

WANDA KŁOPOCKA

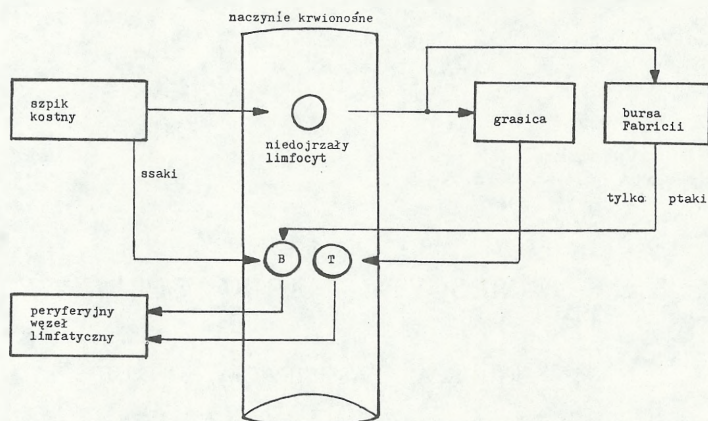
Instytut Biologii Doświadczalnej
im. M. Nenckiego PAN
Warszawa

LIMFOCYTY — FUNKCJE I RUCH

GENEZA, KLASYFIKACJA, FUNKCJE

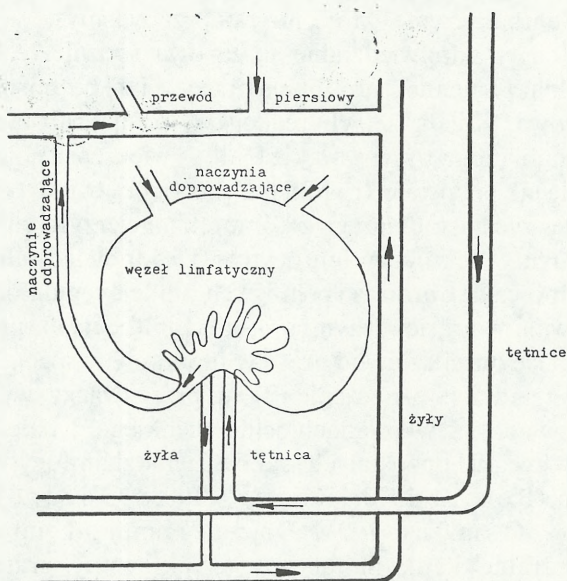
Podczas gdy u bezkręgowców system obronny bazuje na komórkach fagocytyujących, u kręgowców tzw. profesjonalne komórki fagocytarne, głównie makrofagi i polimorfonuklearne leukocyty są tylko częścią znacznie bardziej skomplikowanej strategii obronnej. Centralnymi elementami tej strategii są limfocyty (stanowiące ok. 1/4 ogólnej liczby wszystkich białek komórek krwi), odpowiedzialne za zespół swoistych reakcji organizmu, zwanych odpowiedzią immunologiczną, a skierowanych przeciw czynnikowi obcemu. System immunologiczny kręgowców jest wysoce specyficzny i ma zdolność odróżniania komórek obcych od własnych. Ma również zdolność „zapamiętywania”, dzięki czemu przez całe życie mamy zwiększoną odporność na te pospolite choroby wirusowe i bakteryjne, które już raz przeżyliśmy.

Limfocyty odpowiedzialne są za dwa rodzaje reakcji immunologicznych: humoralną, związaną z produkcją przeciwciał i bezpośrednią swoistą odpowiedź komórkową. Każdą z tych reakcji wywołują substancje zwane antygenami. Antygenami mogą być wszystkie białka i większość polisacharydów. Limfocyty, podobnie jak pozostałe krwinki białe, erytrocyty i płytki krwi rozwijają się przez cały okres życia osobniczego z komórek macierzystych zlokalizowanych w szpiku kostnym. Prekursory limfocytów T, odpowiedzialnych za swoistą komórkową odpowiedź obronną i pełniących funkcje regulatorowe dzielą się, różnicują i dojrzewają w grasicy (thymus — T). Limfocyty B, produkujące przeciwciała, rozwijają się niezależnie od grasicy; u ptaków w specjalnym narządzie — bursie Fabricii (stąd ich oznaczenie B), u przeżuwaczy w kępkach Peyer'a, które zlokalizowane są w ścianach jelita cienkiego i należą do wtórnych tkanek limfatycznych. U pozostałych ssaków i u ludzi limfocyty B rozwijają się w szpiku kostnym (Bessis 1973; Rogers 1983; Góldschneider 1980; Gallagher, Osmond 1991). Dojrzałe immuno-kompetentne limfocyty opuszczają centralne tkanki limfatyczne (szpik kostny, grasicę) i w strumieniu krwi rozpoczynają wędrówkę do węzłów limfatycznych — peryferyjnych i związanych z przewodem pokarmowym, a także do śledziony (rys. 1). W przeciwieństwie do erytrocytów i płytek krwi, które żyją i funkcjonują tylko we wnętrzu naczyń krwionośnych, a także granulocytów, które opuszczają układ krwionośny



Rys. 1. Miejsca dojrzewania i drogi cyrkulacji prekursorów limfocytów T i B*

i nigdy do niego nie wracają, limfocyty cyrkulują przez całe życie pomiędzy limfą i krwią. Przechodzą z naczyń krwionośnych do węzłów limfatycznych lub tkanek w miejscach zapalnych, a stamtąd w strumieniu limfy przez sieć naczyń limfatycznych przenoszone są do przewodu piersiowego i uwalniane z powrotem do krwi (rys. 2). Ta stale powtarzająca się wędrówka ma umożliwić dużej liczbie limfocytów wejście w kontakt z antygenem, który penetruje do organizmu w dowolnym miejscu.



Rys. 2. Schemat recyrkulacji limfocytów pomiędzy układem krwionośnym i tkankami limfatycznymi. Strzałkami zaznaczono kierunki przepływu krwi i limfy

* Uwaga. We wszystkich rysunkach ilustrujących artykuł zachowano analogiczne oznaczenia rodzajów komórek i receptorów komórkowych.

System odpornościowy musi reagować na miliony obcych antygenów w sposób wysoce specyficzny. Możliwość sprostania tak trudnemu zadaniu wyjaśnia teoria selekcji klonalnej (Burnet 1959), która sugeruje, że już podczas dojrzewania limfocytów, w każdej komórce rozwija się zdolność do reagowania z określonym antygenem, przejawiająca się obecnością na jej powierzchni specyficznego białka receptorowego. Komórki takie tworzą klony. System immunologiczny zawiera miliony różnych klonów limfocytów T oraz B, których komórki mają tą samą specyficzność antygenową. Oznacza to, że dany antygen aktywuje tylko te klony, które mają zdolność związania go na swej powierzchni.

Specyficzne rozpoznanie i związanie antygeny zachodzi przez prezentowane na powierzchni dojrzałych limfocytów T kompleksy receptorowe TCR-CD3 (Klausner i in. 1990); Clevers i in. 1988) oraz poprzez związane z błoną komórek B formy IgM i IgD immunoglobulin (przeciwciała), zwane kompleksami BCR (König 1991). Funkcją tych receptorów jest również przekazanie do wnętrza komórki sygnału, powodującego jej aktywację. Zarówno kompleksy TCR jak i BCR mają regiony stałe, o sekwencji aminokwasów identycznej dla wszystkich klonów oraz regiony zmienne, będące miejscami wiązania określonego antygeny, charakterystyczne dla jednego klonu limfocytów.

Ten fragment antygeny, który łączy się z wiążącym go miejscem na cząsteczce przeciwciała lub receptorze powierzchniowym limfocyty, nazywa się determinantą antygenową. Większość antygenów posiada wiele różnych determinant i może stymulować różne klony limfocytów. Taką reakcję nazywa się poliklonalną. Monoklonalną natomiast, nazywa się odpowiedź tylko jednego klonu komórek T albo B, stymulowaną przez pojedynczą determinantę antygenową. Przeciwciała produkowane przez taki klon limfocytów B mają te same miejsca wiązania antygeny i zwane są przeciwciałami monoklonalnymi. Działanie przeciwciała nie ogranicza się tylko do ich zdolności wiązania obcych cząsteczek. Każdy związany z immunoglobuliną antygen jest niszczone biologicznie, a o sposobie jego dezintegracji decyduje budowa tzw. fragmentu Fc cząsteczki przeciwciała. Immunoglobuliny o tych samych miejscach wiązania antygeny mają zróżnicowane fragmenty Fc, które umożliwiają im włączenie się w różne procesy biologiczne. Mogą one wiązać się specyficznie z receptorami na powierzchni komórek fagocytyzujących, takich jak makrofagi i polimorfonuklearne leukocyty, zwiększając tym samym efektywność niszczenia mikroorganizmów. Mogą łączyć się z wirusami i uniemożliwiać im wiązanie się do receptorów powierzchniowych i infekcję własnych komórek. Mogą wiązać się z receptorami na powierzchni komórek tucznych i kwasochłonnych leukocytów, stymulując wydzielanie biologicznie aktywnych amin, przede wszystkim histaminy, będącej jednym z mediatorów reakcji zapalnej. Mogą wreszcie wchodzić w kontakt z pierwszym komponentem układu dopełniacza, uruchamiając w ten sposób cały łańcuch biochemicznych reakcji powodujących liż mikroorganizmów inwazyjnych. Przeciwciała w połączeniu z układem dopełniacza są głównym narzędziem walki kręgowców z infekcjami bakteryjnymi.

Komórkowa reakcja immunologiczna, za którą odpowiedzialne są limfocyty T, skierowana jest przede wszystkim przeciw infekcjom wirusowym, grzybiczym, przeszczepom i własnym zmutowanym komórkom somatycznym. Różne reakcje limfocytów T zachodzą za pośrednictwem różnych subpopulacji tych komórek:

1) cytotoksycznych limfocytów (Tc), selektywnie zabijających komórki obce i własne zainfekowane wirusem.

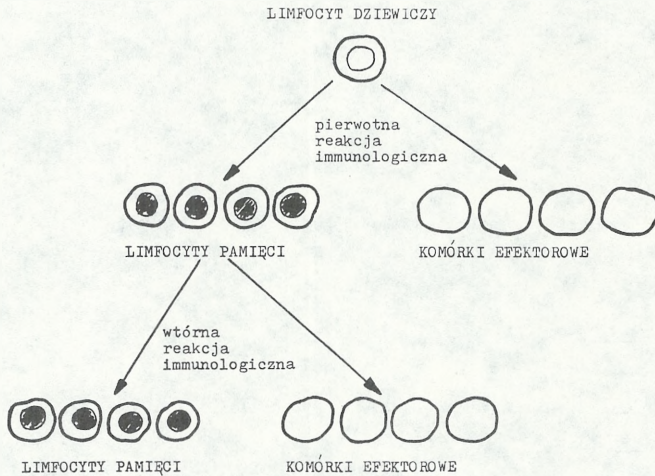
2) limfocytów regulatorowych, do których należą limfocyty (Th) wspomagające reakcje pomiędzy komórkami T i B, limfocytami i makrofagami oraz limfocyty supresorowe (Ts), znoszące aktywność efektorowych komórek T i B, jak również subpopulacji limfocytów wspomagających.

Powstaje więc rodzaj sprzężenia zwrotnego, które w sposób ciągły reguluje aktywność różnych subpopulacji limfocytów i jest jednym z elementów skomplikowanego systemu interakcji pomiędzy komórkami układu obronnego. Kooperacja pomiędzy komórkami T, B i makrofagami jest konieczna do wystąpienia większości reakcji immunologicznych. Limfocyty B, na przykład, wymagają do produkcji i wydzielania przeciwciał obecności zarówno komórek T, jak i wyspecjalizowanych komórek prezentujących antygeny (APC), którymi są komórki dendrytyczne i makrofagi.

