

SYMPOZJUM – STWARDNIENIE ROZSIANE

Bartosz Bielecki¹, Izabela Jatczak^{1,2}, Andrzej Głąbiński^{1,2}

Received: 30.06.2008

Accepted: 30.06.2008

Published: 30.09.2008

Chemokiny i ich receptory w doświadczalnym autoimmunizacyjnym zapaleniu OUN

Chemokines and their receptors in experimental autoimmune inflammation in the CNS

¹ Klinika Neurologii i Epileptologii z Oddziałem Udarowym, Uniwersytet Medyczny w Łodzi² Oddział Kliniczny Propedeutyki Neurologicznej z Pododdziałem Udarowym, Uniwersytet Medyczny w ŁodziAdres do korespondencji: Prof. dr hab. n. med. Andrzej Głąbiński, Oddział Kliniczny Propedeutyki Neurologicznej z Pododdziałem Udarowym, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Pabianicka 62, 93-513 Łódź, e-mail: aglabinski@poczta.onet.pl
Praca finansowana z grantu promotorskiego MNiSW nr N401 037 32/0867**Streszczenie**

Chemokiny są zasadowymi białkami o małej masie cząsteczkowej, wahającej się w granicach 6-14 kDa. Ze względu na właściwości fizjologiczne chemokiny dzieli się na limfoidalne (konstitutywne lub homeostatyczne) oraz prozapalne (indukowane). Do chemokin limfoidalnych zaliczamy m.in. chemokiny CCL19, CCL21, CCL25, CCL27, CXCL12 i CXCL13, które ulegają konstytutywnej ekspresji w określonych mikrośrodowiskach narządów limfatycznych oraz tkanek obwodowych. Chemokiny prozapalne, m.in. CCL1, CCL2, CCL11, CCL17 i CCL22, których ekspresja indukowana jest przez inne cytokiny prozapalne, takie jak IL-1 β lub TNF, pojawiają się głównie w przebiegu reakcji zapalnej. Chemokiny oddziałują na komórki docelowe poprzez rodopsynopodobne receptory związane z białkiem G. Pierwotną funkcją chemokin jest stymulowanie ukierunkowanej migracji różnych rodzajów komórek. Ponadto cząsteczki te regulują proces zapalenia i różnicowanie komórek immunologicznych. Fizjologicznie chemokiny ulegające konstytutywnej ekspresji w obrębie ośrodkowego układu nerwowego (OUN) mogą pełnić rolę w inicjacji migracji multipotencjalnych komórek progenitorowych i neuronów w trakcie rozwoju mózgu oraz mogą funkcjonować jako czynniki troficzne dla neuronów. Wykazano ścisłą zależność pomiędzy ekspresją chemokin i napływem komórek zapalnych do OUN podczas rozwoju modelu doświadczalnego stwardnienia rozsianego (SM) – doświadczalnego autoimmunizacyjnego zapalenia mózgu i rdzenia kręgowego (*experimental autoimmune encephalomyelitis*, EAE). W OUN zwierząt z EAE wykazano podwyższoną ekspresję mRNA kodującego chemokiny CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7 i CXCL10 oraz receptory chemokinowe CCR2, CCR5, CCR8, CXCR2, CXCR3, CXCR4 i CX3CR1. Wyniki te sugerują, że chemokiny i ich receptory mogą odgrywać istotną rolę w rozwoju autoimmunizacyjnego zapalenia w OUN, w tym również i w przebiegu SM.

SŁOWA KLUCZOWE: doświadczalne autoimmunizacyjne zapalenie mózgu, stwardnienie rozsiane, chemokiny, receptory chemokinowe, autoimmunizacja

Summary

Chemokines are a family of small alkaline proteins with molecular weight of 6 to 14 kDa. Depending on physiological activities they can be divided into two groups, homeostatic (constitutive) and inflammatory. Homeo-

static chemokines (e.g., CCL19, CCL21, CCL25, CCL27, CXCL12 and CXCL13) are usually constitutively expressed in the specific microenvironments of lymphoid organs and peripheral tissues. In contrast, inflammatory chemokines (e.g., CCL1, CCL2, CCL11, CCL17 and CCL22) are involved in development of inflammation. Their expression is induced by another inflammatory cytokines such as IL-1 β or TNF. Chemokines act on various types of target cells through rhodopsin like G protein-coupled receptors. The main function of chemokines is induction of directed chemotaxis of different types of target cells. Moreover, they regulate inflammatory process and differentiation of immunological cells. Physiologically, chemokines constitutively expressed in the central nervous system (CNS) can initiate multipotential progenitor cells and neurons migration during the development of the brain as well as they can act as a trophic factors for neurons. The close correlation between the expression of chemokines and the influx of inflammatory cells to the CNS during an animal model of multiple sclerosis (MS) – experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) was observed. The mRNA expression of chemokines CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7 and CXCL10 as well as chemokine receptors CCR2, CCR5, CCR8, CXCR2, CXCR3, CXCR4 and CX3CR1 in the CNS of animals with EAE was increased. These data suggest that chemokines and their receptors may be involved in the pathogenesis of autoimmune neuroinflammation, including MS.

KEY WORDS: experimental autoimmune brain inflammation, multiple sclerosis, chemokines, chemokine receptors, autoimmunity

BUDOWA I KLASYFIKACJA CHEMOKIN

Chemokiny są zasadowymi białkami zbudowanymi z 70-125 aminokwasów o masie cząsteczkowej wahającej się w granicach 6-14 kDa⁽¹⁾. Większość z nich jest wydzielana poza obręb komórki, chociaż są i takie, które ulegają ekspresji na powierzchni komórki, m.in. fraktalkina⁽²⁾. Identyfikacja chemokin pod względem sekwencji jest niewielka⁽³⁾, ale jeśli weźmiemy pod uwagę ich trzeciorzędową strukturę, to obserwuje się duże podobieństwo⁽⁴⁾. Większość chemokin zawiera co najmniej cztery cysteiny, które tworzą dwa mostki dwusiarczkowe – jeden pomiędzy pierwszą i trzecią, a drugi pomiędzy drugą i czwartą resztą cysteinową. Ze względu na liczbę cystein oraz liczbę aminokwasów pomiędzy dwiema pierwszymi cysteinami wyróżniono cztery podrodziny chemokin: C (γ), CC (β), CXC (α) i CX3C (δ). W chemokinach podrodziny CC cysteiny te przylegają do siebie, w CXC oddzielone są od siebie przez jeden aminokwas, a w grupie chemokin CX3C – przez trzy aminokwasy. W chemokinach z podrodziny C brakuje pierwszej i trzeciej cysteiny. Dotychczas poznano tylko dwie chemokiny C – limfotaktynę α i limfotaktynę β – oraz jedną chemokiny CXC3C – fraktalkinę (neurotaktynę). Chemokiny CXC oddziałują głównie na neutrofile i limfocyty, a chemokiny CC na limfocyty, monocyty, komórki tuczne i eozynofile.

W każdej chemokinie można wyróżnić dwa regiony, które oddziałują z receptorem. Są nimi odsłonięta pętla pomiędzy drugą i trzecią cysteiną oraz końcowa reszta NH₂, o dużej zmienności występująca przed pierwszą cysteiną. Uważa się, że odsłonięta pętla odgrywa niewielką rolę podczas wiązania chemokiny do receptora ze względu na jej niskie powinowactwo do niego.

