

NATURALNE KOMÓRKI REGULATOROWE (CD4+CD25+)

NATURAL REGULATORY T CELLS (CD4+CD25+)

Magdalena CHORAŻY-MASSALSKA, Ewa KONTNY,
Włodzimierz MAŚLIŃSKI

Zakład Patofizjologii i Immunologii Instytutu Reumatologii
im. prof. dr hab. med. Eleonory Reicher w Warszawie

Streszczenie: Badania prowadzone w ostatnich latach dowodzą, że komórki regulatorowe (Treg) pełnią rolę w utrzymaniu tolerancji na własne antygeny na obwodzie oraz w obronie organizmu przed chorobami autoimmunizacyjnymi. Komórki regulatorowe stanowią heterogenną subpopulację limfocytów T mających zdolność hamowania (immunosupresji) funkcji tych komórek, które w odpowiedzi immunologicznej pełnią funkcje wykonawcze (efektorowe). Wśród limfocytów Treg wyodrębnia się naturalne komórki regulatorowe (CD4+CD25+) oraz indukowane Treg (Tr1, Th3, CD4+CD25-), które nabywają zdolności immunosupresyjnych odpowiednio podczas różnicowania w grasicy lub na obwodzie. Do cząsteczek powierzchniowych występujących na komórkach Treg należą: CD25, CD45RO, CD152, GITR, LAG-3, a także niektóre cząsteczki adhezyjne, receptory dla chemokin i receptory Toll-podobne. Mechanizm immunosupresyjny naturalnych komórek CD4+CD25+ nie został dokładnie poznany, ale większość badań wskazuje, iż przynajmniej *in vitro* jest on bardziej zależny od kontaktu komórka-komórka niż od cytokin.

Słowa kluczowe: komórki regulatorowe, immunosupresja, autoimmunizacja.

Summary: Recent studies have underscored the importance of regulatory T cells (Treg) in the maintenance of immunological self-tolerance and in the prevention of autoimmune diseases. Regulatory T cells is heterogenic subpopulation of T cells, that is able to suppress functions of effector cells during the immune response. Among them are natural (CD4+CD25+) and induced Treg (Tr1, Th3, CD4+CD25-) that gain their unique phenotype during the development in the thymus or in the periphery, respectively. CD25, CD45RO, CD152, GITR, LAG-3, several adhesion molecules, chemokine receptors as well as Toll-like receptors are detected on the surface of Treg. Mechanism of suppression used by natural Treg, although not completely understood, seems to depend more on the cell-cell contact than on cytokines (at least *in vitro*).

Key words: regulatory T cells, immunosuppression, autoimmunity.

WSTĘP

W wyniku losowego powstawania na limfocytach T receptorów TCR (ang. *T cell receptors*) dla antygeny (Ag), poza limfocytami T rozpoznającymi Ag obce, powstają klony autoreaktywne, wykazujące powinowactwo do własnych antygenów (autoAg). Choć większość z nich umiera śmiercią apoptotyczną podczas delecji klonalnej w grasicy, niektóre przedostają się na obwód, gdzie mogą stanowić zagrożenie dla stanu autotolerancji poprzez udział w patologicznej odpowiedzi autoimmunizacyjnej, prowadzącej ostatecznie do destrukcji tkanek. Jednym z mechanizmów zapewniających tolerancję na własne antygeny na obwodzie jest immunosupresja, związana z dobrze udokumentowaną obecnością wielu typów komórek regulatorowych (Treg), hamujących odpowiedź immunologiczną.

JAK ZDEFINIOWAĆ KOMÓRKĘ REGULATOROWĄ?

Komórki regulatorowe stanowią heterogenną subpopulację limfocytów T mających zdolność hamowania (immunosupresji) funkcji tych komórek, które w odpowiedzi immunologicznej pełnią funkcje wykonawcze (efektorowe). Choć istnienie komórek regulatorowych postulowano po raz pierwszy już w roku 1970, ograniczenie metod badawczych spowodowało poddanie w wątpliwość modelu immunosupresji aż do momentu identyfikacji jednej z populacji limfocytów Treg – komórek o fenotypie CD4⁺CD25⁺ [35].

Wśród limfocytów Treg wyodrębnia się nTreg – naturalne komórki regulatorowe (CD4⁺CD25⁺), które nabywają zdolności immunosupresyjnych podczas różnicowania w grasicy oraz indukowane Treg (Tr1, Th3, CD4⁺CD25⁻), które nabywają tych zdolności na obwodzie, podczas różnicowania z dziewiczych prekursorów po kontakcie z Ag.

