

Received: 21.04.2017  
Accepted: 18.12.2017  
Published: 12.04.2018

## Modulacja funkcji plazmacytoidalnych komórek dendrytycznych podczas zakażeń wirusowych\*

### Functional modulation of plasmacytoid dendritic cells during viral infections

Lidia Szulc-Dąbrowska<sup>1</sup>, Piotr Wojtyniak<sup>2</sup>, Diana Papiernik<sup>3</sup>, Justyna Struzik<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Immunologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

<sup>2</sup>Pracownia Biologii Molekularnej, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN w Warszawie

<sup>3</sup>Zakład Onkologii Doświadczalnej, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda PAN we Wrocławiu

#### Streszczenie

Plazmacytoidalne komórki dendrytyczne (pDC), określane jako komórki wytwarzające interferony (IFN; IPC), reprezentują unikalną populację komórek odporności wrodzonej ze względu na zdolność wytwarzania dużych ilości IFN typu I w odpowiedzi na zakażenia wirusowe. pDC rozpoznają wirusowe kwasy nukleinowe za pomocą receptorów Toll-podobnych (TLR)7 i TLR9, które są umiejscowione w przedziałach endosomalnych. IFN typu I wydzielane przez aktywowane pDC pod wpływem obcych kwasów nukleinowych, wykazują bezpośrednie działanie przeciwwirusowe, ale także aktywują komórki NK, nasilają dojrzewanie mieloidalnych DC (mDC), promują długoterminowe przeżycie i pamięć limfocytów T, polaryzację limfocytów Th1, cytotolityczną aktywność limfocytów T CD8<sup>+</sup> oraz wytwarzanie IFN- $\gamma$ . pDC stanowią zatem istotny pomost, łączący mechanizmy odporności nieswoistej i swoistej, w celu wytworzenia skutecznej odpowiedzi przeciwwirusowej. Jako główne komórki wrodzonego układu odpornościowego, wytwarzające IFN typ I, pDC odgrywają ważną rolę w zakażeniach różnymi wirusami, włączając ludzki wirus niedoboru odporności (HIV), małpi wirus nabytego upośledzenia odporności (SIV), wirus limfocytarnego zapalenia spłotu naczyńiówkowego i opon mózgowych (LCMV), wirus zapalenia wątroby typu C (HCV) i typu B (HBV), syncytialny wirus nabłonka oddechowego (RSV) czy wirus opryszczki pospolitej (HSV). Jednak niektóre z nich mogą zakażać, a nawet namnażać się w pDC, czego następstwem jest modulacja i upośledzenie funkcji tych komórek. W ten sposób wirusy unikają skierowanej przeciwko nim odpowiedzi immunologicznej, powodując rozwój zakażeń o charakterze przewlekłym.

#### Słowa kluczowe:

plazmacytoidalne komórki dendrytyczne • receptory Toll-podobne • zakażenie wirusowe • wirusowa modulacja • IFN typu I

#### Summary

Plasmacytoid dendritic cells (pDCs), also known as interferon (IFN)-producing cells (IPCs), represent a unique cell population of innate immunity due to their ability to produce high amounts of type I IFNs in response to viral infections. The pDCs recognize viral nucleic acids via Toll-like receptor (TLR)7 and TLR9 localized in endosomal compartments. Type I IFNs, secreted by activated pDCs through the recognition of foreign nucleic acids, not only exhibit a direct antiviral activity but also activate NK cells, induce myeloid DC (mDC) maturation,

\*Praca powstała w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki w Krakowie nr UMO-2012/05/D/NZ6/02916 (dla L.S.D.).

promote T cell long-term survival and memory formation, polarization of Th1 cells, cytolytic activity of CD8<sup>+</sup> T lymphocytes and IFN- $\gamma$  production. Therefore, pDCs link innate and adaptive immunity to mount an effective antiviral immune response. The pDCs, which act as the main cells of innate immunity that produce type I IFNs, play an important role in controlling viral infections, including human immunodeficiency virus (HIV), simian immunodeficiency virus (SIV), lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV), hepatitis C virus (HCV), hepatitis B virus (HBV), respiratory syncytial virus (RSV) and herpes simplex virus (HSV) infections. However, some of these viruses can infect and even replicate productively in pDCs, resulting in modulation and functional impairment of these cells. Thus, viruses evade host antiviral immune response to mediate a persistent infection.

**Keywords:** plasmacytoid dendritic cells • Toll-like receptors • viral infection • viral modulation • type I IFNs

**GICID:** 01.3001.0011.7522  
**DOI:** 10.5604/01.3001.0011.7522  
**Word count:** 8629  
**Tables:** –  
**Figures:** 2  
**References:** 86

**Adres autorki:** dr n. wet. Lidia Szulc-Dąbrowska, Zakład Immunologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa; e-mail: lidia\_szulc@sggw.pl

**Wykaz skrótów:** **BDCA** – antygen komórek dendrytycznych krwi (blood dendritic cell antigen); **BTK** – kinaza tyrozynowa Brutona (Bruton's tyrosine kinase); **CD2AP** – białko związane z CD2 (CD2-associated protein); **cDC** – konwencjonalna DC (conventional DC); **CpG ODN** – oligodeoksyrybonukleotyd CpG (CpG oligodeoxyribonucleotide); **DD** – domena śmierci (death domain); **EMCV** – wirus zapalenia mózgu i mięśnia sercowego (encephalomyocarditis virus); **ER** – siateczka śródplazmatyczna (endoplasmic reticulum); **GALT** – tkanka limfatyczna związana z błonami śluzowymi przewodu pokarmowego (gut associated lymphoid tissue); **GP** – glikoproteina (glycoprotein); **HBsAg** – antygen powierzchniowy HB (hepatitis B surface antigen); **HBV** – wirus zapalenia wątroby typu B (hepatitis B virus); **HCV** – wirus zapalenia wątroby typu C (hepatitis C virus); **HIV** – ludzki wirus niedoboru odporności (human immunodeficiency virus); **HSV** – wirus opryszczki pospolitej (herpes simplex virus); **ICOS** – indukowalny kostymulator limfocytów T (inducible T-cell costimulator); **ICOSL** – ligand ICOS (ICOS ligand); **IFN** – interferon (interferon); **IL** – interleukina (interleukin); **ILT7** – immunoglobulinopodobny transkrypt 7 (immunoglobulin-like transcript 7); **Infv** – wirus grypy (influenza virus); **IPC** – komórka wytwarzająca IFN (IFN-producing cell); **IRAK4** – kinaza 4 związana z receptorem IL-1 (IL-1R-associated kinase 4); **IRF** – czynnik regulatorowy IFN (IFN regulatory factor); **ISG** – gen stymulowany IFN (IFN-stimulated gene); **JUNV** – wirus Junin (Junin virus); **LASV** – wirus Lassa (Lassa virus); **LCMV** – wirus limfocytarnego zapalenia splotu naczyniówkowego i opon mózgowych (lymphocytic choriomeningitis virus); **MDA5** – białko 5 związane z różnicowaniem się czerniaka (melanoma differentiation-associated gene-5); **MHC** – główny układ zgodności tkankowej (major histocompatibility complex); **MyD88** – mieloidalny czynnik różnicowania 88 (myeloid differentiation factor 88); **NDV** – wirus choroby Newcastle (Newcastle disease virus); **NF- $\kappa$ B** – jądrowy czynnik  $\kappa$ B (nuclear factor  $\kappa$ B); **NHP** – naczelnne inne niż człowiek (nonhuman primates); **NK** – naturalny zabójca (natural killer); **PAMP** – molekularny wzorzec związany z patogenami (pathogen-associated molecular pattern); **PBMC** – jednojądrzasta komórka krwi obwodowej (peripheral blood mononuclear cell); **pDC** – plazmacytoidalna DC (plasmacytoid DC); **PI3K** – kinaza 3 fosfatydiloinozytolu (phosphoinositide 3-kinase); **PRR** – receptor rozpoznający wzorce (pattern recognition receptor); **RIG-I** – gen I indukowalny kwasem retinowym (retinoic acid inducible gene-I); **RLR** – receptor RIG-I-podobny (RIG-I-like receptor); **RSV** – syncytialny wirus nabłonka oddechowego (respiratory syncytial virus); **SeV** – wirus Sendai (Sendai virus); **siRNA** – krótki interferujący RNA (short interfering RNA); **SLE** – toczeń rumieniowaty układowy (systemic lupus erythematosus); **T<sub>CM</sub>** – limfocyt T pamięci centralnej (central memory T cell); **T<sub>EM</sub>** – limfocyt T pamięci efektorowej (effector memory T cell); **TLR** – receptor Toll-podobny (Toll-like receptor); **TNF- $\alpha$**  – czynnik martwicy nowotworu  $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ ); **VSV** – wirus pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej (vesicular stomatitis virus); **VZV** – wirus ospy wietrznej i półpaśca (varicella-zoster virus).

**WSTĘP**

Plazmacytoidalne komórki dendrytyczne (plasmacytoid dendritic cells, pDC), określane także jako komórki wytwarzające interferony (interferons, IFN) typu I (type I IFN-producing cell, IPC), należą do kluczowych komórek efektorowych odporności wrodzonej ze względu na nie-

zwykłą zdolność do wytwarzania IFN typu I w odpowiedzi na zakażenia wirusowe. PDC stosunkowo niedawno zostały przyporządkowane do dużej rodziny DC (złożonej z licznych subpopulacji), choć same komórki znane były już od kilku dekad, wcześniej określane jako „komórki plazmatyczne związane z limfocytami T”, „plazmacytoidalne limfocyty T”, „plazmacytoidalne monocyty” lub „IPC” [81].

**Tabela 1.** Podobieństwa i różnice w fenotypie oraz funkcjach pDC i mDC ludzkiej krwi obwodowej [79]

Cecha	pDC	mDC		
		BDCA-1	BDCA-3	CD16
<b>Fenotyp<sup>a</sup>:</b>				
CD4	++	+	+	+
DEC-205	++	++	+++	+
CD11c	-	+++	++	+++
CD40	+/-	+/-	+/-	+/-
CD80	-	-	-	-
CD83	-	-	-	-
CD86	+	+	+	++
HLA-DR	++	++	++	++
CCR7	-	-	-	-
<b>Receptory Toll-podobne:</b>				
TLR1	+	+	+	+
TLR2	-	++	++	++
TLR3	-	++	++	-
TLR4	-	+	+	+
TLR5	-	+	+/-	+
TLR6	+/-	+	+	+
TLR7	++	+/-	+/-	+/-
TLR8	-	+	+	+
TLR9	+++	-	-	-
TLR10	+	+	+	+
<b>Migracja do węzłów chłonnych<sup>b</sup></b>				
	+	+	+	+
<b>Cytokiny<sup>b</sup></b>				
IFN-α	+++	-	-	-
IFN-β	+++	+	+	+
IFN-ω	++	-	-	-
IFN-λ	+	+	+	+
IL-1β	+	+	+	+
IL-6	++	++	++	+++
IL-8	+++	+++	+++	+++
IL-12	-	+	+	+
TNF-α	+++	+++	+++	+++
<b>(Krzyżowa)-prezentacja antygenów<sup>b</sup></b>				
CD4	+	+	+	+
Th1	+	+	+	+
CD8	+	+	+	+/-

<sup>a</sup>spoczynkowe DC, <sup>b</sup>aktywowane DC

Ze względu na możliwość licznych oddziaływań z komórkami układu odpornościowego, pDC pełnią nadrzędną rolę w aktywacji zarówno wrodzonej, jak i nabytej odpowiedzi przeciwwirusowej. W zależności od stanu aktywacji, profilu uwalnianych cytokin oraz bezpośrednich oddziaływań typu receptor-ligand, pDC mogą hamować bądź aktywować inne komórki układu odpornościowego. Dalsza regulacja odpowiedzi immunologicznej przez pDC odbywa się przez silne wydzielanie IFN typu I ( $\alpha/\beta/\omega$ ) o szerokim zakresie działania oraz ekspresję różnorodnych cząsteczek powierzchniowych. Przez kontrolę wydzielania cytokin i ekspresji swoistych receptorów powierzchniowych pDC można „kierować” odpowiedzią immunologiczną w taki sposób, aby uzyskiwać najbardziej pożądane efekty lecznicze. Dlatego też, pDC są bardzo wartościowym celem terapeutycznym w leczeniu chorób wirusowych i nowotworowych [55].