Natomiast reszta NH₂ bierze udział w przekazywaniu sygnału do wnętrza komórki w czasie ligacji. Z kolei długość i skład aminokwasów końcowego odcinka cząsteczki zakończonego resztą NH₂ określa stopień jej powinowactwa do receptora⁽⁴⁾.

Chemokiny CXC są dalej klasyfikowane ze względu na obecność trójaminokwasowego motywu, w skład którego wchodzi: kwas glutaminowy – leucyna – arginina (ELR). Motyw ten występuje w okolicach regionu zakończonego resztą NH₂. Chemokiny z motywem ELR przyciągają komórki mieloidalne, a chemokiny bez tego motywu przyciągają różne rodzaje leukocytów.

Ze względu na właściwości fizjologiczne chemokiny można klasyfikować jako limfoidalne (konstytutywne lub homeostatyczne) i prozapalne (indukowane). Cechą charakterystyczną reakcji zapalnych jest ekspresja dużej ilości chemokin i receptorów chemokinowych, które sterują ruchem i aktywacją leukocytów w przeciwieństwie do procesów fizjologicznych sterowanych przez chemokiny homeostatyczne, które są stale wydzielane. Chemokiny, których geny występują blisko siebie na danym chromosomie, przyłączają się do tych samych lub podobnych receptorów. Geny dla wielu prozapalnych (indukowanych) chemokin z podrodziny CC występują na ludzkim chromosomie 17. Z kolei wszystkie geny kodujące chemokiny CXC mające motyw ELR zajmują chromosom 4. Geny dla CCL19 i CCL21 zlokalizowane są na chromosomie 9., a DNA kodujące CCL17 i CCL22 znajdują się na chromosomie 16.⁽⁵⁾

Do chemokin limfoidalnych zaliczamy chemokiny: CCL19, CCL21, CCL25, CCL27, CXCL12 i CXCL13. Chemokiny te ulegają konstytutywnej ekspresji w określonych mikrośrodkach narządów limfatycznych oraz tkanek obwodowych. Regulują one krążenie różnych populacji limfocytów, uczestniczą w przemieszcza-

niu się dojrzewających tymocytów do odpowiednich regionów grasicy (np. z kory do rdzenia), sterując migracją komórek dendrytycznych z tkanek obwodowych do obwodowych narządów limfatycznych. Chemokiny prozapalne pojawiają się natomiast głównie w trakcie reakcji zapalnych. Ekspresja kodujących je genów indukowana jest przez inne cytokiny prozapalne, takie jak IL-1 β lub TNF. W reakcji Th1-zależnej limfocyty Th1 produkują m.in. cytokiny IL-2 i IFN- γ , które stymulują oddziaływanie między makrofagami i neutrofilami. Odpowiedź Th2 towarzyszy reakcji alergicznej, w którą zaangażowane są eozynofile, komórki tuczne, bazofile i limfocyty Th2 produkujące m.in. IL-4 i IL-13⁽⁶⁾. Cytokiny te indukują ekspresję chemokin CCL1, CCL2, CCL11, CCL17 i CCL22. IL-4 i IFN- γ mogą działać antagonistycznie i znosić indukcję niektórych chemokin⁽⁷⁾.

RECEPTORY CHEMOKINOWE – BUDOWA I RODZAJE

Chemokiny oddziałują na komórki docelowe poprzez różniące się swoistością rodopsynopodobne receptory związane z białkiem G_i, przenikające siedmiokrotnie błonę komórkową. Struktura receptorów chemokinowych jest wciąż poznawana, chociaż ich międzybłonowe domeny wydają się bardzo podobne do rodopsyny⁽⁸⁾. Receptory chemokinowe zbudowane są z 340-370 aminokwasów i wykazują 25-80% wzajemnego podobieństwa pod względem składu aminokwasowego. Charakterystyczne są dla nich: obecność końcowej grupy NH₂, konserwatywna sekwencja dziesięciu aminokwasów w drugiej wewnątrzkomórkowej pętli oraz obecność jednej cysteiny w każdej z czterech pozakomórkowych domen⁽⁵⁾. Niektóre receptory chemokinowe występują w postaci homodimerów, np. CCR2⁽⁹⁾, a także heterodimerów, np. CCR2-CCR5, co jest możliwe dzięki podobieństwu sekwencji tych receptorów⁽¹⁰⁾. Miejsce na receptorze, do którego przyłączają się chemokiny, jest złożonym kompleksem, w skład którego wchodzi m.in. odcinek zawierający resztę NH₂⁽⁵⁾.

Niektóre chemokiny są ligandami tylko jednego receptora i *vice versa*, np. CXCR4 wiąże tylko CXCL12⁽¹¹⁾, CXCR5 łączy się tylko z CXCL13⁽¹²⁾, a CCR6 z CCL20⁽¹³⁾. Inne receptory chemokinowe mogą łączyć dwie lub trzy chemokiny, np. CCR7 wiąże CCL19 i CCL21⁽¹⁴⁾, CXCR3 rozpoznaje CXCL9, CXCL10 i CXCL11⁽¹⁵⁾, a CCR4 łączy się z CCL1 i CCL17⁽¹⁶⁾. Znaczna grupa receptorów chemokinowych może oddziaływać z wieloma chemokinami. Należy do nich np. CCR3, który rozpoznaje CCL5, CCL7, CCL8, CCL11, CCL13, CCL24 i CCL26⁽¹⁷⁾. Podobnie chemokina CCL5 może oddziaływać m.in. z receptorami CCR1, CCR3 i CCR5⁽⁵⁾.

Receptory chemokinowe występują na różnych typach komórek. Receptor CXCR4 jest bardzo szeroko rozpowszechniony i obecny m.in. na limfocytach T i B, monocytach, neutrofilach czy komórkach dendrytycznych

pochodzących z krwi. Receptory CXCR1 i CXCR2 występują na większości populacji leukocytów, choć są najważniejsze dla neutrofilów, monocytów/makrofagów i komórek tucznych^(5,18). Receptory CXCR3, CXCR5 i CXCR6 ulegają ekspresji głównie na komórkach linii limfoidalnej⁽¹⁹⁾. Z kolei receptory CCR1, CCR2 i CCR4-CCR10 ulegają ekspresji przede wszystkim na limfocytach, monocytach i komórkach dendrytycznych pochodzenia monocytarnego⁽⁵⁾. Receptor CCR3 znaleziono na eozynofilach, komórkach tucznych, bazoofilach, limfocytach Th2 i określonej subpopulacji komórek dendrytycznych^(20,21).

FUNKCJE CHEMOKIN

Nazwa „chemokiny” pochodzi od angielskich słów *chemoattractant cytokines* – cytokiny chemotaktyczne i nawiązuje do ich pierwotnej i najwcześniej opisanej funkcji, jaką jest stymulowanie ukierunkowanej migracji różnych typów komórek. Ponadto chemokiny regulują proces zapalenia i różnicowanie komórek immunologicznych. Rola chemokin w przemieszczaniu się naiwnych limfocytów T do drugorzędowych organów limfatycznych jest prawdopodobnie najlepiej poznanym procesem. Zakres informacji na temat udziału chemokin w rozwoju zapalenia, astmy czy chorób neurologicznych ciągle się powiększa.

