

NADZIEJA DRELA

*Zakład Immunologii
Instytut Zoologii
Wydział Biologii
Uniwersytet Warszawski
Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa
E-mail: ndrela@biol.uw.edu.pl*

NAGRODA NOBLA 2011: DWA RODZAJE ODPORNOŚCI

TRUDNE POCZĄTKI ODKRYWANIA ODPORNOŚCI

Klasyczne prace Miecznikowa i Ehrlicha z XIX w. wskazywały na istnienie u kręgowców dwóch rodzajów odporności, nazwanych dzisiaj odpornością wrodzoną i nabytą (wcześniej określanych jako nieswoista i swoista), które współpracują ze sobą oraz wykazują niezależne działania. Odporność nabyta opiera się na mechanizmie generowania ogromnej różnorodności receptorów rozpoznających antygeny i występuje jedynie u kręgowców. Odporność wrodzona, której wcześniej przypisywano mniejszą rangę, jest filogenetycznie starsza, występuje u kręgowców i bezkręgowców. Miecznikow wykrył ten rodzaj odporności u rozwielitki i rozgwieżdzy i opisał występujące w nich komórki żerne, broniące rozwielitkę przed zarodnikami grzybów, a rozgwieżdżę przed wnikaniem różnych ciał obcych. Prowadził odtąd intensywne badania nad zjawiskiem fagocytozy również u innych organizmów, w tym u człowieka. Według Miecznikowa, fagocytoza polegała na pochłanianiu drobnoustrojów oraz martwych krwinek czerwonych przez część krwinek białych i uznana została przez uczonego za mechanizm obronny. Ten pogląd spotkał się ze sceptyczną reakcją bakteriologów, także Ludwika Pasteura, którzy uważali, że proces fagocytozy bakterii przez leukocyty służy ich rozprzestrzenieniu w organizmie.

Odkrycia Miecznikowa rozpoczęły erę badań nad odpornością wrodzoną (METCHNIKOV 1884) i już niewiele później, w 1890 r., Massart i Bordet wykazali, że zakażone lub uszkodzone komórki wydzielają substancje chemiczne, które przyciągają makrofagi. Te obserwacje udowodniły, że w obronie organizmu przed mikroorganizmami biorą udział komórki odpornościowe, w tym przypadku makrofagi, które odbierają sygnały o infekcji nie tylko od samych patogenów, ale również od komórek tkanek uszkodzonych w wyniku infekcji. Paul Ehrlich opracował metody barwienia leukocytów, które umożliwiły rozróżnienie ich form morfotycznych i zwrócenie uwagi na limfocyty, odpowiedzialne za rozwój odporności nabytej. Za badania nad odpornością Ilija Miecznikow wraz z Paulem Ehrlichem otrzymali Nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii i medycyny w 1908 r.

Elementy składowe układu odpornościowego identyfikowano stopniowo w ciągu całego XX w., lecz dopiero odkrycia Beutlera, Hoffmanna i Steinmana umożliwiły zrozumienie mechanizmów rozpoznawania patogenów, rozwoju stanu zapalnego i sposobów komunikacji między komórkami uczestniczącymi w odporności wrodzonej i nabytej.

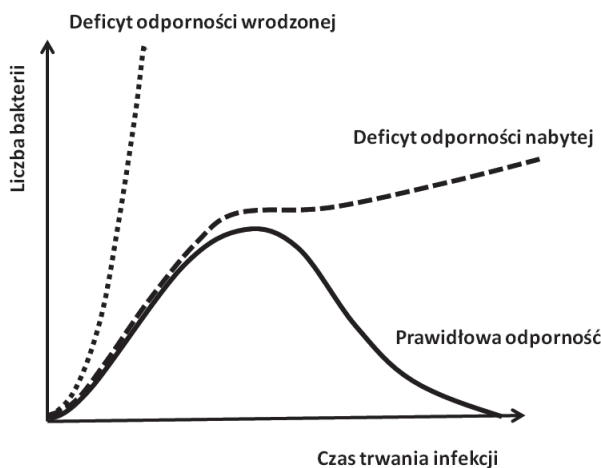
ODPORNOŚĆ WRODZONA I NABYTA

U wszystkich zwierząt wielokomórkowych wykształciły się mechanizmy obronne przed patogenami. Wyróżnia się dwa rodzaje odporności: wrodzoną i nabytą (BŁACH-OLSZEWSKA 2006, MAJEWSKA i SZCZEPANIK 2006). Odporność wrodzona jest uniwersalna, najszybsza w akcji i pod pewnymi względami najważniejsza. Odporność nabyta powstała u kręgowców jako dodatkowy, uzupełniający mechanizm odporności. Odporność wrodzona rozpoczyna się po kilku godzinach od infekcji i stanowi pierwszą linię obrony przed patogenami. Biorą w niej udział komórki żerne (makrofagi, monocyty, neutrofile), eozynofile, bazoofile, komórki tuczne, komórki NK i komórki dendrytyczne oraz czynniki rozpuszczalne (głównie białka układu dopełniacza, interferony typu I produkowane przez komórki zakażone wirusami, peptydy i białka o aktywności przeciwbakteryjnej). Do elementów odporności wrodzonej zaliczane są również bariery anatomiczne jak skóra, błony śluzowe, nabłonek urzęsiony górnych dróg oddechowych oraz enzymy obecne w ślinie, łzach i śluzie, kwaśne pH skóry, soku żołądkowego, wydzieliny gruczołów potowych i łojowych. Receptory komórek odporności wrodzonej odpowiedzialne za roz-

poznawanie patogenów mają ograniczoną różnorodność i wiążą cząsteczki wspólne dla różnych grup patogenów. Odporność wrodzona nie zmienia się w ciągu życia i nie pozostawia pamięci, co oznacza, że nie nasila się po kolejnej infekcji takim samym patogenem. Wydaje się, że receptory komórek odporności wrodzonej nie odgrywają roli w rozwoju chorób autoimmunizacyjnych, gdyż w tkankach gospodarza (człowieka, myszy, szczura, gatunków o najlepiej zbadanej funkcji układu odpornościowego) nie występują cząsteczki charakterystyczne dla patogenów. Odporność nabyta rozwija się później, po kilku dniach od infekcji i klasyfikowana jest jako druga linia obrony. W odporności nabytej również uczestniczą komórki (limfocyty T i B) i czynniki rozpuszczalne (przeciwciała). Receptory limfocytów T i B są różnorodne i swoiste (specyficzne) dla poszczególnych antygenów. Ten rodzaj odporności pozostawia pamięć, co oznacza, że kolejna infekcja takim samym patogenem wywoła silniejszą reakcję obronną. Receptory limfocytów T i B są specyficzne dla cząsteczek określonego patogenu, ale ze względu na szczególny sposób ich powstawania i rozpoznawania antygenów, mogą się przyczyniać do ułatwienia indukcji

Tabela 1. Charakterystyka odporności wrodzonej i nabytej.

Cecha	Odporność wrodzona	Odporność nabyta
Czas reakcji	Minuty, godziny	Dni
Swoistość	Swoista dla cząsteczek związanych z patogenami	Swoista dla epitopów antygenowych
Różnorodność	Ograniczona liczba receptorów nie ulegających zmianom w czasie życia. Takie same na komórkach określonego typu.	Bardzo duża liczba różnych receptorów. Różna swoistość receptorów w obrębie komórek tego samego typu.
Pamięć immunologiczna	Brak	Powstaje przy każdej odpowiedzi immunologicznej
Rozpoznawanie własne/obce	Doskonałe: w organizmie gospodarza nie występują cząsteczki charakterystyczne dla patogenów	Bardzo dobre, ale czasami powstają błędy, których skutkiem mogą być choroby autoimmunizacyjne
Rozpuszczalne składniki w krwi i tkankach	Peptydy i białka o aktywności przeciwbakteryjnej	Przeciwciała
Główne typy komórek	Fagocyty (monocyty, makrofagi, neutrofile), komórki NK, komórki dendrytyczne	Limfocyty T, limfocyty B



Ryc. 1. Skutki deficytu odporności wrodzonej i nabytej.

chorób autoimmunizacyjnych. Główne cechy i typy komórek obu rodzajów odporności przedstawiono w Tabeli 1.

