

## **ROLA KOMÓREK DENDRYTYCZNYCH W REGULOWANIU AKTYWNOŚCI UKŁADU IMMUNOLOGICZNEGO ORAZ MOŻLIWOŚCI WYKORZYSTANIA ICH W TERAPII**

DENDRITIC CELLS AS REGULATORS OF IMMUNE RESPONSE  
AND THEIR APPLICATION IN THERAPY

Anna WARDOWSKA<sup>1</sup>, Magdalena SZARYŃSKA<sup>1</sup>, Krystyna DZIERZBICKA<sup>2</sup>,  
Andrzej MYŚLIWSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra Histologii i Immunologii, Akademia Medyczna w Gdańsku,

<sup>2</sup>Katedra Chemii Organicznej, Politechnika Gdańska

*Streszczenie:* Komórki dendrytyczne (DC) są jedną z kluczowych populacji komórek odpornościowych, które dzięki posiadaniu specyficznych receptorów są zdolne odpowiedzieć na antygeny zlokalizowane zarówno na zewnątrz, jak i wewnątrz komórek. Są populacją bardzo zróżnicowaną pod względem lokalizacji, stopnia dojrzałości, fenotypu czy pełnionej funkcji. W ostatnich latach nastąpił przełom w postrzeganiu komórek dendrytycznych nie tylko jako komórek prezentujących antygeny i indukujących układ odpornościowy, lecz także jako komórek o zdolności do wyciszenia jego aktywności czy do aktywnego zabijania komórek nowotworowych (NKDC). W laboratoriach analizuje się znaczenie komórek dendrytycznych w generowaniu, utrzymywaniu czy hamowaniu stanów patologicznych, np. nowotworów, chorób autoimmunizacyjnych czy reakcji odrzucania przeszczepów. Szeroko zakrojone badania nad możliwością generowania i modulowania aktywności DC oraz modyfikowania genetycznego powinny przyspieszyć proces adaptacji tych komórek do celów klinicznych. Naśladując naturalne właściwości patogenów do indukcji odpowiedzi immunologicznej, próbuje się stworzyć ich efektywniejsze i bezpieczniejsze analogi (MDP, MB, CpG-ODN), by móc zastosować je w terapii pacjentów z upośledzoną reaktywnością układu odpornościowego.

*Słowa kluczowe:* komórki dendrytyczne, immunomodulatory, muramylopeptydy, receptory Toll-podobne, CpG.

*Summary:* Dendritic cells are one of the major populations of immune cells. Due to the presence of specific receptors dendritic cells (DCs) are able to respond to both intra- and extracellular antigens. The diversity of this cell population is a result of differences in localization, stage of maturation, phenotype and function. In recent years there has been a shift in perception of DCs not only as inducers of immune reactivity but also as crucial regulators of immunity, which include ability to induce and maintain tolerance and also as effector cells, which are capable to kill tumor cells (NKDCs). Scientists around the world are

analyzing the role of DCs in generation, maintenance or inhibition of pathological conditions, such as: tumors, autoimmune diseases or graft rejection. Highly developed research are focused on generating and modulating the activity as well as genetic modifications of DCs. All knowledge obtained in those research may contribute to the acceleration of DC-based therapies in clinics. Mimicking natural properties of pathogen structural elements (i.e. bacterial cell wall), that induce immune response, scientists try to design safer and more effective analogs (MDP, MB, CpG-ODN) to use them to improve health condition in patients with defective immune system reactivity.

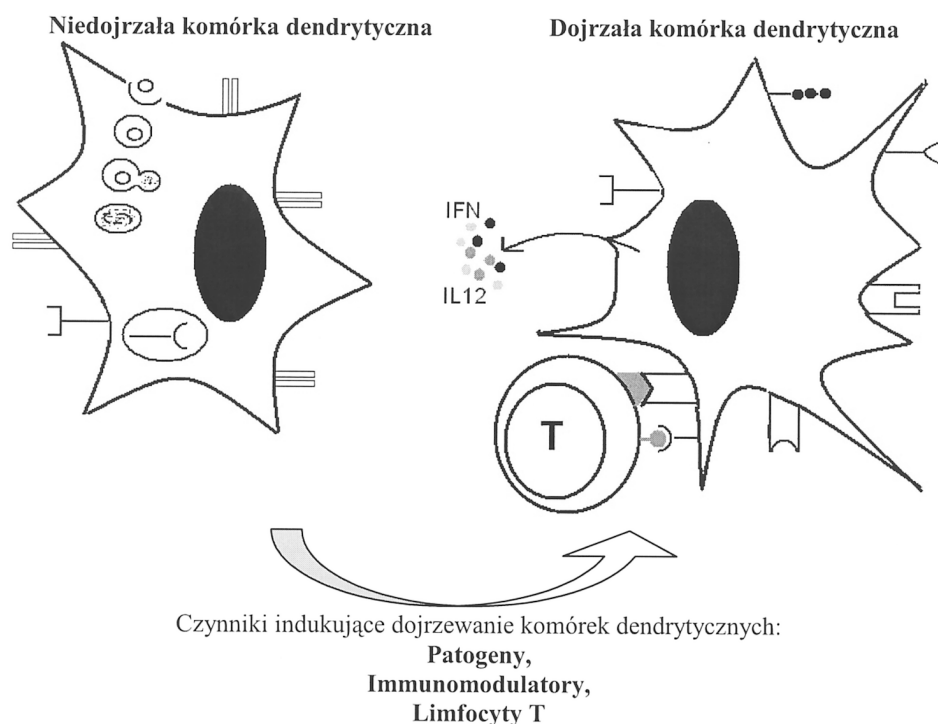
*Key words:* dendritic cells, immunomodulators, muramylpeptides, Toll-like receptors, CpG.

*Wykaz najważniejszych skrótów:* **DC** (*dendritic cells*) – komórki dendrytyczne; **APC** (*antigen presenting cells*) – komórki prezentujące antygeny; **iDC** (*immature dendritic cells*) – niedojrzałe DC; **mDC** (*mature dendritic cells*) – dojrzałe komórki dendrytyczne; **TLR** (*Toll-like receptors*) – receptory błonowe Toll-podobne; **MDP** – muramylodipeptyd; **PGN** – peptydoglikan; **CpG** – niemetylowane sekwencje cytozyna-guanina.

