

ROLA KINAZ MAP W ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ*

THE ROLE OF MAP KINASES IN IMMUNE RESPONSE

Małgorzata KRZYŻOWSKA, Weronika ŚWIĄTEK, Beata FIJAŁKOWSKA,
Marek NIEMIAŁTOWSKI, Ada SCHOLLENBERGER

Zakład Immunologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny
Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa

Streszczenie: Kinazy MAP, do których zaliczamy 3 rodziny: ERK, JNK oraz p38, stanowią wewnątrzkomórkowe ścieżki sygnalizacyjne, dzięki którym możliwy jest odbiór sygnału z receptora i biologiczna odpowiedź komórki, a ich aktywność warunkuje poprawne funkcjonowanie komórek układu immunologicznego. Kinazy MAP biorą udział w aktywacji wrodzonych mechanizmów obronnych, uczestniczą w produkcji cytokin pod wpływem sygnałów z receptorów TLR, a jednocześnie stanowią ścieżki efektorowe, dzięki którym możliwa jest odpowiedź komórki na działanie cytokin. Spośród mechanizmów odporności swoistej kinazy MAP mają kluczowe znaczenie dla różnicowania limfocytów T i B, za pośrednictwem ścieżek zależnych od aktywacji domen ITAM. Ponadto ich udział w procesach apoptozy wspomaga cytotoksyczność limfocytów T i umożliwia usuwanie komórek uszkodzonych, zakażonych lub stransformowanych. Ze względu na udział kinaz MAP w odpowiedzi immunologicznej, ich inhibitory stanowią obiecujące narzędzie terapeutyczne.

Słowa kluczowe: kinazy MAP, ERK, JNK, p38.

Abstract: The MAP kinases (MAPKs), including ERK, JNK and p38 families consist the part of intracellular signaling network, which is essential for signal transduction from receptors and biological answer to the stimuli. Activity of MAPKs plays a crucial role in normal functioning of the immune system. By taking part in cytokine production upon signaling from activated TLR receptors, MAPKs are involved in initiation of innate immunity and in responses to binding of cytokines by appropriate receptors. MAPKs activity is also important for T and B lymphocyte differentiation, by the ITAM signaling pathway. Moreover, their involvement in apoptosis supports lymphocyte T cytotoxicity and enables to remove damaged, infected or transformed cells. Correct functioning of the MAPK signaling is crucial for effective immune response, and therefore MAPKs inhibitors consist a promising therapeutic goal.

Key words: MAP kinases, ERK, JNK, p38.

Skróty: **Akt/PKB** (*protein kinase B*) – kinaza białkowa B, **API** (*activator protein-1*) – białko aktywujące-1, **ASK1** (*apoptosis signal-regulating kinase 1*) – kinaza regulująca sygnał apoptotyczny,

*Praca sfinansowana w ramach grantu własnego MNiI nr 2PO4C12029.

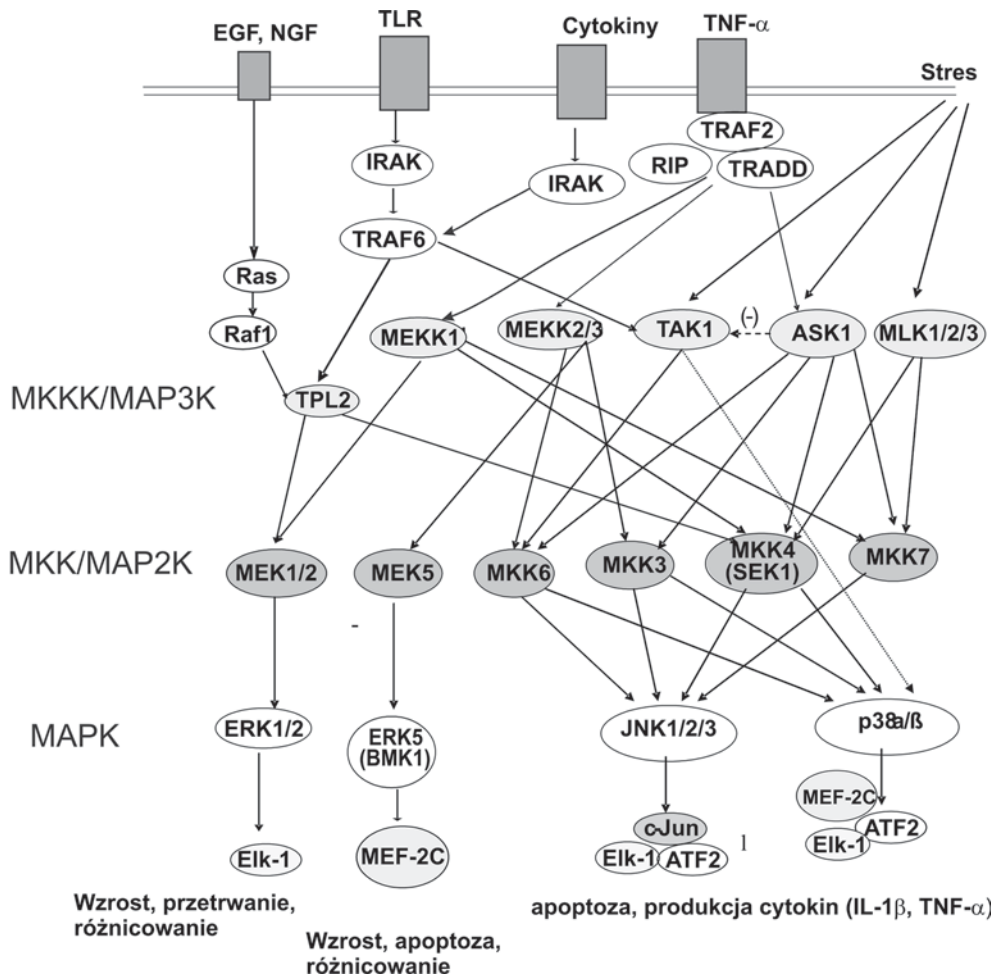
ATF2 (*activating transcription factor 2*) – czynnik transkrypcyjny ATF2, **BCR** (*B cell receptor*) – receptor limfocyta B, **DD** (*death domain*) – domena śmierci, **EGF** (*epidermal growth factor*) – naskórkowy czynnik wzrostu, **ERK** (*extracellular signal-regulated kinase*) – kinaza regulowana zewnątrzkomórkowo, **ERK5/BMK1** (*extracellular regulated kinase 5/big mitogen-activated protein kinase 1*) – kinaza aktywowana zewnątrzkomórkowo 5/duża aktywowana przez mitogeny, **IKK** (*IkkappaB kinase*) – kinaza I κ B, **IRAK** (*interleukin-1 receptor-associated kinase*) – kinaza IRAK, **ITAM** (*immunoreceptor tyrosine-based activation motif*) – domena aktywacji ITAM, **JNK/SAPK** (*c-Jun N-terminal/stress-activated protein kinase*) – kinaza JNK, **MAP** (*mitogen activated protein kinases*) – kinazy aktywowane mitogenem, **MAPKK/MKK** (*mitogen activated protein kinase kinase/MAP kinase kinase*) – kinaza kinaz MAP, **MAPKKK** (*mitogen activated protein kinase kinase kinase*) – kinaza kinaz kinaz MAP, **MEF2** (*myocyte enhancer factor 2*) – czynnik transkrypcyjny MEF2, **MEK** (*ERK activator kinase*) – aktywator kinazy ERK, **MEKK/MAPKKK** (*MAPK/ERK kinase kinase/mitogen-activated protein kinase kinase kinase*) – kinaza kinaz kinaz MAP, **MK/MAPKAPK** (*mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase*), **MKK4/SEK1** (*MAP kinase kinase4/stress expressed kinase1*) – kinaza kinaz, **MLK** (*mixed lineage kinase*) – kinaza o mieszanym pochodzeniu, **MKP** (*MAP kinase phosphatases*) – fosfatazy kinaz MAP, **MyD88** (*myeloid differentiation factor 88*) – białko adaptorowe MyD88, **NF- κ B** (*nuclear factor κ B*) – czynnik transkrypcyjny κ B, **NGF** (*nerve growth factor*) – czynnik wzrostu nerwów, **NIK** (*NF- κ B-inducing kinase*) – kinaza indukująca NF- κ B, **PI3K** (*phosphatidylinositol 3 kinase*) – kinaza fosfatydylinozytolu 3, **PKC** (*protein kinase C*) – kinaza białkowa C, **ROS** (*reactive oxygen species*) – reaktywne formy tlenu, **TAB** (*TAK binding protein*) – białko wiążące białko TAK, **TLR** (*Toll-like receptors*) – receptory Toll-podobne, **TNF** (*tumor necrosis factor*) – czynnik martwicy nowotworów, **TGF** (*transforming growth factor*) – transformujący czynnik wzrostu, **TRADD** (*TNFR associated death domain-containing protein*) – białko związane z receptorem TNF zawierające domenę śmierci, **TRAF** (*TNFR associated factor*) – czynnik związany z TNFR, **RIP** (*receptor-interacting protein*) – kinaza RIP, **TRIF/TICAM-1** (*TIR-containing adapter molecule-1*) – kompleks adapterowy.