Badania Beutlera i Hoffmanna można opisać jako historię odkrywania „sensorów” odporności wrodzonej. Jules Hoffmann rozpoczął pionierskie badania w 1996 r., gdy wraz z zespołem charakteryzował sposoby obrony muszki owocowej przed infekcją grzybiczą i bakteryjną oraz rolę w tej obronie białek Toll (LEMAITRE i współaut. 1996). Bruce Beutler badał receptory wiążące produkty pochodzenia bakteryjnego, głównie lipopolisacharydy (LPS) odpowiedzialne za indukcję szoku septycznego. W 1998 r., wraz z zespołem współpracowników, wykazał, że u myszy opornych na LPS występuje mutacja w genie podobnym do genu *Toll* muszki owocowej (BEUTLER 2000). W 1973 r. Ralph Steinman odkrył komórki dendrytyczne myszy i sformułował hipotezę, iż biorą one udział w aktywacji limfocytów Th (ang. T helper cells, limfocyty T pomocnicze), kluczowych komórek w rozwoju odporności nabytej (STEINMAN i COHN 1973, BANCHEREAU i STEINMAN 1998). Hipoteza okazała się słuszna, a sam Steinman stał się odkrywcą „brakującego ogniwa” łączącego dwa rodzaje odporności. Spór o to, która odporność jest ważniejsza trwał długo, aż doświadczenia z wykorzystaniem zwierząt laboratoryjnych, potwierdzone przypadkami klinicznymi u ludzi, wykazały, że odporność nabyta nie rozwija się prawidłowo, gdy nie dochodzi do aktywacji komórek odporności wrodzonej (przede wszystkim komórek dendrytycznych i makrofagów). Ponadto infekcje wywołane patogenami stanowią zagrożenie dla życia w przypadku deficytu odporności wrodzonej (Ryc. 1).

Aktualnie, nie ma wątpliwości, że to komórki odporności wrodzonej jako pierwsze rozpoznają inwazję patogenów. U kręgowców zasadniczą część komórek odporności wrodzonej to komórki pochodzenia mieloidalnego (neutrofile, monocyty, makrofagi). Są to komórki żerne, które potrafią wykonywać swoje funkcje niezależnie, *in vitro*, ale są znacznie bardziej skuteczne w obecności czynników humoralnych, przeciwciał, produkowanych przez limfocyty B, czyli komórki odporności nabytej. Przeciwciała opsonizują (opłaszczają) bakterie czyniąc je łatwiej dostępnymi dla komórek żernych.

Do komórek mieloidalnych, oprócz wymienionych, należą również komórki dendrytyczne: komórki Langerhansa skóry, komórki dendrytyczne strefy grasiczozależnej węzłów chłonnych i śledziony, komórki dendrytyczne śródmiąższowe występujące w tkance łącznej większości narządów. Stanowią jednak zdecydowaną mniejszość wśród jednojądrzastych komórek mieloidalnych. Populacja najliczniejsza, makrofagi, oprócz funkcji żernej, pełni także funkcję nadzorczą: poprzez wydzielanie cytokin chemotaktycznych, wzbudza migrację leukocytów polimorfonuklearnych (neutrofili, bazofili, eozynofili) do miejsca objętego infekcją. Poza tym, makrofagi przetwarzają antygeny białkowe na krótkie peptydy i prezentują je limfocytom Th w formie kompleksów MHC klasy II-peptyd. Spośród leukocytów polimorfonuklearnych, neutrofile, komórki krótkożyjące (około 6 godzin) to wyspecjalizowani „zabójcy”, zdolni do fagocytozy i aktywności cytotoksycznej. Z kolei bazofile i eozynofile, poprzez wydzielane cytokiny tworzą prawidłowe środowisko dla rozwoju reakcji zapalnej i również za pośrednictwem cytokin komunikują się z limfocytami. Usunięcie nawet jednej populacji efektorowej spośród komórek odporności wrodzonej, np. neutrofili, skutkuje groźnym niedoborem odporności. Blokada prezentacji antygeny w pełniących tę funkcję komórkach odporności wrodzonej (komórki dendrytyczne czy makrofagi) i brak produkowanych przez nie cytokin powoduje, że komórki odporności nabytej stają się nieskuteczne w walce z patogenami czy nowotworami. Zatem istnieje ścisła zależność między obydwoma rodzajami odporności i jak widać – nabyta jest podporządkowana wrodzonej.

Wieloletnie badania nad mechanizmami rozpoznawania patogenów przybliżyły nas do odpowiedzi na pytanie: w jaki sposób komórki odporności wrodzonej odróżniają

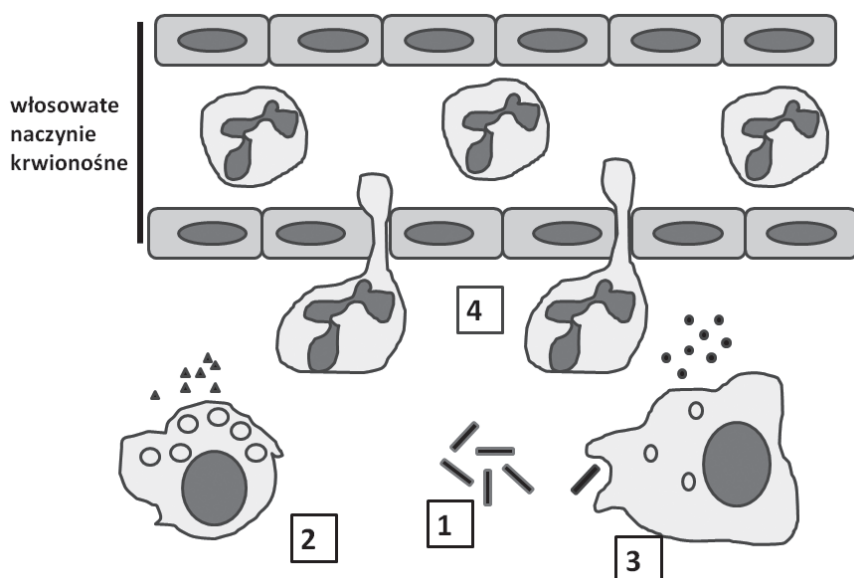
struktury własne od obcych, czyli w jaki sposób, przy zachowaniu tolerancji na elementy własnego organizmu, rozpoznają inwazję patogenów? Próbę odpowiedzi na to pytanie

podjęło wielu badaczy, wśród nich Bruce Beutler, któremu udało się udzielić najpełniejszej odpowiedzi na tak zadane pytanie i odniósł sukces.

STAN ZAPALNY – POCZĄTEK ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ

Patogeny, głównie mikroorganizmy, którym uda się pokonać bariery anatomiczne, zostają bardzo szybko otoczone przez nadzorujące tkanki i narządy gospodarza komórki odporności wrodzonej: makrofagi, komórki

tuczne i komórki dendrytyczne. Zespół reakcji zachodzących lokalnie w miejscu infekcji, z udziałem komórek odporności wrodzonej i wydzielanych przez nie rozpuszczalnych mediatorów, określany jest terminem „stan zapalny”. Rozpoczyna się natychmiast po



Ryc. 2. Ostry stan zapalny.