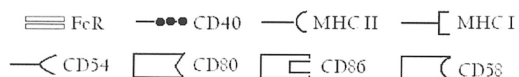
## KOMÓRKI DENDRYTYCZNE

Komórki dendrytyczne – DC (ang. *dendritic cells*) wywierają różnorodny efekt na funkcjonowanie systemu odpornościowego oraz integrują aktywność efektorów odpowiedzi wrodzonej i nabytej. Stanowią złożoną, heterogenną populację leukocytów występującą powszechnie w tkankach limfoidalnych i nielimfoidalnych, krwi obwodowej oraz doprowadzających naczyniach limfatycznych. Dodatkowo, ostatnio opisano również komórki dendrytyczne w płynie otrzewnowym [60]. Tradycyjnie DC przyporządkowuje się do populacji komórek prezentujących antygeny – APCs (ang. *antigen presenting cells*) o wysokim potencjale do indukcji pierwotnej odpowiedzi immunologicznej [3]. W centrach rozmnażania grudek chłonnych odpowiedzialne są za przekazywanie sygnału pomiędzy limfocytami B i T oraz klonalną delecję tymocytów wiążących własne antygeny w grasicy [63].

W tkankach mających kontakt ze środowiskiem zewnętrznym, głównie w skórze (komórki Langerhansa) oraz w nabłonkach układu oddechowego i pokarmowego, niedojrzałe DC – iDC (ang. *immature dendritic cells*) nieprzerwanie patrolują mikrośrodowisko w poszukiwaniu wnikających patogenów. Charakteryzują się one dużą zdolnością do endocytozy obcych cząstek, które są następnie przetwarzane i prezentowane immunokompetentnym limfocytom T [40]. Prowadzi to w konsekwencji do przekształcenia niedojrzałych DC w formę dojrzałą – mDC (ang. *mature dendritic cells*), efektorową, zdolną zastymulować optymalną reakcję elementów nabytej odpowiedzi immunologicznej (ryc. 1). Różnicowanie do mDC może nastąpić w wyniku ekspozycji na cytokiny prozapalne, takie jak: TNF $\alpha$  lub IL1 $\beta$ , czy też na komponenty bakteryjnej ściany komórkowej, w tym LPS [30]. Formy dojrzałe wykazują wysoką ekspresję specyficznych markerów (MHC klasy I i II, CD40, CD80, CD86, CD83), które kontrolują procesy dojrzewania oraz migracji zaktywowanych DC z miejsc zapalenia do stref grasiczozależnych narządów limfatycznych. Komórki te nie proliferują, po określonym czasie ulegają apoptozie i są zastępowane przez nową pulę DC [3].



Legenda:



RYCINA 1. Zestawienie cech niedojrzałej (iDC) i dojrzałej (mDC) komórki dendrytycznej

Podstawę odróżniania antygenów własnych od antygenów obcych stanowi istnienie na powierzchni DC „receptorów rozpoznających wzorce” – PRR (ang. *pattern recognition receptors*) specyficznych względem stałych grupowych struktur drobnoustrojów zwanych PAMP (ang. *pathogen-associated molecular patterns*). Receptory te integrują efekторы odpowiedzi swoistej i nieswoistej, dzięki czemu pozwalają na efektywniejszą walkę z patogenami. Jednym z przykładów receptorów PRR jest rodzina receptorów błonowych Toll-podobnych – TLR (ang. *Toll-like receptors*) [1, 33]. Najlepiej poznanymi członkami tej rodziny są trzy receptory: TLR2, TLR4 i TLR9. Uważa się, że TLR4 bierze udział w rozpoznawaniu lipopolisacharydu (LPS), TLR2 – peptydoglikanu (PGN) [23], a TLR9 – niemetylowanych sekwencji CpG [29]. Aktywacja komórek poprzez receptory TLR prowadzi do zwiększenia wydzielania cytokin prozapalnych, chemokin, tlenku azotu oraz do wzrostu ekspresji molekuł adhezyjnych i kostymulujących na powierzchni DC. Receptory TLR są zaangażowane w detekcję mikroorganizmów w środowisku pozakomórkowym, natomiast nowo odkryta grupa receptorów – NBS-LRR (ang.

*Nucleotide-Binding Site-Leucine-Rich Repeat*) wykrywa mikroorganizmy i cząstki pochodzenia bakteryjnego wewnątrzkomórkowo [10]. Wewnątrzkomórkowe rozpoznanie patogenów najprawdopodobniej zachodzi po degradacji bakterii przez enzymy lizosomalne w procesie fagocytozy. Powstałe w ten sposób fragmenty ściany bakteryjnej mogą bezpośrednio oddziaływać z właściwymi dla nich receptorami cytoplazmatycznymi [9]. Prawdopodobnie białka NSB-LRR odgrywają istotną rolę w reakcji organizmu na wtargnięcie patogenu w miejscach braku lub obniżonej ekspresji receptorów Toll-podobnych [27]. Dwie spośród domen NBS-LRR: Nod1 i Nod2 regulują szlak prozapalny poprzez aktywację czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B w wyniku związania liganda bakteryjnego. Nod1, występujący na komórkach wielu tkanek [24, 36], rozpoznaje jedynie peptydoglikany (PGN) zawierające kwas diaminopimelinowy (DAP) w trzeciej pozycji, w związku z czym odróżniają PGN pochodzące z bakterii Gram+ od tych PGN, które pochodzą z bakterii Gram-. Receptor Nod 2 jest obecny tylko na niektórych komórkach układu immunologicznego, w tym na: monocytach, makrofagach, komórkach dendrytycznych oraz w mniejszym stopniu na limfocytach T [20]. Istnieją również doniesienia stwierdzające występowanie tych receptorów w komórkach nabłonkowych jelita. Mutacje w genach dla Nod2 są związane z występowaniem choroby Crohn'a. Konsekwencją tych mutacji jest niezdolność receptora do wiązania MDP (muramylodipeptyd), który powszechnie występuje u bakterii zarówno Gram+, jak i Gram- [2], lub też brak pobudzenia szlaku aktywacji NF- $\kappa$ B i syntezy cytokin w odpowiedzi na związanie tego liganda [18, 23].

Dzięki rozwojowi metod biologii molekularnej, sklasyfikowano wiele odrębnych subpopulacji DC o odmiennej morfologii, funkcji i fenotypie. Heterogenność tych komórek związana jest również z ich powszechnym występowaniem w organizmie. Najszerzej opisaną subpopulacją są komórki prezentujące antygeny. DC odgrywają znaczącą rolę w odpowiedzi wrodzonej poprzez produkcję cytokin (IL-12, INF klasy I i II), a także aktywację komórek NK i NKT do natychmiastowego usuwania patogenów [3].

