

ARTYKUŁY PRZEGLĄDOWE

ANTONI J. FUROWICZ, DANUTA CZERNOMYSY-FUROWICZ

Właściwości immunoregulacyjne śródnabłonkowych limfocytów T oraz innych komórek tkanki limfoidalnej błon śluzowych

Katedra Immunologii i Mikrobiologii Wydziału Zootechnicznego AR, ul. Doktora Judyma 24, 71-460 Szczecin

Występowanie populacji śródnabłonkowych limfocytów T pomiędzy komórkami nabłonka błony śluzowej przewodu pokarmowego oraz innych błon śluzowych (zazwyczaj poniżej rzędu jąder nabłonka), odgrywa ważną rolę w genezie mechanizmów tolerancji pokarmowej (oral tolerance) oraz w niektórych procesach odporności przeciwwakaźnej związanej z tą tkanką (mucosa-associated lymphoid tissue – MALT). Limfocyty te (intraepithelial lymphocytes – IEL), jak również inne komórki związane z błonami śluzowymi (enterocyty, śródnabłonkowe komórki prezentujące antygen, komórki dendrytyczne grudki, limfocyty B o właściwościach prezentowania antygenów), są odpowiedzialne za przebieg procesów immunoregulacyjnych, decydujących o stanie zdrowia lub choroby pacjenta (2-4, 9, 12-14).

Właściwości morfologiczne i funkcjonalne IEL

Stwierdzono, że migracja komórek IEL do komórek nabłonkowych jelita jest niezależna od oddziaływania antygeny, ponieważ ich obecność w nabłonku została odnotowana jeszcze przed porodem (4). Komórki IEL, występujące w nabłonku jelitowym posiadają z reguły cząsteczkę CD3 (3, 4). Oznacza to, iż w błonie tych limfocytów cząsteczka ta o charakterze struktury powierzchniowej jest związana z ich receptorem (TCR). Pośredniczy ona w przekazywaniu sygnału aktywującego z receptora limfocytu T, który związał antygen do wnętrza komórki. Kompleks TCR-CD3 pozostaje w błonie komórkowej w kontakcie z molekułami: CD2, CD5 i CD4 lub CD8 (6, 8). Wykazano, że wśród komórek IEL dominujących w jelicie występują limfocyty T (CD8⁺) fenotypu cytotoksyczno/supresorowego, podczas gdy w *lamina propria* przeważają zdecydowanie komórki T (CD4⁺) (fenotyp: helper/inducer) (1).

Wielokrotnie w komórkach IEL odnotowywano obecność ziaren azurofilnych, barwiących się me-

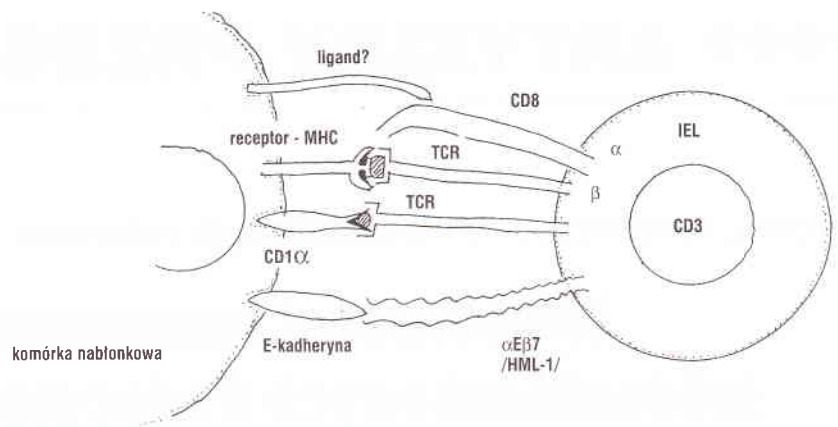
tachromatycznie błękitem toluidyny, zbliżonych do ziaren komórek tucznych (10). U człowieka najczęściej tych komórek występuje w jelicie czczym (20 limfocytów na 100 komórek nabłonka), nieco mniej w jelicie krętym (13 na 100 enterocytów) i niewiele w okrężnicy (5 na 100 komórek nabłonka) (10). Znaczna liczba komórek IEL występujących w nabłonku jelita u laboratoryjnych gryzoni posiada na swojej powierzchni receptory TCR $\gamma\delta$. U człowieka natomiast liczba limfocytów TCR $\gamma\delta$, występujących w nabłonku jelita, jest znacznie mniejsza niż u gryzoni i wynosi 2-10% (10). Śluzówka oskrzeli i nosa zawiera znacznie mniej IEL aniżeli jelito; dominują w niej komórki T (CD4⁺). Również w nabłonku pokrywającym grudki (FAE) i kępkach Peyera przeważa ta subpopulacja limfocytów; wg Bjerke i wsp. (1) stosunek komórek T (CD4⁺) do T (CD8⁺) kształtuje się średnio $\approx 40\%$ / $\approx 10\%$.

