

Limfocyty B – funkcje fizjologiczne i udział w patogenezie reumatoidalnego zapalenia stawów

B lymphocytes – the physiological role and implication in the pathogenesis of rheumatoid arthritis

Ewa Kontny, Włodzimierz Maśliński

Zakład Patofizjologii i Immunologii Instytutu Reumatologii im. prof. dr hab. med. Eleonory Reicher w Warszawie, kierownik Zakładu prof. dr hab. biol. Włodzimierz Maśliński, dyrektor Instytutu prof. dr hab. med. Sławomir Maśliński

Słowa kluczowe: limfocyty B, reumatoidalne zapalenie stawów, immunopatogeneza.

Key words: B lymphocytes, rheumatoid arthritis, immunopathogenesis.

Streszczenie

Udział limfocytów B w odpowiedzi przeciwnieinfekcyjnej nie ogranicza się do syntezy przeciwciał swoistych dla patogenu, ponieważ komórki te mają zdolność pełnienia wielu innych funkcji (prezentacji antygenów, wspomaganie aktywności innych komórek, syntezy cytokin, udziału w tworzeniu wtórnej tkanki limfoidalnej), wpływających na przebieg i skuteczność odpowiedzi immunologicznej. W reumatoidalnym zapaleniu stawów, podobnie jak w innych schorzeniach o podłożu autoimmunizacyjnym, funkcje limfocytów B są nasilone, dochodzi także do aktywacji, dojrzewania i ekspansji klonalnej autoreaktywnych limfocytów B. Nadczynność tych komórek jest spowodowana przez wiele współdziałających czynników zarówno wrodzonych (polimorfizm genów, zaburzenia mechanizmów utrzymujących tolerancję), jak i stworzonych przez przetrwały proces zapalny (sygnały kostymulujące, cytokiny, czynniki wzrostu, kontakt pomiędzy komórkami, uwalnianie autoantygenów). Coraz głębsze zrozumienie udziału limfocytów B w samopodtrzymującej się chronicznej odpowiedzi zapalnej pozwala na sukcesywne wprowadzanie terapii, zmierzających do czynnościowego znormalizowania tych komórek bądź ich eliminacji.

Summary

The role of B lymphocytes in immunity to infections is not restricted to pathogen specific antibody production. These cells are endowed with many other capabilities (antigen presentation, modulation of the other immune cells functions, cytokine synthesis, formation of secondary lymphoid structures) that influence both the course and efficacy of the immune response. Similar to other autoimmune disorders, hyperactivity of B cells, as well as maturation and expansion of self-reactive B cell clones are characteristic also of rheumatoid arthritis. Many interplaying factors: intrinsic (gene polymorphism, defects in central and peripheral tolerance), and those generated in chronic inflammatory milieu (co-stimulatory signals, cytokines, growth factors, cell-to-cell contact, autoantigens release), are responsible for these B cell abnormalities. Recent reports have elucidated the critical role of B cells in self-sustaining chronic inflammatory processes and contributed to the rationale for the development of targeted therapies that functionally normalize or delete B lymphocytes.

Wstęp

Zadaniem układu odpornościowego jest rozpoznanie i eliminacja zagrażających organizmowi patogenów i ich produktów, z jednoczesnym zachowaniem wła-

snych zdrowych komórek i struktur. Odpowiedź immunologiczna jest złożonym, ale zwykle dobrze skoordynowanym procesem, który przebiega w 3 etapach. W fazie inicjacji następuje rozpoznanie zagrożenia oraz

Adres do korespondencji:

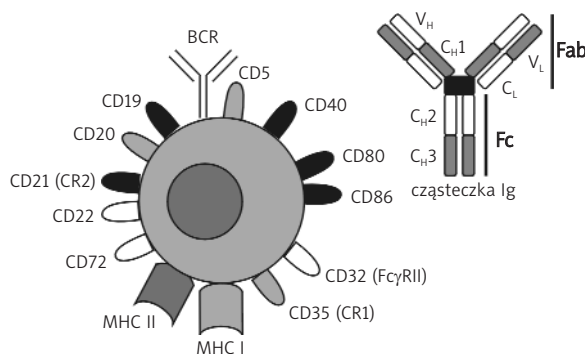
dr biol. Ewa Kontny, Zakład Patofizjologii i Immunologii Instytutu Reumatologii im. prof. dr hab. med. Eleonory Reicher, ul. Spartańska 1, 02-637 Warszawa

Praca wpłynęła: 15.05.2006 r.

uruchomienie mechanizmów wrodzonych i nabytych. W fazie efektorowej aktywowane komórki układu odpornościowego eliminują patogeny, ich produkty oraz zainfekowane komórki. W ostatniej fazie odpowiedzi immunologicznej następuje jej wygaszanie. Bardzo istotne jest to, że pozostaje po niej ślad w postaci długo żyjących limfocytów pamięci immunologicznej. Komórkami odporności nabytej są limfocyty T i B, rozpoznające antygen przez swoiste receptory powierzchniowe (odpowiednio: TCR i BCR). Limfocyty T rozpoznają peptydy antygenowe, związane z autologicznymi (własnymi) cząsteczkami głównego układu zgodności tkankowej (HLA) klasy I lub II. Takie kompleksy są prezentowane limfocytom T na powierzchni komórek zdolnych do prezentacji antygeny (ang. *antigen presenting cells* – APC). Komórki APC pochłaniają antygeny i degradują

je enzymatycznie do krótkich fragmentów peptydowych. Wewnątrz APC peptydy antygenowe są wiązane przez cząsteczki HLA klasy II (DR, DP, DQ) i prezentowane limfocytom TCD4⁺, pełniącym funkcje pomocnicze i regulacyjne. Podobnie przetwarzane są antygeny obecne wewnątrz APC (np. białka wirusowe oraz własne), ale są one wiązane przez cząsteczki HLA klasy I (A, B, C) i prezentowane limfocytom cytotoksycznym TCD8⁺. Zjawisko prezentowania antygenów w połączeniu z własnymi cząsteczkami HLA określa się mianem restrykcji [1]. Antygeny są prezentowane przez różne typy komórek. Klasycznymi APC są komórki dendrytyczne i makrofagi, również limfocyty B są zdolne do pełnienia tej funkcji, gdyż mają powierzchniowe cząsteczki HLA klasy II. W odróżnieniu od limfocytów T, limfocyty B rozpoznają antygeny w formie natywnej (nieprzetworzonej), używając w tym celu immunoglobuliny (Ig) związane z błoną komórki, które tworzą BCR. Limfocyty B syntetyzują także Ig w formie rozpuszczalnej (przeciwciała), które mają taką samą swoistość (rozpoznają te same antygeny) jak BCR. Na limfocytach B występują także cząsteczki, zwane kompleksem różnicowania (ang. *cluster of differentiation* – CD): CD19, CD20, CD21 (CR2), CD22, CD32 (FcγRII), CD35 (CR1), CD40, CD72, CD80, CD86 (ryc. 1a). Biorą one udział w regulacji różnych funkcji limfocytów B: ich aktywacji, przekazywaniu sygnałów kostymulujących oraz działają jako receptory dla białek dopełniacza (CR) lub fragmentu Fc Ig (FcR). Limfocyty B uczestniczą we wszystkich fazach nabytej odpowiedzi immunologicznej (ryc. 2a), a część z nich, syntetyzująca autoprzeciwciała naturalne, pełni ważną rolę w odporności wrodzonej (patrz dalej).

a. Markery powierzchniowe limfocytów B



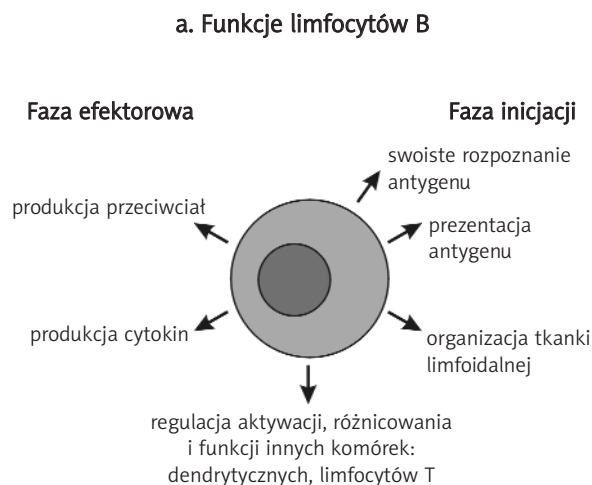
Skróty: C – dopełniacz, CR – receptory dla składowych dopełniacza, FcR – receptory dla fragmentu Fc immunoglobulin, Ag – antygen
Abbreviations: C – complement; CR – complement receptors, FcR – receptors for Fc immunoglobulin region, Ag – antigen

b. Immunoglobuliny

Klasy	Typ łańcucha ciężkiego	Podklasy	Forma	Właściwości	Efekt
IgG	γ	IgG1–IgG4	monomer	80% Ig, pokonuje barierę łożyska, aktywuje klasyczną drogę C (IgG4 nie)	odpowiedź wtórna
IgA	α	IgA1, IgA2	monomer, dimer	13% Ig, głównie w wydzielinach surowiczych	pierwsza linia obrony
IgM	μ		pentamer	6% Ig, bardzo efektywna aktywacja C	odpowiedź pierwotna
IgD	δ		monomer	1% Ig, receptor błonowy limfocytów B	skuteczne wiązanie Ag
IgE	ε		monomer	0,001% wiąże się do FcR na komórkach tucznych, po związaniu Ag – degranulacja	anafilaksja

Ryc. 1. Markery powierzchniowe limfocytów B (a) i klasy wytwarzanych immunoglobulin (b).