W ostatnich latach nastąpił przełom w postrzeganiu DC nie tylko jako komórek prezentujących antygeny i stymulujących stan zapalny, lecz również zdolnych do pełnienia wielu innych nowoodkrytych funkcji. Zaobserwowano, że są kluczowym elementem regulującym aktywność układu odpornościowego oraz że są wydajnymi efektorami w reakcjach cytotoksycznych. Immunosupresyjne DC indukują i podtrzymują tolerancję immunologiczną. Tolerogenne DC prezentują antygeny limfocytom T, lecz nie dostarczają im sygnałów kostymulujących niezbędnych do ich aktywacji i proliferacji. Może to powodować apoptozę tych specyficznych klonów limfocytów T, ich anergię lub generowanie i proliferację subpopulacji limfocytów T regulatorowych. Dzięki tym właściwościom DC hamują zarówno swoistą, jak i nieswoistą odpowiedź immunologiczną [22, 38]. Subpopulacja DC o takiej aktywności jest odporna na działanie sygnałów stymulujących ich dojrzewanie i lokalizuje się w tkankach limfatycznych [38, 59]. Wyniki innych badań pokazują zaś, że DC mogą pełnić podobne funkcje niezależnie od stanu swojej dojrzałości jako komórek APC [35]. Tolerogenne DC produkują na bardzo niskim poziomie IL-12p70, lecz wykazują silną nadprodukcję IL-10. Są zdolne do odpowiedzi na sygnały pochodzące od limfocytów T regulatorowych, przez co są ważnym elementem składowym pętli sprzężenia zwrotnego utrzymującego stan immunosupresji [38]. Jednym z mechaniz-

mów wykorzystywanym przez regulatorowe DC jest deplecja tryptofanu dzięki aktywności enzymu IDO (*indoleamine 2,3-dioxygenase*) [52, 53]. Indukcja ekspresji IDO DC następuje po związaniu się receptora B7 z cząsteczką CTLA-4 na powierzchni limfocytów T [35].

Wyniki najnowszych badań sugerują, że DC są także zdolne do przeprowadzenia reakcji cytotoksycznych podobnie jak komórki NK – znane ze swojej aktywności cytotoksycznej [47, 55]. Cytotoksyczne DC do realizacji swoich celów wykorzystują mechanizmy zależne od: perforyn, cząsteczek Fas, TRAIL, TNF $\alpha$  oraz mechanizmy niezależne od jonów Ca<sup>2+</sup> [12]. Ostatnio zostały opisane nowe populacje DC wykazujące jednocześnie ekspresję markera komórek NK (NK1.1) i markera DC – CD11c zarówno u myszy, jak i u ludzi [11, 12, 46]. Populacje te wykazują spontaniczną zdolność do lizy innych komórek oraz do prezentowania antygenów, dlatego określa się je jako komórki NKDC [12, 46]. DC w warunkach *in vitro* po aktywacji LPSeM lub IFN-gamma [47] nabywają zdolności niszczenia komórek nowotworów hematologicznych (linii Jurkat, Daudi, HL60), jednocześnie nie wykazują takiej aktywności względem normalnych komórek jednojądrzastych oraz nie wpływają hamująco na zdolności proliferacyjne komórek progenitorowych. Potwierdzono, że za to zjawisko odpowiedzialne są populacje całkowicie dojrziałych DC [47]. Dowiedziono również [57], że szczurze komórki dendrytyczne niszczą komórki linii YAK-1 wrażliwe na cytotoksyczność komórek NK.

Komórki dendrytyczne różnicują się z komórek macierzystych CD34+ na dwie linie: mieloidalną i limfoidalną zarówno w przypadku ludzkich DC, jak i ich mysich odpowiedników [3] (tab. 1). Komórki pierwszej z tych linii (mieloidalnej) są niezbędne do aktywacji limfocytów T, natomiast linia limfoidalna warunkuje stan tolerancji immunologicznej w organizmie [8]. Zarówno ludzkie, jak i mysie DC wykształciły specyficzny dla siebie fenotyp, dzięki czemu możliwa jest izolacja, detekcja i analiza ich poszczególnych subpopulacji. Obie subpopulacje mysich DC – mieloidalna i limfoidalna – wykazują wysoką ekspresję CD11c, MHC II oraz cząsteczek kostymulujących CD86 i CD40. Na rozróżnienie tych subpopulacji pozwala obecność cząsteczki CD8 $\alpha$ , występującej jedynie na limfoidalnych mysich DC. Analogiczne subpopulacje ludzkich DC mają fenotyp, odpowiednio: mieloidalne: CD11c<sup>high</sup>CD123<sup>low</sup>, limfoidalne: CD11c<sup>low</sup>CD123<sup>high</sup> [3]. Prekursory komórek dendrytycznych migrują ze szpiku kostnego do tkanek obwodowych, gdzie wystawione są na działanie różnorodnych czynników wzrostowych (GM-CSF, IL-4, TNF-alfa, TGF-beta) wydzielanych przez komórki zamieszkujące daną niszę (keratynocyty, mastocyty, komórki śródbłonna czy fibroblasty). Powyższe czynniki determinują ścieżkę różnicowania się prekursorów w komórki poszczególnych subpopulacji [43]. Obecnie bardzo wiele zespołów prowadzi doświadczenia nad optymalizacją ekspansji *in vitro* komórek dendrytycznych. Ludzkie komórki dendrytyczne mogą różnicować się z krwiotwórczych komórek macierzystych CD34+ oraz monocytów krwi szpikowej [51], krwi obwodowej [15] lub pępowinowej [13].

TABELA 1. Porównanie komórek dendrytycznych pochodzących od różnych prekursorów

Cecha	Mieloidalne DC	Limfoidalne DC
Pochodzenie	monocytarne prekursory	KKM
Morfologiczne podobieństwo do	monocytów	komórek plazmatycznych
Lokalizacja	różne tkanki, np. komórki Langerhansa – skóra	krew, narządy limfatyczne
Funkcja	aktywacja limfocytów T	indukcja tolerancji immunologicznej
Receptory powierzchniowe CD11c CD123 TLR	wysoka ekspresja niska ekspresja 2,3,4,5,6,7,8	niska ekspresja wysoka ekspresja 7,9
Sekrecja	IL-12	INF $\alpha$

