

ROLA KOMÓREK DENDRYTYCZNYCH W ODPOWIEDZI TRANSPLANTACYJNEJ*

THE ROLE OF DENDRITIC CELLS IN TRANSPLANTATION

Maja BUDZISZEWSKA¹, Anna KORECKA-POLAK¹,
Grażyna KORCZAK-KOWALSKA^{1,2}

¹Zakład Immunologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

²Instytut Transplantologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Streszczenie: Komórki dendrytyczne (DC) są najważniejszymi komórkami prezentującymi antygen (APC) limfocytom T. Stopień dojrzałości komórki DC ma kluczowe znaczenie dla rodzaju odpowiedzi limfocytów T. Niedojrzała komórka DC indukuje stan tolerancji, podczas gdy dojrzała komórka DC – pełną odpowiedź immunologiczną. Ma to ogromne znaczenie w transplantologii, a zwłaszcza w reakcjach odrzucania przeszczepu po transplantacjach narządu. Komórka DC dawcy prezentuje antygen w sposób bezpośredni, natomiast komórka DC biorcy drogą pośrednią. Komórki DC niedojrzałe lub o właściwościach tolerogennych mogą wydłużyć przeżycie przeszczepu allogenicznego. Takie oddziaływanie na funkcję komórek DC, aby były one niewrażliwe na sygnały dojrzewania *in vivo* lub aktywowanie komórek DC charakteryzujących się trwałymi właściwościami tolerogennymi może poprawić tolerancję przeszczepu. W tym celu wykorzystuje się hodowle prowadzone w specyficznych warunkach, leczenie farmakologiczne oraz inżynierię genetyczną.

Słowa kluczowe: komórka dendrytyczna, transplantacja, tolerancja przeszczepu.

Summary: The most important antigen-presenting cells (APCs) are dendritic cells (DCs), which present antigen to T cells. The state of maturation of DCs is crucial for induction of a T-cell lymphocyte response. The immature DCs induce tolerance, the mature DCs – immunity. This is important in transplantology, especially in graft rejection after organ transplantation. Donor DCs act via the direct, while recipient DCs via the indirect pathways of allorecognition. Immature DCs or DCs with tolerogenic properties may prolong allograft survival. Manipulating DCs function to be insensitive to maturation signals or activate DCs with tolerogenic properties are the promising means of improving allograft tolerance. There are three approaches to achieve these aims: specific cell culture conditions, pharmacological treatment and genetic engineering.

Key words: dendritic cell, transplantation, graft tolerance, graft rejection.

*Dofinansowanie z grantu MNiSzW nr N N402 268036.

WSTĘP

Wraz z przeszczepianym narządem do organizmu biorecy dostają się różnorodne komórki mięszone wyposażone w antygeny zgodności tkankowej (MHC) oraz grupa komórek określanych jako „leukocyty pasażerskie”, odpowiedzialna za reakcję odrzucania przeszczepu. Są to m.in. komórki dendrytyczne (DC), które w pewnych warunkach zamiast prowadzić do odrzucenia przeszczepu mogą sprzyjać jego akceptacji [5,16]. Precyzyjne określenie roli komórek dendrytycznych w odpowiedzi transplantacyjnej i opracowanie metod modyfikowania ich funkcji może przyczynić się do poprawienia rezultatów osiąganych w transplantologii.

1. CHARAKTERYSTYKA KOMÓREK DENDRYTYCZNYCH

Komórki dendrytyczne są profesjonalnymi komórkami prezentującymi antygen (APC), obecnymi w centralnych (grasica i szpik) i we wtórnych (węzły limfatyczne, kępkę Peyera i śledziona) narządach limfatycznych [2]. Mają zdolność do aktywacji zarówno naiwnych limfocytów T, jak i limfocytów T pamięci, umiejętność transportowania antygenów (Ag) z obwodowych tkanek do obszarów bogatych w limfocyty T we wtórnych narządach limfatycznych oraz zdolność do krzyżowej prezentacji antygenów [21,22]. Komórki DC nie stanowią jednorodnej subpopulacji leukocytów. Ich morfologia, funkcja oraz immunofenotyp różnią się w zależności od stopnia dojrzałości, umiejscowienia w organizmie i rodzaju komórki prekursorowej, z której się wywodzą [27].