Fig. 1. Surface markers of B lymphocytes (a) and the isotypes of immunoglobulins (b).



Ryc. 2. Funkcje i subpopulacje limfocytów B.
Fig. 2. Functions and subpopulations of B lymphocytes.

b. Klasyfikacja limfocytów

Konwencjonalne limfocyty B2

subpopulacja liczebnie dominująca, wysoki poziom IgM i IgD, odpowiedź pierwotna i wtórna, limfocyty B grudek limfatycznych: aktywacja zależna od limfocytów T, limfocyty B strefy brzeżnej: aktywacja niezależna od limfocytów T, różnicowanie w komórki plazmatyczne i pamięci immunologicznej

Limfocyty B1

20% limfocytów B krwi obwodowej, dominują w okresie płodowym, niski poziom IgD, pierwsza linia obrony przeciwbakteryjnej, przeciwciała (głównie IgM) o szerokiej swoistości i autoprzeciwciała, odpowiedź na antygeny grasiczoniezależne, nie różnicują się w komórki pamięci immunologicznej

Komórki plazmatyczne (CD 20⁺)

krótko żyjące: wtórne tkanki limfatyczne, odpowiedź zależna lub niezależna od limfocytów T, długo żyjące: szpik, odpowiedź niezależna od limfocytów T

Komórki pamięci immunologicznej

długo żyjące, niski próg aktywacji, szybka odpowiedź wtórna

Przeciwciała: struktura, właściwości, wytwarzanie

Zasadniczą funkcją limfocytów B jest synteza immunoglobulin (Ig). W cząsteczce Ig, tworzonej przez łańcuch lekkiej (L) i ciężkiej (H), wyodrębnia się fragment Fc zawierający regiony stałe (C), który odpowiada za funkcje efektorowe przeciwciała (np. aktywację dopełniacza, wiązanie z FcR) oraz część Fab zawierającą regiony zmienne (V), które tworzą miejsce rozpoznające antygen (ryc. 1a). Części stałe są identyczne we wszystkich przeciwciałach danej klasy. Części zmienne są różne w przeciwciałach rozpoznających różne fragmenty antygeny, zwane epitetami lub determinantami antygenowymi. O zdolności wiązania danego antygeny, czyli swoistości, decyduje sekwencja aminokwasów w regionach hiperzmiennych oraz konfiguracja przestrzenna części Fab. Niektóre przeciwciała reagują krzyżowo, co jest spowodowane podobieństwem epitopów występujących na różnych antygenach. Przeciwciała wiążą antygeny obecne na mikroorganizmach, komórkach nowotworowych lub zakażonych wirusem, powodując ich zniszczenie poprzez aktywację dopełniacza, fagocytozę lub cytotoksyczność komórkową zależną od przeciwciał (ADCC). Opataszczanie przez przeciwciała ogranicza także penetrację mikroorganizmów i neutralizuje działanie toksyn. Na podstawie typu łańcucha ciężkiego wyróżnia się 5 klas (izotypów) immunoglobulin (IgA, IgD, IgE, IgG, IgM), różniących się także czynnościowo (ryc. 1b.) [2].

Organizm może stykać się w zasadzie z nieograniczoną liczbą różnych antygenów. Aby je rozpoznać, repertuar swoistych dla antygeny receptorów na limfocytach powinien być odpowiednio szeroki. Limfocyty B wytwarzają ok. 10^{11} przeciwciał o różnej swoistości [3]. Jest to możliwe dzięki szczególnej organizacji genów immunoglobulinowych [2, 4]. Mają one strukturę: 1) segmentową, co oznacza, że fragmenty łańcuchów Ig są kodowane niezależnie, przez geny występujące w wielu wariantach, wybieranych przypadkowo podczas procesu zwanego rekombinacją oraz 2) nieciągłą, gdyż sekwencje kodujące, czyli egzony, są przedzielone niekodującymi intronami. Zanim gen kodujący Ig stanie się funkcjonalny, podlega on składaniu (tzw. *splicing*), podczas którego wybierane i łączone są ze sobą poszczególne segmenty. Tak złożony gen ulega transkrypcji (przepisaniu na RNA). Następnie wycinane są introny, a złożone razem egzony tworzą matrycę, z której podczas translacji syntetyzowana jest Ig. Geny kodujące Ig są rekombinowane podczas dojrzewania limfocytów B w szpiku, ale po kontakcie z antygenem dochodzi do ich ponownej rearanżacji. Różnorodność przeciwciał jest dodatkowo zwiększana przez mutacje somatyczne zachodzące w rekombinowanym genie. Mutacje zachodzą między 6. a 14. dniem po kontakcie limfocytów B z antygenem, podczas podziałów i różnicowania się tych komórek w ośrodkach rozmnażania grudek limfatycznych i są wielokrotnie częstsze niż w komórkach spoczynkowych. Dzięki nim dochodzi do dojrzewania

(wzrostu lub obniżenia) powinowactwa przeciwciał do antygeny. Wytwarzanie przeciwciał o tej samej swoistości, ale różnych klas (tzw. przełączanie izotypu) odbywa się w ośrodkach rozmnażania grudek chłonnych, jest zależne od cytokin i oddziaływań pomiędzy limfocytami B i T [2, 5].

Różnicowanie się i subpopulacje limfocytów B

Limfocyty B powstają z hematopoetycznych komórek pnia. Wczesny etap limfopoety zachodzi w pierwotnych narządach limfatycznych (płodowej wątrobie i szpiku kostnym). Eliminowane są wówczas komórki autoreaktywne (rozpoznające własne antygeny), a pozostałe, niedojrzałe limfocyty B opuszczają szpik [2, 3, 6]. Ich dalsze różnicowanie przebiega w obwodowych tkankach limfatycznych (węzłach chłonnych, śledzionie, migdałkach, tkance związanej z przewodem pokarmowym), które wychwytyują antygeny krążące w układzie limfatycznym i krwi [2, 3, 7]. W tych tkankach znajdują się APC oraz grudki ze skupiskami limfocytów B, otoczone przez strefę brzeźną bogatą w limfocyty T. Limfocyty B lokalizują się najpierw jako komórki przejściowe T1 w śledzionie, gdzie po ekspozycji na autoantygeny ponownie są eliminowane klony autoreaktywne. Pozostałe komórki, tzw. przejściowe T2, migrują do grudek i strefy brzeźnej. Przejście z fazy T1 w T2 jest zależne od czynnika wzrostu BlyS/BAFF. Z komórek przejściowych T2 powstają dojrzałe konwencjonalne limfocyty B, zwane limfocytami B2. Różnicują się one w 2 subpopulacje: limfocyty B grudek oraz limfocyty B strefy brzeźnej, które różnią się wymaganiami do aktywacji i odpowiadają na różne rodzaje antygenów.

Większość konwencjonalnych limfocytów B rozpoznaje antygeny i ulega aktywacji w grudkach limfatycznych. Proces ten wymaga sygnałów wspomagających, niezbędnych do dalszych podziałów komórek i przełączania klas Ig. Takich sygnałów kostymulujących dostarczają pomocnicze limfocyty T (ang. *T helper* – Th), kontaktujące się z limfocytami B poprzez pary cząsteczek powierzchniowych. Najważniejszą rolę pełnią: cząsteczka CD40 na limfocycie B i jej ligand (CD40L) na limfocycie T [8, 9]. Limfocyty T wspomagają odpowiedź humoralną także poprzez cytokiny (IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10) [1]. W grudkach limfocyty B pełnią również funkcje APC [2, 7]. Znajdują się tutaj komórki szczególnego typu, zwane komórkami dendrytycznymi grudek (ang. *follicular dendritic cells* – FDC), które gromadzą i prezentują na powierzchni duże ilości antygeny. Jest on rozpoznawany przez BCR limfocytów B. Limfocyty B przechwytyują antygen, pochłaniają go na drodze endocytozy i prezentują w połączeniu z cząsteczkami HLA klasy II limfocytom Th. Także to rozpozna-

nie antygeny wymaga sygnałów kostymulujących, dostarczanych przede wszystkim przez cząsteczki CD80/86 i CD40 na limfocycie B oraz CD28 i CD40L na limfocycie T. Limfocyty B mają słabszą zdolność prezentacji antygenów niż klasyczne APC, lecz po aktywacji, dzięki zwiększonej ekspresji cząsteczek HLA klasy II i cząsteczek kostymulujących, funkcję tę wykonują 10-krotnie sprawniej. Mogą również prezentować antygeny związane w kompleksach immunologicznych, które wychwytyują poprzez FcR. Część tak aktywowanych limfocytów B różnicuje się w krótko żyjące komórki plazmatyczne, które są zaangażowane w odpowiedź pierwotną i syntetyzują głównie przeciwciała klasy IgM, a część dzieli się, tworząc ośrodki rozmnażania grudek. W ośrodkach rozmnażania geny kodujące Ig ulegają częstym mutacjom i dodatkowym rearanżacjom (tzw. redagowanie receptorów), dzięki czemu repertuar BCR znacznie się rozszerza [2]. W efekcie powstają limfocyty B, precyzyjnie rozpoznające antygeny, co stwarza szansę skutecznej eliminacji patogenu. W ośrodkach rozmnażania grudek odbywa się przełączanie izotypu Ig oraz dalsze różnicowanie w komórki plazmatyczne lub komórki pamięci immunologicznej. Komórki plazmatyczne opuszczają grudki, wędrują do innych stref wtórnej tkanki limfatycznej lub szpiku, gdzie odbywa się końcowy etap ich dojrzewania.

