

**Tomasz Wandtke, Joanna Wielikdzień, Ewelina Wędrowska,
Maciej Gawroński, Arkadiusz Goede**

Studenckie Koło Naukowe Terapii Genowej
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu,
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy,
- opiekun naukowy dr hab. n. med. Piotr Kopiński

CD83 – NIEZIDENTYFIKOWANY MARKER UCIECZKI NOWOTWORU SPOD NADZORU IMMUNOLOGICZNEGO GOSPODARZA

Streszczenie

Komórki dendrytyczne (DC) odgrywają znaczącą rolę w pobudzaniu limfocytów, zwłaszcza dziewiczych, gdyż stanowią najsilniejszą frakcję komórek prezentujących antygen (APC, ang. Antigen Presenting Cells). Znaczącą rolę w dojrzewaniu DC pełni cząsteczka CD83, która jest jednocześnie ich markerem dojrzałości. Jej ekspresję odkryto, zarówno na innych prawidłowych komórkach APC, jak i na komórkach nowotworowych, co skłania do refleksji nad pytaniem, czy cząsteczka CD83 może brać udział w patogenezie tego rodzaju schorzeń.

Celem pracy była ocena częstości występowania cząsteczki CD83, w wybranych modelowych liniach ustalonych ludzkich nowotworów złośliwych (MDA-231 - rak sutka, TOV-112D - rak jajnika).

Wyniki otrzymano dzięki wykorzystaniu techniki immunofluorescencji bezpośredniej w połączeniu z odczytem w cytometrze przepływowym.

W wyniku przeprowadzonych badań odnotowano znaczną ekspresję formy CD83 zakotwiczonej w błonie na powierzchni komórek badanych linii ustalonych.

Przeprowadzone doświadczenia wskazują na możliwą rolę cząsteczki CD83 w patogenezie nowotworów. Jej wysoka ekspresja na powierzchni komórek, w połączeniu z możliwością jej „złuszczenia” z powierzchni komórki w formie rozpuszczalnej do mikrośrodowiska nowotworu może nasilać zjawisko immunosupresji w układzie immunologicznym i tym samym powodować ucieczkę nowotworu spod nadzoru immunologicznego organizmu gospodarza. W celu określenia dokładnej roli tytułowej cząsteczki niezbędne są dalsze badania.

Wstęp

Rozwój chorób nowotworowych

Występowanie chorób nowotworowych stanowi jedną z głównych przyczyn zgonów w Unii Europejskiej w ostatniej dekadzie. Podobne zjawisko obserwuje się także w Polsce.

Wśród głównych czynników predysponujących do wystąpienia tych groźnych dla ludzkiego życia chorób należy wymienić: długotrwałą ekspozycję na działanie czynników o charakterze rakotwórczym, a także w części przypadków dziedziczne nieprawidłowości w materiale genetycznym (mutacje genetyczne). Z drugiej strony, niekwestionowanym czynnikiem odpowiadającym za tak wysoką śmiertelność w tej grupie schorzeń często okazuje się zbyt późna diagnoza.

Choroby nowotworowe to szeroka grupa schorzeń. Ich wystąpienie, zawsze powiązane jest z pojawieniem się nieprawidłowości (mutacji) na poziomie materiału genetycznego pojedynczej komórki. Zmieniona nowotworowo, zmutowana, komórka to komórka „nieśmiertelna”, zdolna do ciągłych, niekontrolowanych przez organizm gospodarza podziałów. Często znacznie odbiega ona także morfologią od komórek otaczającej ją tkanki – nie podlega różnicowaniu. Utrata kontroli organizmu nad podziałami zmienionej komórki, wynika z mutacji genetycznych w jej materiale jądrowym. Zmiany te dotyczą najczęściej genów kodujących białka odpowiedzialne z regulację podziałowego cyklu komórkowego – protoonkogenów oraz antyonkogenów (tzw. genów supresorowych, czyli sekwencji kodujących białka hamujące propagację cyklu komórkowego). Równowaga ilościowa pomiędzy produktami jednych i drugich genów warunkuje prawidłowy przebieg cyklu. Jej zaburzenie, wywołane najczęściej aktywacją protoonkogenu, lub dezaktywacją genu supresorowego sprawia, że komórka nabywa kompetencji do niekontrolowanych podziałów i przestaje odpowiadać całkowicie lub nie odpowiada prawidłowo na bodźce regulacyjne docierające z organizmu gospodarza. W rzeczywistości, pojedyncza zmiana w materiale genetycznym nie wystarcza do transformacji komórki prawidłowej w komórkę nowotworową. Dopiero nagromadzenie kilku - kilkunastu mutacji sprawia, że dochodzi do transformacji. Jako że, ilość mutacji stopniowo narasta w czasie, stąd stosunkowo długi, ale jednocześnie bezobjawowy okres rozwoju choroby.