1. Lokalna infekcja bakteryjna wywołuje uszkodzenie tkanek, które skutkują indukcją surowiczych mediatorów stanu zapalnego jak bradykinina i fibrynopeptydy. Bakterie aktywują białka układu dopełniacza w drodze alternatywnej. 2. Komórki tuczne obecne w tkankach ulegają aktywacji pod wpływem anafilatoksyn (produktów aktywacji dopełniacza) i wydzielają mediatory stanu zapalnego, histaminę, prostaglandyny i leukotrieny, powodujące zwiększenie przepuszczalności włosowatych naczyń krwionośnych i zmniejszenie prędkości przepływu krwi. 3. Makrofagi aktywowane przez produkty pochodzenia bakteryjnego syntetyzują i wydzielają cytokiny prozapalne (IL-1, IL-6 i TNF- α), które indukują ekspresję adhezyn na komórkach śródbłónki, syntezę chemokin, prostaglandyn i leukotrienów. Bakterie sfagocytowane przez tkankowe makrofagi są niszczone w fagolizosomach, a produkty ich enzymatycznej degradacji są uwalniane na zewnątrz. Wśród produktów degradacji znajdują się cząsteczki pochodzenia bakteryjnego określone skrótem PAMP (ang. Pathogen-Associated Molecular Patterns, wzorce molekularne związane z patogenem). 4. Neutrofile migrują z włosowatych naczyń krwionośnych do miejsca objętego stanem zapalnym (miejsca infekcji). Migracja neutrofilów przez komórki śródbłónki ułatwiona jest przez ekspresję cząsteczek adhezyjnych, działaniem chemokin i anafilatoksyn działających chemotaktycznie. Kolejnymi komórkami, które migrują do miejsca objętego infekcją są monocyty i znacznie później limfocyty. Główną funkcją neutrofilów i monocytów migrujących z naczyń krwionośnych jest fagocytoza patogenów.

na się natychmiast po wniknięciu patogenu do organizmu, zapoczątkowuje procesy eliminacji patogenu i reperacji tkanek oraz uczestniczy w przywróceniu homeostazy po zniszczeniu patogenu. Wczesna faza stanu zapalnego charakteryzuje się udziałem komórek tucznych i makrofagów tkankowych, wydzielających mediatory prozapalne (cytokiny prozapalne, aminy bioaktywne i mediatory lipidowe). Skutkiem ich działania jest między innymi zwiększenie przepuszczalności włosowatych naczyń krwionośnych i aktywna migracja leukocytów, głównie neutrofilów krążących w krwi, do tkanki objętej stanem zapalnym. Niszczenie patogenów w początkowej fazie stanu zapalnego odbywa się przy udziale mechanizmów odporności wrodzonej (fagocytoza, aktywacja dopełniacza w drodze alternatywnej, aktywność cytotoksyczna komórek NK w przypadku infekcji wirusowej). Antygeny pato-

genów lub całe patogeny (mikroorganizmy) endocytowane przez komórki dendrytyczne i makrofagi, transportowane są do węzłów limfatycznych drenujących tkanę, gdzie uczestniczą w aktywacji limfocytów T i B i rozwoju odporności nabytej. W ostrej reakcji zapalnej uczestniczą głównie komórki odporności wrodzonej, natomiast w chronicznym stanie zapalnym przeważają zależne od limfocytów T i B mechanizmy odporności na-

bytej. Ostry stan zapalny dotyczy wczesnej fazy infekcji, w której uruchomione zostają mechanizmy niszczenia patogenu i naprawy tkanek w miejscu infekcji. Chroniczny stan zapalny z udziałem komórek odporności nabytej skutkuje rozwojem niektórych chorób autoimmunizacyjnych lub nowotworowych. Główne procesy zachodzące w ostrym stanie zapalnym przedstawia Ryc. 2.

ROZPOZNAWANIE PATOGENÓW PRZEZ KOMÓRKI ODPORNOŚCI WRODZONEJ: HISTORIA ODKRYCIA TLR

Kluczowe funkcje układu odpornościowego to: (i) rozpoznanie różnorodnych patogenów, (ii) jak najszybsze zniszczenie rozpoznanych patogenów oraz (iii) ochrona własnych tkanek (tolerancja na antygeny własne). Wynika z tego ogólny schemat reagowania organizmu na patogeny, składający się z dwóch faz: dośrodkowej (sensorowej) i odśrodkowej (efektorowej). Pierwsza opisuje sposoby rozpoznawania infekcji, druga - sposoby walki z infekcją. W każdej z tych faz rozróżniamy części składowe: humoralną i komórkową. Zgodnie z tym schematem opisywany jest rozwój zarówno odporności wrodzonej, jak i nabytej. Ważną funkcją komórek odpornościowych, decydującą o przetrwaniu organizmu, jest zdolność niszczenia patogenów, przy zachowanej tolerancji na własne tkanki. Komórki odporności wrodzonej nie mają zdolności rozpoznawania antygenów własnych głównego układu zgodności tkankowej, MHC (ang. major histocompatibility complex), poza komórkami NK (ang. natural killer), które rozpoznają cząsteczki MHC klasy I. Makrofagi, najlepiej do tej pory zbadane komórki odporności wrodzonej, nie rozpoznają, jak się obecnie wydaje, obcych przeszczepów pomiędzy gatunkami blisko spokrewnionymi, natomiast rozpoznają pierwotniaki, bakterie, wirusy, grzyby czy wielokomórkowe pasożyty. Właściwość rozpoznawania cząsteczek MHC posiadają limfocyty T, komórki odporności nabytej, co jak zostanie opisane w dalszej części artykułu, jest ściśle związane ze sposobem aktywacji tych komórek przez obce antygeny prezentowane przez komórki dendrytyczne, główne komórki prezentujące antygen.

Komórki odporności wrodzonej mają receptory rozpoznające patogeny, ale ich liczba jest niezbyt duża. Jednakże ich swoistość nie jest ograniczona do rozpoznawania określo-

nego epitopu antygenowego (fragmentu antygeny, który jest wiązany przez przeciwciało lub receptor dla antygeny limfocytów T, przy czym jedna cząsteczka antygeny może zawierać wiele epitopów), ale raczej do rozpoznawania cząsteczek, które występują w grupach patogenów. Stanowią one niezbędne składniki patogenów, zatem rzadko ulegają mutacji (KIMBRELL i BEUTLER 2001, BEUTLER 2004). Ponadto, receptory komórek odporności wrodzonej są niewrażliwe na obecność cząsteczek własnego organizmu, co stanowi podstawę odróżnienia substancji własnych od obcych. Dla określenia tych receptorów wprowadzono termin receptory rozpoznające wzorce, PRR (ang. pattern recognition receptors), co sugerowało, że wiążą one nie pojedynczą cząsteczkę, lecz kompleks różnych cząsteczek pochodzenia patogenego. Z kolei termin wzorce molekularne związane z patogenem, PAMP (ang. pathogen-associated molecular patterns), określający substancje związane z patogenami, wprowadzony został w 1989 r. przez Charlesa A. Janeway, który zwrócił uwagę na istnienie zależności między odpornością wrodzoną i nabytą. Przedstawił także hipotezę zakładającą, że do aktywacji limfocytów T, oprócz sygnału pochodzącego od antygeny i przekazywanego do komórki przez receptory limfocytów T dla antygenów, TCR (ang. T cell receptor), konieczny jest jeszcze sygnał pochodzący od komórki prezentującej antygen. Ta z kolei jest zdolna do przekazania takiego sygnału dopiero po rozpoznaniu patogenu (pierwotnie uwzględniano jedynie mikroorganizmy) przez PRR, charakteryzujące się ograniczoną różnorodnością i kodowaniem w konfiguracji zarodkowej. Według Janeway ligandy PRR to konserwowane ewolucyjnie cząsteczki występujące u wielu różnych grup mikroorganizmów, nieobecne w organizmie gospodarza