NATURALNE KOMÓRKI REGULATOROWE CD4⁺CD25⁺ (nTreg)

Fenotyp nTreg

Badania przeprowadzone na zwierzętach wskazują, że naturalne komórki regulatorowe CD4⁺CD25⁺ (nTreg) chronią organizm przed odpowiedzią autoimmunizacyjną. Komórki te utrzymują tolerancję i homeostazę immunologiczną poprzez supresję czynnościową autoreaktywnych limfocytów T, zależną od bezpośredniego kontaktu komórka-komórka. Naturalne komórki regulatorowe (nTreg) powstają (głównie) podczas różnicowania limfocytów T w grasicy, ale również na obwodzie i stanowią około 3% wszystkich limfocytów i 5–10% obwodowych limfocytów CD4⁺ [3]. Komórki CD4⁺CD25⁺ zdefiniowano po raz pierwszy w 1995 roku, przeprowadzając badania na myszach nu/nu, którym podano limfocyty T pozbawione populacji CD4⁺CD25⁺ [30]. Zwierzęta te wykazywały cechy wielonarządowej choroby autoimmunizacyjnej, ustępującej po podaniu limfocytów T CD4⁺CD25⁺ od myszy zdrowych. Ponad to wykazano, iż za autoimmunizację

obserwowaną u myszy pozbawionych limfocytów T (tymektomia w 3 dniu życia) jest odpowiedzialna wyłącznie populacja CD4+CD25+ [30]. Obecność tych komórek potwierdzono także u ludzi w krwi obwodowej [11, 22], krwi pępowinowej i grasicy [36], płynach stawowych chorych na choroby reumatyczne [9], a także w węzłach chłonnych i szpiku kostnym [39].

Za pierwszy marker limfocytów Treg uznano łańcuch α receptora dla IL-2 (CD25), występujący na błonie powierzchniowej tych komórek [13]. Ze względu na umiarkowaną ekspresję CD25 na aktywowanych komórkach efektorowych (limfocyty Th1, Th2, B, DCs i Mf) niektórzy badacze za jedyną właściwą populację Treg uznają komórki z wysoką ekspresją CD25 (CD25^{hi}) [1, 12], podczas gdy inni wykazują funkcjonalność dla całej populacji CD25+ [11, 24]. nTreg mają zwiększoną ekspresję cząsteczek adhezyjnych, takich jak: CD11a (LFA-1), CD44, CD54 (ICAM-1), CD103 ($\alpha_E\beta_7$ integryna) [13] oraz CD58 (LFA-3) [1], co wskazuje na „przygotowanie” do kontaktu z komórkami prezentującymi antygen (APC – ang. *antigen presenting cells*). Komórki CD4+CD25+ mają także cząsteczki świadczące o ich aktywnej migracji, mianowicie receptory dla chemokin: CCR4, CCR8 [6, 21], CCR5 [8] oraz CXCR4 [39] i cząsteczkę CD62L odpowiedzialną za migrację limfocytów T z grasicy do węzłów chłonnych [1]. Na naturalnych Treg obecne są cząsteczki powierzchniowe świadczące o aktywacji i proliferacji: CD5 [13] oraz CD71 (receptor dla transferyny) [1]. Co więcej, na komórkach Treg wykazano obecność receptorów Toll-podobnych (TLRs) TLR4, 5, 7 i 8 [7], a także HLA-DR [1, 11, 24], które zwykle obecne są na profesjonalnych APCs.

Do markerów częściowo swoistych dla naturalnych Treg zaliczane są: CD45RO [1, 11, 24], CD152 (CTLA-4 – ang. *cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4*) [11, 22], GITR (ang. *glucocorticoid-induced TNF receptor*) [26, 32] oraz neuropilina-1, której funkcja związana jest głównie z angiogenezą oraz z tworzeniem synapsy immunologicznej [5]. Ekspresja GITR powoduje oporność na apoptozę indukowaną przez TCR, zatem komórki Treg CD25+GITR+ mogą być odporne na selekcję negatywną w grasicy [32]. Ponieważ ekspresja większości, jeśli nie wszystkich wymienionych cząsteczek powierzchniowych zwiększa się podczas aktywacji, nie mogą być one uznane za markery Treg-specyficzne.

Jak do tej pory oznaczono dwa czynniki, których ekspresja jest specyficzna dla komórek Treg: Foxp3 [14, 19, 23] oraz wg najnowszych badań LAG-3 [20]. Foxp3 jest czynnikiem transkrypcyjnym działającym jako represor transkrypcji IL-2, a LAG-3 (CD223) to cząsteczka powierzchniowa będąca homologiem CD4, która negatywnie reguluje ekspansję limfocytów T i ich homeostazę. Ekstopowa ekspresja Foxp3 [19] lub LAG-3 [20] jest wystarczająca do indukcji funkcji charakterystycznych dla Treg, choć indukowane geny różnią się w przypadku każdej z tych cząsteczek.

