

Received: 2011.01.17
Accepted: 2011.05.24
Published: 2011.06.17

Rola subpopulacji limfocytów pomocniczych Th1, Th17 i Treg w patogenezie reumatoidalnego zapalenia stawów z uwzględnieniem przeciwzapalnego działania cytokin Th1*

The role of Th1, Th17, and Treg cells in the pathogenesis of rheumatoid arthritis including anti-inflammatory action of Th1 cytokines

Agata Kosmaczewska¹, Jerzy Świerkot², Lidia Ciszak¹, Piotr Wiland²

¹ Zakład Terapii Doświadczalnej, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirszfelda we Wrocławiu
² Klinika Reumatologii i Chorób Wewnętrznych, Akademia Medyczna, Wrocław

Streszczenie

W patogenezie reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS) szczególną rolę przypisuje się zaburzeniom w funkcjonowaniu układu odpornościowego. Przewlekły charakter zapalenia w stawach sugeruje, że regulacja ze strony układu odpornościowego jest zaburzona, co wiąże się z nadmiernie rozwiniętą odpowiedzią zapalną, której towarzyszą nieprawidłowe mechanizmy kontroli zapalenia. Zaburzenia immunologiczne nie ograniczają się jedynie do miejsc zapalenia, ale mają również charakter systemowy i obejmują głównie komórki jednojądrzaste krwi obwodowej (PBMC), wydzielające w nieprawidłowych ilościach cytokiny pro- i przeciwzapalne. Limfocyty T pomocnicze (Th) mogą się różnicować w zależności od środowiska cytokinowego w komórki Th1, Th2, Th17 lub Treg. Aktywna postać RZS może być wynikiem przesunięcia równowagi układu odpornościowego w kierunku subpopulacji limfocytów T prozapalnych (głównie Th17) na niekorzyść regulatorowych komórek działających przeciwzapalnie (Treg). Wykazano, że zaburzenia wytwarzania cytokin Th1 (IL-2 i IFN-gamma), stwierdzane w przebiegu RZS, sprzyjają zwiększonemu wytwarzaniu IL-17 i infiltracji tkanek w miejscu zapalenia komórkami Th17. Najnowsze badania dowodzą, że cytokiny Th1 o udowodnionym działaniu prozapalnym mogą odgrywać ważną rolę w utrzymaniu równowagi między limfocytami Treg a Th17 poprzez promowanie różnicowania limfocytów Th w kierunku Treg. W pracy przedstawiono także wpływ TNF-alfa i jego blokady na populację limfocytów Th u chorych na RZS.

Słowa kluczowe:

reumatoidalne zapalenie stawów • limfocyt • Th1 • Th17 • Treg • cytokina • TNF-alfa

Summary

Dysregulation in the immune system plays an important role in the pathogenesis of rheumatoid arthritis (RA). The persistent nature of arthritis strengthens the suggestion of immune dysfunction, consisting in predominance of the pro-inflammatory response. It seems that both local and systemic immune abnormalities, including PBMC secreting abnormal levels of pro- and

* Praca finansowana przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego; grant nr N N402 244935.

anti-inflammatory cytokines, may be involved in the evolution of the disease. Helper T cells (Th) differentiate towards Th1, Th2, Th17, and Treg cells according to the cytokine microenvironment. Active RA results from the imbalance in distribution of functional pro-inflammatory Th17 and anti-inflammatory Treg cells. Affected Th1 cytokine secretion observed in the course of RA contributes to the increase in IL-17 production and Th17 infiltration in the synovial tissue. Current studies have demonstrated that pro-inflammatory Th1 cytokines may also exert an anti-inflammatory action on the balance between Th17 and Treg cells by promotion of Treg differentiation. In the paper, we also show the influence of TNF-alpha and its inhibitors on the distribution of Th subpopulations in RA patients.

Key words: rheumatoid arthritis • lymphocyte • Th1 • Th17 • Treg • cytokine • TNF-alpha

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=948971>

Word count: 2344

Tables: –

Figures: 1

References: 48

Adres autorki: dr n. med. Agata Kosmaczewska, Zakład Terapii Doświadczalnej, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirszfelda, ul. R. Weigla 12, 53-114 Wrocław; e-mail: kosmacz@iitd.pan.wroc.pl

Wykaz skrótów: **AIA** – zapalenie stawów indukowane antygenem (antigen-induced arthritis); **CCR** – receptor chemokinowy (chemokine receptor); **CIA** – zapalenie stawów indukowane kolagenem (collagen-induced arthritis); **CRP** – białko C-reaktywne (C-reactive protein); **CTLA-4** – antygen-4 limfocytów T cytotoksycznych (cytotoxic T lymphocyte antigen-4); **GITR** – czynnik transkrypcyjny indukowany glukokortykoidami (glucocorticoid-induced transcription factor); **GM-CSF** – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor); **IL** – interleukina; **mRNA** – matrycowy kwas rybonukleinowy (messenger ribonucleic acid); **NK** – komórka NK (natural killer); **PBMC** – populacja komórek jednojądrzastych krwi obwodowej (peripheral blood mononuclear cell); **PGE** – prostaglandyna E; **RZS** – reumatoidalne zapalenie stawów; **TGF** – czynnik wzrostu nowotworu (tumor growth factor); **Th** – populacja limfocytów T pomocniczych (T helper); **TNF** – czynnik martwicy nowotworu (tumor necrosis factor); **Treg** – populacja regulatorowych limfocytów T.

