

Rola limfocytów T regulatorowych w patogenezie wybranych chorób pęcherzowych

The role of regulatory T cells in the pathogenesis of some bullous skin diseases

Anna Jałocha-Kaczka, Agnieszka Żebrowska, Elżbieta Waszczykowska

Zakład Immunodermatologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Elżbieta Waszczykowska

Przegląd Dermatol 2011, 98, 295–301

STRESZCZENIE

SŁOWA KLUCZOWE:
choroby pęcherzowe,
limfocyty T regulatorowe,
regulacja odpowiedzi
immunologicznej.

KEY WORDS:
bullous diseases, regulatory
T cells, immune response
regulation.

Limfocyty T regulatorowe (T_{reg}) są niejednorodną fenotypowo grupą komórek, odgrywającą istotną rolę w regulacji odpowiedzi immunologicznej. Dotychczas wyodrębniono kilka subpopulacji komórek regulatorowych. Najważniejszymi z nich są: limfocyty $CD4^+CD25^+$, Tr1, Th3 oraz komórki NK. Limfocyty T regulatorowe działają poprzez wydzielanie cytokin o właściwościach supresorowych (IL-10, TGF- β) lub bezpośrednio na komórkę docelową. Zaburzenia ich funkcji przyczyniają się do powstania wielu chorób, w szczególności autoimmunologicznych. Na podstawie przeglądu dotąd opublikowanych badań w pracy przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat roli limfocytów T_{reg} w patogenezie wybranych chorób pęcherzowych.

ABSTRACT

ADRES DO KORESPONDENCJI:
prof. dr hab. n. med.
Elżbieta Waszczykowska
Katedra Immunodermatologii
Uniwersytet Medyczny
ul. Krzemieniecka 5
94-017 Łódź
e-mail:
elzbieta.waszczykowska@
umed.lodz.pl

Regulatory T cells (T_{reg}) are a phenotypically heterogeneous group of cells, playing an important role in regulation of the immune response. To date, several subtypes of regulatory cells have been identified. The most important of them are: lymphocytes $CD4^+CD25^+$, Tr1, Th3 and NK cells. Regulatory T lymphocytes act by secretion of suppressive cytokines (IL-10, TGF- β) or direct cell-to-cell interaction. Functional abnormalities of regulatory T cells are important in pathogenesis of many diseases, especially autoimmune ones. Based on published studies, the review discusses the role of regulatory T cells in pathogenesis of selected bullous skin diseases.

WPROWADZENIE

Komórki regulatorowe są niejednorodną fenotypowo populacją limfocytów T odpowiedzialną za kontrolę odpowiedzi immunologicznej organizmu. Limfocyty regulatorowe (T_{reg}) odgrywają kluczową rolę w powstawaniu i utrzymywaniu tolerancji immunologicznej na drodze aktywnej supresji. Działają one poprzez wydzielanie cytokin o właściwo-

ściach supresorowych (interleukiny 10, ang. *interleukine-10* – IL-10; transformującego czynnika wzrostu β , ang. *tumour growth factor β* – TGF- β) lub bezpośrednio oddziałują na komórkę docelową wskutek wiązania z określonymi cząsteczkami powierzchniowymi (np.: GITR, CTLA-4). Niedobór bądź upośledzenie funkcji limfocytów regulatorowych może być przyczyną powstawania chorób autoimmunologicznych, alergii, a także braku skutecznej eliminacji

komórek nowotworowych oraz niedostatecznej obrony przeciwniektoryjnej.

Dotychczas wyodrębniono kilka subpopulacji komórek regulatorowych, z których do najważniejszych zalicza się: limfocyty CD4⁺CD25⁺, limfocyty Tr1 i Th3 oraz komórki NK [1].

LIMFOCYTY CD4⁺CD25⁺

Limfocyty CD4⁺CD25⁺ (zarówno z wysoką, jak i niską ekspresją cząsteczki CD25) stanowią 5–15% subpopulacji limfocytów CD4⁺ i są identyfikowane poprzez ekspresję na powierzchni błony komórkowej łańcucha α receptora dla IL-2 (CD25⁺). Zdaniem niektórych autorów jedynie limfocyty z wysoką ekspresją cząsteczki CD25, które obejmują 1–2% limfocytów CD4⁺, wykazują właściwe działanie regulatorowe [2–5]. Najnowsze doniesienia wskazują na istotną rolę czynnika transkrypcyjnego Foxp3, którego ekspresja jest swoista dla komórek CD4⁺CD25⁺ i konieczna dla ich prawidłowego różnicowania.