Supresja wywierana przez komórki CD25+ opiera się na zablokowaniu na poziomie transkrypcji produkcji IL-2 przez komórki CD25- [25]. Komórki CD4+CD25+ same nie produkują IL-2 [25], ale mają wszystkie trzy łańcuchy składające się na funkcjonalny receptor dla IL-2: IL-2R β (CD122) [1, 11, 24], IL-2R γ (CD132) [24] i IL-2R α (CD25), a ich przeżycie i ekspansja na obwodzie zależy od dostępności IL-2. Wykazano bowiem, że myszy pozbawione IL-2 lub cząsteczek, których kostymulacja jest niezbędna do produkcji tej cytokiny (CD80/86, CD28, CD40), jak również składowych IL-2R (CD25,

CD122) i cząsteczki sygnałowej IL-2 (STAT5) wykazują niedobory komórek CD4+CD25+ [25]. Pewne obserwacje wskazują, że aktywność immunosupresyjna komórek CD4+CD25+ jest zależna od sygnału przekazywanego przez łańcuch β IL-2R [16]. Wszystkie te obserwacje wskazują, że IL-2 jest niezbędna dla prawidłowego funkcjonowania Treg. Skąd zatem pochodzi IL-2 potrzebna komórkom Treg? Głównym źródłem IL-2 są aktywowane lub autoreaktywne limfocyty T, jednak IL-2 może pochodzić także od DCs [25].

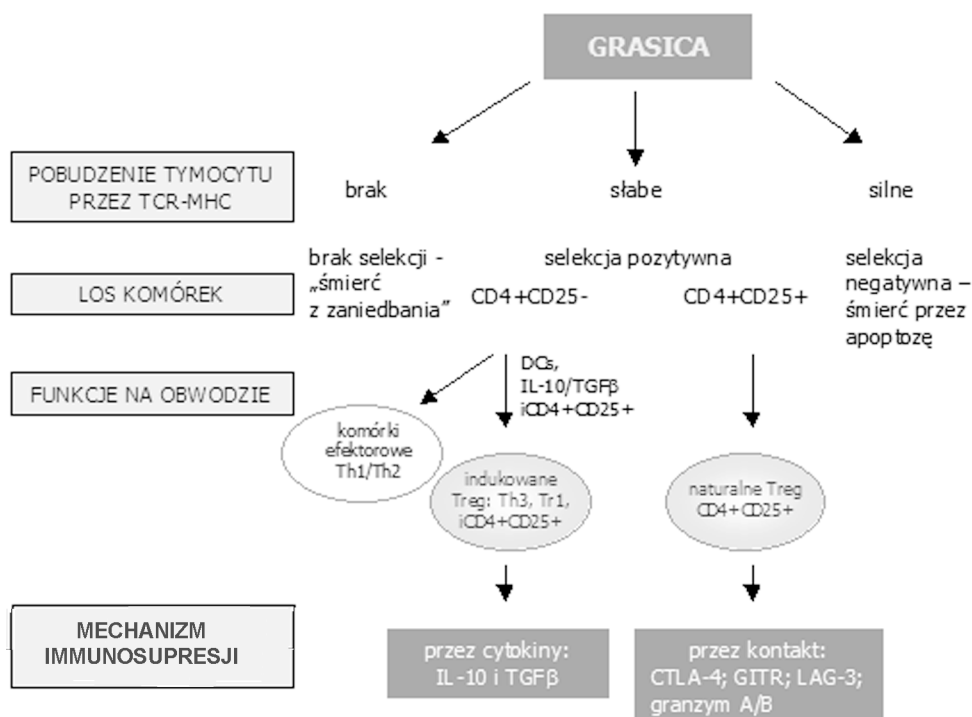
Aktywacja komórek CD4+CD25+ wymaga antygenowo swoistej stymulacji przez TCR, ale raz aktywowane nTreg wywierają efekt supresorowy w sposób antygenowo nieswoisty [31]. Fakt ten może mieć implikacje w terapii chorób autoimmunizacyjnych, w których dochodzi do rozwoju odpowiedzi na liczne autoAg, w większości niezidentyfikowane. *In vitro* aktywacja komórek CD4+CD25+ może indukować na ich powierzchni ekspresję cząsteczek, które szybko i bardzo efektywnie hamują produkcję IL-2 w komórkach efektorowych. Brak IL-2 powoduje zatrzymanie komórek efektorowych w cyklu podziałowym. Trwają badania zmierzające do identyfikacji tych cząsteczek [10]. W aktywowanych komórkach CD4+CD25+ stwierdza się podwyższony poziom mRNA dla czynników obniżających produkcję cytokin lub ich aktywność: CIS, SOCS-1/JAB, SOCS-2 i SLAP130, co może po części tłumaczyć niezdolność Treg do produkcji IL-2 [26]. Podwyższony poziom SOCS w aktywowanych CD25+ może być niezbędny do kontroli populacji CD25+ *in vivo*, tak aby została zachowana równowaga pomiędzy hamowaniem autoreaktywności a dopuszczeniem odpowiedzi na obce Ags.

