

Komórki T regulatorowe i ich udział w patogenezie wybranych chorób

Regulatory T cells and their role in etiology of selected diseases

mgr Ewa Polkowska, dr hab. n. med. Anna Stasiak-Barmuta

Zakład Immunologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

Kierownik Zakładu: dr hab. n. med. Anna Stasiak-Barmuta

Streszczenie: Limfocyty T regulatorowe (Tregs) stanowią niejednorodną grupę komórek odpowiedzialnych za regulację odpowiedzi immunologicznej i odgrywają kluczową rolę w procesach nabywania tolerancji immunologicznej na drodze aktywnej supresji. Jak dotąd sklasyfikowano kilka subpopulacji komórek regulatorowych, z których do najważniejszych należą limfocyty CD4⁺CD25⁺, limfocyty Th3 i Tr1 oraz komórki NK. Komórki CD4⁺CD25⁺, które hamują proliferację i uwalnianie prozapalnych cytokin przez komórki efektorowe i/lub bezpośrednio hamują komórki prezentujące antygen, stanowią najlepiej poznany typ komórek regulatorowych. Inne subpopulacje komórek Tregs o podobnym mechanizmie działania, generowane na obwodzie to komórki Tr1, wytwarzające głównie IL-10, oraz komórki Th3, wytwarzające w przewodzie TGF-β. Eksperymentalne badania in vivo wykazały, że brak komórek regulatorowych może doprowadzić do powstania narządowo swoistych i nieswoistych chorób autoimmunologicznych takich jak zapalenie tarczycy, nieżyt żołądka, reumatoidalne zapalenie stawów, toczeń rumieniowaty układowy oraz alergicznych i nowotworowych chorób, podczas gdy dodanie populacji tych komórek może zapobiegać ich wystąpieniu lub opóźniać je. Pełne zrozumienie fizjologii tych komórek w istotny sposób wyjaśniłoby mechanizm kontroli aktywności układu immunologicznego, a farmakologiczna lub immunologiczna modyfikacja ich funkcji może w przyszłości posłużyć jako forma immunoterapii.

Abstract: Regulatory T cells (Tregs) are a phenotypic diverse group of cells responsible for regulation of immune response and play a key role in developing immune tolerance through active suppression. So far, several subtypes of regulatory lymphocytes have been classified, the most important of them being CD4⁺CD25⁺, Th3, Tr1 lymphocytes and NK cells. The CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells that suppress proliferation and the releasing of proinflammatory cytokines from effector cells and/or directly inhibit antigen presenting cells, represents the most studied immunoregulatory cell type. Other subsets of Tregs cells with a very similar mechanism of action are generated in periphery, there are Tr1 cells which predominantly produce IL-10 and Th3 cells which predominantly produce TGF-β. Experimental in vivo studies have demonstrated that the absence of regulatory T cells can leads to organ and non-organ-specific autoimmune diseases such as thyroiditis, gastritis, rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus or allergic and neoplastic diseases to occur, whereas the addition of this cell population can prevent or delay these diseases. Full understanding of physiology of these cells will be helpful in explaining mechanisms important in controlling the immune system activity, and the immunologic or pharmacologic modification of their function may be useful in the future as a new approach to immunotherapy.

Słowa kluczowe: komórki T regulatorowe, komórki Th3, komórki Tr1, choroba autoimmunologiczna

Key words: regulatory T cells, Th3 cells, Tr1 cells, autoimmune disease

Limfocyty T regulatorowe o aktywności komórek supresorowych scharakteryzowano po raz pierwszy we wczesnych latach siedemdziesiątych ubiegłego wieku i początkowo zlekceważono je jako komórki bez wyraźnej charakterystyki fenotypowej

oraz czynnościowej. Renesans zainteresowania komórkami Tregs nastąpił po opisanu przez Sakaguchiego i wsp. charakteryzującego te komórki receptora CD25 i czynnika transkrypcyjnego Foxp3. Od tego czasu liczne grupy naukowców starają się sprecyzować

charakterystykę tak fenotypową, jak i czynnościową komórek CD4⁺CD25⁺, określić ich rolę w procesie tolerancji i agresji, miejsce w patogenezie chorób o podłożu autoimmunologicznym czy nowotworowym.

Podstawową funkcją komórek T regulatorowych jest zapobieganie reakcjom autoagresji poprzez nabytą w procesie dojrzewania wewnątrzgrasiczego zdolność hamowania autoreaktywnych limfocytów T. Obserwacje poczynione na zwierzęcym modelu doświadczalnym dowiodły roli komórek Tregs w hamowaniu reakcji autoagresji i ograniczaniu stanu zapalnego, a także w hamowaniu odpowiedzi przeciwnowotworowej [1].

