

Rola limfocytów regulatorowych (Treg) w doświadczalnym autoimmunizacyjnym zapaleniu OUN

The role of regulatory T cells (Tregs) in experimental autoimmune inflammation in the CNS

¹ Klinika Neurologii i Epileptologii z Oddziałem Udarowym, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

² Oddział Kliniczny Propedeutyki Neurologicznej z Pododdziałem Udarowym, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Adres do korespondencji: Prof. dr hab. n. med. Andrzej Głąbiński, Oddział Kliniczny Propedeutyki Neurologicznej z Pododdziałem Udarowym, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Pabianicka 62, 93-513 Łódź, e-mail: aglabinski@poczta.onet.pl

Praca finansowana z grantu MNiSW nr 263/6. PR UE/2006/7

Streszczenie

Regulacja odpowiedzi immunologicznej w stosunku do różnego rodzaju antygenów może zachodzić na poziomach centralnym i obwodowym. Biorą w niej udział m.in. limfocyty regulatorowe (Treg). Istnieją dwie teorie wyjaśniające mechanizm działania komórek regulatorowych na komórki efektorowe podczas odpowiedzi immunologicznej. Pierwsza mówi, że aby komórki regulatorowe były w stanie hamować proliferację komórek efektorowych, musi dojść do ich bezpośredniego kontaktu. Obecnie proponuje się także występowanie pośredniego mechanizmu interakcji komórek regulatorowych z komórkami efektorowymi za pośrednictwem mediatorów. Limfocyty regulatorowe wykazują stałą ekspresję markerów CD4, CD25 i Foxp3. Wiedza na temat udziału limfocytów regulatorowych w patogenezie stwardnienia rozsianego (SM) i jego modelu doświadczalnego EAE (doświadczalne autoimmunizacyjne zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego) jest nadal niedostateczna. Dotychczasowe badania sugerują, że naturalnie występujące limfocyty regulatorowe CD4⁺CD25⁺ odgrywają istotną rolę w zapobieganiu i/lub hamowaniu przewlekłego procesu patologicznego zachodzącego w mózgu w czasie EAE. Pasywnie przenoszone do biorcy limfocyty regulatorowe są w stanie zahamować EAE zarówno zastosowane profilaktycznie, jak i leczniczo. U myszy z zablokowanym genem dla IL-10 indukowane limfocyty Treg nie są w stanie zahamować rozwoju tej choroby, co wskazuje na istotną rolę IL-10 w wywoływaniu supresji przez Treg. Limfocyty regulatorowe odpowiadają częściowo za efektywność glatirameru w hamowaniu EAE. Obserwacje te potwierdzają, że limfocyty regulatorowe mogą być potencjalnie wykorzystywane w terapii stwardnienia rozsianego i innych chorób o podobnej patogenezie.

SŁOWA KLUCZOWE: limfocyty regulatorowe, Treg, doświadczalne autoimmunizacyjne zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego, stwardnienie rozsiane, autoimmunizacja

Summary

Regulation of the immune response to foreign antigens may develop at the central or peripheral level of the immune system. One of the crucial players of this process is regulatory T cell (Tregs). There are two hypotheses explaining the mechanism of the interactions between regulatory T cells and effector lymphocytes during the immune response. The first one suggests that Tregs inhibit proliferation of effector cells through the direct contact. It is also suggested that this interaction may be indirect and mediated by cytokines. Regulatory T cells are identified by expression of CD4, CD25 and Foxp3 markers. Our knowledge on the involvement of Tregs in the pathogenesis of multiple sclerosis (MS) and its animal model EAE (experimental autoimmune encephalomyelitis) is still insufficient. Obtained results suggest that naturally occurring CD4⁺CD25⁺ Tregs play an important role in the prevention and/or inhibition of the chronic pathological process in the brain during EAE. It was shown that passive transfer to donor of regulatory T cells may prevent or treat an ongoing EAE. In IL-10 knock-out mice, induced Tregs are not able to ameliorate this disease indicating the crucial role of IL-10 in induction of suppression by regulatory lymphocytes. Tregs are also partially responsible for the

beneficial effect of glatiramer in EAE treatment. These observations confirm that regulatory T cells may be potentially used in the therapy of multiple sclerosis and other diseases of similar pathogenesis.