## ZNACZENIE KLINICZNE KOMÓREK DENDRYTYCZNYCH

W przypadku niektórych schorzeń, gdy zawodzą inne metody terapii, jedną z dostępnych dróg może być przeszczep DC wygenerowanych i zastymulowanych w warunkach *in vitro*. Leczenie można prowadzić stosując przeszczepy komórek auto- lub allogenicznych. Poddane stymulacji *ex vivo* DC po wszczępieniu z powrotem do organizmu mogą pełnić swoje funkcje, ze względu na doskonałą zdolność do migracji [42]. Dowiedziono eksperymentalnie [54], że DC wyizolowane z kilku organów po ponownym wszczępieniu ich zwierzętom doświadczalnym, w ciągu 24 godzin osiedlały się w T-zależnych regionach węzłów chłonnych. Wykorzystując te zdolności, można potencjalnie stworzyć schemat terapii przeszczepiania wcześniej izolowanych i stymulowanych *ex vivo* DC i w ten sposób aktywować żadaną subpopulację limfocytów, w zależności od potrzeb. Właściwość DC do prezentowania antygenów można wykorzystać do stworzenia swoistych szczepionek adjuwantowych po stymulacji antygenami, na przykład nowotworowymi czy bakteryjnymi [41, 61]. Prowadzone są próby uzyskiwania DC z komórek nowotworowych, które wykazują ekspresję zarówno receptorów DC, jak i antygenów nowotworowych [31, 32]. Jednak, aby szczepionka adjuwantowa dała pozytywny wynik, niezbędna jest obecność we krwi pacjenta efektywnych komórek odpornościowych (limfocytów T, B, NK), które byłyby w stanie odpowiedzieć na tę szczepionkę [21]. Liczne badania pokazały, że DC modyfikowane antygenami nowotworowymi przeszczepiane pacjentom są dobrze tolerowane. Ich podawanie stymuluje odpowiedź przeciwnowotworową organizmu, spowolnienie progresji nowotworu, a w nielicznych przypadkach nawet jego regresję [39, 44, 49]. Dodatkowo, w immunoterapii nowotworowej rozważa się zastosowanie modyfikowanych komórek dendrytycznych jako nośników genów dla cytokin, w celu modulowania odpowiedzi układu odpornościowego i poprawienia jego wydolności. Stwierdzono, że wytwarzanie odpowiednich cytokin (np. IL-2, IL-12, IL-7, GM-CSF)



przez modyfikowane DC poprawia wydajność procesu prezentowania antygenów, a także zwiększa ich migrację do lokalnych węzłów chłonnych [50].

Ostatnio analizuje się udział DC w wielu procesach chorobowych. Istotne jest nie tylko immunostymulujące działanie DC, ale także zmiany w ich zachowaniu prowadzące do niekorzystnych procesów. Sugeruje się, że niektóre patogeny i/lub czynniki tkankowe stymulują regulatorowe DC do indukcji dojrzewania komórek T regulatorowych [48]. Odnotowano, że tolerogenne DC mogą być odpowiedzialne za stan zwiększonej podatności na infekcje bakteryjne, grzybicze czy wirusowe u poseptycznych pacjentów [4]. Może to być wynikiem zmian w ekspresji cząsteczek powierzchniowych oraz w wydzielaniu chemokin przez DC. Dokładne poznanie mechanizmów regulacji aktywności tej subpopulacji DC pozwoli na stłumienie reakcji immunosupresji w celu przywrócenia równowagi immunologicznej u poseptycznych pacjentów przy użyciu różnorodnych czynników farmakologicznych i biologicznych. [5, 17].

Przewlekłe odrzucanie przeszczepów, podatność na infekcje spowodowana indukowaną immunosupresją znoszącą reaktywność immunologiczną przeciw wszystkim antygenom (także bakteryjnym) stanowią poważny problem klinik zajmujących się transplantologią. Zdolność DC do indukcji immunotolerancji transplantacyjnej mogłaby stać się doskonałym środkiem znoszącym wszystkie te negatywne skutki klasycznej immunosupresji oraz stanu zapalnego w czasie reakcji GvHD (ang. *Graft versus Host Disease*) po przeszczepach różnych narządów [28]. Tolerogenne DC wygenerowane *in vitro*, a następnie przeszczepiane takim pacjentom mogłyby doprowadzić do zmniejszenia odsetka niepowodzeń przeszczepów. Przeprowadzone zostały próby podania pacjentowi autologicznych iDC otrzymanych w wyniku ekspansji progenitorów ze szpiku kostnego – iBMDC (ang. *immature bone marrow dendritic cells*), które wykazały wzrost tolerancji allo-przeszczepu [6]. Dodatkowo, upośledzenie funkcji DC wydaje się być czynnikiem kluczowym w progresji chorób autoimmunologicznych oraz chronicznych stanów zapalnych [37]. Limfoidalne DC mają potencjał do akumulowania się w miejscach zapalenia w przypadku tocznia rumieniowatego, łuszczycy, kontaktowego zapalenia skóry oraz w nabłonkach dotkniętych reakcją alergiczną [34]. Toczeń może rozwijać się u ludzi o specyficznych predyspozycjach genetycznych i którzy wcześniej przeżyli infekcję. U tych osób po uwolnieniu DNA z zainfekowanych apoptotycznych komórek powstały auto-przeciwciała, anty-DNA. Kompleksy przeciwciało-DNA aktywują limfoidalne DC, które wydzielając IFN amplifikują ten patologiczny efekt aktywowania układu immunologicznego przeciwko własnym antygenom. Terapia antynowotworowa z użyciem przeciwciał anty-TNF $\alpha$  może również przyczynić się do uwolnienia DNA i rozwinięcia się objawów tocznia, jak pokazały doświadczenia na myszach. Zaobserwowano, że przeciwciała anty-BDCA-2 skierowane przeciwko receptorowi na powierzchni limfoidalnych DC blokują produkcję IFN $\alpha$  w odpowiedzi na kompleksy przeciwciało-DNA, co dało nadzieję na stworzenie skutecznej terapii [7].

## MODULATORY AKTYWNOŚCI DC POCHODZENIA MIKROBIOLOGICZNEGO

W przypadku chronicznych infekcji czy nowotworów, funkcje DC zostają upośledzone. Dlatego opracowywany jest sposób leczenia oparty na aktywacji komórek dendrytycznych w warunkach *ex vivo*, jak i *in vivo*. Być może niezbędne dla otrzymania maksymalnego efektu aktywacyjnego będzie zastosowanie dodatkowo cząstek immunostymulujących [10, 30]. Wykazano, że w przypadku infekcji bakteryjnej cząsteczki, takie jak np. LPS, PGN czy MDP (muramyldipeptyd), pobudzają komórki prezentujące antygen do aktywacji układu immunologicznego. W badaniach próbuje się wykorzystać tę naturalną zdolność patogenów do pobudzania układu immunologicznego w celu stworzenia syntetycznych immunomodulatorów, które można by bezpiecznie użyć w czasie terapii pacjentów (tab. 2).

Jedną z grup immunomodulatorów branych pod uwagę jako czynniki stymulujące DC stanowi MDP wraz ze swoimi pochodnymi. Poszukując analogów MDP o potencjalnym zastosowaniu klinicznym, zsyntetyzowano i przebadano setki jego pochodnych. Najdokładniej przebadano działanie jednej z nich – murabutytu (MB). Okazało się, że MB jest w stanie pobudzać dojrzewanie DC, wzmacniać ich zdolność do stymulacji limfocytów T, indukować zróżnicowane profile wydzielania cytokin a także indukować fosforylację głównych klas MAP kinaz [30]. Dodatkowo, ta pochodna wzmaga ekspresję markerów dojrzewania i aktywacji DC – CD83 i CD25 oraz stymuluje DC do sekrecji dużych ilości mediatorów stanu zapalnego oraz hamuje proliferację komórek nowotworowej linii THP-1.

