

KONTROLA ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ PRZEZ NATURALNE (CD4+CD25+) KOMÓRKI REGULATOROWE

THE IMMUNE RESPONSE CONTROL
BY NATURAL (CD4+CD25+) REGULATORY T CELLS

Magdalena CHORAŻY-MASSALSKA, Ewa KONTNY,
Włodzimierz MAŚLIŃSKI

Zakład Patofizjologii i Immunologii Instytutu Reumatologii im. Eleonory Reicher
w Warszawie

Streszczenie: Odkrycie komórek regulatorowych CD4+CD25+ dało początek wielu badaniom, dzięki którym dysponujemy znaczną, choć nadal niekompletną wiedzą na temat ich funkcji i mechanizmów działania. Regulatorowe limfocyty T (Treg) powstają głównie w grasicy, ale różnicują się także na obwodzie i w wyniku bezpośrednich interakcji międzykomórkowych hamują *in vitro* proliferację innych komórek (CD4, CD8, limfocytów B, NK). Komórki Treg kontrolują prawidłowy przebieg odpowiedzi immunologicznej. Ich niedobór lub upośledzenie czynnościowe może stanowić przyczynę rozwoju zjawisk autoimmunizacyjnych. Z drugiej strony nadczynność komórek Treg prowadzi do nadmiernego wyciszenia odpowiedzi immunologicznej, co w określonych warunkach, np. rozwoju nowotworu, może być niekorzystne dla gospodarza. Możliwość manipulacji liczbą komórek Treg niesie ze sobą duży potencjał terapeutyczny. Należy jednak pamiętać, że nawet delikatna dysregulacja limfocytów Treg może prowadzić do kolejnych immunopatologii.

Słowa kluczowe: komórki regulatorowe, cytokiny, hormony, immunopatogeneza.

Summary: Many studies that took place after discovery of regulatory T (Treg) cells have widened our, still incomplete, knowledge about that specialized cell population. Treg cells differentiate mainly in the thymus, but this process occurs also in the periphery. They suppress proliferation of other cells (CD4, CD8, B lymphocytes, NK) in direct, cell to cell, interactions *in vitro* and therefore are main controllers of the proper immune response. Deficiency as well as functional dysregulation of this population may be responsible for development of autoimmune events. On the other hand, overexpression may result in silencing the immune response that in certain conditions, like in cancer patients, may be life threatening for the host. Possible manipulation of Treg cells number may represent a promising therapeutic approach to many pathologies. However one should be aware that even delicate imbalance in Treg lymphocytes functions can lead to further immunopathologies.

Key words: regulatory T cells, cytokines, hormones, immunopathogenesis.

FIZJOLOGICZNA ROLA KOMÓREK REGULATOROWYCH (Treg)

Komórki regulatorowe CD4+CD25+ (Treg) stanowią małą populację (5–10%) obwodowych limfocytów T CD4+, odpowiedzialną za utrzymanie obwodowej tolerancji immunologicznej. Różnicują się one przede wszystkim w grasicy, ale w pewnych warunkach powstają także na obwodzie [51, 95]. Początkowo uważano, że są to komórki anergiczne. Okazało się jednak, że limfocyty Treg proliferują *in vivo* oraz, przy zachowaniu odpowiednich warunków hodowli, także *in vitro*. Identyfikacja i izolacja komórek Treg następuje z wieloma trudnościami. Do niedawna subpopulację tych komórek definiowano na podstawie obecności czynnika transkrypcyjnego Foxp3 i ekspresji wielu cząsteczek powierzchniowych (głównie CD4 i CD25), występujących także na innych limfocytach T [21, 51]. Ostatnie doniesienia wskazują, że specyficzną cechą komórek Treg jest obecność czynnika transkrypcyjnego Foxp3 oraz brak cząsteczki CD127, która jest receptorem dla interleukiny 7 (IL-7R) [55, 76]. Naturalne komórki regulatorowe (nTreg) odpowiadają na antygeny własne, a ich główną funkcją jest zapobieganie odpowiedzi autoimmunizacyjnej. Tym niemniej, coraz więcej danych wskazuje, że mogą one odpowiadać także na antygeny mikroorganizmów i dzięki temu regulować przebieg odpowiedzi przeciwinfekcyjnej. Oprócz tego, limfocyty Treg uczestniczą w utrzymaniu naturalnej tolerancji podczas ciąży. Różnicowanie się limfocytów w komórki Treg i ich oddziaływanie z innymi komórkami układu odpornościowego są niezwykle złożone. Dzięki temu aktywność komórek Treg jest precyzyjnie regulowana (dostrajana) na różnych etapach odpowiedzi immunologicznej i pozwala na jej prawidłowy przebieg. Obecnie, gdy fakt istnienia limfocytów regulatorowych ponownie uzyskał akceptację immunologów, uważa się, że zaburzenia ilościowe i czynnościowe tej subpopulacji przyczyniają się do rozwoju różnych chorób (np. nowotworowych, autoimmunizacyjnych). Z drugiej strony, pełniejsze zrozumienie biologii tych komórek stwarza nowe możliwości terapeutyczne. Na obecnym etapie badań, podstawowym zagadnieniem jest określenie, w jakich sytuacjach patologicznych wzmocnienie lub osłabienie funkcji supresorowych komórek Treg może być korzystne dla organizmu [21, 50, 51, 73, 95].

