

A DENDRITIKUS SEJTEK ÉS TERÁPIÁS FELHASZNÁLÁSI LEHETŐSÉGEIK

Rajnavölgyi Éva

az MTA doktora, egyetemi tanár, intézetigazgató, Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Általános Orvostudományi Kar Immunológiai Intézet – evaraj@jaguar.dote.hu

Bevezetés

Az immunrendszer egyik legfontosabb feladata a patogének elleni hatékony védekezés, amelyet a természetes (veleszületett) és a szerzett (adaptív) immunválasz együttműködése biztosít. Az adaptív immunválasz felismerő és végrehajtó (effektor) sejtjei a limfociták, amelyek speciális feladataikat csak a veleszületett immunitás sejtjeinek és molekuláinak közreműködésével képesek megfelelő módon elvégezni. A limfociták közös jellemzője, hogy nagy sokféleséggel jellemezhető felismerő receptorokkal rendelkeznek, amelyek közvetítésével a különböző testidegen struktúrák, az *antigének* felismerése és eltávolítása a szervezetből más-más limfocita klónok közreműködésével történik. A limfociták két funkcionális csoportja, a B- és a T-sejtek eltérő módon vesznek részt az antigének felismerésében és semlegesítésében.

A *B-limfociták* antigént felismerő receptora eltérő természetű oldott és részecske-antigének felismerésére képes, az antigénnel való kölcsönhatás sejtben aktivációt és differenciációt vált ki. Az antigén-specifikus inger hatására a B-sejtek osztódnak, majd plazmasejteké alakulnak, és nagy mennyiségben oldott formában szecernálják a felismerő receptorral azonos szerkezetű és specifikitású fehérjét, az *ellenanyagokat*.

A *T-limfociták* a fehérje antigének felismerésére szakosodtak, antigént felismerő receptoraik – a B-limfocitákéhoz hasonlóan

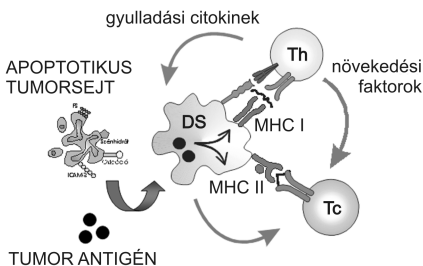
– sokfélék. A T-limfociták a natív fehérjéket nem képesek felismerni, az antigén-felismeréshez a fehérjék előzetes feldolgozása és megfelelő bemutatása szükséges. Ezt a funkciót a fő hisztokompatibilitási génkomplex (MHC) által kódolt membránfehérjéket kifejező *antigént bemutató (prezentáló) sejtek* (APS) végzik. Az APS-ek a fehérjéket a sejten belül peptidekre bontják, a képződő peptidek az MHC molekulákhoz kötődnek, ezt követően az MHC-peptid komplexek a sejt-plazmából a sejtfelszínre kerülnek. A sejten belül képződő peptidek aktív szerepet játszanak az MHC molekulák térbeli elrendeződésének stabilizálásában, és ezáltal a sejt-felszínen megjelenő MHC-peptid komplexek kötőhelye nem hozzáférhető a külső környezetben előforduló peptidek számára (Simon et al, 2000). Ezáltal az MHC által kódolt membránfehérjék elsődlegesen a sejt belső környezetét mutatják be a T-limfociták számára.

A T-limfociták antigénfelismerő receptora ezeket a sejtfelszíni MHC-peptid komplexeket képes felismerni, aminek hatására az APS és a T-sejt közvetlen kapcsolatba kerülnek egymással. Ezt a kölcsönhatást a két sejt membránján kifejeződő kapcsoló molekulák is elősegítik, aminek eredményeként kialakul az ún. *immunológiai szinapszis*. Az APS-sel való kontaktus hatására a T-limfociták aktiválódnak, osztódnak és effektor sejtekké differenciálódnak. Ezek a T-sejtek ellenanyag-termelésre nem képesek, de aktiválódásuk

eredményeként számos, eltérő hatású *citokin* termelését kezdik el. A citokinek oldott molekulák, amelyek receptoraik révén fejtik ki hatásukat az őket termelő vagy más sejtekre.

A T-limfociták két eltérő funkciójú effektor sejtje képesek átalakulni. Az élő képességgel rendelkező *citotoxikus T-limfociták* (Tc) az MHC-I, a *segítő (helper) T-limfociták* (Th) az MHC-II molekulák által bemutatott peptideket képesek felismerni. Az MHC-I fehérjék a sejten belül szintetizálódnak – saját, vírus, baktérium vagy tumor eredetű fehérjékből képződő peptidek megkötésére képesek, és minden magvas sejt membránjában kifejeződnek. Így a Tc sejtek az antigénből származó peptideket bármely sejt felszínén képesek felismerni. Az MHC-II fehérjék fiziológiai körülmények között csak az immunrendszer működésében részt vevő sejteken, így a B-limfocitákon, a makrofágokon és a dendritikus sejteken (DS) jelennek meg. Ezért a Th sejtek csak ezeknek a hivatásos APS-eknek a közreműködésével képesek az antigén felismerésre.

