

Received: 2011.03.30
Accepted: 2011.05.25
Published: 2011.06.21

Wpływ czynników transkrypcyjnych na różnicowanie limfocytów T CD4⁺

The influence of transcription factors on CD4⁺ T cell differentiation

Kalina Świst¹, Elżbieta Pajtasz-Piasecka²

¹ Politechnika Wrocławska

² Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirszfelda we Wrocławiu

Streszczenie

Wśród limfocytów T można wyodrębnić populacje komórek o wielorakich funkcjach i odmiennych szlakach różnicowania. Najbardziej zróżnicowaną grupę tworzą komórki mające na swojej powierzchni koreceptor CD4. Pod wpływem zmian indukowanych przez takie cytokiny jak IL-4, IFN- γ , IL-10 lub TGF- β w mikrośrodowisku różnych tkanek, limfocyty T CD4⁺ mogą różnicować się do subpopulacji pełniących w organizmie funkcje pomocnicze, regulatorowe/supresorowe (Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, Tfh, iTreg i Tr1). W ukierunkowaniu zróżnicowania tych limfocytów główną rolę odgrywają czynniki transkrypcyjne. Najważniejsze z nich to T-bet, GATA3, ROR γ t, FOXP3, AHR oraz c-Maf. Przyłączenie cytokiny przez swoisty receptor aktywuje bowiem czynniki transkrypcyjne i inne białka oddziałujące z DNA, zmiany epigenetyczne, umożliwiając w ten sposób odczyt odpowiedniej informacji genetycznej. Plastyczność różnicowania się komórek CD4⁺ jest efektem dynamicznej równowagi między ich pierwotnym zaangażowaniem i łatwością przystosowania się w obliczu zmian otoczenia. Co więcej, fenotypowe i funkcjonalne granice pomiędzy poszczególnymi subpopulacjami okazują się płynne. Wpływ czynników środowiskowych na aktywację mechanizmów odpowiedzialnych za przekształcanie się limfocytów T CD4⁺ w funkcjonalnie dojrzałe komórki okazuje się zatem znacznie bardziej złożone niż uważano początkowo.

Słowa kluczowe:

limfocyty CD4⁺ • czynniki transkrypcyjne • różnicowanie limfocytów T

Summary

A number of distinguished populations with manifold functions and various pathways of differentiation have been identified within T lymphocytes. The cells expressing CD4 coreceptor on their cell surface are the most varied group. Depending on changes in different tissue microenvironments induced by such cytokines as IL-4, IFN- γ , IL-10 or TGF- β , CD4⁺ T lymphocytes can differentiate into alternative subpopulations performing helper, regulatory/suppressor function (Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, Tfh, iTreg and Tr1). In the direction of lineage differentiation of these lymphocytes, transcription factors play the key role. The most important of them are T-bet, GATA3, ROR γ t, FOXP3, AHR and c-Maf. A cytokine binding to a specific receptor activates the transcription factors, other DNA-binding proteins, and epigenetic alterations, enabling the transcription of proper genetic information. The plasticity of CD4⁺ cell differentiation seems to be in dynamic balance between initial commitment and flexibility of these cells in the face of a changing environment. Even more, phenotypical and functional borders between particular subpopulations have turned out to be fluent. Then, the influence of extrinsic factors on the activation of

mechanisms responsible for conversion of CD4⁺ T lymphocytes into functional mature cells appears to be more complicated than was previously thought.

Key words: CD4⁺ cells • transcription factors • T cell differentiation

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=949499>

Word count: 5504

Tables: 1

Figures: 5

References: 53

Adres autorki: dr Elżbieta Pajtasz-Piasecka, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirszfelda, ul. Weigla 12, 53-114 Wrocław; e-mail: pajtasz@iitd.pan.wroc.pl

Wykaz skrótów: **AHR** – receptor wodorowęglanu arylu (aryl hydrocarbon receptor); **APC** – komórka prezentująca antygen (antigen presenting cell); **ARNT** – translokator receptora wodorowęglanu arylu (aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator); **CLP** – wspólna komórka progenitorowa limfopoecy (common lymphocyte progenitor); **CNS** – konserwatywna sekwencja niekodująca (conserved non-coding sequence); **Co-SMAD** – wspólny mediator SMAD (co-mediator SMAD); **CTFC** – czynnik wiążący CCCTC (CCCTC-binding factor); **CTLA-4** – antygen CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte antigen 4); **DC** – komórka dendrytyczna (dendritic cell); **FOXP3** – czynnik transkrypcyjny FOXP3 (forkhead box P3); **GAS** – miejsce aktywowane przez IFN- γ (IFN- γ -activated site); **Gfi-1** – niezależny czynnik wzrostu 1 (growth factor independent 1); **HAT** – acetylotransferaza histonów (histone acetyltransferase); **HDAC** – deacetylaza histonów (histone deacetylase); **HLX** – czynnik transkrypcyjny HLX (H2.0-like homeobox); **HS** – miejsce wrażliwe na działanie DNazy I (DNase hypersensitive site); **ICOS** – kostymulujący receptor ICOS (inducible co-stimulator); **IFN- γ** – interferon gamma (interferon gamma); **IFN- γ R** – receptor IFN- γ (interferon gamma receptor); **IRF4** – czynnik transkrypcyjny IRF4 (interferon regulatory factor 4); **ISRE** – miejsce stymulowane przez IFN- γ (interferon stimulated response element); **JAK, TYK** – kinazy Janusa (Janus kinases); **LCR** – rejon kontrolujący *locus* (*locus* control region); **MAPK** – kinaza MAPK (mitogen-activated protein kinase); **PI3K** – kinaza PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase); **MHC** – główny układ zgodności tkankowej (major histocompatibility complex); **miRNA** – mikro RNA (micro RNA); **NFAT** – jądrowy czynnik aktywowanych komórek T (nuclear factor of activated T cells); **NF- κ B** – czynnik transkrypcyjny NF- κ B (nuclear factor κ B); **NK** – komórka NK (natural killer); **RBPJ** – białko RBPJ (recombination-signal-binding protein for immunoglobulin- κ J region); **RHS** – miejsce wrażliwe na działanie białka Rad50 (Rad50 hypersensitive site); **ROR α** – receptor jądrowy ROR α (retinoic-acid-receptor-related orphan receptor- α); **ROR γ t** – receptor jądrowy ROR γ t (retinoic-acid-receptor-related orphan receptor- γ t); **R-SMAD** – białko SMAD regulowane receptorem (receptor-regulated SMAD); **RUNX3** – czynnik transkrypcyjny RUNX3 (runt-related transcription factor); **SCF** – czynnik komórek macierzystych (stem cell factor); **SOCS3** – inhibitor SOCS3 (suppressor of cytokine signaling-3); **STAT** – białko pełniące rolę transduktora sygnału i aktywatora transkrypcji (signal transducer and activator of transcription); **T-bet** – czynnik transkrypcyjny T-bet (T-box transcription factor); **TCR** – receptor limfocytów T (T-cell receptor); **Tfh** – folikularny limfocyt T pomocniczy (T follicular helper cell); **TGF- β** – transformujący czynnik wzrostu β (transforming growth factor β); **Th** – pomocnicza komórka T (T-helper); **TNF** – czynnik martwicy nowotworu (tumor necrosis factor); **Treg** – regulatorowy limfocyt T (regulatory T cell).

ZRÓŻNICOWANIE LIMFOCYTÓW T CD4⁺ W UJĘCIU KLASYCZNYM I NOWOCZESNYM

Początkowy podział dojrzałych limfocytów T grasiczoza-
leżnych opierał się na ekspresji ko-receptorów CD4 i CD8.
W 1989 r. dwóch amerykańskich naukowców T. Mossman
i R. Coffman wykazało, że mysie limfocyty T CD4⁺, pod
wpływem odpowiednich cytokin, różnicują się do komórek

kierujących odpowiedź immunologiczną na drogę komór-
kową lub humoralną [24]. Komórki te nazwano limfocy-
tami pomocniczymi (**Th**, **T-helper**) – odpowiednio Th1
i Th2. Za kryterium podziału przyjęto rodzaj cytokiny wy-
dzielanej przez te komórki. Pierwszemu typowi limfocy-
tów pomocniczych, wytwarzającemu interferon gamma
(**IFN- γ**) przypisano odpowiedź na czynniki wewnątrzko-
mórkowe (wirusy, nowotwory). Typ drugi, wydzielający

interleukinę 4 (**IL-4**) miał być odpowiedzialny za reakcję na patogeny zewnątrzkomórkowe (bakterie, grzyby, pierwotniaki, pasożyty). W krótkim czasie przyjęto, że mysli wzorzec, w którym rodzaj wydzielanej cytokiny decydował o właściwościach komórki, może także odzwierciedlać procesy zachodzące w organizmie ludzkim.

W ciągu ostatnich kilkunastu lat okazało się, że „paradygmat Th1/Th2” (Th1/Th2 paradigm) nie odzwierciedla w pełni skomplikowanego systemu funkcjonującego w ludzkim organizmie [17]. Okazało się też, że oddziaływanie między poszczególnymi subpopulacjami komórek T CD4⁺ są znacznie bardziej skomplikowane niż początkowo zakładali Mossman i Coffman. Relacje te są zarówno antagonistyczne, jak i agonistyczne. Dalsza analiza sieci oddziaływań międzykomórkowych oraz różnicowania komórek i polaryzacji odpowiedzi indukowanej przez cytokiny, doprowadziły do wyodrębnienia kolejnych subpopulacji limfocytów T CD4⁺. Różnią się one wieloma cechami, w tym: wrażliwością na obecność cytokin w mikrośrodoisku, wewnątrzcytoplazmatycznymi białkami oddziaływającymi z komórkowym DNA, podatnością na modyfikacje epigenetyczne, poziomem pobudzenia prowadzącym do wydzielania cytokin lub ekspresją receptorów zasiedlania (homing receptors). Tak więc, pod wpływem zmian w mikrośrodoisku limfocyty CD4⁺ mogą zróżnicować się do subpopulacji, takich jak Th1, Th2, ale również – komórek regulatorowych (**Treg** i **Tr1**), komórek odpowiedzialnych za stany zapalne, alergiczne (**Th9**, **Th17**, **Th22**) lub foliularne limfocyty pomocnicze (T follicular helper cell, **Tfh**), a w specyficznych warunkach – ulegać konwersji funkcjonalnej (np. od Th1 do Th2 [35]).

Kluczową rolę w ukierunkowaniu rozwoju limfocytów T CD4⁺ pełnią aktywowane przez cytokiny czynniki transkrypcyjne, odpowiadające za ekspresję genów, charakterystycznych dla poszczególnych subpopulacji tych komórek. Jednak, niezależnie od rodzaju rozpatrywanej subpopulacji, komórki T CD4⁺ uczestniczą w poszczególnych etapach każdej reakcji odpornościowej – począwszy od odpowiedzi przeciwmikrobiologicznej, przeciwpasożytnej, przeciwnowotworowej, a skończywszy na chorobach autoimmunizacyjnych.