W nabłonku normalnego jelita czczego człowieka odnotowano na komórkach T (CD8⁺) ekspresję CD7 („blast marker”), co świadczy, że zostały one poddane stymulacji (15). Jest to cecha typowa tej subpopulacji limfocytów, związana z ich właściwościami morfologicznymi (11, 16). Interesujące jest jednak, że większość komórek IEL reaguje negatywnie w rezultacie aktywacji takimi markerami jak MHC kl. II. Co więcej, występujące w jelicie czczym i okrężnicy IEL, nie posiadają typowego dla komórek T cytotoksycznych – antygeny H366. Sugeruje to, iż większość śródnabłonkowych limfocytów T (CD8⁺) należy funkcjonalnie do supresorowych komórek T (Ts) (3, 15). Ponieważ często odnotowywano występowanie IEL wzdłuż błony podstawnej jelita, uważa się, iż mają one właściwości pokonywania tej bariery w obu kierunkach; bardzo szybko migrują z nabłonka jelita, przedostając się następnie do blaszki właściwej śluzówki (11). Zakłada się, że główne funkcje immunoregulacyjne realizują one w tym drugim mikrośrodowisku (3).

Niektóre komórki IEL posiadają właściwości naturalnych komórek cytotoxycznych (NK). Charakteryzują się obecnością wymienionego wcześniej receptora $TCR\gamma\delta$ (7). Powstają one w grasicy nieco wcześniej aniżeli limfocyty $TCR\alpha\beta$, a część z nich różnicuje się i podlega nietypowej selekcji nawet poza tym narządem (3, 7). Jest sprawą interesującą, iż znaczna ich liczba, podobnie do komórek NK, przejawia zdolność do spontanicznej, nie podlegającej MHC – restrykcji cytotoxyczności w stosunku do komórek nowotworowych, a także do cytotoxyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (ADCC). Być może stanowią one populację limfocytów o cechach pośrednich między komórkami T i NK. Warto podkreślić, że zarówno komórki NK jak i limfocyty $T\gamma\delta$ posiadają CD16, czyli receptor dla fragmentu Fc IgG (Fc γ RIII), który umożliwia im udział w cytotoxyczności zależnej od przeciwciał (5, 7).

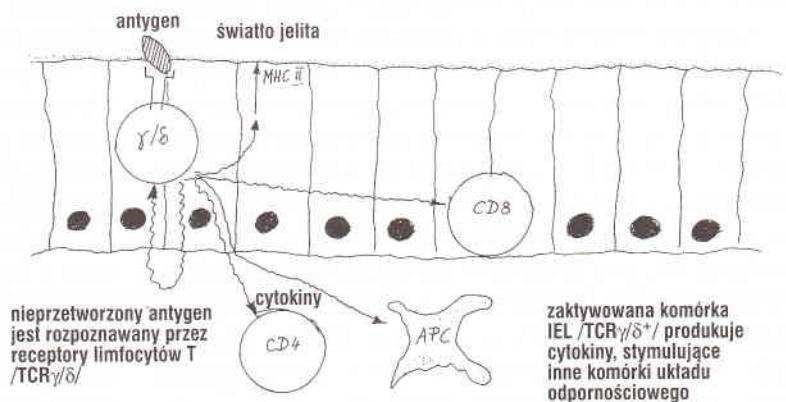
Z nowszych danych (14) wynika, że śródnabłonkowe limfocyty jelitowe występują w 5-ciu populacjach: $TCR\gamma\delta CD8\alpha^+$, $TCR\alpha\beta CD8\alpha^+\beta^+$, $TCR\alpha\beta CD8\alpha^+\beta^-$, $TCR\alpha\beta CD4^+ CD8\alpha^+$, $TCR\alpha\beta CD4^+$. Najczęściej odnotowywano występowanie trzech pierwszych. Komórki pierwszej i drugiej populacji odpowiedzialne są za zjawisko supresji, limfocyty trzeciej (i niektóre komórki pierwszej) wykazują cytotoxyczność zbliżoną do toksyczności komórkowej prezentowanej przez NK, limfocyty czwartej i piątej prezentują właściwości regulatorowe. Według Poussier i wsp. (cyt. 14) cztery pierwsze populacje są grasiczo-niezależne. Natomiast Rocha i wsp. (cyt. 14) stwierdzili, że u myszy poddanych tymektomii w okresie neonatalnym, dochodzi do redukcji liczby limfocytów populacji pierwszej ($TCR\gamma\delta$) oraz eliminacji komórek drugiej populacji ($TCR\alpha\beta CD8\alpha^+\beta^+$).

