

Received: 2006.11.29
Accepted: 2007.01.12
Published: 2007.01.22

Odpowiedź układu immunologicznego na aloprzeszczep nerki. Część II. Udział cząsteczek kostymulujących i pomocniczych w aktywacji limfocytu T; faza efektorowa odpowiedzi

The immune response to kidney allograft. Part II: The role of costimulatory and accessory molecules in T-cell activation; The effector phase of response

Mariusz Kusztal, Dominika Jezior, Wacław Weyde, Magdalena Krajewska, Marian Klinger

Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej Akademii Medycznej we Wrocławiu

Streszczenie

Przeszczepienie narządu wywołuje reakcję zwaną odrzucaniem. Jest to odpowiedź immunologiczna na aloantygeny wynikająca z różnic genetycznych występujących między dawcą a biorcą przeszczepu. W odpowiedzi tej można wyróżnić trzy etapy: rozpoznanie aloantygeny, aktywację limfocytów T i fazę efektorową – odrzucanie przeszczepu.

Pełna aktywacja limfocyta T jest możliwa dopiero po dostarczeniu do jądra komórkowego dwóch sygnałów: pierwszego z receptora antygenowego komórek T (TCR) i drugiego, sygnału kostymulującego, z cząsteczek pomocniczych. Cząsteczki pomocnicze odgrywają dwie ważne role. Pierwszym ich zadaniem jest utrzymywanie kontaktu między limfocytym T a komórką prezentującą antygen (ICAM-1/LFA-1). Drugim zadaniem jest udział w aktywacji limfocyta w następie pobudzenia TCR. Drugi, najważniejszy sygnał o charakterze kostymulującym, który wiezie do klonalnej proliferacji i różnicowania limfocytów T, jest dostarczany przez cząsteczki z rodziny B7/CD28.

W fazie efektorowej procesu odrzucania obce komórki przeszczepionej nerki są niszczone w przebiegu trzech mechanizmów:

- komórkowej cytotoxyczności limfocytów T,
- nadwrażliwości typu późnego, gdzie efektorami są makrofagi oraz
- cytotoxyczności zależnej od przeciwciał.

Słowa kluczowe:

aloprzeszczep nerki • odrzucanie • limfocyt T • cząsteczki pomocnicze • kostymulacja • faza efektorowa

Summary

Kidney transplantation causes an immune response to non-self antigens called allograft rejection. The response to a kidney allograft can be divided into three phases: recognition of the allo-antigen, activation of antigen-specific lymphocytes, and the effector phase of graft rejection.

Full T-cell activation requires two distinct signals: one through the TCR and a second costimulatory signal through accessory molecules. These accessory molecules play two important roles. The first is to maintain contact between the T cells and APCs, thus providing time for the TCR to sample the antigen on the APC (ICAM-1/LFA-1). The second role is to cooperate with TCR-initiated signals in T-cell activation. The most important second costimulatory signals influencing T-cell clonal expansion and differentiation are provided by the B7/CD28 family of molecules.

In the effector phase of graft rejection, foreign cells are damaged by means of three possible mechanisms: 1) T-cell cytotoxicity, 2) delayed-type hypersensitivity, and 3) antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity.

Key words: kidney allograft • rejection • T cell • accessory molecules • costimulation • effector phase of response

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_61/10053.pdf

Word count: 2490

Tables: –

Figures: 1

References: 66

Adres autora: dr n. med. Mariusz Kusztal, ul. Traugutta 57/59, 50-417 Wrocław; e-mail: mariok@tlen.pl

Jak wspomniano wcześniej (w części I), po połączeniu się receptora antygenowego komórek T (TCR) z cząsteczką MHC (sygnał I), do pełnej aktywacji limfocyta dziewiczego niezbędne jest dostarczenie drugiego sygnału. Przekazanie drugiego sygnału do jądra komórki limfocyta T następuje po związaniu cząsteczek pomocniczych i kostymulujących.

Poniżej przedstawiono dokładniejszą charakterystykę cząsteczek kostymulujących limfocyta T.

RECEPTOR CD28

Cząsteczka CD28 była pierwszym opisanym i najprawdopodobniej najważniejszym receptorem kostymulującym wyzwalającym odpowiedź limfocyta T. Receptor CD28 jest glikoproteiną zbudowaną z homodimeru, która jest konstytutywnie obecna na większości limfocytów T krwi obwodowej (50% limfocytów CD8+ i 95% CD4+).

Połączenie receptora CD28 z ligandem B7 (B7.1 i/lub B7.2) powoduje transdukcję sygnału wymaganego do wytwarzania IL-2 [42]. Wiele dowodów wskazuje, iż odbywa się to w wyniku interakcji z jądrowym czynnikiem transkrypcyjnym NF-kappaB [23]. Wypadkową pobudzenia CD28 jest klonalna ekspansja, która zwiększa liczbę reaktywnych komórek T i ukierunkowuje różnicowanie się komórek efektorowych (typu Th1 lub Th2) [29,50]. Badania *in vitro* wykazały, iż połączenie się CD28 z ligandem B7.1 ma znaczenie w powstaniu odpowiedzi immunologicznej typu Th1, natomiast z B7.2 odgrywa znaczną rolę przy odpowiedzi typu Th2.

Sygnały z receptora CD28 zwiększają także ekspresję czynnika hamującego apoptozę Bcl-xL, przez co chronią limfocyty przed programowaną śmiercią i wydłużają ich przeżycie [6,60].

Pobudzenie CD28 na limfocycie T odgrywa główną rolę w stymulowaniu limfocyta B do wytwarzania przeciwciał, w przełączaniu klasy ich wytwarzania, a także w powstawaniu i utrzymaniu odpowiedzi ze strony limfocytów cytotoksycznych CD8 przeciw zakażeniu i nowotworom [19,65].