Chemotaktyczne właściwości chemokin pierwszy raz zademonstrowano dla neutrofilów, które *in vitro* migrowały w kierunku IL-8⁽²²⁾. Później okazało się, że białka G wrażliwe na toksynę krztuśca też są zaangażowane w ten proces⁽²³⁾. Niedługo po tym doniesieniu odkryto, że niektóre chemokiny wydzielane w miejscu zapalenia umożliwiają rekrutację leukocytów do różnych tkanek^(24,25).

Określona ekspresja, regulacja i sposób wiązania receptora zapewniają funkcjonalną różnorodność chemokin, dzięki czemu mogą one odgrywać rolę w tak różnych procesach, jak angiogeneza⁽²⁶⁾, hematopoeza⁽¹⁾, komunikacja neuronów z mikroglejem⁽²⁷⁾, ruch leukocytów⁽²⁸⁾, a także pośredniczyć w odpowiedzi przeciwnowotworowej^(29,30) i mechanizmach odrzucania przeszczepów^(31,32).

Wiele chemokin powstało stosunkowo niedawno w toku ewolucji, co przyczyniło się do bardzo dużej różnorodności chemokin i receptorów chemokinowych wśród różnych gatunków. Obecnie znanych jest około 50 chemokin zidentyfikowanych u ssaków, w szczególności u ludzi i myszy^(5,33) (<http://cytokine.medic.kumamoto-u.ac.jp/CFC/CK/Chemokine.html>), oraz około 20 receptorów chemokinowych. Dlatego też nie wszystkie chemokiny mają swoje ortologi u różnych organizmów. Przykładowo u myszy nie ma IL-8, która jest niezwykle silnym i istotnym chemoatraktantem dla granulocytów człowieka⁽³⁴⁾. Podobnie CXCR1 odgrywa ważną rolę w rekrutacji neutrofilów u ludzi, podczas gdy nie ma ortologa tego receptora u myszy. Jest natomiast u szczurów, ale występuje na makrofagach, a nie na neutrofilach⁽⁵⁾.

ROLA CHEMOKIN I RECEPTORÓW CHEMOKINOWYCH W PROCESACH FIZJOLOGICZNYCH ZACHODZĄCYCH W OBRĘBIE OUN

Fizjologiczna rola chemokin ulegających konstytutywnej ekspresji w obrębie OUN pozostaje w znacznej mierze nieznana i jest obecnie obiektem intensywnych badań. Jedną z hipotez dopatruje się roli tych białek w inicjacji migracji multipotencjalnych komórek progenitorowych oraz neuronów w trakcie rozwoju mózgu. Istotną wydaje się także rola chemokin jako czynników troficznych dla neuronów. Wykazano w badaniach *in vitro* na mysich embrionalnych komórkach nerwowych splotów korzeni grzbietowych (DRG), że CCL5 (RANTES) wywołuje migrację tych komórek oraz różnicowanie w kierunku fenotypu nocyreceptorów⁽³⁵⁾. Inną chemokiną wykazującą właściwości chemotaktyczne dla neuronów jest CXCL12 (SDF-1), która wywołuje migrację ludzkich komórek nerwowych oraz szczurzych progenitorów neuronów E15 *in vitro*⁽³⁶⁾. Inne publikacje wykazują zdolność CXCL12 do indukcji migracji neuronów warstwy ziarnistej mózdzku oraz mysich prekursorów komórek warstwy ziarnistej mózdzku^(37,38). Powyższe wyniki badań przeprowadzonych w warunkach *in vitro* znacznie rozszerzono dzięki doświadczeniom na zwierzętach z wyłączeniem (*knock-out*) genów dla chemokiny CXCL12 oraz jej receptora CXCR4. U płodów tych zwierząt obserwowano znaczne nieprawidłowości w budowie mózdzku w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej. Nieprawidłowości te dotyczyły przede wszystkim przedwczesnej migracji komórek zewnętrznej warstwy ziarnistej (EGL) do komórek wewnętrznej warstwy ziarnistej E17, która jest zjawiskiem fizjologicznym występującym już po urodzeniu. Obserwowano także znaczny stopień zaburzenia rozwojowe polegające m.in. na braku widocznych cech uwarstwienia mózdzku^(26,39,40). Sugerowany mechanizm opisanych zaburzeń wynika z roli, jaką CXCL12 odgrywa w migracji prekursorów zarówno neuronów, jak i oligodendrocytów⁽⁴¹⁾. Mniej informacji posiadamy na temat migracji astrocytów pod wpływem stymulacji chemokinami. Wykazano *in vitro*, że komórki te migrują po podaniu CCL2, CXCL1 (mKC), CCL1 (mTCA-3) oraz CCL3⁽⁴²⁾. Kolejne publikacje udowodniły, że mysie astrocyty migrują w obecności CCL3, jednak nie wykazują wrażliwości na działanie CCL4 i CXCL12^(37,43).

Chemokiny odgrywają w OUN również inną istotną rolę, która nie jest związana z indukcją migracji. Rola ta polega na modulacji aktywności synaptycznej. Opublikowano dane o istotnym wpływie CXCL8 oraz CXCL1 i CXCL2 (GRO β) na modulację przewodności synaptycznej oraz długofalową plastyczność synaptyczną neuronów w obrębie mózdzku⁽⁴⁴⁾. Wpływ na plastyczność synaptyczną neuronów w obrębie mózdzku wykazano także dla receptora CXCR4 i jego ligandu

CXCL12⁽⁴⁵⁾. Aktywacja receptorów chemokinowych może mieć również wpływ na przewodność pomiędzy pobudzonymi neuronami hipokampa. Złuszczka CCL22 (mMDC) oraz rozpuszczalna forma CX₃CL1 blokowały spontaniczne glutaminergiczne wyładowania postsynaptyczne w obrębie tych neuronów. Jakkolwiek mechanizm odpowiedzialny za opisywane zjawisko pozostaje nieznany, to jednak wykazano, że fraktalkina (z wyjątkiem CCL22) hamowała zależny od potencjału przepływ jonów wapnia w tych komórkach⁽⁴⁶⁾.

Znane są doniesienia na temat wpływu chemokin na proliferację komórek, m.in. hepatocytów, keratynocytów i komórek *epithelium*⁽⁴⁷⁾. Wykazano wpływ chemokin z grupy CXC (posiadających motyw ELR) na regenerację wątroby uszkodzonej pod wpływem leków⁽⁴⁸⁾. W przypadku OUN takie efekty wykazano dla CXCL1, który jest silnym promotorem proliferacji prekursorów oligodendrocytów. Zaobserwowano znaczący wzrost proliferacji tych komórek w obrębie rdzenia kręgowego po wcześniejszej aktywacji PDGF u mysich mutantów *Jimp*⁽⁴⁹⁾. Obserwowano także zależny od dawki wzrost proliferacji szczurzych astrocytów w hodowli poprzez aktywację kinaz MAP i PI3K⁽⁵⁰⁾.

