

## **ROLA APOPTOZY W ODPOWIEDZI NA PRZESZCZEP ALLOGENICZNY: TOLERANCJA I ODRZUCANIE PRZESZCZEPU\***

THE ROLE OF APOPTOSIS IN RESPONSIVENESS TO ALLOGRAFT:  
TOLERANCE AND GRAFT REJECTION

<sup>1</sup>Anna KORECKA, <sup>1,2</sup>Grażyna KORCZAK-KOWALSKA

<sup>1</sup>Zakład Immunologii, Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego

<sup>2</sup>Zakład Immunologii Klinicznej, Instytut Transplantologii,  
Akademia Medyczna w Warszawie

*Streszczenie:* Badania ostatnich kilku lat dowodzą, że apoptoza odgrywa istotną rolę nie tylko w odrzucaniu przeszczepu, ale także w indukcji tolerancji transplantacyjnej. Apoptoza – programowana śmierć komórek jest aktywnym procesem dotyczącym zbędnych bądź nieprawidłowych komórek. W odpowiedzi na przeszczep allogeniczny szczególnie znaczenie mają dwa mechanizmy: AICD – śmierć komórek indukowana aktywacją, związana z połączeniem Fas/FasL oraz PCD – pasywna śmierć komórek powodowana niedoborem cytokin. Odrzucanie przeszczepu zachodzi ze względu na różnice genetyczne pomiędzy dawcą a biorcą. W niszczeniu przeszczepu uczestniczą komórki efektorowe, w tym alloreaktywne limfocyty CD8. Wykazują one ekspresję FasL, indukując w ten sposób apoptozę Fas-pozytywnych komórek przeszczepu. Udział obwodowej delecji w indukcji tolerancji transplantacyjnej zależy od ilości alloreaktywnych limfocytów – apoptoza jest potrzebna do obniżenia ich poziomu do takiego, który może być pod kontrolą mechanizmów regulacyjnych (model *pool size*). Apoptoza ułatwia również rozwój stanu immunoregulacyjnego poprzez działanie antyzapalne i związaną z tym supresję immunostymulacyjnych zdolności APC. Terapeutyczne strategie indukcji tolerancji przeszczepu poprzez delecję alloreaktywnych limfocytów obejmują: makrochimeryzm, modyfikacje ekspresji FasL, blokadę kostymulacji oraz przeciwciała anti-CD28 stosowane w obecności IFN- $\gamma$ . Wiele leków immunosupresyjnych hamując aktywację limfocytów prawdopodobnie uniemożliwia zajście apoptozy (np. CsA i FK506), ale są również takie, których działanie opiera się przypuszczalnie na indukcji apoptozy (np. RAPA i MMF). Apoptoza alloreaktywnych limfocytów wydaje się być niezbędna dla uzyskania tolerancji przeszczepu. Nie tylko bezpośrednio obniża liczbę komórek atakujących przeszczep, ale również ułatwia wytworzenie stanu immunoregulacyjnego.

*Słowa kluczowe:* apoptoza, tolerancja transplantacyjna, odrzucanie przeszczepu, delecja, limfocyty T.

\*Praca dofinansowana z projektu KBN nr 3 PO5B 074 25.

*Summary:* Studies of a few last years give evidence for a role of apoptosis not only in graft rejection but also in induction of transplantation tolerance. Apoptosis – programmed cell death is an active process which refers to superfluous and defective cells. For a responsiveness to allograft the most important are two mechanisms of apoptosis: AICD (activation induced cell death) which involves Fas/FasL engagement and PCD (passive cell death) – caused by cytokine withdrawal. Graft rejection is caused by genetic differences between a donor and a recipient. Allograft is damaged by effector cells including alloreactive lymphocytes T CD8<sup>+</sup>. These cells express FasL and could thereby induce apoptosis in Fas-positive graft cells. Participation of peripheral apoptosis in induction of transplantation tolerance depends on pool size of alloreactive lymphocytes – apoptosis is necessary to reduce the size of alloreactive T cells clone to be small enough to be controlled by immunoregulatory mechanism (“pool size” model). Apoptosis facilitates also the development of immunoregulation by antiinflammatory action and thereby suppression of immunostimulatory abilities of APC. Therapeutic strategies of the induction of transplantation tolerance by alloreactive lymphocyte deletion include macrochimerism, modification of FasL expression, costimulatory blockade, and anti-CD28 antibodies in the presence of IFN- $\gamma$ . Most of immunosuppressive drugs like CsA and FK506 possibly inhibit apoptosis by inhibition of T cell activation. It is quite likely that there are also regimens that induction of apoptosis contributes to their immunosuppressive activity, e.g. RAPA and MMF. Apoptosis of alloreactive lymphocyte T seems to be necessary to achieve transplantation tolerance. Not only does it reduce directly the quantity of cells attacking graft but it also facilitates the development of immunoregulation state.

