

Rola komórki dendrytycznej w zakażeniu *Helicobacter pylori*

The role of dendritic cell in *Helicobacter pylori* infection

Elżbieta Maciorkowska¹, Izabela Roszko¹, Maciej Kaczmarski²

¹Zakład Pielęgniarstwa Pediatricznego Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

²Klinika Pediatrii, Gastroenterologii i Alergologii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

Przegląd Gastroenterologiczny 2009; 4 (3): 137–140

Słowa kluczowe: komórka dendrytyczna, *Helicobacter pylori*, odpowiedź immunologiczna.

Key words: dendritic cell, *Helicobacter pylori*, immune response.

Adres do korespondencji: prof. dr hab. n. med. Elżbieta Maciorkowska, Zakład Pielęgniarstwa Pediatricznego, Uniwersytet Medyczny, ul. Waszyngtona 15, 15-274 Białystok, tel. +48 85 745 05 65, faks +48 85 745 05 68, e-mail: emaciorkowska@o2.pl

Streszczenie

Różnorodność funkcji komórek dendrytycznych (DC) zależy w dużym stopniu od fazy ich rozwoju. Wyróżnić można progenitorowe komórki DC szpiku kostnego, DC prekursorowe krwi, limfy i tkanek limfoidalnych oraz spoczynkowe DC, które znajdują się w tkankach i mają zdolność do endocytozy, pinocytozy i fagocytozy, co pozwala na wychwytywanie antygenów (m.in. za pośrednictwem receptorów Toll-podobnych). Dojrzałe komórki DC po kontakcie z antygenem biorą udział za pośrednictwem molekuł kostymulujących w inicjowaniu odpowiedzi immunologicznej. Po wchłonięciu antygeny przez DC spoczynkowe dochodzi do wzmożenia ekspresji cząsteczek MHC (*major histocompatibility complex* – główny układ zgodności tkankowej), receptorów chemokinowych (CCR4 i CCR7) oraz cząstek kostymulujących (CD40, CD80, CD83, CD86), za pomocą których możliwa jest migracja i prezentacja cząstek antygenowych przez dojrzałe DC. Pobudzone DC wykazują sekrecję cytokin – czynnika martwicy nowotworów (*tumour necrosis factor α* – TNF- α), interleukin IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12 – oraz chemokin pochodzenia makrofagowego, które przyciągają komórki T i promują przeżywalność samych DC poprzez zahamowanie ich apoptozy. Komórki DC są aktywowane do dojrzewania i wydzielania cytokin zarówno bezpośrednio, jak i pośrednio również przez *Helicobacter pylori*.

Udział komórek dendrytycznych (*dendritic cell* – DC) w odpowiedzi immunologicznej na zakażenie *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) cieszy się wielkim zainteresowaniem, ponieważ mogą one stanowić pomost między wrodzoną a nabytą odpowiedzią immunologiczną. Zostały one zidentyfikowane jako te komórki, które jako pierwsze odpowiadają na czynniki stymulujące bakterii [1] i odgrywają ważną rolę komórek prezentujących antygen [2].

Abstract

The functional variety of dendritic cells (DC) depends greatly on the stage of their development. There can be distinguished: progenitor DC of bone marrow, precursor DC of blood, lymph and lymphoid tissues, and resting DC that are found in tissues and possess a capability of endocytosis, pinocytosis and phagocytosis, which makes it possible to catch antigens (among others, *via* Toll-like receptors). After contact with an antigen, mature DC initiate an immune response by means of co-stimulating molecules. The enhanced expression of MHC molecules, chemokine receptors (CCR4 and CCR7) as well as co-stimulating molecules (CD40, CD80, CD83, CD86), enabling migration and presentation of antigen particles by mature DC, is observed after resting DC absorb an antigen. Activated DC secrete cytokines (TNF, IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12) and chemokines derived from macrophages that attract T cells and promote the survival of DC *via* inhibition of their apoptosis. Dendritic cells are activated to mature and secrete cytokines both directly and indirectly by *Helicobacter pylori*.

Przewlekłe zakażenie *H. pylori* prowadzi do zapalenia błony śluzowej żołądka, natomiast u części chorych – choroby wrzodowej, a u ok. 1% – raka żołądka. Mimo że kolonizacja ludzkiego żołądka *H. pylori* zachodzi przeważnie w dzieciństwie, to w przypadku braku efektywnego leczenia trwa przez wiele lat. Odpowiedź immunologiczna i zapalna rozwija się u wszystkich zakażonych osób, a mimo to ponad 80% nie ma żadnych objawów klinicznych związanych z zakażeniem *H. pylori*.

przez całe życie, u części z nich objawy występują dopiero w wieku dorosłym. Prawdopodobieństwo rozwinienia się choroby u osób zakażonych jest w większości determinowane przez odpowiedź zapalną, która wiąże się z wirulencją szczepów, genetyczną predyspozycją gospodarza i kofaktorami środowiskowymi. Odpowiedź immunologiczna i zapalna na zakażenie tymi bakteriami jest w dwójnasób istotna – zapalenie błony śluzowej żołądka może prowadzić do rozwoju dalszych następstw klinicznych, a nieskuteczna odpowiedź immunologiczna i zapalna jest przyczyną utrzymywania się zakażenia [3].

