

Dendritik Hücre İmmünobiyolojisi

Dr. Mehmet SÖNMEZ

Karadeniz Teknik Üniversitesi, Hematoloji Bilim Dalı, Trabzon

Dendritik hücre'ler (DH) immün cevabın düzenlenmesinde önemli rol oynayan beyin, testis ve göz haricinde tüm dokularda bulunan antijen sunan hücrelerdir. DH'lerin öncelikli fonksiyonu antijen sunmak olduğundan bu hücrelere profesyonel antijen sunan hücrelerde denilmekte ve özellikle henüz farklılaşmamış T lenfositleri uyararak primer immün yanıtın oluşmasına yol açmaktadırlar. Bu fonksiyonlarını gerçekleştirebilmek için antijeni yakalama, işleme tabi tutma ve uygun kostimülen moleküllerle hücre yüzeyinde sunma yeteneğine sahiptirler. Aynı zamanda DH'ler B hücre fonksiyonlarının oluşumunda etkili olduklarından humoral immünitinin gelişiminde de önemli rol oynamaktadırlar.

Tarihçe

DH'ler ilk olarak 1868 yılında Langerhans tarafından cilt epitelinde gözlemlenmiştir. Takiben 1973 yılında Ralph Steinman tarafından dalakta dendritik şekilli hücre grubu olarak tanımlanmıştır. Bu tespitten kısa bir süre sonrada bu hücrelerin sadece dalakta değil birçok lenfoid ve lenfoid olmayan dokuda bulunduğu saptanmıştır.

Tanım

DH'leri sadece morfolojik görünümüleriyle tanımlamak yeterli olmayıp, morfolojik görünümünün yanında yüzeylerindeki çeşitli moleküllerin varlığının veya yokluğunun ve fonksiyonel yeteneklerinin tanımlanması gerekmektedir.

DH'lerin ana morfolojik görünümüleri hücre yüzeyinden dışarı doğru çok miktarda membran uzantılarının varlığıdır. Ancak bunun yanında antijeni işleme tabi tutma fonksiyonlarını yapabilmek için endosom, lisosom ve epidermisdeki

langerhans hücrelerinin Birbeck granülleri gibi bol miktarda intrasellüler yapılar da mevcuttur.

DH'lerin saptanmasındaki başlıca zorluk henüz DH'yi spesifik olarak tanımlayan hücre yüzey belirleyicisinin tespit edilememiş olmasıdır. Bundan dolayı da DH'yi tanımlamak için çeşitli yüzey belirleyicilerinin varlığı veya yokluğunun birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. Bunların neler olduğuna baktığımızda;

- CD3 (T cell), CD14 (monosit), CD19 (B cell), CD56 (NK cell), CD66b (granulosit) gibi çeşitli spesifik yüzey belirleyicilerinin yokluğunda, bol miktarda MHC klas I-II, CD1a gibi antijen sunan moleküllerin varlığı,
- CD11a (LFA-1), CD11c, CD50 (ICAM-3), CD54 (ICAM-1), CD102 (ICAM-2) ve CD58 (LFA-3)'yi içeren adezyon moleküllerinin varlığı,
- Kostimülen moleküllerden aktivasyon belirleyici olarak CD40, CD80, CD83 ve CD86 ekspresyonu.
- Reseptör aracılı antijen alımı için Fc reseptörleri CD32, CD64 ve immün kompleks endositosisi için C3bi kompleman reseptörleri CD11b gibi reseptörleri içerirler. Aynı zamanda bakteri karbonhidratlarına bağlanan DEC-205 ve makrofaj mannoz reseptörleri gibi C-tip lektin reseptörleride mevcuttur.

DH'lerin lineage negatif ancak HLA-DR pozitif hücreler olduğu ve gelişim evrelerine göre önce erken evrede CD86 ekspresyonu ederken, takiben matürasyonla birlikte CD54, CD58, CD80, CD83 ekspresyonunun olduğu ve yine tarafımızdan henüz tamamlanan bir araştırma ile antijenik

uyarılı takiben erken evrede başlayan CD1a ekspresyonunun matürasyonla birlikte belirginleştiği görülmektedir.