KINAZY MAP

Wewnątrzkomórkowa transdukcja sygnałów umożliwia komórkom odpowiedź na bodźce ze środowiska za pomocą receptorów – ich aktywacja wyzwala wewnątrzkomórkowe ścieżki sygnałowe, poprzez które dochodzi do zmiany ekspresji genów i następuje biologiczna odpowiedź komórki na bodziec zewnętrzny [41].

Kinazy MAP (ang. *mitogen activated protein kinases*) stanowią klasę kinaz serynowo-treoninowych, aktywowanych przez mitogeny. Po raz pierwszy opisane zostały jako białka aktywowane w wyniku stymulacji komórki czynnikami wzrostu [26]. Wszystkie kinazy MAP zawierają motyw Thr-X-Tyr (TXY), a fosforylacja tego motywu w obrębie pętli aktywacyjnej jest konieczna i zarazem wystarczająca do ich aktywacji. Wyróżniamy trzy podstawowe rodziny kinaz MAP: ERK (ang. *extracellular signal-regulated kinase*), zawierające motyw Thr-Glu-Tyr (TEY), JNK/SAPK (ang. *c-Jun N-terminal/stress-activated protein kinase*) zawierające motyw Thr-Pro-Tyr (TPY) oraz kinazy p38, z motywem Thr-Gly-Tyr (TGY) [26].

Kinazy MAP tworzą ścieżki sygnalizacyjne w postaci kaskad enzymatycznych, tj. enzymów kolejno aktywowanych w wyniku fosforylacji: kinaza kinazy aktywującej MAPK (MAPKKK lub MAP3K) powoduje aktywację kinazy aktywującej MAPK (MAPKK lub MAP2K), a ta fosforyluje efektorowe kinazy MAP (MAPK). W szlaku prowadzącym do aktywacji kaskad kinaz MAP niezbędne są białka adaptorowe, takie jak: Grb2, Sos czy Vav, umożliwiające przekazanie sygnałów z aktywowanych receptorów na kinazy MAP [26] (ryc. 1).



RYCINA 1. Kaskady sygnałowe kinaz MAP. Aktywacja szlaków sygnałowych kinaz MAP odbywa się dzięki trzyczęściowej kaskadzie: MKKK/MAP3K - MKK/MAP2K - MAPK. Pierwsze aktywowane są MKKK, a ich aktywacja jest regulowana przez różnorakie szlaki znajdujące się powyżej w kaskadzie sygnałów (m.in. stres, TLR, receptory cytokin i czynniki wzrostowe). Do chwili obecnej poznano 14 MKKK, między innymi: TPL2, MEKK1/2/3, TAK1, ASK1, MLK1/2/3. Z kolei MKKK aktywują kinazy kinaz MAP - MKK (np. MEK 1/2, MKK3, MKK4 (SEK 1) MEK 5, MKK6 oraz MKK7), a te aktywują kinazy MAP- MAPK, dla których substratami są liczne białka, w tym czynniki transkrypcyjne, takie jak: ATF2, Elk-1, Jun, MEF2 oraz inne kinazy białkowe

Kaskada kinazy ERK była pierwszą odkrytą kaskadą sygnałowych białek. Kinaza ta występuje w postaci dwóch form homologicznych: ERK1 (p44) i ERK2 (p42), a podstawową kaskadę tworzy zespół Raf/MEK/ERK. Określa się ją jako główną ścieżkę wzrostu i różnicowania komórek, jest aktywowana w wyniku działania zewnątrzkomórkowych czynników wzrostu, a jej aktywność można zaobserwować w każdej żywej komórce eukariotycznej, w której prowadzi do aktywacji czynników transkrypcyjnych, takich jak: Elk1, c-Myc, c-Fos czy STAT3 [40] (ryc. 1). W chwili

obecnej rodzina kinaz ERK została podzielona na dwie grupy: 1) klasyczną grupę kinaz MAP składającą się z kinazy ERK1 i ERK2 oraz 2) grupę dużych kinaz MAP, takich jak: ERK3, ERK5, ERK7 oraz ERK8, które oprócz domeny kinazy zawierają dodatkową domenę C-kończącą [1,40,52].

Kaskada kinaz JNK aktywowana jest w wyniku działania czynników stresogennych, cytokin i niektórych czynników wzrostu. Za bezpośrednią aktywację JNK odpowiadają kinazy MKK 4 i 7 (MAPKK), a jej substratami są czynniki transkrypcyjne c-Jun i ATF2 oraz białka z rodziny Bcl. Biologiczna funkcja kaskady związana jest ze śmiercią komórki oraz jej odpowiedzią na działanie stresora [26,67]. Znane są trzy izoformy kinaz JNK: powszechnie obecne JNK1 i JNK2 oraz występująca tylko w mózgu izoforma JNK3 [45] (ryc. 1).

Inną ścieżką sygnalizacyjną kinaz MAP aktywowaną w warunkach stresu i w wyniku działania cytokin jest kaskada kinaz p38. Kinazy te mogą występować w jednej z 4 izoform: α , β , γ i δ . Bezpośrednimi aktywatorami p38 są kinazy MKK3 i 6, a substratami ATF2, NF- κ B czy kinaza MK2 [26,67].

Substratami kinaz MAP jest bardzo wiele białek, w tym czynniki transkrypcyjne, takie jak: ATF2 (ang. *activating transcription factor 2*), Elk-1, Fos, Jun, MEF2 (ang. *myocyte enhancer factor 2*), Myc oraz inne kinazy białkowe [26,41]. Do komórki w krótkim czasie dociera wiele różnorodnych sygnałów, które wywołują odmienne, czasami nawet przeciwstawne skutki. Dlatego w trakcie transdukcji sygnału wewnątrz komórki następuje wzajemne oddziaływanie i przenikanie się szlaków sygnalizacyjnych, czyli tzw. *cross-talk* [26,41]. Umożliwia to integrację sygnałów płynących ze środowiska i sprecyzowanie odpowiedzi. Częste interakcje są obserwowane między kinazami MAP oraz niereceptorowymi kinazami tyrozynowymi (np. Src), fosfolipazą C (PLC) czy szlakiem aktywacji czynnika NF- κ B [26].