Klasyczny podział komórek T regulatorowych obejmuje 2 subpopulacje: rekrutowane z grasicy naturalne komórki regulatorowe (nTregs) oraz komórki obwodowe, tzw. indukowane komórki regulatorowe (iTregs).

Komórki T regulatorowe wykazują ekspresję m.in. takich receptorów: CD4, CD25 (łańcuch α receptora IL-2), Foxp3, CD122 (łańcuch β receptora IL-2), CD27 (TNFR – receptor czynnika martwicy nowotworu), GITR (indukowany przez glukokortykoidy receptor czynnika martwicy nowotworu), TNFR SF18 (czynnik martwicy nowotworu rodziny 18), CTLA-4 (antygen 4-cytotoksycznego limfocyty T), cząsteczek adhezyjnych (CD11a, CD44, CD103), ekspresję receptorów chemokin (CCR4, CCR8), selektyny CD62L, receptora folianu FR4 oraz niską ekspresję receptora CD127 (łańcuch α receptora IL-7 i limfopoetyna zrębu grasicy) [2, 3].

Antygen CTLA-4, którego ekspresję powierzchniową stwierdzono zarówno na naturalnych, jak i indukowanych komórkach Tregs, bierze udział w przeniesieniu wewnątrzkomórkowego sygnału hamującego, tym samym wspomaga supresorową czynność tych komórek. Doświadczenia prowadzone na zwierzęcym modelu doświadczalnym, myszy z wyłączonym receptorem CTLA-4, dowiodły jednak braku bezpośredniego wpływu tego receptora na aktywność supresyjną limfocytów Tregs. U myszy tzw. CTLA-4 „knockout” obecność komórek Tregs zdaje się warunkować ich zdolność do wyrażania supresji mimo wczesnej silnej autoimmunizacji [4, 5].

Na szczególną uwagę zasługuje, uznawany za najbardziej charakterystyczny marker limfocytów Tregs, czynnik transkrypcyjny rodziny *forkhead* – Foxp3, którego istotną, utrzymującą się na wysokim poziomie ekspresję wykazano na nTregs CD4⁺CD25^{hi} u ludzi i myszy.

Badania Rudensky'ego i wsp. przeprowadzone na modelu myszy z wyłączonym receptorem Foxp3,

tzw. myszy Foxp3^{gfp} „knockin”, dowiodły udziału receptora Foxp3 w wewnątrzgrasiczym procesie dojrzewania i różnicowania limfocytów Tregs w koekspresji z receptorem TCR oraz restrykcji MHC komórek zrębu grasicy. W procesie tym kształtowane jest zjawisko tolerancji immunologicznej, określane mianem anergii wobec antygenów własnych [6].

Techniki immunoprecypitacji chromatyny i analizy szeregu genomu modeli myszy „knockin” pozwoliły wyodrębnić receptory Foxp3 o różnym wpływie na grasiczopochodne i obwodowe komórki T. Pobudzenie receptora Foxp3 może skutkować zarówno aktywacyjną, jak i supresyjną funkcją limfocytów Tregs na komórki efektorowe poprzez modyfikację aktywności innych czynników transkrypcyjnych oraz pobudzenie cząstek adhezyjnych tak w grasicy, jak i na obwodzie.

Ekspresja Foxp3 jest ściśle powiązana z aktywnością receptora TCR i, jak wskazują ostatnie doniesienia, w otoczeniu TCR istnieją swoiste cząsteczki podlegające wpływom Foxp3.

Dowiedziano, że mutacja genu Foxp3 powoduje zatrzymanie syntezy skurfiny, stanowiącej produkt genu, potrzebnej do generowania komórek regulatorowych CD4⁺CD25⁺, i w konsekwencji powstanie autoimmunologicznego limfoproliferacyjnego zaburzenia u ludzi, znanego pod nazwą *zespół IPEX (immunodysregulation polyendocrinopathy enteropathy X-linked syndrome)* – sprzężona z chromosomem X poliendokrynopatia [2, 3].

Dowiedziano, że ekspresja receptora Foxp3 charakteryzuje nie tylko komórki nTregs. Myszim modelem ludzkiego zespołu niedoboru komórek Tregs, dziedzicznego z chromosomem X (IPEX), są zwierzęta foxp3^{-/-}. U zwierząt tych wykazano nie tylko prawidłową liczbę komórek T regulatorowych CD4⁺CD25^{high} (o różnym stopniu aktywności supresyjnej), lecz także znacznie ograniczoną aktywność efektorowych komórek T mierzoną wielkością syntezy IL-2 pod wpływem stymulacji CD3/CD28. Również w wielu badaniach przeprowadzonych w warunkach *in vitro* wykazano, że limfocyty CD4⁺CD25⁻, prawie wszystkie aktywowane limfocyty T CD4⁺ i CD8⁺, limfocyty iTregs ekspozowane na działanie silnych stymulatorów, takich jak przeciwciała anti-CD3 lub alloantygeny, czy na działanie antygenów konwencjonalnych, takich jak toksoid tężca lub peptydy cytomegalowirusa, mogą przejściowo (do około 14 dni) wyrażać ekspresję receptora Foxp3 [7–9].