Większość komórek T, w przeciwieństwie do limfocytów B, nie reaguje na antygeny w formie rozpuszczonej, ale na związane z powierzchnią komórek. Limfocyty Th reagują na antygeny prezentowane przez makrofagi, niektóre komórki T i większość limfocytów B. Komórki Tc reagują na antygeny związane z powierzchnią komórek obcych lub własnych zainfekowanych wirusem. Większość komórek T rozpoznaje antygeny na powierzchni innych komórek tylko jeżeli są one połączone z antygenami, tzw. głównego układu zgodności tkankowej (MHC). Antygeny MHC klasy I i klasy II znajdują się na powierzchni komórek kręgowców wyższych. Częsteczki MHC I występują na powierzchni prawie wszystkich komórek somatycznych, a glikoproteiny MHC II są charakterystyczne dla komórek systemu immunologicznego. Różne subpopulacje limfocytów T rozpoznają antygeny połączone z różnymi klasami glikoprotein głównego układu zgodności tkankowej. Komórki Tc rozpoznają antygen związany z białkiem MHC klasy I. Komórki Th reagują przeciw antygenom tworzącym kompleksy z cząsteczkami białek MHC klasy II. Również niektóre komórki supresorowe mogą rozpoznawać antygen w połączeniu z cząsteczką MHC II.

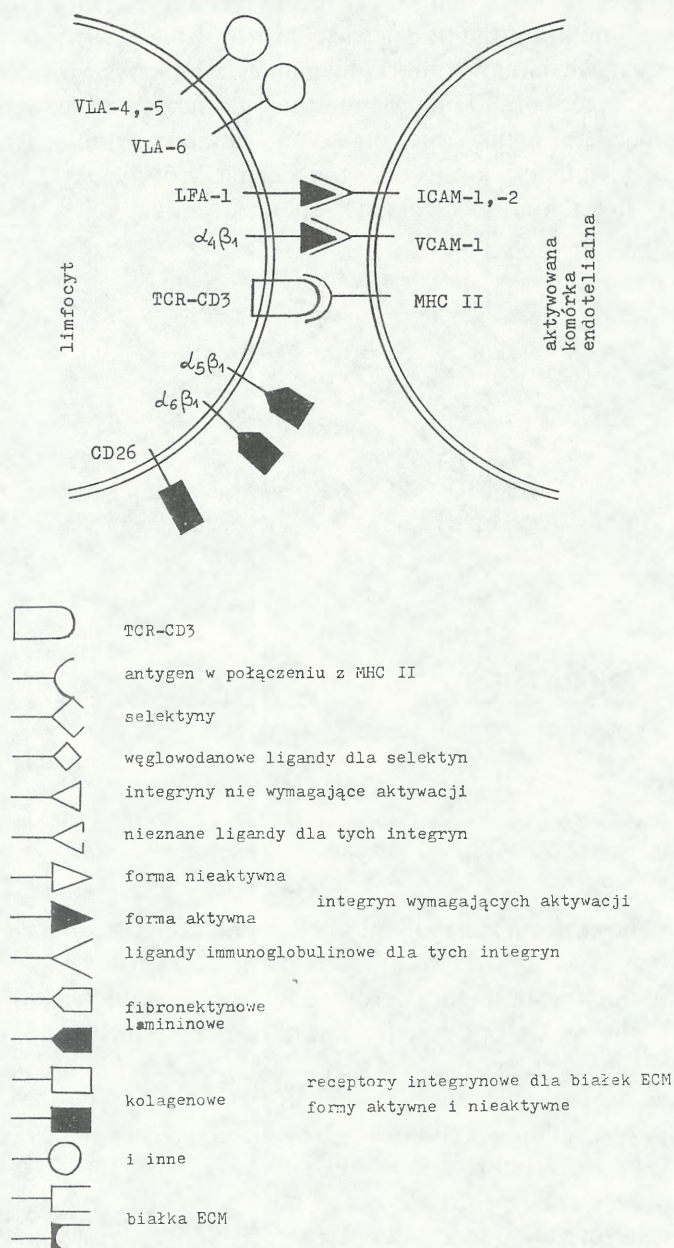
Reakcja odpornościowa, czy to humoralna czy komórkowa pojawia się po okresie utajenia trwającym najczęściej kilka dni. W tym czasie, na skutek stymulacji, komórki T i B rosną, dzielą się i różnicują tworząc duże populacje aktywnych komórek efektorowych oraz komórek pamięci zdolnych do szybkiej reakcji immunologicznej w przypadku powtórnego spotkania danego antygeny (rys. 3). To dzięki klonalnej ekspansji i długiej przeżywalności tych komórek istnieje pamięć immunologiczna, będąca fundamentalną cechą systemu odpor-

nościowego kręgowców. Limfocyty rozpoznające antygen mogą być albo krótko żyjącymi, małymi komórkami dziewiczymi, albo znacznie większymi, żyjącymi miesiącami, a nawet latami komórkami pamięci. W pierwszym przypadku mamy do czynienia z pierwotną reakcją immunologiczną, która rozwija się z dużym opóźnieniem, ale ekspansywnie, po czym stopniowo zanika. Reakcja wtórna związana ze stymulacją komórek pamięci, ma krótszy okres utajony (dzięki hiperreaktywności komórek za nią odpowiedzialnych), jest silniejsza i trwa dłużej.



Rys. 3. Powstawanie komórek pamięci i komórek efektorowych w wyniku pierwotnej i wtórnej aktywacji odpowiednio limfocytów dziewiczych i limfocytów pamięci

Nieaktywne limfocyty są małymi sferycznymi komórkami o średnicy zbliżonej do średnicy erytrocytów (ok. 6–7 μm). W przeciwieństwie do polimorfonuklearnych leukocytów, posiadają ogromne jądro i cieniutką warstwę cytoplazmy, która je otacza. Cytoplazma ich jest uboga w organelle odpowiedzialne za podstawowe funkcje komórki (Rogers 1983). Nieaktywne komórki B i T są morfologicznie nierozróżnialne. Można je różnicować tylko za pomocą tzw. markerów powierzchniowych, które wiążą się z odpowiednimi białkami receptorowymi na powierzchni tych komórek (Rogers 1983). Limfocyty pozostają w stanie G_0 aż do momentu aktywacji (Gowans, Knight 1964), której natychmiastowym efektem jest depolaryzacja błony, wzrost produkcji InsP_3 , wzrost poziomu wewnątrzkomórkowego wolnego wapnia, aktywacja białkowej kinazy C (Steel, Hutchins 1989). Gromadzenie się i migracja aktywowanych limfocytów wokół makrofagów, czy to w miejscach zapalnych, czy w węzłach limfatycznych (peripolexis) (Bessis 1973; Rogers 1983; van Maarsseveen i in. 1990), służy wiązaniu prezentowanego przez makrofaga antygeny do odpowiednich receptorów komórek T (TCR) i komórek B (BCR)



Rys. 4. Schemat połączeń pomiędzy limfocytem i komórką śródbłónka w pobliżu miejsca zapalnego. W wyniku stymulacji limfocyta poprzez sieciowanie TCR-CD3 uaktywniane są zarówno receptory adhezywne (LFA-1, $\alpha_4\beta_1$), jak też receptory dla białek ECM ($\alpha_5\beta_1$, $\alpha_6\beta_1$, CD23 VLA-4, -5, -6). Aktywowana na skutek działania cytokin komórka endotelialna prezentuje ligandy (ICAM-1, -2, VCAM-1) dla adhezywnych receptorów z powierzchni limfocyту

(Klausner i in. 1990; Koning 1991; Clevers i in. 1988). Sygnał przekazywany za pośrednictwem tych receptorów do wnętrza komórki uruchamia wiele zmian, które prowadzą do przekształcenia nieaktywnych limfocytów w tzw. plazmocyty (plasma cells), będące stacjonarnymi komórkami syntetyzującymi i uwalniającymi przeciwciała, lub w efektorowe komórki T, które zachowują zdolność migracji i, przemieszczając się w obrębie wtórnej tkanki limfatycznej, rozszerzają reakcję immunologiczną. Ostatnie badania wykazały, że efektywność stymulacji komórek T zależy od aktywujących sygnałów przesyłanych do komórki nie tylko *via* kompleks TCR-CD3, czy antygenowy receptor CD2, ale także przez dodatkowe białka powierzchniowe. Te ostatnie jednocześnie pośredniczą w adhezji pomiędzy komórkami T i komórkami endotelialnymi oraz limfocytami i APC. Są to cząsteczki należące do rodziny białek zwanej integrzynami: $\alpha_1\beta_2$ (integryna znana również jako LFA-1) oraz $\alpha_4\beta_1$. Ligandami są dla nich białka receptorowe z rodziny immunoglobulin, odpowiednio ICAM-1, ICAM-2 na powierzchni APC i komórek endotelialnych oraz VCAM-1 na powierzchni komórek śródbłónka (patrz rys. 7). Odgrywają one rolę współstymulatorów aktywacji komórek T (Damble, Aruffo 1991; Ruoslahti 1991). Sugeruje się również, że na aktywację i różnicowanie limfocytów mają wpływ składniki pozakomórkowej macierzy, takie jak fibronektyna, laminina i kolagen IV, które są białkami wielofunkcyjnymi o niezależnych właściwościach stymulacyjnych i adhezyjnych. Zwiększają one zarówno aktywność migracyjną, jak i proliferacyjną komórek T przez wiązanie się do grupy receptorów z rodziny integrzyn: VLA-4, -5, -6 i prawdopodobnie również do białek błonowych związanych z GPI (de Sousa i in. 1991). Komórki pamięci mają znacznie niższy próg aktywacji niż komórki dziewicze. W porównaniu z komórkami dziewiczymi charakteryzują się one trzy-, a nawet czterokrotnie zwiększoną ekspresją cząsteczek adhezywnych, takich jak LFA-1, VLA-4, -5, -6, służących również jako receptory aktywujące. Kompleksy TCR—CD3 na powierzchni tych komórek są zasocjowane z innymi receptorami antygenowymi (CD4, CD5). Oznacza to, że komórki pamięci są skutecznie aktywowane przez niższy poziom antygeny lub przeciwciała anti-CD3. Stymulowany właściwym bodźcem limfocyt rośnie, powiększając nawet trzykrotnie swoją objętość. Zmienia się ultrastruktura jego wnętrza. Zwiększa się nieregularność powierzchni. Rozpoczyna się synteza i sekrecja substancji, zwanych limfokinami, do których należą m.in. IL-2, -3, -4, -6 oraz INF γ . Działają one w sposób para- lub autokryny i są niezbędne dla rozwoju dalszych etapów reakcji immunologicznej, tj. proliferacji i różnicowania. Wzrasta ekspresja niektórych białek receptorowych, m.in. receptora dla IL-2 i IL-4.

Przy dużych infekcjach do węzłów limfatycznych przedostaje się wiele antygenów pierwotnych i wtórnych, które aktywują jednocześnie limfocyty dziewicze i limfocyty pamięci. Interesujące jest współdziałanie pomiędzy tymi dwiema subpopulacjami komórek oparte z jednej strony na różnicach w ilości i rodzaju syntetyzowanych limfokin, z drugiej na podobnej ekspresji receptorów

dla tych substancji. Komórki dziewicze produkują np. Il-2 w nadmiarze, podczas gdy komórki pamięci w ilości niedostatecznej dla swojej optymalnej proliferacji. W wyniku tego egzogenna Il-2 może podnosić proliferacyjną aktywność komórek pamięci. Natomiast cytokiny uwalniane przez komórki pamięci — głównie Il-4, Il-6 — intensyfikować mogą reakcję komórek dziewiczych. Gdy wygasa reakcja pierwotna, która zawsze trwa krócej niż wtórna i na placu boju pozostają już tylko limfocyty pamięci, podstawowym czynnikiem aktywującym proliferację pozostaje wyłącznie autokrynnie działająca Il-4 (A k b a r i n. 1991).

Skuteczność odpowiedzi immunologicznej czy to pierwotnej, czy wtórnej, humoralnej czy komórkowej zależna jest m.in. od zdolności limfocytów do osiągnięcia ogniska infekcji. Tak więc, zarówno komórki dziewicze jak i limfocyty pamięci obu subpopulacji T i B muszą mieć zdolność penetrowania do przestrzeni interstycjalnej w miejscach zapalnych. Muszą one również dotrzeć do węzłów limfatycznych, których główną funkcją jest zatrzymywanie antygenów, i w których za pośrednictwem makrofagów i komórek dendrytycznych prezentowane są one limfocytom.