Aktywacja kinaz MAP, siła oraz długość trwania ich aktywacji, jak również ich inaktywacja są niezbędne do właściwego kształtowania odpowiedzi immunologicznej. Negatywna regulacja kinaz MAP możliwa jest przy udziale fosfataz kinaz MAP-MKP (ang. *MAP kinase phosphatases*) katalizujących defosforylację tyrozyny i treoniny w obrębie motywu Thr-X-Tyr [7]. Do chwili obecnej zidentyfikowano około 13 MKP ze zróżnicowaną specyficznością substratową, lokalizacją wewnątrzkomórkową oraz sposobem działania [20].

MECHANIZMY ODPORNOŚCI NIESWOISTEJ

Receptory Toll podobne (TLR)

Odporność wrodzona odpowiada za wykrywanie obecności i zidentyfikowanie czynnika zakaźnego, zapewnienie pierwszej linii obrony oraz kontroluje inicjację i zakończenie odporności nabytej. Wielokomórkowe organizmy mają zdolność do rozpoznawania określonych, wysoce konserwatywnych wzorców molekularnych mikroorganizmów między innymi dzięki receptorom Toll-podobnym – TLR (ang. *Toll-like receptors*) [12]. Do chwili obecnej opisano 11 receptorów TLR. Każdy z

nich rozpoznaje specyficzne wzorce molekularne patogenów, przykładowo TLR2 rozpoznaje kwasy lipotejchajowe oraz peptydoglikany [19], TLR4 rozpoznaje LPS [19], zaś TLR3 rozpoznaje wirusowy dsRNA [30], a TLR9 – bakteryjny DNA zawierający liczne sekwencje CpG [54]. Rozpoznanie patogenu w kontekście receptorów TLR umożliwia transdukcję sygnałów prowadzącą do aktywacji czynnika transkrypcyjnego NF- κ B oraz kinaz MAP, takich jak: p38 oraz JNK. W efekcie dochodzi do wytwarzania wielu cytokin (TNF- α , IL-1, IL-6 oraz IL-12) i cząsteczek adhezyjnych, a w dalszej konsekwencji indukcji procesów zapalnych [60,62, 63].

W przypadku aktywacji receptorów TLR4 czy TLR2, cytoplazmatyczna domena TIR aktywowanego receptora oddziałuje z białkiem adaptorowym MyD88 (ang. *myeloid differentiation factor 88*), a następnie białko to wchodzi w interakcje z kinazami IRAK (ang. *interleukin-1 receptor-associated kinase*) [44]. Aktywowane w wyniku autofosforylacji kinazy IRAK aktywują białko TRAF6, a następnie dochodzi do aktywacji odpowiednich kinaz, są to głównie kinazy JNK i p38 oraz kinazy czynnika transkrypcyjnego NF- κ B [10, 63]. W taki sposób aktywowane są makrofagi w wyniku związania przez TLR2 *Mycobacterium* sp. [61]. W makrofagach stymulowanych zawartym w ścianie prątków LAM (lipoarabino-mannanem), zaobserwowano znaczną aktywność kinazy ERK oraz p38, czego efektem była synteza TNF- α [28]. Ci sami autorzy wykazali, że do produkcji TNF- α , pod wpływem zakażenia *Mycobacterium avium* niezbędna jest aktywność kinazy ERK, która w tym procesie podlega aktywacji przez MEK-1 [28].

Nieco inaczej wygląda szlak aktywacji w przypadku wiązania wirusowego dsRNA do receptorów TLR3 na komórkach NK [49]. W tym procesie do domeny TIR aktywowanego receptora przyłącza się kompleks adaptorowy TRIF/TICAM-1 (ang. *TIR-containing adapter molecule-1*). Powstaje aktywny kompleks enzymatyczny, który wyzwala kaskadę reakcji prowadzących do aktywacji kinazy p38 oraz transkrypcji genów dla cytokin i chemokin, takich jak: IFN- γ , CXCL 10 i 8 [49].

W produkcję TNF- α oraz IL-1 po wnikięciu wirusów do komórek nabłonkowych układu oddechowego zaangażowane są 3 moduły sygnałowe [37]. Ekspresja genów dla tych cytokin wymaga aktywacji kinazy PKR. Kaskada kinazy p38, podobnie jak czynnik NF- κ B, stymuluje powstawanie obu cytokin, przy czym p38 prowadzi niezależną od NF- κ B indukcję ich syntezy, a jej aktywacja w odpowiedzi na dsRNA wymaga stymulującego wpływu PKR. Efektorami kinazy p38 są czynniki transkrypcyjne Mef-2, Elk-1 oraz ATF-2 modulujące ekspresję genów dla IL-1 i TNF- α . Przypuszczalnie w zależności od tego, który z czterech izomerów kinazy p38: α , β , γ czy δ zostanie aktywowany, zależy rodzaj wytwarzanych cytokin, na co wskazują wyniki badań przeprowadzonych przez Meusel i Imani [37]. Ostatnie badania wykazały również, iż w poszczególnych komórkach układu immunologicznego obserwuje się aktywność określonej izoformy kinazy p38, co determinuje rodzaj cytokin wytwarzanych w wyniku stymulacji TLR przez daną komórkę [2,27].

Ponadto, kaskada kinazy p38 reguluje produkcję TNF- α na poziomie obróbki posttranskrypcyjnej [4]. mRNA tego białka ma na końcu 3' sekwencję zwaną ARE (ang. *AU rich elements*), w postaci powtarzającego się modułu (AUUUA) $_n$. W sytuacji braku pobudzenia sekwencja ta umożliwia destabilizację mRNA i jego

zniszczenie, a hamując powstawanie białka uniemożliwia produkcję cytokin. Liczne badania potwierdziły wpływ kaskady kinazy p38 na stabilizację transkryptów zawierających sekwencję ARE [4,17,34]. Hitti i wsp. wykazali, że kinaza p38 stabilizuje mRNA dla TNF- α poprzez aktywację kinazy MK2, która przeprowadza fosforylację tristetraproliny (TTP) białka, które wiążąc się do RNA w rejonie ARE wpływa na szybką destabilizację mRNA, a ufosforylowana przez MK2 TTP traci zdolność do wiązania z mRNA [17]. Także transkrypty interferonu mają sekwencje ARE. Wykazano, że po zastosowaniu, w stymulowanych IL-12 i 18 komórkach NK, inhibitora kinazy p38 SB203580 poziom ekspresji IFN- γ zdecydowanie spada [34].