W warunkach prawidłowej homeostazy organizmu komórki DC, jako niedojrzałe komórki APC, są obecne w obwodowych tkankach organizmu, w tym w zwykle przeszczepianych nielimfoidalnych narządach (wątroba, serce, płuca, nerka, trzustka i skóra) [18,20]. Niedojrzałe komórki DC wykazują na swojej powierzchni niewielką ekspresję cząsteczek MHC (*major histocompatibility complex*), cząsteczek adhezyjnych i kostymulujących, takich jak: CD40, CD54 (ICAM-1), CD80 (B7-1) lub CD86 (B7-2), przez co pozostają słabymi stymulatorami naiwnych limfocytów T [18]. Komórki DC po wychyceniu antygenów, migrują poprzez naczynia krwionośne i limfatyczne do narządów limfoidalnych. Tam prezentują antygeny komórkom układu immunologicznego: limfocytom CD4⁺ w kontekście cząsteczek MHC klasy II lub limfocytom CD8⁺ w kontekście cząsteczek MHC klasy I. Podczas migrowania kontynuowany jest proces dojrzewania komórek DC, stymulowany przez obecność bakterii i wirusów, bądź ich składników, takich jak: lipopolisacharydy (LPS), niemetylowane sekwencje CpG bakteryjnego DNA, dwuniciowy wirusowy RNA (dsRNA) [13,18,20,29], a także przez cytokiny prozapalne: GM-CSF, IL-1 β , TNF i IFN- α i metabolity enzymu cyklooksyzogenazy [18]. Czynniki te wpływają na komórki DC poprzez receptory TLR (*Toll-like receptors*) oraz receptory z rodziny TNF, takie jak: ligand CD40, receptory TNF (TNFR), receptory aktywujące NF- κ B (RANK) czy receptory indukujące aktywację cytokin – TRANCE (*TNF-related*

activation-induced cytokine) [20,31]. Dojrzewanie komórek DC, inicjowane w tkankach obwodowych w momencie spotkania z antygenem, jest kontynuowane podczas interakcji komórki DC - limfocyty T i powoduje zmianę fenotypu komórek DC, co sprawia, że dojrzałe komórki DC są silnymi stymulatorami naiwnych limfocytów T oraz limfocytów T pamięci [18,29].

2. ROLA KOMÓREK DENDRYTYCZNYCH W REAKCJACH ODRZUCANIA I TOLERANCJI PRZESZCZEPU

W zależności od tego skąd pochodzą komórki DC – od dawcy czy od biorcy przeszczepu, prezentacja antygeny odbywa się, odpowiednio, w sposób bezpośredni lub pośredni. Przy bezpośredniej prezentacji antygeny komórki DC dawcy przeszczepu migrują do narządów limfatycznych biorcy, gdzie limfocyty T rozpoznają jako obce cząsteczki MHC komórek DC. Powoduje to proliferację immunokompetentnych limfocytów T odpowiedzialnych za reakcję zapalną towarzyszącą odrzuceniu przeszczepu [4,16,21]. W ścieżce pośredniej komórki DC biorcy przeszczepu migrują do przeszczepionego organu, gdzie poprzez internalizację rozpuszczonych molekuł MHC dawcy, fragmentów apoptotycznych lub nekrotycznych komórek dawcy, względnie poprzez endocytozę żywych komórek, przyswajają i przetwarzają alloantygeny dawcy i w takiej postaci prezentują limfocytom T biorcy przeszczepu. Pośredni sposób prezentowania alloantygenów przez komórki DC gospodarza powoduje, że odpowiedź limfocytów T jest zdecydowanie słabsza, niż na skutek bezpośredniej prezentacji [16,21]. Migracja niedojrzałych komórek DC biorcy do przeszczepu i nabywanie przez nie molekuł MHC dawcy, określane jako allouczulenie komórek DC biorcy, zmniejszają siłę oddziaływania komórek DC dawcy na limfocyty T [18].

