

UDZIAŁ GLIKOPROTEIN W ODPORNOŚCI

THE ROLE OF GLYCOPROTEINS IN IMMUNITY

Joanna ŚLIWA-DOMINIAK, Wiesław DEPTUŁA

Katedra Mikrobiologii i Immunologii, Wydział Nauk Przyrodniczych,
Uniwersytet Szczeciński

Streszczenie: Przedstawione w pracy glikany to struktury biorące udział w wielu procesach immunologicznych, które pokrywają powierzchnię wszystkich komórek, do których przyłączane są w procesie zwanym glikozylacją. Są rozpoznawane przez różnego rodzaju receptory obecne lub wydzielane przez komórki układu odpornościowego, wśród których najbardziej istotnymi są galektyny, lektyny typu C oraz receptory Siglec. W pracy scharakteryzowano te grupy receptorów oraz przedstawiono rolę tych receptorów w procesach odporności wrodzonej i nabytej.

Słowa kluczowe: glikany, glikozylacja, odporność wrodzona, odporność nabyta, galektyny, lektyny typu C, Siglec.

Abstract: Glycans are structures involved in many immunological processes. They covers the surfaces of all cells and they are added to protein and lipid backbones in the process called glycosylation. These molecules are recognized by variety of receptors presented or secreted by some of immunological system cells. Three the most significant receptors that recognize glycans has been described and these are galectins, C-type lectins and Siglecs.

Key words: glycans, glycosylation, innate immunity, adaptive immunity, galectins, C-type lectins, Siglecs.

1. WSTĘP

Glikany są to wielocukry określane także jako struktury glikozowe. Są złożonymi biopolimerami, które w organizmach ssaków tworzą rozgałęzione związki. Pokrywają one powierzchnie wszystkich komórek, a cały repertuar tych struktur glikozowych określany jest jako glikom. Po ich przetransportowaniu z retikulum endoplazmatycznego (ER) do aparatu Golgiego i błon komórkowych przyłączane są do szkieletów białkowych oraz lipidowych w procesie zwanym glikozylacją [4,26,48]. Glikozylacja jest to proces potranslacyjnej modyfikacji, podczas której w odpowiednie miejsce w łańcuchu polipeptydowym lub tłuszczowym dołączane są łańcuchy cukrowe. Glikoproteiny są strukturami powstałymi w wyniku glikozylacji przez połączenie grup

węglowodanowych z wieloma różnymi białkami [4,26]. Glikozylacja białek zachodzi wewnątrz retikulum endoplazmatycznego (ER) i aparatu Golgiego (AG) [4,26]. W procesie tym bierze udział m.in. enzym glikozylotransferaza – katalizujący przeniesienie cukrów z donora do substratu oraz tworzenie wiązań glikozydowych oraz glikozydaza – hydrolizująca wiązania glikozydowe w strukturach glikanów [26,48].

Obecnie wyodrębnia się N- i O-glikozylację [4,48,26], a kluczowym elementem determinującym zakres i naturę tego procesu jest obecność miejsc N- i O-glikozylacji oraz obecność lub brak w ER glikozylotransferaz i glikozydaz [48]. Wykazano, że wiele patogenów zarówno prokariotycznych, jak i eukariotycznych, np. meningokoki, *Helicobacter* sp. czy *Trypanosoma* sp., zawiera stale na swojej powierzchni lub wydziela na niej substancje – glikokonjugaty, o strukturze podobnej do glikanów ssaków [48]. Struktury glikanowe są rozpoznawane przez różnego rodzaju wiążące je receptory, które określane są jako lektyny. Lektyny są to białka obdarzone zdolnością swoistego rozpoznania i wiązania cukrów lub substancji zawierających powierzchniowe oligosacharydy [26]. Wykazano, że najbardziej istotnymi receptorami zaangażowanymi w rozpoznawanie glikanów są lektyny typu C (*calcium-requiring*), lektyny typu S (galektyny) oraz receptory Siglec (*sialic acid binding Ig-like lectins*) (tab.1). Są one związane z błonami komórkowymi i wykazują obecność jednej lub więcej domen lektynowych – CRD (*carbohydrate recognition domain*) rozpoznających węglowodany, co wzmacnia ich różnorodność zapewniając selektywność oddziaływania z ligandami [11,26,28,37,48,51].

Lektyny typu C (CLR) (tab.1) są to białka wiążące cukry, zależne od Ca^{+} [16,22,51,52]. Większość z nich to receptory mające jeden lub więcej regionów CRD wiążących glikany [48]. Receptory CLR ze względu na motywy aminokwasowe zaangażowane w wiązanie cukrów dzielą się na dwie kategorie/typy: I typ to specyficzne dla mannozy lektyny typu C zawierające motyw aminokwasowy EPN (Glu-Pro-Asn), rozpoznające glikany zakończone mannozą i/lub fukożą oraz typ II – lektyny specyficzne dla galaktozy, zawierające motyw QPD (Gln-Pro-Asp) i rozpoznające glikany zakończone galaktozą lub N-acetyloglukozaminą (GalNAc) [5,6,11,22]. Wykazano, że ten ostatni typ CLR występuje głównie na komórkach prezentujących antygen (APC), w tym na komórkach dendrytycznych (DC) i makrofagach, choć także zidentyfikowano je na komórkach NK i komórkach endotelialnych [16,51,52]. Opisano, że w czasie dojrzewania komórek DC rejestruje się na nich zmiana ekspresji CLR [16]. Stwierdzono, że CLR, takie jak: DC-SIGN (*Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin*), L-SIGN (*liver/lymph node specific ICAM-3-grabbing nonintegrin*), receptor mannozowy, lektyna MGL (*macrophage galactose-specific lectin*), a także langeryna charakteryzują się specyficznością względem glikanów zawierających duże ilości mannozy i fukozy (Lewis^{a,b,x,y}), GalNAc (N-acetylogalaktozaminę) lub GlcNAc (N-acetyloglukozamina) [2,8,15,37,50]. Struktury te mogą się znajdować nie tylko na komórkach ssaczych, ale także na patogenach, co wskazuje na ich podwójną rolę w rozpoznawaniu interakcji gospodarz-patogen i odpowiedzi komórek UO [48]. Obecnie wykazano, że receptor DC-SIGN bierze udział w rozpoznawaniu wielu