Udział kinaz MAP w odpowiedzi na cytokiny

Sygnal za pośrednictwem cytokin dociera do błony komórkowej, gdzie wiążą się one ze specyficznymi receptorami, a następnie ulega transdukcji do komórki i wywołuje określony efekt. Również w tym procesie ważną funkcję odgrywają kaskady kinaz MAP. Istnieją dwa receptory dla TNF- α : TNFR1 (p55) oraz TNFR2 (p75). Receptor TNFR1 ma wewnątrzkomórkową domenę śmierci DD (ang. *death domain*), do której mogą przyłączać się różne białka adaptorowe [48], a zależnie od ich związania indukowane są szlaki apoptotyczne bądź przetrwanie komórek. Jeśli do TNFR1 przyłączy się białko adaptorowe TRADD (ang. *TNFR associated death domain-containing protein*) oraz inne białka adaptorowe, takie jak: białka z rodziny TRAF (ang. *TNFR associated factor*) lub kinaza RIP (ang. *receptor-interacting protein*), nastąpi aktywacja kinaz JNK i p38 oraz czynnika NF- κ B [4,13,14,31]. Lee i wsp. wykazali, że kinaza RIP oraz czynnik TRAF2 niezależnie regulują aktywację kinaz JNK i p38 [4]. Kinaza RIP jest niezbędna do aktywacji kaskady kinazy p38 i wchodzi w bezpośrednią interakcję z kinazą MEKK3. Kinaza RIP reguluje także proces aktywacji kinazy IKK odpowiedzialnej za powstawanie aktywnej formy czynnika NF- κ B [4]. Zależna od RIP aktywacja kinazy p38 i czynnika NF- κ B jest niezbędna dla prawidłowej ekspresji IL-6 pod wpływem TNF- α . [4,13]. Ponadto, kinaza RIP prowadzi do aktywacji kinazy ERK [32].

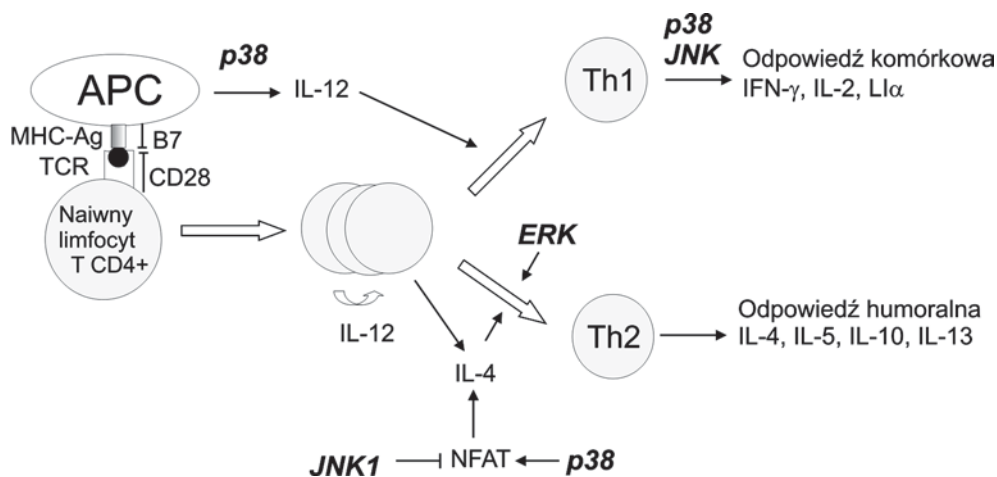
Podobne ścieżki sygnałowe aktywowane są w wyniku stymulującego wpływu IL-1. Receptory dla tej cytokiny mają, podobnie jak TLR, cytoplazmatyczną domenę TIR. W wyniku utworzenia aktywnego kompleksu ligand-receptor dochodzi do przyłączenia białka adaptorowego MyD88 i, poprzez kinazy IRAK, do aktywacji czynnika TRAF6 [44]. Rolę MAPKKK pełni tu białko TAK-1, które tworzy funkcjonalny kompleks z białkami TAB-1 i TAB-2 (ang. *TAK binding protein*) i jest bezpośrednio aktywowane przez TRAF6 [22]. MKK7 aktywuje JNK, a MKK3 i 6 – p38. Kinaza TAK-1 przeprowadzając fosforylację kinazy NIK, która stymuluje aktywność kinazy IKK, uczestniczy również w aktywacji czynnika NF- κ B [58]. Efektem aktywacji wyżej wymienionych ścieżek sygnalizacyjnych jest uzyskanie aktywnych czynników transkrypcyjnych NF- κ B, AP-1 czy ATF-2, a poprzez ich działanie zmiana ekspresji genów i biologiczna odpowiedź komórki na otrzymany sygnał.

MECHANIZMY ODPORNOŚCI SWOISTEJ

Aktywacja limfocytów T

Kaskady kinaz MAP pełnią ważną rolę w procesie różnicowania i aktywacji limfocytów T, a ich funkcjonowanie ma kluczowe znaczenie dla procesów dojrzewania tymocytów w grasicy. W procesie selekcji pozytywnej tymocyty prawidłowo rozpoznające antygeny w kontekście MHC ulegają różnicowaniu do limfocytów T CD8⁺ lub CD4⁺. Proces ten wymaga aktywności kinazy ERK i jest hamowany w obecności jej inhibitorów [36]. Mc Nell i wsp. wykazali, że pozytywna selekcja zachodzi wobec utrzymującego się przez długi czas stanu aktywacji kinazy ERK, prawdopodobnie kinaza ERK zapobiega apoptozie tymocytów poprzez fosforylację proapoptotycznego białka Bim [36]. Natomiast limfocyty rozpoznające własne antygeny są poddawane selekcji negatywnej, czyli ulegają apoptozie. W procesie tym zasadniczą funkcję pełnią kaskady kinaz JNK i p38, aktywowane przez kinazę MINK (ASK2/ MAPKKK6) [18].

Prawidłowe, dojrzałe limfocyty T mają na swej powierzchni receptory TCR (ang. *T-cell receptor*), odpowiadające za rozpoznanie antygeny. Do aktywacji limfocyty konieczne są dwa sygnały. Pierwszy pochodzi z receptorów TCR, które rozpoznały antygen, drugi to tzw. sygnał kostymulujący powstający w wyniku oddziaływań różnych cząsteczek adhezyjnych na powierzchni limfocytów T (CD28 lub CTLA-4) z receptorami pomocniczymi zlokalizowanymi na powierzchni komórek prezentujących antygen (APC) (ryc. 2). Wobec braku drugiego sygnału limfocyty ulegają anergii, czyli tracą możliwość aktywacji. Zarówno receptory TCR, jak i



RYCINA 2. Rola kinaz MAP w regulacji odpowiedzi Th1/Th2. Aktywność kinazy ERK jest wymagana do różnicowania limfocytów pomocniczych Th2, natomiast kinaza p38 jest potrzebna w różnicowaniu zarówno limfocytów Th1, jak i Th2, jak też w produkcji IL-12 oraz IFN- γ . Rola kinazy JNK w aktywacji limfocytów T CD4⁺ polega na redukcji odpowiedzi proliferacyjnej aktywowanych limfocytów Th oraz wzmocnieniu ich polaryzacji w kierunku Th1

tworzące z nimi kompleks glikoproteiny CD3, mają domeny cytoplazmatyczne ITAM (ang. *immunoreceptor tyrosine-based activation motif*) [8,13,57]. Związanie antygeny przez kompleks TCR-CD3 wywołuje wewnątrzkomórkowe szlaki sygnalizacyjne. Domeny ITAM nie wykazują własności autokatalitycznych, a w procesie ich aktywacji biorą udział niereceptorowe kinazy tyrozynowe z rodziny Src (Lck, Fyn), które w stanie nieaktywnym związane są z cytoplazmatyczną domeną CD4⁺ lub CD8⁺. W wyniku przyłączenia zewnętrznych domen do odpowiednich cząsteczek MHC prezentujących antygen, dochodzi do dysocjacji kinaz Src, ich przemieszczenia i fosforylacji domen ITAM w obrębie charakterystycznego motywu zawierającego dwie tyrozyny. Do aktywowanych w ten sposób ITAM przyłączają się kinazy z rodziny Syk (Syk i ZAP-70) i ulegają dalszej aktywacji [12,20,57].

