacznej mierze uwarunkowana współdziałaniem DC z innymi komórkami immunokompetentnymi. W klasycznym modelu stymulacji odpowiedzi komórkowej wyróżnia się następujące etapy: zabijanie uszkodzonych komórek przez komórki cytotoksyczne, głównie przez limfocyty NK, pochłanianie przez komórki dendrytyczne uwolnionych w czasie tego procesu antygenów swoistych dla zabijanych komórek. Prowadzi to do aktywacji DC, która objawia się m.in. zmianą ekspresji ich cząsteczek powierzchniowych: pojawiają się receptory chemokin, cząsteczki kostymulujące oraz zwiększa się ekspresja cząsteczek głównego kompleksu zgodności tkankowej klasy I i II (MHC klasy I i II). Tak zmienione DC migrują do węzłów chłonnych, gdzie kontaktują się z limfocytami T, które dzięki temu ulegają pierwotnemu pobudzeniu. Komórki DC stanowią więc pomost między wrodzoną i nabytą odpowiedzią odpornościową.

Wśród DC można wyodrębnić kilka subpopulacji, różniących się szlakiem różnicowania, ekspresją cząsteczek powierzchniowych i/lub wewnątrzcytoplazmatycznych, pełnionymi funkcjami oraz lokalizacją tkankową. Najlepiej poznanymi pod względem morfologicznym i fenotypowym są konwencjonalne komórki dendrytyczne (conventional DC – cDC; CD11c<sup>hi</sup> MHC-II<sup>+</sup>) wywodzące się z linii mieloidalnej komórek macierzystych krwi, blisko spokrewnione z makrofagami. Opisano też dendrytyczne komórki plazmacytoidalne (plasmacytoid DC – pDC; CD11c<sup>lo</sup> MHC-II<sup>+/lo</sup>) pochodzące od prekursorów komórek limfoidalnych [1,35].

Konwencjonalne DC, wykazujące ekspresję cząsteczek MHC klasy II i molekuly adhezyjnej CD11c, charakteryzuje duża skuteczność w pochłanianiu i prezentowaniu antygenów oraz zdolność migracji do narządów limfatycznych [1]. Komórki te uczestniczą głównie w reakcjach odporności komórkowej. W pierwszej kolejności cDC migrują ze szpiku do tkanek nielimfoidalnych, gdzie pochłaniają

antygen, co prowadzi do ich aktywacji. Następnie migrują do węzłów chłonnych, gdzie mogą wydzielać znaczne ilości cytokin/chemokin inicjując w ten sposób kolejne etapy odpowiedzi immunologicznej.

Plazmacytoidalne DC różnią się od cDC rodzajem cytokin wydzielanych w odpowiedzi na stymulację antygenową. Komórki te uczestniczą w indukowaniu odporności wrodzonej. Wytwarzając znaczne ilości interferonu typu I (np. IFN- $\alpha$ , - $\beta$ ) odgrywają istotną rolę w odpowiedzi przeciwwirusowej. Uczestniczą również w procesie indukcji tolerancji immunologicznej kontrolując rozpoznawanie własnych antygenów przez limfocyty T [41, 42].

Blizsze poznanie biologii komórek dendrytycznych pozwoliło na wykrycie ich dodatkowych funkcji – cytotoksycznych oraz immunoregulacyjnych [13,27,57]. Wykazano, że DC mogą wykrywać komórki nowotworowe, zabijając je, a następnie prezentować ich antygeny innym komponentom układu odpornościowego, co wymusza zmianę w naszym postrzeganiu wzajemnych oddziaływań zachodzących między DC a komórkami NK lub T.

Komórki NK, uczestniczące w nieswoistej odpowiedzi odpornościowej, mają zdolność do rozpoznawania i niszczenia komórek zmienionych patologicznie, włączając w to komórki uszkodzone, zmienione nowotworowo, zakażone wirusem, opłaszczone przeciwciałami lub obce gatunkowo [7]. Komórki NK rozpoznają patologicznie zmienione komórki i wiążą się z nimi poprzez aktywowane cząsteczki adhezyjne. Prowadzi to do oddziaływań między aktywującymi i hamującymi receptorami obecnymi na komórkach NK i ich ligandami na komórkach docelowych. Warto podkreślić, że dopiero wypadkowa sygnałów przesyłanych przez te receptory decyduje, czy komórki NK będą zdolne do zabicia komórki docelowej [28,43,47]. Efektorowe komórki NK przez wytwarzanie cytokin i chemokin pełnią też inne, ważne funkcje, we wczesnych fazach odpowiedzi nieswoistej. Wykazano, że mogą modulować wzrost i różnicowanie komórek, m.in. monocytów, komórek dendrytycznych oraz granulocytów [54]. Najnowsze badania pozwoli-

ły stwierdzić, że komórki NK znajdujące się w obrębie macicy kobiet ciężarnych mogą odgrywać ważną rolę w procesie implantacji zarodka, wydzielają bowiem cytokiny proangiogenne promujące procesy tworzenia nowych naczyń krwionośnych, prowadząc tym samym do podtrzymania ciąży [55].

## **ODDZIAŁYWANIA LIMFOCYTÓW NK Z KOMÓRKAMI DC**

Uzyskanie określonego poziomu aktywności komórek DC, jak i NK zależy w znacznym stopniu od ich wzajemnych interakcji. Komórki obu populacji wpływają wzajemnie na swój rozwój za pośrednictwem wydzielanych cytokin. Konwencjonalne DC wytwarzają cytokiny konieczne do różnicowania, przeżycia i aktywacji komórek NK, takie jak np. IL-15, a pDC mogą chronić NK przed infekcjami wirusowymi wytwarzając IFN- $\alpha$ . Z kolei komórki NK wytwarzają cytokiny, które biorą udział w dojrzewaniu i różnicowaniu DC, w tym – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF) oraz interferon typu II (IFN- $\gamma$ ) [3,57].