Mechanizm supresorowego działania limfocytów CD4⁺CD25⁺ nie jest jednoznacznie określony. Według większości autorów funkcja tych komórek opiera się na bezpośrednim oddziaływaniu na komórkę docelową. Pobudzenie receptora TCR (ang. *T cell receptor*) powoduje aktywację limfocytów CD4⁺CD25⁺, czemu towarzyszy wzrost ekspresji białka CTLA-4 (ang. *cytotoxic T lymphocyte antigen 4*). Ligandem CTLA-4 jest receptor B7 znajdujący się na powierzchni komórek docelowych. Wynikiem połączenia białka CTLA-4 z receptorem B7 jest zmniejszenie wydzielania IL-2, co prowadzi do zmniejszenia proliferacji limfocytów efektorowych. Drugą, obok CTLA-4, istotną pod względem mechanizmu supresyjnego molekułą powierzchniową jest receptor GITR (ang. *glucocorticoid-induced tumour necrosis factor receptor*) [5, 6].

Niektóre źródła wskazują na możliwość supresyjnego działania komórek CD4⁺CD25⁺ poprzez wydzielanie cytokin o właściwościach hamujących komórki układu immunologicznego (IL-10, TGF- β) bądź wpływ na komórki prezentujące antygen (ang. *antigen presenting cells* – APC) [6].

Pojedyncze doniesienia przedstawiają mechanizm supresji regulowany przez granzym B – enzym z rodziny proteaz, co indukuje proces apoptozy i powoduje fragmentację DNA w komórkach [7].

Interesującą kwestią jest, w jaki sposób tak mało liczna populacja limfocytów CD4⁺CD25⁺ jest w stanie nadzorować pozostałe komórki układu immunologicznego. Pewnym wytłumaczeniem może być teoria dwustopniowego działania T_{reg}, tzw. tolerancja zaraźliwa. W pierwszym etapie komórki regula-

torowe w kontakcie bezpośrednim z limfocytami efektorowymi indukują ich anergię i uwalnianie przez nie IL-10 i TGF- β . Wydzielane cytokiny w drugiej fazie działają hamująco na kolejne limfocyty efektorowe [8]. Liczba limfocytów CD4⁺CD25⁺ jest regulowana na dwóch etapach – w trakcie powstawania w grasicy oraz podczas uwalniania do krwi obwodowej. Zdaniem niektórych autorów ich funkcja kontrolowana jest przez APC. Inni badacze wskazują na udział receptorów należących do rodziny TNFR OX40 (ang. *tumour necrosis factor receptor*) i GITR [9].

LIMFOCYTY TR1

Limfocyty Tr1 stanowią 10–15% subpopulacji limfocytów CD4⁺ [10]. Komórki te, ze względu na ich wielkość, podzielono na dwie subpopulacje. Mniejsza subpopulacja Tr1 wykazuje ekspresję czynnika transkrypcyjnego Foxp3 oraz wydziela IL-10, TGF- β i IL-5. Większa subpopulacja prezentuje fenotyp podobny do limfocytów Th, uwalnia IL-2 i nie wykazuje ekspresji czynnika Foxp3. Wyniki wielu badań dowodzą, że limfocyty Tr1 biorą udział w regulacji aktywnej supresji poprzez wydzielanie immunosupresyjnych cytokin – IL-10 i TNF- β . Pojedyncze doniesienia wskazują także na hamujący wpływ Tr1 na produkcję przeciwciał.

Interleukina 10 jest cytokiną supresorową, działającą hamująco na różnych poziomach odpowiedzi immunologicznej. Cytokina ta pośrednio hamuje odpowiedź T-komórkową poprzez blokowanie APC. Dodatkowo IL-10 działa supresyjnie na proliferację limfocytów T poprzez hamowanie możliwości wytwarzania przez nie cytokin prozapalnych, m.in.: TNF- α i IL-2 (ang. *interleukine-2*).

Transformujący czynnik wzrostu β – podobnie jak IL-10 – wykazuje silne działanie supresorowe. Hamuje również proliferację limfocytów T oraz wytwarzanie przez nie cytokin. Niektórzy autorzy wskazują na powiązanie funkcji IL-10 z TGF- β . Interleukina 10 zwiększa bowiem ekspresję receptora TGF- β na limfocytach T, natomiast TGF- β może indukować wytwarzanie IL-10 przez APC [11, 12].

LIMFOCYTY TH3

Limfocyty Th3 odgrywają główną rolę w rozwoju tolerancji immunologicznej wobec antygenów pokarmowych, wykazują działanie immunosupresyjne przede wszystkim poprzez wydzielanie TGF- β oraz, w mniejszym stopniu, IL-10. Dodatkowo indukują one ekspresję Foxp3, wpływając tym samym na zwiększenie liczby limfocytów regulatorowych.