Liczne badania wykazały, że obecność i liczba „leukocytów pasażerskich”, jak również stopień pobudzenia limfocytów T poprzez bezpośrednią drogę prezentacji antygenów, są kluczowymi elementami reakcji odrzucania przeszczepu. Przez wiele lat uważano, że bezpośrednia droga prezentacji antygenów jest związana przede wszystkim z ostrą reakcją odrzucania przeszczepu, podczas gdy pośrednia droga ma większe znaczenie w przewlekłej reakcji odrzucania. Później wykazano jednak, że sama pośrednia droga prezentacji alloantygeny jest wystarczająca do wywołania reakcji ostrego odrzucania przeszczepu skóry u myszy [4,9,13,16,21]. Jednocześnie wykazano, że udział drogi bezpośredniej maleje w czasie po transplantacji, podczas gdy wzrasta odpowiedź drogi pośredniej wraz ze zwiększeniem liczby limfocytów T pobudzonych w ten sposób [18].

Komórki DC dawcy pochodzące z przeszczepu są główną populacją komórek APC odpowiedzialną za aktywację limfocytów T biorcy drogą bezpośrednią, a tym samym są głównymi sprawcami wystąpienia reakcji odrzucenia przeszczepu [18]. Wydawałoby się zatem, że usunięcie wszystkich leukocytów z przeszczepianego narządu może zapobiec odrzuceniu przeszczepu. Badania przeprowadzone na

modelach szczurzych, polegające na delecji „leukocytów pasażerskich” z przeszczepianego organu (serca lub wątroby), wykazały jednak, że nie przeciwdziała to odrzuceniu przeszczepu. Najlepiej uwidoczniły to doświadczenia, w których przed transplantacją narządu zastosowano tzw. aktywne ułatwienie przeżycia przeszczepu poprzez transfuzję krwi dawcy. Następnie przeszczepiano narząd pozbawiony „leukocytów pasażerskich”, co spowodowało odwrócenie korzystnego efektu transfuzji krwi dawcy na przeżycie przeszczepu. Jeśli jednak, w trakcie takiej transplantacji organu podano komórki DC dawcy, tolerancja przeszczepu była przywracana. Wydaje się zatem, że obecność komórek APC dawcy przeszczepianego narządu, jest niezbędna do indukcji tolerancji transplantacyjnej w organizmie biorcy przeszczepu. Jest to związane z obecnością w przeszczepianym narządzie niedojrzałych komórek DC dawcy, które warunkują tolerancję przeszczepu [16].

Zanim komórki DC zaprezentują antygeny w kontekście cząsteczek MHC klasy I lub klasy II, muszą przejść proces czynnościowego dojrzewania. Wiąże się to z ekspresją receptorów umożliwiających migrację komórek DC do obszarów tkanki limfatycznej, w których znajdują się limfocyty T, przetwarzaniem kompleksów MHC-Ag, dzięki którym możliwa będzie ich stabilna ekspresja na powierzchni komórek wraz z cząsteczkami kostymulującymi oraz wytwarzaniem cytokin prozapalnych, takich jak: IL-12, IL-6, TNF- α , IL-1 β , które indukują immunogenność limfocytów T [4,21,23].

Prezentacja antygeny odbywa się w obecności molekuł kostymulujących i cytokin prozapalnych, podczas której dochodzi do aktywacji procesu różnicowania limfocytów T w komórki efektorowe [23]. Typ komórki efektorowej (Th1/Th2) zależy zarówno od komórki dendrytycznej, jak i od aktywującego antygeny. Dojrzałe komórki DC ze względu na produkowanie cytokin prozapalnych, m.in. IL-12, stymulują różnicowanie limfocytów T w kierunku Th1, co wiąże się z wystąpieniem reakcji odrzucenia przeszczepu [17].

Spotkanie limfocytów T z antygenami prezentowanymi przez niedojrzałe komórki DC prowadzi, przy braku cząsteczek kostymulujących, do anergii lub apoptozy antygenowo specyficznych limfocytów T i generowania limfocytów T o funkcjach regulatorowych oraz do selektywnej indukcji odpowiedzi typu Th2 [4,17].

W badaniach wykazano, że anergiczne limfocyty T mogą wydłużać przeżycie przeszczepu skóry u myszy *in vivo*. W obecności anergicznym limfocytów T, komórki DC są prawie całkowicie niezdolne do stymulowania proliferacji limfocytów T. Tej utracie immunogenności przez komórki DC towarzyszy redukcja ekspresji MHC klasy II i cząsteczki B7. To sugeruje, że anergiczne limfocyty T hamują dojrzewanie komórek DC, a przez to zmniejszają ich immunogenność. Takie niedojrzałe komórki DC indukują następnie anergię kolejnych limfocytów T [14].