Komórki NK mogą również pełnić funkcje regulatorowe. Na przykład aktywują komórki dendrytyczne do wytwarzania cytokin prozapalnych i stymulacji limfocytów T. Opisano badania, w których DC aktywowane *in vitro* przez NK wykazywały, w porównaniu do nieaktywowanych DC, skuteczniejszą stymulację cytotoksycznych limfocytów T (CTL). Komórki NK pobudzały zróżnicowane DC do wytwarzania IL-12 indukując tym samym aktywację zarówno limfocytów CD4<sup>+</sup>, jak i CD8<sup>+</sup> [26].

Ponadto wykazano, że niektóre funkcje NK i DC wymagają wzajemnego bezpośredniego kontaktu [25,50,56]. NK mogą za pomocą aktywacji receptorów naturalnej cytotoxyczności, Nkp30, inicjować apoptozę niedojrzałych DC, niezdolnych do dalszego różnicowania. Nie dotyczy to dojrzałych, zróżnicowanych DC, zdolnych do efektywnej prezentacji antygenów limfocytom T. Tak więc, DC dzięki zwiększonej ekspresji cząsteczek MHC klasy I przestają być wrażliwe na atak komórek NK [17,18]. Taka kontrola jakości dojrzewających DC przez cytotoksyczne limfocyty NK okazała się podstawowym mechanizmem regulującym generowanie oraz podtrzymanie odpowiedzi odpornościowej [31,33].

Komórki DC i NK mogą reagować na te same stymulatory. Na przykład związanie się ligandów z receptorami Toll-podobnymi może z jednej strony prowadzić do dojrzewania DC, z drugiej zaś – do indukowania pełnej aktywności komórek NK [39]. W konsekwencji obserwować będziemy pozytywną stymulację obu rodzajów komórek. Odmienną rolę pełni receptor IRp60 (CD300a). W przypadku pDC pobudzenie tego receptora powoduje zmniejszenie wydzielania czynnika martwicy nowotworu (TNF- $\alpha$ ) przy jednoczesnym zwiększeniu wytwarzania IFN- $\alpha$  [15,24]. Tymczasem jego aktywacja na komórkach NK powoduje znaczny spadek spontanicznej aktywności cytotoksycznej tych komórek [9]. Tak więc, w odpowiedzi na aktywację CD300a ob-

serwujemy zahamowanie cytotoxyczności komórek NK i pDC, z jednoczesną dalszą stymulacją procesu dojrzewania pDC [15,17].

W ostatnim czasie opisano zjawisko, w którym na skutek oddziaływań z DC, na powierzchni mysich komórek NK, następowała kumulacja cząsteczek MHC klasy II. Proces ten nosi nazwę trogocytozy, czyli międzykomórkowej wymiany membran. Tak powstałe komórki NK nie były zdolne do prezentacji antygenów limfocytom T, natomiast powodowały zahamowanie prezentacji antygenów przez komórki dendrytyczne. Wyniki te sugerują, że tak wygenerowane komórki NK mogą regulować odpowiedź immunologiczną zależną od limfocytów T, tym samym biorąc czynny udział w odpowiedzi swoistej [34]. Szczegółowe badania prowadzone w celu określenia wzajemnych oddziaływań DC z komórkami NK umożliwiły w ostatnich latach odkrycie wielu niekonwencjonalnych funkcji pełnionych przez te komórki [6,25,53].

## **NIEKONWENCJONALNE KOMÓRKI: CYTOTOKSYCZNE DC I KOMÓRKI NK PREZENTUJĄCE ANTYGEN**

W roku 1997 zespół Josiena opisał szczurze cDC, mające na swojej powierzchni aktywujący receptor NKR-P1, charakterystyczny dla cytotoksycznych komórek NK, zdolne do lizy mysich komórek YAC-1 [23]. W roku 2002 zespół Homanna donosił o mysich DC (CD11c<sup>+</sup>), mających markery powierzchniowe DX5<sup>+</sup> charakterystyczne dla komórek NK. Jednak te dwutypowe komórki nie wykazywały właściwości cytotoksycznych, ponieważ nie wytwarzały perforyny [21]. Dopiero opisane w 2004 r. przez zespół Hanna ludzkie komórki NK o aktywności cytotoksycznej, które wykazywały ekspresję MHC klasy II i cząsteczek kostymulujących, charakterystycznych dla komórek DC, zdolne były do aktywacji limfocytów T CD4<sup>+</sup> [20].

Rok później zespół DeMatteo opisał u myszy szczepu C57BL/6 cytotoksyczne komórki dendrytyczne CD11c<sup>+</sup>NK1.1<sup>+</sup> (natural killer dendritic cells – NKDC) [12,36]. Jednak bez odpowiedzi pozostaje pytanie, czy za funkcje przypisywane tej populacji odpowiadała rzeczywistość dwufunkcyjność badanych komórek, czy jedynie jej „zanieczyszczenie” dojrzałymi komórkami DC lub NK? W tym samym czasie dwa inne zespoły badawcze opisały mysie komórki DC wytwarzające IFN- $\gamma$  (interferon producing killer dendritic cells – IKDC) [10,44], które wytwarzały granzymy i perforynę i wykazywały, podobnie jak komórki NK, aktywność cytotoksyczną. Ponadto, podobnie jak komórki pDC, wytwarzały IFN- $\alpha$  oraz analogicznie jak komórki cDC, miały zdolność prezentowania antygenów komórkom T. Pojawiła się zatem potrzeba określenia miejsca tych komórek między dotychczas opisanymi populacjami komórek DC i NK. Opisane cechy morfologiczne, fenotypowe i czynnościowe komórek IKDC oraz NKDC zestawiono w tabeli 1 [11].

Obecnie najlepiej poznаныmi mysimi komórkami dwutypowymi są komórki IKDC. Ich cechy fenotypowe oraz właściwości zestawiono w tabeli 2.