Kontrola odpowiedzi immunologicznej

Komórki regulatorowe (CD4+CD25+) hamują odpowiedź nie tylko na antygeny (Ag) własne (autoAg), ale również na Ag egzogenne. Intrygujące jest zatem pytanie, w jaki sposób z jednej strony utrzymywana jest supresja patologicznej odpowiedzi zagrażającej organizmowi (np. autoimmunizacyjnej lub nadmiernej przeciwbakteryjnej), a z drugiej strony jest „przyzwolenie” na obronną odpowiedź skierowaną przeciw organizmom patogennym atakującym organizm. Szereg obserwacji wskazuje, że decydujące znaczenie ma aktualna, zmieniająca się w czasie odpowiedzi immunologicznej, aktywność supresorowa komórek Treg. Nasilenie tej aktywności zależy od:

- (i) poziomowi ekspresji cząsteczek przekazujących sygnał aktywacyjny limfocytom Treg,

- (ii) dostępności ligandów inicjujących przekazanie sygnału przez te cząsteczki,
- (iii) wpływu cytokin oraz
- (iv) poziomu ekspresji receptorów i ligandów inicjujących apoptozę.

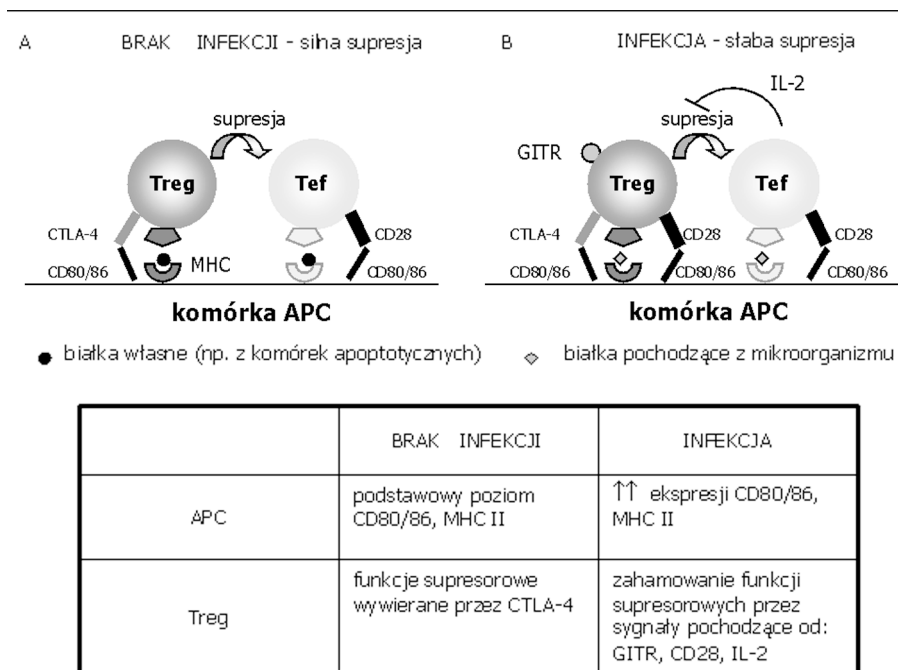
Z reguły komórki Treg otrzymują te sygnały podczas bezpośredniego kontaktu z komórkami kooperującymi.