LIMFOCYTY NK

W przeciwieństwie do pozostałych limfocytów T_{reg} działanie komórek NK nie ogranicza się jedynie do funkcji supresorowej, niekiedy bowiem może ono także prowadzić do nasilenia odpowiedzi immunologicznej. Limfocyty NK odgrywają swoją rolę poprzez uwalnianie cytokin typowych dla limfocytów Th1 (TNF- α , INF- γ) lub Th2 (IL-4, IL-13). Funkcja supresorowa wiąże się z produkcją cytokin typowych dla Th2 lub IL-10, natomiast nasilenie odpowiedzi immunologicznej zależy od cytokin charakterystycznych dla Th1.

ROLA LIMFOCYTÓW REGULATOROWYCH W CHOROBYCH AUTOIMMUNOLOGICZNYCH

Choroby autoimmunologiczne występują u około 3–8% osób w populacji, w tym 78–85% stanowią kobiety. Początek zachorowania obserwuje się najczęściej pomiędzy 20. a 40. rokiem życia [13]. Rozwijają się one w wyniku defektu układu odpornościowego, charakteryzującego się utratą tolerancji na własne antygeny i w konsekwencji nieprawidłową na nie odpowiedzią. Ta patologiczna odpowiedź układu immunologicznego prowadzi do niszczenia własnych komórek i tkanek.

Funkcja limfocytów regulatorowych w chorobach autoimmunologicznych u człowieka nie jest do końca poznana. Niektóre badania i obserwacje kliniczne dotyczące roli limfocytów regulatorowych u pacjentów w tych jednostkach chorobowych wykazują redukcję liczby bądź upośledzenie funkcji supresorowej badanych komórek. Do najczęściej opisywanych należą zaburzenia czynności komórek $CD4^+CD25^+$, ale stwierdzono także przypadki dysfunkcji innych subpopulacji, m.in.: Tr1, Th3 i NK [14]. Zmniejszoną liczbę limfocytów $CD4^+CD25^+$ wykazano m.in. u osób z cukrzycą typu 1, zespołem Kawasaki, toczeniem rumieniowatym układowym i łuszczycą. Stwierdzono także zależność pomiędzy ciężkością przebiegu procesu chorobowego a odsetkiem komórek $CD4^+CD25^+$. Im bardziej objawy choroby były nasilone, tym obserwowano mniejszą liczbę badanych limfocytów [15–18]. W innych chorobach autoimmunologicznych, np. w stwardnieniu rozsianym oraz miaśnieniu, stwierdzono natomiast różne zaburzenia funkcji komórek $CD4^+CD25^+$ przy ich prawidłowej liczbie [19–21]. Istotne znaczenie w rozwoju chorób autoimmunologicznych może mieć także zmniejszenie ekspresji cytokin o właściwościach supresorowych (m.in. TGF- β i IL-10). Istnieją dane sugerujące zmniejszenie stężenia TGF- β m.in. w toczeniu rumieniowatym układowym. Stwierdzono bowiem odwrotną korelację całkowitego stężenia tej cytoki-

ny ze stopniem aktywności choroby [22]. Podobnie jak w przypadku cytokin, zmniejszenie ekspresji niektórych molekuł powierzchniowych (np. GITR oraz CTLA-4) zwiększa prawdopodobieństwo wystąpienia choroby autoimmunologicznej [16]. Istnieją ponadto badania, które wykazują zmniejszone stężenie regulatorowych komórek NK w innych chorobach narządowo swoistych, np. w cukrzycy typu 1 [15].

Wzmocnienie lub blokada funkcji badanych komórek i uzyskanie równowagi między stanem aktywacji i supresji w układzie immunologicznym może być kluczem do immunoterapii wielu chorób autoimmunologicznych. Przedstawione doniesienia przemawiają za istotną rolą limfocytów regulatorowych w zaburzeniach tolerancji immunologicznej wobec własnych antygenów i stały się podstawą do prowadzenia badań dotyczących tego zagadnienia również w wybranych chorobach pęcherzowych.

