

Udział receptorów Toll-podobnych w patogenezie atopowego zapalenia skóry u ludzi i zwierząt. Część I. Rola receptorów Toll-podobnych w odporności

Magdalena Bossowska¹, Kourou Dembele², Felix N. Toka³

z Katedry Nauk Przedklinicznych¹ i Katedry Chorób Małych Zwierząt z Kliniką² Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie oraz Ross University School of Veterinary Medicine, St. Kitts, West Indies³

Nazwa receptorów Toll-podobnych pochodzi od zmutowanego genu receptora Toll, po raz pierwszy opisanego u *Drosophila melanogaster* przez Andersona i wsp. (1), który warunkuje prawidłowe wykształcenie osi grzbietowo-brzuszej u larw tych owadów. Kolejne badania wykazały, że produkt genu *toll* odgrywa kluczową rolę w skutecznej odpowiedzi przeciwwiryczej u dorosłych osobników tego gatunku (2). Następnie, w 1997 r., zidentyfikowano ludzki homolog białka Toll (obecnie określane jako TLR4), który indukuje ekspresję genów zaangażowanych w reakcje zapalne (3). Do tej pory opisano 11 tych receptorów u ludzi i 13 u myszy (4).

U zwierząt gospodarskich, jak i towarzyszących, również zidentyfikowano obecność receptorów Toll-podobnych: 10 u przeżuwaczy, 4 u świń, 3 u psów oraz 9 u kotów (5, 6, 7, 8, 9, 10, 11). Są one umiejscowione w błonie komórkowej makrofagów, limfocytów B, komórek dendrytycznych, komórek tucznych, neutrofilów i eozynofiliów (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6), a także w okolicy pęcherzyka endosomalnego (TLR3, TLR7, TLR8 i TLR9; 12, 13, 14, 15). Receptory Toll-podobne należą do receptorów transmembranowych zlokalizowanych zarówno w błonie komórkowej (głównie TLR2, 4, 5), jak i cytoplazmie komórek (głównie TLR3, 7, 8, 9), które są zbudowane z domeny zewnętrznej, śród błonowej i cytoplazmatycznej. Domena zewnętrzna złożona jest z powtórzeń bogatych w leucynę (LRR) i bierze udział w wiązaniu określonego liganda. Dodatkowo domena LRR każdego TLR odpowiada za unikalną swoistość odpowiedniego receptora wobec określonego liganda (16). Natomiast domena cytoplazmatyczna jest homologiczna do domeny cytoplazmatycznej receptora typu 1 ludzkiej interleukiny 1 (IL-1), dlatego nazywa ją Toll-IL-1-receptor, w skrócie TIR (17, 18). Na końcu domeny znajdują się jednostki cysteiny, które są odpowiedzialne za inicjację różnych wewnętrzkomórkowych kaskad sygnałowych w komórce. Z transdukcją sygnału wiąże się aktywacja

transkrypcyjnego czynnika jądrowego κ B (NF- κ B), który jest niezbędny podczas ekspresji genów związanych z odpowiedzią immunologiczną, takich jak geny cytokin, chemokin oraz cząsteczek kostymulujących i adhezyjnych (17, 19–22). Receptory TLR1–9 charakteryzują się bardzo podobnym schematem budowy u ludzi i u myszy, chociaż obecność TLR10 wykryto tylko u ludzi, natomiast ekspresja TLR11 zachodzi wyłącznie u myszy. Do tej pory poznano ścieżki sygnałowe oraz ligandy, z którymi łączy się TLR1–9 i 11, jednak biologiczna rola TLR10, TLR12 i TLR13 pozostaje nadal niewyjaśniona, gdyż ich wzory ekspresji, ligandy i rodzaje sygnalizacji nie zostały jeszcze zidentyfikowane (16).

Receptory Toll-podobne zostały zaklasyfikowane do rodziny receptorów rozpoznających wzorce (pattern recognition receptors, PRRs), ponieważ dzięki swej konserwatywnej budowie odgrywają ważną rolę w rozpoznawaniu wzorców molekularnych związanych z patogenami (pathogen associated molecular patterns, PAMPs), czyli charakterystycznych makrocząsteczek wspólnych dla klas bakterii, grzybów, pierwotniaków czy wirusów (3, 23). Cząsteczki te mają szczególne znaczenie dla replikacji i/lub przetrwania patogenów oraz są unikalne dla mikroorganizmów, natomiast nie są obecne w komórkach gospodarza (16). Wśród wielu różnych PAMPs można wyróżnić lipopolisacharyd (LPS), lipoproteiny, peptydoglikany oraz wirusowe lub bakteryjne kwasy nukleinowe. Aktywacja poszczególnych receptorów Toll-podobnych odpowiednimi ligandami podczas zakażenia prowadzi do bezpośredniego wytwarzania cytokin prozapalnych przez komórkę lub może pośrednio indukować różnicowanie limfocytów pomocniczych typu Th1 bądź aktywować monocyty i komórki NK, co prowadzi do produkcji różnych cytokin prozapalnych, m.in. interleukiny-2 (IL-2), IL-12, IL-15, IL-18, czynnika martwicy nowotworu α (TNF- α), interferonów α (IFN-1) i β (IFN-2; 9, 24). Ponadto TLRs limfocytów B bezpośrednio aktywują te komórki, co prowadzi do wytwarzania przez

The role of Toll-like receptors (TLRs) in the pathogenesis of atopic dermatitis in humans and animals.