CZYNNIKI BIORĄCE UDZIAŁ W POLARYZACJI LIMFOCYTÓW CD4⁺

Cytokiny są głównymi czynnikami wpływającymi na polaryzację odpowiedzi limfocytów T. Wydzielane przez wiele komórek organizmu (zwłaszcza przez komórki prezentujące antygen, APC), uczestniczą w aktywacji limfocytów CD4⁺ w charakterze tzw. „trzeciego sygnału” [33]. Wspomagają bowiem proces stymulacji antygenowej limfocytów T odbywającej się w wyniku bezpośredniego kontaktu kompleksu składającego się z peptydu (antygeny) i cząsteczki głównego układu zgodności tkankowej (**peptyd-MHC**) oraz cząsteczek sygnałowych obecnych na APC z ich kontrpartnerami i receptorem antygeny na limfocytach T (**TCR**).

Działanie różnych cytokin umożliwia z jednej strony tworzenie odmiennego profilu polaryzacji limfocytów CD4⁺, z drugiej zaś pozwala na konwersję między poszczególnymi subpopulacjami już zróżnicowanych komórek. Szlaki regulujące przekształcenia tych limfocytów są wzajemnie

powiązane, a ich komponentami są poszczególne typy komórek układu odpornościowego.

W stymulacji komórkowej uruchamianej przez cytokiny pośredniczą swoiste receptory odpowiedzialne za przekazywanie sygnału do wnętrza pobudzonej komórki (tabela 1).

Receptory te klasyfikowane są najczęściej w oparciu o homologię ich domen zewnątrzkomórkowych oraz sposób przekazywania sygnałów wewnątrzkomórkowych. Receptory typu I i II indukują włączenie szlaków sygnałowych za pośrednictwem kinaz Janusa (Janus kinase, **JAK**) i czynników transkrypcyjnych – znanych jako transduktory sygnału i aktywatory transkrypcji (signal transducers and activator of transcription, **STAT**) – odpowiadających za bezpośredni związek między przyłączoną do receptora cytokiną a aktywnością transkrypcyjną docelowych genów.

Dziewicze limfocyty T oddziałują z aktywowanymi APC za pośrednictwem receptorów TCR rozpoznających antygen w kontekście MHC klasy II. W wyniku tej interakcji limfocyty T wytwarzają interleukinę 2 (**IL-2**). Kolejnym etapem tej aktywacji jest pojawienie się na limfocytach T receptorów interleukiny 2 (interleukin 2 receptor, **IL-2R**). Spoczynkowe, dziewicze limfocyty T wykazują ekspresję dwułańcuchowego IL-2Rβ_C o umiarkowanym powinowactwie do IL-2. Stymulacja antygenowa lub przyłączenie samej IL-2 prowadzi do ekspresji receptora o wysokim powinowactwie (IL-2Rαβ_C), składającego się z trzech łańcuchów. Należy podkreślić, że IL-2 wiążąc się z receptorami o różnym powinowactwie, może promować przeżycie, proliferację lub różnicowanie się różnych komórek limfoidalnych, w tym limfocytów CD4⁺. Na te ostatnie oddziałuje zarówno autokrynnie, jak i parakrynnie. Natomiast konstytutywna ekspresja receptorów IL-2 na komórkach T regulatorowych jest niezbędna do przeżycia tych komórek. Przyłączenie IL-2 do receptora IL-2Rαβ_C indukuje zależne od kinazy tyrozynowej JAK3 pobudzenie białka STAT5, które odgrywa istotną rolę w uruchomieniu wytwarzania interferonu γ (IFN-γ) przez rozwijające się komórki Th1. Kompleksowy receptor IL-2Rαβ_C pozwala komórkom na wykorzystanie również innego szlaku sygnałowego (via kinazy MAP i PI3K) [1,30].

Inną cytokiną uczestniczącą w aktywowaniu i różnicowaniu limfocytów T jest interleukina 12 (**IL-12**). Jest ona wytwarzana przez większość APC, w odpowiedzi na stymulację antygenami bakteryjnej ściany komórkowej. Jedną z funkcji tej cytokiny jest aktywacja komórek NK, limfocytów CD8⁺ oraz stymulacja limfocytów CD4⁺. Biologicznie aktywna IL-12 jest heterodimerem, jej receptor (**IL-12R**) składa się z dwóch łańcuchów. Podjednostka IL-12 p40 wiąże się do łańcucha IL-12Rβ1, a podjednostka p35 do łańcucha IL-12Rβ2. Jedyne receptory dwułańcuchowe wiążą cytokinę z wysokim powinowactwem, prowadząc do stymulacji szlaku sygnałowego, przy czym z łańcuchem β1 związana jest kinaza TYK2, z łańcuchem β2 – JAK2. Kinazy TYK2 i JAK2 aktywują białko STAT4 niezbędne do wywołania biologicznego efektu IL-12. Ekspresja łańcucha β2 IL-12R wzrasta również pod wpływem innych cytokin, głównie IFN-γ (którego wytwarzanie jest stymulowane przez IL-12). Współzależność między działaniem IL-12 i IFN-γ jest zatem jednym z przykładów dodatniego sprzężenia zwrotnego [1].

Tabela 1. Udział cytokin w różnicowaniu limfocytów CD4⁺

Cytokina	Typ receptora*	Szlak sygnałowy	Czynniki transkrypcyjne	Stymulowanie różnicowania komórek T CD4 ⁺	Hamowanie różnicowania komórek T CD4 ⁺
IL-2	I	fosforylacja STAT przez kinazę JAK1/JAK3	STAT5 a/b	Th2, iTreg, nTreg	Th1**, Th17, Th22
IL-12	I	fosforylacja STAT przez kinazy JAK2 i TYK2	STAT4	Th1, Tfh	Th2, iTreg
IL-4	I	fosforylacja STAT przez kinazy JAK1/JAK3	STAT6	Th2	Th1, iTreg
IL-21	I	fosforylacja STAT przez kinazy JAK1/JAK3	STAT1, STAT3	Th17, Tfh	iTreg
IL-6	I	fosforylacja STAT przez kinazy JAK	STAT3	Th2, Th9, Th17, Th22, Tr1, Tfh	iTreg
IL-27	I	fosforylacja STAT przez kinazy JAK1, JAK2, TYK2	STAT1, STAT3, STAT4, STAT5	Tr1	iTreg
IFN- γ	II	fosforylacja STAT przez kinazy JAK1, JAK2	STAT1	Th1	iTreg, Th17
TNF	III	związanie liganda przez AHR	AHR-ARNT	Th22, iTreg	–
TGF- β	VI	fosforylacja białek SMAD przez kinazy treoninowo-serynowe	R-SMAD-(Co-SMAD)	iTreg, Th17	Th1, Th2

* Podział receptorów cytokin wg [15]. ** Za pośrednictwem STAT5 aktywowującego inhibitor SOCS3, który hamuje indukcję STAT4 [36].

IFN- γ jest homodimerem wydzielanym przez komórki limfoidalne m.in. aktywowane komórki NK i limfocyty T. Dziewicze limfocyty CD4⁺ hodowane *in vitro* w obecności egzogennej IL-12 różnicują się do Th1. Odbywa się to za pośrednictwem czynnika STAT4, który współdziałając w tym procesie z czynnikiem T-bet, promuje ekspresję wielu genów komórek Th1, w tym genu *Ifn γ* [4].

Interferon γ działa za pośrednictwem receptora (interferon gamma receptor, **IFN- γ R**) składającego się z dwóch łańcuchów łączących się podczas stymulacji komórki. Związane z nimi kinazy JAK1 i JAK2 aktywują białko STAT1. Aktywacja tego białka jest także wspomagana przez IL-27. Działanie interferonu jest regulowane na zasadzie dodatniego sprzężenia zwrotnego, dzięki czemu sygnał różnicowania limfocyty T do Th1 jest wzmacniany w aktywowanej komórce. Jednak rozwój komórek Th1 nie musi zależeć jedynie od obecności IL-12. Więcej, nawet w przypadku jej braku do zróżnicowania komórek wymagana jest ekspresja cząsteczki Notch, za pośrednictwem której dochodzi do aktywacji białka RBPJ (recombination-signal-binding protein for immunoglobulin- κ J region, **RBPJ**) [27].

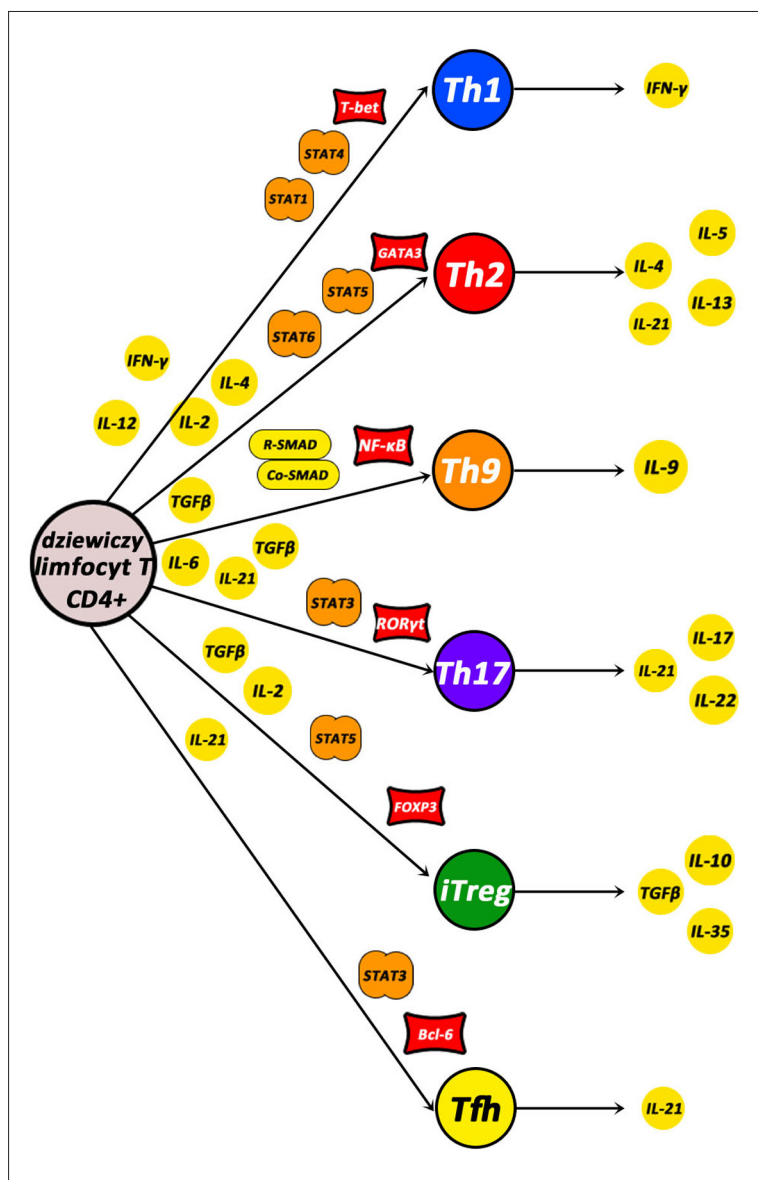
IL-4 jest wytwarzana w wyniku pobudzenia komórek tucznych oraz limfocytów Th2. W przypadku tych ostatnich, IL-4 pełni funkcję autokrynną, wpływając na różnicowanie dziewiczych komórek T CD4⁺ do Th2. W procesie tym istotną rolę odgrywa białko STAT6, indukowane za pośrednictwem receptora **IL-4R** (IL-4R/IL-2R γ_c), a jego aktywacja wzmacnia ekspresję czynnika transkrypcyjnego GATA3.