* * *

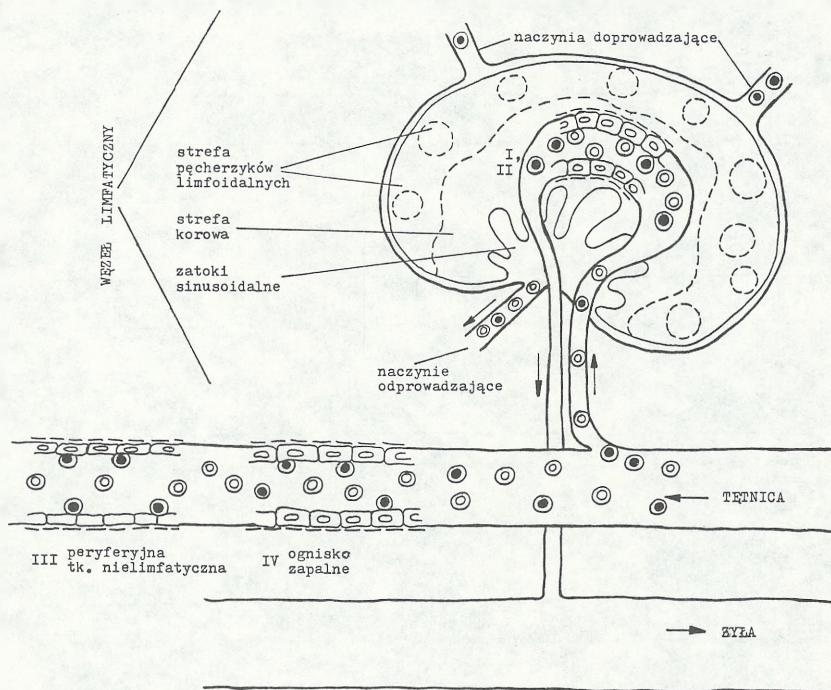
Zagadnienia omówione w pierwszej części artykułu stanowią wprowadzenie, i siłą rzeczy nie wyczerpują tematu. Czytelników zainteresowanych funkcjami i rozwojem limfocytów odsyłamy zatem do następujących pozycji literatury.

- 1) *Molecular Biology of the Cell*, 1989, pod redakcją Bruce Alberts i in.
- 2) *Cytofizjologia*, 1990, pod redakcją Kazimierza Ostrowskiego i Jerzego Kawiaka
- 3) *Fizjologia człowieka z elementami fizjologii stosowanej i klinicznej*, 1990, pod redakcją Władysława Z. Traczyka i Andrzeja Trzebskiego

RECYRKULACJA LIMFOCYTÓW I JEJ MOLEKULARNA REGULACJA

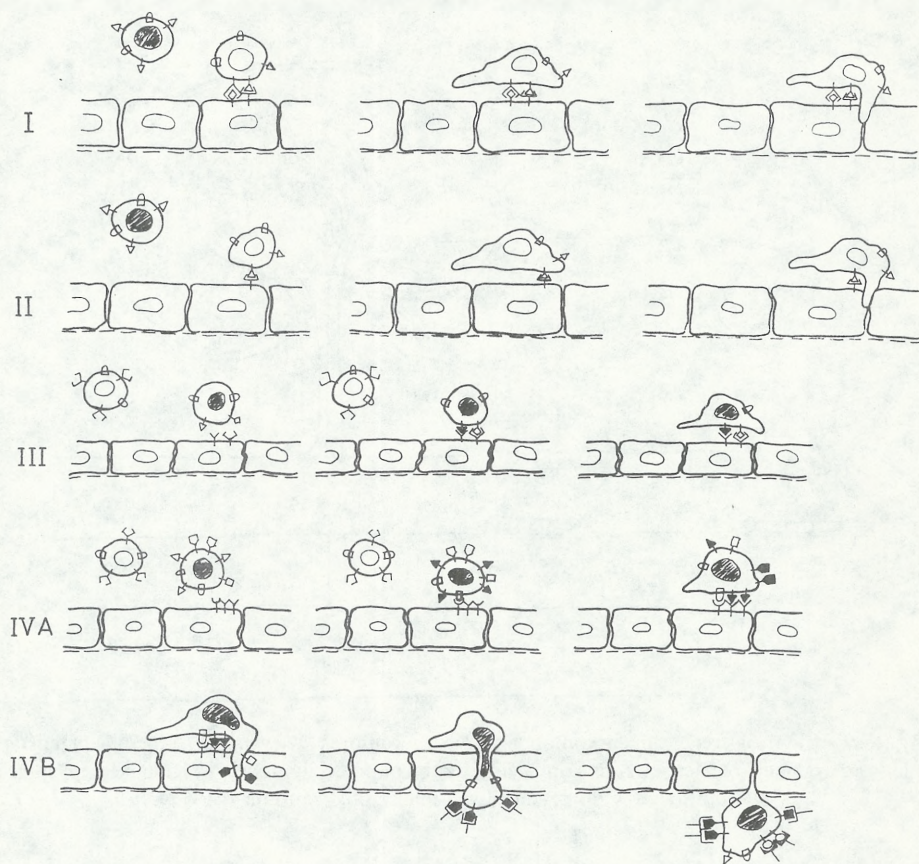
Dla prawidłowego funkcjonowania systemu immunologicznego konieczna jest stała recyrkulacja limfocytów pomiędzy układem krwionośnym i tkankami limfatycznymi. Jej celem jest przede wszystkim zwiększenie prawdopodobieństwa interakcji pomiędzy limfocytami i komórkami prezentującymi antygeny, ale też segregacja limfocytów o określonych funkcjach do różnych organów limfatycznych organizmu.

Limfocyty opuszczają strumień krwi i wchodzą do wtórnych tkanek limfatycznych oraz ognisk zapalnych przez ściany pozawłośniczkowych tętniczek krwionośnych (Jalkanen, Butcher 1985) (patrz rys. 5). Wychodzenie leukocytów z naczyń krwionośnych określa się terminem ekstrawazacji. Wyróżnić w nim można dwa etapy: adhezję krwinek do apikalnych powierzchni śródbłonnków wyspecjalizowanych lub czasowo aktywowanych, zwaną marginacją oraz przedostawanie się pomiędzy komórkami endotelium (Gowans, Knight 1964) do przestrzeni interstycjalnej, zwane diapedezą



Rys. 5. Różne drogi recyrkulacji komórek pamięci i komórek dziewiczych. Schemat przedstawia miejsca marginacji (oznaczone rzymskimi cyframi) obu populacji limfocytów. Kolejne etapy migracji limfocytów do oznaczonych miejsc pokazano na rys. 6

(patrz rys. 6). Szczególnym przypadkiem ekstrawazacji jest przechodzenie limfocytów z naczyń krwionośnych do parenchymy węzłów limfatycznych, określane jako „homing”. Białka błonowe, które rozpoznają odpowiednie ligandy na komórkach śródbłonna wtórnych tkanek limfatycznych i wiążą się z nimi, to receptory „homing” (Ford 1975; Gallatin i in. 1983; Caven-der 1989). Znalaziono je na powierzchni limfocytów wszystkich badanych gatunków kręgowców. „Homing” limfocytów po raz pierwszy zaobserwowali G o w a n s i K n i g h t w roku 1964. Limfocyty opuszczają naczynia krwionośne w obrębie substancji korowej węzła (patrz rys. 5). W jej trójwymiarowej sieci zbudowanej z lamininy i kolagenu IV napotykają pola makrofagów i komórek dendrytycznych, prezentujących antygeny. Tam też przebywają przez jakiś czas komórki T, podczas gdy komórki B kolonizują pęcherzyki limfoidalne tworzone przez sieć komórek dendrytycznych. Spotkanie odpowiedniego antygeny zatrzymuje dany klon limfocytów w obrębie węzła. Opuszczają go dopiero po kilku dniach duże populacje komórek efektorowych i komórek pamięci. Zbiega się to w czasie z pojawieniem się we krwi specyficznych przeciwciał i jest jednoznaczne z ujawnieniem się reakcji immunologicznej. Te limfocyty, które nie spotykają



Rys. 6. Ekstrawazacja limfocytów. I, II, „Homing” limfocytów dziewiczych do peryferyjnego węzła limfatycznego (I) oraz do tkanki limfatycznej związanej z przewodem pokarmowym (II). III adhezja i polaryzacja komórki pamięci na powierzchni śródbłonnka płaskiego w pozawłośniczkowej tętnicze tkanki łącznej skóry. IVA, B marginacja i diapedeza limfocyta pamięci pomiędzy aktywowanymi komórkami endotelium do ogniska infekcji

antygeny, opuszczają węzeł limfatyczny po 18-20 godzinach. Przedostają się one do sinusoidalnych naczyń rdzeniowych, skąd w strumieniu limfy przez odprowadzające naczynia limfatyczne i przewód piersiowy dostają się do krwi (patrz rys. 2) i rozpoczynają nowy cykl swojej wędrówki. Na recyrkulację limfocytów składają się więc: bierne przenoszenie przez krew i limfę oraz migracja poprzez ściany naczyń krwionośnych i w trójwymiarowej sieci tkanki łącznej, a także w parenchymie węzłów limfatycznych. Te komórki, które przechodzą ze światła naczyń do tkanek w miejscach zapalnych (makrofagi, niektóre limfocyty), osiągają węzły limfatyczne przez naczynia doprowadzające. Sieć limfatycznych naczyń doprowadzających drenaże właściwie wszystkie

przestrzenie międzykomórkowe ciała, z wyjątkiem oczu, mózgu i układu pokarmowego, zbierając dostające się przez nabłonek obce antygeny w peryferyjnych węzłach limfatycznych. Przewód pokarmowy ma swoje własne tkanki limfatyczne (kępki Peyera, migdały, wyrostek robaczkowy), które są miejscami reakcji przeciw antygenom zawartym w produktach spożywczych i mikroorganizmom układu pokarmowego. Antygeny pojawiające się we krwi są zatrzymywane i degradowane w śledzionie. W rdzeniu tkanki limfatycznej naczynia doprowadzające przekształcają się w szerokie, nieregularne zatoki, zwane sinusoidami, charakterystyczne dla wszystkich filtrów biologicznych. W ich przestrzeniach przepływ limfy jest znacznie wolniejszy niż w wąskich kapilarach, co umożliwia zgromadzonemu na ścianach zatok makrofagom wychwytywanie zbędnych cząstek.

Większość normalnie cyrkulujących limfocytów T i B jest zdolna do penetrowania wszystkich typów wtórnych tkanek limfatycznych, ale niektóre migrują preferencyjnie do specyficznych organów. Komórki B mają tendencję do opuszczania naczyń krwionośnych w organach limfatycznych związanych z przewodem pokarmowym. Komórki T natomiast przechodzą głównie do węzłów peryferyjnych (Stevens i in. 1982; Rosen, Yednock, 1986; Cavender, 1989; Streeter i in. 1988; Jalkanen i in. 1988; Pals i in. 1986). W tych ostatnich znajdują się więc głównie limfocyty T wszystkich subpopulacji. W tkankach limfatycznych przewodu pokarmowego przeważają natomiast komórki B, limfocyty T reprezentowane są głównie przez subpopulację komórek wspomagających (Ford 1975; Gallatin i in. 1986). Limfocyty aktywowane wędrują specyficznie do miejsc zapalnych oraz do przeszczepów (Billingham i in. 1977). Genetyczny polimorfizm zdolności rozpoznawania tkanek służy niewątpliwie ujednoliceniu charakteru reakcji immunologicznych w danym rejonie oraz powiększa funkcjonalną specjalizację komórek.