REUMATOIDALNE ZAPALENIE STAWÓW (RZS)

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) jest przewlekłą układową chorobą tkanki łącznej o podłożu immunologicznym, która charakteryzuje się progresywnie postępującym zapaleniem i uszkodzeniem stawów oraz zmianami w narządach wewnętrznych. RZS dotyczy 1% dorosłych stanowiąc jedną z głównych przyczyn niepełnosprawności ruchowej i kalectwa. Wyraźnie podwyższony współczynnik śmiertelności oraz duża liczba przedwczesnych zgonów w tej grupie chorych wynika ze wzrostu częstości incydentów sercowo-naczyniowych, następstw przewlekłego uogólnionego zapalenia i powikłań narządowych [5,14].

W patogenezie RZS szczególną rolę przypisuje się zaburzeniom w funkcjonowaniu układu odpornościowego. Niezidentyfikowane antygeny artrogeenne (egzogenne antygeny wirusowe, bakteryjne, grzybicze lub endogenne – np. białko zawierające cytrulinę), czynniki środowiskowe oraz genetyczne predyspozycje przyczyniają się do indukcji przewlekłego stanu zapalnego w stawach z komponentą autoimmunologiczną. Aktywowane limfocyty T CD4⁺ o fenotypie komórek pamięci (CD4⁺CD45RO⁺) są rekrutowane do błony maziowej i płynu stawowego, odgrywając główną

rolę w indukcji i podtrzymywaniu zapalenia. Naciekające komórki T CD4⁺ oddziałują na makrofagi i fibroblasty błony maziowej oraz chondrocyty, stymulując je do wytwarzania prozapalnych cytokin (głównie IL-6, IL-1 beta, TNF-alfa), aktywują limfocyty B i promują formowanie osteoklastów.

Przewlekły charakter zapalenia w stawach sugeruje, że regulacja ze strony układu odpornościowego jest zaburzona. Ostatnie dane wskazują, że nieprawidłowości o podłożu immunologicznym dotyczą nadmiernie rozwiniętej odpowiedzi zapalnej, której towarzyszą zaburzenia mechanizmów kontroli zapalenia [8]. Mimo że RZS dotyczy głównie stawów obwodowych, zaburzenia immunologiczne nie ograniczają się jedynie do miejsc zapalenia, ale mają również charakter systemowy i obejmują głównie komórki jednojądrzaste krwi obwodowej (PBMC) wydzielające w nieprawidłowych ilościach cytokiny pro- i przeciwzapalne. RZS klinicznie charakteryzuje się występowaniem okresów zaostrzeń zapalenia, przedzielonych u niektórych chorych okresami wyciszenia objawów, a sporadycznie nawet ich pełnym ustąpieniem, czyli remisją. Okres remisji choroby jest więc wynikiem subtelnej równowagi układu odpornościowego charakteryzującej się tolerancją w stosunku do własnych antygenów, która ulega istotnemu załamaniu w okresie zaostrzenia choroby.

ROLA SUBPOPULACJI LIMFOCYTÓW T POMOCNICZYCH (Th) – Th1, Th17 i Treg – W PATOGENEZIE RZS

Limfocyty T pomocnicze (Th) różnicują się w tkankach obwodowych w kierunku limfocytów Th1 (wydzielających IL-2, IFN-gamma) oraz Th2 (wydzielających IL-4, -5, -10). Uważano, że podczas zapalenia przebiegającego z komponentą autoimmunologiczną ważną rolę odgrywają głównie komórki klonu Th1. Najnowsze badania zmieniły jednak pogląd na ich znaczenie w procesach autoimmunologicznych, ponieważ choroby te rozwijają się również bez udziału limfocytów Th1. Myszy z wyłączonym genem kodującym IFN-gamma, receptor IFN-gamma lub IL-12, która jest cytokiną różnicowania w kierunku Th1, utrzymywały wrażliwość na indukcję mysich modeli RZS i stwardnienia rozsianego (SM), rozwijając nawet zaostrożoną postać choroby [1]. Obserwacje te wskazywały, że indukcja i progresja chorób zapalnych o podłożu autoimmunologicznym wymaga obecności innych efektorowych populacji limfocytów T CD4⁺ [33]. Ostatnie badania wskazują na możliwość różnicowania limfocytów pomocniczych (poza klonem Th1) również w kierunku komórek zapalnych Th17 lub regulatorowych limfocytów T o fenotypie CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ (Treg) [1]. Wydaje się, że aktywna postać RZS (zarówno w fazie indukcji, jak i progresji) może być wynikiem przesunięcia równowagi układu odpornościowego w kierunku subpopulacji limfocytów T prozapalnych (głównie Th17) na niekorzyść regulatorowych komórek działających przeciwwapalnie (Treg), podobnie jak to się dzieje w idiopatycznym młodzieńczym zapaleniu stawów [28]. Odkrycie, że poszczególne subpopulacje limfocytów Th mogą różnicować się w określonym kierunku w zależności od środowiska cytokinowego, wydaje się mieć ogromne znaczenie dla lepszego rozumienia patomechanizmu zapalenia w RZS.