Bu konuya basit bir özet yapıldığında, spesifik yüzey belirleyicileri (CD3, CD14, CD19, CD56, CD66b) negatifliğiyle birlikte, HLA-DR, CD 80 veya CD83 pozitifliği matür DH için, HLA-DR, CD86 pozitifliğinin ise immatür DH tanımlamakta kullanılan temel yüzey molekülleri olduğu görülmektedir.

Oluşumu ve farklılaşması

DH'ler ilk olarak hematopoetik kök hücrelerden kaynaklanıp, takiben kemik iliğinde miyeloid ve lenfoid seriden köken alan farklı iki tipte DH oluşmaktadır. Bu farklılaşmayı sağlayan ana sitokinin ise Flt-3L olduğu saptanmıştır. İki DH hücre arasındaki en belirgin fark ise lenfoid DH'lerde CD8 α yüzey belirleyicisi mevcutken miyeloid DH'lerde bu belirleyici yoktur. Periferik dokuda DH immatür karakterde iken matür formları timus ve sekonder lenfoid organlarda bulunur. Miyeloid DH'ler başlıca iki tiptir;

1. Epitelyal yüzeylerde langerhans hücreleri
2. Cildin dermisinde veya solid organların interstisyumunda dermal veya interstisyel DH

Langerhans hücreleri antijenik uyarı aldığı anda lenfoid yapılarda T hücrelerinden zengin parafoliküler alanlara gider ve burada interdigital DH olarak adlandırılır. İnterstisyel veya dermal DH ise germinal merkeze göç ederler ve orada germinal merkez DH olarak adlandırılırlar.

İnsanda miyeloid DH'lerin klasik DH olduğu düşünülmektedir. Bu hücreler CD34+ myeloid kök hücrelerden ve monositlerden başlıca GM-CSF, IL-4 ve TNF- α varlığında oluşmaktadır. Oluşan DH matür hale geldiğinde interstisyel DH olarak bilinir. Bu hücrelerde başlangıçta CD14+, DR+, CD1a+ iken matür hale gelince CD14 negatifleşirken DR ekspresyonu artar ve CD11c ile CD83 pozitifleşir. Bu hücrelerin henüz farklılaşmamış CD4 ve CD8 T lenfositleri aktive etme yetenekleri olduğu gibi, aynı zamanda B lenfositleride antikor sekrete eden plazma hücrelerine doğru differansiye edebilmektedirler. Monositlerden köken alan CD11c+ DH hücrelerin özellikle IL-12 varlığında Th1 yanıtı neden olduğu gözlenir. İnterstisyel DH'ler lenfoid folliküllere göç edip orada folliküler DH'leri oluşturmaktadırlar. CD14 negatif olan CD34+ myeloid kök hücreler GM-CSF, TNF α ve

transforming growth factor (TGF)- β 'nın varlığında Langerhans DH olarak adlandırılan DH'ye dönebilmektedir. Bu hücrelerde CD14- iken DR+, CD1a+ ve langerin+ olup matürasyonla birlikte CD83+ gözlenir. Langerhans DH ise farklılaşmamış T lenfositleri aktive ederken, B lenfositlere karşı etkisizdir. Langerhans DH'ler antijeni yakalayıp lenfoid dokuya gider ve orada antijeni T lenfositlere sunarlar. Ayrıca bilim dalımızın yaptığı bir araştırmada langerhans tipi DH gelişiminde hepatosit growth faktörünün rol oynadığı rapor edilmiştir.

