

WIESŁAW WIKTOR JĘDRZEJCZAK

Zakład Immunologii CSK WAM

Warszawa

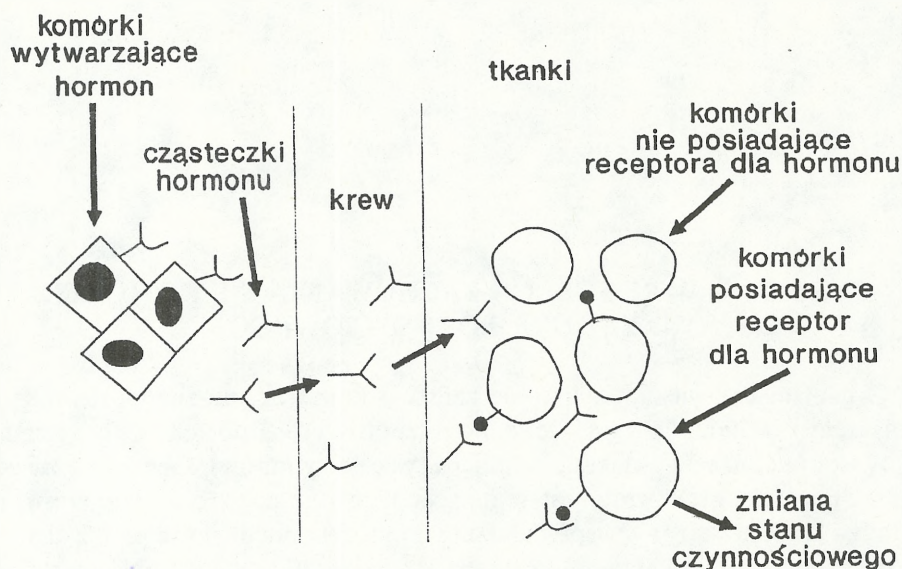
CYTOKINY W REGULACJI ZACHOWANIA SIĘ KOMÓREK UKŁADU ODPORNOŚCIOWEGO

Organizm człowieka, czyli społeczeństwo komórek, można porównać do społeczeństwa ludzi, z tym, że oczywiście liczba jednostek w organizmie człowieka jest znacznie większa (sięgająca tysięcy trylionów). Generalną zasadą funkcjonowania organizmu jest realizacja jego ogólnego celu i interesu, co wymaga z jednej strony współdziałania komórek między sobą, a z drugiej strony podporządkowania interesu poszczególnych komórek interesowi organizmu.

Podstawowym ośrodkiem decydującym organizmu jest mózg, a ściślej układ nerwowy. Układ ten przetwarza informacje i w oparciu o nie wydaje polecenia poszczególnym organom rozsyłając je do nich siecią wypustek komórek, czyli tzw. włóknami nerwowymi. Taki system sterowania oparty o przesyłanie poleceń i informacji siecią włókien do określonych miejsc jest jednak zupełnie nieprzydatny, gdy w grę jako odbiorcy wchodzi komórki przemieszczające się z jednych miejsc do innych.

Jednakże układ nerwowy jest częściowo połączony z jeszcze innym układem sterowania komórkami organizmu tzw. układem dokrewnym. Układ dokrewny wydaje niektóre polecenia pod wpływem dyspozycji z układu nerwowego. Ponadto wiele składowych tego układu działa automatycznie, samoregulując się, opierając się na mechanizmie sprzężenia zwrotnego. Polecenia układu dokrewnego są przekazywane za pośrednictwem substancji zwanych **hormonami**.

Hormony można najprościej określić jako substancje wydzielane przez jedne komórki, a w sposób swoisty modyfikujące zachowanie innych komórek. Klasycznie uważano, że hormony są wydzielane przez wyspecjalizowane komórki określonego narządu (np. komórki beta wysepek trzustki wydzielają hormon insulinę) i rozprowadzane drogą krwi do komórek (narządów) docelowych, które następnie reagują na dany hormon. Później okazało się, że ta zdolność do reagowania jest swoista i ograniczona wyłącznie do komórek, które mają receptor dla danego hormonu, czyli białko, które może przyłączyć dany hormon i tylko dany hormon. Z kolei połączenie hormonu z receptorem rozpoczyna pożądany w danym momencie przez organizm rodzaj reakcji ze strony komórki (rys.1).