W odróżnieniu od limfocytów B grudek, aktywacja limfocytów B strefy brzeźnej jest niezależna od bezpośredniej pomocy limfocytów Th, ale podtrzymywana przez czynniki wzrostu (np. BlyS/BAFF) [2, 7, 10]. W życiu osobniczym komórki te pojawiają się późno (u ludzi dopiero w 2. roku życia). Po aktywacji szybko różnicują się w komórki plazmatyczne produkujące głównie przeciwciała klasy IgM, a w mniejszym stopniu IgG.

Oprócz konwencjonalnych limfocytów B2 istnieją także bardziej prymitywne limfocyty B1 [2, 7, 10]. U osób dorosłych stanowią one ok. 20% limfocytów B krwi obwodowej i śledziony, ale w okresie płodowym jest ich 2–3-krotnie więcej. Limfocyty B1 pojawiają się wcześniej podczas rozwoju ontogenetycznego i stanowią pierwszą linię obrony przeciwbakteryjnej. Produkują przeciwciała (głównie IgM, mniej IgA i IgG) o szerokim spektrum swoistości, reagujące krzyżowo z różnymi antygenami bakteryjnymi, a także autoprzeciwciała naturalne. Komórki B1 są aktywowane przed odpowiedzią nabytą przez antygeny grasicznie niezależne, na które odpowiedź nie wymaga bezpośredniej pomocy ze strony limfocytów T. Niemniej jednak limfocyty Th dodatkowo zwiększają aktywację limfocytów B1 i wpływają na przełączanie izotypu wytwarzanych przez nie przeciwciał. Limfocyty B1 nie różnicują się w komórki pamięci immunologicznej. Część limfocytów B1 (tzw. B1a) wykazuje ekspresję powierzchniowej cząsteczki CD5, która występuje głównie na limfocytach T. Liczba

limfocytów B1a jest podwyższona w reumatoidalnym zapaleniu stawów (RZS) i zespole Sjögrena.

Komórki plazmatyczne są w pełni zróżnicowane i mają określony czas życia [2, 7, 10]. Wśród nich wyodrębnia się 2 subpopulacje: 1) komórki plazmatyczne krótko żyjące, które powstają w ośrodkach rozmnażania wtórnych narządów limfatycznych, mają zdolność dzielenia się, a ich aktywacja może być zależna lub niezależna od pomocniczych limfocytów T, oraz 2) komórki plazmatyczne długo żyjące (ok. 100 dni), które wywodzą się z komórek krótko żyjących, nie ulegają podziałom, lokalizują się w szpiku kostnym, gdzie syntetyzują przeciwciała nawet przy braku antygeny i bez pomocy limfocytów T. Komórki plazmatyczne nie mają cząsteczki CD20, będącej markerem limfocytów B. Z tego powodu nie są one eliminowane przez przeciwciało anti-CD20 (rituximab), wprowadzane do leczenia chorych na RZS i toczeń rumieniowaty układowy (TRU).

Limfocyty B pamięci immunologicznej [2, 7, 10] są limfocytami długo żyjącymi (nawet przez czas życia osobniczego), krążą we krwi i ulegają aktywacji po ponownym rozpoznaniu antygeny, inicjując szybką odpowiedź wtórną. Różnicowanie w limfocyty B pamięci zależy od pary cząsteczek CD40 – CD40L, a ich próg aktywacji jest niski (wystarcza mała ilość antygeny). Mają one BCR i syntetyzują Ig (głównie klasy IgG, IgA lub IgE) o wysokim powinowactwie do antygeny. Po aktywacji limfocyty B pamięci immunologicznej różnicują się w komórki plazmatyczne, prezentują antygeny limfocytom Th, a część ponownie przekształca się w komórki pamięci.

Klasyfikację limfocytów B przedstawiono zbiorczo na ryc. 2b. Oddziaływanie limfocytów B z limfocytami T i APC w grudce limfatycznej oraz przebieg odpowiedzi humoralnej ilustruje ryc. 3b.

Aktywacja limfocytów B

Rozpoznanie antygeny przez powierzchniowe Ig powoduje agregację BCR i zapoczątkowuje sygnał aktywacyjny [2, 3]. Jest on inicjowany przez cząsteczki dodatkowe (Ig α i Ig β). Do kompleksu BCR są przyłączane i ulegają aktywacji niereceptorowe białkowe kinazy tyrozynowe (ang. *protein tyrosine kinase* – PTK). PTK uruchamiają szlaki sygnałowe zależne od wtórnych przekazników (fosfolipazy C γ – PLC γ , kinazy 3 fosfatydyloinozytolu – PI-3K, białek Ras i Rac). Szlaki te ostatecznie prowadzą do aktywacji genów włączonych w odpowiedź komórkową (np. w endocytozę kompleksów immunologicznych, proliferację, różnicowanie się lub apoptozę itp.). O rodzaju odpowiedzi komórkowej decyduje przede wszystkim nasilenie sygnału aktywacyjnego [11]. Z tego powodu podlega on precyzyjnej regulacji poprzez szereg cząsteczek powierzchniowych, które

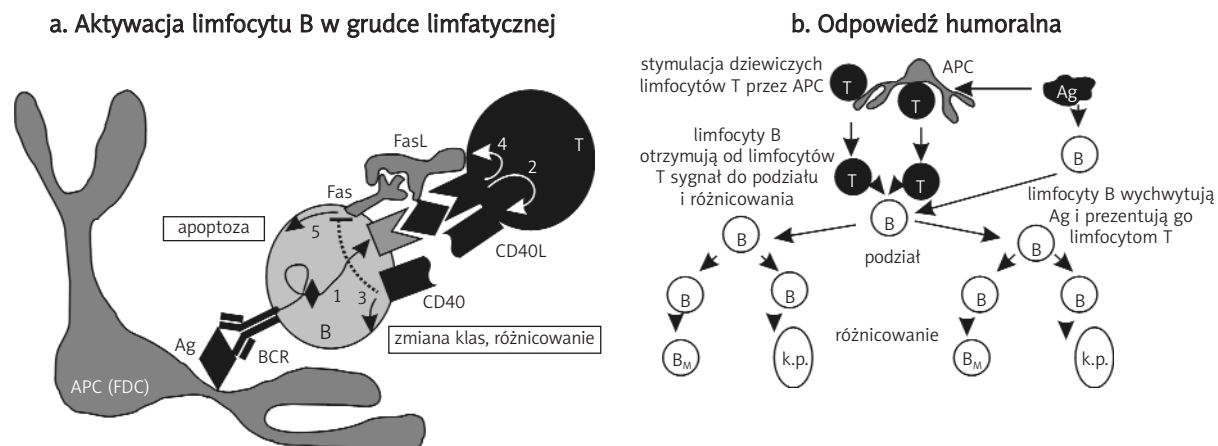
wzmacniają (CD19, CD21) lub osłabiają (CD22, Fc γ RII, CD72, PD-1) sygnał aktywacyjny [2, 3, 11].