### CHARAKTERYSTYKA PDC

Plazmacytoidalne DC są nieliczną populacją komórek, stanowiącą zaledwie od 0,2 do 0,5-0,8% wszystkich jednojądrzastych komórek krwi obwodowej (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) człowieka oraz komórek narządów limfatycznych myszy [63,78]. Wykazują morfologię komórek plazmatycznych, są większe niż spoczynkowe limfocyty i nieznacznie mniejsze od monocytów CD14<sup>+</sup> [78].

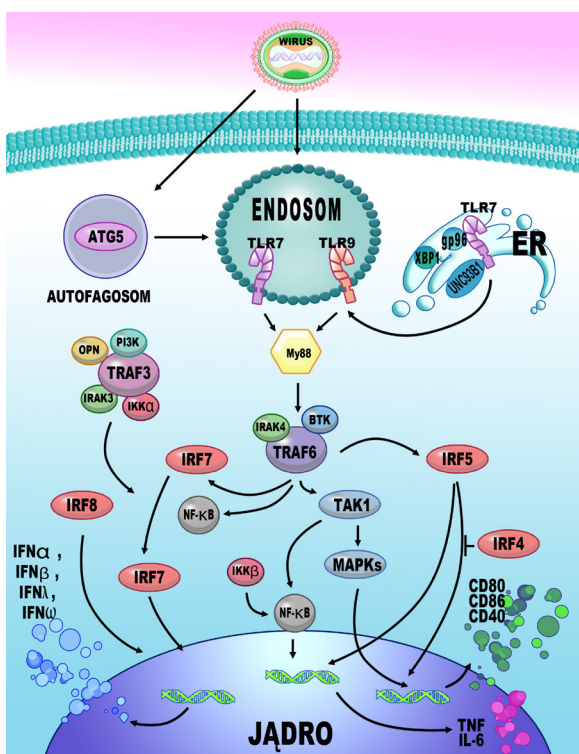
Pod względem fenotypowym i funkcjonalnym pDC różnią się od konwencjonalnych/klasycznych DC (conventional DC, cDC) (tabela 1). Ludzkie i mysie pDC przede wszystkim nie wykazują lub wykazują słabą ekspresję integryny CD11c – markera cDC. PDC, w przeciwieństwie do cDC, wykazują ekspresję cząsteczki B220/CD45RA – markera limfocytów B oraz niewielką ekspresję cząsteczek głównego układu zgodności tkankowej (major histocompatibility complex, MHC) klasy II i cząsteczek kostymulujących [63]. Główną funkcją pDC jest wytwarzanie IFN typu I, natomiast cDC – stymulacja dziewiczych limfocytów T. Po aktywacji, obie populacje zwiększają ekspresję białek MHC II i cząsteczek kostymulujących CD80 (B7.1), CD86 (B7.2) oraz CD40 i markera dojrzałości CD83, zwiększając tym samym zdolność do stymulacji limfocytów T [57]. Cechą wspólną obu populacji jest także możliwość krzyżowej prezentacji antygenów egzogennych w kontekście MHC klasy I limfocytom T CD8<sup>+</sup> podczas zakażeń wirusowych [17,80].

Ludzkie pDC krwi obwodowej oraz szpiku kostnego wykazują selektywną ekspresję lektyny typu C II, tzw. antygen 2 komórek dendrytycznych krwi (blood dendritic cell antigen 2, BDCA-2; CD303) oraz BDCA-4 (CD304) [21]. Ludzkie pDC zawierają także immunoglobulinopodobny transkrypt 7 (immunoglobulin-like transcript 7, ILT7) i ILT3 oraz cząsteczki CD4, MHC klasy II, CD68 (marker linii mieloidalnej), CD123<sup>high</sup> i CD2 [64,74,78]. Ta ostatnia cząsteczka różnicuje ludzkie pDC na dwie subpopulacje, różniące się fenotypowo i funkcjonalnie. Jedna z tych populacji, pDC CD2<sup>high</sup>, wytwarza lizozym, wykazuje

zdolności cytolityczne, wytwarza większe ilości interleukiny (interleukin, IL)-12p40, ma wyższą ekspresję CD80 oraz silniej aktywuje proliferację dziewiczych limfocytów T w porównaniu do pDC CD2<sup>low</sup> [56]. W ludzkich pDC ulegają ekspresji dwa wewnątrzkomórkowe białka, granzym B i białko związane z CD2 (CD2-associated protein, CD2AP) [74]. PDC nie wykazują natomiast ekspresji swoistych markerów charakterystycznych dla innych typów komórek układu odpornościowego, w tym powierzchniowych i cytoplazmatycznych immunoglobulin oraz CD19 (limfocyty B), receptora limfocytów T (T-cell receptor, TCR) i CD3 (limfocyty T), CD14 (monocyty), CD16 i CD56 (natural killer, NK), CD11c (mDC) oraz CD11b, CD13 i CD33 (komórki linii mieloidalnej) [74,78].

### RECEPTORY PDC UCZESTNICZĄCE W MOLEKULARNYM ROZPOZNAWANIU ZAKAŻEŃ WIRUSOWYCH

Komórki wrodzonego układu odpornościowego, w tym pDC, wykrywają zakażenia wirusowe dzięki obecności wewnątrzkomórkowych receptorów rozpoznających wzorce (pattern recognition receptors, PRR), które identyfikują zachowane w ewolucji struktury czynników zakaźnych, znane jako molekularne wzorce związane z patogenami (patogen-associated molecular patterns, PAMP) [27]. Liczne badania na modelach ludzkich i zwierzęcych wykazały, że pDC i mDC mają zróżnicowaną ekspresję PRR, co powoduje, że obie subpopulacje wykorzystują odmienne mechanizmy rozpoznawania i reagowania na określone patogeny. Do rozpoznania zakażenia wirusowego pDC wykorzystują głównie receptory Toll-



Ryc. 1. Szlaki aktywacji w pDC w odpowiedzi na kwasy nukleinowe (wg [29] zmodyfikowano)



-podobne (Toll-like receptors, TLR), w mniejszym stopniu receptory RIG-I-podobne (RIG-I-like receptors, RLR) [26].

Najdokładniej zbadano i opisano TLR u pDC, które są zaangażowane w rozpoznawanie kwasów nukleinowych, tj. TLR7, TLR8 i TLR9. W ludzkich pDC znajdują się te wszystkie rodzaje TLR, natomiast u pDC myszy ulegają ekspresji jedynie TLR7/9, gdyż TLR8 występuje w postaci niefunkcjonalnego pseudogenu [26]. TLR7-9 rozpoznają i wiążą różne ligandy, mimo że są ze sobą spokrewnione filogenetycznie i strukturalnie. Ligandem TLR7/8 jest przede wszystkim wirusowy ssRNA, zawierający sekwencje bogate w guanozynę i urydynę [34] lub kwas poliurydylowy (poly[U]) [18]. Receptory te rozpoznają także komórkowy i syntetyczny ssRNA, np. krótki interferujący (short interfering, si) RNA [71] czy związki imidazolochinolonowe, stosowane jako leki przeciwwirusowe [35]. Natomiast TLR9 rozpoznaje odcinki DNA zawierające niemetylowane dinukleotydy CpG (cytydyna-fosforan-guanozyna) oraz syntetyczne oligodeoksyrybonukleotydy CpG (CpG oligodeoxyribonucleotides, CpG ODN), zawierające wyższy poziom niemetylowanego DNA w porównaniu z genomem ssaków [11,27]. Opisano kilka klas motywów CpG w oparciu o funkcjonalną odpowiedź pDC i limfocytów B na CpG DNA [48,57,60]. Typ A CpG (CpGA) silnie aktywuje pDC do wytwarzania IFN- $\alpha$ , ale w sposób ograniczony wpływa na ekspresję ich MHC klasy II i cząsteczek kostymulujących (CD80 i CD86), a zatem minimalnie reguluje fenotypowe dojrzewanie tych komórek. CpGA nie działa natomiast na limfocyty B, które także wykazują ekspresję TLR9. Tymczasem CpGB jest silnym stymulatorem limfocytów B, ale słabo aktywuje pDC do wytwarzania IFN- $\alpha$ . Niemniej jednak traktowanie pDC CpGB silnie promuje ich dojrzewanie, czemu towarzyszy zwiększone wydzielanie IL-8 i czynnika martwicy nowotworu (tumor necrosis factor, TNF- $\alpha$ ) [48,57]. Różnica w stymulacji pDC przez CpGA i CpGB wynika z ich odmiennej budowy oraz struktury drugorzędowej. CpGA zawiera na końcach sekwencje poli G oraz palindromowe sekwencje zawierające dinukleotydy CG, które tworzą kompleksy wielocząsteczkowe. Duża część zinternalizowanego CpGA trafia do wczesnych przedziałów endosomalnych pDC i jest w nich zachowywana, co powoduje przekazywanie sygnałów z udziałem IFN- $\alpha$ . Natomiast CpGB, które zawiera jeden lub więcej motywów niemetylowanego CpG, pozostaje monomeryczne i szybko trafia do lizosomów, aby stymulować odpowiedź zależną od jądrowego czynnika  $\kappa$ B (nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) [60].

TLR7/9 początkowo są umiejscowione w siateczce śródplazmatycznej (endoplasmic reticulum, ER) i tam pozostają w połączeniu z białkiem błonowym UNC93B1 oraz białkiem szoku cieplnego gp96 (ryc. 1). Białko UNC93B1 uczestniczy w transporcie TLR7/9 z ER do endosomów, natomiast gp96 reguluje opuszczanie receptorów z ER oraz warunkuje ich stabilność konformacyjną w przedziałach endosomalnych [3,12]. W endosomach TLR7/9 są przekształcane w postaci aktywne przez proteolityczne cięcia za pomocą katepsyn i endopeptydaz aspa-

raginowych [3]. Tylko dojrzałe TLR7/9, umiejscowione w endolizosomach, są zdolne do przekazywania sygnału w następstwie związania odpowiednich ligandów. Takie umiejscowienie receptorów w aktywowanych pDC umożliwia rozpoznawanie ligandów pochodzących ze zinternalizowanych cząstek wirusowych (bez ich rzeczywistego zakażenia), jednocześnie chroni przed związaniem własnego RNA lub DNA [60]. Wielokrotnie wykazano, że inaktywowane wirusy, np. wirus ludzkiego niedoboru odporności (human immunodeficiency virus, HIV) inaktywowany chemicznie [7], wirus opryszczki pospolitej (herpes simplex virus, HSV) inaktywowany promieniowaniem UV [52] oraz wirus grypy inaktywowany ciepłem [18] lub utracony w formaldehydzie [2], mogą stymulować pDC przez TLR do wydzielania IFN typu I z taką samą siłą jak „żywe” (niepoddane inaktywacji) wirusy. Wówczas rozpoznawanie wirusów przez pDC odbywa się niezależnie od fuzji czy replikacji, ale wymaga adhezji i endocytozy [7].