TABELA 1 Główne lektyny zaangażowane w rozpoznawanie glikanów
 TABLE 1. Principal lectins engaged in glycans recognizing

Nazwa lektyny	Rodzaje	Występowanie	Funkcje
LEKTYNY TYPU C	Typ I – specyficzne dla mannozy, zawierające motyw aminokwasowy EPN Typ II -- specyficzne dla galaktozy, zawierające motyw aminokwasowy QPD	Komórki APC, w tym DC, makrofagi, komórki NK i endotelialne	Udział w rozpoznawaniu interakcji gospodarz-patogen, w tym patogenów wirusowych (np. wirus HIV), bakteryjnych (np. <i>Mycobacterium tuberculosis</i>) i grzybiczych (np. <i>Candida albicans</i>), udział w odpowiedzi komórek UO
LEKTYNY TYPU S (galektyny)	Galektyna 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15	Głównie limfocyty T i B, limfocyty T _{reg} makrofagi	Udział w rozpoznawaniu zakażeń wirusowych (np. wirus Nipah), bakteryjnych (np. <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>N. gonorrhoeae</i> , <i>Helicobacter pylori</i>), grzybiczych (np. <i>C. albicans</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>) i pasożytniczych (np. <i>Leishmania major</i> , <i>Schistosoma mansoni</i>)
SIGLEC	Siglec związane z CD33 (Siglec-3,5,6,7,8,9,10,11,14) Siglec związane z siatko adhezyjną (Siglec-1,2,4)	Neutrofile, monocyty, limfocyty B, komórki DC, NK, eozynofile, bazoofile i po części limfocyty T	Udział w rozpoznawaniu patogenów oraz komunikacji między komórkami UO

patogenów, np. *Mycobacterium tuberculosis*, HIV-1 czy *Candida albicans*. Rozpoznawanie to odbywa się przez wiązanie mannozy i fukozy, co pobudza poprzez komórki DC odpowiedź immunologiczną, w której uczestniczy także receptor TLR 4 [22]. Stwierdzono, że typowe CLR wykazują swoistość względem zgrupowanych glikanów – poliwalencję. Poliwalencja często wywoływana jest przez ekspresję glikanów na szkielecie łańcucha białkowego, który zawiera dużą liczbę powtarzających się podjednostek, m.in. cząsteczek mucynopodobnych albo w wyniku obecności dużej ilości kopii danego białka mającego specyficzne glikany [48]. Udowodniono, że lektyny typu C służą nie tylko jako wzorce do rozpoznawania receptorów wielu patogenów, ale także mogą być receptorami powodującymi wychwytywanie i prezentowanie antygenów oraz zwiększanie adhezji [22,49].

Lektyny typu S (galektyny) (tab.1) jest to rodzina rozpuszczalnych lektyn, które rozpoznają glikany zawierające disacharydy: N-acetylolaktozaminę (Gal- β (1-4)-GlcNAc:Gal, galaktozę, GlcNAc, N-acetyloglukozaminę). Są one zbudowane z rdzenia strukturalnego i domeny CRD [28,30,35,48] złożonej z około 130 aminokwasów [26,28,33,46]. U ssaków zidentyfikowano ponad 15 różnych galektyn [36], z których galektyny 1, 2, 5, 7, 10, 11, 13, 14 i 15 określane są jako galektyny „prototypowe” i mają jedną domenę CRD, która może dimeryzować [35,36]. Natomiast galektyny 4,6,8,9 i 12 zawierają w pojedynczym łańcuchu polipeptydowym dwie homologiczne domeny CRD, które są oddzielone od siebie około 70 aminokwasami [48]. Unikalna w swojej budowie jest galektyna-3 ze względu na połączenie domeny CRD z nielektynowym N- terminalnym regionem (około 120 aminokwasów) odpowiedzialnym m.in. za oligomeryzację lektyn i łączenie się jej z ligandem [28,30,31]. Wykazano, że galektyny 1 i 3 są rozpowszechnione w wielu tkankach, zaś galektyny 4 i 10 mają bardziej ograniczoną lokalizację [48]. W UO galektyny występują przede wszystkim na zaktywowanych limfocytach T i B, a także na komórkach Treg i makrofagach [30,35]. Substancje te oddziałują na UO przez interakcje z glikanami zawierającymi β -galaktozyd, aczkolwiek te działania nie są tak dobrze poznane jak w przypadku aktywacji przez receptory TLR [36]. Galektyny biorą udział w rozpoznaniu zakażeń grzybiczych na tle *Candida albicans* (C.) czy *Saccharomyces cerevisiae* (S.) oraz w interakcjach pomiędzy pasożytem, a makrofagami gospodarza [36]. Ponadto mają zdolność rozpoznawania lipooligosacharydów czy oligosacharydów otoczkowych u wielu bakterii, w tym *Neisseria meningitidis*, *N. gonorrhoeae* czy *Helicobacter pylori* [36]. Zarejestrowano także udział galektyny 1 w rozpoznaniu wirusa Nipah przez wiązanie się ze specyficznymi N-glikanami występującymi w glikoproteinach wirusowych. Przyjmuje się, że np. galektyna 3 wiążąc się z bakteryjnym LPS-em hamuje jego działanie, w tym szczególnie w zakresie aktywacji procesu zapalnego [36]. W pracy tej [36] dowiedziono także, że przeciwgrzybicza aktywność galektyn wobec *C. albicans* wynika ze specyficznego bezpośredniego wiązania się z β 1,2-oligomannami tego zarazka [36]. Wykazano, że galektyny 3 i 9 mogą wiązać się z lipofosfoglikanami *Leishmania major* [36]. Dodatkowo zarejestrowano, że galektyna 3 działa podobnie jak PRR (*pattern recognition receptor*) dla glikanów zawierających LacdiNAc (GalNAc β 1-4GlcNAc), które wykazano na *Schistosoma mansoni* [36].