Part I. TLRs in the immune responses

Bossowska M.¹, Dembele K.², Toka F.N.³, Department of Preclinical Sciences¹, Department of Small Animal Diseases with Clinic², Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences-SGGW, Ross University School of Veterinary Medicine, St. Kitts, West Indies³

This article aims at the presentation of the role of Toll-like receptors (TLRs) in the immune-mediated diseases. Atopic dermatitis (AD) may be defined as an inherited susceptibility to sensitization by environmental allergens with the development of cutaneous type I hypersensitivity. AD is a chronic, inflammatory disease that occurs in humans, companion animals and livestock. Clinically, it is characterized by intense pruritus, dry skin and eczematous lesions. Patients with atopic dermatitis are more susceptible to bacterial, viral and fungal infections. Two theories are suggested, that complement each other, in explaining inflammatory lesions in patients with AD. The first one is associated with an abnormal Th1/Th2 balance, whereas the second refers to the skin barrier dysfunction. Here, the involvement of TLRs in both innate and adaptive immunity was described. TLRs belong to the big family of pathogen recognition receptors (PRRs), expressed by the cells of innate immunity. They are however, considered as influencing also the profile of developing adaptive immune response. It seems therefore important to discuss the role of TLRs during inflammatory and immune responses in the pathogenesis of AD.

Keywords: Toll-like receptors, innate immunity, adaptive immunity, immune-mediated diseases, atopic dermatitis, dogs.

nie przeciwciał, które są precyzyjnym narzędziem w walce z czynnikami chorobotwórczymi. Tak więc receptory TLRs są istotnym ogniwem indukującym mechanizmy nieswoiste i jednocześnie łączącym odpowiedź nieswoistą i swoistą, a ich lokalizacja determinuje ich kluczową rolę w integracji układu odpornościowego podczas zakażenia i zwalczania patogenów (24, 25).

Receptory Toll-podobne oraz ich ligandy

TLR1, 2 i 6

Jednym z najwcześniej zidentyfikowanych i najlepiej opisanych receptorów Toll-podobnych jest TLR2. U ssaków jego ekspresję stwierdzono na powierzchni wielu komórek, tj. na monocytach, komórkach dendrytycznych, keratynocytach i neutrofilach (26). Taka lokalizacja receptorów oznacza ważną funkcję w wykrywaniu czynników chorobotwórczych i inicjacji odpowiedniej

odpowiedzi immunologicznej. Dotychczasowe wyniki badań wykazują, że TLR2 rozpoznaje szereg różnych komponentów mikroorganizmów. Do ligandów tego receptora należą składniki ściany komórkowej bakterii Gram-dodatnich – peptydoglikan (PGN) i kwas lipoteichoowy (LTA) *Staphylococcus aureus* (27), lipoarabinomannan *Mycobacterium tuberculosis* (28), glikofosfatydyloinozytol *Trypanosoma cruzi* (29) oraz glikolipidy *Treponema maltophilum*. Ponadto TLR2 rozpoznaje atypowy LPS pochodzący od *Legionella* spp., *Leptospira interrogans*, *Porphyromonas gingivitis*, *Bordetella* spp. i *Helicobacter pylori*, który różni się strukturalnie od typowego LPS bakterii Gram-ujemnych (30, 31, 32, 33, 34). Stwierdzono także, że TLR2 posiada zdolność do tworzenia heterodimerów w połączeniu z TLR1 lub TLR6, które są strukturalnie zbliżone do TLR2, co dodatkowo poszerza zakres rozpoznawanych ligandów (35). Przykładowo, kompleks TLR2/TLR1 przyłącza różne lipoproteiny meningokoków i bakterii z rodzaju *Mycobacterium* (37, 38). Natomiast heterodimer TLR2/TLR6 rozpoznaje lipoproteiny bakterii z rodzaju *Mycoplasma* oraz zymosan grzybów (39).

Stwierdzono, że znaczne ilości receptora TLR2 występują w komórkach zlokalizowanych w skórze u bydła, co sugeruje silną barierę ochronną przed zakażeniami bakteryjnymi (5). Bazzocchi i wsp. (9), oprócz ekspresji TLR2 w leukocytach krwi obwodowej u psów, wykazali także, że stymulowane neutrofile indukują odpowiedź immunologiczną w obecności kwasu lipoteichoowego. Za pomocą cytometrii przepływowej autorzy zaobserwowali obecność TLR2 na powierzchni granulocytów i monocytów u psów, co potwierdza udział tego receptora w obronie przed wieloma patogenami, m.in. *Leishmania major* i *Toxoplasma gondii* (40, 41). Ponadto, analizując sekwencję genu kodującego TLR2 u psów, wykazano wysoki stopień homologii (91%) z tym samym genem u człowieka (9).

TLR3

Receptor Toll-podobny 3 (TLR3), podobnie jak TLR7, 8 i 9, należy do receptorów rozpoznających kwasy nukleinowe. Jego ekspresję wykryto na limfocytach T oraz komórkach dendrytycznych, a także w fibroblastach skóry właściwej u ludzi (38, 39). Wykazano, że TLR3 po związaniu dwuniciowego RNA (dsRNA), indukuje syntezę interferonu typu I (IFN α/β), który wywiera działanie przeciwwirusowe i immunostymulujące (40, 41). Ponadto w badaniach prowadzonych u myszy pozbawionych TLR3 zaobserwowano upośledzoną odpowiedź na dsRNA, a nawet zwiększoną podatność na wiele zakażeń wirusowych (40, 42).