Cząstki wirusowe są internalizowane w procesie endocytozy receptorowej, a ich kwasy nukleinowe są dostarczane do endosomów, zawierających TLR7/9, w procesie wymagającym ścisłej regulacji transportu błonowego [39]. Inne wirusy mogą stymulować wytwarzanie IFN typu I przez pDC tylko wówczas, gdy są „żywe” i ulegają replikacji w zakażonych komórkach. Wówczas, namnażające się w cytoplazmie wirusy, mogą się przedostawać do przedziałów endosomalnych dzięki dostarczeniu zawartości cytosolu do endolizosomów za pośrednictwem autofagii. Przykładowo, niektóre ssRNA wirusy, np. wirus pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej (vesicular stomatitis virus, VSV) i wirus Sendai (Sendai virus, SeV) wnikają do pDC przez fuzję, po czym ulegają replikacji, a ich pośrednie formy replikacyjne, wraz z porcją cytosolu, są otaczane przez błonę z wytworzeniem autofagosomu, który następnie ulega fuzji z endosomami zawierającymi TLR7/9 (ryc. 1) [50].

Oprócz TLR, wirusowy RNA może być rozpoznawany u większości komórek także przez receptory cytosolowe RLR, tj. białko I kodowane przez gen indukowalny kwasem retinowym (retinoic acid inducible gene-1, RIG-I) oraz białko 5 związane z różnicowaniem się czerniaka (melanoma differentiation-associated gene-5, MDA5), jednak u pDC receptory te prawdopodobnie mają mniejsze znaczenie w molekularnym wykrywaniu zakażeń wirusowych [5,74]. RIG-I preferencyjnie rozpoznaje trifosforan znajdujący się na końcu 5' cząsteczki ssRNA, określane jako 5'-ppp RNA oraz wykrywa stosunkowo krótkie (<2 kbp) fragmenty wirusowego dsRNA. Natomiast białko MDA5 rozpoznaje długie (>2 kbp) fragmenty dsRNA oraz RNA wirusów bez grupy trójfosforanowej, należących np. do rodziny *Picornaviridae* [6,23,83].

RIG-I i MDA5 nie odgrywają zasadniczej roli w aktywacji pDC. Wykazano bowiem, że pDC pozbawione RIG-I prawidłowo wytwarzały IFN typu I w następstwie zakażenia wirusem choroby Newcastle (Newcastle disease virus, NDV) przez uruchamianie szlaku sygnałowego

z udziałem TLR [45]. Natomiast pDC, pochodzące od myszy pozbawionych MDA-5, wykazywały prawidłową zdolność do wytwarzania IFN typu I podczas ekspozycji na wirus zapalenia mózgu i mięśnia sercowego (encephalomyocarditis virus, EMCV), w przeciwieństwie do pDC pozbawionych mieloidalnego czynnika różnicowania 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88) [5]. Wykazano, że stymulacja pDC z udziałem imikwimodu i CpGA, odpowiednio ligandów TLR7 i TLR9, powoduje natychmiastowy i znaczny wzrost ekspresji RIG-I w tych komórkach. Wzrost jest jednak niezależny od IFN typu I; pDC mogą rozpoznawać 5'-ppp-dsRNA, ale jedynie w następstwie aktywacji endosomalnych TLR [76]. Powyższe badania sugerują, że w przeciwieństwie do większości komórek, gdzie ekspresja RIG-I jest indukowana przez IFN typu I, u pDC aktywacja RIG-I jest regulowana przez odmienne mechanizmy.

### SZLAKI SYGNAŁOWE PROWADZĄCE DO WYDZIELANIA IFN TYPU I W NASTĘPSTWIE ROZPOZNAWANIA ZAKAŻEŃ WIRUSOWYCH U PDC

Jedną z podstawowych funkcji pDC jest wydzielanie dużych ilości IFN typu I w odpowiedzi na ssRNA lub niemetylowane CpG DNA. Źródłem ssRNA są zazwyczaj wirusy, takie jak np. wirus limfocytarnego zapalenia spłotu naczyńwłokowego i opon mózgowych (lymphocytic choriomeningitis virus, LCMV), HIV, wirus grypy (influenza virus, InfV) oraz wirus zapalenia wątroby typu C (hepatitis C virus, HCV), a źródłem CpG DNA mogą być produkty bakteryjne lub własny DNA, jak można zauważyć w toczniu rumieniowatym układowym (systemic lupus erythematosus, SLE). W zależności od bodźca aktywującego, pDC mogą się stać IPC, które wytwarzają duże ilości IFN typu I (do 10 pg/komórkę w ciągu 24 h, co stanowi 1000-krotnie większe ilości w porównaniu z innymi typami komórek krwi) lub APC, które nie wytwarzają IFN- $\alpha$ , lecz cytokiny prozapalne zależne od czynnika NF- $\kappa$ B oraz zwiększają ekspresję cząsteczek kostymulujących do wydajnej prezentacji antygeny limfocytom T. Ludzkie pDC mogą wydzielać wszystkie podtypy IFN typu I, takie jak: IFN- $\alpha$ , - $\beta$ , - $\lambda$ , - $\omega$  i - $\tau$  [60].

W odpowiedzi na wirusowe kwasy nukleinowe, TLR 7 i TLR9 ulegają relokacji z ER do endosomów, aby wiązać RNA lub DNA. Zmiany konformacyjne w TLR uruchamiają ścieżkę przesyłania sygnału za pośrednictwem MyD88, zawierającego domenę TIR (Toll/interleukin-1 receptor) i domenę śmierci (death domain, DD). Po aktywacji MyD88 jest przyłączane do TLR 7/9 przez domenę TIR i funkcjonuje jako białko pomostowe w rekrutacji kinazy 4 związanej z receptorem IL-1 (IL-1R-associated kinase 4, IRAK4) za pomocą DD. W cytoplazmie pDC tworzy się wielobiałkowy kompleks sygnałowy, który oprócz IRAK4, zawiera TRAF6 (TNF receptor-associated factor 6), kinazę tyrozynową Brutona (Bruton's tyrosine kinase, BTK) oraz czynnik regulatorowy IFN 7 (IFN regulatory factor 7, IRF7) (ryc.1). IRF7 aktywowany jest w następstwie ubikwitinacji przez ligazę E3 ubikwityny i fosforylację przez IRAK4. Aktywowany IRF7 oddziałuje z TRAF3,

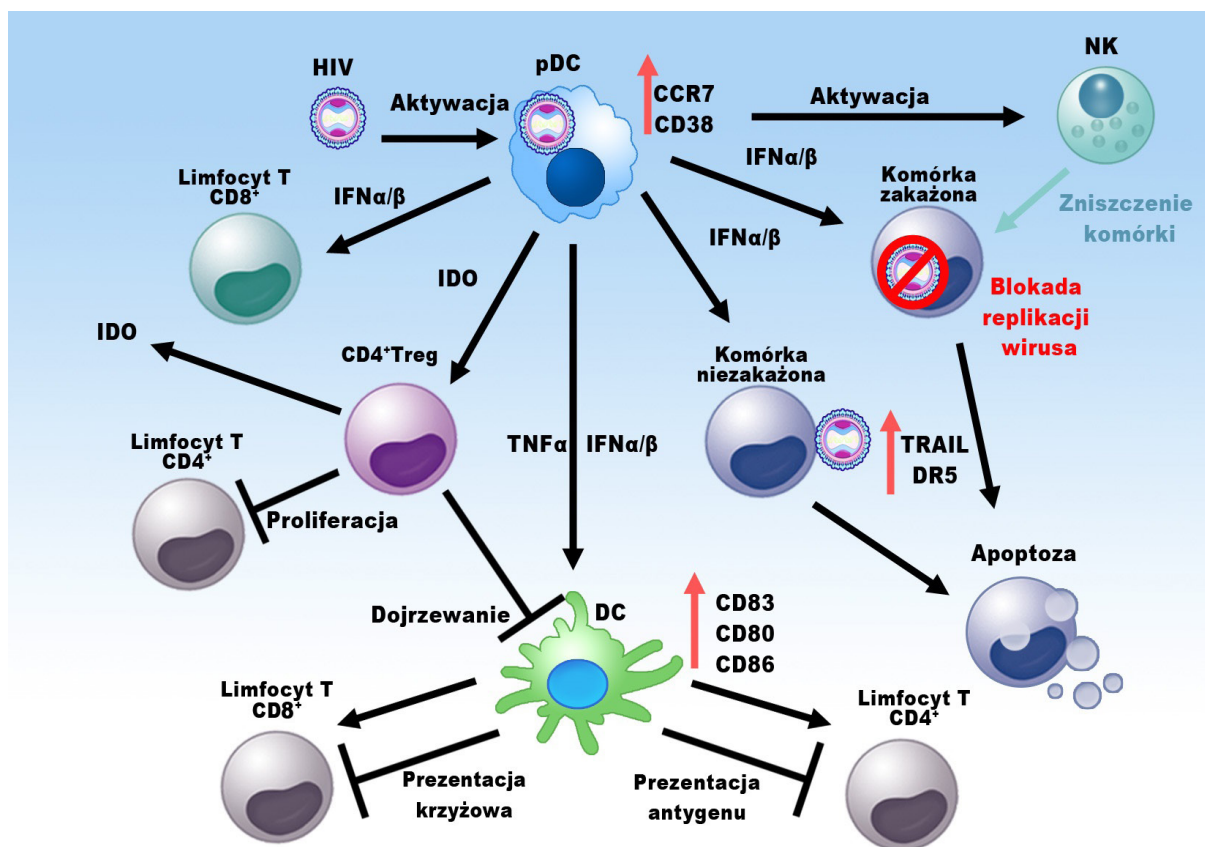
IKK $\alpha$  (inhibitor of NF- $\kappa$ B kinase  $\alpha$ ), IRAK1, osteopontyna i prawdopodobnie z kinazą 3 fosfatydyloinozytolu (phosphoinositide 3-kinase, PI3K), a następnie ulega translokacji do jądra komórkowego, gdzie inicjuje transkrypcję genów IFN typu I. Jednocześnie TRAF6 w wieloskładnikowym kompleksie sygnałowym powoduje ubikwitinację kinazy białkowej TAK1 [transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ )-activated kinase 1 (TAK1)], która aktywuje NF- $\kappa$ B oraz kinazy MAPK (mitogen-activated protein kinase). Te ostatnie, wraz z IRF5, aktywują wytwarzanie cytokin prozapalnych i ekspresję cząsteczek kostymulujących. Autofagosomy, które w sposób ciągły są tworzone w pDC, przypuszczalnie odpowiadają za dostarczanie agonistów kwasów nukleinowych do endosomalnych TLR za pośrednictwem ATG5 (autophagy-related gene 5), co powoduje wytwarzanie IFN typu I [29].

### PDC JAKO POMOST ŁĄCZĄCY WRODZONĄ I NABYTĄ ODPORNOŚĆ PRZECIWWIRUSOWĄ

W zakażeniach wirusowych łączenie odporności wrodzonej i nabytej przez pDC polega przede wszystkim na wytwarzaniu dużych ilości IFN typu I, które wykazują bezpośrednie działanie przeciwwirusowe, a ponadto promują przeciwwirusowe funkcje innych komórek układu odpornościowego, tj. mDC, komórek NK oraz limfocytów T i B [78]. W badaniach *in vitro* wykazano, że IFN- $\alpha$  nasila dojrzewanie mDC i wytwarzanie przez nie IL-12 [40,78]. Inne badania *in vitro* dowiodły, że TNF- $\alpha$ , także wytwarzany przez pDC, może w sposób parakrywny aktywować CD1c-mDC, znajdujące się we wspólnej hodowli. W innych przypadkach wzajemnego oddziaływania między pDC a CD1-mDC jest wymagany bezpośredni kontakt tych komórek [55].

Od dawna wiadomo, że IFN typu I, wydzielane przez pDC, wzmacniają cytotolityczny potencjał komórek NK, a komórki NK współhodowane z pDC są bardziej aktywne i mają zwiększoną aktywność cytotolityczną. W wyniku ekspozycji pDC na wirus lub CpG, dochodzi do jednoczesnego wydzielania IFN typu I oraz zwiększenia ekspresji GITRL (glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor-ligand) na ich powierzchni, który oddziałuje z GTR komórek NK, zwiększając zdolność tych drugich do zabijania i wytwarzania IFN- $\gamma$  [33].