(zarówno kręgowców, jak i bezkręgowców), co umożliwia odróżnienie struktur własnych od obcych (JANEWAY 1989). PAMP, ligandy PRR, występujące w grupach patogenów, rzadko ulegają mutacji i pełnią ważną rolę w ich przeżywalności. Wydawało się wcześniej, że PAMP działają w drodze interakcji z PRR. To jednak nie wzorzec molekularny, lecz najzwyczajniej cząsteczka pochodzenia bakteryjnego reaguje z cząsteczką komórki obronnej gospodarza. Takie cząsteczki pochodzenia bakteryjnego znane były od lat 50. ubiegłego wieku: lipopolisacharydy (LPS), kwasy lipotejchowe, peptydoglikany. Użycie terminu „wzorzec” sugerowało, iż mamy do czynienia ze specjalnym rodzajem oddziaływania, innym niż interakcja ligand-receptor. Wydawało się, że istnieje jakiś rodzaj przestrzennej organizacji grup cząsteczek rozpoznawanych przez PRR lub też konieczny jest udział wielowartościowych ligandów dla osiągnięcia interakcji o dużym powinowactwie. Wyniki późniejszych badań wykazały, że rozpoznawane są konkretne cząsteczki bakterii i to nie tylko patogennych, ale wszystkich, również komensalnych. Zatem oba terminy w świetle dzisiejszej wiedzy są nieprawidłowe, choć używane.

W grupie cząsteczek rozpoznawanych przez receptory komórek odporności wrodzonej jest LPS, opisany ponad sto lat temu przez Pfeiffera (PFEIFFER 1892). LPS pobudza makrofagi do syntezy cytokin prozapalnych (TNF, IL-1, IL-6), co skutkuje objawami klinicznymi, takimi jak gorączka, zmniejszenie ciśnienia krwi, niedokrwienie narządów i ich uszkodzenie (BEUTLER 2001, BEUTLER i RIETSCHEL 2003). Długa historia badań nad produktami pochodzenia bakteryjnego (LPS, peptydoglikany, kwasy lipotejchowe, niemetylowane DNA) lub wirusowego (dsRNA) wskazuje, że nie wszystkie są toksynami, nie działają bezpośrednio, lecz rozpoznawane przez komórki odporności wrodzonej powodują kaskadę syntezy cytokin i innych związków biologicznie czynnych niezbędnych dla rozwoju stanu zapalnego i prawidłowej odpowiedzi immunologicznej, a w niesprzyjających warunkach, mogą spowodować objawy kliniczne prowadzące do śmierci organizmu. Historia LPS jest szczególna, długa i wskazująca na jego wielorakie właściwości: toksyczność w dużych stężeniach, efekt ochronny przed następną inwazją patogennych mikroorganizmów w małych stężeniach i działanie adjuwantowe, wspomagające powstawanie silnej odpowiedzi na antygen białko-

wy wstrzyknięty łącznie z LPS. W latach 90. ubiegłego wieku zwrócono uwagę na inne, oprócz LPS, substancje, które nie mają cech antygeny i nie stymulują limfocytów T i B przez receptory dla antygeny, lecz wzmacniają odpowiedź tych komórek na antygen (MEDZHTOV i JANEWAY 2002).

Najlepiej zbadaną grupą PRR są receptory Toll-podobne, TLR (ang. toll-like receptors) (POLTORAK i współaut. 2000, ALEXOPOULU i współaut. 2001). Swoją nazwę zawdzięczają odkrytemu w larwach muszki *Drosophila melanogaster* genowi *Toll*, którego ekspresja decyduje o właściwej polaryzacji brzuszno-grzbietowej i prawidłowym rozwoju embrionalnym larw muszki. Kolejne lata badań nad funkcją genu *Toll* wykazały jego rolę w odporności *Drosophila melanogaster* i doprowadziły do odkrycia białek Toll-podobnych, pełniących rolę receptorów komórek odporności wrodzonej u myszy i człowieka. Bezkręgowce pozbawione są odporności nabytej, zatem obrona przed patogenami zależy wyłącznie od komórek odporności wrodzonej. W 1996 r. Jules Hoffmann i Bruno Lemaître zauważyli, że mutacje genu *Toll* wywołują u owada wrażliwość na śmiertelną infekcję *Aspergillus fumigatus* (LEMAÎTRE i współaut. 1996). Dalsze badania J. Hoffmanna doprowadziły do opisanie szlaku sygnałowego z udziałem białek Toll. Przynajmniej jeden z przedstawicieli rodziny receptorów Toll u *Drosophila* odpowiada za odporność na bakterie. Aktywacja receptorów Toll1 u *Drosophila* wywołuje syntezę peptydów o aktywności przeciwbakteryjnej (dipterycyny i defensyny) i przeciwgrzybiczej (drosomycyny). Białko Toll1 nie rozpoznaje substancji pochodzenia patogennego bezpośrednio, lecz jest aktywowane przez endogenne ligandy, białko Spaetzle. W transdukcji sygnału od białka Toll1 biorą udział czynniki transkrypcyjne z rodziny NF- κ B. Spośród białek Toll zidentyfikowanych u *Drosophila* tylko jedno odgrywa rolę w odpowiedzi odpornościowej, co sugeruje, że nie jest to jego pierwotna funkcja tego białka. Większość białek Toll *Drosophila* związanych jest z rozwojem, natomiast u ssaków żaden TLR nie odgrywa znanej roli w rozwoju. Wykrycie u *Drosophila melanogaster* receptorów Toll zapoczątkowało wieloletnie badania ich odpowiedników u myszy i człowieka (DU i współaut. 2000, CHUANG i ULEVITCH, 2000). TLR wiążą również cząsteczki pierwotniaków i wirusów (HOEBE i współaut. 2003). Naturalnymi ligandami TLR są nie tylko substancje pochodzące

od patogenów, lecz także endogenne ligandy powstające w komórkach gospodarza w stanie zagrożenia wywołanego infekcją, stresem lub w wyniku starzenia własnych komórek (GALLUCCI i MATZINGER 2001). Endogenne, fizjologiczne ligandy TLR określono terminem wzorce molekularne związane z sygnałem niebezpieczeństwa, DAMP (ang. danger-associated molecular patterns).

W tym miejscu należy wrócić do historii LPS i sposobu jego rozpoznawania przez komórki odporności wrodzonej. W 1997 r. Ruslan Medzhitov i Charles Janeway odkryli ludzkie białko charakteryzujące się dużym stopniem homologii w domenie cytoplazmatycznej z białkiem Toll. Białko to, nazwane TLR4, zostało dokładnie scharakteryzowane przez Bruce'a Beutlera i jego zespół, którzy opisali także szlak sygnałowy od TLR4 w makrofagach (BEUTLER 2000). TLR4 jest najlepiej poznany receptorem, odpowiedzialnym za rozpoznanie lipolisacharydów ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych. Nie wykazano homologów LPS w organizmach wielo-

komórkowych. Wydawało się początkowo, iż mechanizm działania LPS jest bezpośredni i polega na bliżej nieokreślonych zaburzeniach funkcjonowania błony komórkowej komórek odpornościowych, aż wykazano, że TNF, czynnik martwicy nowotworu, syntetyzowany i wydzielany przez makrofagi, jest głównym mediatorem szoku septycznego (endotoksycznego), a jego synteza indukowana jest właśnie przez LPS (BEUTLER i współaut. 1985, FREUDENBERG i współaut. 1986). Wiązanie LPS przez TLR4 wspomagane jest przez błonową cząsteczkę CD14, która nie posiada domeny cytoplazmatycznej i nie bierze udziału w transdukcji sygnału, aczkolwiek uważana była początkowo za główny receptor dla LPS (WRIGHT i współaut. 1990). Kręgowce różnią się wrażliwością na LPS. Szczep myszy C3H/HeJ jest oporny na działanie LPS, zaś blisko spokrewnione myszy C3H/HeN wykazują normalną wrażliwość. Okazało się, że myszy odporne na LPS są bardzo wrażliwe na infekcje bakteriami Gram-ujemnymi: umierają po wstrzyknięciu bardzo małej liczby bakterii,

Tabela 2. TLR i ich naturalne ligandy.