KEY WORDS: regulatory lymphocytes, Treg, experimental autoimmune encephalomyelitis, multiple sclerosis, autoimmunity

TOLERANCJA ORGANIZMU

Układ immunologiczny dzięki swym właściwościom rozpoznawczym jest w stanie zareagować na niemalże każdy antygen. Pod jego kontrolą znajdują się zarówno antygeny „obce”, stanowiące przyczynę reakcji immunologicznej, jak i „własne” (tzw. autoantygeny), które w normalnych warunkach nie stanowią przedmiotu jego ataku. Jednakże i w tak doskonałym układzie może się zdarzyć, że antygen nie wywoła odpowiedzi z powodu nierozpoznania go albo pomimo wykrycia nie dochodzi do jego eliminacji, ponieważ jest on przez układ odpornościowy tolerowany. Problem pojawia się w przypadku, gdy autoantygeny rozpoznawane są jako antygeny „obce” ze wszystkimi niepożądanymi tego konsekwencjami. Regulacja odpowiedzi immunologicznej w stosunku do różnego rodzaju antygenów zachodzi zarówno na poziomie centralnym (grasicca, szpik kostny), jak i obwodowym (węzły chłonne) oraz obejmuje: anergię klonalną (czyli areaktywność na antygen), delecję klonalną (głównie poprzez apoptozę), sekwestrację antygeny, ignorancję antygeny oraz supresję przez komórki regulatorowe⁽¹⁾.

Obecnie uwaga wielu grup badawczych skupiona jest na zjawisku supresji i związanych z nią limfocytach regulatorowych. Po raz pierwszy scharakteryzowali te limfocyty, zarówno pod względem fenotypowym, jak i funkcjonalnym, Sakaguchi i wsp. (1995 r.), którzy odkryli, iż komórkami odpowiedzialnymi za hamowanie odpowiedzi immunologicznej u myszy są limfocyty CD4 ze stałą ekspresją receptora dla łańcucha α IL-2 (CD25). Potwierdziły to badania przeprowadzone na grasicach i śledzionach myszy transgenicznym BALB/c *athymic nude* (nu/nu). Z wyizolowanej populacji limfocytów T wyeliminowano poprzez dodanie przeciwciał monoklonalnych anty-CD25 subpopulację CD25⁺, a następnie komórki te wszczepiono do węzłów chłonnych myszy transgenicznym BALB/c nu/nu. U wszystkich zwierząt spowodowało to wystąpienie chorób autoimmunizacyjnych narządowo swoistych, których objawy ustępowały w momencie odbudowania subpopulacji limfocytów CD4⁺CD25⁺. Populacja limfocytów T o takim immunofenotypie i właściwościach hamujących reakcje immunologiczne została nazwana limfocytami regulatorowymi (Treg)^(2,3).

IDENTYFIKACJA NATURALNIE WYSTĘPUJĄCYCH LIMFOCYTÓW REGULATORYWYCH CD4⁺CD25⁺

Limfocyty T stanowią populację o niejednorodnym fenotypie i zróżnicowanych funkcjach. Lista komórek regulatorowych jest dość obszerna. Zalicza się do nich m.in. limfocyty CD8⁺CD28⁺, NKT (naturalne limfocyty T cytotoksyczne), limfocyty T_H1 oraz T_H17. Dopiero wprowadzenie do nauk biologicznych nowoczesnych metod badawczych, m.in. cytometrii przepływowej, pozwoliło na opisanie subpopulacji naturalnie występujących limfocytów regulatorowych (Treg)^(2,4,5). Limfocyty regulatorowe wykazują stałą ekspresję CD25 u zdrowych myszy stanowią ok. 5-10% limfocytów CD4⁺ obecnych we krwi i narządach limfatycznych. Limfocyty Treg są anergiczne i niezdolne do proliferacji *in vitro*. Dodanie do hodowli IL-2 powoduje częściowe przełamanie stanu anergii i ich proliferację. Dojrzałe, spoczynkowe limfocyty regulatorowe myszy wykazują fenotyp komórek już zaktywowanych antygenem, na co wskazuje obecność na ich powierzchni takich cząsteczek, jak CD44, CD54, CD62L^{low} oraz CD25^(6,7). Niezbędna w procesie powstawania Treg IL-2 bierze również udział w podtrzymywaniu ich żywotności oraz ekspansji na obwodzie. Zablockowanie receptora IL-2 całkowicie znosi zdolności supresorowe Treg. Doświadczenia przeprowadzone w warunkach *in vitro* wykazały, iż u myszy nieposiadających genu dla IL-2, czyli niezdolnych do jej wytwarzania (myszy IL-2 KO), limfocyty regulatorowe w ogóle nie występują⁽⁷⁾.