TLR4

Pierwszym, najlepiej scharakteryzowanym i najlepiej dotychczas poznany receptorem Toll-podobnym u ssaków jest TLR4, rozpoznający przede wszystkim, nawet w śladowych ilościach, lipopolisacharyd (LPS) – główny składnik zewnętrznej ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych (43, 44). Ligandami dla tego receptora są również białka fuzyjne wirusa syncytialnego, wywołującego zakażenia dróg oddechowych (RSV), endogenne białka uwalniane z komórek pod wpływem stresu komórkowego lub uszkodzenia tkanek (HSP60, HSP70, Gp96 oraz fibrynogen), taksol oraz składniki bakterii z rodzaju *Mycobacterium* (45, 46, 47, 48, 49, 50, 51). Obecność TLR4 wykazano na wielu komórkach układu immunologicznego ssaków. U psów i kotów, podobnie jak u człowieka, największą ekspresję TLR4 wykryto na leukocytach krwi obwodowej, m.in. na monocytach, makrofagach, neutrofilach, komórkach dendrytycznych, limfocytach B oraz na komórkach śródbłonna naczyń i na komórkach nabłonka (8, 52, 53). Ponadto Song i wsp. (57) potwierdzili obecność tego receptora również na ludzkich keratynocytach. Takie rozmieszczenie TLR4 umożliwia natychmiastowe rozpoznanie czynnika patogenego i aktywację mechanizmów prowadzących do produkcji wielu prozapalnych mediatorów, takich jak TNF α , IL-1, IL-6, IL-10 czy IL-12 (55). Martin i wsp. (58) zaobserwowali także, że ludzkie monocyty aktywują jądrowy czynnik transkrypcyjny kappa B p65 w szczególności za pomocą TLR4 w obecności monofosforylowego lipidu A (MPL, pochodny LPS). Wykazano, że makrofagi i limfocyty B myszy z wyłączonym genem kodującym TLR4 charakteryzowały się niską wrażliwością na LPS (43). Co więcej, Blander i Medzhitov (59) stwierdzili, że brak receptorów TLR2 i 4 na makrofagach prowadzi do opóźnienia fagocytozy bakterii, np. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* czy *Salmonella typhimurium*.

TLR5

Ligandem, który aktywuje receptor Toll-podobny 5, co prowadzi do produkcji cytokin prozapalnych, jest flagelina (57). Ten białkowy składnik rzęsek bakterii Gram-ujemnych jest niezbędny do produkcji protofilamentów i odpowiada za ruch bakterii (29). Ekspresję TLR5 wykryto u ludzi, przeżuwaczy, kotów oraz myszy (58), a występuje on w błonie takich komórek, jak monocyty, niedojrzałe komórki dendrytyczne, komórki nabłonkowe, komórki NK oraz limfocyty T (59, 60, 61). Ponadto obecność TLR5 zidentyfikowano na ludzkich keratynocytach, a ich aktywacja prowadzi do wytwarzania m.in. TNF- α , IL-8 oraz CCL27,

chemokiny, która wspomaga aktywację limfocytów T pamięci, w szczególności tych obecnych w skórze właściwej (62, 63). Wykryto, że wiązanie TLR5 z flageliną skutkuje zwiększoną produkcją TNF- α , IL-6 oraz cząsteczek kostymulujących CD80 i CD86, obecnych na komórkach dendrytycznych, co wzmacnia aktywność komórek układu immunologicznego ssaków (64, 65).

TLR7 i TLR8

Receptory Toll-podobne 7 i 8 należą do receptorów wewnątrzkomórkowych, które w niektórych przypadkach rozpoznają ten sam rodzaj liganda. Badania na myszach z niedoborem TLR7 wykazały, że rozpoznaje on syntetyczne związki przeciwwirusowe, np. imidazochinoliny (66). Wykazano także, że poprzez TLR7 imikwimod indukuje ekspresję takich cytokin prozapalnych, jak IFN α , TNF α , IL-6, IL-8 i IL-12, które promują odpowiedź typu Th1 (66, 67). Dodatkowo mysz TLR7 rozpoznaje inny związek syntetyczny, loksoribinę, który ma właściwości antywirusowe i antynowotworowe (68, 69). Największą ekspresję TLR7 u bydła odnotowano w skórze właściwej. Oznacza to, że skóra jest obszarem „uzbrojonym” w receptory umożliwiające szybką reakcję na zakażenie wirusowe (70, 71). Wykazano, że ludzkie TLR7 i TLR8 wykrywają, bogate w guanozynę lub urydynę, jednoniciowe sekwencje genomowego RNA, pochodzące od RNA wirusów, takich jak: HIV, wirus pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej czy wirus grypy (69, 72, 73, 74). Ciekawy wydaje się fakt, iż RNA ssaków posiadający wiele zmodyfikowanych nukleozydów, jest znacznie mniej aktywny jako ligand dla TLR7 w porównaniu do bakteryjnego RNA, co sugeruje, że organizm zwierzęcy wykorzystuje modyfikację nukleozydów do odróżnienia endogennego RNA od RNA pochodzącego od patogenów (75). Połączenie tych receptorów z odpowiednimi ligandami skutkuje uwalnianiem interferonu typu I (IFN- α), który jest niezbędnym czynnikiem odporności wrodzonej, przede wszystkim przeciw wirusowej.

TLR9

TLR9 rozpoznaje niemetylowane dinukleotydy cytozynowo-guaninowe (CpG), sekwencje zawarte w bakteryjnym DNA, które mają tym samym aktywność immunostymulującą (76). Wyróżniono co najmniej dwa typy CpG – określane jako typ „D” CpG DNA oraz typ „K” CpG DNA. Typ „K” CpG DNA został zidentyfikowany jako pierwszy i traktowany jest jako silny induktor cytokin prozapalnych, takich jak IL-6, IL-12, TNF- α , a także stymuluje pierwotną odpowiedź humoralną przez pobudzenie limfocytów B do