Dojrzewanie komórek regulatorowych

Podczas dojrzewania tymocytów bardzo istotny dla ukierunkowania subpopulacji limfocytów T jest sygnał pochodzący z TCR. Tymocyty rozpoznają Ag w restrykcji MHC I lub MHC II i różnicują się odpowiednio w CD8+ lub CD4+. Zasada ta obowiązuje także w przypadku Treg; u zmodyfikowanych genetycznie myszy, u których nie ma rearanzacji łańcuchów TCR (*rag*^{-/-}), jak i u myszy pozbawionych genów kodujących składowe drogi przekazywania sygnału z TCR (np. I κ B, kinazy-2, Bcl-10 czy PKC- θ) powstawanie Treg jest upośledzone [15]. Alternatywny model rozwoju Treg zakłada, że ich los nie jest determinowany przez siłę interakcji TCR-ligand, lecz jest zależny od innego sygnału (np. *Notch-Notch ligand*) lub innej niż obowiązująca dla większości limfocytów T selekcji przez TCR ligand. Prawdopodobnie dopiero kombinacja tych dwóch modeli jest najbliższa rzeczywistości:

1. Sygnał z TCR o określonym powinowactwie jest niezbędny, ale niewystarczający.
2. Konieczna jest również obecność dodatkowego (niezidentyfikowanego jeszcze) sygnału.

Istnieje też możliwość, że Treg należą do tej populacji limfocytów T (30%), która wychodzi z grasicy mając nie jeden, ale dwa receptory TCR: jeden rozpoznający obce Ag (co pozwala limfocytowi T przejść selekcję w grasicy), drugi specyficzny względem własnych Ag [29]. Wiadomo, że komórki CD4+CD25+ powstają podczas różnicowania limfocytów T w grasicy i wykazują TCR o powinowactwie pośrednim lub wysokim do własnych MHC, ale nadal niższym od poziomowi kwalifikującego do delekcji (ryc. 1) [31].



RYCINA 1. Rozwój linii komórek regulatorowych podczas różnicowania limfocytów T w grasicy, na podstawie pracy [30]
 FIGURE 1. Development of regulatory T cell lineages during T cell differentiation in the thymus, based on the paper [30]

Zgodnie z modelem proponowanym przez Rudensky'ego, Foxp3 działa jako czynnik determinujący rozwój Treg, niezależnie od restrykcji MHC czy ekspresji CD25. Nie wiadomo jeszcze, czy Foxp3 jest niezbędny tylko na etapie różnicowania, czy także na poziomie utrzymania funkcjonalności Treg [15].

Według innej hipotezy, równowaga układu immunologicznego nie opiera się wyłącznie na działaniu wyspecjalizowanych subpopulacji komórek regulatorowych, ale jest ubocznym efektem współzawodnictwa o limitowane zasoby, np. o miejsce, dostęp do receptorów MHC czy czynnika wzrostu (IL-2, IL-7), niezależnie od ich specyficzności czy funkcji efektorowych [2]. Komórki, wykazujące funkcjonalne cechy Treg, ale pozbawione markerów przypisywanych tej populacji, charakteryzują się wysoką ekspresją CD5, który jest negatywnym regulatorem przekazywania sygnału przez TCR.

Obecność większości genów związanych z autoimmunizacją raczej predysponuje do choroby, niż jest za nią bezpośrednio odpowiedzialna. Molekularne mechanizmy prowadzące do różnicowania limfocytów w Treg nie są w pełni znane, ale badania na myszach zmodyfikowanych genetycznie oraz analiza mutacji u pacjentów z uwarunkowanymi genetycznie ciężkimi zespołami chorób autoimmunizacyjnych wskazują na istotną rolę czynnika transkrypcyjnego, jakim jest Foxp3.

