

Received: 2008.11.12
Accepted: 2009.01.26
Published: 2009.02.19

Reakcja nadwrażliwości kontaktowej, jej mechanizm i regulacja*

Contact sensitivity reaction, its mechanism and regulation

Monika Majewska, Marian Szczepanik

Zakład Biologii Rozwoju Człowieka, Instytut Pielęgniarstwa i Położnictwa, Collegium Medicum Uniwersytet Jagielloński

Streszczenie

Reakcja nadwrażliwości kontaktowej (CS) na hapteny jest klasycznym przykładem odpowiedzi komórkowej. W reakcji tej można wyróżnić dwie kolejno po sobie występujące fazy: wczesną występującą już 2 godziny od kolejnego kontaktu z haptentem oraz późną rozwijającą się po około 24 godzinach, a mediowaną przez limfocyty T. W klasycznym modelu reakcji nadwrażliwości kontaktowej limfocytami T efektorowymi są limfocyty pomocnicze CD4+ Th1, podczas gdy limfocyty B-1 wspomagane przez komórki NKT wytwarzają antygenowo swoiste przeciwciała IgM odgrywające główną rolę w inicjacji reakcji CS.

Reakcja CS znajduje się pod ścisłą kontrolą układów regulacyjnych. Reakcja CS jest negatywnie regulowana przez komórki T supresyjne (Ts) indukowane podaniem dużych dawek antygeny. Dodatkowo przebieg reakcji CS znajduje się pod pozytywną kontrolą komórek T kontrastypresyjnych (Tcs) chroniących limfocyty Th1 efektorowe przed działaniem limfocytów Ts.

Nowe spojrzenie na mechanizmy negatywnej regulacji reakcji CS Th1-zależnej stanowi supresja wywołana naskórną (e.c.) aplikacją antygeny białkowego. Ten sposób immunizacji prowadzi do powstania komórek Ts o fenotypie TCR $\alpha\beta$ +CD4+CD8+ hamujących reakcję CS poprzez uwalniany TGF- β . Supresja wywołana e.c. podaniem antygeny białkowego może być zniesiona przez komórki Tcs TCR $\alpha\beta$ +CD4+ indukowane jednoczesną ekspozycją na antygen białkowy i ligandy receptorów Toll-podobnych (TLR).

Wspomniana metoda indukcji stanu tolerancji lub jej przełamania poprzez podanie e.c. samego antygeny lub antygeny w połączeniu z ligandami TLR dzięki skuteczności i prostocie użycia oraz braku inwazyjności stwarza nowe możliwości hamowania bądź stymulowania układu immunologicznego, co może się stać przydatne w opracowaniu nowych metod terapii.

Słowa kluczowe:

reakcja nadwrażliwości kontaktowej • supresja • kontrastypresja • receptory TLR

Summary

The contact sensitivity (CS) reaction to haptens is a classical example of cell-mediated immune response. In this reaction, two phases can be distinguished: an early component, detectable as early as 2 hr after subsequent contact with the hapten, and a late component, developing approximately 24 hr after challenge and which is mediated by T cells. In the classical CS reaction, CD4+ T helper 1 (Th1) cells act as effector cells, whereas B-1 lymphocytes supported by NKT cells pro-

* Praca powstała dzięki wsparciu finansowemu ze środków MNiSW nr N N401 3553 33 dla MS, grantu MNiSW N N401 000936 dla MM oraz prac własnych K/ZBW/000172.

duce antigen-specific IgM antibodies, which play a crucial role in the initiation of CS. The CS reaction is under the precise control of regulatory circuits. The CS response is negatively regulated by T suppressor (Ts) cells induced by treatment with high doses of antigen. On the other hand, the CS response is positively regulated by T contrasuppressor (Tcs) cells that protect Th1 effector lymphocytes from the action of Ts cells. A new view of a negative regulation of Th1-mediated CS response is based on suppression induced by epicutaneous (e.c.) application of protein antigen. This kind of immunization results in the generation of TCR $\alpha\beta$ +CD4+CD8+ Ts cells that inhibit the CS response via the released TGF- β . The suppression induced via e.c. immunization with protein antigen can be abrogated by TCR $\alpha\beta$ +CD4+ Tcs cells induced by simultaneous exposure to protein antigen and Toll-like receptor (TLR) ligands. This method of e.c.-induced tolerance or its reversal by e.c. application of antigen alone or together with TLR ligands may be effective in new therapeutic strategies because of its effectiveness, ease of induction, and noninvasiveness.

Key words: CS reaction • suppression • contrasuppressor • TLR

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=879671>

Word count: 4537

Tables: –

Figures: 1

References: 108

Adres autora: prof. dr hab. n. med. Marian Szczepanik, Zakład Biologii Rozwoju Człowieka UJ CM, ul. Kopernika 7, 31-034 Kraków; e-mail: mmszczep@cyf-kr.edu.pl

REAKCJA NADWRAŻLIWOŚCI KONTAKTOWEJ

Nadwrażliwość typu późnego (delayed type hypersensitivity – DTH) jest przykładem odpowiedzi komórkowej na antygeny, która odbywa się z udziałem limfocytów TCR $\alpha\beta$ +CD4+ [14]. W typowej reakcji DTH centralnymi komórkami odpowiedzi immunologicznej są limfocyty T-pomocnicze typu 1 (Th1) przyciągające do miejsca toczącej się reakcji immunologicznej leukocyty krwi obwodowej (monocyty i neutrofile) [52]. Jedną z postaci reakcji DTH jest nadwrażliwość kontaktowa (contact sensitivity – CS) rozwijająca się po miejscowej ekspozycji (skóra, błony śluzowe) na niskocząsteczkowe związki zwane haptenami. Substancje te łącząc się kowalencyjnie z białkami ustroju tworzą w ten sposób nowe antygeny tzw. neoantygeny. Do substancji powszechnie wywołujących uczulenia kontaktowe u ludzi zaliczamy: hydrochinon i p-fenylenodwuaminę – związki chemiczne używane odpowiednio w przemyśle fotograficznym i kosmetycznym; pentadekakatechol – substancja zawarta w bluszczu trującym; leki (penicylina, chinina), a także jony metali ciężkich (nikiel, chrom, żelazo). Przy powtórnym zetknięciu się z homologicznym związkiem uczulającym dochodzi do reakcji immunologicznej, którą nazywamy reakcją nadwrażliwości typu IV Gella-Coombsa, objawiającą się obrzękiem i zaczerwienieniem skóry w miejscu depozycji haptenu. Reakcje o podobnym przebiegu można wywołać u myszy [6], świń morskich [61] oraz szczurów [54].

Reakcję typu późnego obserwuje się również u ludzi [15] i występuje ona u 15–20% populacji, a zmiany skórne tego typu stanowią około 30% chorób zawodowych [88].

REAKCJA CS U MYSZY I JEJ PRZEBIEG

U zwierząt doświadczalnych, w tym również u myszy, reakcję CS wywołuje się poprzez aplikację roztworu haptenu

nu w rozpuszczalniku organicznym na uprzednio ogoloną skórę [98]. Do najczęściej używanych haptenu należą chlorek pikrylu (TNP-C1 – chlorek trinitrofenylu), trinitrochlorobenzen (TNCB), dinitrofluorobenzen (DNFB), dinitrochlorobenzen (DNFB) oraz oksazol (OX). Reakcja CS jest procesem złożonym, a w jej przebieg zaangażowanych jest wiele komórek w tym komórki prezentujące antygen (APC), komórki endotelialne, mastocyty, antygenowo swoiste limfocyty B1, limfocyty NKT, dwa różne typy limfocytów T-efektorowych (Th1 CD4+ lub Tc1 CD8+) oraz leukocyty krwi obwodowej (monocyty i neutrofile).

W zależności od szczepu myszy oraz rodzaju haptenu użytego do immunizacji reakcja CS może przebiegać przy współudziale swoistych limfocytów pomocniczych Th1 lub swoistych limfocytów cytotoksycznych Tc1. Pierwszy typ odpowiedzi można indukować immunizując myszy szczepu CBA/J o haplotypie H-2^k haptenu TNP-C1 lub TNCB [2,24]. Natomiast reakcję, w której funkcję efektorową pełnią limfocyty Tc1 można wywołać u myszy szczepu C57BL/6 (haplotyp H-2^b) aplikując na ogoloną skórę TNCB, DNFB, DNFB lub OX oraz u myszy szczepu BALB/c (haplotyp H-2^d) podając na skórę DNFB, DNFB lub OX [34,35,44,73,100].

Badania prowadzone w ostatnich latach w wielu ośrodkach naukowych na świecie wskazują, że poza limfocytami Th1 CD4 oraz Tc1 CD8 wydzielającymi IFN- γ , w reakcji CS ważną rolę mogą także odgrywać limfocyty CD8+ T_{IL-17} [95]. Badania z wykorzystaniem myszy IL-17-/- wykazały zredukowanie reakcji CS w skórze po uczuleniu DNFB [53]. Obserwacje poczynione u myszy IL-17-/- zostały w pełni potwierdzone w doświadczeniach przeprowadzonych przez He i wsp., które polegały na neutralizacji IL-17 *in vivo* [25]. Według tych autorów IL-17 odgrywa ważną rolę w fazie efektorowej reakcji CS, a źródłem wspomnianego

nej cytokiny są limfocyty CD8+ T_{IL-17} indukowane haptentem. Komórki CD8+ T_{IL-17} różnią się pod wieloma względami od limfocytów Tc1 CD8+ uwalniających IFN- γ . Nie jest pewne, czy IL-17 odgrywa ważną rolę w CS u ludzi. Jednak obserwacje poczynione w badaniach nad stymulacją keratynocytów przez IL-17 do wytwarzania cytokin prozapalnych mogą wskazywać na udział IL-17 w nasileniu lokalnej reakcji zapalnej [1,87].