Tabela 1. Porównanie występowania cząsteczek powierzchniowych i właściwości cytotoksycznych komórek dendrytycznych wytwarzających IFN- $\gamma$  (IKDC) oraz cytotoksycznych komórek dendrytycznych (NKDC) (wg [11,36] zmodyfikowano)

	IKDC	NKDC
<b>Szczep myszy</b>	Balb/c, C57BL/6	C57BL/6
<b>Lokalizacja tkankowa</b>	śledziona, węzły limfatyczne, wątroba, płuca, jelito	śledziona, węzły limfatyczne, wątroba, płuca
<b>Fenotyp</b>	CD11c <sup>dim</sup> B220 <sup>+</sup> CD49b <sup>+</sup> CD11c <sup>dim</sup> B220 <sup>+</sup> NK1.1 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD11c <sup>+</sup> NK1.1 <sup>+</sup>
<b>Prezentacja antygenów</b>	MHC klasy II <sup>lo</sup> komórki śledzionowe MHC klasy II <sup>dim</sup> komórki z węzłów chłonnych CD80 <sup>+</sup> , CD86 <sup>+</sup> , CD40 <sup>+</sup>	MHC klasy II <sup>lo</sup> CD80 <sup>lo</sup> , CD86 <sup>lo</sup> ,
<b>Markery komórek NK</b>	Ly49 <sup>+</sup> , NKG2A/C/E <sup>+</sup> , NKG2D <sup>+</sup> , 2B4 <sup>+</sup> , CD122 <sup>+</sup>	Ly49 <sup>+</sup> , NKG2D <sup>+</sup> , 2B4 <sup>+</sup> , CD122 <sup>+</sup>
<b>Cytotoksyczność</b>	TRAIL, perforyna	nieznany mechanizm
<b>Wydzielanie cytokin</b>	IFN- $\gamma$ , IL-12, IFN- $\alpha$ i $\beta$ , TNF- $\alpha$	IFN- $\gamma$ , IL-12, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10
<b>Właściwości przeciwnowotworowe</b>	hamują wzrost nowotworu B16 <i>in vivo</i>	hamują wzrost nowotworu B16 <i>in vivo</i>

Tabela 2. Porównanie występowania cząsteczek powierzchniowych i właściwości mysich plazmacytoidalnych (pDC) i konwencjonalnych (cDC) komórek dendrytycznych, limfocytów NK oraz cytotoksycznych komórek dendrytycznych wytwarzających IFN- $\gamma$  (IKDC) (wg [5,10,16,41,44] zmodyfikowano)

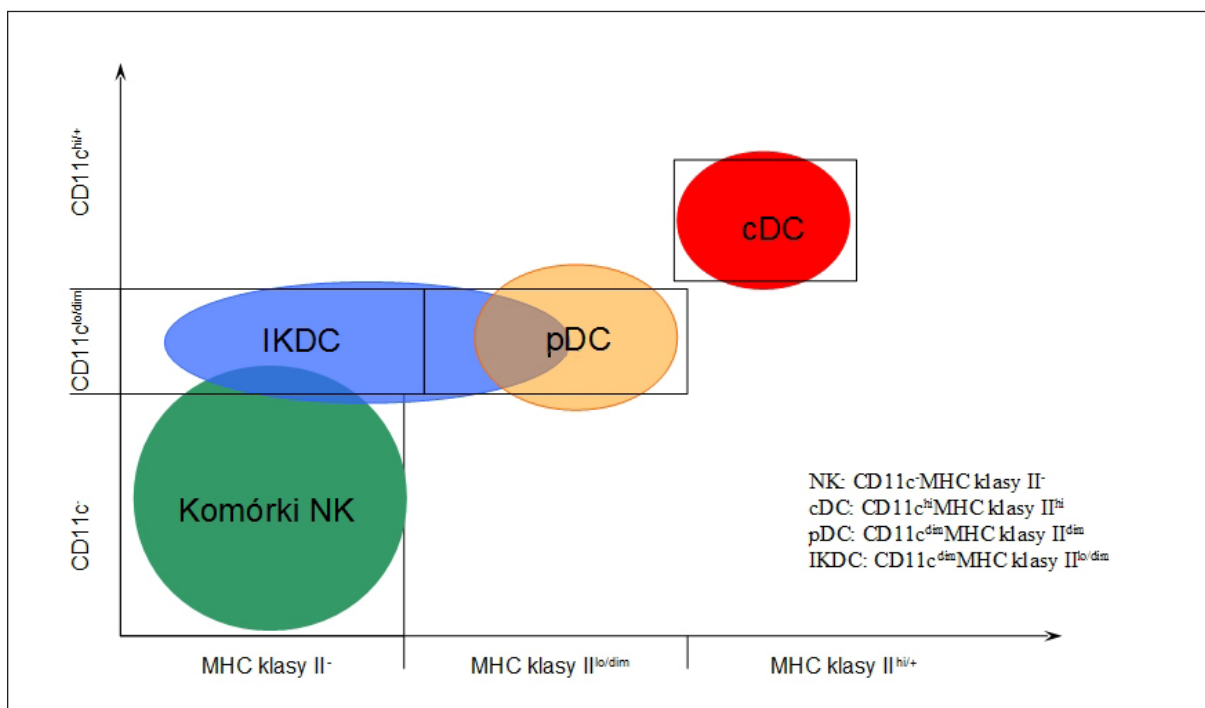
	cDC	pDC	NK	IKDC	Ref	
<b>MARKERY POWIERZCHNIOWE</b>	MHC klasy II	+	+	-	+	[10]
	CD80/CD86	+	+	-	+	[10]
	CD40	+	+	-	+	[10]
	OX40 ligand	+	+	-	?	[41]
	CD11b	+	-	-/+	+	[10, 41]
	CD11c	+	+	- -/+*	+	[10, 44] *[5, 16, 41]
	B220	-	+	-/+	+	[10, 41]
	NK1.1	-	-	+	+	[10]
	Ly49	-	-	+	+	[10]
	NKG2D	-	-	+	+	[10]
	CD49b (DX5)	-	-	+	+	[10]
<b>PEŁNIONE FUNKCJE</b>	Zabijanie zależne od perforyn	-	-	++	++	[10]
	Wydzielanie IFN- $\gamma$	-/+	-	++	++	[10, 41]
	Wydzielanie IFN- $\alpha$ / $\beta$	-/+	++	-/+	+	[10, 41]
	Wydzielanie IL-12	++	+	-	++	[10, 41]
	Prezentacja antygeny (APC)	+	+	-	-/+	[10, 41]

Mysie komórki IKDC, o fenotypie  $CD3^{-}CD19^{-}CD11c^{dim}NK1.1^{+}/CD49b^{+}B220^{+}CD122^{+}$ , znaleziono m.in. w narządach limfatycznych, płucach, wątrobie i skórze [10]. Komórki IKDC izolowane z węzłów chłonnych zdolne były do prezentacji antygenów limfocytom T, a także do wydzielania  $IFN-\gamma$ , natomiast sprawą sporną pozostaje ich zdolność do wydzielania  $IFN-\alpha/\beta$  [41].