Przejściowa indukcja receptora Foxp3 nie wiąże się jednak z wyrażaniem przez te komórki klasycznych dla komórek Tregs funkcji – anergii lub supresji, po-

nieważ takie działanie gwarantuje tylko stała ekspresja receptora Foxp3 [4, 6–9].

Dlatego też w obecności antygenów wirusowych ekspresja receptora Foxp3 na komórkach nTregs nie jest konieczna. Dodatkowym potwierdzeniem powyższych obserwacji są badania, w których dowiedziono, że TGFβ1 może indukować ekspresję Foxp3 na obwodowych komórkach T CD4⁺CD25⁻Foxp3⁻.

Niemniej, w odróżnieniu od mysich modeli doświadczalnych, ludzkie komórki T, na których Foxp3 indukowany jest po aktywacji TCR w obecności TGFβ1, nie wyrażają ani anergii, ani supresji [10, 11].

W przypadku nieobecności TGFβ1 Foxp3 może służyć za użyteczny wskaźnik odróżniający limfocyty nTregs od innych limfocytów CD4⁺. Niemniej w modelu przewlekłej infekcji, w którym limfocyty T są ciągle stymulowane, ludzka populacja limfocytów Foxp3⁺ zawiera dodatkowe subpopulacje i identyfikuje się je raczej na podstawie ekspresji wykładników aktywacji. W przebiegu infekcji wirusowej epitopy antygenowe rozpoznawane są przez swoiste limfocyty CD4 i CD8, kolejno wyrażają ekspresję Foxp3 i wykazują funkcję supresorową. Dlatego też nasuwa się pytanie o wpływ ekspresji Foxp3 na czynność supresorową Tregs [11].

Komórki regulatorowe, które można wytworzyć *in vitro*, poprzez transfer genu Foxp3 do komórek dziewiczych mają zdolność kontroli procesów autoimmunologicznych i procesu odrzucania przeszczepu, co w przyszłości może odegrać istotną rolę w terapii. Ukazały się publikacje, wg których w modelu doświadczalnym transfer genu Foxp3 do komórek CD4⁺CD25⁻ hamował rozwój autoimmunologicznego zapalenia jelit.

Chociaż podjęto wiele prób, jak dotychczas nie scharakteryzowano dla komórek Tregs unikalnych receptorów powierzchniowych. Jedyną odróżniającą je cechą jest stały, wysoki poziom ekspresji podjednostki α receptora IL-2 (IL-2Rα) – cząsteczki CD25, co odróżnia komórki nTregs od zaktywowanych komórek z populacji CD4⁺ i CD8⁺, wykazujących niższą i tylko przejściową ekspresję tego receptora. Dlatego też uznana metodą zapewniającą otrzymanie czystej populacji komórek nTreg jest izolacja limfocytów CD4⁺ z koekspresją receptora CD25 [6].

Dodatkowo hodowle limfocytów T, w których stosuje się medium wzbogacone w cytokiny syntetyzowane przez limfocyty Th1 czy Th2 oraz używa medium z przeciwciałami monoklonalnymi hamującymi działanie cytokin, pozwalają odróżnić komórki nTregs/pTregs od iTregs, Th2 od iTregs oraz Tr1 od Th3.

W ostatnich latach zaproponowano kilka mechanizmów, przez które komórki Tregs mogą wpływać

na funkcje efektorowych limfocytów CD4⁺. Pierwszy z nich polega na pobudzeniu receptorów TCR i CD28, co powoduje aktywację czynników transkrypcyjnych NF-AT, NFκB i AP-1 oraz transkrypcję genu IL-2. Drugi zakłada bezpośredni wpływ Foxp3 na TCR-zależną aktywację, w której Foxp3 blokuje receptor TCR poprzez hamowanie aktywności czynników transkrypcyjnych NF-AT, NFκB i AP-1. Jeszcze inny sugeruje pośredni wpływ receptora Foxp3 na regulację siły sygnału TCR poprzez sekrecję czynników hamujących. Receptory CD28 wraz z CD40 zaliczane są do klasycznych cząsteczek kostymulacyjnych, które czuwają nad wewnątrzgraniczym dojrzewaniem i obwodową homeostazą komórek nTregs oraz utrzymują stabilną rezerwę poprzez promowanie ścieżki samoodnowy obwodowych Tregs [12].

Z kolei IL-2, choć nie jest niezbędna do różnicowania się nTregs w grasicy, odgrywa rolę czynnika wzrostu dla komórek T i jest niezbędna do utrzymania i funkcjonowania Tregs w warunkach *in vivo* oraz zachowania obwodowej supresji. Ponieważ nTregs nie syntetyzują IL-2, ich aktywacja jest zależna od obecności limfocytów efektorowych T (Teff) wytwarzających IL-2 [2].