Rys. 1. Zasada wywierania wpływu regulującego przez układ dokrewny: hormon działa tylko na komórki mające dla niego receptor

Wykryto również choroby, w których różne hormony bądź były wytwarzane w niedostatecznej ilości (np. insulina w cukrzycy), bądź w nadmiernej ilości.

Taki klasycznie znany układ dokrewny (oprócz trzustki, tworzy go jeszcze przysadka, tarczyca, przytarczyce, nadnercza i inne narządy) cechuje się jeszcze tym, że wydzielane hormony mają dzięki dokrewnemu wydzielaniu zasięg ogólnoustrojowy. Taki zasięg (w odróżnieniu od wydzielania substancji na zewnątrz organizmu) nazwano **endokrynnym**. To nie znaczy, że substancje, które za chwilę zaczęliśmy omawiać, nie są wydzielane do wewnątrz, oznacza tylko, że ze względów historycznych wykorzystanie tej nazwy ogranicza się do hormonów ogólnoustrojowych (rys.2).

Ostatnie lata, a zwłaszcza wyniki dotyczące układu odpornościowego, przyniosły bardzo wiele informacji rozszerzających wiedzę dotyczącą hormonów tkankowych i komórkowych, a więc mających mniejszy zasięg.

Przed wszystkim okazało się, że w układzie odpornościowym jest bardzo wiele hormonopodobnych białek, ale tylko wyjątkowo trafiają one do krwi. Najczęściej są obecne jedynie w bezpośrednim sąsiedztwie komórek wydzielających. Taki zakres oddziaływania określono jako **parakrynnny**.

Następnie okazało się, że niektóre z tych białek o budowie bardzo podobnej do białek wydzielanych nie opuszczają komórki wydzielającej, a są jedynie eksponowane na jej powierzchni. W takiej sytuacji na dane białko regulacyjne inna komórka może zareagować tylko wtedy, gdy swoim receptorem bezpoś-



Rys. 2. Zasięg działania hormonów

rednio zetknie się z komórką wydzielającą. Dla takiej sytuacji nie ma jeszcze powszechnie przyjętej nazwy i ja określam to jako oddziaływanie **perikryne**.

Szczególnie ciekawym rodzajem oddziaływania jest takie, kiedy komórka wydzielająca dane białko regulacyjne sama ma receptor je wiążący, czyli może nań reagować. Jest to oddziaływanie **autokryne**.

Wiele białek regulacyjnych w układzie odpornościowym (ale także w innych układach komórkowych) zostało odkrytych dzięki ich zdolności do pobudzania wzrostu, czyli rozmnażania się komórek. Dlatego często nazywa się wiele z nich **czynnikami wzrostowymi** (ang. growth factors). Tutaj muszę wtrącić, że niemal wszystkie nazwy są nadawane w chwili odkrycia danej cząsteczki w oparciu o jej jedną własność. Potem okazuje się, że ta sama cząsteczka ma szereg innych własności, w tym i takie, które są ważniejsze od tej pierwszej. W skrócie, nazwa nie przesądza o funkcji danej cząsteczki.

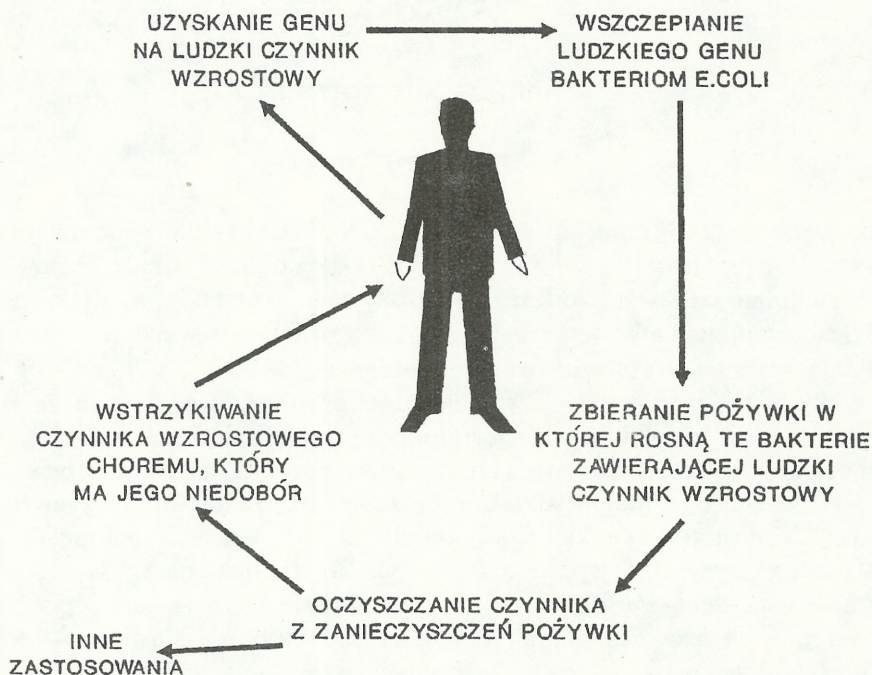
Kiedy indziej białka te zostały odkryte dzięki wzbudzeniu jakiejś czynności w komórkach reagujących. Z tego powodu często nazywa się je **cytokinami**. Nie ma żadnej zasadniczej różnicy między czynnikami wzrostowymi a cytokinami. Na ogół te same cząsteczki w zależności od rodzaju komórki reagującej wzmagają rozmnażanie, albo pobudzają czynności.