Cząsteczka CD19 obniża próg aktywacji komórek (ok. 100-krotnie) i wzmacnia odpowiedź na antygeny grasiczozależne, a cząsteczka CD21 (CR2) nasila odpowiedź na antygeny grasiczozależne i grasiczozależne. Obie cząsteczki są potrzebne dla tworzenia ośrodków rozmnażania grudek limfatycznych [2, 3]. Regulatory negatywne działają poprzez przyłączanie cytozolowych fosfataz tyrozynowych lub inozytolowych, które działają przeciwstawnie do PTK i przez to blokują sygnał aktywacyjny. Cząsteczki te są włączane różnymi drogami: CD22 rozpoznaje grupy cukrowe w BCR klasy IgM, Fc γ RII hamuje syntezę przeciwciał inicjowaną przez kompleksy immunologiczne, CD72 i PD-1 wiążą się ze swoistymi ligandami (odpowiednio: CD5 i CD100 lub PD-1L) na komórkach kooperujących z limfocytami B [11]. Należy jednak podkreślić, że niektóre z tych cząsteczek (np. CD5, CD22) mogą, w zależności od aktualnej sytuacji (np. stopnia dojrzałości komórki, rozpoznania swoistego ligandu lub jego braku, rodzaju czynnika stymulującego), zarówno nasilać, jak i osłabiać aktywację limfocytów B [12]. Podobnie wpływ cząsteczki CD40 na odpowiedź komórki zależy od etapu rozwoju limfocytu B, gdyż dostarcza ona głównego sygnału kostymulującego limfocytom dziewiczym i powoduje różnicowanie się limfocytów B w komórki pamięci, ale hamuje ich różnicowanie w komórki plazmatyczne [9].

Nasilenie sygnału aktywacyjnego jest także zależne od samego antygeny (np. jego stężenia, wartościowości epitopów, miejsca wnikięcia) [11]. Sygnał aktywacyjny jest zatem precyzyjnie dostrajany na wielu poziomach, decyduje o rodzaju odpowiedzi i przeżyciu limfocytu B (zbyt silny lub za słaby zazwyczaj powoduje apoptozę, a umiarkowany podtrzymuje przeżycie).

Funkcje limfocytów B niezwiązane z syntezą przeciwciał

Każdy limfocyt B z BCR swoistym dla danego antygeny może poprzez endocytozę pochłaniać antygen, przetwarzać go, a następnie prezentować peptydy antygenowe w restrykcji MHC limfocytom T. Oprócz tego limfocyty B mogą przekazywać związane przez BCR antygeny innym komórkom APC [2, 7, 13, 14]. Ta zdolność limfocytów B wzmacnia odpowiedź immunologiczną. Szczególną rolę przypisuje się limfocytom B1a, które ekspozują na błonie komórkowej autoprzeciwciała o szerokiej swoistości. Limfocyty B1a mogą wiązać różne autoantygeny i prezentować je autologicznym limfocytom T oraz innym limfocytom B1 i B2. U myszy śledzionowe limfocyty B1a są wydajnymi APC i inicjują 2-krotnie wyższą syntezę IFN γ niż komórki B2 [7]. Waż-



Ryc. 3. Prezentacja antygeny w grudce limfatycznej i przebieg odpowiedzi humoralnej. (a) W grudce limfatycznej limfocyty T rozpoznają antygeny (Ag) prezentowane przez klasyczne komórki prezentujące (APC). Za pomocą receptora dla antygeny (BCR) limfocyty B przechwytyują antygeny gromadzone na komórkach dendrytycznych grudek (FDC) i także prezentują je limfocytom T (1). Na limfocytach T zwiększa się wówczas ekspresja cząsteczki CD40L, która wiąże cząsteczkę CD40 na limfocycie B (2) i dostarcza limfocytowi B główny sygnał kostymulujący. Jest on niezbędny do różnicowania się limfocytów B i zmiany klas wytwarzanych przeciwciał (3). Zarówno brak tego sygnału, jak i kontakt limfocytów wyłącznie poprzez CD40-CD40L, ale bez prezentacji antygeny, powoduje odpowiednio anergię lub śmierć apoptotyczną komórki B, inicjowaną przez ligand Fas (FasL) na limfocycie T (4), wiążący cząsteczkę Fas na limfocycie B (5). Zapobiega to przypadkowej aktywacji limfocytów B, co w przypadku limfocytów autoreaktywnych grozi utratą tolerancji i rozwojem odpowiedzi autoimmunizacyjnej. (b) Po otrzymaniu niezbędnych sygnałów aktywacyjnych limfocyty B dzielą się i różnicują w komórki plazmatyczne (k.p.) lub w komórki pamięci immunologicznej (B_M).

Fig. 3. Antigen presentation in lymphoid follicle and development of humoral response. (a) T lymphocytes recognize antigen presented by classical antigen presenting cells (APC). Using B cell receptor (BCR) B lymphocytes capture antigens trapped on the surface of follicular dendritic cells (FDC), and also present them to T cells (1). This up-regulates CD40L expression on T cell that binds CD40 molecule on B cell (2), and delivers the major co-stimulatory signal, indispensable for B cell differentiation and immunoglobulin class switching (3). The lack of co-stimulation as well as co-operation of lymphocytes through CD40L-CD40 without antigen recognition results in B cell anergy or apoptosis. Apoptosis is triggered by binding of Fas ligand on T cell (4) to Fas molecule on B cell (5). By this way occasional activation of B cells, including autoreactive clones, is prevented and protects against development of autoimmunity. (b) After receiving required activation signals, B cells proliferate and differentiate into plasma (k.p.) or memory cells (B_M).

ną rolę w prezentacji antygeny pełnią komórki syntetyzujące czynnik reumatoidalny.

Limfocyty B syntetyzują liczne cytokiny, które wpływają na ich aktywność i dojrzewanie (np. IL-6, IL-10), aktywują komórki dendrytyczne (np. błonowa limfotoksyna α), ukierunkowują odpowiedź immunologiczną zależną od pomocniczych limfocytów T typu 1 (np. IFN γ) lub typu 2 (IL-4), a także mają silne działanie chemotaktyczne (IL-16, chemokiny) [2, 7, 15, 16]. Poprzez wydzielane cytokiny (limfotoksynę α i β , TNF- α) i bezpośrednie oddziaływanie z limfocytami T i komórkami dendrytycznymi uczestniczą także w tworzeniu tkanki limfoidalnej we wtórnych narządach limfatycznych (np. w śledzionie) [17].

Przyczyny autoreaktywności limfocytów B

Chorobom reumatycznym towarzyszy nadczynność limfocytów B, nadmierna odpowiedź humoralna oraz wytwarzanie licznych auto-przeciwciał. Świadczy to o przetamaniu tolerancji na własne antygeny i nieprawidłowym funkcjonowaniu mechanizmów odpowiedzialnych za jej utrzymanie. W warunkach prawidłowych większość autoreaktywnych limfocytów B umiera apoptotycznie podczas dojrzewania w szpiku, co prowadzi do wytworzenia tolerancji centralnej. Na obwodzie niedojrzałe autoreaktywne komórki B są utrzymywane w anergii, ale ten stan może być odwracalny, czemu sprzyja np. środowisko zapalne. Takie środowisko, utrzymujące się dłużej w tkan-

kach osób z chorobami reumatycznymi, stale dostarcza limfocytom B sygnałów kostymulujących (poprzez pary cząsteczek powierzchniowych, czynniki wzrostowe, cytokiny). Oprócz tego mutacje somatyczne i ponowne rearanżacje genów Ig w niedojrzałych i przejściowych limfocytach B mogą przekształcać je w komórki autoreaktywne. Aby przeżyć i ulec podziałom, takie komórki muszą rozpoznać autoantigen prezentowany w grudce limfatycznej, a następnie zaprezentować go limfocytom T. Szansa, że w tym samym miejscu i czasie dojdzie do spotkania autoreaktywnego limfocytu T i B, jest niewielka, co utrzymuje autotolerancję obwodową (ryc. 3b.), ale w szczególnych okolicznościach się to zdarza, prowadząc do odpowiedzi autoimmunizacyjnej.

Badania na modelach tocznia u zwierząt potwierdzają, że limfocyty B grudek limfatycznych stają się autoreaktywne i patogenne po mutacjach somatycznych i przełączeniu izotypu na IgG [18]. Autoreaktywne limfocyty B mogą się także wywodzić z subpopulacji B1 i komórek strefy brzeżnej, które nie wymagają pomocy ze strony limfocytów Th i syntetyzują autoprzeciwciała naturalne. Do utrzymania autotolerancji limfocytów B potrzebna jest także precyzyjna regulacja ich aktywności. U myszy, którym metodami inżynierii genetycznej wyłącza się ekspresję genów kodujących negatywne regulatory aktywacji, dochodzi do rozwoju chorób autoimmunizacyjnych, nadczynności limfocytów B i dominacji limfocytów B1 [2].

Autoreaktywności limfocytów B sprzyja reaktywność krzyżowa pomiędzy antygenami obcymi i własnymi. Wiele peptydów wywodzących się z antygenów własnych i obcych wykazuje podobieństwo strukturalne (mimikrę antygenową) (np. sekwencja aminokwasów, zwana *wspólnym epitopem*, występuje w białkach wirusa Epsteina-Barr, bakteryjnych białkach szoku cieplnego i cząsteczkach HLA-DR4 predysponujących do RZS) [2]. Czynniki infekcyjne aktywuje wówczas limfocyty B, które rozpoznają także własne antygeny i wytwarzają autoprzeciwciała. Po eliminacji patogenu, na skutek braku sygnałów wspomagających ze strony antygenowo swoistych limfocytów Th, produkcja takich autoprzeciwciał zazwyczaj się zmniejsza. W chorobach autoimmunizacyjnych wrodzona nadczynność limfocytów B oraz środowisko zapalne uniemożliwiają wyłączenie aktywacji limfocytów B, nawet po usunięciu czynnika infekcyjnego. Ostatnie doniesienia wskazują, że u chorych na RZS centralne i obwodowe mechanizmy utrzymujące tolerancję limfocytów B są zaburzone, co w konsekwencji powoduje aktywację klonów autoreaktywnych [19, 20].

