

Received: 2013.02.27
Accepted: 2013.10.05
Published: 2013.12.30

Mechanizmy zaprogramowanej śmierci efektorowych limfocytów T

Mechanisms of programmed cell death of effector T lymphocytes

Grzegorz Przybylski¹, Joanna Wielikdzien², Piotr Kopiński²

¹Katedra i Klinika Chorób Płuc, Nowotworów i Gruźlicy, Collegium Medicum, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Bydgoszcz/Toruń

²Katedra i Zakład Genoterapii, Collegium Medicum, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Bydgoszcz/Toruń

Streszczenie

Prawidłowa czynność limfocytów T jest niezbędna w obronie przed patogenami. Przejściowe zaburzenie homeostazy układu odpornościowego pojawia się, gdy wyjściowo dziewicze komórki T podejmują stymulowaną swoistymi antygenami ekspansję i nabywają czynności efektorowych. Następnie efektorowe limfocyty T albo ulegają zjawisku zaprogramowanej śmierci (programmed cell death – PCD), zachodzącej zwykle w wyniku masywnej apoptozy w fazie kontrakcji odpowiedzi immunologicznej, albo przeżywają jako komórki pamięci. W pracy omówiono dwa główne szlaki PCD komórek T: śmierć komórkową indukowaną aktywacją (activation induced cell death – AICD), tj. odmianę apoptozy zewnątrzpochodnej oraz śmierć z zaniedbania (neglect induced death – NID), stanowiącą przykład apoptozy wewnątrzpochodnej. Wcześniejsze badania na modelach *in vitro* wsparły pogląd o przeważającym znaczeniu AICD w kontrakcji układu immunologicznego, zwłaszcza wskutek swoistej mobilizacji receptora TCR. Zabrakło jednak potwierdzenia zarówno w badaniach eksperymentalnych *in vivo*, jak i w klinicznych pracach autorów niniejszej publikacji, które dotyczyły apoptozy uczulonych antygenowo komórek T w przewlekłych chorobach zapalnych dolnych dróg oddechowych. Obecnie uważa się, że krytyczne w wygaszaniu odczynu w komórkach T są białka rodziny Bcl-2 i proces NID. Najbardziej prawdopodobnymi kandydatami na czynniki regulujące kontrakcję limfocytów T są: antyapoptotyczna cząsteczka Bcl-2 i jej proapoptotyczny antagonistą Bim, oba pod nadrzędną kontrolą autokrynnej interleukiny 2. Przedyskutowano także inne możliwe mechanizmy regulujące proces kontrakcji, takie jak ligacja receptorów śmierci, udział cytokin i znaczenie czynnika transkrypcyjnego NF-κB. Dodatkowo zwrócono uwagę na potencjalną rolę regulowania przeżycia/apoptozy limfocytów w przyszłych próbach terapii nowotworów i włóknienia płuc.

Słowa kluczowe:

apoptoza • śmierć komórkowa indukowana aktywacją (AICD) • białka Bcl-2 • efektorowe limfocyty T • śmierć z zaniedbania (NID)

Summary

T cell adequate function is critical for defense against pathogens. Transient disruption of T cell homeostasis occurs when primarily naive cells undergo antigen-driven expansion and acquire effector functions. Effector T cells then either undergo programmed cell death (PCD, it occurs usually as massive apoptosis during the contraction phase of the immune response) or survive to become memory cells. Two main pathways of effector T cell PCD are discussed in the review: activation-induced cell death (AICD), which is a form of extrinsic apoptosis, and neglect-induced death (NID), which is an intrinsic one. Initial studies using *in vitro* models supported a role of AICD, mostly initiated by TCR receptor triggering in immune contraction. However,

it was not finally supported by either recent *in vivo* experiments or current review authors' clinical studies concerning primed T cell apoptosis in chronic inflammatory lower airway diseases. Actually, Bcl-2 family members seem to be critical for the culling of T cell responses. The antiapoptotic molecule Bcl-2 and its proapoptotic antagonist Bcl-2, both under upstream control of autocrine interleukin-2, are the most probable candidates for regulators of T cell contraction. Other possible mechanisms regulating the process of contraction such as death receptor ligation, the impact of cytokines, as well as the importance of transcription factor NF- κ B, are discussed. Additionally, attention is turned to the potential role of T cell survival/apoptosis regulation in future therapies of some diseases, including tumors and lung fibrosis.

Keywords: apoptosis • activation-induced cell death • Bcl-2 proteins • effector T cells • neglect-induced death

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1085092>

Word count: 6836

Tables: 2

Figures: 2

References: 101

Adres autora: dr n.med. Grzegorz Przybylski, Katedra i Klinika Chorób Płuc, Nowotworów i Gruźlicy, Collegium Medicum, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Bydgoszcz/Toruń, ul. Seminaryjna 1, 85-326 Bydgoszcz; e-mail: gprzybylski@cm.umk.pl

Wykaz skrótów: **AICD** – śmierć komórkowa indukowana aktywacją (activation-induced cell death); **APAF-1** – czynnik aktywujący proteazy w apoptozie (apoptotic protease-activating factor-1); **AP-1** – czynnik transkrypcyjny AP-1 (activator protein 1); **APC** – komórka prezentująca antygen (antigen presenting cell); **Bad** – białko proapoptotyczne podrodziny BH3-only (Bcl-2 antagonist of cell death); **Bak** – białko proapoptotyczne podrodziny Bax (Bcl-2 antagonist killer 1); **BAL** – płukanie oskrzelowo-pęcherzykowe (bronchoalveolar lavage); **Bax** – białko proapoptotyczne podrodziny Bax (Bcl-2-associated protein X); **Bcl-2** – rodzina endogennych białkowych regulatorów apoptozy (B-cell leukemia/lymphoma-2); **Bcl-xL** – inhibitorowe białko apoptozy (B-cell lymphoma-extra large); **Bid** – aktywatorowe białko proapoptotyczne podrodziny BH3-only (BH3 interacting domain death antagonist); **Bim** – aktywatorowe białko proapoptotyczne podrodziny BH3-only (Bcl-2 interacting mediator of cell death); **Bok** – białko proapoptotyczne podrodziny Bax (Bcl-2-related ovarian killer); **cFLIP** – białko antyapoptotyczne, hamuje kaspazę 8 (FLICE inhibitory protein); **CTL** – limfocyt cytotoksyczny (cytotoxic lymphocyte); **DC** – komórka dendrytyczna (dendritic cell); **DISC** – kompleks sygnalizacyjny indukujący śmierć komórki (death-inducing signaling complex); **DR4,5** – receptor śmierci 4,5 (death receptor 4,5); **FasL** – ligand Fas; **GZMA (B)** – granzym A (B); **HPK1** – hematopoetyczna progenitorowa kinaza 1 (hematopoietic progenitor kinase 1); **HPK-C** – kadłubowa (C-końcowa) izoforma kinazy HPK; **IFN- γ** – interferon γ ; **IKK** – kinaza inhibitora κ B, (I kappa B kinase); **JAK** – kinaza Janusowa; **JNK** – N-końcowa kinaza c-Jun (c-Jun N-terminal kinase); **Mcl-1** – antyapoptotyczne białko podrodziny Bcl-2 (myeloid cell leukemia-1); **NF- κ B** – transkrypcyjny czynnik jądrowy κ B (nuclear factor κ B); **Noxa** – białko proapoptotyczne podrodziny BH3-only (łac. *noxa* – uszkodzenie); **PCD** – zaprogramowana śmierć komórki (programmed cell death); **Puma** – białko proapoptotyczne podrodziny BH3-only (p53 upregulated modulator of apoptosis); **ROS** – wolne rodniki tlenowe (radical oxygen species); **STAT-5** – czynnik transkrypcyjny (signal transduced and activator of transcription 5); **TNFR** – receptor czynnika martwicy nowotworu (tumor necrosis factor receptor); **TNF- α** – czynnik martwicy nowotworu α (tumor necrosis factor α); **TRADD** – związane z TNFR1 białko adaptorowe z domeną śmierci (TNFR associated death domain-containing protein); **TRAIL** – ligand martwicy nowotworu indukującego apoptozę (TNF-related apoptosis inducing ligand-receptor).

WPROWADZENIE

Autorzy niniejszej pracy badali w ostatnich latach apoptozę limfocytów pochodzących z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (broncholaveolar lavage – BAL), czyli tzw. limfocytów pęcherzykowych, w chorobach zapalnych dolnych dróg oddechowych [46]. Opracowując otrzymane wyniki spostrzeżono, że niewiele wiadomo o udziale apoptozy w regulacji liczby i czynności obwodowych, uczulonych antygenowo komórek T, a z takich składają się limfocyty BAL [1]. Było to przyczynkiem do zawartej tu rekapitulacji aktualnych poglądów dotyczących tego zagadnienia.

Przez wzgląd na złożoność problemu i celem nadania pracy zwartości, opis apoptozy przedstawiono zwięźle w poglądowy sposób. W pracy skoncentrowano się na mechanizmach, które w myśl aktualnych przekonań pełnią główną rolę w przebiegu odczynu zapalnego w puli antygenowo uczulonych efektorowych limfocytów T. W skrócie odniesiono się do zagadnień apoptozy/przeżycia: 1) tymocytów (zwłaszcza w przebiegu dokładniej poznanej tzw. selekcji negatywnej w grasicy); 2) nieuczulonych antygenowo (naiwnych) komórek T oraz 3) komórek pamięci T. Te dodatkowe informacje mogą być przydatne, *per analogiam*, do analizy mechanizmów zaprogramowanej śmierci efektorowych komórek T.

PODSTAWOWE POJĘCIA APOPTOZY

Ważnym elementem homeostazy układu odpornościowego jest kontrola cyklu życiowego limfocytów, a więc alternatywnych procesów proliferacji i zaprogramowanej śmierci komórek (programmed cell death – PCD). Oba zjawiska są podstawowe dla prawidłowego działania układu komórek T, zasadniczego narzędzia adaptacyjnej odpowiedzi immunologicznej. Ważnym mechanizmem PCD jest apoptoza, przebiegająca typowo („kanonicznie”) z udziałem enzymów grupy kaspaz i z charakterystyczną kondensacją jąder komórkowych [37]. Stanowi ona realizację własnego programu genetycznego komórki, umożliwia więc jej niejako „samobójczą” śmierć w sposób planowy i uporządkowany (m.in. zależny od dostawy energii). Apoptoza uczestniczy w rozwoju i czynności układu immunologicznego, w tym w regulacji odpowiedzi limfocytów T na obce antygeny.

Podsumowując, istnieją dwa główne szlaki apoptozy: 1) zewnątrzpochodny (receptorowy), uruchamiany przyłączeniem (ligacją) białek rodziny czynnika martwicy nowotworu (tumor necrosis factor - TNF) do swoistych receptorów, znanych jako receptory śmierci, należących z kolei do rodziny receptora czynnika martwicy nowotworu, TNFR oraz 2) wewnątrzpochodny (mitochondrialny), rozpoczynający się dezintegracją błon mitochondriów i przedostaniem się induktorów apoptozy do cytosolu. W pierwszym przypadku komplementacja par ligand:receptor śmierci (typowe pary to ligand Fas(FasL):Fas, TNF- α :TNFR1, TRAIL:DR4/DR5) prowadzi do zmian konformacyjnych części cytoplazmatycznych

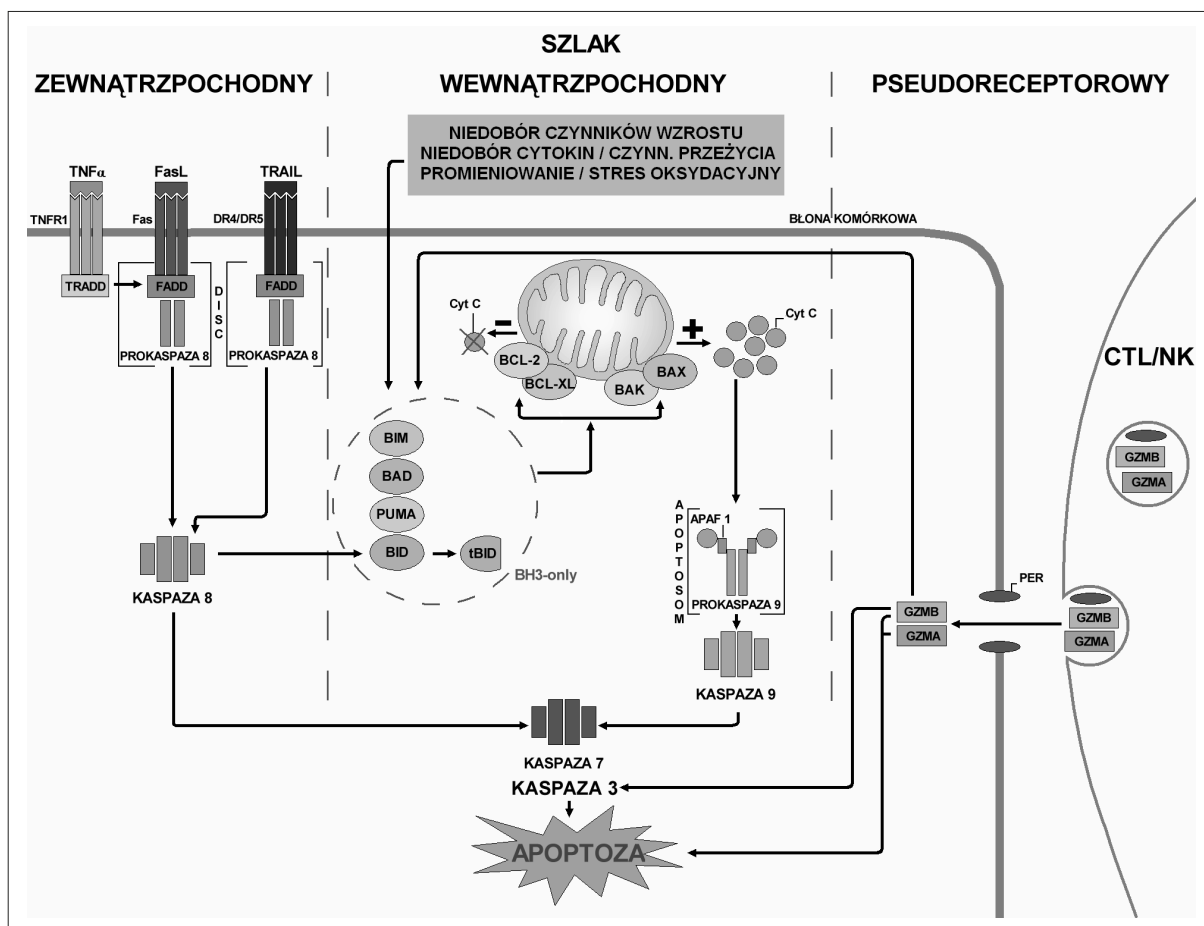
receptorów śmierci. Obecne na tych ostatnich motywy, znane jako domeny śmierci, przyłączają homologiczne domeny białek adaptorowych (dla pary TNF- α :TNFR1 białko adaptorowe TRADD, dla pozostałych – FADD). Powstaje tzw. kompleks DISC (death-inducing silencing complex), zawierający m.in. prokaspazę 8; zachodzi w nim aktywacja tej ostatniej do czynnej kaspazy 8. Antagonistą procesu jest nieczynny enzymatycznie homolog tej kaspazy, białko cFLIP [3].