Niestety, to nie jest jeszcze koniec złożoności problemu. Otóż cytokiny wydzielane przez monocyty i makrofagi nazywa się **monokinami**, a cytokiny wydzielane przez limfocyty **limfokinami**. Nie ma tu znowu ostrej granicy, gdyż

wiele z białek regulacyjnych jest wytwarzanych zarówno przez makrofagi, limfocyty, a także często przez jeszcze inne komórki. Nawet jeżeli naukowcy używają różnych nazw dla określenia tej samej cząsteczki (a często odkryło je jednocześnie kilka zespołów, różnie nazwało i teraz każdy walczy o „swoją” nazwę) to mają na myśli **chemicznie dokładnie to samo**.

Następnie dla białek regulacyjnych wytwarzanych przez jedne krwinki białe i działających na inne krwinki białe wprowadzono nazwę: **interleukiny**. Gdy wspomnę, że w tej chwili (marzec 92) z całą pewnością znamy już 11 różnych interleukin, szanowny czytelnik złapie się za głowę i zniechęci. Proszę o cierpliwość, spróbuję to jeszcze trochę usystematyzować.

Jest jednak jeszcze jedna grupa nazw, którą muszę wprowadzić. Są to **czynniki pobudzające kolonie** (ang. colony stimulating factors: w skrócie CSF). Te białka zostały odkryte dzięki ich zdolności do pobudzania wytwarzania w szpiku kości różnych rodzajów komórek krwi. Czynniki pobudzające kolonie są zarówno cytokinami, jak i czynnikami wzrostowymi.