PDC są zdolne do prezentacji egzogennych antygenów na cząsteczkach MHC obu klas (I i II) i za pośrednictwem IFN typu I mogą aktywować proliferację limfocytów T CD8<sup>+</sup> i T CD4<sup>+</sup> [37,49]. Po aktywacji pDC stają się dojrzalszymi komórkami, mogącymi indukować polaryzację dziejących limfocytów T w kierunku Th1, Th2 lub Th17 za pośrednictwem wydzielanych przez siebie cytokin [55]. PDC mogą także bezpośrednio stymulować funkcje i przełączanie fenotypu limfocytów T za pomocą receptorów powierzchniowych. Na przykład ligand indukowanego kostymulatora limfocytów T (inducible T-cell costimulator ligand, ICOSL) wiąże ICOS limfocytów T i stymuluje je do wytwarzania IL-10, aby wyciszać odpowiedź immunologiczną i zapobiegać silnym stanom zapalnym [41].



**Ryc. 2.** Rola pDC w zakażeniu HIV. Aktywowane HIV pDC mogą wywierać korzystny lub niekorzystny wpływ na stymulację odpowiedzi przeciwwirusowej. Korzystny wpływ pDC i wydzielanych przez nie IFN typu I polega na: aktywacji komórek NK i limfocytów T CD8<sup>+</sup>; blokowaniu replikacji HIV w zakażonych limfocytach T CD4<sup>+</sup>; promowaniu dojrzewania sąsiadujących DC do przeprowadzenia wydajnej bezpośredniej i krzyżowej prezentacji antygenów, odpowiednio, limfocytom T CD4<sup>+</sup> i T CD8<sup>+</sup>. Niekorzystny wpływ pDC polega na: indukcji powstawania Treg poprzez ekspresję IDO, co w konsekwencji hamuje aktywację limfocytów T CD4<sup>+</sup> i dojrzewanie DC; postępującej eliminacji zakażonych i niezakażonych komórek T CD4<sup>+</sup> w procesie apoptozy zależnej od TRAIL/DR5 lub Fas/Fas ligand (wg [73] zmodyfikowano)

Wydzielanie IFN- $\alpha/\beta$  i IL-6 przez pDC umożliwia przekształcenie limfocytów B, aktywowanych przez CD40 z udziałem limfocytów T, w komórki plazmatyczne wytwarzające przeciwciała [42]. Ponadto aktywowane pDC mogą stymulować limfocyty B w wyniku bezpośredniego kontaktu pDC-limfocyt B, za pomocą cząsteczek, odpowiednio CD40L-CD40 czy CD70-CD27 [55]. Jednak badania *in vitro* wykazały, że aktywowane limfocyty B, w wyniku bezpośredniego kontaktu, stymulują dojrzałe pDC do wytwarzania większych ilości IFN- $\alpha$ , tym samym zwiększając ich właściwości przeciwwirusowe i immunoregulacyjne [8].

### MODULACJA FUNKCJI PDC PRZEZ WIRUSY I JEJ KONSEKWENCJE

Jako główne komórki wrodzonego układu odpornościowego, wytwarzające IFN typ I, pDC ulegają aktywacji z powodu zakażenia różnymi wirusami, w tym HIV, małym wirusem nabytego upośledzenia odporności (simian immunodeficiency virus, SIV), LCMV, HCV, wirusem zapalenia wątroby typu B (hepatitis B virus, HBV), syn-

cytalnym wirusem nabłonka oddechowego (respiratory syncytial virus, RSV) czy HSV. Wirusy te mogą jednak modulować lub upośledzać funkcje pDC, dzięki czemu unikają skierowanej przeciwko nim odpowiedzi immunologicznej, co powoduje rozprzestrzenianie się zakażenia i rozwój choroby.

### PDC W ZAKAŻENIACH HIV/SIV

HIV jest wirusem otoczonym osłonką lipidową, należącym do rodzaju *Lentivirus*, rodziny *Retroviridae*. HIV zakaża w minimalnym stopniu mDC i pDC. Zakażenie mDC nie prowadzi do ich stymulacji i dojrzewania, w przeciwieństwie do pDC, które są silnie aktywowane do wytwarzania IFN- $\alpha$  zarówno przez żywy, jak i inaktywowany HIV [60]. pDC wykazują ekspresję CD4, CXCR4 i CCR5, czyli receptorów, dzięki którym wirus ulega fuzji. Jednak do aktywacji pDC jest wymagana endocytoza, a nie fuzja, gdyż zastosowanie inhibitorów endocytozy lub czynników hamujących zakwaszenie środowiska endosomów upośledza wytwarzanie IFN- $\alpha$  przez pDC aktywowane wirusem [7]. HIV wnika do pDC przez endo-



cytozę zależną od CD4, a w endosomach stymuluje słabą odpowiedź zależną od NF- $\kappa$ B, ale za to silną i trwałą odpowiedź, związaną z wytwarzaniem IFN- $\alpha$ . Obie odpowiedzi zależą od pH i przeważnie są stymulowane przez RNA HIV za pośrednictwem endosomalnych TLR7 [60].

Wciąż pozostaje otwarte pytanie, czy aktywacja pDC i wytwarzanie IFN typu I podczas zakażeń HIV/SIV są korzystne czy szkodliwe dla organizmu gospodarza (ryc. 2). Oprócz wydzielania IFN typu I i TNF- $\alpha$  w odpowiedzi na wirusowy RNA HIV, pDC mogą także promować dojrzewanie mDC CD11c<sup>+</sup> oraz stymulować dziewicze limfocyty T CD4<sup>+</sup> [24]. Ponadto wykazano, że IFN typu I wydzielany przez pDC, ogranicza replikację HIV w limfocytach T CD4<sup>+</sup> (ryc. 2) [32]. Badania te sugerują, że we wczesnym okresie zakażenia HIV pDC są zdolne do indukcji ochronnej odpowiedzi przeciwwirusowej. Jednak przewlekła aktywacja pDC i wytwarzanie IFN typu I wygasza odpowiedź związaną z limfocytami T przez promowanie powstawania Treg. PDC aktywowane przez HIV wykazują wysoką ekspresję enzymu 2,3-dioksygenazy indoloaminy (indoloamine-2,3-dioxygenase, IDO), który promuje katabolizm tryptofanu i rozwój limfocytów Treg z dziewiczych komórek T CD4<sup>+</sup>. Powstające Treg hamują proliferację limfocytów T oraz osłabiają dojrzewanie innych DC [9]. Ponadto IFN- $\alpha/\beta$ , pochodzący z pDC, przyczynia się do postępującego niedoboru limfocytów T CD4<sup>+</sup> we krwi i obwodowych narządach limfatycznych pod wpływem uruchamianych mechanizmów apoptotycznych na drodze TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand)/DR5 (death receptor 5) lub Fas/FasL, co prawdopodobnie powoduje niszczenie tkanki węzłów chłonnych w zaawansowanym stadium zakażenia HIV (ryc. 2) [36]. Podsumowując, pDC i wytwarzane przez nie IFN typu I mogą być istotne w utrzymaniu mniejszej wirerii we wczesnym okresie zakażenia HIV, natomiast przewlekłe wytwarzanie IFN typu I i wzmożona ekspresja IDO na pDC może nasilać postęp choroby przez indukcję apoptozy i wywieranie hamującego wpływu na limfocyty T [74,75].

Podczas pierwotnego zakażenia HIV, liczba pDC we krwi zostaje znacznie zredukowana, a komórki wykazują zaburzenia funkcjonalne, stając się nadreaktywne. Traktowanie agonistą TLR7 – R848 potęguje wytwarzanie przez pDC IFN- $\alpha$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , CCL3/MIP (macrophage inhibitory protein)-1 $\alpha$ , CCL4/MIP-1 $\beta$  i CCL5/RANTES (regulated on activation, normal T cell expressed and secreted). Inne badania wykazały, że pDC stymulowane CLO97, agonistą TLR7/9, wytwarzają mniejsze ilości IFN- $\alpha$ , natomiast większe TNF- $\alpha$  i IL-6 we wczesnej i ostrej fazie zakażenia HIV [60]. U makaków wrażliwych na AIDS wykazano, że do zmniejszenia pDC we krwi podczas ostrego zakażenia SIV dochodzi w następstwie ich migracji do narządów limfatycznych oraz późniejszej apoptozy. Podczas ostrego zakażenia SIV pDC węzłów chłonnych są silnie pobudzone, zakażone i apoptotyczne, co prawdopodobnie wpływa na aktywację i zakażenie limfocytów T [60].

Spadek liczby pDC krążących we krwi koreluje z dużą wirerią i obniżoną liczbą komórek T CD4<sup>+</sup>, co wiąże się z progresją zakażenia HIV. Uszczuplenie pDC we krwi, podczas przewlekłego zakażenia, następuje w wyniku gromadzenia się tych komórek w węzłach chłonnych. W porównaniu do osób niezakażonych, u pacjentów zakażonych HIV pDC częściej występują w węzłach chłonnych, gdzie wydzielają spontanicznie większe ilości IFN- $\alpha$  oraz wykazują większy potencjał apoptotyczny. Ponadto krążące pDC u osób HIV-pozytywnych wykazują zwiększoną ekspresję receptorów odpowiedzialnych za zasiedlanie węzłów chłonnych (CD62L i CCR7) oraz tkanki limfatycznej związanej z błonami śluzowymi przewodu pokarmowego (gut associated lymphoid tissue, GALT) (CD103). PDC pacjentów zakażonych HIV reagują bardziej na ligandy CCR7, tj. CCL19 i CCL21, co sugeruje, że pDC u tych osób łatwiej migrują do tkanek limfatycznych [51]. Powyższe obserwacje zostały potwierdzone u makaków przewlekle zakażonych SIV [62].

Najnowsze badania wskazują, że biomarkerem dysfunkcyjnych pDC u pacjentów przewlekle zakażonych HIV jest białko Tim-3 (T cell immunoglobulin- and mucin-domain-containing molecule-3) [69]. Wykazano, że zwiększona liczba pDC Tim-3<sup>+</sup> w ich krwi jest związana ze spadkiem liczby limfocytów T i wzrostem miana HIV. Ponadto zaobserwowano, że im częściej występują pDC Tim-3<sup>+</sup> tym komórki te słabiej wytwarzają IFN- $\alpha$  w następstwie stymulacji agonistami TLR7 (imikwimod, virus Sendai) lub TLR9 (CpG). PDC Tim-3<sup>+</sup> wykazują także obniżony poziom TLR7. Przypuszczalnie, Tim-3 negatywnie reguluje wytwarzanie IFN- $\alpha$  przez rekrutowanie IRF7 i p85 do lizosomów, promując ich degradację [69].