Różnicowanie Th2 może się odbywać niezależnie od białka STAT6. W procesie tym, podobnie jak w przypadku limfocytów Th1, może uczestniczyć cząsteczka Notch [4,27]. Działanie IL-4, tak jak IFN- γ , regulowane jest przez dodatnie sprzężenie zwrotne.

Na różnicowanie się limfocytów T CD4⁺ mają wielki wpływ cytokiny należące do różnych rodzin oddziałujących poprzez receptory o odmiennym sposobie aktywacji wewnątrzcytoplazmatycznych kinaz. Do takich cytokin należy **TGF- β** (transforming growth factor) wiążący się z heterotetramerycznym kompleksem receptorów utworzonym przez pary membranowych kinaz serynowo-treoninowych (wchodzących w skład receptorów typu VI) (tabela 1) [21].

IL-4 wraz z TGF- β odgrywają główną rolę w dojrzewaniu subpopulacji komórek CD4⁺ – limfocytów Th9. Działanie IL-4 polega głównie na blokowaniu hamującego działania IFN- γ , promującego różnicowanie komórki do Th1. Na tym etapie przekształcanie dziewiczego limfocyty CD4⁺ przypomina proces powstawania komórek Th2. Jednakże działanie TGF- β przy współdziałaniu IL-4 zmienia szlak różnicowania komórki w kierunku Th9 – limfocytów wydzielających IL-9 i IL-10. TGF- β pełni zatem funkcję inhibitora szlaku Th2 (rycina 1). Mechanizm tej inhibicji jest przedmiotem badań [40].

Oprócz TGF- β , na różnicowanie komórek T CD4⁺ w limfocyty stanu zapalnego Th17 mają wpływ cytokiny, takie jak IL-6/IL-21 i IL-23. Pierwsza z nich jest wydzielana przez APC (głównie monocyty i makrofagi), działa



Ryc. 1. Cytokiny biorące udział w polaryzacji limfocytów CD4⁺ (wg [43] zmodyfikowane). Czynniki polaryzacyjne pobudzają komórki T CD4⁺ do różnicowania się w kierunku limfocytów, zdolnych do wytwarzania cytokin. IL-12 i IFN-γ stymulują powstawanie limfocytów Th1, a IL-2 i IL-4 – Th2. Gdy w mikrośrodowisku komórki obecny jest TGF-β może dojść do różnicowania się limfocytów Th9, Th17 lub iTreg. Komórki Th17 wymagają również obecności IL-6 i IL-21, a iTreg – IL-2. Pobudzenie przez IL-21 dziewiczych limfocytów, skutkuje ich rozwojem w kierunku komórek Tfh

za pośrednictwem dwułańcuchowego receptora **IL-6R** (IL-6Rα/gp130), aktywującego białko STAT3. Kiedy proces przebiega w obecności TGF-β (wydzielanego np. przez makrofagi i komórki nabłonkowe), następuje stymulacja ekspresji receptora jądrowego **RORγt** (retinoic-acid-receptor-related orphan receptor-γt). Pełni on główną rolę w regulowanym przez STAT3 przenoszeniu sygnału, prowadzącym do generowania Th17. Kolejnym stymulatorem różnicowania limfocytów Th17 jest wydzielana przez komórki dendrytyczne, IL-23. Pobudza ona indukcję STAT3 w późniejszym etapie różnicowania limfocytu. Tak więc komórki Th17, aktywowane przez TGF-β i IL-6, stają się zdolne do wytwarzania IL-17, a także IL-21. Z kolei IL-21 wraz z IL-23 stymulują Th17 do wydzielania IL-22 [46]. IL-2 okazała się natomiast czynnikiem hamującym różnicowanie się limfocytów Th17 [27].

Czynnik martwicy nowotworów (tumor necrosis factor, **TNF**) jest kolejną cytokiną kontrolującą różnicowanie się limfocytów CD4⁺. Należy on do wielkiej rodziny białek uczestniczących zarówno w aktywacji komórek

limfoidalnych (np. ligand CD40), jak i indukujących apoptozę (ligand FAS). TNF działa za pośrednictwem dwóch receptorów: TNFR1 – zawierającego domenę śmierci oraz TNFR2 – związanego z białkami adaptorowymi **TRAF** (TNF receptor-associated factors). W przypadku pobudzenia dziewiczego limfocytu CD4⁺ przez cytokiny prozapalne IL-6 oraz TNF (wydzielane przez monocyty i makrofagi) dochodzi do ekspresji receptora wodorowęglanu arylu (aryl hydrocarbon receptor, **AHR**). Białko to jest czynnikiem transkrypcyjnym, aktywowanym przez związanie dodatkowego liganda, takiego jak jądrowy translokator receptora wodorowęglanu arylu (aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator, **ARNT**). Tak aktywowana komórka różnicuje się do limfocytu Th22, niezależnie od receptora RORγt [35].

Interleukina 21 (należąca do rodziny IL-2), jest cytokiną preferencyjnie wytwarzaną przez efektorowe komórki Th2 (również Th17), aby hamować rozwój Th1 wytwarzających IFN-γ i w konsekwencji promować odpowiedź typu Th2. W ramach pozytywnego sprzężenia zwrotnego

oddziałuje na dziewicze limfocyty T CD4⁺ (zarówno ludzkie, jak i mysie). Natomiast pod wpływem IL-12 jest wydzielana przez komórki T CD4⁺ pamięci. Działanie IL-21, wspomaganie przez IL-6, prowadzi do ekspresji unikalnego dla folikularnych limfocytów T (Tfh) czynnika transkrypcyjnego Bcl-6 [35]. W jego obecności dochodzi do różnicowania subpopulacji limfocytów CD4⁺ Tfh odpowiedzialnych za powstawanie ośrodków rozmnażania limfocytów B w grudekch limfatycznych [34]. W procesie tym uczestniczy również IL-12 odpowiedzialna za stymulację białka STAT4 [3]. Tak więc pośrednio, poprzez Tfh, IL-12 reguluje odpowiedź humoralną.

Niezwykle ważną subpopulacją komórek CD4⁺ są limfocyty regulatorowe. Jeszcze w grasicy, część komórek T CD4⁺CD8⁺, które przeszły pozytywnie selekcję β oraz dokonały produktywniej rearanzacji receptora TCR $\alpha\beta$, wykazuje ponownie ekspresję receptora CD25 i są zdolne do rozpoznawania własnych antygenów [22]. Limfocyty te ze względu na swoją funkcję i pochodzenie, zostały nazwane naturalnymi komórkami regulatorowymi nTreg. Do ich aktywności wystarczy obecność IL-2, indukującej ekspresję czynnika transkrypcyjnego **FOXP3** (forkhead box P3).

Limfocyty, które nabyły funkcję regulatorową w tkankach obwodowych, nazywane są indukowanymi komórkami regulatorowymi iTreg. Różnicowanie tej subpopulacji wymaga obecności w środowisku TGF- β . Cytokina ta, pod nieobecność IL-6, znosi działanie białek STAT3 oraz ROR γ t, które hamują ekspresję FOXP3. W wyniku tego procesu, komórki T o fenotypie CD4⁺CD25⁻ stają się limfocytami FOXP3⁺CD25⁺. Jako indukowane limfocyty regulatorowe (iTreg), nabywają zdolność do wydzielania TGF- β i tworzą grupę komórek Th3 [10]. Odmienną grupę stanowią komórki Tr1 o silnych właściwościach supresorowych. Cechą wyróżniającą tę subpopulację limfocytów jest brak ekspresji czynnika FOXP3. Dlatego też przynależność komórek Tr1 do limfocytów T regulatorowych jest wciąż kontrowersyjna i zależy od przyjętych kryteriów klasyfikacyjnych [32,48]. Komórki te charakteryzują się zdolnością do wydzielania IL-10 i różnicują się z dziewiczych limfocytów CD4⁺ poddanych działaniu interleukiny 27. IL-27 indukuje ekspresję czynnika transkrypcyjnego c-Maf i kostymulującego receptora **ICOS** (inducible co-stimulator) [32]. Podobny skutek wywołuje polaryzacja komórek w środowisku IL-10, ale efekt ten jest krótkotrwały, ponieważ interleukina ta jest cytokiną przeciwzapalną. Supresorowe działanie IL-10 na różnicowanie komórek T CD4⁺ polega na zmniejszaniu liczby komórek T, ograniczeniu migracji makrofagów, hamowaniu aktywacji czynnika transkrypcyjnego **NF- κ B** (nuclear factor κ B) oraz obniżeniu poziomu wydzielania TNF i IL-12 przez monocyty. W niektórych przypadkach, takich jak odpowiedź immunologiczna na przeszczep lub rozwijający się nowotwór, IL-10 działa prozapalnie, aktywując komórki NK [23].

CZYNNIKI ODDZIAŁUJĄCE Z DNA

W poprzednim rozdziale przedstawiono zależność między mikrośrodowiskiem komórek T CD4⁺, a aktywacją odpowiednich czynników transkrypcyjnych. Za różnicowanie limfocytów T odpowiedzialnych jest wiele białek oddziałujących z DNA. Najważniejsze z nich to **T-bet** (T-box transcription factor), GATA3, ROR γ t, FOXP3, AHR, c-Maf