Receptory Siglec (tab.1) jest to rodzina białek membranowych, które różnią się między sobą liczbą domen immunoglobulinowych [48]. Na podstawie podobieństwa sekwencji aminokwasowych oraz konserwatywności ewolucyjnej podzielono je na dwa typy: Siglec związane z CD33 (Siglec-3,5,6,7,8,9,10,11 i 14) oraz Siglec związane z sialoadhezyną – Siglec 1 lub CD169, MAG (*myelin-associated glycoprotein*) – Siglec 4 i Siglec 2 – CD22 [11]. Wykazano, że białka te są swoiste dla glikanów zawierających kwas sialowy, z których najbardziej znanym jest kwas N-acetyloneuraminowy [7,34,37]. Stwierdzono, że struktury zawierające kwas sialowy znajdują się na niereducyjnych końcach łańcuchów oligosacharydowych N- lub O-glikanów albo na glikosfingolipidach [48]. Ponadto wykazano, że wszystkie białka Siglec rozpoznają struktury zawierające kwas sialowy, ale różnią się sposobem rozpoznawania specyficznych wiązań ($\alpha(2-3)$, $\alpha(2-6)$ lub $\alpha(2-8)$), które wiążą ten kwas z glikanem [48]. Obecnie zidentyfikowano 13 różnych białek należących do grupy Siglec, które powszechnie występują na ludzkich neutrofilach, monocytach, limfocytach B, komórkach DC, NK, eozynofilach, bazofilach oraz słabo na limfocytach T [48]. Przyjmuje się, że obecność kwasu sialowego na patogenach wskazuje na podwójną rolę białek Siglec, jako że biorą udział w rozpoznawaniu patogenów oraz komunikacji między komórkami UO [11].

2. ROLA GLIKOPROTEIN W ODPORNOŚCI WRODZONEJ

Wykazano, że u podłoża mechanizmów identyfikowania bakterii, wirusów, grzybów i pasożytów leży zdolność UO do rozpoznawania u nich glikanów [48]. Rozpoznanie to odbywa się przede wszystkim przez receptory Toll-podobne (TLR), które mają zdolność do wiązania glikanów bakteryjnych, ale również przez receptory CLR obecne na wielu komórkach UO, a w szczególności na komórkach APC, w tym komórkach DC i makrofagach, a także komórkach NK i endotelialnych [3,43,48]. Stwierdzono, że w czasie rozpoznawania patogenów przez wiązanie się z glikanami dochodzi także do wiązania się z cząsteczkami antygenów zgodności tkankowej klasy I i II (MHC I i II). W reakcji tej biorą udział głównie receptory CLR, w tym receptor mannozowy lektyn typu C znajdujący się na komórkach DC (CD206), receptory DC-SIGN (CD209), MGL (*macrophage galactose-binding c-type lectin*) (CD301) oraz dektyna I i langeryna – receptory znajdujące się na komórkach Langerhansa (LC) [9,16,49].

W przypadku receptorów CLR wykazano, że nie tylko uwydatniają one prezentację antygenów, ale także usprawniają indukcję komórek T na antygeny [21]. Receptory te (CLR), mogą często rozpoznawać glikany znajdujące się na komórkach UO ssaków, a które nie są związane z patogenami [48]. To one, jako znaczniki sygnałne razem z receptorami TLR, przez wpływ na ekspresję genów cytokin dostarczają wielu informacji odnośnie specyficznych patogenów również w trakcie różnicowania się komórek DC i w czasie formowania odpowiedzi odpornościowej [22,25,37,38,45,50]. Dobrze opisanym przykładem jest działanie dektyny 1 –

receptora CLR, który po rozpoznaniu struktur β -glukanu grzybów wyzwała sygnał kinazy tyrozynowej Syk, co prowadzi do aktywacji białka p38 oraz wzbudzenia kaskady kinaz Erk i JNK, co w konsekwencji prowadzi do transkrypcji czynnika NF- κ B [22,48]. Wykazano, że do wzbudzenia tej drogi potrzebna jest cząsteczka adaptorowa CARD9 (*caspase recruitment domain family, member 9*), która formuje kompleksy wraz z cząsteczką sygnałną Bcl-10 (*B-cell CLL/lymphoma 10*) i MALT1 (*Mucosa Associated Lymphoid Tissue Lymphoma Translocation Gene 1*). W ten sposób receptory CLR niezależnie od receptorów TLR wpływają na regulację ekspresji genów [22,29]. Ponadto wykazano, że cząsteczka DC-SIGN należąca do receptorów CLR rozpoznaje komponenty glikanów patogenów przez aktywację kinazy Raf-1, co prowadzi do fosforylacji oraz do acetylacji zaktywowanej podjednostki p65 – czynnika NF- κ B i w dalszej kolejności do wzrostu transkrypcji genów wybranych cytokin [23]. Stwierdzono, że rozróżnienie ścieżek sygnałnych dektyn i ścieżek sygnałnych DC-SIGN jest zależne od aktywacji czynnika NF- κ B indukowanego przez receptory TLR [23]. Wykazano, że patogeny, które pobudzają receptory CLR i TLR, modulują odpowiedź komórek DC zależną od specyficznych dla tych patogenów znaczników glikanowych [48]. Dowiedziono, że wysoko mannozowe struktury, np. cząsteczka Mamlam, występujące w ścianie komórkowej *Mycobacterium tuberculosis*, pobudzają receptor mannozowy oraz DC-SIGN i indukują sygnały prowadzące do produkcji cytokin przeciwzapalnych, takich jak np. Il-10 [48]. Natomiast składniki ściany komórkowej *H. pylori*, jakimi są antygeny glikanowe Lewis^x (CD15) i Lewis^y (CD174), nie tylko pobudzają znajdujące się na komórkach DC receptory DC-SIGN, ale także indukują sygnały prowadzące do różnicowania limfocytów T w limfocyty T pomocnicze typu 2 (T_h2) (29). Ponadto wykazano, że langeryna znajdująca się na komórkach Langerhansa (LC), przez rozpoznanie mannozowej cząsteczki gp120 wirusa HIV-1 prowadzi do jego eliminacji, natomiast DC-SIGN będący na komórkach DC uwydatnia jego infekcyjność [13,19,20,40]. Stwierdzono, że MGL (CD301) należąca do lektyn typu C wykazuje specyficzność względem końcowego α - lub β -GalNAc i może rozpoznawać filowirusy oraz takie pasożyty, jak *Schistosoma masoni*, które mają części terminalne GalNAc [42,50].