Przełomem w badaniach nad mechanizmami reakcji CS było odkrycie przez von Andrian i wsp., że rolę komórki efektorowej w reakcji CS u myszy mogą pełnić komórki NK. Autorzy wykazali, że reakcja CS może być wywołana u myszy niemających limfocytów B oraz T [57]. Dalsze badania oparte o adoptywny transfer wykazały, że reakcję tę można przenieść na naiwnych biorców za pośrednictwem leukocytów wątroby [LMNC – liver mononuclear cells], natomiast takiej zdolności nie miały węzły chłonne. Zastosowanie techniki izolacji komórek za pomocą ziaren magnetycznych wykazały, że komórkami przenoszącymi reakcję CS są komórki NK. Co więcej, według autorów odpowiedź kontaktowa z udziałem komórek NK wykazuje pamięć immunologiczną oraz cechuje swoistość antygenowa [57].

Nasze własne badania nad rolą komórek NK w reakcji CS wykazały, że odpowiedź ta jest indukowana bardzo szybko, gdyż można ją przenieść na naiwnych biorców za pośrednictwem wątrobowych komórek NK izolowanych godzinę od uczulenia haptentem DNFB. Dalsze nasze badania wykazały, że IFN- γ oraz IL-12 są niezbędne do prawidłowego przebiegu reakcji CS zależnej od komórek NK. W odróżnieniu od Th1 oraz Tc1-zależnej reakcji CS, nadwrażliwość kontaktowa mediowana przez komórki NK przebiega niezależnie od współpracy z limfocytami B-1 i NKT [4].

Bez względu na rodzaj komórek efektorowych reakcja CS przebiega w dwóch kolejno występujących po sobie antygenowo swoistych etapach, fazy indukcji oraz fazy efektorowej szczegółowo opisanych w dalszej części pracy.

FAZA INDUKCJI REAKCJI CS

Główną rolę w indukcji reakcji CS odgrywają komórki dendrytyczne (dendritic cells –DC) skóry, do których zaliczamy naskórkowe komórki Langerhansa (Langerhans cells – LC) oraz komórki dendrytyczne skóry właściwej. Niskocząsteczkowe związki zwane haptentami łączą się z białkami ustroju wiązaniami kowalencyjnymi tworząc w ten sposób nowe antygeny, tzw. neoantygeny. Następnie komórki LC pochłaniają i przetwarzają neoantygeny ulegając tym samym dojrzewaniu. Odzwierciedleniem dojrzewania komórek LC jest zmniejszenie zdolności endocytarnych oraz istotne zmiany ekspresji różnych cząsteczek na ich powierzchni, a także zmiany morfologii tych komórek. Ponadto, zaktywowane komórki LC po 15 min od aplikacji haptentu na skórę uwalniają IL-1 β , która jest jednym z głównych regulatorów odpowiedzi immunologicznej. Znaczenie IL-1 β w rozwoju reakcji CS wykazano poprzez dożylnie podanie przeciwciała monoklonalnego (mAb) przeciwko IL-1 β przed depozycją haptentu na skórę. Zaobserwowano wówczas niemożność wywołania reakcji CS [16]. Ponadto należy wspomnieć, że aplikacja haptentu na skórę wzmagają uwalnianie endogennych glikolipidów, które są prezentowane przez komórki DC skóry

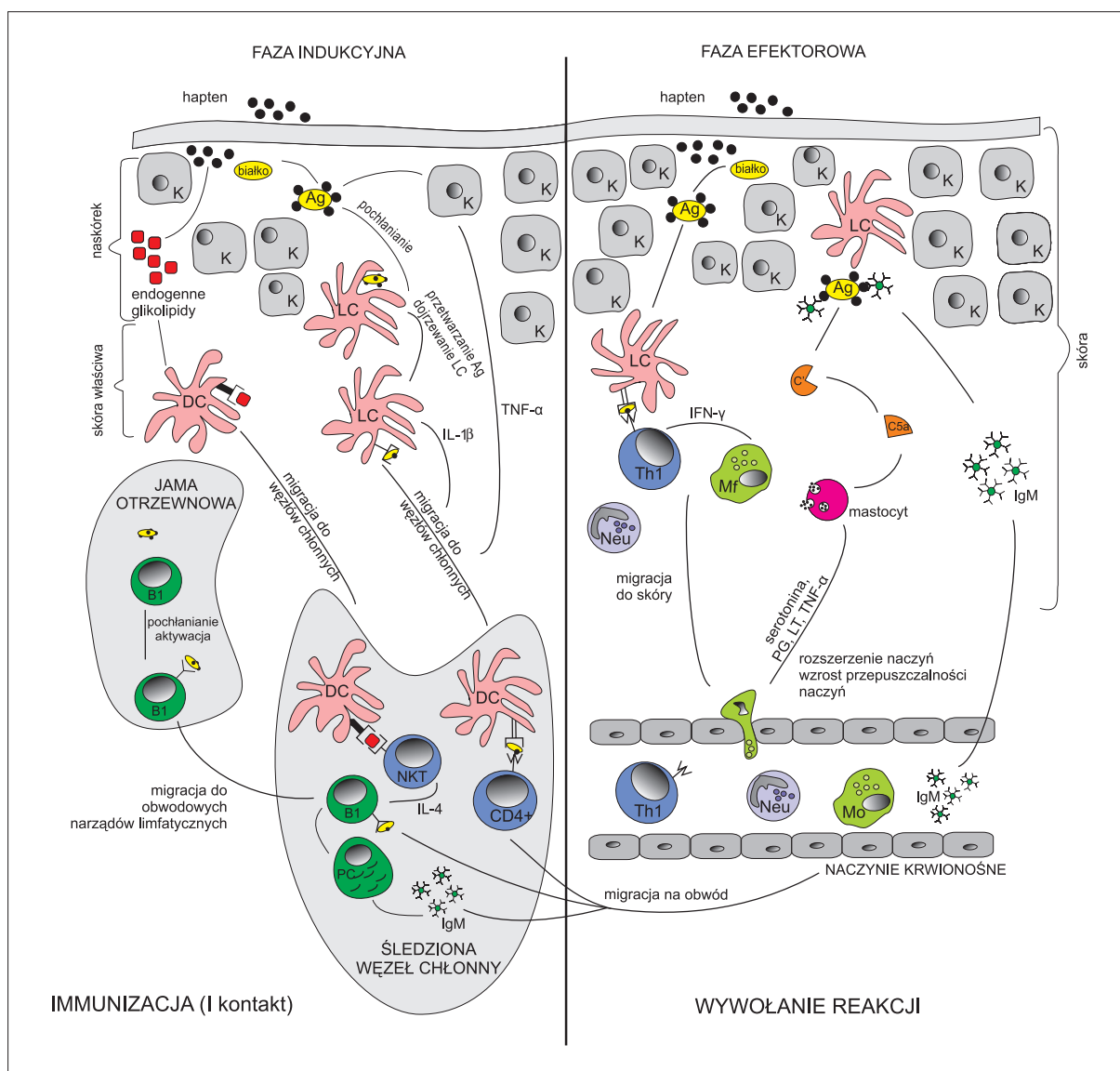
właściwej za pomocą cząsteczek CD1d komórkom NKT, aktywując je do uwalniania IL-4 [21].

Niedawne doniesienia naukowe wskazują, że komórki LC nie są zdolne samodzielnie indukować i wzmacniać odpowiedź immunologiczną. Do tego celu potrzebny jest udział komórek Langerhansa z keratynocytami, które modulują funkcję komórek LC poprzez uwalniany TNF- α . Wydzielony TNF- α wraz z IL-1 β wpływają na ekspresję E-kadheryny na komórkach LC powodując rozluźnienie i rozerwanie połączeń tych komórek z keratynocytami pozwalając im w ten sposób na migrację przez naskórek [74]. W chwili kontaktu z błoną podstawną skóry komórki LC uwalniają kolagenazę (MMP-9 – metaloproteinazę macierzy), dzięki czemu wnikają do skóry właściwej [33]. Następnie komórki LC przechodząc przez stadium komórki welonowatej stają się typowymi komórkami dendrytycznymi, które naczyniami limfatycznymi aferentnymi wędrują do lokalnie położonych węzłów chłonnych, gdzie w strefie przykorowej prezentują antygen swoistym, naiwnym limfocytom T w kontekście antygenów zgodności tkankowej klasy II (MHC II), prowadząc tym samym do ich aktywacji i proliferacji [103]. W procesie tym istotną rolę odgrywają integryny oraz chemokiny. Rolę komórek LC w indukcji reakcji CS potwierdzono w wielu ośrodkach badawczych. Wykazano, że reakcji CS nie można wywołać aplikując haptent w miejscu naturalnie pozbawionym komórek LC (skóra ogona u myszy) lub na skórę z upośledzoną funkcją tych komórek uzyskaną naświetlaniem promieniami ultrafioletowymi (UV) lub aplikacją steroidów [41,89]. Wiadomo, iż naświetlanie skóry nawet bardzo małymi dawkami promieniowania UV, które nie powodują widocznych zmian w komórkach LC, wywołuje zaburzenia miejscowych mechanizmów prezentacji antygenów i stan lokalnej immunosupresji [52]. W kolejnych badaniach stwierdzono, że komórki LC znakowane haptentem mają zdolność indukcji reakcji CS, podczas gdy keratynocyty oraz naskórkowe DC takich własności nie mają [77].

Mechanizmy zaangażowane w reakcję CS dokładnie poznano w odpowiedzi na chlorek pikrylu (TNP-Cl) i reakcję tę powszechnie uznaje się jako model reakcji CS, której przebieg przedstawiono na ryc. 1.

W czasie pierwszego kontaktu z haptentem TNP-Cl, tzw. uczulenie, krążące limfocyty naiwne o fenotypie TCR $\alpha\beta$ +CD4+ rozpoznają antygen na komórkach prezentujących (APC), np. DC łącznie z antygenami zgodności tkankowej klasy II (MHC II) w lokalnych węzłach chłonnych. W następstwie opisanej kooperacji komórek dochodzi do powstania efektorowych limfocytów TCR $\alpha\beta$ +CD4+ (Th1) fazy późnej oraz komórek pamięci immunologicznej, które następnie opuszczają węzły chłonne i rozpoczynają typową dla siebie wędrówkę między układem chłonnym a krwią. Wspomniana komórka fazy późnej reakcji CS pojawia się w ciągu 3–4 dni od immunizacji haptentem [97].