Jednym z argumentów przemawiających za odrębnością populacji mysich komórek IKDC jest zróżnicowana ekspresja cząsteczek CD11c oraz MHC klasy II (markerów DC) na ich powierzchni w porównaniu do komórek NK i DC (ryc. 1) [22]. Innym argumentem jest szlak różnicowania IKDC, odmienny od dróg różnicowania klasycznych komórek NK i DC. Głównym źródłem IKDC są bowiem limfoidalne komórki progenitorowe o fenotypie  $c-Kit^{hi}CD62L^{+}$  [51]. Ostatnie doniesienia wykazały również, że odsetek komórek IKDC może się w znacznym stopniu różnić, w zależności od wieku czy od szczepu myszy. Spośród przebadanych szczepów myszy bezwzględna liczba IKDC była najniższa u myszy szczepu NOD (non-obese diabetic), a najwyższa – u myszy szczepu B10.Br [19].

Mimo powyższych dowodów obecnie wydaje się, że IKDC nie tworzą kolejnej subpopulacji DC. Żadna ze znanych subpopulacji komórek dendrytycznych nie wykazuje bowiem zdolności do zabijania komórek nowotworowych bez uprzedniej aktywacji. Dopiero stymulowane *ex vivo* DC mogą powodować lizę komórek nowotworowych; zawierają wówczas fenotyp typowy dla komórek dendrytycznych i nie wykazują ekspresji receptorów naturalnej cytotoksyczności charakterystycznych dla komórek NK [27].

Zatem, czy cytotoksyczne DC są kolejną subpopulacją limfocytów NK? Istnieją publikacje dowodzące, że mysie IKDC stanowią subpopulację aktywowanych komórek NK zdolnych do prezentacji antygeny [4,8,16,48]. IKDC odpowiadałyby wówczas komórkom dwutypowym odkrytym wcześniej w układzie ludzkim. Niedawno stwierdzono nawet, że komórki IKDC wykazują podobieństwo funkcjonalne do ludzkich limfocytów  $T \gamma\delta$ , które mogą zabijać komórki docelowe zarówno zależnie od przeciwciał, jak i z udziałem receptorów cytotoksyczności naturalnej (natural cytotoxicity receptor – NCR) [2]. Ponadto komórki IKDC, analogicznie do komórek NK, do prawidłowego

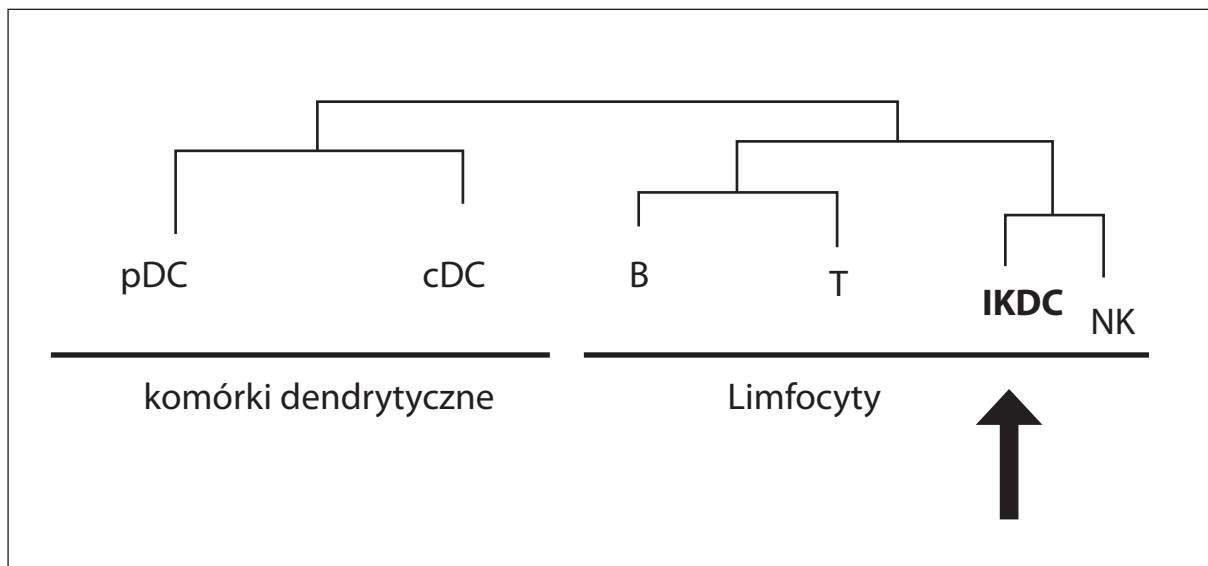


Ryc. 1. Ekspresja cząsteczek powierzchniowych CD11c oraz MHC klasy II na mysich komórkach NK, konwencjonalnych DC, plazmacytoidalnych DC oraz cytotoksycznych komórek dendrytycznych wytwarzających  $IFN-\gamma$  (wg [22] zmodyfikowano)

rozwoju wymagają obecności receptorów  $IL-2R\beta/IL-15R$ , podczas gdy klasyczne komórki DC mogą dojrzewać bez udziału  $IL-15$  [5,8,38,48]. Jednak nie jest znana mysia subpopulacja limfocytów NK z ekspresją cząsteczek MHC klasy II, CD80 oraz CD86.