A hivatásos APS-ek közös sajátossága, hogy speciális receptoraik révén a külső szöveti környezetből képesek oldott anyagokat és/vagy részecskéket felvenni, azokat lebontani és az ezekből származó peptideket az MHC-II fehérjék segítségével a Th sejtek számára a sejt felszínén bemutatni. A Th sejtek elsődlegesen a külső térből a hivatásos APS-ekbe kerülő fehérjék lebomlása útján képződő peptideket ismerik fel. A Th sejtek kulcsszerepet játszanak az immunválasz elindításában, szabályozásában, az antigén eltávolítását szolgáló effektor mechanizmusok irányításában. A Th1 sejtek a gyulladásos folyamatok elindulását, és a Tc sejtek aktiválódását, a Th2 sejtek pedig elsősorban az ellenanyagok termelését segítik elő. Az ellenanyagok szinte minden kórokozó elleni védekezés fontos résztvevői, a Tc sejtek a vírussal fertőzött és a tumoros sejtek elpusztításában töltenek be kiemelt szerepet.



1. ábra • A dendritikus sejtek szerepe a segítő és a citotoxikus T-limfociták együttműködésében. Az aktivált Th1 sejtek által termelt faktorok olyan változást idéznek elő a DS-ekben, ami lehetővé teszi a felvett oldott antigénekből vagy apoptotikus sejtekből származó vírus vagy tumorfehérjékből származó peptidek hatékony bemutatását a Tc sejtek számára. Ez a mechanizmus lehetővé teszi a Th és a Tc sejtek egyidejű aktiválását, együttműködését és a hatékony vírus- és tumor-ellenes celluláris immunválasz elindítását.

Saját vizsgálataink szerint az influenza-vírus egy funkcionálisan fontos szakasza ellen irányuló helper T-limfociták aktiválása fokozza a vírusfertőzéssel szembeni immunológiai védekezés hatékonyságát (Rajnavölgyi et al, 1997). Molekuláris térképezési vizsgálatokkal meghatároztuk azt az optimális peptidszakaszt, amely a protektív hatású segítő Th1 limfociták aktiválása révén új típusú, peptid-alapú oltóanyagok ígéretes alkotórésze lehet (Gogolák et al, 2000). A potenciálisan tumorkeltő Epstein-Barr vírus – amely az emberi populáció nagy részében látens fertőzés formájában jelen van – által kódolt egyik magi fehérje ismétlődő szakaszán azonosítottunk olyan szakaszokat, amelyek a vírus reaktivációt megakadályozó memória válasz során a specifikus Th1 limfociták aktivációját váltják ki (Rajnavölgyi et al, 2000).

A DS-ek a természetes immunitás résztvevői, mint hivatásos APS-ek alapvető fontosságúak a Th sejtek aktiválásában. Emellett a DS-ek képviselik az egyetlen olyan sejtípust, amely alkalmas a naiv Th és a Tc sejtek egyidejű aktiválására és ezáltal a celluláris

immunválasz kiváltására. Ennek hátterében az áll, hogy a DS-ek a felvett virális és tumor antigéneket is képesek az MHC-I fehérjék számára hozzáférhető módon lebontani. Bár az effektor Tc sejtek a szöveti sejteket is el tudják pusztítani, a naív Tc limfociták aktiválásához szükséges a Th sejtek közreműködése is. A Th1 sejtek a DS-ek előkészítésével közvetve, valamint a Tc sejtekre közvetlenül hatva is kifejtik segítő funkciójukat (1. ábra).

A DS-ek – ellentétben a limfocitákkal – antigén-specifikus felismerőképességgel nem rendelkeznek, így a saját fehérjék peptidjeit éppúgy bemutatják a T-limfociták számára, mint az esetleg káros vagy idegen fehérjék lebomlási termékeit. A DS-ek számos sejtfelszíni receptoruk révén azonban képesek különbséget tenni az egészséges, jól működő és a módosult saját sejtek, valamint a külső környezetből bekerülő patogének egyes csoportjaira jellemző közös molekulák között. Ez a monocita/makrofág sejtekre is jellemző *mintázatfelismerő képesség* lehetővé teszi az idegen és/vagy veszélyes anyagok DS-ek általi felvételét, tárolását és szállítását. A DS-ek – ellentétben a makrofágokkal – nem a felvett fehérjék teljes lebontásában, hanem elsősorban azok részleges feldolgozásában és a képződő peptidok T-limfociták számára történő hatékony bemutatásában játszanak szerepet. Ezért a DS-ek mai ismereteink szerint a leghatékonyabb hivatásos APS-ek, amennyiben képesek a T-sejtek által közvetített immunválasz kiváltására, az ellenanyag-termelés fokozására, az idegen és/vagy veszélyes anyagok eltávolítását végrehajtó effektor folyamatok irányítására, az immunológiai memória kialakítására és fenntartására.