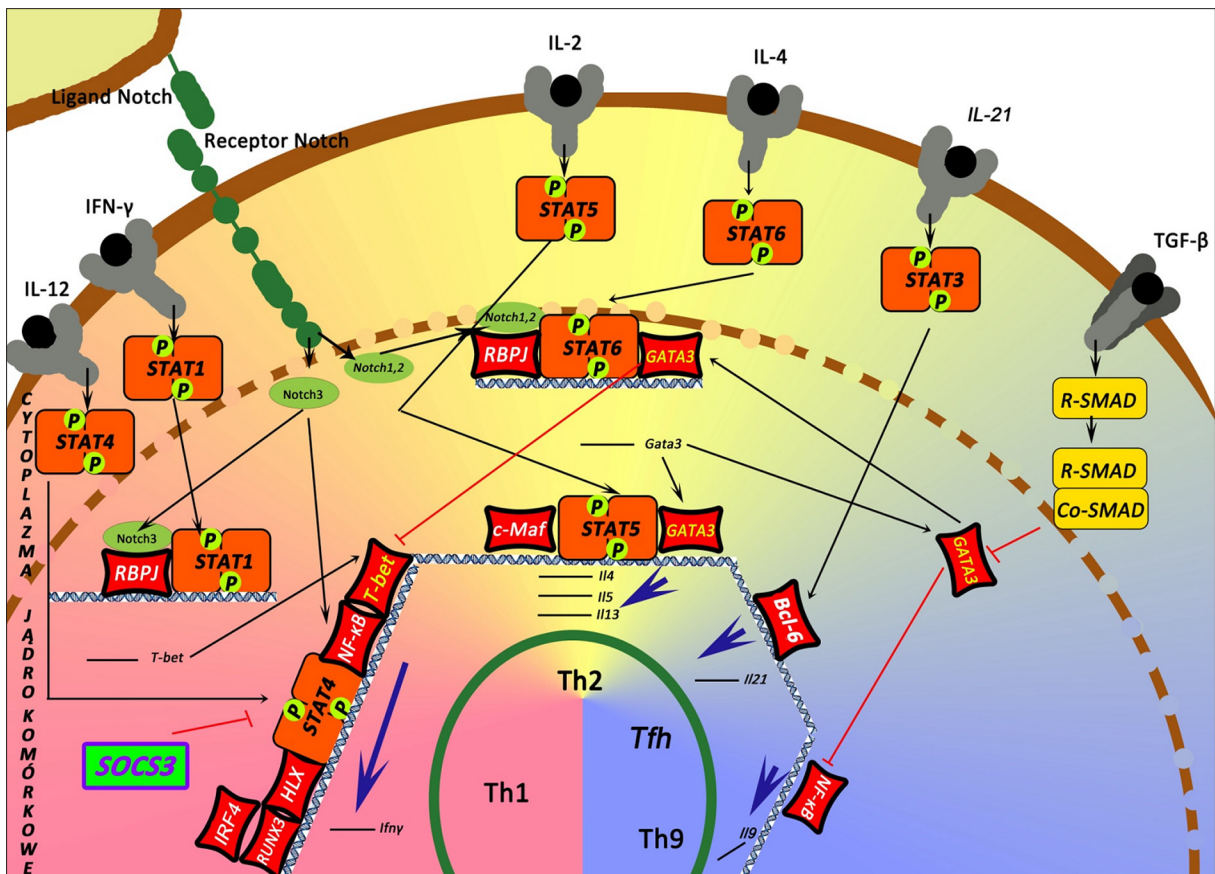
i NF- κ B. Geny kodujące te czynniki ulegają ekspresji dzięki białkom STAT. Wraz z tymi białkami wpływają na transkrypcję genów cytokin limfocytów T.

Interleukina 2 powoduje związanie kinaz do wewnątrzcytoplazmatycznej części receptora IL-2R. Kinaza JAK3, przyłączona do łańcucha IL-2R γ , fosforyluje białko STAT5. Natomiast związanie JAK1 do łańcucha IL-2R β indukuje szlak sygnałowy, w którym pośredniczą kinazy **MAPK** (mitogen-activated protein kinase) i **PI3K** (phosphatidylinositol 3-kinase) [11]. Modyfikacja kowalencyjna powoduje dimeryzację białka STAT5 i jego translokację do jądra komórkowego. Tam STAT5 wiąże się z DNA w miejscu odpowiedzi na IFN- γ – **GAS** (IFN- γ -activated site), zawierającym palindromowe sekwencje GAA [12]. Związanie STAT5 z promotorem genu *Il2* powoduje jego aktywację, ale nie jest wystarczające do znacznego zwiększenia wytwarzania interleukiny 2 [11]. Czynniki STAT5 może również promować syntezę białka regulatorowego **SOCS3** (suppressor of cytokine signaling-3) [36], które blokuje aktywność kinazy JAK2 [7]. W efekcie nie dochodzi do fosforylacji STAT4 i poziomu syntezy cytokin Th1 zostaje obniżony.

Podobnie przebiega proces aktywacji białka STAT1, aktywowanego przez IFN- γ lub IL-27. Ufosforylowane białko dimeryzuje i dostaje się do jądra komórkowego [6]. Tam może się wiązać z dwiema różnymi sekwencjami: z miejscem GAS, zwiększając ekspresję genu *Ifn γ* oraz z miejscem **ISRE** (interferon stimulated response element) [26]. STAT1 jest niezbędny do indukcji ekspresji T-bet [2] – kluczowego komponentu różnicowania komórek Th1. Pośrednio STAT1 wpływa więc negatywnie na indukcję FOXP3, blokowanego przez T-bet. Działa również hamująco na różnicowanie limfocytów Th17, promując syntezę białka regulatorowego SOCS3 [36]. Supresor uniemożliwia aktywację STAT3 – białka stymulującego ekspresję ROR γ t. Jednocześnie STAT1 współdziała z białkiem STAT4 w promowaniu różnicowania komórek Th1.

W ekspresji T-bet bierze udział także aktywator transkrypcji RBPJ. Jak już wspomniano, RBPJ jest częścią szlaku Notch, rozpoczynającego się od związania przez transbłonowy receptor Notch odpowiedniego liganda. Białko RBPJ w postaci nieaktywowanej jest związane z DNA jako represor genu, aktywowane przez Notch3 staje się aktywatorem transkrypcji i w ten sposób wspomaga ekspresję zarówno T-bet, jak i *Ifn γ* [27,36].

Ekspresja w komórce STAT5, STAT1 i T-bet umożliwia wytwarzanie IFN- γ na niskim poziomie, koniecznym do dalszej stymulacji T-bet za pośrednictwem STAT1. Dopiero aktywacja STAT4 przez IL-12 pozwala na wytwarzanie cytokin charakterystycznych dla limfocytów Th1. STAT4 jest fosforylowany przez kinazy JAK2 i TYK2, a następnie dimeryzuje i dyfunduje do wnętrza jądra komórkowego. Tam wiąże się do promotora genu *Ifn γ* , gdzie razem z T-bet indukuje czynniki transkrypcyjne **HLX** (H2.0-like homeobox), **IRF-4** (interferon regulatory factor 4) i **RUNX3** (runt-related transcription factor). HLX, IRF4 i RUNX3 aktywują gen *Ifn γ* . T-bet do pełnej inicjacji transkrypcji genu *Ifn γ* , wymaga jeszcze uniwersalnego czynnika transkrypcyjnego NF- κ B. Rekrutacja wszystkich sześciu białek – HLX, IRF4, RUNX3, STAT4, NF- κ B i T-bet w obecności



Ryc. 2. Schemat szlaków różnicowania komórek T CD4⁺ Th1, Th2, Tfh i Th9 (wg [27,29,41,46]). IFN- γ aktywuje białko STAT1, a IL-12 – STAT4, co umożliwi im wnikięcie do jądra. Dzięki indukcji szlaku Notch pobudzone jest także białko RBPJ. STAT1 wraz z RBPJ i Notch aktywują ekspresję T-bet. T-bet razem z czynnikami transkrypcyjnymi RUNX3, HLX, NF- κ B oraz białkami STAT4 i Notch3 indukują ekspresję genu *Ifn γ* – powstaje limfocyt Th1. Różnicowanie komórek Th2 jest z kolei pobudzone przez IL-2 i IL-4, które aktywują białka odpowiednio STAT5 i STAT6. STAT6 wraz z indukowanym dzięki szlakowi Notch, białku RBPJ i konstytutywnie wytwarzanemu czynnikowi transkrypcyjnemu GATA3, powoduje ekspresję genu *Gata3*. Związanie do DNA GATA3, STAT5 i czynnika transkrypcyjnego c-Maf aktywuje geny *Il4*, *Il5* i *Il13*. Obecność IL-4 sprzyja hamowaniu szlaku różnicowania Th1, a TGF- β pozwala na blokadę wytwarzania GATA3 wskutek aktywacji szlaku sygnałowego SMAD. Dzięki związaniu NF- κ B z promotorem genu *Il9*, dochodzi do wytwarzania IL-9 i powstaje limfocyt Th9. Za różnicowanie limfocytów Tfh odpowiadają IL-21 i czynnik transkrypcyjny Bcl-6

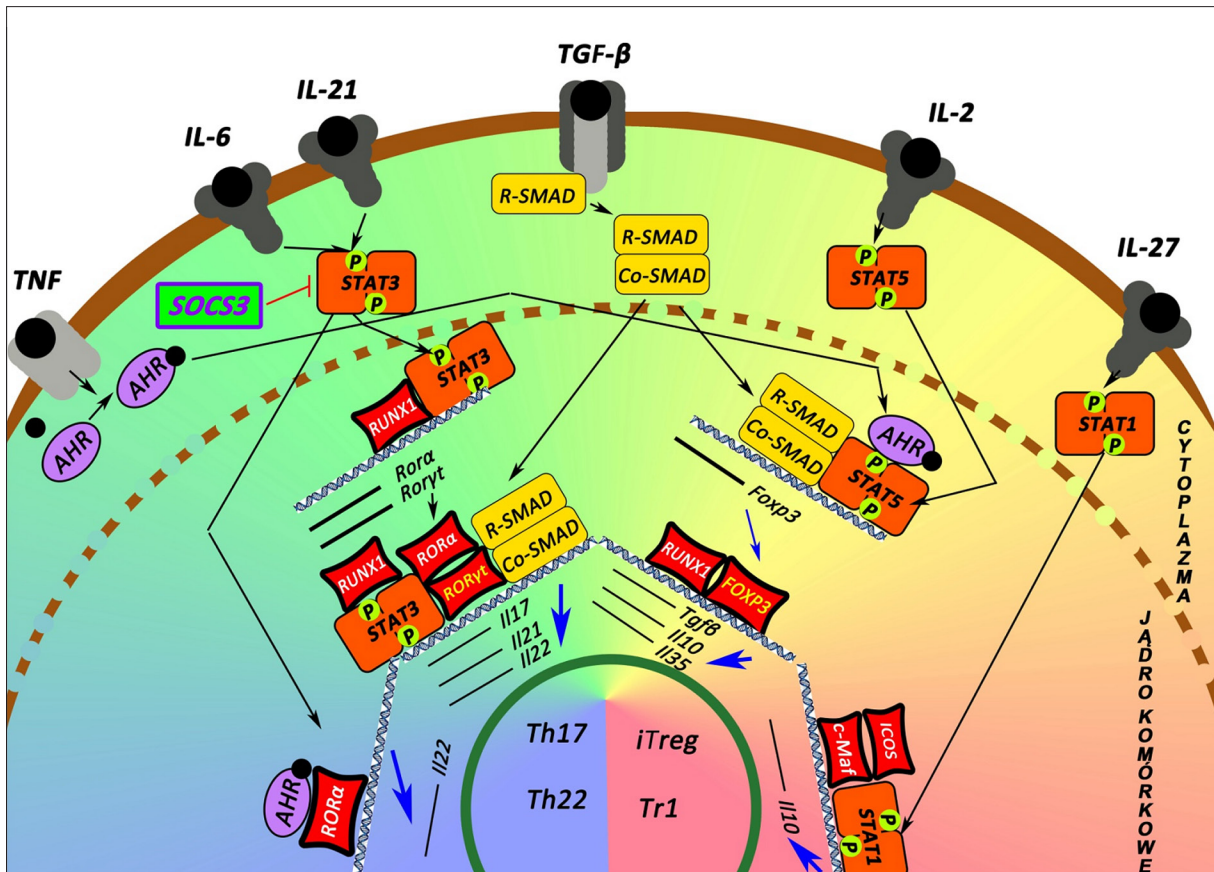
komponentów szlaku Notch3 pozwala na utworzenie pełnego kompleksu inicjującego transkrypcję *Ifn γ* i umożliwia wytwarzanie interferonu gamma (ryc. 2). Na tym etapie proces różnicowania komórek T CD4⁺ Th1 można uznać za zakończony.