ROLA KOMÓREK REGULATOROWYCH W PĘCHERZYCY

Pęcherzyca (*pemphigus vulgaris* – PV) jest przewlekłą chorobą autoimmunologiczną charakteryzującą się obecnością śródskórkowych pęcherzy. Istotnym zjawiskiem w patogenezie tej dermatozy jest produkcja autoprzeciwciał (głównie klasy IgG, rzadziej IgA) skierowanych przeciwko strukturom desmosomalnym oraz antygenom powierzchniowym keratynocytów. Głównymi autoantygenami są desmogleina 1 (Dsg 1) i desmogleina 3 (Dsg 3). Miano przeciwciał skierowanych przeciwko własnemu białkom koreluje ze stopniem nasilenia choroby. Cechą charakterystyczną PV jest zniszczenie połączeń między keratynocytami. W wyniku połączenia przeciwciała z antygenami keratynocyty tracą zdolności adhezyjne, co w konsekwencji prowadzi do akantolizy i powstawania pęcherzy. Do ustalenia rozpoznania PV konieczne jest wykonanie u chorego, poza badaniem histopatologicznym [25, 32], badania metodą immunofluorescencji bezpośredniej wycinka z otoczenia zmian oraz badania surowicy metodą immunofluorescencji pośredniej.

Sugiyama i wsp. [33], wykorzystując metodę cytometrii przepływową oraz RT PCR, określali liczbę i funkcję limfocytów $CD4^+CD25^+$ u osób chorujących na PV i pęcherzycę liściastą (*pemphigus foliaceus* – PF) oraz u zdrowych ochotników. Autorzy ci wykazali, że stężenie $CD4^+CD25^+$ w obu badanych grupach nie było istotnie różne. W grupie kontrolnej, podobnie jak u chorych na PV i PF, komórki $CD4^+CD25^+$ stanowiły około 16% limfocytów $CD4^+$. Inaczej przedstawiała się sytuacja w przypadku subpopulacji $CD4^+$ z wysoką ekspresją $CD25^+$, które

u zdrowych ochotników stanowiły około 3% wszystkich komórek CD4⁺, natomiast u pacjentów z PV 10 razy mniej, czyli około 0,3%. Zaskakująco, liczba limfocytów CD4⁺ z wysoką ekspresją CD25⁺ u osób z PV była podobna do liczby w grupie kontrolnej. Redukcję badanych komórek zaobserwowano jedynie u osób z PV.

Wykładnikiem funkcji limfocytów CD4⁺CD25⁺ jest m.in. ekspresja czynnika transkrypcyjnego Foxp3 oraz molekuly powierzchniowej CTLA-4. Badanie przeprowadzone przez autorów japońskich [33] wykazało znaczną redukcję ekspresji Foxp3 u chorych na PV w porównaniu z grupą kontrolną. Co więcej, ekspresja molekuly powierzchniowej CTLA-4 również była znacząco niższa u osób z PV.

Inne doniesienia wskazują jednak na istotną rolę limfocytów Tr1 w patogenezie PV. Autorzy wykazali, że komórki Tr1, poprzez wydzielanie IL-10 oraz TGF-β, mają za zadanie hamować powstawanie przeciwciał skierowanych przeciwko Dsg 3, a produkcja przeciwciał jest przypuszczalnie regulowana przez limfocyty Th2 [34]. Wykazano, że autoreaktywne w stosunku do Dsg 3 limfocyty Th występują zarówno u osób zdrowych, jak i chorych na PV, jednak ochronne Tr1 znacznie częściej wykrywa się u zdrowych ochotników niż u osób z PV. Brak równowagi pomiędzy komórkami Tr1 a Th2 może być więc przyczyną utraty tolerancji wobec własnych antygenów i w konsekwencji rozwoju choroby pęcherzowej. Dodatkowo utrata ekspresji czynnika transkrypcyjnego Foxp3 sprzyja funkcjonalnej konwersji limfocytów Tr1 do Th2, która powoduje brak funkcji supresorowej [35].

W kolejnej publikacji oceniającej stężenie IL-10 w surowicy i płynie z pęcherzy u osób z PV wykazano, że było ono zdecydowanie większe w płynie pęcherzowym, co może świadczyć o lokalnej produkcji tej cytokiny, natomiast stężenia IL-10 w surowicy zarówno osób z PV, jak i u osób zdrowych były nieoznaczalne [36]. W innym doniesieniu Bhol i wsp. [37] stwierdzili zwiększone stężenie IL-10 zarówno w płynie pęcherzowym, jak i w surowicy osób z PV. U tych samych pacjentów stężenie badanej cytokiny w płynie z pęcherzy było dziesięciokrotnie większe niż w surowicy. Zwiększone stężenie IL-10 w surowicy zaobserwowano u 87,5% osób z aktywną postacią choroby i u 12,5% pacjentów będących w okresie remisji. W grupie kontrolnej osób zdrowych oznaczalny poziom IL-10 stwierdzono tylko u 4,6% osób. Przeprowadzone badanie pozwoliło na wykazanie istnienia korelacji pomiędzy stężeniem IL-10 a aktywnością choroby [37].