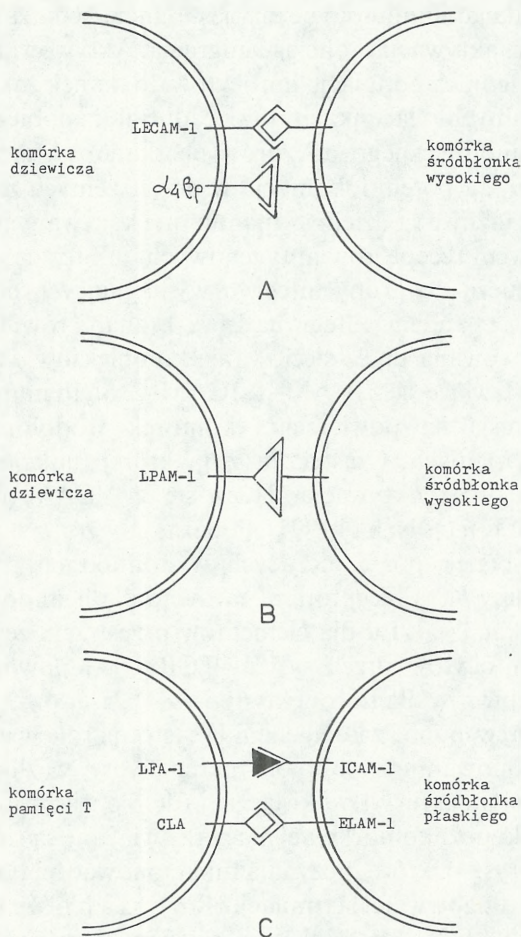
Adhezja limfocytów do komórek śródbłónka jest regulowana zarówno przez ekspresję odpowiednich receptorów na powierzchni komórek immunokompetentnych, jak też odpowiadających im ligandów na powierzchni komórek endotelialnych. W 1983 roku Gallatin i współpracownicy wyizolowali monoklonalne przeciwciało — Mel-14, które wiążąc się z determinantami receptorów na powierzchni limfocytów, w sposób specyficzny blokowało ich adhezję do śródbłonek naczyń w węzłach peryferyjnych. Nie wpływało to więc na ekstrakwazację w obrębie kępek Peyera. Prace z początku lat 80. pokazały również, że blokowane Mel-14 receptory limfocytów wchodzi w interakcję z mannozo-6-fosforanem (Stoolman i in. 1984). Dziś wiadomo, że „homing receptor” limfocytów, ułatwiający adhezję do endotelium naczyń krwionośnych w peryferyjnych węzłach limfatycznych, należy do rodziny białek adhezywnych, tzw. selektyn. Posiadają one N-terminalne domeny homologiczne do lektyn zwierzęcych i wykazują aktywność zależną od Ca^{2+} . „Homing receptor”, który został ostatecznie określony jako LECAM-1 (Anderson i in. 1991) wiąże się specyficznie z węglowodanowym ligandem prezentowanym na powierzchni

komórek endotelialnych (patrz rys. 7A) (Lasky 1991; Springer, Lasky 1991). Podczas gdy selektyny odpowiedzialne są tylko za interakcje komórka — komórka, receptory z rodziny integryn są bardziej wszechstronnymi białkami adhezywnymi. Są zarówno mediatorami adhezji komórek do elementów pozakomórkowej macierzy, jak też pośredniczą w kontaktach pomiędzy komórkami. Integryny są integralnymi glikoproteinami zbudowanymi z dwóch podjednostek α i β . Obie podjednostki uczestniczą w formowaniu miejsca wiązania dla liganda. Domena cytoplazmatyczna integryn połączona jest z cytoszkieletem komórki. Różne rodzaje podjednostek α i β i ich różne układy tworzą przynajmniej 16 integryn, z których wiele jest charakterystycznych dla danego typu komórek. Należy do nich białko, specyficzne dla limfocytów, mające jedyną w swoim rodzaju podjednostkę β_p , które pośredniczy w „homing” limfocytów. Jest to integryna $\alpha_4\beta_p$ rozpoznająca niezidentyfikowany jeszcze ligand na powierzchni komórek endotelialnych (patrz Rys. 4A) pozawłośniczkowych tętniczek w peryferyjnych węzłach limfatycznych (Ruoslahti 1991). W wiązaniu limfocytów do komórek śródbłonna naczyń w tkankach limfatycznych związanych z przewodem pokarmowym, uczestniczy receptor należący również do rodziny integryn, tzw. LPAM-1 (patrz rys. 4B) (Mackay, 1991).

Nie jest jasne, czy receptory „homing” odgrywają jakąś rolę w ogniskach zapalnych. Od dawna wiadomo natomiast, że przeciwciała, które hamują niestymulowaną adhezję limfocytów do endotelium, nie mają wpływu na adhezję stymulowaną w miejscach zapalnych (Cavender i in. 1987). Sugeruje się, że w tym drugim przypadku funkcje receptorów pośredniczących w „homing” przejmują inne białka adhezywne, które aktywowane są w wyniku sieciowania antygenowych kompleksów TCR-CD3 i BCR (Lasky 1991; Ruoslahti 1991). Odpowiadające im ligandy z powierzchni komórek śródbłonna udostępniane są na skutek stymulującego działania uwalnianych w miejscach infekcji cytokin. Zarówno TNF (produkowany przez niektóre limfocyty i makrofagi), jak też Il-1 (wydzielana przez makrofagi, niektóre aktywowane limfocyty B oraz komórki endotelialne) zwiększają adhezywność endotelium dla limfocytów (Cavender i in. 1987; Cavender i in. 1986; Cavender, Edelbaum 1988). Stymulujące działanie cytokin jest niespecyficzne tkankowo. Oznacza to, że rozwijająca się reakcja zapalna może indukować adhezję limfocytów do ścian pozawłośniczkowych tętniczek krwionośnych w dowolnym miejscu organizmu, znajdującym się w pobliżu ogniska infekcji (Cavender i in. 1987; Cavender 1989). Działanie cytokin nie ogranicza się tylko do stymulacji adhezji. Wpływają one w różny sposób na rozwój procesów zapalnych. TNF stymuluje syntezę i uwalnianie Il-1 przez komórki śródbłonna oraz ekspresję receptorów Il-1R na powierzchni tych komórek (Nawroth i in. 1986; Kurt-Jones i in. 1987). Il-1, natomiast indukuje proliferację komórek śródbłonna (Ooi i in. 1985), zwiększa proliferację komórek T (Mizel 1988) i komórek B (Falkoff i in. 1983), działa jako czynnik chemotaktyczny dla limfocytów (Miossec i in. 1984).

Każda reakcja immunologiczna jest łańcuchem zależności, którego ogniwami są m.in. aktywacja, adhezja i migracja. Aktywowana adhezja pozwala na wejście odpowiednich populacji limfocytów do tkanek zakażonych. Równocześnie, w normalnych warunkach brak adhezji zapobiega migracji komórek systemu immunologicznego do zdrowych tkanek. Migracja limfocytów, najpierw diapedeza, a potem lokomocja w przestrzeniach zewnątrzkomórkowych i wokół APC możliwe są dzięki sygnałom przekazywanym do wnętrza komórek za pośrednictwem receptorów antygenowych, jak też cząsteczek adhezywnych. Te ostatnie należą do grupy integryn wymagających doraźnej aktywacji dla połączenia się z ligandem. Integryna LFA-1 (znana również jako CD11a/CD18 lub $\alpha_1\beta_2$) aktywowana przez sieciowanie kompleksów TCR-CD3 na powierzchni komórek T wiąże się z ICAM-1, ICAM-2. Są to immunoglobuliny (rys. 4), których ekspresja na powierzchni komórek śródbłonna wzrasta znacznie w miejscach zapalnych. Cząsteczka $\alpha_4\beta_1$, której funkcjonowanie jest również kontrolowane przez aktywację, łączy się z VCAM-1 (rys. 4) (D a m l e , A r u f f o 1991; R u o s l a h t i 1991). Podczas gdy grupa integryn z podjednostką β_2 należy do białek pośredniczących w kontaktach pomiędzy komórkami, integryny z grupy β_1 są receptorami zarówno dla ligandów prezentowanych na innych komórkach, jak też dla elementów przestrzeni zewnątrzkomórkowych. Stymulacja limfocytów przez system TCR-CD3 powoduje natychmiastową aktywację receptorów dla fibronektyny — $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_5\beta_1$ oraz lamininy $\alpha_6\beta_1$ (rys. 4), odgrywających, wspólnie z kolagenem IV, istotną rolę w migracji komórek oraz w ich pozycjonowaniu w obrębie parenchymy węzłów limfatycznych czy trójwymiarowej struktury tkanki łącznej (de S o u s a i in. 1991; R u o s l a h t i 1991). Składniki pozakomórkowej macierzy związane są również przez integryny VLA-4, -5, -6 (rys. 4), które zaczynają funkcjonować na powierzchni limfocytów poddawanych długotrwałej stymulacji (R u o s l a h t i 1991). Kolagen IV wiąże się z antygenem CD26, cząsteczką nie związaną z rodziną integryn (de S o u s a i in. 1991).

Ostatnie badania wykazały, że drogi recyrkulacji dwóch subpopulacji limfocytów, komórek pamięci i komórek dziewiczych są różne. Komórki dziewicze opuszczają naczynia krwionośne tylko w obrębie węzłów limfatycznych, komórki pamięci penetrują głównie do tkanek nielimfatycznych. Pojawiają się więc one w naczyniach limfatycznych doprowadzających, podczas gdy komórki dziewicze obserwuje się tylko w naczyniach odprowadzających (rys. 5) (M a c k a y 1991). Komórki pamięci lokalizują się głównie w tkance łącznej skóry (F o s t e r i in. 1990), epitelialnej powierzchni płuc (S a l t i n i i in. 1990) i w błonie właściwej jelit, a także w miejscach infekcji, podobnie jak aktywowane komórki T (D a m l e , D o y l e , 1990; P i t z a l i s i in. 1988). Nawet *in vitro* aktywowane limfocyty T nie penetrują do węzłów limfatycznych, lecz do tkanek skóry i jelita (S p r e n t 1976; H a l l i in. 1972). Odpowiedzialna za drogi recyrkulacji limfocytów pamięci i limfocytów dziewiczych jest zróżnicowana ekspresja cząsteczek adhezywnych na powierzchni tych komórek. Receptory



Rys. 7. Zróżnicowana ekspresja receptorów na powierzchni komórek dziewiczych oraz komórek pamięci. A — receptory związane z „homing” do peryferyjnych węzłów limfatycznych. B — receptor odpowiedzialny za „homing” w obrębie wysepek Peyera. C — receptory umożliwiające adhezję do śródbłonek kapilar w tkankach nielimfatycznych

ułatwiają adhezję do śródbłónka płaskiego, wyściełającego peryferyjne naczynia w tkankach nielimfatycznych, m.in. LFA-1, VLA-4 prezentowane są głównie na powierzchni komórek pamięci T (Rys. 6IV i 7C) oraz limfocytów aktywowanych. Ich ekspresja jest regulowana i wzrasta w miejscach zapalnych (Sanders i in. 1988; Beverley 1990; MacDonald i in. 1990; Shimizu i in. 1990; Springer 1990; Akbar i in. 1990). Jednocześnie, na powierzchni komórek śródbłónka, wzrasta indukowana cytokinami ekspresja odpowiadających receptorom adhezywnym ligandów immunoglobulinowych. Aktywowane komórki endotelialne, głównie w pozawłośniczkowych naczyniach skóry, prezentują poza tym adhezywny receptor ELAM-1, należący do rodziny selektyn.

Ułatwia on adhezję neutrofilom, monocytom, a także pewnym komórkom pamięci T. Te ostatnie wiążą się z nim prawdopodobnie za pośrednictwem specyficznego antygenu CLA (rys. 6III i 7C) (P i c k e r i in. 1991). Adhezja limfocytów do tzw. wysokiego śródbłonka, charakterystycznego dla tętniczek krwionośnych węzłów limfatycznych, zachodzi za pośrednictwem receptorów „homing”, przede wszystkim LECAM-1, prezentowanych na powierzchni właściwie wszystkich ludzkich limfocytów dziewiczych (rys. 6I i 7A), ale tylko nielicznych komórek pamięci (T e d d e r i in. 1990). Interesujące jest podobieństwo w budowie integryn ułatwiających „homing” limfocytów dziewiczych do tkanek limfatycznych przewodu pokarmowego (rys. 6II i 7B) oraz komórek pamięci do śródbłonek aktywowanych. Ponieważ LPAM-1 jest integryną z łańcuchem α homologicznym do łańcucha α_4 VLA-1, a jej ekspresja jest regulowana podobnie jak ekspresja VLA-1, sugeruje się, że śródbłonek naczyń jelitowych tkanek limfatycznych działa analogicznie jak aktywowane endotelium w miejscach zapalnych (M a c k a y 1991).

