

Received: 2004.10.18
Accepted: 2004.11.09
Published: 2004.11.22

Komórki tuczne fagocytują bakterie*

The mast cells phagocytose bacteria

Rafał S. Rdzany, Ewa Brzezińska-Błaszczyk

Zakład Immunologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Streszczenie

W ostatnich latach jest coraz więcej doniesień na temat ogromnej roli komórek tucznych (mastocytów) w obronie gospodarza przeciwko bakteriom. Mastocyty zawierają liczne receptory/cząsteczki, które biorą udział w rozpoznawaniu i wiązaniu bakterii. Bakterie są rozpoznawane i wiązane zarówno z udziałem opsonin (*via* receptory Fc i C3), jak i przy współudziale innych cząsteczek błonowych (*via* integryny, cząsteczka CD48 oraz receptory Toll-podobne). Mastocyty fagocytują zaadherowane komórki bakteryjne i zabijają je. Fagocytoza bakterii prowadzi także do prezentacji antygenów bakteryjnych limfocytom T w kontekście antygenów MHC klasy I.

Słowa kluczowe:

komórka tuczna • obrona przeciwbakteryjna • adhezja • fagocytoza • zabijanie wewnątrzkomórkowe

Summary

In the last years there has been a growing number of reports concerning the role of mast cells in host defense against bacteria. The mast cell membrane is replete with many receptors/molecules, including those that promote the recognition and binding of bacteria. Mast cells exhibit two basic mechanisms of microbial recognition: opsonin-dependent (*via* Fc and C3 receptors) and opsonin-independent (*via* integrins, CD48 molecule and Toll-like receptors). Moreover, mast cells phagocytose and kill adherent bacteria. Phagocytosis of bacteria results in the presentation of bacterial antigens for MHC class I to T cells.

Key words:

mast cell • antibacterial defense • adhesion • phagocytosis • intracellular killing

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_58/6594.pdf

Word count: 2826

Tables: 2

Figures: –

References: 63

Adres autora: mgr Rafał S. Rdzany, Zakład Immunologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź, e-mail: rrsrdzany@csk.am.lodz.pl

Wykaz skrótów: **EDTA** – kwas etylenodiaminotetraoctowy (ethylenediaminetetra-acetic acid); **Ig** – immunoglobulina; **Fc** – fragment krystalizujący (fragment crystallizable); **FcγR** – receptor fragmentu Fc immunoglobuliny G; **IFN-γ** – interferon gamma; **VLA** – antygen bardzo późny (very late antigen); **CD** – kompleks różnicowania (cluster

*Praca finansowana przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi (grant nr 502-12-274).



of differentiation); **FimH** – bakteryjna lektyna wiążąca mannozę związana z fimbriami typu 1; **TLR** – receptor Toll-podobny (Toll-like receptor); **PAMP** – molekularne wzorce związane z patogenami (pathogen associated molecular patterns); **HSP** – białka szoku termicznego (heat-shock proteins); **MHC** – główny układ zgodności tkankowej (major histocompatibility complex); **LPS** – lipopolisacharyd; **IL** – interleukina; **CTL** – limfocyt T cytotoksyczny (T cytotoxic lymphocyte); **PG** – prostaglandyna; **LT** – leukotrien; **PAF** – czynnik aktywujący płytki krwi (platelet activating factor); **TNF** – czynnik martwicy nowotworu (tumor necrosis factor)

WPROWADZENIE

W ostatnich kilkunastu latach gromadzono coraz więcej danych wskazujących, iż komórki tuczne (mastocyty) odgrywają znaczącą rolę w obronie gospodarza skierowanej przeciwko patogenom. Obecnie można już z pewnością twierdzić, iż komórki te stanowią niezwykle ważny element mechanizmów obronnych organizmu, szczególnie w obronie skierowanej przeciwko bakteriom. Wiadomo od dawna, iż komórki tuczne znajdują się w dużej liczbie w skórze, bezpośrednio pod nabłonkiem wyściełającym układ oddechowy, przewód pokarmowy i drogi moczowo-płciowe, a także w bezpośredniej bliskości naczyń krwionośnych i naczyń limfatycznych, a więc w miejscach stanowiących główne wrota zakażenia. Wiadomo również, iż mastocyty są komórkami o długim okresie życia (nawet do kilku miesięcy). Jest też dobrze udokumentowane, iż syntetyzują one i wydzielają bardzo wiele mediatorów i cytokin o szerokim działaniu prozapalnym. Rozważając powyższe informacje wydaje się, iż mastocyty są szczególnie predysponowane do udziału w mechanizmach obronnych skierowanych przeciwko bakteriom.

Wśród wielu mechanizmów obronnych skierowanych przeciwko bakteriom ważnym i skutecznym jest fagocytoza komórki bakteryjnej i jej wewnątrzkomórkowe zabijanie. W tym mechanizmie obrony nieswoistej biorą udział głównie granulocyty obojętne (neutrofile) i makrofagi. Wiadomo, że także mastocyty wykazują zdolność fagocytozy bakterii i w ten sposób niezwykle skutecznie dodatkowo wzmacniają i uzupełniają nieswoiste mechanizmy obronne działające natychmiastowo w miejscu infekcji.

RECEPTORY I CZĄSTECZKI BŁONOWE MASTOCYTÓW UCZESTNICZĄCE W ROZPOZNANIU I WIĄZANIU BAKTERII

Wstępnym etapem fagocytozy jest rozpoznanie patogenu i jego związanie z komórką żerną. W procesie tym uczestniczą różne struktury błonowe, obecne w błonie komórkowej komórki fagocytującej oraz odpowiednie dla nich ligandy, znajdujące się na powierzchni cząsteczki fagocytowanej. Jest dobrze udokumentowane, że w błonie komórki tucznej znajduje się wiele typów receptorów i cząsteczek warunkujących proces rozpoznawania i wiązania bakterii.