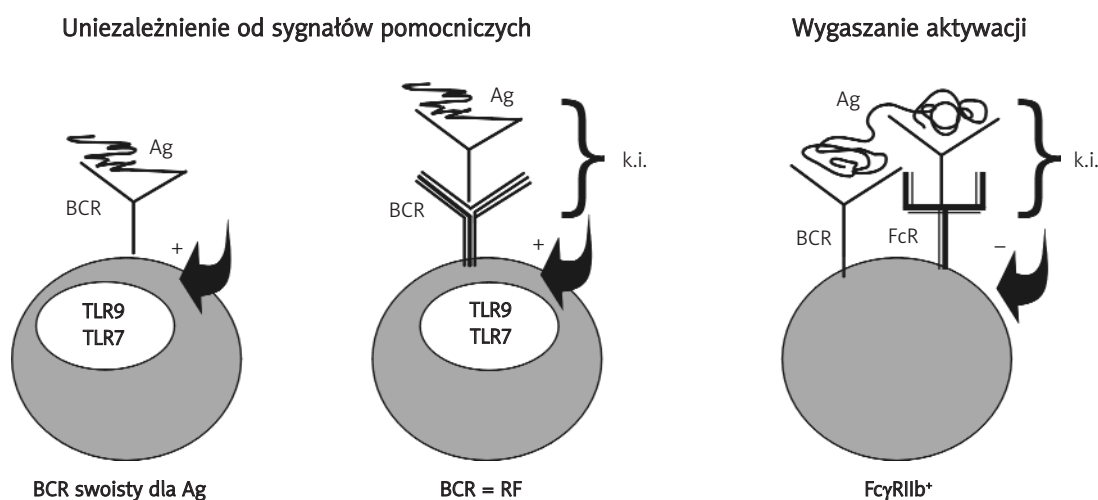
Limfocyty B mogą także prezentować antygeny (zarówno obce, jak i własne) związane w kompleksach immunologicznych oraz antygeny przetworzone, tak że ujawniają się ukryte determinanty antygenowe, co rozszerza spektrum odpowiedzi immunologicznej [2]. Wy-

daje się, że te zjawiska towarzyszą prawidłowej odpowiedzi przeciwnieinfekcyjnej. Ważne jest to, że na skutek nieefektywnych mechanizmów kontrolujących aktywność limfocytów dochodzi do propagacji odpowiedzi autoimmunizacyjnej. Istotną rolę w jej podtrzymywaniu odgrywają skupiska tkanki limfatycznej, tworzącej się w narządach objętych procesem chorobowym.

Limfocyty B w reumatoidalnym zapaleniu stawów

Ocena czynnościowa

Charakterystyczną cechą chorób reumatycznych, w tym RZS, jest obecność różnego rodzaju autoprzeciwciał, z których niektóre działają patogennie [21]. Czynniki reumatoidalny (ang. *rheumatoid factor* – RF) [21, 22] rozpoznaje fragment Fc ludzkiej IgG, jest autoprzeciwciałem wytwarzanym podczas prawidłowej odpowiedzi immunologicznej i pełni rolę immunoregulacyjną (np. ułatwia usuwanie kompleksów immunologicznych i umożliwia limfocytom B prezentację antygenów). Taki *fizjologiczny* RF jest klasy IgM i wiąże fragment Fc IgG z niskim powinowactwem. Wytwarzają go limfocyty B CD5⁺ tkanek limfoidalnych, wykorzystując prawidłowe geny linii zarodkowej. W surowicy ok. 80% chorych na RZS występuje RF różnych klas (IgM, IgG, IgA, IgE). Takich chorych charakteryzuje cięższy przebieg kliniczny. Obecność RF jest często wykrywana przed wystąpieniem objawów klinicznych. Przypuszcza się, że we wczesnym etapie RZS wytwarzanie RF jest inicjowane przez antygen (własną zmodyfikowaną IgG lub inny, dotąd niezidentyfikowany antygen, wykazujący podobieństwo strukturalne do Fc IgG) [21, 22]. W fazie chronicznej lokalna synteza RF może być podtrzymywana przez mikrośrodowisko bogate w czynniki aktywujące limfocyty B. Wskazuje na to spontaniczne wydzielanie RF przez występujące w błonie maziowej komórki plazmatyczne [22]. Najczęstsze RF (klasy IgM i IgG) uczestniczą w lokalnej odpowiedzi zapalnej [21–24]. Utworzenie kompleksów RF klasy IgM z IgG aktywuje reakcję kaskadową dopełniacza, a RF klasy IgG indukuje produkcję cytokin przez makrofagi mające FcγR. W stawie RF ulega samoistnej agregacji. Tworzy też duże agregaty z kompleksami immunologicznymi, które odkładają się w błonie maziowej i na chrząstce stawowej, co aktywuje dopełniacz drogą klasyczną i generuje peptydy chemotaktyczne przyciągające leukocyty. U części chorych na RZS występują RF klasy IgE lub IgA. Kompleksy immunologiczne, zawierające RF klasy IgE, aktywują synowialne komórki tuczne, powodując ich degranulację [21, 24]. Stwierdzenie RF klasy IgA koreluje z erozją kości, a klasy IgG z objawami *vasculitis* [23]. Limfocyty B wytwarzające RF przyczyniają się do rozwoju choroby także poprzez podtrzymywanie cyklicznej samoodnowy tej po-



Ryc. 4. Rozpoznanie antygeny przez różne receptory modyfikuje stan aktywacyjny limfocytów B. Rozpoznanie antygeny (Ag) przez swoisty receptor (BCR) jest wzmacniane przez sygnały kostymulujące (ryc. 3a). Jeśli po internalizacji kompleksu BCR/Ag ten sam antygen (np. DNA lub RNA) jest wewnątrz komórki rozpoznawany przez receptory Toll-podobne (odpowiednio TLR9 lub TLR7), to sygnały kostymulujące są zbędne. Podobnie limfocyty B wytwarzające czynnik reumatoidalny (RF) uniezależniają się od sygnałów pomocniczych wtedy, gdy wiążą DNA/RNA w kompleksach immunologicznych (k.i.) i po ich endocytozie rozpoznają te antygeny przez odpowiednie TLR. Prócz tego limfocyty B RF⁺ mogą rozpoznawać różne antygeny związane w kompleksach immunologicznych i prezentować je limfocytom T. Limfocyty B wiążą także kompleksy immunologiczne przez powierzchniowe receptory typu IIb dla fragmentu Fc IgG (FcγRIIb). Jeśli antygen wchodzący w skład tych kompleksów jest równocześnie rozpoznawany przez BCR, to sygnał aktywacyjny jest wygaszany.

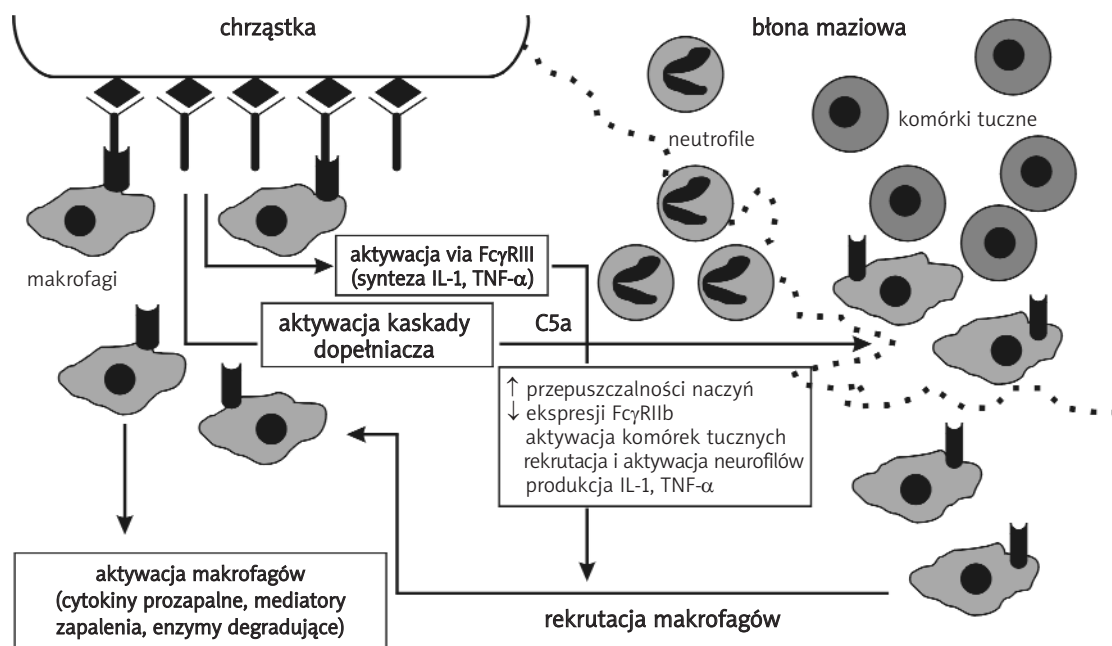
Fig. 4. Recognition of antigen through various receptors modifies activation status of B lymphocytes. Recognition of antigen (Ag) through B cell receptor (BCR) is enhanced by co-stimulatory signals (Figure 3a). If after internalization of BCR/Ag complexes the same Ag (e.g. DNA or RNA) is intracellularly recognized through specific Toll-like receptors (TLR9 or TLR7, respectively), co-stimulatory signals are not required. Similarly, activation of rheumatoid factor (RF) producing B cells is independent of co-stimulation when Ag (DNA/RNA) bound into immune complexes (k.i.) is endocytosed and recognized through respective TLR. Additionally, B RF⁺ lymphocytes are able to bind immune complexes containing various antigens and present them to T cells. To capture immune complexes B lymphocytes also use type IIb surface receptors for Fc IgG (FcγRIIb). However, simultaneous recognition of Ag bound into immune complexes through BCR results in the inhibition of B cell activation.