Analizując galektyny wykazano, że wpływają one na odporność naturalną przez reakcje z glikokonjugatami bogatymi w β -galaktozydazę występującymi u wielu patogenów [35]. Wiadome jest, że np. galektyna-3 wiąże się z lipofosfoglikanem występującym u *L. major* [33] i pełni rolę receptora rozpoznającego pasożyty, które mają glikany zawierające sekwencje LacdiNAc (GalNAc β 1-4GlcNAc-R), a nadto może doprowadzać do zmian w uwalnianiu histaminy i syntezy Il-4 przez komórki tuczne [46]. Stwierdzono, że skupiska ligandów rozpoznawanych przez galektynę-3 nie tylko pobudzają neutrofile do fagocytozy i produkcji reaktywnych form tlenu, ale także zwiększają uwalnianie proteaz i wydzielanie Il-8 przez te komórki [48]. Dowiedziono, że galektyna-9 rozpoznając lipofosfoglikan *Leishmania major* pobudza makrofagi do interakcji [33]. Natomiast galektyna-1 hamując degranulację komórek tucznych, blokuje napływ neutrofilów do miejsc zapalnych i przyspiesza działanie

fosfatydyloseryny i apoptozę neutrofilii [48]. Przyjmuje się zatem, że galektyny to cząsteczki mające zdolność do modulowania czynności fizjologicznych różnych komórek UO poprzez cytokiny, adhezję cząsteczek lub przez „synapsy” immunologiczne [48]. W przeciwieństwie do galektyn większość lektyn typu C, a także Siglec-1 to receptory wychytujące antygeny, przez co ułatwiają prezentację ich limfocytom T [48]. Przyjmuje się, że galektyny, lektyny typu C i cząsteczki Siglec to także cząsteczki, które pozytywnie lub negatywnie kierują różnicowaniem komórek DC i w konsekwencji odpowiedzią komórek T [48].

Jeżeli chodzi o cząsteczki Siglec, należy zauważyć, że u około 20 patogennych mikroorganizmów stwierdzono zdolność wykorzystywania kwasu sialowego z organizmu gospodarza lub jego części do syntezy ich glikokonjugatów [48]. Stwierdzono, że sjalizacja tych glikokonjugatów jest istotnym procesem dla przeżycia patogenów w organizmie gospodarza, ponieważ upodabniają się one do komórek gospodarza (mimikra molekularna). W ten sposób mogą „odpierać” proces fagocytozy lub pobudzać hamujące działanie cząsteczki Siglec, a więc działać supresyjnie na UO [48]. Wykazano, że w przypadku takich patogenów, jak: *N. meningitidis*, *Campylobacter jejuni*, *Streptococcus* grupy B oraz *Trypanosoma cruzi*, w interakcjach gospodarz-patogen biorą udział cząsteczki Siglec-1, 5 i 7 [11,12]. Ponadto zarejestrowano, że Siglec-H znajdujący się na mysich plazmoidalnych komórkach DC odgrywa istotną rolę w odporności przeciw-wirusowej, w tym w „wychwytywaniu” wirusów [48]. Odnotowano, że receptor ten funkcjonuje jako znacznik, który internalizuje antygen do prezentacji limfocytom T [6]. Dodatkowo zarejestrowano, że Siglec-F i G działają hamująco na aktywację komórek T i B i w ten sposób wpływają hamująco na regulację nabytej odpowiedzi immunologicznej [48].

3. UDZIAŁ GLIKOPROTEIN W ODPORNOŚCI NABYTEJ

Wykazano, że większość komórek UO jest bardzo bogatych w kwas sialowy, co chroni je przed rozpoznaniem przez receptory CLR [48]. Jednakże stwierdzono również, że kiedy komórki modyfikują swój „wzór” sializacji (sposób ułożenia kwasu sialowego), glikany są wystawione na interakcje „CLR-ligand” [48]. Biorąc ten fakt pod uwagę stwierdzono, że formowanie synaps „komórka DC-limfocyty T” może być regulowane przez cząsteczki DC-SIGN i adhezję cząsteczek ICAM-3 obecnych na populacji komórek T [48]. Stwierdzono, że DC-SIGN może oddziaływać z cząsteczkami ICAM-2 zawierającymi antygeny Lewis^y, co jest kontrolowane przez fukozylotransferazę FUT1 (fukozylotransferaza-1) [48]. Ponadto stwierdzono, że neutrofile, które zawierają duże ilości glikanów mających antygeny Lewis^x (CD15) wykazują większe powinowactwo do wiązania się z niedojrzałymi komórkami DC poprzez DC-SIGN [47]. Dowiedziono, że komórkowe interakcje pomiędzy neutrofilami a niedojrzałymi komórkami DC odgrywają istotną rolę w przejściu odpowiedzi immunologicznej z wrodzonej w nabytą, jako że zaktywowane neutrofile „instruują” komórki DC do dojrzewania, a następnie wywołują sygnał u limfocytów

T [48]. Ponadto neutrofile wykazują wysoką ekspresję FUT-9 (fucylozylotransferaza-9), która zaangażowana jest w biosyntezę specyficznych antygenów Lewis^x [48]. Innym specyficznym ligandem komórkowym dla DC-SIGN jest kostymulująca cząsteczka BTN2A1 (butyrophilina) związana ściśle z receptorem B7 [48]. Również dowiedziono, że w interakcję z subpopulacją komórek T CD4⁺ i/lub CD8⁺ wchodzi także lektyna typu C określana jako MGL, która występuje przede wszystkim na komórkach DC [50]. Stwierdzono, że ligandem dla MGL jest cząsteczka CD45, mająca końcowe struktury GalNAc, które MGL rozpoznaje [48]. Co więcej, wiązanie się MGL z CD45 wywołuje zwiększoną aktywność fosfatazy receptora CD45, co skutkuje apoptozą limfocytów T oraz zmniejszonym wydzielaniem cytokin prozapalnych [48].