Doniesienia w literaturze światowej dowodzą, że podczas pierwszej ekspozycji na haptent TNP-Cl następuje również aktywacja komórek NKT w wątrobie, które już po 7 min od immunizacji haptentem uwalniają IL-4 [11]. Uwolniona IL-4 stymuluje swoiste limfocyty B1 (komórki fazy wczesnej) o unikalnym fenotypie Thy1+ CD5+ CD3– CD4– CD8–, które wykazują swoistość antygenową przy jedno-



Ryc. 1. Schemat reakcji nadwrażliwości kontaktowej Th-1-zależnej; Ag – antygeny, B1 – limfocyt B typu 1, C' – układ dopełniacza, C5a – fragment dopełniacza powstały w wyniku aktywacji fragmentu C5 dopełniacza, K – keratynocyt, DC – komórka dendrytyczna, LC – komórka Langerhansa, PC – komórka plazmatyczna, Mf – makrofag, Mo – monocyt, Neu – neutrofil, NKT – limfocyt NKT, Th1 – limfocyt pomocniczy typu 1

czesnym braku restrycji w zakresie układu MHC [27]. Limfocyty B1 ulegają aktywacji w jamie otrzewnowej już w pierwszej godzinie od immunizacji haptentem TNP-CI na skórę. Następnie komórki B1 wędrują do śledziony i lokalnych węzłów chłonnych, gdzie przekształcają się w komórki syntetyzujące przeciwciała IgM swoiste dla użytego haptenu TNP-CI [29,93].

FAZA EFEKTOROWA REAKCJI CS

Faza efektorowa CS rozwija się lokalnie w miejscu wywołania reakcji, tj. po kolejnej aplikacji haptenu w innym miejscu aniżeli w czasie immunizacji np. skóra brzucha – immunizacja i skóra uszu – wywołanie reakcji (challenge).

Wytworzone w fazie indukcji przeciwciała IgM anty-TNP swoiście reagują z haptentem ponownie aplikowanym na skórę tworząc w ten sposób kompleksy immunologicz-

ne aktywujące układ dopełniacza na drodze klasycznej. Powstające w trakcie kaskady aktywacji dopełniacza fragmenty C5a stymulują receptory znajdujące się w błonie komórkowej mastocytów i płytek krwi powodując ich aktywację, wynikiem czego jest uwolnienie mediatorów wazoaktywnych (serotonina) i cytokin (TNF-α, GM-CSF) oraz chemokin [18,90,91,92]. Uwolniona serotonina powoduje wzrost przepuszczalności naczyń oraz wzmacnia ekspresję receptorów zasiedlania na limfocytach Th1, np. CLA (cutaneous lymphocyte – associated antigen), jak również adresyn na powierzchni zaktwowanych komórek śródbłonna. Wynikiem tego jest wzmoczenie napływu uczulonych limfocytów T do miejsca depozycji haptenu. Limfocyty Th1 efektorowe po rozpoznaniu antygeny w kontekście MHC klasy II na komórkach APC uwalniają wiele cytokin. Do najważniejszych limfokin zaangażowanych w reakcję CS należą m.in. IFN-γ oraz TNF-α. Cytokiny te prowadzą do mobilizacji leukocytów krwi ob-

wodowej (monocyty i granulocyty) do miejsca toczącego się procesu. Ponadto IFN- γ miejscowo aktywuje makrofagi. Wynikiem opisanych zmian jest powstający, charakterystyczny obrzęk miejsca reakcji osiągający szczyt 24–48 godzin po kontakcie z haptenem [32].

REGULACJA REAKCJI CS

Reakcja CS znajduje się pod ścisłą kontrolą obwodów regulacyjnych. Negatywne sygnały są mediowane przez antygenowo swoiste limfocyty T supresyjne (Ts), a także przez komórki pozbawione swoistości antygenowej (tzw. supresja naturalna). CS jest również regulowana pozytywnie przez limfocyty T kontrasupresyjne (Tcs) wykazujące swoistość antygenową, jak również limfocyty niewykazujące swoistości antygenowej (tzw. kontrasupresja naturalna).

NEGATYWNA REGULACJA REAKCJI CS

W 1970 r. Gershon jako pierwszy zaobserwował, że limfocyty T poza swą funkcją pomocniczą (limfocyty Th) mogą również działać hamująco na odpowiedź immunologiczną [20]. Zaobserwowane przez Gershona zjawisko hamowania odpowiedzi nazwano „zakaźną tolerancją” (infectious immunological tolerance) i odkrycie to zapoczątkowało nowy kierunek badań nad negatywną regulacją odpowiedzi immunologicznej określony później supresją.

Wśród mechanizmów regulujących negatywnie reakcję CS można wyróżnić co najmniej kilka układów supresyjnych. Nadwrażliwość kontaktowa jest negatywnie regulowana w fazie indukcyjnej, a także w fazie efektorowej odpowiedzi immunologicznej.

Reakcja CS jest negatywnie regulowana w fazie indukcyjnej przez limfocyty supresyjne aferentne (Ts aff) o fenotypie CD8+, indukowane m.in. przez kompleksy antygen-przeciwciała (klasy IgG2a lub IgG2b) [65]. Komórki Ts aff hamują powstawanie limfocytów Th1 efektorowych. Mechanizm działania komórek Ts aff nie jest znany.

Kolejny układ supresyjny jest związany z limfocytami supresyjnymi Ts CD8+ eferentnymi (Ts eff), które można indukować w śledzionie przez dożylnie podanie dużej dawki antygeny (np. TNBSA, pochodna TNP rozpuszczalna w wodzie) [31,71], jak również poprzez podanie syngenicznych komórek znakowanych haptenem (np. komórki jamy otrzewnowej) [22,49,68]. Komórki Ts eff działają w fazie efektorowej reakcji CS hamując aktywność limfocytów Th1-efektorowych. Mechanizm działania komórek Ts eff nie jest do końca poznany. Badania prowadzone w latach 80 ub.w. wykazały, że komórki Ts eff hamują odpowiedź za pośrednictwem rozpuszczalnej substancji określonej czynnikiem supresyjnym (T suppressor factor – TsF) [19, 48]. Badania ostatnich lat wskazują, że wspomnianym czynnikiem TsF może być niskocząsteczkowy RNA (siRNA) [10].

Późniejsze badania wykazały, że działanie supresyjne na komórki efektorowe reakcji CS mają również limfocyty TCR $\gamma\delta$ +, które można indukować dożylnym podaniem dużej dawki antygeny. Stymulowane limfocyty supresyjne TCR $\gamma\delta$ + są zdolne zarówno do hamowania adoptywnego transferu CS *in vivo*, jak również do hamowania syntezy

IFN- γ *in vitro* [80,81,82]. Komórki te należą do populacji limfocytów o fenotypie CD3+, CD4–, CD8–, CD28+. Ponadto limfocyty TCR $\gamma\delta$ + supresyjne cechuje swoistość antygenowa przy jednoczesnym braku restrykcji w zakresie antygenów zgodności tkankowej MHC. Dodatkowo stwierdzono, że limfocyty TCR $\gamma\delta$ + osiągają efekt supresyjny za pośrednictwem uwalnianej IL-4 [85].

Przedstawione informacje na temat negatywnej regulacji reakcji CS obejmują obecny stan wiedzy na ten temat w układzie odpowiedzi na haptent TNP-CI mediowanej przez limfocyty Th1 CD4+. Dotąd brakuje badań na temat regulacji odpowiedzi CS Th1-zależnej przez limfocyty T regulacyjne CD4+CD25+ (Treg), czy też komórki Tr1. Znajdują się wprawdzie prace poruszające zagadnienie negatywnej regulacji odpowiedzi kontaktowej przez limfocyty Treg oraz Tr1, jednak badania te zostały przeprowadzone w układzie, w którym reakcja CS jest mediowana przez limfocyty cytotoksyczne CD8+ (Tc1). Zatem trudno jest odnieść wyniki tych badań do stanu wiedzy na temat regulacji odpowiedzi Th1-zależnej.

W modelu Tc1-zależnej CS indukowanej haptentem OX (oksazolony) wykazano, że supresyjne działanie komórek Treg CD4+CD25+ oraz limfocytów Tr1 opiera się na wzmoczonej syntezie IL-10 [17]. Ponadto stwierdzono, że funkcja komórek Treg CD4+CD25+ w utrzymaniu stanu tolerancji na obwodzie polega na stymulacji różnicowania komórek Tr1 *in vivo*. Niedawne prace dotyczące roli limfocytów Treg CD4+CD25+ w supresji reakcji Tc1-zależnej CS indukowanej haptentem TNCB wskazują na ich hamujący wpływ na proces toczenia i przylegania leukocytów do komórek śródbłonna [72]. Zatem komórki Treg CD4+CD25+ hamują odpowiedź immunologiczną poprzez upośledzenie migracji komórek efektorowych reakcji CS do miejsca depozycji antygeny. Komórki Treg CD4+CD25+ dodatkowo hamują proliferację komórek T efektorowych, co wykazano w badaniach *in vivo* oraz *in vitro*. Inne doniesienia wskazują, iż komórki Tr1 hamują proces zapalny reakcji CS przez upośledzenie dojrzewania i różnicowania komórek dendrytycznych (DC) oraz poprzez zmniejszoną syntezę IL-12 przez wspomniane komórki [13]. Działanie supresyjne komórek Tr1 jest wynikiem działania uwolnionej IL-10.

Nowe spojrzenie na mechanizmy regulacji reakcji CS zarówno Th1-, jak i Tc1-zależnej obejmują prowadzone przez nas badania. Prace te dotyczą stanu supresji wywołanego przez naskórną (e.c.) aplikację antygeny białkowego i zagadnienia te będą szczegółowo omówione w dalszej części pracy.