Opisane modele recyrkulacji limfocytów pozwalają na natychmiastową reakcję komórek pamięci i limfocytów stymulowanych skierowaną przeciw antygenom, które przedostaną się do organizmu przez naskórek, nabłonek jelit czy płuc. Jednocześnie, umożliwiają komórkom dziewiczym pobyt we wtórnych tkankach limfatycznych, których mikrośrodowisko spełnia ściśle określone wymagania dla aktywacji tych komórek (M a c k a y 1991)

MIGRACJA LIMFOCYTÓW

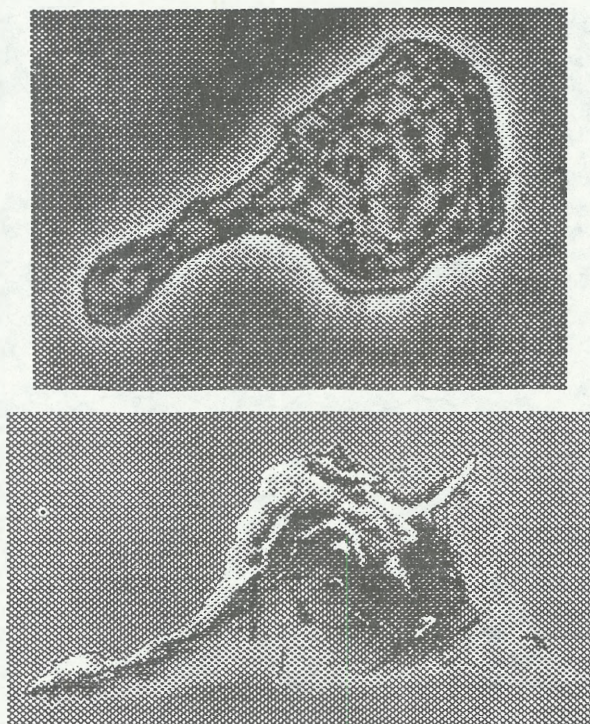
Cytoszkieleł komórkowy zbudowany jest z trzech współdziałających ze sobą systemów fibrylarnych: sieci aktyno-miozynowej, mikrotubul i filamentów pośrednich. Bierze on udział w takich podstawowych zjawiskach jak migracja, zmiany kształtu, adhezja, interakcje międzykomórkowe, a być może również przekazywanie informacji z błony komórkowej do jądra. Aby spełniać te funkcje, filamenty muszą być połączone z błoną bądź bezpośrednio, bądź poprzez białka łączące. W komórkach migrujących połączenia aktyny z błoną są krótkotrwałe, równie szybko się tworzą, jak i rozpadają. W komórkach nie migrujących są silniejsze i bardziej trwałe. Połączenia cytoszkieletu z błoną z jednej strony stabilizują więc kształt komórki, z drugiej, dzięki swej dynamice, umożliwiają jego zmiany: wysuwanie i wycofywanie pseudopodiów, formowanie mikrokosmków, endo- i egzocytozę.

Organizacja cytoszkieletu jest ściśle związana z kształtem komórki i mechanizmem lokomocji. Cytoszkieleł większości komórek, które formują pseudopodia, charakteryzuje się lokalizacją sieci aktyno-miozynowej pod błoną komórkową, promienistym układem mikrotubul wzrastających od centrum ku peryferiom komórki oraz siecią filamentów pośrednich, łączących organelle komórkowe ze strukturami podbłonowymi. Taką organizację cytoszkieletu mają zwierzęce komórki tkankowe, które poruszają się ruchem ameboidalnym: neurony,

fibroblasty, ruchliwe komórki epitelialne, granulocyty, makrofagi i limfocyty (Bershadsky, Vasiliev 1988). Różnią się one między sobą typem filamentów pośrednich, stopniem rozwoju systemu mikrotubularnego oraz peryferyjnego korteksu komórki. Wydaje się, że u leukocytów podobnie jak u swobodnie żyjących ameb korteks osiągnął znacznie wyższy stopień organizacji niż u fibroblastów, co ułatwia wysuwanie i wycofywanie pseudopodiów, a więc szybką reorganizację kształtu komórki. Leukocyty charakteryzują się też tzw. mikrotubulowo-niezależnym wariantem stabilizacji, który polega na wysuwaniu nowych pseudopodiów w kierunku mniej więcej równoległym do orientacji filamentów aktynowych. Ten rodzaj stabilizacji jest znacznie mniej efektywny niż stabilizacja fibroblastów i pozwala na częstą zmianę kierunku ruchu (prostoliniowe odcinki szlaków migracji leukocytów mają długość tylko 30-70 μm) (Gudima i in. 1988; Bershadsky, Vasiliev 1988). U fibroblastów za polaryzację i stabilizację kształtu komórki odpowiedzialny jest system mikrotubularny, rozwinięty lepiej niż u leukocytów. Depolaryzacja mikrotubul nie hamuje aktywności pseudopodialnej fibroblastów, ale hamuje ich ruch kierunkowy po podłożu. U fibroblastów traktowanych substancjami działającymi destrukcyjnie na mikrotubule (kolchicina, vinblastyna, kolcemid) miejsce formowania pseudopodiów jest całkowicie przypadkowe. Dezintegracja mikrotubul u leukocytów natomiast nie hamuje ich migracji, choć wpływa na pewne zjawiska związane z funkcjami lokomotorycznymi tych komórek (Gudima i in. 1988; Bershadsky, Vasiliev 1988). Stwierdzono, że kolchicina wzmacnia swobodną migrację limfocytów zależną od stężenia czynnika chemokinetycznego w nieobecności gradientu. Jednak traktowane kolchiciną lub vinblastyną, komórki te tracą zdolność do rozpoznawania gradientu i reakcji chemotaktycznej (Russell i in. 1975). Rola mikrotubul ogranicza się więc u leukocytów do podtrzymywania takich zjawisk, jak: chemotaksja (Anderson i in. 1982; Ramsey, Harris 1973), interakcja limfocytów T z innymi komórkami (Geiger i in. 1982), czy fagocytoza u makrofagów (Piasek, Thyberg 1980). Integracja mikrotubul w tych komórkach nie jest więc wymagana do lokomocji jako takiej, ale odgrywa ważną rolę w ukierunkowywaniu ruchu. Podobną funkcję jak system mikrotubularny w komórkach tkankowych, u swobodnie żyjących ameb pełni jądro komórkowe (Grębecka 1992).

Pomimo olbrzymich biologicznych i morfologicznych różnic pomiędzy amebami i leukocytami, wszystkie te komórki mają pewne wspólne cechy. W przeciwieństwie do fibroblastów nie rozplaszczają się na podłożu (ich ciało jest wydłużone, ale nie płaskie) i poruszają się znacznie szybciej. Fibroblasty migrują z prędkością 0,5-2 $\mu\text{m} \cdot \text{min}^{-1}$, leukocyty mogą się poruszać z szybkością 10-15 $\mu\text{m} \cdot \text{min}^{-1}$. Najszybciej spośród białych krwinek migrują limfocyty, najwolniej makrofagi (Gudima i in. 1988; Bershadsky, Vasiliev 1988). Podczas gdy rozplaszczanie jest konieczne do migracji fibroblastów, hamuje ono lokomocję komórek krwi. Rozplaszczone, nieruchome granulocyty są tak silnie przyczepione do podłoża, że nie odrywa ich siła z powodzeniem wystarczająca do

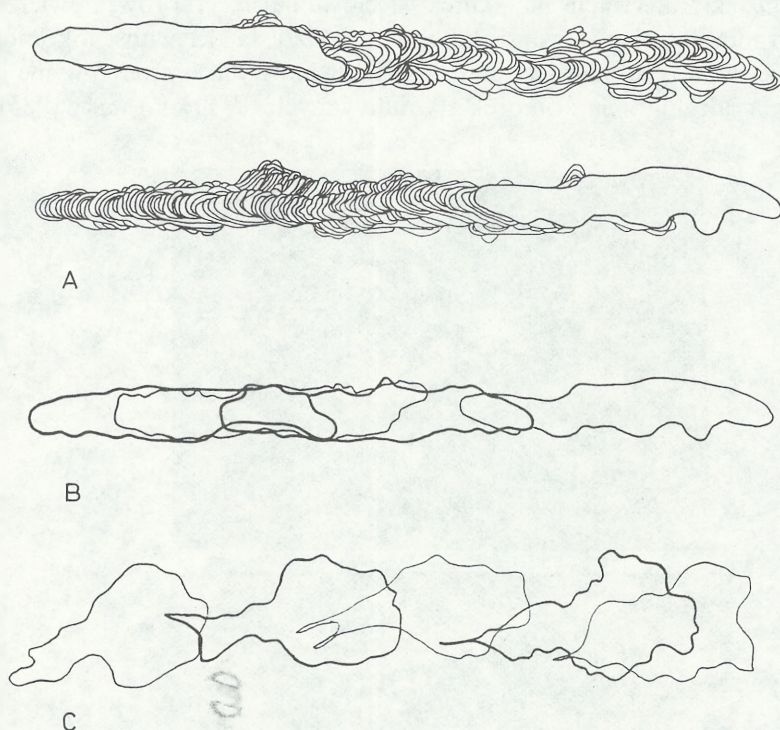
zerwania kontaktów pomiędzy podłożem a komórkami migrującymi (D o r o - s z e w s k i , K i w a ł a 1988). Zarówno makrofagi, jak i granulocyty zaprzestają migracji po kontakcie z antygenem, który powoduje ich „spreading” (rozpłaszczanie) (G u d i m a i in. 1988). Odmienne reaguja na kontakt z antygenem limfocyty. Dzięki aktywacji na skutek sieciowania receptorów powierzchniowych u komórek tych pojawia się lub znacznie wzrasta aktywność lokomotoryczna. Stwierdzono, że migracja małych, spoczynkowych limfocytów nie jest tak efektywna jak migracja komórek stymulowanych (W i l k i n s o n 1986).



Rys. 8. Migrujący limfocyt. A — widok z góry. B — widok z boku. Rekonstrukcje te wykonano na podstawie zdjęć publikowanych w „Living Blood Cells and Their Ultrastructure”, Marcel Bessis

Już L e w i s (1931) zaobserwował, że migracja limfocytów jest podobna do migracji ameb (rys. 9). Za przepływ endoplazmy i ruch tych komórek uczynił odpowiedzialnym skurcz warstwy peryferyjnej, połączony z jej solifikacją w tylnym biegunie komórki. Wysuwanie pseudopodiów wiązało z lokalnymi zmianami w korteksie komórki oraz żelifikacją warstwy kurczliwej u podstawy nibynóżki. Zlokalizował punkty przyczepu komórki tylko w jej strefie przedniej, co wyjaśniło gwałtowne przesuwanie się tylnych rejonów komórki podczas

zmiany kierunku ruchu. Scharakteryzował też „przeciskanie się” limfocyty przez dynamiczne przewężenie komórkowe, analogiczne do występującego u ameb „constricting ring”.



Ryc. 9. Schemat migracji ortotaktycznej formy *Amoeba proteus* (A i B) oraz limfocyty T (C). Podobieństwo lokomocji obu typów komórek widoczne jest dzięki zastosowaniu tej samej techniki analizy ruchu (B i C). Właściwe proporcje pomiędzy rozmiarami komórek oraz tempem ich migracji celowo nie zostały zachowane dla uzyskania lepszej czytelności rysunku. Długość *Amoeba proteus* ok. 600 μm . Tempo migracji ok. 200 $\mu\text{m}/\text{min}^{-1}$. Długość migrującego limfocyty ok. 15 μm . Tempo migracji ok. 10 $\mu\text{m}/\text{min}^{-1}$

Pierścień kurczliwy stanowi morfologiczne odzwierciedlenie fali skurczów, której usytuowanie wzdłuż długiej osi komórki jest zmienne. Pierścień kurczliwy pojawia się u podstawy formującego się pseudopodium i staje się coraz wyraźniejszy w miarę wydłużania się nibynóżki. Za jądrem komórki średnica pierścienia wyraźnie się zmniejsza i przestaje on być widoczny na powierzchni wydłużonego uropodu. W komórkach przyczepionych do podłoża pierścień kurczliwy pozostaje nieruchomy w stosunku do punktów podłoża. Czas, w którym komórka przeciska się przez pierścień, wynosi 20-30 s. W komórkach zawieszonych w roztworze pierścień przesuwa się wzdłuż nieruchomego limfocyty (H a s t o n , S h i e l d s 1984). Pierścienie formowane są w czasie migracji

w nieregularnych odstępach czasu, a głębokość kolejnych bruzd może być różna, co świadczy o zróżnicowanej sile skurczów.