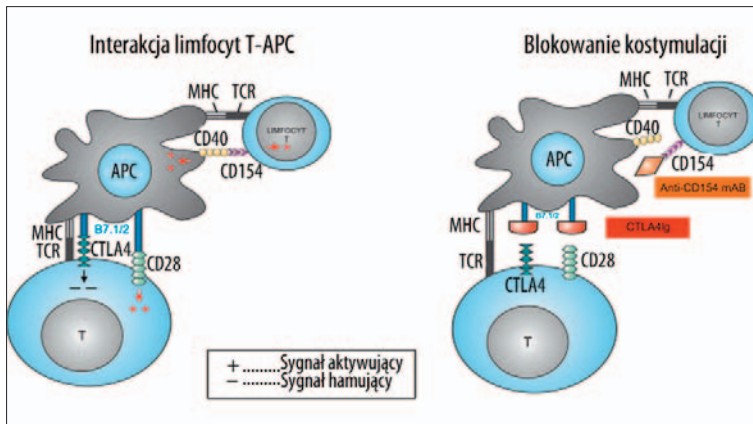
Przerwanie interakcji B7/CD28, przez delecję genu *CD28* [55] lub stosowanie kompetycyjnie działającego białka fusyjnego CTLA-4-Ig (ryc. 1), hamuje wytwarzanie prozapalnych cytokin przez limfocyty T [31,62]. W modelach doświadczalnych blokada ta powodowała rozwój schorzeń z autoimmunizacji (np. cukrzycy, tocznia układowego) [52]. Podobnie w różnych modelach odrzucania, blokowanie drogi B7/CD28 hamowało ostre odrzucanie alop przeszczepu płuca [28] oraz przewlekłe odrzucanie przeszczepu nerki [56]. Aloreaktywne limfocyty T biorców, którym blokowano receptor CD28 wykazywały zmniejszoną proliferację [33], a w szczególności niezdolność do różnicowania w kierunku Th1 [50]. U biorców pozbawionych jedynie glikoproteiny CD28 mogło się rozwinąć przewlekłe odrzucanie na tle miażdżycy i patologii naczyniowej [17]. Sugeruje to udział innych cząsteczek kostymulujących w promowaniu procesu przewlekłego odrzucania zależnego od aloantygenu, przy braku kostymulacji CD28.

CZĄSTECZKA KOSTYMULUJĄCA CTLA-4

Antygen CTLA-4 (CD152) jest cząsteczką immunoglobulinopodobną, wykazującą 30% homologię w stosunku do CD28. Łańcuchy tworzące CTLA-4 składają się ze 186 aminokwasów, z czego 125 reszt aminokwasowych buduje domenę zewnątrzkomórkową, 37 aminokwasów wchodzi w skład części cytoplazmatycznej, a pozostałe tworzą krótki odcinek zakotwiczony w błonie komórkowej [27].

Ligandami CTLA-4, podobnie jak w wypadku receptora CD28, są cząsteczki B7.1 oraz B7.2. O powinowactwie





Ryc. 1. Udział cząsteczek kostymulujących w przekazywaniu sygnału aktywującego w warunkach prawidłowych (po lewej) oraz blokowanie kostymulacji za pomocą przeciwciała anti-CD154 i immunoglobuliny CTLA-4 (po prawej)

do tych samych receptorów B7 świadczy szczególnie wysoki stopień podobieństwa domen zewnątrzkomórkowych CTLA-4 i CD28. Stwierdzono, że CTLA-4 przyłącza ligandy B.7 za pośrednictwem sekwencji MYPPPY z 20–50-krotnie większym powinowactwem niż CD28. Co więcej, powinowactwo CTLA-4 do cząsteczek B.7-1 i B.7-2 nie jest jednakowe, gdyż CTLA-4 wiąże cząsteczkę B.7-1 z większą siłą i wolniej od niej oddysocjowuje [10,38].

Dotąd stwierdzono obecność dwóch postaci cząsteczki CTLA-4:

- 1) zakotwiczona w błonie komórkowej (full-length membrane CTLA-4; fCTLA-4),
- 2) rozpuszczalna w surowicy (soluble CTLA-4; sCTLA4), pozbawiona domeny przezbłonowej; jest ona alternatywnym transkrypcyjnym genem CTLA-4.

W przeciwieństwie do fCTLA-4, wariant rozpuszczalny może konstytutywnie ulegać ekspresji na nieaktywowanych limfocytach T [43]. W sytuacji aktywacji komórek jednojądrzastych we krwi dochodzi do zmniejszenia ilości alternatywnego transkrypcyjnego w stosunku do transkrypcyjnego pełnej długości (fCTLA-4).

Powierzchniowa ekspresja tej cząsteczki jest indukowana i pojawia się dopiero na aktywowanych limfocytach T (z obecnym CD28). Maksymalna ekspresja zachodzi po 48–72 godzinach od aktywacji komórki T (choć mRNA CTLA-4 jest już wykrywalne po 1 godzinie od aktywacji). Ekspresja cząsteczki CTLA-4 nie jest ograniczona jedynie do powierzchni komórki. Wykazano, że w czasie aktywacji limfocytów T duża liczba cząsteczek receptora CTLA-4 jest obecna w pęcherzykach aparatu Golgiego i lizosomach. W kolejnych dobach aktywacji, przenoszone są z tych magazynów do powierzchni błony, aby tam natychmiast ulec szybkiej reinternalizacji. Duże wewnątrzkomórkowe stężenie cząsteczek CTLA-4 gwarantuje gotowość do szybkiego ich transportu na powierzchnię limfocytu T, co przy względnie słabej ekspresji powierzchniowej CTLA-4, umożliwia sprawny przebieg hamowania aktywacji limfocytu T.