Ostatnio zaprojektowano także związek – MDP-C (N2-[ $\alpha$ -O-Benzyl-N-(acetylmuramylo)-L-alanylo-D-isoglutaminylo]-N6-trans-(m-nitrocinnamoylo)-L-lizyna) [62], który indukuje dojrzewanie i aktywację DC, prowadząc do wydajniejszego niszczenia zainfekowanych komórek [30, 62]. Powoduje on wzrost ekspresji cząsteczek powierzchniowych (CD11c, MHC klasy II, ICAM-1) i wydzielania cytokin prozapalnych. Wykazano, że stymulacja komórek dendrytycznych MDP-C prowadzi do zwiększonej cytotoksyczności limfocytów T cytotoksycznych (CTL), czemu dodatkowo towarzyszy wzrost produkcji INF $\gamma$  [30]. Wydaje się, że pobudzenie aktywności CTL wymaga dwustopniowej aktywacji: oddziaływania receptorów TCR z kompleksami MHC klasy II obecnych na DC oraz interakcji pomiędzy cząsteczkami na powierzchni naiwnych limfocytów T i ligandami DC (B7-1 lub B7-2) [30].

Pod kątem potencjalnej zdolności modulowania aktywności DC, przebadano także monoacylowane pochodne MDP. Pochodne zawierające łańcuchy kwasów tłuszczowych (oktanylo i stearyno) były w stanie aktywować receptory TLR2 i 4 na ludzkich DC. Agonistyczne oddziaływanie pochodnych MDP na receptory TLR2/4 jest odpowiedzialne za dojrzewanie DC. Natomiast, natywny związek i diacylowane analogi nie wykazywały żadnych zdolności aktywujących układ immunologiczny [56].

Jak wiadomo receptory TLR rozpoznają nie tylko fragmenty bakteryjnych ścian komórkowych opisanych powyżej, ale również inne elementy drobnoustrojów, takie jak np. niemetylowane fragmenty CpG. Niemetylowane dinukleotydy CG (cytozyna,



guanina), w szczególności te zawierające motywy CpG są odpowiedzialne za immunostymulacyjne właściwości bakteryjnego DNA [26]. W genomie kręgowców podobne motywy ulegają metylacji, stąd duża immunogenność tych motywów bakteryjnego pochodzenia [58]. Fragmenty DNA z motywami CpG aktywują odpowiedź immunologiczną wielotorowo, poprzez stymulację efektorów odpowiedzi wrodzonej (makrofagi, komórki dendrytyczne i NK) i nabytej zarówno humoralnej, jak i komórkowej [25]. Niemetylowane motywy CpG indukują kaskadę sygnałów prowadzącą do aktywacji układu immunologicznego przez wiązanie z receptorem TLR9.

Oligonukleotydy zawierające niemetylowane sekwencje CpG – CpG ODN (ang. *cytosine-phosphate-guanosine oligonucleotides*) na podstawie zdolności do indukcji odmiennych reakcji układu odpornościowego dzieli się na 3 podstawowe klasy. Charakterystyczną cechą pierwszej grupy CpG-A ODN jest zdolność do stymulowania wysokiej produkcji IFN typu I przez komórki układu immunologicznego.

TABELA 2. Zestawienie efektów oddziaływania wybranych immunomodulatorów na aktywność komórek dendrytycznych

<b>Muramyłodipeptyd (MDP)</b>	
<i>Aktywacja linii limfoidalnej i mieloidalnej DC</i>	
– Wzrost ekspresji cząsteczek powierzchniowych	
– Wzrost sekrecji cytokin	
– Aktywacja receptora cytoplazmatycznego Nod2	
Dodatkowe efekty pochodnych MDP na komórki dendrytyczne	
<b>Murabutyd (MB)</b>	+ Zwiększona zdolność do stymulacji limfocytów T + Wzrost sekrecji mediatorów stanu zapalnego + Fosforylacja głównych klas MAP kinaz
<b>MDP-C</b>	+ Wpływ na zwiększenie cytotoksyczności limfocytów T cytotoksycznych
<b>Monoacylowane DP</b>	+ Aktywacja receptorów powierzchniowych TLR 2 i TLR 4
<b>CpG-ODN</b>	
<i>Aktywacja tylko linii limfoidalnej DC</i>	
– Wzrost odporności na apoptozę indukowaną IL4	
– Wzrost ekspresji cząsteczek powierzchniowych (MHC II, CD54/80/86)	
– Wzmoczona sekrecja cytokin (IL6, TNF $\alpha$ , IL12) i chemokin (IL8, GM-CSF)	
– Zwiększona zdolność aktywowania allogenicznych limfocytów T	
– Aktywacja receptora TLR 9	
Poszczególne typy szczególnie silnie oddziałują na:	
<b>CpG-ODN typu A</b>	– Sekrecję IFN typu I
<b>CpG-ODN typu B</b>	– Dojrzewanie komórek dendrytycznych – Wzrost ekspresji cząsteczek powierzchniowych (MHC II, CD54/80/86)
<b>CpG-ODN typu C</b>	– Łączy właściwości obu pozostałych typów

Druga klasa CpG-B ODN indukuje sekrecję niewielkich ilości IFN typu I, natomiast bardzo silnie pobudza dojrzewanie DC, co objawia się wysoką ekspresją MHC klasy II i cząsteczek kostymulujących. Natomiast ostatnia z klas – CpG-C ODN łączy właściwości obu powyższych grup oligonukleotydów [29].

Wśród prekursorów ludzkich DC, limfoidalne DC wykazują wysoką ekspresję TLR9, podczas gdy linia mieloidalna charakteryzuje się występowaniem na swojej powierzchni receptorów TLR4 [16, 45]. Badania sugerują, że tylko linia limfoidalna jest bezpośrednio aktywowana przez niemetylowane CpG ODN. Aktywacja ta objawia się niezależnym od czynników wzrostowych przeżyciem w hodowlach; odpornością na apoptozę indukowaną IL-4; wzmożoną ekspresją MHC II i cząsteczek kostymulujących (CD40, CD54, CD80, CD83, CD86). Podnosi się również poziom sekrecji cytokin (IL-6, TNF) i chemokin (IL-8, IP-10, GM-CSF) [16, 19, 45]. Limfoidalne DC wyróżniają się również rolą, jaką odgrywają jako pierwotne źródło IFN produkowanego w odpowiedzi na wtargnięcie wirusa do organizmu. Przy czym różne typy CpG ODN w odmienny sposób stymulują sekrecję interferonu przez tę subpopulację DC. Podskórna iniekcja CpG ODN również prowadzi do nadekspresji cząsteczek kostymulujących i do produkcji IL-12 przez komórki Langerhansa. Aktywowane tą drogą komórki Langerhansa zmieniają się morfologicznie i migrują ze skóry w ciągu dwóch godzin [42]. Podanie CpG ODN wpływa również na aktywność śledzionowych DC, które opuszczają strefę marginalną i strefy grasiczozależne organu w 48 godzin od iniekcji [29]. Wynika z powyższego, że CpG ODN indukują odpowiedź immunologiczną typu Th1 zarówno u ludzi, jak i u gryzoni; pobudzają również prekursorów DC do dojrzewania i migracji. Badacze próbują wykorzystać ten efekt w terapii astmy i alergicznego nieżytu nosa [34]. Sugeruje się, że CpG ODN mogłyby zostać użyte jako potencjalne adjuwanty do wzmocnienia komórkowej odpowiedzi immunologicznej, nawet u noworodków [14, 26].