Utrata prawidłowej funkcji Treg może być spowodowana mutacjami w obrębie czynnika transkrypcyjnego – Foxp3. Brak tego swoistego dla komórek regulatorowych markera prowadzi do wykształcenia się zmian patologicznych u myszy Foxp3^{-/-}, zaś u zwierząt transgenicznym z jego nadekspresją stwierdza się podwyższoną liczbę Treg w porównaniu z myszami normalnymi. Opierając się na tych badaniach, można śmiało stwierdzić, iż czynnik ten jest istotnym, swoistym markerem Treg, który kontroluje ich różnicowanie i ekspresję ich supresyjnego fenotypu^(3,8). Ważnymi molekułami występującymi na powierzchni Treg są cząsteczki CTLA-4 (antygen 4, związany z cytotoksycznymi limfocytami T; ang. *cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4*), GITR (indukowany

przez glukokortykoidy receptor czynnika martwicy nowotworów; ang. *glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor*), CD45RB oraz CD62L. Niska ekspresja CD45RB wykazują te limfocyty CD4⁺, które miały już kontakt z antygenem. Zatem to populacja CD4⁺CD45^{low} charakteryzuje się aktywnością regulatorową. Naturalnie występujące Treg wykazują konstytutywną ekspresję CTLA-4 oraz wysoką ekspresję GITR, które odpowiadają za ich właściwości hamujące^(3,8).

METODY IZOLACJI LIMFOCYTÓW REGULATOROWYCH

Przed scharakteryzowaniem Foxp3 jako specyficznego czynnika dla Treg izolację komórek regulatorowych opierano na obecności cząsteczki CD25. Dziś już wiadomo, iż identyfikowanie Treg jedynie za jej pomocą jest mało precyzyjne i budzi spore wątpliwości. W przeprowadzonych w ostatnich latach badaniach wykazało, że populacja limfocytów CD4⁺CD25^{high} jest bardziej jednorodna od populacji CD4⁺CD25^{low}, którą uważa się za aktywowane limfocyty CD4⁺ niewykazujące działania regulatorowego^(8,9). Powszechnie stosowaną metodą izolacji Treg jest metoda z użyciem nośników magnetycznych anti-CD25 na kolumnie separacyjnej. Mimo że metoda sama w sobie jest szybka, jej wadą jest możliwość zanieczyszczenia populacji CD4⁺CD25^{high} komórkami o niskiej ekspresji CD25, co w konsekwencji bardzo często zaburza prawidłową ocenę aktywności Treg^(8,9). Izolacji komórek regulatorowych można także dokonać przy użyciu cytometru przepływowego z funkcją sortera dla wyznakowanych komórek. O ile jest to bardziej precyzyjna metoda, o tyle przejście pomiędzy wysoką i niską ekspresją uzależnione jest od bramkowania dokonane przez badacza^(8,10).

POWSTAWIANIE KOMÓREK Treg W GRASICY ORAZ NA OBWODZIE

W zachodzącym w grasicy procesie dojrzewania i selekcji limfocyty rozpoznające autoantygeny ulegają apoptozie albo różnicują się w komórki regulatorowe. Proces powstawania Treg nie jest do końca poznany. Sugeruje się, że limfocyty Treg przechodzą taką samą selekcję jak wszystkie limfocyty CD4⁺. Prekursory limfocytów regulatorowych migrują ze szpiku kostnego do grasicy, gdzie tylko niewielka ich liczba dojrzewa i w postaci immunokompetentnych komórek opuszcza ją. Po wejściu do grasicy w tymocytach CD4⁺CD25⁺ rozpoczyna się rearanżacja genów TCR, które ulegają ekspresji na powierzchni komórek. W normalnych warunkach tymocyty słabo wiążące własne cząsteczki MHC podlegają selekcji pozytywnej i przeżywają, natomiast te, które zbyt mocno się z nimi wiążą i są autoreaktywne, podlegają selekcji negatywnej i giną. W przypadku limfocytów regulatorowych mamy do czynienia z sytuacją, gdzie wiąza-