W drugiej połowie lat siedemdziesiątych dwudziestego wieku Sher i wsp. jednoznacznie wykazali obecność na mastocytach receptorów składowej C3 dopełniacza oraz udział tego receptora w procesie adhezji bakterii do komórek tucznych. Początkowo zaobserwowano, iż szczerze komórki tuczne jamy otrzewnej wiążą się do larw *Schistosoma mansoni* w obecności świeżej surowicy homologicznej [47]. Rok później udokumentowano, iż opłaszczony dopełniaczem zymosan i bakterie *Salmonella typhi*, wybarwione fluorescencyjnie, wiążą się do komórek tucznych,

tworząc formy rozet widoczne na zdjęciach z mikroskopu świetlnego i fluorescencyjnego. Tworzenie rozet było blokowane przez ciepłą inaktywację surowicy lub przez dodanie EDTA [49]. Autorzy ci wykazali również, iż za blokowaniem składowej C3 przeciwciałami anty-C3 powoduje znamienne zahamowanie adhezji bakterii do mastocytów [48]. Stało się więc pewne, że w mechanizmie przylegania bakterii do powierzchni komórki tucznej uczestniczą receptory składowej C3 dopełniacza, obecne na mastocytach, a składowa dopełniacza pełni klasyczną funkcję opsoniny.

Inną drogą ułatwiającą fagocytozę jest opsonizacja bakterii przez immunoglobuliny, prowadząca do tzw. immunofagocytozy. Jest dobrze udokumentowane, że w błonie komórkowej mastocytów są receptory fragmentów Fc immunoglobulin, w tym fragmentu Fc IgG. Mysie mastocyty wykazują ekspresję receptorów FcγRIIb1, FcγRIIb2 [8] i FcγRIII [28]. Ludzkie komórki tuczne mają receptor FcγRI, którego ekspresja wyraźnie wzrasta po działaniu IFN-γ [38]. Jest zatem oczywiste, że za pośrednictwem tych receptorów i cząsteczek IgG może zachodzić adhezja umożliwiająca fagocytozę bakterii przez mastocyty.

Wiadomo także, że mastocyty wykazują dużą ekspresję wielu cząsteczek adhezyjnych, w tym z grupy integrzyn. Integryny VLA-3, VLA-4, VLA-5 oraz αvβ3 obecne w błonie komórek tucznych [14,60] wykazują zdolność wiązania do fibronektyny. Właściwość wiązania fibronektyny wykazują również receptory komórek tucznych FcγRII i FcγRIII [15]. Fibronektyna, wiążąc się bezpośrednio z bakteriami, może więc pełnić funkcję opsoniny pośrednio ułatwiając proces wzajemnego przylegania bakterii i komórek tucznych.

Adhezja bakterii do komórek żernych może przebiegać także bez udziału opsonin, poprzez drogę lektynową. W ostatnich kilku latach dobrze udokumentowano, iż komórki tuczne gryzoni mają cząsteczkę CD48 [31,51]. Cząsteczka CD48 znajduje się także na mastocytach człowieka [2]. Cząsteczka ta należy do grupy białek powierzchniowych związanych z glikozylofosfatydyloinozytolem i jest bogata w mannozę. Jest umiejscowiona w mikrodomenach błonowych bogatych w sfingolipidy i cholesterol [54]. Ostatnio Shin i wsp. [52] udokumentowali, iż cząsteczka CD48 na mastocytach jest także ściśle związana z mikrodomenami błonowymi – kaweolami. U gryzoni cząsteczka CD48 pełni ważną funkcję w kostymulacji i przekazywaniu sygnału między limfocytom T a komórką prezentującą antygen [16]. U człowieka bierze udział w kooperacji limfocytów T z komórkami nabłonka [25]. W 1997 roku Baorto i wsp. [7] wykazali, iż cząsteczka CD48 jest obecna także na makrofagach i, co ważniejsze, jest receptorem bakteryjnej lektyny wiążącej mannozę związanej z fimbriami typu 1 – FimH. W niezwykle starannie prze-

Tabela 1. Receptory i cząsteczki błonowe mastocytów współuczestniczące w procesie rozpoznawania bakterii

Receptor/cząsteczka błonowa	Ligand	Piśmiennictwo
C3R	C3	47, 48, 49
FcγRI (człowiek) FcγRII, FcγRIII (mysz)	IgG	8, 28, 38
Integryny VLA-3, VLA-4, VLA-5, αvβ3 FcγRII, FcγRIII	fibronektyna	14, 15, 60
CD48	lektyna FimH	2, 4, 31, 32, 37, 51, 54
TLR2, TLR4 (człowiek) TLR2, TLR4, TLR6, TLR8 (mysz)	peptydoglikan, kwas lipoteichojowy, lipoproteiny, LPS, HSP60, mikobakterie	3, 29, 34, 35, 39, 46, 56, 58, 59, 62

przewodzonych doświadczeniach udokumentowali, iż adhezja *Escherichia coli* do makrofagów jest wynikiem interakcji pomiędzy cząsteczką CD48 makrofagów a cząsteczką FimH bakterii.

Adherencję bakterii mających lektynę FimH (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* i *Enterobacter cloacae*) do komórek tucznych wykazali Malaviya i wsp. [32]. Autorzy wskazali jednocześnie, iż mastocyty wiążą także bakterie niemające cząsteczki FimH (FimH⁻) oraz bakterie niemające fimbrii, jednakże wiązanie tych bakterii jest znacznie słabsze. Udział tej lektyny w adhezji bakterii do mastocytów człowieka wykazali również Arock i wsp. [4]. W roku 1999 zespół Malaviya [31] jednoznacznie udokumentował, iż w wiązaniu bakterii FimH⁺ do mastocytów współuczestniczy cząsteczka CD48.