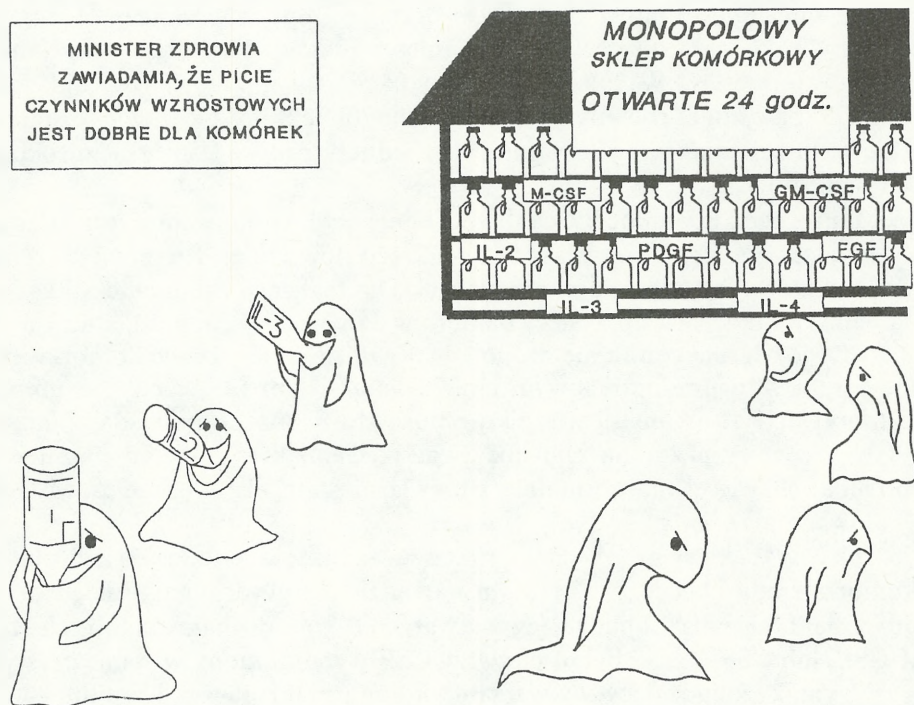


Rys. 3. Obecna metoda uzyskiwania hormonów do badań i zastosowań leczniczych

Najważniejsze jest to, że obecnie, jeżeli mówimy o jakimś czynniku, cytokinie, interleukinie itp., to mamy na myśli chemicznie zdefiniowane białko, którego struktura aminokwasowa jest znana, a także znany jest gen odpowiedzialny za jego wytwarzanie. Inaczej mówiąc mówimy o faktach a nie

o hipotezach. Na ogół taka sama wiedza jest dostępna dla receptora tego białka, a także jest ono dostępne w stanie chemicznie czystym, wytworzone metodami inżynierii genetycznej i często poddawane zupełnie praktycznym próbom wykorzystywania jako leku u ludzi (rys. 3).

Najważniejszym problemem, jaki cytokiny muszą regulować w odniesieniu do komórek jest oczywiście to, czy komórki będą żyć, czy nie. Podobnie, jak starzeje się organizm, starzeją się komórki i niektóre z nich umierają ze starości. Ale największym zagrożeniem dla organizmu nie jest przedwczesna śmierć danej komórki, gdyż można ją wtedy szybko zastąpić inną, ale wprost przeciwnie życie dłuższe niż to jest z punktu widzenia organizmu potrzebne. Ekstremalną postacią takiego dłuższego życia komórek jest choroba nowotworowa, czyli realizacja mitu Fausta na poziomie komórkowym. Aby jej zapobiec, większość komórek ma genetycznie zaprogramowaną śmierć. Zjawisko to nazywa się **apoptozą**.



Rys. 4. Fundamentalne znaczenie uzależnienia komórek od ich czynników wzrostowych.
Wyjaśnienie skrótów w tekście

Organizm za pośrednictwem cytokin może zarówno opóźnić, jak i przyspieszyć apoptozę. Większość czynników wzrostowych, swoistych dla określonego rodzaju komórek, po prostu hamuje ich apoptozę. Komórki są tak

uzależnione od swoich czynników wzrostowych, jak narkoman od narkotyku, z tym że jest to uzależnienie dla nich korzystne (rys.4). Przykładowo limfocyty T bez obecności czynnika zwanego interleukiną 2 umierają. Z kolei w obecności tego czynnika można je w warunkach laboratoryjnych hodować praktycznie w nieskończoność. Każdy rodzaj komórek ma swoisty dla siebie czynnik hamujący apoptozę i ma właściwe receptory dla tego czynnika. Nie jest również tak, że chwilowa ekspozycja na czynnik zabezpiecza komórkę przed koniecznością popełnienia harakiri (czym w istocie jest apoptoza). Komórka, aby żyć, musi stale otrzymywać nowe cząstki „swojego” czynnika.

Są również czynniki, które przyspieszają apoptozę. Ich przykładem jest tzw. czynnik martwicy nowotworów. Został on wykryty dzięki zdolności oddziaływania również na niektóre komórki nowotworowe (te, które nie utraciły właściwego receptora).

Odporność, czyli obrona organizmu przed różnymi jego wrogami wymaga udziału różnych komórek, a także bardzo precyzyjnego zgrania współpracy między nimi. Często mówi się wręcz o orkiestrze odpornościowej. Dobra gra orkiestry wymaga jednocześnie słuchania sygnałów dyrygenta oraz innych członków orkiestry. W zależności od sytuacji i w miarę jej rozwoju różne komórki przejmują rolę dyrygentów. Najogólniej, do głównych członków orkiestry należą makrofagi i granulocyty z jednej strony, a komórki limfoidalne z drugiej strony.