Wykazano, że galektyny mogą modulować efektorowe funkcje odpornościowe m.in. przez aktywację komórki UO, w tym syntezę cytokin [48]. Zarejestrowano, że galektyny 1,2,3 oraz 9 mogą wiązać się z różnymi receptorami glikoproteinowymi, występującymi na powierzchni komórek UO oraz mogą sygnalizować różne wewnątrzkomórkowe ścieżki sygnałne, dzięki którym modulują żywotność oraz aktywność komórek UO, głównie limfocytów T [17,32,41,53]. Stwierdzono, że pomimo iż wiele glikoprotein zawiera pokazną liczbę glikokonjugatów zawierających laktozaminę, galektyny wiążą się jedynie z bardzo ograniczoną grupą glikoprotein znajdujących się na powierzchni limfocytów T, a grupa ta obejmuje receptory: CD43, CD45, CD7, CD29, CD71 i TIM-3 [17,27,32,41,53]. Jednakże, to co przede wszystkim ma wpływ na wiązanie się galektyny z powierzchnią limfocytów T, to aktywność różnych glikozylotransferaz stwarzających lub maskujących specyficzne ligandy dla nich [48]. Stwierdzono, że formowanie się synaps pomiędzy komórkami pre-B i komórkami zrębu, które wyzwalają transdukcję sygnału z receptorów komórek pre-B jest zależne od galektyny 1 [39]. Ponadto stwierdzono, że oddziaływanie cząsteczki Siglec-1 zależne od kwasu sialowego może regulować proces wiązania się mucynopodobnych cząsteczek, które są gęsto pokryte O-glikanami, bogatymi w kwas sialowy [44] i dlatego mucynę-1 (MUC-1) oraz receptor CD43 określono jako ligandy specyficzne dla tej cząsteczki (Siglec-1) [48]. Stwierdzono, że te receptory mogą także modulować kontakt na poziomie komórkowym pomiędzy limfocytami T a makrofagami mającymi Siglec-1 [11]. Wykazano, że CD22 (Siglec-2) jest również doskonałym regulatorem sygnalizacji limfocytów B, ich homeostazy oraz czasu życia, co pomaga przekroczyć próg aktywacji komórek B indukowanych antygenem [11]. Dowiedziono, że wiązanie receptora komórek B prowadzi do wzrostu fosforylacji cytoplazmatycznego końca CD22, który powoduje napływ fosfataz (np. SHP1), co powoduje dysregulację sygnalizacji przez receptor BCR na komórkach [48]. Dodatkowo wykazano, że wiele rodzajów cząsteczek Siglec związanych z CD33 (Siglec-3,5,6,7,8,9,10,11 i 14) występuje na dojrzałych neutrofilach, eozynofilach, makrofagach, komórkach DC i komórkach NK [11]. Powodują one nie tylko zahamowanie aktywacji i proliferacji komórek, ale także indukują apoptozę [48]. Takie działanie jest najprawdopodobniej spowodowane obecnością na cytoplazmatycznych „ogonach” cząsteczek Siglec, motywów ITIM [3].

4. UDZIAŁ GLIKOPROTEIN W AUTOIMMUNIZACJI I CHOROBYCH NOWOTWOROWYCH

W wielu chorobach autoimmunizacyjnych, takich jak np. toczeń rumieniowaty układowy, zarówno galektyny, jak i lektyna MGL oddziałują z glikanami [48]. Przykładem mogą być lektyny typu C – langeryny i DC-SIGN, które występują na komórkach LC i DC i mogą być wykorzystane w odporności związanej z nowotworami [48]. Równocześnie lektyny typu C pełnią istotną rolę w modulacji chorób zapalnych i autoimmunizacyjnych [48]. Wykazano, że zmiany w glikozylacji są silnie związane z rozwojem nowotworów i przerzutami [23]. W wielu przypadkach zmiany strukturalne powiązane ze zmianami aktywności jednej lub więcej glikotransferaz w trakcie przemiany zdrowych komórek w nowotworowe [48]. Nadto zmiany w procesie glikozylacji mogą skutkować utratą adhezji komórek związaną ze wzrostem inwazyjności komórek nowotworowych i przenoszenia się ich w dalsze miejsca [48]. Stwierdzono, że przerzutowy potencjał niektórych komórek nowotworowych związany jest ze wzrostem sializacji glikoprotein znajdujących się na powierzchni komórek, co jest zgodne z potwierdzoną zdolnością lektyn wiążących kwas sialowy, np. selektyn do pośredniczenia w komórkowej adhezji oraz w rozległych procesach przerzutowych [48]. Ponadto wykazano, że liczne struktury węglanowe, takie jak Tn (GalNAc- α -Ser/Thr, CD 175), sialowe Tn (*N-acetylneuraminic acid*- α -Ser/Thr; CD175s), disacharyd Thomsen-Friedenreicha (Gal- β (1-3)-GalNAc, CD176) oraz antygeny Lewisa (CD15s) są w komórkach złośliwych wysoce rozregulowane, ale nadal są często używane jako markery diagnostyczne i prognostyczne [14,48]. Wykazano, że *in vitro* i *in vivo* u ludzi i myszy struktury, takie jak przeciwciała i glikany, manifestujące się dużymi zdolnościami wiążącymi mogą być stosowane jako bezpośrednie nośniki szczepionek, pobudzające receptory CLR znajdujące się na komórkach DC, a w dalszej kolejności stymulujące antygen-specyficzną odpowiedź limfocytów T [48].

