

УДК 612.112.94:57.016.4:616-002.2:615.37

## СИСТЕМА РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-КЛЕТОК И АУТОИММУННЫЕ ПРОЦЕССЫ

**П. Н. Кравченко, Е. К. Олейник**

*Институт биологии Карельского научного центра РАН*

В обзоре представлены последние данные о роли основных субпопуляций регуляторных Т-клеток (Treg) в норме и при аутоиммунных заболеваниях. Рассмотрены механизмы функционирования регуляторных Т-клеток при диабете 1 типа, ревматоидном артрите, системной красной волчанке и рассеянном склерозе, также приведены результаты определения количества  $CD4^+CD25^+$  Т-клеток при данных патологиях. Представлены сведения о новых молекулярных маркерах регуляторных Т-клеток. Обсуждены современные подходы к иммунотерапии больных аутоиммунными заболеваниями.

**Ключевые слова:** Трег клетки, аутоиммунитет, диабет 1 типа, ревматоидный артрит, системная красная волчанка, рассеянный склероз.

### **P. N. Kravchenko, E. K. Oleinik. THE SYSTEM OF REGULATORY T CELLS AND AUTOIMMUNITY**

We summarize the latest data on the role of the main subpopulations of regulatory T-cells (Treg cells) in the normal condition and in autoimmune diseases. The mechanisms of Treg cell functioning are considered for type 1 diabetes, rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus and multiple sclerosis; the results on the quantities of  $CD4^+CD25^+$  T-cells at these pathologies are reported. Data on new molecular markers of Treg cells are presented. Current approaches to the immunotherapy for patients with autoimmune diseases are discussed.

**Key words:** Treg cells, autoimmunity, type 1 diabetes, rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, multiple sclerosis.

---

### **Введение**

Регуляторные Т-клетки (Treg) играют важную роль в поддержании иммунологической толерантности, и нарушения в их функционировании приводят к развитию различных патологий. В связи с этим в последние годы ведется активное изучение таких клеток с целью поиска эффективных способов влияния на их активность и численность. Известно, что в иммунной системе Трег клетки участвуют в контроле различных физиологических состояний организма и представ-

лены несколькими субпопуляциями [Ярилин, Донецкова, 2006]. Нарушения в системе регуляторных клеток (количественные или функциональные) могут способствовать развитию иммунологической недостаточности, снижению противоопухолевого иммунитета, развитию аутоиммунных заболеваний. Показано, что удаление  $CD4^+CD25^+FOXP3^+$ -клеток приводит к экспансии Т-эффекторных клеток с последующим развитием аутоиммунных расстройств [Sakaguchi et al., 2010]. Мутация гена FOXP3<sup>+</sup> у человека ассоциирована с исчезновением клеток с фенотипом

CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> и снижением супрессорной активности. Это приводит к формированию тяжелого иммунодефицита, так называемого IPEX-синдрома (Immunodysregulation, Polyendocrinopathy, and Enteropathy, X-Linked, X-ассоциированная иммунная дисрегуляция), при котором развиваются энтеропатия, тиреоидит, экзема, лимфо-пролиферативный синдром, гемолитическая анемия, тромбоцитопения, тяжелые инфекции [Sakaguchi et al., 2010].

Аутоиммунные заболевания характеризуются повреждением тканей и нарушением физиологических функций, вызванным иммунным ответом против собственных антигенов. В развитии аутоиммунных процессов могут вовлекаться аутоантигены, широко распространенные в организме, которые становятся причиной системных повреждений. В качестве аутоантигенов могут выступать любые ткани, клетки и компоненты плазмы. Например, при ревматоидном артрите антигеном является иммуноглобулин G (IgG), антиген клеточных ядер (RANA); при рассеянном склерозе – антигены мозговой ткани; при инсулинзависимом (ювенильном) диабете – цитоплазматические антигены островковых клеток поджелудочной железы. Спектр аутоиммунных заболеваний широк, а к наиболее известным из них относятся инсулинзависимый диабет, рассеянный склероз, ревматоидный артрит, системная красная волчанка, болезнь Крона, IPEX, тиреоидит Хасимото, псориаз, витилиго и др. Одной из причин аутоиммунизации могут быть инфекции, которые сами по себе не способны вызвать подобные заболевания. Однако инфекции могут провоцировать сбои иммунитета и приводить к аутоиммунизации. Известно, что ревматизм может развиваться вследствие перенесенной стрептококковой инфекции, а диабет – после попадания в организм вируса гепатита А.

Развитие аутоиммунных процессов в организме может быть связано с нарушениями в функциях регуляторных клеток. В тимусе в процессе дифференцировки лимфоцитов происходит селекция и гибель аутореактивных клонов, что обеспечивает толерантность к собственным тканям организма. В норме иммунная система сдерживает аутореактивность лимфоцитов с помощью регуляторных механизмов, а нарушения в этих механизмах могут привести к аутоиммунизации.

Разнообразие клинических проявлений аутоиммунных заболеваний объясняется различиями в локализации и механизмах повреждения собственных тканей и органов. Механизмы нарушения толерантности к аутоантигенам связывают с изменениями экспрессии собственных антигенов, вызванными воспалением

или повреждением тканей, воздействием вирусов и бактерий, свободных радикалов или ионизирующей радиации, некоторыми лекарственными препаратами. Аутоиммунные процессы могут быть также связаны с «молекулярной мимикрией» (сходством аутоантигенов с антигенами возбудителей инфекционных заболеваний). В настоящее время аутоиммунные заболевания входят в число самых распространенных видов патологий.

### Краткая характеристика регуляторных клеток

Первоначально Treg человека были охарактеризованы S. Sakaguchi с соавт. [1995] как CD4<sup>+</sup> T-клетки, которые конститутивно экспрессируют рецептор  $\alpha$ -цепи IL-2 (CD25). Последующие исследования показали, что только CD4<sup>+</sup> T-клетки, экспрессирующие высокий уровень CD25 (CD25<sup>high</sup>), имеют *in vitro* супрессорную активность. Хотя CD25 используется для определения Treg, в последнее время было показано, что он также экспрессируется на активированных CD4<sup>+</sup> T-клетках. Поэтому в настоящее время большинство исследователей для идентификации Treg стали использовать CD127 ( $\alpha$ -цепь IL-7), к Treg относят CD127<sup>low</sup>, а CD127<sup>high</sup> – к активированным T-клеткам [Liu et al., 2006; Seddiki et al., 2006].

В настоящее время известно, что наивные CD4<sup>+</sup> T-клетки после активации антигеном могут дифференцироваться в различные линии Th клеток, включающих в себя T-хелперы 1 (Th1), T-хелперы 2 (Th2), фолликулярные T-хелперы (Tfh), T-хелперы 9 (Th9), T-хелперы 17 (Th17). Treg представлены несколькими субпопуляциями T-клеток, состоящими из естественных CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> (nTreg) и индуцированных регуляторных клеток (iTreg). iTreg включают в себя регуляторные клетки первого типа (Tr1), продуцирующие IL-10, T-хелперы 3 (Th3), продуцирующие TGF- $\beta$  [Sakaguchi et al., 2010; Chen et al., 2011], CD8<sup>+</sup> регуляторные T-клетки, такие как CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> клетки, CD8<sup>+</sup>CD122<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>CD122<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> и т. д. [Wang, 2008; Zheng et al., 2009]. Считается, что T-клетки CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>, натуральные киллерные T-клетки (natural killers T-cells, NKT) и  $\gamma\delta$  T-клетки также обладают регуляторной активностью, но пока эти клетки изучены в меньшей степени, чем CD4<sup>+</sup> регуляторные клетки [McMurchy et al., 2011].

Впервые регуляторные клетки человека были выделены из периферической крови и охарактеризованы как CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> T-клетки несколькими группами исследователей в 2001 году [Cvetanovich, Hafler, 2010].

Транскрипционный фактор FOXP3 является каноническим специфическим маркером для Treg, так как он необходим для дифференцировки и функционирования этих клеток. По уровню экспрессии FOXP3 Treg могут быть разделены на несколько популяций: покоящиеся Treg с фенотипом CD25<sup>high</sup>CD45RA<sup>+</sup>FOXP3<sup>low</sup>, активированные Treg с фенотипом CD25<sup>high</sup>CD45RA<sup>+</sup>FOXP3<sup>high</sup>. Эти популяции обладают супрессорными свойствами *in vitro*. А третья, с фенотипом CD25<sup>high</sup>CD45RA<sup>+</sup>FOXP3<sup>low</sup> – цитокин-секретирующая, с потенциалом Th17, не проявляла супрессорных свойств [Miyara et al., 2009].