POZYTYWNA REGULACJA REAKCJI CS

Mechanizmem regulującym reakcję CS, a wywierającym działanie przeciwne do supresji jest zjawisko kontrasupresji. Istnieją co najmniej dwa poziomy kontrasupresji: jeden określany jako kontrasupresja naturalna, drugi natomiast kontrasupresją antygenowo swoistą [32].

Komórką odpowiedzialną za mechanizm kontrasupresji naturalnej jest limfocyt T o fenotypie CD4+CD5+, który nie wykazuje swoistości antygenowej. Limfocyt T kontrasupresyjny (Tcs) naturalny jest niezbędny dla powodzenia adop-

tywnego transferu reakcji CS do naiwnych, syngenicznych biorców. Kontrasupresja naturalna chroni komórki efektorowe reakcji CS przed naturalnie występującymi mechanizmami supresji. Transfer CS z użyciem komórek efektorowych pozbawionych komórek Tcs naturalnych możliwy jest jedynie po wyeliminowaniu naturalnie istniejących komórek supresyjnych u biorców przez ich traktowanie cyklofosfamidem [96].

Drugi poziom kontrasupresji jest związany z limfocytom Tcs CD4+CD5+, który wykazuje swoistość antygenową. Komórka ta może być indukowana przez dożylne podanie znakowanych komórek dendrytycznych śledziony [9], komórek Langerhansa [67], a także kompleksów immunologicznych (przeciwciała klasy IgM, IgG1, IgG3) [62, 64]. Mechanizm działania zarówno naturalnych, jak również antygenowo swoistych limfocytów Tcs CD4+CD5+ nie jest znany.

Działanie kontrasupresyjne wykazują również limfocyty należące do populacji limfocytów TCR $\gamma\delta$ +. Stwierdzono, że limfocyty TCR $\gamma\delta$ + o fenotypie CD3+CD4-CD8+ są niezbędne do przeniesienia reakcji CS za pomocą komórek układu immunologicznego (komórki węzłów chłonnych i śledziony) do naiwnych, syngenicznych biorców [5,7,70,84]. Wspomniane limfocyty TCR $\gamma\delta$ + nie wykazują swoistości antygenowej, nie wykazują również restrykcji w zakresie układu antygenowy MHC. Uważa się, że limfocyty TCR $\gamma\delta$ +CD8+ chronią komórki Th1 efektorowe reakcji CS (limfocyty TCR $\alpha\beta$ +CD4+) przed negatywnymi sygnałami limfocytów Ts. Mechanizm kontrasupresyjnego działania limfocytów TCR $\gamma\delta$ + wydaje się, że jest wynikiem stymulacji komórek APC do sekrecji IL-12 [58].

TOLERANCJA IMMUNOLOGICZNA INDUKOWANA NASKÓRNĄ APLIKACJĄ ANTYGENU BIAŁKOWEGO

Powszechnie wiadomo, że podanie antygeny drogą pokarmową, a także na błonę śluzową nosa prowadzi do lokalnej odpowiedzi immunologicznej przy jednoczesnym wywołaniu głębokiego stanu tolerancji na obwodzie, co odgrywa istotną rolę w uniknięciu indukcji odpowiedzi immunologicznej na antygeny niepatogenne, np. antygeny pokarmowe [104]. Doustne podanie małej dawki antygeny uruchamia mechanizmy immunologiczne, w których dominującą rolę odgrywają limfocyty supresyjne uwalniające IL-4, IL-10 oraz TGF- β . Natomiast ekspozycja zwierząt na wysokie dawki antygeny podawanego doustnie prowadzi do tolerancji polegającej na delecji i/lub anergii limfocytów T efektorowych.

Przez wiele lat skórę traktowano jako miejsce, w którym stosunkowo łatwo można indukować odpowiedź immunologiczną, a klasycznym przykładem jest reakcja CS. Natomiast skórze jako miejscu, w którym można wywołać tolerancję nie poświęcano większej uwagi. Ponieważ skóra i błony śluzowe mają podobną funkcję w organizmie (m.in. bariera dla drobnoustrojów) wydaje się możliwe, że naskórna (e.c.) aplikacja antygeny poza indukcją silnej odpowiedzi immunologicznej może także wywołać stan tolerancji. Wang i wsp. wykazali, że e.c. aplikacja antygeny białkowego – owalbuminy prowadzi do rozwoju alergicznego zapalenia skóry, któremu towarzyszy pojawienie się limfocytów T wydzielających IL-4 [101,102].

Ponadto Herrick i wsp. zaobserwowali, że e.c. immunizacja antygenem białkowym indukuje Th2 zależny model astmy u myszy [26]. Cytowane powyżej prace mogą zatem sugerować, że podanie antygeny białkowego na skórę przy spełnieniu odpowiednich warunków immunizacji może także indukować powstanie limfocytów T wytwarzających przeciwzapalne cytokiny, które z kolei mogłyby hamować odpowiedź komórkową Th1-zależną.

Przeprowadzone przez nas badania nad regulacją reakcji CS wykazały, że e.c. aplikacja Ag białkowego w postaci opatrunku z gazy, bądź emulsji w kremie przed aktywną immunizacją haptentem prowadzi do znacznego zahamowania reakcji CS mediowanej zarówno przez limfocyty Th1 [78], jak i Tc1 [79]. Obserwowane zahamowanie odpowiedzi komórkowej po aplikacji antygeny białkowego na skórę jest wynikiem działania powstałych komórek Ts o fenotypie TCR $\alpha\beta$ +CD4+CD8+. Indukowana e.c. podaniem antygeny supresja jest antygenowo nieswoista [39,69]. W indukcji komórek Ts zaangażowane są: IL-4, IL-10 i TGF- β . Natomiast funkcja efektorowa komórek Ts indukowanych poprzez e.c. aplikację antygeny białkowego jest związana z sekrecją TGF- β , podczas gdy IL-4 i IL-10 nie są odpowiedzialne za powstały stan immunosupresji [83].

Ponadto, badania na modelu zwierzęcym stwardnienia rozsianego (experimental autoimmune encephalomyelitis – EAE) [43,86,94] oraz reumatoidalnego zapalenia stawów (collagen induced arthritis – CIA) wykazały, że podobnie jak w reakcji CS e.c. aplikacja antygeny białkowego prowadzi do hamowania procesu zapalnego i w konsekwencji złagodzenia objawów choroby [40]. Co więcej, supresja indukowana przez skórę okazała się również skuteczna w spowolnieniu reakcji odrzucania przeszczepu [42].

Zatem wywołanie supresji przez aplikację antygeny na skórę dzięki skuteczności i prostocie działania oraz braku inwazyjności stwarza nowe możliwości terapii schorzeń, u podstaw których leży przewlekły proces zapalny. Jednak brak swoistości antygenowej supresji powstałej w następstwie e.c. immunizacji stwarza pewne obawy, czy indukowany stan uogólnionej immunosupresji nie będzie upośledzał odpowiedzi na antygeny drobnoustrojów. Jednak w odróżnieniu od opisywanego układu badanego, gdzie do immunizacji stosowano czysty antygen białkowy, drobnoustroje poza immunogennymi determinantami są wyposażone dodatkowo w tzw. „wzorce molekularne związane z patogenami” (pathogen associated molecular patterns – PAMPs) rozpoznawane przez „receptory rozpoznające wzorce” (pattern recognition receptors – PRR) [46], które najprawdopodobniej mogą odgrywać główną rolę nie tylko w indukcji odpowiedzi, ale również w przełamaniu stanu tolerancji.

RECEPTORY TLR I ICH ROLA W INDUKCJI I REGULACJI ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ

W latach 90 ub.w. stwierdzono, że drobnoustroje poza licznymi epitopami mają dodatkowo specjalne, grupowe struktury wzmacniające odpowiedź immunologiczną, znane obecnie jako „wzorce molekularne związane z patogenami” (pathogen associated molecular patterns – PAMPs). PAMPs są rozpoznawane przez wyspecjalizowaną grupę receptorów odporności nieswoistej, określanych jako „receptory rozpoznające wzorce” (pattern recognition receptors – PRR), których kła-

sycznym przykładem są receptory Toll-podobne (Toll-like receptors – TLR). Receptory TLR stanowią ogniwo łączące odporność nieswoistą z odpornością swoistą, umożliwiając tym samym sprawną walkę z czynnikami patogennymi. Ponadto receptory TLR umożliwiają komórkom układu immunologicznego odróżnić antygeny własne (self antigens) od antygenów obcych (nonself antigens) [45,46].

Receptory Toll po raz pierwszy zidentyfikowano podczas badań polaryzacji brzuszno-grzbietowej u larw muszki owocowej (*Drosophilla melanogaster*) [36]. Nazwę „toll” nadano zmutowanemu genowi kodującemu receptor, który uczestniczy w rozwoju embrionalnym muszki owocowej. Kolejne doświadczenia dowiodły, że u dorosłych osobników receptory kodowane przez gen „toll” uczestniczą w ich mechanizmach obronnych. Wykazano, że aktywacja receptorów Toll u tych owadów prowadzi do wzmożonej syntezy peptydów chroniących przed zakażeniem drobnoustrojami (dipterycyn, defenzyn, drozomycyn).

Istnienie receptorów o podobnej budowie i działaniu do receptorów Toll stwierdzono na komórkach ssaków, dlatego nazwano je receptorami Toll-podobnymi (Toll-like receptor – TLR) [47]. Dotychczas opisano 13 receptorów TLR u myszy oraz 10 receptorów TLR u ludzi [50], z tym że obecność receptora TLR10 stwierdzono wyłącznie u ludzi [23]. Zidentyfikowano ligandy (PAMPs) tylko dla receptorów TLR1 – TLR9 oraz TLR11, natomiast mało wiadomo na temat ligandów receptorów TLR10, TLR12 i TLR13.