Immunologiczna odpowiedź przeciwnowotworowa

Naturalne mechanizmy odpornościowe stanowią wydajną i w większości przypadków wystarczającą linię obrony przed pojawiającymi się komórkami nowotworowymi. W prawidłowych warunkach, organizm gospodarza zdolny jest do całkowitej ich eliminacji. Głównym mechanizmem immunologicznym odpowiedzialnym za eliminację komórek zmienionych nowotworowo z organizmu

jest tzw. komórkowa odpowiedź odpornościowa z udziałem limfocytów T cytotoksycznych (Tc). Ważnym zjawiskiem, umożliwiającym eliminację pojedynczej komórki nowotworowej przez limfocyt Tc jest jego wcześniejsza aktywacja, przebiegająca w dwóch etapach (Gołąb i wsp., 2004).

Pierwszy sygnał aktywacji limfocyta Tc stanowi oddziaływanie białka CD8 z powierzchni limfocyta z cząsteczką Głównego Układu Zgodności Tkankowej typu I (MHC I, ang. Major Histocompatibility Complex) odpowiedzialnej za prezentowanie antygenów komórkowych na jej powierzchni. Drugi sygnał aktywacji stanowi oddziaływanie białka CD28 z powierzchni limfocyta z białkiem CD80 lub CD86 na powierzchni komórek APC lub innych komórek naszego ciała. Oba sygnały wywołują aktywację limfocyta Tc, uwolnienie jego ziarnistości cytotoksycznych (np. perforyny, granzymu) i w sprzyjających warunkach apoptozę, czyli śmierć komórki nowotworowej (Gołąb i wsp., 2004).

Cząsteczka CD83 – charakterystyka genu i białka

Ludzki gen kodujący CD83 wykazuje długość około 19000 par zasad i zlokalizowany jest na krótkim ramieniu chromosomu 6 w pozycji p23 (6p23). Na jego obszarze można wyznaczyć pięć odcinków kodujących (eksonów) rozdzielonych przez cztery odcinki niewykazujące takich właściwości (introny). Wynikiem transkrypcji tego rejonu DNA oraz następczego dojrzewania i translacji matrycowego RNA powstałego na jego podstawie jest białko o długości 205 reszt aminokwasowych i ciężarze molekularnym zbliżonym do 45 kDa (Bertchold i wsp., 1999).

Liczne analizy wykonane w celu dokładniejszego poznania tego białka wykazały obecność w jego sekwencji peptydu sygnałowego, który tworzony jest przez pierwszych 19 reszt oraz trzech domen: zewnątrzkomórkowej, błonowej i wewnątrzkomórkowej. Aminokwasy 20-144 formują pojedynczą zewnątrzkomórkową immunoglobulinopodobną domenę zmienną tego białka, która stała się podstawą zakwalifikowania CD83 do nadrodziny globulin odpornościowych. Domena transbłonowa odpowiadająca za kotwiczenia białka w błonie komórki przyjmuje strukturę helikalną i tworzona jest przez reszty aminokwasowe 145-166, zaś aminokwasy 167-205 tworzą domenę zlokalizowaną w jej wnętrzu. CD83 ulega potranslacyjnym modyfikacjom o charakterze lokalnej glikozylacji w pozycjach 79, 86, 96, 117 (Zhou i wsp., 1992; Zhou, Tedder 1995).

Występowanie cząsteczki CD83

CD83 to białko ulegające ekspresji u człowieka oraz niemal wszystkich pozostałych kręgowców, wliczając w to świnie, konie, pandy, szczury, myszy, psy, bydło oraz większość gatunków ryb (Lechmann i wsp., 2005).

CD83 to jeden z najbardziej charakterystycznych markerów powierzchniowych informujących o dojrzałości komórek dendrytycznych. W początkowym stadium ich rozwoju jest on nieobecny na ich powierzchni, natomiast jego gwałtowna ekspresja zachodzi tuż po aktywacji takiej komórki (Zhou, Tedder 1995).