Uważa się, że główną funkcją limfocytów IEL jest udział w mechanizmach regulacyjnych (zwłaszcza supresyjnych) w jelicie. Zapobiegają one w znacznym stopniu uogólnionej odpowiedzi immunologicznej na antygeny pokarmowe (2, 3, 4). Zasadnicze molekuly biorące udział w interakcjach pomiędzy ludzkimi enterocytami i komórkami IEL lub występującymi na powierzchni komórek nabłonkowych limfocytami T (CD3), przedstawiono na ryc. 1. Komórka nabłonkowa może prezentować przetworzony antygen komórce CD3 (TCR) po-



Ryc. 1. Molekuly biorące udział w interakcjach pomiędzy ludzkimi enterocytami i śródnabłonkowymi (IEL) lub występującymi na powierzchni komórek nabłonkowych, limfocytami T (CD3), wg Brandtzaeg, 1996 r.

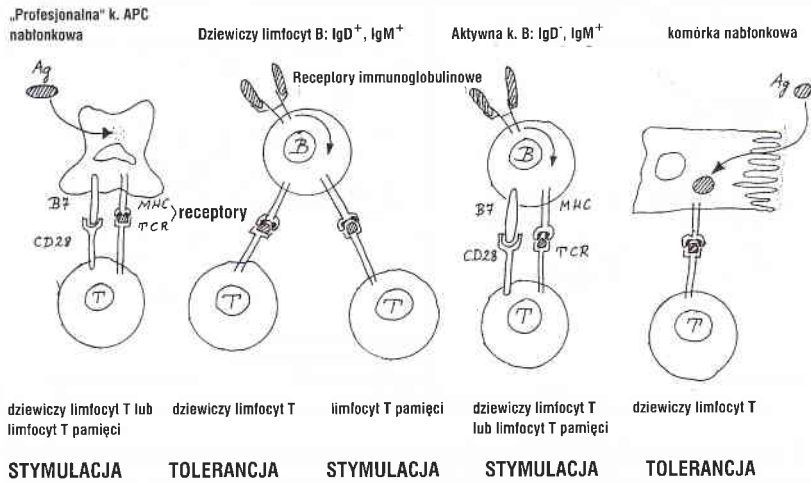
Objaśnienia: ● antygen; TCR – receptor limfocyty T; $\alpha E\beta 7$ – integryna wiążąca E-kadherynę; MHC – cząsteczka głównego układu zgodności tkankowej prezentująca antygen



Ryc. 2. Prawdopodobne konsekwencje lokalnej immunoregulacji bezpośredniej aktywacji limfocytów T – IEL* przez nieprzetworzony antygen na powierzchni enterocytów, wg Brandtzaeg, 1996 r.