Interakcja między antygenowo swoistymi limfocytami B i T przy udziale receptora TCR i udział kostymulujących cząsteczek CD40/CD154 jest, jak

udowodnili Yokoyama i wsp. [38], czynnikiem niezbędnym do produkcji patogennych przeciwciał skierowanych przeciwko Dsg 3. Analiza reakcji przeciwciał klonalnych, skierowanych przeciwko Dsg 3 pochodzących od chorych na PV i myszy stanowiących zwierzęcy model pęcherzycy wykazała, że patogenne przeciwciała reagują przede wszystkim z konformacyjnymi epitopami na dojrzałych cząsteczkach desmogleiny, natomiast niepatogenne przeciwciała dążą do reakcji z epitopami niekonformacyjnymi. Zaskakujący jest fakt, że przeciwciała skierowane przeciwko białku prekursorowemu Dsg 1 były izolowane od osób zdrowych. Te obserwacje sugerują, że uaktywniona przez komórki regulatorowe supresja jest u tych badanych zjawiskiem dominującym. Komórki Tr1 stwierdzano u zdrowych nosicieli haplotypów pre-dysponujących do rozwoju PV, ale rzadko u chorych na PV. Te właśnie komórki Tr1 mogą być przekształcone w komórki Th2, które wydzielają IL-2 poprzez aktywację czynnika transkrypcyjnego Foxp3. Według Yokoyama i wsp. ta opisana precyzyjna równowaga między odczynowymi limfocytami i komórkami T_{reg} może być kluczem do wyjaśnienia, dlaczego tylko niektórzy osobnicy z fenotypem PV produkują patogenne przeciwciała i rozwijają zmiany chorobowe [38].

Badania Veldmana i wsp. [39] potwierdzają, że brak równowagi między komórkami Tr1 a Th2 specyficznymi dla Dsg 3 może być decydującym czynnikiem w utracie tolerancji wobec Dsg 3 w pęcherzycy. W badaniach dotyczących subpopulacji komórek Tr1 wykazano ich inną odpowiedź na mitogeny, ekspresję Foxp3 i inny profil wydzielanych cytokin. Badacze na podstawie przeprowadzonych badań sugerują, że wyraźne powiązanie między komórkami Tr1 specyficznymi dla Dsg 3 i komórkami Th może mieć decydujące znaczenie dla kontynuacji tworzenia i przeżycia komórek Tr1 specyficznych dla Dsg 3.

LIMFOCYTY REGULATOROWE W PEMFIGOIDZIE

Pemfigoid (ang. *bullous pemphigoid* – BP) jest najczęstszym schorzeniem z grupy chorób pęcherzowych. Charakteryzuje się występowaniem pęcherzy podnaskórkowych oraz złogów immunoglobulin i składowych dopełniacza wzdłuż błony podstawnej naskórka. Do rozwarstwienia naskórka dochodzi na skutek uwolnienia enzymów proteolitycznych w górnej części blaszki jasnej, bezpośrednio pod keratynocytami warstwy podstawnej. U większości pacjentów występują przeciwciała klasy IgG skierowane przeciwko składnikom błony podstawnej. Głównymi autoantygenami są białka hemidesmosomalne BP 180 i BP 230. Najbardziej

immunogennym fragmentem BP 180 jest domena zewnątrzkomórkowa NC16A. Miano przeciwciał skierowanych przeciwko temu fragmentowi odpowiada nasileniu procesu chorobowego. Antygen BP 230 należy natomiast do rodziny białek zwanych plakinami i jest zlokalizowany wewnątrzkomórkowo.

Do diagnostyki BP wykorzystuje się, poza badaniem histopatologicznym, badanie immunofluorescencyjne bezpośrednie, które pozwala stwierdzić złożony IgG i składowe dopełniacza na granicy skórno-naskórkowej, głównie w pokrywie pęcherza (metoda splitu skórno), oraz test immunofluorescencji pośredniej wykrywający krążące w surowicy przeciwciała w klasie IgG [23–25].