a) Funkcje limfocytów Treg zależą od kontaktu z komórkami prezentującymi antygen

Profesjonalnymi komórkami prezentującymi antygen (APC – ang. *antigen presenting cell*) są komórki dendrytyczne (DC – ang. *dendritic cell*), choć funkcje te mogą pełnić także limfocyty B, monocyty, makrofagi i inne komórki. Komórki dendrytyczne w zależności od stopnia dojrzałości mogą, poprzez wpływ na czynność komórek Treg, indukować tolerancję lub odpowiedź immunologiczną. Zależy to m.in. od ekspresji cząsteczek z rodziny B7 (CD80/86) na komórkach dendrytycznych [51]. Charakterystyczną cechą niedojrzałych DC jest obecność cząsteczki CD80. W miarę dojrzewania tych komórek wzrasta na nich ekspresja cząsteczki CD86. Co ważne, kontakt komórek Treg z CD80+ lub CD86+ komórek dendrytycznych odpowiednio: nasila lub hamuje ich funkcje supresorowe [94]. Z kolei komórki Treg działają supresyjnie na „sąsiednie” komórki T, które wiążą się do tej samej APC. Przy braku infekcji (ryc. 1A), gdy kontrola komórek autoreaktywnych przez Treg jest wskazana, APC cechuje podstawowy poziom ekspresji cząsteczek CD80/86 i niski cząsteczek MHC II, dzięki czemu ich zdolność prezentacji autoAg jest mała. Komórki Treg CD4+CD25+ rozpoznające autoAg mogą jednak ulegać aktywacji po otrzymaniu sygnału kostymulacji, dostarczanego przez cząsteczkę CTLA-4, która z bardzo wysokim powinowactwem wiąże cząsteczki CD80/86 obecne na APC. Tak aktywowane komórki Treg mogą działać supresyjnie na limfocyty autoreaktywne. Sytuacja zmienia się podczas infekcji ze względu na konieczność aktywacji i ekspansji komórek efektorowych (Tef). Wówczas aktywność supresyjna limfocytów Treg jest obniżana dzięki sygnałom przekazywanym tym komórkom przez inne cząsteczki powierzchniowe (GITR, CD28) oraz interleukinę 2 (IL-2) (ryc. 1B) [75]. Oprócz tego, poziom supresji jest determinowany przez siłę sygnału pochodzącego z TCR komórek efektorowych: gdy sygnał jest słaby, supresja jest możliwa, a gdy silny, świadczący o zapaleniu, to komórki efektorowe stają się odporne na supresję [5]. Po wyeliminowaniu czynnika infekcyjnego, wraz ze spadkiem aktywacji APC, właściwości supresorowe komórek Treg są przywracane.

b) Stymulacja przez TLRs reguluje właściwości Treg

Podczas infekcji ważna jest też „ilość”/stężenie Ag bakteryjnych (np. LPS), ponieważ od tego zależy, czy będą aktywowane limfocyty T efektorowe czy Treg. Na komórkach prezentujących Ag obecne są receptory Toll-podobne (TLRs), które rozpoznają struktury charakterystyczne dla drobnoustrojów (PAMPs – ang. *pathogen associated molecular patterns*) oraz niektóre endogenne cząsteczki uwalniane podczas zapalenia (DAMPs – ang. *danger associated molecular patterns*). Rozpoznanie tych ligandów przez TLRs zapoczątkowuje odpowiedź immunologiczną: dojrzewanie DCs, produkcję cytokin prozapalnych i chemokin [44]. Okazuje się, że odpowiedź immunologiczna może być



RYCINA 1. Funkcje supresorowe Treg są regulowane poprzez oddziaływanie z innymi komórkami układu immunologicznego. W stanie fizjologicznym funkcje supresorowe Treg są zachowane (A). Podczas infekcji duże stężenia IL-2, stymulacja TCR, a także stymulacja CD28 powodują osłabienie funkcji Treg, co pozwala na efektywniejsze zwalczanie infekcji (B). Treg – komórka regulatorowa, Tef – komórka efektorowa, APC – komórka prezentująca antygen; na podstawie pracy [75]

FIGURE 1. Signalling from other cells to Treg through many surface molecules leads to augmentation or attenuation of their suppressive activity. Under the physiological conditions Treg are able to suppress the effectors (A). In the presence of high dose IL-2 together with TCR stimulation or stimulation through CD28 Treg lose their functions, what allow to control the infection. Treg – regulatory T cell, Tef – effector T cell, APC – antigen presenting cell; based on the paper [75]

regulowana także poprzez bezpośrednią stymulację komórek CD4⁺CD25⁺ przez obecne na nich TLRs. Wykazano, że LPS działający przez TLR4 [18], a także flagellina będąca ligandem dla TLR5 [24] nasilają właściwości supresorowe komórek Treg. Natomiast równoczesna stymulacja tych komórek poprzez TCR i TLR2 [80] lub bezpośrednia stymulacja przez TLR8 [69] powoduje utratę funkcji supresorowych. Jest więc prawdopodobne, że różne ligandy TLR mogą wpływać odmiennie na funkcje komórek Treg.