Wykorzystując technikę mikromacierzy DNA zanalizowano genotypowo komórki NK, DC oraz IKDC. Przeprowa-

dono metaanalizę, w wyniku której otrzymano klasteryzację hierarchiczną danych wykazującą, że mysie komórki IKDC ( $CD11c^{dim}CD49b^{+}B220^{+}$ ) są bliżej spokrewnione z komórkami NK niż z DC (ryc. 2) [10, 37]. Jednak analiza genotypowa przeprowadzona przez inny zespół wykazała, że geny odpowiedzialne za obróbkę antygeny MHC klasy II zidentyfikowano tylko w komórkach IKDC nie w NK, co by wskazywało na odrębność tych dwóch populacji [22].



Ryc. 2. Dendrogram klasteryzacji hierarchicznej mysich śledzionowych komórek dendrytycznych plazmacytoidalnych (pDC) i konwencjonalnych (cDC), limfocytów NK, T, B oraz cytotoksycznych komórek dendrytycznych wytwarzających IFN- $\gamma$  (IKDC) (wg [37] zmodyfikowano)

Powraca więc pytanie, czy komórki IKDC mogą stanowić odrębną grupę komórek układu odpornościowego? Zawierają one przeciwcząsteczki naturalnej cytotoksyczności (granzymy i perforyna), a po stymulacji wytwarzają IFN- $\gamma$ , IL-12 i wykazują ekspresję CD11c [30,46]. Wytwarzanie IFN- $\alpha$  przez te komórki pozostaje kwestią sporną. Zwłaszcza, że komórki IKDC dobrze oczyszczone (wolne od komórek NK lub DC) mogą wytwarzać IFN- $\gamma$ , ale nie IFN- $\alpha$  [49].

Reasumując, obecnie można wyróżnić dwie główne grupy komórek dwutypowych: komórki NKDC [36,40] oraz IKDC [2,10,44]. Ich wyróżniającymi wspólnymi cechami są: powierzchniowe receptory charakterystyczne dla komórek NK: NK1.1 i CD49b, a także dla komórek DC – CD11c, aktywność zależna od perforyny/granzymów i TRAIL, wytwarzanie IFN- $\gamma$  oraz zdolność do prezentacji antygeny po poprzedniej stymulacji.

Jednak, mimo wielu lat badań, istnienie komórek dwutypowych pozostaje nadal kontrowersyjne [32]. Istotnym utrudnieniem w uzyskaniu jednoznacznej klasyfikacji są sposoby pozyskiwania tych komórek – ze względu na różne źródła ich pochodzenia w układzie ludzkim i mysim. W tabeli 3 przedstawiono przykłady mysich i ludzkich komórek dendrytycznych o właściwościach cytotoksycznych oraz źródła ich pochodzenia.

## PODSUMOWANIE

Mimo coraz większej liczby dowodów potwierdzających istnienie komórek dwutypowych wciąż aktualne jest pytanie, czy dwoistość funkcyjna rzeczywiście może być rozpatrywana na poziomie pojedynczej komórki? Alternatywnie, dualizm ten może zależeć od stopnia zróżnicowania komórek NK [16] lub, jak sugeruje L. Chen, stanowi jeden z pośrednich etapów różnicowania komórek

Tabela 3. Porównanie właściwości oraz pochodzenia ludzkich i mysich cytotoksycznych komórek dendrytycznych (wg [13] zmodyfikowano)

	POCHODZENIE	MECHANIZM CYTOTOKSYCZNOŚCI
	komórki DC pochodzące z komórek szpikowych CD34 <sup>+</sup> lub izolowane z monocytów z krwi obwodowej	TRAIL, TNF- $\alpha$ , FasL
LUDZKIE	komórki CD11 <sup>+</sup> izolowane z krwi	TRAIL, perforyna/granzymy
	komórki HLADR <sup>+</sup> izolowane z krwi	TRAIL, TNF- $\alpha$ , FasL
	komórki pDC izolowane z krwi	granzym, TRAIL
	komórki HLADR <sup>+</sup> izolowane z grasicy	TNF- $\alpha$ , FasL
	komórki izolowane ze szpiku	FasL, TRAIL
MYSIE	komórki izolowane z węzłów chłonnych	FasL
	komórki dwutypowe (NKDC, NK/DC i IKDC)	TRAIL, perforyna/granzymy

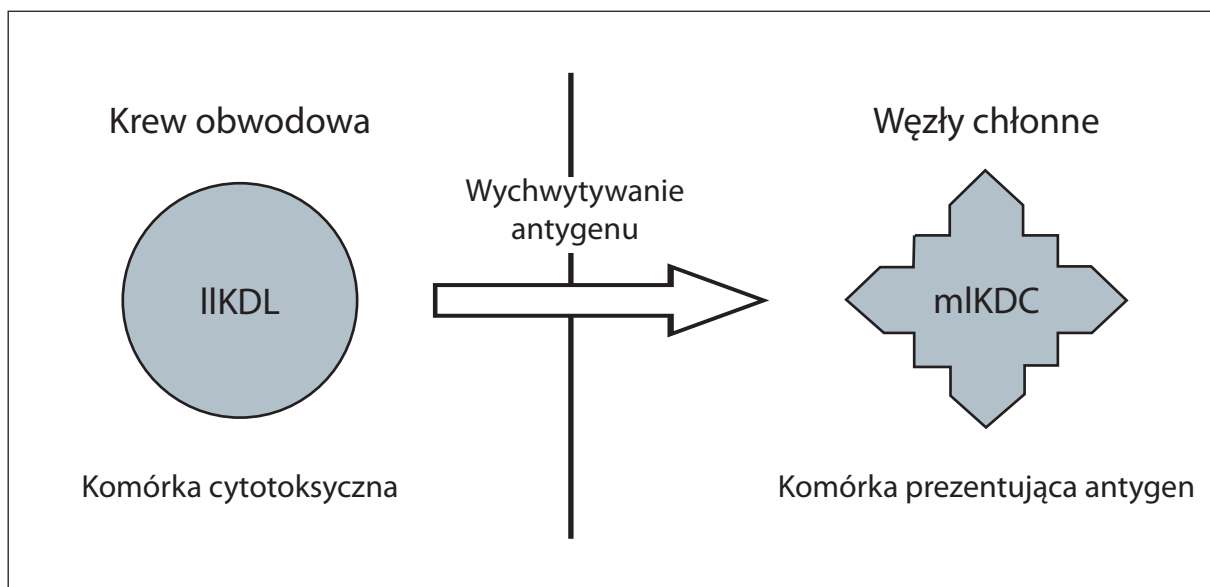
DC [14]. Należy pamiętać, że wyodrębnienie komórek dwutypowych następuje w oparciu o zestaw markerów powierzchniowych, charakterystycznych albo dla komórek dendrytycznych, albo dla NK. Ponadto sposób ich różnicowania zależy w głównej mierze od mikrośrodowiska cytokinowego oraz od aktualnego zapotrzebowania organizmu na komórki o danej charakterystyce fenotypowej, a co za tym idzie o określonej funkcji. Ostatnio pojawiła się hipoteza, że dwutypowe komórki po odpowiedniej stymulacji zmieniają się z komórek o własnościach cytotoksycznych w komórki prezentujące antygen [22]. Według tej hipotezy niedojrzałe komórki IKDC, krążąc we krwi obwodowej rozpoznają komórki docelowe i po aktywacji lizują je. Następnie wychwytyują ich antygeny i migrują do węzłów chłonnych, gdzie dojrzewają, zwiększają ekspresję cząsteczek MHC klasy II na swojej powierzchni i wytwarzają cytokiny stanu zapalnego. Wynika z tego, że funkcje komórek IKDC zależą od stopnia ich zróżnicowania. Hipotetyczny schemat procesu dojrzewania komórek IKDC pokazano na ryc. 3.