Aktywowane kinazy Syk fosforylują białka adaptorowe. W komórkach T najlepiej poznanym białkiem adaptorowym, aktywowanym przez kinazy z rodziny Syk, jest LAT (p36) [21]. Jest to decydujący moment transdukcji sygnału w komórce. Do białka LAT może przyłączać się szereg innych adaptorów bądź białek enzymatycznych, wywołując zróżnicowane efekty. Zasadniczą rolę pełnią cząsteczki kinaz MAP. Do ufosforylowanej postaci białka LAT przyłącza się białko Grb2, dochodzi do uruchomienia kaskady Ras/Raf/MEK/ERK, a w efekcie aktywacji czynnika AP-1 zaangażowanego w aktywację limfocytu T [32].

Kaskada ERK może być aktywowana niezależnie od Grb2, a w procesie tym zasadnicze znaczenie ma białkowa kinaza C. W wyniku przyłączenia do LAT fosfolipazy C dochodzi do powstania wtórnych przekaźników IP3 i DAG [6]. Ten ostatni aktywuje PKC, która stymuluje kaskadę ERK na poziomie białka Ras [51,68]. Aktywność ścieżki ERK ma decydujący wpływ na różnicowanie limfocytów Th2, a wytworzone w wyniku jej działania czynniki transkrypcyjne umożliwiają prawidłową aktywację limfocytów.

Przyłączenie do TCR białka adaptorowego Vav prowadzi do aktywacji kinazy JNK [24]. W wyniku tego powstaje aktywny czynnik c-Jun, wchodzący w skład czynnika AP-1 oraz czynnik NFATc2 [43]. Związanie tych czynników w obrębie promotora genów IL-2 umożliwia ich ekspresję. Liczne badania wykazały, że w proces regulacji aktywności czynników NFAT zaangażowane są również pozostałe moduły sygnałowe kinaz MAP [4,64].

Klasyczna droga aktywacji kaskady kinazy p38 ma miejsce w limfocytach Th1 podczas stymulacji poprzez IL-12 i IL-18 do produkcji IFN- γ [2,3] (ryc. 2), natomiast badania prowadzone przez Mittelstadt i wsp. dowiodły istnienia alternatywnej drogi aktywacji kinazy p38 w limfocytach T poprzez receptory TCR [38]. Zachodzi ona bez udziału białka LAT oraz kinaz MAPK i MAPKK. Sygnał z receptorów prowadzi do aktywacji kinazy tyrozynowej Lck, ta zaś fosforyluje kinazę ZAP-70, która bezpośrednio aktywuje kinazę p38, poprzez fosforylację tyrozyny w pozycji 323, podczas gdy klasyczna aktywacja p38 obejmuje podwójną fosforylację Thr w pozycji 180 i Tyr 182. Kinaza p38 z ufosforylowaną Tyr 323 wykazuje zdolności autokatalityczne i przeprowadza reakcję podwójnej fosforylacji motywu klasycznego, w wyniku czego powstaje jej postać aktywna [56]. Alternatywną aktywację kinazy p38 blokuje białko

supresorowe Gadd45 α , które wchodząc w bezpośrednie interakcje z kinazą p38, uniemożliwia jej fosforylację przez ZAP-70 oraz blokuje autokatalizę [55].

Mechanizm alternatywnej aktywacji kinazy p38 zaobserwowano jedynie w limfocytach T. Przymuszcza się, że droga ta rozwija się wobec braku sygnału kostymulującego i prowadzi do anergii komórki T [38]. Ohkusu-Tsukada i wsp. wykazali, że do anergii limfocytów CD4⁺ dochodzi w wyniku hamowania ścieżki ERK przez kaskadę kinazy p38, która aktywowana jest przez TAK-1 [42]. Anergia może wystąpić również w następstwie nieprawidłowego przekazania sygnału w obrębie kaskady PKC/Ras/Raf/MEK/ERK lub zaburzenia aktywności białka Ras [42].

Kinazy MAP odgrywają ważną rolę w aktywacji, różnicowaniu oraz funkcjonowaniu limfocytów T CD4⁺ oraz T CD8⁺ (ryc. 2). Na podstawie produkowanych cytokin oraz ich działania immunomodulatorowego wyróżnia się dwie klasy limfocytów Th: Th1 i Th2. Komórki Th1 produkują INF- γ oraz limfotoksynę- α , które stymulują odpowiedź komórkową, zaś komórki Th2 wydzielają IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, które pośredniczą w aktywacji i różnicowaniu limfocytów B. Szereg badań wskazuje na rolę szlaku Ras/ERK w różnicowaniu komórek Th2. Wykazano, że ERK odgrywa krytyczną rolę w ekspresji IL-4 podczas indukowanego przez TCR różnicowania limfocytów Th2 CD4⁺ [22,50]. Stosując inhibitor kinazy p38 – SB 203580 stwierdzono, że kinaza ta jest wymagana do produkcji IL-2, zarówno w dojrzałych (śledziona), jak i niedojrzałych (tymocyty) limfocytach T [4]. Ponadto, kaskada kinazy p38 ma zasadnicze znaczenie dla procesu różnicowania limfocytów Th1, a co za tym idzie dla rozwoju komórkowej odpowiedzi immunologicznej (ryc. 2) [3,62]. Ponadto, warunkuje ona produkcję wielu cytokin, indukując syntezę IL-12 w komórkach Th1 oraz INF- γ zarówno w Th1, jak i w limfocytach Tc [50]. Kinaza JNK uczestniczy w aktywacji limfocytów T, zaś jej rola polega na redukowaniu odpowiedzi proliferacyjnej aktywowanych limfocytów Th oraz na wzmacnianiu polaryzacji limfocytów Th w kierunku Th1 [59].

Aktywacja limfocytów B

W błonie cytoplazmatycznej limfocytów B występują receptory immuno-globulinowe BCR (ang. *B cell receptor*). Ich część wewnątrzkomórkową stanowi heterodimer zbudowany z cząsteczek Ig α (CD79a) i Ig β (CD79b), z których każda zawiera po 1 domenę ITAM [12]. Podobnie jak w przypadku TCR, fosforylacja domen ITAM przebiega z udziałem kinaz Src, a aktywacja kinaz Syk wyzwala wewnątrzkomórkowe szlaki sygnałowe [16,17,29]. Pod wpływem aktywacji receptorów BCR dochodzi do inicjacji szlaków kinazy PI-3K, Ras oraz fosfolipazy C [11,29], a ich wzajemne interakcje skutkują proliferacją limfocyty i rozwojem odpowiedzi humoralnej na antygen.

W procesie aktywacji i proliferacji limfocytów B, w odpowiedzi na stymulację receptorów BCR, najważniejszą rolę spośród kinaz MAP odgrywa kaskada kinazy ERK. Może ona być aktywowana poprzez zespół Ras/Raf/MEK/ERK lub kaskadę kinazy PI-3K [15,29,46]. W procesie proliferacji limfocytów B kinaza ERK reguluje aktywność cykliny D umożliwiając przejście komórki z fazy G1 do fazy S [46,47].

Po zastosowaniu inhibitorów tego szlaku sygnałowego dochodzi do zahamowania syntezy cykliny D na poziomie mRNA i białka [46].

Aktywność kinazy p38 α związana jest między innymi z produkcją IgE przez aktywowane, w wyniku oddziaływań z receptorami CD40, limfocyty B, przy czym stymulujący wpływ tej kinazy jest wynikiem indukcji przez nią czynnika jądrowej lokalizacji NF- κ B. W procesie tym aktywność kinazy p38 regulowana jest poprzez kinazy Lyn i Syk [29,66].