W badaniu przeprowadzonym przez Rensing-Ehl i wsp. [26] porównywano stężenie oraz funkcje limfocytów regulatorowych we krwi obwodowej w dwóch grupach. Pierwszą grupę stanowiły osoby z rozpoznaniem, nieleczonym BP, a drugą zdrowi ochotnicy. W obu badanych grupach nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy całkowitą liczbą limfocytów CD4⁺CD25⁺ oraz limfocytów CD4⁺ z wysoką ekspresją CD25⁺. U osób chorujących na BP limfocyty CD4⁺CD25⁺ stanowiły 20,5% wszystkich komórek CD4⁺, natomiast limfocyty CD4⁺ z wysoką ekspresją CD25⁺ 4,2% populacji CD4⁺. Wykazano również, że w grupie kontrolnej 17,3% wszystkich limfocytów CD4⁺ stanowiły T_{reg} CD4⁺CD25⁺, a 4,2% komórki CD4⁺ z wysoką ekspresją CD25⁺. Oceniono także zdolność badanych limfocytów do aktywnej supresji. Otrzymane wyniki nie wykazały również znaczących różnic w obu badanych grupach. Komórki CD4⁺ z wysoką ekspresją CD25⁺ pochodzące od osób zdrowych hamowały proliferację limfocytów efektorowych o ponad 85%, natomiast u pacjentów z BP o około 78%. Ponadto w obu grupach ponad 80% limfocytów CD4⁺ z wysoką ekspresją CD25⁺ wykazywało ekspresję czynnika transkrypcyjnego Foxp3, który jest niezbędny do ich prawidłowego różnicowania [26].

W innych badaniach oceniających obecność limfocytów regulatorowych w zmianach skórnych pacjentów z nowo zdiagnozowanym BP zarówno Rensing-Ehl i wsp. [26], jak i Torchia i wsp. [27] wykazali nagromadzenie komórek CD4⁺CD25⁺ Foxp3⁺ w zmianach skórnych. Zjawiska tego nie zaobserwowano w skórze niezmienionej chorobowo. Nie można jednak wykluczyć, że nagromadzone w pęcherzach komórki CD4⁺CD25⁺ nie spełniają funkcji supresorowej, chociaż przypuszcza się, że zdolność do lokalizacji w miejscu zapalenia determinuje tę funkcję. Podobnie jak w przypadku mysiego modelu zapalenia skóry, limfocyty T_{reg} bez ligandów dla selektyny P/E nie mają zdolności migrowania do miejsca zapalenia, a tym samym nie są zdolne do

aktywnej supresji, natomiast wszczepienie tych limfocytów bezpośrednio do miejsca zapalenia przywraca ich funkcję supresorową [28].

W kolejnym badaniu przeprowadzonym przez Schmidta i wsp. [29] stwierdzono w płynie pęcherzowym zwiększone stężenie IL-10 – cytokiny o właściwościach supresorowych, w stosunku do stężenia tej interleukiny w surowicy tych samych chorych [29]. Inne doniesienie nie potwierdziło jednak wyniku uzyskanego przez Schmidta i wsp. Według Sun i wsp. [30] stężenia IL-10 w płynie pęcherzowym i w surowicy u osób chorujących na BP się nie różniły. W badaniach autorów włoskich [31] stwierdzono natomiast mniejsze stężenie supresorowej cytokiny TGF-β w płynie pęcherzowym niż w surowicy u osób z BP. Stężenie TGF-β w surowicy chorych na BP nie wykazywało jednak istotnych różnic w porównaniu z grupą zdrowych ochotników, chociaż zaobserwowano, że stężenie TGF-β w surowicy koreluje ze stopniem nasilenia choroby [31].

Na podstawie przedstawionych wyników badań różnych autorów nie można jednoznacznie stwierdzić w BP zmniejszenia liczby ani upośledzenia funkcji limfocytów regulatorowych. Ze względu jednak na stosunkowo małą liczbę badań, które nie obejmują wszystkich subpopulacji limfocytów regulatorowych, m.in. komórek Tr1, Th3 i NK, oraz brak precyzyjnych danych na temat funkcji limfocytów T_{reg} w zmianach skórnych, nie można wykluczyć roli limfocytów regulatorowych w jego patogenezie. Fakt ten wskazuje na konieczność dalszych badań pogłębiających wiedzę zarówno na temat mechanizmów i efektów działania limfocytów regulatorowych w BP, jak i możliwości zastosowania tych komórek w terapii. Największa liczba badań nad udziałem limfocytów regulatorowych dotyczy pęcherzycy.

PODSUMOWANIE

Limfocyty regulatorowe odgrywają ważną rolę w indukcji i utrzymaniu tolerancji na własne antygeny. Stosunkowo mała liczba badań nad tą subpopulacją komórek oraz niejednoznaczne wyniki nie pozwalają obecnie na dokładne określenie roli limfocytów regulatorowych w patogenezie PV i BP. Wskazuje to na konieczność dokładniejszego poznania mechanizmów działania poszczególnych subpopulacji, określenia ich fenotypu i pochodzenia, co może się okazać pomocne w terapii chorób autoimmunologicznych. Osiągnięcia biologii molekularnej oraz możliwości inżynierii genetycznej wydają się podstawowym narzędziem pomocnym w dalszym badaniu limfocytów regulatorowych, modyfikowaniu ich funkcji oraz zastosowaniu terapeutycznym.