Jednocześnie ekspresja na komórkach DC ligandów indukujących śmierć komórki jak FasL lub związanych z czynnikiem martwicy nowotworu (TNF) jak TRAIL (*TNF-related apoptosis-inducing ligand*) może pozwolić na bezpośrednie usunięcie alloreaktywnego klonu limfocytów T. Związanie cząsteczki FasL, obecnej na komórkach DC z receptorem Fas znajdującym się na limfocytach T, powoduje produkcję przez komórki DC tlenku azotu, który może promować apoptozę limfocytów T [4,24].

Innymi mechanizmami immunologicznymi, które mogą wydłużać przeżycie przeszczepu są te, które zwiększają subpopulacje immunologicznie aktywnych limfocytów Th2, kosztem subpopulacji Th1. Jeśli limfocyty T aktywowane są w kierunku subpopulacji Th1, dochodzi do odrzucenia przeszczepu, jeśli w kierunku Th2 – do jego przyjęcia [4,24,27]. Komórki DC linii mieloidalnej wytwarzają duże ilości IL-12, która stymuluje polaryzację w kierunku Th1. Komórki Th1 wydzielając TNF- β i IFN- γ pobudzają cytotoksyczne limfocyty CD8⁺ oraz komórki NK, indukując tym samym rozwój odpowiedzi komórkowej. Polaryzacja w kierunku Th2, warunkuje rozwój humoralnej odpowiedzi immunologicznej i biorą w niej udział limfoidalne komórki DC, które wytwarzają IL-4. Cytokiny, takie jak IL-4, IL-5, IL-10 wydzielane przez aktywowane limfocyty Th2, pobudzają limfocyty B, które mogą promować tolerancję transplantacyjną poprzez pobudzanie funkcjonowania limfocytów T regulatorowych. Dodatkowo limfocyty B mogą produkować IL-10 i TGF- β . Co więcej, Fehr i wsp. wykazali, że limfocyty B biorcy i komórki DC zwiększają tolerancję limfocytów T CD8 z przeszczepianego narządu, osłabiając tym samym ich cytotoksyczne działanie w stosunku do komórek biorcy. Wszystkie te mechanizmy sprzyjają lepszemu przyjęciu się przeszczepu [11,22,27,31].

Wydaje się, że aktywacja naiwnych limfocytów Th nie jest wynikiem wyłącznie interakcji pomiędzy komórką DC a limfocytym Th. Corthay zaproponował model trzech komórek biorących udział w aktywacji naiwnych limfocytów Th. Typ „trzeciej” komórki układu odpornościowego i rodzaj cytokiny przez nią produkowany, oddziałuje na komórkę DC i jej wpływ na limfocyt Th. Taką komórką może być komórka NK (*natural killer*), limfocyt NKT (*natural killer T cell*), bądź T $\gamma\delta$, komórka tuczna, eozynofil lub bazofil. Jeśli komórka DC otrzymuje sygnał od zaktywowanej komórki produkującej IFN- γ , takiej jak komórka NK, rozpoczyna produkcję IL-12 i polaryzuje naiwne limfocyty Th w kierunku Th1. Jeśli natomiast, komórce DC pomaga komórka produkująca IL-4, np. komórka tuczna, różnicują się limfocyty T o fenotypie Th2 [7].

Niedojrzałe komórki dendrytyczne zdolne są do generowania limfocytów T o właściwościach regulatorowych, które mogą bezpośrednio hamować reakcje immunologiczne związane ze specyficznymi antygenami [4,8,9,15].

Właściwości regulatorowe wykazują m.in. limfocyty T CD4⁺ Tr1. Wydzielają one IL-10, IFN- γ i nie produkują lub produkują jedynie w niewielkich ilościach: TGF- β , IL-2, IL-4 i IL-5. Dodatkowo wykazują słabą odpowiedź na stymulację przez receptor TCR i mają właściwości immunosupresyjne, hamując reakcje, w których udział biorą limfocyty Th1 [12]. W obwodowych węzłach limfatycznych naiwne limfocyty T mogą napotkać antygen prezentowany przez niedojrzałe komórki DC i otrzymując w ten sposób suboptymalny sygnał, różnicują się w limfocyty Tr1, a nie w efektorowe limfocyty T. Oznacza to, że generacja Tr1 zależy przede wszystkim od środowiska, w jakim limfocyty T napotykają antygen (własny lub obcy), czyli od obecności niedojrzałych komórek DC. Jednocześnie komórki Tr1 poprzez swoje cytokiny mogą stabilizować stan niedojrzałości komórek DC, a tym samym ich tolerogenność [12].