Niezwykle intrygujące obserwacje przedstawili niedawno Muñoz i wsp. [37]. Udokumentowali bowiem, że mastocyty wiążą *Mycobacterium tuberculosis*, a w adhezji tych bakterii współuczestniczy cząsteczka CD48. Autorzy pracy nie wskazali jednak, który z antygenów mikobakterii jest ligandem CD48.

Należy także zwrócić uwagę na niedawno opisane receptory Toll-podobne (TLR). Te transbłonowe białka zawierające motywy bogate w leucynę są również obecne na komórkach tucznych ssaków i człowieka. Mysie mastocyty wykazują ekspresję cząsteczek TLR2, TLR4, TLR6 i TLR8, natomiast nie wykazują ekspresji TLR5 [34,56]. Na mastocytach człowieka wykazano obecność cząsteczek TLR2 i TLR4 [61]. Dzisiaj na pewno można stwierdzić, iż receptory Toll-podobne biorą udział w rozpoznawaniu patogenów, a ściślej molekularnych wzorców związanych z patogenami (PAMP), a wiele spośród swoistych ligandów TLR to cząsteczki pochodzenia bakteryjnego. Powszechnie już wiadomo, że TLR2 jest aktywowany przez peptydoglikan, kwas lipoteichojowy [46], lipoproteiny [3,29], LPS [29,62], bakteryjne białko szoku termicznego HSP60 [59], mikobakterie [35]. TLR4 rozpoznaje LPS [13] oraz białko szoku termicznego HSP60 [59], natomiast TLR6 jest aktywowany przez peptydoglikan [39], a wspólnie z TLR2 roz-

poznaje lipoproteiny bakteryjne [58]. Interakcja cząsteczek TLR z ich odpowiednimi ligandami prowadzi do aktywacji danej komórki [26,53], w tym także do aktywacji mastocytów [55,56]. Badania Doyle'a i wsp. [17] z roku 2004 wskazały, iż receptory Toll-podobne obecne na makrofagach współuczestniczą w fagocytozie bakterii, przy czym TLR9 najsilniej indukuje fagocytozę, TLR2 i TLR7 nieco słabiej, a TLR4 i TLR3 najsłabiej. Rozważając powyższą informację można przypuszczać, iż cząsteczki TLR licznie obecne w błonie komórkowej mastocytów także mogą indukować proces fagocytozy bakterii.

Na podstawie powyższych danych wydaje się, iż można rozpatrywać mastocyty jako komórki dobrze wyposażone w receptory i struktury błonowe odpowiedzialne za procesy rozpoznawania patogenów i ich ścisłej adhezji (tab. 1). Takie procesy mogą więc zapoczątkować proces fagocytozy bakterii przez komórkę tuczną za pośrednictwem tych samych lub podobnych mechanizmów znanych w odniesieniu do innych „profesjonalnych” komórek żernych.

FAGOCYTOZA BAKTERII PRZEZ MASTOCYTY

Poglądy na zdolności fagocytarne mastocytów bardzo ewoluowały. Już w XIX wieku Elia Miecznikow sugerował, że komórki te wykazują własności fagocytowania i mogą wobec tego uczestniczyć w obronie gospodarza przed patogenami. Jednakże w 1965 roku Selye w swojej monografii poświęconej komórkom tuczным, podsumowującej ówczesny stan wiedzy, konkludował, iż mastocyty nie mają żadnej zdolności fagocytarnej. Dopiero Padawer w latach sześćdziesiątych XX wieku w cyklu badań udokumentował, iż mastocyty są komórkami fagocytującymi. Wykazał, iż potrafią one pochłaniać substancje cząstkowe, takie jak zyromosan [43], koloidalne złoto [40], koloidalny dwutlenek toru [42] czy pokswirus [41]. Fagocytowanie cząsteczek zyromosanu przez mastocyty potwierdził także Fruhman [22]. Autorzy prac nie badali jednakże mechanizmów tej fagocytozy. Dopiero dalsze prace udokumentowały przebieg fagocytozy oraz opisały dokładniej mechanizmy współuczestniczące w tym procesie.

Przebieg fagocytozy zabitych ciepłem pałeczek *Salmonella typhi* przez otrzewnowe mastocyty szczura w obecności dopełniacza po raz pierwszy dokładniej opisali Sher i wsp. [48], wykorzystując technikę mikroskopii skaningowej. Przylegające do błony komórkowej mastocyta bakterie początkowo są otaczane pseudopodiami, a następnie zamknięte w fagosomie. Fagosom jest transportowany do wnętrza komórki, gdzie łączy się z innymi fagosomami lub z ziarnistościami cytoplazmatycznymi. Aktywność fagocytarna mastocytów jest blokowana przez tripsynę i zależy od obecności jonów magnezowych. Autorzy pracy wskazali również, że intensywność fagocytozy zależy od czasu reakcji oraz od liczby bakterii przypadającej na jednego mastocyta. Badając przebieg fagocytozy, z zastosowaniem technik mikroskopii elektronowej, udokumentowano, iż także adhezja bakterii do mastocyta poprzez cząsteczkę FimH prowadzi do fagocytozy. Proces fagocytozy jest bardzo szybki – już po jednej godzinie 70% mastocytów zawiera w swoich wakuolach pochłonięte bakterie [32]. Ta sama grupa badaczy, charakteryzując bardzo dokładnie interakcje pomiędzy *Salmonella typhimurium* a komórką tuczną stwierdziła, iż przed kontaktem z bakteriami