pulacji komórek oraz zdolność do prezentacji antygenów limfocytom T (ryc. 4.) [25, 26].

U ponad 90% chorych na RZS występują auto-przeciwciała rozpoznające cykliczne cytrulinowane peptydy (CCP), a ich obecność może na wiele lat wyprzedzać kliniczne objawy choroby [21, 27–29]. Cytrulinacja jest posttranslacyjną modyfikacją białek, polegającą na przetwarzaniu argininy w cytrulinę przez enzym, zwany deiminazą peptydylargininy 4 (PADI4). W błonie maziowej chorych na RZS ekspresja tego enzymu i cytrulinacja białek są wzmożone [28]. Przypuszcza się, że cytrulinowane własne białka (np. wimentyna, agrekan chrząstki) mogą być prezentowane w restrykcji HLA-DR4 (występowanie cząsteczki DR4 w haplocyfie zwiększa 4–5-krotnie ryzyko rozwoju RZS) i mogą inicjować autoreaktywną odpo-

wiedź limfocytów T i B [29]. Oprócz tego u chorych na RZS stwierdza się auto-przeciwciała swoiste dla różnych białek tworzących chrząstkę stawową: denaturowanego kolagenu II, innych typów kolagenu, glikoproteiny chrząstki o masie cząsteczkowej 39 kD, proteoglikanów, białka łącznikowego chrząstki, a także przeciwciała rozpoznające autoantygeny (np. białko jądrowe RA33, białko BiP) występujące w stawach i innych tkankach [21]. Różnorodność auto-przeciwciał wskazuje, że w RZS odpowiedź auto-immunizacyjna jest inicjowana przez wiele antygenów, a jej swoistość może się zmieniać wraz z progresją choroby, klinicznym obrazem i zastosowaną terapią.

Przez analogię do modeli u zwierząt (myszy KRN/NOD) [30–33] uważa się, że także w RZS [24] auto-przeciwciała o różnej swoistości (również te rozpoznają-



Ryc. 5. Udział przeciwciał w zapoczątkowaniu odpowiedzi immunologiczno-zapalnej w reumatoidalnym zapaleniu stawów. Sekwencję zjawisk omówiono w tekście.

Fig. 5. The role of antibodies in the initiation of immune and inflammatory responses in rheumatoid arthritis. The sequence of events is described in the text.

ce autoantygeny pozastawowe) indukują zapalenie poprzez sekwencję zjawisk przedstawionych na ryc. 5.

Na początku choroby produkcja autoprzeciwciał jest zależna od autoreaktywnych limfocytów B i sygnału pomocniczego dostarczanego tym komórkom przez autoreaktywne limfocyty T. Na tym etapie przeciwciała mogą być swoiste dla niewielkiej liczby autoantygenów, nie muszą być patogenne, a ich stężenie może być niskie. Wskazują na to obserwacje, że u wielu chorych autoprzeciwciała występują nawet na kilka lat przed objawami klinicznymi. Z czasem repertuar swoistości autoprzeciwciał może się rozszerzać poprzez rozprzestrzenianie się epitopów. Stężenie przeciwciał może wzrastać dzięki protekcyjnemu działaniu wewnątrzkomórkowego receptora (FcRn), który wiąże i chroni IgG przed degradacją oraz pozwala na jej wielokrotną ekspozycję na błonie komórkowej [24]. W tej fazie kompleksy immunologiczne odkładają się na chrząstce stawowej i uruchamiana jest reakcja kaskadowa dopełniacza generująca składową C5a. Anafilatoksyna C5a m.in. działa chemotaktycznie na neutrofile i komórki tuczne. Ponadto zwiększa na komórkach ekspresję Fc γ R, co umożliwia wiązanie kompleksów immunologicznych i zapoczątkowuje syntezę cytokin prozapalnych. Neutrofile gromadzą się w płynie stawowym, a liczne komórki tuczne lokalizują się często w miejscach degradacji chrząstki. Komórki te uczestniczą w odpowiedzi zapalnej

i biorą udział w procesach destrukcyjnych [13, 21]. W ten sposób odpowiedź autoreaktywna aktywuje układ odporności nieswoistej (dopełniacz, FcR na leukocytach), inicjując zapalenie, amplifikowane następnie przez kolejne włączenie komórek układu odporności nabytej.

W chorobach reumatycznych limfocyty B wykazują nasiloną zdolność do prezentacji antygeny. Wynika to z wrodzonej i/lub wspomaganą przez środowisko zapalne nadczynności tych komórek. Ważną rolę przypisuje się limfocytom B produkującym RF. Powierzchniowy RF pozwala tym komórkom wychwytywać kompleksy immunologiczne, dzięki czemu mogą one prezentować różne antygeny obce i własne wchodzące w ich skład (ryc. 4.). Limfocyty B produkują także cytokiny prozapalne (IL-6 i niewielkie ilości TNF- α), które odgrywają ważną rolę w patogenezie RZS [21]. Funkcjonowanie autoreaktywnych limfocytów B (prezentację autoantygenów, syntezę autoprzeciwciał) ułatwiają autoreaktywne limfocyty T. W RZS są to głównie limfocyty T rozpoznające białka wywodzące się ze stawu (np. gp39, glikozylowany kolagen II, agrekan) [21].

Tworzenie tkanki limfatycznej i synteza przeciwciał *in situ*

Synteza autoprzeciwciał może przebiegać w tkankach objętych procesem chorobowym, w których tworzą się

skupiska tkanki limfatycznej przypominające grudki wtórnych narządów limfatycznych. Tak zorganizowana tkanka występuje, np. w skórze chorych na łuszczycę, jelicie chorych na zeszytniające zapalenie stawów kręgosłupa i reumatoidalnej błonie maziowej. Ten proces jest najlepiej poznany w RZS. Warstwę podwyściółkową reumatoidalnej błony maziowej naciekają różne typy komórek. Badania histologiczne pozwalają wyróżnić 3 typy nacieków (dyfuzyjny, ziarniniakowaty z grudkami limfatycznymi bez ośrodków rozmnażania lub z nimi), różniące się także lokalną syntezą przeciwciał (odpowiednio: niska, umiarkowana i wysoka) [13, 34]. W typie ziarniniakowatym limfocyty T i B lokalizują się głównie w grudkach limfatycznych i ośrodkach rozmnażania, podczas gdy komórki dendrytyczne, makrofagi i komórki plazmatyczne w przylegającej strefie brzeżnej. Taka organizacja nacieków wskazuje, że limfocyty są aktywowane *in situ*. We wczesnym etapie RZS do błony maziowej przyciągane są z obwodu komórki plazmatyczne mające receptor CXCR3, swoisty dla chemokiny Mig/CXCL9 produkowanej lokalnie przez synowioocyty fibroblastyczne [35]. Za tworzenie ośrodków rozmnażania w reumatoidalnej błonie maziowej odpowiedzialne są inne chemokiny, przyciągające z krążenia limfocyty B (CXCL-13/BCA produkowana przez komórki dendrytyczne grudek) i limfocyty T (CCL-21) [34, 36]. Jednak główną rolę w tym procesie odgrywa limfotoksyna β , produkowana lokalnie przez limfocyty B [34]. Analiza rearanżowanych genów Ig, tworzących BCR na synowialnych limfocytach B, sugeruje, że są one aktywowane *in situ* przez dotąd niezidentyfikowane antygeny występujące w stawie [21]. Limfocyty B stanowią niewielki odsetek (ok. 5%) komórek naciekających reumatoidalną błonę maziową, ale ich przeżycie i dojrzewanie jest podtrzymywane przez kontakty z innymi komórkami oraz przez czynniki rozpuszczalne. Synowialne limfocyty B syntetyzują autoprzeciwciała (przeciwko kolagenowi II, anty-CPP, RF), są zdolne do prezentacji antygeny limfocytom T i niezbędne dla utrzymania limfocytów T w stanie aktywacji [21, 34]. Jest to populacja heterogenna, obejmująca komórki dojrzałe, aktywowane, plazmatyczne, a także komórki anergiczne. Wydaje się, że tworzenie wtórnej tkanki limfatycznej w chorobach reumatycznych może przebiegać w sposób podobny, jak w warunkach prawidłowych. Nie jest jednak jasne, dlaczego tworzy się ona w miejscach nietypowych i czy proces ten jest inicjowany przez toczącą się odpowiedź zapalną [37].