Receptor	Lokalizacja	Ligand	Pochodzenie
TLR1+TLR2	błona powierzchniowa	lipoproteiny, triacylowane lipopeptydy, poryny, glikolipidy	bakterie, pierwotniaki (<i>Mycobacterium sp.</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Trypanosoma cruzi</i>)
TLR2+TLR6	błona powierzchniowa	diacylowane lipopeptydy, glikolipidy, kwasy lipotejchowe, zymosan, peptydoglikany, HSP, HMGB1	bakterie, drożdże, pierwotniaki, własne (człowieka, myszy)
TLR3	błona endosomów i fagosomów	dsRNA, mRNA	wirusy, własne (człowieka, myszy)
TLR4	błona powierzchniowa błona endosomów i fagosomów	LPS, kwas hialuronowy, białka fuzyjne, HSP, HMGB1, fibrynogen	bakterie, wirusy, własne (człowieka, myszy)
TLR5	błona powierzchniowa	flagellina	bakterie
TLR7	błona endosomów i fagosomów	ssRNA	wirusy
TLR8	błona endosomów i fagosomów	ssRNA	wirusy
TLR9	błona endosomów i fagosomów	niemetylowane sekwencje CpG DNA, kompleksy chromatyny z IgG	bakterie, wirusy, własne (człowieka, myszy)
TLR10		nieznany (białka profilino-podobne?)	

która zupełnie nie jest szkodliwa dla myszy wrażliwych na LPS (SULTZER 1968; WATSON i współaut. 1977, 1978; POLTORAK i współaut. 1998). Obserwacje te spowodowały, iż wrażliwość na LPS zaczęto uważać za kluczową w obronie przeciwbakteryjnej, a obecnie przypisuje się tej cząsteczce także udział w indukcji supresji odpowiedzi immunologicznej.

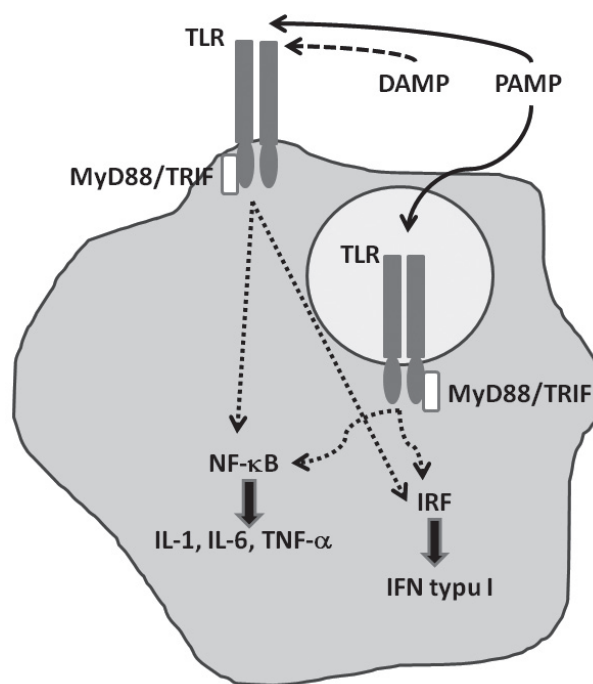
TLR należą do białek transbłonowych występujących w powierzchniowej błonie komórkowej lub w błonie endosomów. Wiążą jeden rodzaj cząsteczek pochodzenia patogenego (TLR4-LPS) lub kilka różnych (TLR2 – peptydoglikany i kwasy lipotejchojowe), niektóre tworzą heterodimery (TLR1/TLR2, TLR6/TLR2) zwiększające spektrum rozpoznawanych ligandów (Tabela 2).

TLR wiążące składniki ścian komórkowych bakterii i grzybów znajdują się w błonie powierzchniowej komórek, natomiast wiążące kwasy nukleinowe bakterii i wirusów zlokalizowane są w błonach fagolizosomów lub endosomów. Wewnątrzkomórkowe usytuowanie receptorów dla kwasów nukleinowych zapewnia ich rozpoznanie poprzedzone etapem endocytozy, co umożliwia również odebranie sygnału od własnych apoptotycznych komórek. Dotychczas zidentyfikowano 13 receptorów Toll-podobnych u myszy i człowieka, z których TLR1-TLR10 występują u obu gatunków, zaś TLR11-TLR13 jedynie u myszy. Najbardziej zróżnicowaną ekspresję TLR posiadają komórki dendrytyczne i makrofagi, komórki tłuszczne nie mają TLR3, TLR5, TLR7 i 8, neutrofilom brak TLR1, TLR 5 i TLR8. Aktualnie wiadomo, że receptory Toll-podobne występują również w limfocytach B (TLR1-TLR5), komórkach NKT (TLR2 i TLR4) i regulatorowych limfocytach T (TLR4, TLR5, TLR7, TLR8). Znane są również syntetyczne ligandy dla większości TLR.

W wiązaniu ligandu przez niektóre TLR uczestniczą dodatkowe białka receptorowe, tak jak w przypadku wiązania LPS przez TLR4. Są nimi: surowicze białko wiążące LPS, LBP (ang. LPS-binding protein), błonowe białko CD14 i polipeptyd MD-2 połączony z zewnątrzbłonową domeną TLR4. CD14 uczestniczy również w wiązaniu kwasów lipotejchojowych bakterii Gram-dodatnich i lipoarabinomannanu *Mycobacterium tuberculosis*, a LBP wiąże również peptydoglikany. Dimery TLR2 i TLR6 wiążą lipoproteiny i kwasy lipotejchojowe przy udziale białka CD36. Rozpuszczalne receptory „transportują” cząsteczki do właściwego receptora.

U myszy, które nie posiadają białka LBP nie rozwija się prawidłowa reakcja zapalna na infekcje pneumokokami, gdyż brakuje białka wiążącego składniki ich ściany i transportującego je do TLR2. Zdziwiające jest podobieństwo TLR ssaków do receptorów Toll *Drosophila*, które również nie wiążą ligandów bezpośrednio, lecz przez białka powstające z prekursorów poprzez kaskadę proteolityczną zaindukowaną przez białka hemolimfy w wyniku ich oddziaływania z produktami pochodzenia bakteryjnego lub grzybiczego.

Interakcja PAMP z TLR zapoczątkowuje przekazanie sygnału do jądra komórkowego. Podstawowa jednostka strukturalna receptora składa się z domeny zewnątrzkomórkowej na końcu aminowym, zawierającej powtarzające się motywy bogate w leucynę, LRR (ang. leucine rich repeats), domeny transbłonowej i globularnej domeny cytoplazmatycznej TIR (ang. Toll/interleukin-1 receptor motif), analogicznej do domeny receptora interleukiny 1. Za wiązanie PAMP odpowiada domena na końcu aminowym, zewnątrzkomórkowa w przypadku TLR powierzchniowych, a za przekazywanie sygnału do jądra komórkowego odpowiada cytoplazmatyczna domena TIR. Wiązanie PAMP prowadzi do dimeryzacji TLR i rekrutacji białek adaptorowych pośredniczących w transdukcji sygnału. Transdukcja sygnału do jądra komórkowego zależy od 4 białek adaptorowych: MyD88, MAL(TI-



Ryc. 3 Schemat szlaku sygnałowego przez TLR.