mastocyty mają pojedyncze wypustki błonowe na swojej powierzchni, po kontakcie z bakterią ich liczba znacząco wzrasta. W miejscu zetknięcia się bakterii z mastocytym widoczne jest zagłębienie w błonie komórkowej, które świadczy o zapoczątkowaniu procesu żernego, a sfagocytowane bakterie pozostają wewnątrz komórki w obrębie wakuoli zbudowanych z jej błony [33]. Arock i wsp. [4] zaobserwowali, że ludzkie komórki tuczne pochodzące z krwi pępowinowej fagocyтуją wiele Gram-ujemnych i Gram-dodatnich bakterii (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecium*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae* i dwa szczepy *Escherichia coli*). Przeprowadzone badania, z zastosowaniem mikroskopii skaningowej i elektronowej ujawniły, iż w początkowym etapie bakterie są wychwytywane przez wypustki protoplazmatyczne mastocyta. Zdjęcia przekroju komórki tucznej po ekspozycji na bakterie ujawniły znaczącą liczbę komórek bakteryjnych zamkniętych w wakuolach. Autorzy spostrzegli także, iż pochłanianie bakterii Gram-dodatnich jest bardzo szybkie, a proces rozpoczyna się spontanicznie po kontakcie bakterii z błoną mastocyta. Fagocytoza bakterii Gram-ujemnych jest procesem znacznie wolniejszym, stopniowym, inicjowanym dopiero przy odpowiedniej liczbie bakterii.

Shin i wsp. [52] przeprowadzili bardzo starannie zaplanowane doświadczenia nad przebiegiem fagocytozy *Escherichia coli* przez mysie mastocyty. Przyleganie tych bakterii do komórek tucznych zależy od interakcji bakteryjnej cząsteczki FimH i cząsteczki CD48 związanej z błonowymi kaweolami. Stosując technikę mikroskopii fluorescencyjnej i wykorzystując swoiste przeciwciała skierowane przeciwko kaweolinie (swoistemu białku kaweoli) udokumentowali, że adherencja bakterii do mastocytów zapoczątkowuje proces endocytozy komórek bakteryjnych, przy czym kaweole tworzą wewnątrzkomórkowe przedziały otaczające pochłonięte bakterie. Fagocytoza jest hamowana w obecności toksyny cholery typu B, która „przywłaszcza” sobie dostępne kaweole oraz przez cyklodekstrynę niszczącą strukturę kaweoli.

MECHANIZMY WENĄTRZKOMÓRKOWEGO ZABIJANIA BAKTERII

Już dawno udokumentowano, że komórki tuczne mogą wytwarzać reaktywne formy tlenu. Henderson i Kaliner [23] w swoich badaniach udowodnili, iż szczurze mastocyty jamy otrzewnej oraz ludzkie mastocyty płuc wytwarzają anion nadadtlenkowy w odpowiedzi na stymulację zarówno nieimmunologiczną związkami 48/80, jak i immunologiczną (anty-IgE). W badaniach zastosowano dwie czułe metody – test chemiluminescencji i test redukcji cytochromu c. Zanotowano, że stymulacja mastocytów związkiem 48/80 lub anty-IgE prowadzi do wytwarzania anionu nadadtlenkowego z jednoczesnym wydzielaniem histaminy, a procesy te są zależne od dawki stymulatora i temperatury. Podobne doświadczenia z zawiesiną izolowanych ziarnistości cytoplazmatycznych komórek tucznych wskazały, iż źródłem rodnika nadadtlenkowego są te ziarnistości. Wykazano również, że poziom wytwarzania tego rodnika (mierzony jako poziom redukcji cytochromu c) przez komórki tuczne pod wpływem anty-IgE jest podobny do poziomu wytwarzania go przez klasyczne fagocyty po procesie fagocytozy [12,27,45], a chemiluminescencja zaktywowanych mastocytów jest zbliżona do chemiluminescencji zaktywowanych zymosanem komórek jednoją-

drzastych, ale mniejsza od chemiluminescencji ludzkich leukocytów po fagocytozie zymosanu [23,27,45].

Autorzy pierwszych prac opisujących proces fagocytozy przez mastocyty wskazywali, iż komórki te nie mają zdolności destrukcji sfagocytowanych cząstek [40,42,43]. Jedynie Sher i wsp. [48] sugerowali, że sfagocytowane bakterie tracą swoją żywotność. Obecnie nie ma wątpliwości, że mastocyty zabijają sfagocytowane bakterie. Udokumentowali to Malaviya i wsp. [33] w odniesieniu do komórek tucznych myszy oraz Arock i wsp. [4] w badaniach z wykorzystaniem mastocytów ludzkich. Ci ostatni odnotowali znaczny, zależny od czasu, spadek żywotności bakterii związanych i pochłoniętych przez ludzkie mastocyty. W badaniach morfologicznych zaobserwowali natomiast, że na zdjęciach przekrojów komórek po fagocytozie wewnątrz wakuoli fagocytarnych są widoczne częściowo zdegradowane komórki *Streptococcus faecium*.

Mekori i Metcalfe [36] wyraźnie dzielą mechanizmy zabijania mikroorganizmów przez komórki tuczne na tlenowe i pozatlenowe, a zatem podobnie jak to jest u klasycznych fagocytów. Mechanizmy pozatlenowe są związane z obecnymi w ziarnistościach tych komórek enzymami proteolitycznymi, takimi jak chymaza i proteaza II. Mechanizmy tlenowe są związane z wytwarzaniem reaktywnych form tlenu: anionu nadadtlenkowego, tlenu singletowego, rodników hydroksylowych i nadtlenu wodoru [1]. Dowód na istnienie bakteriobójczego systemu tlenowego w komórkach tucznych, opartego na wybuchu tlenowym, przyniosła badania Malaviya i wsp. [32]. Stwierdzono, że odpowiedź chemiluminescencyjna mastocytów jest uruchamiana przez *Escherichia coli* FimH⁺ w przeciwieństwie do bakterii tego samego gatunku, ale niemających FimH i jest to konsekwencją liczby pochłoniętych bakterii. Wybuch tlenowy jest hamowany przez enzym dysmutazę nadadtlenkową – „pożeracza” anionów nadadtlenkowych, co wcześniej wykazali już Henderson i Kaliner [23], a nie jest hamowany przez katalazę – „pożeracza” nadtlenu wodoru. Wydaje się więc, iż anion nadadtlenkowy jest dominującą formą reaktywnego tlenu wydzielaną przez mastocyty i prawdopodobnie jest istotnym elementem ich aktywności bakteriobójczej. W procesie zabijania wewnątrzkomórkowego bakterii obserwuje się również zakwaszenie wakuoli fagocytarnych [32].