Efektem braku wyłączenia allelicznego TCRα jest powstanie na komórkach T dwóch różnych receptorów TCR, których ekspresja współgra z wysoką ekspresją Foxp3. Dychotomia ta przyczynia się do zwiększenia przeżywalności komórek T zdolnych do wyrażania reakcji autoagresywnych [4].

Wyrażanie aktywności supresyjnej komórek T regulatorowych wymaga bezpośredniego kontaktu komórkowego, w którym uczestniczą cząsteczki powierzchniowe, m.in. CTLA-4, GITR czy PD-1. CTLA wiąże antygen CD80/CD86 obecny na komórkach APC i aktywuje IDO-zależne (2,3-deoksygenaza inoloaminy) powstawanie tryptofanu, którego obniżone stężenie ogranicza aktywność limfocytów T. Komórki Tregs syntetyzują też cytokiny IL-10 i TGF-β wykazujące właściwości immunosupresyjne. W mechanizmie wzajemnych oddziaływań obserwowano udział limfocytów Tregs komórek dendrytycznych wytwarzających cytokiny.

We wczesnej fazie interakcji limfocytów T z komórkami dendrytycznymi limfocyty CD4⁺CD25⁺ stymulują komórki dendrytyczne do syntezy małych dawek IL-6 oraz dużych IL-10 i w warunkach *in vivo* hamują kontakt tych komórek [13].

W kolejnym etapie limfocyty T CD4⁺CD25⁺ silnie hamują mediowane receptorami TLR dojrzewanie mieloidalnych, lecz nie plazmacytowych, komórek dendrytycznych poprzez tłumienie ekspresji cząsteczek

kostymulacyjnych, blokowanie syntezy cytokin prozapalnych oraz stymulację wytwarzania IL-10 [14].

Zaobserwowano również nasilenie się aktywności supresyjnej komórek Tregs pod wpływem cAMP (3'5'-cykliczny adenozyńmonofosforan) i adenozyń. cAMP hamuje proliferację efektorowych komórek T oraz syntezę IL-2, natomiast adenozyń hamuje odpowiedź limfocytów T. Dotychczas nie zdefiniowano jednak swoistego źródła tych metabolitów dla komórek Tregs [15].

Ze wszystkich typów komórek regulatorowych najlepiej poznana grupę tworzą naturalnie występujące komórki Tregs CD4⁺CD25⁺. W populacji ludzkich komórek CD4⁺ ok. 2–4%, a według innych autorów do 10%, stanowią CD4⁺CD25^{high}, a ok. 30% komórki CD4⁺CD25^{low} (o niskiej ekspresji receptora dla IL-2). Wyizolowane z krwi obwodowej komórki regulatorowe o wysokiej ekspresji receptora CD25 są stosunkowo jednorodnie fenotypowo. U ponad 95% z nich stwierdza się powierzchniową ekspresję receptorów, m.in. CD45RO (komórki pamięci), CD62L (L-selektyna), HLA-DR (antygen zgodności tkankowej klasy II), CD71 (receptor transferyny), Foxp3, CTLA-4, GITR, oraz cząstek adhezyjnych (CD11a, CD44, CD54, CD103) [5].

Jedną z cech charakteryzujących komórki nTregs jest wyrażanie supresji ograniczonej nie tylko do limfocytów T z tymi samymi receptorami, lecz do limfocytów z różną swoistością receptorową, a efekt ten określa się mianem *efekt świadka (bystander suppression)* [16].

Podczas gdy nTregs charakteryzują się dużym repertuarem receptorów T, swoistych wobec antygenów własnych, i hamują aktywność komórek efektorowych na drodze bezpośredniego kontaktu komórka-komórka, to indukowane lub adaptacyjne Tregs (iTregs) rozwijają się z prekursorów naiwnych komórek T (populacje CD4⁺CD25⁺Foxp3⁻) w obwodowych narządach limfatycznych po ekspozycji na antygeny lub pod wpływem cytokin immunosupresyjnych, takich jak np. TGF-β.

Populacja komórkowa iTregs składa się z subpopulacji swoistej wobec antygenów własnych i nieswoistych wobec antygenów własnych rozpoznających antygeny własne i obce oraz hamujące różne subpopulacje komórkowe poprzez syntezę TGF-β (Th3) czy IL-10 (Tr1) [7, 16].

Aktywność supresyjna tych cytokin wyraża się przede wszystkim wobec komórek dendrytycznych i redukuje ekspresję receptorów MHC klasy II oraz cząstek kostymulacyjnych na ich powierzchni, hamuje syntezę IL-12, IL-6 i TNF-α oraz stymuluje wydzielanie IL-10 [13, 14], indukuje domenę V zawierającą in-

hibitor aktywacji limfocyta T (*V-set domain containing T-cell activation inhibitor 1*; inaczej B7H4) [17].