wytwarzania IgM. Natomiast typ „D” CpG DNA różni się pod względem strukturalnym od poprzedniego i charakteryzuje się większą zdolnością do indukcji wytwarzania IFN- α przez plazmacytoidalne komórki dendrytyczne (PDC) oraz IFN- γ przez komórki NK, ale mniejszą do indukcji syntezy IL-12 (77, 78, 79). Wykazano, że oba typy CpG DNA są ligandem dla TLR9 (80). Ponadto udokumentowano, że receptor Toll-podobny 9 rozpoznaje także sekwencje CpG wirusowego dsDNA (81, 82). Przeprowadzone badania wskazują, że wewnątrzkomórkowe umiejscowienie TLR9 odgrywa kluczową rolę w odróżnianiu własnego DNA od DNA patogenów (83), gdyż aktywacja tego receptora jest możliwa dopiero wtedy, gdy sekwencje CpG zostaną przetransportowane do wnętrza endosomu (84). Co więcej, w 2005 r. wykazano, że innym ligandem dla TLR9 jest hemozoina, hydrofobowy polimer hemu, produkowany przez pierwotniaki wywołujące malarię, jako ich własna hemoglobina (85). Dodatkowo aktywacja TLR9 po związaniu z ligandem przyczynia się do produkcji IFN typu I w odpowiedzi na obecność bakterii wewnątrzkomórkowych, takich jak *Listeria monocytogenes* lub *Shigella flexneri*, które rozmnażają się w cytoplazmie komórki gospodarza (86, 87). Ze względu na to, że TLR9 rozpoznaje strukturę chromatyny, przypuszcza się, że jest on zaangażowany w patogenezę chorób autoimmunologicznych (88).

TLR11

Receptor Toll-podobny 11 został odkryty niedawno i jego wysoką ekspresję stwierdzono w komórkach nabłonkowych pęcherza moczowego. Ma on wyraźny związek z odpornością na zakażenia uropatogennymi szczepami *Escherichia coli*, gdyż myszy z wyłączonym genem TLR11 wykazywały znaczną wrażliwość na te patogeny (89). Do tej pory nie udało się jednak ustalić liganda, bądź ligandów, dla tego receptora. Wiadomo tylko, że TLR11 rozpoznaje klasę cząsteczek profilino-podobnych, których ekspresja zachodzi np. u *Toxoplasma gondii* (90).

Układ odpornościowy chroni organizm zwierzęcy przed czynnikami patogennymi i składają się na niego mechanizmy wrodzone, nieswoiste oraz nabyte, swoiste. Mechanizmy nieswoiste identyfikują konserwatywne molekularne struktury drobnoustrojów – PAMPs, są bezpośrednią reakcją na kontakt z patogenami i poprzedzają swoistą odpowiedź immunologiczną (91). Podstawowymi elementami wrodzonego układu odpornościowego są komórki żerne (makrofagi i granulocyty obojętnochłonne), granulocyty kwasochłonne i zasadochłonne, komórki NK, komórki tuczne oraz komórki dendrytyczne, dalej układ dopełniacza, interferony, a także

środowisko fizykochemiczne skóry i błon śluzowych (92). Wrodzony układ odpornościowy skóry składa się z trzech głównych komponentów:

- bariery anatomicznej/fizycznej, w skład której wchodzi wielowarstwowy naskórek, a przede wszystkim jego warstwa rogowa i połączenia międzykomórkowe,
- bariery chemicznej, którą tworzą wydzieliny gruczołów skórnych i kwaśny odczyn skóry,
- bariery skóry właściwej, w której znajdują się komórki prezentujące antygen, komórki Langerhansa, keratynocyty, granulocyty obojętnochłonne (neutrofile) oraz komórki tuczne (mastocyty),
- bariery czynników humoralnych, wśród których wyróżnia się cytokiny, chemokiny i liczne peptydy przeciwbakteryjne (93).

Komponentami odporności nabytej, swoistej jest większość limfocytów T $\alpha\beta$ i limfocyty T $\gamma\delta$ oraz przeciwciała wytwarzane przez limfocyty B. Jest to tkanka limfatyczna związana ze skórą (skin-associated lymphoid tissue, SALT). Swoiste mechanizmy immunologiczne charakteryzują się pamięcią immunologiczną i są odpowiedzialne za wytworzenie precyzyjnej, swoistej względem określonego patogenu odpowiedzi immunologicznej humoralnej i komórkowej.

Uruchomienie odpowiedzi wrodzonej zachodzi natychmiast po wnikięciu patogenu do organizmu i zidentyfikowaniu go przez receptory TLRs, rozpoznające wzorce molekularne. W prawidłowym przebiegu takiej odpowiedzi komórki odporności wrodzonej, jak makrofagi czy komórki dendrytyczne pochłaniają czynniki zakaźne, przetwarzają je w pęcherzykach endosomalnych, a następnie przetworzone antygeny peptydowe prezentują w kontekście białek MHC II klasy, limfocytom TCD4. W tym czasie receptory Toll-podobne przyłączają odpowiednie ligandy, co indukuje ekspresję cytokin prozapalnych i cząsteczek kostymulujących przez te komórki. Prezentacja kompleksów antygen+MHCII na powierzchni wraz z uwalnianiem określonych cytokin przez komórkę prezentującą antygen prowadzi do rozwoju odporności nabytej. Antygenowo swoisty pomocniczy limfocyt TCD4 rozpoznaje prezentowany antygen, a to zapoczątkowuje odpowiedź immunologiczną komórkową, Th1-zależną lub humoralną, Th2-zależną. Podczas aktywacji komórki Th1 uwalniane są głównie cytokiny: interleukina-2 (IL-2), interleukina-12 (IL-12), interferon- γ (IFN- γ) i czynnik martwicy nowotworu α (TNF- α). Podczas aktywacji komórki Th2 uwalniane są głównie: interleukina-4 (IL-4), interleukina-5 (IL-5), interleukina-6 (IL-6) i interleukina-10 (IL-10). Cytokiny wytwarzane przez Th1 i Th2 działają antagonicznie i zazwyczaj optymalnemu rozwojowi

odpowiedzi komórkowej towarzyszy ograniczona odpowiedź humoralna i odwrotnie.