Shin i wsp. [52] wskazali natomiast, że w przypadku endocytozy bakterii z udziałem kaweoli, bakterie nie są zabijane, bowiem kaweole nie łączą się z endosomami. Tak więc bakterie zamknięte w przedziałach kaweolarnych unikają wewnętrznej bakteriobójczej aktywności mastocytów. Ta sama grupa autorów wykazała także, że bakterie zamknięte w przedziałach kaweolarnych nie tracą żywotności, a mastocyty stają się w ten sposób rezerwuarem żywych patogenów [50].

PRZETWARZANIE I PREZENTACJA ANTYPENÓW

Rozważając zdolność mastocytów do fagocytozy komórek bakteryjnych z jednoczesnym zabijaniem tych bakterii wewnątrzkomórkowo można zadać pytanie, czy komórki tuczne mogą także prezentować antygeny bakteryjne limfocytom T, tym bardziej że wykazują one ekspresję nie tylko cząsteczek MHC klasy I, ale także klasy II [5,57,63].

Tabela 2. Porównanie właściwości mastocytów, granulocytów obojętnochłonnych i makrofagów jako komórek fagocytujących

Właściwość	Mastocyt	Neutrofil	Makrofag
Rozmieszczenie	bezpośrednio w miejscach wnikania patogenów (we wrotach zakażenia)	krążenie	tkanki
Długość życia	miesiące-lata	godziny	tygodnie-miesiące
Proliferacja w tkance	+	-	-
Receptory/cząsteczki błonowe uczestniczące w adhezji	+	+	+
Fagocytoza	+	+	+
Wewnątrzkomórkowe zabijanie: - droga tlenowa	+	+	+
- droga pozatlenowa	+	+	+
Przetwarzanie i prezentacja antygenów	+	-	+
Możliwość przetrwania żywych bakterii	+	-	+

Wprawdzie Banovac i wsp. [6] wykazali obecność cząsteczek MHC klasy II tylko na 10% szuczrych komórek tucznych izolowanych z jamy opłucnej, ale stwierdzili również, iż po inkubacji tych komórek z IFN- γ 80% mastocytów cechowała się ekspresją MHC klasy II. Frandji i wsp. [20], poszukując nowych właściwości fenotypowych i funkcjonalnych komórek tucznych szpiku kostnego określili wśród ich wielu różnych markerów także obecność antygenów MHC klasy I i II. W tych badaniach wzrost ekspresji cząsteczek MHC klasy II następował po potraktowaniu komórek LPS, a nie IFN- γ .

Tezę, że mastocyty mogą pełnić funkcję komórek prezentujących antygen postawili po raz pierwszy – w oparciu o wyniki własnych badań – Banovac i wsp. [6]. Wkrótce udokumentowano, że mastocyty przetwarzają antygeny wirusowe i prezentują je limfocytom T w kontekście cząsteczek MHC klasy I [19]. Wskazano również, że komórki tuczne przetwarzają rozpuszczalne peptydy i prezentują je limfocytom T w kontekście cząsteczek MHC klasy II, chociaż proces ten jest zdecydowanie mniej efektywny w porównaniu do prezentacji tych samych antygenów przez limfocyty B [20]. Malaviya i wsp. [33] jako pierwsi odkryli, że mysie mastocyty szpiku kostnego są zdolne do przetworzenia antygenów wielu patogennych Gram-ujemnych bakterii jelitowych (w tym *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*) w procesie fagocytozy, w celu zaprezentowania ich komórkom T o fenotypie CD8⁺ w kontekście MHC klasy I. Proces przetwarzania antygenów jest według autorów porównywalny w wydajności do tego obserwowanego u wysoce pobudzonych makrofagów otrzewnowych. W świetle tych wyników oraz zdolności mastocytów do wytwarzania IL-4, która stymuluje proliferację i różnicowanie prekursorów limfocytów T cytotoksycznych (CTL) i wzmacnia odpowiedź CTL na alloantygeny w reakcji mieszanych limfocytów, eksperymetatorzy sugerują możliwość zaangażowania komórki tucznej w generowanie odpowiedzi cytotoksycznej *in vivo* na antygeny bakteryjne [33,36]. Jednocześnie proponują dwa mechanizmy prze-

tworzania antygenów przez mastocyty – jeden oparty na fagolizosomalnym przetworzeniu antygeny w celu związania go do preformowanych cząsteczek MHC klasy I i drugi na zasadzie fagosom-cytosol w celu przetworzenia w ten sam sposób co antygeny endogenne [33]. Mechanizmy te jednak nie są do końca poznane. Już wcześniej doświadczenia Pfeifera i wsp. [44] zasugerowały nowy wakuolarny sposób przetwarzania sfagocytowanych antygenów egzogennych w kontekście cząsteczek MHC I. Tym samym potwierdziły prezentację antygenów bakteryjnych poprzez te cząsteczki po procesie fagocytozy bakterii bez udziału mechanizmu przenikania ich antygenów do cytosolu komórki prezentującej.