Czynniki podtrzymujące aktywację i różnicowanie się limfocytów B

Aktywność limfocytów B podtrzymują sygnały kostymulujące, dostarczane przez bezpośredni kontakt z innymi komórkami, a także czynniki wzrostowe i cytokiny.

Limfocyty T chorych na RZS wykazują wzmożoną ekspresję CD40L [21]. Próby terapii chorób reumatycznych za pomocą przeciwciała anty-CD40L zakończyły się niepowodzeniem z powodu powikłań zakrzepicą [38]. Obecnie w RZS i TRU trwają badania kliniczne, oceniające skuteczność i bezpieczeństwo blokowania kontaktu limfocytów B z limfocytami T za pomocą białka fuzyjnego CTLA4Ig [39, 40], które zapobiega połączeniu się cząsteczki CD28 (na limfocycie T) z CD80/86 (na limfocycie B). Ostatnie badania wskazują, że w RZS, podobnie jak w innych chorobach autoimmunizacyjnych, nadczynność limfocytów B może być uwarunkowana genetycznie. Ważnym regulatorem osłabiającym sygnał aktywacyjny uruchamiany przez TCR i BCR jest fosfataza tyrozynowa Lyp, kodowana przez gen *PTPN22*. U chorych na RZS występuje polimorficzna odmiana tego genu, powodująca czynnościowe upośledzenie Lyp, co może bezpośrednio i/lub pośrednio (przez wzmożony sygnał pomocniczy ze strony limfocytów T) nasilać aktywację limfocytów B [41, 42]. Badania dotyczące tego zjawiska są w toku.

W reumatoidalnej błonie maziowej kontakt limfocytów B z komórkami podścieliska zarówno przez cząsteczki adhezyjne (VCAM-1, fibronektynę), jak i czynniki wzrostowe wytwarzane przez aktywowane cytokinami (TNF- α , IFN γ) synowioocyty fibroblastyczne, chroni je przed apoptozą i podtrzymuje ich przeżycie [43]. Ważnym czynnikiem wzrostu, podtrzymującym przeżycie, aktywację i różnicowanie się limfocytów B, jest czynnik wzrostu BlyS/BAFF [44, 45]. Białko to występuje zarówno na powierzchni komórek (głównie linii mieloidalnej i na komórkach dendrytycznych), jak i w formie rozpuszczalnej. Wytwarzanie BlyS/BAFF indukują cytokiny (IFN γ , IFN- α , IL-6, IL-10, TNF- α) oraz CD40L. Stężenie BlyS/BAFF w surowicy chorych na RZS, TRU i pierwotny zespół Sjögrena jest podwyższone i koreluje z mianem auto-przeciwciał [46]. Uważa się, że nadprodukcja tego czynnika chroni autoreaktywne limfocyty B przed delecją, umożliwia im zasiedlanie i dojrzewanie w grudkach i strefie brzeżnej wtórnych narządów limfatycznych [47]. W reumatoidalnej błonie maziowej aktywację i różnicowanie się limfocytów B podtrzymują: BlyS/BAFF (produkowany przez synowialne makrofagi i synowioocyty fibroblastyczne), APRIL (wytwarzany przez komórki dendrytyczne) i chemokiny (CXCL-12/SDF-1 z komórek śród-błonka naczyń i synowioocytów) [34, 48].

Trwają badania kliniczne, oceniające skuteczność leczenia chorych przeciwciałem anty-BlyS, które wiąże się do tego czynnika wzrostu, hamuje jego przyłączanie do swoistych receptorów (TACI, BCMA, BAFF-R) i w rezultacie neutralizuje jego działania biologiczne [26, 49, 50]. Podejmowane są także próby kliniczne oceniające skuteczność innych antagonistów BlyS/BAFF [49]. Nadczynność limfocytów B podtrzymują także cytokiny (w RZS

przede wszystkim IL-6). Prowadzone są badania oceniające skuteczność neutralizacji IL-6 w terapii chorych na RZS [51]. Ostatnie doniesienia wskazują, że także receptory Toll-podobne (ang. *Toll-like receptors* – TLR) mogą przyczyniać się do nadczynności limfocytów B, ponieważ jednoczesne rozpoznanie antygeny przez BCR i TLR uniezależnia te komórki od sygnałów kostymulujących (ryc. 4.) [52–55].

Przeciwciała naturalne

Przeciwciała naturalne stanowią komponent układu odporności wrodzonej, występują u osób zdrowych, są głównie klasy IgM oraz rozpoznają z niskim powinowactwem antygeny obce i własne. Produkują je limfocyty B1 i limfocyty B strefy brzeżnej, a ich synteza jest niezależna od ekspozycji na antygeny obce. W warunkach fizjologicznych odgrywają one rolę protekcyjną, np. uczestniczą w usuwaniu własnych zmienionych komórek, działają jako przeciwciała antyidiotypowe (neutralizują patogenne autoprzeciwciała klasy IgG), anty-TCR (blokują autoreaktywne limfocyty T) oraz antycytokinowe [56, 57].

Badania na modelach zapalenia stawów u zwierząt wskazują, że naturalne przeciwciała swoiste dla cytokin i chemokin promujących zapalenie, a zwłaszcza rozpoznające TNF- α , pełnią funkcję protekcyjną [58]. Przeciwciała anty-TNF- α występują także u większości chorych na RZS [58]. Przez analogię do badań na zwierzętach i na podstawie skuteczności terapii anty-TNF- α przypuszcza się, że mogą one mieć korzystne działanie przeciwzapalne. Niektóre obserwacje wskazują, że także RF klasy IgM może być protekcyjnym przeciwciałem naturalnym, które m.in. ułatwia fagocytozę patogennych kompleksów immunologicznych i przez to zapobiega destrukcji tkanek [57]. Uważa się, że przeciwciała naturalne uczestniczą w szybkiej odpowiedzi przeciwniekcyjnej oraz modulują przebieg odpowiedzi immunologicznej i zapobiegają destrukcyjnej odpowiedzi autoimmunizacyjnej. Z tego względu do terapii niektórych chorób autoimmunizacyjnych wprowadza się preparaty zawierające przeciwciała naturalne [59]. Jednak w szczególnych warunkach, np. po infekcjach wirusowych, przeciwciała naturalne mogą się przekształcać w patogenne autoprzeciwciała klasy IgG. Ten proces jest poprzedzony aktywacją, dojrzewaniem i różnicowaniem się limfocytów B w ośrodkach rozmnażania [60]. Liczne obserwacje wskazują, że to zjawisko jest włączone w patogenezę TRU, może się także przyczyniać do rozwoju innych chorób autoimmunizacyjnych [10, 57, 60].

Piśmiennictwo

1. Budd RC, Fortner KA. T lymphocytes. In: Kelley's Textbook of Rheumatology. Harris ED Jr, Budd RC, Firestein GS, et al. (eds). Elsevier Saunders, Philadelphia 2005; 133-54.