Stymulacja limfocyty, niezależnie od tego czy wywołana jest specyficznym antygenem, przeciwciałem, adhezją do komórek endotelialnych lub niekomórkowego podłoża, czy też czynnikiem chemotaktycznym zawsze prowadzi do zmiany kształtu komórki ze sferycznego do wydłużonego, spolaryzowanego (G u d i m a i in. 1988). Limfocyty polaryzują się w ciągu 0,5-1 min od momentu adhezji do podłoża (G u d i m a i in. 1988), przybierając charakterystyczny kształt zwierciadła z rączką, którą stanowi wydłużony uropod (rys. 8). Na jego powierzchni stale tworzone są i wycofywane liczne mikrokosmki, za pośrednictwem których limfocyt łączy się z powierzchnią innych limfocytów albo makrofagów (M c F a r l a n d 1969). Te wyspecjalizowane struktury są jedynymi w swoim rodzaju. U pozostałych komórek ssaków, jeśli występują, zlokalizowane są przede wszystkim na przednim biegunie komórki. W strefie frontalnej migrującego limfocyty stale wysuwane jest nowe lamellipodium (ryc. 8B), które przylega do podłoża. W przypadku diapedezy wbudowuje się ono w wąską szczelinę pomiędzy komórkami warstwy endotelium (V e r s c h u e r e n i in. 1990).

Z morfologicznymi zmianami kształtu stymulowanych limfocytów wiąże się polaryzacja struktur cytoszkieletalnych, a także redystrybucja komponentów błonowych. Niezależnie od tego, jaką drogą przekazywany jest sygnał aktywujący do wnętrza komórki, zawsze jednym z pierwszych zjawisk występujących na skutek aktywacji jest wzrost stężenia wolnego wapnia w cytoplazmie (L e e i in. 1988; J o r d a n i in. 1991; B o u r g u i g n o n, B o u r g u i g n o n 1984). Zależne od CA^{++} : fosforylacja i defosforylacja miozyny (F e c h h e i m e r, C e b r a 1982), dezorganizacja i integracja mikrotubul (B o u r g u i g n o n, B o u r g u i g n o n 1984) polimeryzacja i depolimeryzacja filamentów aktynowych (K o r n 1988; B o u r g u i g n o n, B o u r g u i g n o n 1984; Y i n, H a r t w i g 1988) oraz wiązanie receptorów powierzchniowych z białkami cytoszkieletalnymi (B o u r g u i g n o n, B o u r g u i g n o n 1984) odpowiedzialne są za regulację ruchu komórki i agregację receptorów powierzchniowych. Siciowanie receptorów przez różne ligandy związane jest z ruchem białek integralnych w płaszczyźnie błony. Prowadzą one do ich agregacji najpierw w małe grupy, zwane „patches”, a potem w jeden duży kompleks — „cap”. Zjawisko to określane anglojęzycznym terminem „capping” wiąże się z aktywacją i polaryzacją limfocytów. Występuje głównie w komórkach migrujących. Agregaty receptorów zbierają się zawsze w strefie formującej uropod w aktywowanych sferycznych limfocytach oraz w tylnym biegunie poruszających się komórek. Już w 1971 roku T a y l o r i współpracownicy, odkrywcy „capping’u” u limfocytów, sugerowali udział filamentów kurczliwych w tym zjawisku. Dalsze badania „capping’u” u limfocytów potwierdziły tę sugestię. Stwierdzono, że skupiające się receptory powierzchniowe limfocytów tworzą dość stałe połączenia z cytoszkieletem (H a s t o n, S h i e l d s 1984;

Bourguignon, Bourguignon 1981; Bourguignon i in. 1978; Butman i in. 1980; Flanagan, Koch 1978). Siła tych połączeń wzrasta gdy białka błonowe powiązane są przez ligandy. Ustalono również, że wiązanie receptorów z cytoszkieletem zachodzi przed formowaniem „cap” (Haston, Shields 1984; Bourguignon, Singer 1977). Bezpośrednio pod powierzchnią „cap” znaleziono skumulowane filamenty aktyny i miozyny (Bourguignon 1980; Bourguignon, Rozek 1980; Bourguignon, Singer 1977; Bourguignon i in. 1978; Butman i in. 1980; Singer i in. 1978; Sundqvist, Ehrnst 1976; Toh, Hard 1977; Gabbiani i in. 1977). Dziś wiadomo, że dla wystąpienia „capping” konieczna jest pewna dezorganizacja mikrotubul (Bourguignon, Bourguignon 1984) i kurczenie się sieci aktyno-miozynowej. Inhibitory interakcji między aktyną i miozyną (cytochalazyna B i D) hamują zarówno „capping”, jak i migrację limfocytów (Barshadsky, Vasiliev 1988), podczas gdy działanie kolchicyny może prowadzić nawet do spontanicznego formowania „cap” bez udziału ligandów (Bourguignon, Bourguignon 1984; Bershadsky, Vasiliev 1988). Właściwie wszystkie elementy cytoszkieletu komórkowego zaangażowane są w polarne ruchy białek błonowych. Z „capping’iem” związana jest nie tylko polaryzacja aktyny i miozyny, ale także polaryzacja białek wiążących filamenty aktynowe z białkami integralnymi oraz białek sieciujących filamenty aktynowe, a także polaryzacja filamentów pośrednich. Pod agregatem receptorów gromadzą się u limfocytów oprócz aktyny i miozyny takie białka jak α -aktynina, fodryna, ankyryna (Bourguignon, Bourguignon 1984; Bershadsky, Vasiliev 1988), a także vimentyna, która jest podstawowym składnikiem filamentów pośrednich w komórkach T i B (Dellagi, Brouet 1982; Bourguignon, Bourguignon 1984). Sugeruje się, że polarność komponentów cytoszkieletu może odgrywać istotną rolę przy kontaktach limfocytów z innymi komórkami (Lee, Repasky 1987).

Nie bez znaczenia dla ruchu receptorów powierzchniowych pozostaje również stopień płynności błony komórkowej. Zwiększa się on na skutek aktywacji limfocytów i być może związanej z nią redystrybucji spektryny w cytoplazmie komórki (Lee i in. 1988). Prawdopodobnie białko to bierze udział w utrzymywaniu asymetrycznego układu fosfolipidów w obu warstwach błony. Wydaje się, że podobnie jak u erytrocytów, organizacja lipidów w błonie komórkowej limfocytów jest również skorelowana z rozmieszczeniem spektryny. Gdy zerwane są połączenia spektryny z dwuwarstwą lipidową następuje przesegregowanie lipidów pomiędzy warstwą wewnętrzną i zewnętrzną błony, co prowadzi do rozluźnienia upakowania cząsteczek w tej ostatniej i zwiększenia jej płynności. Luźno uorganizowane lipidy mogą ułatwiać nie tylko „capping” receptorów, ale również sprzyjać adhezji komórek (Dei Buono i in. 1988).

Aktywacja limfocyty, jego adhezja do podłoża i polaryzacja to przygotowanie komórki do migracji. Wydaje się, że kurczenie korteksu komórkowego, generujące siłę motoryczną, zachodzi u leukocytów dzięki interakcji aktyny

i miozyny. Lamellipodia leukocytów w przeciwieństwie do pseudopodiów innych komórek zawierają duże ilości miozyny (Bershadsky, Vasiliev 1988). Wysuwanie każdego pseudopodium związane jest z lokalną reorganizacją cytoszkieletu komórkowego (formowanie sieci aktyno-miozynowej pod błoną nowo powstającej nibynóżki, odśrodkowy wzrost mikrotubul, przyrost filamentów pośrednich). Zmiany te może wywołać oddziaływanie specyficznych substancji sygnałowych. Sygnał odbierany przez receptor przekazywany jest do wnętrza komórki. Najlepiej poznanym mechanizmem aktywacji limfocytów T jest przekazywanie sygnału za pośrednictwem białek G na błonowy enzym PLC. Katalizuje ona hydrolizę jednego z fosfolipidów inozytolowych znajdujących się w błonie komórkowej, a mianowicie PIP_2 do $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ (zwanego potocznie trifosfoinozytolem) oraz DG. Związki te są wewnątrzkomórkowymi przekąźnikami informacji. DG pozostaje w błonie komórkowej aktywując kinazę białkową C, która odpowiedzialna jest za defosforylację InsP_3 do nieaktywnych $\text{Ins}(1,4)\text{P}_2$ i $\text{Ins}(4)\text{P}$. Natomiast trifosfoinozytol zostaje uwolniony do cytosolu, gdzie wraz ze wzrostem jego stężenia rośnie stężenie jonów Ca^{2+} (Poddana, Baranska 1991; Bershadsky, Vasiliev 1988). Indukuje ono lokalną polimeryzację aktyny. Czas, w którym InsP_3 wywołuje wewnątrzkomórkową mobilizację Ca^{2+} jest rzędu sekund. Równie szybko przekąźnik ulega defosforylacji. Spada wówczas stężenie wolnego wapnia, a nowe filamenty, zgodnie z teorią Yin i Hartwig (1988), przesuwają błonę komórkową ku przodowi.

Sugeruje się, że u limfocytów sygnał związany z działaniem czynnika chemotaktycznego przekazywany jest przez białka G, a więc aktywuje PLC oraz cyklazę adenylową katalizującą tworzenie cAMP (Braaten i in. 1984; Wilkinson, Watson 1990). Natomiast aktywacja lokomotoryczna związana z pobudzeniem do wzrostu, proliferacji i różnicowania komórek nie jest przekazywana via białko G. Sygnał dla tego typu reakcji może być przekazywany drogą taką jak dla zjawisk indukowanych mitogenami (Wilkinson, Watson 1990), a więc poprzez integryny związane bezpośrednio z cytoszkieletem lub białka związane z GPI. Jednym z takich białek jest antygen CD73, występujący na powierzchni ludzkich limfocytów T i B (Robinson 1991). Sieciowanie tego białka jest związane ze wzrostem stężenia Ca^{2+} w cytosolu komórki, ale nie wiadomo czy jest konsekwencją działania InsP_3 , czy też wapń pochodzi z innych źródeł, np. środowiska. Aktywacja limfocytów przez białka połączone z GPI jest ściśle związana z produkcją IL-2 i prowadzi do proliferacji komórek. Ponieważ ruchliwość stymulowanych limfocytów zależna jest od fazy cyklu komórkowego (rozpoczyna się w fazie G_1 po kilkugodzinnej interakcji limfocytów z APC i wygasa w fazie G_2) (Cavender, Edelbaum 1988; Wilkinson, Watson 1990) jest bardzo prawdopodobne, że sygnał dla niej przekazywany jest właśnie za pośrednictwem GPI.

Lokomocja zarówno ameb, jak i leukocytów kontrolowana jest przez czynniki zewnętrzne. Każdy typ komórek ma swoje charakterystyczne spektrum

czynników, które indukują wysuwanie pseudopodiów oraz różne rodzaje powierzchni, do których pseudopodia te mogą adherować. Te różnice zależą od obecności rozmaitych receptorów prezentowanych na powierzchni różnych komórek. Mogą one albo jednocześnie przekazywać sygnał aktywujący do wnętrza komórki i pośredniczyć w tworzeniu punktów przyczepu, albo pełnić tylko jedną z tych funkcji. Ligandy indukujące tworzenie nibynózek nie muszą więc być takie same jak cząsteczki substratu, do których nibynóżki te będą adherowały. Błony limfocytów, podobnie jak innych migrujących komórek, zawierają receptory dla wielu białek ECM, takich jak kolageny różnych typów, laminina czy fibronektyna. Glikoproteiny te wyznaczają szlaki migracji i pozycjonują limfocyty w pozakomórkowej macierzy oraz parenchymie węzłów limfatycznych. Wspomniane receptory wiążą się albo bezpośrednio (receptor lamininowy), albo pośrednio poprzez białka łączące (receptor fibronektynowy) z filamentami cytoszkieletu zaangażowanymi również w adhezję komórek (Niggli, Burger 1987).