Obecność w płynie stawowym oraz krwi obwodowej chorych na RZS IL-17 wytwarzanej w dużej ilości przez aktywne komórki Th17 sugeruje, że populacja tych silnie prozapalnych komórek odgrywa zasadniczą rolę w patogenezie RZS [13,35,36]. Wykazano, że odsetek komórek Th17 w krwi chorych na RZS koreluje ze stężeniem białka ostrej fazy CRP, liczbą zmienionych zapalnie stawów i aktywnością choroby [36]. Komórki Th17 różnicują się z ludzkich komórek pamięci CD4⁺CD45RO⁺ pod wpływem IL-23, IL-6, IL-1-beta, a w komórkach mysich dodatkowo wymagana jest obecność TGF-beta [1,12,13,20,48]. Limfocyty Th17 nie wytwarzają IFN-gamma, brak w nich także czynnika transkrypcyjnego T-bet (które są charakterystyczne dla komórek klonu Th1), a w obecności cytokin Th1 (IL-2 i IFN-gamma) ich różnicowanie jest zahamowane [12,16]. Komórki Th17 mogą się różnicować nie tylko z limfocytów pamięci, ale także z komórek regulatorowych (Treg) pod warunkiem, że w mikrośrodowisku obecna jest silnie prozapalna IL-6 [46,48].

Wykazano, że IL-17 wytwarzana w nadmiarze w przebiegu aktywnego RZS stymuluje monocyty i makrofagi do syntezy IL-1-beta i TNF-alfa, z którymi działa synergistycznie. IL-17 pobudza również komórki błony maziowej i chrząstki do wytwarzania IL-6, IL-8, PGE2, GM-CSF [13]. Poza tym IL-17 wpływa stymulująco na procesy osteoklastogenezy w kościach, prowadząc do zmian destrukcyjnych w stawach i progresji zmian radiologicznych w przebiegu

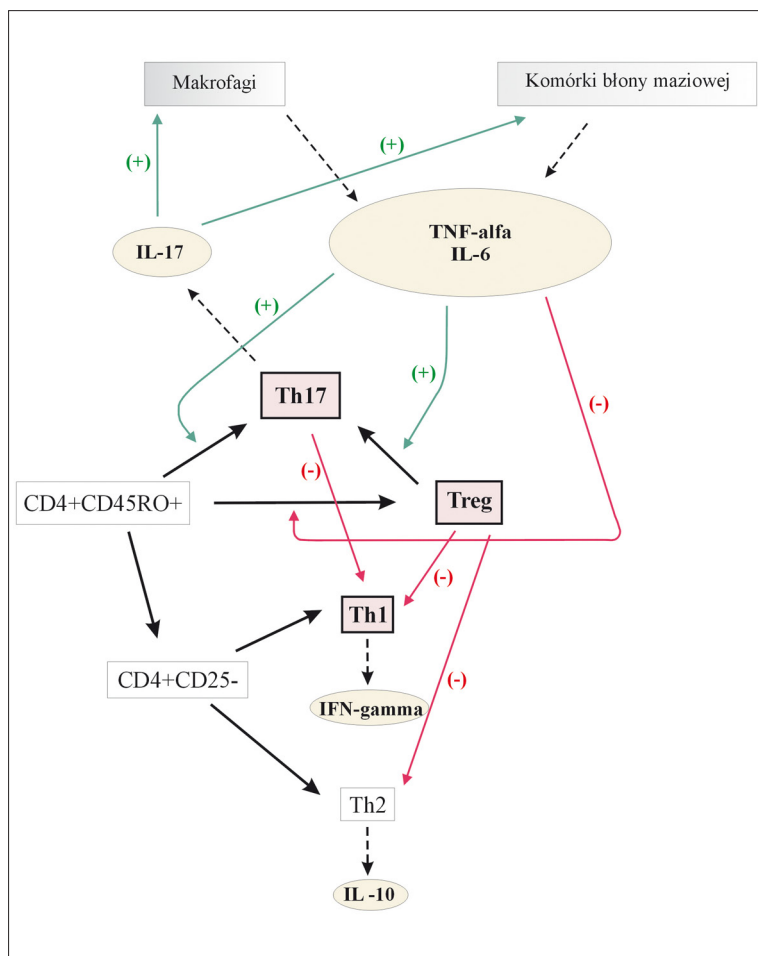
RZS. Zablockowanie jej działania przeciwciałami monoklonalnymi hamuje postęp destrukcji kostnych w czasie trwania choroby [23,26], podkreślając znaczący udział tej cytokiny w patogenezie RZS.

Regulatorowe limfocyty CD4⁺FoxP3⁺ (Treg) odgrywają istotną rolę w mechanizmach regulacji immunologicznej [1,34]. Limfocyty te charakteryzuje konstytutywna ekspresja w cytoplazmie unikalnego czynnika transkrypcyjnego FoxP3 [11]. Poza tym Treg wykazują powierzchniową ekspresję cząsteczek CD25, GITR, CD62L, OX-40 oraz dodatkowo w cytoplazmie i w błonie komórkowej – supresorowej cząsteczki CTLA-4 [37,43]. Wykazano, że komórki Treg wpływają supresyjnie na proliferację i funkcję limfocytów efektorowych (CD4⁺CD25⁻, CD8⁺, NK) przez bezpośredni kontakt międzykomórkowy lub za pośrednictwem wydzielanych cytokin immunosupresyjnych (IL-10, TGF-beta) [1,4]. Celem ich supresyjnego działania są również procesy aktywacji autoreaktywnych limfocytów T, które wymknęły się spod kontroli mechanizmów tolerancji immunologicznej. Naturalne komórki Treg (nTreg) powstają w grasicy z dziewięciu komórek T CD4⁺, natomiast w szczególnych warunkach środowiskowych w obecności TGF-beta i/lub IL-2 mogą być indukowane w tkankach obwodowych także z limfocytów T pamięci (podobnie jak Th17) lub z komórek efektorowych T CD4⁺CD25⁻, nazywane są wtedy indukowanymi/adaptorowymi komórkami Treg (iTreg) [47]. Wielkość populacji limfocytów Treg oraz ich funkcja supresorowa zależna jest od stężenia IL-2, IFN-gamma, TGF-beta (wpływ pozytywny) oraz IL-6, TNF-alfa (wpływ negatywny) w mikrośrodowisku [9,19,29,34,39,45]. Wzajemne relacje komórek Th1, Th17 i Treg w przebiegu aktywnej fazy RZS przedstawiono na ryc. 1.