Natomiast w szlaku wewnątrzpochodnym przepuszczalność błon mitochondriów kontroluje rodzina białek Bcl-2, do których należą zarówno czynniki pro- i antyapoptotyczne, podzielone na trzy podrodziny. Do pierwszej z nich należą Bax, Bak i Bok (podrodzina Bax). Rozszczelniają one błony, ich znaczenie jest więc proapoptotyczne. Przeciwnie działają czynniki podrodziny Bcl-2 (w komórkach T właściwe białko Bcl-2, a także Bcl-xL, Mcl-1 i A1). Wzajemna równowaga tych dwóch grup czynników podlega z kolei kontroli ze strony białek trzeciej podrodziny (tzw. BH3-only), których wpływ jest silnie proapoptotyczny (w limfocytach T wykryto obecność następujących czynników podrodziny: Bim, Bid, Bad, Puma, Noxa, NIX i BNIP3) [92]. Uwolniony z mitochondriów cytochrom c wiąże się z białkiem APAF-1 i prokaspazą 9. Powstaje kompleks zwany apoptosomem, w obrębie którego zachodzi aktywacja kaspazy 9 [3].

Oba szlaki, zewnątrz- i wewnątrzpochodny, aktywują kaskadę kaspaz, enzymów charakterystycznych dla apoptozy. Jak wspomniano, aktywacja inicjatorowej kaspazy 8 (oraz 10) jest najważniejszym zdarzeniem rozpoczynającym szlak receptorowy, zaś droga mitochondrialna zaczyna się od aktywacji inicjatorowej kaspazy 9. Uważa się, że zjawisko PCD staje się nieodwracalne wraz z aktywacją kaspaz efektorowych: (3, 6, 7). Kaspaza 3 jest najbardziej charakterystycznym enzymem fazy efektorowej apoptozy, degradując białka odpowiedzialne za strukturę i integralność komórki [20].

Istnieje dodatkowa droga, w której limfocyty o czynności cytotoksycznej (T i NK) zabijają komórki docelowe za pomocą perforyny i granzymów (tzw. szlak perforyny/granzymów). Nosi ona nazwę szlaku pseudoreceptorowego, a ostateczną śmierć komórki indukuje granzym B (GZMB) i niekiedy granzym A (GZMA) [25]. Szlaki: zewnątrz- i wewnątrzpochodny oraz pseudoreceptorowa droga zależna od GZMB, zbiegają się we wspólnej fazie wykonawczej apoptozy, w miejscu aktywacji kaspaz efektorowych, zwłaszcza kaspazy 3. Skutkuje to zmianami morfologicznymi i biochemicznymi, typowymi dla apoptozy. GZMA może inicjować PCD, omijając kaspazę 3 [59]. Zaprogramowana śmierć limfocytów T zachodzi przypuszczalnie pod wpływem wszystkich trzech wyżej wymienionych mechanizmów (ryc. 1).

Problem apoptozy limfocytów T wymaga wprowadzenia dwóch ważnych pojęć. Są to: śmierć komórkowa indukowana przez aktywację (activation-induced cell death - AICD) i śmierć z zaniedbania (neglect indu-



Ryc. 1. Główne szlaki apoptozy limfocyta. Przyłączenie do receptorów śmierci (TNFR1, FAS, DR4/DR5) ich ligandów (TNF- α , FASL, TRAIL) uruchamia szlak zewnętrzny, dalszymi mediatorami są białka adaptorowe (FADD, TRADD) i kaspaza 8. Szlak wewnętrzny zależy od równowagi pomiędzy białkami podrodziny BCL-2 (działają antyapoptotycznie uszczelniając błony mitochondriów) a białkami podrodziny BAX (rozszerzają błony). Równowaga ta znajduje się pod kontrolą proapoptycznych białek podrodziny BH3-only, za pomocą których oddziałują induktory apoptozy szlaku mitochondrialnego. Szlak pseudoreceptorowy uruchamiają limfocyty (CTL lub NK), tworząc za pomocą perforyny, PER, kanały w błonie atakowanej komórki. Do wnętrza docierają przez nie granzymy A i B (GZMA, GZMB). Większość dróg indukcji apoptozy, w tym szlak aktywnej kaspazy 8 (zewnętrzny) i kaspazy 9 (wewnętrzny), schodzą się w miejscu aktywacji kaspazy 3 (początek fazy wykonawczej). Granzymy mogą działać niezależnie od kaspazy 3

ced death - NID). AICD jest odmianą szlaku zewnętrznego i polega na tym, że bodźce receptorowe aktywujące czynność danej komórki paradoksalnie uczulają ją na apoptozę, np. poprzez automatyczną, równoległą indukcję ekspresji błonowych receptorów śmierci [62]. Zjawisko NID jest natomiast odmianą szlaku wewnętrznego. Wiele komórek (nie tylko limfocytów) dysponuje tu „domyślnym”, spontanicznym szlakiem samobójczej śmierci, który jest w nich czasowo zablokowany dzięki działaniu obecnych w otoczeniu mediatorów (hormonów, czynników wzrostu, cytokin). Umożliwiają one komórce dalsze życie, najczęściej wskutek podtrzymania aktywności szlaku kinazy fosfatydyloinozytoli 3 (PI3K) oraz kinazy Akt. Ta ostatnia fosforyluje m.in. Bad, ważny proapoptyczny mediator rodziny BH3-only, który staje się wówczas nieaktywny. I przeciwnie, gdy czynników przeżycia brak lub spada ich biologiczna dostępność, apoptoza zachodzi pod wpływem NID samorzutnie [20].

APOPTOZA W PROCESIE SELEKCJI TYMOCYTÓW

Tymocyty są prekursorami limfocytów T, dojrzewającymi czynnościowo (nabywającymi immunokompetencji) w centralnym organie immunologicznym, jakim jest grasica, poprzez stadia selekcji, kolejno – beta, pozytywnej i negatywnej. Istotą selekcji jest masowna apoptoza tymocytów. Na obwód przedostają się wyłącznie komórki, które swym receptorem TCR potrafią rozpoznać obcy antygen w kontekście cząsteczek układu MHC. Komórki nietworzące połączeń z własnymi cząsteczkami MHC, a także komórki autoreaktywne są eliminowane [60].

Najlepiej poznano mechanizmy apoptotycznej negatywnej selekcji autoreaktywnych klonów komórek T (delecji klonalnej). Ten fizjologiczny proces zależy od kaspaz efektorowych (3 i 7, przebiega więc „kanonicznie”), jednak dokładny mechanizm aktywacji kaspaz nie został precyzyjnie opisany [54]. Główną rolę przypisuje się białkom Bcl-2. Jak wykazano w modelach *knock-out*

u myszy, najważniejsze są: czynnik Bim (podrodziny BH3-only) oraz Bax i Bak (podrodziny Bax). Blokowanie innych białek podrodziny BH3-only (Bad, Bid i Noxa) nie wpływa na przebieg selekcji [92]. Przypuszcza się, iż krytycznym mediatorem jest czynnik Bim, a znaczenie cząsteczek Bax i Bak jest wtórne i polega na modyfikacji siły bodźców proapoptotycznych w mitochondriach. U myszy z niedoborem Bim pojawia się masywna ekspansja obwodowa limfocytów pochodzących z grasicy i cechy autoimmunoagresji [72]. Podobne objawy występują w niedoborze kinazy serynowo-treoninowej (misshapen-Nck-interacting kinase), umiejscowionej na szlaku przewodzenia sygnału z receptora TCR tymocyty do aktywnej cząsteczki Bim. O ważnej roli molekuly Bim świadczy też to, że jej niedobór zapobiega negatywnej selekcji skuteczniej, niż transgeniczna nadekspresja przeciwstawianych działających czynników Bcl-2 i Bcl-xL [92].

Jest charakterystyczne, że uruchomienie kaspaz efektorowych w przebiegu negatywnej selekcji prawdopodobnie odbywa się bez udziału drogi receptorowej. Delecja klonalna występuje bowiem także po doświadczalnym zahamowaniu ekspresji czynnika TRAIL, receptorów śmierci Fas, białek adaptorowych FADD i kaspazy 8 [14,67]. Zasadniczy mechanizm delecji klonalnej jest więc bez wątpienia wewnątrzpochodny. Nie jest oczywiste, czy te wnioski można przenieść na dalsze fazy życia komórki T.

PRZEŻYCIE NIEUCZULONYCH ANTYGENOWO LIMFOCYTÓW T

Limfocyty T, nabywszy immunokompetencji w grasicy, przeżywają na obwodzie przez wiele lat, jako komórki antygenowo dziewicze. Tworzą populację długo żyjących spoczynkowych limfocytów, recyrkulujących między krwią, chłonką i drugorzędowymi narządami limfatycznymi. U zdrowych dorosłych osób wskutek działania mechanizmów homeostatycznych całkowita ich liczba jest w przybliżeniu wielkością stałą, podziały mitotyczne są limitowane i utrzymują się na niezmiennym poziomie. Jest to tzw. proliferacja minimalna (podstawowa) [58]. Za przeżycie antygenowo dziewiczych komórek T odpowiedzialne są przekaźniki obu zasadniczych szlaków PCD, zwykle działające antyapoptotycznie, zwłaszcza interleukina 7 [99].

Przeniesienie naiwnych komórek T do zwierzęcia pozbawionego limfocytów T powoduje ich intensywne podziały. Jest to tzw. proliferacja limfocytów T kierowana przez mechanizmy homeostazy (homeostasis-driven T cell proliferation). Ma na celu wypełnienie istniejących w nowym otoczeniu pustych nisz dla limfocytów [68]. U gospodarza działają wówczas nasilone czynniki przeżycia, a na naiwnych komórkach T pojawiają się przejściowo markery limfocytów efektorowych i/lub pamięci. Komórki T wykazują też częściowo ekspresję genów fazy wykonawczej odpowiedzi immunologicznej [24]. Wzbudzeniu podlegają receptory TCR antygenowo dziewiczych limfocytów, w procesie tym uczestniczą zaś czą-

steczki własnych antygenów, prezentowane w restrykcji MHC. Przypuszczalnie zjawisko to przebiega podobnie do fazy pozytywnej selekcji grasiczej. Niezbędna jest obecność IL-7, a przeżycie limfocytów zależy bezpośrednio od aktywacji antyapoptotycznych białek podrodziny Bcl-2 [22,86].

INTERLEUKINA 7 JAKO CZYNNIK PRZEŻYCIA LIMFOCYTÓW T

Interleukina 7 odpowiada przede wszystkim za przeżycie spoczynkowych limfocytów T, zarówno komórek antygenowo dziewiczych, jak i komórek pamięci T [86]. IL-7 hamuje ekspresję własnego receptora, jest więc ekonomicznie zużywana przez współzawodniczące o nią limfocyty [34]. U zwierząt z niedoborem IL-7 przeżycie obwodowych komórek T i pamięć immunologiczna są upośledzone. Przeciwnie, transgeniczna nadekspresja IL-7 prowadzi do wzrostu liczby limfocytów T [24].

W grasicy wrażliwość tymocytów na IL-7 (i ekspresja receptora dla tej interleukiny) jest najwyższa na etapie selekcji beta, a później spada [2,66]. Ponownie receptory w wysokim mianie występują na obwodowych dziewiczych komórkach T (po opuszczeniu grasicy) i znikają z powierzchni komórek efektorowych, by później pojawić się na komórkach wraz z generacją limfocytów pamięci T.

Interleukina 7 działa jako czynnik przeżycia szlaku mitochondrialnego apoptozy. Po pierwsze, poprzez kinazy JAK i czynniki transkrypcyjne rodziny STAT-5, aktywuje ekspresję czynnika BCL-2 [42]. Po drugie, podobnie do innych czynników wzrostu, poprzez szlak kinaz PI-3K/Akt fosforyluje i tym samym dezaktywuje proapoptotyczne białko Bad [98]. Po trzecie, wykorzystując szlak tych kinaz oraz zależnego od nich czynnika transkrypcyjnego FOXO3a, hamuje ekspresję białka Bim [42,73]. Inhibicja genu Bim (lub wprowadzenie transgenu Bcl-2) zapobiega śmierci limfocytów u zwierząt pozbawionych genu receptora IL-7 [62].