A DS-ek utóbbi években feltárt működésbeli sokfélesége és funkcionális rugalmassága az immunterápia új lehetőségeit tárta fel. A megfelelően előkészített és/vagy a különböző eredetű és típusú antigénekkal „feltöltött” DS-ek ígéretes eszközei lehetnek

az immunválasz hatékonyságát elősegítő, sejt-alapú terápiáknak. A kórokozók elleni hatékonyabb oltóanyagok kifejlesztése mellett a DS-ek felhasználása különös fontosságú az immunválasz ellenőrző funkcióját elkerülő, hosszú ideig tolerált rosszindulatú daganatok elleni immunológiai védekezés hatékonyságának fokozásában.

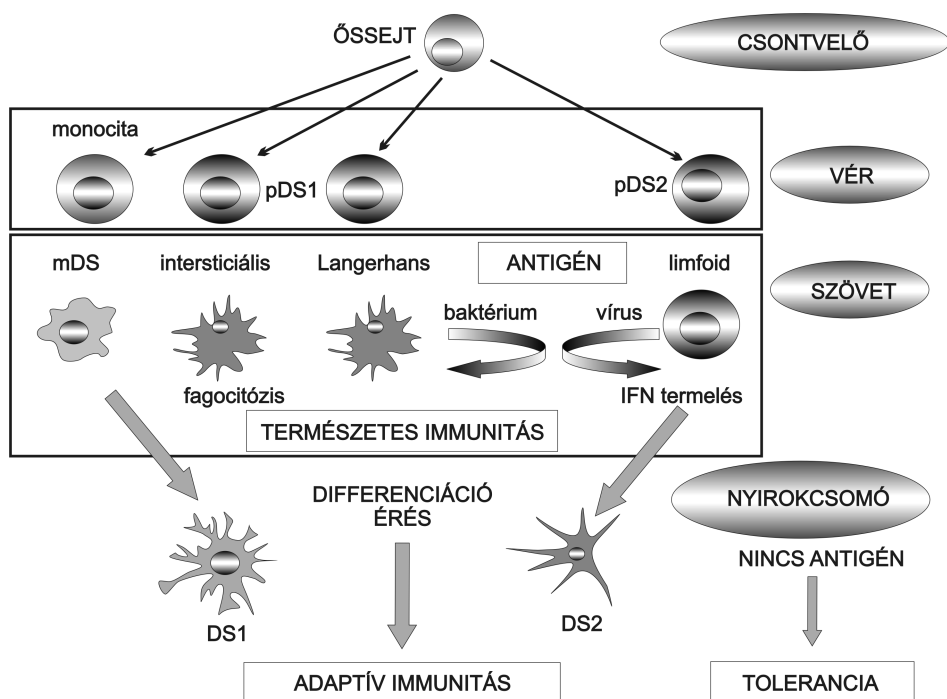
A dendritikus sejtek eredete és alcsoportjai

A fehérvérsejtek egy kis számú csoportját (a vérben ~0,2 %, egyéb szövetekben még kisebb hányad) a DS-ek alkotják (Banchereau, 2002). Mai ismereteink szerint a DS-ek szöveti lokalizációjuk, eredetük, aktivációs állapotuk és funkcionális sajátágaik alapján rendkívül heterogén sejtpopulációt képviselnek. A memória B-limfociták kialakulását elősegítő, antigéneket megkötő, de átalakítani nem képes *follikuláris dendritikus sejtek* (FDC) kivételével a DS-ek a csontvelői őssejtekből alakulnak ki, a különböző altípusok előalakjai kis számban a perifériás vérben is megtalálhatók.

A DS-ek – bár nagyon kis számban – összes szöveteinkben kimutathatók, legnagyobb mennyiségben azonban testünk azon helyein összpontosulnak, ahol a szervezet állandó kapcsolatban van a külső környezettel. Így a légutak és a bélcsatorna nyálkahártyája alatt a DS-ek egymással kapcsolódó hálózatot képeznek, továbbá jelen vannak a bőr külső és mélyebb rétegeiben is.

Az eltérő szöveti elhelyezkedéssel és működésbeli sajátságokkal rendelkező DS-ek differenciálódási útvonalai, illetve az egyes sejtípusok funkcionális rugalmassága még nem teljesen tisztázott. Az emberi szervezetben két fő DS típus különíthető el:

1.) A bőrben és a nyálkahártya-felületénél alatt letelepedő Langerhans-sejtek (LS), valamint az egyéb, nem limfoid szövetekben található szövetközi (intersticiális) DS-ek, amelyek közös mieloid előalakból származ-



2. ábra • A dendritikus sejtek differenciálódása. Az immunrendszer többi sejtjeihez hasonlóan a DS-ek képződése és differenciálódása a csontvelői őssejtekből indul el. A véráramba kerülő prekurzorok (pDS1 és pDS2) kilépnek a keringésből és letelepednek a szövetekben, ahol folyamatosan felveszik az adott környezetben képződő vagy oda bekerülő anyagokat. Fiziológiai körülmények között ez a folyamat immunológiai toleranciát vált ki. A külső környezeti hatásoktól függően a DS-ek aktiválódhatnak, ami további differenciációhoz vezet. Az érett DS-ek a nyirokcsomókban a T-sejtekkel találkozáskor képesek az adaptív immunválasz kiváltására.