Objaśnienia: *limfocyty śródnabłonkowe – $TCR\gamma\delta$, APC – komórki prezentujące antygen, ↑ wzrost ekspresji cząsteczek MHC II klasy, CD4 – komórki T w lamina propria

przez polimorficzne molekuly MHC lub też poprzez pozbawione polimorfizmu molekuly CD 1d. Dodatkowe molekuly stanowią integryna $\alpha E\beta 7$ wiążąca E-kadherynę oraz – CD8, która wiąże się z receptorem MHC I klasy. W mechanizmie tym bierze najprawdopodobniej także udział ze strony komórki nabłonkowej ligand, wykazujący powinowactwo do łańcucha α molekuly CD8 komórki CD3 lub IEL. Kostymulacja poprzez wymieniony ligand, bardzo efektywnie aktywuje kinazę tyrozyny p56^{Lck}. Należy podkreślić, że ekspresja tego ligandu jak również molekuly CD1d, nie zachodzi w komórkach nabłonka oddechowego. Różnica ta może wyjaśnić preferencyjne mechanizmy indukcji komórek CD8⁺T, prezentujących właściwości supresorowe,



Ryc. 3. Charakter komórek prezentujących antygen (APC) oraz właściwości komórek T jako rezultat spotkania z antygenem (Ag), wg Brandtzaeg, 1996 r.

Przypuszczalne konsekwencje lokalnej immunoregulacji – bezpośredniej aktywacji komórek IEL przez nieprzetworzony antygen przedstawiono na ryc. 2. Szybkie bardzo efektywne, uwalnianie cytokin może wzmocnić ochronne mechanizmy immunologiczne w mikrośrodkowisku i być może znieść tolerancję pokarmową poprzez stymulację komórek CD4 (występujących w lamina propria), komórek prezentujących antygen (APC) oraz komórek nabłonkowych. W rezultacie stymulacji, wymienione komórki wydzielają szereg substancji o charakterze mediatorów, co z kolei wzmacnia ekspresję molekuł MHC II klasy oraz dodatkowych cząstek (3, 4).

Tolerancja pokarmowa

Interesujące zjawisko stanowi tolerancja systemowa, powstająca w wyniku podania antygeny i wywołania lokalnej odpowiedzi immunologicznej drogą pokarmową. Charakteryzuje się ona supresją odpowiedzi immunologicznej zarówno typu DTH, jak i hamowaniem syntezy przeciwciał (również IgE), po ponownym podaniu antygeny drogą parenteralną. Wśród mechanizmów odpowiedzialnych za wystąpienie tolerancji pokarmowej brany jest pod uwagę zarówno udział elementów humoralnych, jak i komórek supresorowych (w tym IEL). Komórki supresorowe pochodzą najprawdopodobniej z kępek Peyera, skąd migrują do węzłów chłonnych krezkowych i śledziony.

Komórki	Jelito	Przewód oddechowy
Limfocyty śród nabłonkowe /IEL/		
Komórki nabłonkowe		
Podnabłonkowe i wewnątrz nabłonkowe profesjonalne komórki prezentujące antygen - APC/MHCI/II ⁺ /		

Ryc. 4. Trzy różnorodne układy biologiczne, mogące przyczynić się do różnic w zakresie immunoreaktywności jelita i przewodu oddechowego, wg Brandtzaeg, 1996 r.

w nabłonku jelitowym (4). Warto podkreślić, iż wymieniona kinaza tyrozyny odgrywa znaczącą rolę w zapoczątkowaniu kaskady biochemicznej związanej z aktywacją limfocyty T. Końcowy efekt tych reakcji to pobudzenie wiążących DNA w tej komórce czynników transkrypcyjnych, które indukują transkrypcję określonych genów. Jako pierwsze są aktywowane geny dla kolejnych czynników transkrypcyjnych, limfokiny i ich receptorów oraz enzymów przygotowujących komórkę do przejścia przez kolejne fazy cyklu komórkowego. Jedną z pierwszych zmian w aktywowanych limfocytach jest pojawienie się w ich błonie komórkowej receptora dla aktywatora plazminogenu typu urokinazowego, który stanowi proteinaza serynowa, aktywująca plazminogen do plazminy, która z kolei rozkłada złoży fibryny. Ekspresja tego receptora może stymulować przechodzenie limfocytów przez ścianę naczyń i przyspieszać ich migrację (8).