Недавно был идентифицирован транскрипционный фактор Helios (из семейства Ikaros), который экспрессируется только на nTreg и не обнаруживается на iTreg. Поэтому этот транскрипционный фактор может использоваться в качестве маркера для определения nTreg [Thornton et al., 2010].

Регуляторные клетки экспрессируют ряд функциональных молекул, которые могут использоваться как поверхностные маркеры, – GITR, CTLA-4 (CD152), galectin-1, CD38, CD62L, OX-40L, CD103, TNF-R2, TGF-βR1, CD5, I-selectin, CD45RO, CD45RA, LAG-3, neuropilin-1 (Nrp1) [Свиридова и др., 2007; Tran et al., 2009a; Shevach, 2009; Sakaguchi et al., 2010].

В последнее время стали появляться сообщения о регуляторных В-клетках [Yanaba et al., 2008; Gray and Gray, 2010; Noh et al., 2010; Noh, Lee, 2011]. В-клетки делятся на классические CD5<sup>+</sup> В1 клетки и CD5<sup>-</sup> – традиционные В2 клетки. В1 клетки секретируют несколько специфических аутоантител и могут участвовать в развитии аутоиммунных патологий. CD5<sup>+</sup> клетки характеризуются экспрессией поверхностных маркеров B220<sup>lo</sup>, IgM<sup>hi</sup>, IgD<sup>+</sup>, CD9<sup>+</sup>, CD43<sup>+</sup> и CD23<sup>lo</sup>. В2 клетки определяются фенотипически как B220<sup>hi</sup>, IgM<sup>hi/lo</sup>, IgD<sup>+</sup>, CD9<sup>+</sup>, CD43<sup>-</sup> и CD23<sup>hi</sup>. В1 клетки секретируют IL-10, TGF-β и FoxP3, и они определены как Br1 (B10), Br3 и Breg соответственно [Noh, Lee, 2011].

### Регуляторные клетки и аутоиммунные заболевания

В иммунной системе существует ряд механизмов для контроля аутоотолерантности, центральным из которых является клональная селекция и апоптоз аутореактивных Т-клеток в тимусе. Однако небольшое количество аутореактивных Т-клеток может быть обнаружено в периферической крови у здоровых доноров [Danke et al., 2004]. В норме иммунная система сдерживает аутореактивность лимфоцитов с

помощью регуляторных механизмов. Нарушение их может привести к аутоиммунизации. Аутоиммунные реакции могут возникать из-за снижения количества Treg, вследствие их недостаточного развития, пролиферации или выживания, возникновения дефектов в функциях самих Treg, резистентности эффекторных Т-клеток к действию Treg [Buckner, 2010].

### Диабет 1 типа

Сахарный диабет 1 типа (Type 1 Diabetes, T1D) – заболевание эндокринной системы, характеризующееся абсолютной недостаточностью инсулина. Диабет 1 типа возникает, когда собственная иммунная система человека начинает атаковать и уничтожать инсулин-продуцирующие бета-клетки (β-клетки) островков поджелудочной железы. В результате утрачивается способность организма вырабатывать инсулин, и количество глюкозы достигает опасного уровня. Это заболевание может развиваться в любом возрасте, но чаще наблюдается в ранние периоды онтогенеза.

Ключевую роль в иммунопатогенезе этого заболевания играют цитокины: IL-1, IFN-γ, TNF-α, IL-4, IL-10 [Кравец и др., 2010]. IL-1β усиливает экспрессию NF-κB в β-клетках, что приводит к активации индуцибельной NO-синтазы (iNOS). Продукция NO снижает функцию митохондрий, в результате чего происходит уменьшение уровня аденозинтрифосфата (АТФ) и секреции инсулина. IL-1β в сочетании с IFN-γ проявляет цитотоксическое действие на β-клетки. IFN-γ усиливает экспрессию антигенов МНС I и II класса, а также экспрессию адгезивных молекул на β-клетках. TNF-α индуцирует апоптоз и некроз β-клеток. В то же время цитокины IL-4 и IL-10 проявляют защитное действие при T1D. Предварительная инкубация β-клеток человека с IL-4 предотвращает апоптоз, вызванный смесью IL-1, TNF-α и IFN-γ. Но у мышей трансгенная экспрессия IL-4 способствует развитию аутоиммунного сахарного диабета [Кравец и др., 2010].

Регуляторные Т-клетки могут влиять на различные стадии T1D. Как и при реакции «трансплантат против хозяина», вполне вероятно, что Treg сначала активируются в лимфоузлах поджелудочной железы. Затем CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> Treg и Tr1 различными способами блокируют активацию и экспансию эффекторных Т-клеток. Экспрессия эффекторными клетками молекул адгезии и рецепторов хемокинов также подавляется Treg, в результате чего происходит снижение миграции эффекторных клеток в орган-мишень [Roncarolo, 2007].

В ряде исследований представлено количественное содержание CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg в периферической крови больных T1D в сравнении со здоровыми донорами (табл. 1).

Таблица 1. Содержание регуляторных CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Т-клеток в периферической крови больных диабетом 1 типа

Фенотип Treg	Количество Treg, %		Источник
	больные	здоровые	
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup>	4,7	5,2	Brusko et al., 2005; Jin et al., 2009
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>hi</sup>	1,2	1,7	

С возрастом количество Treg у больных T1D снижается [Brusko et al., 2005; Jin et al., 2009]. В то же время Y. Jin с соавт. [2009] отмечают рост Treg в группе в возрасте до 14 лет.

По данным ряда исследователей, функциональная активность Treg у больных T1D снижается [Lindley et al., 2005; Lawson et al., 2008; Jin et al., 2009]. В исследованиях с NOD мышами (non-obese diabetic mice, экспериментальная модель диабета 1 типа) было показано, что снижение функциональной активности Treg в местах воспаления связано с понижением уровня IL-2 [Bettini, Vignali, 2009]. Также был обнаружен дефект в сигнальном пути IL-2R Treg больных. Это нарушение приводило к уменьшению восприимчивости Treg клеток к IL-2, вследствие чего снижалась его доступность Treg клеткам [Long et al., 2010].

Обнаружение способности iNKT-клеток продуцировать регуляторный цитокин IL-4 привлекло особое внимание к этим клеткам, и они стали рассматриваться как потенциальные регуляторы иммунных ответов. Были представлены данные о снижении количества (до 30 %) iNKT-клеток у NOD мышей в сравнении с неаутоиммунными штаммами, что было связано с дефектами в этих клетках [Novak, Lehuen, 2011]. Дальнейшие исследования показали, что исправление повреждений iNKT-клеток значительно снизило и частоту T1D у NOD мышей. Непосредственный анализ перенесенных диабетогенных Т-клеток в iNKT реципиентов показал, что присутствие iNKT-клеток ингибирует продукцию IL-2 и IFN-γ, а затем и пролиферацию популяции эффекторных CD4<sup>+</sup> Т-клеток. Лечение NOD мышей синтетическими лигандами iNKT-клеток, такими как α-GalCer, OCH и α-GalCer (C20:2), значительно снижает тяжесть заболевания T1D в NOD колонии. α-GalCer (α-Galactosylceramide) – гликолипид, полученный от морской губки *Agelas Mauritanus*, – специфично и эффективно стимулирует iNKT-клетки, связываясь с высокой чувствительностью с тетрамерами CD1d молекулы.