Również naiwne limfocyty T CD8⁺, stymulowane komórkami DC, są zdolne do różnicowania się w limfocyty T wykazujące czynność regulatorową i produkujące IL-10. Dodatkowo wśród limfocytów wyróżnia się subpopulację komórek o fenotypie CD8⁺ CD28⁻, określanych jako limfocyty T supresorowe (Ts), które są zdolne do hamowania proliferacji naiwnych limfocytów CD4⁺ [6]. Limfocyty Ts działają bezpośrednio na komórki APC (w tym także na komórki DC), indukując obniżenie ekspresji cząsteczek kostymulujących oraz podwyższenie ekspresji receptorów hamujących [25,26].

3. ODDZIAŁYWANIE NA KOMÓRKI DENDRYTYCZNE W CELU INDUKOWANIA TOLERANCJI PRZESZCZEPU

Bezpośrednie podawanie biorcy przeszczepu niedojrzałych komórek DC w celu indukowania tolerancji transplantacyjnej jest ryzykowne, ponieważ mogą one przypadkowo otrzymać *in vivo* sygnał dojrzewania i stymulować reakcję odrzucania. Rozwiązaniem tego problemu byłoby takie oddziaływanie na komórki DC *in vitro*, aby stały się niewrażliwe na sygnały dojrzewania *in vivo* lub aktywowanie komórek DC charakteryzujących się trwałymi właściwościami tolerogennymi [16,18]. Generowanie prekursorów komórek DC lub komórek DC z tolerogennym potencjałem, można uzyskać stosując: hodowle komórkowe w specyficznych warunkach, leczenie farmakologiczne lub metody inżynierii genetycznej [21].

Jedną z pierwszych prób generowania tolerogennych komórek dendrytycznych było indukowanie *in vitro* powstawania niedojrzałych komórek DC (MHC I⁺, MHC II⁺, CD80^{-/lo}, CD86^{-/lo}) z prekursorowych monocytów w wyniku podawania odpowiednich cytokin. Takie komórki mogłyby być wstrzykiwane jednorazowo przed transplantacją lub jako terapia podtrzymująca po transplantacji narządu [4,21]. Rozważa się również możliwość generowania niedojrzałych komórek DC bezpośrednio w organizmie dawcy za pomocą ludzkich czynników wzrostu, takich jak: G-CSF lub Flt3L [4,21,30]. Istnieje jednak niebezpieczeństwo, że po iniekcji, niedojrzałe komórki DC dawcy będą różnicowały się *in vivo* w dojrzałe komórki APC i powodowały aktywację odpowiedzi Th1, co w konsekwencji doprowadzi do odrzucenia przeszczepu. Być może rozwiązaniem jest podanie biorcy przeszczepu niedojrzałych komórek DC i przeciwciał monoklonalnych anti-CD40L. W modelach mysich zablokowanie ścieżki sygnałowej CD40/CD40L pozwalało uniknąć dojrzewania wstrzykniętych komórek DC w organizmie biorcy. Dlatego obecnie prowadzone są badania nad podawaniem zmodyfikowanych komórek DC dawcy, które są odporne na czynniki dojrzewania, takie jak: LPS, TNF- α i CD40 [21].

Inną strategią promowania tolerogenności komórek dendrytycznych jest użycie leków, które powstrzymują ich dojrzewanie. Przez wiele lat to limfocyty T były uważane za główny cel działania leków immunosupresyjnych i przeciwzapalnych. Odkryto jednak, że niektóre leki hamują dojrzewanie i immunogenność komórek DC [3,4].

1,25 dihydroksywitamina D_3 ($1,25(OH)_2D_3$), aktywny metabolit witaminy D_3 hamuje *in vitro* dojrzewanie ludzkich i mysich mieloidalnych komórek DC [4,10]. Komórki DC preinkubowane z witaminą D_3 mają bardzo słabą zdolność stymulowania allogenicznych limfocytów T [4]. Związane jest to ze zmniejszeniem wytwarzania przez komórki DC IL-12, a zwiększeniem wydzielania IL-10, silnej cytokiny przeciwzapalnej [1,10,21]. Wykazano, że podanie myszom komórek DC preinkubowanych z witaminą D_3 wydłuża czas przeżycia przeszczepu [4].