Rola pDC w immunopatogenezie zakażeń HIV jest jeszcze niedokładnie scharakteryzowana, aczkolwiek wiele dowodów wskazuje na udział pDC i IFN- $\alpha$  w transmisji zakażeń HIV, jak i progresji choroby. U pacjentów z HIV stwierdza się przewlekłą reakcję zapalną i aktywację immunologiczną, która wiąże się z szybkim postępem choroby, prowadzącym do rozwoju AIDS. Podczas aktywacji immunologicznej wzrasta ekspresja HLA-DR, CD38 oraz Ki67 na limfocytach T CD4<sup>+</sup> i T CD8<sup>+</sup>, prawdopodobnie w wyniku stymulacji komórek wrodzonego układu odpornościowego (włączając pDC) bezpośrednio przez HIV oraz pośrednio przez produkty bakteryjne, które uległy translokacji z jelit do krwiobiegu. Wytwarzany w następstwie stymulacji IFN- $\alpha$ , który osiąga wysokie miano w surowicy pacjentów w ostrej i późnej fazie zakażenia HIV, najprawdopodobniej przyczynia się do hamowania różnicowania limfocytów T i indukcji śmierci w sąsiadujących komórkach niezakażonych HIV. Patologiczna rola IFN- $\alpha$  w przewlekłym zakażeniu HIV/SIV polega nie tylko na indukcji TRAIL/DR5-zależnej apoptozy limfocytów T [36], ale także na promowaniu przekształcania się aktywowanych limfocytów T CD4<sup>+</sup> w krótko żyjące komórki efektorowe [70], co sukcesywnie zmniejsza ich liczbę. Ponadto u makaków reżus przewlekle zakażonych SIV dochodzi do powolnego, stopniowego zanikania limfocytów T CD4<sup>+</sup> pamięci



efektorowej (effector memory T cells,  $T_{EM}$ ), a stopień ich zaniku ma związek z późno ujawniającym się (late-onset) AIDS. Limfocyty  $T_{EM} CD4^+$ , na skutek przewlekłej aktywacji immunologicznej, stają się komórkami krótko żyjącymi, a ich homeostaza jest uzależniona od powstawania nowych komórek  $T_{EM} CD4^+$  z prekursorów limfocytów T pamięci centralnej (central memory T cells,  $T_{CM}$ ). Zanik limfocytów  $T_{EM} CD4^+$  nie wynika z nasilonego niszczenia tych komórek, ale raczej ze zmniejszonego ich powstawania oraz stopniowego spadku liczby limfocytów  $T_{CM}$  [61].

Oprócz udziału w zaburzeniu proliferacji, „zmęczeniu” i spadku liczby limfocytów T  $CD4^+$ , pDC przyspuszczalnie mogą także wpływać na polaryzację limfocytów T i modulować balans między limfocytami Th17 a Treg na obwodzie i w przewodzie pokarmowym osób zakażonych HIV. Zaobserwowano, że u osób przewlekle zakażonych dochodzi do zmniejszenia liczby Treg we krwi obwodowej [22], natomiast zwiększonego ich występowania w obwodowych tkankach limfatycznych [10]. U naczelnych innych niż człowiek (nonhuman primates, NHP) zakażonych SIV obserwuje się zmniejszenie liczby limfocytów Th17 wraz z jednoczesnym wzrostem komórek Treg we krwi obwodowej oraz śluzie wyścielającym przewód pokarmowy. Zaburzenie balansu Th17/Treg niszczy barierę śluzówkową, w wyniku czego zwiększa się translokacja mikroflory jelitowej [44], co może nasilać aktywację immunologiczną. Mimo że obecnie mechanizm odpowiedzialny za naruszenie balansu Th17/Treg nie został dokładnie wyjaśniony, najprawdopodobniej, oprócz bezpośredniego zakażenia limfocytów Th17 przez HIV, także pDC i wydzielane przez nie cytokiny oraz enzymy o właściwościach immunoregulujących odgrywają ważną rolę w tym procesie [60].

### PDC W ZAKAŻENIACH ARENAWIRUSAMI

Arenawirusy są jedną z największych rodzin wirusów wywołujących gorączki krwotoczne u ludzi, każdego roku w Afryce i Ameryce Południowej odnotowuje się setki tysięcy przypadków tej niejednorodnej grupy ostrych chorób zakaźnych. Arenawirusy to osłonkowe, nielityczne wirusy z kolistym, segmentowanym genomem, złożonym z małego (S) i dużego (L) segmentu ssRNA(-) [73]. Prototypowym członkiem rodziny *Arenaviridae* jest rozpowszechniony na całym świecie LCMV. Wirus zwykle wywołuje łagodną chorobę grypopodobną, jednak u osób z obniżoną odpornością może powodować zakażenia śmiertelne, a u niemowląt może doprowadzać do wrodzonych wad rozwojowych mózgu. Inny przedstawiciel arenawirusów – wysoce zjadliwy wirus Lassa (Lassa virus, LASV) wywołuje gorączkę Lassa, chorobę endemiczną w Zachodniej Afryce o wysokim współczynniku śmiertelności [66].

Klon 13 LCMV (clone 13, Cl13) jest wykorzystywany jako model zarówno dla arenawirusów „wyprzedzających” ludzki układ odpornościowy (np. LASV), jak i wirusów wywołujących przewlekle choroby zakaźne (np. HIV, HCV

i HBV). Cl13 LCMV i LASV preferencyjnie zakażają śledzionowe DC z powodu występowania na ich powierzchni  $\alpha$ -dystroglikanu ( $\alpha$ -DG) – receptora heterotrimerów glikoproteiny (glycoprotein, GP), obecnej u arenawirusów Starego Świata (Old World) [65]. Ponieważ pDC wykazują wyższą ekspresję  $\alpha$ -DG i innych białek wiążących arenawirusy niż cDC, są głównym celem produktywnej replikacji arenawirusów Starego Świata u myszy i ludzi. Wykazano, że pDC, w porównaniu do innych populacji leukocytów śledziony myszy, wytwarzały więcej potomnych cząstek wirusowych po 1 dniu ekspozycji na LCMV Cl13 w warunkach *in vivo*. Ponadto we wczesnej fazie zakażenia pDC wytwarzały duże ilości IFN typu I. Do syntezy IFN typu I, pDC, w przeciwieństwie do cDC, nie wymagały wewnętrznej replikacji LCMV i niezakażone pDC były głównym źródłem tych cytokin. Tymczasem zakażone pDC w zdecydowanej większości nie były w stanie syntetyzować IFN typu I, prawdopodobnie w wyniku hamującego działania wirusowej nukleoproteiny [53]. Sugeruje się zatem, że indukcja wytwarzania IFN typu I przez pDC bez udziału replikacji LCMV, może zachodzić w wyniku transferu RNA z komórki zakażonej na pDC, obserwowanego wcześniej podczas zakażenia HCV [53,77]. Odpowiedź z udziałem IFN typu I u pDC była zależna od TLR7. TLR7 był niezbędny do pełnej aktywacji mechanizmów odporności wrodzonej i nabytej we wczesnej fazie zakażenia LCMV Cl13 u myszy [53].

pDC mogą wytwarzać nie tylko znaczne ilości IFN typu I, ale również wydzielają wiele innych cytokin i chemokin w odpowiedzi na zakażenie LCMV Cl13 *in vivo*. Zwłaszcza IL-12 jest wydzielana przez pDC w sposób zależny od TLR7. Zaobserwowano także, że część pDC wytwarzająca IFN typu I jednocześnie syntetyzuje IL-12 i w mniejszym stopniu TNF- $\alpha$ . Mimo zdolności do syntezy cytokin i częściowemu dojrzewaniu, pDC we wczesnej fazie zakażenia LCMV Cl13 pozostają komórkami słabo prezentującymi antygen, niezdolnymi do stymulacji proliferacji swoistych antygenowo limfocytów T  $CD4^+$  i T  $CD8^+$ . Dlatego też sugeruje się, że pDC odgrywają pośrednią rolę we wczesnej aktywacji komórek odporności wrodzonej i nabytej przez wydzielanie IL-12 i IFN typu I [53].

Przedstawicielem grupy arenawirusów Nowego Świata (New World) jest wirus Junin (Junin virus, JUNV), który jest czynnikiem etiologicznym argentyńskiej gorączki krwotocznej, choroby endemicznej występującej w regionie Pampa w Argentynie. Choroba jest poważnym problemem zdrowia publicznego, szacuje się, że około 5 mln osób znajduje się w grupie wysokiego ryzyka zakażenia JUNV. Ze względu na łatwe rozprzestrzenianie się wirusa (głównie drogą kropelkową) istnieje realne zagrożenie wykorzystania JUNV jako broni bioterrorystycznej [85]. Negrotto i wsp. [59] sugerują, że pDC mogą odgrywać ważną rolę w patogenezie gorączki krwotocznej. Ludzkie pDC są wrażliwe na zakażenie JUNV, tym samym wirus przechodził w nich produktywny cykl replikacyjny. Zakażone pDC wykazują zwiększoną ekspresję markerów aktywacji/dojrzewania, tj. HLA-ABC, HLA-DR, CD86 i CD83 oraz wytwarzają duże ilości IFN- $\alpha$ ,

ale nie TNF- $\alpha$ . Przypuszcza się, że podwyższony poziom IFN- $\alpha$  może być związany z rozwojem choroby [59].

### PDC W ZAKAŻENIACH HCV I HBV

HCV, członek rodziny *Flaviviridae*, jest jednoniciowym wirusem RNA o dodatniej polarności, powodujący ostre i przewlekłe zapalenie wątroby, marskość wątroby i raka wątrobowokomórkowego. IFN typu I odgrywają główną rolę w obronie przed zakażeniem HCV, a leczenie za pomocą IFN- $\alpha$  eliminuje HCV u ponad 50% pacjentów przewlekłe zakażonych [25]. Ze względu na istotną rolę IFN typu I w odporności przeciwwirusowej, HCV blokuje szlaki sygnałowe, wywołujące syntezę tych cytokin. Proteaza NS3 HCV hamuje szlak sygnałowy z udziałem RIG-I przez proteolityczne cięcie białka MAVS/IPS1, a to blokuje jądrową translokację IRF3 i indukcję aktywności promotora genów IFN- $\beta$  [14].

W wątrobie osób zakażonych HCV główną populacją komórek wytwarzających IFN przypuszczalnie są pDCs, gdyż zaobserwowano, że HCV, mimo blokowania wytwarzania IFN typu I w hepatocytach, indukuje ekspresję genów stymulowanych IFN (IFN-stimulated gene, ISG) w komórkach wątroby [77]. Jednak badania wskazują, że zarówno liczebność, jak i funkcje pDC zostają obniżone w czasie zakażenia HCV. Zaobserwowano, że całkowita liczba pDC (i mDC) zmniejsza się we krwi pacjentów przewlekłe zakażonych HCV. Ponadto komórki te wytwarzają mniejsze ilości IL-12p40 i IFN- $\alpha$  oraz wykazują obniżoną zdolność do stymulacji allogenicznych limfocytów T w porównaniu do pDC izolowanych od osób zdrowych [43]. PDC, wyizolowane z krwi zdrowych ochotników, które następnie w warunkach *in vitro* były zakażane HCV, wytwarzały zaledwie śladowe ilości IFN- $\alpha$  [30]. Wykazano jednak, że pDC są zdolne do wytwarzania dużych ilości IFN typu I w chwili, gdy znajdują się we współhodowli z komórkami zakażonymi HCV [77]. Oznacza to, że pDC, w następstwie ekspozycji na wolne cząstki HCV, nie są zdolne do syntezy dużych ilości IFN typu I, natomiast ich bezpośredni kontakt z komórkami zakażonymi wirusem, indukuje zależne od TLR7 wytwarzanie IFN typu I. Do zainicjowania procesu syntezy IFN typu I niezbędna jest aktywna replikacja RNA HCV, natomiast nie jest wymagane składowanie wirionów czy obecność wolnych cząstek wirusowych. PDC mogą wytwarzać IFN jeśli są bezpośrednio transfekowane genomowym RNA HCV o pozytywnej lub negatywnej polarności. Musi więc istnieć pewien mechanizm w komórkach gospodarza, dzięki któremu przenoszony będzie RNA HCV z komórek zakażonych do pDC [77].