RAP), TRIF (TICAM-1) i TRAM (TICAM-2), które wiążą się bezpośrednio z TLR i rekrutują kolejne składniki szlaku sygnałowego. Analogiczne przebiega szlak sygnałowy wynikający z interakcji TLR i DAMP. W obu przypadkach, jak schematycznie pokazano na Ryc. 3, w interakcji może uczestniczyć TLR zewnętrzny i wewnątrzkomórkowy wiążący ligandy pochodzące ze środowiska zewnętrznego lub z wnętrza komórki.

Zasadniczy szlak sygnałowy, homologiczny ze szlakiem Toll u *Drosophila* związany jest z cząsteczką adaptorową MyD88. Efektem końcowym transdukcji sygnału w tym szlaku jest fosforylacja i degradacja I κ B (inhibitor czynnika transkrypcyjnego NF- κ B), umożliwiająca translokację czynnika transkrypcyjnego NF- κ B do jądra komórkowego i aktywację genów kodujących cytokiny prozapalne. Jedynie transdukcja sygnału od TLR3 jest całkowicie niezależna od MyD88 i prowadzi do przemieszczenia czynnika transkrypcyjnego IRF-3 (ang. interferon regulatory factor 3) do jądra komórkowego i aktywacji syntezy interferonów typu I, głównie IFN- β . TLR4 jest w znacznej części szlaku sygnałowego niezależny od MyD88. W szlaku tym bierze udział TRIF, inicjujący kaskadę reakcji prowadzącej do aktywacji IRF-3, skutkującej syntezą białek kostymulatorowych i indukcją syntezy IFN- β (HOEBE i współaut. 2003). Cząsteczki bakteryjne oraz wirusowe rozpoznawane za pomocą właściwych TLR mogą wzbudzać podobne szlaki sygnalizacji, co może mieć złe i dobre konsekwencje. Złe, bo taka odpowiedź nie musi być jednakowo skuteczna w obronie przed wirusem lub bakterią. Dobre, bo

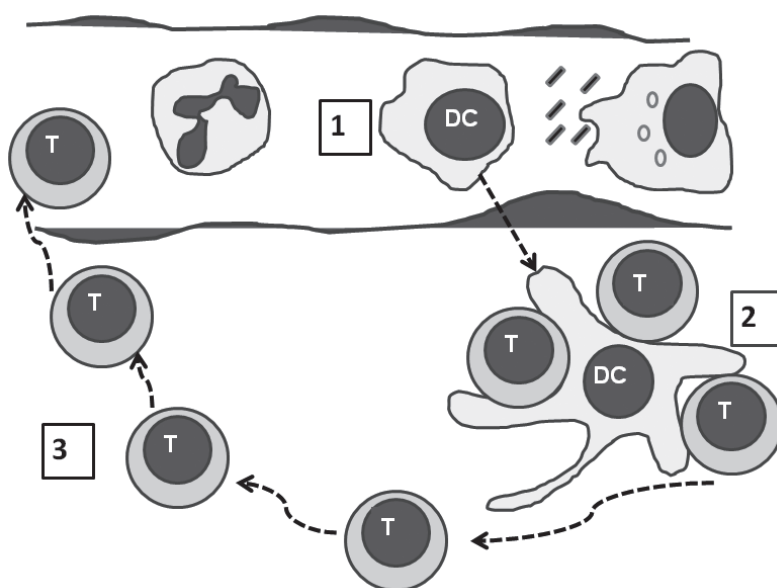
jak już wykazano, używany przez TLR4 szlak sygnalizacji jest rozpowszechniony i część może być wykorzystywana do obrony przeciwbakteryjnej, część do przeciwwirusowej (HOEBE i współaut. 2003, YAMAMOTO i współaut. 2003).

Rozpoznanie patogenu przez TLR to dopiero początek drogi prowadzącej do jego zniszczenia. W fagosomach makrofagów i neutrofili powstają reaktywne formy tlenu wykorzystywane do zabijania bakterii w wyniku reakcji z lipidami, białkami, DNA, niszczące często przy okazji własne komórki. Fagocytoza bakterii związana jest z migracją komórek żernych do miejsca infekcji. Do tego służą takie procesy jak adhezja (przyleganie leukocytów do komórek śródbłonna włosowatych naczyń krwionośnych), diapedeza (proces przechodzenia leukocytów przez śródbłonek naczyń z udziałem cząsteczek adhezyjnych) i chemotaksja (ukierunkowana migracja leukocytów zależna od gradientu stężeń czynników chemotaktycznych). W najbliższym otoczeniu ogniska zapalnego znajdują się, wydzielane przez komórki odporności wrodzonej, mediatory chemotaktyczne (chemokiny) oraz inne związki biologiczne czynne, jak histamina czy bradykinina. Te ostatnie powodują rozszerzenie naczyń, zwiększając w ten sposób objętość krwi przepływającej przez tkanki objęte stanem zapalnym. Mediatory stanu zapalnego wydzielane przez aktywowane komórki odporności wrodzonej indukują syntezę cząsteczek adhezyjnych w komórkach śródbłonna i leukocytach, co następnie umożliwia diapedezę.

KOMÓRKI DENDRYTYCZNE – BRAKUJĄCE OGNIWO MIĘDZY ODPORNOŚCIĄ WRODZONĄ I NABYTĄ

Komórki dendrytyczne po raz pierwszy zostały opisane przez Steinmana (STEINMAN i COHN 1973), mimo że wcześniej zauważył je w skórze Paul Langerhans i dlatego określenie komórki Langerhansa utrzymuje się do dzisiaj. Jednakże to właśnie Steinmanowi zawdzięczamy odkrycie centralnej roli komórek dendrytycznych w rozwoju odporności nabytej. Prekursory komórek dendrytycznych podlegają różnicowaniu w niedojrzałe komórki dendrytyczne, które mają zdolność do endocytozy i „przetwarzania” antygenów do formy łatwo wiążącej się z białkami MHC. Pod wpływem stymulacji z udziałem TLR, komórki dendrytyczne dojrzewają do stadium

funkcjonalnego komórek „prezentujących” antygen. Stymulacja niedojrzałych komórek dendrytycznych indukuje w nich syntezę cząsteczek kostymulatorowych i cytokin niezbędnych do aktywacji limfocytów Th i ich różnicowania w komórki efektorowe odporności nabytej. Markerami dojrzewania komórek dendrytycznych są cząsteczki kostymulatorowe CD80, CD86 i CD40, które za pośrednictwem swoich ligandów (CD28, CD40L) dostarczają dodatkowego sygnału aktywującego limfocyty Th. Opisano szereg populacji komórek dendrytycznych różniących się pochodzeniem, zdolnością do migracji do określonych tkanek i narządów limfoidalnych,



Ryc. 4. Uproszczony schemat aktywacji limfocytów przez komórki dendrytyczne (wg BANCHEREAU i STEINMANA 1998).