Molekuła ta ma zdolność przekazywania do wnętrza limfocytu sygnału hamującego jego aktywację, przez co działa antagonistycznie wobec cząsteczki CD28. W szlaku przekazywania sygnału do dezaktywacji (ograniczenia aktywacji) limfocytu, CTLA-4 oddziałuje na fosfatazę SHP-2/Syp,

z którą jest ściśle związana. Sygnał z CTLA-4 hamuje wytwarzanie IL-2 i proliferację komórek T. W wielu modelach eksperymentalnych wykazano, że sygnał ten jest wymagany w indukcji tolerancji immunologicznej. Cząsteczka CTLA-4 może indukować tolerancję obwodową w odniesieniu do antygenów własnych, gdy są prezentowane w obecności niewielkiej liczby cząsteczek B7 albo antygenów obcych, a także kiedy prezentowane są w bardzo małym stężeniu lub w warunkach słabej kostymulacji zależnej od CD28.

Receptor CTLA-4 utrzymuje odpowiedzi odpornościowe w dynamicznej równowadze poprzez hamowanie zarówno wstępnych, jak i końcowych etapów odpowiedzi limfocytów T na stymulację antygenową [12]. Molekularny mechanizm hamowania proliferacji spoczynkowych limfocytów T przez receptor CTLA-4 polega w istocie na bezpośrednim wpływie na poziom aktywności komórkowych czynników niezbędnych do progresji cyklu komórkowego: cykliny D3 i kinazy cdk4/cdk6 (hamowanie syntezy tych białek), oraz inhibitorowego białka p27 (hamuje degradację) [4].

Aktywacja limfocyty zależna od CTLA-4 ostatecznie jest skutkiem wyparcia antygeny CD28 z połączeń z ligandem B.7 na zasadzie współzawodnictwa, a następnie bezpośredniej ingerencji w szlak sygnałowy limfocyty T. Potwierdzeniem udziału CTLA-4 w końcowym etapie aktywacji było wykazanie jego hamującego wpływu CTLA-4 na sekrecję IL-2 i proliferację stymulowanych limfocytów T [2,7]. Wykazano też, że CTLA-4 może prowadzić do zahamowania aktywacji stymulowanych komórek T poprzez indukcję apoptotycznej śmierci komórek T niezależnie od antygeny Fas [54].

ZNACZENIE CTLA-4 W AUTOIMMUNIZACJI I TRANSPLANTOLOGII

Znaczenie CTLA-4 w ograniczaniu funkcji komórki T można było w dobitny sposób zaobserwować u myszy o fenotypie pozbawionym genu *CTLA-4*. Myszy te ginęły w 3–4 tygodniu życia z powodu masywnych nacieków narządowych przez zaktywowane, autoreaktywne limfocyty T [60]. Przerwanie lub blokowanie interakcji CTLA-4/B7 w modelach doświadczalnych wiodło do wzmacniania odpowiedzi przeciwko pasożytom i nowotworom, a także przyczyniało się do rozwoju chorób autoimmunologicznych, takich jak np. cukrzyca [31].

W transplantologii próby blokowania interakcji CTLA-4/B7 prowadziły do przyspieszonego odrzucania alop przeszczepu serca i szpiku niezależnie od kostymulacji CD28 [21,30]. Z kolei negatywny sygnał dostarczony przez CTLA-4 ma podstawowe znaczenie w indukowaniu tolerancji na przeszczep, ponieważ blokowanie interakcji CTLA-4/B7 jest w stanie skrócić przeżycie alop przeszczepu, pomimo blokowania cząsteczek kostymulujących CD28 i CD40 (wydłużenie przeżycia) [22,25], oraz mimo podania przeciwciała anty-CD45 [1,14].

RECEPTOR CD40L (CD154)

Cząsteczka CD40L (CD154) znajdująca się na limfocyty T jest ligandem CD40 na APC. CD40L jest obecny na spoczynkowych limfocytach T, aż do pobudzenia receptora TCR [16]. Na ekspresję CD154 pewien wpływ ma sygnał z CD28. Związanie z receptorem CD40 na powierzchni APC daje sygnał do „dojrzwania funkcjonalnego” i w efekcie do sekrecji prozapalnych cytokin, takich jak IL-1 β , TNF- α oraz IL-12. Innym następstwem jest nasilenie ekspresji receptorów B7 na powierzchni APC, natomiast w przypadku komórek śródbłonka zwiększonej ekspresji cząsteczek adhezyjnych: ICAM (CD54) i VCAM-1 [66].

Interakcja między CD154/CD40 wydłuża przeżycie limfocytów T oraz ukierunkowuje różnicowanie do komórek Th1 [34]. CD40 odgrywa też istotną rolę w promowaniu wytwarzania przeciwciał przez limfocyty B. Tak więc droga kostymulacji CD40/CD154 wpływa i pośredniczy w czynnościach efektorowych limfocytów T. W zaburzeniu interakcji CD40/CD154 upatruje się czynnik patogenny rozwoju wielu schorzeń np. reumatoidalnego zapalenia stawów, tocznia układowego [16].

W transplantologii, eksperymentalne blokowanie tej drogi wiązało się z hamowaniem ostrej postaci choroby „przeszczep przeciw gospodarzowi” (GvHD) [3], a także z hamowaniem ostrego odrzucania narządów przeszczepionych poprzez indukują anergii klonalnej komórek T [38]. Blokada ta nie zabezpieczała jednak przed odrzucaniem przewlekłym. Z kolei zastosowanie podwójnej blokady CD40/CD154 i CD28/B7 w wielu modelach wiodło do długotrwałego przeżycia przeszczepu, a w niektórych przypadkach indukowało tolerancję swoistą na aloantygenu dawcy [17].

RECEPTOR PD-1

Cząsteczka PD-1 (programmed death-1; PD-1) występuje na zaktywowanych, a nie spoczynkowych limfocytach T i B [61]. Ligandy tej cząsteczki (PD-L1 i PD-L2) prawdopodobnie nie są obecne na APC pozostających w spoczynku, ale ulegają ekspresji w wyniku sygnalizacji podobnej, jak w przypadku indukcji cząsteczek B7 [11]. Połączenie PD-1 z jej ligandem skutkuje hamowaniem odpowiedzi B- i T-komórkowej na zasadzie podobnej do CTLA-4 [8].