Ważną konsekwencją uczulenia komórki T – wskutek swoistej stymulacji TCR – jest wzrost poboru glukozy i nasiloną glikolizę, niezbędne do proliferacji i podjęcia czynności efektorowych. Pod nieobecność tej stymulacji, w dziewiczych antygenowo limfocytach T to właśnie IL-7 zabezpiecza metabolizm spoczynkowy, pobór glukozy (pośrednikiem jest aktywna kinaza Akt) i glikolizę (poprzez STAT-5) [33,93].

Receptor IL-7 (IL-7R) składa się z dwóch podjednostek: łańcucha α (IL-7R α , CD127, wspólnego ze zrębową limfopoetyną grasiczą) i łańcucha γ (CD122), znanego jako wspólny łańcuch receptorowy gamma (common γ chain receptor), gdyż jest identyczny z podjednostkami receptorów IL-2, -4, -9, -15 i -21 [22]. Wszystkie te interleukiny są ważnymi czynnikami przeżycia limfocytów, co zależy właśnie od obecności na powierzchni komórek tego wspólnego, „nieswoistego” łańcucha CD122. Natomiast swoiste dla poszczególnych cytokin łańcuchy

receptorowe modyfikują i ukierunkowują ich funkcje. Interleukiny 7 i 15 są prawdopodobnie najważniejszymi czynnikami przeżycia limfocytów T, a krytyczny szlak sygnalizacyjny prowadzi przez wspomniane wyżej czynniki STAT-5 [58]. Charakterystyczne, że dwie inne interleukiny tej grupy, IL-2 i IL-4, działające również poprzez common γ chain receptor, zdefiniowano jako podstawowe czynniki wzrostu odpowiednio komórek Th1 i Th2 [24,62,65].

Podsumowując, IL-7 zapewnia przeżycie limfocytom T, wpływając w sposób złożony na rodzinę białek BCL-2, w tym na właściwy czynnik Bcl-2 i Mcl-1 (aktywacja) oraz Bim i Bad (hamowanie) [51]. Najważniejsze wydaje się oddziaływanie Bcl-2:Bim. U myszy *knock-out* Bcl-2^{-/-} udaje się odwrócić nasiloną apoptozę antygenowo dziewczyczych limfocytów T, jeśli zahamuje się równoległą ekspresję białka Bim [94].

Należy podkreślić, że głównym celem komórkowym IL-7 są te limfocyty, które nie podlegają bieżącej stymulacji ze strony swoistych antygenów (i nie stanowią zasadniczego tematu niniejszej pracy). Tak więc limfocyt T żyje i w razie potrzeby dzieli się, gdyż działa na niego albo nieswoisty czynnik przeżycia, interleukina 7, albo swoista antygenowo ligacja receptora TCR. W tym drugim przypadku w miejsce IL-7, działa IL-2, a sama komórka podejmuje swą zasadniczą rolę biologiczną, czyli walkę z obcym patogenem.

LIMFOCYTY T W PRZEBIEGU EKSPANSJI I KONTRAKCJI ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ

Piśmiennictwo traktujące o apoptozie efektorowych komórek T u człowieka jest dość ograniczone. Dane pochodzą głównie z: 1) eksperymentów *in vitro*; 2) badań nad zwierzętami transgenicznymi; 3) doświadczeń, w których poczesne miejsce zajęły modele ostrej infekcji (np. grypy) u gryzoni [62]. Nawet termin AICD wywodzi się z obserwacji doświadczalnych [26]. Istotny postęp w rozumieniu PCD efektorów odpowiedzi immunologicznej dokonał się ostatnio dzięki tetramerom MHC i limfocytom, do których wprowadzono receptory TCR o pożądanej swoistości (np. przeciw antygenom konkretnego wirusa). Umożliwiło to dokładne prześledzenie losów swoistych antygenowo komórek T w modelach zwierzęcych, ale ze względu na różnorodność zaobserwowanych zdarzeń immunologicznych nie zawsze ułatwiło pełne zrozumienie mechanizmów przeżycia i apoptozy tych komórek [52].

Z kolei prowadzone przez nas badania umożliwiły opisanie apoptozy obwodowych limfocytów T w kategoriach ilościowych i morfologicznych, a wnioski dotyczące mechanizmów PCD wyciągano pośrednio, na podstawie analizy statystycznej wielu danych immunologicznych i biochemicznych, zwłaszcza zestawionych z parametrami charakteryzującymi samą apoptozę lub podatność na ten proces [46,48].

Obwodowe komórki T dzielą się na dwie podstawowe pule: antygenowo nieuczulone (dziewicze, naiwne, naive) i antygenowo uczulone (primed). Przełomowym zdarzeniem w życiu limfocyta jest rozpoznanie przez receptor TCR swoistego antygeny na komórce prezentującej antygen (antigen presenting cell - APC), na ogół komórce dendrytycznej (dendritic cell - DC). Jak wiadomo, proces ten podlega restrykcyi MHC i przeistacza komórkę dziewiczą w antygenowo swoisty, uczulony limfocyt T [62]. Zależna od limfocytów T swoista odpowiedź nabyta (adaptacyjna) na czynniki chorobotwórcze przebiega poprzez fazy rozpoznania antygeny, aktywacji, proliferacji i migracji do miejsc infekcji (tkanek obwodowych), gdzie komórki T zwykle ponownie napotykają na swoiste antygeny prezentowane przez komórki APC, takie jak makrofagi, limfocyty B i zakażone nabłonki. Podlegają tam ponownemu wzbudzeniu (restymulacji i proliferacji) [1]. Ponieważ uczulenie, a także restymulacja swoistymi antygenami wiąże się zwykle z nasilonymi podziałami komórkowymi i gwałtownym wzrostem liczby efektorów T, fazę tę określa się mianem ekspansji. W ostrych zakażeniach opanowanie zagrożenia prowadzi do rezolucji procesu – zwykle w ciągu kilku dni ponad 90% efektorowych komórek T ginie w wyniku nasilonej apoptozy. Ta kolejna faza odpowiedzi, kontrakcja, drastycznie zmniejsza liczebność puli antygenowo swoistych, uczulonych komórek T, są już bowiem zbędne [52]. Pozostałe przy życiu limfocyty różnicują się w populację komórek pamięci T [58]. Wyróżnienie poszczególnych faz odpowiedzi adaptacyjnej jest umowne – zachodzą one na siebie. Rozróżnienie ekspansji i kontrakcji może być utrudnione choćby w przewlekłych stanach zapalnych [46].

Opisana tu redukcja puli limfocytów T umożliwia odbudowę równowagi homeostatycznej układu odpornościowego, ograniczając zbędne koszty metaboliczne i zapobiegając autoimmunizacji. W przeciwnym przypadku niegroźne infekcje prowadziłyby do limfadenopatii, a przetrwały aktywne komórki efektorowe T mogłyby powodować choroby z autoimmunogresji [62]. Co więcej, niedostateczna kontrakcja zagrażałaby w razie ponownego napotkania patogenu burzliwym, groźnym dla życia odczynem zapalnym [6]. Natomiast nadmierna eliminacja efektorowych komórek T może zaburzyć generację skutecznej pamięci immunologicznej [52].

Uczulenie limfocytów T, zachodzące wskutek napotkania swoistego antygeny prezentowanego na powierzchni komórki DC, np. w węźle chłonny, stanowi krytyczny sygnał aktywacji (sygnał 1). Uzupełnia go sygnalizacja ze strony cząsteczek kostymulujących, obecnych na komórce DC i rozpoznawanych przez komplementarne receptory limfocyta T (sygnał 2, szczegóły podano niżej). Dodatkowo limfocyty stymulowane są przez obecne w mikrośrodowisku cytokiny, np. interleukinę 12 i interferon γ (sterują polaryzacją komórek w stronę Th1) oraz IL-4 i -13 (Th2). Określa się je niekiedy jako sygnał 3; dopełnia on procesy aktywacji limfocyta w przebiegu uczulenia [7,62,48].

Antygenowo uczulone komórki CD4⁺ podlegają różnicowaniu w subpopulacje czynnościowe efektorów odpowiedzi immunologicznej (Th1, Th2, Th17) i komórki o funkcjach regulatorowych, wśród których szczególnie znaczenie przypisuje się naturalnym limfocytom regulatorowym, nTreg [21,65,84]. Uczulenie komórek CD8⁺ (niezbędna jest pomocnicza stymulacja ze strony Th1), prowadzi do generacji puli limfocytów cytotoksycznych CTL. Zabijają one zakażone cele komórkowe, a ogólniej rzecz biorąc wszystkie komórki prezentujące na powierzchni antygeny swoiste dla CTL. Posługują się ligandami receptorów śmierci (jak FasL) i opisaną wyżej drogą pseudoreceptorową [25].

Jak zaznaczono wyżej, przedstawiony tu model adaptacyjnej odpowiedzi immunologicznej odzwierciedla wyniki badań doświadczalnych w ostrych zakażeniach, nie zawsze więc umożliwia odpowiednią interpretację zdarzeń immunologicznych w badanych przez nas chorobach śródmiąższowych płuc, zwykle przebiegających przewlekle. Można jednak założyć, że i w tym ostatnim przypadku nakładają się zjawiska miejscowej ekspansji (z przewagą proliferacji i mechanizmów przeżycia) i kontrakcji (równowaga przesuwa się w stronę apoptozy, która staje się z czasem udziałem większości limfocytów T) [46].

Dla dalszych rozważań istotne jest podsumowanie obecnego stanu wiedzy pochodzącego z badań nad przeżyciem/apoptozą obwodowych efektorowych komórek T faz ekspansji i kontrakcji. Przyjmuje się obecność trzech mechanizmów zaprogramowanej śmierci: 1) AICD, 2) NID oraz 3) usunięcia patogenu z otoczenia i następczego braku pobudzenia receptorów TCR [62]. Ostatni z nich stanowi odmianę zjawiska NID, gdyż eliminacja patogenu w naturalny sposób prowadzi do spadku stężeń cytokin prozapalnych, zwykle działających w odniesieniu do limfocytów, takich jak czynniki przeżycia [71].

CZĄSTECZKI KOSTYMULUJĄCE W FAZIE EKSPANSJI. RECEPTOROWE MECHANIZMY PRZEŻYCIA EFEKTOROWYCH LIMFOCYTÓW T

Sygnal 2, którego istotą jest oddziaływanie cząsteczek kostymulujących dojrzałych komórek DC na limfocyty T, stanowi dla tych drugich jednoczesny czynnik przeżycia i ochrony przed apoptozą. Zasadniczymi molekułami tej grupy są: CD80/86, OX40L, 4-1BBL i CD70. Odpowiadają im ligandy (koreceptory) limfocyty, kolejno: CD28 (alternatywnie CTLA4), OX40, 4-1BB i CD27 [72].

Krytyczna dla przeżycia i proliferacji uczulonych komórek T jest sygnalizacja CD28:CD80(CD86). Następstwem jest zwiększenie sekrecji IL-2 przez limfocyt i wzrost wewnątrzkomórkowej ekspresji Bcl-xL [10]. Ekspresja CD28 na dojrzałych komórkach T ma charakter konstytutywny i hamuje ich apoptozę przez dłuższy czas. Analiza mutacji punktowych wykazała, że za inhibicję apoptozy limfocytów człowieka (ale nie za ich proliferację ani sekrecję IL-2) odpowiada reszta tyrozynowa Y173 cytoplazmatycznej domeny cząsteczki CD28.

Domena ta aktywuje Bcl-xL poprzez szlak przewodzenia sygnału kinazy PI-3K [43,70]. Dodatkowo ekspresja CD28 na powierzchni limfocyty hamuje ekspresję liganda Fas. Niedobór CD28 wskutek nadaktywności układu FasL:Fas prowadzi do poważnych zaburzeń rozwoju i czynności efektorowych komórek T [23].

U myszy CD28^{-/-}, a także z podwójnym *knock-out* genów ligandów dla CD28 (CD80 i CD86), upośledzeniu ulega generacja pamięci immunologicznej, a liczba komórek cytotoksycznych wtórnych narządów limfatycznych jest nieprawidłowo niska [29,61].

Cząsteczka OX40 nie wykazuje konstytutywnej ekspresji, lecz pojawia się po 2 dniach od aktywacji komórek T. Działa więc później, niż CD28. OX40 jest ważną molekułą kostymulującą limfocytów CD4 [15]. Aktywuje szlak kinaz PI-3K/Akt z następczą mobilizacją Bcl-2 i Bcl-xL w komórkach pomocniczych T myszy [77]. Brak kostymulacji OX40/OX40L w limfocytach Th zwiększa ich wrażliwość na PCD w fazie kontrakcji i skutkuje zaburzeniami pamięci immunologicznej [16].

I wreszcie molekuła kostymulująca 4-1BB pojawia się na komórkach T CD8⁺ w 24-48 godzin po uczuleniu. Działa równolegle do czynności OX40. Jak wykazano w warunkach doświadczalnych, ligacja 4-1BB wzbudza czynność antyapoptotycznych cząsteczek Bcl-xL i A1 poprzez aktywną postać czynnika transkrypcyjnego NF-κB [99].