CHEMOKINY W DOŚWIADCZALNYM AUTOIMMUNIZACYJNYM ZAPALENIU OUN

W przebiegu doświadczalnego autoimmunizacyjnego zapalenia mózgu i rdzenia kręgowego (EAE) po wstępnym rozpoznaniu antygeny i inicjacji odpowiedzi immunologicznej dochodzi do migracji komórek zapalnych (limfocytów, makrofagów, neutrofilów, eozynofiliów) w obrębie OUN. Jednymi z głównych mediatorów tego procesu są chemokiny. Odgrywają one także rolę w kostymulacji i w przewodnictwie wewnątrzkomórkowym w limfocytach T oraz uczestniczą w różnicowaniu wydzielania cytokin przez te komórki. Szereg badań przeprowadzonych do chwili obecnej wykazało ścisłą zależność pomiędzy ekspresją chemokin na poziomie mRNA i wpływem komórek zapalnych w obrębie OUN podczas EAE. Związek pomiędzy ekspresją chemokin a procesem zapalnym przebiegającym w OUN zasugerowały wyniki publikacji, w której stwierdzono ekspresję mRNA dla CCL2 i CXCL1 OUN w trakcie EAE wywołanego u szczurów⁽⁵¹⁾, a także CCL2 i CXCL10 w EAE wywołanym u myszy⁽⁵²⁾. W innych badaniach poddano ocenie poziom chemokin CCL5 (RANTES), CCL2 (MCP-1), CCL3 (MIP-1 α), CCL4 (MIP-1 β) w EAE. Autorzy zaobserwowali, że mRNA kodujące ww. chemokiny, jak również CCL7 (MCP-3), CCL1 (TCA-3), CXCL10 (IP-10) oraz CXCL1 (GRO α) ulegają ekspresji w obrębie rdzenia kręgowego zwierząt z EAE mniej więcej 1-2 dni przed wystąpieniem pierwszych objawów klinicznych. Ekspresja była obecna, aczkolwiek na niższym poziomie, także w trakcie remisji objawów. Stwier-

dzono również, że transkrypty mRNA dla chemokin CCL5, CCL3, CCL4 i CCL1 były obecne w obrębie aktywowanych encefalitogennych limfocytów T⁽⁵³⁾. W innej pracy Głabiński i wsp. wykazali ponadto, że w przypadku chemokin CCL2 i CXCL10 w przebiegu ostrego EAE wzrost ich ekspresji na poziomie mRNA zawsze korelował z obecnością komórek zapalnych w obrębie OUN. Za pomocą techniki *in situ hybridization* (ISH) autorzy wykazali, że w trakcie rzutu EAE mRNA kodujące chemokiny CCL2 i CXCL10 znajduje się w obrębie astrocytów otaczających komórki jednojądrzaste infiltrujące parenchymę OUN⁽⁵⁴⁾. Na przewlekłym – nawracającym EAE (ChREAE) wykazano również, że w okresie nasilenia objawów klinicznych dochodzi do równoczesnego wzrostu ekspresji chemokin z grupy α (CXCL1, CXCL10), które były produkowane przez astrocyty, oraz wzrostu ekspresji chemokin z grupy β (CCL2, CCL3), które były produkowane przez infiltrujące parenchymę OUN komórki zapalne⁽⁵⁵⁾. Obserwacje znajdują potwierdzenie w innej pracy odnoszącej się także do reakcji zapalnej związanej z urazem OUN⁽⁵⁶⁾. W badaniach porównawczych nad jednofazowym i przewlekle nawracającym modelem EAE u szczurów wykazano, że o ile w obu modelach w obrębie ogniska zapalnego znajduje się porównywalna liczba limfocytów T, o tyle liczba makrofagów w modelu chronicznym jest wyraźnie wyższa. Z obserwacją tą dobrze korelował fakt, że w obrębie OUN myszy z ChREAE stwierdzano większą niż w jednofazowym EAE ekspresję CCL2, również w okresie remisji objawów klinicznych. Nie wykazano różnic pomiędzy ekspresją CCL3 i CCL5 w jednofazowym i przewlekle nawracającym EAE⁽⁵⁷⁾. Badania nad ekspresją chemokin CXCL9, CXCL10 i CXCL11 w EAE wykazały, że w indukowanym aktywnie EAE (*active EAE*) transkrypty dla CXCL9, CXCL10 i CXCL11 były obecne w potylicznych węzłach chłonnych w drugim dniu po immunizacji, a ekspresja ww. chemokin wzrastała stopniowo w kolejnych dniach. W przypadku CXCL10 maksimum ekspresji przypadało na ósmy dzień, a CXCL11 na dwunasty dzień po immunizacji. W rdzeniu kręgowym obecność mRNA dla CXCL11 obserwowano około ósmego dnia po immunizacji, a jego poziom wzrastał do około dwunastego dnia. CXCL10 było obecne w ósmej dobie na poziomie wyższym niż CXCL11, ale jego ekspresja wyraźnie spadała w dwudziestej dobie po immunizacji. W przypadku biernego wywoływania EAE (*passive transfer EAE*) CXCL10 i CXCL11 były obecne już około drugiego dnia, a ich poziom wzrastał do szóstego dnia po immunizacji. Badany poziom ekspresji CXCL9 w obrębie rdzenia kręgowego w obu modelach EAE był niski. Autorzy ci badali ekspresję CXCL11 również za pomocą immunohistochemii (IHC) i wykazali, że prawdopodobnym źródłem tej chemokiny w EAE są astrocyty otaczające ogniska zapalenia⁽⁵⁸⁾. W innych badaniach z zastosowaniem techniki ISH i IHC zaobserwowano, że głównym źródłem

CCL5 były w mózgu szczurów z EAE w większości limfocyty T, które lokalizowano w przestrzeni podpajęczynówkowej około dziesiątego dnia po immunizacji, a ich liczba (a zarazem ekspresja CCL5) wzrastała w obrębie parenchymy w trakcie nasilania się objawów klinicznych choroby. W trakcie szczytu objawów klinicznych źródłem CCL5 były również astrocyty położone na marginesie lezji oraz makrofagi i komórki mikrogleju. Około dwudziestego dnia po immunizacji (stadium remisji objawów klinicznych) obserwowano częściowy spadek ekspresji CCL5, jednak nadal obecne były w obrębie OUN limfocyty T. W przypadku CCL4 głównym źródłem mRNA były również limfocyty T, które wykrywano już około dziesiątego dnia po immunizacji – były one początkowo położone w okolicy podpajęczynówkowej i w obrębie parenchymy, a w miarę nasilania się objawów klinicznych obserwowano wzrost ich liczby w przestrzeni okołonaczyniowej. Obserwowano również ekspresję mRNA dla CCL4 w obrębie makrofagów oraz astrocytów (w tym przypadku tylko w ostrej fazie choroby)⁽⁵⁹⁾. Wyniki te korelują z danymi mówiącymi, iż wzrost ekspresji CCL2 w OUN może mieć związek z remisją objawów ChREAE. Wielu interesujących informacji na ten temat dostarczyły prace oparte na metodologii umożliwiającej neutralizację chemokin za pomocą przeciwciał⁽⁶⁰⁾. Badania z użyciem modelu EAE z biernym transferem encefalitogennych komórek T wykazały, że w obu tych modelach dochodzi do wzrostu ekspresji chemokin CCL2 i CCL3 w okresie pojawienia się objawów klinicznych. Wykazano również, że w przypadku podania przeciwciał neutralizujących chemokinę CCL3 jako prewencji (tj. w dniu transferu komórek i dwa dni po podaniu – transferze) w jednofazowym EAE dochodzi do zahamowania wystąpienia objawów klinicznych oraz ograniczenia akumulacji komórek jednojądrzastych w obrębie OUN⁽⁶¹⁾. Ta sama forma podania przeciwciał neutralizujących CCL2 nie spowodowała zauważalnych zmian w przebiegu zarówno chronicznego, jak i jednofazowego EAE⁽⁶¹⁾. Kiedy ta sama grupa badaczy zastosowała przeciwciała neutralizujące CCL2 jako formę terapii EAE (po wystąpieniu objawów klinicznych), zaobserwowano redukcję nasilenia objawów klinicznych w nawracającej formie EAE (ChREAE)⁽⁶²⁾. Podobne zastosowanie przeciwciał neutralizujących CCL3 nie wpływało na przebieg kliniczny ostrego i przewlekłego EAE. Obserwacje te wskazują, że CCL3 i CCL2 są niezależnie regulowane w obrębie OUN w zależności od fazy EAE (ostra lub przewlekła). W modelu z biernym transferem EAE ekspresja CCL5 pozostaje na niskim poziomie, z wyłączeniem ostrej fazy choroby. Dowodzi to, że na ekspresję CCL5 może mieć wpływ również metoda indukcji EAE. CXCL16 – jeden z dwóch przedstawicieli chemokin ulegających ekspresji na powierzchni komórki – ulega ekspresji w obrębie rdzenia kręgowego myszy z EAE wywołanym za pomocą peptydu MOG. Wzrost ekspre-