Obecność białka CD83 na powierzchni błony komórkowej nie jest jednak cechą charakterystyczną i zarezerwowaną wyłącznie dla dojrzałych komórek dendrytycznych. Wysoką ekspresję tego białka obserwuje się także na aktywowanych makrofagach, które podobnie jak komórki dendrytyczne zaliczane są do populacji komórek zdolnych do profesjonalnego prezentowania antygenów. Różnica przejawia się w czasie ekspresji tej cząsteczki na powierzchni tych komórek, która jest znacząco krótsza w przypadku aktywowanych makrofagów. Wśród komórek charakteryzujących się ekspresją powierzchniową CD83 należy wymienić także wiele populacji komórek ludzkiego układu odpornościowego, takich jak: limfocyty B, neutrofile, prekursorzy granulocytów, subpopulacje limfocytów T. Jednak w żadnym z wymienionych przypadków nie jest to ekspresja o charakterze obfitym (Cao i wsp., 2005).

Błonowa i rozpuszczalna izoforma cząsteczki CD83

Według opublikowanych doniesień istnieją dwie izoformy białka CD83 – błonowa oraz rozpuszczalna. Pierwsza z nich, scharakteryzowana w tekście powyżej, przyjmuje postać białka zakotwiczonego w błonie komórki; druga przyjmuje formę rozpuszczalną, zdolną do przemieszczania się.

Forma rozpuszczalna wykrywalna jest w niewielkiej ilości w osoczu zdrowych osób, a jej poziom ulega znacznemu podniesieniu szczególnie w chorobach hematologicznych o złośliwym przebiegu oraz autoimmunologicznych takich jak reumatoidalne zapalenie stawów (Hock i wsp., 2009). Nie ustalono do tej pory w sposób jednoznaczny pochodzenia formy rozpuszczalnej tytułowego białka. Istnieje wiele teorii, z których najbardziej prawdopodobną wydaje się hipoteza sformułowana przez Hocka i jego współpracowników. Badacze proponują mechanizm proteolitycznej obróbki (pocięcia) formy błonowej CD83, w wyniku czego powstaje krótsza, rozpuszczalna forma tego markera, która „złuszczana” jest z powierzchni komórki do jej mikrośrodowiska (Hock i wsp., 2001).

Funkcje izoform cząsteczki CD83

Funkcje pełnione przez błonową oraz rozpuszczalną formę CD83, zgodnie z literaturą przedmiotu, wydają się być odmienne.

Forma błonowa prawdopodobnie pełni ważną funkcję w procesie aktywacji limfocytów T przez komórki dendrytyczne. Ich aktywacja, szczególnie populacji limfocytów T cytotoksycznych, odgrywa kluczową rolę w zwalczaniu komórek nowotworowych, a także w eliminacji komórek zainfekowanych wirusami. Wiele przeprowadzonych badań, opierających się na wyciszaniu ekspresji tytułowego markera dojrzałości komórek dendrytycznych techniką interferencji RNA, powodowało wyraźny spadek ich zdolności do pobudzania limfocytów (Prechtel i wsp., 2007).

Forma rozpuszczalna CD83, wydaje się pełnić całkowicie przeciwną rolę w porównaniu z formą kotwiczącą w błonie komórek. W licznych badaniach wykazano jej zdolność do obniżania aktywności układu odpornościowego.

Immunosupresja wywołana obecnością rozpuszczalnej formy CD83 wynika z jej hamującego wpływu na proces dojrzewania komórek dendrytycznych. W przeprowadzonych dotąd obserwacjach stwierdzono, że skutkowało to zaburzeniami tworzenia cytoszkieletu tych komórek co powodowało utratę ich charakterystycznego „neuronalnego” kształtu, a także niezdolność do syntezy odpowiednich cząsteczek powierzchniowych stanowiących naturalne ligandy dla limfocytów T. W przeprowadzonych dotąd badaniach zaobserwowano także niepokojącą korelację pomiędzy podwyższoną ekspresją rozpuszczalnej formy CD83 a krótszym okresem przeżycia chorych z przewlekłą białaczką limfocytową (Kotzor i wsp., 2004).

Ucieczka komórek spod nadzoru immunologicznego

Głównym powodem rozwoju chorób nowotworowych, jest zjawisko ucieczki komórek nowotworu spod opisanego w powyższych paragrafach nadzoru immunologicznego organizmu gospodarza. U podłoża tego procesu leży najczęściej jedna z poniższych kwestii:

a) zdarza się, że zmutowane komórki nowotworowe stają się niskoimmunogenne, tzn. nie prezentują w standardowym zakresie swoich antygenów komórkom układu odpornościowego. W sytuacji takiej nie jest możliwa wydajna aktywacja limfocytów Tc i tym samym nie dochodzi do niszczenia zmienionych nowotworowo komórek.

b) innym przykładem są mechanizmy polegające na ekspresji niewłaściwych białek na powierzchni komórki nowotworowej lub w jej otoczeniu co ma na celu dezintegrować układ immunologiczny i umożliwić uniknięcie odpowiedzi cytotoksycznej.