Dla regulacji odpowiedzi immunologicznej istotna jest również reaktywność na ligandy TLR mniejsza komórek Treg niż DC. Na przykład stężenie LPS (ligand TLR4) potrzebne do aktywacji komórki Treg jest o kilka rzędów wielkości wyższe od stężenia aktywującego DC. Podobne różnice obserwowano stosując agonistę TLR2 [54]. Przypuszcza się zatem, że podczas infekcji ligandy TLRs (np. LPS) aktywują najpierw DCs, co inicjuje odpowiedź immunologiczną prowadzącą do aktywacji i ekspansji komórek efektorowych. Następnie, przy wyższych stężeniach tych ligandów aktywow-

wane są komórki Treg, co z kolei ogranicza odpowiedź przeciwbakteryjną i zapobiega miejscowej lub systemowej patologii np. sepsie. Infekcjom często towarzyszą uszkodzenia tkanek, a tworzące się środowisko zapalne ułatwia prezentację uwalnianych autoAg. Uważa się, że komórki Treg mogą kontrolować aktywację i ekspansję autoreaktywnych komórek T, które są przyciągane do miejsca zapalenia przez APC [75]. W takich warunkach komórki nTreg mogą odpowiadać także na antygeny mikroorganizmów wykazujące podobieństwo do autoAg (reaktywność krzyżowa) [10]. Również antygeny z bakterii patogennych i bakterii tworzących florę jelitową mogą być rozpoznawane krzyżowo przez komórki Treg. W wielu modelach infekcji, usunięcie z organizmu flory bakteryjnej bądź jej modyfikacja powoduje wzrost podatności gospodarza na infekcje [10]. Takie obserwacje przemawiają za hipotezą, że flora jelitowa kształtuje repertuar komórek nTreg. Interakcje komórki gospodarza - patogen są zmienne w czasie, podobnie jak Ag rozpoznawane przez komórki Treg. Ponieważ w interesie patogenów leży jak najdłuższe przeżycie gospodarza, w pewnych sytuacjach mogą one tworzyć warunki sprzyjające aktywacji, migracji czy przeżyciu komórek regulatorowych. Podczas przewlekłych infekcji organizm gospodarza wytwarza duże ilości czynnika transformującego β (TGF- β – ang. *transforming growth factor- β*), który jest jedną z kluczowych cytokin dla przeżycia i zachowania funkcji Treg [10].

c) Kontakt Treg z komórkami docelowymi może wpływać na ich czynność supresorową

Coraz więcej danych przemawia za tym, że komórki Treg, aktywowane w fazie inicjacji odpowiedzi immunologicznej, hamują aktywność nie tylko efektorowych limfocytów T (jak sądzono dotychczas), ale także innych komórek uczestniczących w tej odpowiedzi. Wydaje się, że w tym celu komórki Treg mogą wykorzystywać różne mechanizmy. Z kolei kontakt z komórkami docelowymi może, poprzez mechanizm zwrotny, ponownie modulować aktywność limfocytów Treg [15]. Przemawiają za tym następujące obserwacje. W wyniku interakcji cząsteczki CTLA-4 na limfocytach Treg z cząsteczkami B7 na DC, w tych ostatnich komórkach indukowany jest enzym IDO (IDO – ang. *indoleamine 2,3-dioxygenase*), który degraduje tryptofan do kynureniny i innych produktów [30]. Ekspresja IDO jest też indukowana przez IFN- γ , wytwarzany głównie przez pomocnicze limfocyty T typu 1 (Th1). Tryptofan jest aminokwasem niezbędnym do przeżycia komórek, a jego brak powoduje anergię komórek efektorowych.