Podsumowując, początkowo uruchamiany jest szlak sygnalizacyjny cząsteczki CD28. Natomiast molekuły OX40 i 4-1BB uczestniczą w późniejszych fazach aktywacji komórek T, przy czym pierwsza z nich jest najważniejsza dla generacji i przeżycia subpopulacji limfocytów Th (efektorów i komórek pamięci), a druga pełni podobną funkcję w odniesieniu do subpopulacji Tc. Drogi przewodzenia sygnałów uruchomione ligacją cząsteczek kostymulujących CD28, OX40 i 4-1BB wzajemnie się wspierają. Modyfikowane są przez kinazy i fosfatazy, przy czym szczególnie ważny jest szlak przeżycia prowadzący przez kinazy PI3K/Akt do głównej grupy regulowanych przez nie czynników antyapoptotycznych, tj. białek podrodziny Bcl-2 [49].

RECEPTORY ŚMIERCI W REGULACJI APOPTOZY EFEKTOROWYCH LIMFOCYTÓW T

W przeciwieństwie do omówionej wyżej znacznej oporności antygenowo dziewiczych limfocytów na PCD, uczulone komórki T, paradoksalnie wskutek mobilizacji receptora TCR przez swoisty antygen, stają się na apoptozę wyjątkowo wrażliwe. Wzrasta podatność komórki na opisany wyżej proces AICD, który w uczulonych komórkach zachodzi szczególnie łatwo, jako efekt ligacji receptorów śmierci.

W rzeczywistości możliwe są dwa różne zdarzenia. Po pierwsze, do zaprogramowanej śmierci limfocyty dojść może już wskutek stymulacji antygenowej, jeśli pobu-

dzenie ze strony sygnałów 2 i 3 jest słabe lub gdy na komórkę zadziałają równolegle ligandy śmierci. Właśnie w takich warunkach wywołano doświadczalnie AICD przed laty [52]. To przed tak inicjowaną apoptozą w pierwszej kolejności chronią limfocyt opisane wyżej ligandy cząsteczek kostymulujących, jak np. CD28. Mechanizm AICD zachodzi *in vivo*, jednak prawdopodobnie przede wszystkim jako skutek restymulacji swoistym antygenem, np. w naciekach limfocytowych śródmiąższu płuc w chorobach dolnych dróg oddechowych. Niezbędne są wówczas dodatkowe warunki, modelujące miejscową wrażliwość komórki. Po pierwsze, należy do nich brak lub upośledzenie kostymulacji ze strony cząsteczek CD80 i CD86 (nieskuteczny sygnał 2 ze strony komórek APC świadczy o względnie niegroźnym charakterze ekspozycji antygenowej, a więc swoiste klony komórek T przestają być potrzebne). Po drugie, uwrażliwienie limfocyta na apoptozę staje się możliwe dzięki zmniejszonej ekspresji inhibitorów szlaku zewnątrzpochodnego, jak cFLIP [44]. Po trzecie, dochodzi do zahamowania antyapoptotycznych białek Bcl-2 i Bcl-xL, np. na skutek miejscowego spadku dostępności biologicznej IL-2 i innych czynników przeżycia [81]. Jednak to ostatnie zdarzenie jest raczej egzemplifikacją udziału szlaku wewnątrzpochodnego apoptozy i jako takie zostanie omówione niżej.

Jak wspomniano, swoista mobilizacja receptora TCR dostarcza silnego sygnału przeżycia, ale i jednocześnie inicjuje serię procesów molekularnych silnie uwrażliwiających komórkę na śmierć w mechanizmie receptorowym. Możliwa jest jednak sytuacja przeciwna: w zależności od molekularnego kontekstu, to ligacja receptora śmierci może dostarczyć limfocytowi paradoksalnie sygnału przeżycia. Alternatywa, przeżycie limfocyta zachodzi bowiem z udziałem tych samych czynników i mechanizmów. Złożoną, dwuznaczną rolę pełni choćby autokryny czynnik wzrostu komórek T, interleukina 2, a nawet kaspaza 3 [23].

W przypadku AICD złożony jest zwłaszcza udział kaspazy 8. I tak, inhibicja tego enzymu hamuje zależną od aktywacji receptora TCR autokrynną syntezę IL-2 i proliferację komórek T [41]. Prawdopodobnie kaspaza 8, poprzez kinazę IKK, aktywuje czynnik transkrypcyjny NF- κ B [87]. Ostateczny skutek biologiczny w postaci śmierci (lub przeżycia) komórki T w procesie AICD wynika więc nie tyle z odmiennych dróg pobudzenia, lecz przypuszczalnie z nałożenia się w swoistej sekwencji czasowej ligacji TCR i receptorów śmierci oraz działania licznych czynników modyfikujących.

CYTOKINY W REGULACJI PRZEŻYCIA I APOPTOZY EFEKTOROWYCH LIMFOCYTÓW T

Opisany wyżej paradoks, zgodnie z którym zachodząca w czasie uczulenia seria zmian czynnościowych i fenotypowych ułatwia w późniejszych fazach zapalenia odeślanie limfocyta na szlak zaprogramowanej śmierci, jest szczególnie dobrze zilustrowana działaniem głównego

autokrynnego czynnika wzrostu i przeżycia komórek T, jakim jest interleukina 2 [62]. Jej wydzielanie przez limfocyty jest jednym z pierwszych efektów zjawiska T cell priming. IL-2 działa przez swój receptor (IL-2R), który jednocześnie w wysokim mianie pojawiają się na komórkach T. Konsekwencją jest nasilona proliferacja z powstaniem klonów antygenoswoistych komórek, szybko różnicujących się w efekторы odpowiedzi immunologicznej. A jednak to właśnie IL-2 uwrażliwia komórki Th1 na zjawisko AICD, co objawia się później, w fazie kontrakcji [31]. Między innymi poprzez szlak kinazy I κ k (inducible T cell kinase), powoduje ona wzrost ekspresji cząstek liganda Fas na powierzchni komórek T, co ułatwia ich późniejszą śmierć w mechanizmie receptorowym [76,95]. IL-2, synergistycznie z IL-4, uwrażliwia na proces AICD komórki Th2 [90,101]. Jednak najważniejszą grupą białek, modyfikowanych przez IL-2, pozostają czynniki rodziny Bcl-2 (*vide niżej*).

Rola pozostałych cytokin jest przypuszczalnie drugorzędna. Interleukina 7, ważna w komórkach dziewiczych antygenowo, zdaje się nie wywierać istotnego wpływu na fazę kontrakcji limfocytów antygenowo uczulonych [45,57]. Bardziej jednoznaczne są wyniki badań nad IL-15, tj. inną cytokiną „przeżycia” komórek T. Możliwe, że jej niedobór, poprzez spadek aktywności czynnika STAT-5 odgrywa pewną rolę, np. w kontrakcji swoistych antygenowo komórek CTL [52].

Także badania nad TNF- α dostarczyły rozbieżnych danych, co zależy prawdopodobnie od szlaku, na który w zadanych warunkach oddziałuje ten czynnik. Problem rozwinęto niżej, wypada jednak zaznaczyć, że wzmożona wrażliwość limfocytów T na proces AICD wskutek ligacji TNF- α :TNFR1 nie budzi wątpliwości [55,89]. Z kolei interferon γ (IFN- γ) w myśl niektórych prac doświadczalnych aktywuje apoptozę efektorowych komórek T; inni autorzy jednak tego nie potwierdzają [62]. Także analiza materiału klinicznego w śródmiąższowych chorobach płuc nie wykazała związku między miejscową sekrecją IFN- γ a miejscową apoptozą limfocytów [47].

Interleukina 10, podobnie do IL-2, ma uwrażliwiać komórki T na proces AICD, gdyż wzbudza powierzchniową ekspresję cząsteczek FasL. Pogląd ten jest też dobrze uzasadniony w uznanej roli IL-10, cytokiny działającej silnie immunosupresyjnie. Pobudzone efekторы CD4⁺ wydają się najważniejszym miejscowym źródłem IL-10 w ostrym odczynie zapalnym [9]. Jednak niedawne badania nad przebiegiem infekcji wirusem grypy u gryzoni nie potwierdziły udziału IL-10 w kontrakcji limfocytów Th [62].

Rozważano też udział transformującego czynnika wzrostu-beta (transforming growth factor- β , TGF- β), jako regulatora ekspansji limfocytów, z tym że mechanizm działania tej cytokiny miałby polegać nie na indukcji AICD, lecz hamowaniu Bcl-2. Blokowanie wpływu TGF- β w wyniku doświadczalnej transfekcji limfocytów

transgenem kodującym dominującą negatywną postać receptora tej cytokiny, skutkowało nasiloną ekspansją efektorów CD8, był to jednak proces przejściowy [79]. Według obserwacji własnych, powierzchniowy marker CD105, koreceptor TGF-β1, występuje znamienne częściej na limfocytach dróg oddechowych w chorobach, przebiegających ze wzmożoną apoptozą komórek T, np. w idiopatycznym włóknieniu płuc [8].

W zależności od rodzaju polaryzacji pomocniczych limfocytów efektorowych, czynnikiem przeżycia mogą być różne cytokiny. W tabeli 1 zebrano podstawowe dane dotyczące mechanizmu AICD poszczególnych subpopulacji czynnościowych limfocytów CD4⁺. W tym miejscu trzeba zaznaczyć, że w przeciwieństwie do wyników uzyskanych w doświadczalnych modelach ostrej infekcji u gryzoni, w badaniach nad śródmiąższowymi chorobami płuc największa oporność limfocytów na apoptozę wystąpiła w chorobach spolaryzowanych w kierunku Th1 (sarkoidoza, zewnątrzpochodne alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych) [46,62]. Niezgodność ta może wynikać z tego, że analizie poddano przewlekłe odczyny zapalne u ludzi. Alternatywnie, rola mechanizmu AICD w indukcji apoptozy limfocytów efektorowych T jest przeszacowana [52].

KRYTYKA ROLI MECHANIZMU AICD W KONTRAKCJI LIMFOCYTÓW EFEKTOROWYCH T. UDZIAŁ INTERLEUKINY 2 W REGULACJI ZJAWISKA NID

Śmierć komórek T wskutek ich aktywacji zaobserwowano wyjściowo w modelu mysich hybryd komórkowych. Spodziewano się wówczas proliferacji uczulonych limfocytów, jako oczywistego efektu stymulacji receptorów TCR, zamiast tego wystąpiła jednak apoptoza. Wprowadzono więc opisany wyżej termin „activation-induced cell death” [5,83]. Jednocześnie odkryto spontaniczne mutacje genów dla Fas i FasL. W odpowiadających im szczepach myszy *lpr* (Fas^{-/-}) i *gld* (FasL^{-/-}) wystąpiła limfadenopatia i autoimmunizacja [15,16,52]. Notabene ludzkim odpowiednikiem tych zmian jest zespół Canale’a i Smitha, [20]. Gdy w kolejnych pracach doświadczalnych *in vitro* wykazano, że ligacja FasL do jego receptora powodowała zjawisko AICD limfocytów T, sformułowano ogólnie uznany pogląd, że także w warunkach *in vivo* apoptoza uczulonych komórek T zachodzi w wyniku AICD, a zasadniczym szlakiem inicjującym jest interak-

cja FasL:Fas [18,38]. Część prac doświadczalnych prowadzonych w warunkach *in vivo* nie potwierdziła jednak tej hipotezy. Niezgodne z założeniami były zwłaszcza doświadczenia z modelem ostrej infekcji i jednorazowej ekspozycji antygenowej [64,82]. Przyjmuje się, że znaczenie procesu AICD dla kontrakcji odpowiedzi odpornościowej, przede wszystkim udział systemu FasL:Fas, jest umiarkowane i jeśli już, to dotyczy przewlekłych odczynów zapalnych z powtarzalną ekspozycją antygenową [91].

Jednak i w tym przypadku pojawiają się wątpliwości. Badania nad apoptozą limfocytów T dolnych dróg oddechowych chorych z sarkoidozą, tj. chorobą z nasilonym odczynem limfocytowym śródmiąższu płuc, w patogenezie której zakłada się przewlekłą i/lub powtarzalną ekspozycję chorego na nieznane antygeny, wykluczyły udział AICD w tym procesie. Limfocyty umierają tu pod wpływem NID [30]. Także niedawne nasze badania nad apoptozą komórek efektorowych T w chorobach zapalnych dolnych dróg oddechowych nie wykazały udziału układu FasL:Fas [48]. Nie potwierdzono również znaczenia innego układu ligand:receptor śmierci – białka TRAIL i jego receptorów – w zjawisku kontrakcji limfocytów [46].

Badacze apoptozy komórek efektorowych T coraz częściej skupiają się na procesie alternatywnym, to jest zaprogramowanej śmierci z zaniechania (NID). Interleukina 2 byłaby tu główną cytokiną regulującą wrażliwość limfocytów na proces apoptozy gdyż, jak wspomniano wyżej, silnie oddziałuje ona na czynniki rodziny Bcl-2.

Wykazano *in vitro*, że transgen Bcl-2 chroni aktywowane komórki T przed zaprogramowaną śmiercią wywołaną deprywacją cytokin, takich jak IL-2. Limfocyty T zwierząt o genotypie Bax^{-/-}Bak^{-/-} są odporne na bodźce proapoptotyczne, w tym na niedobór czynników przeżycia [74]. Znaczenie Bax i Bak jest prawdopodobnie wtórne. Obecnie za główny mediator zjawiska NID – spośród licznych białek podrodziny BH3-only – uważa się czynnik Bim [31]. Szczególnie silnie przeciwstawia mu się właściwe białko Bcl-2. Gwałtowny spadek wewnątrzkomórkowej ekspresji Bcl-2 jest najbardziej uchwytynym zjawiskiem molekularnym obserwowanym w limfocytach efektorowych na krótko przed kontrakcją [52].