T-bet promuje różnicowanie komórki w kierunku Th1 nie tylko przez indukcję ekspresji IFN- γ , ale także przez blokadę innych szlaków różnicowania komórek T CD4⁺. Wiążąc się wraz z RUNX3 do genu *Il4*, hamuje różnicowanie komórek Th2, blokując dołączenie GATA3 – kluczowego czynnika transkrypcyjnego tej grupy limfocytów CD4⁺ [46]. T-bet hamuje także różnicowanie limfocytów iTreg przez blokowanie indukcji FOXP3. Prawdopodobną przyczyną tej interakcji jest nakładanie się miejsc wiązania obu czynników transkrypcyjnych na DNA [44].

Pod wpływem IL-4 dochodzi do aktywacji czynnika STAT6. Białko to jest fosforylowane przez kinazy JAK1 i JAK3, a następnie tworzy dimer i przemieszcza się do jądra komórkowego, gdzie wiąże się wraz z aktywowanym RBPJ i niewielkimi ilościami GATA3 (obecnymi stale w limfocycie

T CD4⁺) do promotora genu *Gata3*, tworząc kompleks inicjujący transkrypcję [46]. Pod nieobecność STAT6 stopień ekspresji genu jest niewystarczający, by komórka mogła różnicować się do limfocytu Th2. STAT6 pełni istotną rolę w modyfikacjach epigenetycznych, umożliwiając transkrypcję genów *Il4* i *Il13* i hamując ekspresję *Ifn γ* . Białko to indukuje również czynnik transkrypcyjny c-Maf, który aktywuje *Il4* oraz blokuje różnicowanie komórki do limfocytu Th1, przez zahamowanie indukcyjnego efektu IL-12 (ryc. 2). STAT6 wpływa na różnicowanie komórek regulatorowych w dwojaki sposób. W obecności IL-4 z jednej strony zwiększa ekspresję FOXP3 w komórkach nTreg. Z drugiej strony, hamuje rozwój iTreg zależnych od TGF- β . Zjawisko to jest spowodowane m.in. wiązaniem się tego czynnika transkrypcyjnego do sekwencji wyciszającej gen *Foxp3*. Ponadto aktywacja STAT6 działa hamująco na różnicowanie komórek Th17, a efekt ten przypisuje się działaniu białka c-Maf [36].

W przeciwieństwie do IL-4, która wzmacnia ekspresję GATA3, IL-12 hamuje całkowicie syntezę tego białka. Działanie GATA3 w promowaniu różnicowania komórek



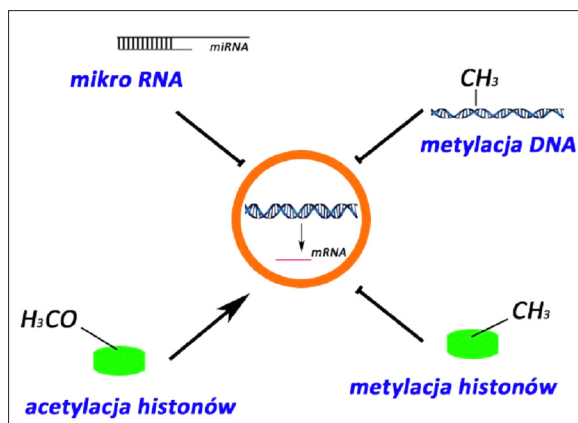
Ryc. 3. Schemat szlaków różnicowania komórek T CD4⁺ Th17, Th22, iTreg i Tr1 (wg [28,29,41,46]). IL-6 (a w późniejszym etapie różnicowania także IL-21) aktywuje białko STAT3, które wraz z czynnikiem transkrypcyjnym RUNX1 indukuje ekspresję genów *Roryt* i *Rora*. Dzięki aktywacji szlaku SMAD przez TGF-β oraz związaniu do DNA RORγt, RORα, RUNX1 i STAT3, następuje indukcja genów *Il17*, *Il21* i *Il22* – powstaje komórka Th17. Gdy w środowisku komórki występuje TNF, dochodzi do aktywacji AHR. AHR, razem z aktywowanym przez IL-6 białkiem STAT3 i czynnikiem transkrypcyjnym RORα, powodują ekspresję *Il22* w limfocytach Th22. Współdziałanie IL-2 aktywującej STAT5, TGF-β indukującego SMAD oraz obecność AHR, powodują wytwarzanie czynnika transkrypcyjnego FOXP3 w limfocytach iTreg. FOXP3 i RUNX1 aktywują ekspresję *Tgfb*, *Il10* i *Il35*. W obecności IL-27 dochodzi do aktywacji STAT1, który wraz z czynnikami transkrypcyjnymi ICOS i c-Maf powoduje różnicowanie dziewięcioletniego limfocytu CD4⁺ do komórki Tr1 i wytwarzanie IL-10

Th2, sprowadza się do aktywacji białka c-Maf oraz zahamowania pozostałych szlaków rozwoju limfocytów CD4⁺. Różnicowanie komórek Th1 jest hamowane przez zatrzymanie ekspresji receptora IL-12R [29]. Dlatego też w środowisku wykazującym niedobór IL-12, możliwa jest konwersja komórek Th1 do Th2 – do przełączenia szlaku rozwojowego limfocytów wystarczają bowiem śladowe ilości czynnika GATA3. Białko to może także modelować chromatynę *locus Ifnγ*, uniemożliwiając jego transkrypcję [46]. Hamujące działanie GATA3 na czynnik transkrypcyjny komórek regulatorowych FOXP3 ma związek, podobnie jak w przypadku T-bet, z nakładaniem się miejsc wiązania białek z DNA [44]. Gdy dziewięcioletnia komórka T CD4⁺ znajdzie się w obecności IL-4 oraz TGF-β, czynnik transkrypcyjny GATA3 jest hamowany i nie dochodzi do ekspresji genu *Gata3*. Nie dochodzi również do wytwarzania cytokin charakterystycznych dla limfocytów Th2 – IL-4, IL-5 i IL-13, natomiast ulega transkrypcji gen *Il9* [5]. Komórki Th9 nie wykazują ekspresji żadnego swoistego dla tej grupy czynnika transkrypcyjnego. Region promotorowy *Il9* może wiązać uniwersalne białko NF-κB, wystarczające do inicjacji transkrypcji genu [40].

Związanie IL-6 przez receptor transbłonowy **IL-6R** prowadzi do fosforylacji białka STAT3 przez kinazy JAK1

i JAK2. Następnie białko dimeryzuje i dostaje się do jądra komórkowego, gdzie wraz z czynnikiem transkrypcyjnym RUNX1 indukuje transkrypcję genów *Roryt* i *Rora*. Zarówno STAT3, jak i RORγt – kluczowe białka w rozwoju komórek Th17 – działają hamująco na FOXP3 [36]. STAT3 także tworzy, razem z RORγt, RORα i RUNX1, kompleks inicjujący transkrypcję genów *Il17* i *Il21*. Wydzielana przez aktywowany limfocyt CD4⁺ IL-21 razem z uwalnianą przez komórki dendrytyczne IL-23, również stymulują fosforylację białka STAT3, promując różnicowanie komórki do Th17 (ryc. 3) [46].

Białko RORγt jest wytwarzane także w odpowiedzi na działania TGF-β. Cytokina ta indukuje fosforylację białka regulowanego receptorem **R-SMAD** (receptor-regulated SMAD). Ta zmiana kowalencyjna powoduje oligomeryzację R-SMAD z białkami **Co-SMAD** (co-mediator SMAD) [25]. Oligomery SMAD są czynnikami transkrypcyjnymi, które mogą m.in. wspomagać wytwarzanie białka RORγt. Ten szlak sygnałowy ma duże znaczenie w początkowym etapie różnicowania komórek Th17. Później aktywacja STAT3 stymulowana przez IL-21 i IL-23 jest wystarczająca do ekspresji genu *Roryt* oraz *Il17*, *Il21* i *Il22*.



Ryc. 4. Wpływ modyfikacji epigenetycznych na transkrypcję genów (wg [34,41,46]). Do najważniejszych niedziedzicznych zmian w obrębie materiału genetycznego należy metylacja DNA, działanie interferencyjnego mikroRNA oraz kowalencyjne modyfikacje histonów. Hybrydyzacja miRNA z transkryptem genów, metylacja DNA oraz metylacja histonów to przekształcenia represywne – wyciszające ekspresję genów. Natomiast acetylcja białek histonowych pobudzająca transkrypcję jest modyfikacją permissywną

Gdy w środowisku dziewiczej komórki T CD4⁺, występują łącznie prozapalne cytokiny IL-6 i TNF, dochodzi do aktywacji receptora AHR. AHR jest czynnikiem transkrypcyjnym, który może wiązać wiele różnych ligandów. Obecność AHR wpływa swoiście na ekspresję cytokin charakterystycznych dla Th17, promując transkrypcję *Il22* kosztem *Il17*. Wzmoczone wytwarzanie tej cytokiny może zachodzić zarówno w obecności ROR γ t, jak i ROR α . AHR pełni więc główną rolę w różnicowaniu się limfocytów Th22 [49].

Podczas powstawania Tfh, za pośrednictwem STAT3, dochodzi do aktywacji białek Bcl-6, ICOS i PD-1 [50]. Bcl-6 jest represorem transkrypcji, hamującym indukcję komórek Th1, Th2 i Th17 i promującym różnicowanie w kierunku komórek Tfh [16]. Dodatkowo, wraz ze STAT4, prowadzi do ekspresji genu *Il21*. Białka ICOS i PD-1 pełnią ważną rolę w oddziaływaniu Tfh-limfocyt B [50]. Na powierzchni dojrzalej komórki Tfh dochodzi do ekspresji receptora chemokinowego CXCR5, który decyduje o migracji limfocytów do grudek limfatycznych.

Cytokiny niezbędne do różnicowania komórek iTreg zapewniają obecność w jądrze komórkowym aktywowanego białka STAT5 i oligomeru Co-SMAD. STAT5 razem z jądrowym czynnikiem aktywowanych komórek T (nuclear factor of activated T cells, NFAT), wiąże się do promotora genu *Foxp3* inicjując jego transkrypcję [39]. Ekspresja tego genu jest stymulowana także przez AHR, po jego związaniu z ARNT. STAT5 wzmacnia ekspresję FOXP3 wiążąc się do rejonu wzmacniającego transkrypcję tego genu. Podobnie działa białko SMAD, które przyłącza się wraz z NFAT do innej sekwencji wzmacniającej. Tak więc, aktywacja STAT5 jest krytycznym czynnikiem w indukcji i utrzymaniu ekspresji FOXP3 zarówno w komórkach T efektorowych, jak i regulatorowych.