Z drugiej strony, jeden z produktów degradacji tryptofanu, kwas 3-hydroksy-antranilowy (HA), indukuje w komórkach ekspresję innego enzymu, oksygenazy hemowej (HO-1 – ang. *heme oxygenase 1*) [64]. Najnowsze badania wskazują, że aktywność HO-1 może być kluczowa dla pełnienia przez komórki Treg funkcji supresorowej. Wykazano bowiem, że komórki Treg CD25⁺, w przeciwieństwie do komórek CD25⁻, mają konstytutywną ekspresję HO-1 [66]. Co więcej, po transfekcji komórek Jurkat (linia nowotworowych ludzkich limfocytów T) czynnikiem Foxp3, wykazują one także ekspresję HO-1, a aktywność supresorowa takich komórek, jak i naturalnych Treg CD4⁺CD25⁺ jest blokowana przez inhibitor HO-1 [20]. Co ciekawe, nadekspresja HO-1 prowadzi *in vivo* do supresji odpowiedzi immunologicznej i

przedłuża przeżywanie przeszczepów, najprawdopodobniej w wyniku indukcji AICD (AICD – ang. *activation-induced cell death*) w alloreaktywnych komórkach T [58]. Oksygenaza hemowa jest odpowiedzialna za rozkład hemu do biliwerdyny, jonów Fe i tlenku węgla (CO). Wydaje się, że komórki Treg mogą działać supresorowo dzięki wytwarzaniu CO, który wykazuje szerokie właściwości antyproliferacyjne [74]. Antyproliferacyjny mechanizm działania CO polega na blokowaniu produkcji IL-2, głównej cytokiny odpowiedzialnej za proliferację limfocytów T [67]. Co ciekawe, wrażliwość limfocytów T pomocniczych typu 1 (Th1) i typu 2 (Th2) na supresję ze strony nTreg jest zróżnicowana. Komórki Th2, które produkują i odpowiadają na cytokiny inne niż IL-2 (tj. IL-4, IL-9), są mniej podatne na supresję wywieraną przez limfocyty CD4+CD25+ niż komórki Th1. W przypadku limfocytów Th1 tylko IL-15 znosiła supresyjny wpływ nTreg. Sugeruje to istnienie odmiennych mechanizmów regulujących odpowiedzi Th1 i Th2 [22].

Komórki Treg kontrolują nie tylko działanie limfocytów T. Wykazano bowiem, że komórki CD4+CD25+ mogą hamować proliferację limfocytów B, szczególnie tych, które prezentują własne Ag. Ten efekt jest zależny od kontaktu pomiędzy komórkami, podczas którego komórki Treg uwalniają czynniki cytotoksyczne: perforyny i granzymy [93]. Co więcej, komórki Treg są obecne w strefach komórek B i ośrodkach rozmnażania wtórnych narządów limfatycznych, gdzie po kontakcie komórek T i B następuje inicjacja odpowiedzi humoralnej [52]. Tam, Treg w sposób bezpośredni hamują wytwarzanie i zmianę klas przeciwciał przez limfocyty B [52]. Wyniki te sugerują, że komórki Treg zapobiegają odpowiedzi autoimmunizacyjnej m.in. poprzez bezpośredni wpływ na czynność limfocytów B. Pojawiają się także doniesienia o wzajemnej kontroli komórek Treg i komórek NKT (NKT – ang. *natural killer T cells*) [47].

d) Komórki Treg wykazują odmienną wrażliwość na apoptozę niż komórki efektorowe

Ważnym mechanizmem kontrolującym przebieg odpowiedzi immunologicznej jest apoptoza, czyli programowana śmierć komórki. Kluczowym receptorem śmierci jest cząsteczka CD95 (Fas), która występuje m.in. na limfocytach i inicjuje ich apoptozę po przyłączeniu swoistego ligandu (CD95L/FasL). CD95L występuje zarówno na powierzchni komórek, jak i w formie rozpuszczalnej. Wrażliwość limfocytów T na apoptozę zmienia się w zależności od stanu aktywacji i jest różna w różnych fazach odpowiedzi immunologicznej. Szereg obserwacji wskazuje, że podczas przebiegu odpowiedzi immunologicznej wrażliwość komórek Treg na apoptozę zmienia się przeciwnie do wrażliwości efektorowych limfocytów T. W przeciwieństwie do większości spoczynkowych limfocytów T, które są stosunkowo odporne na apoptozę, unikalną właściwością niestymulowanych komórek Treg CD4+CD25+Foxp3+ [32], ale nie dziewiczych Treg izolowanych z krwi pępowinowej [33], jest wrażliwość na apoptozę indukowaną CD95L. Te różnice ułatwiają zapoczątkowanie odpowiedzi immunologicznej. Odmiennie, aktywowane efektorowe limfocyty T stają się szczególnie podatne na śmierć apoptotyczną indukowaną przez aktywację (AICD), co umożliwia ich eliminację w fazie wygaszania odpowiedzi immunologicznej. Natomiast wrażliwość komórek Treg na AICD jest znacznie mniejsza, co ułatwia zakończenie odpowiedzi

immunologicznej. Wydaje się, że komórki Treg są zabijane później przez rozpuszczalny CD95L lub też CD95L występujący np. na umierających komórkach efektorowych. Końcowej eliminacji komórek Treg sprzyja też drastyczne obniżenie stężenia IL-2, cytokiny produkowanej głównie przez efektorowe limfocyty T. Tak więc subtelna równowaga pomiędzy efektorowymi i regulatorowymi komórkami T wydaje się być ściśle kontrolowana na wszystkich etapach odpowiedzi immunologicznej [32].