APOPTOZA

Proces apoptozy, czyli programowanej śmierci komórki, jest mechanizmem warunkującym poprawne funkcjonowanie układu immunologicznego. Reguluje proces różnicowania limfocytów T i B, zjawiska immunosupresyjne, umożliwia zwalczanie wewnątrzkomórkowych patogenów oraz eliminację komórek uszkodzonych, wadliwych lub transformowanych. Apoptozę indukują wytwarzane przez komórki układu immunologicznego cytokiny, takie jak TNF- α czy IL-1 oraz reaktywne formy tlenu – ROS (ang. *reactive oxygen species*), związane ligandu Fas przez komórkę zakażoną oraz bezpośrednio oddziaływanie patogenu na komórkę. Wyróżnia się dwa zasadnicze mechanizmy indukcji apoptozy: 1) zewnątrzkomórkowy, zależny od receptorów, gdy do indukcji apoptozy dochodzi przez aktywację receptorów z domeną śmierci (DD) [2,4,33] i 2) wewnątrzkomórkowy – związany z uszkodzeniem mitochondriów i aktywnością białek z rodziny Bcl [5,53]. Ostatecznie oba prowadzą do aktywacji kaspaz i proteolitycznej degradacji struktur komórkowych. Kinazy MAP mają zasadnicze znaczenie w procesie regulacji apoptozy, i tak kinazy JNK i p38 ją indukują, natomiast ERK wykazuje działanie antyapoptotyczne [60,62].

Modelową cytokiną wyzwalającą proces apoptozy jest czynnik martwicy nowotworu α (TNF- α). Reakcje zapoczątkowuje związanie liganda do receptorów TNFR1 mających wewnątrzplazmatyczną domenę śmierci (DD). Asocjacja białek adaptorowych TRADD i TRAF2 z DD receptora prowadzi do aktywacji kinazy MAPKK, kluczowej dla procesu apoptozy – ASK-1. Aktywacja ASK-1 wymaga jednoczesnej obecności reaktywnych form tlenu [9,39]. W stanie spoczynku ASK-1 tworzy nieaktywny kompleks z białkiem tioredoksyną (Trx), która jest czujnikiem stresu oksydacyjnego komórki. Dopiero w wyniku zadziałania TNF- α , lub innych czynników wywołujących stres oksydacyjny, dochodzi do utlenienia Trx i rozpadu kompleksu, a wolna postać ASK-1 aktywuje kinazy MKK4/7 i MKK3/6, które fosforylują odpowiednio JNK i p38 [35]. Powstają aktywne czynniki transkrypcyjne, głównie ATF-2 i c-Jun, które tworzą kompleks AP-1, a wywołane zmiany aktywności genów pro- i antyapoptotycznych prowadzą do apoptozy [35].

Jak już wcześniej wspomniano, apoptoza jest mechanizmem kluczowym dla prawidłowego rozwoju limfocytów T w grasicy, a proces ten regulują kaskady kinaz MAP. Efekt cytotoksyczny limfocytów T CD8 może być związany z uwolnieniem ziaren cytolitycznych lub z oddziaływaniem białek błonowych limfocyty i komórki docelowej w konsekwencji prowadząc do apoptozy. Apoptoza jest jednym z mechanizmów

cytotoksyczności limfocytów T, a zasadnicze dla tego procesu jest oddziaływanie cząsteczek FasL na limfocytach T z receptorami Fas (Apo1, CD95) obecnymi na zakażonej komórce. Receptory te mają w części cytoplazmatycznej domenę śmierci, co umożliwia indukcję apoptozy w wyniku związania ligandu. Klasyczna droga prowadzi poprzez związanie białka adaptorowego FADD do aktywacji kaspazy 8, jednak w wyniku aktywacji receptorów Fas może również dojść do indukcji kaskad kinazy JNK. Ma to miejsce, gdy do aktywnych receptorów Fas przyłączy się inne białko adaptorowe, a mianowicie Daxx. W ten sposób aktywowane białko Daxx wiąże się do kinazy ASK-1 i ją aktywuje [25]. Mechanizm aktywujący kinazy MAP w odpowiedzi na związanie FasL ma za zadanie wspomagać główną drogę apoptozy zależną od kaspazy 8 poprzez uwrażliwienie komórki na działanie kaspaz. Nie jest to jednak kluczowa ścieżka apoptotyczna, o czym świadczą wyniki uzyskane przez Matsuzawę i wsp. Wykazali oni, że apoptoza indukowana FasL może zachodzić także przy braku ASK-1 [9]. W przeciwieństwie do apoptozy indukowanej przez TNF- α , aktywacja ASK-1 nie wymaga jednoczesnego działania stresu oksydacyjnego [9]. Ekspresja cząsteczek FasL jest obserwowana głównie na limfocytach T CD8⁺, CD4⁺ i komórkach NK.

PODSUMOWANIE

Kaskady kinaz MAP są bardzo ważnymi szlakami sygnalizacji wewnątrzkomórkowej umożliwiającymi poprawny rozwój i funkcjonowanie komórek układu immunologicznego. Odgrywają ważną rolę w pierwszych etapach zakażenia, nadzorują produkcję cytokin, takich jak: TNF- α , IL-1 czy IFN- γ , pod wpływem pobudzenia receptorów TLR. Są jednak odpowiedzialne nie tylko za indukcję syntezy cytokin, ale też są ścieżkami, dzięki którym przejawia się działanie tych białek. Kinazy MAP mają zasadnicze znaczenie w procesie różnicowania i dojrzewania limfocytów T w grasicy, uczestniczą też w aktywacji limfocytów T i B oraz ukierunkowaniu odpowiedzi immunologicznej w stronę Th-1- lub Th-2-zależnej.

Duże znaczenie kaskad kinaz MAP w przebiegu odpowiedzi immunologicznej sprawiło, że enzymy te rozważane są jako alternatywne w stosunku do leków przeciwbakteryjnych, przeciwwirusowych, przeciwzapalnych i przeciwnowotworowych – inhibitory kinaz JNK i p38 bada się jako potencjalne leki w terapii patologicznych stanów zapalnych, takich jak reumatoidalne zwyrodnienie stawów [23,65].

PIŚMIENNICTWO

- [1] ABE MK, SAELZLER MP, ESPINOSA R III, KAHLE KT, HERHENSON MB, LE BEAU MM, ROSNER MR. ERK8, a new member of the mitogen-activated protein kinase family. *J Biol Chem* 2002; **277**: 16733–16743.
- [2] ASHWELL JD. The many pathways to p38 mitogen-activated protein kinase activation in the immune system. *Nat Rev Immunol* 2006; **6**: 532–540.