nie jest na tyle duże, by promowany był fenotyp regulatorowy, jednakże zbyt słabe, by nastąpiła ich eliminacja^(1,11). Wiele wątpliwości nadal dotyczy sfery samych autoantygenów. Próbuje się ustalić, czy za proces powstawania komórek regulatorowych odpowiada stały repertuar antygenów własnych organizmu, czy też może to być każdy przypadkowy autoantigen. Na podstawie szeregu badań przeprowadzonych na myszach transgenicznych stwierdzono, że generowanie komórek Treg odbywa się przy udziale komórek endotelialnych części rdzeniowej grasicy, ponieważ w tym miejscu zachodzi ekspresja narządowo swoistych antygenów własnych^(1,12). Do generowania komórek regulatorowych dochodzi także na obwodzie. Wykazano, że komórki Treg mogą powstawać w wyniku przemiany wysoce zróżnicowanych limfocytów T pamięci podczas prezentacji im antygeny przez komórki niebędące profesjonalnymi APC⁽¹¹⁾. Dowodów istnienia Treg na obwodzie dostarczyły badania przeprowadzone w warunkach *in vitro* na limfocytach mysich. Potwierdzają one, że limfocyty CD4⁺CD25⁺ mogą powstawać z limfocytów T CD4⁺CD25⁻ w hodowlach prowadzonych w obecności TGF-β oraz TGF-β i IL-2^(9,12).

MECHANIZMY I EFEKTY DZIAŁANIA LIMFOCYTÓW REGULATOROWYCH

Istnieją dwie teorie wyjaśniające mechanizm działania komórek regulatorowych na komórki efektorowe. Układ badawczy, w którym Treg i komórki efektorowe oddzielono membraną o średnicy 0,02 μm, uniemożliwiającej ich wzajemny kontakt, tłumaczy teorię bezpośredniego działania Treg na badane komórki. Tak więc, aby komórki regulatorowe były w stanie hamować proliferację komórek efektorowych, musi dojść pomiędzy nimi do kontaktu na zasadzie komórka – komórka⁽⁹⁾. Za hamujące działanie komórek Treg odpowiedzialne są wewnątrzkomórkowe cząsteczki oraz błonowe receptory występujące na ich powierzchni. Do najważniejszych z nich należą CTLA-4, GITR, PD-1, Notch, granzym B (GZ-B)⁽¹²⁻¹⁴⁾. Niepobudzone komórki regulatorowe wykazują niską ekspresję zewnątrzkomórkowego CTLA-4, który w większości występuje w cytoplazmie. W badaniach przeprowadzonych z użyciem liposomów wyznakowanych immunofluorescencyjnie dowiedziono, że wzrost ekspresji CTLA-4 na powierzchni Treg wyraźnie wzrasta po jego aktywacji. Białko CTLA-4, dla którego ligandem jest cząsteczka B7 na komórce efektorowej, w wyniku połączenia się z nią prowadzi do spadku wytwarzania IL-2, a co za tym idzie skutecznie znosi działanie komórek docelowych. Istotną rolę przypisuje się także cząsteczce GITR. Odgrywa ona istotną rolę w hamowaniu aktywności supresorowej komórek Treg. Doświadczalnie dowiedziono, iż zablokowanie receptora GITR poprzez dodanie przeciwciał monoklonalnych powoduje osłabienie właściwości supresorowych Treg w hodowlach mieszanym^(8,12,13). Na powierzchni limfocytów Treg stwierdza-