Tabela 1. Podatność efektorowych limfocytów Th na apoptozę w zależności od polaryzacji komórek

| Polaryzacja Th | Cytokina różnicująca | Krytyczny czynnik transkrypcyjny | Główne wydzielane cytokiny | Podatność na apoptozę – badania doświadczalne | Podatność na apoptozę – przewlekłe śródmiąższowe choroby płuc |
|----------------|----------------------|----------------------------------|----------------------------|---|---|
| Th1 | IL-12, IFN-γ | T-bet | IL-2, IFN-γ, TNF | ++++ | + |
| Th2 | IL-4 | GATA-3 | IL-4, 5, -13 | + | +++ |
| Th17 | TGF-β, IL-6 | ROR-γt | IL-17, -21, -22 | ++ | ? |
| Treg | TGF-β | Foxp3 | IL-10 | ? | ? |

Wg [46,62].

UDZIAŁ BIAŁEK RODZINY BCL-2 W REGULACJI KONTRAKCJI IMMUNOLOGICZNEJ. ROLA CZYNNIKA BIM

Istnieją dwie, niewykluczające się nawzajem, koncepcje propagacji apoptozy przez czynniki podrodziny BH3-only, ogólnie regulujące szczelność błon mitochondrialnych szlaku wewnątrzpodrodziny. W myśl pierwszej z nich białka BH3-only odciągają antyapoptyczne białka właściwej podrodziny Bcl-2 od cząsteczek Bax i Bak, te z kolei oligomeryzują i inicjują proces PCD (model neutralizacji). Według drugiej koncepcji (model derepresji), czynniki podrodziny Bax są bezpośrednio aktywowane przez molekuły BH3-only, z tym że są wśród nich cząsteczki „uczulające”, tj. bezpośrednio neutralizujące czynność białek rodziny Bcl-2 (Bad i Noxa) oraz właściwe aktywatory czynników Bax/Bak, jak Bim, Bid i Puma [92]. Oddziaływania są krótkotrwałe, miana aktywnych czynników niskie i nie jest łatwo uchwycić te zdarzenia w badaniach doświadczalnych [46]. Przypuszczalnie białka BH3-only działają w obu wyżej wymienionych mechanizmach [52].

Duża liczba rodzajów cząsteczek tej podrodziny sugeruje ich wielorakie funkcje, złożoną sieć powiązań i odmienną rolę w zależności od fazy i rodzaju odpowiedzi immunologicznej. W zasadzie aktywacja limfocytu T wywołuje spadek stężenia Bcl-2, a wzrost pozostałych cząsteczek podrodziny – Bcl-xL, A1 i Mcl-1 [19]. Bcl-xL ma chronić komórki T przed apoptozą w przebiegu infekcji bakteryjnych, Mcl-1 uczestniczy w przeżyciu limfocytów T w warunkach *in vitro* [100]. Jednak krytyczne wydaje się wzajemne oddziaływanie między czynnikami Bcl-2 i Bim, w drugiej kolejności zaznacza się udział białka Puma [62].

Silnym czynnikiem hamującym ekspresję Bcl-2 w limfocytach efektorowych w przebiegu zapalenia jest nadmierne wytwarzanie wolnych rodników tlenowych. Podanie antyoksydantów przedłuża *in vitro* zależne od Bcl-2 przeżycie komórek T [31]. Z wynikami tymi korespondują obserwacje własne: spośród analizowanych zmiennych cytoimmunologicznych, najsilniej dodatnio z częstością apoptozy limfocytów pęcherzykowych korelowała neutrofilia materiału z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego, co dotyczyło zarówno chorób z obni-

żoną (sarkoidoza), jak i podwyższoną (idiopatyczne włóknienie płuc) apoptozą limfocytów. Neutrofile dolnych dróg oddechowych są uznanym źródłem wolnych rodników. W piśmiennictwie brak jest innego wyjaśnienia dla naszej obserwacji [46].

Wzajemne oddziaływanie Bim na cząsteczkę Bcl-2 jest złożone i wyjątkowe. Podobnych obserwacji nie udało się poczynić dla innych białek grupy BH3-only: Już przed laty wykazano więc, że w limfocytach myszy z niedoborem Bim, stężenie wewnątrzkomórkowe Bcl-2 jest zdecydowanie niższe, jak gdyby ta druga cząsteczka nie była już komórkom w większej liczbie potrzebna [31]. Odwrotnie, limfocyty z wysokim stężeniem Bcl-2, syntetyzują zwiększone ilości białka Bim [52]. Ekspresja Bcl-2 i Bim jest więc zapewne regulowana we wzajemnym mechanizmie zwrotnym, jakkolwiek szczegółów dotąd nie poznano.

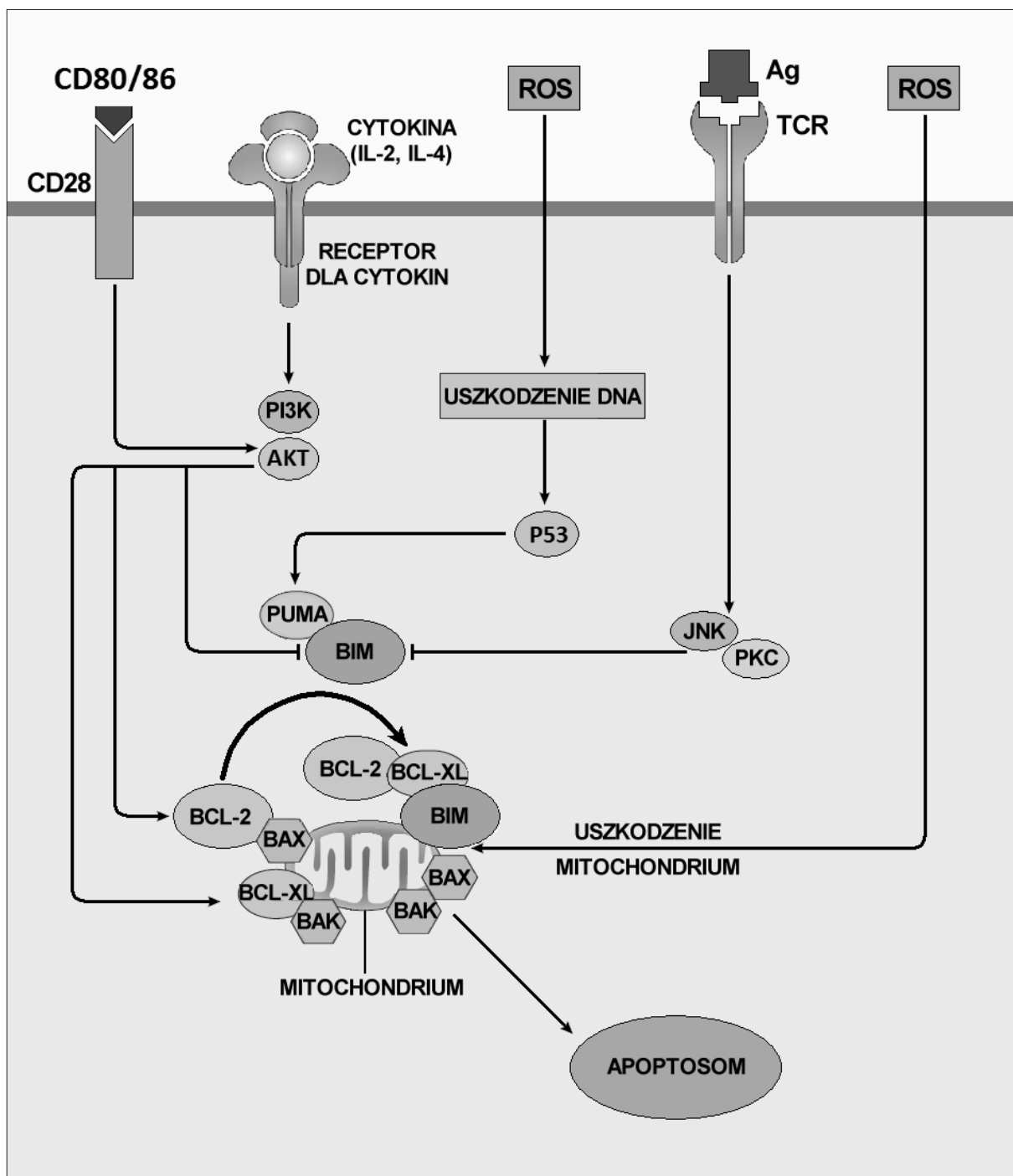
Pierwotnym sygnałem wzbudzającym ekspresję Bim ludzkich limfocytów jest rekrutacja receptora TCR, działająca przez szlak sygnałowy kinaz JNK i PKC [78]. Uczulone antygenowo komórki T, w których czynnik Bim doświadczalnie zablokowano, stają się odporne na mechanizm NID [73]. Z białkiem Bim współdziałają inne czynniki klasy BH3-only, Puma i Noxa. Aktywacja białka Puma zależy od stresu komórkowego spowodowanego np. działaniem wolnych rodników i uszkodzeniem DNA komórki. Pośrednikiem jest znany supresor cyklu komórkowego, p53 (stąd pochodzi nazwa Puma, *vide* spis skrótów wyżej). Limfocyt przygotowuje się do takiej sekwencji zdarzeń wcześniej: w indukowanej doświadczalnie fazie ekspansji aktywność Bcl-xL spada; wczesną fazę kontrakcji antygenowoswoistych komórek CD8⁺ charakteryzuje natomiast wzrost ekspresji białka Noxa [27]. Konsekwencją tych zmian aktywności jest powstanie apoptosomów, indukcja kaspaz efektorowych i śmierć limfocytu (ryc. 2).

Bim występuje w trzech izoformach, zależnych od alternatywnego składowania genu: BimEL, BimL i Bims. Dla limfocytów typowa jest pierwsza z nich. Jak wspomniano wyżej, promotor Bim zależy od czynnika transkrypcyjnego rodziny FOXO (ściślej od FOXO3a), który przechodzi z cytosolu do jądra komórkowego wyłącznie w postaci defosforylowanej. Dlatego szlak przeżycia, obejmujący

Tabela 2. Zestawienie mechanizmów AICD i NID w kontrakcji efektorowych limfocytów T w przebiegu zapalenia

| | Szlak | Zasadniczy mechanizm uczulający | Czynnik inicjujący | Kaspaza efektorowa | Główne czynniki regulacji | | Udział w kontrakcji |
|------|-------------------|--|---|--------------------|---------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| | | | | | dodatniej | ujemnej | |
| AICD | zewnątrz-pochodny | swoista antygenowo mobilizacja receptora TCR | aktywacja receptorów śmierci (FasL:Fas, TNF- α :TNFR1) | 8, 10 | FADD | cFLIP | zapalenie przewlekłe |
| NID | wewnątrz-pochodny | IL-2 | deprywacja cytokin eliminacja antygeny | 9 | Puma Noxa Bim | PI3K AKT Bcl-xL Bcl-2 | zapalenie ostre i przewlekłe |

Wg [4,46,52,62]



Ryc. 2. Regulacja mechanizmu NID w limfocytach człowieka. Głównym zjawiskiem jest interakcja między proapoptotycznym czynnikiem BIM, a antyapoptotycznym białkiem BCL-2. Wspomagające znaczenie mają PUMA i BCL-xL. Cytokinowe czynniki przeżycia i ligacja CD28 hamują apoptozę głównie poprzez szlak PI3K/AKT. Przyłączenie antygeny do receptora TCR hamuje BIM na szlaku JNK/PKC. Aktywna postać BIM neutralizuje antyapoptotyczne białka podrodziny BCL-2 i umożliwia bezpośrednie otwarcie kanałów mitochondrialnych przez czynniki BAX/BAK. Wolne rodniki tlenowe (ROS, miejscowym źródłem mogą być granulocyty) uszkadzają DNA, co uruchamia zależną od czynnika transkrypcyjnego P53 ekspresję czynnika PUMA. Ze względu na czytelność ryciny ominięto działanie czynnika NF- κ B, który wzmacnia transkrypcję BCL-2 i BCL-xL, a hamuje BIM. Nie zaznaczono wpływu czynnika transkrypcyjnego Foxo3a na syntezę BIM, gdyż jego udział udowodniono dotąd tylko w naiwnych antygenowo limfocytach T u gryzoni

kolejną ligację opisanego wyżej wspólnego łańcucha receptorowego γ , kinazę PI3K oraz kinazę Akt, hamuje apoptozę limfocytów T (gdyż Akt fosforyluje czynniki FOXO). Należy jednak pamiętać, że taki przebieg zda-

rzeń molekularnych udowodniono tylko dla nieuczulonych limfocytów T. W przypadku komórek efektorowych wykryto tylko zależność wzmożonej ekspresji Bcl-xL od szlaku kinazy Akt (białka Bim nie badano) [35]. Propo-

nuje się inne szlaki kontrolujące ekspresję genu Bim na poziomie: a) transkrypcji (poprzez supresor cyklu komórkowego Rb i czynnik transkrypcyjny E2F1); b) translacji (przez cząsteczkę mikro-RNA miR-17-92) i c) modyfikacji posttranslacyjnej, gdyż katalizowana przez szlak kinaz aktywowanych mitogenami fosforylacja reszt seryny i treoniny cząsteczki Bim aktywuje tę ostatnią i może uruchamiać apoptozę limfocytów [88].

DZIAŁANIE CZYNNIKA TRANSKRYPCYJNEGO NF- κ B

W celu zachowania przejrzystości wykładu (tabela 2), rozgraniczono wyraźnie mechanizm AICD od NID. W rzeczywistości jednak oba procesy zachodzą na siebie; na poziomie molekularnym w regulacji apoptozy limfocytów T odbywa się integracja mechanizmów szlaku zewnątrz- i wewnątrzpochodnego. Przykładami są: 1) funkcja czynnika transkrypcyjnego NF- κ B oraz 2) efekt mobilizacji receptora typu 1 dla TNF, wskutek przyłączenia jego fizjologicznego liganda, czyli TNF- α .