Komórki Tregs Tr1 poprzez powierzchniową ekspresję receptora CTLA-4 oraz zjawisko anergii w warunkach in vitro wykazują fenotypowe podobieństwo do nTregs, jednak nie cechuje ich wysoki poziom ekspresji cząstek CD25 czy Foxp3 oraz nie pośredniczą one w supresji poprzez kontakt komórka-komórka [18].

Komórki Tr1 mogą być generowane w warunkach in vitro poprzez stymulację naiwnych komórek CD4⁺ w środowisku wzbogaconym w IL-10 [19], dekstetazon i witaminę D3 [20], przeciwciała monoklonalne anti-CD45RO/RB [21], komórki APC z ekspresją receptora CD58 (ligand CD2) [22], niedojrzałe, mieloidalne komórki dendrytyczne [13] oraz APC z koekspresją receptorów CD58 i CD80 w środowisku IL-10 i IFN-α [19].

W badaniach przeprowadzonych na modelu myszy chorych na cukrzycę, poddanych transplantacji wysepki trzustkowej, generowanie komórek Tr1 obserwowano po podaniu im kombinacji IL-10 i rapamycyny [23].

Komórki Tr1 są zdolne do wytwarzania dużych ilości IL-10 pod wpływem powtarzalnej ekspozycji na antygeny. Synteza IL-10 przez Tr1 może być powiązana także z wytwarzaniem TGF-β [19].

Stymulacja komórek CD4⁺ pochodzących z krwi pępowinowej niedojrzałymi allogenicznymi komórkami dendrytycznymi skutkuje wzrostem syntezy IL-10 w komórkach Tr1 [24].

Podanie antygeny drogą doustną stymuluje aktywność innej subpopulacji komórek iTregs – komórek Th3. Th3, podobnie jak nTregs, wykazują powierzchniową ekspresję CTLA-4, ale w odróżnieniu od nich ich główny mechanizm supresyjny warunkowany jest syntezą TGF-β. Stwierdzono, że dodanie TGF-β do hodowli prekursorów mysich komórek T pobudza indukcję komórek Th3, a obecność IL-4 oraz IL-10 może dodatkowo pobudzać ich wzrost i rozwój. Aktywność supresyjna TGF-β wyraża się głównie wobec komórek Th1 i Th2, w mechanizmie hamowania ich zdolności proliferacji, utrata zaś zdolności syntezy TGF-β przez komórki Th3 skutkuje spadkiem ich czynności regulatorowej, co zostało dowiedzione zarówno u ludzi, jak i u myszy. TGF-β może wpływać na czynność wielu typów komórek, dlatego komórki Th3 wydzielające tę cytokinę odgrywają kluczową rolę w regulacji odporności oraz w utrzymaniu homeostazy komórek T [25].

Populacja komórkowa pTregs zawiera po części charakterystykę dwóch opisanych powyżej subpopulacji, nTregs i iTregs, co przedstawiono na modelu

myszy RAG^{-/-}. Inaczej niż w przypadku klasycznych komórek regulatorowych nTregs generowanie antygenowo-swoistych pTregs zależy od obecności IL-2 [26].

Oprócz komórek nTregs i iTregs także inne komórki mogą odgrywać istotną rolę w immunoregulacji, m.in. limfocyty typu naturalnego zabójcy (NKT), komórki T $\gamma\delta$, komórki regulatorowe CD8⁺CD28⁻ czy grasiczopochodne komórki T CD8⁺CD25⁺ [18].

Komórki T typu naturalnego zabójcy (NKT), zaliczane do komórek regulatorowych, charakteryzują się unikatową zdolnością rozpoznawania glikolipidów prezentowanych przez CD1d, nietypową cząsteczkę prezentującą. Stanowią grupę komórek uczestniczących w reakcjach odporności wrodzonej, wykazują działanie przeciwwirusowe, antybakteryjne, przeciw pasożytnicze oraz przeciwnowotworowe. Działanie przeciwnowotworowe komórek NKT polega na syntezie cytokin: TNF i IFN, oraz czynników blokujących proces angiogenezy guzów litych, a także na wywołaniu lizy komórek nowotworowych.

Pod wpływem stymulacji, komórki NKT wykazują zdolność syntezy cytokin profilu zarówno Th1, jak i Th2, które odgrywają znaczącą rolę w modulacji czynności innych komórek efektorowych obejmujących m.in. komórki T CD4⁺ i CD8⁺ czy komórki B [27].