tathatók. Ezekhez a sejtekhez hasonló sajátosságokkal rendelkeznek az emberi perifériás vér monocitáiból citokinek jelenlétében *in vitro* nevelhető *éretlen* monocita eredetű dendritikus sejtek is. Ezek a DS-ek számos patogénből származó komponens, gyulladásos citokinek, bizonyos anyagcsere-termékek hatására aktiválódnak, differenciálódnak, és jelentős működésbeli változáson mennek át. A sejtek aktiválódásával egyidejűleg a DS-ek elhagyják a szövetet, és a környező nyirokcsomókba vándorolnak, ahol az aktivált T-limfocitákkal való kapcsolat hatására *érett* DS-ekké differenciálódnak. Ezek a DS-ek olyan citokinek termelésére válnak képessé,

amely kedvez a gyulladásos folyamatok kialakulását elősegítő Th1 limfociták aktiválódásának (1. ábra)

2.) A vérben kis számban előforduló, limfoid markerekkel is jellemezhető limfoid (plazmocitoid) DS-ek eredete kevésbé ismert. Ezek a sejtek egyes vírusok hatására I típusú interferonokat (IFN- α) termelnek, ami kedvez a Th1 sejtek aktiválódásának. Aktiválódásukat a myeloid DS-ektől eltérő citokinek is kiválthatják, ilyenkor az aktivált T-limfocitákkal való kontaktus hatására az ellenanyag-termelést segítő T-limfociták (Th2) képződését segítik elő, ami kedvez az allergiás folyamatok kialakulásának.

A dendritikus sejtek funkcionális jelentősége

Az eltérő eredetű DS-ek a perifériás szövetekben ért hatásoktól függően különböző aktiválódási és differenciálódási állapotban lehetnek. A mieloid eredetű, nyugvó, éretlen szöveti DS-ek elsődleges funkciója a környező szövetekből történő „mintavétel”. Az aktivált, vándorló DS-ek tárolási és szállító funkciót látnak el, míg a környező nyirokcsomókban időlegesen letelepedő érett, teljes mértékben differenciálódott DS-ek a leghatékonyabb hivatásos APS-ek, amelyek sejt-felszíni molekuláik révén közvetlen kapcsolatot tudnak teremteni az antigén-specifikus segítő és öltő T-limfociták előalakjaival, és az általuk termelt citokinek révén befolyásolják a T-limfociták aktivációját és végrehajtó sejt-té történő differenciációját.

A dendritikus sejtek felismerő és felvevő funkciója

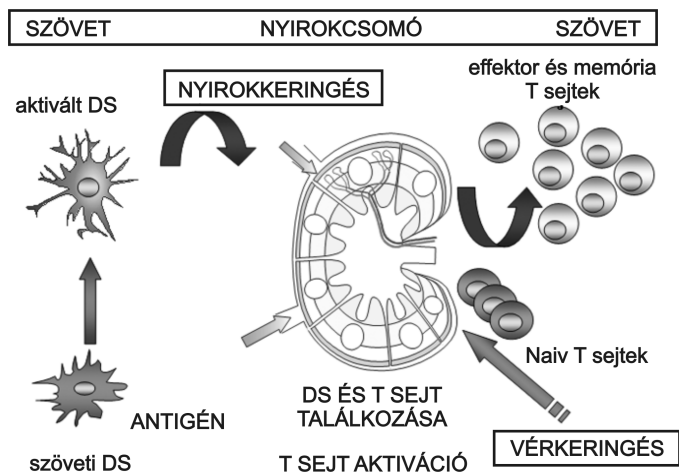
A nem limfoid szövetekben ritkán elhelyezkedő, nyugvó DS-ek az oldott anyagokat pinocitózissal, a részecskéket makropinocitózissal vagy receptorfüggő endo- illetve fagocitózissal folyamatosan veszik fel. Az adott szöveti környezetben megjelenő fiziológias és módosított anyagcsere- és bomlástermékek, előregedett, apoptózis vagy nekrosis révén elhaló, stresszhatásnak kitett vagy tumoros sejtek, valamint a külső környezetből bekerülő oldott anyagok, részecskék, kórokozók egyaránt felvétellel kerülhetnek. Az utóbbi években a fagocitasejteken – így a DS-eken és a makrofágokon is – számos olyan receptort azonosítottak, amelyek felismerik a patogének egyes csoportjait, valamint a nem jól működő, sérült vagy stressz hatására megváltozott, illetve a sejtihalál programot (apoptózist) elindító szöveti sejteket. A mintázatfelismerő receptorokhoz közvetlenül vagy a szövetekben, vérben található közvetítő molekulák (opszoninok) segítség-

gével kötődő anyagokat a fagociták felveszik és a sejten belül átalakítják. A felvett anyagok és részecskék – természetüktől függően – aktivációs ingert is jelenthetnek a fagocita sejtek számára, aminek hatására azok mobilizálódnak, citokineket termelnek, és felszínükön aktivációs molekulákat fejeznek ki. A fagocitasejtekhöz sorolható makrofágok és DS-ek egyaránt fontos szerepet töltenek be az immunfolyamatokban, azonban eltérő módon reagálnak a felvett anyagokra és a szöveti változásokra. Közeli elhelyezkedésük és az általuk termelt oldott faktorok révén funkcióik azonban hatással lehetnek egymásra.