Lokomocja limfocytów może być również kierowana przez czynniki chemo-taktyczne. Immunokompetentne komórki reagują zarówno na zmiany stężeń tych czynników (chemokineza), jak też na gradient stężenia chemoatraktanta (chemotaksja) (Russell i in. 1975; Fehseimer, Cebra, 1982). Reakcja chemokinetyczna polega tylko na zwiększeniu lub spadku szybkości migracji komórek. Wzrost stężenia czynnika chemokinetycznego może powodować zmianę tempa lokomocji z 4 do 15 $\mu\text{m}/\text{min}^{-1}$. (Harris 1953). Gradient chemotaktyczny nie tylko przyspiesza ruch, ale również go ukierunkowuje. Populacje limfocytów różnią się między sobą reakcjami na czynniki chemotaktyczne (Russell i in. 1975) co może mieć związek z proponowanymi różnicami w mechanizmie lokomocji występującymi pomiędzy komórkami T i B (Pinkston, Finch 1981; Hoffman i in. 1983; Shields i in. 1984). Sugeruje się, że limfocyty odbierają gradient analogicznie do sposobu proponowanego dla polimorfonuklearych leukocytów. Posługują się one, tzw. przestrzennym mechanizmem sensorycznym, który umożliwia komórkom zlokalizowanie źródła gradientu i właściwe ukierunkowanie bez wykonywania ruchów penetrujących w różnych kierunkach (Noble, Bentley 1981).

Chemotaksja, jak wiele innych zjawisk biologicznych może mieć pozytywny lub negatywny skutek dla organizmu. Dzięki reakcji chemotaktycznej limfocyty migrują do miejsc zapalnych, w których produkowane są i wydzielane różne czynniki chemotaktycznie pozytywne — cytokiny. Stwierdzono ostatnio, że tylko fagocyty makrofagi są źródłem bodźca chemotaktycznego, obok komórek nie fagocytyujących limfocyty przechodzą obojętnie nawet jeśli dzieli je od nich zaledwie 10 μm (Wilkinson 1990). „Homing” prekursorów komórek T do grasicy zachodzi również dzięki chemotaksji. Równocześnie jednak, negatywna chemotaksja może uniemożliwić limfocytom podjęcie walki z komórkami nowotworowymi. Chociaż wczesne i przedzłośliwe stadia zmian nowotworowych mogą indukować nawet pozytywną reakcję chemotaktyczną lim-

focytów, mikrośrodowisko nowotworów inwazyjnych niezmiennie hamuje ich lokomocję. Uniemożliwia ono limfocytom dotarcie poprzez ECM do patologicznie zmienionych komórek (Noble, Bentley 1980; Applegate i in. 1990). Chemotaksja jest więc w tym przypadku czynnikiem ograniczającym właściwości obronne organizmu.

* * *

Skróty użyte w tekście:

APC	— komórki prezentujące antygeny (antigen presenting cells)
BCR	— antygenowy receptor komórek B (B-cell receptor)
cAMP	— cykliczne AMP (adenozyno mono-fosforan)
CLA	— cutaneous lymphocyte associated antigen
DG	— 1,2-diacyloglicerol
ECM	— pozakomórkowa macierz (extracellular matrix)
ELAM-1	— endothelium-leukocyte adhesion molecule 1
GPI	— glikofosfatydyloinozytol
ICAM-1-2	— intracellular cell adhesion molecule 1 i 2
IL-1, -2, -3, -4, -6	— interleukina 1,2,3,4,6
INF γ	— interferon γ
Ins(4)P	— inozytolo-4-monofosforan
Ins(1,4)P ₂	— inozytolo-1, 4-dwufosforan
InsP ₃	— inozytolo-1,4,5-trójfosforan
LECAM-1	— leukocyte-endothelial cell adhesion molecule 1
LFA-1	— lymphocyte function-associated antigen 1
LPAM-1	— lymphocyte Peyer's patch adhesion molecule 1
MHC	— główny układ zgodności tkankowej (major histocompatibility complex)
PIP ₂	— fosfatydylo-inozytolo-4,5-dwufosforan
PLC	— fosfolipaza C
TCR-CD3	— antygenowy receptor komórek T (T-cell receptor) i związany z nim kompleks cząsteczkowy CD3
T _c	— limfocyty cytotoksyczne (cytotoxic T-cells)
T _h	— limfocyty wspomagające (helper T-cells)
T _s	— limfocyty supresorowe (suppressor T-cells)
TNF	— tumor necrosis factor
VCAM-1	— vascular cell adhesion molecule 1
VLA-4, 5-, 6-	— very late antigens

LYMPHOCYTES — FUNCTIONS AND MOVEMENT

Summary

Lymphocytes are central elements of the immune system. They are extraordinarily mobile cells, continuously circulating between the peripheral lymphoid organs via the lymph and blood throughout much of their life span. Circulating lymphocytes leave the bloodstream by binding to specialized high endothelial cells (HEV) lining postcapillary venules in lymphoid organs or adhering to activated endothelium near the sites of inflammation, and then migrating through the vessel wall into the surrounding tissue. The mode of locomotion of the lymphocytes is essentially similar to that of the amoeba. The capacity of lymphocytes to recognize and bind to HEV is a regulated property of

mature lymphocytes and probably plays a fundamental role in controlling lymphocytes traffic and recirculation in animals and humans. Lymphocyte recirculation is a complex process. The dynamics of this system provides each lymphoid organ with millions of newly entering lymphocytes each day. The constant flux of lymphocytes throughout the lymphoid tissue appears to be a necessary component of the functional immune system. An invasion of microorganisms may occur anywhere on the body surface, and they may be distributed by lymph or blood flow to any tissue. The migration of recirculating lymphocytes from the bloodstream to particular lymphoid sites has been called „homing”, and the cell structures they used to recognize and adhere to lymphoid organ HEV has been called „homing receptors”. Lymphocyte homing to these sites appear to be regulated by the expression of complementary adhesion molecules on two different types of cells — the mature recirculating immunocompetent lymphocytes, and the specialized lymphoid organ-specific HEV.

LITERATURA

- Akbar A.N., Salmon M., Janossy G. — *The synergy between naive and memory T cells during activation*. Immunology Today 12: 184–188, 1991.
- Akbar A.N., Terry L., Timms A., Beverley P.C., Janossy G. — *Loss of CD45R and gain of UCHL1 reactivity is a feature of primed T cells*. J. Immunol. 144: 1233–1240, 1990.
- Anderson D.C., Butcher E.C., Gallatin M., Rosen S., Kishimoto K., Lasky L., Miyasaka M., Scollay R., Smith C.W., Haskard D. — *Peripheral lymph node homing receptor (LECAM-1)*. Immunology Today 12: 216, 1991.
- Anderson D.C., Wible L.J., Hughes B.J., Smith C.W., Brinkley B.R. — *Cytoplasmic microtubules in polymorphonuclear leukocytes: effects of chemotactic stimulation and colchicine*. Cell 31: 719–729, 1982.
- Applegate K.G., Balch C.M., Pellis N.R. — *In vitro migration of lymphocytes through collagen matrix: arrested locomotion in tumor-infiltrating lymphocytes*. Cancer Res. 50: 7153–7158, 1990.
- Bershadsky A.D., Vasiliev J.M. — *Cytoskeleton*, Plenum Press., New York, London, 1988.
- Bessis M. — *Living Blood Cells and their Ultrastructure*, Springer — Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1973.
- Beverley P.C. — *Human T-cell memory*. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 159: 111–122, 1990.
- Billingham M.D., Warnke R., Weissman I.L. — *The cellular infiltrate in cardiac allograft rejection in mice*. Transplantation 23: 171–176, 1977.
- Bourguignon G.J., Bourguignon L.Y.W. — *Isolation and initial characterization of a lymphocyte cap structure*. Biochimica et Biophysica Acta 646: 109–119, 1981.
- Bourguignon L.Y.W. — *Simultaneous localization of intracellular myosin and surface Con-A receptor clusters using immuno-electron microscopy*. Cell Biol. Int. Rep. 4: 541–547, 1980.
- Bourguignon L.Y.W., Bourguignon G.J. — *Capping and the Cytoskeleton*. Int. Rev. Cytol. 87: 195–224, 1984.
- Bourguignon L.Y.W., Hyman R., Trowbridge I., Singer S.J. — *Participation of histocompatibility antigens in capping of molecularly independent cell surface components by their specific antibodies*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75: 2406–2410, 1978.
- Bourguignon L.Y.W., Rozek R.J. — *Capping of Con-A receptors and their association with microfilaments in monolayer grown human fibroblastoid cells*. Cell Tissue Res. 205: 77–84, 1980.
- Bourguignon L.Y.W., Singer S.J. — *Transmembrane interactions and the mechanism of capping of surface receptors*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74: 5031–5035, 1977.
- Braaten B.A., Spangrude G.J., Daynes R.A. — *Molecular mechanism of lymphocyte extravasation II Studies of in vitro lymphocyte adherence to high endothelial venules*. J. Immunol. 133: 117–124, 1984.

- Burnet F.M. — *The clonal selection theory of acquired immunity*, Vanderbilt University Press, Nashville, 1959.
- Butman B.T., Bourguignon G.J., Bourguignon L.Y.W. — *Lymphocyte capping induced by polycationized ferritin*. J. Cell. Physiol. 105: 7–15, 1980.
- Cavender D., Saegusa Y., Ziff M. — *Stimulation of endothelial cell binding of lymphocytes by tumor necrosis factor*. J. Immunol. 139: 1855–1860, 1987.
- Cavender D.E. — *Lymphocyte adhesion to endothelial cells in vitro: models for the study of normal lymphocyte recirculation and lymphocyte emigration into chronic inflammatory lesions*. J. Invest. Dermatol. 93: 88–95, 1989.
- Cavender D.E., Edelbaum D. — *Inhibition by IL-1 of endothelial cell activation induced by tumor necrosis factor or lymphotoxin*. J. Immunol. 141: 3111–3116, 1988.
- Cavender D.E., Haskard D.O., Joseph B., Ziff M. — *Interleukin 1 increases the binding of human B and T lymphocytes to endothelial cell monolayers*. J. Immunol. 136: 203–207, 1986.
- Clevers H., Alarcon B., Wileman T., Terhorst C. — *The T cell receptor/CD3 complex: a dynamic protein ensemble*. Annu. Rev. Immunol. 6: 629–662, 1988.
- Damle N.K., Aruffo A. — *Vascular cell adhesion molecule 1 induces T-cell antigen receptor-dependent activation of CD4+ T lymphocytes*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 6403–6407, 1991.
- Damle N.K., Doyle L.V. — *Ability of human T lymphocytes to adhere to vascular endothelial cells and to augment endothelial permeability to macromolecules is linked to their state of post-thymic maturation*. J. Immunol. 144: 1233–1240, 1990.
- de Sousa M., Tilney N.L., Kupiec-Weglinski J.W. — *Recognition of self within self: specific lymphocyte positioning and the extracellular matrix*. Immunology Today 12: 262–266, 1991.
- Del Buono B.J., Williamson P.L., Schlegel R.A. — *Relation between the organization of spectrin and of membrane lipids in lymphocytes*. J. Cell Biol. 106: 697–703, 1988.
- Dellagi K., Brouet J.C. — *Redistribution of intermediate filaments during capping of lymphocyte surface molecules*. Nature 298: 284–286, 1982.
- Doroszewski J., Kiwala A. — *Adhesion and locomotion of granulocytes under flow condition*. J. Cell Sci. 90: 335–340, 1988.
- Falkoff R.J.M., Muraguchi A., Hong J.X., Butler J.L., Dinarello C.A., Fauci A.S. — *The effects of interleukin 1 on human B cell activation and proliferation*. J. Immunol. 131: 801–805, 1983.
- Fechheimer M., Cebra J.J. — *Phosphorylation of lymphocyte myosin in vitro and in intact cells*. J. Cell Biol. 93: 261–268, 1982.
- Flanagan J., Koch G.L.E. — *Cross-linked surface Ig attaches to actin*. Nature 273: 278–281, 1978.
- Ford W.L. — *Lymphocyte migration and immune responses*. Progr. Allergy 19: 38–59, 1975.
- Foster C.A., Yokozeki H., Rappersberger K., Koning F., Volc Platzer B., Rieger A., Coligan J.E., Wolff K., Stingl G. — *Human epidermal T cells predominantly belong to the lineage expressing alpha/beta T cell receptor*. J. Exp. Med. 171: 997–1013, 1990.
- Gabbiani G., Chaponnier C., Zumbe A., Vassalli P. — *Actin and tubulin co-cap with surface immunoglobulins in mouse B lymphocytes*. Nature 269: 697–698, 1977.
- Gallagher R.B., Osmond D.G. — *To B, or not to B: that is the question*. Immunology Today 12: 1–3, 1991.
- Gallatin M., John T.P.St., Siegelman M., Reichert R., Butcher E.C., Weissman I.L. — *Lymphocyte homing receptors*. Cell 44: 673–680, 1986.
- Gallatin W.M., Weissman I.L., Butcher E.C. — *A cell-surface molecule involved in organ-specific homing of lymphocytes*. Nature 304: 30–34, 1983.
- Geiger B., Rosen D., Berke G. — *Spatial relation of microtubule-organizing centers and the contact area of cytotoxic T lymphocytes and target cells*. J. Cell Biol. 95: 137–143, 1982.