Czynnik NF- κ B (ściślej jest to rodzina białek) jest główną cząsteczką regulującą przeżycie komórek T. Jego aktywna postać pojawia się w komórce wskutek ligacji receptora TCR przez antygen. Czynnik wzmacnia ekspresję genów odpowiedzi immunologicznej i wzrostu komórek. Jednocześnie przeciwdziała apoptozie, gdyż promuje transkrypcję genów dla Bcl-2 i Bcl-xL. Wpływa więc głównie na drogę wewnątrzpochodną, jednak sam jest inaktywowany przez ligację receptora śmierci Fas, a więc typowe zjawisko szlaku zewnątrzpochodnego [20]. Doświadczalne zahamowanie czynności NF- κ B wyzwała serię zdarzeń prowadzących nieuchronnie do śmierci limfocytu: 1) aktywację proapoptotycznego białka Bim; 2) zahamowanie ekspresji Bcl-2 i Bcl-xL; 3) wzrost stężenia wolnych rodników tlenowych oraz 4) ekspresję genu supresora cyklu komórkowego p73, zależnego od białka p53 [4].

Wyjściowo białka rodziny NF- κ B blokowane są przez swoisty inhibitor I κ beta, pełniący swą funkcję w postaci zdefosforylowanej. Dlatego fosforylująca ten inhibitor kinaza IKK, aktywuje czynnik transkrypcyjny NF- κ B i hamuje zjawisko PCD. Dodatkowo drogę apoptozy/przeżycia z udziałem NF- κ B regulują izoformy i produkty degradacji czynnika cFLIP, wspomnianego wyżej inhibitora prokaspazy 8 w obrębie kompleksu DISC. Działają one w komórkach T jak inhibitory apoptozy: produkt degradacji czynnika (p22-FLIP) aktywuje właśnie kinazę IKK [49]. Czynność białek NF- κ B zależy w limfocytach w znacznym stopniu od wzajemnego stosunku prokaspazy 8 i cFLIP w obrębie kompleksu DISC [40].

Innym ważnym czynnikiem modulującym szlak TCR/NF- κ B jest kinaza HPK1. Dziewicze antygenowo komórki T, odporne na zjawisko AICD, dysponują izoformą kinazy o pełnej długości łańcucha peptydowego. Swoista aktywacja TCR, m.in. pośrednio poprzez działanie IL-2 oraz IL-4, prowadzi do generacji krótszych izoform – końcowych fragmentów C i N (HPK1-C, HPK1-N), wykazu-

jących odmienną aktywność substratów: podczas gdy wyjściowa cząsteczka HPK1 łączy się i aktywuje kinazę IKK, to krótkie izoformy tylko blokują tę ostatnią [11]. Tak więc i w tym przypadku uczulenie antygenowe limfocytu T (z wyjściowo wysokim poziomem aktywnego czynnika NF- κ B) prowadzi równolegle do pojawienia się w komórce wybitnej wrażliwości na apoptozę.

ROLA CZYNNIKA MARTWICY NOWOTWORU- α (TNF- α) I JEGO RECEPTORÓW. APOPTOZA CZY NEKROPTOZA?

W badaniach własnych [46] czułość komórek na proapoptotyczne własności TNF- α oceniono badając ekspresję jego receptorów. W chorobach z mniejszą częstością apoptozy pojawiła się relatywnie niższa ekspresja receptora śmierci TNFR1, szczególnie wyraźnie tendencja ta zarysowała się, gdy zestawiono wyniki ekspresji receptorów TNF- α na AL jako stosunek CD120b⁺:CD120a⁺. W piśmiennictwie przyjmuje się, że TNFR1 (CD120a) jest receptorem śmierci, zaś TNFR2 (CD120b), niemając domeny śmierci, mediuje sygnał przeżycia. Receptory TNF typu 1 występują głównie na komórkach nabłonka, stanowiących ważny cel nadzoru układu immunologicznego, zaś komórki obwodowe T, w tym limfocyty pęcherzykowe, wykazują głównie ekspresję receptorów typu 2 i wykorzystują TNF- α , jako czynnik przeżycia [15].

Rola receptorów TNF jest jednak bardziej złożona. W warunkach prawidłowych skutkiem rekrutacji receptora śmierci TNFR1 jest zwykle aktywacja czynnika transkrypcyjnego NF- κ B. Dopiero, gdy ekspresja tego ostatniego zostanie zahamowana, wówczas ligacja TNFR1 indukuje apoptozę [17]. Przyłączenie TNF- α do TNFR1 prowadzi bowiem do utworzenia dwóch odmiennych kompleksów białkowych o różnym czasie powstania. Kompleks typu I formuje się na cytoplazmatycznym końcu białka TNFR1 krótko po przyłączeniu TNF- α . Obejmuje czynnik TRADD, białka adaptorowe TRAF1 i TRAF2, kinazę RIP1 (receptor interacting protein 1) i komórkowy inhibitor apoptozy, IAP. Kompleks aktywuje czynnik transkrypcyjny NF- κ B z wszystkimi opisanymi wyżej konsekwencjami, sprzyja więc przeżyciu komórki [46,69].

Kompleks typu II formuje się w kilka godzin po uruchomieniu sygnalizacji TNF- α . W przeciwieństwie do kompleksu I, jego powstanie toruje drogę śmierci komórki. Składowymi są TRADD, RIP1, a następnie (co decyduje o roli TNFR1 w indukcji apoptozy), białko adaptorowe FADD i kaspaza 8 (10). Działania czynnika RIP1 nie poznano do końca: może on uczestniczyć w aktywacji czynnika NF- κ B, ale i w formowaniu kompleksu typu II. Jest wówczas aktywatorem (wspólnie z FADD) i zarazem substratem kaspazy 8. Produkty tej ostatniej reakcji powodują kompetycyjną inhibicję NF- κ B. Czynność kinazy RIP1 zależy od poziomu ubikwitynacji jej cząsteczki: komórki wykazujące ekspresję postaci RIP1 odpornej na ubikwitynację odpowiadają na działanie TNF- α apoptozą [69]. Aktywacja (autofosforylacja) kinazy RIP1 może torować drogę zaprogramowanej śmierci komórki

w mechanizmie alternatywnym – pod postacią „niekanonicznej” (niezależnej od kaspaz) śmierci komórkowej, zwanej nekroptozą [13]. Działanie kompleksu II jest jednak regulowane przez kompleks typu I: aktywny czynnik NF- κ B w krótkim czasie wzbudza ekspresję genów inhibitorów apoptozy, jak cFLIP i kompleks II nie powstaje. Jeśli jednak poziom cFLIP jest niski, kaspaza 8 podlega aktywacji i komórka ginie [15].

Receptor TNF typu 2 (CD120b) w miejsce domeny śmierci ma motyw strukturalny TRAF, przyłączający białka adapterowe TRAF1 i 2. Dalsze szlaki przewodzenia sygnału obejmują kaskadę kinaz MAPK, kinazy JNK, a także aktywację kinazy IKK z następczym uruchomieniem aktywnej postaci NF- κ B [15]. Nie można jednak wykluczyć, że przez białka adapterowe TRAF 1 i 2, również rekrutacja receptora typu 2 może wywołać apoptozę komórki docelowej [40].

Ostateczny wynik działania TNF- α na limfocyty efektorowe zależy więc od stanu czynnościowego tych ostatnich, m.in. od poziomu aktywnej postaci czynnika NF- κ B oraz ekspresji poszczególnych białek receptorowych i adapterowych. Podsumowując, udział układu TNF- α w kontrakcji limfocytów efektorowych jest znaczący i co ciekawe, pozostaje w zgodzie z tradycyjnymi poglądami o roli biologicznej obu jego receptorów. Według badań własnych odsetek limfocytów pęcherzykowych dodatnich z receptorem CD120a jest przeważnie niski. Dodatkowo, w chorobach przebiegających z masywnym limfocytowym zapaleniem pęcherzyków płucnych, odsetek komórek T CD120a⁺ jest niższy, niż w grupie kontrolnej. Z kolei receptor CD120b jest powszechnie reprezentowany na limfocytach pęcherzykowych; różnice między badanymi grupami są nieznamiennie. Uważamy, że ocena stosunku odsetków AL dodatnich z każdym z obu receptorów może służyć jako narzędzie do oceny wrażliwości limfocytów pęcherzykowych na apoptozę – wysoka wartość stosunku CD120b:CD120a charakteryzuje choroby z niską, a niska – z wysoką częstością apoptozy limfocytów. TNF- α bierze więc udział w regulacji apoptozy limfocytów efektorowych, co najmniej jako czynnik modyfikujący działanie innych bodźców [46].

I wreszcie analiza wyników własnych i danych piśmiennictwa [13] skłania do rozważenia, czy TNF- α – zamiast kanonicznej apoptozy limfocytów efektorowych – nie powoduje innej postaci PCD, tj. nekroptozy. Hipotezę tę należałoby zweryfikować badaniem aktywności kinaz RIP1 i RIP3, głównych mediatorów nekroptozy w limfocytach efektorowych [97].

MECHANIZMY PRZEŻYCIA KOMÓREK PAMIĘCI T

Korzystne dla ustroju zejście odczynu zapalnego oznacza, że niewielka część uczulonych efektorowych komórek T przeżywa fazę kontrakcji, różnicując się w limfocyty pamięci. Mają one niższy próg aktywacji od komórek antygenowo dziewiczych [50]. W przypadku restymulacji swoistymi antygenami wykazują większą

oporność na indukcję apoptozy, w porównaniu ze swoimi pierwotnie uczulonymi odpowiednikami [62].

Przeżycie komórek pamięci T w organizmie obejmuje w rzeczywistości dwa odmienne zagadnienia: 1) przetrwanie przez niektóre efektorowe T fazy kontrakcji (z przekształceniem się w komórki pamięci) oraz 2) wieloletnie funkcjonowanie tych komórek w organizmie gospodarza. Nie jest pewne, czy selekcja limfocytów efektorowych T w kierunku komórek pamięci jest konsekwencją obecności określonych cech czynnościowych (np. bardziej nasilonej autokrynnej syntezy IL-2) lub fenotypowych (wyższej ekspresji CD127) [48]. Przekształcenie niektórych uczulonych limfocytów T w komórki pamięci może też być zdarzeniem losowym. Innym niewyjaśnionym do końca problemem jest faza odpowiedzi immunologicznej, w której zapada decyzja o dalszych losach komórek T: w modelu ostrej infekcji rozpoczyna się najprawdopodobniej wraz z początkiem fazy ekspansji, natomiast podczas kontrakcji zachodzi już tylko ostateczna selekcja limfocytów T, które przeżyją, by zróżnicować się w komórki pamięci [99].

Prawdopodobnym markerem prekursorów komórek pamięci T_c, chroniącym je przed apoptozą, jest przetrwały receptor IL-7 (CD127), zwłaszcza gdy współwystępuje z nim niska ekspresja receptora KLRG-1 (killer cell lectin-like receptor G1) [36]. Jednak generacja pamięci immunologicznej w wielu układach doświadczalnych zdaje się nie zależeć wprost od działania IL-7 ani od powierzchniowej ekspresji określonych molekuł [53]. Przypuszczalnie znaczenie ma współdziałanie IL-7 i 15. Najbardziej prawdopodobna hipoteza zakłada znaczący udział drugiej z tych cytokin i receptora CD122, czyli wspólnego łańcucha receptorowego γ [52].

Innym rozważanym mechanizmem jest inicjacja sygnału poprzez ligację CD27, co wzbudza podziały komórek T (z udziałem szlaku kinaz MAPK/JNK) i ułatwia ich przeżycie *in vitro* [29]. W limfocytach efektorowych CD27⁺ zachodzi wówczas aktywacja NF- κ B i antyapoptotycznych przedstawicieli rodziny Bcl-2, zwłaszcza Bcl-xL [39,85]. Należy jednak pamiętać, że cząsteczka CD27 jest nieobecna na komórkach efektorowych i część badaczy traktuje ją alternatywnie jako marker już wyróżnionych komórek pamięci, a nie jako wczesną molekułę selekcyjną [56].

I wreszcie wykazano, że doświadczalny niedobór czynnika Bim prowadzi do znamienego nasilenia zjawiska pamięci immunologicznej, podczas gdy nadekspresja tego czynnika – przeciwnie – wybitnie upośledza generację komórek pamięci [75].

Limfocyty pamięci T są następnie zabezpieczone przed apoptozą przez powtarzalną aktywację. Mogą przetrwać przez wiele lat, mimo braku swoistej stymulacji antygenowej. W porównaniu z dziewiczymi limfocytami T mają wysoki potencjał proliferacyjny. Po podaniu ich zwierzętom limfopenicznemu, zachodzi – jak w przypadku

naiwnych limfocytów T - opisana wyżej proliferacja kierowana mechanizmami homeostazy. Warunkiem *sine qua non* ich przeżycia jest działanie IL-15, wspomaganej przypuszczalnie przez IL-7 [79,96].