sji CXCL16 obserwowano u tych zwierząt już 2-6 dni po immunizacji, wyraźny wzrost natomiast około czternastego dnia po immunizacji. Oznacza to, że wzrost ekspresji poprzedzał pojawienie się pierwszych objawów klinicznych EAE. Przeciwciała blokujące CXCL16, które podawano przed pojawieniem się objawów klinicznych, wyraźnie hamowało indukcję zarówno EAE wywołanego przez transfer komórek encefalitogennych, jak i wywołanego aktywnie poprzez szczepienie peptydem MOG. Zaobserwowano również u zwierząt, które otrzymywały przeciwciała neutralizujące CXCL16, zmniejszenie się wielkości nacieków zapalnych w OUN⁽⁶³⁾. Interesujących danych dostarczyły badania nad ekspresją chemokin „limfoidalnych” w obrębie OUN w trakcie EAE. Zaobserwowano wzrost ekspresji chemokin z tej grupy w okresie ostrych objawów klinicznych zarówno w ostrym, jak i w przewlekłym modelu EAE. CXCL13 ulegało ekspresji na poziomie mRNA w rdzeniu kręgowym i mózgu w trakcie kolejnych rzutów ChREAE. Za pomocą immunohistochemii u myszy z nawrotami objawów EAE komórki barwiące się w kierunku CXCL13 lokalizowano w obrębie okołoponowych nacieków zapalnych zawierających w dużym odsetku limfocyty B i tworzących struktury folikularne. Morfologia komórek barwiących się na CXCL13 oraz barwienia na obecność markera FDC-M1 wykazały, iż są to w większości komórki dendrytyczne⁽⁶⁴⁾. Wykazano za pomocą ISH, że w aktywnym jednofazowym EAE transkrypty dla CCL19 i CCL21 były obecne w obrębie naczyń objętych naciekami zapalnymi. Blokada *in vitro* CCL19 i CCL21 powodowała zmniejszenie adhezji encefalitogennych limfocytów T. Autorzy zaobserwowali również obecność transkryptów dla CCL19 w OUN u zdrowych myszy⁽⁶⁵⁾. Obecność konstytutywnej ekspresji CCL19 w obrębie naczyń krwionośnych OUN u zdrowych myszy potwierdziła na poziomie białka inna grupa badaczy. Ponownie zaobserwowano wyraźny wzrost ekspresji CCL19 oraz ekspresji CCL21 w czasie EAE, tym razem w modelach przewlekłych. Głównym źródłem CCL19 były w przewlekłym EAE komórki infiltrujące parenchymę OUN, a także astrocyty i komórki mikrogleju. Źródłem CCL21 były przede wszystkim komórki naczyń krwionośnych w obrębie ognisk zapalnych⁽⁶⁶⁾. Inne chemokiny z grupy „limfoidalnych” również ulegają ekspresji w trakcie EAE. W przypadku CCL20 (MIP-3 α) obserwowano wzrost ekspresji na poziomie mRNA i białka w trakcie pierwszego i kolejnych rzutów EAE w obrębie przede wszystkim rdzenia kręgowego. Źródłem CCL20 na początku choroby były przede wszystkim infiltrujące OUN leukocyty, natomiast w trakcie kolejnych rzutów głównie astrocyty⁽⁶⁷⁾. W innych badaniach zastosowanie specyficznych przeciwciał neutralizujących CCL20 powodowało redukcję objawów klinicznych oraz zmniejszenie nacieków zapalnych w obrębie OUN w trakcie EAE⁽⁶⁸⁾. Chemokina CCL22 (MDC) ulegała ekspresji na poziomie mRNA w obrębie OUN

zwierząt z EAE już w fazie poprzedzającej wystąpienie objawów klinicznych, w fazie remisji objawów klinicznych obserwowano natomiast gwałtowny spadek jej ekspresji i ponowny wzrost w trakcie kolejnego rzutu objawów. Głównym źródłem CCL22, co wykazano za pomocą immunohistochemii, były w EAE infiltrujące leukocyty, głównie makrofagi i komórki dendrytyczne, zaś w obrębie parenchymy OUN – głównie komórki mikrogleju⁽⁶⁹⁾. Ekspresję chemokin w obrębie OUN badano również w EAE, które wywoływano przy pomocy wirusa Theilera (*Theiler's murine encephalomyelitis virus*, TMEV) będącego endemicznym patogenem specyficznym dla myszy. Wykazano, że w OUN zainfekowanych myszy w okresie objawów klinicznych obecna jest ekspresja chemokin CCL2, CCL3, CCL4, CCL5 i CXCL10⁽⁷⁰⁾.

RECEPTORY CHEMOKINOWE W DOŚWIADCZALNYM AUTOIMMUNIZACYJNYM ZAPALENIU OUN

W EAE oprócz wzrostu ekspresji licznych chemokin zaobserwowano podwyższoną ekspresję także wielu receptorów chemokinowych. Przeprowadzono badania nad rolą receptora CCR1 w rozwoju EAE u myszy pozbawionych genu dla tego receptora. Wykazano, że zwierzęta te chorowały rzadziej, a objawy EAE miały mniejsze nasilenie⁽⁷¹⁾. Na podstawie tych wyników oraz własnych obserwacji wysunięto wnioski o istotnej roli CCR1 w immunopatogenezie EAE. Doprowadziło to do przeprowadzenia wstępnych prób na zwierzętach – miały one na celu zablokowanie receptora CCR1. Zaobserwowano, że szczury, u których wywołano EAE, a następnie podawano przez 5 dni drobnocząsteczkowego antagonistę CCR1, miały znacząco mniejsze nasilenie objawów klinicznych. Obserwowano również wyraźne zmniejszenie histopatologicznych cech zapalenia w obrębie OUN⁽⁷²⁾. Wykonano również badania nad ekspresją powierzchniową oraz na poziomie mRNA receptorów chemokinowych w encefalitogennych limfocytach T w modelu z biernym transferem EAE. Autorzy tej pracy zaobserwowali, że w wyizolowanych z OUN w okresie ostrych objawów klinicznych limfocytach T CD4⁺, zarówno tych przeniesionych od dawcy, jak i tych należących do „gospodarza”, obecne są transkrypty dla receptorów CCR1, CCR2, CCR3, CCR4 i CCR5. Na poziomie białka nie wykazano istotnych różnic w ekspresji pomiędzy badanymi grupami, z wyjątkiem receptora CCR1, którego ekspresja była większa w obrębie przeniesionych komórek. W tym samym czasie w śledzience na poziomie mRNA wykazano ekspresję receptorów CCR1, CCR2, CCR3, CCR4 i CCR5 na komórkach przeniesionych oraz receptorów CCR2, CCR3, CCR4 i CCR5 na komórkach „gospodarza”. Na poziomie białka stwierdzono obecność jedynie receptora CCR2 na komórkach „gospodarza”. Z kolei w trzydziestym