Makrofagi i granulocyty są fagocytami, czyli komórkami usuwającymi obce cząstki niezależnie od ich rodzaju. Z tego powodu często mówi się o nich jako o składowych odporności nieswoistej. Dla realizacji zadania, czyli usuwania ogniska zakażenia, np. tysięcy bakterii w danym miejscu, niezbędne jest aby znalazły się właśnie tam (a nie w ogóle w organizmie) te właśnie komórki i aby one były w stanie czynnościowym umożliwiającym im żarłoczną konsumpcję. Komórki te wytwarzane są w szpiku i musi istnieć sposób powiadamiania ich o tym, że ze względu na chorobę (wniknięcie bakterii w danym miejscu) potrzeba ich więcej niż normalnie i to właśnie tam. Te właśnie zjawiska są regulowane przez cytokiny.

Toksyny bakteryjne obecne w miejscu zakażenia pobudzają fibroblasty (komórki zrębu obecnego w każdym narządzie) do wydzielania białek określonych jako czynnik pobudzający wytwarzanie kolonii makrofagowych (tzw. M-CSF, lub CSF-1 gdyż był to pierwszy CSF wyodrębniony w stanie czystym) oraz czynnik pobudzający wytwarzanie kolonii makrofagów i granulocytów, tzw. GM-CSF.

GM-CSF działa tylko parakrynnie, ale CSF-1 osiąga również krew, a następnie szpik. Powoduje zwiększenie wytwarzania monocytów w szpiku i ich napływanie do tkanek, gdzie przekształcają się one w makrofagi. Tu dodatkowo działa na nie GM-CSF i razem pobudzają one czynności tych komórek, umożliwiając im przeżycie, a nawet w pewnym stopniu rozmnażanie w tkankach. GM-CSF dodatkowo ściąga w miejsce zakażenia granulocyty

i aktywuje je. Pobudzone makrofagi wydzielają dziesiątki różnych czynników, a wśród nich tzw. G-CSF, który dodatkowo pobudza napływanie granulocytów i interleukinę 8, która je aktywuje. Ponadto makrofagi wydzielają czynnik pobudzający rozmnażanie się fibroblastów (co ułatwia zamknięcie rany, jeżeli ona była przyczyną wniknięcia bakterii) oraz interleukinę 1, która pobudza limfocyty, a wreszcie TNF, który przyspiesza śmierć chorych komórek, niezbędną dla zrobienia miejsca zdrowym.

Limfocyty są odpowiedzialne za tzw. odporność swoistą, która polega na usuwaniu obcych białek dzięki ich szczególnej strukturze chemicznej (a ściślej dzięki kształtowi cząsteczki wynikającemu z tej struktury). Limfocyty mogą to „robić” w dwojaki sposób. Po pierwsze mogą wytwarzać białka zwane przeciwciałami, które wybiórczo wiążą się z obcymi białkami: antygenami i w ten sposób je zobojętniają, a następnie ułatwiają usunięcie przez fagocyty. Limfocyty są w stanie wytworzyć odrębne przeciwciała przeciw każdemu białku. Wytwarzaniem przeciwciał, które krążą w płynach ustrojowych (stąd ten rodzaj odporności swoistej nazywa się humoralną od humor: płyn), zajmuje się specjalny rodzaj limfocytów określanych jako limfocyty B. Proces wytwarzania limfocytów B jest regulowany przez interleukiny 3 i 7, a następnie ekspansja odbywa się pod wpływem antygeny. To antygen aktywuje ten i tylko ten rodzaj komórek B, które na niego reagują i powoduje zwiększenie ich liczby oraz przekształcenie w tzw. komórki plazmatyczne. Komórki plazmatyczne są właśnie małymi fabrykami przeciwciał. Ich rozmnażanie jest regulowane przez interleukinę 6. Ma to bardzo praktyczne znaczenie, gdyż w chorobie określanej jako szpiczak mnogi, która jest nowotworem komórek plazmatycznych, dochodzi właśnie do autokrynnego wydzielania interleukiny 6. Komórki nowotworowe rozmnażają się pod wpływem wytwarzanego przez siebie czynnika, napędzając błędne koło, które prowadzi do śmierci chorego, jeśli nie będzie skutecznie leczony.