A dendritikus sejtek aktiválódása

Fiziológias körülmények között az elpusztuló sejtek folyamatos felvétele ellenére a DS-ek zöme inaktív állapotban marad, vagy csak részlegesen aktiválódik. Ilyenkor csupán kis hányaduk hagyja el a szövetet, és jut el a nyirokkeringés révén a környező nyirokcsomókba. A szöveti környezet változásának hatására – amit például a kórokozók bejutása, helyi gyulladás vagy stressz válthat ki – a felvett szöveti komponensek mennyisége és összetétele változik. A mikrobákból származó különböző faktorok, gyulladást keltő anyagok, anyagcsere- és bomlástermékek hatására a nyugvó DS-ek aktiválódnak, és nagy számban lépnek ki az adott szövetből. A nyirokerekben történő vándorlásuk során a megváltozott szöveti környezetre jellemző és az ott érzékelt és felvett idegen és/vagy veszélyes anyagokat a környező nyirokcsomókba szállítják.

Az aktiválódott DS-ek felvevőképessége jelentősen csökken, és az aktiváció hatására a DS-ek hatékony, hivatásos APS-ekké differenciálódnak. Ennek során a sejtekben fokozódik a felvett fehérjék részleges lebontása, az MHC molekulák szintézise és a sejten belül képződött peptidokkal komplexet alkotó MHC-I és MHC-II molekulák sejt felszínre



3. ábra • A dendritikus sejtek vándorlása. A szöveti DS-ek aktivációs ingerek hatására a nyirokkeringés révén a környező nyirokcsomókba vándorolnak, és a szövetekből beszállított antigéneket a T-limfociták letelepedési helyén bemutatják. A bevitt antigénnel fajlagosan reagáló T-sejtek és a DS-ek között kialakul az immunológiai szinapszis, ami effektor és memória T-limfociták képződését eredményezi. Ezek az effektor- és memóriasejtek visszavándorolnak abba a szövetbe, ahol az antigén található és effektor funkcióikat ott hajtják végre.

szállítása. Az MHC molekulák mellett – a szöveti környezetben ért hatásoktól függően – fokozódik a T-sejt aktivációt elősegítő kostimuláló és adhéziós molekulák megjelenése a sejtmembránban. Szintén az aktivációs ingerektől függően a DS-ekben különböző – a Th1 és/vagy a Th2 sejtek differenciálódását elősegítő – citokinek termelése indul el. Ezáltal a nyirokcsomók speciális mikro-környezetében – amelyet a naiv T-limfociták folyamatosan átjárnak – lehetőség nyílik azoknak a T-sejteknek az aktiválására, amelyek a DS-ek által bemutatott idegen, kórokozóból vagy megváltozott saját sejtekből származó peptid antigéneket képesek felismerni (1. és 3. ábra).

Ennek alapján ezek a természetes immunitáshoz tartozó sejtek – bár antigén-specifikus receptorokkal nem rendelkeznek – alapvető szerepet játszanak a szervezet belső szöveti környezetének folyamatos érzékelésében. Ezeknek a „kihelyezett őrszemként”

működő sejteknek tehát az a dolguk, hogy a szöveti környezetben zajló változásokról molekuláris információt továbbítsanak a nyirokcsomókban át folyamatosan cirkáló T-limfociták számára. A fizioiogiás állapotokat tükröző, nem aktivált DS-ek a nyirokcsomókban megforduló T-limfociták aktivációját nem támogatják, ezért azok toleránsak maradnak a fizioiogiás szöveti fehérjékkel szemben. A patogénből származó faktorok vagy a helyi gyulladásos citokinek hatására aktiválódó, a kórokozó antigénjeit hordozó és szállító DS-ek azonban a kórokozó fehérjéiből származó peptidok bemutatása révén aktiválják az antigén-specifikus T-limfocitákat (2. ábra). A DS-ek tehát az idegen anyagok jelenlétét az MHC révén, a patogénből vagy a szöveti károsodásból származó veszélyjelet az aktivációs állapotukat jelző kostimuláló molekulák és az általuk termelt citokinek közvetítésével jelzik a T-limfociták számára.

A DS-ek szerepe a T-limfociták aktiválásában

A DS-ek egyedi sajátága, hogy képesek a naiv T-limfocitákat aktiválni, differenciálódásukat irányítani, az effektor és az emlékező (memória) T-sejtek arányát befolyásolni. A DS-ek hatékonyan aktiválják a segítő T-limfocitákat, amelyek membrán molekuláik és citokinjeik révén visszahatnak a DS-ek működésére. A fagocita sajátosságú makrofágok és DS-ek kiemelt szerepet játszanak az előregedő, nem funkcionáló, feleslegessé vált és apoptotikus sejtek gyulladás nélküli, toleranciát kiváltó eltávolításában éppúgy, mint a vírussal fertőzött és tumorsejtek felvételében és bemutatásában a T-limfociták számára. Saját eredményeink azt is igazolják, hogy bizonyos vírus eredetű génszakaszok ezen az úton átkerülhetnek az APS-be, és ezáltal fehérjetermékeik révén hosszú távú antigén-bemutatást biztosítanak a memória T-sejtek számára (Holmgren et al, 1999).