się także obecność receptorów PD-1 i Notch, jednakże ich funkcje regulatorowe są najmniej znane. Przypisuje się im rolę w regulacji tolerancji immunologicznej. W badaniu przeprowadzonym na transgenicznych myszach Notch wykazano ich odporność na rozwój autoimmunizacyjnego zapalenia wysp trzustkowych w przeciwieństwie do szczepu dzikim myszy⁽¹³⁾. Odpowiedź cytotoxyczna limfocytów regulatorowych odbywa się przy udziale granzymu B, którego obecność wzrasta po pobudzeniu Treg. Efekt supresyjny wywierany przez GZ-B na komórki docelowe potwierdziły badania z udziałem transgenicznych myszach GZ-B^{-/-}, u których właściwości hamujące były osłabione^(13,14). Podsumowując, w wyniku bezpośredniego oddziaływania na limfocyty docelowe komórki regulatorowe Treg przy udziale cząsteczek powierzchniowych hamują syntezę IL-2 i proliferację tych limfocytów.

Obecnie proponuje się także obecność pośredniego działania komórek regulatorowych na komórki efektorowe. Hipoteza ta jest poparta badaniami *in vitro*, które potwierdzają udział w tym procesie takich mediatorów, jak cytokiny IL-10 i TGF- β . Pierwsza z nich jest cytokiną supresorową i wykazuje wpływ hamujący na różnych poziomach odpowiedzi immunologicznej. Powoduje ona hamowanie wytwarzania cytokin przez komórki Th1 i aktywowane makrofagi. Ponadto badania przeprowadzone na myszach IL-10 KO wykazały jej udział w rozwijaniu tolerancji transplantacyjnej. U zwierząt wykazujących brak IL-10 obserwowano ostre odrzucanie przeszczepów, co tłumaczy się niezdolnością komórek regulatorowych do pełnienia funkcji efektorowych^(6,15). Kwestią sporną pozostaje nadal udział cytokiny TGF- β w pełnieniu funkcji efektorowych przez komórki Treg. Niektórzy badacze wskazują na połączenie działania IL-10 z działaniem TGF- β . IL-10 wzmacnia ekspresję receptora TGF- β na aktywowanych i spoczynkowych limfocytach T, natomiast TGF- β może indukować wytwarzanie IL-10 przez APC. Ponadto TGF- β wykazuje silne działanie supresorowe, hamuje aktywację makrofagów oraz proliferację limfocytów T i B. Cytokina ta hamuje także wydzielanie IL-2, jednakże przy wysokim jej stężeniu w otoczeniu TGF- β działa na limfocyty kostymulująco, a tym samym prowadzi do podwyższenia ekspresji CD25, CTLA-4, GITR, co powoduje powstanie nowych komórek regulatorowych^(6,13).

Sposób, w jaki tak mała subpopulacja komórek regulatorowych jest w stanie nadzorować pozostałe komórki układu immunologicznego, tłumaczy teoria dwustopniowego działania zwana tolerancją infekcyjną (ang. *infectious tolerance*). Zakłada ona, że w pierwszym etapie limfocyty CD4⁺CD25⁺ oddziałują na komórki CD4⁺CD25⁻, wywołując ich anergię oraz wydzielanie IL-10 oraz TGF- β . Uwalniane cytokiny wykazują działanie hamujące na inne komórki CD4⁺CD25⁻, a także na makrofagi oraz komórki dendrytyczne (DC). Oprócz konwersji efektorowych limfocytów T w komórki regulatorowe

limfocyty Treg mogą hamować aktywację i proliferację limfocytów odpowiadających na inne antygeny prezentowane przez te same komórki APC w procesie zwanym łączyoną supresją (ang. *linked suppression*)⁽³⁾.