Wydaje się, że jednym z mechanizmów drugiego typu jest ekspresja cząsteczki CD83 na powierzchni komórki nowotworowej i następcze jej złuszczenie do otaczającego ją mikrośrodowiska. Naturalnie nie występuje ona w sposób liczny na powierzchni komórek innych niż profesjonalnie prezentujące antygeny - dojrzałe komórki dendrytyczne (jest to marker ich dojrzałości) oraz makrofagi. Wstępnie wykonane przez nas badania dowiodły stosunkowo obfitej obecności molekuł CD83, na powierzchni komórek nowotworów złośliwych, co wydaje się wpisywać w przedstawiony powyżej mechanizm ucieczki niektórych nowotworów spod nadzoru immunologicznego organizmu gospodarza. Przeprowadzone badania miały na celu ocenę częstości występowania tej molekuly na powierzchni różnych typów nowotworów o złośliwym charakterze.

Material i metoda

Ustalone ludzkie linie komórkowe

W celu wykonania doświadczeń mających na celu weryfikację założonych w pracy hipotez, jako materiał badawczy wykorzystano dwie ustalone ludzkie nowotworowe linie komórkowe:

- linię TOV-112D, która stanowiła model ludzkiego raka jajnika oraz
- linię MDA-MB-231, która stanowiła model ludzkiego raka sutka.

Ustalona ludzka linia raka jajnika została wyprowadzona w roku 1992 z tkanki pochodzącej od kobiety o francusko-kanadyjskich korzeniach. Cechą charakterystyczną tej linii jest brak delecji w chromosomie 3 w pozycji p24. Z kolei ustalona ludzka linia raka sutka została wyprowadzona w roku 1973 z fragmentów tkanki pochodzących od 51-letniej pacjentki rasy kaukaskiej. Cechą charakterystyczną tej linii komórkowej jest wyraźna nadekspresja dwóch czynników wzrostowych – naskórkowego czynnika wzrostu (EGF, ang. Epidermal Growth Factor) oraz transformującego czynnika wzrostu α (TGF- α , ang. Transforming Growth Factor- α).

Hodowla ustalonych linii komórkowych w warunkach *in vitro*

W pracy wykorzystano dwie wyżej scharakteryzowane ustalone nowotworowe linie komórkowe, raka jajnika (TOV-112D) oraz raka sutka (MDA-MB-231). Obie linie komórkowe wykazują charakter adherentny (komórki tych linii rosną jako przyklejone do podłoża).

Obie linie hodowano w warunkach sterylnych. W hodowli utrzymywano temperaturę 37°C (zbliżoną do temperatury wnętrza ludzkiego ustroju) i zapewniano dopływ 5% dwutlenku węgla (w celu zapewnienia odpowiedniej kwasowości środowiska). Linie TOV-112D oraz MDA-MB-231 hodowano w medium DMEM (Gibco BRL, nr kat. 4225). Medium hodowlane, stanowiące podstawowy roztwór substancji odżywczych, suplementowano płodową surowicą bydlęcą (zawiera dodatkowe białka ważne m.in. w procesie przyklejania się komórek do podłoża) (Gibco BRL, nr kat. 0596) do stężenia 10% oraz mieszaniną antybiotyków przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych (w celu zapobieżenia ewentualnym infekcjom w hodowli) (ATB, Gibco BRL, nr kat. 0967) do stężenia 1%. Dodatkowo medium hodowlane suplementowano mieszaniną insuliny, selenianu i transferynianu (ażeby – odpowiednio - pobudzić komórki do wzrostu, umożliwić pobieranie żelaza oraz zneutralizować wolne rodniki obecne w otoczeniu) (Gibco BRL, nr kat. 51300-044) do stężenia 1%.

Po uzyskaniu przez hodowle stanu semikonfluencji, przeprowadzono ich pasaż według standardowych procedur laboratoryjnych. W celu odklejenia komórek obu linii od podłoża hodowlanego stosowano roztwór trypsyny.

Znakowanie immunofluorescencyjne i odczyt w cytometrze przepływowym

W celu określenia częstości występowania molekuly CD83 związanej z błoną na powierzchni komórek obu linii, przeprowadzono znakowanie immunofluorescencyjne z następczym odczytem w cytometrze przepływowym.