A nyirokcsomókban aktiválódó, osztódó és differenciálódó segítő és öltő sejtek elhagyják az aktiváció helyét – a nyirokcsomót, és nagy számban visszavándorolnak abba a szövetbe, ahol az aktiválódásukat kiváltó fertőzött vagy tumorsejtek elhelyezkednek (3. ábra). Ezek a végrehajtó sejtek már a nem hivatásos APS-ként működő szöveti sejteken megjelenő MHC-I molekulákon is felismerik a vírus és tumor antigénekből származó peptideket, és az egészséges szöveti sejtek károsítása nélkül képesek az antigént hordozó sejteket elpusztítani. E szelektív öltő funkció kiváltása és a memóriasejtek révén történő fenntartása nagy jelentőséggel bír a vírus- és tumorellesztő immunológiai védekezés során.

A dendritikus sejtek patológiás szerepe

A DS-ek nemcsak előnyös módon képesek befolyásolni az immunrendszer működését. Bizonyos vírusok, mint pl. az emberi immun-

deficiencia vírus (HIV) a szöveti DS-eket mintegy „szállítóeszközként” használja fel arra, hogy eljusson a perifériás nyirokcsomókba, ahol az aktivált Th-limfociták – a HIV vírus elsődleges gazdasejtjei – megfertőzése a legkedvezőbb feltételek kínálkoznak.

Annak ismeretében, hogy a DS-ek egyedülálló szerepet játszanak a sejt immunválasz beindításában, meglepő volt annak felfedezése, hogy a DS-ek elengedhetetlenek az immunológiai tolerancia kiváltásában és fenntartásában is. Ugyanakkor a nem megfelelő időpontban aktiválódó DS-ek felelősek az immunológiai tolerancia „áttöréséért” és a kóros autoimmun folyamatok beindításáért. A DS-ek toleranciát kiváltó képessége annak tulajdonítható, hogy bizonyos hatásokra a DS-ek szabályozó (reguláló) T-limfociták aktiválódását váltják ki, amelyek aktív módon gátolják a végrehajtó T-limfociták funkcióit és ezáltal a sejt immunválaszt. A reguláló T-limfocitáknak elsődleges szerepe van a fiziológiásan működő perifériás szövetekkel szembeni immunológiai tolerancia fenntartásában és a sejt immunválasz féken tartásában. Így a saját sejteket is pusztító efekto mechanizmusok beindulása csak megfelelő veszélyjelek esetén válik lehetségessé. Ez a kényes egyensúly azonban – elsősorban, bizonyos genetikai tényezők érzékenyítő hatása mellett, kórokozók vagy stressz hatására – felborulhat, és ezáltal az immunrendszerben jelen lévő, saját komponenseket felismerő T-limfociták aktiválódhatnak. Mivel az ily módon célponttá vált saját sejtek hosszan tartó fehérjeforrást jelentenek, az autoreaktív effektor T-limfociták nem szabályozott aktivációja a saját szöveteket károsító gyulladásos folyamatokhoz vezethet. Az autoimmun betegségek során fellépő szöveti léziókban (például reumatoid artritiszben szenvedő betegekben a gyulladt ízületben) elsőként jelennek meg, és szinte mindig megtalálhatók az érett, hatékony antigénprezentáló képességgel rendelkező

DS-ek. Egyes szisztémás autoimmun betegségekben, a DS differenciálódás és aktiválódás zavara mutatható ki (Turley, 2002). Így például a szisztémás lupus eritematózus (SLE) megbetegedésben a vérben keringő DS-ek száma ugyan csökken, de ezek nagy mennyiségű I típusú interferont (IFN α) termelnek, ami fokozza a vérben keringő DS előalakok érett DS-ekké történő differenciálódását és az immunrendszer aktiválódását.

Joggal merül fel a kérdés, hogy a legkülönbözőbb szövetekben képződő hibás, korlátlanul szaporodó tumorsejtek milyen információval szolgálnak a T-limfociták számára. Számos kísérletes adat és terápiás eredmény igazolja, hogy a Tc sejtek képesek a tumorsejteket felismerni és közvetlenül elpusztítani, ezáltal nagy tömegű tumorok visszafejlődését is kiváltani. Az is ismert azonban, hogy az immunrendszer ellenőrző funkcióját kikerülve szinte bármely szövetben nagyméretű tumorok fejlődhetnek ki anélkül, hogy az immunrendszer védekező funkciója hatásos lenne. A tumorsejtek működése nem tekinthető fiziológiásnak, ezért feltételezhető hogy olyan molekulákat is kifejeznek, amelyek eltérőek vagy nagyobb mennyiségben vannak jelen, mint a normál sejtekben. Az utóbbi évtizedben, elsőként a bőrrákot (melanoma) okozó sejtekben számos, a T-limfociták számára felismerhető tumorantigént azonosítottak (Rosenberg, 1999). A tumorsejtekre jellemző molekulák ellen irányuló sejt immunválasz lehetőséget teremthet a tumorsejtek célzott elpusztítására anélkül, hogy az egyéb szöveti sejtek károsodnának, ami a kemo- és radioterápia egyik legkárosabb mellékhatása. Mégis úgy tűnik, hogy a normál szöveti sejtekből fejlődő tumorsejtek *in vivo* körülmények között sikeresen „álcázzák” magukat az immunrendszer „figyelőszolgálat” elől is. Ennek egyik oka az lehet, hogy maguk a tumorsejtek általában nem képesek a naiv T-limfociták aktiválására, hiszen nem működnek