Również aspiryna osłabia zdolność komórek DC do wydzielania IL-12, a tym samym stymulowania proliferacji limfocytów T. Dodatkowo, hamowanie dojrzewania komórek DC przez aspirynę i jej główny metabolit – salicylan jest związane z translokacją jądrową specyficznego czynnika transkrypcyjnego z rodziny NF- κ B, który warunkuje różnicowanie się komórek DC i kontroluje ich funkcjonowanie [1,4,21].

Niektóre leki immunosupresyjne i cytokiny interferują z NF- κ B, stąd obiecującym podejściem do zmiany immunogenności komórek DC jest bezpośrednie oddziaływanie na aktywację NF- κ B za pomocą tych środków [4,21]. Przykładowo, tolerancję przeszczepionej nerki u małp reżusów (*Macaca mulatta*) udało się uzyskać w badaniu, polegającym na podawaniu w okresie okołotransplantacyjnym deoksypregualiny (DSG) wraz z przeciwciałami anti-CD3, które powodują delecję limfocytów T [4].

Natomiast komórki DC preinkubowane z kortykosteroidami stymulują wytwarzanie IL-5 i IL-10 przez limfocyty T, podczas gdy hamują wydzielanie IFN- γ . W ten sposób sprzyjają odpowiedzi Th2 lub generowaniu limfocytów Treg [1,4,9].

Sprzeczne dane dotyczą wpływu cyklosporyny (CsA) na dojrzewanie i funkcjonowanie komórek DC. Część badań sugeruje, że CsA hamuje dojrzewanie i zdolności allostymulujące mysich mieloidalnych komórek DC poprzez oddziaływanie na translokację NF- κ B, zmniejszanie wydzielania IL-6, IL-12 i TNF- α przez komórki DC oraz IFN- γ , IL-2 i IL-4 przez limfocyty T, będące w kontakcie z komórkami DC [18]. Według innych badań komórki DC są odporne na hamowanie przez CsA ich dojrzewania i zdolności allostymulujących [4].

Takrolimus, podobnie jak CsA, hamuje produkcję TNF- α przez komórki DC. Komórki DC poddane jego działaniu zwiększają sekrecję IL-4 i wykazują hamujący wpływ na wydzielanie IFN- γ przez limfocyty T [4].

Wykazano również, że mykofenolan mofetilu (MMF) oddziałuje także bezpośrednio na dojrzewanie komórek DC i pogarsza ich zdolność do indukowania komórkowej odpowiedzi immunologicznej *in vivo*. To badanie pośrednio wskazuje na istotną rolę enzymu dehydrogenazy inozynomonofosfatydowej (IMPD) dla aktywacji komórek DC, hamowanego przez MMF [1,4].

Dowodzono także, że komórki DC preinkubowane z rapamycyną (RAPA), po podaniu myszom są słabymi producentami cytokin zapalnych: IL-12 i TNF- α oraz powodują brak reaktywności limfocytów T na stymulację specyficznymi antygenami. Wpływ RAPA na komórki DC wydaje się być częściowo związany z regulacją ekspresji receptora dla IL-4 [18,21]. Podobne zmiany pod wpływem RAPA zaobserwowano również w fenotypie i działaniu ludzkich komórek DC wywodzących się z monocytów [21]. Niemniej jednak, leczenie RAPA nie blokuje związania przez

komórki DC alloantygenów, ani też nie osłabia migracji tych komórek do wtórnych narządów limfatycznych *in vivo* [28].

Inżynieria genetyczna jest kolejną metodą umożliwiającą oddziaływanie na komórki DC. Genetyczne modyfikacje komórek DC pochodzących od dawcy przeszczepu, m.in. modyfikacje genów dla IL-10, FasL, TGF- β i CTLA4-Ig, blokują ich dojrzewanie w tkankach biorcy [5,9,21]. W wyniku tych zmian dochodzi do: hamowania lub blokowania ekspresji powierzchniowych cząsteczek kostymulujących i przesunięcia odpowiedzi limfocytów T w kierunku Th2, zapobiegania proliferacji allogenicznym limfocytów T, indukowania i utrzymywania anergii limfocytów T oraz promowania delekcji (poprzez apoptozę) klonów limfocytów T specyficznych względem danego antygeny [19,21].