Komórki dendrytyczne w zależności od umiejscowienia anatomicznego, morfologii i fenotypu można podzielić na komórki narządów nielinfatycznych, limfatycznych oraz krwi. Nieregularny kształt DC zapewnia im większą powierzchnię kontaktu z antygenem i limfocytami, natomiast ich zdolność ruchowa stwarza możliwości skutecznego wyłapywania antygenów ze środowiska. Komórki dendrytyczne charakteryzują się zdolnością sekrecji wielu substancji, w tym interleukin (IL-1, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18), chemokin (MCP-1) czy innych cytokin (TNF- α , INF- α , IFN- γ , G-CSF, GM-CSF, TGF- β). Na powierzchni DC stwierdzono również obecność receptorów uczestniczących w procesach migracji w kierunku ogniska zapalnego bądź węzłów chłonnych (CCR1, CCR2, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CXCR1, CXCR2, CXCR4).

Wykazano także, że DC mogą penetrować warstwę komórek powierzchniowych nabłonka jelitowego (*in vitro* i *in vivo*) oraz bezpośrednio kontaktować się z bakterią [4–6]. Komórki dendrytyczne poprzez aktywację dziewięciu limfocytów T i B jako jedyne są zdolne do pobudzania pierwotnej odpowiedzi immunologicznej.

Najważniejszą grupą receptorów rozpoznających patogen (*pattern-recognition receptors* – PRR), poznaną stosunkowo niedawno, są receptory Toll-podobne (*Toll-like receptors* – TLR). Ligandami dla tych receptorów okazują się struktury egzogenne pochodzące z bakterii (lipopolisacharydy – LPS, peptydoglikany czy białka szoku termicznego, *heat shock protein* – HSP) oraz struktury endogenne pochodzące z makroorganizmów (produkty rozpadu martwych komórek), które określa się jako wzorce molekularne związane z patogenami (*pathogen associated molecular patterns* – PAMP) [7].

Znanych jest 13 receptorów Toll-podobnych (TLR1–TLR13), z których TLR2 oraz TLR4 wykazują powinowactwo do bakterii, natomiast TLR5 to szczególnie typ receptora, który – wiążąc flagelinę (białko rzęsek bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych) – zwiększa odporność organizmu w wyniku aktywacji monocytów, DC i NK oraz limfocytów T. Receptory Toll-podobne po

potęczeniu z różnymi ligandami (PAMP) indukują i syntetyzują cytokiny prozapalne, zwiększają ekspresję antygenów zgodności tkankowej (MHC) oraz cząstek kostymulujących, występujących na komórkach układu odpornościowego, czego wynikiem jest aktywacja odpowiedzi zapalnej [8].

Na DC stwierdzono obecność następujących receptorów Toll-podobnych: TLR2, TLR3, TLR5, TLR7, TLR8, TLR9 i TLR10.

Wykazano, że w infekcjach bakteryjnych TLR aktywuje i stymuluje DC, powodując ich dojrzewanie, zwiększając ich zdolność migracji do węzłów chłonnych, w których to wpływają na różnicowanie limfocytów T do Th1 – odpowiedzialnych głównie za odporność komórkową [9]. Lipopolisacharydy zewnętrznej błony komórkowej osłony *H. pylori* poprzez TLR2, przy współudziale TLR4 i cząsteczek kostymulujących CD80 oraz CD86, wzmagają syntezę TNF- α , IL-10, IL-12, chemokin, a także jądrowego czynnika transkrypcyjnego B (*nuclear factor kappa B* – NF- κ B) [10], natomiast TLR5 – wiążąc flagelinę – wpływa na indukcję odpowiedzi zapalnej poprzez aktywację monocytów, komórek NK i DC oraz zwiększoną produkcję cytokin, głównie TNF- α i IL-6, a także molekuł kostymulujących (CD80 i CD86) występujących na DC [11, 12].