Drugi rodzaj limfocytów, to tzw. limfocyty T. Limfocyty T są odpowiedzialne za tzw. swoistą odporność komórkową. Ten rodzaj odporności służy do usuwania antygenów związanych z komórkami, a więc np. komórek zarażonych wirusem grypy (i innymi wirusami), komórek nowotworowych. Komórki te są po prostu zabijane przez specjalny rodzaj komórek T, które nazywa się komórkami zabijającymi. Komórki takie są potencjalnie bardzo niebezpieczne, gdyż mogą zabić każdą komórkę organizmu, a tym samym organizm. Aby do tego nie doszło, istnieje bardzo złożony i precyzyjny mechanizm umożliwiający im odróżnienie tego co obce od tego co swoje (czytelnik może się z tym zapoznać w artykule Von Boehmer i Kisielowa „Jak układ immunologiczny rozpoznaje sam siebie” Świat Nauki 1991). Układ ten obejmuje jeszcze jeden zasadniczy rodzaj limfocytów T, tzw. limfocyty T pomagające. Komórki te są odpowiedzialne za to, aby pobudzić do zabijania odpowiedni rodzaj limfocytów T zabijających. Uzyskują one infor-

mację o strukturze antygeny, który w danej chwili zagraża organizmowi, od makrofagów oraz innych komórek zdolnych przedstawiać antygen.

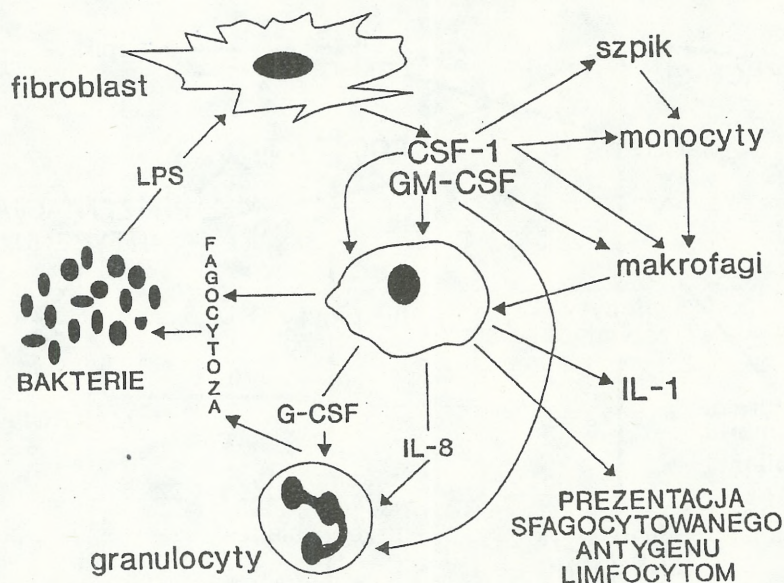
Za przetrwanie i rozmnażanie zarówno komórek T zabijających, jak i pomagających odpowiedzialna jest interleukina 2. Pobudza ona dodatkowo jeszcze jeden rodzaj limfocytów, tzw. naturalne komórki zabijające, które odgrywają istotną rolę w zwalczaniu komórek nowotworowych. Z tego względu interleukina 2 jest obecnie poddawana badaniom klinicznym jako lek przeciwnowotworowy.

Interleukina 2 jest wytwarzana przez pobudzone interleukiną 1 limfocyty T pomocnicze. Jednakże okazało się, że nie wszystkie komórki tego typu są zdolne ją wytwarzać. Te, które posiadają tę własność, nazwano komórkami T pomocniczymi typu pierwszego. Istnieje jeszcze typ drugi, który cechuje się wytwarzaniem interleukiny 4, której z kolei nie wytwarza typ 1. Interleukina 4 pobudza dojrzewanie limfocytów B, stąd więc z bardzo dużym uproszczeniem można mówić, że komórki pomocnicze typu 1 pomagają limfocytom T zabijającym, komórki typu drugiego limfocytom B.

Jednakże podział na limfocyty T pomagające typu 1 i 2 został dokonany bardzo niedawno i wzajemne znaczenie istnienia komórek tego typu nie jest jeszcze poznane. Jeszcze w połowie 1991 roku kwestionowano jego istnienie u człowieka. Dopiero wykazanie, że ludzie cechujący się ciężkim przebiegiem trądu to ci, którzy mają (z powodu wrodzonej predyspozycji) mało komórek typu 1, a dużo typu 2 i odwrotnie ludzie cechujący się łagodnym przebiegiem trądu mają dużo komórek typu pierwszego i mniej typu 2 udowodniło, że komórki te mają krytyczne znaczenie dla regulacji przebiegu odpowiedzi odpornościowej również u człowieka. O ile przewaga komórek T pomocniczych typu 1 jest korzystna w trądzie, o tyle może się okazać, że w zwalczaniu innych chorób korzystniejszą rolę odgrywają komórki pomocnicze typu 2. Poza tym w dniu dzisiejszym dysponujemy możliwościami celowanego wpływu na reakcje indukowane przez zarówno interleukinę 2, jak i 4, gdyż obie te cytokiny są dostępne do badań klinicznych.