PODSUMOWANIE

Przedstawione informacje jednoznacznie wskazują, iż mastocyty niezwykle aktywnie uczestniczą w nieswoistych mechanizmach immunologicznych skierowanych przeciwko bakteriom. Z udziałem różnych receptorów i cząsteczek błonowych sprawnie rozpoznają i wiążą bakterie, fagocytują je i zabijają za pośrednictwem mechanizmów tlenowych lub beztlenowych. Wykazują również zdolność przetwarzania i prezentacji antygenów bakteryjnych, zarówno w kontekście cząsteczek MHC klasy I, jak i w kontekście cząsteczek MHC klasy II, sprzyjając w ten sposób rozwojowi humoralnej i komórkowej swoistej odpowiedzi immunologicznej. Trzeba także pamiętać, iż komórki tuczne są źródłem bardzo wielu mediatorów, w tym cytokin i chemokin, o wyraźnym działaniu prozapalnym (histamina, tryptaza, PGD₂, LTC₄, PAF, TNF). I chociaż nie było to przedmiotem niniejszego opracowania należy podkreślić, iż wiele danych jednoznacznie dokumentuje, iż bakterie i/lub ich produkty mogą aktywować mastocyty do uwalniania tych mediatorów [9,10,11,18,24,30]. W ten sposób komórki tuczne dodatkowo wzmacniają mechanizmy obronne skierowane przeciwko bakteriom uruchamiając i/lub amplifikując procesy zapalne.



W klasycznym ujęciu komórkami bezpośrednio zaangażowanymi w mechanizmy obrony nieswoistej przeciwbakteryjnej są makrofagi i granulocyty obojętnochłonne. W świetle nowych, dobrze udokumentowanych informacji o zdolności mastocytów do fagocytozy i zabijania wewnątrzkomórkowego bakterii, a także do wydzielania pod wpływem bakterii i ich produktów mediatorów prozapalnych o szerokim zakresie oddziaływań, można postawić tezę, iż komórki tuczne równie aktywnie uczestniczą w tych procesach. Trudno oczywiście szeregować te trzy popu-

lacje komórek co do ich „ważności” w procesach obrony przeciwbakteryjnej. Rozważając jednakże szczególne cechy mastocytów, takie jak strategiczna lokalizacja w organizmie, długość życia (miesiące, a nawet lata) oraz zdolność do wydzielania bardzo wielu mediatorów o działaniu prozapalnym wydaje się, że można twierdzić, iż rola tych komórek jest znaczna i istotna (tab. 2). Niektórzy autorzy sugerują nawet, iż obrona gospodarza przed infekcją bakteryjną jest najbardziej naturalną, fizjologiczną funkcją mastocytów [1,32].