Wielorakie efekty działania tych komórek mogą wynikać z różnic między regulacją czy rozmieszczeniem różnych subpopulacji, charakteryzowanych według kryterium ekspresji powierzchniowych cząsteczek CD4 i CD8. W zależności od profilu wydzielanych cytokin (Th1 lub Th2) aktywacja komórek NKT może hamować lub nasilać odpowiedź immunologiczną. CD4⁺CD8⁻ NKT syntetyzują cytokiny zarówno typu Th1, jak i Th2, natomiast limfocyty CD4⁺CD8⁺ i CD4⁻CD8⁻NKT wytwarzają przede wszystkim cytokiny typu Th1.

Rozwój złożonych odpowiedników, z potencjalnie różnymi zdolnościami stymulacji NKT, stwarza ogromne możliwości zastosowania ich w terapii chorób autoagresywnych, infekcyjnych czy nowotworowych [28].

Udział limfocytów regulatorowych w patogenezie wybranych chorób

Wśród mechanizmów odgrywających rolę w utrzymaniu obwodowej tolerancji populacja naturalnie występujących komórek Tregs CD4⁺CD25⁺ czynnie zapobiega aktywacji i efektorowemu działaniu autoreaktywnych komórek T.

Wiele badań przeprowadzonych na zwierzęcych modelach doświadczalnych oraz na ludziach potwierdziło znaczenie CD4⁺ Tregs w patogenezie wielu chorób autoimmunologicznych.

Komórki te odgrywają kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy T-komórkowej przez hamowanie proliferacji komórek efektorowych.

Eksperymentalne badania *in vivo* dowiodły, że brak Tregs przyczynia się do rozwoju chorób autoimmunologicznych, m.in. takich jak zapalenie tarczycy, nieżyt żołądka, reumatoidalne zapalenie stawów, toczень rumieniowaty układowy czy cukrzyca typu 1, podczas gdy wzbogacenie puli komórek w limfocyty Tregs zapobiega rozwojowi lub spowalnia przebieg tych chorób [29].

Wyniki badań odnoszące się do roli Tregs w chorobach autoimmunologicznych są niejednorodne, a przyczyn tego upatruje się po części w fakcie, że badania przeprowadzono w różnych fazach chorób oraz podczas trwającego leczenia. Dodatkową trudność w określeniu roli limfocytów Tregs w patogenezie chorób autoagresywnych stanowi brak jednoznacznego, charakteryzującego je receptora i wynikający z tego problem, jak odróżnić komórki Tregs od aktywowanych limfocytów T-efektorowych.

W licznych badaniach klinicznych stwierdzono zmniejszony odsetek komórek Tregs we krwi obwodowej pacjentów z aktywną postacią reumatoidalnego zapalenia stawów w odniesieniu do analogicznych wartości ocenianych u osób zdrowych. Nie zaobserwowano natomiast znaczących różnic w czynności supresorowej komórek Tregs w obu grupach badanych. U pacjentów chorujących na reumatoidalne zapalenie stawów większy odsetek komórek CD4⁺CD25⁺ Tregs stwierdzano we krwi obwodowej w stosunku do analogicznych wartości ocenianych w płynie maziowym [30].

Dotychczasowe badania nie wyjaśniają, dlaczego mimo obecności komórek Tregs w ognisku choroby nie dochodzi do jej wygaszenia. Jak dotąd wykazano, że limfocyty Tregs obecne w miejscu toczącego się procesu zapalnego – w stawach – nie są zdolne do hamowania funkcji limfocytów T-efektorowych. Jedną z hipotez zakłada prawdopodobne antagonistyczne działanie TNF- α , cytokiny występującej w dużym stężeniu w zapalnie zmienionej tkance stawowej. Dowodem na potwierdzenie tej hipotezy są doświadczenia, w których dowiedziono mniejszej wrażliwości komórek efektorowych wyizolowanych z ogniska zapalnego na supresyjne działanie limfocytów regulatorowych w porównaniu z limfocytami efektorowymi obecnymi w krążeniu [31].

Komórki Tregs odgrywają znaczącą rolę w patofizjologii chorób alergicznych oraz znajdują zastosowanie w ich leczeniu. Dowiedziono, że komórki Tr1 są zdolne do hamowania w obrębie dróg oddechowych odpowiedzi typu Th1 i Th2 oraz wpływają na nadreak-

tywność oskrzeli. U chorych poddanych immunoterapii swoistej już na wczesnym etapie leczenia obserwuje się wzrost wartości odsetkowych i bezwzględnych komórek Tr1, co przypisuje się stymulacji wysokimi i wzrastającymi dawkami alergenu.

Komórki CD4⁺CD25⁺ Tregs poprzez zablokowanie syntezy IL-4 hamują dojrzewanie komórek Th2, dodatkowo wywołują supresję odpowiedzi Th2 w obrębie dróg oddechowych oraz hamują rozwój zapalenia eozynofilowego [32].