*Keywords:* apoptosis, transplantation tolerance, graft rejection, deletion, T lymphocytes.

*Wykaz stosowanych skrótów:* **AICD** – śmierć komórek indukowana aktywacją; **APC** – komórka prezentująca antygen; **CsA** – cyklosporyna; **DC** – komórka dendrytyczna; **FK506** – takrolimus; **IFN** – interferon; **IL** – interleukina; **MHC** – główny układ zgodności tkankowej; **MMF** – mykofenolan mofetilu; **PCD** – pasywna śmierć komórek; **RAPA** – rapamycyna; **TCR** – receptor limfocyty T; **TGF** – transformujący czynnik wzrostu; **Th** – limfocyt T pomocniczy; **TNF** – czynnik martwicy nowotworu.

## WPROWADZENIE

Apoptoza – programowana śmierć komórek, odgrywa zasadniczą rolę w rozwoju limfocytów, odpowiadzi przeciw antygenom i zachowaniu homeostazy immunologicznej. Udział apoptozy w odrzucaniu przeszczepu nie wzbudza wątpliwości. Natomiast rola w tolerancji przeszczepu to zagadnienie, którym badacze zajmują się dopiero od kilku lat. Do niedawna uważano, że za uzyskanie tolerancji odpowiedzialne są głównie mechanizmy immunoregulacyjne. Obecnie coraz większe znaczenie przypisuje się apoptozie limfocytów T, szczególnie w fazie indukcji tolerancji.

Apoptoza – jest aktywnym, zależnym od sygnałów procesem dotyczącym nadmiernych liczebnie, bezużytecznych i nieprawidłowych komórek. W odpowiedzi na przeszczep allogeniczny szczególne znaczenie mają dwa typy apoptozy: śmierć komórek indukowana aktywacją (AICD – *activation induced cell death*) i śmierć przez zaniedbanie, tzw. pasywna śmierć komórek (PCD – *passive cell death*).

AICD wyzwalana jest w komórce przez połączenie cząsteczki Fas(CD95) znajdującej się na jej powierzchni z FasL(CD95L) tej samej lub innej komórki [21]. Stymulacja CD3/TCR wcześniej aktywowanego limfocyty indukuje ekspresję FasL na komórce, połączenie FasL z Fas prowadzi do apoptozy. W limfocytach CD4<sup>+</sup> AICD jest indukowana przez ścieżkę Fas/FasL, w komórkach CD8<sup>+</sup> także przez inne receptory z rodziny TNF-R [11,13,17,18]. Wykazano, że apoptoza antygenowo-specyficznych CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> jest indukowana przez IFN- $\gamma$  [14]. Do zajścia AICD niezbędna

jest IL-2 - preekspozycja na IL-2 zwiększa wrażliwość na apoptozę, ale późniejsza ekspozycja na IL-2, w czasie reaktywacji TCR, zapobiega apoptozie [9,11,13].

PCD wiąże się z tym, że w czasie aktywacji poprzez stymulację TCR, limfocyt nabiera zdolności do odpowiedzi na czynniki wzrostu, m.in. IL-2, które umożliwiają ekspresję antyapoptotycznych białek Bcl-2 i Bcl-xL. Jeśli aktywowane limfocyty zostaną pozbawione czynników wzrostu, podlegają apoptozie (śmierć przez zaniedbanie). PCD jest regulowane przez dodatkowe receptory. Kostymulacja, czyli związanie B7.1 (CD80) lub B7.2 (CD86) znajdującego się na powierzchni komórki dendrytycznej przez receptor CD28 limfocyta indukuje ekspresję kilku cytokin, m.in. IL-2. Tym samym wzmacnia ekspresję Bcl-xL, Bcl-2 chroniąc przed apoptozą przez zaniedbanie (PCD).

Zarówno pasywna, jak i aktywna ścieżka apoptozy wymagają aktywacji limfocytów.

## ROLA APOPTOZY W ODRZUCANIU PRZESZCZEPU

Udział apoptozy w odrzucaniu przeszczepu potwierdzają m.in. biopsje przeszczepów nerki i innych narządów u ludzi, gdzie w czasie epizodów odrzucania są wykrywane komórki przeszczepu w apoptozie.