Dodatkową trudność w badaniu komórek dwutypowych stanowi ich znikomy odsetek, np. 1% komórek IKDC izolowanych z węzłów chłonnych, czy śledziony, zbliżony jest do wartości granicznej wiarygodności separacji tych komórek. Należy też pamiętać, że dwoiste funkcje tych komórek

mogą być regulowane przez dane czynniki w różnym stopniu (np. IL-15 powoduje wzrost aktywności cytotoksycznej przy jednoczesnym obniżeniu zdolności do prezentacji antygenów przez te komórki).

Czy zatem komórki IKDC faktycznie stanowią odrębną subpopulację, jakie jest ich pochodzenie i fenotyp? Niestety, publikowane wyniki często wykluczają się wzajemnie. Analiza zjawiska prowadzi do nieuchronnego wniosku: układ odpornościowy wraz z jego złożonością działania oraz heterogennością komórek wymyka się jednoznaczniemu zdefiniowaniu. W myśl porównania użytego przez zespół Shortmana – w trakcie opisu dziobaka jedni zwracają uwagę na jego ptasie cechy (dziób i znoszenie jaj), inni podkreślają, że karmienie mlekiem jest cechą ssacza. Tymczasem jedni i drudzy analizują to samo zwierzę [38].

Mimo braku niepodważalnych i bezpośrednich dowodów, że ta sama komórka może być jednocześnie cytotoksyczna i skutecznie prezentować antygen, pojawiły się pierwsze sugestie wykorzystania wygenerowanych *ex vivo* komórek IKDC w terapii przeciwnowotworowej [11,29,45,46,52]. Założono, że komórki IKDC mogą rozpoznać i zabijać komórki nowotworowe, a następnie generować miejscowy stan zapalny promując rekrutację innych komórek układu odpornościowego.



Ryc. 3. Hipotetyczny schemat procesu dojrzewania cytotoksycznych komórek dendrytycznych produkujących IFN- $\gamma$  (IKDC): niedojrzała komórka IKDC (immature – iIKDC), dojrziała komórka IKDC (mature - mIKDC) (zmodyfikowane [22]).