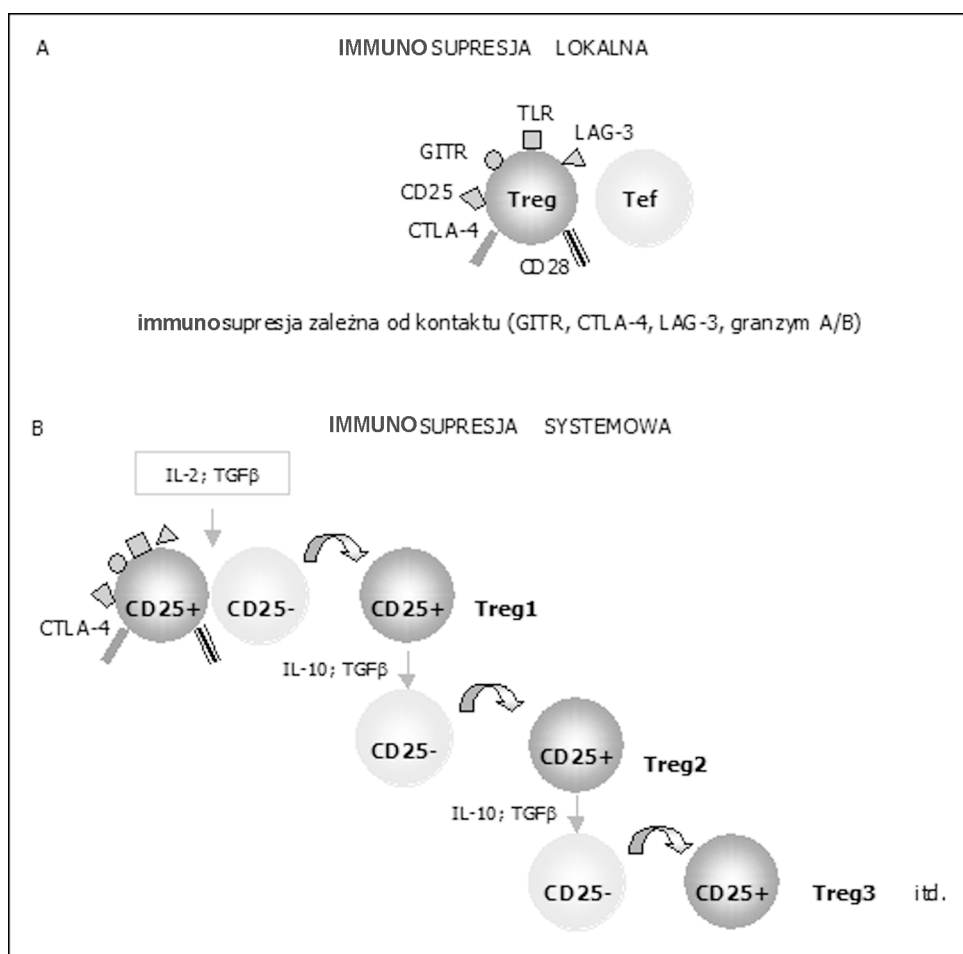
Myszy FOXP3^{-/-} (mutacja *scurfy* związana z chromosomem X, recesywna) wykazują cechy wielonarządowej choroby autoimmunizacyjnej, przy równoczesnym braku komórek CD4⁺CD25⁺. Z kolei u myszy transgenicznych z nadekspresją Foxp3 liczba tych komórek jest podwyższona [23]. Produkt genu Foxp3, białko scurfin (SFN), należy do rodziny czynników transkrypcyjnych charakteryzujących się obecnością domeny *forkhead*. SFN jest negatywnym regulatorem produkcji IL-2 poprzez bezpośrednią represję transkrypcji genu dla tej cytokiny [28]. Domena *forkhead* gwarantuje działanie Foxp3 jako czynnika transkrypcyjnego; jest niezbędna do wiązania DNA oraz lokalizacji w jądrze [27]. Co więcej, domena ta odpowiada za funkcjonalność Treg, gdyż pozbawiony jej Foxp3 transdukowany do komórek CD25⁻ nie powoduje nabycia właściwości supresorowych przez te komórki [19]. Według najnowszych badań Foxp3 nie jest konwencjonalnym represorem transkrypcji, lecz wiąże się z domeną REL innych czynników transkrypcyjnych (NFAT i NFκB), blokując ich zdolność do indukcji genów kodujących cytokiny (IL-2, IL-4, IFN-γ). Jest interesujące, że w limfocytach T myszy *scurfy* stwierdzono silnie wzmocnioną aktywność transkrypcyjną NFAT i NFκB. To tłumaczy nadprodukcję cytokin (GM-CSF, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-10, IFN-γ, TNF-α) związanych ze zmianami patologicznymi obserwowanymi u tych myszy [4]. Przypuszcza się zatem, że represja syntezy cytokin prozapalnych przez Foxp3 jest jednym z podstawowych mechanizmów wyłączających odpowiedź immunologiczną [15].

W ostatnich latach zidentyfikowano u ludzi dwa czynniki transkrypcyjne – FOXP3 oraz AIRE (ang. *autoimmune regulator*), których mutacje prowadzą bezpośrednio do symptomów ciężkiej choroby autoimmunizacyjnej – odpowiednio IPEX (ang. *immuno-dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome*) i APECED (ang. *autoimmune polyendocrinopathy*) [27]. Dotychczas zidentyfikowano 13 niezależnych mutacji w genie Foxp3 u pacjentów z IPEX, a jedyny polimorfizm zidentyfikowany w FOXP3 to ten związany z chorobą, co sugeruje, iż białko to jest wysoce konserwowane. U ludzi obserwowana jest większa „plastyczność” odpowiedzi immunologicznej, gdyż wraz z aktywacją komórek CD25⁻, dochodzi do powstania dwóch populacji komórek CD4⁺CD25⁺: efektorowych (Foxp3⁻) i regulatorowych (Foxp3⁺) [34]. Zawsze jednak Foxp3 związany jest z funkcją immunosupresyjną.

Proponowane mechanizmy działania

Komórki regulatorowe stanowią minimalny procent całej populacji, skąd więc bierze się ich skuteczność? Mechanizm supresyjny komórek CD4⁺CD25⁺ nie został dokładnie poznany, ale większość badań wskazuje, iż *in vitro* jest on bardziej zależny od kontaktu komórka-komórka [12, 22] niż od cytokin.

W wyniku lokalnej supresji zahamowana jest czynność komórek efektorowych (ryc. 2A). Podejrzewano, że za ten efekt mogą odpowiadać cząsteczki blokujące aktywację limfocytów T (takie jak CTLA-4 lub PD-1 (ang. *programmed death-1*)) bądź wydzielane miejscowo w dużych stężeniach cytokiny immunosupresyjne. Jednak ani CTLA-4, ani TGF-β czy też IL-10 nie stanowią głównego mechanizmu immunosupresji, gdyż limfocyty Treg myszy z delecją genu kodującego każdą z tych cząsteczek wykazują pełną funkcjonalność [15].