Komórki zakażone HCV są zdolne do indukcji szlaku sygnałowego z udziałem IRF7, ale nie indukują wzrostu ekspresji CD40, CCR7, CD86, TRAIL i nie aktywują szlaku z udziałem NF- $\kappa$ B w pDC. Wykazano, że ekspozycja pDC na komórki zakażone HCV, indukuje wytwarzanie dużych ilości IFN typu I, ale nie wywołuje fosforylacji podjednostki p65 NF- $\kappa$ B i wytwarzania cytokin prozapalnych TNF- $\alpha$  oraz IL-6 [16]. Nie dochodzi jednak

do całkowitego zablokowania szlaku z udziałem NF- $\kappa$ B, ponieważ traktowanie komórek CPG-A lub CPG-B indukuje syntezę TNF- $\alpha$  i IL-6 przez pDC, znajdujące się we współhodowli z komórkami zakażonymi HCV. Inne badania wykazały, że endocytoza i późniejsze ich zakwaszenie mają istotne znaczenie w procesie aktywacji pDC i wytwarzania IFN typu I. Wczesne endosomy są zaangażowane w szlaki sygnałowe zależne od TLR i związane z wytwarzaniem IFN typu I, natomiast późne uczestniczą w szlakach doprowadzających do syntezy cytokin prozapalnych i fenotypowego dojrzewania komórek [16]. Podsumowując, pDC odgrywają ważną rolę w zakażeniu HCV. Dzięki nim dochodzi do indukcji wytwarzania IFN typu I oraz aktywacji ISG w zakażonej wątrobie, mimo zdolności HCV do blokowania szlaku sygnałowego z udziałem dsRNA w zakażonych komórkach. Jednak ten niezwykle mechanizm obronny gospodarza nie wystarcza do zwalczania zakażenia HCV i niewykluczone, że może uczestniczyć w utrwalaniu się przewlekłego charakteru zakażenia.

HBV to mały wirus dsDNA, który należy do rodziny *Hepadnaviridae*. HBV corocznie zakaża ponad 300 milionów osób na świecie oraz wywołuje zapalenie wątroby i raka wątroby. U pacjentów zakażonych HBV zaobserwowano rzadsze występowanie pDC we krwi oraz upośledzenie funkcji tych komórek, przede wszystkim w wytwarzaniu IFN typu I oraz stymulacji allogenicznych limfocytów T [20]. W warunkach *in vitro* wykazano, że HBV nie stymuluje ludzkich pDC, natomiast wiriony HBV i antygen powierzchniowy HB (hepatitis B surface antigen, HBsAg) mogą zaburzać indukowaną przez TLR7/9 transkrypcję genu IFN- $\alpha$  przez bezpośrednie wiązanie się do pDC stymulowanych za pośrednictwem TLR9 [82]. Ponadto pDC izolowane od pacjentów zakażonych HBV, aktywowane przez TLR9, były niezdolne do indukcji cytolitycznych właściwości komórek NK [54]. Sugeruje się, że zaburzenia funkcjonalne pDC w wytwarzaniu IFN typu I mogą być związane z przewlekłym charakterem zakażenia HBV i postępem choroby [20]. U pacjentów pediatrycznych przewlekłe zakażonych HBV, którzy pozytywnie reagują na terapię z użyciem IFN- $\alpha$ , obserwuje się widoczną regenerację pDC [86].

### PDC W ZAKAŻENIACH RSV

RSV jest osłonkowym wirusem ssRNA(-) z rodziny *Paramyxoviridae*, rodzaju *Pneumovirus*. RSV atakuje około dwie trzecie wszystkich niemowląt w pierwszym roku życia i jest główną przyczyną hospitalizacji z powodu chorób układu oddechowego. Zakażenie RSV może doprowadzić do powikłań w postaci zapalenia ucha środkowego lub rzadziej do zapalenia mięśnia sercowego [1]. U niemowląt hospitalizowanych z powodu ostrego zakażenia RSV odnotowano zwiększone liczby pDC w popłuczynach z nosa. Badania *in vitro* wykazały jednak, że kliniczne izolaty RSV mogą zakażać pDC i znosić ich zdolność do wytwarzania IFN typu I za pośrednictwem TLR7 [28]. Zaobserwowano również, że pDC izolowane z płuc, zakażone RSV w warunkach *in vitro*, nie wytwarzały IFN- $\alpha$ , TNF- $\alpha$  i CCL5, natomiast wytwa-

rzały CCL3 i CCL4. Zakażenie RSV zaburzało funkcje płucnych pDC także w warunkach *in vivo*, gdyż obserwowano ich obniżoną zdolność do wytwarzania IFN- $\alpha$  i innych cytokin, włączając IL-6, TNF- $\alpha$ , CCL2, CCL3 i CCL4 w odpowiedzi na potraktowanie agonistą TLR9 [31]. Powyższe badania sugerują, że funkcje płucnych pDC, przede wszystkim w wytwarzaniu IFN typu I, są silnie zaburzone w czasie ostrego zakażenia pneumowirusami.

Na modelu myszy z użyciem wirusa zapalenia płuc myszy (pneumonia virus of mice, PMV), stanowiącego model do badania immunobiologii RSV wykazano, że TLR7 i jego wewnątrzkomórkowe białko adaptorowe MyD88 są niezbędne do rekrutacji i aktywacji pDC do wytwarzania IFN typu I. TLR7 i MyD88 odgrywają także główną rolę we wczesnym rozpoznawaniu zakażenia wirusowego, regulują wrodzoną odpowiedź cytokinową oraz odpowiedź związaną z limfocytami T i wytwarzaniem IFN- $\gamma$  [15]. Rekrutacja pDC (i mDC) do tkanek objętych procesem zapalnym w czasie zakażenia RSV ma znaczenie ochronne i prawdopodobnie reguluje miejscową odpowiedź immunologiczną [72]. W warunkach *in vitro* wykazano, że podczas zakażenia RSV, pDC mogą wytwarzać IFN typu I na trzy sposoby, które są wynikiem wzajemnego komunikowania się różnych typów komórek i są uzależnione od obecności swoistych wirusowo przeciwciał neutralizujących [67]. Wytwarzanie IFN- $\alpha$  przez pDC może się odbywać w wyniku aktywacji TLR7 w następstwie internalizacji RSV opłaszczonych przeciwciałami neutralizującymi. Przypuszczalnie takie przeciwciała ułatwiają dostęp wirusa do TLR7 w przedziałach endosomalnych. W razie braku wirusoswoistych przeciwciał, zakażone monocyty i komórki nabłonkowe są wczesnym źródłem IFN- $\alpha$ , który uruchamia szlak sygnałowy z udziałem receptora IFN- $\alpha$ , - $\beta$  (IFN- $\alpha$ , - $\beta$  receptor, IFNAR), prowadzący do wytworzenia IFN- $\alpha$  przez pDC. Istnieje także możliwość wytwarzania IFN- $\alpha$  przez pDC w wyniku ich bezpośredniego zakażenia RSV, ale jest to uzależnione od gęstości hodowli pDC w warunkach *in vitro* [67].

### PDC W ZAKAŻENIACH HERPESWIRUSAMI

Wirus herpes simplex typu 1 (HSV-1), typu 2 (HSV-2) oraz wirus ospy wietrznej i półpaśca (varicella-zoster virus, VZV) są ludzkimi alfa herpeswirusami, które charakteryzuje krótki cykl replikacyjny, szeroki tropizm komórkowy i efektywne rozprzestrzenianie się w hodowlach komórkowych [68]. HSV-1 przewlekle zakaża 60-80% populacji ludzkiej, natomiast seroprevalencja HSV-2 u ludzi występuje w 7-80% w zależności od regionu geograficznego i praktyk seksualnych [19].

IFN typu I odgrywają ważną rolę podczas zakażenia HSV-1. Wykazano, że ekspresja IFN- $\alpha$  w astrocytach chroniła myszy przed ostrym i utajonym (latentnym) zakażeniem oka przez HSV-1 [13]. Wykrywanie zakażeń HSV-1 i późniejsze wytwarzanie IFN typu I przez pDC odbywa się z udziałem szlaku zależnego i niezależnego od TLR9/MyD88 [38]. Aktywacji pDC przez HSV-1 towarzyszy wytwarzanie IFN- $\alpha$  oraz stymulacja dziewiczych lim-

focytów T CD4<sup>+</sup> do wytwarzania IFN- $\gamma$  i IL-1 [68]. Autokrynne wydzielanie IFN typu I częściowo stymuluje pDC do wytwarzania chemokin CCL4 i CXCL10, z których ta ostatnia wywołuje migrację aktywowanych limfocytów T i komórek NK [58]. Badania na modelu myszy transgenicznym CLEC4C-DTR wykazały, że pDC nie wpływają na rozwój odpowiedzi przeciwwirusowej podczas miejscowego zakażenia HSV-1 czy HSV-2, ale odgrywają istotną rolę w wytwarzaniu IFN typu I, aktywacji komórek NK oraz odpowiedzi z udziałem limfocytów T CD8<sup>+</sup> w uogólnionym zakażeniu HSV-1 i HSV-2 [75]. PDC w zakażeniu HSV bezpośrednio nie stymulują CTL, ale oddziałują z DC węzłów chłonnych i stwarzają mikrośrodowisko cytokinowe, do którego napływają CTL. Aktywacja HSV-swoistych CTL jest uzależniona od bezpośredniego kontaktu między pDC i DC [84]. Ponadto naciekające limfocyty T CD8<sup>+</sup> mogą wpływać na odpowiedź immunologiczną pDC przez wydzielanie IL-3, która przyczynia się do dojrzewania i przeżycia pDC. Inne badania wykazały, że IL-18 wydzielana przez pDC podczas zakażenia HSV-1 promuje aktywację komórek NK *in vivo* [4].

Ludzkie pDC stymulowane HSV-1 *in vitro* indukują powstawanie cytotoksycznych regulatorowych limfocytów T CD4<sup>+</sup>, które wytwarzają jednocześnie IL-10 i IFN- $\gamma$ , wykazują podwyższoną ekspresję perforyny i granzymów oraz mają właściwości cytotoksyczne [46]. W badaniach nad HSV-2 wykazano, że ludzkie pDC są rekrutowane do uszkodzeń skóry właściwej pacjentów z nawracającą opryszczką narządów płciowych, gdzie pozostają w bliskim kontakcie z aktywowanymi limfocytami T CD3<sup>+</sup> i komórkami NK. PDC traktowane *in vitro* żywym HSV-2 nie ulegają zakażeniu (mimo występowania na ich powierzchni receptorów wnikania dla HSV-2) i mogą stymulować proliferację wirusoswoistych autologicznych limfocytów T [19]. Inne badania wykazały, że wytwarzanie IFN- $\alpha$  przez pDC może być zaindukowane wymianą materiału komórkowego między zakażonymi HSV DC pochodzącymi z monocytów a pDC [68]. Podsumowując, pDC są bezpośrednio lub pośrednio zaangażowane w kontrolę ostrych i przewlekłych zakażeń wywołanych przez alfa herpeswirusy. Zaburzenie ich funkcji w aktywacji wrodzonych i nabytych mechanizmów odpowiedzi przeciwwirusowej może spowodować upośledzenie kontroli latentnych zakażeń herpeswirusowych i przyczyniać się do nasilenia obrazu chorobowego, zwłaszcza u pacjentów z upośledzeniem odporności [47].

### PODSUMOWANIE

Plazmacytoidalne komórki dendrytyczne są wyspecjalizowanymi APC, odgrywającymi istotną rolę w patogenezie wielu chorób człowieka i zwierząt. W porównaniu z innymi komórkami jednojądrzastymi krwi obwodowej, pDC wykazują wysoki poziom ekspresji TLR9, który rozpoznaje wirusowe DNA w początkowej fazie zakażenia. Po stymulacji wytwarzają duże ilości IFN typu I i cytokin prozapalnych oraz są zdolne do aktywacji limfocytów T.



Tak więc pDC wykazują zdolność do regulacji wrodzonej i nabytej odpowiedzi immunologicznej. Interferon typu I wydzielany przez aktywowane pDC pod wpływem obcych kwasów nukleinowych, promuje:

- długoterminowe przeżycie i pamięć limfocytów T,
- polaryzację limfocytów Th1,
- cytotoxiczną aktywność limfocytów T CD8<sup>+</sup>,
- cytotoxyczność za pośrednictwem komórek NK,
- wytwarzanie IFN- $\gamma$ .