Lenfoid DH'ler ise CD34+ hücrelerden köken alıp lenfoid hücre yapısına yönelen ve IL-3, CD40L ile oluşumu gerçekleştiren CD11c-, CD1a-, CD8/CD4 ve CD83+ hücrelerdir. Bunlar plasmaitoid DH olarak adlandırılırlar ve lenfoid dokulardaki T lenfosit bölgesinde bulunup IFN- α sekrete ederler. CD 123+ olan bu hücreler ise Th2 immün yanıtı yol açarlar.

Matür ve immatür DH'lerin özellikleri

Periferde bulunan DH'ler immatür karakterde olup antijenle karşılaşım antijeni yakalayıncı immunitiyi başlatmak için lenfoid organlara göç ederler. Bu işlem yaklaşık 48 saat içinde gerçekleşmekte ve bu zaman sürecinde DH'lerde bir takım morfolojik ve fonksiyonel değişiklikler gözlenmektedir. Bunun sonucunda matür DH denilen immün yanıtın oluşmasını sağlayan aktif hücreler oluşmaktadır. İmmatür DH antijeni yakalar, matürasyon sürecinde dokudan drene olduğu lenf noduna gelir, burada matür DH'ye döner ve henüz farklılaşmamış T lenfositleri uyarır. Kemokinler bu olayda önemli rol oynarlar. İmmatür DH'ler CC ve CXC kemokinlerce (MIP-1 α , MIP-1 β , MIP-3 α , MIP-5, MCP-3,4, RANTES, TECK ve SDF-1) uyarılırlar. DH matür hale geldiğinde birçok inflamatuvar kemokine cevabını kaybeder. CCR7 reseptörlerindeki upregülasyona bağlı olarak MIP-3 β (ECL) ve 6Ckine (SCL) cevabı oluşur. Bu reseptörleri etkileyen kemokinler (6Ckine ve MIP-3 β) öncelikle lenf nodunun T hücre zengin parafoliküler alanlarında üretilir.

Matür ve immatür DH'lerin morfolojik ve fonksiyonel olarak farklı özelliklere sahip olduğu saptanmıştır. Bu DH'lerin özelliklerinin neler olduğuna baktığımızda;

- a. Öncül DH'lerin kemik iliğinde yerleştiği, CD4-, CD11c-, MHC klas I/II+/-, CD40-, CD80-, CD86- olduğu ve sitokin salınımı (IFN, TNF- α , IL-1) yaptığı gözlenir. Örnek: CD34+ kök hücre

- b. İmmatür DH'ler kan ve dokularda bulunup, CD4+, CD11c+, MHC klas I/II+/+, CD40+ (düşük), CD80+ (düşük), CD86+ (düşük) olan, sitoplazmik çıkıntıları oluşmaya başlamış, antijen alımı için reseptörlere sahip, yüksek intrasellüler MHC klas II, yüksek CCR1-CCR5-CCR6 ve düşük CCR7'ye sahip antijeni tanıma ve yakalama özelliği olan hücrelerdir.
- c. Matür DH'ler ise lenfoid organlarda yerleşmiş, CD4+, CD11c+, MHC klas I/II +/+, CD40+ (yüksek), CD80+ (yüksek), CD86+ (yüksek), CD83+, p55+ olan, belirgin sitoplazmik uzantıları, hızlı hareket yeteneği ve antijen alımı için reseptörleri azalmış, düşük CCR1-CCR5-CCR6 ve yüksek CCR7'ye sahip, T lenfosit sitokinlerini üretebilme özellikleriyle, T lenfositleri uyaran hücrelerdir.

Aynı zamanda immatür DH'lerin üretebildiği angiogenik faktörlerin (VEGF, bFGF) matür DH'lerde azaldığını görmekteyiz.

Görüldüğü gibi immatür karakterdeyken antijeni yakalama ve işleme tabi tutma özelliği olan DH'nin çevresel uyarılarla matürasyon süreci geliştikçe, T hücre uyarımı yapan hücre karakteri taşımaya başlamaktadır.