RYCINA 2. Model przedstawiający dwa rodzaje immunosupresji: lokalną, zależną od kontaktu – cząsteczek odpowiedzialnych za efekt supresorowy (A) i systemową opartą na przekształcaniu aktywowanych komórek CD25- w funkcjonalne Treg. To przekształcanie jest limitowane powtarzanym kontaktem z Ag, a zależy od kontaktu z komórkami CD4+CD25+ i obecności cytokin (IL-2, TGF-β, IL-10) (B). Treg – komórka regulatorowa, Tef – komórka efektorowa; na podstawie pracy [37]

FIGURE 2. A model suggesting two kinds of suppression: the local one, dependent on direct contact via surface molecules responsible for suppression (A), and the systemic one based on the induction of CD25- to become functionally active Treg. This type of induction is limited by repeated exposure to Ag and depends on contact with CD4+CD25+ T cells and the presence of cytokines (IL-2, TGF-β, IL-10) (B). Treg – regulatory T cell, Tef – effector T cell; based on [37]

Innym rozważanym mechanizmem immunosupresyjnym było „wychwytywanie” przez Treg czynników wzrostu dla limfocytów T (głównie IL-2) w wyniku konkurencji o limitowane zasoby [2]. Ostatnie badania wskazują jednak, że Treg hamują ekspresję IL-2 mRNA w komórkach efektorowych nawet w obecności dużych stężeń IL-2, co wyklucza działanie tego mechanizmu jako jednego z głównych [33].

Nadal intrygującym pytaniem jest, czy i w jaki sposób cząsteczki powierzchniowe na limfocytach CD4+CD25+ mogą wpływać na funkcje supresorowe tych komórek? Jedną z hipotez zakłada przekazanie sygnału antyproliferacyjnego przy udziale motywu KIEELE wykrytego np. w wewnątrzkomórkowej domenie cząsteczki LAG-3 [37]. Najnowsze badania wskazują również na mechanizm oparty na aktywności granzymu B u myszy [17] oraz zależnej od perforyny aktywności granzymu A u ludzi [18]. Wyniki te stanowią pierwsze próby wyjaśnienia mechanizmów immunosupresji zależnej od kontaktu komórka-komórka.

In vivo mechanizm zależny od kontaktu komórek wydaje się niewystarczający. Potrzebna jest supresja systemowa wymagająca nie tylko znacznie większej liczby funkcjonalnych komórek regulatorowych, ale także obecności dodatkowych czynników immunosupresyjnych, jakimi są niektóre cytokiny (ryc. 2B). Pierwszy z tych warunków jest spełniony dzięki zdolności Treg do przekształcania innych limfocytów T w komórki immunosupresyjne (zjawisko tolerancji infekcyjnej). Po kontakcie z komórką regulatorową CD4+CD25+ i w odpowiednim środowisku cytokinowym (IL-2, IL-10 i TGF- β) limfocyty CD4+CD25- przekształcają się w komórki CD25+ o właściwościach supresorowych niezależnych od cytokin [38]. Znaczenie IL-10 i TGF- β w tym modelu potwierdzają obserwacje, że neutralizacja tych cytokin lub utrata zdolności do ich syntezy sprawia, że limfocyty stają się komórkami pomocniczymi dla efektorów, a nie pełnią funkcji Treg [38]. TGF- β i IL-10 są cytokinami produkowanymi przez wiele komórek układu immunologicznego wrodzonego (głównie przez niedojrzałe APC) obecnych w przewodzie pokarmowym, układzie oddechowym i kobiecych drogach rodnych, gdzie ma miejsce stała ekspozycja na różne Ag. Działanie cytokin supresorowych miałyby więc charakter dwubiegunowy: z jednej strony mają one udział w różnicowaniu limfocytów T w czynnościowe supresory, z drugiej ograniczają ekspansję lub też migrację komórek potencjalnie patogennych.

Naturalne komórki regulatorowe CD4+CD25+ pochodzą z grasicy i poprzez hamowanie populacji komórek autoreaktywnych pełnią centralną rolę w utrzymaniu stanu tolerancji na obwodzie. Poza oczywistymi korzystnymi efektami działania Treg dla gospodarza (obrona przed autoimmunizacją, indukcja tolerancji na przeszczepy), istnieją także mniej korzystne – jak np. hamowanie odpowiedzi antynowotworowej. Ze względu na ambiwalentne efekty działania Treg, komórki te wymagają szczegółowych badań głównie pod kątem ewentualnego wykorzystania w terapii. W świetle dotychczasowych danych można przypuszczać, że komórki CD4+CD25+ wykorzystują różne mechanizmy działania (kontakt/cytokiny) w zależności od mikrośrodowiska i stymulacji. Należy jednak pamiętać, że szlaki immunosupresji badane na mysich modelach (badania *in vivo*, *in vitro*) mogą wykazywać znaczne różnice względem tych, występujących u człowieka (badania *in vitro*) [24].