Sprawność układu odpornościowego maleje wraz z wiekiem, co powoduje wzrost podatności na infekcje i nowotwory oraz cięższy przebieg chorób przewlekłych. Być może jest to związane z nasileniem ogólnej aktywności supresorowej, gdyż u ludzi stwierdza się wraz z wiekiem wzrost liczby komórek o fenotypie regulatorowym [36]. Wraz z wiekiem rośnie również liczba limfocytów T różnicujących się poza grasycą (np. w wątrobie). Udział komórek supresorowych powstałych w grasicy i poza nią w ogólnej puli CD4⁺CD25⁺ na obwodzie nie jest znany, ale zdolność powstawania tych komórek *de novo* we wtórnych narządach limfatycznych może być istotna dla wytworzenia i utrzymywania antygenowo swoistej tolerancji. Niestety, ta droga może być także wykorzystywana przez komórki nowotworowe, które w ten sposób zapobiegają odpowiedzi immunologicznej swoistej dla antygenów nowotworowych [45].

Kontrola odpowiedzi immunologicznej podczas ciąży i wpływ hormonów na komórki Treg

Wyniki najnowszych badań, a zwłaszcza ocena ilościowa i czynnościowa limfocytów Treg podczas ciąży, wskazują dobitnie na regulacyjny wpływ hormonów na tę subpopulację komórek. U kobiet w ciąży, począwszy od pierwszego trymestru, obserwuje się stopniowy wzrost liczby komórek Treg w krwi obwodowej, a następnie już po porodzie jej spadek [79]. Podobne badania na myszach wskazują na duży udział procentowy tej populacji pośród komórek CD4⁺ błony śluzowej macicy [37]. Co ciekawe, zjawisko to obserwowane jest jeszcze przed implantacją zarodka, nie jest więc indukowane przez alloantygeny (alloAg) zarodkowe [59].

Estrogen (17- β -estradiol) zwiększa ekspresję Foxp3 i CD25 *in vitro* oraz ekspresję Foxp3 i ilość komórek regulatorowych *in vivo* [70]. Oprócz wzrostu liczby limfocytów Treg i supresji czynnościowej komórek efektorowych, w ciąży obserwuje się też charakterystyczny wpływ komórek Treg na APC – indukcję enzymu IDO. Uważa się, że brak tryptofanu, będący skutkiem aktywności enzymatycznej IDO, jest jednym z czynników powodujących anergię komórek efektorowych, dzięki czemu utrzymywana jest tolerancja na alloAg płodu [31]. W ciąży obserwuje się nie tylko znaczny wzrost liczby komórek CD4⁺CD25⁺ [37, 79], ale i populacji Tr1 produkującej IL-10, co może częściowo uczestniczyć w remisji takich schorzeń autoimmunizacyjnych jak reumatoidalne zapalenie stawów (RZS). Wszystkie te mechanizmy współuczestniczą w zapewnieniu tolerancji układu immunologicznego matki na alloAg zarodka, co w efekcie pozwala na utrzymanie ciąży. Komórki regulatorowe nie tylko pełnią rolę w utrzymaniu ciąży, ale także, zgodnie z ostatnimi doniesieniami, mogą być warunkiem kobiecej płodności. Wykazano bowiem, że stan niepłodności o niewyjaśnionej etiologii jest związany z obniżonym poziomem ekspresji czynnika Foxp3 w endometrium [40].

Niedobór estrogenu u kobiet po menopauzie może prowadzić, jak się przypuszcza, do wstrzymania funkcji supresyjnych komórek Treg i równoczesnej aktywacji limfocytów efektorowych, co w konsekwencji może stanowić jedną z przyczyn osteoporozy [83]. W tym przypadku aktywacji APC i komórek efektorowych sprzyja wysoki poziom IFN- γ , którego produkcja wzrasta przy braku estrogenu.