Это объясняется тем, что CD1d молекула, в отличие от классической MHC молекулы, презентует антигены гликолипидной и липидной структуры. Оптимальные результаты были достигнуты только в случаях, когда лечение начиналось на очень ранней стадии при ежедневном приеме α-GalCer. Эффекторные CD4<sup>+</sup> Т-клетки не способны к пролиферации в присутствии α-GalCer-активированных клеток iNKT. Введение α-GalCer приводит к привлечению CD11c<sup>+</sup>CD8a<sup>-</sup> миелоидных дендритных клеток, вызывающих иммунологическую толерантность в лимфатических узлах поджелудочной железы, и увеличивает экспрессию CD86. Эти изменения необходимы для индукции анергии эффекторных Т-клеток [Novak, Lehuen, 2011]. У NOD мышей дефект iNKT-клеток по сравнению с неаутоиммунными штаммами обнаруживается в периферической лимфоидной ткани, но не в периферической крови. Эти данные показывают, что исследование iNKT-клеток в периферической крови не отражает состояние iNKT-клетки в органе-мишени – поджелудочной железе в случае T1D. Данные, касающиеся взаимодействия между iNKT-клетками и регуляторными Т-клетками при T1D, малочисленны. Тем не менее в лабораторных условиях стимулирование iNKT-клеток α-GalCer не меняет ни фенотип, ни количество, ни функции регуляторных CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> Т-клеток [Novak, Lehuen, 2011]. Таким образом, действительную значимость взаимодействия iNKT с CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Т-клетками в защите от T1D предстоит еще установить.

В последнее время особое внимание привлекают двойные негативные регуляторные Т-клетки (Double negative T cells, DN Treg). У грызунов CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> регуляторные Т-клетки составляют 1–3 % периферических Т-клеток [Shalev et al., 2011]. Эти DN Treg экспрессируют уникальный набор маркеров на поверхности клеток, включающий TCRαβ, CD25, LFA-1, CD69, CD45, CD30, CD62L и CTLA-4. Активированные DN Treg клетки могут синтезировать своеобразный профиль цитокинов, характеризующийся увеличенной продукцией IFN-γ, TNF-α и низким уровнем TGF-β. В то же время секретирование IL-2, IL-4, IL-13 или IL-10 не было обнаружено в этих клетках. DN Treg клетки могут подавлять иммунные реакции с участием CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток *in vitro* и *in vivo*. Было показано, что лечение с активированными антиген-специфическими DN Treg клетками может предотвратить развитие реакции «трансплантат против хозяина» (GVHD) и развитие аутоиммунного диабета 1 типа, индуцированного патогенными CD8<sup>+</sup> Т-клетками NOD мышей. DN Treg клетки были также идентифицированы и у человека. Эти

клетки составляют 1–2 % от общего числа CD3<sup>+</sup> Т-клеток в крови и лимфоузлах у здоровых доноров. Подобно DN Treg клеткам мышей, активированные DN Treg клетки человека секретируют высокие уровни IFN- $\gamma$ , но не IL-2, и очень низкие уровни IL-10 и IL-4. DN Treg клетки были способны распознавать МНС-пептидные комплексы APCs, тем самым приобретая способность к индукции апоптоза и подавлению пролиферации антиген-специфических цитотоксических Т-лимфоцитов (cytotoxic T lymphocyte (CTL)) [Shalev et al., 2011].

### Ревматоидный артрит

По современным представлениям, ревматоидный артрит (Rheumatoid Arthritis, RA) – это хроническое заболевание неизвестной этиологии, со сложным аутоиммунным патогенезом, характеризующееся хроническим воспалением синовиальной оболочки суставов и прогрессирующей деструкцией хрящевой и костной ткани. С риском развития RA связывают гены STAT4, PTPN22, HLA-DRB1 [Core, 2008].

Развитие RA вызывается проникновением в полость сустава экзогенного или эндогенного антигена. Он поглощается макрофагами и дендритными клетками, где подвергается процессингу и затем презентуется CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитам. Сенсибилизированные Т-клетки путем прямых межклеточных взаимодействий и выработки цитокинов активируют макрофаги и фибробласты, которые в свою очередь продуцируют провоспалительные цитокины, стимулирующие рост и пролиферацию Т-лимфоцитов, а также моноцитов, синовиоцитов, хондроцитов, эндотелиальных клеток.

Провоспалительный IL-1, продукции которого способствует TNF- $\alpha$ , повышает выработку NO-синтетазы и содержание оксида азота, что в дальнейшем способствует гибели хондроцитов. При RA обнаружен повышенный уровень IL-17 и его рецепторов (IL-17A и IL-17C) в синовиальной ткани, синовиальной жидкости и супернатантах культур мононуклеарных клеток синовиальной оболочки [Lubberts et al., 2004]. IL-17 индуцирует синтез провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF) и хемокина CCL20; оказывает синергическое действие на продукцию медиаторов воспаления совместно с TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$ ; непосредственно стимулирует стромальные клетки, макрофаги, хондроциты, вызывая разрушение хрящевой и костной ткани [Miossec, 2007; Core, 2008].

Пролиферация эффекторных Т-лимфоцитов может подавляться Treg клетками экспрессией CTLA-4 и иммуносупрессорных цитокинов TGF- $\beta$ -1, IL-10 и IL-35 [Steward-Tharp et al., 2010].

В ряде исследований представлено количественное содержание CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg в периферической крови больных RA в сравнении со здоровыми донорами (табл. 2).

Таблица 2. Содержание регуляторных CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Т-клеток в периферической крови больных ревматоидным артритом

Фенотип Treg	Количество Treg, %		Источник
	больные	здоровые	
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup>	↓ 5,5	11,1	Mottonen et al., 2005; Liu et al., 2005; Aerts et al., 2008
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>bright</sup>	↓ 2,1	5,1	Liu et al., 2005; Lee et al., 2008; Aerts et al., 2008
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> FOXP3 <sup>+</sup>	5,0	5,4	Venken et al., 2007
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>low</sup>	↑ 19	14	Aerts et al., 2008
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>low</sup>	↓ 5,6	5,9	
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>low</sup> FOXP3 <sup>+</sup>	↓ 4,8	5,6	

Примечание. ↓ – уменьшение количества Treg клеток в периферической крови больных;

↑ – увеличение количества Treg клеток в периферической крови больных.

У больных RA снижена супрессорная функция Treg клеток в периферической крови, Treg клетки подавляют пролиферацию эффекторных Т-лимфоцитов, но не их способность синтезировать провоспалительные цитокины [Ehrenstein et al., 2004]. Более высокое содержание Treg клеток обнаружено в синовиальной жидкости, чем в периферической крови у больных RA [Mottonen et al., 2005; Liu et al., 2005].

Было показано также снижение числа iNKT-клеток в периферической крови больных RA. Исследования показали, что нарушения в этих клетках вызывают воспаление синовиальной оболочки сустава, что свидетельствует о возможном участии iNKT-клеток в аутоиммунизации [Novak, Lehen, 2011]. Дефекты iNKT-клеток у CD1d<sup>-/-</sup> или Ja18<sup>-/-</sup> мышей весьма благоприятно влияют на течение заболевания. При коллаген-индуцированном артрите, а также антитело-опосредованной модели RA блокада iNKT-CD1d привела к снижению тяжести заболевания. Противоречивые результаты были получены в экспериментах, анализирующих терапевтический эффект синтетических лигандов iNKT-клеток.  $\alpha$ -GalCer и OCH защищают мышей от CIA (collagen induced arthritis mice, экспериментальная модель коллаген-индуцированного

артрита), индуцируя сдвиг иммунного ответа в сторону Th2. Однако в антитело-опосредованной модели RA  $\alpha$ -GalCer усиливал воспалительные суставы [Novak, Lehen, 2011].

Notley с соавторами [2010] показали, что у мышей CIA, которым однократно вводили анти-CD3 антитела, снижалась тяжесть течения заболевания, что проявлялось в уменьшении степени воспаления и повреждения сустава. Это сопровождалось экспансией двух субпопуляций Treg: CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>. Авторы отмечают, что CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> Treg у этих мышей не проявляли иммунной супрессии в отличие от популяции индуцированных CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> Treg, которая была способна подавлять эффекторные Т-клетки и продукцию IFN- $\gamma$  и IL-17.

### Системная красная волчанка

Системная красная волчанка (Systemic Lupus Erythematosus, SLE) является аутоиммунным заболеванием, затрагивающим многие органы, включая кожу, суставы, почки и центральную нервную систему. Это заболевание характеризуется В- и Т-клеточными нарушениями, связанными с отсутствием толерантности и последующей активацией и экспансией аутореактивных лимфоцитов, секретированием воспалительных цитокинов и продукцией широкого спектра аутоантител. При системной красной волчанке аутоантитела направлены против внутриядерных нуклеиновых кислот, белков и нуклеопротеиновых комплексов.