Limfocyty CD8<sup>+</sup> mogą zabijać komórki docelowe przez trzy mechanizmy: Ca<sup>++</sup>-zależny system perforyny/granzymy, uwalnianie cytotoksycznych cytokin, np. TNF- $\alpha$  i IFN- $\gamma$  oraz poprzez interakcje Fas/FasL. Ścieżka perforyny/granzymy nie odgrywa podstawowej roli w efektorowej fazie odrzucania przeszczepu. Natomiast w wielu modelach wykazano, że obniżenie ekspresji FasL i TNF- $\alpha$  wiąże się ze spadkiem apoptozy komórek przeszczepu, natomiast wzrost ekspresji FasL i TNF- $\alpha$  z ostrym odrzucaniem przeszczepu serca u szczurów [12].

Proponowany mechanizm odrzucania przeszczepionej tkanki zakłada, że FasL na powierzchni limfocytów uczestniczących w odpowiedzi przeciwko przeszczepowi (a więc na komórkach naciekających przeszczep) zabija mające receptor Fas komórki przeszczepu indukując w nich apoptozę [13]. Dodatkowo FasL może działać na makrofagi inicjując zapalne niszczenie tkanek (główną bronią w cytotoksyczności makrofagów jest TNF- $\alpha$ ) [12].

Jednakże są też prace sugerujące, że brak interakcji Fas/FasL nie zmienia tempa odrzucania przeszczepu, a ścieżka Fas/FasL nie jest niezbędna w indukowanym przez limfocyty T niszczeniu przeszczepu. Być może w grę wchodzi inne receptory z rodziny TNF-R. Natomiast FasL może pełnić rolę w regulacji odpowiedzi immunologicznej [12].

## TOLERANCJA PRZESZCZEPU

### Mechanizmy tolerancji immunologicznej

Tolerancję można zdefiniować jako stan, w którym układ odpornościowy nie rozwija odpowiedzi przeciwko specyficznemu antygenowi (bądź antygenom), nie ma potrzeby stosowania egzogennej immunosupresji, a odpowiedź przeciwko pozostałym antygenom jest utrzymana [19].

Mechanizmy proponowane jako podstawa tolerancji transplantacyjnej można podzielić na dwie kategorie: mechanizmy związane z delecją alloreaktywnych limfocytów oraz pozostałe mechanizmy immunoregulacyjne, które obejmują:

- aktywną regulację przez komórki regulatorowe (supresorowe) odpowiedzi immunologicznej przeciwko antygenom dawcy,
- anergie – stan braku odpowiedzi na alloantygen,
- immunologiczny dymorfizm przez zmianę mikrośrodowiska cytokin u biorcy, szczególnie w samym przeszczepie (Th1 → Th2)

### Delecja potrzebna w indukcji tolerancji

Delecja alloreaktywnych limfocytów może zachodzić w dwóch oddzielnych anatomicznie i funkcjonalnie obszarach: w grasicy (centralnie) i na obwodzie.

Znaczenie centralnej delecji wykazał Medawar w 1953 r. w swoim pionierskim eksperymencie, gdzie udowodnił, że poprzez klonalną delecję alloreaktywnych limfocytów spowodowaną neonatalną ekspozycją na alloantygeny, można uzyskać trwałą tolerancję na przeszczep skóry (noworodki gryzoni w przeciwieństwie do ludzkich rodzą się, zanim większość dojrzałych limfocytów T wydostanie się z grasicy).

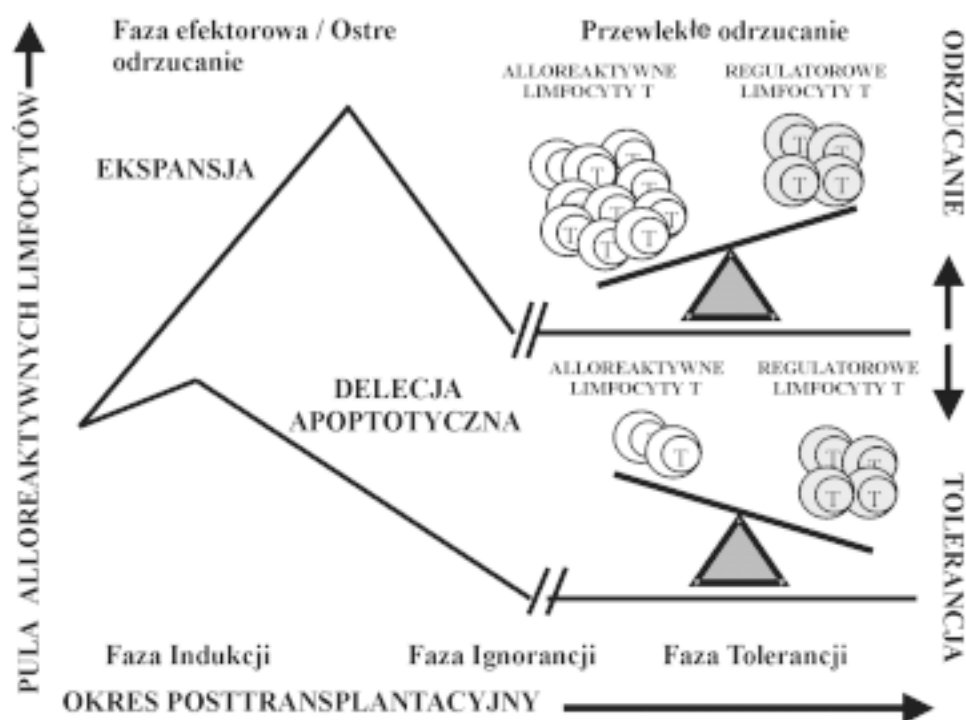
Na udział delecji obwodowej w indukcji tolerancji wskazują m.in. następujące obserwacje: jądra i rogówka oka są immunologicznie uprzywilejowane, tzn. są chronione przed zniszczeniem przez limfocyty w czasie infekcji i co więcej nie są odrzucane po transplantacji do biorców niezgodnych w zakresie MHC. Jak wykazano, wiąże się to m.in. z indukcją apoptozy alloreaktywnych limfocytów biorcy przeszczepu [7]. Także przeszczep wątroby jest spontanicznie akceptowany, tu również wykazano związek z masową apoptozą alloreaktywnych limfocytów [22,23,26].