Znaczenie PD-1 w kontrolowaniu aktywacji limfocyty wykazano u myszy pozbawionej tej molekuly („knock out”). U tych organizmów dochodziło do rozwoju kłębuszkowego zapalenia nerek, zapalenia stawów, kardiomegalii spowodowanej przez autoprzeciwciała [40,41]. W badaniach *in vivo* związanie PD-1 za pomocą białka fuzyjnego o dzia-

łaniu agonistycznym PD-L1, istotnie wydłużało przeżycie alop przeszczepu serca u całkowicie niezgodnych pod względem antygenów MHC biorców, którzy otrzymywali subterapię dawki cyklosporyny [46].

RECEPTOR ICOS (INDUCIBLE COSTIMULATOR)

Podobnie jak CD28, ICOS nie występuje na spoczynkowych komórkach T, ale ulega ekspresji po aktywacji limfocyty, podobnej do kostymulacji CD28 [20]. Związanie cząsteczki ICOS przez ligand ICOS-L (B7RP-1) daje podobne efekty jak w przypadku CD28/B7, z tą różnicą, że ma mniejszy wpływ na wytwarzanie IL-2, a znacznie większy na wytwarzanie IL-10. ICOS wykazuje preferencyjną ekspresję na komórkach Th2 [63,64]. Cząsteczka ta odgrywa główną rolę w różnicowaniu do Th2, ponieważ limfocyty T pozbawione ICOS nie są zdolne do wytwarzania IL-4 lub IL-13 [13]. Zgodnie z rolą komórek Th2, interakcja ICOS i B7RP-1 ma krytyczne znaczenie w wytwarzaniu przeciwciał, a z udziałem CD40 także w zmianie klasy wytwarzanych przeciwciał [13,36].

W eksperymentalnych badaniach blokowania ICOS/B7RP-1 uzyskiwano lepsze przeżycia przeszczepu serca, a synergistyczne działanie z blokadą CD40/CD40L indukowało długoterminową akceptację przeszczepu [45]. Dane te sugerują, że ICOS jest ważnym mediatorem przewlekłego odrzucania.

RECEPTOR OX40

Sama ekspresja OX40 na komórkach T CD4 jest indukowana związaniem ligandu przez TCR, a poziom ekspresji zwiększa się po kostymulacji drogą CD28 [15]. Sygnalizacja przez OX40 nie wpływa znacząco na wydzielanie IL-2 i aktywację komórek, ale raczej przyczynia się do przeżycia komórek T dzięki indukowaniu genów hamujących apoptozę *bcl-x* i *bcl-2* [49,58]. Interakcja OX40 z jej ligandem OX40L jest wymagana do zapoczątkowania odpowiedzi T-komórkowej – reakcji nadwrażliwości typu późnego [24].

OX40 jest receptorem prozapalnym i może się przyczyniać do patogeny schorzeń z autoimmunizacji [39]. Istotną rolę odgrywa też w efektorowej fazie odpowiedzi immunologicznej na aloantygenu, gdyż blokowanie OX40/OX40L ogranicza cytotoxycytność zależną od aloreaktywnych przeciwciał.

W badaniach eksperymentalnych blokada interakcji OX40/OX40L nie hamowała ostrego odrzucania, ale działając synergicznie z CTLA-4-Ig hamowała przewlekłe odrzucanie i poprawiała przeżycie przeszczepu serca [59]. Podobnie w modelu alop przeszczepu skóry, blokowanie jedynie drogi CD28 albo samej kostymulacji OX40 nie wpływało na przewlekłe odrzucanie, ale już blokada kombinowana CD28 i OX40 skutkowało 30% poprawą w odległym przeżyciu przeszczepu [51].

PODZIAŁ I KLONALNA EKSPANSJA

Połączenie się IL-2 z łańcuchem alfa komplementarnego receptora (IL-2R) na powierzchni limfocyty indukuje przejście komórki w fazę G1.



IL-2 wpływając na proliferację i aktywację komórek NK i makrofagów, a także limfocytów B modeluje odpowiedź immunologiczną. Jest to najważniejsza cytokina inicjująca proces odrzucania. Zastosowanie przeciwciała monoklonalnego przeciwko IL-2R (basiliximab lub daclizumab) umożliwia hamowanie podziału wzbudzonego limfocyta. Jednakże pełne zahamowanie pobudzenia limfocyta przez blokowanie receptora IL-2 nie jest możliwe, ponieważ pozostałe dwa łańcuchy receptora beta i gamma mogą być stymulowane przez inne interleukiny (np. IL-15, IL-4, IL-7, IL-9). Naturalnym czynnikiem hamującym ekspresję receptorów IL-2 jest TGF- β 1.

Przejsie do fazy S cyklu komórkowego to kolejny etap aktywacji limfocyta, w czasie którego podwaja się ilości DNA i rozpoczyna się podział mitotyczny. Dochodzi do różnicowania i klonalnej ekspansji limfocytów.

Zahamowanie procesu klonalnej ekspansji pobudzonego już limfocyta można osiągnąć stosując leki antyproliferacyjne. Azatiopryna i mykofenolan mofetylu hamują syntezę zasad purynowych. Inne leki antyproliferacyjne, takie jak leflunomid i brequinar, hamują syntezę zasad pirymidynowych.

FAZA EFEKTOROWA

Faza efektorowa jest ostatnim etapem procesu odrzucania. Limfocyty T pomocnicze, cytotoksyczne, makrofagi, eozynofile i przeciwciała (tzw. komórki efektorowe procesu odrzucania) niszczą komórki przeszczepionej nerki w przebiegu trzech mechanizmów:

- komórkowej cytotoksyczności limfocytów T,
- nadwrażliwości typu późnego (DTH), wtedy efektorami są makrofagi oraz
- cytotoksyczności zależnej od przeciwciał (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity; ADCC).