Причина появления этого заболевания до конца не ясна. Предполагается, что патогенез SLE может быть связан не только с дефектами в Treg, но и обусловлен генетической предрасположенностью [Moser et al., 2009]. Комбинации аллелей риска и механизмы, которые приводят к предрасположенности к аутоиммунизации, изучены мало. В последнее время анализ генома значительно увеличил количество генов, связанных с SLE [Crispin et al., 2010]. Функция этих генов изменчива. Некоторые, такие как IRF5, STAT4, IRAK1, TREX1 и TLR8, участвуют в считывании НК и продукции интерферона, в то время как другие контролируют Т-(PTPN22, TNFSF4, PDCD1) или В- (BANK1, BLK, LYN) клеточные сигнальные пути (например, PTPN22 регулирует активацию лимфоцитов) [Crispin et al., 2010]. Гены IRF5 и STAT4 дополнительно увеличивают риск SLE [Abelson et al., 2009], а гены TNIP1, PRDM1, JAZF1, UHRF1BP1 и IL-10 определены как локусы риска для SLE [Gateva et al., 2009].

В ряде исследований представлено количественное содержание CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg в периферической крови больных SLE в сравнении со здоровыми донорами (табл. 3).

Таблица 3. Содержание регуляторных CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Т-клеток в периферической крови больных системной красной волчанкой

Фенотип Treg	Количество Treg, %		Источник
	больные	здоровые	
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup>	↓ 6,1	22,1	Lin et al., 2007; Lyssuk et al., 2007; Lee et al., 2008; Zhang et al., 2008; Azab et al., 2008; Showdary Venigala et al., 2008; Barreto et al., 2009
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>high</sup>	↓ 2,2	3,8	Lee et al., 2008; Zhang et al., 2008; Habibagahi et al., 2010
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> FOXP3 <sup>+</sup>	↓ 1,8	5,4	Lyssuk et al., 2007; Venken et al., 2007; Yan et al., 2008
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>high</sup> FOXP3 <sup>+</sup>	↑ 2,6	1,7	Showdary Venigala et al., 2008; Suen et al., 2008
CD4 <sup>+</sup> CD45 <sup>lo</sup> FOXP3 <sup>lo</sup>	↑ 4,2	3,0	Miyara et al., 2009
CD4 <sup>+</sup> CD45 <sup>lo</sup> FOXP3 <sup>hi</sup>	↑ 10,4	3,0	
CD4 <sup>+</sup> CD45 <sup>hi</sup> FOXP3 <sup>hi</sup>	↓ 1,2	3,0	
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> CD127 <sup>+</sup>	↓ 4,5	9,4	Yang et al., 2009
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>high</sup> CD127 <sup>+</sup>	↓ 0,4	0,9	Henriques et al., 2010
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> FOXP3 <sup>+</sup>	↑ 7,5	1,4	Bonelli et al., 2011

Примечание. ↓ – уменьшение количества Treg клеток в периферической крови больных;  
↑ – увеличение количества Treg клеток в периферической крови больных.

Большинство исследований показали значительное снижение супрессорной способности CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg у пациентов с активной SLE по сравнению со здоровыми донорами [Lyssuk et al., 2007; Bonelli et al., 2008]. Тем не менее есть данные о таком же снижении супрессорной активности CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg у пациентов с неактивной SLE [Lyssuk et al., 2007]. В то же время ряд авторов отмечают нормальный уровень супрессии Treg у больных как с активной, так и с неактивной формой заболевания [Yan et al., 2008; Vargas-Rojas et al., 2008]. Предполагается, что эффекторные клетки у больных с SLE становятся резистентными к действию CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg [Vargas-Rojas et al., 2008].

М. Bonelli с соавт. [2011] исследовали CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> Т-клетки, уровень которых в крови больных был очень высок. Эти клетки фенотипически и в определенной степени функционально походили на регуляторные клетки.

Обработка мононуклеаров периферической крови (PBMCs) SLE пациентов анти-DNA Ig G-пептидом показала увеличение количества CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> Tregs *in vitro* и усиление их супрессорной функции [Dinesh et al., 2010].

Сыворотка крови больных SLE характеризуется высокой концентрацией IL-6, который может оказывать влияние на иммунные клетки [Scheinecker et al., 2010]. Было показано, что повышенное количество IL-6 приводит к увеличению резистентности эффекторных Т-клеток к Treg опосредованной супрессии. Также IL-6 может оказать влияние на функции Treg и перенаправить дифференцировку Treg в IL-17 продуцирующие Th17-клетки [Scheinecker et al., 2010]. Это может быть причиной увеличения уровня IL-17 у SLE пациентов [Ouyang et al., 2008].

Изучение CD8<sup>+</sup>Treg у SLE больных показало, что количество этих регуляторных клеток в периферической крови может быть несколько ниже или не отличаться от показателей у здоровых доноров [Dinesh et al., 2010]. Filaci с соавт. [Dinesh et al., 2010] в своем исследовании обнаружили, что CD8<sup>+</sup> Treg клетки больных секретируют небольшое количество IL-6 и значительное количество IL-12 по сравнению со здоровыми донорами. Регуляторная функция зависела от IFN-γ и IL-6. Авторы предположили, что дисфункция CD8<sup>+</sup> Treg клеток у больных скорее всего связана с дисбалансом между ингибиторным (IL-6) и стимулирующим (IL-12) цитокинами.

L. Zhang с соавт. [2009] показали, что трансплантация аутологичных гематопозитических стволовых клеток может вызвать длительную ремиссию у больных волчанкой. При этом было обнаружено увеличение количества CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>FOXP3<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>CD103<sup>+</sup> Т-клеток. Причем CD8<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> Т-клетки экспрессировали высокий уровень LAP (latency-associated peptide), CD103, PD-1, PD-L1 и CTLA-4. Супрессорную функцию CD8<sup>+</sup> Treg проявляли секрецией TGF-β [Zhang et al., 2009].

### Рассеянный склероз

Рассеянный склероз (Multiple Sclerosis, MS) – аутоиммунное заболевание центральной нервной системы, которое почти неизбежно приводит на определенной стадии своего развития к инвалидизации. Риск заболевания повышается у носителей генов MHC II класса, DRB1\*1501, DRB5\*0101 и DQB1\*0602 [Barcellos et al., 2002].

В основе патогенеза лежит аутоиммунный процесс, выражающийся в дифференцировке

и активации миелин-реактивных Т-клеток, индуцирующих развитие демиелинизирующего процесса. Причем ведущая роль в развитии иммунопатологического процесса при рассеянном склерозе принадлежит популяции CD4<sup>+</sup> Т-клеток. Считается, что CD4<sup>+</sup>Т-лимфоциты первыми встречаются с антигеном и приобретают свойства эффекторных миелинспецифических клеток [Delgado, Sheremata, 2006].

На следующем этапе происходит проникновение активированных Т-лимфоцитов через гематоэнцефалический барьер в ЦНС и их взаимодействие с антигенами миелина. В результате развивается воспалительный процесс, который приводит к повреждению головного и спинного мозга.

Важную роль в развитии MS отводят Т-хелперным клеткам 17 (Th17). Эти клетки, секретируя IL-17 и IL-22, увеличивают проницаемость гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), что способствует попаданию нейроантигенов на периферию, активации и пролиферации миелин-реактивных Т- и В-клеток и последующему проникновению этих клеток в ЦНС [Селедцов и др., 2010]. Проникать через ГЭБ способны только активированные лимфоциты, которые вызывают нейротоксический эффект не только опосредованно, но и непосредственно – через контактное межклеточное взаимодействие. Значимая роль в нем может принадлежать Fas-лиганду.

Количество Treg в периферической крови больных рассеянным склерозом практически не отличается от количества у здоровых доноров. Однако некоторые авторы отмечают снижение CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> Treg у больных по сравнению со здоровыми (табл. 4).

Таблица 4. Содержание регуляторных CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Т-клеток в периферической крови больных рассеянным склерозом

Фенотип Treg	Количество Treg, %		Источник
	больные	здоровые	
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup>	7	6	Putheti et al., 2004
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>high</sup>	↓ 1,2	2,3	Viglietta et al., 2004; Putheti et al., 2004; Feger et al., 2007
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> FOXP3 <sup>+</sup>	↓ 3,5	5,7	Haas et al., 2007; Venken et al., 2007
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>bright</sup> FOXP3 <sup>+</sup> PD1 <sup>+</sup>	↑ 2,5	1,1	Saresella et al., 2008
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>high</sup> CD127 <sup>low</sup>	4,6	4,7	Mikulikova et al., 2010

Примечание. ↓ – уменьшение количества Treg клеток в периферической крови больных;

↑ – увеличение количества Treg клеток в периферической крови больных.