W patogenezie chorób alergicznych rola limfocytów Tregs wydaje się znacząca, u osób chorych obserwuje się bowiem obniżoną liczbę limfocytów CD4⁺CD25⁺ w stosunku do analogicznych wartości ocenianych u osób zdrowych bez astmy i alergii. Deplecja komórek CD4⁺CD25⁺ u osób zdrowych skutkuje wzmożoną proliferacją i aktywnością limfocytów Th2 w odpowiedzi na stymulację alergenami mleka, niklu, traw, co dowodzi aktywnej funkcji supresyjnej komórek CD4⁺CD25⁺ wobec Th2 [33].

Innych danych dostarczyły badania przeprowadzone u pacjentów z atopowym zapaleniem skóry, u których obserwowano paradoksalnie podwyższoną liczbę i prawidłową aktywność supresyjną limfocytów nTregs. Coraz więcej badań wskazuje zależność między odpowiedzią komórek CD4⁺CD25⁺ a terapią glikokortykosteroidami (GKS). W grupie pacjentów chorujących na astmę alergiczną leczonych wziewnymi lub systemowymi glikokortykosteroidami obserwowano związek między obniżoną syntezą IL-10 w komórkach Tregs a słabą odpowiedzią na GKS oraz znaczący wzrost ekspresji mRNA dla Foxp3 i IL-10 [34].

Komórki regulatorowe odgrywają kluczową rolę w indukowaniu oraz utrzymaniu tolerancji organizmu m.in. na antygeny przeszczepu. Możliwość powstawania tych komórek w grasicy i na obwodzie, nasilenie lub blokada ich czynności oraz uzyskanie równowagi między aktywacją a supresją układu immunologicznego wydają się istotne, zwłaszcza w immunoterapii wielu chorób. Osłabienie ich funkcji mogłoby się przyczynić do nasilenia odpowiedzi odpornościowej organizmu przeciwko obcym antygenom lub komórkom nowotworowym. Z kolei nasilenie ich czynności mogłoby służyć m.in. ograniczeniu reakcji alergicznych. Dlatego, chociaż na razie wiele kwestii dotyczących tych komórek pozostaje w sferze domysłów, ogromne zainteresowanie, jakie na sobie skupiają, powinno w przyszłości doprowadzić do opracowania metod zastosowania ich w terapii.

Piśmiennictwo:

1. Sakaguchi S., Sakaguchi N., Asano M. et al.: Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J. Immunol.* 1995, 3:1151-64.
2. Seddiki N., Santner-Nanan B., Martinson J. et al.: Expression of interleukin (IL)-2 and IL-7 receptors discriminates between human regulatory and activated T cells. *J. Exp. Med.* 2006, 7: 1693-700.
3. Yamaguchi T., Hirota K., Nagahama K. et al.: Control of immune responses by antigen-specific regulatory T cells expressing the folate receptor. *Immunity* 2007, 1: 145-59.
4. Shevach E.M., DiPaolo R.A., Andersson J. et al.: The lifestyle of naturally occurring CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells. *Immunol. Rev.* 2006, 212: 60-73.
5. Ebinuma H., Nakamoto N., Price Li Y. et al.: Identification and in-vitro expansion of functional antigen-specific CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T-cells in hepatitis C virus infection. *J. Virol.* 2008, 82: 5043-5053.
6. Gavin M.A., Rasmussen J.P., Fontenot J.D. et al.: Foxp3-dependent programme of regulatory T-cell differentiation. *Nature* 2007, 7129: 771-5.
7. Roncarolo M.G., Gregori S., Battaglia M. et al.: Interleukin-10-secreting type 1 regulatory T cells in rodents and humans. *Immunol. Rev.* 2006, 212: 28-50.
8. Pillai V., Ortega S.B., Wang C.K.: Transient regulatory T-cells: a state attained by all activated human T-cells. *Clin. Immunol.* 2007, 123: 18-29.
9. Wang J., Ioan-Facsinay A., van der Voort E.I.: Transient expression of FOXP3 in human activated nonregulatory CD4⁺ T cells. *Eur. J. Immunol.* 2007, 37: 129-38.
10. Zheng S.G., Wang J., Wang P. et al.: IL-2 is essential for TGF-β to convert naive CD4⁺CD25⁻ cells to CD25⁺FOXP3⁺ regulatory T cells and for expansion of these cells. *J. Immunol.* 2007, 178: 2018-27.
11. Tran D.Q., Ramsey H., Shevach E.M.: Induction of FOXP3 expression in naive human CD4⁺FOXP3⁻ T cells by T cell receptor stimulation is TGFβ-dependent but does not confer a regulatory phenotype. *Blood* 2007, 1: 463-4.
12. Tang Q., Henriksen K.J., Boden E.K. et al.: CD28 controls peripheral homeostasis of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells. *J. Immunol.* 2003, 171: 3348-3352.
13. Veldhoen M., Moncrieffe H., Hocking R.J. et al.: Modulation of dendritic cell function by naive and regulatory CD4⁺ T cells. *J. Immunol.* 2006, 176: 6202-6210.
14. Houot R., Perrot I., Garcia E. et al.: Human CD4⁺CD25^{high} regulatory T cells modulate myeloid but not plasmacytoid dendritic cells activation. *J. Immunol.* 2006, 176: 5293-98.