Wyróżnia się dwie rodziny receptorów PRR w komórkach nabłonkowych błony śluzowej przewodu pokarmowego – omówione wcześniej TLR oraz cząsteczki Nod (*nucleotide binding oligomerization domain*) – Nod1, Nod2 – i ostatnio odkrytą IPAF (*Nod-like receptor* – NLRC4). Białka receptorowe Nod są aktywowane przez ligandy *H. pylori*, gdyż mają one geny typu IV sekrecji [13].

Po aktywacji poprzez TLRs (receptory Toll-podobne) DC mogą następnie aktywować limfocyty T w różnym kierunku i są zdolne do pobudzania zarówno Th1, jak i Th2/Treg (regulatorowe limfocyty T) wskutek zwiększonej produkcji odpowiednio IL-12 czy IL-10 [14, 15].

Jednym z czynników wirulencji *H. pylori* jest białko aktywujące neutrofile (*H. pylori neutrophil activating protein* – HP-NAP), które bierze aktywny udział w rozwijającym się procesie zapalnym, zwiększając właściwości adhezyjne neutrofilów do komórek nabłonka i wzrost wydzielania IL-8. HP-NAP jest agonistą TLR2 zdolnym do indukowania wydzielania IL-12 (która jest kluczową cytokiną dla różnicowania się „nawrotnych” limfocytów T w limfocyty o fenotypie Th1). Indukuje również monocyty do wydzielania IL-23 i różnicowania w dojrzałe DC. Powoduje on zwiększenie ekspresji cząsteczek MHC klasy II oraz produkcję IL-12 przez DC, a także wzrost czynników kostymulujących (CD80 i CD86). Wpływa ponadto na różnicowanie się limfocytów w fenotyp Th1 nie tylko poprzez wytwarzanie cyto-

kin IL-12 czy IL-23, ale również poprzez pobudzenie dojrzewania DC wykazujących wysoką ekspresję (HLA-DR, CD80 i CD86) [16].

Komórka dendrytyczna po kontakcie z *H. pylori* może wydzielać IL-12, pobudzającą limfocyty Th1 do produkcji INF- γ , IL-2 czy TNF- α . Może również poprzez produkcję IL-10 aktywować odpowiedź immunologiczną za pośrednictwem Th2 (wydzielają one wówczas IL-4, IL-5, IL-10 czy IL-13) lub Treg, które poprzez IL-10 i TGF- β pobudzają limfocyty Th2, a hamują Th1 [17].

Ważnymi determinantami, które mogą być potencjalnymi antygenami białek zewnętrznej błony *H. pylori*, są *Omp18* i *HpaA*, indukujące dojrzewanie DC [18].

Wykazano, że aktywacja i dojrzewanie DC przebiega niezależnie od obecności w genomie bakterii *cagPAI* czy *vacA*, a aktywacja produkcji cytokin przez DC występuje zarówno po kontakcie z inaktywowanymi bakteriami w formalinie, nadszczem kultury bakterii i może być częściowo zależna od LPS ściany *H. pylori* [19].

Szczepy tej bakterii mające *cag PAI* (geny związane z wyspą patogenności – *cag pathogenity island*) znacząco częściej są odpowiedzialne za chorobę wrzodową czy raka żołądka niż szczepy *cagA(-)*. *cag PAI* są grupą ok. 30 genów, z których część koduje system sekrecji typu IV (T4SS) umożliwiający „wstrzyknięcie” *cagA* do cytoplazmy komórki nabłonka. Szczepy *H. pylori* mające *cag PAI* stymulują linie komórek epitelialnych do wydzielania dużej ilości cytokiny prozapalnej IL-8. Proces ten zapoczątkowuje rozpoznający patogen receptor (PRR) – *Nod1*, który rozpoznaje bakterie Gram-ujemne [20, 21].

Po aktywacji DC może być również zwiększona produkcja IL-23 [22], która należy do rodziny IL-12, zawiera podjednostkę p40 IL-12 i pobudza proliferację produkujących IL-17 limfocytów T (Th17) [23].

Komórki dendrytyczne aktywowane w kontakcie z *H. pylori* przez 48 godz. wykazują znacząco słabszą zdolność do pobudzania produkcji INF- γ w zetknięciu z „naiwnymi” limfocytami T w porównaniu z DC aktywowanymi tylko przez 8 godz. [22]. Odnotowano, że przedłużona ekspozycja na różne stymulujące czynniki powoduje „wyczerpanie” DC, prowadzące do zmniejszenia produkcji cytokin i zmianę w stymulowaniu naiwnych komórek T, które w większości przekształcają się w Th2 lub niespolaryzowane komórki T [15, 22].