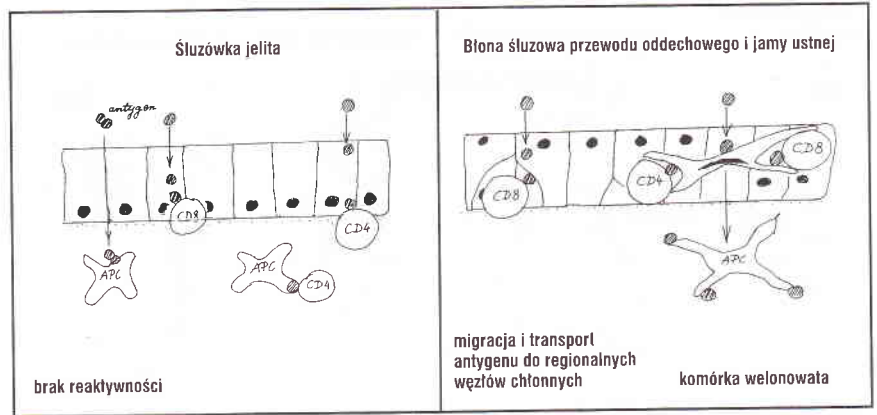
Komórkami, które łączą się pośrednio ze zjawiskiem tolerancji pokarmowej są limfocyty T kontr-supresorowe (Tcs). Antagonizują one wpływ limfocytów supresorowych (Ts) na limfocyty Th (10).

Na ryc. 3 przedstawiono charakter komórek APC oraz właściwości komórek T, jako rezultat kontaktu z antygenem. Profesjonalne komórki APC oraz pobudzone limfocyty B przenoszą kostymulujące molekuly, takie jak B7, podczas gdy dziewicze komórki B i komórki nabłonka jelitowego nie posiadają fizjologicznie tych cząsteczek. Kieszonki komórek M (kępki Peyera) zawierają zarówno dziewicze jak i aktywowane komórki B. Możliwość łatwego kontaktu z antygenem może determinować stymulację lub indukcję tolerancji w ramach lokalnej odpowiedzi immunologicznej. Wychwycenie rozpuszczalnego antygeny przez enterocyty i prezentacja przez cząsteczki MHC (lub MHC-like molekuly) może prowadzić do zjawiska tolerancji (4, 16).

Na ryc. 4 zaprezentowano różnorodne układy biologiczne, przyczyniające się do różnic w zakresie immunoreaktywności jelita i przewodu oddechowego. W części górnej ryciny przedstawiono liczbę i fenotypowy podział limfocytów śród nabłonkowych. W części środkowej przedstawiono zdolność do prezentacji antygeny, jak również ekspresję kostymulujących sygnałów do komórek T, realizowanych przez komórki nabłonkowe, w rezultacie których następuje dominacja komórek odpowiedzialnych za zjawisko supresji lub wspomagania. W części dolnej ryciny widać różnicę w układzie podnabłonkowych i śród nabłonkowych profesjonalnych komórek prezentujących antygen (APC). W jelicie dominują komórki APC podnabłonkowe, w przewodzie oddechowym – śród nabłonkowe. Analogicznie do występujących w skórze komórek Langerhansa, są one bogate w molekuly klasy II i posiadają rozgałęzione drzewiasto wypustki; odgrywają znaczącą rolę w zapoczątkowaniu reakcji immunologicznych (16).

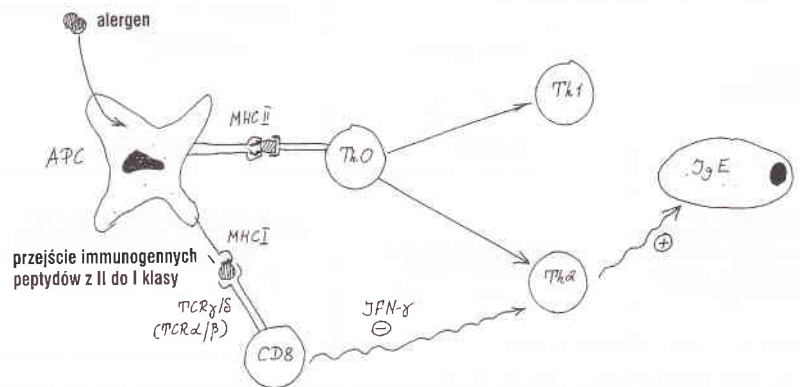
Rycina 5 obrazuje różnice w indukowaniu reaktywności antygenowej poprzez rozpuszczalne antygeny w jelicie oraz w przewodzie oddechowym i śluzówce jamy ustnej. Interesujący mechanizm stanowi immunologiczna dewiacja, indukowana przez dendrytyczne komórki, prezentujące antygen (alergen) w regionalnych węzłach chłonnych komórkom CD8 (ryc. 6). Zjawisko to odnotowano w górnych drogach oddechowych. Według Holta i wsp. (cyt. 4) w komórkach APC może nastąpić „zmiana” molekuly MHC II klasy w cząsteczki I klasy, stymulujące poprzez TCR γ/δ komórki CD8, które z kolei syntetyzując INF- γ (supresja komórek Th $_2$), powodują zwolnienie syntezy IgE przez komórki plazmocytarne.