PIŚMIENNICTWO

- [1] BAECHER-ALLAN C, BROWN JA, FREEMAN GJ, HAFLER DA. CD4+CD25high regulatory cells in human peripheral blood. *J Immunol* 2001; **167**: 1245–1253.
- [2] BARTHOLOTT T, KASSIOTIS G, STOCKINGER B. T cell regulation as a side effect of homeostasis and competition. *J Exp Med* 2003; **197**: 451–460.
- [3] BERTHELOT JM, MAUGARS Y. Role for suppressor T cells in the pathogenesis of autoimmune diseases (including rheumatoid arthritis). Facts and hypotheses. *Joint Bone Spine* 2004; **71**: 374–380.
- [4] BETTELLI E, DASTRANGE M, OUKKA M. Foxp3 interacts with nuclear factor of activated T cells and NF-kappa B to repress cytokine gene expression and effector functions of T helper cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; **102**: 5138–5143.
- [5] BRUDER D, PROBST-KEPPER M, WESTENDORF AM, GEFFERS R, BEISSERT S, LOSER K, VON BOEHMER H, BUER J, HANSEN W. Neuropilin-1: a surface marker of regulatory T cells. *Eur J Immunol* 2004; **34**: 623–630.
- [6] BYSTRY RS, ALUVIHARE V, WELCH KA, KALLIKOURDIS M, BETZ AG. B cells and professional APCs recruit regulatory T cells via CCL4. *Nat Immunol* 2001; **2**: 1126–1132.
- [7] CARAMALHO I, LOPES-CARVALHO T, OSTLER D, ZELENAY S, HAURY M, DEMENGEOT J. Regulatory T cells selectively express toll-like receptors and are activated by lipopolysaccharide. *J Exp Med* 2003; **197**: 403–411.
- [8] D'AMBROSIO D, SINIGAGLIA F, ADORINI L. Special attractions for suppressor T cells. *Trends Immunol* 2003; **24**: 122–126.
- [9] DE KLEER IM, WEDDERBURN LR, TAAMS LS, PATEL A, VARSANI H, KLEIN M, DE JAGER W, PUGAYUNG G, GIANNONI F, RIJKERS G, ALBANI S, KUIS W, PRAKKEN B. CD4+CD25 bright regulatory T cells actively regulate inflammation in the joints of patients with the remitting form of juvenile idiopathic arthritis. *J Immunol* 2004; **172**: 6435–6443.
- [10] DIECKMANN D, BRUETT CH, PLOETTNER H, LUTZ MB, SCHULER G. Human CD4(+)/CD25(+) regulatory, contact-dependent T cells induce interleukin 10-producing, contact-independent type 1-like regulatory T cells [corrected]. *J Exp Med* 2002; **196**: 247–253.
- [11] DIECKMANN D, PLOTTNER H, BERCHTOLD S, BERGER T, SCHULER G. *Ex vivo* isolation and characterization of CD4(+)/CD25(+) T cells with regulatory properties from human blood. *J Exp Med* 2001; **193**: 1303–1310.
- [12] EHRENSTEIN MR, EVANS JG, SINGH A, MOORE S, WARNES G, ISENBERG DA, MAURI C. Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNFalpha therapy. *J Exp Med* 2004; **200**: 277–285.
- [13] FEHERVARI Z, SAKAGUCHI S. A paragon of self-tolerance: CD25+CD4+ regulatory T cells and the control of immune responses. *Arthritis Res Ther* 2004; **6**: 19–25.
- [14] FONTENOT JD, GAVIN MA, RUDENSKY AY. Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nat Immunol* 2003; **4**: 330–336.
- [15] FONTENOT JD, RUDENSKY AY. A well adapted regulatory contrivance: regulatory T cell development and the forkhead family transcription factor Foxp3. *Nat Immunol* 2005; **6**: 331–337.
- [16] FURTADO GC, CUROTTO DE LAFAILLE MA, KUTCHUKHIDZE N, LAFAILLE JJ. Interleukin 2 signaling is required for CD4(+) regulatory T cell function. *J Exp Med* 2002; **196**: 851–857.
- [17] GONDEK DC, LU LF, QUEZADA SA, SAKAGUCHI S, NOELLE RJ. Cutting edge: contact-mediated suppression by CD4+CD25+ regulatory cells involves a granzyme B-dependent, perforin-independent mechanism. *J Immunol* 2005; **174**: 1783–1786.
- [18] GROSSMAN WJ, VERBSKY JW, BARCHET W, COLONNA M, ATKINSON JP, LEY TJ. Human T regulatory cells can use the perforin pathway to cause autologous target cell death. *Immunity* 2004; **21**: 589–601.
- [19] HORI S, NOMURA T, SAKAGUCHI S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 2003; **299**: 1057–1061.
- [20] HUANG CT, WORKMAN CJ, FLIES D, PAN X, MARSON AL, ZHOU G, HIPKISS EL, RAVI S, KOWALSKI J, LEVITSKY HI, POWELL JD, PARDOLL DM, DRAKE CG, VIGNALI DA. Role of LAG-3 in regulatory T cells. *Immunity* 2004; **21**: 503–513.