Fonksiyonları

DH'nin fonksiyonları başlıca 3 grupta toplanır:

1. Antijen sunumu ve T lenfosit aktivasyonu,
2. İmmün toleransın oluşumu ve devamı,
3. Özellikle folliküler DH'de olmak üzere B lenfositler üzerinden humoral (bellek) immüni-tenin oluşturulması.

1. Antijen sunumu ve T lenfosit aktivasyonu

DH'ler CD4+ ve CD8+ T lenfositleri aktive etmek için antijeni yakalar, onları işleme tabi tutup T lenfositlere sunarlar. İmmatür DH'ler kemik iliğinde yapıp tüm vücuda dağılırlar. Bu esnada DH'ler henüz herhangi bir patojen veya yabancı bir yapıyla karşılaşmadığından immatür halde vücutta hazır olarak beklemektedirler. İmmatür halde dolaşımda bulunan DH'ler monosit'lerden farklı fenotip, morfolojik ve fonksiyonel özelliklere sahiptirler. Antijenik uyarı geldiğinde lenfoid yapıda olmayan dokulara yönelirler. Bu işlevi gerçekleştirebilmek için adezyon molekülleri ve kemoatraktanlar yoluyla vasküler endotelium ve hücre dışı ortama etkileşimleri gerekmektedir.

Aynı zamanda immatür DH'ler yabancı antijenleri daha kolay yakalamak için organların yüzeyine yerleşmiş olarak bulunurlar. Aktivasyon sinyali olarak;

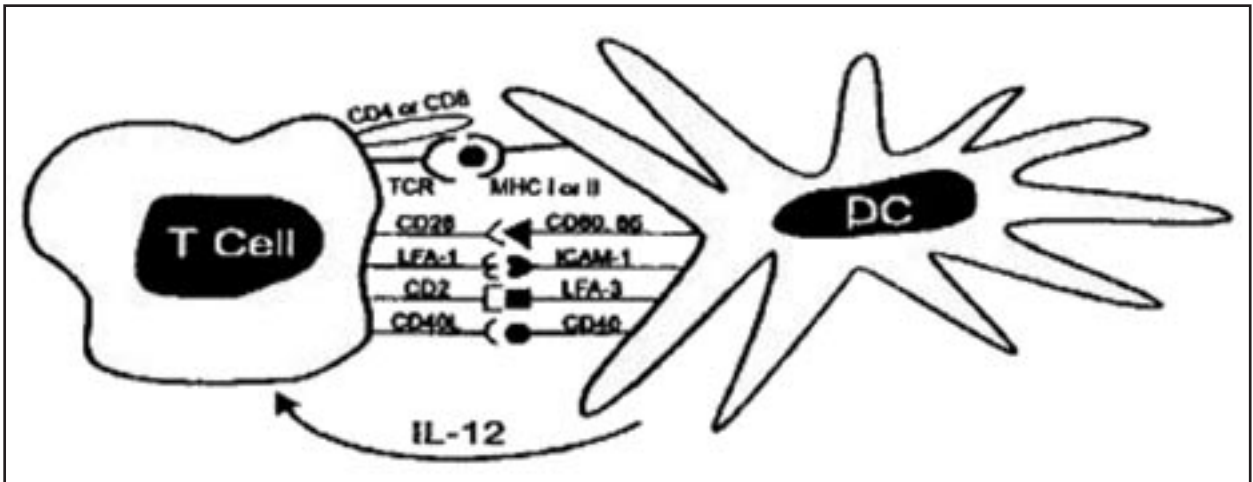
1. Patojenler: E.Coli, C. Albicans, mycobakteriler gibi bakterilerin hücre duvarında bulunan lipopolisakkaritler Toll like reseptörler (TLR) 2 ve 4'ü etkileyerek DH'yi aktive ederler.
2. İnfeksiyon veya doku hasarı sonucu ölü veya hasarlı hücrelerden salınan faktörler DH'yi aktive ederler. Ayrıca apoptotik tümör hücreleriyle karşılaşan DH'ler matürasyona giderler. Bu matürasyonda otokrin veya parakrin tarzda IL-1 β ve TNF- α etkilidir ve CD36, $\alpha\beta$ 5 integrin ile oluştuğu belirtilmektedir.