Piśmiennictwo

1. Jagła M., Cichočka-Jarosz E.: Limfocyty regulatorowe. *Alergia Astma Immunol* 2007, 12, 22-29.
2. Baecher-Allan C., Brown A.J., Frejman G.J., Haller D.A.: CD4+CD25^{high} regulatory cells in human. *Peripheral Blood J Immunol* 2001, 167, 1245-1253.
3. 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.
4. Taams L.S., Smith J., Rustin M.H., Salmon M., Poulter L.W., Akbar A.N.: Human anergic/suppressive CD4+CD25⁺ T cells: a highly differentiated and apoptosis-prone population. *Eur J Immunol* 2001, 31, 1122-1131.
5. Thornton A., Scherach E.: CD25CD4 immunoregulatory T cells suppress polyclonal T cell activation in vitro by inhibiting interleukin 2 production. *J Exp Med* 1998, 188, 287-296.
6. Boehmer von H.: Mechanisms of suppression by suppressor T cells. *Nature Immunol* 2005, 4, 338-344.
7. Gondek D.C., Li-Fan Lu., Quezada S.A., Sakaguchi S., Noelle R.J.: Cutting edge: contact-mediated suppression by CD4+CD25⁺ regulatory cells involves a granzyme B-dependent, perforin-independent mechanism. *J Immunol* 2005, 174, 1783-1786.
8. Jonuleit H., Schmitt E., Kakirman H., Stassen M., Knop J., Euk A.H.: Infections tolerance: human CD25+regulatory T cells convey suppressor activity to conventional CD4+ T helper cells. *J Exp Med* 2002, 196, 255-260.
9. Valzasima B., Guiducci C., Dislich H., Killeen N., Weiberg A.D., Colombo M.P.: Triggering of OX40 (CD134) on CD4+CD25⁺ T cells blocks their inhibitory activity; a novel regulatory role of OX40 and its comparison with GITR. *Blood* 2005, 105, 2845-2851.
10. Levinop M.K., Sangregorio R., Roncarolo M.G.: 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, 1295-1301.
11. Vieldman C., Pahl A., Hertl M.: Desmoglein 3-specific T regulatory 1 cells consist of two subpopulations with differential expression of the transcription factor Foxp3. *Immunology* 2009, 127, 40-49.
12. Zeller J.C., Panoskaltis-Mortasi A., Murphy W.J., Rusceiti F.W., Narula S., Roncarolo M.G. i inni: Induction of CD4⁺ T cell alloantigen hyporesponsiveness by IL-10 and TGF beta. *J Immunol* 1999, 163, 3684-3691.
13. Bielniak E., Stelmasiak Z., Papuc E.: Stwardnienie rozsiane a inne choroby autoimmunologiczne. *Neurol Neurochir Pol* 2007, 41, 259-266.
14. Lan R.Y., Ansari A.A., Lian Z.X., Gerschwin M.E.: Regulatory T cells: development, function and role in autoimmunity. *Autoimmun Rev* 2005, 4, 351-363.
15. Kukreja A., Cost G., Marker J., Zhang C., Sun Z., Lin-Su K. i inni: Multiple immuno-regulatory defects in type-1 diabetes. *J Clin Invest* 2002, 109, 131-140.
16. Furuno K., Yuge T., Kusuhara K., Takada H., Nishio H., Khajoe V. i inni: CD25+CD4⁺ regulatory T cells in patients with Kawasaki disease. *J Pediatr* 2004, 145, 385-390.
17. Crispin J.C., Martinez A., Alcocer-Varela J.: Quantification of regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun* 2003, 21, 273-276.
18. Pawlaczyk M., Karczewski J., Wiktorowicz K.: Limfocyty T regulatorowe CD4+CD25^{high} we krwi obwodowej chorych na łuszczycę. *Post Dermatol Alergol* 2010, 27, 25-28.
19. Baecher-Allan C., Haller D.A.: Suppressor T cells in human diseases. *J Exp Med* 2004, 200, 273-276.
20. Balandina A., Lecart S., Darteville P., Saoudi A., Berrih-Aknin S.: Functional defect of regulatory CD4+CD25⁺ T cells in the thymus of patients with autoimmune myasthenia gravis. *Blood* 2005, 105, 735-741.
21. Viglietta V., Baecher-Allan C., Weiner H.L., Hafler D.A.: Loss of functional suppression by CD4+CD25⁺ regulatory T cells in patients with multiple sclerosis. *J Exp Med* 2004, 199, 971-979.