Ligandami receptora TLR2 są bakteryjne lipoproteiny, peptydoglikan, kwas lipoteichojowy, zymosan, glikolipidy, lipoarabinomannan; ligandem receptora TLR4 jest lipopolisacharyd bakterii Gram-ujemnych (LPS), natomiast receptor TLR5 rozpoznaje flagellinę – białko rzęsek bakterii Gram-ujemnych. Kolejną grupę receptorów PRR stanowią receptory TLR biorące udział w rozpoznaniu kwasów nukleinowych pochodzących z drobnoustrojów. Do grupy wspomnianych PRR zaliczono receptor TLR3 rozpoznający dwuniciowy RNA (dsRNA) oraz syntetyczny ligand, jakim jest poli (I:C); receptory TLR7 i TLR8 są aktywowane przez jednoniciowy RNA (ssRNA) oraz receptor TLR9 stymulowany przez dwuniciowy DNA zawierający niemetylowane sekwencje dinukleotydów cytozyny-guany (ODN CpG). Ostatnimi zidentyfikowanymi ligandami receptorów TLR są PAMPs receptora TLR11, który prawdopodobnie rozpoznaje struktury bakterii uropatogennych szczepu *Escherichia coli* oraz białko profilinopodobne występujące w *Toxoplasma gondii* [106, 108].

Ekspresję receptorów TLR wykazano na komórkach układu odpornościowego (makrofagi, komórki dendrytyczne, limfocyty B, komórki tuczne, eozynofile i neutrofile), komórkach nabłonkowych, śródbłonku naczyń, adipocytach, kardiomiocytach, fibroblastach oraz keratynocytach. Receptory TLR występują głównie w błonie komórkowej (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6, TLR10, TLR11), choć niektóre spośród nich znajdują się w błonie pęcherzyków cytoplazmatycznych (TLR3, TLR7, TLR8, TLR9) [56].

Umieszczenie receptorów TLR wskazuje na ich istotną rolę w indukcji odpowiedzi immunologicznej w chwili inwazji patogenu. Obecność receptorów TLR we wrotach zakażenia umożliwia szybką aktywację komórek nabłonka,

które wydzielają chemokiny oraz cytokiny umożliwiające napływ komórek układu immunologicznego. Aktywacja receptorów TLR komórek APC wymaga procesy, których konsekwencją jest indukcja odpowiedzi swoistej. Istnieją również doniesienia wskazujące na obecność receptorów TLR na limfocytach NKT [3,75] oraz komórkach regulacyjnych Treg CD4+CD25+ [12].

Obecność receptorów TLR na komórkach nabłonkowych jelit i dróg oddechowych, komórkach śródbłonka oraz adipocytach umożliwia szybkie rozpoznanie czynnika infekcyjnego i uruchomienie mechanizmów prowadzących do jego usunięcia [107]. Aktywowane komórki nabłonkowe wydzielają duże ilości cytokin prozapalnych, chemokin i defenzyn. Uwolnione czynniki przyciągają do miejsca inwazji komórki układu immunologicznego (leukocyty, makrofagi, komórki tuczne, komórki dendrytyczne).

Aktywacja receptorów TLR znajdujących się na powierzchni makrofagów prowadzi do wzmożonej syntezy cytokin prozapalnych: IL-1, -6, -8, -12 oraz TNF- α . Ponadto stymulacja receptorów TLR4 zwiększa zdolności fagocytarne makrofagów oraz powoduje wzrost wytwarzania reaktywnych form tlenu (ROI's) i syntezę tlenku azotu (NO). Dodatkowo makrofagi aktywowane przez receptory TLR zwiększają ekspresję antygenów zgodności tkankowej MHC I i MHC II oraz molekuł kostymulujących CD80, CD86, co z kolei sprawia, że komórki te efektywniej prezentują antygen limfocytom T i indukują swoistą odpowiedź immunologiczną. Stwierdzono również, że brak receptorów TLR2 i TLR4 na makrofagach lub białka adaptorowego MyD88 biorącego udział w transdukcji sygnału aktywacji receptorów TLR powoduje opóźnienie fagocytozy wielu bakterii, takich jak np: *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* i *Staphylococcus aureus* [8].

Istotnym i niezbędnym elementem układu immunologicznego są komórki dendrytyczne, które również wykazują ekspresję receptorów TLR. Niedojrzałe komórki DC o silnych właściwościach endocytarnych i pinocytarnych w wyniku aktywacji receptorów TLR przez PAMPs dojrzewają i tracą swe właściwości do pochłaniania antygeny, ale nabywają cech komórek APC. Na powierzchni dojrziałych DC pojawiają się receptory chemokin, cząsteczki kostymulujące (CD40, CD80, CD86, OX40L) oraz rośnie ekspresja antygenów zgodności tkankowej (MHC klasy I i II). Ponadto pobudzone komórki DC uwalniają duże ilości cytokin prozapalnych, takich jak TNF- α , IL-6, -12, -18. Przytoczone informacje wskazują, że aktywacja komórek DC za pośrednictwem receptorów TLR umożliwia im aktywację limfocytów T i w konsekwencji indukcję odpowiedzi immunologicznej nabytej.

Prowadzone od lat badania w wielu ośrodkach naukowych na świecie są skoncentrowane nad rolą receptorów TLR w regulacji odpowiedzi immunologicznej. W początkowych latach nowego milenium wykazano, że stymulacja TLR4 przez LPS prowadzi do proliferacji oraz zwiększonej aktywności komórek Treg CD4+CD25+, co wykazano zarówno w badaniach *in vitro*, jak i *in vivo* [12]. Nie jest pewne, w jaki sposób dochodzi do aktywacji komórek Treg przez LPS. Komórki Treg poza ekspresją receptorów TLR4, zawierają również receptory TLR5, TLR7 oraz TLR8. Można przypuszczać, że komórki te są bezpośrednio aktywowane przez LPS, jednak nie można wykluczyć sce-

nariusza, w którym zaangażowane byłyby komórki APC. Właśnie ten drugi mechanizm aktywujący komórki Treg okazał się dominującym w przypadku zakażeń wywołanych przez *Bordetella pertussis*, gdzie stymulacja TLR4 na komórkach APC prowadzi do wytwarzania IL-10, która z kolei promuje powstanie komórek supresyjnych, określonych mianem Tr1, hamujących odpowiedź immunologiczną za pośrednictwem uwolnionej IL-10 [28].

Podobne obserwacje poczyniono podczas badań nad indukcją komórek Treg podczas zakażeń wywołanych *Candida albicans*. Netea i wsp. wykazali, że *C. albicans* stymulując receptory TLR2 wywołuje stan immunosupresji wzmagając syntezę IL-10 oraz zwiększając przeżywalność komórek Treg CD4+CD25+ [55]. Istnieją również doniesienia na temat roli receptorów TLR w przywróceniu aktywności supresyjnej komórek Treg CD4+CD25+ przez redukcję ekspresji GITR-L (glucocorticoid-induced TNF – related receptor ligands) na komórkach APC. Powszechnie wiadomo, że aktywacja GITR na komórkach T-efektorowych poprzez GITR-L obecny na komórkach APC sprawia, że limfocyty T stają się niewrażliwe na działanie komórek Treg [99]. Shevach i wsp. wykazali, że aktywacja komórek APC przez PAMPs prowadzi do istotnego obniżenia ekspresji GITR-L na tych komórkach, co z kolei przywraca wrażliwość komórek T-efektorowych na działania negatywnych sygnałów dostarczanych przez komórki T reg [76].

Fenomenem przeciwnym do zjawiska supresji jest proces jej zniesienia i przywrócenia prawidłowej funkcji komórek efektorowych. Wspomniane zjawisko przełamania supresji jest przez wielu autorów określane mianem kontrasupresji. Pasare i Medzhitov w pracy nad rolą receptorów TLR w regulacji odpowiedzi immunologicznej wykazali, iż aktywacja TLR4 oraz TLR9 prowadzi do zniesienia supresji mediowanej przez komórki Treg CD4+CD25+ *in vitro* [59,60]. Mechanizm przełamania supresji za pośrednictwem aktywacji receptorów TLR jest ich zdaniem wynikiem stymulacji komórek DC do wytwarzania IL-6, która chroni komórki T-efektorowe przed negatywnym wpływem komórek Treg CD4+CD25+. Z kolei Yang i wsp. wykazali, że PAMPs pochodzenia wirusowego mogą blokować aktywność komórek Treg CD4+CD25+ pozwalając tym samym na indukcję odpowiedzi mediowanej przez limfocyty T CD8+ [105].

Podsumowując, receptory TLR odgrywają istotną rolę zarówno w inicjacji odpowiedzi nieswoistej i swoistej, jak również są zaangażowane w mechanizmy regulacji odpowiedzi immunologicznej.

ROLA LIGANDÓW RECEPTORÓW TLR W PRZEŁAMANIU TOLERANCJI IMMUNOLOGICZNEJ WYWOŁANEJ NASKÓRNYM PODANIEM ANTYGENU BIAŁKOWEGO

Jak wspomniano wcześniej e.c. immunizacja antygenem białkowym przed aktywnym uczuleniem haptentem prowadzi do zahamowania reakcji CS Th1-zależnej. Dalsze

badania nad e.c. wywołanym stanem tolerancji w modelu reakcji CS wykazały, że antygenowo nieswoistą supresję można przełamać poprzez jednoczesną ekspozycję na antygen białkowy i produkty drobnoustrojów zawierające PAMPs. Przełamania e.c. indukowanej tolerancji dokonano podając na skórę antygen białkowy TNP-Ig wraz z lizatami bakteryjnymi (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* oraz *Propionibacterium acnes*) lub kompletnym adiuwantem Freundza zawierającym *Mycobacterium tuberculosis*. Podobny efekt zniesienia supresji obserwowano po e.c. aplikacji TNP-Ig z oczyszczonymi ligandami receptorów TLR2 (peptydoglikan, kwas lipoteichoowy oraz zymosan A), TLR3 (dsRNA – poly I:C), TLR4 (LPS) oraz TLR9 (ODN CpG) [38].

Z kolei wykorzystując do badań defektywne szczepy myszy C3H/HeJ (myszy z defektem receptora TLR4) oraz MyD88^{-/-} (myszy, u których nie występuje białko adaptorowe MyD88) wykazano, że obserwowane zjawisko przełamania supresji poprzez LPS zależy od obecności funkcjonalnego receptora TLR4, a także od białka adaptorowego MyD88 zaangażowanego w przesyłanie sygnału do wnętrza komórki [63].