## PIŚMIENICTWO

- [1] Andréoletti L., Lévêque N., Boulagnon C., Brasselet C., Fornes P.: Viral causes of human myocarditis. *Arch. Cardiovasc. Dis.*, 2009; 102: 559-568
- [2] Asselin-Paturel C., Boonstra A., Dalod M., Durand I., Yessaad N., Dezutter-Dambuyant C., Vicari A., O'Garra A., Biron C., Brière F., Trinchieri G.: Mouse type I IFN-producing cells are immature APCs with plasmacytoid morphology. *Nat. Immunol.*, 2001; 2: 1144-1150
- [3] Bao M., Liu Y.J.: Regulation of TLR7/9 signaling in plasmacytoid dendritic cells. *Protein Cell*, 2013; 4: 40-52
- [4] Barr D.P., Belz G.T., Reading P.C., Wojtasiak M., Whitney P.G., Heath W.R., Carbone F.R., Brooks A.G.: A role for plasmacytoid dendritic cells in the rapid IL-18-dependent activation of NK cells following HSV-1 infection. *Eur. J. Immunol.*, 2007; 37: 1334-1342
- [5] Barral P.M., Sarkar D., Su Z.Z., Barber G.N., DeSalle R., Racaniello V.R., Fisher P.B.: Functions of the cytoplasmic RNA sensors RIG-I and MDA-5: key regulators of innate immunity. *Pharmacol. Ther.*, 2009; 124: 219-234
- [6] Baum A., García-Sastre A.: Differential recognition of viral RNA by RIG-I. *Virulence*, 2011; 2: 166-169
- [7] Beignon A.S., McKenna K., Skoberne M., Manches O., DaSilva I., Kavanagh D.G., Larsson M., Gorelick R.J., Lifson J.D., Bhardwaj N.: Endocytosis of HIV-1 activates plasmacytoid dendritic cells via Toll-like receptor-viral RNA interactions. *J. Clin. Invest.*, 2005; 115: 3265-3275
- [8] Berggren O., Hagberg N., Weber G., Alm G.V., Rönnblom L., Eloranta M.L.: B lymphocytes enhance interferon- $\alpha$  production by plasmacytoid dendritic cells. *Arthritis Rheum.*, 2012; 64: 3409-3419
- [9] Boasso A., Shearer G.M.: Chronic innate immune activation as a cause of HIV-1 immunopathogenesis. *Clin. Immunol.*, 2008; 126: 235-242
- [10] Boasso A., Vaccari M., Nilsson J., Shearer G.M., Andersson J., Cecchinato V., Chougnat C., Franchini G.: Do regulatory T-cells play a role in AIDS pathogenesis? *AIDS Rev.*, 2006; 8: 141-147
- [11] Bode C., Zhao G., Steinhagen F., Kinjo T., Klinman D.M.: CpG DNA as a vaccine adjuvant. *Expert Rev. Vaccines*, 2011; 10: 499-511
- [12] Brooks J.C., Sun W., Chiosis D., Leifer C.A.: Heat shock protein gp96 regulates Toll-like receptor 9 proteolytic processing and conformational stability. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2012; 421: 780-784
- [13] Carr D.J., Veress L.A., Noisakran S., Campbell I.L.: Astrocyte-targeted expression of IFN- $\alpha$ 1 protects mice from acute ocular herpes simplex virus type 1 infection. *J. Immunol.*, 1998; 161: 4859-4865
- [14] Cheng G., Zhong J., Chisari F.V.: Inhibition of dsRNA-induced signaling in hepatitis C virus-infected cells by NS3 protease-dependent and -independent mechanisms. *Proc Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103: 8499-8504
- [15] Davidson S., Kaiko G., Loh Z., Lalwani A., Zhang V., Spann K, Foo S.Y., Hansbro N., Uematsu S., Akira S., Matthaei K.I., Rosenberg H.F., Foster P.S., Phipps S.: Plasmacytoid dendritic cells promote host defense against acute pneumovirus infection via the TLR7-MyD88-dependent signaling pathway. *J. Immunol.*, 2011; 186: 5938-5948
- [16] Dental C., Florentin J., Aouar B., Gondois-Rey F., Durantel D., Baumert T.F., Nunes J.A., Olive D., Hirsch I., Stranska R.: Hepatitis C virus fails to activate NF- $\kappa$ B signaling in plasmacytoid dendritic cells. *J. Virol.*, 2012; 86: 1090-1096
- [17] Di Pucchio T., Chatterjee B., Smed-Sörensen A., Clayton S., Palazzo A., Montes M., Xue Y., Mellman I., Banchereau J., Connolly J.E.: Direct proteasome-independent cross-presentation of viral antigen by plasmacytoid dendritic cells on major histocompatibility complex class I. *Nat. Immunol.*, 2008; 9: 551-557
- [18] Diebold S.S., Kaisho T., Hemmi H., Akira S., Reis e Sousa C.: Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA. *Science*, 2004; 303: 1529-1531
- [19] Donaghy H., Bosnjak L., Harman A.N., Marsden V., Tyring S.K., Meng T.C., Cunningham A.L.: Role for plasmacytoid dendritic cells in the immune control of recurrent human herpes simplex virus infection. *J. Virol.*, 2009; 83: 1952-1961
- [20] Duan X.Z., Zhuang H., Wang M., Li H.W., Liu J.C., Wang F.S.: Decreased numbers and impaired function of circulating dendritic cell subsets in patients with chronic hepatitis B infection (R2). *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2005; 20: 234-242
- [21] Dzionek A., Fuchs A., Schmidt P., Cremer S., Zysk M., Miltenyi S., Buck D.W., Schmitz J.: BDCA-2, BDCA-3, and BDCA-4: three markers for distinct subsets of dendritic cells in human peripheral blood. *J. Immunol.*, 2000; 165: 6037-6046
- [22] El Hed A., Khaitan A., Kozhaya L., Manel N., Daskalakis D., Borkowsky W., Valentine F., Littman D.R., Unutmaz D.: Susceptibility of human Th17 cells to human immunodeficiency virus and their perturbation during infection. *J. Infect. Dis.*, 2010; 201: 843-854
- [23] Feng Q., Hato S.V., Langereis M.A., Zoll J., Virgen-Slane R., Peisley A., Hur S., Semler B.L., van Rij R.P., van Kuppeveld F.J.: MDA5 detects the double-stranded RNA replicative form in picornavirus-infected cells. *Cell Rep.*, 2012; 2: 1187-1196
- [24] Fonteneau J.F., Larsson M., Beignon A.S., McKenna K., DaSilva I., Amara A., Liu Y.J., Lifson J.D., Littman D.R., Bhardwaj N.: Human immunodeficiency virus type 1 activates plasmacytoid dendritic cells and concomitantly induces the bystander maturation of myeloid dendritic cells. *J. Virol.*, 2004; 78: 5223-5232
- [25] Fried M.W., Shiffman M.L., Reddy K.R., Smith C., Marinos G., Gonçales F.L.Jr., Häussinger D., Diago M., Carosi G., Dhumeaux D., Craxi A., Lin A., Hoffman J., Yu J.: Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N. Engl. J. Med.*, 2002; 347: 975-982
- [26] Fuchsberger M., Hochrein H., O'Keefe M.: Activation of plasmacytoid dendritic cells. *Immunol. Cell Biol.*, 2005; 83: 571-577



- [27] Gieryńska M., Schollenberger A.: Molekularne rozpoznawanie zakażeń wirusowych – stymulacja odpowiedzi immunologicznej. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2011; 65: 299-313
- [28] Gill M.A., Palucka A.K., Barton T., Ghaffar F., Jafri H., Banchereau J., Ramilo O.: Mobilization of plasmacytoid and myeloid dendritic cells to mucosal sites in children with respiratory syncytial virus and other viral respiratory infections. *J. Infect. Dis.*, 2005; 191: 1105-1115
- [29] Gilliet M., Cao W., Liu Y.J.: Plasmacytoid dendritic cells: sensing nucleic acids in viral infection and autoimmune diseases. *Nat. Rev. Immunol.*, 2008; 8: 594-606
- [30] Gondois-Rey F., Dental C., Halfon P., Baumert T.F., Olive D., Hirsch I.: Hepatitis C virus is a weak inducer of interferon alpha in plasmacytoid dendritic cells in comparison with influenza and human herpesvirus type-1. *PLoS One*; 2009; 4: e4319
- [31] Guerrero-Plata A., Kolli D., Hong C., Casola A., Garofalo R.P.: Subversion of pulmonary dendritic cell function by paramyxovirus infections. *J. Immunol.*, 2009; 182: 3072-3083
- [32] Gurney K.B., Colantonio A.D., Blom B., Spits H., Uittenbogaart C.H.: Endogenous IFN- $\alpha$  production by plasmacytoid dendritic cells exerts an antiviral effect on thymic HIV-1 infection. *J. Immunol.*, 2004; 173: 7269-7276
- [33] Hanabuchi S., Watanabe N., Wang Y.H., Wang Y.H., Ito T., Shaw J., Cao W., Qin F.X., Liu Y.J.: Human plasmacytoid predendritic cells activate NK cells through glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor-ligand (GITRL). *Blood*, 2006; 107: 3617-3623
- [34] Heil F., Hemmi H., Hochrein H., Ampenberger F., Kirschning C., Akira S., Lipford G., Wagner H., Bauer S.: Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. *Science*, 2004; 303: 1526-1529
- [35] Hemmi H., Kaisho T., Takeuchi O., Sato S., Sanjo H., Hoshino K., Horiuchi T., Tomizawa H., Takeda K., Akira S.: Small anti-viral compounds activate immune cells via the TLR7 MyD88-dependent signaling pathway. *Nat. Immunol.*, 2002; 3: 196-200
- [36] Herbeuval J.P., Grivel J.C., Boasso A., Hardy A.W., Chougnet C., Dolan M.J., Yagita H., Lifson J.D., Shearer G.M.: CD4<sup>+</sup> T-cell death induced by infectious and noninfectious HIV-1: role of type 1 interferon-dependent, TRAIL/DR5-mediated apoptosis. *Blood*, 2005; 106: 3524-3531
- [37] Hibbert L., Pflanz S., De Waal Malefyt R., Kastelein R.A.: IL-27 and IFN- $\alpha$  signal via Stat1 and Stat3 and induce T-Bet and IL-12R $\beta$ 2 in naive T cells. *J. Interferon Cytokine Res.*, 2003; 23: 513-522
- [38] Hochrein H., Schlatter B., O'Keefe M., Wagner C., Schmitz F., Schiemann M., Bauer S., Suter M., Wagner H.: Herpes simplex virus type-1 induces IFN- $\alpha$  production via Toll-like receptor 9-dependent and -independent pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 11416-11421
- [39] Honda K., Ohba Y., Yanai H., Negishi H., Mizutani T., Takao K.A., Taya C., Taniguchi T.: Spatiotemporal regulation of MyD88-IRF-7 signalling for robust type-I interferon induction. *Nature*, 2005; 434:1035-1040
- [40] Ito T., Amakawa R., Inaba M., Ikehara S., Inaba K., Fukuhara S.: Differential regulation of human blood dendritic cell subsets by IFNs. *J. Immunol.*, 2001; 166: 2961-2969
- [41] Ito T., Yang M., Wang Y.H., Lande R., Gregorio J., Perng O.A., Qin X.F., Liu Y.J., Gilliet M.: Plasmacytoid dendritic cells prime IL-10-producing T regulatory cells by inducible costimulator ligand. *J. Exp. Med.*, 2007; 204: 105-115
- [42] Jego G., Palucka A.K., Blanck J.P., Chalouni C., Pascual V., Banchereau J.: Plasmacytoid dendritic cells induce plasma cell differentiation through type I interferon and interleukin 6. *Immunity*, 2003; 19: 225-234
- [43] Kanto K., Inoue M., Miyatake H., Sato A., Sakakibara M., Yakushijin T., Oki C., Itose I., Hiramatsu N., Takehara T., Kasahara A., Hayashi N.: Reduced numbers and impaired ability of myeloid and plasmacytoid dendritic cells to polarize T helper cells in chronic hepatitis C virus infection. *J. Infect. Dis.*, 2004; 190: 1919-1926
- [44] Kanwar B., Favre D., McCune J.M.: Th17 and regulatory T cells: implications for AIDS pathogenesis. *Curr. Opin. HIV AIDS*, 2010; 5: 151-157
- [45] Kato H., Sato S., Yoneyama M., Yamamoto M., Uematsu S., Matsui K., Tsujimura T., Takeda K., Fujita T., Takeuchi O., Akira S.: Cell type-specific involvement of RIG-I in antiviral response. *Immunity*, 2005; 23: 19-28
- [46] Kawamura K., Kadowaki N., Kitawaki T., Uchiyama T.: Virus-stimulated plasmacytoid dendritic cells induce CD4<sup>+</sup> cytotoxic regulatory T cells. *Blood*, 2006; 107: 1031-1038
- [47] Kittan N.A., Bergua A., Haupt S., Donhauser N., Schuster P., Korn K., Harrer T., Schmidt B.: Impaired plasmacytoid dendritic cell innate immune responses in patients with herpes virus-associated acute retinal necrosis. *J. Immunol.*, 2007; 179: 4219-4230
- [48] Krieg A.M.: CpG motifs in bacterial DNA and their immune effects. *Annu. Rev. Immunol.*, 2002; 20: 709-760
- [49] Le Bon A., Etchart N., Rossmann C., Ashton M., Hou S., Gewert D., Borrow P., Tough D.F.: Cross-priming of CD8<sup>+</sup> T cells stimulated by virus-induced type I interferon. *Nat. Immunol.*, 2003; 4: 1009-1015
- [50] Lee H.K., Lund J.M., Ramanathan B., Mizushima N., Iwasaki A.: Autophagy-dependent viral recognition by plasmacytoid dendritic cells. *Science*, 2007; 315: 1398-1401
- [51] Lehmann C., Lafferty M., Garzino-Demo A., Jung N., Hartmann P., Fätkenheuer G., Wolf J.S., van Lunzen J., Romero F.: Plasmacytoid dendritic cells accumulate and secrete interferon alpha in lymph nodes of HIV-1 patients. *PLoS One*, 2010; 14: e11110
- [52] Lund J., Sato A., Akira S., Medzhitov R., Iwasaki A.: Toll-like Receptor 9-mediated recognition of herpes simplex virus-2 by plasmacytoid dendritic cells. *J. Exp. Med.*, 2003; 198: 513-520
- [53] Macal M., Lewis G.M., Kunz S., Flavell R., Harker J.A., Zuñiga E.I.: Plasmacytoid dendritic cells are productively infected and activated through TLR-7 early after arenavirus infection. *Cell Host Microbe*, 2012; 11: 617-630
- [54] Martinet J., Dufeu-Duchesne T., Bruder Costa J., Larrat S., Marlu A., Leroy V., Plumas J., Aspod C.: Altered functions of plasmacytoid dendritic cells and reduced cytolytic activity of natural killer cells in patients with chronic HBV infection. *Gastroenterology*, 2012; 143: 1586-1596
- [55] Mathan T.S., Figdor C.G., Buschow S.I.: Human plasmacytoid dendritic cells: from molecules to intercellular communication network. *Front. Immunol.*, 2013; 4: 372
- [56] Matsui T., Connolly J.E., Michnevitz M., Chaussabel D., Yu C.I., Glaser C., Tindle S., Pypaert M., Freitas H., Piqueras B., Banchereau J., Palucka A.K.: CD2 distinguishes two subsets of human plasmacytoid dendritic cells with distinct phenotype and functions. *J. Immunol.*, 2009; 182: 6815-6823
- [57] McKenna K., Beignon A.S., Bhardwaj N.: Plasmacytoid dendritic cells: linking innate and adaptive immunity. *J. Virol.*, 2005; 79: 17-27
- [58] Megjugorac N.J., Young H.A., Amrute S.B., Olshalsky S.L., Fitzgerald-Bocarsly P.: Virally stimulated plasmacytoid dendritic cells produce chemokines and induce migration of T and NK cells. *J. Leukoc. Biol.*, 2004; 75: 504-514
- [59] Negrotto S., Mena H.A., Ure A.E., Jaquenod De Giusti C., Bolla-ti-Fogolin M., Vermeulen E.M., Schattner M., Gómez R.M.: Human plasmacytoid dendritic cells elicited different responses after infection with pathogenic and nonpathogenic Junin virus strains. *J. Virol.*, 2015; 89: 7409-7413
- [60] O'Brien M., Manches O., Bhardwaj N.: Plasmacytoid dendritic cells in HIV infection. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2013; 762: 71-107