У больных MS выявлен дисбаланс CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток за счет повышения количества CD8<sup>+</sup> Т-клеток [Mikulkova et al., 2010]. Также установлено снижение функциональной активности Treg больных, как в стадии ремиссии, так и в стадии обострения заболевания [Viglietta et al., 2004; Venken et al., 2007]. Выявлено увеличение количества Treg в спинномозговой жидкости по сравнению с количеством Treg в периферической крови [Fritzsching et al., 2011]. Fritzsching с соавт. [2011] обнаружили в цереброспинальной жидкости больных субпопуляцию CD45RO<sup>hi</sup>CD49<sup>hi</sup> Treg, которая была чувствительна к CD95-опосредованному апоптозу. В другом исследовании была обнаружена субпопуляция регуляторных клеток, экспрессирующая CD39, которая была способна подавлять не только пролиферацию эффекторных клеток, но и продукцию IFN- $\gamma$ , а также продукцию провоспалительного цитокина IL-17. Однако CD4<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>CD39<sup>+</sup> Treg, выделенные из крови больных, не проявляли способности к супрессии Th17 иммунного ответа [Fletcher et al., 2009].

Предполагается, что Tr1 клетки, возможно, играют защитную роль у больных рассеянным склерозом. Генерация продуцирующих IL-10 Т-клеток была ослаблена у больных в сравнении со здоровыми. У EAE мышей (experimental autoimmune encephalomyelitis – экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит, модель рассеянного склероза) перенесенные *in vitro* генерированные Tr1 клетки, специфичные к яичному альбумину, могут предотвратить развитие неврологических симптомов при интракраниальном введении белка [Pot et al., 2011]. Клетки Tr1, индуцированные *in vivo* растворимым основным белком миелина (MBP) p87-99, могут снизить тяжесть заболевания EAE у крыс, иммунизированных MBP. Кроме того, Meiron с соавт. [Pot et al., 2011] сообщили, что стромальный клеточно-зависимый фактор 1 $\alpha$  (stromal cell-derived factor 1 $\alpha$  (CXCL12)) перенаправляет поляризацию эффекторных Th1 клеток в CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>IL-10<sup>high</sup> антиген-специфические регуляторные Т-клетки, которые подавляют аутоиммунное воспаление у EAE мышей.

CD8<sup>+</sup>CD122<sup>+</sup> Т-клетки определяют как естественно образованные IL-10 продуцирующие регуляторные Т-клетки. Они непосредственно подавляют продукцию IFN- $\gamma$  и пролиферацию CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток *in vitro*. CD8<sup>+</sup>CD122<sup>+</sup> Т-клетки также играют важную регуляторную функцию *in vivo*, на что указывает их способность подавлять EAE и предотвращать развитие аномальных Т-клеток у

CD122-дефицитных мышей. Эта субпопуляция проявляет свои функции в основном за счет секретирования IL-10. Удаление гена IL-10 или использование анти-IL-10 моноклональных антител (mAb) отменяет супрессорную активность CD8<sup>+</sup>CD122<sup>+</sup> Т-клеток *in vitro* [Shalev et al., 2011].

В настоящее время определена еще одна субпопуляция регуляторных клеток, экспрессирующая TCR $\alpha\beta$  и CD8 $\alpha\alpha$  [Trevor et al., 2008]. Высокая концентрация таких клеток была обнаружена в популяции внутриэпителиальных лимфоцитов кишки (40 %), в то время как в селезенке и лимфатических узлах их число было значительно ниже (< 1 %). Предполагается, что эти клетки могут играть важную роль в регуляции иммунитета слизистых оболочек. В поддержку данной концепции исследователи продемонстрировали, что TCR $\alpha\beta$ <sup>+</sup>CD8 $\alpha\alpha$ <sup>+</sup> Treg клетки предотвращают колит, индуцированный CD4<sup>+</sup>CD45RB<sup>high</sup> Т-клетками, у SCID мышей (severe combined immunodeficiency, модель тяжелого комбинированного иммунодефицита). Эта ингибирующая активность зависела от продукции IL-10, так как TCR $\alpha\beta$ <sup>+</sup>CD8 $\alpha\alpha$ <sup>+</sup> Treg клетки от IL-10-дефицитных мышей не могли эффективно предотвратить болезнь [Shalev et al., 2011]. В дополнительных экспериментах было показано, что TCR $\alpha\beta$ <sup>+</sup>CD8 $\alpha\alpha$ <sup>+</sup> Treg клетки могут подавлять развитие EAE [Trevor et al., 2008].

### Иммунотерапия при аутоиммунных заболеваниях

В настоящее время основным направлением в иммунотерапии больных аутоиммунными заболеваниями является подавление чрезмерной активации Т-лимфоцитов. Наиболее часто используется метод, который связан с блокадой ко-стимуляции Т-клеток с помощью препарата абатацепт [Davis et al., 2008]. Абатацепт (CTLA-4Ig) – это димерный белок человека, который способен избирательно угнетать активацию Т-клеток, подобно CTLA-4. Это вещество связывается с CD80/86 на APCs, блокируя взаимодействие CD80/86 с CD28 на Т-клетках. При этом не затрагиваются другие пути ко-стимуляции Т-лимфоцитов, а в результате происходит угнетение активации и пролиферации Т-клеток, что в свою очередь приводит к уменьшению продукции провоспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1) и аутоантител [Davis et al., 2008; Goronzy et al., 2008; Folgarone et al., 2009].

Как терапевтическая мишень при аутоиммунных заболеваниях привлекает внимание PD-1. С молекулами PD-1/PD-L1 связывают ингибирующие сигналы, которые регулируют централь-



ный и периферический механизмы толерантности. Rajasalu и соавт. [2010] продемонстрировали, что селективный дефицит PD-L1 на  $\beta$ -клетках или отсутствие PD-1 на  $CD8^+$  Т-клетках вызывает начало T1D у мышей. Установлено, что PD-L1 может способствовать развитию и функционированию Treg. Исследования показали, что PD-L1-Ig-опосредованная блокада способствует TGF- $\beta$ -индуцированной генерации *de novo*  $CD4^+$  FoxP3 $^+$  iTreg [Kornete, Piccirillo, 2011].

Одним из перспективных подходов к иммуно-терапии аутоиммунных заболеваний считается связывание рецепторов семейства TNF. Рецепторы этого семейства необходимы для включения сигнальных путей NF- $\kappa$ B- и MAP-киназ, участвуя в усилении пролиферации Т-клеток на разных этапах иммунного ответа. В снижении пролиферации Т-эффекторов важным является блокирование специфических для этих клеток молекул OX40, 4-1BB, 4DR3. Как потенциальная терапевтическая мишень рассматривается молекула CD154 (CD40L), которая характерна для активированных клеток [Steward-Tharp et al., 2010]. Показано, что блокада ко-стимуляторов анти-CD4, анти-CD154(CD40L) мАТ не изменяет уровень пролиферации антиген-стимулированных Treg клеток *in vivo* и *in vitro*. Однако использование этих молекул значительно снижает количество антиген-специфических эффекторных клеток, приводя к доминированию Treg клеток над эффекторными [Miyara et al., 2009a].

В настоящее время установлено, что Tr1 клетки играют важную роль в контроле аутоиммунных заболеваний, влияют на активность наивных клеток и Т-клеток памяти, а также на функции дендритных клеток. Они способны подавлять функции Th1 и Th2 [Fehervari, Sakaguchi, 2005; Beissert et al., 2006]. Регулирование их функций и количества с помощью IL-27-содержащих препаратов или различных лигандов арил-углеводородного рецептора AhR (aryl hydrocarbon receptor) могут подавить иммунное воспаление через индукцию Tr1 клеток [Pot et al., 2011].

В качестве терапевтических мишеней можно рассматривать iNKT-клетки. Они секретируют ингибиторный цитокин IL-4 и способны предотвратить развитие некоторых аутоиммунных заболеваний в экспериментальных моделях [Novak, Lehen, 2011].