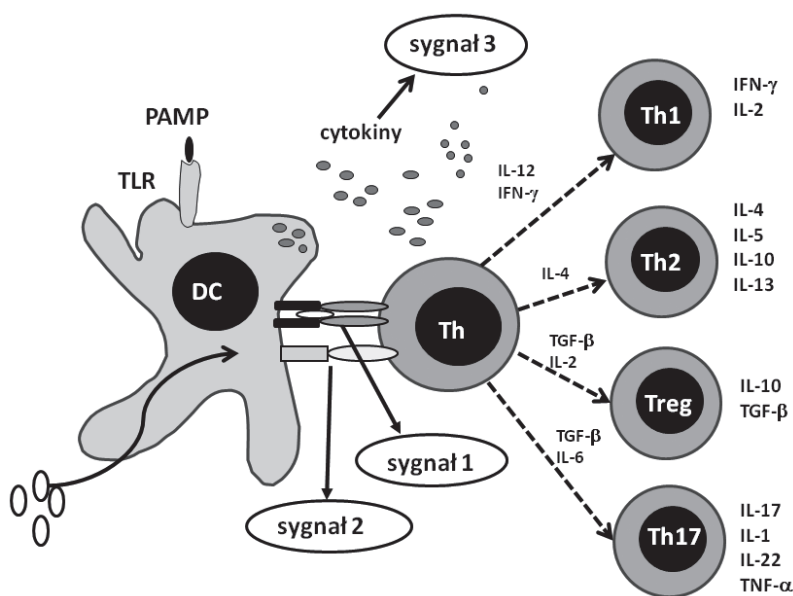
1. Komórki dendrytyczne powstają w szpiku kostnym i zasiedlają tkanki organizmu. W tkankach występują w postaci niedojrzałych, ze słabą ekspresją powierzchniowych cząsteczek kostymulatorowych. W tkance objętej stanem zapalnym komórki dendrytyczne wychwytyują mikroorganizmy i ulegają aktywacji w wyniku interakcji ich TLR z produktami pochodzenia bakteryjnego. Wówczas, naczyniami limfatycznymi drenującymi tkankę, migrują do najbliższego węzła limfatycznego podlegając wówczas procesowi dojrzewania. 2. W węzle limfatycznym ma miejsce bezpośredni kontakt komórek dendrytycznych (DC) z limfocytami T. Interakcja DC-T indukuje aktywację limfocytów T w wyniku oddziaływań między receptorami i ich ligandami w obszarze kontaktu między komórkami oraz działania cytokin wydzielanych przez dojrzałe DC. 3. Aktywowane limfocyty T migrują naczyniami limfatycznymi wyprowadzającymi, a następnie naczyniami krwionośnymi z powrotem do miejsca stanu zapalnego, gdzie wykonują swoje funkcje efektorowe (synteza cytokin przez limfocyty Th, cytotoksyczne przez limfocyty Tc).

ekspresją charakterystycznych zestawów TLR i funkcją związaną z indukcją odpowiedzi immunologicznej lub tolerancji.

Receptory limfocytów B wiążą antygeny natywne, natomiast dominująca populacja limfocytów T za pośrednictwem swoich receptorów $TCR\alpha\beta$ (ang. T cell receptor $\alpha\beta$) wiąże kompleksy cząsteczek MHC z peptydami pochodzącymi z degradacji białek patogenów. Zdolność do rozkładu tych białek, czyli ich „przetwarzania” do kilkunastaminokwasowych peptydów, które następnie tworzą kompleksy z białkami MHC i są transportowane na powierzchnię, gdzie są „prezentowane” limfocytom T, mają komórki prezentujące antygen, za które wcześniej

uważano głównie makrofagi. Rola makrofagów w rozwoju odporności nabytej opisywana jest od ponad 40 lat (HOFFMANN i DUTTON 1971, DUTTON i współaut. 1970). Jak już wspomniano powyżej, Charles Janeway sugerował niezbędny udział w aktywacji limfocytów T innych, dodatkowych sygnałów, niż ten pochodzący od TCR. Badania Ralphi Steinmana wskazały na główną rolę komórek dendrytycznych w procesie przetwarzania antygenów białkowych i prezentacji kompleksów MHC klasy II-peptyd limfocytom Th naiwnym, czyli stykającym się z antygenem po raz pierwszy. Skutki takiej prezentacji są kluczowe dla indukcji mechanizmów efektorowych odporności nabytej, związanych z syntezą przeciwciał czy aktywnością cytotoksycznych limfocytów T. Komórki dendrytyczne, jak wszystkie leukocyty, powstają w szpiku kostnym, a następnie migrują do określonych tkanek organizmu. Wyróżnia się następujące rodzaje komórek dendrytycznych: mieloidalne (ang. myeloid dendritic cell, mDC) występujące w narządach limfoidalnych, krwi i pozostałych tkankach, plazmacytoidalne (ang. plasmacytoid dendritic cell, pDC) w narządach limfoidalnych i krwi oraz folikularne

(ang. follicular dendritic cell, FDC) w węzłach limfatycznych i śledzionie. Mieloidalne komórki dendrytyczne najefektywniej przetwarzają i prezentują antygeny limfocytom Th, pDC mało skutecznie prezentują antygen, natomiast aktywowane produkują interferony typu I, a FDC nie przetwarzają antygeny, lecz uczestniczą w tworzeniu pamięci immunologicznej. Wyniki badań prowadzonych przez zespół Steinmana zaowocowały w ubiegłym wieku dobrze znanym twierdzeniem, że komórki dendrytyczne kontrolują odporność, a ich rola w tym procesie w skrócie przebiega następująco: w tkance objętej stanem zapalnym



Rys. 5. Skutki interakcji między komórką dendrytyczną i naiwnym limfocytom Th.

Komórki dendrytyczne dostarczają limfocytom Th niezbędne sygnały aktywacji: sygnał 1 – wynikający z interakcji między receptorem dla antygeny (TCR) limfocyta Th i kompleksem MHC II-peptyd prezentowanym przez DC; sygnał 2 – pochodzący od cząsteczki CD28 po związaniu ligandu CD80/CD86; sygnał 3 – przekazywany przez cytokiny syntezowane przez aktywowane komórki dendrytyczne. Skutkiem aktywacji limfocytów Th jest ich proliferacja i różnicowanie w populację efektorowe (Th1 odpowiedzialne za rozwój odporności przeciwbakteryjnej i przeciwwirusowej, Th2 uczestniczące w odporności przeciwpasożytniczej, Treg o aktywności supresorowej i Th17 o aktywności prozapalnej).

wychwytuja i przetwarzają antygeny, zwiększają ekspresję cząsteczek kostymulatorowych i migrują do narządów limfoidalnych, gdzie wydzielają cytokiny i zapoczątkowują odpowiedź immunologiczną, w której komórkami efektorowymi są limfocyty (Ryc. 4). Ich rola polega nie tylko na aktywacji limfocytów T, lecz również na indukcji tolerancji tych komórek na własne i obce antygeny (BANCHEREAU i STEINMAN 1998).

Komórki dendrytyczne dostarczają limfocytom T sygnały kostymulatorowe pochodzące od białek błonowych CD80, CD86, CD40. Interakcja między aktywowaną komórką dendrytyczną i naiwnym limfocytom Th skutkuje aktywacją tego ostatniego, na którą składa się proliferacja i różnicowanie w komórki efektorowe odporności nabytej odpowiedzialne za rozwój skutecznej obrony przeciw patogenom i komórkom nowotworowym, hamowanie nadmiernej aktywności limfocytów Th i cytotoksycznych, limfocytów B oraz utrzymywanie stanu zapalnego (Ryc. 5).

PODSUMOWANIE

Trzej Nobliści jednocześnie, chociaż każdy w innym zakresie, dostarczyli dowody na rolę receptorów rozpoznających substancje pochodzące od patogenów, PRR, w fazie sensorowej odporności wrodzonej oraz na klu-

czową rolę komórek dendrytycznych i ich receptorów w indukcji odporności nabytej. Zostały ostatecznie opisane i wyjaśnione procesy związane z odpornością, które przez wiele lat były elementem hipotezy badawczej.