hivatásos APS-ként. Ezért a tumorantigének hatékony bemutatása és a celluláris immunválasz aktiválása sikeresen csak az elhalt tumorsejtek vagy a belőlük kiszabadult tumorantigének felvételét követően a DS-ek által valósulhat meg (1. ábra). A tumorsejtekben azonban a fiziológiás sejtelhalást (apoptózist) elősegítő programok nem, vagy csak elégtelenül működnek, továbbá a korlátlan szaporodóképességgel rendelkező sejtek általában veszélyjelet sem továbbítanak a DS-ek számára. Így a DS-eket mintegy megtévesztve a fiziológiás szövetre jellemző információt továbbítanak a T-limfociták felé, ami immunválasz helyett toleranciát vált ki. A tumorsejtek továbbá számos olyan faktort is termelhetnek, amelyek távol tartják maguktól az immunrendszer működését biztosító sejteket, köztük a DS-eket is.

A DS-alapú tumorelleses vakcinációs stratégiák téje és kihívása az, hogy sikerül-e áttörni az élő szervezetben a tumorral szemben kialakult immunológiai toleranciát, és a DS-ek megfelelő *in vitro* manipulálásával hatékony tumorelleses immunválaszt kiváltani.

A dendritikus sejtek immunterápiás felhasználási lehetőségei

A DS-ek kulcsszerepet játszanak az immunológiai tolerancia fenntartásában, az antigén-specifikus immunválasz elindításában és irányításában, valamint az immunológiai memória kifejlődésében (Rajnavölgyi és Lányi, *in press*). Mindezen funkcionális sajátágaik alapján a DS-ek felhasználhatók az immunológiai folyamatok modulálására, és ezáltal immunterápiás alkalmazásra is. A DS-ek terápiás felhasználási lehetőségeit azok az új eljárások tették lehetővé, amelyek segítségével a szervezetben rendkívül kis számban és elszórtan előforduló DS-ek egyes típusai kellő mennyiségben izolálhatók, jellemezhetők, *in vitro* körülmények között fenntarthatók és funkcióik módosíthatók. A DS-ek

az emberi vérben 3-6 %-ban előforduló monocitákból *in vitro* körülmények között is előállíthatók (Thurner et al, 1999). E módszerek kifejlesztésében nagy jelentőségű volt a DS-ek *in vitro* differenciálásához és aktivációjához szükséges citokinek azonosítása és rekombináns fehérjeként történő előállítása. Az aktív immunizálás (vakcináció) az immunológia legősibb gyakorlati alkalmazási lehetősége, amely számos fertőző betegség ellen bizonyult hatásosnak. A vakcinációs eljárások során az elsődleges cél az antigén-specifikus segítő T-limfociták aktiválása és a kórokozó természetétől függően a mikrobák vagy toxinjaik ellen irányuló hatékony ellenanyagválasz vagy a fertőzött sejteket elpusztító sejt immunitás kiváltása. Ezek a tapasztalatok és a DS-ek sokoldalú funkcionális sajátosságainak megismerése tette lehetővé, hogy a megfelelően előkészített DS-eket természetes adjuvánsokként alkalmazzák (Rajnavölgyi, 2000) és felhasználják tumor-ellenes *egyedi sejterápiás* célra, amelynek segítségével a beteg saját rákos sejtjei ellen irányuló fajlagos immunológiai védekezés hatásfoka fokozható.

Az első DS-alapú egyedi immunterápiás próbálkozás limfómás betegekben kapott eredményeiről elsőként 1996-ban számoltak be (Hsu et al, 1996). A DS-k tumorterápiás felhasználási lehetőségét azóta számos más típusú rosszindulatú daganat, így bél-, vese-, prosztatata- és bőrtumorok kezelésére próbálták ki, és biztató eredményekről számoltak be annak ellenére, hogy a kezelés hatékonyságát eddig szinte csak előrehaladott, sokszor áttétes vagy a konvencionális terápiára nem reagáló esetekben vizsgálták. A DS alapú terápia optimalizálására, hatékonyságának és esetleges mellékhatásainak vizsgálatára az USA-ban és Európában jelenleg többféle, már elfogadott kezelési protokoll folyik (lásd az Amerikai Rák Társaság és a Dendreon biotechnológiai vállalkozás honlapjait).