В последнее время внимание исследователей привлекают Th-17, которые секретируют провоспалительный цитокин IL-17, способствуя развитию аутоиммунных процессов. Ведутся поиски молекулярных мишеней для ингибирования этих клеток. Как наиболее подходящая мишень в настоящее время изучается лиганд

рецептора CCR6 – CCL20, который способствует миграции Th-17 в орган-мишень [Steward-Tharp et al., 2010].

В качестве терапевтических мишеней в последнее время рассматриваются  $CD8^+$  и DN Treg, которые могут предотвратить развитие аутоиммунных заболеваний. Известно, что  $CD8^+$  Treg способны подавлять эффекторные Т-клетки, продукцию IFN- $\gamma$  и IL-17 [Dinesh et al., 2010], а DN Treg клетки могут ингибировать иммунные реакции с участием  $CD4^+$  и  $CD8^+$  Т-клеток *in vitro* и *in vivo* [Shalev et al., 2011].

В качестве биологических агентов для создания новых препаратов в лечении аутоиммунных заболеваний предлагается использовать рапамицин, анти-CD4, анти-CD40L (CD154) мАТ, которые способны индуцировать экспансию антиген-специфических Treg клеток *in vitro* и снижать количество эффекторных Т-клеток [Miyara et al., 2009a]. По данным Ohkura et al. [2011], введение рапамицина может предупредить развитие диабета 1 типа у NOD мышей.

К перспективным направлениям развития иммунотерапевтических стратегий следует отнести исследования по трансплантации стволовых клеток у больных аутоиммунными заболеваниями. Уже есть положительный опыт трансплантации аутологичных гематопозитических стволовых клеток у больных системной красной волчанкой, которая приводила к длительной ремиссии [Zhang et al., 2009].

Таким образом, наиболее перспективными направлениями изучения аутоиммунных заболеваний с целью повышения эффективности иммунотерапии являются поиск новых способов усиления экспансии Treg клеток, использование молекул-мишеней для индукции иммунной модуляции и трансплантация стволовых клеток.

## Заключение

Развитие аутоиммунных заболеваний приводит к разрушению тканей и нарушению физиологических функций организма. До недавнего времени развитие органоспецифических аутоиммунных заболеваний связывали со смещением баланса провоспалительных Th1 клеток, характеризующихся продукцией IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , GM-CSF, с противовоспалительными Th2, секретирующими IL-4, IL-10 и IL-13, в сторону первых. Исследования последних лет показали, что немаловажную роль в развитии аутоиммунных заболеваний играют Th17, которые способны индуцировать воспаление.

Изучение механизмов взаимодействия между Th17 и Treg показало, что транскрипционные факторы – ROR $\gamma$ t/ROR $\alpha$  и FOXP3 – подавляют функции друг друга. IL-2, являющийся фактором роста для Treg, ингибирует дифференцировку Th17, в то время как IL-21, ингибирующий экспансию Treg, способствует дифференцировке Th17. Арил-углеводородный рецептор AhR, экспрессирующийся как в Treg, так и в Th17, может оказывать разное действие на дифференцировку этих клеток в зависимости от лиганда. С одной стороны, связывание AhR с одним из естественных лигандов FICZ (6-formylindolo [3,2-b] carbazole) способствует дифференцировке Th17 и увеличению продукции IL-22. С другой стороны – связывание AhR с другим синтетическим лигандом, TCDD (2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin), в первую очередь увеличивает экспансию Treg за счет повышения экспрессии FOXP3 [Pot et al., 2011; Jäger, Kuchroo, 2010]. Таким образом, иммунологические механизмы поддержания толерантности и развитие аутоиммунных процессов во многом зависят от баланса между Treg и Th17, а также от активации других регуляторных клеток.

## Литература

- Кравец Е. Б., Саприна Т. В., Лазаренко Ф. Э., Прохоренко Т. С., Рязанцева Н. В. Роль цитокинов в патогенезе аутоиммунного диабета, вопросы иммуноинтервенции // Бюллетень сибирской медицины. 2010. № 1. С. 76–83.
- Свиридова В. С., Кологривова Е. Н., Пронина Н. А., Елисеева Л. В., Читалкина А. А. Т-лимфоциты – ключевые иммунорегуляторные клетки // Бюллетень сибирской медицины. 2007. № 1. С. 83–88.
- Селедцов Д. В., Селедцов В. И., Иванова И. П., Литвинова Л. С. Антиген-специфическая иммунотерапия рассеянного склероза // Цитокины и воспаление. 2010. Т. 9, № 1. С. 3–12.
- Ярилин А. А., Донецкова А. Д. Естественные регуляторные Т-клетки и фактор FOXP3 // Иммунология. 2006. № 3. С. 176–188.
- Abelson A. K., Delag-Vega A. M., Kozyrev S. V. et al. STAT4 associates with SLE through two independent effects that correlate with gene expression and act additively with IRF5 to increase risk // *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2009. Vol. 68. P. 1746–1753.
- Aerts N. E., Dombrecht E. J., Ebo D. G., Bridts C. H., Stevens W. J., De Clerck L. S. Activated T cells complicate the identification of regulatory T cells in rheumatoid arthritis // *Cell Immunol*. 2008. Vol. 251. P. 109–115.
- Azab N. A., Bassyouni I. H., Emad Y., Abd El-Wahab G. A., Hamdy G., Mashahit M. A. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells (TREG) in systemic lupus erythematosus (SLE) patients: the possible influence of treatment with corticosteroids // *Clin. Immunol*. 2008. Vol. 127. P. 151–157.
- Barcellos L., Oksenberg J., Bucher P. et al. Genetic basis for clinical expression in multiple sclerosis // *Brain*. 2002. Vol. 125, N 1. P. 150–158.
- Barreto M., Ferreira R. C., Lourenco L. et al. Low frequency of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg in SLE patients: a heritable trait associated with CTLA4 and TGFbeta gene variants // *BMC Immunology*. 2009. 10:5. doi:10.1186/1471-2172-10-5.
- Beissert S., Schwarz A., Schwarz T. Regulatory T cells // *J. Invest. Dermatol*. 2006. Vol. 126. P. 15–24.
- Bettini M., Vignali D. A. A. Regulatory T cells and inhibitory cytokines in autoimmunity // *Curr. Opin. Immunol*. 2009. Vol. 21, N 6. P. 612–618.
- Bonelli M., Savitskaya A., von Dalwigk K. et al. Quantitative and qualitative deficiencies of regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) // *Int. Immunol*. 2008. Vol. 20. P. 861–868. doi:10.1093/intimm/dxn044.
- Bonelli M., Savitskaya A., Steiner C.-W., Rath E., Smolen J. S., Scheinecker C. Phenotypic and functional analysis of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> T cells in patients with systemic lupus erythematosus // *J. Immunol*. 2011. Vol. 182. P. 1689–1695.
- Brusko T. M., Wasserfall C. H., Clare-Salzler M. J., Schatz D. A., Atkinson M. A. Functional defects and the influence of age on the frequency of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T-cells in type 1 diabetes // *Diabetes*. 2005. Vol. 54. P. 1407–1414.
- Buckner J. H. Mechanisms of impaired regulation by CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> FoxP3<sup>+</sup> regulatory T cells in human autoimmune diseases // *Immunology*. 2010. Vol. 10. P. 849–859.
- Chen Z., Lin F., Gao Y. et al. FoxP3 and ROR $\gamma$ t: transcriptional regulation of Treg and Th17 // *International Immunopharmacology*. 2011. Vol. 11. P. 536–542.
- Cope A. P. T cells in rheumatoid arthritis // *Arthritis Research & Therapy*. 2008. Vol. 10 (Suppl 1) : S1.
- Crispin J. C., Lioussis S.-N. C., Kis-Toth K. et al. Pathogenesis of human systemic lupus erythematosus: recent advances // *Trends in Molecular Medicine*. 2010. Vol. 16, N 2. P. 47–57.
- Cvetanovich G. L., Hafler D. A. Human regulatory T cells in autoimmune diseases // *Curr. Opin. Immunol*. 2010. Vol. 22. P. 753–760.
- Danke N. A., Koelle D. M., Yee C., Beheray S., Kwok W. W. Autoreactive T cells in healthy individuals // *J. Immunol*. 2004. Vol. 172. P. 5967–5972.
- Davis P. M., Nadler S. G., Stetsko D. K., Suchard S. J. Abatacept modulates human dendritic cell-stimulated T-cell proliferation and effector function independent of IDO induction // *Clin. Immunol*. 2008. Vol. 126. P. 38–47.
- Delgado S., Sheremata W. A. The role of CD4<sup>+</sup> T-cells in the development of MS // *Neurological Research*. 2006. Vol. 28, N 3. P. 245–249.
- Dinesh R. K., Skaggs B. J., Cava A. L., Hahn B. H., Singh R. P. CD8<sup>+</sup> Tregs in lupus, autoimmunity, and beyond // *Autoimmunity Reviews*. 2010. Vol. 9. P. 560–568.
- Ehrenstein M. R., Evans J. G., Singh A. et al. Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNFalpha therapy // *J. Exp. Med*. 2004. Vol. 200. P. 277–285.
- Falgarone G., Semerano L., Rulle S., Boisseier M.-C. Targeting Lymphocyte activation to treat rheumatoid arthritis // *Joint Bone Spine*. 2009. Vol. 76. P. 327–332.