UDZIAŁ KOMÓREK Treg W PATOGENEZIE DOŚWIADCZALNEGO AUTOIMMUNIZACYJNEGO ZAPALENIA MÓZGU I RDZENIA KRĘGOWEGO (EAE)

Obecne ośrodki zajmujące się problematyką chorób o podłożu immunologicznym prowadzą szereg badań poświęconych limfocytom regulatorowym i ich udziałowi w hamowaniu reakcji patologicznych w organizmie. Wiadomo bowiem, że zachwianie równowagi immunologicznej jest w dużej mierze przyczyną chorób autoimmunizacyjnych. Do jednej z nich zaliczane jest stwardnienie rozsiane (*sclerosis multiplex*, SM), którego przypuszczalny mechanizm rozwoju opiera się na wystąpieniu reakcji zapalnej mediowanej przez autoreaktywne klony limfocytów T pomocniczych. Ze względu na niejasną etiologię MS modelem badawczym, który wykorzystuje się do jego poznania, jest doświadczalne autoimmunizacyjne zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego (ang. *experimental autoimmune encephalomyelitis*, EAE). Reakcja zapalna w OUN w przebiegu EAE inicjowana jest przez limfocyty CD4⁺Th1 swoiste względem antygenów mieliny, tj. PLP (ang. *proteolipid protein*), MOG (ang. *myelin oligodendrocyte glycoprotein*) lub MBP (ang. *myelin basic protein*). U genetycznie predysponowanych myszy wywołuje się ją poprzez aktywną immunizację jednym z ww. neuroantygenów podawanych wraz z kompletnym adiuwantem Freund'a (CFA) albo poprzez pasywny transfer komórek wykazujących powinowactwo do antygenów mieliny do naiwnych wrażliwych biorców^(8,16,17).

Jak dotąd niewiele wiadomo na temat udziału limfocytów regulatorowych (Treg) oraz mechanizmu ich działania w przebiegu rozwoju stwardnienia rozsianego u ludzi. Badania prowadzone na modelu EAE także nie wyjaśniają ostatecznie, czy zmniejszona i upośledzona liczba limfocytów Treg jest czynnikiem promującym i przyspieszającym chorobę, czy raczej pojawia się ona wtórnie w odpowiedzi na toczącą się reakcję zapalną w OUN. W modelu z użyciem myszy, którym podawano przeciwciała PC61 (anty-CD25), wykazano, iż ubytek limfocytów CD4⁺CD25⁺ nie wpływa znacząco na wystąpienie pierwszej remisji. Jednakże stwierdzono, że zmniejszenie ilości Treg ma olbrzymi wpływ na wystąpienie drugiej i kolejnych remisji choroby. Liczba myszy, u których występowała chroniczna faza choroby, była większa o 30% w grupie zwierząt leczonych PC61 w porównaniu z myszami kontrolnymi (nieleczonymi). Dane te wskazują, że naturalnie występujące limfocyty regulatorowe CD4⁺CD25⁺ odgrywają istotną rolę w za-

pobieganiu i/lub zmniejszaniu przewlekłego procesu patologicznego zachodzącego w mózgu w czasie EAE^(8,18). Cytokiny pełnią rolę istotnych mediatorów międzykomórkowych w rozwoju EAE. Podstawowe znaczenie mają takie cytokiny, jak TNF- α , IFN- γ oraz IL-2. Zmniejszenie ekspresji cytokin TNF- α oraz IFN- γ po podaniu komórek regulatorowych sugeruje ich udział w łagodzeniu szkodliwego działania komórek efektorowych w CNS⁽¹⁸⁻²⁰⁾. W przypadku cytokin IL-2 i IL-6 wykazano, iż podanie ich nasila objawy EAE, podczas gdy blokowanie ich specyficznymi przeciwciałami hamuje proces chorobowy. Ponadto dowiedziono, że wiele cytokin, w tym IL-4, IL-10 oraz TGF- β , przyczynia się do wystąpienia remisji oraz zdrowienia myszy^(7,8,10,21). Wśród cytokin chemotaktycznych (chemokin) oraz ich receptorów główną rolę odgrywają chemokiny CCL2, CCL3, CCL5, CXCL10 oraz receptory chemokinowe CXCR5, CCR5 oraz CCR7. Badania, w których myszom podawano przeciwciała neutralizujące chemokiny, wykazały, iż CCL3 uważana jest za mediatora odpowiedzi zapalnej i wystąpienia ostrej fazy EAE, podczas gdy CCL2 odpowiada za chroniczną postać choroby^(7,11).