- [61] Okoye A., Meier-Schellersheim M., Brenchley J.M., Hagen S.I., Walker J.M., Rohankhedkar M., Lum R., Edgar J.B., Planer S.L., Legasse A., Sylwester A.W., Piatak M., Jr, Lifson J.D., Maino V.C., Sodora D.L. i wsp.: Progressive CD4+ central memory T cell decline results in CD4+ effector memory insufficiency and overt disease in chronic SIV infection. *J. Exp. Med.*, 2007; 204: 2171-2185
- [62] Reeves R.K., Evans T.I., Gillis J., Wong F.E., Kang G., Li Q., Johnson R.P.: SIV infection induces accumulation of plasmacytoid dendritic cells in the gut mucosa. *J. Infect. Dis.*, 2012; 206: 1462-1468
- [63] Reizis B., Bunin A., Ghosh H.S., Lewis K.L., Sisirak V.: Plasmacytoid dendritic cells: recent progress and open questions. *Annu. Rev. Immunol.*, 2011; 29: 163-183
- [64] Rissoan M.C., Duhon T., Bridon J.M., Bendriss-Vermare N., Péronne C., de Saint Vis B., Brière F., Bates E.E.: Subtractive hybridization reveals the expression of immunoglobulin-like transcript 7, Eph-B1, granzyme B, and 3 novel transcripts in human plasmacytoid dendritic cells. *Blood*, 2002; 100: 3295-3303
- [65] Rojek J.M., Kunz S.: Cell entry by human pathogenic arenaviruses. *Cell Microbiol.*, 2008; 10: 828-835
- [66] Russier M., Pannetier D., Baize S.: Immune responses and Lassa virus infection. *Viruses*, 2012; 4: 2766-2785
- [67] Schijf M.A., Lukens M.V., Kruijssen D., van Uden N.O., Garssen J., Coenjaerts F.E., van't Land B., van Bleek G.M.: Respiratory syncytial virus induced type I IFN production by pDC is regulated by RSV-infected airway epithelial cells, RSV-exposed monocytes and virus specific antibodies. *PLoS One*, 2013; 8: e81695
- [68] Schuster P., Boscheinen J.B., Tennert K., Schmidt B.: The role of plasmacytoid dendritic cells in innate and adaptive immune responses against alpha herpes virus infections. *Adv. Virol.*, 2011; 2011: 679271
- [69] Schwartz J.A., Clayton K.L., Mujib S., Zhang H., Rahman A.K., Liu J., Yue F.Y., Benko E., Kovacs C., Ostrowski M.A.: Tim-3 is a marker of plasmacytoid dendritic cell dysfunction during HIV infection and is associated with the recruitment of IRF7 and p85 into lysosomes and with the submembrane displacement of TLR9. *J. Immunol.*, 2017; 198: 3181-3194
- [70] Sedaghat A.R., German J., Teslovich T.M., Cofrancesco J.Jr., Jie C.C., Talbot C.C.Jr., Siliciano R.F.: Chronic CD4+ T-cell activation and depletion in human immunodeficiency virus type 1 infection: type I interferon-mediated disruption of T-cell dynamics. *J. Virol.*, 2008; 82: 1870-1883
- [71] Sioud M.: Induction of inflammatory cytokines and interferon responses by double-stranded and single-stranded siRNAs is sequence-dependent and requires endosomal localization. *J. Mol. Biol.*, 2005; 348: 1079-1090
- [72] Smit J.J., Rudd B.D., Lukacs N.W.: Plasmacytoid dendritic cells inhibit pulmonary immunopathology and promote clearance of respiratory syncytial virus. *J. Exp. Med.*, 2006; 203: 1153-1159
- [73] Stenglein M.D., Jacobson E.R., Chang L.W., Sanders C., Hawkins M.G., Guzman D.S., Drazenovich T., Dunker F., Kamaka E.K., Fisher D., Reavill D.R., Meola L.F., Levens G., DeRisi J.L.: Widespread recombination, reassortment, and transmission of unbalanced compound viral genotypes in natural arenavirus infections. *PLoS Pathog.*, 2015; 11: e1004900
- [74] Swiecki M., Colonna M.: Unraveling the functions of plasmacytoid dendritic cells during viral infections, autoimmunity, and tolerance. *Immunol. Rev.*, 2010; 234: 142-162
- [75] Swiecki M., Wang Y., Gilfillan S., Colonna M.: Plasmacytoid dendritic cells contribute to systemic but not local antiviral responses to HSV infections. *PLoS Pathog.*, 2013; 9: e1003728
- [76] Szabo A., Magyarics Z., Pazmandi K., Gopcsa L., Rajnavolgyi E., Bacsí A.: TLR ligands upregulate RIG-I expression in human plasmacytoid dendritic cells in a type I IFN-independent manner. *Immunol. Cell Biol.*, 2014; 92: 671-678
- [77] Takahashi K., Asabe S., Wieland S., Garaigorta U., Gastaminza P., Isogawa M., Chisari F.V.: Plasmacytoid dendritic cells sense hepatitis C virus-infected cells, produce interferon, and inhibit infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010; 107: 7431-7436
- [78] Tang F., Du Q., Liu Y.J.: Plasmacytoid dendritic cells in antiviral immunity and autoimmunity. *Sci. China Life Sci.*, 2010; 53: 172-182
- [79] Tel J., van der Leun A.M., Figdor C.G., Torensma R., de Vries I.J.: Harnessing human plasmacytoid dendritic cells as professional APCs. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2012; 61: 1279-1288
- [80] van Montfoort N., van der Aa E., Woltman A.M.: Understanding MHC class I presentation of viral antigens by human dendritic cells as a basis for rational design of therapeutic vaccines. *Front. Immunol.*, 2014; 5: 182
- [81] Villadangos J.A., Young L.: Antigen-presentation properties of plasmacytoid dendritic cells. *Immunity*, 2008; 29: 352-359
- [82] Woltman A.M., Op den Brouw M.L., Biesta P.J., Shi C.C., Janssen H.L.: Hepatitis B virus lacks immune activating capacity, but actively inhibits plasmacytoid dendritic cell function. *PLoS One*, 2011; 6: e15324
- [83] Wyżewski Z., Gregorczyk K.P., Struzik J., Niemiałowski M., Szulc-Dąbrowska L.: Białko MAVS i jego interakcje z wirusami zapalenia wątroby typu A, B i C. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2016; 70: 14-24
- [84] Yoneyama H., Matsuno K., Toda E., Nishiwaki T., Matsuo N., Nakano A., Narumi S., Lu B., Gerard C., Ishikawa S., Matsushima K.: Plasmacytoid DCs help lymph node DCs to induce anti-HSV CTLs. *J. Exp. Med.*, 2005; 202: 425-435
- [85] Zhang Y., Li L., Liu X., Dong S., Wang W., Huo T., Guo Y., Rao Z., Yang C.: Crystal structure of Junin virus nucleoprotein. *J. Gen. Virol.*, 2013; 94: 2175-2183
- [86] Zhang Z., Zhang H., Chen D., Yao J., Fu J., Jin L., Wang F.S.: Response to interferon- $\alpha$  treatment correlates with recovery of blood plasmacytoid dendritic cells in children with chronic hepatitis. *Br. J. Hepatol.*, 2007; 47: 751-759

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.