Wiele faktów wskazuje także na rolę galektyn w supresji chronicznych stanów zapalnych [48]. Odnotowano, że galektyna 1 hamuje chroniczne zapalenia w tych stanach, przez zaburzenia równowagi odpowiedzi immunologicznej w kierunku profilu cytokin T_H2 [48]. Stwierdzono, że komórki efektorowe T_H1 i T_H17 mają wiele glikanów powierzchniowych, które odgrywają ważną rolę w wiązaniu galektyny-1 i śmierci komórki [48]. Nadto, jak wykazały badania komórki T_H2 są odporne na wiązanie się z galektyną 1 przez odmienną $\alpha(2-6)$ sializację powierzchniowych glikoprotein komórkowych [44]. Odnotowano, że myszy pozbawione galektyny 1 (*Lgals^{-/-}*) rozwinęły bardziej specyficzną T_H1 i T_H17 odpowiedź immunologiczną niż myszy typu dzikiego [44]. Dodatkowo stwierdzono, że także galektyna-2 indukuje apoptozę wśród zaktywowanych limfocytów T, natomiast galektyna-9 odgrywa rolę jako specyficzny element w wiązaniu białka TIM-3 [53]. Ostatnie badania pokazują [1], że wspólne działanie TIM-3 oraz galektyny-9 może doprowadzić do stanów zapalnych tkanek przez współdziałanie receptorów TLR znajdujących się na

komórkach DC i ciągłej aktywacji komórek T CD4+ oraz wzrost wydzielania IL-6 [48]. Również jak wynika z obserwacji wielu autorów [48], galektyna 1 przyczynia się do powstania tolerancji immunologicznej poprzez pobudzenie produkcji IL-10, co stwarza warunki do rozprzestrzeniania się limfocytów T produkujących IL-10. Ma to miejsce w mysim modelu autoimmunizacji, np. po utracie płodu w stanach nowotworowych. Galektyna ta, przez modulowanie równowagi cytokin T_h1-T_h2 indukuje apoptozę limfocytów T oraz ułatwia rozprzestrzenianie się komórek T produkujących IL-10 oraz wstrzymuje odpowiedź zapalną i procesy autoimmunologiczne [48]. Warto dodać, że zarówno galektyna-1, jak i -10 występują w nadmiernej ilości w komórkach regulatorowych T CD4+CD25+ i dlatego właśnie one odgrywają istotną rolę w aktywności immunosupresyjnej tych komórek [18,27]. Zarejestrowano, że cząsteczki galektyny-3-N-glikanów mogą m.in. ograniczać gromadzenie się w miejscach synaps immunologicznych, stąd też mogą wpływać pozytywnie na utrzymanie homeostazy komórek T [48]. Ponadto wykazano, że galektyna-1 może interferować z sygnałami receptorów TCR poprzez indukcję częściowej fosforylacji łańcucha TCR- ζ , a tym samym antagonizować takie funkcje komórek T, jak ich proliferacja i wydzielanie IL-2 [10]. Stwierdzono, że geny, a także profile ekspresji białek w przypadku nowotworów prowadzą do identyfikacji galektyn, które są obecne w przypadku większości nowotworów oraz ich przerzutów [48]. Zarejestrowano, że galektyny mogą wpływać na progresję nowotworów poprzez wiele mechanizmów, m.in. modulację transformacji nowotworowej, przeżycie komórek nowotworowych i angiogenezę oraz przerzuty nowotworowe [30]. Nadto wykazano, że wydzielanie galektyny-1 sprzyja aktywności immunosupresyjnej czerniaka, chłoniaka Hodgkina i komórek nowotworowych prostaty [48].

5. PODSUMOWANIE

Glikom to nowe pojęcie, które określa cały repertuar struktur cukrowych znajdujących się na komórkach. W ostatnim czasie zwrócono dużą uwagę na to, że ważną rolę we wzbudzeniu odporności wrodzonej, a także w oddziaływaniach patogen-organizm oraz w homeostazie UO wykazują białka wiążące glikany, w tym lektyny, takie jak galektyny, lektyny typu C i Siglec. Ponadto obecnie wykazano istotność glikozylacji białek, w migracji komórek w organizmie i rozpoznawaniu patogenów. Warto także dodać, że badania związane dotychczas z odczytaniem informacji zakodowanych w glikomie, stwarzają wiele możliwości wykorzystywania ich w biotechnologii i medycynie.