Badania dowodzą, że we krwi chorych na RZS może występować różny odsetek limfocytów Treg [17,30,32], jednak to nie wielkość populacji, ale aktywność funkcjonalna tych komórek wydaje się odgrywać główną rolę w regulowaniu odpowiedzi komórek efektorowych na stymulację antygenową [30,32]. Wykazano, że ich funkcja supresorowa jest związana z przejściową syntezą IFN-gamma oraz stałą ekspresją czynnika FoxP3 i antygenu CTLA-4 [4,19,21,46]. Badania grupy Ehrensteina i wsp. [9,10] oraz innych autorów [21,30] udowodniły, że w przebiegu RZS dochodzi do defektu supresyjnej funkcji komórek Treg wyizolowanych z krwi obwodowej chorych, która wynika z nieprawidłowej ekspresji i funkcji białka CTLA-4 w tej populacji komórek. Poprawa powierzchniowej ekspresji CTLA-4 w limfocytach Treg pobranych od chorych na RZS prowadzi do przywrócenia im funkcji regulatorowej w badaniach *in vitro* z następującą supresją wydzielania IFN-gamma przez nieregulatorowe limfocyty T o fenotypie CD4⁺CD25⁻ [10]. Wydaje się, że manipulacja ekspresją białka CTLA-4 w regulatorowych limfocytach Treg może stanowić w przyszłości ważny element terapii RZS.

PRZECIWWAPALNE DZIAŁANIE CYTOKIN Th1 I ICH WPŁYW NA WZAJEMNE RELACJE MIĘDZY LIMFOCYTAMI Th1, Th17 I TREG W PRZEBIEGU RZS

Warunki mikrośrodowiska mają ogromny wpływ na wielkość poszczególnych subpopulacji limfocytów pomocniczych Th i decydują o kierunku ich różnicowania.



Ryc. 1. Schemat wzajemnych relacji poszczególnych subpopulacji limfocytów T pomocniczych we krwi obwodowej chorych w aktywnej fazie RZS; ---> – sekrecja cytokin; → – różnicowanie komórek; wzajemne oddziaływanie: →(+) – pobudzające i →(-) – hamujące

Możliwość wzajemnie odwrotnej regulacji między limfocytami Th1, Th17 i Treg związana jest z obecnością na powierzchni komórek wspólnych receptorów chemokin CCR4, CCR5, CCR6, CXCR3, CXCR6 [24]. Interesujące jest to, że cytokiny Th1 w udowodnionym działaniu prozapalnym (IL-2 i IFN-gamma) mogą promować i podtrzymywać różnicowanie limfocytów w kierunku Treg, co prawdopodobnie sprzyja utrzymaniu homeostazy limfocytów T [2,3,19,47].

Wykazano, że we krwi obwodowej w przebiegu RZS dochodzi do zaburzenia odpowiedzi limfocytów Th1 na stymulację antygenową z następowym defektem syntezy IL-2 oraz IFN-gamma, który koreluje z aktywnością choroby [41]. Znaczenie ochronnego oddziaływania IFN-gamma na rozwój i przebieg RZS potwierdzono w badaniach Kawashimy i wsp. [18], w których wykazano odwrotną korelację między ekspresją mRNA IFN-gamma w komórkach PBMC chorych na aktywną postać RZS a stężeniem białka CRP w surowicy. Konsekwencją systemowego defektu komórek Th1 może być zachwianie równowagi w obrębie subpopulacji limfocytów T CD4⁺ na niekorzyść komórek Treg i promowanie funkcjonalnej przewagi prozapalnych limfocytów Th17. Istotnie, procesy różnicowania limfocytów pomocniczych T w komórki Th17 i infiltracji nimi zmienionych zapalnie stawów są znacznie nasilone u chorych na aktywną postać RZS i wynikają m.in. z niedoboru cytokin Th1 w środowisku [25,42]. Toh i wsp. [38] niedawno wykazali związek IL-17 z defektem komórek Th1 w przebiegu RZS przez selektywne hamowanie ekspresji receptora

beta2 dla IL-12 (IL-12Rbeta2), który jest swoisty dla limfocytów różnicujących się w kierunku komórek Th1.