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Alvarez D., Vollmann E.H., Von Andrian U.H.: Mechanisms and consequences of dendritic cell migration. *Immunity*, 2008; 29: 325-342
- [2] Anderson J., Gustafsson K., Himoudi N.: Licensing of killer dendritic cells in mouse and humans: functional similarities between IKDC and human blood  $\gamma\delta$  T-lymphocytes. *J. Immunotoxicol.*, 2012; 9: 259-266
- [3] Banchereau J., Steinman R.M.: Dendritic cells and the control of immunity. *Nature*, 1998; 392: 245-252
- [4] Blasius A.L., Barchet W., Cella M., Colonna M.: Development and function of murine B220+CD11c+NK1.1+ cells identify them as a subset of NK cells. *J. Exp. Med.*, 2007; 204: 2561-2568
- [5] Bonmort M., Ullrich E., Mignot G., Jacobs B., Chaput N., Zitvogel L.: Interferon- $\gamma$  is produced by another player of innate immune responses: the interferon-producing killer dendritic cell (IKDC). *Biochimie*, 2007; 89: 872-877
- [6] Borg C., Taieb J., Terme M., Maruyama K., Flament C., Angevin E., Zitvogel L.: NK cell-based immunotherapy: new prospects and involvement of dendritic cells. *Bull. Cancer*, 2003; 90: 699-705
- [7] Caligiuri M.A.: Human natural killer cells. *Blood*, 2008; 112: 461-469
- [8] Caminschi I., Ahmet F., Heger K., Brady J., Nutt S.L., Vremec D., Pietersz S., Lahoud M.H., Schofield L., Hansen D.S., O'Keeffe M., Smyth M.J., Bedoui S., Davey G.M., Villadangos J.A., Heath W.R., Shortman K.: Putative IKDCs are functionally and developmentally similar to natural killer cells, but not to dendritic cells. *J. Exp. Med.*, 2007; 204: 2579-2590
- [9] Cantoni C., Bottino C., Augugliaro R., Morelli L., Marcenaro E., Castriconi R., Vitale M., Pende D., Sivori S., Millo R., Biassoni R., Moretta L., Moretta A.: Molecular and functional characterization of IRp60, a member of the immunoglobulin superfamily that functions as an inhibitory receptor in human NK cells. *Eur. J. Immunol.*, 1999; 29: 3148-3159
- [10] Chan C.W., Crafton E., Fan H.N., Flook J., Yoshimura K., Skarica M., Brockstedt D., Dubensky T.W., Stins M.F., Lanier L.L., Pardoll D.M., Housseau F.: Interferon-producing killer dendritic cells provide a link between innate and adaptive immunity. *Nat. Med.*, 2006; 12: 207-213
- [11] Chan C.W., Housseau F.: The 'kiss of death' by dendritic cells to cancer cells. *Cell Death Differ.*, 2008; 15: 58-69
- [12] Chaudhry U.I., Katz S.C., Kingham T.P., Pillarisetty V.G., Raab J.R., Shah A.B., DeMatteo R.P.: In vivo overexpression of Flt3 ligand expands and activates murine spleen natural killer dendritic cells. *FASEB J.*, 2006; 20: 982-984
- [13] Chauvin C., Josien R.: Dendritic cells as killers: mechanistic aspects and potential roles. *J. Immunol.*, 2008; 181: 11-16
- [14] Chen L., Calomeni E., Wen J., Ozato K., Shen R., Gao J.X.: Natural killer dendritic cells are an intermediate of developing dendritic cells. *J. Leukoc. Biol.*, 2007; 81: 1422-1433
- [15] Clark G.J., Ju X., Azlan M., Tate C., Ding Y., Hart D.N.: The CD300 molecules regulate monocyte and dendritic cell functions. *Immunobiology*, 2009; 214: 730-736
- [16] Coulombel L.B., Bensussan A.: IKDC: a new suit for active NK cells. *Med. Sci.*, 2008; 24: 521-524
- [17] Ferlazzo G., Münz C.: Dendritic cell interactions with NK cells from different tissues. *J. Clin. Immunol.*, 2009; 29: 265-273
- [18] Ferlazzo G., Tsang M.L., Moretta L., Melioli G., Steinman R.M., Münz C.: Human dendritic cells activate resting natural killer (NK) cells and are recognized via the NKp30 receptor by activated NK cells. *J. Exp. Med.*, 2002; 195: 343-351
- [19] Guimont-Desrochers F., Cappello Z.J., Chagnon M., McDuffie M., Lesage S.: Cutting edge: genetic characterization of IFN-producing killer dendritic cells. *J. Immunol.*, 2009; 182: 5193-5197
- [20] Hanna J., Gonen-Gross T., Fitchett J., Rowe T., Daniels M., Arnon T.I., Gazit R., Joseph A., Schjetne K.W., Steinle A., Porgador A., Mevorach D., Goldman-Wohl D., Yagel S., LaBarre M.J., Buckner J.H., Mandelboim O.: Novel APC-like properties of human NK cells directly regulate T cell activation. *J. Clin. Invest.*, 2004; 114: 1612-1623
- [21] Homann D., Jahreis A., Wolfe T., Hughes A., Coon B., van Stipdonk M.J., Prilliman K.R., Schoenberger S.P., von Herrath M.G.: CD40L blockade prevents autoimmune diabetes by induction of bitypic NK/DC regulatory cells. *Immunity*, 2002; 16: 403-415
- [22] Housseau F.: Interferon-producing killer dendritic cells (IKDC). W: Natural killer cells. Basic science and clinical application, red. M.T. Lotze, A.W. Thomson, Elsevier 2010: 41-53
- [23] Josien R., Heslan M., Soulillou J.P., Cuturi M.C.: Rat spleen dendritic cells express natural killer cell receptor protein 1 (NKR-P1) and have cytotoxic activity to select targets via a Ca<sup>2+</sup>-dependent mechanism. *J. Exp. Med.*, 1997; 186: 467-472
- [24] Ju X., Zenke M., Hart D.N., Clark G.J.: CD300a/c regulate type I interferon and TNF- $\alpha$  secretion by human plasmacytoid dendritic cells stimulated with TLR7 and TLR9 ligands. *Blood*, 2008; 112: 1184-1194
- [25] Kalinski P., Mailliard R.B., Giermasz A., Zeh H.J., Basse P., Bartlett D.L., Kirkwood J.M., Lotze M.T., Herberman R.B.: Natural killer-dendritic cell cross-talk in cancer immunotherapy. *Expert Opin. Biol. Ther.*, 2005; 5: 1303-1315
- [26] Kalinski P., Nakamura Y., Watchmaker P., Giermasz A., Muthuswamy R., Mailliard R.B.: Helper roles of NK and CD8+ T cells in the induction of tumor immunity. Polarized dendritic cells as cancer vaccines. *Immunol. Res.*, 2006; 36: 137-146
- [27] Lakomy D., Janikashvili N., Fraszczak J., Trad M., Audia S., Samson M., Ciudad M., Vinit J., Vergely C., Caillot D., Foucher P., Lagrost L., Chouaib S., Katsanis E., Larmonier N., Bonnotte B.: Cytotoxic dendritic cells generated from cancer patients. *J. Immunol.*, 2011; 187: 2775-2782
- [28] Lanier L.L.: NK cell recognition. *Annu. Rev. Immunol.*, 2005; 23: 225-274
- [29] Larmonier N., Fraszczak J., Lakomy D., Bonnotte B., Katsanis E.: Killer dendritic cells and their potential for cancer immunotherapy. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2010; 59: 1-11
- [30] Marcenaro E., Della Chiesa M., Pesce S., Agaogüé S., Moretta A.: The NK/DC complot. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2009; 633: 7-16
- [31] Marcenaro E., Dondero A., Moretta A.: Multi-directional cross-regulation of NK cell function during innate immune responses. *Transpl. Immunol.*, 2006; 17: 16-19
- [32] Morales A., Ochoa C., Palazón A., Dubrot J., Palencia B., Alfaro C., Suarez N., Forero I.M., Hervás-Stubbs S., Melero I.: Interferon producing killer dendritic cells (IKDC): a matter of controversy. *Inmunología*, 2010; 29: 50-55
- [33] Moretta L., Ferlazzo G., Mingari M.C., Melioli G., Moretta A.: Human natural killer cell function and their interactions with dendritic cells. *Vaccine*, 2003; 21 (Suppl. 2): S38-S42
- [34] Nakayama M., Takeda K., Kawano M., Takai T., Ishii N., Ogasawara K.: Natural killer (NK)-dendritic cell interactions generate MHC class II-dressed NK cells that regulate CD4+ T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011; 108: 18360-18365
- [35] Pajtasz-Piasecka E., Indrová M.: Dendritic cell-based vaccines for the therapy of experimental tumors. *Immunotherapy*, 2010; 2: 257-268