2. Diamond B, Grimaldi C. B cells. In: Kelley's Textbook of Rheumatology. Harris ED Jr, Budd RC, Firestein GS, et al. (eds). Elsevier Saunders, Philadelphia 2005; 153-73.
3. Grimaldi MCh, Hicks R, Diamond B. B cell selection and susceptibility to autoimmunity. *J Immunol* 2005; 174: 1775-81.
4. Hillion S, Rochas C, Youinou P, et al. Expression and reexpression of recombination activating genes. Relevance to the development of autoimmune states. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1050: 10-8.
5. Manis JP, Tian M, Alt FW. Mechanism and control of class-switch recombination. *Trends Immunol* 2002; 23: 31-9.
6. Busslinger M. Transcriptional control of early B cell development. *Ann Rev Immunol* 2004; 22: 55-79.
7. Youinou P, Jamin Ch, Pers JO, et al. B lymphocytes are required for development and treatment of autoimmune diseases. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1050: 19-33.
8. Martin F, Chan AC. Pathogenic roles of B cells in human autoimmunity: insights from the clinic. *Immunity* 2004; 20: 517-27.
9. Howard LM, Miller SD. Immunotherapy targeting the CD40/CD154 costimulatory pathway for treatment of autoimmune disease. *Autoimmunity* 2004; 37: 411-8.
10. Milner ECB, Anolik J, Cappione AA, et al. Human innate B cells: a link between host defense and autoimmunity? *Springer Semin Immunopathol* 2005; 26: 433-52.
11. Mitschke L, Tsubata T. Molecular interactions regulate BCR signal inhibition by CD22 and CD72. *Trends Immunol* 2004; 25: 543-50.
12. Fujimoto M, Kuwano Y, Watanabe R, et al. B cell antigen receptor and CD40 differentially regulate CD22 tyrosine phosphorylation. *J Immunol* 2006; 176: 873-9.
13. Silverman GJ, Carson DA. Roles of B cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2003; 5 (Suppl. 4): S1-S6.
14. Panayi GS. B cells: a fundamental role in the pathogenesis of rheumatoid arthritis? *Rheumatology* 2005; 44 (Suppl. 2): ii3-ii7.
15. Kotzin BL. The role of B cells in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2005; 32 (Suppl. 73): 14-8.
16. Bayry J, Lacroix-Desmanez S, Kazatchkine MD, et al. Modulation of dendritic cell maturation and function by B lymphocytes. *J Immunol* 2005; 175: 15-20.
17. Husson H, Lugli SM, Ghia P, et al. Functional effects of TNF and lymphotoxin alpha1beta2 on FDC-like cells. *Cell Immunol* 2000; 203: 134-43.
18. Shlomchik M, Mascelli M, Shan H, et al. Anti-DNA antibodies from autoimmune mice arise by clonal expansion and somatic mutation. *J Exp Med* 1990; 171: 265-97.
19. Samuels J, Ng YS, Coupillaud C, et al. Impaired early B cell tolerance in patients with rheumatoid arthritis. *J Exp Med* 2006; 201: 1659-67.
20. Samuels J, Ng YS, Coupillaud C, et al. Human B cell tolerance and its failure in rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1062: 116-26.
21. Firestein GS. Etiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis. In: Kelley's Textbook of Rheumatology. Harris ED Jr, Budd RC, Firestein GS, et al. (eds). Elsevier Saunders, Philadelphia 2005; 996-1042.

22. Tighe H, Carson DA. Rheumatoid factor. In: Kelley's Textbook of Rheumatology. Harris ED Jr, Budd RC, Firestein GS, et al. (eds). Elsevier Saunders, Philadelphia 2005; 301-10.
23. Nydegger UE. Immune complexes. In: Kelley's Textbook of Rheumatology. Harris ED Jr, Budd RC, Firestein GS, et al. (eds). Elsevier Saunders, Philadelphia 2005; 332-41.
24. Solomon S, Kassahn B, Illges H. The role of the complement and the FcγR system in the pathogenesis of arthritis. *Arthritis Res Ther* 2005; 7: 129-35.
25. Edwards JC, Cambridge G, Abrahams VM. Do self-perpetuating B lymphocytes drive human autoimmune disease? *Immunology* 1999; 97: 188-96.
26. Edwards JC, Cambridge G. Prospects for B-cell-targeted therapy in autoimmune disease. *Rheumatology* 2005; 44: 151-6.
27. van Gaalen FA, Linn-Rasker SP, van Venrooij WJ, et al. Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis. A prospective cohort study. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 709-15.
28. Vossenaar ER, Zendman AJW, van Venrooij WJ. Citrullination, a possible functional link between susceptibility genes and rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2004; 6: 1-5.
29. Utz PJ, Genovese MC, Robinson WH. Unlocking the "PAD" lock on rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 330-2.
30. Maccioni M, Zender-Lutz G, Huang H, et al. Arthritogenic monoclonal antibodies from K/BxN mice. *J Exp Med* 2002; 195: 1071-7.
31. Mastumoto I, Maccioni M, Lee DM, et al. How antibodies to a ubiquitous cytoplasmic enzyme may provoke joint-specific autoimmune disease. *Nat Immunol* 2002; 3: 360-5.
32. Hirano T. Revival of the autoantibody model in rheumatoid arthritis. *Nat Immunol* 2002; 3: 342-4.
33. Kamradt T, Schubert D. The role and clinical implications of G6PI in experimental models of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2004; 7: 20-8.
34. Weyand CM, Seyler T, Goronzy JJ. B cells in rheumatoid synovitis. *Arthritis Res Ther* 2005; 7 (Suppl. 3): S9-S12.
35. Tsubaki T, Takegawa S, Hanamoto H, et al. Accumulation of plasma cells expressing CXCR3 in the synovial sublining regions of early rheumatoid arthritis in association with production of Mig/CXCL9 by synovial fibroblasts. *Clin Exp Immunol* 2005; 141: 363-71.
36. Manzo A, Paoletti S, Carulli M, et al. Systematic microanatomical analysis of CXCL13 and CCL21 in situ production and progressive lymphoid organization in rheumatoid synovitis. *Eur J Immunol* 2005; 35: 1347-59.
37. Cupedo T, Mebius RE. Cellular interactions in lymph node development. *J Immunol* 2005; 174: 21-5.
38. Yazdany J, Davis J. The role of CD40 ligand in systemic erythematosus. *Lupus* 2004; 13: 377-80.
39. Cron RQ. A signal achievement in the treatment of arthritis. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 2229-32.
40. Dall'Era M, Davis J. CTLA4Ig: a novel inhibitor of costimulation. *Lupus* 2004; 13: 372-6.
41. Carlton VE, Hu X, Chokkalingam AP, et al. PTPN22 genetic variation: evidence for multiple variants associated with rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet* 2005; 77: 567-81.
42. Johansson M, Årlestig L, Hallmans G, et al. PTPN22 polymorphism and anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in combination strongly predicts future onset of rheumatoid arthritis and has a specificity of 100% for the disease. *Arthritis Res Ther* 2005; 8: R19.
43. Ohata J, Zvaifler NJ, Nishio M, et al. Fibroblast-like synoviocytes of mesenchymal origin express functional B cell-activating factor of the TNF family in response to proinflammatory cytokines. *J Immunol* 2005; 174: 864-70.
44. Mackay F, Browning JL. BAFF: a fundamental survival factor for B cells. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 465-75.
45. Ng LG, Sutherland AP, Newton R, et al. B cell-activating factor belonging to the TNF family (BAFF)-R is the principal BAFF receptor facilitating BAFF costimulation of circulating T and B cells. *J Immunol* 2004; 153: 807-17.
46. Pers JO, Daridon C, Devauchelle V, et al. BAFF overexpression is associated with autoantibody production in autoimmune diseases. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1050: 34-9.
47. Thien M, Phan TG, Gardam S, et al. Excess BAFF rescues self-reactive B cells from peripheral deletion and allows them to enter forbidden follicular and marginal zone niches. *Immunity* 2004; 20: 655-6.
48. Seyler TM, Park YW, Takemura S, et al. BlyS and APRIL in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 2005; 115: 3083-92.
49. Ramanujam M, Davidson A. The current status of targeting BAFF/BlyS for autoimmune diseases. *Arthritis Res Ther* 2004; 6: 197-202.
50. Keystone E. B cell targeted therapies. *Arthritis Res Ther* 2005; 7 (Suppl. 3): S13-S18.
51. Goldblatt F, Isenberg DA. New therapies for rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol* 2005; 140: 195-204.
52. He B, Qiao X, Cerutti A. CpG DNA induces IgG class switch DNA recombination by activating human B cells through an innate pathway that requires TLR9 and cooperates with IL-10. *J Immunol* 2004; 173: 4479-91.
53. Kontny E, Rudnicka W, Maśliński W. Receptory Toll-podobne: znaczenie fizjologiczne i udział w patogenezie chorób reumatycznych. *Reumatologia* 2004; 42: 551-66.
54. Rifkin IR, Ledbetter EA, Busconi L, et al. Toll-like receptors, endogenous ligands, and systemic autoimmune diseases. *Immunol Rev* 2005; 204: 27-42.
55. Lau CM, Broughton C, Tabor AS, et al. RNA-associated autoantigens activate B cells by combined B cell antigen receptor/Toll-like receptor 7 engagement. *J Exp Med* 2005; 202: 1171-7.
56. Varambally S, Bar-Dayyan Y, Bayry J, et al. Natural human polyreactive IgM induce apoptosis of lymphoid cell lines and human peripheral blood mononuclear cells. *Int Immunol* 2004; 16: 517-24.
57. Shoenfeld Y, Toubi E. Protective autoantibodies. Role in homeostasis, clinical impotence, and therapeutic potential. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 2599-606.
58. Wildbaum G, Nahir MA, Karin N. Beneficial autoimmunity to proinflammatory mediators restrains the consequences of self-destructive immunity. *Immunity* 2003; 19: 679-88.
59. Sherer Y, Shoenfeld Y. Intravenous immunoglobulin for immunomodulation of systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2006; 5: 153-5.
60. Mockridge CI, Rahman A, Buchan S, et al. Common patterns of B cell perturbation and expanded V4-34 immunoglobulin gene usage in autoimmunity and infection. *Autoimmunity* 2004; 37: 9-15.