- [21] IELLEM A, MARIANI M, LANG R, RECALDE H, PANINA-BORDIGNON P, SINIGAGLIA F, D'AMBROSIO D. Unique chemotactic response profile and specific expression of chemokine receptors CCR4 and CCR8 by CD4(+)CD25(+) regulatory T cells. *J Exp Med* 2001; **194**: 847–853.
- [22] JONULEIT H, SCHMITT E, STASSEN M, TUETTENBERG A, KNOP J, ENK AH. Identification and functional characterization of human CD4(+)CD25(+) T cells with regulatory properties isolated from peripheral blood. *J Exp Med* 2001; **193**: 1285–1294.
- [23] KHATTRI R, COX T, YASAYKO SA, RAMSDELL F. An essential role for Scurfin in CD4+CD25+ T regulatory cells. *Nat Immunol* 2003; **4**: 337–342.
- [24] LEVINGS MK, SANGREGORIO R, RONCAROLO MG. Human cd25(+)cd4(+) t regulatory cells suppress naive and memory T cell proliferation and can be expanded *in vitro* without loss of function. *J Exp Med* 2001; **193**: 1295–1302.
- [25] MALEK TR, BAYER AL. Tolerance, not immunity, crucially depends on IL-2. *Nat Rev Immunol* 2004; **4**: 665–674.
- [26] MCHUGH RS, WHITTERS MJ, PICCIRILLO CA, YOUNG DA, SHEVACH EM, COLLINS M, BYRNE MC. CD4(+)CD25(+) immunoregulatory T cells: gene expression analysis reveals a functional role for the glucocorticoid-induced TNF receptor. *Immunity* 2002; **16**: 311–323.
- [27] RAMSDELL F, ZIEGLER SF. Transcription factors in autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 2003; **15**: 718–724.
- [28] SCHUBERT LA, JEFFERY E, ZHANG Y, RAMSDELL F, ZIEGLER SF. Scurfin (FOXP3) acts as a repressor of transcription and regulates T cell activation. *J Biol Chem* 2001; **276**: 37672–37679.
- [29] SCHWARTZ RH. Natural regulatory T cells and self-tolerance. *Nat Immunol* 2005; **6**: 327–330.
- [30] SHEVACH EM. Certified professionals: CD4(+)CD25(+) suppressor T cells. *J Exp Med* 2001; **193**: F41–46.
- [31] SHEVACH EM. Regulatory/suppressor T cells in health and disease. *Arthritis Rheum* 2004; **50**: 2721–2724.
- [32] SHIMIZU J, YAMAZAKI S, TAKAHASHI T, ISHIDA Y, SAKAGUCHI S. Stimulation of CD25(+)CD4(+) regulatory T cells through GITR breaks immunological self-tolerance. *Nat Immunol* 2002; **3**: 135–142.
- [33] THORNTON AM, DONOVAN EE, PICCIRILLO CA, SHEVACH EM. Cutting edge: IL-2 is critically required for the *in vitro* activation of CD4+CD25+ T cell suppressor function. *J Immunol* 2004; **172**: 6519–6523.
- [34] WALKER MR, KASPROWICZ DJ, GERSUK VH, BENARD A, VAN LANDEGHEM M, BUCKNER JH, ZIEGLER SF. Induction of FoxP3 and acquisition of T regulatory activity by stimulated human CD4+CD25- T cells. *J Clin Invest* 2003; **112**: 1437–1443.
- [35] WICKELGREN I. Immunology. Policing the immune system. *Science* 2004; **306**: 596–599.
- [36] WING K, EKMARK A, KARLSSON H, RUDIN A, SURI-PAYER E. Characterization of human CD25+ CD4+ T cells in thymus, cord and adult blood. *Immunology* 2002; **106**: 190–199.
- [37] WORKMAN CJ, DUGGER KJ, VIGNALI DA. Cutting edge: molecular analysis of the negative regulatory function of lymphocyte activation gene-3. *J Immunol* 2002; **169**: 5392–5395.
- [38] ZHENG SG, WANG JH, GRAY JD, SOUCIER H, HORWITZ DA. Natural and induced CD4+CD25+ cells educate CD4+CD25- cells to develop suppressive activity: the role of IL-2, TGF-beta, and IL-10. *J Immunol* 2004; **172**: 5213–5221.
- [39] ZOU L, BARNETT B, SAFAH H, LARUSSA VF, EVDEMON-HOGAN M, MOTTRAM P, WEI S, DAVID O, CURIEL TJ, ZOU W. Bone marrow is a reservoir for CD4+CD25+ regulatory T cells that traffic through CXCL12/CXCR4 signals. *Cancer Res* 2004; **64**: 8451–8455.

Redaktor prowadzący – Barbara Płytycz

Otrzymano: 13.10.2005 r.

Przyjęto: 03.01. 2006 r.

ul. Spartańska 1, 02-637 Warszawa,

e-mail: MChorazy@ir.ids.pl