Zastosowanie modelu adocywnego transferu reakcji CS wykazało, że obserwowane zjawisko przełamania tolerancji w wyniku aktywacji receptorów TLR4 (e.c. aplikacja antygeny w połączeniu z LPS) jest wynikiem powstawania w węzłach chłonnych pachowych i pachwinowych oraz śledzionie komórek kontrasupresyjnych o fenotypie TCRαβ+CD4+ [37].

Badania z wykorzystaniem trzech niereagujących krzyżowo antygenów: TNP-Ig, OX-Ig oraz OVA wykazały, że zjawisko kontrasupresji indukowanej e.c. aplikacją antygeny i LPS jest antygenowo swoiste [79].

Posługując się defektywnymi szczepami myszy IL-6^{-/-}, IL-12^{-/-} oraz IFN-γ^{-/-}, a także przez neutralizację IL-12 oraz IFN-γ *in vivo* wykazano, że mechanizm opisywanej kontrasupresji jest zależny od IFN-γ oraz IL-12 natomiast IL-6 nie odgrywa znaczącej roli w opisywanym zjawisku. Jak zaobserwowano, IFN-γ jest niezbędny do indukcji limfocytów Tcs, które aktywują komórki prezentujące antygen do uwalniania IL-12 chroniącej limfocyty Tef CS przed działaniem limfocytów Ts [66].

Podsumowując e.c. aplikacja antygeny białkowego indukuje stan tolerancji immunologicznej, który można przełamać przez e.c. immunizację antygenem białkowym w połączeniu z ligandami receptorów TLR. Przedstawiona metoda przełamania stanu tolerancji poprzez e.c. aplikację antygeny wraz z PAMP dzięki skuteczności i prostocie użycia oraz braku inwazyjności stwarza nowe możliwości stymulowania układu immunologicznego, co może się stać przydatne w opracowaniu szczepionek oraz terapii przeciwnowotworowej.

PIŚMIENNICTWO

[1] Albanesi C., Cavani A., Girolomoni G.: IL-17 is produced by nickel-specific T lymphocytes and regulates ICAM-1 expression and chemokine production in human keratinocytes: synergistic or antagonist effects with IFN-γ and TNF-α. *J. Immunol.*, 1999; 162:494-502

[2] Asherson G.L., Ptak W.: Contact and delayed hypersensitivity in the mouse. I. Active sensitization and passive transfer. *Immunology*, 1968; 15: 405-416

- [3] Askenase P.W., Itakura A., Leite-de-Moraes M.C., Lisbonne M., Roongapinun S., Goldstein D.R., Szczepanik M.: TLR-dependent IL-4 production by invariant $\alpha\alpha 14 + \beta 18$ NKT cells to initiate contact sensitivity *in vivo*. *J. Immunol.*, 2005; 175: 6390–6401
- [4] Askenase P.W., Majewska M., Szczepanik M.: NK cell mediated contact sensitivity is elicitable 1-hour after immunization and depends on IFN- γ and IL-12 production. *Centr. Eur. J. Immunol.*, 2008; 33: 11.88
- [5] Askenase P.W., Ptak W., Szczepanik M.: $\gamma\delta$ T cells in normal murine spleen assist immunized $\alpha\beta$ T cells in the adoptive cell transfer of contact sensitivity: effect of *Bordetella pertussis*. Cyclophosphamide, and antisuppressor T cell monoclonal antibodies. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1995; 107: 363
- [6] Askenase P.W., Szczepanik M., Itakura A., Kiener C., Campos R.A.: Extravascular T-cell recruitment requires initiation begun by $\alpha\alpha 14 + \beta 18$ NKT cells and B-1 B cells. *Trends Immunol.*, 2004; 25: 441–449
- [7] Askenase P.W., Szczepanik M., Ptak M., Paliwal V., Ptak W.: $\gamma\delta$ T cells in normal spleen assist immunized $\alpha\beta$ T cells in the adoptive cell transfer of contact sensitivity. Effect of *Bordetella pertussis*, cyclophosphamide, and antibodies to determinants on suppressor cells. *J. Immunol.*, 1995; 154: 3644–3653
- [8] Blander J.M., Medzhitov R.: Regulation of phagosome maturation by signals from toll-like receptors. *Science*, 2004; 304: 1014–1018
- [9] Britz J.S., Askenase P.W., Ptak W., Steinman R.M., Gershon R.K.: Specialized antigen-presenting cells. Splenic dendritic cells and peritoneal-exudate cells induced by mycobacteria activate effector T cells that are resistant to suppression. *J. Exp. Med.*, 1982; 155: 1344–1356
- [10] Bryniarski K., Ptak M., Szczepanik M., Askenase P.W., Ptak W.: Role of low molecular weight RNA in contact sensitivity response – preliminary results. *Centr. Eur. J. Immunol.*, 2005; 30(Suppl.1): 6
- [11] Campos R.A., Szczepanik M., Itakura A., Lisbonne M., Dey N., Leite-de-Moraes M.C., Askenase P.W.: Interleukin-4-dependent innate collaboration between iNKT cells and B-1 B cells controls adaptative contact sensitivity. *Immunology*, 2006; 117: 536–547
- [12] Caramalho I., Lopes-Carvalho T., Ostler D., Zelenay S., Haury M., Demengeot J.: Regulatory T cells selectively express toll-like receptors and are activated by lipopolysaccharide. *J. Exp. Med.*, 2003; 197: 403–411
- [13] Cavani A., Nasorri F., Prezzi C., Sebastiani S., Albanesi C., Girolomoni G.: Human CD4+ T lymphocytes with remarkable regulatory functions on dendritic cells and nickel-specific Th1 immune responses. *J. Invest. Dermatol.*, 2000; 114: 295–302
- [14] Cher D.J., Mosmann T.R.: Two types of murine helper T cell clone. II. Delayed-type hypersensitivity is mediated by TH1 clones. *J. Immunol.*, 1987; 138: 3688–3694
- [15] Diepgen T.L., Weisshaar E.: Contact dermatitis: epidemiology and frequent sensitizers to cosmetics. *J. Eur. Dermatol. Venereol.*, 2007; 21(Suppl.2): 9–13
- [16] Enk A.H., Katz S.I.: Contact sensitivity as a model for T-cell activation in skin. *J. Invest. Dermatol.*, 1995; 105(Suppl.1): 80S–83S
- [17] Foussat A., Cottrez F., Brun V., Fournier N., Breitmayer J.P., Groux H.: A comparative study between T regulatory type 1 and CD4+ CD25+ T cells in the control of inflammation. *J. Immunol.*, 2003; 171: 5018–5026
- [18] Geba G.P., Ptak W., Anderson G.M., Paliwal V., Ratzlaff R.E., Levin J., Askenase P.W.: Delayed-type hypersensitivity in mast cell-deficient mice: dependence on platelets for expression of contact sensitivity. *J. Immunol.*, 1996; 157: 557–565
- [19] Germain R.N., Benacerraf B.: Helper and suppressor T cell factors. *Springer Semin. Immunopathol.*, 1980; 3: 93–127
- [20] Gershon R.K., Kondo K.: Infectious immunological tolerance. *Immunology*, 1971; 21: 903–914
- [21] Gober M.D., Gaspari A.A.: Allergic contact dermatitis. *Curr. Dir. Autoimmun.*, 2008; 10: 1–26
- [22] Greene M.I., Sugimoto M., Benacerraf B.: Mechanisms of regulation of cell-mediated immune responses. I. Effect of the route of immunization with TNP-coupled syngeneic cells on the induction and suppression of contact sensitivity to picryl chloride. *J. Immunol.*, 1978; 120: 1604–1611
- [23] Hasan U., Chaffois C., Gaillard C., Saulnier V., Merck E., Tancredi S., Guiet C., Briere F., Vlach J., Lebecque S., Trinchieri G., Bates E.E.: Human TLR10 is a functional receptor, expressed by B cells and plasmacytoid dendritic cells, which activates gene transcription through MyD88. *J. Immunol.*, 2005; 174: 2942–2950
- [24] Hauser C.: Cultured epidermal Langerhans cells activate effector T cells for contact sensitivity. *J. Invest. Dermatol.*, 1990; 95: 436–440
- [25] He D., Wu L., Kim H.K., Li H., Elmetts C.A., Xu H.: CD8+ IL-17-producing T cells are important in effector functions for the elicitation of contact hypersensitivity responses. *J. Immunol.*, 2006; 177: 6852–6858
- [26] Herrick C.A., MacLeod H., Glusac E., Tigelaar R.E., Bottomly K.: Th2 responses induced by epicutaneous or inhalational protein exposure are differentially dependent on IL-4. *J. Clin. Invest.*, 2000; 105: 765–775
- [27] Herzog W.R., Millet I., Ferreri N.R., Ramabhadran R., Schreurs J., Askenase P.W.: An antigen-specific DTH-initiating cell clone. Functional, phenotypical, and partial molecular characterization. *J. Immunol.*, 1990; 144: 3667–3676
- [28] Higgins S.C., Lavelle E.C., McCann C., Keogh B., McNeela E., Byrne P., O’Gorman B., Jarnicki A., McGuirk P., Mills K.H.: Toll-like receptor 4-mediated innate IL-10 activates antigen-specific regulatory T cells and confers resistance to *Bordetella pertussis* by inhibiting inflammatory pathology. *J. Immunol.*, 2003; 171: 3119–3127
- [29] Itakura A., Szczepanik M., Campos R.A., Paliwal V., Majewska M., Matsuda H., Takatsu K., Askenase P.W.: An hour after immunization peritoneal B-1 cells are activated to migrate to lymphoid organs where within 1 day they produce IgM antibodies that initiate elicitation of contact sensitivity. *J. Immunol.*, 2005; 175: 7170–7178
- [30] Iverson M., Ptak W., Green D.R., Gershon R.K.: Role of contrasuppression in the adoptive transfer of immunity. *J. Exp. Med.*, 1983; 158: 982–987
- [31] Kato K., Askenase P.W.: Reconstitution of an inactive antigen-specific T cell suppressor factor by incubation of the factor with prostaglandins. *J. Immunol.*, 1984; 133: 2025–2031
- [32] Kimber I., Basketter D.A., Gerberick G.F., Dearman R.J.: Allergic contact dermatitis. *Int. Immunopharmacol.*, 2002; 2: 201–211
- [33] Kobayashi Y.: Langerhans’ cells produce type IV collagenase (MMP-9) following epicutaneous stimulation with haptens. *Immunology*, 1997; 90: 496–501
- [34] Kolesaric A., Stingl G., Elbe-Bürger A.: MHC class I/II- dendritic cells induce hapten-specific immune responses *in vitro* and *in vivo*. *J. Invest. Dermatol.*, 1997; 109: 580–585
- [35] Kondo S., Beissert S., Wang B., Fujisawa H., Kooshesh F., Stratigos A., Granstein R.D., Mak T.W., Sauder D.N.: Hyporesponsiveness in contact hypersensitivity and irritant contact dermatitis in CD4 gene targeted mouse. *J. Invest. Dermatol.*, 1996; 106: 993–1000
- [36] Lemaitre B., Nicolas E., Michaut L., Reichhart J.M., Hoffmann J.A.: The dorsoventral regulatory gene cassette spätzle/Toll/cactus controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell*, 1996; 86: 973–983
- [37] Lobo F., Majewska M., Bryniarski K., Ptak M., Ptak W., Szczepanik M.: TCR $\alpha\beta$ +, CD4+ contrasuppressor T cells are induced via epicutaneous immunization with protein antigen and lipopolysaccharide. *J. Immunol.*, 2006; 176: S230 (111.9)
- [38] Lobo F., Majewska M., Bryniarski K., Ptak M., Zemelka M., Zając K., Ptak W., Szczepanik M.: Toll-like receptor ligands reverse suppression of contact hypersensitivity reactions induced by epicutaneous immunization. *J. Immunol.*, 2006; 176: S246 (115.14)
- [39] Lobo F., Szczepanik M., Bryniarski K., Ptak M., Ptak W.: TCR $\alpha\beta$ CD4/CD8 double-positive T cells mediate suppression of delayed type hypersensitivity (DTH) reactions induced by epicutaneous (EC) immunization. *FASEB J.*, 2004; 88: 17
- [40] Lobo F., Zając K., Majewska M., Zemelka M., Szczepanik M.: Epicutaneous immunization with protein antigen protects from collagen induced arthritis. *J. Immunol.*, 2006; 176: S246 (115.13)
- [41] Lynch D.H., Gurish M.F., Daynes R.A.: Relationship between epidermal Langerhans cell density ATPase activity and the induction of contact hypersensitivity. *J. Immunol.*, 1981; 126: 1892–1897
- [42] Majewska M., Zając K., Kubera M., Bryniarski K., Ptak M., Basta-Kaim A., Książek L., Ptak W., Lasoń W., Szczepanik M.: Effects of ovalbumin on the survival of an H-Y incompatible skin graft in C57BL/6 mice. *Pharmacol. Rep.*, 2006; 58: 439–442
- [43] Majewska M., Zając K., Srebro Z., Sura P., Książek L., Zemelka M., Szczepanik M.: Epicutaneous immunization with myelin basic protein protects from the experimental autoimmune encephalomyelitis. *Pharmacol. Rep.*, 2007; 59: 74–79
- [44] Martin S., Lappin M.B., Kohler J., Delattre V., Leicht C., Preckel T., Simon J.C., Weltzien H.U.: Peptide immunization indicates that CD8+ T cells are the dominant effector cells in trinitrophenyl-specific contact hypersensitivity. *J. Invest. Dermatol.*, 2000; 115: 260–266
- [45] Matzinger P.: The danger model: a renewed sense of self. *Science*, 2002; 296: 301–305