- Goldschneider I. — *Current Topics in Developmental Biology Immunological Approaches to Embryonic Development and Differentiation Part II*, Academic Press, New York, London, Toronto, Sydney, San Francisco, 1980.
- Gowans J.L., Knight E.J. — *The route of recirculation of lymphocytes in the rat*. Proc. Royal Soc. 159: 257–290, 1964.
- Grebecka L. — *Externally applied nucleus explantant orientates the locomotion of Amoeba proteus*. Eur. J. Protistol. 1992. (In Press)
- Gudima G.O., Vorobjev I.A., Chentsov Yu.S. — *Centriolar location during blood cell spreading and motion in vitro: an ultrastructural analysis*. J. Cell Sci. 89: 225–241, 1988.
- Hall J.G., Parry D.M., Smith M.E. — *The distribution and differentiation of lymphborne immunoblasts after intravenous injection into syngeneic recipients*. Cell Tissue Kinet. 5: 269–281, 1972.
- Harris H. — *The movement of lymphocytes*. Brit. J. exp. Pathol. 34: 554–560, 1953.
- Haston W.S., Shields J.M. — *Contraction waves in lymphocyte locomotion*. J. Cell Sci. 68: 227–241, 1984.
- Hoffman R.A., Ascher N.L., Hanto D.W., Simmons R.L. — *The migration of activated murine T lymphocytes in vitro. II. Evidence for differential locomotion of T cell subsets*. J. Immunol. 130: 1610–1615, 1983.
- Jalkanen S., Jalkanen M., Bargatze R., Tammi M., Butcher E.C. — *Biochemical properties of glycoproteins involved in lymphocyte recognition of high endothelial venules in man*. J. Invest. Dermatol. 141: 1615–1623, 1988.
- Jalkanen S.T., Butcher E.C. — *In vitro analysis of the homing properties of human lymphocytes: developmental regulation of functional receptors for high endothelial venules*. Blood 66: 577–582, 1985.
- Jordan M.L., Vidgen D.F., Wright J., Odell M., Mills G.B. — *Sustained increases in cytosolic calcium during T lymphocyte allosensitization, proliferation and acquisition of locomotor function*. Transplantation 51: 464–468, 1991.
- Klausner R.D., Lippincott-Schwartz J., Bonifacino J.S. — *The T cell antigen receptor: insights into organelle biology*. Ann. Rev. Cell Biol. 6: 403–431, 1990.
- Koning F. — *Lymphocyte antigen receptors: a common design?* Immunology Today 12: 100–101, 1991.
- Korn E.D. — *Actin polymerization and its regulation by proteins from nonmuscle cells*. Physiol. Rev. 62: 117–124, 1988.
- Kurt-Jones E.A., Fiers W., Pober J.S. — *Membrane interleukin 1 on human endothelial cells and dermal fibroblasts*. J. Immunol. 139: 2317–2321, 1987.
- Lasky L.A. — *Lectin cell adhesion molecules (LECCAMs): a new family of cell adhesion proteins involved with inflammation*. J. Cell. Biochem. 45: 139–146, 1991.
- Lee J.K., Black J.D., Repasky E.A., Kubo R.T., Bankert R.D. — *Activation induces a rapid reorganization of spectrin in lymphocytes*. Cell 55: 807–816, 1988.
- Lee J.K., Repasky E.A. — *Cytoskeletal polarity in mammalian lymphocyte in situ*. Cell Tissue Res. 247: 195–202, 1987.
- Lewis W.H. — *Locomotion of lymphocytes*. Bull. Johns Hopkins Hosp. 49: 29–36, 1931.
- MacDonald H.R., Budd R.C., Cerottini J.C. — *Pgp-1 (Ly 24) as a marker of murine memory T lymphocytes*. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 159: 97–109, 1990.
- Mackay Ch.R. — *T-cell memory: the connection between function, phenotype and migration pathways*. Immunology Today 12: 189–192, 1991.
- McFarland W. — *Microspikes on the lymphocyte uropod*. Science 163: 818–819, 1969.
- Miossec P., Yu C.-L., Ziff M. — *Lymphocyte chemotactic activity of human interleukin 1*. J. Immunol. 133: 2007–2008, 1984.
- Mizel S.B. — *Interleukin 1 and T cell activation*. Immunol. Rev. 88, 1988.
- Nawroth P.P., Bank I., Handley D., Cassimeris J., Chess L., Stein D. — *Tumor necrosis factor/cachectin interacts with endothelial cell receptors to induce release of interleukin 1*. J. Exp. Med. 163: 1362–1365, 1986.

- Niggli V., Burger M.M. — *Interaction of the cytoskeleton with the plasma membrane*. J. Membrane Biol. 100: 97–121, 1987.
- Noble P.B., Bentley K.C. — *An in vitro study of lymphocyte migration in the presence of premalignant and malignant oral lesion*. Int. J. Oral Surg. 9: 148–153, 1980.
- Noble P.B., Bentley K.C. — *Locomotory characteristics of human lymphocytes undergoing negative chemotaxis to oral carcinomas*. Exp. Cell Res. 133: 457–461, 1981.
- Ooi B.S., MacCarthy E.P., Hui A.S., Ooi Y.M. — *Human mononuclear cell modulation of endothelial cell proliferation*. J. Clin. Lab. Med. 102: 428–451, 1985.
- Pals S.T., Kraal G., Horst E., de Groot A., Scheper R.J., Meijer C.J.L.M. — *Human lymphocyte-high endothelial venule interaction: organ-selective binding of T and B lymphocyte populations to high endothelium*. J. Immunol. 137: 760–763, 1986.
- Piasek A., Thyberg I. — *Effects of colchicine on endocytosis of horseradish peroxidase by rat peritoneal macrophages*. J. Cell Sci. 45: 59–71, 1980.
- Pickler L.J., Kishimoto T.K., Smith C.W., Warnock R.A., Butcher E.C. — *ELAM-1 is an adhesion molecule for skin-homing T cells (see comments)*. Nature 349: 796–799, 1991.
- Pinkston J.A., Finch S.C. — *Human T and B lymphocyte migration under agarose: differences in the characteristics of migrating cells and migration patterns*. Jpn. J. Exp. Med. 51: 261–270, 1981.
- Pitzalis C., Kingsley G., Haskard D., Panayi G. — *The preferential accumulation of helper-inducer T lymphocytes in inflammatory lesions: evidence for regulation by selective endothelial and homotypic adhesion*. Eur. J. Immunol. 18: 1397–1404, 1988.
- Poddana H., Baranska J. — *Udział polifosfoinozytoli w przetwarzaniu informacji w komórkach*. Post. Bioch. 37: 2–5, 1991.
- Ramsey W.S., Harris A. — *Leukocyte locomotion and its inhibition by antimetabolic drugs*. Exp. Cell Res. 82: 262–270, 1973.
- Robinson P.J. — *Phosphatidylinositol membrane anchors and T-cell activation*. Immunology Today 12: 35–41, 1991.
- Rogers A.W. — *Cells and Tissues An Introduction to Histology and Cell Biology*, Academic Press, London, New York, Paris, San Diego, San Francisco, Sao Paulo, Sydney, Tokyo, 1983.
- Rosen S.D., Yednock T.A. — *Lymphocyte attachment to high endothelial venules during recirculation: A possible role for carbohydrates as recognition determinants*. Mol. Cell. Bioch. 72: 153–164, 1986.
- Ruoslahti E. — *Integrins*. J. Clin. Invest. 87: 1–5, 1991.
- Russell R.J., Wilkinson P.C., Sless F., Parrott D.M.V. — *Chemotaxis of lymphoblast*. Nature 256: 646–648, 1975.
- Saltini C., Kirby M., Trapnell B.C., Tamura N., Crystal R.G. — *Biased accumulation of T lymphocytes with “memory” — type CD45 leukocyte common antigen gene expression on the epithelial surface of the human lung*. J. Exp. Med. 171: 1123–1140, 1990.
- Sanders M.E., Makgoba M.W., Shaw S. — *Human naive and memory T cells: reinterpretation of helper-inducer and suppressor-inducer subsets*. Immunol. Today 9: 195–199, 1988.
- Shields I.M., Haston W., Wilkinson P.C. — *Invasion of collagen gels by mouse lymphoid cells*. Immunology 51: 259–268, 1984.
- Shimizu Y., van Seventer G.A., Horgan K.J., Shaw S. — *Roles of adhesion molecules in T-cell recognition: fundamental similarities between four integrins on resting human T cells (LFA-1, VLA-4, VLA-5, VLA-6) in expression, binding, and costimulation*. Immunol. Rev. 114: 109–143, 1990.
- Singer S.J., Ash J.F., Bourguignon L.Y.W., Heggeness M.H., Louvard D. — *Transmembrane interactions and the mechanisms of transport of proteins across membrane*. J. Supramol. Struct. 9: 373–389, 1978.
- Sprent J. — *Fate of H2-activated T lymphocytes in syngeneic hosts: I. Fate in lymphoid tissues and intestines traced with 3H-thymidine, 125I-deoxyuridine and 51 chromium*. Cell Immunol. 21: 278–302, 1976.

- Springer T.A. — *Adhesion receptors of the immune system*. Nature 346: 425–434, 1990.
- Springer T.A., Lasky L.A. — *Sticky sugars for selectins*. Nature 349: 196–197, 1991.
- Steel C.M., Hutchins D. — *Soluble factors and cell-surface molecules involved in human B lymphocyte activation, growth and differentiation*. Biochimica et Biophysica Acta 989: 133–151, 1989.
- Stevens S.K., Weissman I.L., Butcher E.C. — *Differences in the migration of B and T lymphocytes: organ-selective localization in vivo and the role of lymphocyte-endothelial cell recognition*. J. Immunol. 128: 844–851, 1982.
- Stoolman L.M., Tenforde T.S., Rosen S.D. — *Phosphomannosyl receptors may participate in the adhesive interaction between lymphocytes and high endothelial venules*. J. Cell Biol. 99: 1535–1540, 1984.
- Streeter P.R., Berg E.L., Rouse B.T.N., Bargatze R.F., Butcher E.C. — *A tissue-specific endothelial cell molecule involved in lymphocyte homing*. Nature 331: 41–46, 1988.
- Sundqvist K.G., Ehrnst A. — *Cytoskeletal control of surface membrane mobility*. Nature 264: 226–231, 1976.
- Taylor R.B., Duffus W.P.H., Raff M.C., De Petris S. — *Redistribution and pinocytosis of lymphocyte surface immunoglobulin antibody*. Nature 233: 225–229, 1971.
- Tedder T.F., Matsuyama T., Rothstein D. — Eur. J. Immunol. 20: 1351–1355, 1990.
- Toh B.H., Hard G.C. — *Actin co-caps with Con-A receptors*. Nature 269: 695–697, 1977.
- van Maarseveen T., Stam J., de Groot J. — *Lymphocyte-macrophage cooperation in human pulmonary inflammations*. Europ. J. Cell Biol. 53 Suppl. 31: 131, 1990. (Abstract)
- Verschueren H., Dewit J., de Braekeleer J., Dekegel D., de Baetselier P. — *Invasion and motility of T-cell lines in monolayer cultures*. Europ. J. Cell Biol. 53 Suppl. 31: 134, 1990. (Abstract)
- Wilkinson P.C. — *The locomotor capacity of human lymphocytes and its enhancement by cell growth*. Immunology 57: 281–289, 1986.
- Wilkinson P.C. — *Relation between locomotion chemotaxis and clustering of immune cells*. Immunology 69: 127–133, 1990.
- Wilkinson P.C., Watson E.A. — *FK 506 and pertussis toxin distinguish growth-induced locomotor activation from attractant-stimulated locomotion in human blood lymphocytes*. Immunology 71: 417–422, 1990.
- Yin H.L., Hartwig J.H. — *The structure of the macrophage actin skeleton. Macrophage plasma membrane receptors: structure and function*. J. Cell Sci. Suppl. 9: 169–185, 1988.