## PODSUMOWANIE

Komórki dendrytyczne uczestniczą w regulowaniu odpowiedzi zarówno wrodzonej, jak i nabytej. Niezbędne są do utrzymania prawidłowej równowagi immunologicznej, a upośledzenie ich funkcji prowadzi do rozwoju nowotworu, chorób autoimmunizacyjnych, alergii czy chronicznych stanów zapalnych. Niezbędne jest prowadzenie dalszych wnikliwych badań nad znaczeniem DC w stanach patologicznych oraz nad ich potencjalnym wykorzystaniem w terapii. Ludzkie komórki dendrytyczne pozyskane z komórek macierzystych lub prekursorowych mogą stanowić łatwo dostępne źródło komórek do przyszłych celów terapeutycznych wykorzystujących nie tylko ich zdolność do prezentacji antygenów komórkom efektorowym, ale również ich aktywność cytotoksyczną i immunosupresyjną. Opracowanie odpowiednich procedur pozyskiwania, namnażania i modyfikowania DC *ex vivo* umożliwiłoby postęp w badaniach nad ich zastosowaniem klinicznym.

## LITERATURA

- [1] ANDERS HJ, ZECHER D, PAWAR RD, PATOLE PS. Molecular mechanisms of autoimmunity triggered by microbial infection. *Arthritis Res Ther* 2005; **7**: 215–224.
- [2] BAMIAS G, COMINELLI F. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease: current concepts. *Current Opinion in Gastroenterology* 2007; **23**: 365–369.
- [3] BANCHEREAU J, PASCUAL V, PALUCKA AK. Autoimmunity through cytokine-induced dendritic cell activation. *Immunity* 2004; **20**: 539–550.
- [4] BENJAMIM CF, LUNDY SK, LUKACS NW, HOGABOAM CM, KUNKEL SL. Reversal of long-term sepsis-induced immunosuppression by dendritic cells. *Blood* 2005; **105**: 3588–3595.
- [5] BENJAMIM CF, LUNDY SK, LUKACS NW, HOGABOAM CM, KUNKEL SL. The chronic consequences of severe sepsis. *J Leukoc Biol* 2004; **75**: 408–412.
- [6] BERIOU G, PECHE H, GUILLONNEAU C, MERIEAU E, CUTURI MC. Donor-specific allograft tolerance by administration of recipient-derived immature dendritic cells and suboptimal immunosuppression. *Transplantation* 2005; **79**: 969–972.
- [7] BLOMBERG S, ELORANTA ML, MAGNUSSON M, ALM VG, RONNBLOM L. Expression of the markers BDCA-2 and BDCA-4 and production of interferon-alpha by plasmacytoid dendritic cells in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2003; **48**: 2524–2532.
- [8] BOBRYSHEV YV. Dendritic cells in atherosclerosis: current status of the problem and clinical relevance. *Eur Heart J* 2005; **26**: 1700–1704.
- [9] CARNEIRO LAM, TRAVASSOS LH, PHILPOTT DJ. Innate immune recognition of microbes through Nod1 and Nod2: Implications for disease. *Microbes Infect* 2004; **6**: 609–616.
- [10] CHAMAILLARD M, HASHIMOTO M, HORIE Y, MASUMOTO J, QIU S, SAAB L, OGURA Y, KAWASAKI A, FUKASE K, KUSUMOTO S, VALVANO MA, FOSTER SJ, MAK TW, NUNEZ G, INOHARA N. An essential role for Nod 1 in host recognition of bacterial peptidoglycan containing diaminopimelic acid. *Nat Immunol* 2003; **4**: 702–707.
- [11] CHAN CW, CRAFTON E, FAN HN, FLOOK J, YOSHIMURA K, SKARICA M, BROCKSTEDT D, DUBENSKY TW, STINS MF, LANIER LL, PARDOLL DM, HOUSSEAU F. Interferon-producing killer dendritic cells provide a link between innate and adaptive immunity. *Nat Med* 2006; **12**: 207–213.
- [12] CHEN L, CALOMENI E, WEN J, OZATO K, SHEN R, GAO JX. Natural killer dendritic cells are an intermediate of developing dendritic cells. *J Leukoc Biol* 2007; **81**: 1422–1433.
- [13] CRESPO I, PAIVA A, COUCEIRO A, PIMENTEL P, ORFAO A, REGATEIRO F. Immunophenotypic and functional characterization of cord blood dendritic cells. *Stem Cells Dev* 2004; **13**: 63–70.
- [14] DE WITT D, OLISLAGERS V, GORIELY S, VERMEULEN F, WAGNER H, GOLDMAN M, WILLEMS F. Blood plasmacytoid dendritic cell responses to CpG oligodeoxynucleotides are impaired in human newborns. *Blood* 2004; **103**: 1030–1032.
- [15] DELLA BELLA S, NICOLA S, RIVA A, BIASIN M, CLERICI M, VILLA ML. Functional repertoire of dendritic cells generated in granulocyte macrophage-colony stimulating factor and interferon- $\alpha$ . *J Leukoc Biol* 2004; **75**: 106–116.
- [16] FANNING SL, GEORGE TC, FENG D, FELDMAN SB, MEGJUGORAC NJ, IZAGUIRRE AG, FITZGERALD-BOCARSLY P. Receptor Cross-Linking on Human Plasmacytoid Dendritic Cells Leads to the Regulation of IFN- $\alpha$ . *Production J Immunol* 2006; **177**: 5829–5839.
- [17] GEA-BANACLOCHE JC, OPAL SM, JORGENSEN J, CARCILLO JA, SEPKOWITZ KA, CORDONNIER C. Sepsis associated with immunosuppressive medications: An evidence-based review. *Critical Care Medicine* 2004; **32**: S578–590.
- [18] GIRARDIN SE, BONECA IG, VIALA M, CHAMAILLARD M, LABIGNE A, THOMAS G, PHILPOTT DJ, SANSONETTI PJ. Nod2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection. *J Biol Chem* 2003; **278**: 8869–8872.
- [19] GRAY RC, KUCHTEY J, HARDING CV. CpG-B ODNs potently induce low levels of IFN- $\alpha$   $\beta$  and induce IFN- $\alpha$   $\beta$ -dependent MHC-I cross-presentation in DCs as effectively as CpG-A and CpG-C ODNs. *J Leukoc Biol* 2007; **81**: 1075–1085.
- [20] GUTIERREZ O, PIPAON C, INOHARA N, FONTALBA A, OGURA Y, PROSPER F, NUNEZ G, FERNANDEZ-LUNA JL. Induction of Nod2 in myelomonocytic and intestinal epithelial cells via nuclear factor-kappa B activation. *J Biol Chem* 2002; **277**: 41701–41705.