Po rozpoznaniu cząsteczek MHC klasy II przez limfocyty CD4, zaczynają one odgrywać zasadniczą rolę w regulacji różnych ramion odpowiedzi efektorowej. Początkowa odpowiedź zapalna na uraz związany z transplantacją, zwana czasami odpornością wrodzoną, jest niezależna od antygeny. Biorą w niej udział neutrofile i komórki pochodzenia monocytarnego, włączając makrofagi i komórki dendrytyczne. Antygenowo swoista aktywacja komórek T CD4 prowadzi do ekspresji cząsteczek powierzchniowych oraz wytwarzania cytokin, które z kolei powodują dalszą aktywację monocytów. To współdziałanie między komórkami T a monocytami, oprócz nadwrażliwości typu późnego, odgrywa ważną rolę w niszczeniu przeszczepionego narządu.

Aktywacja komórek T CD4 i wytwarzanie cytokin stymulują również aktywację i proliferację cytotoxicznych komórek T CD8 oraz komórek NK. Po rozpoznaniu cząsteczek MHC klasy I na komórkach alop przeszczepu, limfocyty T CD8 powodują śmierć komórki za pośrednictwem dwóch głównych mechanizmów. Pierwszym mechanizmem jest uwalnianie rozpuszczalnych czynników cytotoksycznych, takich jak granzymy i perforyna. Drugim mechanizmem jest aktywacja ligandu Fas na komórkach T, który wiąże się z Fas (CD95) na komórkach docelowych [26]. Pobudzenie Fas na komórkach przeszczepu skutkuje uruchomieniem programowanej śmierci komórki (apoptozy).

Wytwarzanie cytokin przez komórki T CD4 stymuluje również limfocyty B. Po związaniu swoistego antygeny przez receptor limfocyta B, czyli immunoglobulinę powierzchniową (BCR), komórki B proliferują i różnicują się w komórki plazmatyczne. Komórki plazmatyczne wydzielają rozpuszczalne immunoglobuliny, czyli przeciwciała, które mogą się wiązać z komórkami alogenicznymi. Przeciwciała mogą powodować zniszczenie komórki przez aktywację dopełniacza lub pośredniczenie w cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (ADCC).

W reakcji nadwrażliwości typu późnego (DTH) dochodzi do obrzęku alograftu, będącego skutkiem zwiększonej przepuszczalności naczyń krwionośnych (wpływ m.in. TNF- α) oraz obecności nacieku zapalnego bogatego w limfocyty T, makrofagi i granulocyty obojętnochłonne. W rozwoju DTH istotną rolę odgrywają zaktywowane limfocyty Th1 wydzielające duże ilości dwóch cytokin: TNF- α i IFN- α . Zarówno TNF- α (wydzielany głównie przez makrofagi) jak i IFN- α (źródłem są m.in. aktywowane limfocyty T i limfocyty NK), powodują wzrost ekspresji indukowalnej syntazy tlenu azotu (iNOS). Tworzący się w dużych stężeniach NO jest odpowiedzialny za powstanie obrzęku tkanki przeszczepu. Z kolei TNF- α bądź β , łącząc się ze swoimi receptorami, indukuje apoptozę komórki docelowej lub martwicę poprzez mechanizm wzbudzenia kaspazy (podobny mechanizm jak w układzie Fas/FasL lub perforyna/granzym). Zaktywowane granulocyty obojętnochłonne z mieloperoksydazą, uwalniają toksyczne metabolity (m.in. H₂O₂).

CZYNNIKI WPŁYWAJĄCE NA WYSTĄPIENIE REAKCJI ODRZUCANIA ALOPRZESZCZEPU

Reakcje ostrego odrzucania są główną determinantą przeżycia alop przeszczepu nerki. Poprawa wyników przeszczepienia nerek dokonana w ostatnich dwóch dekadach, była możliwa w znacznej mierze dzięki stałemu obniżaniu częstości epizodów ostrego odrzucania po wprowadzeniu nowych leków immunosupresyjnych. Z czynników wpływających na częstość wystąpienia reakcji ostrego odrzucania, która zazwyczaj występuje w 3 pierwszych miesiącach po przeszczepie (90% przypadków), wymienia się najczęściej niezgodności między antygenami HLA – między dawcą a biorcą przeszczepu, stopień uczulenia biorcy (miano przeciwciał cytotoksycznych PRA) i kolejny przeszczep nerki [5,47,44]. Przeprowadzone w ostatnich latach analizy wieloczynnikowe wykazały także udział innych czynników w wyzwalaniu reakcji odrzucania: młodszy wiek biorcy (<60 r.ż.) [18], powolne bądź opóźnione podejmowanie funkcji przeszczepionej nerki [48], zakażenie CMV [37].

Wprowadzenie do protokołów immunosupresyjnych nowych leków, takich jak pochodne mykofenolanu mofetylu i takrolimus spowodowało redukcję częstości ostrego odrzucania [35,63,57], co nie pozostaje bez wpływu na odległą funkcję alop przeszczepu. Mimo to pozostaje problem późnej utraty przeszczepu z powodu procesu przewlekłego odrzucania, nawrotu choroby podstawowej w przeszczepionej nerce, a także z powodu śmierci biorcy (ciężkie postacie zakażeń, nowotwory, schorzenia układu krążenia).

Poza wymienionymi wyżej czynnikami zwiększającymi prawdopodobieństwo pogorszenia czynności alopze-

szczepu nerki istnieją także pewne indywidualne uwarunkowania genetyczne, które mogą predysponować do wystąpienia procesu ostrego odrzucania [9]. Geny kandydujące do miana czynników ryzyka procesu odrzucania rekrutują się zarówno z genów cytokin i czynników wzro-

stu (wpływ na inicjację i podtrzymanie procesu odrzucania), jak również z genów kodujących cząsteczki (ligandy i receptory) biorące udział w aktywacji/hamowaniu limfocytów i wzbudzeniu zjawiska tolerancji wobec przeszczepionego narządu.