piątym dniu choroby zarówno pośród tych komórek, które wcześniej przeniesiono w celu wywołania modelu, jak i tych należących do „gospodarza” stwierdzano na poziomie mRNA receptory CCR2, CCR3 i CCR5 (OUN) oraz receptory CCR1, CCR2, CCR3 i CCR5 (śledziona)⁽⁷³⁾. Badania prowadzone na myszach, które zostały pozbawione genu kodującego CCR2, początkowo sugerowały, że jest to receptor kluczowy dla rozwoju EAE. W jednej publikacji autorzy zaobserwowali, że u myszy z zablokowanym genem (*knock-out*) dla CCR2 nie można wywołać EAE⁽⁷⁴⁾, w innej pracy z kolei wykazano, że u takich zwierząt rozwijają się objawy kliniczne o dużo mniejszym nasileniu⁽⁷⁵⁾. Kolejna praca, która kwestionowała metodologię poprzednich, wykazała, że *knock-out* dla CCR2 ma zauważalne, ale nie krytyczne znaczenie w rozwoju EAE zarówno pod względem klinicznym, jak i histopatologicznym⁽⁷⁶⁾. Zgodnie z oczekiwaniami udało się potwierdzić, że receptory z grupy CXC, podobnie jak ich ligandy, odgrywają bardzo istotną rolę w rozwoju EAE. Obiektem zainteresowań naukowców stały się także receptory chemokin z grupy homeostatycznych. Wykazano, że ekspresja CCR7 i CCR8 wzrasta w OUN w przebiegu przewlekłego – nawracającego EAE (ChREAE) w okresie nasilenia objawów klinicznych⁽⁷⁷⁾. W pracy tej silną ekspresję CCR7 w okresie pierwszego rzutu ChREAE stwierdzano w obrębie okołonaczyniowych ognisk zapalnych. Znaczenie ekspresji receptorów chemokinowych z grupy homeostatycznych potwierdza publikacja wskazująca, że blokowanie zarówno receptora CXCR3 należącego do grupy zapalnych, jak i CXCR4 (homeostatyczny) wpływa hamująco na rozwój EAE⁽⁷⁸⁾.

Prezentowane powyżej wyniki badań potwierdzają, że chemokiny i ich receptory odgrywają istotną rolę w patogenezie doświadczalnego autoimmunizacyjnego zapalenia OUN. Obserwacje te sugerują, że zastosowanie inhibitorów układu chemokinowego może doprowadzić do zahamowania rozwoju tego procesu, co może mieć istotne znaczenie w ewentualnej terapii chorób o podobnej patogenezie, jak np. SM.

PIŚMIENNICTWO: BIBLIOGRAPHY:

1. Kim C.H., Broxmeyer H.E.: Chemokines: signal lamps for trafficking of T and B cells for development and effector function. *J. Leukoc. Biol.* 1999; 65: 6-15.
2. Imai T., Hieshima K., Haskell C. i wsp.: Identification and molecular characterization of fractalkine receptor CX3CR1, which mediates both leukocyte migration and adhesion. *Cell* 1997; 91: 521-530.
3. Bonecchi R., Polentarutti N., Luini W. i wsp.: Up-regulation of CCR1 and CCR3 and induction of chemotaxis to CC chemokines by IFN- γ in human neutrophils. *J. Immunol.* 1999; 162: 474-479.

4. Weber M., Ugucioni M., Ochensberger B. i wsp.: Monocyte chemotactic protein MCP-2 activates human basophil and eosinophil leukocytes similar to MCP-3. *J. Immunol.* 1995; 154: 4166-4172.
5. Murphy P.M., Baggiolini M., Charo I.F. i wsp.: International union of pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. *Pharmacol. Rev.* 2000; 52: 145-176.
6. von Andrian U.H., Mackay C.R.: T-cell function and migration. Two sides of the same coin. *N. Engl. J. Med.* 2000; 343: 1020-1034.
7. Bonecchi R., Sozzani S., Stine J.T. i wsp.: Divergent effects of interleukin-4 and interferon- γ on macrophage-derived chemokine production: an amplification circuit of polarized T helper 2 responses. *Blood* 1998; 92: 2668-2671.
8. Lomize A.L., Pogozheva I.D., Mosberg H.I.: Structural organization of G-protein-coupled receptors. *J. Comput. Aided Mol. Des.* 1999; 13: 325-353.
9. Rodriguez-Frade J.M., Vila-Coro A.J., de Ana A.M. i wsp.: The chemokine monocyte chemoattractant protein-1 induces functional responses through dimerization of its receptor CCR2. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1999; 96: 3628-3633.
10. Mellado M., Rodriguez-Frade J.M., Vila-Coro A.J. i wsp.: Chemokine receptor homo- or heterodimerization activates distinct signaling pathways. *EMBO J.* 2001; 20: 2497-2507.
11. D'Apuzzo M., Rolink A., Loetscher M. i wsp.: The chemokine SDF-1, stromal cell-derived factor 1, attracts early stage B cell precursors via the chemokine receptor CXCR4. *Eur. J. Immunol.* 1997; 27: 1788-1793.
12. Legler D.F., Loetscher M., Roos R.S. i wsp.: B cell-attracting chemokine 1, a human CXC chemokine expressed in lymphoid tissues, selectively attracts B lymphocytes via BLR1/CXCR5. *J. Exp. Med.* 1998; 187: 655-660.
13. Yoshie O., Imai T., Nomiyama H.: Novel lymphocyte-specific CC chemokines and their receptors. *J. Leukoc. Biol.* 1997; 62: 634-644.
14. Yoshida R., Imai T., Hieshima K. i wsp.: Molecular cloning of a novel human CC chemokine EBI1-ligand chemokine that is a specific functional ligand for EBI1, CCR7. *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 13803-13809.
15. Cole K.E., Strick C.A., Paradis T.J. i wsp.: Interferon-inducible T cell alpha chemoattractant (I-TAC): a novel non-ELR CXC chemokine with potent activity on activated T cells through selective high affinity binding to CXCR3. *J. Exp. Med.* 1998; 187: 2009-2021.
16. Imai T., Chantry D., Raport C.J. i wsp.: Macrophage-derived chemokine is a functional ligand for the CC chemokine receptor 4. *J. Biol. Chem.* 1998; 273: 1764-1768.
17. Baggiolini M.: Chemokines and leukocyte traffic. *Nature* 1998; 392: 565-568.
18. Sunnemark D., Eltayeb S., Nilsson M. i wsp.: CX3CL1 (fractalkine) and CX3CR1 expression in myelin oligodendrocyte glycoprotein-induced experimental autoimmune encephalomyelitis: kinetics and cellular origin. *J. Neuroinflammation.* 2005; 2: 17.
19. Qin S., Rottman J.B., Myers P. i wsp.: The chemokine receptors CXCR3 and CCR5 mark subsets of T cells associated with certain inflammatory reactions. *J. Clin. Invest.* 1998; 101: 746-754.
20. Sallusto F., Mackay C.R., Lanzavecchia A.: Selective expression of the eotaxin receptor CCR3 by human T helper 2 cells. *Science* 1997; 277: 2005-2007.
21. Rubbert A., Combadiere C., Ostrowski M. i wsp.: Dendritic cells express multiple chemokine receptors used as coreceptors for HIV entry. *J. Immunol.* 1998; 160: 3933-3941.
22. Yoshimura T., Matsushima K., Oppenheim J.J., Leonard E.J.: Neutrophil chemotactic factor produced by lipopoly-