15. Bopp T., Becker C., Klein M. et al.: Cyclic adenosine monophosphate is a key component of regulatory T cell-mediated suppression. *J. Exp. Med.* 2007, 6: 1303-10.
16. Bluestone J.A., Abbas A.K.: Natural versus adaptive regulatory T cells. *Nat. Rev. Immunol.* 2003, 3: 253-57.
17. Kryczek I., Wei S., Zou L. et al.: Induction of B7-H4 on APCs through IL-10: novel suppressive mode for regulatory T cells. *J. Immunol.* 2006, 177: 40-44.
18. Berthelot J.M., Maugars Y.: Role for suppressor T cells in the pathogenesis of autoimmune diseases (including rheumatoid arthritis). *Facts and hypotheses. Jt. Bone Spine* 2004, 5: 374-80.
19. Levings M.K., Sangregorio R., Galbiati F. et al.: IFN-alpha and IL-10 induce the differentiation of human type 1 T regulatory cells. *J. Immunol.* 2001, 9: 5530-9.
20. Barrat F.J., Cua D.J., Boonstra A. et al.: In vitro generation of interleukin 10-producing regulatory CD4(+) T cells is induced by immunosuppressive drugs and inhibited by T helper type 1 (Th1) – and Th2-inducing cytokines. *J. Exp. Med.* 2002, 195: 603-16.
21. Gregori S., Mangia P., Bacchetta R. et al.: An anti-CD45RO/ROB monoclonal antibody modulates T cell responses via induction of apoptosis and generation of regulatory T cells. *J. Exp. Med.* 2005, 201: 1293-305.
22. Wakkach A., Cottrez F., Groux H.: Differentiation of regulatory T cells 1 is induced by CD2 costimulation. *J. Immunol.* 2001, 167: 3107-13.
23. Battaglia M., Stabilini A., Draghici E. et al.: Rapamycin and interleukin-10 treatment induces T regulatory type 1 cells that mediate antigen-specific transplantation tolerance. *Diabetes* 2006, 1: 40-9.
24. Annacker O., Asseman C., Read S.: Interleukin-10 in the regulation of T cell-induced colitis. *J. Autoimmun.* 2003, 4: 277-9.
25. Joetham A., Takeda K., Taube C. et al.: Naturally occurring lung CD4(+)CD25(+) T cell regulation of airway allergic responses depends on IL-10 induction of TGF-beta. *J. Immunol.* 2007, 3: 1433-42.
26. Knoechel B., Lohr J., Kahn E. et al.: Sequential development of interleukin 2-dependent effector and regulatory T cells in response to endogenous systemic antigen. *J. Exp. Med.* 2005, 202: 1375-86.
27. Stronge V.S., Salio M., Jones E.Y. et al.: A closer look at CD1d molecules: new horizons in studying NKT cells. *Trends Immunol.* 2007, 28: 455-62.
28. Zigmund E., Preston S., Pappo O. et al.: Beta-glucosylceramide: a novel method for enhancement of natural killer T lymphocyte plasticity in murine models of immune-mediated disorders. *Gut* 2007, 56: 82-9.
29. Alvarado-Sánchez B., Hernández-Castro B., Portales-Pérez D. et al.: Regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus. *J. Autoimmun.* 2006, 2: 110-8.
30. Behrens F., Himsel A., Rehart S. et al.: Imbalance in distribution of functional autologous regulatory T cells in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 2007, 9: 1151-6.
31. Boissier M.C., Assier E., Biton J. et al.: Regulatory T cells (Treg) in rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* 2009, 76: 10-14.
32. Winkler B., Hufnagl K., Spittler A. et al.: The role of Foxp3+ T cells in long-term efficacy of prophylactic and therapeutic mucosal tolerance induction in mice. *Allergy* 2006, 2: 173-80.
33. Taams L.S., Palmer D.B., Akbar A.N. et al.: Regulatory T cells in human disease and their potential for therapeutic manipulation. *Immunology* 2006, 1: 1-9.
34. Karagiannidis C., Akdis M., Holopainen P. et al.: Glucocorticoids upregulate Foxp3 expression and regulatory T cells in asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2004, 6: 1425-33.

Adres do korespondencji:

mgr Ewa Polkowska
 Zakład Immunologii Klinicznej
 Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku
 15-274 Białystok, ul. Jerzego Waszyngtona 17
 tel.: (85) 745-05-35
 e-mail: polkowskae@gmail.com