PODSUMOWANIE

W świetle bieżących danych piśmiennictwa problem przeżycia/apoptozy efektorowych limfocytów T nie jest całkowicie wyjaśniony. Nie jest pewne, czy o apoptozie efektorów odpowiedzi immunologicznej decyduje zasadniczo mechanizm AICD (i szlak receptorowy), czy też zjawisko NID (jako szczególnie przykład śmierci komórki w drodze mitochondrialnej). Najprawdopodobniej uczestniczą oba te procesy, a przedmiotem badań powinien być ich wzajemny udział, w zależności od przyczyny, rodzaju i dynamiki danej odpowiedzi odpornościowej. Przygodą intelektualną było obserwowanie, jak w literaturze przedmiotu w ostatnich latach zwracano się coraz częściej w stronę szlaku wewnątrzpodrodzajowego (kosztem drogi receptorowej) i działania swoistych molekuł regulacyjnych, zwłaszcza Bcl-2 i Bim. Również badania własne, wprawdzie prowadzone na materiale klinicznym niepowtarzalnym (bez możliwości wykonania seryjnych oznaczeń u tych samych osób), prowadziły do ostrożnych, lecz podobnych wniosków. Nie udało się wykazać bowiem wyraźnego związku między PCD uczulonych limfocytów T, a ekspresją receptorów i ligandów śmierci. Za to w grupach chorych ze znamienne niską apoptozą limfocytów płuczkowych wystąpiła wysoka ekspresja białka BCL-2. I odwrotnie, znamienne częstsza

apoptozę obserwowano w grupach chorych z obniżonym odsetkiem limfocytów płuczkowych BCL-2⁺ [46].

Problemu przeżycia/apoptozy limfocytów nie da się jednak, co oczywiste, sprowadzić do działania pojedynczych molekuł. Droga receptorowa może nadal być ważna, choćby jako proces modyfikujący i regulujący zasadniczy mechanizm kontrakcji, jakim jest apoptoza limfocytów na drodze mitochondrialnej. Należy rozważyć udział innych odmian PCD, np. nekroptozy. I wreszcie, właśnie w przypadku limfocytów wypada założyć, że jednym z mechanizmów samoograniczenia się przebiegających reakcji zapalnych jest „bratobójcza śmierć” z wykorzystaniem drogi pseudoreceptorowej. Dalsze szczegółowe badania mogą mieć ważne znaczenie praktyczne. Ostatnie doniesienia, publikowane na łamach niniejszego czasopisma, dotyczą użycia mimetyków drobnocząsteczkowych BH3 w próbach leczenia chorób nowotworowych [28]. Prawdopodobnie można rozważyć użycie leków tej grupy także w chorobach alergicznych i autoimmunizacyjnych; celem komórkowym byłyby wówczas uczulone antygenowo limfocyty. Z naszych badań wynika natomiast, że hamowanie apoptozy limfocytów dolnych dróg oddechowych może być użyteczne terapeutycznie w ciężkim zespole, jakim jest śródmiąższowe włóknienie płuc [46]. Zastosowanie antagonistów białka BIM mogłoby zostać także wykorzystane w charakterze adiuwantów szczepionek nowych generacji [52]. Niezbędne jest jednak dalsze poszerzanie wiedzy o mechanizmach przeżycia i apoptozy komórek układu immunologicznego.

PIŚMIENICTWO

- [1] Agostini C., Chilosi M., Zambello R., Trentin L., Semenzato G.: Pulmonary immune cells in health and disease: lymphocytes. *Eur. Respir. J.*, 1993; 6: 1378-1401
- [2] Aifantis I., Mandal M., Sawai K., Ferrando A., Vilimas T.: Regulation of T-cell progenitor survival and cell-cycle entry by the pre-T-cell receptor. *Immunol. Rev.*, 2006; 209: 159-169
- [3] Algeciras-Schimnich A., Griffith T.S., Lynch D.H., Paya C.V.: Cell cycle-dependent regulation of FLIP levels and susceptibility to Fas-mediated apoptosis. *J. Immunol.*, 1999; 162: 5205-5211
- [4] Arnold R., Brenner D., Becker M., Frey C.R., Krammer P.H.: How T lymphocytes switch between life and death. *Eur. J. Immunol.*, 2006; 36: 1654-1658
- [5] Ashwell J.D., Cunningham R.E., Noguchi P.D., Hernandez D.: Cell growth cycle block of T cell hybridomas upon activation with antigen. *J. Exp. Med.*, 1987; 165: 173-194
- [6] Badovinac V.P., Hamilton S.E., Hartly J.T.: Viral infection results in massive CD8⁺ T cell expansion and mortality in vaccinated perforin-deficient mice. *Immunity*, 2003; 18: 463-474
- [7] Badovinac V.P., Hartly J.T.: CD8⁺ T-cell homeostasis after infection: setting the 'curve'. *Microbes Infect.*, 2002; 4: 441-447
- [8] Balicka-Ślusarczyk B., Czarnobilska E., Dyczek A., Perka S., Wandtke T., Pólgęsek E., Pruchniak M., Kopiński P.: Ekspresja receptora transformującego czynnika wzrostu β (transforming growth factor β , TGF β), CD105, w dolnych drogach oddechowych. Wstępne wyniki w śródmiąższowych chorobach płuc (interstitial lung diseases, ILD). *Alergol. Immunol.*, 2011; 8: 5-8
- [9] Barreiro R., Luker G., Herndon J., Ferguson T.A.: Termination of antigen-specific immunity by CD95 ligand (Fas ligand) and IL-10. *J. Immunol.*, 2004; 173: 1519-1525
- [10] Boise L.H., Minn A.J., Noel P.J., June C.H., Accavitti M.A., Lindsten T., Thompson C.B.: CD28 costimulation can promote T cell survival by enhancing the expression of Bcl-XL. *Immunity*, 1995; 3: 87-98
- [11] Brenner D., Golks A., Kiefer F., Krammer P.H., Arnold R.: Activation or suppression of NF κ B by HPK1 determines sensitivity to activation-induced cell death. *EMBO J.*, 2005; 24: 4279-4290
- [12] Campbell J.J., Brightling C.E., Symon F.A., Qin S., Murphy K.E., Hodge M., Andrew D.P., Wu L., Butcher E.C., Wardlaw A.J.: Expression of chemokine receptors by lung T cells from normal and asthmatic subjects. *J. Immunol.*, 2001; 166: 2842-2848
- [13] Christofferson D.E., Yuan J.: Necroptosis as an alternative form of programmed cell death. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2010; 22: 263-268
- [14] Cretny E., Uldrich A.P., Berzins S.P., Strasser A., Godfrey D.I., Smyth M.J.: Normal thymocyte negative selection in TRAIL-deficient mice. *J. Exp. Med.*, 2003; 198: 491-496
- [15] Croft M.: Co-stimulatory members of the TNFR family: keys to effective T-cell immunity? *Nat. Rev. Immunol.*, 2003; 3: 609-620
- [16] DeBenedette M.A., Wen T., Bachmann M.F., Ohashi P.S., Barber B.H., Stocking K.L., Peschon J.J., Watts T.H.: Analysis of 4-1BB ligand (4-1BBL)-deficient mice and of mice lacking both 4-1BBL and CD28 reveals a role for 4-1BBL in skin allograft rejection and in the cytotoxic T cell response to influenza virus. *J. Immunol.*, 1999; 163: 4833-4841

- [17] Dempsey P.W., Doyle S.E., He J.Q., Cheng G.: The signaling adaptors and pathways activated by TNF superfamily. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2003; 14: 193-209
- [18] Dhein J., Walczak H., Bäumler C., Debatin K.M., Krammer P.H.: Autocrine T-cell suicide mediated by APO-1/(Fas/CD95). *Nature*, 1995; 373: 438-441
- [19] Dunkle A., Dzhagalov I., He Y.W.: Mcl-1 promotes survival of thymocytes by inhibition of Bak in a pathway separate from Bcl-2. *Cell Death Differ.*, 2010; 17: 994-1002
- [20] Elmore S.: Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol. Pathol.*, 2007; 35: 495-516
- [21] Fazilleau N., Mark L., McHeyzer-Williams L.J., McHeyzer-Williams M.G.: Follicular helper T cells: lineage and location. *Immunity*, 2009; 30: 324-335
- [22] Fry T.J., Mackall C.L.: Interleukin-7: master regulator of peripheral T-cell homeostasis? *Trends Immunol.*, 2001; 22: 564-571
- [23] Galluzzi L., Joza N., Tasdemir E., Maiuri M.C., Hengartner M., Abrams J.M., Tavernarakis N., Penninger J., Madeo F., Kroemer G.: No death without life: vital functions of apoptotic effectors. *Cell Death Differ.*, 2008; 15: 1113-1123
- [24] Goldrath A.W., Bogatzki L.Y., Bevan M.J.: Naive T cells transiently acquire a memory-like phenotype during homeostasis-driven proliferation. *J. Exp. Med.*, 2000; 192: 557-564
- [25] Goping I.S., Barry M., Liston P., Sawchuk T., Constantinescu G., Michalak K.M., Shostak I., Roberts D.L., Hunter A.M., Korneluk R., Bleackley R.C.: Granzyme B-induced apoptosis requires both direct caspase activation and relief of caspase inhibition. *Immunity*, 2003; 18: 355-365
- [26] Green D.R., Droin N., Pinkoski M.: Activation-induced cell death in T cells. *Immunol. Rev.*, 2003; 193: 70-81
- [27] Haring J.S., Corbin G.A., Harty J.T.: Dynamic regulation of IFN- γ signaling in antigen-specific CD8⁺ T cells responding to infection. *J. Immunol.*, 2005; 174: 6791-6802
- [28] Hartman M.L., Czyż M.: Mimetyki BH3 jako terapia wspomagająca konwencjonalne leki przeciwnowotworowe. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 67-77
- [29] Hendriks J., Xiao Y., Borst J.: CD27 promotes survival of activated T cells and complements CD28 in generation and establishment of the effector T cell pool. *J. Exp. Med.*, 2003; 198: 1369-1380
- [30] Herry I., Bonay M., Bouchonnet F., Schuller M.P., Lecossier D., Tazi A., Lynch D.H., Hance A.J.: Extensive apoptosis of lung T-lymphocytes maintained *in vitro*. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1996; 15: 339-347
- [31] Hildeman D.A., Zhu Y.N., Mitchell T.C., Bouillet P., Strasser A., Kappler J., Marrack P.: Activated T cell death *in vivo* mediated by proapoptotic Bcl-2 family member bim. *Immunity*, 2002; 16: 759-767
- [32] Hoyer K.K., Dooms H., Barron L., Abbas A.K.: Interleukin-2 in the development and control of inflammatory disease. *Immunol. Rev.*, 2008; 226: 19-28
- [33] Jacobs S.R., Michalek R.D., Rathmell J.C.: IL-7 is essential for homeostatic control of T cell metabolism *in vivo*. *J. Immunol.*, 2010; 184: 3461-3469
- [34] Jameson S.C.: Maintaining the norm: T-cell homeostasis. *Nat. Rev. Immunol.*, 2002; 2: 547-556
- [35] Jones R.G., Parsons M., Bonnard M., Chan V.S., Yeh W.C., Woodgett J.R., Ohashi P.S.: Protein kinase B regulates T lymphocyte survival, nuclear factor κ B activation, and Bcl-X_L levels *in vivo*. *J. Exp. Med.*, 2000; 191: 1721-1734
- [36] Joshi N.S., Cui W., Chande A., Lee H.K., Urso D.R., Hagman J., Gapin L., Kaech S.M.: Inflammation directs memory precursor and short-lived effector CD8⁺ T cell fates via the graded expression of T-bet transcription factor. *Immunity*, 2007; 27: 281-295
- [37] Joza N., Susin S.A., Daugas E., Stanford W.L., Cho S.K., Li C.Y., Sasaki T., Elia A.J., Cheng H.Y., Ravagnan L., Ferri K.F., Zamzami N., Wakeham A., Hakem R., Yoshida H. i wsp.: Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death. *Nature*, 2001; 410: 549-554
- [38] Ju S.T., Panka D.J., Cui H., Ettinger R., el-Khatib M., Sherr D.H., Stanger B.Z., Marshak-Rothstein A.: Fas(CD95)/FasL interactions required for programmed cell death after T-cell activation. *Nature*, 1995; 373: 444-448
- [39] Kaech S.M., Tan J.T., Wherry E.J., Konieczny B.T., Surh C.D., Ahmed R.: Selective expression of the interleukin 7 receptor identifies effector CD8 T cells that give rise to long-lived memory cells. *Nat. Immunol.*, 2003; 4: 1191-1198
- [40] Kataoka T., Tschopp J.: N-terminal fragment of c-FLIP(L) processed by caspase 8 specifically interacts with TRAF2 and induces activation of the NF- κ B signaling pathway. *Mol. Cell. Biol.*, 2004; 24: 2627-2636
- [41] Kennedy N.J., Kataoka T., Tschopp J., Budd R.C.: Caspase activation is required for T cell proliferation. *J. Exp. Med.*, 1999; 190: 1891-1896
- [42] Khaled A.R., Durum S.K.: Death and Baxes: mechanisms of lymphotrophic cytokines. *Immunol. Rev.*, 2003; 193: 48-57
- [43] Kim M.Y., Gaspal F.M., Wiggett H.E., McConnell F.M., Gulbranson-Judge A., Raykundalia C., Walker L.S., Goodall M.D., Lane P.J.: CD4⁺ CD3⁻ accessory cells costimulate primed CD4 T cells through OX40 and CD30 at sites where T cells collaborate with B cells. *Immunity*, 2003; 18: 643-654
- [44] Kirchhoff S., Müller W.W., Krueger A., Schmitz I., Krammer P.H.: TCR-mediated up-regulation of c-FLIPshort correlates with resistance toward CD95-mediated apoptosis by blocking death-inducing signaling complex activity. *J. Immunol.*, 2000; 165: 6293-6300
- [45] Kondo M., Akashi K., Domen J., Sugamura K., Weissman I.L.: Bcl-2 rescues T lymphopoiesis, but not B or NK cell development, in common γ chain-deficient mice. *Immunity*, 1997; 7: 155-162
- [46] Kopiński P.: Apoptoza limfocytów pęcherzykowych w wybranych śródmiąższowych chorobach płuc. Rozprawa habilitacyjna. Wydawnictwo Naukowe UMK, Toruń 2012
- [47] Kopiński P., Balicka-Ślusarczyk B., Dyczek A., Szpechciński A., Przybylski G., Jarzemska A., Wandtke T., Jankowski M., Iwaniec T.: Enhanced expression of Fas Ligand (FasL) in the lower airways of patients with fibrotic interstitial lung diseases (ILDs). *Folia Histochem. Cytobiol.*, 2011; 49: 636-645
- [48] Kopiński P., Przybylski G., Jarzemska A., Śladek K., Soja J., Iwaniec T., Balicka-Ślusarczyk B., Pinis G., Dyczek A., Szablowska K., Golińska J., Jankowski M., Szczeklik J.: Stężenie interferonu gamma w płynie z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego w wybranych chorobach śródmiąższowych płuc jest dodatnio skorelowane z wartością stosunku CD4/CD8. *Pol. Merkur. Lekarski*, 2007; 23: 15-21
- [49] Krammer P.H., Arnold R., Lavrik I.N.: Life and death in peripheral T cells. *Nat. Rev. Immunol.*, 2007; 7: 532-542
- [50] Krueger A., Fas S.C., Baumann S., Krammer P.H.: The role of CD95 in the regulation of peripheral T-cell apoptosis. *Immunol. Rev.*, 2003; 193: 58-69
- [51] Kunkel E.J., Butcher E.C.: Plasma-cell homing. *Nat. Rev. Immunol.*, 2003; 3: 822-829
- [52] Kurtulus S., Tripathi P., Opferman J.T., Hildeman D.A.: Contracting the 'mus cells' - does down-sizing suit us for diving into the memory pool? *Immunol. Rev.*, 2010; 236: 54-67
- [53] Lacombe M.H., Hardy M.P., Rooney J., Labrecque N.: IL-7 receptor expression levels do not identify CD8⁺ memory T lymphocyte precursors following peptide immunization. *J. Immunol.*, 2005; 175: 4400-4407
- [54] Lakhani S.A., Masud A., Kuida K., Porter G.A., Jr., Booth C.J., Mehal W.Z., Inayat I., Flavell R.A.: Caspases 3 and 7: key mediators of mitochondrial events of apoptosis. *Science*, 2006; 311: 847-851