Piśmiennictwo

1. Anderson K.V., Jürgens G., Nüsslein-Volhard C.: Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: genetic studies on the role of the Toll gene product. *Cell*. 1985, **42**, 779–789.
2. Lemaitre B., Nicolas E., Michaut L., Reichhart J.M., Hoffmann J.A.: The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell*. 1996, **86**, 973–983.
3. Takeda K., Akira S.: Toll-like receptors in innate immunity. *Int Immunol*. 2005, **17**(1), 1–14.
4. Kowalczyk E., Siednienko J., Matuszyk J.: Regulacja odpowiedzi zapalnej zależnej od receptorów Toll-podobnych. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2013, **67**, 201–213.
5. Menzies M., Ingham A.: Identification and expression of Toll-like receptors 1–10 in selected bovine and ovine tissues. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2006, **109**, 23–30.
6. Muneta Y., Uenishi H., Kikuma R., Yoshihara K., Shimoji Y., Yamamoto R., Hamashima N., Yokomizo Y., Mori Y.: Porcine TLR2 and TLR6: identification and their involvement in *Mycoplasma hypopneumoniae* infection. *J. Interferon Cytokine Res.* 2003, **23**, 583–590.
7. Raymond C.R., Wilkie B.N.: Toll-like receptor, MHC II, B7 and cytokine expression by porcine monocytes and monocyte-derived dendritic cells in response to microbial pathogen-associated molecular patterns. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2005, **107**, 235–247.
8. Ashina Y., Yoshioka N., Kano R., Morimoto T., Hasegawa A.: Full-length cDNA cloning of Toll-like receptor 4 in dogs and cats. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2003, **96**, 159–167.
9. Bazzocchi C., Mortarino M., Comazzi S., Bandi C., Franceschi A., Genchi C.: Expression and function of Toll-like receptor 2 in canine blood phagocytes. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2005, **104**, 15–19.
10. Hashimoto M., Asahina Y., Sano J., Kano R., Morimoto T., Hasegawa A.: Cloning of canine Toll-like receptor 9 and its expression in dog tissues. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2005, **106**, 159–163.
11. Ignacio G., Nordono S., Howard K.E., Dean G.A.: Toll-like receptor expression in feline lymphoid tissues. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2005, **106**, 229–237.
12. Ahmad-Nejad P., Mrabet-Dahbi S., Breuer K., Klotz M., Werfel T., Herz U., Heeg K., Neumaier M., Renz H.: The toll-like receptor 2 R753Q polymorphism defines a subgroup of patients with atopic dermatitis having severe phenotype. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2004, **113**, 565–567.
13. Matsumoto M., Funami K., Tanabe M., Oshiumi H., Shingai M., Seto Y., Yamamoto A., Seya T.: Subcellular localization of Toll-like receptor 3 in human dendritic cells. *J. Immunol.* 2003, **171**(6), 3154–3162.
14. Latz E., Visintin A., Espevik T., Golenbock D.T.: Mechanisms of TLR9 activation. *J. Endotoxin Res.* 2004, **10**, 406–412.
15. Majewska M., Szczepanik M.: Rola receptorów toll-podobnych (TLR) w odporności wrodzonej i nabytej oraz ich funkcja w regulacji odpowiedzi immunologicznej. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2006, **60**, 52–63.
16. West A.P., Koblansky A.A., Ghosh S.: Recognition and signaling by Toll-like receptors. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2006, **22**, 409–437.
17. Medzhitov R., Preston-Hurlburt P., Janeway C.A. Jr.: A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* 1997, **388**(6640), 394–397.
18. Akira S.: Toll-like Receptor Signaling. *J. Biol. Chem.* 2003, **278**, 38105–38108.
19. Werling D., Jungi T.W.: TOLL-like receptors linking innate and adaptive immune response. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2003, **91**, 1–12.
20. Iwasaki A., Medzhitov R.: Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nat. Immunol.* 2004, **5**, 987–995.
21. Kawai T., Akira S.: Signaling to NF- κ B by Toll-like receptors. *Trends Mol. Med.* 2007, **13**, 460–469.
22. Trinchieri G., Sher A.: Cooperation of Toll-like receptor signals in innate immune defence. *Nat. Rev. Immunol.* 2007, **7**, 179–190.
23. Janeway C.A. Jr., Medzhitov R.: Innate immune recognition. *Annu. Rev. Immunol.* 2002, **20**, 197–216.
24. Sochocka M.: Rozpoznawanie patogenów przez wrodzony system odporności. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2008, **62**, 676–687.
25. Parker L.C., Prince L.R., Sabroe I.: Translational mini-review series on Toll-like receptors: networks regulated by Toll-like receptors mediate innate and adaptive immunity. *Clin. Exp. Immunol.* 2007, **147**, 199–207.