Sonuç olarak *in vivo* LPS, dsRNA, apoptotik hücre, immün kompleksler, CpG DNA, TNF- α ve prostaglandin E2 gibi eksojen uyarılarla DH matürasyonunun geliştiği gözlenmektedir.

Periferde bulunan DH'ler fagositoz, makropinositoz ve reseptör aracılı endositoz ile antijenleri alırlar. Makropinositoz yoluyla alınan ekstrasellüler sıvı su kanallarının bir üyesi olan quaporinler aracılığıyla konsantre hale getirilir. DH'deki en bol antijen reseptörü glikosile antijenleri tanıyan c-tipe lektin ailesinden olanlardır. Ayrıca immün kompleksleri almak için Fc reseptörleri ve gp96, hsp70 gibi heat shock proteinlerini için spesifik reseptörlerde içerirler. Gerek makropinositoz gerekse reseptör aracılı endositoz ile oldukça düşük konsantrasyonda antijen alımı gerçekleşmektedir. Bunun yanında DH matürasyonundan sonra birçok reseptör azalırken, reseptör aracılı endositozda azalma olmadığı gözlenmiştir.

Matürasyon safhasında DH periferik dokudan sekonder lenfoid yapılara doğru harekete başlar ve orada T hücreleri uyaran matür DH'lere dönüşür. Matürasyon sürecinde MHC molekülleri endositik kompartmandan hücre yüzeyine doğru çıkmaya başlar, antijenlerin ve patojenlerin hücre içine alınmasında selektif bir azalma ve T hücreleri için hücre yüzeyindeki kostimülasyon moleküllerinde bir artış izlenir.

Antijen veya yabancı cisim yakalandığında ya eksojen ve endosomal yolla ya da endojen ve proteosomal yolla işleme tabi tutulurlar. Bu işlemlerin nasıl gerçekleştiğine baktığımızda;



Şekil 1. DH T lenfosit etkileşimi

- DH'ler diğer antijen sunan hücreler gibi eksojen ve ekstrasellüler antijenleri fagositoz veya reseptör aracılı endositoz yolu ile içine aldıktan sonra bu antijenleri endozomlar içinde parçalarlar. Takiben yeni sentezlenen MHC klas II molekülleri ile membranda eksprese ederek CD4+ T lenfositlere sunarlar.
- Antijen sunan hücreler endojen ve intrasellüler antijenleri kendi sitozollerinde parçaladıktan sonra yeni sentezledikleri MHC klas I molekülleri ile hücre membranından CD8+ T lenfositlere sunarken, DH'ler bu hücrelerden farklı olarak eksojen ve ekstrasellüler antijenleride bu yolla CD8+ T lenfositlere sunabilmektedirler. Buda eksojen ve ekstrasellüler antijenlere karşı direkt CD8 sitotoksik yanıtı neden olmaktadır. Dolayısıyla DH'lerin bu fonksiyonu, eksojen antijenlere karşı klasik antijen sunumundan farklı olarak CD4+ T lenfosit yardımı olmaksızın direkt CD8+ T lenfosit uyarımı yapabildiği anlamına gelmektedir.

Bir tane DH fazla miktarda kostimulan moleküller taşıdığından 100-3000 kadar T lenfositini uyarabilir, bundan dolayı diğer antijen sunan hücrelere göre 100 kat daha fazla antijen sunumu sağlayabilmektedir. DH'lerin yüzeylerinde bulunan CD58 (LFA-3), CD54 (ICAM-1), CD50 (ICAM-3), CD102 (ICAM-2), CD80 (B7-1), CD86 (B7-2) gibi adezyon ve kostimulan moleküller ile T lenfositlerinde bulunan CD2 ve CD28 gibi moleküller ilişkiye girerek primer immün yanıtın başlaması için gerekli sekonder sinyalleri oluştururlar (Şekil 1).