Dowiedziano, że IFN-gamma może odgrywać istotną rolę w indukowaniu i utrzymaniu tolerancji w stosunku do allo- i autoantygenów przez udział w prawidłowym funkcjonowaniu limfocytów Treg. Endogenny IFN-gamma wytwarzany w wyniku stymulacji antygenowej w komórkach efektorowych (CD4⁺CD25⁻) oraz tylko przejściowo w limfocytach Treg decyduje o supresyjnej aktywności głównie adaptorycznych Treg (iTreg). Przeciwwzajemne działanie IFN-gamma udowodniono w badaniach z wykorzystaniem myszy z wyłączonym genem kodującym tę cytokinę (IFN-gamma^{-/-}), u których brak IFN-gamma sprzyja nasileniu indukowanego kolagenem (collagen-induced arthritis – CIA) lub antygenem (antigen-induced arthritis – AIA) zapalenia stawów, czemu towarzyszy istotnie podwyższone stężenie IL-17 i nieograniczona ekspansja zapalnych komórek Th17 [15,16,25]. Chroniący myszy przed rozwojem zapalenia stawów wpływ IFN-gamma zaznaczony jest zarówno w fazie indukcji [16], jak i w fazie efektorowej zapalenia [19]. Początkowo spodziewano się, że swoiste przeciwzapalne działanie IFN-gamma w limfocytach Treg wiąże się z jego antagonistycznym działaniem w stosunku do TGF-beta wytwarzanego przez te komórki. Jednakże badania Kelchtermans i wsp. [19] obaliły ten pogląd, dowodząc, że IFN-gamma oddziałuje na aktywność supresyjną Treg niezależnie od TGF-beta i prawdopodobnie ma w tej roli nadrzędną nad TGF-beta pozycję.

Wydaje się, że poza IFN-gamma, również IL-2 jest ważnym czynnikiem utrzymującym prawidłowo funkcjonującą subpopulację komórek Treg w obrębie obwodowych limfocytów T [2,3]. Indukowanie limfocytów Treg we krwi obwodowej z populacji komórek CD4⁺CD25⁻ wymaga obecności nie tylko TGF-beta, ale również IL-2, która wręcz warunkuje ten proces [47]. Cytokina ta ma więc ważne znaczenie w różnicowaniu, ekspansji i funkcji supresorowej Treg w populacji obwodowych limfocytów pomocniczych Th [2,3,34,47]. Jej wpływ na wielkość populacji Treg jest wprost proporcjonalny, co ma zapewnić ochronę przed nadmierną aktywnością nieregulatorowych limfocytów T CD4⁺ [47] (będących fizjologicznym źródłem IL-2), wśród których znajdują się również komórki autoreaktywne. Wykazano, że nieobecność IL-2 lub IL-2R sprzyja utracie tolerancji wobec autoantigenów, zmniejsza reaktywność wobec alloantigenów, co wynika z nieprawidłowo funkcjonującej populacji regulatorowych komórek Treg [2]. Setoguchi i wsp. [34] potwierdzili na modelu mysim, że zniesienie wpływu obecnej w środowisku IL-2 na limfocyty Treg może prowadzić do rozwoju zjawisk autoagresji. Zaburzenia wytwarzania IL-2 sprzyjają zwiększonemu wytwarzaniu IL-17 i infiltracji tkanek w miejscu zapalenia komórkami Th17 [25]. IL-2 może więc odgrywać ważną rolę w utrzymaniu równowagi między limfocytami Treg a Th17 [22].

Znaczenie IL-2 w kontrolowaniu równowagi między Th17 i Treg wykazano dotąd jedynie w mikrośrodowisku komórek nowotworowych [22]. Dlatego określenie wpływu egzogennej IL-2 i/lub IFN-gamma na utrzymanie homeostazy limfocytów Th i przywrócenie prawidłowych proporcji poszczególnych subpopulacji przeciw- i prozapalnych komórek (Treg, Th1, Th17) u chorych na RZS mogłoby się przyczynić do wyznaczenia nowych kierunków leczenia biologicznego.

TNF-ALFA I JEGO BLOKADA U CHORYCH NA RZS

Na nasilenie syntezy cytokin o znaczeniu podstawowym w różnicowaniu poszczególnych subpopulacji limfocytów Th u chorych na RZS wpływa znacząco TNF-alfa [7,39]. Wytwarzany przez aktywowane makrofagi w nadmiarze i wydzielany do płynu stawowego i krwi obwodowej powoduje nasilenie procesu zapalenia związanego z chorobą. Wykazano, że przewlekły wpływ TNF-alfa na komórki T CD4⁺ prowadzi do obniżenia ekspresji molekuł uczestniczących w aktywacji limfocytów T (CD28), hiporeaktywności limfocytów T wyrażonej obniżonym wytwarzaniem IL-2, IFN-gamma, IL-10, IL-4 i zmniejszoną ekspresją CD25. TNF-alfa wpływa też na zmniejszenie wielkości populacji limfocytów Treg i ich aktywności supresorowej, promuje powstawanie komórek Th17 oraz działa autokrynnie przez zwiększenie liczby PBMC wytwarzających TNF-alfa [6,7,39,40].

Wiadomo, że w przebiegu RZS terapeutyczny efekt czynników blokujących TNF-alfa w badaniach *in vitro* i *in vivo* wynika z rekrutacji mniejszej liczby leukocytów do zmienionych zapalnie stawów, zmniejszenia stężenia cytokin prozapalnych (IL-1, IL-6, GM-CSF, IL-8, TNF-alfa) oraz osłabienia angiogenezy w stawach [31,44]. Ponadto blokada TNF-alfa prowadzi do przywrócenia prawidłowej ekspresji antygeny kostymulującego CD28 na powierzchni