PIŚMIENNICTWO

- [1] ANDERSON AC, ANDERSON DE, BREGOLI L, HASTINGS WD, KASSAM N, LEI C, CHANDWASKAR R, KARMAN J, SU EW, HIRASHIMA M, BRUCE JN, KANE LP, KUCHROO VK, HAFLER DA. Promotion of tissue inflammation by the immune receptor Tim-3 expressed on innate immune cells. *Science* 2007; **318**: 1141–1143.
- [2] APPELMELK BJ, van DIE I, van VLIET SJ, VANDENBROUCKE-GRAULS CMJE, GEIJTENBEEK TBH, van KOOYK Y. Cutting edge: carbohydrate profiling identifies new pathogens that interact with dendritic cell-specific ICAM-3-grabbing nonintegrin on dendritic cells. *J Immunol* 2003; **170**: 1635–1639.
- [3] BARTON GM, MEDZHITOV R. Toll-like receptor signaling pathways. *Science* 2003; **300**: 1524–1525.
- [4] BERG J. M., TYMOCZKO J.L., STRYER L. Biochemia. Wydaw. Naukowe PWN, Warszawa 2005: 306–314.
- [5] BERGMANN M, DEL PRETE G, van KOOYK Y, APPELMELK B. *Helicobacter pylori* phase variation, immune modulation and gastric autoimmunity. *Nat Rev Microbiol* 2006; **4**: 151–159.
- [6] BLASIUS AL, COLONNA M. Sampling and signaling in plasmacytoid dendritic cells: the potential roles of Siglec-H. *Trends Immunol* 2006; **27**: 255–260.
- [7] BLIXT O, COLLINS BE, van den NIEUWENHOF IM, CROCKER PR., PAULSON JC. Sialoside specificity of the Siglec family assessed novel multivalent probes: identification of potent inhibitors myelin-associated glycoprotein. *J Biol Chem* 2003; **278**: 31007–31019.
- [8] BLIXT O, HEAD S, MONDALA T, SCALAN C, HUFLEJT ME, ALVAREZ R, BRYAN MC, FAZIO F, CALARESE D, STEVENS J, RAZI N, STEVENS DJ, SKEHEL JJ, van DIE I, BURTON DR, WILSON IA, CUMMINGS R, BOVIN N, WONG CH, PAULSON JC. Printed covalent glycan array for ligand profiling of diverse glycan binding proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; **101**: 17033–17038.
- [9] BONIFAZ LC, BONNYAY D, CHARALAMBOUS A, DARGUSTE DI, FUJII S, SOARES H, BRIMNES MK, MOLTEDA B, MORAN TM, STEINMAN RM. *In vivo* targeting of antigens to maturing dendritic cells via the DEC-205 receptor improves T cell vaccination. *J Exp Med* 2004; **199**: 815–824.
- [10] CHUNG CD, PATEL VP, MORAN M, LEWIS LA, MICELI LA. Galectin-1 induces partial TCR ζ -chain phosphorylation and antagonizes processive TCR signal transduction. *J Immunol* 2000; **165**: 3722–3729.
- [11] CROCKER PR, PAULSON JC, VARKIA. Siglecs and their roles in the immune system. *Nat Rev Immunol* 2007; **7**: 255–266.
- [12] CROCKER PR. Siglecs in innate immunity. *Curr Opin Pharmacol* 2005; **5**: 431–437.
- [13] de WITTE L, NABATOV A, PION M, FLUITSMA D, de JONG MA, de GRUIJL T, PIGUET V, van KOOYK Y, GEIJTENBEEK TB. Langerin is a natural barrier to HIV-1 transmission by Langerhans cells. *Nat Med* 2007; **13**: 367–371.
- [14] DUBE DH, BERTOZZI CR. Glycans in cancer and inflammation – potential for therapeutics and diagnostics. *Nat Rev Drug Discov* 2005; **4**: 477–488.
- [15] FEINBERG H, CASTELLI R, DRICKAMER K, SEEBERGER PH, WEIS WI. Multiple modes of binding enhance the affinity of DC-SIGN for high mannose N-linked glycans found on viral glycoproteins. *J Biol Chem* 2007; **282**: 4202–4209.
- [16] FIGDOR CG, van KOOYK Y, ADEMA GJ. C-type lectin receptors on dendritic cells and Langerhans cells. *Nat Rev Immunol* 2002; **2**: 77–84.
- [17] FUKOMORI T, TAKENAKA Y, YOSHII T, KIM H-R, HOGAN V, INOHARA H, KAGAWA S, RAZ A. CD29 and CD7 mediate galectin-3-induced type II T-cell apoptosis. *Cancer Res* 2003; **63**: 8302–8311.
- [18] GARIN MI, CHU CC, GOLSHAYAN D, CERNUDA-MOROLLON E, WAIT R, LECHLER RI. Galectin-1: a key effector of regulation mediated by CD4+CD25+ T cells. *Blood* 2007; **109**: 2058–2065.
- [19] GEIJTENBEEK TB, KWON D, TORENSMA R, van VLIET S, van DUIJNHOFEN G, MIDDEL J, CORNELISSEN I, NOTTET H, KEWALRAMANI V, LITTMAN D, FIGDOR CG, van KOOYK Y. DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T cells. *Cell* 2000; **100**: 587–597.
- [20] GEIJTENBEEK TB, TORENSMA R, van VLIET S, van DUIJNHOFEN G, ADEMA G, van KOOYK Y, FIGDOR C. Identification of DC-SIGN, a novel dendritic cell-specific ICAM-3 receptor that supports primary immune responses. *Cell* 2000; **100**: 575–585.
- [21] GEIJTENBEEK TB, van VLIET SJ, ENGERING A, t'HART BA, van KOOYK Y. Self- and nonself-recognition by C-type lectins on dendritic cells. *Ann Rev Immunol* 2004; **22**: 33–54.