- [21] HAINING WN, CARDOSO AA, KECZKEMETHY HL, FLEMING M, NEUBERG D, DEANGELO DJ, STONE RM, GALINSKY I, SILVERMAN LB, SALLAN SE, NADLER LM, GUINAN EC. Failure to define window of time for autologous tumor vaccination in patients with newly diagnosed or relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Exp Hematol* 2005; **33**: 286–294.
- [22] HOVES S, KRAUSE SW, SCHUTZ C, HALBRITTER D, SCHOLMERICH J, HERFARTH H, FLECK M. Monocyte-Derived Human Macrophages Mediate Anergy in Allogeneic T Cells and Induce Regulatory T Cells. *J Immunol* 2006; **177**: 269–2698.
- [23] INOHARA N, OGURA Y, FONTALBA A, GUTIERREZ O, PONS F, CRESPO J, FUKASE K, INAMURA S, KUSAMOTO S, HASHIMOTO M, FOSTER SJ, MORAN AP, FERNANDEZ-LUNA JL, NUNEZ G. Host recognition of bacterial muramyl dipeptide mediated through NOD2. Implications for Crohn's disease. *J Biol Chem* 2003; **278**: 5509–5512.
- [24] ISMAIR MG, VAVRICKA SR, KULLAK-UBLICK GA, FRIED M, MENGIN-LECREULX D, GIRARDIN SE. hPepT1 selectively transports muramyl dipeptide but not Nod1-activating muramyl peptides. *Can J Physiol Pharmacol* 2006; **84**: 1313–1319.
- [25] KAISHO T, AKIRA S. Toll-like receptor function and signaling. *J Allergy & Clin Immunol* 2006; **117**: 979–987.
- [26] KLINMAN DM, CURRIE D, GURSEL I, VERTHELYI D. Use of CpG oligodeoxynucleotides as immune adjuvants. *Immunol Rev* 2004; **199**: 201–216.
- [27] KOBAYASHI KS, CHAMAILLARD M, OGURA Y, HENEGARIU O, INOHARA N, NUNEZ G, FLAVELL RA. Nod2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract. *Science* 2005; **307**: 731–734.
- [28] KRAJEWSKA M, WEYDE W, KLINGER M. Immune tolerance after renal transplantation. *Post Hig Med Dosw* 2006; **60**: 163–169.
- [29] KRIEG AM. CpG motifs in bacterial DNA and their immune effects. *Annu Rev Immunol* 2002; **20**: 709–760.
- [30] KUDELA P, PAUKNER S, MAYR UB, CHOLUJOVA D, SCHWARCZOWA Z, SEDLAK J, BIZIK J, LUBITZ W. Bacterial Ghosts as Novel Efficient Targeting Vehicles for DNA Delivery to the Human Monocyte-Derived Dendritic Cells. *J Immunother* 2005; **28**,2: 136–143.
- [31] LI L, GIANOPOULOS K, REINHARDT P, TABARKIEWICZ J, SCHMITT A, GREINER J, ROLINSKI J, HUS I, DMOSZYNSKA A, WIESNETH M, SCHMITT M. Immunotherapy for patients with acute myeloid leukemia using autologous dendritic cells generated from leukemic blasts. *Int J Oncol* 2006; **28**: 855–861.
- [32] ŁUCZYŃSKI W, KRAWCZUK-RYBAK M, STASIAK-BARMUTA A. Experimental and selected clinical aspects of active immunotherapy in leukemia. *Post Hig Med Dośw* 2006; **60**: 379–386.
- [33] MAJEWSKA M, SZCZEPANIK M. The role of Toll-like receptors (TLR) in innate and adaptive immune responses and their function in immune response regulation. *Post Hig Med Dośw* 2006; **60**: 52–63.
- [34] MCKENNA K, BEIGNON AS, BHARDWAJ N. Plasmacytoid dendritic cells: linking innate and adaptive immunity. *J Virol* 2005; **79**: 17–27.
- [35] MELLOR AL, CHANDLER P, BABAN B, HANSEN AM, MARSHALL B, PIHKALA J, WALDMANN H, COBBOLD S, ADAMS E, MUNN DH. Specific subsets of murine dendritic cells acquire potent T cell regulatory functions following CTLA4-mediated induction of indoleamine 2,3 dioxygenase. *Int Immunol* 2004; **16**: 1391–1401.
- [36] MEYLAN E, TSCHOPP J, KARIN M. Intracellular pattern recognition receptors in the host response. *Nature* 2006; **442**: 39–44.
- [37] MODRZYŃSKI M, MAZUREK H, ZAWISZA E. Allergic tonsillitis: myth or reality. *Post Hig Med Dośw* 2005; **59**: 450–456.
- [38] MORELLI AE, THOMSON AW. Tolerogenic dendritic cells and the quest for transplant tolerance. *Nat Rev Immunol* 2007; **7**: 610–621.
- [39] MORSE MA, NAIR SK, MOSCA PJ, HOBEIKA AC, CLAY TM, DENG Y, BOCZKOWSKI D, PROIA A, NIEDZWIECKI D, CLAVIEN PA, HURWITZ HI, SCHLOM J, GILBOA E, LYERLY HK. Immunotherapy with autologous, human dendritic cells transfected with carcinoembryonic antigen mRNA. *Cancer Invest* 2003; **21**: 341–349.
- [40] NAGL M, KACANI L, MULLAUER B, LEMBERGER EM, STOIBER H, SPRINZL GM, SCHENNACH H, DIERICH MP. Phagocytosis and killing of bacteria by professional phagocytes and dendritic cells. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; **9**: 1165–1168.