pobudzonych limfocytów T CD4⁺ we krwi i płynie stawowym oraz poprawy ich reaktywności (prolifracji i wytwarzania cytokin: IL-2, IFN-gamma, IL-10, IL-4), a w końcu do zahamowania progresji radiologicznych zmian w stawach w przebiegu RZS [6,7,9,29,31,44]. Zastosowanie czynników blokujących TNF-alfa sprzyja ponadto zwiększeniu ekspansji i/lub nasileniu supresorowej funkcji komórek Treg. Wykazano, że w wyniku leczenia biologicznego z wykorzystaniem inhibitorów TNF-alfa dochodzi do indukowania we krwi obwodowej chorych na aktywnie przebiegające RZS odmiennych fenotypowo populacji adapterowych limfocytów Treg (iTreg), których działanie supresyjne realizowane jest głównie za pośrednictwem wydzielanego TGF-beta. Leczenie inhibitorami TNF-alfa nie koryguje natomiast wielkości populacji i zaburzonej funkcji naturalnych komórek Treg (nTreg), co wynika z utrzymania się obniżonej ekspresji antygeny CTLA-4 w tych komórkach mimo leczenia [10,21]. Chorzy na RZS pozostają więc z nieprawidłowościami dotyczącymi tej ważnej regulatorowej populacji limfocytów T, mimo klinicznej skuteczności leczenia inhibitorami TNF-alfa, co skutkuje szybkim nawrotem objawów po zakończeniu terapii.

Wprawdzie terapia biologiczna z użyciem czynników blokujących TNF-alfa jest nowym i obiecującym kierunkiem leczenia agresywnie przebiegającego RZS, jednakże jej skuteczność wykazano jedynie u 60–70% chorych, u których zastosowano ten rodzaj leczenia [42]. Wydaje się, że przyczyną niepełnej efektywności może być, częściowo niezależne od TNF-alfa, silne prozapalne działanie IL-17 wydzielanej autonomicznie przez komórki Th17, obecne w zajętych zapaleniem stawach. Dlatego obserwuje się większą skuteczność terapii skojarzonej lekami blokującymi TNF-alfa (infliksimabem, adalimumabem lub etanerceptem) i metotreksatem (syntetycznym lekiem modyfikującym przebieg choroby), która prowadzi do zahamowania powstawania nadżerek kostnych i zmniejszenia aktywności choroby w większym stopniu niż monoterapia. Wykazano, że dodanie metotreksatu zwiększa skuteczność inhibitorów TNF-alfa poprzez hamowanie powstawania skierowanych przeciwko nim przeciwciał, a także efektywnie zmniejsza odsetek komórek Th17 we krwi obwodowej i płynie stawowym chorych na RZS [27,37].

PODSUMOWANIE

Doniesienia kilku ostatnich lat przyniosły zmianę w rozumieniu patomechanizmu zapalenia w przebiegu RZS uwzględniającym udział komórek Th1, Th17 i Treg, których wzajemne relacje wydają się mieć znaczenie kluczowe dla rozwoju i/lub wygaszania procesu zapalnego w stawach. Zaburzenia w funkcjonowaniu układu odpornościowego mają także charakter systemowy i charakteryzują się ekspansją silnie prozapalnych komórek Th17 i nieprawidłową liczbą/funkcją działających przeciwzapalnie limfocytów Treg. Odkrycie udziału komórek Th1 w promowaniu różnicowania limfocytów Th w kierunku Treg oraz hamowaniu różnicowania limfocytów Th17 przyczyniło się do lepszego rozumienia patogenezy RZS, w przebiegu którego obserwuje się często defekt w zakresie wydzielania cytokin Th1. Nieskuteczność leczenia inhibitorami TNF-alfa stwierdzana nawet u 30–40% chorych na agresywną postać RZS oraz szybki nawrót objawów klinicznych choroby po ich odstawieniu wydają się mieć genę w utrzymaniu

się nieprawidłowości w zakresie populacji limfocytów Th pro- i przeciwzapalnych. Zasadne wydaje się poszukiwanie nowych kierunków leczenia biologicznego, które