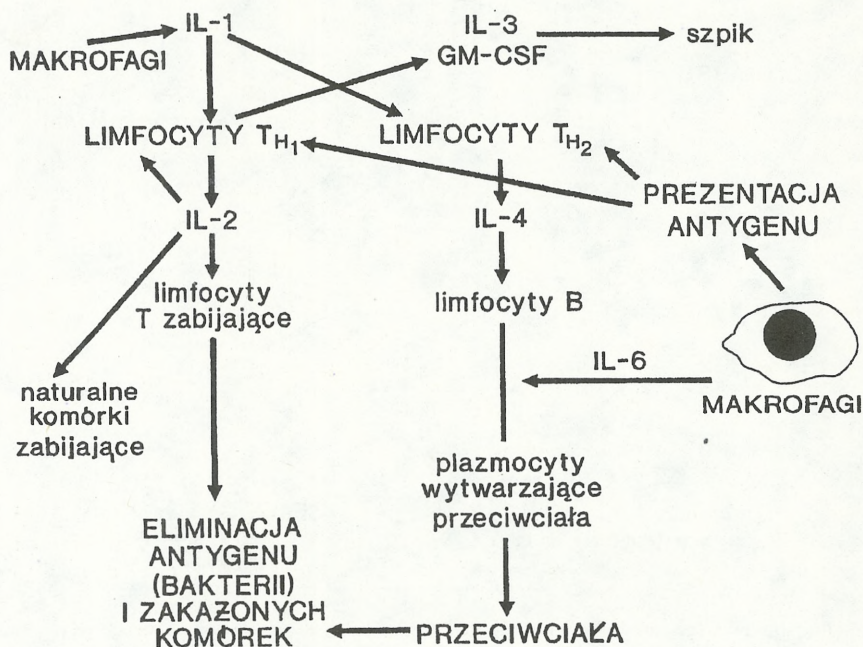
Z punktu widzenia tytułu tego artykułu podział na limfocyty T pomocnicze typu 1 i 2 jest o tyle istotny, że po raz pierwszy kryterium podziału i wyodrębnienia nowego rodzaju komórek w układzie odpornościowym stało się wydzielanie określonej cytokiny.

Odporność nieswoista i swoista są ze sobą bardzo powiązane i uwikłanie makrofagów w początkowo nieswoiste zwalczanie zakażenia uruchamia mechanizmy odporności swoistej. Pobudzone makrofagi wytwarzają interleukinę 1 (IL-1), która z kolei aktywuje obydwa rodzaje pomocniczych limfocytów T. Makrofagi także przedstawiają im antygen, a zwykle kilka różnych antygenów pochodzących ze sfagocytowanych bakterii. Z kolei pomocnicze limfocyty T aktywują antygenowo swoiste klony limfocytów B i limfocytów T zabijających. Dodatkowo wspomagają czynność tych komórek, zwiększają ich liczbę, a także same się pobudzają, wydzielając interleukiny 2 i 4 (IL-2 i IL-4). IL-2



Rys. 5. Podstawowe funkcje cytokin w regulowaniu odporności nieswoistej. Makrofagi, prezentując antygen limfocytom i wydzielając interleukinę 1, uruchamiają reakcje odporności swoistej pokazane na rys. 6. LPS = endotoksyna bakteryjna