Rolę obwodowej apoptozy limfocytów T w indukcji tolerancji przeszczepu potwierdzają badania na transgenicznym myszom Bcl-xL i IL-2KO. Myszy Bcl-xL wykazują konstytutywną nadekspresję antyapoptotycznego białka Bcl-xL, co czyni je opornymi na śmierć komórek powodowaną niedostatkami cytokin (PCD). Myszy IL-2KO, tj. z nokautem genu kodującego IL-2, są odporne na śmierć komórek indukowaną aktywacją (AICD), ale nie mają zaburzonej zdolności do aktywacji limfocytów T [19].

### Model „pool size”

Wells i in. [18,29,31,32] proponują model, w którym liczba alloreaktywnych limfocytów (*pool size*) determinuje udział obwodowej delecji w indukcji tolerancji transplantacyjnej. Według tej hipotezy szczególnie wysoki poziom dziewiczych limfocytów T zdolnych do bezpośredniego rozpoznania allogenicznych antygenów MHC (tj. 1 na 10 limfocytów dziewiczych) zwiększa znaczenie apoptozy w uzyskaniu tolerancji. Apoptoza obniża poziom alloreaktywnych limfocytów do takiego, z którym „poradzą sobie” komórki regulatorowe, anergia i immunologiczny dymorfizm (ryc. 1).

Obwodowa delecja może być mniej istotna w indukcji tolerancji na antygeny, przeciwko którym skierowana jest stosunkowo mała populacja reaktywnych limfocytów. Tezę tę potwierdza zdolność immunologicznego dymorfizmu do samodzielnej indukcji przedłużenia przeżycia przeszczepu niezgodnego pod względem „słabych” antygenów zgodności tkankowej (*minor-mismatched*).



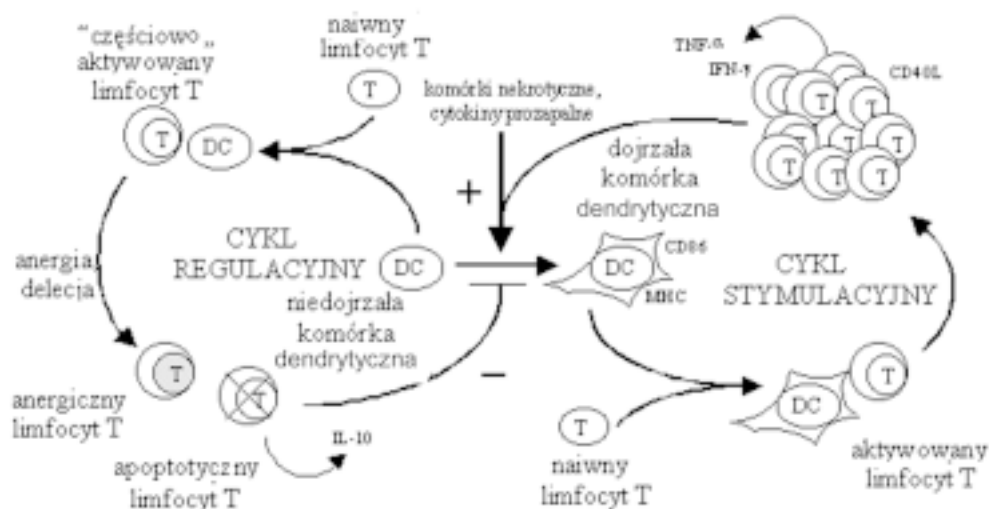
RYCINA 1. Zależności między delecją a immunoregulacją.