Cytokiny są istotnymi mediatorami funkcji limfocytów regulatorowych. Wykazano, że cytokina TGF- β 1 moduluje ekspresję markera komórek regulatorowych Foxp3 oraz może stymulować powstawanie komórek regulatorowych zdolnych do wytwarzania IL-10⁽²²⁾. U myszy z zablokowanym genem dla TGF- β 1 limfocyty regulatorowe są nadal obecne, ale tracą swoje właściwości regulatorowe⁽²³⁾. Zmniejszenie liczby komórek regulatorowych w węzłach chłonnych po infekcji wirusowej korelowało nie tylko ze zmianami ekspresji cytokin TGF- β i IL-2, ale także z ekspresją ligandów dla receptorów chemokinowych CXCR3, CCR4 i CCR7⁽²⁴⁾.

Pasywnie przenoszone do biorcy limfocyty regulatorowe są w stanie zahamować EAE zarówno zastosowane profilaktycznie, jak i leczniczo⁽²⁵⁾. U myszy z zablokowanym genem dla IL-10 indukowane limfocyty Treg nie są w stanie zahamować rozwoju tej choroby, co wskazuje na istotną rolę IL-10 w wywoływaniu supresji przez Treg⁽²⁵⁾. Limfocyty regulatorowe odpowiadają częściowo za efektywność glatirameru w hamowaniu EAE. Bardziej efektywny w hamowaniu EAE jest pasywny transfer limfocytów Treg wyizolowanych od myszy leczonych glatiramerem niż od myszy nieleczonych⁽²⁶⁾.

Obserwacje te potwierdzają, że limfocyty regulatorowe mogą być potencjalnie wykorzystywane w terapii stwardnienia rozsianego i innych chorób o podobnej patogenezie.

PIŚMIENNICTWO:

BIBLIOGRAPHY:

1. Anderson A.C., Kuchroo V.K.: Expression of self-antigen in the thymus: a little goes a long way. *J. Exp. Med.* 2003; 198: 1627-1629.
2. Beissert S., Schwarz A., Schwarz T.: Regulatory T cells. *J. Invest. Dermatol.* 2006; 126: 15-24.
3. Sakaguchi S., Ono M., Setoguchi R. i wsp.: Foxp3⁺ CD25⁺CD4⁺ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease. *Immunol. Rev.* 2006; 212: 8-27.
4. Groux H.: An overview of regulatory T cells. *Microbes Infect.* 2001; 3: 883-889.
5. Read S., Powrie F.: CD4⁺ regulatory T cells. *Curr. Opin. Immunol.* 2001; 13: 644-649.
6. McGeachy M.J., Stephens L.A., Anderton S.M.: Natural recovery and protection from autoimmune encephalomyelitis: contribution of CD4⁺CD25⁺ regulatory cells within the central nervous system. *J. Immunol.* 2005; 175: 3025-3032.
7. Pandiyan P., Lenardo M.J.: The control of CD4⁺CD25⁺ Foxp3⁺ regulatory T cell survival. *Biol. Direct* 2008; 3: 6.
8. Gärtner D., Hoff H., Gimsa U. i wsp.: CD25 regulatory T cells determine secondary but not primary remission in EAE: impact on long-term disease progression. *J. Neuroimmunol.* 2006; 172: 73-84.
9. O'Garra A.: Development and function of IL-10-secreting regulatory T cells: comparison with naturally occurring CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells. *Internat. Congress Series* 2005; 1285: 160-168.
10. Matsumoto Y., Sakuma H., Kohyama K., Park I.K.: Paralysis of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell response in chronic autoimmune encephalomyelitis. *J. Neuroimmunol.* 2007; 187: 44-54.
11. Mahnke K., Bedke T., Enk A.H.: Regulatory conversation between antigen presenting cells and regulatory T cells enhance immune suppression. *Cell. Immunol.* 2007; 250: 1-13.
12. Fontenot J.D., Rudensky A.Y.: Molecular aspects of regulatory T cell development. *Semin. Immunol.* 2004; 16: 73-80.
13. Miyara M., Sakaguchi S.: Natural regulatory T cells: mechanisms of suppression. *Trends Mol. Med.* 2007; 13: 108-116.
14. Tsang J., Jiang S., Tanriver Y. i wsp.: In-vitro generation and characterisation of murine CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells with indirect allospecificity. *Int. Immunopharmacol.* 2006; 6: 1883-1888.
15. O'Connor R.A., Anderton S.M.: Foxp3⁺ regulatory T cells in the control of experimental CNS autoimmune disease. *J. Neuroimmunol.* 2008; 193: 1-11.
16. Grigoriadis N., Grigoriadis S., Polyzoidou E. i wsp.: Neuroinflammation in multiple sclerosis: evidence for autoimmune dysregulation, not simple autoimmune reaction. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 2006; 108: 241-244.
17. Li J., Ridgway W., Fathman C.G. i wsp.: High cell surface expression of CD4 allows distinction of CD4⁺CD25⁺ antigen-specific effector T cells from CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in murine experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Neuroimmunol.* 2007; 192: 57-67.
18. Montero E., Nussbaum G., Kaye J.F. i wsp.: Regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis by CD4⁺, CD25⁺ and CD8⁺ T cells: analysis using depleting antibodies. *J. Autoimmun.* 2004; 23: 1-7.
19. Kohm A.P., Carpentier P.A., Anger H.A., Miller S.D.: Cutting edge: CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells suppress antigen-specific autoreactive immune responses and central nervous system inflammation during active experimental

- autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol.* 2002; 169: 4712-4716.
20. Zhang X., Koldzic D.N., Izikson L. i wsp.: IL-10 is involved in the suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis by CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells. *Int. Immunol.* 2004; 16: 249-256.
 21. Wood K.J., Sawitzki B.: Interferon γ : a crucial role in the function of induced regulatory T cells *in vivo*. *Trends Immunol.* 2006; 27: 183-187.
 22. Pyzik M., Piccirillo C.A.: TGF- β 1 modulates Foxp3 expression and regulatory activity in distinct CD4⁺ T cell subsets. *J. Leukoc. Biol.* 2007; 82: 335-346.
 23. Bommireddy R., Babcock G.F., Singh R.R., Doetschman T.: TGF β 1 deficiency does not affect the generation and maintenance of CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ putative T_{reg} cells, but causes their numerical inadequacy and loss of regulatory function. *Clin. Immunol.* 2008; 127: 206-213.
 24. Qin S., Sui Y., Soloff A.C. i wsp.: Chemokine and cytokine mediated loss of regulatory T cells in lymph nodes during pathogenic simian immunodeficiency virus infection. *J. Immunol.* 2008; 180: 5530-5536.
 25. Selvaraj R.K., Geiger T.L.: Mitigation of experimental allergic encephalomyelitis by TGF- β induced Foxp3⁺ regulatory T lymphocytes through the induction of anergy and infectious tolerance. *J. Immunol.* 2008; 180: 2830-2838.
 26. Jee Y., Piao W.H., Liu R. i wsp.: CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells contribute to the therapeutic effects of glatiramer acetate in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Clin. Immunol.* 2007; 125: 34-42.

Informacja dla autorów!

Chcąc zapewnić naszemu czasopismu „Aktualności Neurologiczne”
wyższą indeksację MNiSW i Index Copernicus,
zwracamy się do autorów o dopełnienie poniższych warunków
podczas przygotowywania pracy do publikacji:

- Publikację należy opatrzyć afiliacją z podaną nazwą ośrodka i jego pełnym adresem oraz numerem telefonu.
- Praca oryginalna powinna być poprzedzona **streszczeniem** zawierającym **od 200 do 250 słów**, a poglądowa i kazuistyczna – **od 150 do 200**. Streszczeniu pracy oryginalnej należy nadać budowę strukturalną: wstęp, materiał i metoda, wyniki, wnioski.
- Liczba **słów kluczowych** nie może być mniejsza niż **5**. Słowa kluczowe nie powinny być powtórzeniem tytułu. Najlepiej stosować słowa kluczowe z katalogu MeSH.
- **Praca oryginalna** winna zawierać elementy: wstęp, materiał i metoda, wyniki, omówienie, wnioski, piśmiennictwo.
- **Piśmiennictwo** powinno być ułożone w **kolejności cytowania**.

Pełny Regulamin ogłaszania prac znajduje się na stronie 4.