Czynnik FOXP3 z jednej strony promuje rozwój komórek regulatorowych, gdy razem z RUNX1 stymuluje ekspresję genów *TGF- β* , *Il10* i *Il35*. Z drugiej strony blokuje

pozostałe szlaki różnicowania komórki. Pod nieobecność IL-6, FOXP3 hamuje ROR γ t przez bezpośrednie związanie się do tego białka w jego miejscu wiązania DNA, co uniemożliwia kontakt z promotorem genu *Il17* [53]. Obecność TGF- β w środowisku może zatem promować zarówno różnicowanie komórek Treg, jak i Th17. Zatrzymuje także różnicowanie komórek Th1 i Th2 (w początkowym stadium różnicowania), blokując wiązanie czynników transkrypcyjnych do DNA. FOXP3 podlega autoregulacji, ponieważ może wiązać się z promotorem genu *Il2*, nie dopuszczając do jego transkrypcji, co hamuje aktywację STAT5 [53].

Szczególną rolę w różnicowaniu dziewiczych komórek T CD4⁺ odgrywa IL-27. W wyniku jej działania ulega aktywacji STAT1. Dodatkowo, obecność czynników transkrypcyjnych c-Maf i ICOS, tworzących kompleks inicjujący transkrypcję, umożliwia ekspresję genu *Il10*. Tak różnicują się, niezależnie od FOXP3, komórki regulatorowe Tr1 [32].

ZMIANY EPIGENETYCZNE

Dzięki swoistej budowie chromosomów i nawinięciu DNA na białka zwane histonami, ekspresja genów może być dodatkowo regulowana przez komórkę. Chromatyna podlega w jądrze komórkowym różnym modyfikacjom, które nie zawsze są zachowane przez komórki potomne [31]. Te epigenetyczne zmiany mogą permissywnie wpływać na ekspresję genów, tj. wzmacniać ją poprzez acetylację i demetylację histonów. Możliwy jest też wpływ represywny, związany z metylacją DNA i histonów oraz wiązaniem się interferencyjnego mikroRNA (*microRNA*, **miRNA**) (ryc. 4). W tym rozdziale zostanie omówiony wpływ kowalencyjnych modyfikacji histonów oraz metylacji DNA na dostępność informacji genetycznej w *loci* genów cytokin w komórkach T CD4⁺.

Opisane w poprzednim rozdziale białka oddziałujące z DNA są niezbędne do zainicjowania transkrypcji genów cytokin. Jednakże, aby doszło do pełnego odczytu informacji genetycznej, *loci* genów muszą zostać odpowiednio udostępnione aparatowi transkrypcyjnemu. Realizacja tego celu jest możliwa przez zmianę stanu epigenetycznego chromosomów. *Loci* aktywne i dostępne charakteryzują się niskim stopniem metylacji DNA, acetylacją odpowiednich reszt lizynowych histonów H2, H3 i H4, mono-, di- i trimetylacją lizyny 4 histonu H3 oraz remodelowaniem chromatyny prowadzącym do powstania pętli DNA [9]. Sekwencje wyciszane mają wysoki stopień metylacji DNA i di- lub trimetylowaną lizynę 27 albo 9 w histonie H3 [42]. Geny, które pozostają nieaktywne, ale w każdej chwili gotowe do ekspresji, są bivalentne – mają cechy zarówno permissywne, jak i represywne [46].

Najlepiej poznanym i opisanym przykładem wpływu modyfikacji epigenetycznych na różnicowanie komórek T CD4⁺ jest proces powstawania limfocytów Th2 u myszy. *Locus* Th2 zawiera geny *Il4*, *Il5*, *Il13* oraz konstytutywnie ulegający ekspresji gen *Rad50*, w obrębie którego znajduje się rejon kontrolujący *locus* (*locus control region*, LCR) [38]. Ponadto miejsce to jest oflankowane genami *Irf1* i *Kif3A* [45]. Liniowa kolejność ułożenia tych komponentów jest konserwatywna u wszystkich ssaków [38]. Podlegają one regulacji przez własne promotory oraz elementy regulatorowe położone w różnych *locus*. Położenie

tych elementów wyznacza się metodą footprintingu z użyciem DNazy I (DNase hypersensitive sites, **HS**) i białka Rad50 (Rad50 hypersensitive sites, **RHS**) [18].

W dziewiczej komórce T CD4⁺ obserwuje się dwa miejsca HS (Hss3 i HSIV) i cztery miejsca RHS (RHS2, RHS3, RHS6). RHS6 i Hss3 znajdują się w obrębie sekwencji podlegających represywnej, RHS2 i RHS3 permissywnej, a HSIV biwalentnej modyfikacji histonów. Dodatkowo RHS2 i Hss3 znajdują się w miejscu wiązania czynnika wiążącego CCCTC (CCCTC-bindingfactor, **CTFC**) – białka pośredniczącego w powstawaniu pętli w chromatynie, mających na celu zbliżenie ze sobą komponentów *locus* i jego izolację od innych genów i elementów regulatorowych [38]. Promotory genów cytokin, LCR oraz sekwencje niekodujące CNS1 i CNS2 (non-coding sequences) są metylowane w 90% [46]. Niższym stopniem metylacji charakteryzuje się promotor *Il4* (60%), co umożliwia wytwarzanie IL-4 na niskim poziomie [46]. Biwalentny stan epigenetyczny *locus* pozwala utrzymać ekspresję genów w równowadze i umożliwia wiązanie się do DNA białek indukujących transkrypcję genów cytokin typowych dla komórki Th2 lub blokadę tej ekspresji, pozwalającą na różnicowanie pozostałych typów komórek T CD4⁺.

Pobudzenie limfocytu CD4⁺ z udziałem IL-2 wymaga aktywacji białka STAT5, w której biorą udział kinazy JAK1 i JAK3. W przypadku innych cytokin (np. IL-5) to kinaza JAK2 aktywuje czynnik STAT5, powodujący remodelowanie chromatyny w obrębie *locus* genów cytokin Th2. Indukcja ta może przebiegać również bez udziału białka STAT5, gdy JAK2 wnika do jądra komórkowego i fosforyluje tyrozinę histonu H3 (H3Y41) [13]. Proces ten może prowadzić do aktywacji białaczkowego genu. W Th2 aktywowane zostaje białko wiążące sekwencje bogate w AT (special AT-rich sequence binding protein 1, **SATB1**) [38], które indukuje wypełnianie się chromatyny, zbliżając do siebie elementy regulatorowe *Il4*, *Il5* i *Il13*. Dzięki pasywnej (replikacyjnej) demetylacji dochodzi do utworzenia nowych HS w obrębie promotorów *Il4* (HSI, HSII, HSIII) i *Il13* (HS1, HS2, HS3) oraz sekwencji niekodujących CNS1 (Hss2, Hss1) i CNS2 (HSV α , HSV) [45]. Nowe RHS powstają w obrębie LCR 3 (RHS4, RHS5, RHS7) i promotora *Il5* (RHS1) poprzez gwałtowną, aktywną demetylację. Wszystkie miejsca regulatorowe, oprócz HSIV, ulegają permissywnej modyfikacji histonowej. Powyższe zmiany pozwalają na związanie GATA3 do promotorów *Il5* i *Il13*, RHS7 i HSV [19], STAT6 do RHS6, RHS7, HSV i promotorów *Il4* i *Il13* oraz c-Maf do promotora *Il4*. GATA3 rekrutuje do *locus* genów cytokin Th2 acetylotransferazy i metylotransferazy – enzymy modyfikujące chromatynę [37]. W przypadku braku aktywacji STAT6, indukowany jest szlak Notch, którego białko – RBPJ, wiąże się do CNS2, gdzie w wyniku połączenia z fragmentem Notch, ulega konwersji do koaktywatora *Il4* [46]. GATA3, STAT6 i RBPJ są więc nie tylko ważnymi czynnikami transkrypcyjnymi szlaku różnicowania komórek Th2, ale też istotnymi do utrzymania tego procesu białkami remodelującymi chromatynę.

Geny cytokin charakterystycznych dla komórek Th1 są zorganizowane inaczej niż w przypadku komórek Th2. Gen *Ifn γ* ulega transkrypcji wspólnie z genami innych cytokin. *Locus Ifn γ* zawiera wiele elementów regulatorowych,

skupionych w miejscu sekwencji niekodujących [47]. Dziewicza komórka T CD4⁺ wytwarza niewielkie ilości IFN- γ , gdy fragment chromatyny, w którym znajduje się *locus* genu tej cytokiny, jest stabilny. DNA promotora *Ifn γ* oraz CNS-34, CNS-22, CNS+29 i CNS+49 są demetylowane, a CNS-34 i CNS-22 wykazują słabą, permissywną modyfikację kowalencyjną histonów [18]. Natomiast sekwencje położone między *Ifn γ* a CNS+18-20 i między CNS+29 a CNS+46 charakteryzują się modyfikacjami represywnymi. Taka biwalentna natura *locus Ifn γ* sprzyja utrzymaniu go w stanie równowagi w komórce dziewiczej. Aktywowanie dzięki IL-12 białko STAT4 wiąże promotor *Ifn γ* i inne elementy regulatorowe sprzyjając permissywnym zmianom epigenetycznym. Czynniki ten rekrutuje także kompleksy białkowe remodelujące chromatynę w miejsce promotora, co powoduje powstanie HSI i HSII [46]. Czynniki transkrypcyjny T-bet oddziałuje z promotorem *Ifn γ* , nawet gdy DNA jest silnie metylowany.

Modyfikacja dwóch sekwencji DNA bogatych w wyspy CpG gwarantuje dostępność fragmentu chromatyny, zawierającego *locus* genu *Foxp3*. W dziewiczych komórkach wyspy te mają wysoki stopień metylacji, natomiast w Treg są całkowicie demetylowane [14,52]. Obecność TGF- β nie jest wystarczająca do indukcji trwałej ekspresji czynnika transkrypcyjnego FOXP3. Zaobserwowano *in vitro*, że zależne od TGF- β komórki iTreg mają demetylowane jedynie niektóre wyspy CpG. Podczas restymulacji w środowisku pozbawionym tej cytokiny tracą zdolność do ekspresji FOXP3 oraz aktywność supresorową [14]. Może to sugerować, że wytwarzanie FOXP3 jest utrzymywane w komórce dzięki zmianom epigenetycznym w obrębie jego *locus*, powodowanym przez czynniki niepodlegające regulacji TGF- β [41].

FOXP3 może regulować transkrypcję genów przez remodelowanie chromatyny związane z rekrutacją deacetylaz histonowych (histone deacetylase, **HDAC**). Gdy FOXP3 wiąże się z genami *Il2* i *Ifn γ* , rekrutuje do *locus* zarówno acetylotransferazę histonów (histone acetyltransferase, **HAT**), jak i HDAC klasy II. Taki kompleks deacetyluje histony w rejonie *locus Il2* i *Ifn γ* , prowadząc do wyciszenia genów. Odwrotnie, gdy FOXP3 przyłączy się do genów kodujących CD25 i **CTLA-4** (cytotoxic T-limfocytantigen 4) – stymuluje acetylację histonów wzmacniając ekspresję tych genów [52].