PIŚMIENNICTWO

- Abraham S.N., Malaviya R.: Mast cells in infection and immunity. *Infect. Immun.*, 1997; 65: 3501–3508
- Agis H., Füreder W., Bankl H.C., Kundi M., Sperr W.R., Willheim M., Boltz-Nitulescu G., Butterfield J.H., Kishi K., Lechner K., Valent P.: Comparative immunophenotypic analysis of human mast cells, blood basophils and monocytes. *Immunology*, 1996; 87: 535–543
- Aliprantis A.O., Yang R.B., Mark M.R., Suggett S., Devaux B., Radolf J.D., Klimpel G.R., Godowski P., Zychlinsky A.: Cell activation and apoptosis by bacterial lipoproteins through toll-like receptor-2. *Science*, 1999; 285: 736–739
- Arock M., Ross E., Lai-Kuen R., Averlant G., Gao Z., Abraham S.N.: Phagocytic and tumor necrosis factor alpha response of human mast cells following exposure to gram-negative and gram-positive bacteria. *Infect. Immun.*, 1998; 66: 6030–6034
- Banovac K., Ghandur-Mnaimneh L., Leone J., Neylan D., Rabinovitch A.: Intrathyroidal mast cells express major histocompatibility complex class-II antigens. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 1989; 90: 43–46
- Banovac K., Neylan D., Leone J., Ghandur-Mnaimneh L., Rabinovitch A.: Are the mast cells antigen presenting cells? *Immunol. Invest.*, 1989; 18: 901–906
- Baorto D.M., Gao Z., Malaviya R., Dustin M.L., van der Merwe A., Lublin D.M., Abraham S.N.: Survival of FimH-expressing enterobacteria in macrophages relies on glycolipid traffic. *Nature*, 1997; 389: 636–639
- Benhamou M., Bonnerot C., Fridman W.H., Daeron M.: Molecular heterogeneity of murine mast cells Fcγ receptors. *J. Immunol.*, 1990; 144: 3071–3077
- Brzezińska-Błaszczyk E., Czuwaj M., Wyczółkowska J.: Histamine release from human adenoidal and mesenteric mast cells induced by bacterial antigens. *Agents Actions*, 1988; 23: 230–232
- Brzezińska-Błaszczyk E., Gaik A., Czuwaj M., Kuna P.: Histamine release from human pulmonary mast cells induced by bacterial antigens. *Allergol. Immunopathol.*, 1988; 16: 375–378
- Calderon G.M., Torres-Lopez J., Lin T.-J., Chavez B., Hernandez M., Munoz O., Befus A.D., Enciso J.A.: Effects of toxin A from *Clostridium difficile* on mast cell activation and survival. *Infect. Immun.*, 1998; 66: 2755–2761
- Cheson B.D., Christensen R.L., Sperling R., Kohler B.E., Babior B.M.: The origin of the chemiluminescence of phagocytosing granulocytes. *J. Clin. Invest.*, 1976; 58: 789–796
- Chow J.C., Young D.W., Golenbock D.T., Christ W.J., Gusovsky F.: Toll-like receptor-4 mediates lipopolysaccharide-induced signal transduction. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 10689–10692
- Columbo M., Bochner B.S., Marone G.: Human skin mast cells express functional beta 1 integrins that mediate adhesion to extracellular matrix proteins. *J. Immunol.*, 1995; 154: 6058–6064
- Dastych J., Hardison M.C., Metcalfe D.D.: Aggregation of low affinity IgG receptors induces mast cell adherence to fibronectin: requirement for the common FcγR chain. *J. Immunol.*, 1997; 158: 1803–1809
- Davis S.J., van der Merwe P.A.: The structure and ligand interactions of CD2: implications for T-cell function. *Immunol. Today*, 1996; 17: 177–187
- Doyle S.E., O’Connell R.M., Miranda G.A., Vaidya S.A., Chow E.K., Liu P.T., Suzuki N., Suzuki N., Modlin R.L., Yeh W.-C., Lane T.F., Cheng G.: Toll-like receptors induce a phagocytic gene program through p38. *J. Exp. Med.*, 2004; 199: 81–90
- Dreskin S.C., Abraham S.N.: Production of TNF-α by murine bone marrow derived mast cells activated by the bacterial fimbrial protein, FimH. *Clin. Immunol.*, 1999; 90: 420–424
- Eager K.B., Hackett C.J., Gerhard W.U., Bennink J., Eisenlohr L.C., Yewdell J., Ricciardi R.P.: Murine cell lines stably expressing the influenza virus hemagglutinin gene introduced by a recombinant retrovirus vector are constitutive targets for MHC class I- and class II-restricted T lymphocytes. *J. Immunol.*, 1989; 143: 2328–2335
- Frاندji P., Oskéritzian C., Cacaraci F., Lapeyre J., Peronet R., David B., Guillet J.G., Mécheri S.: Antigen-dependent stimulation by bone marrow-derived mast cells of MHC class II-restricted T cell hybridoma. *J. Immunol.*, 1993; 151: 6318–6328
- Frاندji P., Tkaczyk C., Oskéritzian C., Lapeyre J., Peronet R., David B., Guillet J.G., Mécheri S.: Presentation of soluble antigens by mast cells: upregulation by interleukin-4 and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor and downregulation by interferon-gamma. *Cell. Immunol.*, 1995; 163: 37–46
- Fruhman G.J.: *In vitro* ingestion of zymosan particles by mast cells. *J. Reticuloendothel. Soc.*, 1973; 13: 424–435
- Henderson W.R., Kaliner M.: Immunologic and nonimmunologic generation of superoxide from mast cells and basophils. *J. Clin. Invest.*, 1978; 61: 187–196
- Hoek K.L., Cassell G.H., Duffy L.B., Atkinson T.P.: *Mycoplasma pneumoniae*-induced activation and cytokine production in rodent mast cells. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2002; 109: 470–476
- Ianelli C.J., Edson C.M., Thorley-Lawson D.A.: A ligand for human CD48 on epithelial cells. *J. Immunol.*, 1997; 159: 3910–3920
- Janssens S., Beyaert R.: Role of Toll-like receptors in pathogen recognition. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2003; 16: 637–646
- Johnston R.B. Jr, Lehmeier J.E., Guthrie L.A.: Generation of superoxide anion and chemiluminescence by human monocytes during phagocytosis and on contact with surface-bound immunoglobulin G. *J. Exp. Med.*, 1976; 143: 1551–1556
- Katz H.R., Arm J.P., Benson A.C., Austen K.F.: Maturation-related changes in the expression of FcγRII and FcγRIII on mouse mast cells derived *in vitro* and *in vivo*. *J. Immunol.*, 1990; 145: 3412
- Lien E., Sellati T.J., Yoshimura A., Flo T.H., Rawadi G., Finberg R.W., Carroll J.D., Espevik T., Ingalls R.R., Radolf J.D., Golenbock D.T.: Toll-like receptor 2 functions as a pattern recognition receptor for diverse bacterial products. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 33419–33425
- Lin T.-J., Garduno R., Boudreau R.T.M., Issekutz A.C.: *Pseudomonas aeruginosa* activates human mast cells to induce neutrophil transendothelial migration via mast cell-derived IL-1α and β. *J. Immunol.*, 2002; 169: 4522–4530
- Malaviya R., Gao Z., Thankavel K., van der Merwe P.A., Abraham S.N.: The mast cell tumor necrosis factor α response to FimH-expressing *Escherichia coli* is mediated by the glycosylphosphatidylinositol-anchored molecule CD48. *Immunology*, 1999; 96: 8110–8115
- Malaviya R., Ross E.A., MacGregor J.I., Ikeda T., Little J.R., Jakschik B.A., Abraham S.N.: Mast cell phagocytosis and FimH-expressing enterobacteria. *J. Immunol.*, 1994; 152: 1907–1914
- Malaviya R., Twesten N.J., Ross E.A., Abraham S.N., Pfeifer J.D.: Mast cells process bacterial Ags through a phagocytic route for class I MHC presentation to T cells. *J. Immunol.*, 1996; 156: 1490–1496
- McCurdy J.D., Lin T.J., Marshall J.S.: Toll-like receptor 4-mediated activation of murine mast cells. *J. Leukoc. Biol.*, 2001; 70: 977–984
- Means T.K., Wang S., Lien E., Yoshimura A., Golenbock D.T., Fenton M.J.: Human Toll-like receptors mediate cellular activation by *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Immunol.*, 1999; 163: 3920–3927
- Mekori Y.A., Metcalfe D.D.: Mast cells in innate immunity. *Immunol. Rev.*, 2000; 173: 131–140