- [3] BERENSON LS, YANG J, SLECKMAN BP, MURPHY TL, MURPHY KM. Selective requirement of p38 α MAPK in cytokine-dependent, but not antigen receptor-dependent, Th1 responses. *J Immunol* 2006; **176**: 4616–4621.
- [4] COOK R, WU CC, KANG YJ, HAN J. The role of the p38 pathway in adaptive immunity. *Cell Mol Immunol* 2007; **4**: 253–259.
- [5] CZARNECKA AM, GOLIK P, BARTNIK E. Mitochondria jako integratory apoptozy. *Post Biol Kom* 2006; **33**: 525–542.
- [6] DIAZ-FLORES E, SILICEO M, MARTINEZ AC, MERIDA I. Membrane translocation of protein kinase C- θ during T lymphocyte activation requires phospholipase C- γ -generated diacylglycerol. *J Biol Chem* 2003; **278**: 29208–29215.
- [7] DICKINSON RJ, KEYSE SM. Diverse physiological functions for dual-specificity MAP kinase phosphatases. *J Cell Sci* 2006; **119**: 4607–4615.
- [8] DUSTIN ML. T-cell activation through immunological synapses and kinases. *Immunol Rev* 2008; **221**: 77–89.
- [9] FUJISAWA T, TAKEDA K, ICHIJO H. ASK family proteins in stress response and disease. *Mol Biotechnol* 2007; **37**: 13–18.
- [10] GOHDA J, MATSUMURA T, INOUE J. Cutting edge: TNFR-associated factor (TRAF) 6 is essential for MyD88-dependent pathway but not Toll/IL-1 receptor domain-containing adaptor-inducing IFN- β (TRIF)-dependent pathway in TLR signaling. *J Immunol* 2004; **173**: 2913–2917.
- [11] GOLD MR. B cell development: important work for ERK. *Immunity* 2008; **28**: 488–490.
- [12] GOŁĄB J, JAKÓBISIAK M, LASEK W, STOKŁOSA T. Immunologia. Wyd. Nauk PWN, Warszawa, 2008.
- [13] GORTZ B, HAYER S, TUERCK B, ZWERINA J, SMOLEN JS, SCHETT G. Tumour necrosis factor activates the mitogen-activated protein kinases p38 α and ERK in the synovial membrane *in vivo*. *Arthritis Res Ther* 2005; **7**: R1140–R1147.
- [14] HABELHAH H, TAKAHASHI S, CHO SG, KADOYA T, WATANABE T, RONAI Z. Ubiquitination and translocation of TRAF2 is required for activation of JNK but not of p38 or NF- κ B. *EMBO J* 2004; **23**: 322–332.
- [15] HANA, SAIJO K, MECKLENBRAUKER I, TARAKHOVSKY A, NUSSENZWEIG MC. Bam32 links the B cell receptor to ERK and JNK and is essential for B cell proliferation but not survival. *Immunity* 2003; **19**: 621–634.
- [16] HERRIN BR, JUSTEMENT LB. Expression of the adaptor protein hematopoietic Src homology 2 is up-regulated in response to stimuli that promote survival and differentiation of B cells. *J Immunol* 2006; **176**: 4163–4172.
- [17] HITTIE, IAKOVLEVA T, BROOK M, DEPPENMEIER S, GRUBER AD, RADZIOCH D, CLARK AD, BLACKSHEAR PJ, KOTLYAROVA, GAESTEL M. Mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2 regulates tumor necrosis factor mRNA stability and translation mainly by altering tristetraprolin expression, stability, and binding to adenine/uridine-rich element. *Mol Cell Biol* 2006; **26**: 2399–2407.
- [18] HSU S, WU C, HAN J, LAI M. Involvement of p38 mitogen-activated protein kinase in different stages of thymocyte development. *Blood* 2003; **101**: 970–976.
- [19] JACINTO R, HARTUNG T, MCCALL C, LI L. Lipopolysaccharide- and lipoteichoic acid-induced tolerance and cross-tolerance: distinct alterations in IL-1 receptor-associated kinase. *J Immunol* 2002; **168**: 6136–6141.
- [20] JEFFREY KL, CAMPS M, ROMMEL C, MACKAY CR. Targeting dual-specificity phosphatases: manipulating MAP kinase signalling and immune responses. *Nat Rev Drug Discov* 2007; **6**: 391–403.
- [21] JIANG Y, CHENG H. Evidence of LAT as a dual substrate for Lck and Syk in T lymphocytes. *Leuk Res* 2007; **31**: 541–545.
- [22] JORRITSMA PJ, BROGDON JL, BOTTOMLY K. Role of TCR-induced extracellular signal-regulated kinase activation in the regulation of early IL-4 expression in naive CD4⁺ T cells. *J Immunol* 2003; **170**: 2427–2434.
- [23] KAMINSKA B. MAPK signalling pathways as molecular targets for anti-inflammatory therapy – from molecular mechanisms to therapeutic benefits. *BBA Biochem Biophys Acta* 2005; **1754**: 253–262.
- [24] KATZAV S. Vav1: an oncogene that regulates specific transcriptional activation of T cells. *Blood* 2004; **7**: 2443–2451.
- [25] KHELIFI AF, ALCONTRES MS, SALOMONI P. Daxx is required for stress-induced cell death and JNK activation. *Cell Death Differ* 2005; **12**: 724–733.
- [26] KLEIN A. Molekularne podstawy regulacji hormonalnej. Wyd. UJ, Kraków, 2002.
- [27] KORBA A, TOHIDAST-AKRAD M, CETIN E, AXMANN R, SMOLEN J, SCHETT G. Differential tissue expression and activation of p38 MAPK α , β , γ and δ isoforms in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006; **54**: 2745–2756.