Modyfikacja genów odbywa się za pomocą wektorów adenowirusowych oraz retrowirusowych. Wektory retrowirusowe kodujące gen dla CTLA4-Ig mogą być użyte do transdukowania pochodzących ze szpiku mysich mieloidalnych komórek DC, podawanych podskórnie biorcom. Migrują one do tkanki limfoidalnej biorcy, gdzie ekspresja CTLA4-Ig może być wykryta przy użyciu badań immunohistochemicznych [4]. Jednak efektywność transdukcji z wektorami retrowirusowymi jest niska (30–40%). Wyższą wydajność (90–100%) osiąga się przy transdukcji terapii genowej wektorami adenowirusowymi, ale może wiązać się ona z dojrzewaniem komórek DC [4]. Zdolność do indukowania dojrzewania komórek DC poprzez aktywację NF- κ B ogranicza skuteczność komórek DC transdukowanych wektorami adenowirusowymi [19,21]. Wykazano jednak, że antysensowne NF- κ B oligodeoksyrybonukleotydy (ODNs) trwale hamują dojrzewanie komórek DC, zapobiegając translokacji NF- κ B w obrębie jądra. W przypadku, kiedy dochodzi do transdukcji wektorami adenowirusowymi kodującymi CTLA4-Ig, stabilne, niedojrzałe komórki DC dawcy znacznie wydłużają przeżycie mysiego alloprzeszczepu serca (>100 dni). Podobne wyniki otrzymano, kiedy mysie komórki DC były transdukowane genami kodującymi FasL oraz IL-10 [4,21].

PODSUMOWANIE

Indukcja tolerancji przeszczepu, specyficznej dla alloantygenów dawcy i niezależnej od leków, wydaje się być coraz bardziej możliwa do przeprowadzenia w warunkach klinicznych. Obniżenie odpowiedzi immunologicznej, skierowanej przeciwko antygenom przeszczepu, za pomocą oddziaływania na komórki DC dawcy *ex vivo* i późniejszego podania ich biorcy, jest obiecującą drogą rozwoju strategii terapeutycznych mających na celu poprawienie wyników transplantacji komórek i narządów [4,16].