- [46] Medzhitov R., Janeway C.A. Jr.: Decoding the patterns of self and nonself by innate immune system. *Science*, 2002; 296: 298–300
- [47] Medzhitov R., Preston-Hurlburt P., Janeway C.A. Jr.: A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature*, 1997; 388: 394–397
- [48] Metzger Z., Hoffeld J.T., Oppenheim J.J.: Macrophage-mediated suppression. I. Evidence for participation of both hydrogen peroxide and prostaglandins in suppression of murine lymphocyte proliferation. *J. Immunol.*, 1980; 124: 983–988
- [49] Miller S.D., Claman H.N.: The induction of hapten-specific T cell tolerance by using hapten-modified lymphoid cells. I. Characteristics of tolerance induction. *J. Immunol.*, 1976; 117: 1519–1526
- [50] Mitchell J.A., Paul-Clark M.J., Clarke G.W., McMaster S.K., Cartwright N.: Critical role of toll-like receptors and nucleotide oligomerisation domain in the regulation of health and disease. *J. Endocrinol.*, 2007; 193: 323–330
- [51] Mosmann T.R., Coffman R.L.: TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu. Rev. Immunol.*, 1989; 7: 145–173
- [52] Muller H.K., Bucana C., Kripke M.L.: Antigen presentation in the skin: modulation by u.v. radiation and chemical carcinogens. *Semin. Immunol.*, 1992; 4: 205–215
- [53] Nakae S., Komiyama Y., Nambu A., Sudo K., Iwase M., Homma I., Sekikawa K., Asano M., Iwakura Y.: Antigen-specific T cell sensitization is impaired in IL-17-deficient mice, causing suppression of allergic cellular and humoral responses. *Immunity*, 2002; 17: 375–387
- [54] Nakamura K., Aizawa M.: Studies on the genetic control of picryl chloride contact hypersensitivity reaction in inbred rats. *Transplant. Proc.*, 1981; 13: 1400–1403
- [55] Netea M.G., Suttmuller R., Hermann C., Van der Graaf C.A., Van der Meer J.W., van Krieken J.H., Hartung T., Adema G., Kullberg B.J.: Toll-like receptor 2 suppresses immunity against *Candida albicans* through induction of IL-10 and regulatory T cells. *J. Immunol.*, 2004; 172: 3712–3718
- [56] Nishiya T., DeFranco A.L.: Ligand-regulated chimeric receptor approach reveals distinctive subcellular localization and signaling properties of the Toll-like receptors. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 19008–19017
- [57] O'Leary J.G., Goodarzi M., Drayton D.L., von Andrian U.H.: T cell- and B cell-independent adaptive immunity mediated by natural killer cells. *Nat. Immunol.*, 2006; 7: 507–516
- [58] Odyniec A., Szczepanik M., Mycko M.P., Stasiolek M., Raine C.S., Selmaj K.W.: $\gamma\delta$ T cells enhance the expression of experimental autoimmune encephalomyelitis by promoting antigen presentation and IL-12 production. *J. Immunol.*, 2004; 173: 682–694
- [59] Pasare C., Medzhitov R.: Toll pathway-dependent blockade of CD4+CD25+ T cell-mediated suppression by dendritic cells. *Science*, 2003; 299: 1033–1036
- [60] Pasare C., Medzhitov R.: Toll-dependent control mechanisms of CD4 T cell activation. *Immunity*, 2004; 21: 733–741
- [61] Pomeranz J.R.: Tolerance to the trinitrophenol ligand in guinea pigs: studies on the role of the solvent used in feeding. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 1986; 79: 211–214
- [62] Ptak W., Bereta M., Marcinkiewicz J., Gershon R.K., Green D.R.: Production of antigen-specific contrasuppressor cells and factor, and their use in augmentation of cell-mediated immunity. *J. Immunol.*, 1984; 133: 623–628
- [63] Ptak W., Bryniarski K., Ptak M., Majewska M., Gamian A., Lobo F.M., Szczepanik M.: Toll-like receptor ligands reverse suppression of contact hypersensitivity reactions induced by epicutaneous immunization with protein antigen. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2006; 139: 188–200
- [64] Ptak W., Flood P.M., Janeway C.A. Jr., Marcinkiewicz J., Green D.R.: Immunoregulatory role of Ig isotypes. I. Induction of contrasuppressor T cells for contact sensitivity responses by antibodies of the IgM, IgG1, and IgG3 isotypes. *J. Immunol.*, 1988; 141: 756–764
- [65] Ptak W., Janeway C.A. Jr., Flood P.M.: Immunoregulatory role of Ig isotypes. II. Activation of cells that block induction of contact sensitivity responses by antibodies of IgG2a and IgG2b isotypes. *J. Immunol.*, 1988; 141: 765–773
- [66] Ptak W., Majewska M., Bryniarski K., Ptak M., Lobo F.M., Zajac K., Askenase P.W., Szczepanik M.: Epicutaneous immunization with protein antigen in the presence of TLR4 ligand induces TCR $\alpha\beta$ + CD4+ T contrasuppressor cells that reverse skin-induced suppression of Th1 mediated contact sensitivity. *J. Immunol.*, 2009; 182: 837–850
- [67] Ptak W., Ptak M., Gryglewski A.: Preferential induction of antigen-specific contrasuppressor T lymphocytes by trinitrophenyl (TNP)-substituted Langerhans cells. *Scand. J. Immunol.*, 1986; 23: 555–560
- [68] Ptak W., Różycka D., Askenase P.W., Gershon R.K.: Role of antigen-presenting cells in the development and persistence of contact hypersensitivity. *J. Exp. Med.*, 1980; 151: 362–375
- [69] Ptak W., Szczepanik M., Bryniarski K., Tutaj M., Ptak M.: Epicutaneous application of protein antigens incorporated into cosmetic cream induces antigen-nonspecific unresponsiveness in mice and affects the cell-mediated immune response. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2002; 128: 8–14
- [70] Ptak W., Szczepanik M., Ramabhadran R., Askenase P.W.: Immune or normal $\gamma\delta$ T cells that assist $\alpha\beta$ T cells in elicitation of contact sensitivity preferentially use V γ 5 and V δ 4 variable region gene segments. *J. Immunol.*, 1996; 156: 976–986
- [71] Ptak W., Zembala M., Gershon R.K.: Intermediary role of macrophages in the passage of suppressor signals between T-cell subsets. *J. Exp. Med.*, 1978; 148: 424–434
- [72] Ring S., Schäfer S.C., Mahnke K., Lehr H.A., Enk A.H.: CD4+ CD25+ regulatory T cells suppress contact hypersensitivity reactions by blocking influx of effector T cells into inflamed tissue. *Eur. J. Immunol.*, 2006; 36: 2981–2992
- [73] Saint-Mezard P., Berard F., Dubois B., Kaiserlian D., Nicolas J.F.: The role of CD4+ and CD8+ T cells in contact hypersensitivity and allergic contact dermatitis. *Eur. J. Dermatol.*, 2004; 14: 131–138
- [74] Schwarzenberger K., Udey M.C.: Contact allergens and epidermal pro-inflammatory cytokines modulate Langerhans cell E-cadherin expression *in situ*. *J. Invest. Dermatol.*, 1996; 106: 553–558
- [75] Shimizu H., Matsuguchi T., Fukuda Y., Nakano I., Hayakawa T., Takeuchi O., Akira S., Umemura M., Suda T., Yoshikai Y.: Toll-like receptor 2 contributes to liver injury by *Salmonella* infection through Fas ligand expression on NKT cells in mice. *Gastroenterology*, 2002; 123: 1265–1277
- [76] Stephens G.L., McHugh R.S., Whitters M.J., Young D.A., Luxenberg D., Carreno B.M., Collins M., Shevach E.M.: Engagement of glucocorticoid-induced TNFR family-related receptor on effector T cells by its ligand mediates resistance to suppression by CD4+CD25+ T cells. *J. Immunol.*, 2004; 173: 5008–5020
- [77] Sullivan S., Bergstrom P.R., Tigelaar R.E., Streilein J.W.: Induction and regulation of contact hypersensitivity by resident, bone marrow-derived, dendritic epidermal cells: Langerhans cells and Thy-1+ epidermal cells. *J. Immunol.*, 1986; 137: 2460–2467
- [78] Szczepanik M.: Regulation of contact hypersensitivity responses by different populations of T suppressor cells. Skin induced tolerance and its clinical implications. *Recent Res. Devel. Immunol.*, 2002; 4: 641–667
- [79] Szczepanik M.: Skin-induced tolerance and its reversal by Toll-like receptor ligands. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 2007; 55: 161–172
- [80] Szczepanik M., Anderson L.R., Ushio H., Ptak W., Owen M.J., Hayday A.C., Askenase P.W.: $\gamma\delta$ T cells from tolerized $\alpha\beta$ T cell receptor (TCR)-deficient mice inhibit contact sensitivity-effector T cells *in vivo*, and their interferon- γ production *in vitro*. *J. Exp. Med.*, 1996; 184: 2129–2139
- [81] Szczepanik M., Anderson L.R., Ushio H., Ptak W., Owen M.J., Hayday A.C., Askenase P.W.: $\gamma\delta$ T cells from tolerized $\alpha\beta$ -TCR deficient mice antigen specifically inhibit contact sensitivity *in vivo* and IFN- γ production *in vitro*. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1997; 113: 373–375
- [82] Szczepanik M., Askenase P.W.: IL-12 reverses established tolerance mediated by TCR $\alpha\beta$ + but not by TCR $\gamma\delta$ + suppressor T cells. *Immunol. Invest.*, 2000; 29: 243–256
- [83] Szczepanik M., Bryniarski K., Tutaj M., Ptak M., Skrzeczynska J., Askenase P.W., Ptak W.: Epicutaneous immunization induces $\alpha\beta$ T-cell receptor CD4 CD8 double-positive non-specific suppressor T cells that inhibit contact sensitivity via transforming growth factor- β . *Immunology*, 2005; 115: 42–54
- [84] Szczepanik M., Lewis J., Geba G.P., Ptak W., Askenase P.W.: Positive regulatory $\gamma\delta$ T cells in contact sensitivity: augmented responses by *in vivo* treatment with anti- $\gamma\delta$ monoclonal antibody, or anti-V γ 5 or V δ 4. *Immunol. Invest.*, 1998; 27: 1–15
- [85] Szczepanik M., Ptak W., Askenase P.W.: Role of interleukin-4 in down-regulation of contact sensitivity by $\gamma\delta$ T cells from tolerized T-cell receptor α -/- mice. *Immunology*, 1999; 98: 63–70
- [86] Szczepanik M., Tutaj M., Bryniarski K., Dittel B.N.: Epicutaneously induced TGF- β -dependent tolerance inhibits experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Neuroimmunol.*, 2005; 164: 105–114