DH'ler aynı zamanda interferon-alfa, IL-1, IL-6, IL-7, IL-12 ve IL-15 sekrete ederek primer immün cevapta etkili olmaktadır. Monositlerden gelişen DH'lerin IL-12 ile T helper (Th)1 ve IL-10 ile Th2 sitokin yanıtı oluşturduğu gözlenmiştir. IL-12 INF- γ sekresyonunu artırıp T lenfositleri Th1 fenotipine yönlendirerek T ve NK lenfositlerin sitotoksik etkilerini artırır. IL-12 üretiminin tümörlerden salınan çeşitli maddeler, PGE₂, IL-10, INF- α , nitrik oksit, TGF- β gibi sitokinlerle inhibe olduğu görülmektedir. IL-10 ise kostimulan moleküllerin ekspresyonunu azaltıp IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α ve GM-CSF gibi inflamatuvar sitokinleri baskılayarak Th yanıtı Th2'ye yönlendirmekte böylece DH maturasyonunu inhibe etmektedir.

2. İmmün toleransın oluşumu ve devamu

Spesifik bir antijene karşı immün sistemin yanıt oluşturamamasına tolerans denilmektedir. Bu olay iki şekilde oluşmaktadır.

a. Santral tolerans:

Santral tolerans T lenfositlerde timusta, B lenfositlerde ise kemik iliğinde oluşmaktadır. T lenfositlerinde santral toleransı oluşturan primer mekanizma T hücre ölümünün gerçekleşmesidir. Matür DH'ler timusta bol miktarda bulunup, burada yeni üretilmiş T lenfositleri fonksiyonel CD8+ ve CD4+ hücreler olarak eğitirken aynı zamanda kendi vücuduna karşı geliştirebilecekleri immüniteyi engellemek için onları seleksiyona tabi tutarlar. Dolayısıyla kendi antijenlerine karşı düşük affiniteye sahip T lenfositleri seçip, perifere çıkmasına ve yaşamasına olanak sağlarlar. DH'nin taşıdığı proteinlerle (self antijen) etkileşime giren

T lenfositler timusta negatif seleksiyonla ortadan kaldırılır. Bu işlemlerin sonunda MHC peptitlerini çok iyi tanıyan ancak self antijenlere duyarız T lenfositler oluşmaktadır. Bu negatif seleksiyon işleminde timusta mevcut olan epitelyal hücreler rol oynamaktadır.

b. Periferik tolerans:

T lenfositlerindeki periferik tolerans T lenfosit ölümü, anergi ve regülatör T lenfositlerin supresyonuyla gerçekleşir. Th2 tipi DH IL-10 üreterek T lenfositlerde apoptosis'e yol açarken aynı zamanda bu sitokin regülatör Th2-Th3 T lenfositlerin oluşumunda neden olmaktadır. Ayrıca DH'ler T lenfositlerde anerjiye yol açarak toleransı etkilerler. Periferik toleransta kostimulan molekülleri eksik olan immatür karakterdeki DH'ler etkili olmaktadır.

3. B lenfosit uyarımı:

DH'ler lenf nodunun T lenfosit alanlarında ve germinal merkezde B lenfositlerin uyarımını sağlayabilirler. DH'ler B lenfositlerin aktivasyon ve differansiasyonunda önemli rol oynayan çeşitli sitokin ve faktörler salgılayabilmektedirler. Lenf nodunun germinal merkezinde bulunan folliküler DH'ler B lenfositlerin belleğinin gelişiminde önemli rol oynarlar. Folliküler DH'ler yabancı cisme karşı başlangıç antikor cevapta etkili olmayıp, antikor cevabı geliştikten sonra çok sayıda antijen antikor kompleksleri oluşturmaktadırlar. Folliküler DH'lerin antikorlar için depo ve B lenfosit uyarımının devamını sağlayan kaynak olarak görev yaptığının inanılır. Bu B lenfositler antijeni folliküler DH'den alıp T lenfositlere sunabilirler. Folliküler DH'lerdeki antijen antikor kompleks deposunun aylar hatta yıllarca sürebilen uzun bir süreçte tüketilebileceği sanılmaktadır.