Barwienie immunofluorescencyjne to jedna z wielu powszechnie stosowanych metod, pozwalająca na ocenę obecności białek lub jej braku zarówno wewnątrz jak i na powierzchni komórek. W metodzie tej wykorzystuje się specyficzne białka (tzw. przeciwciała monoklonalne, immunoglobuliny) zdolne do wiązania poszukiwanych białek docelowych (tzw. antygenów). Stosowane w tym celu przeciwciała znakowane są tzw. fluorochromami, czyli związkami chemicznymi zdolnymi do pochłaniania światła o określonej długości fali i emitowania fali światła o długości (barwie) innej niż fala wzbudzająca fluorochrom do emisji. Wśród najczęściej stosowanych fluorochromów należy wymienić: izotiocyanianfluoresceiny (FITC) emitujący światło o zielonej barwie oraz fikoerytrynę (PE) emitującą fluorescencję o kolorze czerwonym. Detekcja sygnału fluorescencyjnego może zachodzić przy użyciu mikroskopu fluorescencyjnego, lub jak ma to miejsce w przypadku opisywanego badania za pomocą cytometru przepływowego.

W celu oceny częstości występowania cząsteczki CD83 odczynom immunofluorescencyjnym z następczym odczytem w cytometrze przepływowym poddano obie ustalone linie komórkowe (TOV-112D oraz MDA-MB-231). Technika znakowania bezpośredniego z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych, wyznakowanych barwnikiem oceniano zewnątrzkomórkową ekspresję cząsteczek CD83 (Anti-Human CD83, BD Pharmingen, nr kat. 551058).

Znakowanie determinanty zewnątrzkomórkowej w badanych liniach przeprowadzono według następującej procedury: Do każdej z próbek podawano po 150000 komórek pochodzących z właściwej hodowli. Następnie dodawano do nich po 2,5 μ l przeciwciała monoklonalnego skierowanego przeciw błonowej molekule CD83, wyznakowanego barwnikiem. Tak sporządzone próbki krótko mieszano umieszczając je w worteksie i następnie poddawano je 30-minutowej inkubacji w temperaturze pokojowej oraz bez dostępu światła. Po inkubacji komórki przemywano 1,5 ml 0,1% roztworu soli fizjologicznej buforowanej fosforanami (PBS) z azydkiem sodu (w celu zapobieżenia wchłonięciu immunoglobulin przez komórki oraz odpłukaniu niezwiązanej przez nie porcji przeciwciał) (NaN_3 , ACROS, nr kat. ACRS19038) i poddawano wirowaniu (300 G przez 8 min). Supernatant usuwano, a uzyskany osad komórek zawieszano w 250 μ l 2% roztworu PBS z formaldehydem (w celu utrwalenia komórek wyznakowanych przeciwciałami) i analizowano następnie w cytometrze przepływowym. Równolegle według analogicznego schematu sporządzano izotypową próbę kontrolną (BD Pharmingen, IgG1 Pe nr kat. 555749).

Wyniki

Przeprowadzone za pomocą cytometru przepływowego analizy immunofluorescencyjne na obecność cząsteczek CD83 na powierzchni błony komórkowej badanych linii nowotworowych w obu przypadkach przyniosły pozytywne rezultaty. Szczególnie dużą ekspresję powierzchniową cząsteczki CD83 odnotowano na powierzchni komórek linii TOV-112D (rak jajnika). Wyniki pomiarów (uwzględniające: średnią, medianę, wartości minimalne i maksymalne odczytów z siedmiu dokonanych pomiarów oraz SEM) przedstawiono w tabeli 1.

Tab. 1. Ekspresja cząsteczki CD83 [wyrażona w % dodatnich komórek] oznaczona metodą cytometrii przepływowej

Linia komórkowa	Średnia	Mediana	Wartość MIN	Wartość MAX	SEM
TOV-112D	27,9	18,6	3,8	52	24,1
MDA-MB-231	14,5	8,6	3,3	31,7	8,7

Wnioski

Jak przedstawiono we wstępie niniejszego opracowania, cząsteczka CD83 stanowi marker dojrzałości komórek dendrytycznych. Pojawiając się na ich powierzchni uczestniczy on w stymulacji dziewiczych limfocytów T CD4⁺ oraz T CD8⁺, czyli pośredniczy w polaryzowaniu odpowiedzi odpornościowej.