- [37] Muñoz S., Hernández-Pando R., Abraham S.N., Enciso J.A.: Mast cell activation by *Mycobacterium tuberculosis*: mediator release and role of CD48. *J. Immunol.*, 2003; 170: 5590–5596
- [38] Okayama Y., Kirshenbaum A.S., Metcalfe D.D.: Expression of a functional high-affinity IgG receptor, FcγRI, on human mast cells: up-regulation by IFN-γ. *J. Immunol.* 2000, 164, 4332–4339.
- [39] Ozinsky A., Underhill D.M., Fontenot J.D., Hajjar A.M., Smith K.D., Wilson C.B., Schroeder L., Aderem A.: The repertoire for pattern recognition of pathogens by the innate immune system is defined by cooperation between Toll-like receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000; 97: 13766–13771
- [40] Padawer J.: Ingestion of colloidal gold by mast cells. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1968; 129: 905–907
- [41] Padawer J.: Poxvirus phagocytosis *in vivo*: electron microscopy of macrophages, mast cells, and leukocytes. *J. Reticuloendothel. Soc.*, 1971; 9: 23–41
- [42] Padawer J.: Uptake of colloidal thorium dioxide by mast cells. *J. Biol. Cell*, 1969; 40: 747–760
- [43] Padawer J., Fruhman G.J.: Phagocytosis of zymosan particles by mast cells. *Experientia*, 1968; 24: 471–472
- [44] Pfeifer J.D., Wick M.J., Roberts R.L., Findlay K., Normark S.J., Harding C.V.: Phagocytic processing of bacterial antigens for class I MHC presentation to T cells. *Nature*, 1993; 361: 359–362
- [45] Rosen H., Klebanoff S.J.: Chemiluminescence and superoxide production by myeloperoxidase-deficient leukocytes. *J. Clin. Invest.*, 1976; 58: 50–60
- [46] Schwandner R., Dziarski R., Wesche H., Rothe M., Kirschning C.J.: Peptidoglycan- and lipoteichoic acid-induced cell activation is mediated by Toll-like receptor 2. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 17406–17409
- [47] Sher A.: Complement-dependent adherence of mast cells to schistosomula. *Nature*, 1976; 263: 334–336
- [48] Sher A., Hein A., Moser G., Caulfield J.P.: Complement receptors promote the phagocytosis of bacteria by rat peritoneal mast cells. *Lab. Invest.*, 1979; 6: 490–499
- [49] Sher A., McIntyre S.L.: Receptors for C3 on rat peritoneal mast cells. *J. Immunol.*, 1977; 119: 722–725
- [50] Shin J.S., Abraham S.N.: Co-option of endocytic function of cellular caveolae by pathogens. *Immunology*, 2001; 102: 2–7
- [51] Shin J.S., Gao Z., Abraham S.N.: Bacteria-host cell interaction mediated by cellular cholesterol/glycolipid-enriched microdomains. *Biosci. Rep.*, 1999; 19: 421–432
- [52] Shin J.S., Gao Z., Abraham S.N.: Involvement of cellular caveolae in bacterial entry into mast cells. *Science*, 2000; 289: 785–788
- [53] Sieling P.A., Modlin R.L.: Activation of Toll-like receptors by microbial lipoproteins. *Scand. J. Infect. Dis.*, 2001; 33: 97–100
- [54] Simons K., Ikonen E.: Functional rafts in cell membranes. *Nature*, 1997; 387: 569–572
- [55] Supajatura V., Ushio H., Nakao A., Akira S., Okumura K., Ra C., Ogawa H.: Differential responses of mast cell Toll-like receptors 2 and 4 in allergy and innate immunity. *J. Clin. Invest.*, 2002; 109: 1351–1359
- [56] Supajatura V., Ushio H., Nakao A., Okumura K., Ra C., Ogawa H.: Protective roles of mast cells against enterobacterial infection are mediated by Toll-like receptor 4. *J. Immunol.*, 2001; 167: 2250–2256
- [57] Suzumura Y., Ohasi M.: Immunoelectron microscopic localization of HLA-DR antigen on mast cells and vessels in normal and tuberculin-reactive skin. *Am. J. Dermatopathol.*, 1991; 13: 568–574
- [58] Takeuchi O., Kawai T., Muhlrath P.F., Morr M., Radolf J.D., Zychlinsky A., Takeda K., Akira S.: Discrimination of bacterial lipoproteins by Toll-like receptor 6. *Int. Immunol.*, 2001; 13: 933–940
- [59] Vabulas R.M., Ahmad-Nejad P., da Costa C., Miethke T., Kirschning C.J., Hacker H., Wagner H.: Endocytosed HSP60s use Toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4 to activate the Toll/interleukin-1 receptor signaling pathway in innate immune cells. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 31332–31339
- [60] Valent P., Bettelheim P.: Cell surface structures on human basophils and mast cells: biochemical and functional characterization. *Adv. Immunol.*, 1992; 52: 333–423
- [61] Varadaradjalou S., Féger F., Thieblemont N., Hamouda N.B., Pleau J.-M., Dy M., Arock M.: Toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4 differentially activate human mast cells. *Eur. J. Immunol.*, 2003; 33: 899–906
- [62] Werts C., Tapping R.I., Mathison J.C., Chuang T.H., Kravchenko V., Saint Girons I., Haake D.A., Godowski P.J., Hayashi F., Ozinsky A., Underhill D.M., Kirschning C.J., Wagner H., Aderem A., Tobias P.S., Ulevitch R.J.: Leptospiral lipopolysaccharide activates cells through a TLR2-dependent mechanism. *Nat. Immunol.*, 2001; 2: 346–352
- [63] Wong G.H., Clark-Lewis I., McKimm-Breschkin J.L., Schrader J.W.: Interferon-gamma-like molecule induces Ia antigens on cultured mast cell progenitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1982; 79: 6989–6993