- [41] NESTLE FO, FARKAS A, CONRAD C. Dendritic-cell-based therapeutic vaccination against cancer. *Curr Opin Immunol* 2005; **17**: 163–169.
- [42] NISHIBU A, WARD BR, JESTER JV, PLOEGH HL, BOES M, TAKASHIMA A. Behavioral Responses of Epidermal Langerhans Cells *In Situ* to Local Pathological Stimuli. *J Invest Dermatology* 2006; **126**: 787–796.
- [43] OGAWA F, IINUMA H, OKINAGA K. Dendritic Cell Vaccine Therapy by Immunization with Fusion Cells of Interleukin-2 Gene-Transduced, Spleen-Derived Dendritic Cells and Tumour Cells. *Scand J Immunol* 2004; **59**: 432–439.
- [44] PECHER G, HÄRING A, KAISER L, THIEL E.. Mucin gene (MUC1) transfected dendritic cells as vaccine: results of a phase I/II clinical trial. *Cancer Immunol Immunother* 2002; **51**: 669–673.
- [45] RIFKIN IR, LEADBETTER EA, BUSCONI L, VIGLIANTI G, MARSHAK-ROTHSTEIN A. Toll-like receptors, endogenous ligands, and systemic autoimmune disease. *Immunol Rev* 2005; **204**: 27–42.
- [46] SCHMITZ M, ZHAO S, DEUSE Y, SCHAKEL K, WEHNER R, WOHNER H, HOLIG K, WIENFORTH F, KIESSLING A, BORNHAUSER M, TEMME A, RIEGER MA, WEILGLE B, BACHMANN M, RIEBER EP. Tumoricidal potential of native blood dendritic cells: direct tumor cell killing and activation of NK cell-mediated cytotoxicity. *J Immunol* 2005; **174**: 4127–4134.
- [47] SHI J, IKEDA K, FUJII N, KONDO E, SHINAGAWA K, ISHIMARU F, KANEDA K, TANIMOTO M, LI X, PU Q. Activated human umbilical cord blood dendritic cells kill tumor cells without damaging normal hematological progenitor cells. *Cancer Sci* 2005; **96**: 127–133.
- [48] SMITS HH, DE JONG EC, WIERENGA EA, KAPSENBERG ML. Different faces of regulatory DCs in homeostasis and immunity. *Trends Immunol* 2005; **26**: 123–129.
- [49] SU Z, DANNULL J, HEISER A, YANCEY D, PRUITT S, MADDEN J, COLEMAN D, NIEDZWIECKI D, GILBOA E, VIEWEG J. Immunological and clinical responses in metastatic renal cancer patients vaccinated with tumor RNA-transfected dendritic cells. *Cancer Res* 2003; **63**: 2127–2133.
- [50] SZYDA A, ROSSOWSKA J, PAJTASZ-PIASECKA E, DUŚ D. Do dendritic cells modified with retroviral vectors carrying cytokine genes become a therapeutic tool? *Post Hig Med Dosw* 2006; **60**: 552–562.
- [51] TAKISHITA T, OKANO M, TAKAHASI K, YOSHINO T, SUGATA Y, HATTORI H, OHICHI S, OGAWA T, NISHIZAKI K. Characterization of allergen-specific monocyte-derived dendritic cells generated from monocytes by a single-step procedure: effect on naive and memory T cells. *Allergy* 2005; **60**: 211–217.
- [52] TERNESS P, CHUANG JJ, BAUER T, JIGA L, OPELZ G. Regulation of human auto- and alloreactive T cells by indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO)-producing dendritic cells: too much ado about IDO? *Blood* 2005; **105**: 2480–2486.
- [53] TERNESS P, CHUANG JJ, OPELZ G. The immunomodulatory role of IDO-producing human dendritic cells revisited. *Trends Immunol* 2006; **27**: 68–73.
- [54] THOMSON AW, O'CONNELL PJ, STEPTOE RJ, LU L. Immunobiology of liver dendritic cells. *Immunology & Cell Biology* 2002; **80**: 65–73.
- [55] TRINITE B, CHAUVIN C, PECHE H, VOISINE C, HESLAN M, JOSIEN R. Immature CD4-CD103+ Rat Dendritic Cells Induce Rapid Caspase-Independent Apoptosis-Like Cell Death in Various Tumor and Nontumor Cells and Phagocytose Their Victims. *J Immunol* 2005; **175**: 2408–2417.
- [56] UEHORI J, FUKASE K, AKAZAWA T, UEMATSU S, AKIRA S, FUNAMI K, SHINGAJ M, MATSUMOTO M, AZUMA I, TOYOSHIMA K, KUSUMOTO S, SEYA T. Dendritic cell maturation induced by muramyl dipeptide (MDP) derivatives: monoacylated MDP confers TLR2/TLR4 activation. *J Immunol* 2005; **174**: 7096–7103.
- [57] VOISINE C, HUBERT FX, TRINITE B, HESLAN M, JOSIEN M. Two Phenotypically Distinct Subsets of Spleen Dendritic Cells in Rats Exhibit Different Cytokine Production and T Cell Stimulatory Activity. *J Immunol* 2002; **169**: 2284–2291.
- [58] WANG Y, LEUNG F. DNA structure constraint is probably a fundamental factor inducing CpG deficiency in bacteria. *Bioinformatics* 2004; **20**: 3336–3345.
- [59] WELLS JW, DARLING D, FARZANEH F, GALEA-LAURI J. Influence of Interleukin-4 on the Phenotype and Function of Bone Marrow-Derived Murine Dendritic Cells Generated Under Serum-Free Conditions. *Scand J Immunol* 2005; **61**: 251–259.
- [60] WERTEL I, KOTARSKI J, ROLINSKI J, BOJARSKA-JUNAK A, GOGACZ M. Evaluation of myeloid and lymphoid dendritic cells in peritoneal fluid in women with non-malignant ovarian tumors. *Am J Reprod Immunol* 2003; **50**: 238–242.



- [61] WYSOCKI PJ, GRABARCZYK P, MACKIEWICZ-WYSOCKA M, KOWALCZYK DW, MACKIEWICZ A. Genetically modified dendritic cells – a new, promising cancer treatment strategy? *Expert Opin Biol Ther* 2002; **2**: 835–845.
- [62] YANG HZ, XU S, LIAO XY, ZHANG SD, LIANG ZL, LIU BH, BAI JY, JIANG C, DING J, CHENG GF, LIU G. A novel immunostimulator, N-[alpha-O-benzyl-N-(acetylmuramyl)-L-alanyl-D-isoglutaminyl]-N6-trans-(m-nitrocinnamoyl)-L-lysine, and its adjuvancy on the hepatitis B surface antigen. *J Med Chem* 2005; **48**: 5112–5122.
- [63] YAO V, PLATELL C, HALL JC. Dendritic cells. *ANZ J Surgery* 2002; **72**: 501–506.

*Redaktor prowadzący – Jerzy Kawiak*

*Otrzymano: 10.11. 2007 r.*

*Przyjęto: 30.11. 2007 r.*

*Katedra Histologii i Immunologii,*

*Akademia Medyczna w Gdańsku*

*e-mail: anna.wardowska@amg.gda.pl*