Obwodowa delecja wydaje się niezbędna dla przedłużenia życia przeszczepu niezgodnego w zakresie MHC, ale nie jest wystarczająca dla utrzymania długoterminowej tolerancji na antygeny dawcy. Prawdopodobnie podstawą długoterminowej transplantacyjnej tolerancji jest aktywny stan immunoregulacyjny [8]. Ostatnie badania sugerują jednak, że obwodowa delecja może ułatwiać rozwój aktywnej supresji, w tym rozwój komórek regulatorowych we wczesnej fazie odpowiedzi immunologicznej na antygeny allogeniczne.

#### Rola obwodowej apoptozy w indukcji tolerancji

Apoptoza odgrywa rolę w indukcji obwodowej tolerancji nie tylko bezpośrednio, poprzez zmniejszenie puli alloreaktywnych limfocytów. Apoptoza prawdopodobnie ułatwia rozwój regulatorowych limfocytów T dzięki swojemu działaniu przeciwzapalnemu i związanej z tym supresją immunostymulacyjnych zdolności APC (ryc. 2).

W czasie odpowiedzi zapalnej, krążące niedojrzałe komórki dendrytyczne (DC) przetwarzając antygeny pochodzące z nekrotycznych komórek nabierają zdolności do stymulowania aktywności limfocytów T (dojrzewają do APC). Z kolei aktywowane limfocyty dostarczają sygnałów do dojrzewania DC. Komórki apoptotyczne nie wytwarzają cytokin prozapalnych i pochłonięcie ich antygenów nie indukuje dojrzewania DC. Dziewicze limfocyty T po napotkaniu niedojrzałych DC niosących antygeny ulegają klonalnej delecji bądź anergii (prawdopodobnie wskutek niskiego poziomu ekspresji



RYCINA 2. Apoptoza ułatwia rozwój stanu immunoregulacyjnego

kostymulacyjnych molekuł na tych DC). Co więcej, IL-10 produkowana przez apoptotyczne komórki tuż przed śmiercią powoduje, że DC zyskują zdolność do indukowania tolerancji na alloantygenu u żywych alloreaktywnych limfocytów T (immunologiczny dymorfizm). Także fagocytoza apoptotycznych komórek przez makrofagi powoduje produkcję przeciwzapalnych cytokin IL-10 i TGF- $\beta$  [6,12,18].

## Mechanizmy wywołania apoptozy limfocytów

### Indukcja apoptozy centralnej

Terapeutyczne strategie dla indukcji tolerancji na alloantygenu dawcy przez centralną delecję alloreaktywnych limfocytów zawierają mieszany chimeryzm i wewnątrzgrasiczą iniekcję antygenów dawcy. Jeśli centralna delecja alloreaktywnych limfocytów ma być jedynym mechanizmem utrzymania tolerancji, antygeny dawcy muszą pozostawać w grasicy w czasie posttransplantacyjnym. W mieszanych allogenicznym chimerach u myszy, pochodzące od dawcy komórki dendrytyczne (transplantacja hematopoetycznych komórek macierzystych dawcy) po zasiedleniu grasicy są w niej stale obecne. Kontynuowana jest delecja tymocytów aktywowanych antygenami dawcy i osiągana tolerancja przeszczepu. Aby ta strategia była efektywna, potrzebny jest wysoki poziom stabilnego chimeryzmu, tzw. makrochimeryzm [30,33]. Także iniekcja antygenów dawcy bezpośrednio do grasicy młodych szczurów, powoduje delecję alloreaktywnych limfocytów, z tym że trwającą dopóki wstrzyknięte antygeny pozostają w grasicy [33].

Niestety tworzenie mieszanego chimeryzmu u ludzi jest problematyczne. Brakuje mało inwazyjnych środków pozwalających na eliminację limfocytów T do poziomu wystarczającego na wszczepienie komórek macierzystych niezgodnych w zakresie MHC.

### Indukcja apoptozy obwodowej

**Interakcja Fas/FasL.** W badaniach nad rolą obwodowej apoptozy limfocytów T w indukcji tolerancji największe zainteresowanie wzbudza ścieżka zależna od cząsteczki Fas. Wiąże się to ze świadomością, że tkanki immunologicznie uprzywilejowane poprzez konstytutywną ekspresję FasL powodują delecję Fas-pozytywnych limfocytów T [6,7,8,21,35].