26. Tokarz-Deptuła B, Niedźwiedzka P, Deptuła W: Receptory Toll-podobne – nowe znaczniki w immunologii. *Alergia Astma Immunologia*. 2006, **11**, 23–28.
27. Takeuchi O, Hoshino K, Akira S: Cutting edge: TLR2-deficient and MyD88-deficient mice are highly susceptible to *Staphylococcus aureus* infection. *J. Immunol.* 2000, **165**, 5392–5396.
28. Jones B.W., Heldwein K.A., Means T.K., Saukkonen J.J., Fenton M.J.: *Ann. Rheum. Dis.* 2001, **60**, iii6–iii12.
29. Campos M.A., Almeida I.C., Takeuchi O, Akira S, Valente E.P., Procópio D.O., Travassos L.R., Smith J.A., Golenbock D.T., Gazzinelli R.T.: Activation of Toll-like receptor-2 by glycosylphosphatidylinositol anchors from a protozoan parasite. *J. Immunol.* 2001, **167**, 416–423.
30. Hirschfeld M., Weis J.J., Toshchakov V., Salkowski C.A., Cody M.J., Ward D.C., Qureshi N., Michalek S.M., Vogel S.N.: Signaling by toll-like receptor 2 and 4 agonists results in differential gene expression in murine macrophages. *Infect. Immun.* 2001, **69**, 1477–1482.
31. Werts C., Tapping R.L., Mathison J.C., Chuang T.H., Kravchenko V., Saint Girons I., Haake D.A., Godowski P.J., Hayashi F., Ozinsky A., Underhill D.M., Kirschning C.J., Wagner H., Aderem A., Tobias P.S., Ulevitch R.J.: Leptospiral lipopolysaccharide activates cells through a TLR2-dependent mechanism. *Nat. Immunol.* 2001, **2**, 346–352.
32. Smith G.V., Moran A.P., Bajaj-Elliott M., Farthing M.J.: Induction of cyclooxygenase 2 by *Escherichia coli* but not *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide in gastric epithelial cells in vitro. *Helicobacter* 2003, **8**, 513–520.
33. Massari P., Henneke P., Ho Y., Latz E., Golenbock D.T., Wetzler L.M.: Cutting edge: Immune stimulation by neisserial porins is Toll-like receptor 2 and MyD88 dependent. *J. Immunol.* 2002, **168**, 1533–1537.
34. Wetzler L.M.: The role of Toll-like receptor 2 in microbial disease and immunity. *Vaccine*. 2003, **21**, 55–60.
35. Ozinsky A., Underhill D.M., Fontenot J.D., Hajjar A.M., Smith K.D., Wilson C.B., Schroeder L., Aderem A.: The repertoire for pattern recognition of pathogens by the innate immune system is defined by cooperation between Toll-like receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2000, **97**, 13766–13771.
36. Wyllie D.H., Kiss-Toth E., Visintin A., Smith S.C., Boussof S., Segal D.M., Duff G.W., Dower S.K.: Evidence for an accessory protein function for Toll-like receptor 1 in anti-bacterial responses. *J. Immunol.* 2000, **165**, 7125–7132.
37. Takeuchi O, Sato S, Horiuchi T, Hoshino K, Takeda K, Dong Z, Modlin R.L., Akira S: Cutting edge: role of Toll-like receptor 1 in mediating immune response to microbial lipoproteins. *J. Immunol.* 2002, **169**, 10–14.
38. Takeuchi O, Kawai T, Muhlradt P.F., Morr M., Radolf J.D., Zychlinsky A., Takeda K, Akira S: Discrimination of bacterial lipoproteins by Toll-like receptor 6. *Int. Immunol.* 2002, **13**, 933–940.
39. de Veer M.J., Curtis J.M., Baldwin T.M., DiDonato J.A., Sexton A., McConville M.J., Handman E., Schofield L.: MyD88 is essential for clearance of *Leishmania major*: possible role for lipophosphoglycan and Toll-like receptor 2 signaling. *Eur. J. Immunol.* 2003, **33**, 2822–2831.
40. Mun H.S., Aosai F., Norose K., Chen M., Piao L.X., Takeuchi O, Akira S, Ishikura H., Yano A.: TLR2 as an essential molecule for protective immunity against *Toxoplasma gondii* infection. *Int. Immunol.* 2003, **15**, 1081–1087.
41. Proost P., Vynckier A.K., Mahieu F., Put W., Grillet B., Struyf S., Wuyts A., Opendakker G., Van Damme J.: Microbial Toll-like receptor ligands differentially regulate CXCL10/IP-10 expression in fibroblasts and mononuclear leukocytes in synergy with IFN- γ and provide a mechanism for enhanced synovial chemokine levels in septic arthritis. *Eur. J. Immunol.* 2003, **33**, 3146–3153.
42. Proost P., Verpoest S., Van de Borne K., Schutyser E., Struyf S., Put W., Ronse I., Grillet B., Opendakker G., Van Damme J.: Synergistic induction of CXCL9 and CXCL11 by Toll-like receptor ligands and interferon- γ in fibroblasts correlates with elevated levels of CXCR3 ligands in septic arthritis synovial fluids. *J. Leukoc. Biol.* 2004, **75**, 777–784.
43. Alexopoulou L., Holt A.C., Medzhitov R., Flavell R.A.: Recognition of double-stranded RNA and activation of NF- κ B by Toll-like receptor 3. *Nature*. 2001, **413**, 732–738.
44. Yang X., Coriolan D., Schultz K., Golenbock D.T., Beasley D.: Toll-like receptor 2 mediates persistent chemokine release by *Chlamydia pneumoniae*-infected vascular smooth muscle cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005, **25**, 2308–2314.
45. Edelmann K.H., Richardson-Burns S., Alexopoulou L., Tyler K.L., Flavell R.A., Oldstone M.B.: Does Toll-like receptor 3 play a biological role in virus infections? *Virology*. 2004, **322**, 231–238.
46. Hoshino K., Takeuchi O, Kawai T, Sanjo H, Ogawa T, Takeda Y, Takeda K, Akira S: Cutting edge: Toll-like receptor 4 (TLR4)-deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the Lps gene product. *J. Immunol.* 1999, **162**, 3749–3752.