- [55] Liu Z.G., Hsu H., Goeddel D.V., Karin M.: Dissection of TNF receptor 1 effector functions: JNK activation is not linked to apoptosis while NF- κ B activation prevents cell death. *Cell*, 1996; 87: 565-576
- [56] Mack D.G., Lanham A.M., Falta M.T., Palmer B.E., Maier L.A., Fontenot A.P.: Deficient and dysfunctional regulatory T cells in the lungs of chronic beryllium disease subjects. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2010; 181: 1241-1249
- [57] Maraskovsky E., O'Reilly L.A., Teepe M., Corcoran L.M., Peschon J.J., Strasser A.: Bcl-2 can rescue T lymphocyte development in interleukin-7 receptor-deficient mice but not in mutant rag-1/- mice. *Cell*, 1997; 89: 1011-1019
- [58] Marleau A.M., Sarvetnick N.: T cell homeostasis in tolerance and immunity. *J. Leukoc. Biol.*, 2005; 78: 575-584
- [59] Martinvalet D., Zhu P., Lieberman J.: Granzyme A induces caspase-independent mitochondrial damage, a required first step for apoptosis. *Immunity*, 2005; 22: 355-370
- [60] Matuszyk J.: Rola sierocych receptorów jądrowych w rozwoju limfocytów T w grasicy. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2009; 63: 522-536
- [61] McAdam A.J., Farkash E.A., Gewurz B.E., Sharpe A.H.: B7 costimulation is critical for antibody class switching and CD8⁺ cytotoxic T-lymphocyte generation in the host response to vesicular stomatitis virus. *J. Virol.*, 2000; 74: 203-208
- [62] McKinstry K.K., Strutt T.M., Swain S.L.: Regulation of CD4⁺ T-cell contraction during pathogen challenge. *Immunol. Rev.*, 2010; 236: 110-124
- [63] Michalek R.D., Rathmell J.C.: The metabolic life and times of a T-cell. *Immunol. Rev.*, 2010; 236: 190-202
- [64] Miethke T., Vabulas R., Bittlingmaier R., Heeg K., Wagner H.: Mechanisms of peripheral T cell deletion: anergized T cells are Fas resistant but undergo proliferation-associated apoptosis. *Eur. J. Immunol.*, 1996; 26: 1459-1467
- [65] 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
- [66] Munitic I., Williams J.A., Yang Y., Dong B., Lucas P.J., El Kassar N., Gress R.E., Ashwell J.D.: Dynamic regulation of IL-7 receptor expression is required for normal thymopoiesis. *Blood*, 2004; 104: 4165-4172
- [67] Newton K., Harris A.W., Bath M.L., Smith K.G., Strasser A.: A dominant interfering mutant of FADD/MORT1 enhances deletion of autoreactive thymocytes and inhibits proliferation of mature T lymphocytes. *EMBO J.*, 1998; 17: 706-718
- [68] Nijhawan D., Fang M., Traer E., Zhong Q., Gao W., Du F., Wang X.: Elimination of Mcl-1 is required for the initiation of apoptosis following ultraviolet irradiation. *Genes Dev.*, 2003; 17: 1475-1486
- [69] O'Donnell M.A., Legarda-Addison D., Skountzos P., Yeh W.C., Ting A.T.: Ubiquitination of RIP1 regulates an NF- κ B-independent cell-death switch in TNF signaling. *Curr. Biol.*, 2007; 17: 418-424
- [70] Okkenhaug K., Wu L., Garza K.M., La Rose J., Khoo W., Odermatt B., Mak T.W., Ohashi P.S., Rottapel R.: A point mutation in CD28 distinguishes proliferative signals from survival signals. *Nat. Immunol.*, 2001; 2: 325-332
- [71] Openshaw P., Murphy E.E., Hosken N.A., Maino V., Davis K., Murphy K., O'Garra A.: Heterogeneity of intracellular cytokine synthesis at the single-cell level in polarized T helper 1 and T helper 2 populations. *J. Exp. Med.*, 1995; 182: 1357-1367
- [72] Opferman J.T., Korsmeyer S.J.: Apoptosis in the development and maintenance of the immune system. *Nat. Immunol.*, 2003; 4: 410-415
- [73] Pellegrini M., Bouillet P., Robati M., Belz G.T., Davey G.M., Strasser A.: Loss of Bim increases T cell production and function in interleukin 7 receptor-deficient mice. *J. Exp. Med.*, 2004; 200: 1189-1195
- [74] Peter M.E., Legembre P., Barnhart B.C.: Does CD95 have tumor promoting activities? *Biochim. Biophys. Acta*, 2005; 1755: 25-36
- [75] Reckling S., Divanovic S., Karp C.L., Wojciechowski S., Belkaid Y., Hildeman D.: Proapoptotic Bcl-2 family member Bim promotes persistent infection and limits protective immunity. *Infect. Immun.*, 2008; 76: 1179-1185
- [76] Refaeli Y., Van Parijs L., London C.A., Tschopp J., Abbas A.K.: Biochemical mechanisms of IL-2-regulated Fas-mediated T cell apoptosis. *Immunity*, 1998; 8: 615-623
- [77] Rogers P.R., Song J., Gramaglia I., Killeen N., Croft M.: OX40 promotes Bcl-xL and Bcl-2 expression and is essential for long-term survival of CD4 T cells. *Immunity*, 2001; 15: 445-455
- [78] Sandalova E., Wei C.H., Masucci M.G., Levitsky V.: Regulation of expression of Bcl-2 protein family member Bim by T cell receptor triggering. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 3011-3016
- [79] Sanjabi S., Mosaheb M.M., Flavell R.A.: Opposing effects of TGF- β and IL-15 cytokines control the number of short-lived effector CD8⁺ T cells. *Immunity*, 2009; 31: 131-144
- [80] Schluns K.S., Williams K., Ma A., Zheng X.X., Lefrancois L.: Cutting edge: requirement for IL-15 in the generation of primary and memory antigen-specific CD8 T cells. *J. Immunol.*, 2002; 168: 4827-4831
- [81] Schmitz I., Krueger A., Baumann S., Schulze-Bergkamen H., Krammer P.H., Kirchhoff S.: An IL-2-dependent switch between CD95 signaling pathways sensitizes primary human T cells toward CD95-mediated activation-induced cell death. *J. Immunol.*, 2003; 171: 2930-2936
- [82] Scott D.E., Kisch W.J., Steinberg A.D.: Studies of T cell deletion and T cell anergy following *in vivo* administration of SEB to normal and lupus-prone mice. *J. Immunol.*, 1993; 150: 664-672
- [83] Shi Y.F., Sahai B.M., Green D.R.: Cyclosporin A inhibits activation-induced cell death in T-cell hybridomas and thymocytes. *Nature*, 1989; 339: 625-626
- [84] Stockinger B., Veldhoen M.: Differentiation and function of Th17 T cells. *Curr. Opin. Immunol.*, 2007; 19: 281-286
- [85] Su H., Bidere N., Zheng L., Cubre A., Sakai K., Dale J., Salmena L., Hakem R., Straus S., Lenardo M.: Requirement for caspase-8 in NF- κ B activation by antigen receptor. *Science*, 2005; 307: 1465-1468
- [86] Tan J.T., Dudl E., LeRoy E., Murray R., Sprent J., Weinberg K.I., Surh C.D.: IL-7 is critical for homeostatic proliferation and survival of naive T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001; 98: 8732-8737
- [87] Thome M.: CARMA1, BCL-10 and MALT1 in lymphocyte development and activation. *Nat. Rev. Immunol.*, 2004; 4: 348-359
- [88] Ventura A., Young A.G., Winslow M.M., Lintault L., Meissner A., Erkeland S.J., Newman J., Bronson R.T., Crowley D., Stone J.R., Jaenisch R., Sharp P.A., Jacks T.: Targeted deletion reveals essential and overlapping functions of the miR-17 through 92 family of miRNA clusters. *Cell*, 2008; 132: 875-886
- [89] Wang C.Y., Mayo M.W., Baldwin A.S. Jr.: TNF- and cancer therapy-induced apoptosis: potentiation by inhibition of NF- κ B. *Science*, 1996; 274: 784-787
- [90] Watanabe N., Arase H., Kurasawa K., Iwamoto I., Kayagaki N., Yagita H., Okumura K., Miyatake S., Saito T.: Th1 and Th2 subsets equally undergo Fas-dependent and -independent activation-induced cell death. *Eur. J. Immunol.*, 1997; 27: 1858-1864
- [91] Weant A.E., Michalek R.D., Khan I.U., Holbrook B.C., Willingham M.C., Grayson J.M.: Apoptosis regulators Bim and Fas function concurrently to control autoimmunity and CD8⁺ T cell contraction. *Immunity*, 2008; 28: 218-230
- [92] Willis S.N., Fletcher J.I., Kaufmann T., van Delft M.F., Chen L., Czabotar P.E., Ierino H., Lee E.F., Fairlie W.D., Bouillet P., Strasser A.,

Kluck R.M., Adams J.M., Huang D.C.: Apoptosis initiated when BH3 ligands engage multiple Bcl-2 homologs, not Bax or Bak. *Science*, 2007; 315: 856-859

[93] Wofford J.A., Wieman H.L., Jacobs S.R., Zhao Y., Rathmell J.C.: IL-7 promotes Glut1 trafficking and glucose uptake via STAT5-mediated activation of Akt to support T-cell survival. *Blood*, 2008; 111: 2101-2111

[94] Wojciechowski S., Tripathi P., Bourdeau T., Acero L., Grimes H.L., Katz J.D., Finkelman F.D., Hildeman D.A.: Bim/Bcl-2 balance is critical for maintaining naive and memory T cell homeostasis. *J. Exp. Med.*, 2007; 204: 1665-1675

[95] Xiao S., Matsui K., Fine A., Zhu B., Marshak-Rothstein A., Widom R.L., Ju S.T.: FasL promoter activation by IL-2 through SP1 and NFAT but not Egr-2 and Egr-3. *Eur. J. Immunol.*, 1999; 29: 3456-3465

[96] Yajima T., Nishimura H., Ishimitsu R., Watase T., Busch D.H., Pamer E.G., Kuwano H., Yoshikai Y.: Overexpression of IL-15 *in vivo* increases antigen-driven memory CD8⁺ T cells following a microbe exposure. *J. Immunol.*, 2002; 168: 1198-1203

[97] Yuan J., Kroemer G.: Alternative cell death mechanisms in development and beyond. *Genes Dev.*, 2010; 24: 2592-2602

[98] Zha J., Harada H., Yang E., Jockel J., Korsmeyer S.J.: Serine phosphorylation of death agonist BAD in response to survival factor results in binding to 14-3-3 not BCL-X_L. *Cell*, 1996; 87: 619-628

[99] Zhang N., Hartig H., Dzhagalov I., Draper D., He Y.W.: The role of apoptosis in the development and function of T lymphocytes. *Cell Res.*, 2005; 15: 749-769

[100] Zhang N., He Y.W.: The antiapoptotic protein Bcl-xL is dispensable for the development of effector and memory T lymphocytes. *J. Immunol.*, 2005; 174: 6967-6973

[101] Zhang X., Brunner T., Carter L., Dutton R.W., Rogers P., Bradley L., Sato T., Reed J.C., Green D., Swain S.L.: Unequal death in T helper cell (Th)1 and Th2 effectors: Th1, but not Th2, effectors undergo rapid Fas/FasL-mediated apoptosis. *J. Exp. Med.*, 1997; 185: 1837-1849

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.