PIŚMIENICTWO

- [1] Ariyan C., Salvalaggio P., Fecteau S., Deng S., Rogozinski L., Mandelbrot D., Sharpe A., Sayegh M.H., Basadonna G.P., Rothstein D.M.: Cutting edge: transplantation tolerance through enhanced CTLA-4 expression. *J. Immunol.*, 2003; 171: 5673–5677
- [2] Baroja M.L., Luxenberg D., Chau T., Ling V., Strathdee C.A., Carreno B.M., Madrenas J.: The inhibitory function of CTLA-4 does not require its tyrosine phosphorylation. *J. Immunol.*, 2000; 164: 49–55
- [3] Blazar B.R., Taylor P.A., Panoskatsis-Mortari A., Buhlman J., Xu J., Flavell R.A., Korngold R., Noelle R., Vallera D.A.: Blockade of CD40 ligand-CD40 interaction impairs CD4+ T cell-mediated alloreactivity by inhibiting mature donor T cell expansion and function after bone marrow transplantation. *J. Immunol.*, 1997; 158: 29–39
- [4] Brunner M.C., Chambers C.A., Chan F.K., Hanke J., Winoto A., Allison J.P.: CTLA-4-Mediated inhibition of early events of T cell proliferation. *J. Immunol.*, 1999; 162: 5813–5820
- [5] Bryan C.F., Harrell K.M., Mitchell S.I., Warady B.A., Aeder M.I., Luger A.M., Murillo D., Muruve N.A., Nelson P.W., Shield C.F.: HLA points assigned in cadaveric kidney allocation should be revisited: an analysis of HLA class II molecularly typed patients and donors. *Am. J. Transplant.* 2003; 3: 459–464
- [6] Burr J.S., Savage N.D., Messah G.E., Kimzey S.L., Shaw A.S., Arch R.H., Green J.M.: Cutting edge: distinct motifs within CD28 regulate T cell proliferation and induction of Bcl-XL. *J. Immunol.*, 2001; 166: 5331–5335
- [7] Carreno B.M., Bennett F., Chau T.A., Ling V., Luxenberg D., Jussif J., Baroja M.L., Madrenas J.: CTLA-4 (CD152) can inhibit T cell activation by two different mechanisms depending on its level of cell surface expression. *J. Immunol.*, 2000; 165: 1352–1356
- [8] Carter L., Fouser L.A., Jussif J., Fitz L., Deng B., Wood C.R., Collins M., Honjo T., Freeman G.J., Carreno B.M.: PD-1/PD-L inhibitory pathway affects both CD4(+) and CD8(+) T cells and is overcome by IL-2. *Eur. J. Immunol.*, 2002; 32: 634–643
- [9] Charron D.: Immunogenetics today: HLA, MHC and much more. *Curr. Opin. Immunol.*, 2005; 17: 493–497
- [10] Collins A.V., Brodie D.W., Gilbert R.J., Iaboni A., Manso-Sancho R., Walse B., Stuart D.I., van der Merwe P.A., Davis S.J.: The interaction properties of costimulatory molecules revisited. *Immunity*, 2002; 17: 201–210
- [11] Coyle A.J., Gutierrez-Ramos J.C.: The expanding B7 superfamily: increasing complexity in costimulatory signals regulating T cell function. *Nat. Immunol.* 2001; 2: 203–209
- [12] Coyle A.J., Lehar S., Lloyd C., Tian J., Delaney T., Manning S., Nguyen T., Burwell T., Schneider H., Gonzalo J.A., Gosselin M., Owen L.R., Rudd C.E., Gutierrez-Ramos J.C.: The CD28-related molecule ICOS is required for effective T cell-dependent immune responses. *Immunity*, 2000; 13: 95–105
- [13] Dong C., Juedes A.E., Temann U.A., Shresta S., Allison J.P., Ruddle N.H., Flavell R.A.: ICOS co-stimulatory receptor is essential for T cell activation and function. *Nature*, 2001; 409: 97–101
- [14] Fecteau S., Basadonna G.P., Freitas A., Ariyan C., Sayegh M.H., Rothstein D.M.: CTLA-4 up-regulation plays a role in tolerance mediated by CD45. *Nat. Immunol.*, 2001; 2: 58–63
- [15] Godfrey W.R., Fagnoni F.F., Harara M.A., Buck D., Engleman E.G.: Identification of a human OX-40 ligand, a costimulator of CD4+ T cells with homology to tumor necrosis factor. *J. Exp. Med.*, 1994; 180: 757–762
- [16] Grewal I.S., Flavell R.A.: CD40 and CD154 in cell-mediated immunity. *Annu. Rev. Immunol.*, 1998; 16: 111–135
- [17] Hancock W.W., Sayegh M.H., Zheng X.G., Peach R., Linsley P.S., Turka L.A.: Costimulatory function and expression of CD40 ligand, CD80, and CD86 in vascularized murine cardiac allograft rejection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 13967–13972
- [18] Humar A., Ramcharan T., Kandaswamy R., Gillingham K., Payne W.D., Matas A.J.: Risk factors for slow graft function after kidney transplants: a multivariate analysis. *Clin. Transplant.*, 2002; 16: 425–429
- [19] Hurwitz A.A., Kwon E.D., van Elsland A.: Costimulatory wars: the tumor menace. *Curr. Opin. Immunol.*, 2000; 12: 589–596