NAGRODA NOBLA 2011: DWA RODZAJE ODPORNOŚCI

Streszczenie

Nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii i medycyny w 2011 r. otrzymali Bruce A. Beutler i Jules A. Hoffmann za odkrycie mechanizmów indukcji odporności wrodzonej oraz Ralph M. Steinman za odkrycie komórek dendrytycznych i ich roli w rozwoju odporności nabytej. Wyniki wieloletnich badań uczonych oraz ich współpracowników zrewolucjonizowały poglądy na podstawy funkcjonowania układu

odpornościowego i mechanizmy aktywacji komórek obronnych. Bruce Beutler i Jules Hoffmann scharakteryzowali białkowe receptory odpowiedzialne za rozpoznawanie patogenów i wykazali ich udział w aktywacji komórek odporności wrodzonej, a Ralph Steinman zidentyfikował komórki dendrytyczne i opisał ich unikatową zdolność do indukcji odporności nabytej.

NOBEL PRIZE 2011: TWO TYPES OF IMMUNITY

Summary

Bruce Beutler, Jules Hoffmann and Ralph Steinman share the Nobel Prize in physiology and medicine. Beutler and Hoffmann elucidated the sensory branch of innate immunity. They discovered and characterized the receptors of innate immune cells involved in the recognition of invading pathogens and analyzed the intracellular signaling pathways leading to development of inflammation and mobilization of the front line of defense against patho-

gens. Hoffmann concentrated on the role of Toll receptors in *Drosophila melanogaster*, Beutler on the role of Toll-like receptors in mammals. Steinman investigated mouse dendritic cells and their role in the induction of adaptive immunity, the second line of immune response that comes into play when innate immunity is not enough. The findings of Steinman established dendritic cells as a link between innate and adaptive immunity.

LITERATURA

- ALEXOPOULOU L., HOLT A. C., MEDZHITOV R., FLAVELL R. A., 2001. *Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3*. Nature 413, 732–738.
- BANCHEREAU J., STEINMAN R. M., 1998. *Dendritic cells and the control of immunity*. Nature 392, 245–252.
- BEUTLER B., MILSARK I. W., CERAMI A., 1985. *Passive immunization against cachectin/tumor necrosis factor (TNF) protects mice from the lethal effect of endotoxin*. Science 229, 869–871.
- BEUTLER B., 2000. *Endotoxin, Toll-like receptor 4, and the afferent limb of innate immunity*. Curr. Opin. Microbiol. 3, 23–28.
- BEUTLER B., 2001. *Sepsis begins at the interface of pathogen and host*. Biochem. Soc. Transact. 29, 853–859.
- BEUTLER B., 2004. *Innate immunity: an overview*. Mol. Immunol. 40, 845–859.
- BEUTLER B., RIETSCHEL E. T., 2003. *Timeline: innate immune sensing and its roots: the story of endotoxin*. Nat. Rev. Immunol. 3, 169–176.
- BLACH-OLSZEWSKA Z., 2006. *Mechanizmy kontroli odporności wrodzonej*. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 60, 201–208.
- CHUANG T. H., ULEVITCH R. J., 2000. *Cloning and characterization of a sub-family of human toll-like receptors: hTLR7, hTLR8 and hTLR9*. Eur. Cytokine Network 11, 372–378.
- DU X., POLTORAK A., WEI Y., BEUTLER B., 2000. *Three novel mammalian toll-like receptors: gene structure, expression, and evolution*. Eur. Cytokine Network 11, 362–371.
- DUTTON R. W., MCCARTHY M. M., MISHILL R. I., RAIDT D. J., 1970. *Cell components in the immune response. IV. Relationships and possible interactions*. Cell. Immunol. 1, 196–206.
- FREUDENBERG M. A., KEPPLER D., GALANOS C., 1986. *Requirement for lipopolysaccharide-responsive macrophages in galactosamine induced sensitization to endotoxin*. Infect. Immunity 51, 891–895.
- GALLUCCI S., MATZINGER P., 2001. *Danger signals: SOS to the immune system*. Curr. Opin. Immunol. 13, 114–119.
- HOEBE K., JANSSEN E. M., KIM S. O., ALEXOPOULOU L., FLAVELL R. A., HAN J., BEUTLER B., 2003. *Upregulation of costimulatory molecules induced by lipopolysaccharide and double-stranded RNA occurs by Trif-dependent and Trif-independent pathways*. Nat. Immunol. 12, 1223–1229.
- HOFFMANN J., DUTTON R. W., 1971. *Immune response restoration with macrophage culture supernatants*. Science 172, 1047–1048.
- JANEWAY C. A. Jr. 1989. *Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology*. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 54, 1–13.
- KIMBRELL D.A., BEUTLER B., 2001. *The evolution and genetics of innate immunity*. Nat. Rev. Genetics 2, 256–267.
- LEMAITRE B., NICOLAS E., MICHAUT L., REICHHART J.-M., HOFFMANN J. A., 1996. *The dorsoventral regulatory gene cassette spatzle/Toll/cactus controls the potent antifungal response in Drosophila adults*. Cell 86, 973–983.
- MAJEWSKA M., SZCZEPANIK M., 2006. *Rola receptorów Toll-podobnych w odporności wrodzonej i nabytej oraz ich funkcja w regulacji odpowiedzi immunologicznej*. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 60, 52–63.
- MEDZHITOV R., JANEWAY C. A. Jr. 2002. *Decoding the patterns of self and nonself by innate immune system*. Science 296, 298–300.
- METCHNIKOV E., 1884. *Über eine sprosspilzkrankheit der daphnien. Beitrag zur lehre über den kampf der phagocyten gegen krankheitserreger*. Virchow's Archiv 96, 177–195.
- PFEIFFER R., 1892. *Untersuchungen über das Choleragift*. Zeitsch. Hygiene 11, 393–412.
- POLTORAK A., RICCIARDI-CASTAGNOLI P., CITTERIO A., BEUTLER B., 2000. *Physical contact between lipopolysaccharide and Toll-like receptor 4 revealed by genetic complementation*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97, 2163–2167.
- POLTORAK A., HE X., SMIRNOVA I., LIU M.-Y., VAN HUFFEL C., DU X., BIRDWELL D., ALEJOS E., SILVA M., GALANOS C., FREUDENBERG M. A., RICCIARDI-CASTAGNOLI P., LAYTON B., BEUTLER B., 1998. *Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene*. Science 282, 2085–2088.
- STEINMAN R. M., COHN Z. A., 1973. *Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution*. J. Exp. Med. 137, 1142–1162.
- SULTZER B. M., 1968. *Genetic control of leucocyte responses to endotoxin*. Nature 219, 1253–1254.
- WATSON J., KELLY K., LARGEN M., TAYLOR B. A., 1978. *The genetic mapping of a defective LPS response gene in C3H/HeJ mice*. J. Immunol. 120, 422–424.
- WATSON J., RIBLET R., TAYLOR B. A., 1977. *The response of recombinant inbred strains of mice to bacterial lipopolysaccharides*. J. Immunol. 118, 2088–2093.
- WRIGHT S. D., RAMOS R. A., TOBIAS P. S., ULEVITCH R. J., MATHISON J. C., 1990. *CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein*. Science 249, 1431–1433.
- YAMAMOTO M., SATO S., HEMMI H., HOSHINO K., KAISHO T., SANJO H., TAKEUCHI O., SUGIYAMA M., OKABE M., TAKEDA K., AKIRA S., 2003. *Role of adapter TRIF in the MyD88-independent Toll-like receptor signaling pathway*. Science 301, 640–643.