- saccharide (LPS)-stimulated human blood mononuclear leukocytes: partial characterization and separation from interleukin 1 (IL 1). *J. Immunol.* 1987; 139: 788-793.
23. Wu D., LaRosa G.J., Simon M.I.: G protein-coupled signal transduction pathways for interleukin-8. *Science* 1993; 261: 101-103.
 24. Baggiolini M., Dewald B., Moser B.: Interleukin-8 and related chemotactic cytokines – CXC and CC chemokines. *Adv. Immunol.* 1994; 55: 97-179.
 25. Baggiolini M., Dahinden C. A.: CC chemokines in allergic inflammation. *Immunol. Today* 1994; 15: 127-133.
 26. Ma Q., Jones D., Borghesani P.R. i wsp.: Impaired B-lymphopoiesis, myelopoiesis, and derailed cerebellar neuron migration in CXCR4- and SDF-1-deficient mice. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1998; 95: 9448-9453.
 27. Harrison J.K., Jiang Y., Chen S. i wsp.: Role for neuronal derived fractalkine in mediating interactions between neurons and CX3CR1-expressing microglia. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1998; 95: 10896-10901.
 28. Cyster J.G.: Chemokines and cell migration in secondary lymphoid organs. *Science* 1999; 286: 2098-2102.
 29. Yu Y.R., Fong A.M., Combadiere C. i wsp.: Defective antitumor responses in CX3CR1-deficient mice. *Int. J. Cancer* 2007; 121: 316-322.
 30. Westermann J., Nguyen-Hoai T., Baldenhofer G. i wsp.: CCL19 (ELC) as an adjuvant for DNA vaccination: induction of a TH1-type T-cell response and enhancement of antitumor immunity. *Cancer Gene Ther.* 2007; 14: 523-532.
 31. Iikura M., Miyamasu M., Yamaguchi M. i wsp.: Chemokine receptors in human basophils: inducible expression of functional CXCR4. *J. Leukoc. Biol.* 2001; 70: 113-120.
 32. Fairchild R.L., VanBuskirk A.M., Kondo T. i wsp.: Expression of chemokine genes during rejection and long-term acceptance of cardiac allografts. *Transplantation* 1997; 63: 1807-1812.
 33. Murphy P.M.: International Union of Pharmacology. XXX. Update on chemokine receptor nomenclature. *Pharmacol. Rev.* 2002; 54: 227-229.
 34. Zlotnik A., Yoshie O.: Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity* 2000; 12: 121-127.
 35. Bolin L.M., Murray R., Lukacs N.W. i wsp.: Primary sensory neurons migrate in response to the chemokine RANTES. *J. Neuroimmunol.* 1998; 81: 49-57.
 36. Hesselgesser J., Taub D., Baskar P. i wsp.: Neuronal apoptosis induced by HIV-1 gp120 and the chemokine SDF-1 alpha is mediated by the chemokine receptor CXCR4. *Curr. Biol.* 1998; 8: 595-598.
 37. Lazarini F., Casanova P., Tham T.N. i wsp.: Differential signalling of the chemokine receptor CXCR4 by stromal cell-derived factor 1 and the HIV glycoprotein in rat neurons and astrocytes. *Eur. J. Neurosci.* 2000; 12: 117-125.
 38. Lazarini F., Tham T.N., Casanova P. i wsp.: Role of the α -chemokine stromal cell-derived factor (SDF-1) in the developing and mature central nervous system. *Glia* 2003; 42: 139-148.
 39. Vilz T.O., Moepps B., Engele J. i wsp.: The SDF-1/CXCR4 pathway and the development of the cerebellar system. *Eur. J. Neurosci.* 2005; 22: 1831-1839.
 40. Zou Y.R., Kottmann A.H., Kuroda M. i wsp.: Function of the chemokine receptor CXCR4 in haematopoiesis and in cerebellar development. *Nature* 1998; 393: 595-599.
 41. Dziembowska M., Tham T.N., Lau P. i wsp.: A role for CXCR4 signaling in survival and migration of neural and oligodendrocyte precursors. *Glia* 2005; 50: 258-269.
 42. Heesen M., Tanabe S., Berman M.A. i wsp.: Mouse astrocytes respond to the chemokines MCP-1 and KC, but reverse transcriptase-polymerase chain reaction does not detect mRNA for the KC or new MCP-1 receptor. *J. Neurosci. Res.* 1996; 45: 382-391.
 43. Tanabe S., Heesen M., Yoshizawa I. i wsp.: Functional expression of the CXC-chemokine receptor-4/fusin on mouse microglial cells and astrocytes. *J. Immunol.* 1997; 159: 905-911.
 44. Giovannelli A., Limatola C., Ragozzino D. i wsp.: CXC chemokines interleukin-8 (IL-8) and growth-related gene product α (GRO α) modulate Purkinje neuron activity in mouse cerebellum. *J. Neuroimmunol.* 1998; 92: 122-132.
 45. Limatola C., Ciotti M.T., Mercanti D. i wsp.: The chemokine growth-related gene product β protects rat cerebellar granule cells from apoptotic cell death through α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate receptors. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2000; 97: 6197-6201.
 46. Meucci O., Fatatis A., Simen A.A. i wsp.: Chemokines regulate hippocampal neuronal signaling and gp120 neurotoxicity. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1998; 95: 14500-14505.
 47. Begley L., Monteleon C., Shah R.B. i wsp.: CXCL12 overexpression and secretion by aging fibroblasts enhance human prostate epithelial proliferation *in vitro*. *Aging Cell* 2005; 4: 291-298.
 48. Hogaboam C.M., Bone-Larson C.L., Steinhauser M.L. i wsp.: Novel CXCR2-dependent liver regenerative qualities of ELR-containing CXC chemokines. *FASEB J.* 1999; 13: 1565-1574.
 49. Wu Q., Miller R.H., Ransohoff R.M. i wsp.: Elevated levels of the chemokine GRO-1 correlate with elevated oligodendrocyte progenitor proliferation in the jimpy mutant. *J. Neurosci.* 2000; 20: 2609-2617.
 50. Bajetto A., Barbero S., Bonavia R. i wsp.: Stromal cell-derived factor-1 α induces astrocyte proliferation through the activation of extracellular signal-regulated kinases 1/2 pathway. *J. Neurochem.* 2001; 77: 1226-1236.
 51. Hulkower K., Brosnan C.F., Aquino D.A. i wsp.: Expression of CSF-1, c-fms, and MCP-1 in the central nervous system of rats with experimental allergic encephalomyelitis. *J. Immunol.* 1993; 150: 2525-2533.
 52. Ransohoff R.M., Hamilton T.A., Tani M. i wsp.: Astrocyte expression of mRNA encoding cytokines IP-10 and JE/MCP-1 in experimental autoimmune encephalomyelitis. *FASEB J.* 1993; 7: 592-600.
 53. Godiska R., Chantry D., Dietsch G.N., Gray P.W.: Chemokine expression in murine experimental allergic encephalomyelitis. *J. Neuroimmunol.* 1995; 58: 167-176.
 54. Glabinski A.R., Tani M., Tuohy V.K. i wsp.: Central nervous system chemokine mRNA accumulation follows initial leukocyte entry at the onset of acute murine experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain Behav. Immun.* 1995; 9: 315-330.
 55. Glabinski A.R., Tani M., Strieter R.M. i wsp.: Synchronous synthesis of alpha- and beta-chemokines by cells of diverse lineage in the central nervous system of mice with relapses of chronic experimental autoimmune encephalomyelitis. *Am. J. Pathol.* 1997; 150: 617-630.
 56. Berman J.W., Guida M.P., Warren J. i wsp.: Localization of monocyte chemoattractant peptide-1 expression in the central nervous system in experimental autoimmune encephalomyelitis and trauma in the rat. *J. Immunol.* 1996; 156: 3017-3023.
 57. Jee Y., Yoon W.K., Okura Y. i wsp.: Upregulation of monocyte chemotactic protein-1 and CC chemokine receptor 2 in the central nervous system is closely associated with relapse of autoimmune encephalomyelitis in Lewis rats. *J. Neuroimmunol.* 2002; 128: 49-57.
 58. McColl S.R., Mahalingam S., Staykova M. i wsp.: Expression of rat I-TAC/CXCL11/SCYA11 during central nervous