- [22] GEIJTENBEEK TB, GRINGHUIS SI. Signalling through C-type lectin receptors: shaping immune responses. *Nat Rev Immunol* 2009; **9**: 465–479.
- [23] GRINGHUIS SI, den DUNNEN J, LITJENS M, van het HOF B, van KOOYK T, GEIJTENBEEK T. C-type lectin DC-SIGN modulates Toll-like receptor signaling via Raf-1 kinase-dependent acetylation of transcription factor NF- κ B. *Immunity* 2007; **26**: 605–616.
- [24] HAKAMORI S. Glycosylation defining cancer malignancy: new wine in an old bottle. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; **99**: 10231–10233.
- [25] HODGES A, SHARROCKS K, EDELMANN M, BABAN D, MORIS A, SCHWARTZ O, DRAKESMITH H, DAVIES K, KESSLER B, McMICHAEL K, SIMMONS A. Activation of the lectin DC-SIGN induces an immature dendritic cell phenotype triggering Rho-GTPase activity required for HIV-1 replication. *Nat Immunol* 2007; **8**: 569–577.
- [26] KŁYSZEJKO-STEFANOWICZ L. Cytobiochemia. Wydawnictwo PWN, Warszawa 2002: 701–704.
- [27] KUBACH J, LUTTER P, BOPP T, STOLL S, BECKER C, HUTER E, RICHTER C, WEINGARTEN P, WARGER T, KNOP J, MULLNER S, WIJDENES J, SCHILD H, SCHMITT E, JONULEIT H. Human CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells: proteome analysis identifies galectin-10 as a novel marker essential for their energy and suppressive function. *Blood* 2007; **110**: 1550–1558.
- [28] LEFFLER H, CARLSSON S, HEDLUND M, QIAN Y, POIRIER F. Introduction to galectins. *Glucoconj J* 2004; **19**: 433–440.
- [29] LEIBUNDGUT-LANDMANN S, GROSS O, ROBINSON MJ, OSORIO F, SLACK EC, TSONI SV, SCHWEIGHOFFE E, TYBULEWICZ V, BROWN GD, RULAND J, REIS E, SOUSA C. Syk- and CARD9-dependent coupling of innate immunity to the induction of T helper cells that produce interleukin 17. *Nat Immunol* 2007; **8**: 630–638.
- [30] LIU FT, RABINOVICH GA. Galectins as modulators of tumor progression. *Nat Rev Cancer* 2005; **5**: 29–41.
- [31] NIEMINEM J, KUNO A, HIRABAYASHI J, SATO S. Visualization of galectin-3 oligomerization on the surface of neutrophils and endothelial cells using fluorescence resonance energy transfer. *J Biol Chem* 2007; **282**: 1374–1383.
- [32] PACLIK D, BERNDT U, GUZY C, DANKOF A, DANESE S, HOLZLOEHNER P, ROSEWICZ S, WIEDENMANN B, WITTIG BM, DIGNASS AU, STURM A. Galectin-2 induces apoptosis of lamina propria T lymphocytes and ameliorates acute and chronic experimental colitis in mice. *J Mol Med* 2008; **86**: 1395–1406.
- [33] PELLETIER I, HASHIDATE T, URASHIMA T, NISHI N, NAKAMURA T, FUTAI M, ARATA Y, KASAI K, HIRASHIMA M, HIRABAYASHI J, SATO S. Specific recognition of *Leishmania major* poly- β -galactosyl epitopes by galectin-9: possible implication of galectin-9 in interaction between *L. major* and host cells. *J Biol Chem* 2003; **278**: 22223–22230.
- [34] POWELL LD, SGROI D, SJOBERG ER, STAMENKOVIC I, VARKI A. Natural ligands of the B cell adhesion molecule CD22 beta carry N-linked oligosaccharides with alpha-2,6-linked sialic acids that are required for recognition. *J Biol Chem* 1993; **268**: 7019–7027.
- [35] RABINOVICH GA, TOSCANO MA, JACKSON SS, VASTA GR. Functions of cell surface galectin-glycoprotein lattices. *Curr Opin Struct Biol* 2007; **17**: 513–520.
- [36] RABINOVICH GA, TOSCANO MA. Turning 'sweet' on immunity: galectin-glycan interactions in immune tolerance and inflammation. *Nat Rev Immunol* 2009; **9**: 338–352.
- [37] ROBINSON MJ, SANCHO D, SLACK EC, LEIBUND-LANDMANN S, REIS E, SOUSA C. Myeloid C-type lectins in innate immunity. *Nat Immunol* 2006; **7**: 1258–1265.
- [38] ROGERS NC, SLACK E, EDWARDS A, NOLTE M, SCHULZ O, SCHWEIGHOFFER E, WILLIAMS D, GORDON S, TYBULEWICZ V, BROWN G. Syk-dependent cytokine induction by Dectin-1 reveals a novel pattern recognition pathway for C type lectins. *Immunity* 2005; **22**: 507–517.
- [39] ROSSI B, ESPELI M, SCHIFF C, GAUTHIER L. Clustering of pre-B cell integrins induces galectin-1-dependent pre-B cell receptor relocalization and activation. *J Immunol* 2006; **177**: 796–803.
- [40] STAMBACH NS, TAYLOR ME. Characterization of carbohydrate recognition by langerin, a C-type lectin of Langerhans cells. *Glycobiology* 2003; **13**: 401–410.
- [41] STILLMAN BN, HSU DK, PANG M, BREWER CF, JOHNSON P, LIU F-T, BAUM LG. Galectin-3 and galectin-1 bind distinct cell surface glycoprotein receptors to induce T cell death. *J Immunol* 2006; **176**: 778–789.

- [42] TAKADAA, FUJIOKA K, TSUIJI M, MORIKAWAA, HIGASHI N, EBIHARA H, KOBASAD, FELDMAN H, IRIMURA T, KAWAOKA Y. Human macrophage C-type lectin specific for galactose and N-acetylgalactosamine promotes filovirus entry. *J Virol* 2004; **78**: 2943–2947.
- [43] TOKARZ-DEPTUŁA B, NIEDŹWIEDZKA P, DEPTUŁA W. Receptory Toll-podobne – nowe znaczniki w immunologii. *Alergia Astma Immunologia* 2006; **11**: 23–28.
- [44] TOSCANO MA, BIANCO GA, ILLAREGUI JM, CORREALE J, HERNANDEZ JD, ZWIRNER NW, POIRIER F, RILEY RM, BAUM LG, RABINOVICH GA. Differential glycosylation of T_h1, T_h2 i T_h17 effector cells selectively regulates susceptibility to cell death. *Nat Immunol* 2007; **8**: 825–834.
- [45] UNDERHILL DM, ROSSNAGLE E, LOWELL CA, SIMMONS RM. Dectin-1 activates Syk tyrosine kinase in a dynamic subset of macrophages for reactive oxygen production. *Blood* 2005; **106**: 2543–2550.
- [46] van der BERG TK, HONING H, FRANKE N, van REMOORTERE A, SCHIPHORST WECM, LIU F-T, DEELDER AM, CUMMINGS RD, HOKKE CH, van DIE I. LacdiNAc-glycans constitute a parasite pattern for galectin-3-mediated immune recognition. *J Immunol* 2004; **173**: 1902–1907.
- [47] van GISBERGEN KP, GEIJTENBEEK TB, van KOOYK Y. Close encounters of neutrophils and DCs. *Trends Immunol* 2005; **26**: 626–631.
- [48] van KOOYK Y, RABINOVICH GA. Protein-glycan interactions in the control of innate and adaptive immune responses. *Nat Immunol Rev* 2008; **9**: 593–601.
- [49] van KOOYK Y, GEIJTENBEEK TB. DC-SIGN: escape mechanism for pathogens. *Nat Rev Immunol* 2003; **3**: 697–709.
- [50] van VLIET SJ, SAELAND E, van KOOYK Y. Sweet preferences of MGL: carbohydrate specificity and function. *Trends Immunol* 2008; **29**: 83–90.
- [51] WEIS WI, TAYLOR ME, DRICKAMER K. The C-type lectin superfamily in the immune system. *Immunol Rev* 1998; **163**: 19–34.
- [52] ZELENSKY AN, GREASY JE. The C-type lectin-like domain superfamily. *FEBS J* 2005; **272**: 6179–6217.
- [53] ZHU C, ANDERSON AC, SCHUBART A, XIONG H, IMITOLAJ, KHOURY SJ, ZHENG X, STROM TB, KUCHROO VK. The TIM-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity. *Nat Immunol* 2005; **6**: 1245–1252.

Redaktor prowadzący – Jan Żeromski

Otrzymano: 24.03. 2010 r.

Przyjęto: 21.04. 2010 r.

Prof. dr hab. Wiesław Deptuła

Katedra Mikrobiologii i Immunologii, Uniwersytet Szczeciński,

ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin,

email: kurp13@univ.szczecin.pl