*In vitro* wysoka ekspresja FasL na komórkach docelowych, może ochronić je przed zniszczeniem przez limfocyty T – powoduje apoptozę limfocytów [4]. *In vivo* natomiast ujawniają się prozapalne i chemotaktyczne względem neutrofile właściwości cząsteczki FasL. Wysoka ekspresja FasL nie gwarantuje akceptacji przeszczepu: przeszczep trzustki z wysoką ekspresją FasL (genetyczne modyfikacje) jest niszczone przez neutrofile [4].

Ostatnio udowodniono, że zmodyfikowane białko SA-FasL (z usuniętym fragmentem odpowiedzialnym za właściwości metaloproteiny i sprzężone ze streptawidyną) przestaje być chemotaktyczne dla neutrofile. Umieszczenie takiego chimerycznego białka na komórkach endotelialnych naczyń krwionośnych serca pozwala na przeżycie przeszczepu przez około 9 dni [1]. Komplikacje związane z wykorzystaniem FasL występującego na komórkach przeszczepu można też w pewnym stopniu ominąć poprzedzając przeszczepienie leczeniem przy pomocy dawco-specyficznych DC genetycznie zmienionych w celu zwiększenia ekspresji FasL [24].

Interakcje Fas/FasL odgrywają minimalną rolę w zapobieganiu odrzucenia przeszczepu poza miejscami immunologicznie uprzywilejowanymi, co może wynikać z tego, że indukcja antygenowo-specyficznej tolerancji w miejscach uprzywilejowanych jest często związana z wysokim poziomem cytokin immunoregulacyjnych, takich jak TGF- $\beta$  [17] i IL-10 [8]. Jak wykazano napływ granulocytów spowodowany wysoką ekspresją FasL, może być zablokowany przez TGF- $\beta$  [35]. Apoptoza alloreaktywnych limfocytów po przeszczepie rogówki spowodowana przez interakcje Fas/FasL związana jest z wytwarzaniem IL-10 przez umierające komórki, co powoduje przejście Th1 $\rightarrow$ Th2 [8].

**Blokada kostymulacji.** PCD odgrywa ważną rolę w indukcji tolerancji transplantacyjnej powodowanej przez blokadę kostymulacji. Blokada sygnałów kostymulacyjnych dla limfocytów T – strategia używana z powodzeniem do indukcji tolerancji w eksperymentalnych modelach transplantacyjnych – powoduje defekt w ekspresji Bcl-xL i IL-2, przez to promuje PCD [36]. Wprowadzenie antygenów dawcy w obecności środków, które hamują funkcje kostymulacyjnych molekuł, powoduje delecję obwodowych alloreaktywnych limfocytów T [19].

**IFN- $\gamma$  i przeciwciała anti-CD28.** IFN- $\gamma$  jest niezbędny do delecji alloreaktywnych limfocytów w czasie indukcji tolerancji za pomocą przeciwciał anti-CD28. Interesujące jest również, że indukcja tolerancji przez blokadę kostymulacji także zależy od IFN- $\gamma$ . Mechanizm powodowania apoptozy przez ten czynnik jest nieznan. Niektóre źródła sugerują, że jest związany z Fas-zależną apoptozą, inne, że jest niezależny od receptorów śmierci [34].

### Wybrane środki immunosupresyjne a indukcja apoptozy

Leki immunosupresyjne hamują odpowiedź immunologiczną skierowaną przeciwko alloantygenom przeszczepu. Część z nich hamując aktywację komórek, uniemożliwia tym samym zajście apoptozy. Jednakże równocześnie sugeruje się powiązanie wywieranego przez leki efektu antyproliferacyjnego ze zdolnością indukcji apoptozy.

Większość prac donosi, że cyklosporyna (CsA) i takrolimus (FK506) hamują apoptozę [3,8,25,30]. CsA i FK506 blokują sygnał TCR wymagany do zajścia AICD, a także transkrypcję IL-2 i FasL [25]. Blokują aktywację limfocytów, zanim ich przeżycie stanie się zależne od czynników wzrostu, czyniąc tym samym te komórki niewrażliwymi na PCD [20]. CsA i FK506 prawdopodobnie hamując sygnał aktywacji uniemożliwiają uzyskanie tolerancji przeszczepu, do której indukcji niezbędna jest apoptoza i aktywacja limfocytów T. Wysokie dawki CsA i FK506 podane w czasie rozpoznania alloantygenów i przy braku kostymulacji hamują przeżycie przeszczepu.

RAPA indukuje w komórkach PCD. Czyni to interferując z zależną od sygnału kostymulacyjnego (CD28) transkrypcją IL-2 w limfocytach T [27]. Ponadto hamuje ekspresję białek antyapoptotycznych [5,20,27] i wzmacnia apoptozę indukowaną przez blokadę kostymulacji [5,20]. Prawdopodobnie indukuje także AICD, choć tutaj zdania są podzielone [15,20,25,27]. Mykofenolan mofetilu (MMF) indukuje apoptozę limfocytów stymulowanych superantygenem SEB [10] oraz podwyższa ekspresję FasL [25]. Badania wskazują, że RAPA i MMF wydają się pomagać w uzyskaniu tolerancji przeszczepu, możliwe że przez promowanie apoptozy [3,19,20].