Równie interesujące są wyniki badań, w wyniku których stwierdzono, że rekombinant podjednostki B enterotoksyny LT – *V. cholerae*, stymuluje u myszy indukcję tolerancji. Aktualnie pozwalają one jedynie na pewne spekulacje odnośnie mechanizmu tego zjawiska. Zakłada się, że w kępkach Peyera koniugat rozpuszczalnego antygeny z podjednostką B może powodować hiperaktywację z apoptozą komórek T, które poprzez sekrecję transformującego czynnika wzrostu (TGF), mogą być przyczyną systemowej supresji. Może stanowić to jeden z me-



Ryc. 5. Różnice w indukowaniu reaktywności antygenowej przez rozpuszczalne antygeny w jelicie oraz w przewodzie oddechowym i śluzówce jamy ustnej, wg H. L. Weiner i wsp., 1996 r.

Brak stymulujących sygnałów w komórkach nabłonkowych jelita oraz w znajdujących się pod nabłonkiem komórek prezentujących antygen, w śluzówce normalnego jelita, indukuje prawdopodobnie tolerancję. W śluzówce przewodu oddechowego, może dojść do stymulacji komórek CD4 $^+$ Th o ile antygen nie jest zbyt szybko transportowany przez wewnątrz nabłonkowe komórki prezentujące antygen (z niskim poziomem molekuly MHC kl. II).



Ryc. 6. Immunologiczna dewiacja indukowana w górnych drogach oddechowych, prowadząca do zahamowania odpowiedzi IgE, wg H. L. Weiner i wsp., 1996 r.

Alergen jest transportowany do regionalnego węzła chłonnego przez komórki prezentujące antygen (APC). W komórkach tych immunogenne peptydy MHC II klasy nabierają właściwości molekuly I klasy. Stymulacja komórek CD8 $^+$ powoduje syntezę interferonu γ (INF- γ), który powoduje supresję komórek Th2 CD4 $^+$, niezbędnych do wytwarzania IgE.

chanizmów indukcji tolerancji poprzez hamującą regulację mechanizmów nadwrażliwości typu późnego (DTH) w obwodowych tkankach, objętych zmianami chorobowymi. Uczulone komórki B pojawiają się również w kępkach Peyera. W wyniku tego powodują wzrost odpowiedzi IgA (SIgA) w odległych błonach śluzowych. W tym samym czasie systemowa odpowiedź IgG ujawnia się przez nadmierne wychwyty antygenów (16).

Podsumowanie

Rozpuszczone białka antygenów (dietary antigens) indukują supresję prozapalnych immunolo-

gicznych odpowiedzi typu humoralnego (synteza przeciwciał IgG i IgE), jak również nadwrażliwości typu późnego (DTH), mediowanej przez uczulone limfocyty Th(CD4⁺) z populacji Th1. W procesie tym ważną rolę odgrywają śród nabłonkowe limfocyty T_s (CD8⁺), współdziałające m.in. z komórkami nabłonka jelitowego. W warunkach fizjologicznych regulują one odpowiedź immunologiczną na antygeny pokarmowe dostające się do przewodu pokarmowego w ten sposób, aby nie dochodziło do nadmiernego pobudzenia tej odpowiedzi.