KOMÓRKI REGULATOROWE W STANACH PATOLOGICZNYCH I POTENCJALNE MOŻLIWOŚCI TERAPEUTYCZNE

Doniesienia ostatnich lat wskazują na związek pomiędzy nieprawidłowościami czynnościowymi i ilościowymi komórek Treg a występowaniem niektórych schorzeń u ludzi [50, 73].

Kiedy nadczynność komórek Treg jest niekorzystna

Nadczynność limfocytów Treg może powodować stan wyhamowania mechanizmów efektorowych, prowadzący do choroby, a nawet śmierci gospodarza. Zjawisko to może występować w chorobach nowotworowych, infekcjach wirusowych i zakażeniach pasożytniczych [50]. W przypadku niektórych nowotworów stwierdza się zwiększoną liczbę komórek Treg na obwodzie, są one także obecne w guzach [56, 90] lub w strefie okołoguzowej [91]. Według badań Curiel i wsp. komórki Treg odpowiadają na chemokinę CCL22, dzięki czemu akumulują się preferencyjnie w guzach nowotworowych, omijając węzły chłonne [25]. Ta nietypowa migracja może stanowić istotny mechanizm tolerancji na antygeny nowotworowe. Oprócz tego, w chorobach nowotworowych obserwuje się często wzmożoną ekspresję cyklooksygenazy 2 (COX-2) i w konsekwencji nadprodukcję prostaglandyny E_2 (PGE_2), która nie tylko nasila funkcje supresorowe komórek Treg, ale także indukuje fenotyp regulatorowy (ekspresję Foxp3) w populacji limfocytów $CD4^+CD25^-$ [6, 77]. Co więcej, ta indukowana przez nowotwory ekspansja komórek Treg przebiega nawet u myszy po tymektomii [85]. Ostatnie doniesienia wskazują, że jednym z mechanizmów prowadzących do progresji nowotworu jest zmniejszenie subpopulacji cytotoksycznych limfocytów T $CD8^+$ przez komórki Treg [91]. Sugeruje się również, że same komórki Treg wykazują ekspresję COX-2 i mogą hamować odpowiedź efektorowych limfocytów T w sposób zależny od PGE_2 [57]. Zatem, potencjalnym podejściem terapeutycznym w leczeniu nowotworów może być obniżenie liczby lub czynności komórek Treg. W tym celu można wykorzystać ich charakterystyczną podatność na apoptozę indukowaną przez FasL [32] bądź dążyć do zahamowania syntezy PGE_2 , np. poprzez blokowanie aktywności enzymatycznej COX-2. Wstępne badania u chorych z nowotworem wskazują, że takie postępowanie może być korzystne terapeutycznie. Wykazano bowiem, że usunięcie komórek Treg u chorych z nowotworem nerki (RCC – ang. *renal cell carcinoma*) wzmacnia swoistą odpowiedź przeciwnowotworową indukowaną przez szczepionki zawierające DCs transfekowane nowotworowym RNA [26].

Także w niektórych zakażeniach pasożytniczych i wirusowych usunięcie komórek nTreg przynosi korzyść terapeutyczną. Wykazano bowiem, że w mysim modelu malarii usunięcie komórek nTreg przywraca skuteczną odpowiedź immunologiczną i chroni przed śmiercią, a w mysim modelu leishmaniozy obecność komórek Treg powoduje nawrót choroby i zahamowanie mechanizmów pamięci immunologicznej [10]. Również odpowiedź immunologiczna na wirus opryszczki zwykłej (HSV – ang. *herpes simplex virus*) jest znacznie silniejsza przy braku nTreg, a usunięcie tej populacji z krwi obwodowej ludzi chorych na AIDS zwiększa odpowiedź przeciwko wirusowi ludzkiego niedoboru odporności (HIV – ang. *human immunodeficiency virus*). Należy jednak podkreślić, że same komórki Treg są także podatne na infekcje wirusowe, np. HIV [10] czy HTLV-I [34], co w niektórych przypadkach prowadzi do utraty ich funkcji [34].

Strategie terapeutyczne wycelowane w modulację liczby lub funkcji komórek regulatorowych niosą ze sobą ogromne możliwości. Nadmierna kontrola odpowiedzi efektorowej przez komórki nTreg jest niekorzystna dla gospodarza, gdyż prowadzi do namnożenia patogena lub wzrostu nowotworu. Tak więc usunięcie komórek Treg bądź zastosowanie terapii blokujących ich funkcje przywracałoby organizmowi zdolność kontroli tych zjawisk [10] i jest pożądane w przypadku potrzeby wzmocnienia odpowiedzi przeciw danym antygenom (w chorobach nowotworowych, przewlekłych zakażeniach, szczepieniach ochronnych).