## PODSUMOWANIE

Przez długi czas apoptoza była utożsamiana z odrzucaniem przeszczepu – śmiercią komórek przeszczepionego narządu wyzwalaną przez alloreaktywne limfocyty T. Ostatnie dane podkreślają jednak również udział apoptozy w indukcji tolerancji przeszczepu. Apoptoza alloreaktywnych limfocytów T jest niezbędna nie tylko dla bezpośredniego obniżenia ich liczby, ale także ułatwia wytworzenie stanu immunoregulacyjnego. Mechanizmy tego procesu nie są jeszcze dostatecznie wyjaśnione i wymagają dodatkowych badań.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] ASKENASYN Y, YOLCU ES, WANG Z, SHIRVAN H. Display of Fas Ligand protein on cardiac vasculature as a novel means of regulating allograft rejection. *Circulation* 2003; **107**: r41–r47.
- [2] BISHOP GA, WANG C, SHARLAND AF, MCCAUGHAN GW. Spontaneous acceptance of liver transplants in rodents: evidence that liver leucocytes induce recipient T-cell death by neglect. *Immunol Cell Biol* 2002; **80**: 93–100.
- [3] CHIFFOLEAU E, WALSH PT, TURKA L. Apoptosis and transplantation tolerance. *Immunol Revs* 2003; **193**: 124–145.



- [4] DULAT HJ, GRUMBKOW VON C, BAARS W, SCHRODER N, WONIGEIT K, SCHWINZER R. Down-regulation of human alloimmune responses by genetically engineered expression of CD95 ligand on stimulatory and target cells. *Eur J Immunol* 2001; **31**: 2217–2226.
- [5] FELLSTROM B, ZEZINA L. Apoptosis: friend or foe? *Transplant Proc* 2001; **33**: 2414–2416.
- [6] FERGUSON TA, GREEN D. T cells are just dying to accept grafts. *Nat Med* 1999; **5**(11): 1231–1232.
- [7] FERGUSON TA, GREEN DR, GRIFFITH TS. Cell death and immune privilege. *Intern Rev Immunol* 2002; **21**: 153–172.
- [8] FERGUSON TA, STUART PM, HERNDON JM, GRIFFITH TS. Apoptosis, tolerance, and regulatory T cells – old wine, new wineskins. *Immunol Rev* 2003; **193**: 111–123.
- [9] GUDMUNSDOTTIR H, TURKA LA. T cell costimulatory blockade: new therapies for transplant rejection. *J Amer Soc Nephrol* 1999; **10**: 1356–1365.
- [10] IZERADJENE K, REVILLARD JP. Apoptosis of superantigen-activated T cells induced by mycophenolate mofetil treatment. *Transplantation* 2001; **71**: 118–125.
- [11] JANSSEN O, SANSENBACHER R, KABELITZ D. Regulation of activation-induced cell death of mature T-lymphocyte populations. *Cell Tissue Res* 2000; **301**: 85–99.
- [12] JOSIEN R, MUSCHEN M, GILBERT E, DOUILLARD P, HESLAN JM, SOULILLOU JP, CUTURI MC. Fas ligand, Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  expression, and apoptosis during allograft rejection and tolerance. *Transplantation* 1998; **66**: 887–893.
- [13] KABELITZ D. Apoptosis, graft rejection, and transplantation tolerance. *Transplantation* 1998; **65**(7): 869–875.
- [14] KISHIMOTO K, SANDNER S, IMITOLA J, SHO M, LI Y, LANGMUIR PB, ROTHSTEIN DM, STROM TB, TURKA LA, SAYEGH MH. Th1 cytokines, programmed cell death, and alloreactive T cell clone size in transplant tolerance. *J Clin Invest* 2002; **109**: 1471–1479.
- [15] KOENEN HJP, MICHIELSEN ECHJ, VERSTAPPEN J, FASSE E, JOOSTEN I. Superior T cell suppression by rapamycin and FK506 over rapamycin and cyclosporine A because of abrogated cytotoxic T-lymphocyte induction, impaired memory responses and persistent apoptosis. *Transplantation* 2003; **75**: 1581–1590.
- [16] LECHLER RI, GARDEN OA, TURKA LA. The complementary roles of deletion and regulation in transplantation tolerance. *Nat Rev Immunol* 2003; **3**: 147–158.
- [17] LI XC, LI Y, DODGE I, WELLS AD, ZHENG XX, TURKA LA, STROM TB. Induction of allograft tolerance in the absence of Fas-mediated apoptosis. *J Immunol* 1999; **163**: 2500–2507.
- [18] LI XC, STROM TB, TURKA LA, WELLS AD. T cell death and transplantation tolerance. *Immunity* 2001; **14**: 407–416.
- [19] LI XC, WELLS AD, STROM TB, TURKA LA. The role of T cell apoptosis in transplantation tolerance. *Curr Opin Immunol* 2000; **12**: 522–527.
- [20] LI Y, LI XC, ZHENG XX, WELLS AD, TURKA LA, STROM TB. Blocking both signal 1 and signal 2 of T-cell activation prevents apoptosis of alloreactive T cells and induction of peripheral allograft tolerance. *Nat Med* 1999; **5**(11): 1298–1302.
- [21] MAHER S, TOOMEY D, CONDRON C, BOUCHIER-HAYES D. Activation-induced cell death: the controversial role of Fas and Fas ligand in immune privilege and tumour counterattack. *Immunol Cell Biol* 2002; **80**: 131–132.
- [22] MEYER D, THORWARTH M, OTTO C, GASSEL HJ, TIMMERMANN W, ULRICHS K, THIEDE A. Apoptosis of alloreactive T cells in liver allografts during tolerance induction. *Transplant Proc* 1999; **31**: 474.
- [23] MEYER D, THORWARTH W, OTTO C, GASSEL M, GASSEL H, TIMMERMANN W, ULRICHS K, THIEDE A. Early T-cell inactivation and apoptosis – critical events for tolerance induction after allogeneic liver transplantation. *Transplant Proc* 2001; **33**: 256–258.
- [24] MIN W, HUANG X, GORCZYŃSKI R, CATTRAL M. Fas ligand transfected dendritic cells induce apoptosis of antigen specific T cells. *Transplant Proc* 2001; **33**: 234.
- [25] NAKAMURA M, OGAWA N, SHALABI A, MALEY WR, LONGO D, BURDICK JF. Positive effect on T-cell regulatory apoptosis by mycophenolate mofetil. *Clin Transplant* 2001; **15** (Suppl 6): 36–40.
- [26] PARK S, MURRAY D, JOHN B, CRISPE N. Biology and significance of T-cell apoptosis in the liver. *Immunol Cell Biol* 2002; **80**: 74–83.
- [27] SEHGAL SN. Rapamune (RAPA, rapamycin, sirolimus): mechanism of action immunosuppressive effect results from blockade of signal transduction and inhibition of cell cycle progression. *Clin Biochem* 1998; **31**: 335–340.