Procesy epigenetyczne towarzyszące różnicowaniu pozostałych subpopulacji komórek T CD4⁺ nie zostały do końca poznane. Wiadomo, że induktorem permissywnych zmian chromatyny *locus Il17* jest białko STAT3, powodujące acetylację histonów [18]. Aktywacja odpowiednich białek oddziałujących z DNA może więc sprzyjać zmianom epigenetycznym chromatyny. Okazuje się też, że gen *Il22* leży na innym chromosomie niż *Il17*, co wyklucza liniową kontrolę jego aktywności przez elementy regulatorowe *locus Il17* [46].

Mimo nieustających badań nad epigenetyczną regulacją procesów komórkowych, nadal nie wiadomo, czy to czynniki oddziałujące z DNA powodują remodelowanie chromatyny i modyfikację histonów, czy też zmiany epigenetyczne umożliwiają wiązanie czynników transkrypcyjnych do DNA [19].

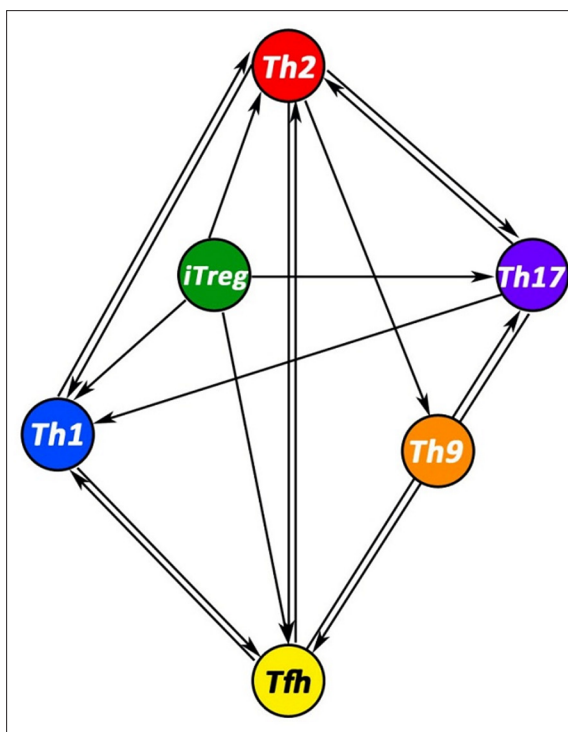
PLASTYCZNOŚĆ I ELASTYCZNOŚĆ RÓŻNICOWANIA LIMFOCYTÓW CD4⁺

Schemat opisywanych uprzednio mechanizmów prowadzących do powstania określonych subpopulacji komórek T CD4⁺ mógłby być następujący: związanie liganda przez receptor, aktywacja czynników transkrypcyjnych i innych białek oddziałujących z DNA, zmiany epigenetyczne umożliwiające odczyt informacji genetycznej, transkrypcja genów cytokin i ich wytwarzanie, powstanie limfocytów efektorowych. Jednak kolejne badania, dotyczące powstawania limfocytów CD4⁺ *in vivo* wykazują, że różnicowanie tych komórek jest procesem plastycznym (umożliwiającym konwersję komórek jednego typu w komórki typu drugiego) i elastycznym (ponieważ przekształcenia te mogą być odwracalne), a fenotypowe i funkcjonalne granice między ich subpopulacjami – dużo bardziej płynne niż uważano początkowo. Okazuje się bowiem, że limfocyty CD4⁺ wydzielające te same cytokiny, a więc należące do tej samej subpopulacji, mogą wykazywać ekspresję odmiennych czynników transkrypcyjnych. Różnice są do tego stopnia widoczne, że poddaje się w wątpliwość zasadność klasyfikacji komórek T CD4⁺ w oparciu o zestaw wytwarzanych cytokin, na korzyść wyodrębnienia populacji wywodzących się z różnych linii rozwojowych, tj. grup limfocytów wykazujących ekspresję tych samych kluczowych czynników transkrypcyjnych [28].

Plastyczność różnicowania się komórek T CD4⁺ najlepiej widać na przykładzie Th17 i iTreg. Ekspozycja dziewiczej komórki T CD4⁺ na działanie TGF-β powoduje *in vivo* powstanie limfocytów wykazujących ekspresję zarówno FOXP3, jak i RORγt. Tego typu komórki są obecne w krwiobiegu i charakteryzują się niewielkim wytwarzaniem IL-17 oraz właściwościami supresorowymi. Są także zdolne do dalszego różnicowania się zarówno do Th17, jak i iTreg. W obecności cytokin prozapalnych i niskich stężeń TGF-β, w takiej bivalentnej komórce dochodzi do wzmocnienia ekspresji RORγt i przekształcenia się do Th17. Przy wysokim stężeniu TGF-β i braku cytokin prozapalnych w środowisku komórki, obserwuje się wzmoczoną ekspresję FOXP3 i konwersję do iTreg. Efekt ten jest dodatkowo wzmacniany przez IL-2 i kwas retinowy RA (retinoic acid), które wyciszają ekspresję *Rorγt* [51].

Zróznicowane komórki regulatorowe mają dużą zdolność do konwersji w limfocyty efektorowe (Th1, Th2, Th17, Tfh). Elastyczność iTreg może wynikać ze specyficznego stanu epigenetycznego *loci* odpowiadających podtypom komórek efektorowych. Jedynie *locus Il17* jest represywnie zmodyfikowane, pozostałe miejsca (z wyjątkiem permissywnego *locus Foxp3*) są bivalentne lub nie zawierają żadnych modyfikacji [34]. Ekspozycja na IL-6 powoduje konwersję do Th17, natomiast utrata ekspresji FOXP3 i kontakt z limfocytami B sprzyja przekształceniu do Tfh [28]. Obniżenie poziomu ekspresji FOXP3 może się też wiązać z wytwarzaniem IFN-γ i konwersją do Th1. Inaktywacja czynnika transkrypcyjnego IRF4 jest niezbędna, by limfocyt regulatorowy mógł konwertować do Th2.

Komórki Th17 tracą zdolność do wytwarzania IL-17, jeśli nie są permanentnie poddawane polaryzacji w obecności IL-6 i TGF-β. Gdy znajdują się w środowisku bogatym w IL-12 lub IL-4, konwertują odpowiednio do Th1 lub Th2



Ryc. 5. Plastyczność szlaków różnicowania komórek T CD4⁺ (wg [28,29,41,46]). Limfocyty Th1 mogą się przekształcać do Th2 i Tfh, zaś komórki Th2 – do Th1, Tfh, Th9 i Th17. Limfocyty Th17 ulegają konwersji do Th1, Th2 i Tfh, a komórki iTreg do Th1, Th2, Th17 i Tfh. Limfocyty folikularne mogą różnicować się zarówno do Th1 i Th2, jak i Th17

[28]. Możliwe jest także przekształcenie Th17 do Tfh, ale brak doniesień o konwersji do komórek regulatorowych [46].

Jedną z najbardziej elastycznych grup limfocytów CD4⁺ są Tfh. Mogą się przekształcać do Th1, Th2 i Th17, w zależności od środowiska w jakim się znajdują, przy czym zmiana fenotypu polega głównie na ekspresji na powierzchni komórki receptorów zasiedlania charakterystycznych dla powyższych grup [8].

Zmiennością charakteryzuje się również fenotyp limfocytów Th2. Mogą one bowiem wytwarzać IL-17, gdy z wyłączoną ekspresją niezależnego czynnika wzrostu Gfi-1 (growth factor independent 1) umieści się je w środowisku polaryzacyjnym Th17 [28]. Podczas inwazji pasożytów wielokomórkowych limfocyty Th2 ulegają konwersji do Tfh – obniżona zostaje ekspresja GATA3 na korzyść Bcl-6 [28]. Gdy w środowisku komórki Th2 zamiast IL-2 występuje TGF-β, możliwa jest konwersja komórki Th2, do Th9. Transkrypcja genu *Il9* jest wtedy indukowana przez białko NF-κB. Natomiast gdy limfocyty Th2 (wytwarzające IL-4, -5 i -13) umieści się w obecności IL-12 i IFN-γ, dochodzi do przekształcenia w komórkę wytwarzającą zarówno IL-4, jak i IFN-γ (fenotyp zbliżony do Th1) [51]. Wiązanie się T-bet z wieloma sekwencjami wzmacniającymi, indukuje ekspresję RUNX3 i HLX i rekrutuje metylotransferazy histonów. Dzięki tak szerokiemu zakresowi działania, czynnik transkrypcyjny T-bet może przełączyć szlak różnicowania komórki z Th2 na Th1, nawet w przypadku zaawansowanej rozwojowo komórki [46].

Najmniej elastyczne są komórki Th1. Jednak w warunkach polaryzacji swoistych dla limfocytów Th2, możliwa jest indukcja transkrypcji genu kodującego IL-4 wspólnie z IFN- γ [51] lub konwersja do Tfh, nie zaobserwowano jednak podobnego przekształcenia do Th17 lub iTreg. Schemat przemian, jakim mogą podlegać zróżnicowane komórki T CD4⁺ przedstawiono na ryc. 5.

PODSUMOWANIE

Droga, jaką musi przejść macierzysta komórka szpiku kostnego, by stać się dojrzałym limfocytom T CD4⁺ jest wieloetapowa i wymaga wielu czynników, w tym – utworzenia funkcjonalnego receptora TCR w grasicy i określonego mikrośrodowiska. Właśnie to zmieniające się otoczenie działające za pośrednictwem cytokin z odpowiednimi receptorami na dziewiczych, spoczynkowych lub efektorowych komórkach T CD4⁺, pozwala na aktywację swoistych wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych, a w konsekwencji prowadzi do rekrutacji i aktywacji czynników transkrypcyjnych. Te ostatnie zaś, związawszy się z promotorami odpowiednich genów, wykazują zdolność pobudzania ich transkrypcji.

Białka oddziałujące z DNA nie tylko aktywują kontrolowane przez siebie geny, lecz także wpływają na przemodelowanie chromatyny oraz – wskutek interakcji ze sobą i z DNA – hamują lub pobudzają się nawzajem. Okazuje się, że rola głównych czynników transkrypcyjnych, takich

jak T-bet, GATA3, ROR γ t, ROR α , c-Maf czy Bcl-6, polegająca na wiązaniu sekwencji promotorowych, nie jest tak ważna w procesie różnicowania jak przypuszczano. W wielu przypadkach ustępuje miejsca działalności białek STAT, które dzięki kontaktowi z DNA nie tylko indukują transkrypcję genów, ale przede wszystkim promują modyfikacje genetyczne w obrębie kontrolowanych sekwencji przez rekrutację metylotransferaz i acetylotransferaz [46]. Pobudzenie transkrypcji genów cytokin wymaga więc nie tylko aktywacji polimerazy RNA, ale wiąże się z przestrzennym przystosowaniem ich *locus* do efektywnego odczytu informacji genetycznej. Dlatego też najnowsze publikacje tak dużą wagę w różnicowaniu komórek T przypisują czynnikom epigenetycznym [51]. To właśnie przestrzenna konformacja chromatyny decyduje o dostępności informacji genetycznej. Stan epigenetyczny *loci* genów cytokin pozwala na utrwalenie fenotypu i decyduje o tym, czy zróżnicowany limfocyt CD4⁺ będzie mógł ulec konwersji do innego typu [28]. Zmiana kondensacji chromatyny w obrębie genów cytokin pozwala zachować limfocytom CD4⁺ określony fenotyp podczas migracji w krwiobiegu, a jednocześnie umożliwia zmianę profilu wydzielanych czynników, w zależności od potrzeb reakcji immunologicznej w tkance docelowej. Oddziaływanie epigenetyczne uczestniczące w różnicowaniu się tych komórek są zatem głównym czynnikiem pozwalającym na uzyskanie ich dużej plastyczności i elastyczności, co umożliwia im sprawne reagowanie na zmiany zachodzące w różnych mikrośrodkach organizmu.