47. Akashi S., Shimazu R., Ogata H., Nagai Y., Takeda K., Kimoto M., Miyake K.: Cutting edge: cell surface expression and lipopolysaccharide signaling via the toll-like receptor 4-MD-2 complex on mouse peritoneal macrophages. *J. Immunol.* 2000, **164**, 3471–3475.
48. Flöhé S.B., Brüggemann J., Lemdens S., Nikulina M., Meierhoff G., Flöhé S., Kolb H. Human heat shock protein 60 induces maturation of dendritic cells versus a Th1-promoting phenotype. *J. Immunol.* 2003, **170**, 2340–2348.
49. Ohashi K., Burkart V., Flohe S., Kolb H.: Cutting edge: heat shock protein 60 is a putative endogenous ligand of the toll-like receptor-4 complex. *J. Immunol.* 2000, **164**, 558–561.
50. Vabulas R.M., Wagner H., Schild H.: Heat shock proteins as ligands of toll-like receptors. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2002, **270**, 169–184.
51. Vabulas R.M., Ahmad-Nejad P., Ghose S., Kirschning C.J., Issels R.D., Wagner H.: HSP70 as endogenous stimulus of the Toll/interleukin-1 receptor signal pathway. *J. Biol. Chem.* 2002, **277**, 15107–15112.
52. Smiley S.T., King J.A., Hancock W.W.: Fibrinogen stimulates macrophage chemokine secretion through toll-like receptor 4. *J. Immunol.* 2001, **167**, 2887–2894.
53. Perera P.Y., Mayadas T.N., Takeuchi O, Akira S, Zaks-Zilberman M., Goyert S.M., Vogel S.N.: CD11b/CD18 acts in concert with CD14 and Toll-like receptor (TLR) 4 to elicit full lipopolysaccharide and taxol-inducible gene expression. *J. Immunol.* 2001, **166**, 574–581.
54. Means T.K., Wang S., Lien E., Yoshimura A., Golenbock D.T., Fenton M.J.: Human toll-like receptors mediate cellular activation by *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Immunol.* 1999, **163**, 3920–3927.
55. Kimoto M., Nagasawa K., Miyake K.: Role of TLR4/MD-2 and RP105/MD-1 in innate recognition of lipopolysaccharide. *Scand. J. Infect. Dis.* 2003, **35**, 568–572.
56. Young S.L., Lyddon T.D., Jorgenson R.L., Mifield M.L.: Expression of Toll-like receptors in human endometrial epithelial cells and cell lines. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2004, **52**, 67–73.
57. Song P.I., Park Y.M., Abraham T., Harten B., Zivony A., Neparidze N., Armstrong C.A., Ansel J.C.: Human keratinocytes express functional CD14 and toll-like receptor 4. *J. Invest. Dermatol.* 2002, **119**, 424–432.
58. Martin M., Michalek S.M., Katz J.: Role of innate immune factors in the adjuvant activity of monophosphoryl lipid A. *Infect. Immun.* 2003, **71**, 2498–2507.
59. Blander J.M., Medzhitov R.: Regulation of phagosome maturation by signals from toll-like receptors. *Science* 2004, **304**(5673), 1014–1018.
60. Hayashi F, Smith K.D., Ozinsky A., Hawn T.R., Yi E.C., Goddard D.R., Eng J.K., Akira S., Underhill D.M., Aderem A.: The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature*. 2001, **410**(6832), 1099–1103.
61. Niedźwiedzka P., Tokarz-Deptuła B., Deptuła W.: Znaczenie receptorów Toll-podobnych u zwierząt gospodarskich. *Med. Weter.* 2007, **63**, 900–903.
62. Gewirtz A.T., Navas T.A., Lyons S., Godowski P.J., Madara J.L.: Cutting edge: bacterial flagellin activates basolaterally expressed TLR5 to induce epithelial proinflammatory gene expression. *J. Immunol.* 2001, **167**, 1882–1885.
63. Hornung V., Rothenfusser S., Britsch S., Krug A., Jahrsdörfer B., Giese T., Endres S., Hartmann G.: Quantitative expression of toll-like receptor 1–10 mRNA in cellular subsets of human peripheral blood mononuclear cells and sensitivity to CpG oligodeoxynucleotides. *J. Immunol.* 2002, **168**, 4531–4537.
64. Okamura H., Rao A.: Transcriptional regulation in lymphocytes. *Curr. Opin. Cell. Biol.* 2001, **13**, 239–243.
65. Baker B.S., Ovigne J.M., Powles A.V., Corcoran S., Fry L.: Normal keratinocytes express Toll-like receptors (TLRs) 1, 2 and 5: modulation of TLR expression in chronic plaque psoriasis. *Br. J. Dermatol.* 2003, **148**, 670–679.
66. Miller L.S., Modlin R.L.: Human keratinocyte Toll-like receptors promote distinct immune responses. *J. Invest. Dermatol.* 2007, **127**, 262–263.
67. Reichhart J.M.: TLR5 takes aim at bacterial propeller. *Nat. Immunol.* 2003, **4**(12), 1159–1160.
68. Reis e Sousa C.: Activation of dendritic cells: translating innate into adaptive immunity. *Curr. Opin. Immunol.* 2004, **16**, 21–25.
69. Hemmi H, Kaisho T, Takeuchi O, Sato S, Sanjo H, Hoshino K, Horiuchi T, Tomizawa H, Takeda K, Akira S: Small anti-viral compounds activate immune cells via the TLR7/MyD88-dependent signaling pathway. *Nat. Immunol.* 2002, **3**, 196–200.
70. Schön M.P., Schön M.: Imiquimod: mode of action. *Br. J. Dermatol.* 2007, **157**(2), 8–13.
71. Lee J., Chuang T.H., Redecke V., She L., Pitha P.M., Carson D.A., Raz E., Cottam H.B.: Molecular basis for the immunostimulatory activity of guanine nucleoside analogs: activation of Toll-like receptor 7. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2003, **100**, 6646–6651.