- [36] Pillarisetty V.G., Katz S.C., Bleier J.I., Shah A.B., Dematteo R.P.: Natural killer dendritic cells have both antigen presenting and lytic function and in response to CpG produce IFN- $\gamma$  via autocrine IL-12. *J. Immunol.*, 2005; 174: 2612-2618
- [37] Robbins S.H., Walzer T., Demb el  D., Thibault C., Defays A., Bes-sou G., Xu H., Vivier E., Sellars M., Pierre P., Sharp F.R., Chan S., Kastner P., Dalod M.: Novel insights into the relationships between dendritic cell subsets in human and mouse revealed by genome-wide expression profiling. *Genome Biol.*, 2008; 9: R17
- [38] Shortman K., Villadangos J.A.: Is it a DC, is it an NK? No, it's an IKDC. *Nat. Med.*, 2006; 12: 167-168
- [39] Sivori S., Falco M., Della Chiesa M., Carlomagno S., Vitale M., Moretta L., Moretta A.: CpG and double-stranded RNA trigger human NK cells by Toll-like receptors: induction of cytokine release and cytotoxicity against tumors and dendritic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 10116-10121
- [40] Souza A.P., Bonorino C., Muraro S.P., Rodrigues L.C.Jr.: Interleu-kin-21 expanded NKDC in vitro reduces the B16F10 tumor growth in vivo. *Cytokine*, 2013; 61: 154-160
- [41] Spits H., Lanier L.L.: Natural killer or dendritic: what's in a name? *Immunity*, 2007; 26: 11-16
- [42] Steinman R.M., Idoyaga J.: Features of the dendritic cell lineage. *Immunol. Rev.*, 2010; 234: 5-17
- [43]  lebioda T.J., Kaszubowska L., Kmie  Z.: Nowe mechanizmy akty-wacji kom rek NK w przebiegu infekcji wirusowych. *Postępy Biol. Kom.*, 2012; 39: 49-62
- [44] Taieb J., Chaput N., M nard C., Apetoh L., Ullrich E., Bonmort M., P quignot M., Casares N., Terme M., Flament C., Opolon P., Lec-luse Y., M tivier D., Tomasello E., Vivier E., Ghiringhelli F., Martin F., Klatzmann D., Poynard T., Tursz T., Raposo G., Yagita H., Ryffel B., Kroemer G., Zitvogel L.: A novel dendritic cell subset involved in tumor immunosurveillance. *Nat. Med.*, 2006; 12: 214-219
- [45] Ullrich E., Bonmort M., Mignot G., Chaput N., Taieb J., M nard C., Viaud S., Tursz T., Kroemer G., Zitvogel L.: Therapy-induced tumor immunosurveillance involves IFN-producing killer dendritic cells. *Cancer Res.*, 2007; 67: 851-853
- [46] Ullrich E., Chaput N., Zitvogel L.: Killer dendritic cells and their potential role in immunotherapy. *Horm. Metab. Res.*, 2008; 40: 75-81
- [47] Vivier E., Tomasello E., Baratin M., Walzer T., Ugolini S.: Func-tions of natural killer cells. *Nat. Immunol.*, 2008; 9: 503-510
- [48] Vosshenrich C.A., Lesjean-Pottier S., Hasan M., Richard-Le Goff O., Corcuff E., Mandelboim O., Di Santo J.P.: CD11c<sup>lo</sup>B220<sup>+</sup> interferon-producing killer dendritic cells are activated natural killer cells. *J. Exp. Med.*, 2007; 204: 2569-2578
- [49] Vremec D., O'Keeffe M., Hochrein H., Fuchsberger M., Caminschi I., Lahoud M., Shortman K.: Production of interferons by dendritic cells, plasmacytoid cells, natural killer cells, and interferon-produc-ing killer dendritic cells. *Blood*, 2007; 109: 1165-1173
- [50] Walzer T., Dalod M., Robbins S.H., Zitvogel L., Vivier E.: Natural-killer cells and dendritic cells: "l'union fait la force". *Blood*, 2005; 106: 2252-2258
- [51] Welner R.S., Pelayo R., Garrett K.P., Chen X., Perry S.S., Sun X.H., Kee B.L., Kincade P.W.: Interferon-producing killer dendritic cells (IKDCs) arise via a unique differentiation pathway from primitive c-kit<sup>hi</sup>CD62L<sup>+</sup> lymphoid progenitors. *Blood*, 2007; 109: 4825-4931
- [52] Wesa A.K., Storkus W.J.: Killer dendritic cells: mechanisms of action and therapeutic implications for cancer. *Cell Death Differ.*, 2008; 15: 51-57
- [53] Woo C.Y., Clay T.M., Lysterly H.K., Morse M.A., Osada T.: Role of natural killer cell function in dendritic cell-based vaccines. *Expert Rev. Vaccines*, 2006; 5: 55-65
- [54] Wu J., Lanier L.L.: Natural killer cells and cancer. *Adv. Cancer Res.*, 2003; 90: 127-156
- [55] Yagel S.: The developmental role of natural killer cells at the fetal-maternal interface. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2009; 201: 344-350
- [56] Zanon I., Granucci F., Foti M., Ricciardi-Castagnoli P.: Self-tol-erance, dendritic cell (DC)-mediated activation and tissue distribution of natural killer (NK) cells. *Immunol. Lett.*, 2007; 110: 6-17
- [57]  eromski J., Samara H., Mozer-Lisewska I.: Kom rki dendrytycz-ne: czy wszystko o nich wiemy? *Postępy Biol. Kom.*, 2007; 34: 541-556

Autorki deklaruj  brak potencjalnych konflikt w interes w.