22. Caserta T.M., Knisley A.A., Tan F.K., Arnett F.C., Brown T.L.: Genotypic analysis of the TGF-beta 509 allele in patients with systemic lupus erythematosus and Sjogren's syndrome. *Ann Genet* 2004, 47, 359-363.
23. Goebeler M., Zillikens D.: Bullous pemphigoid: diagnosis and management. *Exp Rev Dermatol* 2006, 1, 401-411.
24. De Quatrebarbes J., Joly P.: Bullous pemphigoid. *Rev Prat* 2005, 55, 1165-1168.
25. Jabłońska S., Majewski S.: Choroby skóry. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2006.
26. Rensing-Ehl A., Gaus B., Bruckner-Tudermann L., Martin S.F.: Frequency, function and CLA expression of CD4+CD25+FOXP3 regulatory T cells in bullous pemphigoid. *Exp Dermatol* 2007, 16, 13-21.
27. Torchia D., Caproni M., Volpi W., Fabbri P.: Naturally occurring regulatory T cells in mucous membrane pemphigoid lesions. *Acta Dermatovenerol Alp Panon Adriat* 2009, 18, 3-6.
28. Siegmund K., Feuerer M., Siewert C., Ghani S., Haubold V., Dankof A. i inni: Migration matters: regulatory T cell compartmentalization determines suppressive activity in vivo. *Blood* 2005, 106, 3097-3104.
29. Schmidt E., Bastian B., Dummer R., Tony H.P., Brocker E.B., Zillikens D.: Detection of elevated levels of IL-4, IL-6 and IL-10 in blister fluid of bullous pemphigoid. *Arch Dermatol Res* 1996, 288, 353-357.
30. Sun C.C., Wu J., Wong T.T., Chuan M.T.: High levels of interleukin-8, soluble CD4 and soluble CD8 in bullous pemphigoid blister fluid. The relationship between local cytokine production and lesional T-cell activities. *Br J Dermatol* 2000, 143, 1235-1240.
31. Giacalone B., D'Auria L., Bonifati C., Ferraro C., Riccardi E., Mussi A. i inni: Decreased interleukin 7 and transforming growth factor-beta 1 levels in blister fluids as compared to the respective serum levels in patients with bullous pemphigoid. Opposite behavior of TNF-alfa, interleukin 4 and interleukin 10. *Exp Dermatol* 1998, 7, 157-161.
32. Amagai M.: Adhesion molecules. I: keratinocyte-keratinocyte interactions; cadherins and pemphigus. *J Invest Dermatol* 1995, 104, 146-152.
33. Sugiyama H., Matsue H., Nagasaka A., Nakamura Y., Tsukamoto K., Shibagaki N.: CD4+CD25^{high} regulatory T cells are markedly decreased in blood of patients with pemphigus vulgaris. *Dermatology* 2007, 214, 210-220.
34. Veldman C., Hohne A., Dieckmann D., Schuler G., Hertl M.: Type 1 regulatory T cells specific for desmoglein 3 are more frequently detected in healthy individuals than in patients with pemphigus vulgaris. *J Immunol* 2004, 172, 6468-6475.
35. Vieldman C., Pahl A., Biessert S., Hansen W., Buer J., Dieckmann D. i inni: Inhibition of the transcription factor Foxp3 converts desmoglein-3-specific type 1 regulatory T cells into Th2-like cells. *J Immunol* 2006, 176, 3215-3222.
36. Baroni A., Perfetto B., Ruocco E., Greco R., Criscudo D., Ruocco V. i inni: Cytokine pattern in blister fluid and sera of patients with pemphigus. *Dermatology* 2002, 205, 116-121.
37. Bhol K.C., Rojas A.I., Khan J.U., Ahmed A.R.: Presence of interleukin 10 in the serum and blister fluid of patients with pemphigus vulgaris and pemphigoid. *Cytokine* 2000, 7, 1076-1083.

38. **Yokoyama T., Amagai M.:** Immune dysregulation of pemphigus in humans and mice. *J Dermatol* 2010, 37, 205-213.
39. **Veldman C., Pahl A., Hertl M.** Desmoglein 3-specific T regulatory 1 cells consist of two subpopulations with differential expression of the transcription factor Foxp3. *Immunology* 2009, 127, 40-49.

Otrzymano: 8 II 2011 r.
Zaakceptowano: 28 IV 2011 r.