PIŚMIENICTWO

- [1] Abbas A., Lichtman A., Pillai S.: Cellular and molecular immunology. Saunders Elsevier, Philadelphia 2007
- [2] Afkarian M., Sedy J.R., Yang J., Jacobson N.G., Cereb N., Yang S.Y., Murphy T.L., Murphy K.M.: T-bet is a STAT1-induced regulator of IL-12R expression in naive CD4⁺ T cells. *Nat. Immunol.*, 2002; 3: 549–557
- [3] Ahlers J.D., Belyakov I.M.: Molecular pathways regulating CD4⁺ T cell differentiation, energy and memory with implications for vaccines. *Trends Mol. Med.*, 2010; 16: 478–491
- [4] Amsen D., Spilianakis C.G., Flavell R.A.: How are Th1 and Th2 effector cells made?. *Curr. Opin. Immunol.*, 2009; 21: 153–160
- [5] Annunziato F., Romagnani S.: Heterogeneity of human effector CD4⁺ T cells. *Arthritis Res. Ther.*, 2009; 11: 257
- [6] Antunes F., Vinkemeier U.: Polymerization of STAT1 dimers is required for STAT1 nuclear retention and IFN- γ target gene induction. *Cytokine*, 2009; 48: 85
- [7] Auernhammer C.J., Melmed S.: The central role of SOCS-3 in integrating the neuro-immunoendocrine interface. *J. Clin. Invest.*, 2001; 107: 1735–1740
- [8] Bluestone J., Mackay C., O’Shea J., Stockinger B.: The functional plasticity of T cell subsets. *Nat. Rev. Immunol.*, 2009; 9: 811–816
- [9] Bonasio R., Tu S., Reinberg D.: Molecular signals of epigenetics states. *Science*, 2010; 330: 612–616
- [10] Carrier Y., Yuan J., Kuchroo V.K., Weiner H.L.: Th3 cells in peripheral tolerance. I. Induction of Foxp3-positive regulatory T cells by Th3 cells derived from TGF β T cell-transgenic mice. *J. Immunol.*, 2007; 179: 179–185
- [11] Chistiakov D.A., Voronova N.V., Chistiakov P.A.: The crucial role of IL-2/IL-2RA-mediated immune regulation in the pathogenesis of type 1 diabetes, an evidence coming from genetic and animal model studies. *Immunol. Lett.*, 2008; 112: 1–5
- [12] Gilmour K.C., Pine R., Reich N.C.: Interleukin 2 activates STAT5 transcription factor (mammary gland factor) and specific gene expression in T lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995; 92: 10772–10776
- [13] He J., Zhang Y.: Janus kinase 2: an epigenetic ‘writer’ that activates leukemogenic genes. *J. Mol. Cell Biol.*, 2010; 2: 231–233
- [14] Huehn J., Polansky J.K., Hamann A.: Epigenetic control of FOXP3 expression: the key to a stable regulatory T-cell lineage? *Nat. Rev. Immunol.*, 2009; 9: 83–89
- [15] Ihle J.: Signals by the hematopoietic cytokine receptors. *Mol. Biol. Intelligence Unit* 1996; 58–61
- [16] Kassiotis G., O’Garra A.: Establishing the follicular helper identity. *Immunity*, 2009; 31: 450–452
- [17] Kidd P.: Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Altern. Med. Rev.*, 2003; 8: 223–246
- [18] Lee C.G., Sahoo A., Im S.H.: Epigenetic regulation of cytokine gene expression in T lymphocytes. *Yonsei Med. J.*, 2009; 50: 322–330
- [19] Lee G.R., Fields P.E., Griffin T.J., Flavell R.A.: Regulation of the Th2 cytokine *locus* by a *locus* control region. *Immunity*, 2003; 19: 145–153
- [20] Łyszczewicz M., Pajtasz-Piasecka E.: Udział receptorów interleukiny 2 i interleukiny 12 w przekazywaniu sygnału podczas aktywacji komórek układu odpornościowego. *Postępy Hig. Med. Dośw.*; 2002; 56: 707–731
- [21] Massagué J., Seoane J., Wotton D.: Smad transcription factors. *Genes Dev.*, 2005; 19: 2783–2810
- [22] Matuszyk J.: Rola sierocych receptorów jądrowych w rozwoju limfocytów T w grasicy. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2009; 63: 522–536
- [23] Mocellin S., Panelli M.C., Wang E., Nagorsen D., Marincola F.M.: The dual role of IL-10. *Trends Immunol.*, 2003; 24: 36–43
- [24] Mossman T.R., Coffman R.L.: TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu. Rev. Immunol.*, 1989; 7: 145–173
- [25] Moustakas A., Souchelnytskyi S., Heldin C.H.: Smad regulation in TGF- β signal transduction. *J. Cell Sci.*, 2001; 114: 4359–4369
- [26] Najjar I., Fagard R.: STAT1 and pathogens, not a friendly relationship. *Biochimie*, 2010; 92: 425–444
- [27] O’Shea J., Laurence A., Adamson A.: CD4⁺ T-cell diversity. *Nat. Rev. Immunol.*, 2009; 9: 71
- [28] O’Shea J.J., Paul W.E.: Mechanisms underlying lineage commitment and plasticity of helper CD4⁺ T cells. *Science*, 2010; 327: 1098–1102

- [29] Ouyang W., Ranganath S.H., Weindel K., Bhattacharya D., Murphy T.L., Sha W.C., Murphy K.M.: Inhibition of Th1 development mediated by GATA-3 through an IL-4-independent mechanism. *Immunity*, 1998; 9: 745–755
- [30] Passerini L., Allan S.E., Battaglia M., Nunzio S., Alstad A.N., Levings M.K., Roncarolo M.G., Bacchetta R.: STAT5-signaling cytokines regulate the expression of FOXP3 in CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells and CD4⁺CD25⁻ effector T cells. *Int. Immunol.*, 2008; 20: 421–431
- [31] Petronis A.: Epigenetics as a unifying principle in the aetiology of complex traits and diseases. *Nature*, 2010; 465: 721–727
- [32] Pot C., Jin H., Awasthi A., Liu S.M., Lai C.Y., Madan R., Sharpe A.H., Karp C.L., Miaw S.C., Ho I.C., Kuchroo V.K.: Cutting edge: IL-27 induces the transcription factor c-Maf, cytokine IL-21 and the costimulatory receptor ICOS that coordinately act together to promote differentiation of IL-10 producing Tr1 cells. *J. Immunol.*, 2009; 183: 797–801
- [33] Reis e Sousa C.: Dendritic cells in a mature age. *Nat. Rev. Immunol.*, 2006; 6: 476–483
- [34] Rowell E., Wilson C.B.: Programming perpetual T helper cell plasticity. *Immunity*, 2009; 30: 7–9
- [35] Sallusto F., Lanzavecchia A.: Heterogeneity of CD4⁺ memory T cells: Functional modules for tailored immunity. *Eur. J. Immunol.*, 2009; 39: 2076–2082
- [36] Sanchez-Guajardo V., Tanchot C., O'Malley J.T., Kaplan M.H., Garcia S., Freitas A.A.: Agonist-driven development of CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells requires a second signal mediated by Stat6. *J. Immunol.*, 2007; 178: 7550–7556
- [37] Schoemaker J., Saraiva M., O'Garra A.: GATA-3 directly remodels the IL-10 locus independently of IL-4 in CD4⁺ T cells. *J. Immunol.*, 2006; 176: 3470–3479
- [38] Sekimata M., Perez-Melgosa M., Miller S.A., Weinmann A.S., Sabo P.J., Sandstrom R., Dorschner M.O., Stamatoyannopoulos J.A., Wilson C.B.: CCCTC-binding factor and the transcription factor T-bet orchestrate T helper 1 cell-specific structure and function at the interferon- γ locus. *Immunity*, 2009; 31: 551–564
- [39] Shen Z., Chen L., Hao F., Wu, J.: Transcriptional regulation of *Foxp3* gene: multiple signal pathways on the road. *Med. Res. Rev.*, 2009; 29: 742–766
- [40] Soroosh P., Doherty T.A.: Th9 and allergic disease. *Immunology*, 2009; 127: 450–458
- [41] Tao R., Zoeten E.F., Ozkaynak E., Wang, L., Li, B., Greene M.I., Wells A.D., Hancock W.W.: Histone deacetylase inhibitors and transplantation. *Curr. Opin. Immunol.*, 2007; 19: 589–595
- [42] Tarakhovsky A.: Tools and landscapes of epigenetics. *Nat. Immunol.*, 2010; 11:565–568
- [43] Weaver C.T., Murphy K.M.: T-cell subsets: the more the merrier. *Curr. Biol.*, 2007; 17: R61–R63
- [44] Wei J., Duramad O., Perng O.A., Reiner S.L., Liu Y.J., Qin F.X.: Antagonistic nature of T helper 1/2 developmental programs in opposing peripheral induction of Foxp3 regulatory T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 18169–18174
- [45] Wilson C.B., Makar K.W., Shnyreva M., Fitzpatrick D.R.: DNA methylation and the expanding epigenetics of T cell lineage commitment. *Semin. Immunol.*, 2005; 17: 105–119
- [46] Wilson C.B., Rowell E., Sekimata M.: Epigenetic control of T-helper-cell differentiation. *Nat. Rev. Immunol.*, 2009; 9: 91–105
- [47] Wilson C.B., Schoenborn J.: BACing up the interferon- γ locus. *Immunity*, 2006; 25: 691–693
- [48] Wojas J., Pajtasz-Piasecka E.: Oddziaływanie komórek dendrytycznych z limfocytami T regulatorowymi. *Postępy Med. Hig. Dośw.*, 2010; 64: 167–174
- [49] Yssel H., Pene J.: Interleukin-22-producing T cells: a specialized population involved in skin inflammation. *Immunol. Cell Biol.*, 2009; 87: 574–576
- [50] Yu L., Batten M., Mackay C.R., King C.: Lineage specification and heterogeneity of T follicular helper cells. *Curr. Opin. Immunol.*, 2009; 21: 619–625
- [51] Zhou L., Chong M.M., Littman D.R.: Plasticity of CD4⁺ T cell lineage differentiation. *Immunity*, 2009; 30: 646–655
- [52] Zhou X., Bailey-Bucktrout S., Jeker L.T., Bluestone J.A.: Plasticity of CD4⁺ Foxp3⁺ T cells. *Curr. Opin. Immunol.*, 2009; 21: 281–285
- [53] Ziegler S.F., Buckner J.H.: FOXP3 and the regulation of Treg/Th17 differentiation. *Microbes Infect.*, 2009; 11: 594–598

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.