- [20] Hutloff A., Dittrich A.M., Beier K.C., Eljaschewitsch B., Kraft R., Anagnostopoulos I., Kroczek R.A.: ICOS is an inducible T-cell costimulator structurally and functionally related to CD28. *Nature*, 1999; 397: 263–266
- [21] Hwang K.W., Sweatt W.B., Brown I.E., Blank C., Gajewski T.F., Bluestone J.A., Alegre M.L.: Cutting edge: targeted ligation of CTLA-4 *in vivo* by membrane-bound anti-CTLA-4 antibody prevents rejection of allogeneic cells. *J. Immunol.*, 2002; 169: 633–637
- [22] Judge T.A., Wu Z., Zheng X.G., Sharpe A.H., Sayegh M.H., Turka L.A.: The role of CD80, CD86, and CTLA4 in alloimmune responses and the induction of long-term allograft survival. *J. Immunol.*, 1999; 162: 1947–1951
- [23] Kane L.P., Lin J., Weiss A.: It's all Rel-ative: NF-kappaB and CD28 costimulation of T-cell activation. *Trends Immunol.*, 2002; 23: 413–420
- [24] Kato H., Kojima H., Ishii N., Hase H., Imai Y., Fujibayashi T., Sugamura K., Kobata T.: Essential role of OX40L on B cells in persistent alloantibody production following repeated alloimmunizations. *J. Clin. Immunol.*, 2004; 24: 237–248
- [25] Kawai T., Sogawa H., Boskovic S., Abrahamian G., Smith R.N., Wee S.L., Andrews D., Nadazdin O., Koyama I., Sykes M., Winn H.J., Colvin R.B., Sachs D.H., Cosimi A.B.: CD154 blockade for induction of mixed chimerism and prolonged renal allograft survival in nonhuman primates. *Am. J. Transplant.*, 2004; 4: 1391–1398
- [26] Kerstan A., Hunig T.: Cutting edge: distinct TCR- and CD28-derived signals regulate CD95L, Bcl-xL, and the survival of primary T cells. *J. Immunol.*, 2004; 172: 1341–1345
- [27] Kosmaczewska A., Ciszak L., Bocko D., Frydecka I.: Expression and functional significance of CTLA-4, a negative regulator of T cell activation. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 2001; 49: 39–46
- [28] Laskowski I.A., Pratschke J., Wilhelm M.J., Dong V.M., Beato F., Taal M., Gasser M., Hancock W.W., Sayegh M.H., Tilney N.L.: Anti-CD28 monoclonal antibody therapy prevents chronic rejection of renal allografts in rats. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2002; 13: 519–527
- [29] Lenschow D.J., Herold K.C., Rhee L., Patel B., Koons A., Qin H.Y., Fuchs E., Singh B., Thompson C.B., Bluestone J.A.: CD28/B7 regulation of Th1 and Th2 subsets in the development of autoimmune diabetes. *Immunity*, 1996; 5: 285–293
- [30] Lin H., Rathmell J.C., Gray G.S., Thompson C.B., Leiden J.M., Alegre M.L.: Cytotoxic T lymphocyte antigen 4 (CTLA4) blockade accelerates the acute rejection of cardiac allografts in CD28-deficient mice: CTLA4 can function independently of CD28. *J. Exp. Med.*, 1998; 188: 199–204
- [31] Linsley P.S., Bradshaw J., Greene J., Peach R., Bennett K.L., Mittler R.S.: Intracellular trafficking of CTLA-4 and focal localization towards sites of TCR engagement. *Immunity*, 1996; 4: 535–543
- [32] Linsley P.S., Wallace P.M., Johnson J., Gibson M.G., Greene J.L., Ledbetter J.A., Singh C., Tepper M.A.: Immunosuppression *in vivo* by a soluble form of the CTLA-4 T cell activation molecule. *Science*, 1992; 257: 792–795
- [33] Lucas P.J., Negishi I., Nakayama K., Fields L.E., Loh D.Y.: Naive CD28-deficient T cells can initiate but not sustain an *in vitro* antigen-specific immune response. *J. Immunol.*, 1995; 154: 5757–5768
- [34] Maxwell J.R., Weinberg A., Prell R.A., Vella A.T.: Danger and OX40 receptor signaling synergize to enhance memory T cell survival by inhibiting peripheral deletion. *J. Immunol.*, 2000; 164: 107–112
- [35] Mayer A.D., Dmitrewski J., Squifflet J.P., Besse T., Grabensee B., Klein B., Eigler F.W., Heemann U., Pichlmayr R., Behrend M., Vanrenterghem Y., Donck J., van Hooff J., Christiaens M., Morales J.M., Andres A., Johnson R.W., Short C., Buchholz B., Rehmer N., Land W., Schleibner S., Forsythe J.L., Talbot D., Pohanka E., et al.: Multicenter randomized trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporine in the prevention of renal allograft rejection: a report of the European Tacrolimus Multicenter Renal Study Group. *Transplantation*, 1997; 64: 436–443