- Feger U., Luther C., Poeschel S., Melms A., Tolosa E., Wiendl H. Increased frequency of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in the cerebrospinal fluid but not in the blood of multiple sclerosis patients // *Clin. Exp. Immunol.* 2007. Vol. 147. P. 412–418.
- Fehervari Z., Sakaguchi S. CD4<sup>+</sup> regulatory cells as a potential immunotherapy // *Phil. Trans. R. Soc. B.* 2005. Vol. 360. P. 1647–1661.
- Fletcher J. M., Lonergan R., Costelloe L. et al. CD39<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells suppress pathogenic Th17 cells and are impaired in multiple sclerosis // *J. Immunol.* 2009. Vol. 183, N 11. P. 7602–7610.
- Fritzsching B., Haas J., Konig F., Kunz P. et al. Intracerebral human regulatory T cells: analysis of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> T cells in brain lesions and cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients // *PLoS ONE.* 2011. Vol. 6, N 3. e17988. doi:10.1371/journal.pone.0017988.
- Gateva V., Sandling J. K., Hom G. et al. A large – scale replication study identifies TNIP1, PRDM1, JAZF1, UHRF1BP1 and IL-10 as risk loci for systemic lupus erythematosus // *Nature Genetics.* 2009. Vol. 50. P. 1228–1233.
- Goronzy J. J., Weyand C. M. T-cell co-stimulatory pathways in autoimmunity // *Arthritis Research & Therapy.* 2008. Vol. 10. (Suppl 1) : S3.
- Gray D. and Gray M. What are regulatory B cells? // *Eur. J. Immunol.* 2010. Vol. 40. P. 2677–2679.
- Haas J., Fritzsching B., Trubswetter P. et al. Prevalence of newly generated naïve regulatory T cells (Treg) is critical for Treg suppressive function and determines Treg dysfunction in multiple sclerosis // *J. Immunol.* 2007. Vol. 179. P. 1322–1330.
- Habibagahi M., Habibagahi Z., Jaberipour M., Aghdashi A. Quantification of regulatory T cells in peripheral blood of patients with systemic lupus erythematosus // *Rheumatol Int.* 2010. Vol. 31, N 9. P. 1219–1225.
- Henriques A., Ines L., Couto M. et al. Frequency and functional activity of Th17, Tc17 and other T-cell subsets in Systemic Lupus Erythematosus. // *Cell Immunol.* 2010. Vol. 264. P. 97–103.
- Jäger A., Kuchroo V. K. Effector and regulatory T-cell subsets in autoimmunity and tissue inflammation // *Scandinavian Journal of Immunology.* 2010. Vol. 72. P. 173–184.
- Jin Y., Chen X., Podolsky R., Hopkins D., Makala Levi H. C., Muir A., She J.-X. APC dysfunction is correlated with defective suppression of T cell proliferation in human type 1 diabetes // *Clinical Immunology.* 2009. Vol. 130. P. 272–279.
- Kornete M., Piccirillo C. A. Critical co-stimulatory pathways in the stability of Foxp3<sup>+</sup> Treg cell homeostasis in Type I Diabetes // *Autoimmunity Reviews.* 2011. Vol. 11. P. 104–111.
- Lawson J. M., Tremble J., Dayan C., Beyan H., Leslie R. D. G., Peakman M., Tree T. I. M. Increased resistance to CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup> regulatory T cell-mediated suppression in patients with type 1 diabetes // *British Society for Immunology. Clin. Exp. Immunol.* 2008. Vol. 154. P. 353–359.
- Lee H. Y., Hong Y. K., Yun H. J., Kim Y. M., Kim J. R., Yoo W. H. Altered frequency and migration capacity of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in systemic lupus erythematosus // *Rheumatology (Oxford).* 2008. Vol. 47. P. 789–794.
- Lin S. C., Chen K. H., Lin C. H., Kuo C. C., Ling Q. D., Chan C. H. The quantitative analysis of peripheral blood FOXP3-expressing T cells in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis patients // *Eur. J. Clin. Investig.* 2007. Vol. 37. P. 987–996.
- Lindley S., Dayan C. M., Bishop A., Roep B. O., Peakman M., Tree T. I. M. Defective Suppressor Function in CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T-Cells From Patients With Type 1 Diabetes // *Diabetes.* 2005. Vol. 54. P. 92–99.
- Liu M. F., Wang C. R., Fung L. L., Lin L. H., Tsai C. N. The presence of cytokine-suppressive CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T cells in the peripheral blood and synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis // *Scand. J. Immunol.* 2005. Vol. 62. P. 312–317.
- Liu W., Putnam A. L., Xu-Yu Z. et al. CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4<sup>+</sup> Treg cells // *J. Exp. Med.* 2006. Vol. 203, N 7. P. 1701–1711.
- Long S. A., Cerosaletti K., Bollyky P. L. et al. Defects in IL-2R signaling contribute to diminished maintenance of FOXP3 expression in CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T-cells of type 1 diabetic subjects // *Diabetes.* 2010. Vol. 59, N 2. P. 407–415.
- Lubberts E., Koenders M. I., van den Berg W. B. The role of T cell interleukin-17 in conducting destructive arthritis: lessons from animal models // *Arthritis Research & Therapy.* 2004. Vol. 7, N 1. P. 29–37.
- Lyssuk E. Y., Torgashina A. V., Soloviev S. K., Nassonov E. L., Bykovskaia S. N. Reduced number and function of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>FoxP3<sup>+</sup> regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2007. Vol. 601. P. 113–119.
- McMurchy A. N., Bushell A., Levings M. K., Wood K. J. Moving to tolerance: Clinical application of T regulatory cells // *Seminars in Immunology.* 2011. Vol. 23. P. 304–313.
- Mikulkova Z., Praksova P., Stourac P., Bednarik J., Michalek J. Imbalance in T-cell and cytokine profiles in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis // *Journal of the Neurological Sciences.* 2010. Vol. 300. P. 135–141.
- Miossec P. Interleukin-17 in fashion, at last: ten years after its description, its cellular source has been identified // *Arthritis & Rheumatism.* 2007. Vol. 56. P. 2111–2115.
- Miyara M., Wing K., Sakaguchi S. Therapeutic approaches to allergy and autoimmunity based on FOXP3<sup>+</sup> regulatory T-cell activation and expansion // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009a. Vol. 123, N 4. P. 749–755.
- Miyara M., Yoshioka Y., Kitoh A. et al. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4<sup>+</sup> T cells expressing the FoxP3 transcription factor // *Immunity.* 2009. Vol. 30. P. 899–911.
- Moser K. L., Kelly J. A., Lessard C. J., Harley J. B. Recent insights into the genetic basis of systemic lupus erythematosus // *Genes Immunity.* 2009. Vol. 10. P. 373–379.