zapewniłyby przywrócenie prawidłowych relacji poszczególnych subpopulacji limfocytów Th u chorych na RZS.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Afzali B., Lombardi G., Lechler R.I., Lord G.M.: The role of T helper 17 (Th17) and regulatory (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease. *Clin. Exp. Immunol.*, 2007; 148: 32–46
- [2] Almeida A.R., Legrand N., Papiernik M., Freitas A.: Homeostasis of peripheral CD4⁺ T cells: IL-2R α and IL-2 shape a population of regulatory cells that controls CD4⁺ T cell numbers. *J. Immunol.*, 2002; 169: 4850–4860
- [3] Almeida A.R., Zaragoza B., Freitas A.A.: Indexation as a novel mechanism of lymphocyte homeostasis: the number of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells is indexed to the number of IL-2-producing cells. *J. Immunol.*, 2006; 177: 192–200
- [4] Bayry J., Siberil S., Triebel F., Tough D.F., Kaveri S.V.: Rescuing CD4⁺CD25⁺ regulatory T-cell functions in rheumatoid arthritis by cytokine-targeted monoclonal antibody therapy. *Drug Discov. Today*, 2007; 12: 548–552
- [5] Blaschke S., Viereck V., Schwarz G., Klinger H.M., Guerluek S., Muller G.A.: Anti-inflammatory effects of atorvastatin on peripheral blood mononuclear cells and synovial fibroblasts in rheumatoid arthritis. *Scand. J. Rheumatol.*, 2009; 38: 235–239
- [6] Bryl E., Vallejo A.N., Matteson E.L., Witkowski J.M., Weyand C.M., Goronzy J.J.: Modulation of CD28 expression with anti-tumor necrosis factor alpha therapy in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2005; 52: 2996–3003
- [7] Cope A.P., Londei M., Chu N.R., Cohen S.B., Elliot M.J., Brennan F.M., Maini R.N., Feldmann M.: Chronic exposure to tumor necrosis factor (TNF) *in vitro* impairs the activation of T cells through the T cell receptor/CD3 complex; reversal *in vivo* by anti-TNF antibodies in patients with rheumatoid arthritis. *J. Clin. Invest.*, 1994; 94: 749–760
- [8] Duarte J., Agua-Doce A., Oliveira V.G., Fonseca J.E., Graca L.: Modulation of IL-17 and Foxp3 expression in the prevention of autoimmune arthritis in mice. *PLoS One*, 2010; 5: e10558
- [9] Ehrenstein M.R., Evans J.G., Singh A., Moore S., Warnes G., Isenberg D.A., Mauri C.: Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNF- α therapy. *J. Exp. Med.*, 2004; 200: 277–285
- [10] Flores-Borja F., Jury E.C., Mauri C., Ehrenstein M.R.: Defects in CTLA-4 are associated with abnormal regulatory T cell function in rheumatoid arthritis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 19396–19401
- [11] Fontenot J.D., Rudensky A.Y.: A well adapted regulatory contrivance: regulatory T cell development and the forkhead family transcription factor Foxp3. *Nat. Immunol.*, 2005; 6: 331–337
- [12] Furuzawa-Carballeda J., Vargas-Rojas M.I., Cabral A.R.: Autoimmune inflammation from Th17 perspective. *Autoimmun. Rev.*, 2007; 6: 169–175
- [13] Gaffen S.L.: Biology of recently discovered cytokines: Interleukin-17 – a unique inflammatory cytokine with roles in bone biology and arthritis. *Arthritis Res. Ther.*, 2004; 6: 240–247
- [14] Hansel B., Bruckert E.: Lipid profile and cardiovascular risk in patients with rheumatoid arthritis: effect of the disease and of drug therapy. *Ann. Endocrinol.*, 2010; 71: 257–263
- [15] Hirota K., Hashimoto H., Yoshitomi H., Tanaka S., Nomura T., Yamaguchi T., Iwakura Y., Sakaguchi N., Sakaguchi S.: T cell self-reactivity forms a cytokine milieu for spontaneous development of IL-17+Th cells that cause autoimmune arthritis. *J. Exp. Med.*, 2007; 204: 41–47
- [16] Irmiler I.M., Gajda M., Brauer R.: Exacerbation of antigen-induced arthritis in IFN- γ -deficient mice as a result of unrestricted IL-17 response. *J. Immunol.*, 2007; 179: 6228–6236
- [17] Kao J.K., Hsue Y.T., Lin C.Y.: Role of new population of peripheral CD11c⁺CD8⁺ T cells and CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells during acute and remission stages in rheumatoid arthritis patients. *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, 2007; 40: 419–427
- [18] Kawashima M., Miossec P.: mRNA quantification of T-bet, GATA-3, IFN- γ , and IL-4 shows a defective Th1 immune response in the peripheral blood from rheumatoid arthritis patients: link with disease activity. *J. Clin. Immunol.*, 2005; 25: 209–214
- [19] Kelchtermans H., De Klerck B., Mitera T., Van Balen M., Bullens D., Biliu A., Leckerq G., Matthys P.: Defective CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell functioning in collagen-induced arthritis: an important factor in pathogenesis, counter-regulated by endogenous IFN- γ . *Arthritis Res. Ther.*, 2005; 7: R402–R415
- [20] Kimura A., Kishimoto T.: IL-6: regulator of Treg/Th17 balance. *Eur. J. Immunol.*, 2010; 40: 1830–1835
- [21] Kolar P., Knieke K., Hegel K.E., Quandt D., Burmester G.R., Hoff H., Brunner-Weinzierl M.C.: CTLA-4 (CD152) controls homeostasis and suppressive capacity of regulatory T cells in mice. *Arthritis Rheum.*, 2009; 60: 123–132
- [22] Kryczek I., Wei S., Zou L., Altuwajiri S., Szeliga W., Kolls J., Chang A., Zou W.: Cutting edge: Th17 and regulatory T cells dynamics and regulation by IL-2 in the tumor microenvironment. *J. Immunol.*, 2007; 178: 6730–6733
- [23] Li X., Yuan F.L., Lu W.G., Zhao Y.Q., Li C.W., Li J.P., Xu R.S.: The role of interleukin-17 in mediating joint destruction in rheumatoid arthritis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2010; 397: 131–135
- [24] Lim H.W., Lee J., Hillsamer P., Kim C.H.: Human Th17 cells share major trafficking receptors with both polarized effector T cells and FOXP3⁺ regulatory T cells. *J. Immunol.*, 2008; 180: 122–129
- [25] Lohr J., Knoechel B., Wang J.J., Villarino A.V., Abbas A.K.: Role of IL-17 and regulatory T lymphocytes in a systemic autoimmune disease. *J. Exp. Med.*, 2006; 203: 2785–2791
- [26] Lubberts E., Koenders M., van den Berg W.B.: The role of T cell interleukin-17 in conducting destructive arthritis: lessons from animal models. *Arthritis Res. Ther.*, 2005; 7: 29–37
- [27] Macias I., Garcia-Perez S., Ruiz-Tudela M., Medina F., Chozas N., Giron-Gonzales J.A.: Modification of pro- and anti-inflammatory cytokines and vascular-related molecules by tumor necrosis factor- α blockade in patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 2005; 32: 2102–2108
- [28] Mahendra A., Misra R., Aggarwal A.: Th1 and Th17 predominance in the enthesitis-related arthritis form of juvenile idiopathic arthritis. *J. Rheumatol.*, 2009; 36: 1730–1736
- [29] Nadkarni S., Mauri C., Ehrenstein M.R.: Anti-TNF- α therapy induces a distinct regulatory T cell population in patients with rheumatoid arthritis. *J. Exp. Med.*, 2007; 204: 33–39
- [30] Ryder L.R., Woetmann A., Madsen H.O., Odum N., Ryder L.P., Bliddal H., Danneskiold-Samsøe B., Ribel-Madsen S., Bartels E.M.: Expression of full-length and splice forms of FoxP3 in rheumatoid arthritis. *Scand. J. Rheumatol.*, 2010; 39: 279–286
- [31] Schuerwegh A.J., Van Offel J.F., Stevens W.J., Bridts C.H., De Clerck L.S.: Influence of therapy with chimeric monoclonal tumor necrosis factor- α antibodies on intracellular cytokine profiles of T lymphocytes and monocytes in rheumatoid arthritis patients. *Rheumatol.*, 2003; 42: 541–548
- [32] Sempere-Ortells J.M., Perez-Garcia V., Marin-Alberca G., Peris-Pertusa A., Benito J.M., Marco F.M., Zubcoff J.J., Navarro-Blasco F.J.: Quantification and phenotype of regulatory T cells in rheumatoid arthritis according to disease activity score-28. *Autoimmunity*, 2009; 42: 636–645
- [33] Serada S., Fujimoto M., Mihara M., Koike N., Ohsugi Y., Nomura S., Yoshida H., Nishikawa T., Terabe F., Ohkawara T., Takahashi T., Ripley B., Kimura A., Kishimoto T., Naka T.: IL-6 blockade inhibits the induction of myelin antigen-specific Th17 cells and Th1 cells in experimental autoimmune encephalitis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 9041–9046
- [34] Setoguchi R., Hori S., Takahashi T., Sakaguchi S.: Homeostatic maintenance of natural Foxp3⁺CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells by interleukin (IL)-2 and induction of autoimmune disease by IL-2 neutralization. *J. Exp. Med.*, 2005; 201: 723–735
- [35] Shen H., Goodall J.C., Gaston J.S.: Frequency and phenotype of peripheral blood Th17 cells in ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2009; 60: 1647–1656
- [36] Shen H., Xia L., Lu J., Xiao W.: Infliximab reduces the frequency of interleukin 17-producing cells and the amounts of interleukin 17 in patients with rheumatoid arthritis. *J. Invest. Med.*, 2010; 58: 905–908