pobudza jeszcze jeden rodzaj komórek odpornościowych, tzw. naturalne komórki zabijające. Ich rola w zwalczaniu zakażeń jest prawdopodobnie znikoma i dlatego nie będę jej dalej omawiał. Natomiast pobudzenie antygenowo swoistych klonów limfocytów B wzmagane przez IL-4 prowadzi do ich zróżnicowania do plazmacytów, które wytwarzają przeciwciała przeciwko tym antygenom. Proces różnicowania i namnażania plazmacytów jest pobudzany przez inny czynnik wydzielany przez makrofagi: interleukinę 6 (IL-6). Przeciwciała wiążą się z antygenami i jako kompleksy są usuwane przez makrofagi. Jeżeli antygeny są na powierzchni zakażonych komórek, to takie komórki (będące źródłem zakażenia) są zabijane z jednej strony po przyłączeniu przeciwciała przez specjalną grupę białek zwaną dopełniaczem, a z drugiej strony przez fagocyty. Ponadto, jeszcze skuteczniej takie komórki mające na swojej powierzchni obce antygeny są eliminowane przez antygenowo swoiste limfocyty T zabijające namnożone pod wpływem antygeny i interleukiny 2 (rys. 6). Tak jak pobudzenie odporności nieswoistej przez zakażenie prowadzi przez wysyłanie sygnałów cytokinami do pobudzenia odporności swoistej, tak ta ostatnia pobudza również mechanizmy odporności nieswoistej. Mianowicie, obydwa rodzaje komórek pomocniczych typu T po pobudzeniu wytwarzają interleukinę 3 (IL-3) oraz czynnik pobudzający wytwarzanie granulocytów i makrofagów (GM-CSF). Czynniki te, działając miejscowo oraz na szpik, pobudzają wytwarzanie i czynność granulocytów, a także makrofagów i innych komórek.



Rys. 6. Podstawowe funkcje cytokin w regulowaniu odporności swoistej

Taki schemat jest oczywiście ciągle jeszcze bardzo uproszczony, gdyż w rzeczywistości w zwalczaniu każdego rodzaju agresora biorą udział nieco inne mechanizmy, ale zawiera już podstawowe rodzaje komórek, cytokin i mechanizmów, które w każdej chwili każdego z nas bronią przed różnego rodzaju agresorami.

Jak wspomniałem, dzięki osiągnięciom inżynierii genetycznej większość z wymienionych przeze mnie cząsteczek jest obecnie wytwarzana przemysłowo jako tzw. formy **rekombinowane**. Najczęściej, ze względów ekonomicznych, ludzkie cytokiny są wytwarzane przez specjalne szczepy pałeczek okrężnicy, którym wprowadzono odpowiednie ludzkie geny. Rekombinowane cytokiny są obecnie wykorzystywane jako leki. Ta forma leczenia, która wykorzystuje naturalne ludzkie białka do pobudzania procesów, które te białka fizjologicznie regulują, nazywa się **bioterapią**. Jednocześnie trzeba sobie uświadomić, że w wielu wypadkach cząsteczka, która fizjologicznie ma zasięg parakrynnny, jest podawana ogólnoustrojowo. To zwróciło uwagę, na fakt, że wiele cytokin wywiera działania na bardzo różne komórki (nazywa się to działaniem **plejotropowym**) i podanie ich ogólnie może powodować dramatyczne niepożądane efekty. Klasycznymi przykładami są tu IL-1 i czynnik martwicy nowotworów. Jak się okazało, cząsteczki te, gdy działają na skalę ogólnoustrojową, są odpowiedzialne za objawy stanu najwyższego zagrożenia życia ustroju, tj. za

objawy wstrząsu. Poucza to także o tym, że nie ma przypadku w tym, czy dana cząsteczka fizjologicznie ma zasięg endo-, para-, czy tylko perikryny.

Komórki pobudzają się wzajemnie i hamują za pośrednictwem cytokin, umożliwiając przeżycie i nakazując śmierć. Istnienie całej sieci reakcji, w której pośredniczą cytokiny, stanowi o tym, że komórki mogą w obrębie organizmu żyć, funkcjonować i współdziałać w realizacji wspólnych nadrzędnych celów.

WIESŁAW WIKTOR JĘDRZEJCZAK

CYTOKINES IN THE REGULATION OF CELL BEHAVIOUR IN THE IMMUNE SYSTEM

S u m m a r y

This review introduces definitions of cytokines, monokines, lymphokines, interleukins, growth factors, and colony stimulating factors. It describes receptor, distance and cell condition limits to the action of cytokines. Furthermore, major events regulated by cytokines during mounting an immune response to antigen are presented. Particular attention is paid to a switch between non-specific and specific immunity. Finally, application of the released cytokine profile as an indicator of cell identity (e.g. T helper-1 cells producing interleukin 2 versus T helper-2 cells producing interleukin 4) is mentioned. All the reviewed data confirm the central regulatory role of the cytokine network in immunity.