Piśmiennictwo

1. Bjerke K., Brandtzaeg P.: Clin. Exp. Immunol. 71, 502, 1988.
2. Brandtzaeg P., Sallid L. M., Thrane P. S., Kvale D., Bjerke K., Scott H., Kett K., Rognum T. O.: Gut 29, 1116, 1988.
3. Brandtzaeg P.: Overview of the Mucosal Immune System. W: New Strategies for Oral Immunization. Red. J. Mestecky, J. M. McGhee, Springer-Verlag, Berlin, 1989, s. 1.
4. Brandtzaeg P.: History of Oral Tolerance and Mucosal Immunity. W: Oral Tolerance, Mechanisms and Applications. Red. H. L. Winer, L. F. Mayer, The New York Academy of Sciences, New York 1996, s. 13.
5. Gacjong Z.: Odporność przeciwwakażna. W: Immunologia. Red. M. Jakóbsiak, Wyd. PWN, Warszawa 1995, s. 391.
6. Jakóbsiak M.: Receptory limfocytów T wiążące antygen. W: Immunologia. Red. M. Jakóbsiak, Wyd. Naukowe PWN, Warszawa 1995, s. 110.
7. Jakóbsiak M.: Populacje i subpopulacje limfocytów. W: Immunologia. Red. M. Jakóbsiak, Wyd. Naukowe PWN, Warszawa 1995, s. 159.
8. Jakóbsiak M.: Aktywacja, proliferacja i różnicowanie limfocytów. W: Immunologia. Red. M. Jakóbsiak, Wyd. Naukowe PWN, Warszawa 1995, s. 258.
9. Janiak M.: Medycyna Wet. 52, 611, 1996.
10. Lasek W.: Układ immunologiczny związany z błonami śluzowymi. W: Immunologia. Red. M. Jakóbsiak, Wyd. Naukowe PWN, Warszawa 1995, s. 339.
11. Marsh M. N.: Gut 16, 674, 1975.
12. Mestecky J., McGhee J. R.: New Strategies for Oral Immunization, Current Topics in Microbiology and Immunology 146, Springer-Verlag, Berlin, 1989.
13. Nagura H., Sumi Y.: Secretory IgA and Mucosal Immune Responses. W: Digestive Disease Pathology. Red. Shaw Watanabe, Marianne Wolff, Sheldon C. Sommers, t. 1, Springer-Verlag, Berlin, 1989.
14. Thomas W. R., Cooper D., Holt P. G.: Immunologist 3, 201, 1995.
15. Trejdosiewicz L. K., Malizia G., Badr-el Din S., Smart C. J., Oakes D. J., Southgate J., Howdle P. D., Janossy G.: Adv. Exp. Med. Biol. 216A, 465, 1987.
16. Weiner H. L., Mayer L. F.: Oral Tolerance – Mechanisms and Applications. Anls New York Academy Sci. t. 778, 1996.

Adres autora: prof. dr hab. Antoni J. Furowicz, ul. Monte Cassino 16A/2, 70-466 Szczecin

POLSKIE TOWARZYSTWO NAUK WETERYNARYJNYCH SEKCJA HIGIENY I TECHNOLOGII ŻYWNOŚCI POCHODZENIA ZWIERZĘCEGO

organizuje Sesję naukową nt.

PROBIOTYKI W ŻYWNOŚCI I ŻYWIENIU

Program:

1. Prof. dr hab. Edmund K. Prost: *Probiotyki – charakterystyka*
2. Prof. dr hab. Stefan Smoczyński, AR-T Olsztyn: *Mechanizm działania probiotyków w organizmie ludzi i zwierząt*
3. Prof. dr hab. Zdzisława Libudzisz, Politechnika Łódzka: *Probiotyki w mleku i produktach mlecznych*
4. Dr hab. Irena Usajewicz, AR-T Olsztyn: *Probiotyki w żywieniu ludzi*
5. Prof. dr hab. Eugeniusz Grela, AR Lublin: *Probiotyki w żywieniu zwierząt*

Miejsce obrad:

Lublin, Pałac Czartoryskich, Plac Litewski 2

Termin:

19 czerwca (piątek) 1998 r., godz. 10⁰⁰

Koszty uczestnictwa:

60,- zł; wpłaty na konto PKO II O/Lublin,
nr 10203150-112947-270-1-111

Zgłoszenia:

dr Krzysztof Libelt, sekretarz Sekcji, ul. Akademicka 12,
20-033 Lublin, tel. (081) 445-67-52 lub 445-68-08,
fax (081) 533-29-12