- [37] Takahashi T., Tagami T., Yamazaki S., Uede T., Shimizu J., Sakaguchi N., Mak T.W., Sakaguchi S.: Immunologic self-tolerance maintained by CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells constitutively expressing cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4. *J. Exp. Med.*, 2000; 192: 303–310
- [38] Toh M.L., Kawashima M., Hot A., Miossec P., Miossec P.: Role of IL-17 in the Th1 systemic defects in rheumatoid arthritis through selective IL-12Rβ2 inhibition. *Ann. Rheum. Dis.*, 2010; 69: 1562–1567
- [39] Valencia X., Stephens G., Goldbach-Mansky R., Wilson M., Shevach E.M., Lipsky P.E.: TNF downmodulates the function of human CD4⁺CD25^{hi} T-regulatory cells. *Blood*, 2006; 108: 253–261
- [40] van Amelsfort J.M., Jacobs K.M., Bijlsma J.W., Lafeber F.P., Taams L.S.: CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2004; 30: 2775–2785
- [41] van Roon J.A., Verhoef C.M., van Roy J.L., Gmelig-Meyling F.H., Huber-Bruning O., Lafeber F.P., Bijlsma J.W.: Decrease in peripheral type 1 over type 2 T cell cytokine production in patients with rheumatoid arthritis correlates with an increase in severity of disease. *Ann. Rheum. Dis.*, 1997; 56: 656–660
- [42] Voll R.E., Kalden J.R.: Do we need new treatment that goes beyond tumor necrosis factor blockers for rheumatoid arthritis? *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2005; 1051: 799–810
- [43] von Boehmer H.: Mechanisms of suppression by suppressor T cells. *Nat. Immunol.*, 2005; 6: 338–344
- [44] Williams R.O., Paleolog E., Feldmann M.: Cytokine inhibitors in rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 2007; 7: 412–417
- [45] Wood K., Sawitzki B.: Interferon gamma: a crucial role in the function of induced regulatory T cells *in vivo*. *Trends Immunol.*, 2006; 27: 183–187
- [46] Xu L.L., Kitani A., Fuss I., Strober W.: Cutting edge: regulatory T cells induce CD4⁺CD25⁻Foxp3⁻ T cells or are self-induced to become Th17 cells in the absence of exogenous TGF-β. *J. Immunol.*, 2007; 178: 6725–6729
- [47] Zheng S.G., Wang J., Wang P., Gray J.D., Horwitz D.A.: IL-2 is essential for TGF-β to convert naive CD4⁺CD25⁻ cells to CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells and for expansion of these cells. *J. Immunol.*, 2007; 178: 2018–2027
- [48] Ziegler S.F., Buckner J.H.: FOXP3 and the regulation of Treg/Th17 differentiation. *Microbes Infect.*, 2009; 11: 594–598

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.