Kaynaklar

1. Avigan D. Dendritic cells: development, function and potential use for cancer immunotherapy. *Blood Rev.* 1999 Mar;13(1):51-64.
2. Satthaporn S, Eremin O. Dendritic cells (I): Biological functions. *JR Coll Surg Edinb.* 2001 Feb;46(1):9-19.
3. Rescigno M, Granucci F, Ricciardi-Castagnoli P. Dendritic cells at the end of the millennium. *Immunol Cell Biol.* 1999 Oct;77(5):404-10.
4. Thery C, Amigorena S. The cell biology of antigen presentation in dendritic cells. *Curr Opin Immunol.* 2001 Feb;13(1):45-51.
5. Makala LH, Nagasawa H. Dendritic cells: a specialized complex system of antigen presenting cells. *J Vet Med Sci.* 2002 Mar;64(3):181-93.
6. Di Nicola M, Lemoli RM. Dendritic cells: specialized antigen presenting cells. *Haematologica.* 2000 Feb;85(2):202-7.
7. Yao V, Platell C, Hall JC. Dendritic cells. *ANZ J Surg.* 2002 Jul;72(7):501-6.
8. McColl SR. Chemokines and dendritic cells: a crucial alliance. *Immunol Cell Biol.* 2002 Oct;80(5):489-96.
9. Clark GJ, Angel N, Kato M, Lopez JA, MacDonald K, Vuckovic S, Hart DN. The role of dendritic cells in the innate immune system. *Microbes Infect.* 2000 Mar;2(3):257-72.
10. Knight SC, Burke F, Bedford PA. Dendritic cells, antigen distribution and the initiation of primary immune responses to self and non-self antigens. *Semin Cancer Biol.* 2002 Aug;12(4):301-8.
11. Ardavin C, Martinez del Hoyo G, Martin P, Anjuere F, Arias CF, Marin AR, Ruiz S, Parrillas V, Hernandez H. Origin and differentiation of dendritic cells. *Trends Immunol.* 2001 Dec;22(12):691-700.
12. Schuler G, Schuler-Thurner B, Steinman RM. The use of dendritic cells in cancer immunotherapy. *Curr Opin Immunol.* 2003 Apr;15(2):138-47.
13. Whiteside TL, Odoux C. Dendritic cell biology and cancer therapy. *Cancer Immunol Immunother.* 2004 Mar;53(3):240-8. Epub 2003 Dec 18. Review.
14. Paczesny S, Ueno H, Fay J, Banchereau J, Palucka AK. Dendritic cells as vectors for immunotherapy of cancer. *Semin Cancer Biol.* 2003 Dec;13(6):439-47. Review.
15. Chain BM. Current issues in antigen presentation--focus on the dendritic cell. *Immunol Lett.* 2003 Oct 31;89(2-3):237-41. Review.
16. Brenner M, Rossig C, Sili U, Young JW, Goulmy E. Transfusion Medicine: New Clinical Applications of Cellular Immunotherapy. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program).* 2000:356-375.
17. Ovali E, Ratip S, Kibaroglu A, Tekelioglu Y, Cetiner M, Karti S, Aydin F, Bayik M, Akoglu T. Role of hepatocyte growth factor in the development of dendritic cells from CD34+ bone marrow cells. *Haematologica.* 2000 May;85(5):464-9.
18. Monosit kökenli dendritik hücre gelişiminde hepatosit growth faktör'ün rolü. *Hematoloji uzmanlık tezi Dr. Mehmet Sönmez . KTÜ Tıp Fakültesi.*