Być może ważną rolę w przewlekłym zakażeniu *H. pylori* odgrywa czas, podczas którego DC po kontakcie z antygenem docierają do węzłów limfatycznych. Znaczącą funkcję w odpowiedzi człowieka na zakażenie *H. pylori* pełni odpowiedź limfocytów *T-helper*. Istnieją jednak dowody na to, że siła tej odpowiedzi Th1 może być suboptymalna. Taka może być odpowiedź na osłabioną aktywację limfocytów T przez DC [22]. Przy-

puszczalnie przewlekły kontakt DC z *H. pylori* powoduje utratę zdolności do indukowania odpowiedzi Th1, co może przyczyniać się do przetrwania zakażenia.

Piśmiennictwo

1. Pulendran B, Palucka K, Banchereau J. Sensing pathogens and tuning immune responses. *Science* 2001; 293: 253-6.
2. Sallusto F, Lanzavecchia A. Mobilizing dendritic cells for tolerance, priming, and chronic inflammation. *J Exp Med* 1999; 189: 611-4.
3. Robinson K, Argent RH, Atherton JC. The inflammatory and immune response to *Helicobacter pylori* infection. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2007; 21: 237-59.
4. Rescigno M, Urbano M, Valzasina B i wsp. Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nat Immunol* 2001; 2: 361-7.
5. Chieppa M, Rescigno M, Huang AY, Germain RN. Dynamic imaging of dendritic cell extension into the small bowel lumen in response to epithelial cell TLR engagement. *J Exp Med* 2006; 203: 2841-52.
6. Niess JH, Brand S, Gu X i wsp. CX3CR1-mediated dendritic cell access to the intestinal lumen and bacterial clearance. *Science* 2005; 307: 254-8.
7. Beutler B. Innate immune responses to microbial poisons: discovery and function of the Toll-like receptors. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 2003; 43: 609-28.
8. Janssens S, Beyaert R. Role of Toll-like receptors in pathogen recognition. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16: 637-46.
9. Pasare C, Medzhitov R. Toll-like receptors: linking innate and adaptive immunity. *Adv Exp Med Biol* 2005; 560: 11-8.
10. Mandell L, Moran AP, Cocchiarella A i wsp. Intact gram-negative *Helicobacter pylori*, *Helicobacter felis*, and *Helicobacter hepaticus* bacteria activate innate immunity via toll-like receptor 2 but not toll-like receptor 4. *Infect Immun* 2004; 72: 6446-54.
11. Reis e Sousa C. Toll-like receptors and dendritic cells: for whom the bug tolls. *Semin Immunol* 2004; 16: 27-34.
12. Guiney DG, Hasegawa P, Cole SP. *Helicobacter pylori* preferentially induces interleukin 12 (IL-12) rather than IL-6 or IL-10 in human dendritic cells. *Infect Immun* 2003; 71: 4163-6.
13. Viala J, Chaput C, Boneca IG i wsp. *Nod1* responds to peptidoglycan delivered by the *Helicobacter pylori* *cag* pathogenicity island. *Nat Immunol* 2004; 5: 1166-74.
14. Banchereau J, Briere F, Caux C i wsp. Immunobiology of dendritic cells. *Ann Rev Immunol* 2000; 18: 767-811.
15. Iliev ID, Matteoli G, Rescigno M. The yin and yang of intestinal epithelial cells in controlling dendritic cell function. *J Exp Med* 2007; 204: 2253-7.
16. Amedei A, Cappon A, Codolo G i wsp. The neutrophil-activating protein of *Helicobacter pylori* promotes Th1 immune responses. *J Clin Invest* 2006; 116: 1092-101.
17. Kranzer K, Eckhardt A, Aigner M i wsp. Induction of maturation and cytokine release of human dendritic cells by *Helicobacter pylori*. *Infect Immun* 2004; 72: 4416-23.
18. Voland P, Hafsi N, Zeitner M i wsp. Antigenic properties of *HpaA* and *Omp18*, two outer membrane proteins of *Helicobacter pylori*. *Infect Immun* 2003; 71: 3837-43.

19. Kranzer K, Söllner L, Aigner M i wsp. Impact of *Helicobacter pylori* virulence factors and compounds on activation and maturation of human dendritic cells. *Infect Immun* 2005; 73: 4180-9.
20. Robinson K, Argent RH, Atherton JC. The inflammatory and immune response to *Helicobacter pylori* infection. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2007; 21: 237-59.
21. Backert S, Ziska E, Brinkmann V i wsp. Translocation of the *Helicobacter pylori* CagA protein in gastric epithelial cells by a type IV secretion apparatus. *Cell Microbiol* 2000; 2: 155-64.
22. Mitchell P, Germain C, Fiori PL i wsp. Chronic exposure to *Helicobacter pylori* impairs dendritic cell function and inhibits Th1 development. *Infect Immun* 2007; 75: 810-9.
23. Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR i wsp. Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol* 2005; 6: 1123-32.