Az egyedi DS-alapú tumorterápia során a tumoros beteg perifériás véréből összejuttatjuk, DS előalakokat vagy monocitákat izolálnak, és ezekből – eltérő citokinkeverékek jelenlétében – *in vitro* körülmények között DS-eket állítanak elő. A vérben legnagyobb számban jelen lévő monociták *in vitro* körülmények között néhány nap alatt szintén DS-ekké differenciálódnak. Az éretlen DS-ek hatékonyan feltölthetők a beteg saját tumorsejtjeiből származó teljes sejt-lizátummal, előlt tumorsejtekkel vagy az adott tumorsejtre jellemző mesterségesen előállított tumorantigénnel. Ezek a tumorantigénnel kezelt DS-ek gyulladásos citokinek vagy más aktivációs ingerek hatására olyan DS-ekké érnek, amelyek a betegbe visszajuttatva elvándorolnak a beadás helyéhez közeli nyirokcsomókba, ahol a tumorsejtjeiből származó peptideket a segítő és a citotoxikus T-limfociták számára bemutatták, valamint az általuk kifejezett kostimuláló molekulák és citokinek közvetítésével hatékonyan aktiválják a tumorspecifikus T-sejteket. A tumorterápia elvét és vázlatos menetét a 4. ábrán foglaltuk össze.

Az eddig közölt eredmények szerint a DS-alapú immunterápia biztonságosan, mellékhatások nélkül alkalmazható tumoros betegekben. A DS-ek kinyerésének, a tumorantigénnel való feltöltésnek és a visszajuttatandó DS-ek számának optimalizálása azonban további vizsgálatokat igényel. A DS-terápia hatékonyságát részben a klinikai paraméterek, részben a tumorelleses sejt immunválasz-intenzitásának alapján értékelik. Ez utóbbi paraméterek meghatározásához nagy előrelépést jelentett az antigén-specifikus T-limfociták számának és citokintermelésének meghatározására kifejlesztett új módszerek alkalmazása.

A teljes tumorsejt-lizátummal feltöltött DS-ek *in vivo* alkalmazása a kóros autoimmun folyamatok kiváltásának potenciális veszélyét rejtje magában. Ennek ellenére ilyen mellékhatásokról alig számoltak be, és az

IRODALOM

American Cancer Society: www.cancer.org

Banchereau Jacques – Schuler-Thurner B. (2001): Dendritic Cells as Vectors for Therapy. *Cell*. 106, 271-274.

Banchereau Jacques (2002): The Long Arm of the Immune System. *Scientific American*. Nov, 52-59.

Dendreon: www.dendreon.com

Gogolák Péter – Simon Á. – Horváth A. – Réthi B. – Simon I. – Berkics K. – Rajnavölgyi É. – Tóth G. K. (2000): Mapping of a Protective Helper T Cell Epitope of Human Influenza A Virus Hemagglutinin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 270, 190-198.

Holmgren, Lars – Szeles A. – Rajnavölgyi É. – Folkman, J. – Klein, G. – Ernberg, I. – Falk, K. I. (1999): Horizontal Transfer of DNA by the Uptake of Apoptotic Bodies. *Blood*. 93, 3956-3963.

Hsu, Frank J. – Benike, C. – Fagnoni, F. – Liles, T. M. – Czerwinski, D. – Taidi, B. – Engleman, E. G. – Levy, R. (1996): Vaccination of Patients With B-Cell Lymphoma Using Autologous Antigen-Pulsed Dendritic Cells. *Nature Med*. 2, 52.

Rajnavölgyi Éva – Horváth A. – Gogolák P. – Tóth G. K. – Fazekas Gy. – Fridkin, M. – Pecht I. (1997): Characterizing Immunodominant and Protective Influenza Hemagglutinin Epitopes by Functional Activity and Relative Binding to MHC Class II Sites. *European Journal of Immunology*. 27, 3105-3114.

Rajnavölgyi Éva – Nagy N. – Thuresson, B. – Dosztányi Zs. – Simon Á. – Simon I. – Karr, R. W. – Ernberg I. – Klein, E. – Falk, K. (2000): A Repetitive Sequence of EBV Nuclear Antigen 6 Comprises Overlapping T Cell Epitopes Which Induce HLA-DR-Restricted CD4+ T Lymphocytes. *International Immunology*. 12, 281-293.

Turley, Shannon J. (2002): Dendritic Cells: Inciting and Inhibiting Autoimmunity. *Current Opinion in Immunology*. 14, 765-770.

Rajnavölgyi Éva – Lányi Á.: The Role of CD4+ T Lymphocytes in Antitumor Immunity. *Advances in Cancer Research*. (in press)

Rajnavölgyi Éva (2000): *Dendritikus sejtek, az immunrendszer természetes adjuvánsai*. MTA Közgyűlés 2000.

Rosenberg Steven A. (1999): A New Era for Cancer Immunotherapy Based on the Genes That Encode Cancer Antigens. *Immunity*. 10, 281-287.

Simon Ágnes – Dosztányi Zs. – Rajnavölgyi É. – Simon I. (2000): Function-related Regulation of the Stability of MHC Proteins. *Biophysical Journal*. 79, 2305-2313.

Thurner B. – Röder C. – Dieckmann D. – Heuer M. – Kruse M. – Glaser A. – Keikavoussi P. – Kampgen E. – Bender A. – Schuler G. (1999): Generation of Large Numbers of Fully Mature and Stable Dendritic Cells from Leukapheresis Products for Clinical Application. *Journal of Immunological Methods*. 223, 1-15.