Celem niniejszej pracy, opartym na wcześniejszych doniesieniach naukowych opisujących występowanie cząsteczki CD83 na powierzchni komórek nowotworowych różnego typu (m.in. raka płuca), była weryfikacja występowania tej molekuly na powierzchni ludzkich ustalonych linii nowotworowych raka sutka oraz jajnika, które nie zostały do tej pory w tym aspekcie zbadane.

W przeprowadzonych badaniach udowodniono znaczącą obecność cząsteczki CD83 (formy zakotwiczonej w błonie) na powierzchni komórek raka obu linii ustalonych. Z jednej strony przypuszcza się, że jej obecność może ułatwiać prezentację antygenów nowotworowych limfocytom T, szczególnie w sytuacji równoległego zwiększenia ekspresji molekuł kostymulujących z rodziny B.7 (CD80 oraz CD86). Z drugiej strony obecność cząsteczek CD83 na powierzchni błony komórkowej może świadczyć o zdolności komórek do jej „złuszczenia” z ich powierzchni (tworzenia formy rozpuszczalnej) i uwalniania jej do mikrośrodowiska nowotworu. Zgodnie z opublikowanymi danymi proces taki może doprowadzać do lokalnej dezintegracji działania układu immunologicznego i prowadzić do immunotolerancji wobec komórek nowotworowych. Można przypuszczać, że działanie takie stanowi jeden z wielu mechanizmów ucieczki komórek nowotworowych spod nadzoru immunologicznego organizmu gospodarza.

Wyniki przedstawionych analiz mają charakter wstępny i na tym etapie wymagają jedynie odnotowania. Niezbędne są dalsze badania w celu ich potwierdzenia, a także określenia roli cząsteczki CD83. Obecny stan wiedzy przedstawia

marker CD83 jako cząsteczkę ułatwiającą walkę z nowotworem lub wręcz przeciwnie indukującą stan immunosupresji, który jest niekorzystny w tym procesie. W celu oceny jej znaczenia zaplanowano dalsze analizy immunofluorescencyjne z następczym odczytem cytometrycznym dla molekuł kostymulujących z rodziny B.7 oraz immunoenzymatyczny test ELISA w celu weryfikacji obecności formy rozpuszczalnej (o działaniu immunosupresyjnym) w nadsączach pochodzących z hodowli *in vitro* ustalonych ludzkich linii nowotworów złośliwych.

Piśmiennictwo

1. Berchtold S., Jones T., Muhl-Zurbes P. (1999), The human dendritic cell marker CD83 maps to chromosome 6p23, *Ann.Hum.Genet.*, 63: 181-183.
2. Cao W., Lee S. H., Lu J. (2005), CD83 is preformed inside monocytes, macrophages and dendritic cells, but it is only stably expressed on activated dendritic cells, *Biochem. J.*, 385: 85-93.
3. Gołąb J., Jakóbisiak M., Lasek W. (2004), *Immunologia*, Wyd. 4, PWN, Warszawa: 528-529; 157-158.
4. Hock B. D., Fernyhough L. J., Gough S. M. (2009), Release and clinical significance of soluble CD83 in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk. Res.*, 33: 1089-1095.
5. Hock B. D., Kato M., McKenzie J. L., Hart D. N. (2001), A soluble form of CD83 is released from activated dendritic cells and B lymphocytes, and is detectable in normal human sera, *Int. Immunol.*, 13: 959-967.
6. Kozor N., Lechmann M., Zinser E., Steinkasserer A. (2004), The soluble form of CD83 dramatically changes the cytoskeleton of dendritic cells, *Immunobiology*, 209: 129-140.
7. Lechmann M., Kozor N., Zinser E. (2005), CD83 is a dimer: Comparative analysis of monomeric and dimeric isoforms. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 329: 132-139.
8. Prechtel A. T., Turza N. M., Theodoridis A. A., Steinkasserer A. (2007), CD83 knockdown in monocyte-derived dendritic cells by small interfering RNA leads to a diminished T cell stimulation, *J. Immunol.*, 178: 5454-5464.
9. Zhou L. J., Schwarting R., Smith H. M., Tedder T. F. (1992), A novel cell-surface molecule expressed by human interdigitating reticulum cells, Langerhans cells, and activated lymphocytes is a new member of the Ig superfamily, *J. Immunol.*, 149: 735-742.
10. Zhou L. J., Tedder T. F. (1995), Human blood dendritic cells selectively express CD83, a member of the immunoglobulin superfamily, *J. Immunol.*, 154: 3821-3835.