- [28] STEINMAN RM, TURLEY S, MRLLMAN I, INABA K. The induction of tolerance by dendritic cells that have captured apoptosis cells. *J Exp Med* 2000; **191**: 411–416.
- [29] SUCHIN EJ, LANGMUIR PB, PALMER E, SAYEGH MH, WELLS AD, TURKA LA. Quantifying the frequency of alloreactive T cells *in vivo*: new answer to an old question. *J Immunol* 2001; **161**: 973–981.
- [30] SYKES M. Mixed chimerism and transplant tolerance. *Immunity* 2001; **14**: 417–424.
- [31] WELLS AD, LI XC, LI Y, WALSH MC, ZHENG XX, WU Z, NUNEZ G, TANG A, SAYEGH M, HANCOCK WW, STROM TB, TURKA LA. Requirement for T-cell apoptosis in the induction of peripheral transplantation tolerance. *Nat Med.* 1999; **5**: 1303–1307.
- [32] WELLS AD, LI XC, STROM TB, TURKA LA. The role of peripheral T-cell deletion in transplantation tolerance. *Philos T Roy Soc Lond B: Biol Sci* 2001; **356**: 617–623.
- [33] WOOD KJ, JONES ND, BUSHHELL AR, MORRIS PJ. Alloantigen-induced specific immunological unresponsiveness. *Philos T Roy Soc Lond B: Biol Sci* 2001; **356**: 665–680.
- [34] YU XZ, ALBERT MH, MARTIN PJ, ANASETTI C. CD28 ligation induces transplantation tolerance by IFN- $\gamma$ -dependent depletion of T cells that recognize alloantigens. *J Clin Invest* 2004; **131**: 1624–1630.
- [35] ZAVAZAVA N, KABELITZ D. Alloreactivity and apoptosis in graft rejection and transplantation tolerance. *J Leuk Biol* 2000; **68**: 167–177.

*Redaktor prowadzący – Barbara Płytycz*

*Otrzymano: 07.02.2005 r.*

*Przyjęto: 21.06.2005 r.*

*ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa;*

*e-mail: akorecka@biol.uw.edu.pl*