- [28] KOUL A, HERGET T, KLEBL B, ULLRICH A. Interplay between mycobacteria and host signalling pathways. *Nat Rev Microbiol* 2004; **2**: 189–202.
- [29] KUROSAKI T, HIKIDA M. Tyrosine kinases and their substrates in B lymphocytes. *Immunol Rev* 2009; **228**: 132–148.
- [30] LEE HK, DUNZENDORFER S, SOLDAU K, TOBIAS PS. Double-stranded RNA-mediated TLR3 activation is enhanced by CD14. *Immunity* 2006; **24**: 153–163.
- [31] LI H, LIN X. Positive and negative signaling components involved in TNF α -induced NF- κ B activation. *Cytokine* 2008; **41**: 1–8.
- [32] MARTELLI MP, LIN H, ZHANG W, SAMELSON LE, BIERER BE. Signaling via LAT (linker for T-cell activation) and Syk/ZAP70 is required for ERK activation and NFAT transcriptional activation following CD2 stimulation. *Blood* 2002; **96**: 2181–2190.
- [33] MARUNIEWICZ M, WOJTASZEK P. Pochodzenie i ewolucja śmierci komórki. *Post Biol Kom* 2007; **34**: 651–667.
- [34] MAVROPOULOS A, SULLY G, COPE AP, CLARK AR. Stabilization of IFN- γ mRNA by MAPK p38 in IL-12- and IL-18-stimulated human NK cells. *Blood* 2005; **105**: 282–288.
- [35] MCCUBREY JA, LAHAIR MM, FRANKLIN RA. Reactive oxygen species-induced activation of the MAP kinase signaling pathways. *Antioxid Redox Signal* 2006; **8**: 1775–1789.
- [36] McNEIL LK, STARR TK, HOGQUIST KA. A requirement for sustained ERK signaling during thymocyte positive selection *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; **102**: 13574–13579.
- [37] MEUSEL TR, IMANI F. Viral induction of inflammatory cytokines in human epithelial cells follows a p38 mitogen-activated protein kinase-dependent but NF- κ B-independent pathway. *J Immunol* 2003; **171**: 3768–3774.
- [38] MITTELSTADT PR, SALVADOR JM, FORNACE AJ, ASHWELL JR. JD. Activating p38 MAPK: new tricks for an old kinase. *Cell Cycle* 2005; **4**: 1189–1192.
- [39] NAGAI H, NOGUCHI T, TAKEDA K, ICHIJO H. Pathophysiological roles of ASK1-MAP kinase signaling pathways. *J Biochem Mol Biol* 2006; **40**: 1–6.
- [40] NISHIMOTO S, NISHIDA E. MAPK signalling: ERK5 versus ERK1/2. *EMBO Rep* 2006; **7**: 782–786.
- [41] NOWAK JZ, ZAWILSKA JB. Receptory i mechanizmy przekazywania sygnału. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa, 2004.
- [42] OHKUSU-TSUKADA K, TOMINAGA N, UDONO H, YUI K. Regulation of the maintenance of peripheral T-cell anergy by TAB1-mediated p38- α activation. *Mol Cell Biol* 2004; **24**: 6957–6966.
- [43] ORTEGA-PEREZ I, CANO E, WERE F, VILLAR M, VAZQUEZ J, REDONDO JM. c-Jun N-terminal kinase (JNK) positively regulates NFATc2 transactivation through phosphorylation within the N-terminal regulatory domain. *J Biol Chem* 2005; **28**: 20867–20878.
- [44] PAN ZK. Toll-like receptors and TLR-mediated signaling: more questions than answers. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; **286**: L918–L920.
- [45] PARK HH, LO YC, LIN SC, WANG L, YANG JK, WU H. The death domain superfamily in intracellular signaling of apoptosis and inflammation. *Annu Rev Immunol* 2007; **25**: 561–586.
- [46] PIATELLI MJ, DOUGHTY C, CHILES TC. Requirement for a hsp90 chaperone-dependent MEK1/2-ERK pathway for B cell antigen receptor-induced cyclin D2 expression in mature B lymphocytes. *J Biol Chem* 2002; **277**: 12144–12150.
- [47] PIATELLI MJ, WARDLE C, BLOIS J, DOUGHTY C, SCHRAM BR, ROTHSTEIN TL, CHILES TC. Phosphatidylinositol-3-kinase-dependent MEK1/2-ERK and NF- κ B signaling pathways are required for B cell antigen receptor-mediated cyclin D2 induction in mature B lymphocytes. *J Immunol* 2004; **172**: 2753–2762.
- [48] PIEKAROWICZ A. Podstawy wirusologii molekularnej. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa, 2004.
- [49] PISEGNA S, PIROZZI G, PICCOLI M, FRATI L, SANTONI A, PALMIREI G. p38 MAPK activation controls the TLR3-mediated up-regulation of cytotoxicity and cytokine production in human NK cells. *Blood* 2004; **104**: 4157–4164.
- [50] RINCON M, DAVIS RJ. Regulation of immune response by stress-activated protein kinases. *Immunol Rev* 2009; **228**: 212–214.
- [51] ROOSE JP, MOLLENAUER M, GUPTA VA, STONE J, WEISS A. A diacylglycerol-protein kinase C-RasGRP1 pathway directs Ras activation upon antigen receptor stimulation of T cells. *Mol Cell Biol* 2005; **25**: 4426–4441.
- [52] RUBINFELD H, SEGER R. The ERK cascade: a prototype of MAPK signaling. *Mol Biotechnol* 2005; **31**: 151–174.

- [53] RUPNIEWSKA Z, BOJARSKA-JUNAK A. Apoptoza: Przepuszczalność błony mitochondrialnej i rola pełniona przez białka z rodziny Bcl-2. *Post Hig Med Dosw* 2004; **58**: 538–547.
- [54] RUTZ M, MATZGER J, GELLERT T, LUPPA P, LIPFORD GB, WAGNER H, BAUER S. Toll-like receptor 9 binds single-stranded CpG-DNA in a sequence- and pH-dependent manner. *Eur J Immunol* 2004; **34**: 2541–2550.
- [55] SALVADOR JM, MITTELSTADT PR, BELOVA GI, FORNACE JR. AJ, ASHWELL JD. The autoimmune suppressor Gadd45alpha inhibits the T cell alternative p38 activation pathway. *Nat Immunol* 2005; **6**: 396–402.
- [56] SALVADOR JM, MITTELSTADT PR, GUSZCZYNSKI T. Alternative p38 activation pathway mediated by T cell receptor-proximal tyrosine kinases. *Nat Immunol* 2005; **10**: 1038–1177.
- [57] SALMOND RJ, FILBYA, QURESHI I, CASERTA S, ZAMOYSKA R. T-cell receptor proximal signaling via the Src-family kinases, Lck and Fyn, influences T-cell activation, differentiation, and tolerance. *Immunol Rev* 2009; **228**: 9–22.
- [58] SHIM JH, PASCHAL AE, BAILEY ST, RAO P, HYDEN MS, LEE KY, BUSSEY C, STECKEL M, TANAKA N, YAMAMDA G, AKIRA S, MATSUMOTO K, GHOSH S. TAK1, but not TAB1 or TAB2, plays an essential role in multiple signaling pathways *in vivo*. *Genes Dev* 2005; **19**: 2668–2681.
- [59] SINGH RAK, ZHANG JZ. Differential activation of ERK, p38, and JNK required for Th1 and Th2 deviation in myelin-reactive T cells induced by altered peptide ligand. *J Immunol* 2004; **173**: 7299–7307.
- [60] SUMBAYEV VV, YASINSKA M. Role of MAP kinase-dependent apoptotic pathway in innate immune responses and viral infection. *Scand J Immunol* 2006; **63**: 391–400.
- [61] SWEET L, SCHOREY JS. Glycopeptidolipids from *Mycobacterium avium* promote macrophage activation in a TLR2-and MyD88-dependent manner. *J Leuk Biol* 2006; **80**: 415–423.
- [62] SYMONS A, BEINKE S, LEY SC. MAP kinase kinase kinases and innate immunity. *Trends Immunol* 2006; **27**: 40–48.
- [63] SZCZEPAŃSKI M, GÓRALSKI M, MOZER-LISEWSKA I, SAMARA H, ŻEROMSKI J. Rola receptorów Toll-podobnych w odporności. *Post Biol Kom* 2004; **31**: 543–562.
- [64] TEDDY TC, YANG TTC, XIONG Q, GRAEF IA, CRABTREE GR, CHOW CW. Recruitment of the extracellular signal-regulated kinase/ribosomal S6 kinase signaling pathway to the NFATc4 transcription activation complex. *Mol Cell Biol* 2005; **25**: 907–920.
- [65] WESTRA J, van der MEER DB, de BORE P, van LEEUWEN MA, van RIJSWIJK MH, LIMBURG PC. Strong inhibition of TNF- α production and inhibition of IL-8 and COX-2 mRNA expression in monocyte-derived macrophages by RWJ 67657, a p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) inhibitor. *Arthritis Res Ther* 2004; **6**: R384–R392.
- [66] ZHANG K, ZHANG L, ZHU D, BAE D, NEL A, SAXON A. CD40-mediated p38 mitogen-activated protein kinase activation is required for immunoglobulin class switch recombination to IgE. *J Allergy Clin Immunol* 2004; **110**: 421–428.
- [67] ZHANG Y, DONG C. Regulatory mechanisms of mitogen-activated kinase signaling. *Cell Mol Life Sci* 2007; **64**: 2771–2789.
- [68] ZHONG XP, HAINEY EA, OLENCHOCK Ba, ZHAO H, TOPHAM MK, KORETZKY GA. Regulation of T cell receptor-induced activation of the Ras-ERK pathway by diacylglycerol kinase zeta. *J Biol Chem* 2002; **277**: 31089–31098.

Redaktor prowadzący – Barbara Płytycz

Otrzymano: 22.12. 2008 r.

Pryjęto: 15.05. 2009 r.

Małgorzata Krzyżowska, Zakład Immunologii,

Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, SGGW

ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa

e-mail: malgorzata_krzyzowska@sggw.pl