- Mottonen M., Heikkinen J., Mustonen L., Isomaki P., Luukkainen R., Lassila O. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T cells with the phenotypic and functional characteristics of regulatory T cells are enriched in the synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis // Clin. Exp. Immunol. 2005. Vol. 140. P. 360–367.
- Noh G., Lee J. H. Regulatory B cells and allergic diseases // Allergy Asthma Immunology Research. 2011. Vol. 3, N 3. P. 168–177.
- Noh J., Choi W. S., Noh G., Lee J. H. Presence of Foxp3-expressing CD19(+)CD5(+) B cells in human peripheral blood mononuclear cells: human CD19(+)CD5(+)Foxp3(+) regulatory B cell (Breg) // Immune Network. 2010. Vol. 10. P. 247–249.
- Notley C. A., McCann F. E., Inglis J. J. and Williams R. O. ANTI-CD3 therapy expands the numbers of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> treg cells and induces sustained amelioration of collagen-induced arthritis // Arthritis Rheum. 2010. Vol. 62. P. 171–178.
- Novak J., Lehen A. Mechanism of regulation of autoimmunity by iNKT cells // Cytokine. 2011. Vol. 53. P. 263–270.
- Ohkura N., Hamaguchi M., Sakaguchi S. FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells: control of FOXP3 expression by pharmacological agents // Trends in Pharmacological Sciences. 2011. Vol. 32, N 3. P. 158–166.
- Ouyang W., Kolls J. K., Zheng Y. The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation // Immunity. 2008. Vol. 28. P. 454–467.
- Pot C., Apetoh L., Kuchroo V. K. Type 1 regulatory T cells (Tr1) in autoimmunity // Seminars in immunology. 2011. Vol. 23. P. 202–208.
- Putheti P., Pettersson A., Soderstrom M., Link H., Huang Y. U. Circulating CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T regulatory cells are not altered in multiple sclerosis and unaffected by disease-modulating drugs // Journal of Clinical Immunology. 2004. Vol. 24. P. 155–161.
- Rajasalu T., Brosi H., Schuster C. et al. Deficiency in B7-H1 (PD-L1)/PD-1 coinhibition triggers pancreatic  $\beta$ -cell destruction by insulin-specific, murine CD8 T-cells // Diabetes. 2010. Vol. 59. P. 1966–1973.
- Roncarolo M.-G., Battaglia M. Regulatory T-cell immunotherapy for tolerance to self antigens and alloantigens in humans // immunology. 2007. Vol. 7. P. 585–598.
- Sakaguchi S., Miyara M., Costantino C. M., Hafler D. A. FoxP3<sup>+</sup> regulatory T cells in the human immune system // Nat. Rev. Immunol. 2010. Vol. 10. P. 490–500.
- 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. Vol. 155. P. 1151–1164.
- Saresella M., Marventano I., Longhi R., Lissoni F. et al. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>bright</sup> FoxP3<sup>+</sup>PD1<sup>-</sup> regulatory T cells in acute and stable relapsing-remitting multiple sclerosis and their modulation by therapy // The FASEB Journal. 2008. Vol. 22. P. 3500–3508.
- Scheinecker C., Bonelli M., Smolen J. S. Pathogenetic aspects of systemic lupus erythematosus with an emphasis on regulatory T cells // Journal of Autoimmunity. 2010. Vol. 35. P. 269–275.
- 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. Vol. 203, N 7. P. 1693–1700.
- Shalev I., Schmelzle M., Robson S. C., Levy G. Making sense of regulatory T cell suppressive function // Seminars in Immunology. 2011. Vol. 23. P. 282–292.
- Shevach E. M. Mechanisms of Foxp3<sup>+</sup> T regulatory cell-mediated suppression // Immunity. 2009. Vol. 30. P. 636–645.
- Showday Venigala R. K., Tretter T., Krienke S. et al. Reduced CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>-</sup> T cell sensitivity to the suppressive function of CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>high</sup>, CD127<sup>low</sup> regulatory T cells in patients with active systemic lupus erythematosus // Arthritis Rheum. 2008. Vol. 58. P. 2120–2130.
- Steward-Tharpa S. M., Songc Y.-J., Siegelc R. M., O'Sheab J. J. New insights into T cell biology and T cell-directed therapy for autoimmunity, inflammation, and immunosuppression // Ann N. Y. Acad. Sci. 2010. Vol. 1183. P. 123–148.
- Suen J. L., Li H. T., Jong Y. J., Chiang B. L., Yen J. H. Altered homeostasis of CD4 FoxP3 regulatory T-cell subpopulations in systemic lupus erythematosus // Immunology. 2008. Vol. 127. P. 196–205.
- Thornton A. M., Korty P. E., Tran D. Q. et al. Expression of Helios, an Ikaros transcription factor family member, differentiates thymic derived from peripherally induced FoxP3<sup>+</sup> T regulatory cells // J. Immunol. 2010. Vol. 184. P. 3433–3441.
- Tran D. Q., Andersson J., Hardwick D. et al. Selective expression of latency-associated peptide (LAP) and IL-1 receptor type I/II (CD121a/CD121b) on activated human FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells allows for their purification from expansion cultures // Blood. 2009a. Vol. 113. P. 5125–5133.
- Trevor R. F., Smith and Vipin Kumar. Revival of CD8<sup>+</sup> Treg-mediated suppression // Trends in Immunology. 2008. Vol. 29, N 7. P. 337–342.
- Vargas-Rojas M. I., Crispin J. C., Richaud-Patin Y., Alcocer-Varela J. Quantitative and qualitative normal regulatory T cells are not capable of inducing suppression in SLE patients due to T-cell resistance // Lupus. 2008. Vol. 17. P. 289–294. doi:10.1177/0961203307088307.
- Venken K., Hellings N., Thewissen M. et al. Compromised CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> regulatory T-cell function in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis is correlated with a reduced frequency of FOXP3-positive cells and reduced FOXP3 expression at the single-cell level // Immunology. 2007. Vol. 123. P. 79–89.
- Viglietta V., Baecher-Allan C., Weiner H. L., Hafler D. A. Loss of functional suppression by CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in patients with multiple sclerosis // J. Exp. Med. 2004. Vol. 7. P. 971–979.
- Wang R. F. CD8<sup>+</sup> regulatory T cells, their suppressive mechanisms and regulation in cancer // Hum. Immunol. 2008. Vol. 69, N 11. P. 811–814.
- Yan B., Ye S., Chen G., Kuang M., Shen N., Chen S. Dysfunctional CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in untreated active systemic lupus erythematosus secondary to interferon-alpha-producing antigen-presenting cells // Arthritis Rheum. 2008. Vol. 58. P. 801–812.

Yanaba K., Bouaziz J. D., Haas K. M., Poe J. C., Fujimoto M., Tedder T. F. A regulatory B cell subset with a unique CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup> phenotype controls T cell-dependent inflammatory responses // *Immunity*. 2008. Vol. 28. P. 639–650.

Yang J., Chu Y., Yang X. et al. Th17 and natural Treg cell population dynamics in systemic lupus erythematosus // *Arthritis Rheum*. 2009. Vol. 60. P. 1472–1483.

Zhang L., Bertucci A. M., Ramsey-Goldman R. et al. Regulatory T cell (Treg) subsets return in patients with refractory lrus following stem cell transplantation and TGF-beta-producing CD8<sup>+</sup> Treg cells are associated

with immunological remission of lupus // *J. Immunol*. 2009. Vol. 183. P. 6346–6358.

Zhang B., Zhang X., Tang F., Zhu L., Liu Y. Reduction of forkhead box P3 levels in CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> T cells in patients with new-onset systemic lupus erythematosus // *Clin. Exp. Immunol*. 2008. Vol. 153. P. 182–187.

Zheng J., Liu Y., Qin G., Chan P. L., Mao H., Lam K. T., Lewis D. B., Lau Y. L., Tu W. Efficient induction and expansion of human alloantigen-specific CD8 regulatory T cells from naive precursors by CD40-activated B cells // *J. Immunol*. 2009. Vol. 183. P. 3742–3750.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

### **Кравченко Полина Николаевна**

аспирантка  
ИБ КарНЦ РАН  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,  
Республика Карелия, Россия, 185910  
эл. почта: k-polina13@mail.ru  
тел.: (8142) 769810

### **Олейник Евгения Константиновна**

руководитель группы иммунологии, д. б. н.  
Институт биологии Карельского научного центра РАН  
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,  
Республика Карелия,  
Россия, 185910  
эл. почта: ole@krc.karelia.ru  
тел.: (8142) 769810

### **Kravchenko, Polina**

Institute of Biology, Karelian Research Centre,  
Russian Academy of Sciences  
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,  
Karelia, Russia  
e-mail: k-polina13@mail.ru  
tel.: (8142) 769810

### **Oleinik, Evgenia**

Institute of Biology, Karelian Research Centre,  
Russian Academy of Sciences  
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,  
Karelia, Russia  
e-mail: ole@krc.karelia.ru  
tel.: (8142) 769810