- [87] Teunissen M.B., Koomen C.W., de Waal Malefyt R., Wierenga E.A., Bos J.D.: Interleukin-17 and interferon- γ synergize in the enhancement of proinflammatory cytokine production by human keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.*, 1998; 111: 645–649
- [88] Thyssen J.P., Johansen J.D., Menné T.: Contact allergy epidemics and their controls. *Contact Dermatitis*, 2007; 56: 185–195
- [89] Toews G.B., Bergstresser P.R., Streilein J.W.: Epidermal Langerhans cell density determines whether contact hypersensitivity or unresponsiveness follows skin painting with DNFB. *J. Immunol.*, 1980; 124: 445–453
- [90] Tsuji R.F., Geba G.P., Wang Y., Kawamoto K., Matis L.A., Askenase P.W.: Required early complement activation in contact sensitivity with generation of local C5-dependent chemotactic activity, and late T cell interferon γ : a possible initiating role of B cells. *J. Exp. Med.*, 1997; 186: 1015–1026
- [91] Tsuji R.F., Kawikova I., Ramabhadran R., Akahira-Azuma M., Taub D., Hugli T.E., Gerard C., Askenase P.W.: Early local generation of C5a initiates the elicitation of contact sensitivity by leading to early T cell recruitment. *J. Immunol.*, 2000; 165: 1588–1598
- [92] Tsuji R.F., Kikuchi M., Askenase P.W.: Possible involvement of C5/C5a in the efferent and elicitation phases of contact sensitivity. *J. Immunol.*, 1996; 156: 4444–4450
- [93] Tsuji R.F., Szczepanik M., Kawikova I., Paliwal V., Campos R.A., Itakura A., Akahira-Azuma M., Baumgarth N., Herzenberg L.A., Askenase P.W.: B cell-dependent T cell responses: IgM antibodies are required to elicit contact sensitivity. *J. Exp. Med.*, 2002; 196: 1277–1290
- [94] Tutaj M., Szczepanik M.: Epicutaneous (EC) immunization with myelin basic protein (MBP) induces TCR $\alpha\beta$ + CD4+ CD8+ double positive suppressor cells that protect from experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). *J. Autoimmun.*, 2007; 28: 208–215
- [95] van Beelen A.J., Teunissen M.B., Kapsenberg M.L., de Jong E.C.: Interleukin-17 in inflammatory skin disorders. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*, 2007; 7: 374–381
- [96] Van Loveren H., Askenase P.W.: Delayed-type hypersensitivity is mediated by a sequence of two different T cell activities. *J. Immunol.*, 1984; 133: 2397–2401
- [97] Van Loveren H., Kato K., Meade R., Green D.R., Horowitz M., Ptak W., Askenase P.W.: Characterization of two different Ly-1+ T cell populations that mediate delayed-type hypersensitivity. *J. Immunol.*, 1984; 133: 2402–2411
- [98] Van Loveren H., Ptak W., Askenase P.W.: Involvement of antigen-specific T cell factors in regulation of separate steps in the delayed-type hypersensitivity cascade. *Lymphokines*, 1987; 14: 405–429
- [99] Von Boehmer H.: Mechanisms of suppression by suppressor T cells. *Nat. Immunol.*, 2005; 6: 338–344
- [100] Wang B., Fujisawa H., Zhuang L., Freed I., Howell B.G., Shahid S., Shivji G.M., Mak T.W., Sauder D.N.: CD4+ Th1 and CD8+ type 1 cytotoxic T cells both play a crucial role in the full development of contact hypersensitivity. *J. Immunol.*, 2000; 165: 6783–6790
- [101] Wang L.F., Lin J.Y., Hsieh K.H., Lin R.H.: Epicutaneous exposure of protein antigen induces a predominant Th2-like response with high IgE production in mice. *J. Immunol.*, 1996; 156: 4079–4082
- [102] Wang L.F., Wu J.T., Sun C.C.: Local but not systemic administration of IFN- γ during the sensitization phase of protein antigen immunization suppress Th2 development in a murine model of atopic dermatitis. *Cytokine*, 2002; 19: 147–152
- [103] Watanabe H., Unger M., Tuvel B., Wang B., Sauder D.N.: Contact hypersensitivity: the mechanism of immune responses and T cell balance. *J. Interferon Cytokine Res.*, 2002; 22: 407–412
- [104] Weiner H.L.: Oral tolerance: immune mechanisms and the generation of Th3-type TGF- γ -secreting regulatory cells. *Microbes Infect.*, 2001; 3: 947–954
- [105] Yang Y., Huang C.T., Huang X., Pardoll D.M.: Persistent Toll-like receptor signals are required for reversal of regulatory T cell-mediated CD8 tolerance. *Nat. Immunol.*, 2004; 5: 508–515
- [106] Yarovinsky F., Zhang D., Andersen J.F., Bannenberg G.L., Serhan C.N., Hayden M.S., Hieny S., Sutterwala F.S., Flavell R.A., Ghosh S., Sher A.: TLR11 activation of dendritic cells by a protozoan profilin-like protein. *Science*, 2005; 308: 1626–1629
- [107] Young S.L., Lyddon T.D., Jorgenson R.L., Misfeldt M.L.: Expression of Toll-like receptors in human endometrial epithelial cells and cell lines. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2004; 52: 67–73
- [108] Zhang D., Zhang G., Hayden M.S., Greenblatt M.B., Bussey C., Flavell R.A., Ghosh S.: A toll-like receptor that prevents infection by uropathogenic bacteria. *Science*, 2004; 303: 1522–1526

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.