72. Heil F, Ahmad-Nejad P, Hemmi H, Hochrein H, Ampenberger F, Gellert T, Dietrich H, Lipford G, Takeda K, Akira S, Wagner H, Bauer S.: The Toll-like receptor 7 (TLR7)-specific stimulus loxoribine uncovers a strong relationship within the TLR7, 8 and 9 subfamily. *Eur. J. Immunol.* 2003, **33**, 2987–2997.
73. Crozat K., Beutler B.: TLR7: A new sensor of viral infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2004, **101**, 6835–6836.
74. Menzies M., Ingham A.: Identification and expression of Toll-like receptors 1–10 in selected bovine and ovine tissues. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2006, **109**, 23–30.
75. Diebold S.S., Kaisho T., Hemmi H., Akira S., Reis e Sousa C.: Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA. *Science*. 2004, **303**(5663), 1529–1531.
76. Heil F, Ahmad-Nejad P, Hemmi H, Hochrein H, Ampenberger F, Gellert T, Dietrich H, Lipford G, Takeda K, Akira S, Wagner H, Bauer S.: The Toll-like receptor 7 (TLR7)-specific stimulus loxoribine uncovers a strong relationship within the TLR7, 8 and 9 subfamily. *Eur. J. Immunol.* 2003, **33**, 2987–2997.
77. Heil F, Hemmi H, Hochrein H, Ampenberger F, Kirschning C, Akira S, Lipford G, Wagner H, Bauer S.: Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. *Science*. 2004, **303**(5663), 1526–1529.
78. Lund J.M., Alexopoulou L., Sato A., Karow M., Adams N.C., Gale N.W., Iwasaki A., Flavell R.A.: Recognition of single-stranded RNA viruses by Toll-like receptor 7. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2004, **101**, 5598–5603.
79. Karikó K., Buckstein M., Ni H., Weissman D.: Suppression of RNA recognition by Toll-like receptors: the impact of nucleoside modification and the evolutionary origin of RNA. *Immunity*. 2005, **23**, 165–175.
80. Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, Kaisho T, Sato S, Sanjo H, Matsumoto M, Hoshino K, Wagner H, Takeda K, Akira S: A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature*. 2000, **408**(6813), 740–745.
81. Krug A., Towarowski A., Britsch S., Rothenfusser S., Hornung V., Bals R., Giese T., Engelmann H., Endres S., Krieg A.M., Hartmann G.: Toll-like receptor expression reveals CpG DNA as a unique microbial stimulus for plasmacytoid dendritic cells which synergizes with CD40 ligand to induce high amounts of IL-12. *Eur. J. Immunol.* 2001, **31**, 3026–3037.
82. Takeshita E., Leifer C.A., Gursel I., Ishii K.J., Takeshita S., Gursel M., Klinman D.M.: Cutting edge: Role of Toll-like receptor 9 in CpG DNA-induced activation of human cells. *J. Immunol.* 2001, **167**, 3555–3558.
83. Verthelyi D., Ishii K.J., Gursel M., Takeshita E., Klinman D.M. Human peripheral blood cells differentially recognize and respond to two distinct CPG motifs. *J. Immunol.* 2001, **166**, 2372–2377.
84. Hemmi H, Kaisho T, Takeda K, Akira S: The roles of Toll-like receptor 9, MyD88, and DNA-dependent protein kinase catalytic subunit in the effects of two distinct CpG DNAs on dendritic cell subsets. *J. Immunol.* 2003, **170**, 3059–3064.
85. Lund J., Sato A., Akira S., Medzhitov R., Iwasaki A.: Toll-like receptor 9-mediated recognition of Herpes simplex virus-2 by plasmacytoid dendritic cells. *J. Exp. Med.* 2003, **198**, 513–520.
86. Krug A., French A.R., Barchet W., Fischer J.A., Dzionek A., Pingel J.T., Orihuela M.M., Akira S., Yokoyama W.M., Colonna M.: TLR9-dependent recognition of MCMV by IPC and DC generates coordinated cytokine responses that activate antiviral NK cell function. *Immunity*. 2004, **21**, 107–119.
87. Barton G.M., Kagan J.C., Medzhitov R.: Intracellular localization of Toll-like receptor 9 prevents recognition of self-DNA but facilitates access to viral DNA. *Nat. Immunol.* 2006, **7**, 49–56.
88. Zyzak J., Matuszyk J., Siednienko J.: Wieloetapowy proces dojrzewania receptora Toll-podobnego 9. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2013, **67**, 1034–1046.
89. Coban C., Ishii K.J., Kawai T., Hemmi H., Sato S., Uematsu S., Yamamoto M., Takeuchi O., Itagaki S., Kumar N., Horii T., Akira S.: Toll-like receptor 9 mediates innate immune activation by the malaria pigment hemozoin. *J. Exp. Med.* 2005, **201**, 19–25.
90. Ishii K.J., Coban C., Kato H., Takahashi K., Torii Y., Takeshita E., Ludwig H., Sutter G., Suzuki K., Hemmi H., Sato S., Yamamoto M., Uematsu S., Kawai T., Takeuchi O., Akira S.: A Toll-like receptor-independent antiviral response induced by double-stranded B-form DNA. *Nat. Immunol.* 2006, **7**, 40–48.
91. Stetson D.B., Medzhitov R.: Recognition of cytosolic DNA activates an IRF3-dependent innate immune response. *Immunity*. 2006, **24**, 93–103.
92. Leadbetter E.A., Rifkin I.R., Hohlbaum A.M., Beaudette B.C., Shlomchik M.J., Marshak-Rothstein A.: Chromatin-IgG complexes activate B cells by dual engagement of IgM and Toll-like receptors. *Nature*. 2002, **416**, 603–607.
93. Zhang D., Zhang G., Hayden M.S., Greenblatt M.B., Bussey C., Flavell R.A., Ghosh S.: A Toll-like receptor that prevents infection by uropathogenic bacteria. *Science* 2004, **303**, 1522–1526.

Dr hab. Felix N. Toka, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Ciszewskiego 8, 02-787 Warszawa.