- [36] McAdam A.J., Greenwald R.J., Levin M.A., Chernova T., Malenkovich N., Ling V., Freeman G.J., Sharpe A.H.: ICOS is critical for CD40-mediated antibody class switching. *Nature*, 2001; 409: 102–105
- [37] McLaughlin K., Wu C., Fick G., Muirhead N., Hollomby D., Jevnikar A.: Cytomegalovirus seromismatching increases the risk of acute renal allograft rejection. *Transplantation*, 2002; 74: 813–816
- [38] Morton P.A., Fu X.T., Stewart J.A., Giacometto K.S., White S.L., Leysath C.E., Evans R.J., Shieh J.J., Karr R.W.: Differential effects of CTLA-4 substitutions on the binding of human CD80 (B7-1) and CD86 (B7-2). *J. Immunol.*, 1996; 156: 1047–1054
- [39] Murata K., Nose M., Ndhlovu L.C., Sato T., Sugamura K., Ishii N.: Constitutive OX40/OX40 ligand interaction induces autoimmune-like diseases. *J. Immunol.*, 2002; 169: 4628–4636
- [40] Nishimura H., Nose M., Hiai H., Minato N., Honjo T.: Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor. *Immunity*, 1999; 11: 141–151
- [41] Nishimura H., Okazaki T., Tanaka Y., Nakatani K., Hara M., Matsumori A., Sasayama S., Mizoguchi A., Hiai H., Minato N., Honjo T.: Autoimmune dilated cardiomyopathy in PD-1 receptor-deficient mice. *Science*, 2001; 291: 319–322
- [42] Norton S.D., Zuckerman L., Urdahl K.B., Shefner R., Miller J., Jenkins M.K.: The CD28 ligand, B7, enhances IL-2 production by providing a costimulatory signal to T cells. *J. Immunol.*, 1992; 149: 1556–1561
- [43] Oaks M.K., Hallett K.M., Penwell R.T., Stauber E.C., Warren S.J., Tector A.J.: A native soluble form of CTLA-4. *Cell Immunol.*, 2000; 201: 144–153
- [44] Opelz G.: Five-year results of renal transplantation in highly sensitized recipients. Collaborative Transplant Study. *Transplant Int.*, 1996; 9(Suppl.1): S16–S19
- [45] Ozkaynak E., Gao W., Shemmeri N., Wang C., Gutierrez-Ramos J.C., Amaral J., Qin S., Rottman J.B., Coyle A.J., Hancock W.W.: Importance of ICOS-B7RP-1 costimulation in acute and chronic allograft rejection. *Nat. Immunol.*, 2001; 2: 591–596
- [46] Ozkaynak E., Wang L., Goodearl A., McDonald K., Qin S., O'Keefe T., Duong T., Smith T., Gutierrez-Ramos J.C., Rottman J.B., Coyle A.J., Hancock W.W.: Programmed death-1 targeting can promote allograft survival. *J. Immunol.*, 2002; 169: 6546–6553
- [47] Pallardo L.M., Calabuig S.A., Plaza C.L., Esteve F.A.: Acute rejection and late renal transplant failure: risk factors and prognosis. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2004; 19(Suppl.3): iii38–42
- [48] Qureshi F., Rabb H., Kasiske B.L.: Silent acute rejection during prolonged delayed graft function reduces kidney allograft survival. *Transplantation*, 2002; 74: 1400–1404
- [49] 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
- [50] Rulifson I.C., Sperling A.I., Fields P.E., Fitch F.W., Bluestone J.A.: CD28 costimulation promotes the production of Th2 cytokines. *J. Immunol.*, 1997; 158: 658–665
- [51] Salama A.D., Yuan X., Nayer A., Chandraker A., Inobe M., Uede T., Sayegh M.H.: Interaction between ICOS-B7RP1 and B7-CD28 costimulatory pathways in alloimmune responses *in vivo*. *Am. J. Transplant.*, 2003; 3: 390–395
- [52] Salomon B., Bluestone J.A.: Complexities of CD28/B7: CTLA-4 costimulatory pathways in autoimmunity and transplantation. *Annu. Rev. Immunol.*, 2001; 19: 225–252
- [53] Sayegh M.H., Turka L.A.: The role of T-cell costimulatory activation pathways in transplant rejection. *N. Engl. J. Med.*, 1998; 338: 1813–1821
- [54] Scheipers P., Reiser H.: Fas-independent death of activated CD4(+) T lymphocytes induced by CTLA-4 crosslinking. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1998; 95: 10083–10088
- [55] Shahinian A., Pfeffer K., Lee K.P., Kundig T.M., Kishihara K., Wakeham A., Kawai K., Ohashi P.S., Thompson C.B., Mak T.W.: Differential T cell costimulatory requirements in CD28-deficient mice. *Science*, 1993; 261: 609–612
- [56] Shiraiishi T., Yasunami Y., Takehara M., Uede T., Kawahara K., Shirakusa T.: Prevention of acute lung allograft rejection in rat by CTLA4Ig. *Am. J. Transplant.*, 2002; 2: 223–228
- [57] Sollinger H.W.: Mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in primary cadaveric renal allograft recipients. U.S. Renal Transplant Mycophenolate Mofetil Study Group. *Transplantation*, 1995; 60: 225–232
- [58] Soroosh P., Ine S., Sugamura K., Ishii N.: OX40-OX40 ligand interaction through T cell-T cell contact contributes to CD4 T cell longevity. *J. Immunol.*, 2006; 176: 5975–5987
- [59] Sugamura K., Ishii N., Weinberg A.D.: Therapeutic targeting of the effector T-cell co-stimulatory molecule OX40. *Nat. Rev. Immunol.*, 2004; 4: 420–431
- [60] Tivol E.A., Borriello F., Schweitzer A.N., Lynch W.P., Bluestone J.A., Sharpe A.H.: Loss of CTLA-4 leads to massive lymphoproliferation and fatal multiorgan tissue destruction, revealing a critical negative regulatory role of CTLA-4. *Immunity*, 1995; 3: 541–547
- [61] Vibhakar R., Juan G., Traganos F., Darzynkiewicz Z., Finger L.R.: Activation-induced expression of human programmed death-1 gene in T-lymphocytes. *Exp. Cell. Res.*, 1997; 232: 25–28
- [62] Wallace P.M., Rodgers J.N., Leytze G.M., Johnson J.S., Linsley P.S.: Induction and reversal of long-lived specific unresponsiveness to a T-dependent antigen following CTLA4Ig treatment. *J. Immunol.*, 1995; 154: 5885–5895
- [63] Watanabe M., Watanabe S., Hara Y., Harada Y., Kubo M., Tanabe K., Toma H., Abe R.: ICOS-mediated costimulation on Th2 differentiation is achieved by the enhancement of IL-4 receptor-mediated signaling. *J. Immunol.*, 2005; 174: 1989–1996
- [64] Watanabe S., Ogawa S., Hara Y., Tanabe K., Toma H., Abe R.: Expression level of costimulatory receptor ICOS is critical for determining the polarization of helper T cell function. *Transpl. Immunol.*, 2006; 15: 255–263
- [65] Whitmire J.K., Ahmed R.: Costimulation in antiviral immunity: differential requirements for CD4(+) and CD8(+) T cell responses. *Curr. Opin. Immunol.*, 2000; 12: 448–455
- [66] Yellin M.J., Brett J., Baum D., Matsushima A., Szabolcs M., Stern D., Chess L.: Functional interactions of T cells with endothelial cells: the role of CD40L-CD40 mediated signals. *J. Exp. Med.*, 1995; 182: 1857–1864