- system inflammation: comparison with other CXCR3 ligands. *Lab. Invest.* 2004; 84: 1418-1429.
59. Miyagishi R., Kikuchi S., Takayama C. i wsp.: Identification of cell types producing RANTES, MIP-1 α and MIP-1 β in rat experimental autoimmune encephalomyelitis by *in situ* hybridization. *J. Neuroimmunol.* 1997; 77: 17-26.
 60. Karpus W.J., Fife B.T., Kennedy K.J.: Immunoneutralization of chemokines for the prevention and treatment of central nervous system autoimmune disease. *Methods* 2003; 29: 362-368.
 61. Karpus W.J., Lukacs N.W., McRae B.L. i wsp.: An important role for the chemokine macrophage inflammatory protein-1 alpha in the pathogenesis of the T cell-mediated autoimmune disease, experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol.* 1995; 155: 5003-5010.
 62. Kennedy K.J., Strieter R.M., Kunkel S.L. i wsp.: Acute and relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis are regulated by differential expression of the CC chemokines macrophage inflammatory protein-1 α and monocyte chemoattractant protein-1. *J. Neuroimmunol.* 1998; 92: 98-108.
 63. Fukumoto N., Shimaoka T., Fujimura H. i wsp.: Critical roles of CXC chemokine ligand 16/scavenger receptor that binds phosphatidylserine and oxidized lipoprotein in the pathogenesis of both acute and adoptive transfer experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol.* 2004; 173: 1620-1627.
 64. Magliozzi R., Columba-Cabezas S., Serafini B., Aloisi F.: Intracerebral expression of CXCL13 and BAFF is accompanied by formation of lymphoid follicle-like structures in the meninges of mice with relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Neuroimmunol.* 2004; 148: 11-23.
 65. Alt C., Laschinger M., Engelhardt B.: Functional expression of the lymphoid chemokines CCL19 (ELC) and CCL 21 (SLC) at the blood-brain barrier suggests their involvement in G-protein-dependent lymphocyte recruitment into the central nervous system during experimental autoimmune encephalomyelitis. *Eur. J. Immunol.* 2002; 32: 2133-2144.
 66. Columba-Cabezas S., Serafini B., Ambrosini E., Aloisi F.: Lymphoid chemokines CCL19 and CCL21 are expressed in the central nervous system during experimental autoimmune encephalomyelitis: implications for the maintenance of chronic neuroinflammation. *Brain Pathol.* 2003; 13: 38-51.
 67. Ambrosini E., Columba-Cabezas S., Serafini B. i wsp.: Astrocytes are the major intracerebral source of macrophage inflammatory protein-3 α /CCL20 in relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis and *in vitro*. *Glia* 2003; 41: 290-300.
 68. Kohler R.E., Caon A.C., Willenborg D.O. i wsp.: A role for macrophage inflammatory protein-3 α /CC chemokine ligand 20 in immune priming during T cell-mediated inflammation of the central nervous system. *J. Immunol.* 2003; 170: 6298-6306.
 69. Columba-Cabezas S., Serafini B., Ambrosini E. i wsp.: Induction of macrophage-derived chemokine/CCL22 expression in experimental autoimmune encephalomyelitis and cultured microglia: implications for disease regulation. *J. Neuroimmunol.* 2002; 130: 10-21.
 70. Hoffman L.M., Fife B.T., Begolka W.S. i wsp.: Central nervous system chemokine expression during Theiler's virus-induced demyelinating disease. *J. Neurovirol.* 1999; 5: 635-642.
 71. Rottman J.B., Slavin A.J., Silva R. i wsp.: Leukocyte recruitment during onset of experimental allergic encephalomyelitis is CCR1 dependent. *Eur. J. Immunol.* 2000; 30: 2372-2377.
 72. Eltayeb S., Sunnemark D., Berg A.L. i wsp.: Effector stage CC chemokine receptor-1 selective antagonism reduces multiple sclerosis-like rat disease. *J. Neuroimmunol.* 2003; 142: 75-85.
 73. Fife B.T., Paniagua M.C., Lukacs N.W. i wsp.: Selective CC chemokine receptor expression by central nervous system-infiltrating encephalitogenic T cells during experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Neurosci. Res.* 2001; 66: 705-714.
 74. Izikson L., Klein R.S., Charo I.F. i wsp.: Resistance to experimental autoimmune encephalomyelitis in mice lacking the CC chemokine receptor (CCR) 2. *J. Exp. Med.* 2000; 192: 1075-1080.
 75. Fife B.T., Huffnagle G.B., Kuziel W.A., Karpus W.J.: CC chemokine receptor 2 is critical for induction of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Exp. Med.* 2000; 192: 899-905.
 76. Gaupp S., Pitt D., Kuziel W.A. i wsp.: Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in CCR2(-/-) mice: susceptibility in multiple strains. *Am. J. Pathol.* 2003; 162: 139-150.
 77. Bielecki B., Mazurek A., Wolinski P., Glabinski A.: Expression of chemokine receptors CCR7 and CCR8 in the CNS during ChREAE. *Scand. J. Immunol.* 2007; 66: 383-392.
 78. Kohler R.E., Comerford I., Townley S. i wsp.: Antagonism of the chemokine receptors CXCR3 and CXCR4 reduces the pathology of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain Pathol.* w druku 2008.