PIŚMIENNICTWO

- [1] ADORINI L, GIARRATANA N, PENNA G. Pharmacological induction of tolerogenic dendritic cells and regulatory T cells. *Semin Immunol* 2004; **16**: 127–134.
- [2] BONASIO R, ANDRIAN U. Generation, migration and function of circulating dendritic cells. *Curr Opin Immunol* 2006; **18**: 503–511.
- [3] CHANSSABEL D, BANCHEREAU J. Dendritic cells, therapeutic vectors of immunity and tolerance. *Am J Transplant* 2005; **5**: 205–206.
- [4] COATES PTH, COLVIN BL, HACKSTEIN H, THOMSON AW. Manipulation of dendritic cells as an approach to improved outcomes in transplantation. www-remm.cbcu.cam.ac.uk; expert reviews in molecular medicine 18.02.2002.
- [5] COATES T, KRISHNAN R, RUSS R. Dendritic cells, tolerance and transplantation. *Nephrology* 2000; **5**: 125–131.
- [6] CORTESINI R, LeMAOULT J i wsp. CD8⁺ CD28⁻ T suppressor cells and the induction of antigen specific, antigen-presenting cell-mediated suppression of Th reactivity. *Immunol Rev* 2001; **182**: 201–206.
- [7] CORTHAY A. A three-cell model for activation of naive T helper cells. *Scand J Immunol* 2006; **64**: 93–96.
- [8] COQUERELLE C, MOSER M. Are dendritic cells central to regulatory T cell function? *Immunol Lett* 2008; **119**: 12–16.
- [9] EHSER S, CHUANG JJ, KLEIST C, SANDRA-PETRESCU F, IANCU M, WANG D, OPELZ G. Suppressive dendritic cells as a tool for controlling allograft rejection in organ transplantation: Promises and difficulties. *Human Immunol* 2008; **69**: 165–173.
- [10] ETTEN E, MATHIEU C. Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D₃: Basic concepts. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005; **97**: 93–101.
- [11] FEHR T, HASPOT F, MOLLOV J i wsp. Alloreactive CD8 T cell tolerance requires recipient B cells, dendritic cells, and MHC class II. *J Immunol* 2008; **181**: 165–173.
- [12] GROUX H, FOURNIER N, COTTREZ F. Role of dendritic cells in the generation of regulatory T cells. *Semin Immunol* 2004; **16**: 99–106.
- [13] HELDEN SFG, LEEUWENB FN, FIGDORA CG. Human and murine model cell lines for dendritic cell biology evaluated. *Immunol Lett* 2008; **117**: 191–197.
- [14] JIANG S, LECHLER R. Regulatory T Cells in the Control of Transplantation Tolerance and Autoimmunity. *Am J Transplant* 2003; **3**: 516–524.
- [15] JONULEIT H, SCHMITT E, STEINBRINK K, ENK AH. Dendritic cells as a tool to induce anergic and regulatory T cells. *Trends Immunol* 2001; **22**: 7.
- [16] LECHLER R, NG WF, STEINMAN RM. Dendritic Cells in transplantation – friend or foe? *Immunity* 2001; **14**: 357–368.
- [17] LUTZ MB, SCHULER G. Immature, semi-mature and fully mature dendritic cells: which signals induce tolerance or immunity?. *Trends Immunol* 2002; **23**: 445–448.
- [18] McCURRY K, COLVIN B, ZAHORCHAK A, THOMSON A. Regulatory dendritic cell therapy in organ transplantation. *Eur Soc Organ Transplant* 2006; **19**: 525–538.
- [19] MOREL PA, FEILI-HARIRI M, COATES PT, THOMSON A. Dendritic cells, T cell tolerance and therapy of adverse immune reactions. *Clin Exp Immunol* 2003; **133**: 1–10.
- [20] MORELLI AE, HACKSTEIN H, THOMSON AW. Potential of tolerogenic dendritic cells for transplantation. *Immunology* 2001; **13**: 323–335.
- [21] MORELLI AE, THOMSON AW. Dendritic cells: regulators of alloimmunity and opportunities for tolerance induction. *Immunol Rev* 2003; **196**: 125–146.
- [22] NARANJO-GOMEZ M, FERNANDEZ MA, BOFILL M, SINGH R, NAVARRETE CV. Primary alloproliferative Th1 response induced by immature plasmacytoid dendritic cells in collaboration with myeloid DCs. *Am J Transplant* 2005; **5**: 2838–2848.
- [23] QUAH BJC, O'NEILL HC. Maturation of function in dendritic cells for tolerance and immunity. *J Cell Mol Med* 2005; **9**: 643–654.
- [24] REID SD, PENNA G, ADORINI L. The control of T cell responses by dendritic cell subsets. *Curr Opin Immunol* 2000; **12**: 114–121.
- [25] SUCIU-FOCAN, MANAVALAN JS, CORTESINI R. Generation and function of antigen-specific suppressor and regulatory T cells. *Transplant Immunol* 2003; **11**: 235–244.

- [26] SUCIU-FOCA N, MANAVALAN J i wsp. Molecular characterization of allospecific T suppressor and tolerogenic dendritic cells. *Int Immunopharmacol* 2005; **5**: 7–11.
- [27] TABARKIEWICZ J, ROLIŃSKI J. Rola komórek dendrytycznych w patogenezie chorób człowieka i ich praktyczne wykorzystanie w immunoterapii. *Acta Haematol Pol* 2006, **37**, 1: 195–202.
- [28] TANER T, HACKSTEIN H, WANG Z, MORELLIAE, THOMSON AW. Rapamycin-treated, alloantigen-pulsed host dendritic cells induce ag-specific T cell regulation and prolong graft survival. *Am J Transplant* 2005; **5**: 228.
- [29] YAO V, PLATELL C, HALL JC. Dendritic Cells. *ANZ J Surg* 2002; **72**: 501–506.
- [30] YI H, ZHANG L, ZHEN Y, HE X, ZHAO Y. Dendritic cells induced in the presence of GM-CSF and IL-5. *Cytokine* 2007; **37**: 35–43.
- [31] YOUNG JW, MERAD M, HART DNJ. Dendritic cells in transplantation and immune-based therapies. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007; **13**: 23–32.

Redaktor prowadzący – Barbara Płytycz

Otrzymano: 01.09. 2009 r.

Przyjęto: 01.10. 2009 r.

Maja Budziszewska

Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Zakład Immunologii

02-096 Warszawa, ul. Miecznikowa 1