Kiedy niedobory komórek Treg stanowią zagrożenie

Z drugiej strony zbyt mało komórek Treg oznacza nasilenie mechanizmów efektorowych, co w niektórych warunkach może stanowić zagrożenie dla integralności własnych tkanek i kontroli zjawisk autoimmunizacyjnych. Niedobór komórek CD4⁺CD25⁺ stwierdza się w modelach wielu chorób autoimmunizacyjnych: reumatoidalnego zapalenia stawów, stwardnienia rozsianego, cukrzycy, tocznia, zapalenia jelita grubego, zapalenia jajników i innych [11]. Wzmocnienie liczby i/lub aktywności limfocytów Treg jest więc oczywistym celem w przypadku chorób autoimmunizacyjnych, alergii i odrzucania przeszczepów.

a) Przeszczepy

Obecnie strategie terapeutyczne zmniejszające ryzyko odrzucenia przeszczepu u ludzi opierają się na lekach immunosupresyjnych, usunięciu populacji limfocytów T (zarówno cytotoksycznych, jak i helperowych) lub blokadzie sygnałów kostymulujących. Podstawową ich wadą jest brak specyficzności antygenowej, co z kolei zwiększa ryzyko zakażeń i obniża efektywność ewentualnej odpowiedzi przeciwnowotworowej. Dlatego też szczególne znaczenie dla transplantologii może mieć wiedza jak otrzymać komórki Treg specyficzne dla prezentowanego Ag [95]. Takie komórki Treg udało się otrzymać z populacji limfocytów CD4⁺CD45RA⁺ poprzez aktywację, z użyciem swoistego ligandu Jagged-1, ewolucyjnie konserwatywnych receptorów Notch, które regulują procesy różnicowania komórkowego [92]. Sugeruje to możliwość kontroli alloreaktywności przy zachowaniu innych funkcji limfocytów T. Szereg doniesień wskazuje na udział komórek CD4⁺CD25⁺ w regulacji odpowiedzi immunologicznej i ochronie biorcy przed śmiertelną

chorobą – przeszczep przeciw gospodarzowi (GVHD – ang. *graft versus host disease*) podczas allogenicznego przeszczepu szpiku kostnego czy całych narządów [1, 19, 82]. Wydaje się, iż za tę kontrolę odpowiadają komórki CD4+CD25+ biorcy lub dawcy o wysokiej ekspresji L-selektyny [82], choć wcześniejsze badania wskazywały na udział tylko komórek Treg dawcy [39]. Wykazano także, że podanie komórek Treg podczas przeszczepu wysepek Langerhansa znacznie obniża ryzyko odrzucenia lub degradacji komórek beta. To protekcyjne działanie wiąże się ze zdolnością komórek Treg do hamowania układu odporności wrodzonej i obniżania ekspresji chemokin w wysepkach, co zatrzymuje migrację efektorowych limfocytów T do przeszczepu [19]. Należy pamiętać, że limfocyty Treg działają supresyjnie nie tylko na komórki autoreaktywne, ale na wszystkie „sąsiednie” limfocyty T, będące w kontakcie z tą samą APC. Tak więc limfocyty rozpoznające obce białka (patogeny, alergen, Ag pokarmowe) także podlegają tej supresji. Jest ona korzystna dla pacjentów z alergiami czy biorców przeszczepów, choć podnosi ryzyko infekcji [11].

b) Choroby autoimmunizacyjne

Protekcyjną rolę komórek Treg udowodniono w wielu modelach chorób autoimmunizacyjnych u zwierząt [51, 73]. Zaburzenia funkcjonalne Treg stwierdza się także w niektórych schorzeniach tego typu u ludzi, np. u chorych na stwardnienie rozsiane [88], czy z zespołem wielogruzołowej niedoczynności dokrewnej (APSII – ang. *autoimmune polyglandular syndrome type II*) [46]. Pewne obserwacje wskazują, że towarzyszą one także niektórym chorobom reumatycznym, ale doniesienia dotyczące tego zagadnienia są jeszcze niepełne i często niejednoznaczne.

Choroby reumatyczne należą do przewlekłych chorób autoimmunizacyjnych, w których szereg zjawisk prozapalnych prowadzi do uszkodzenia chrząstki stawowej. Nie jest jasne, czy komórki Treg działają protekcyjnie w zapaleniu stawów u myszy, gdyż w zależności od badanego modelu obserwowano różny efekt. Myszy pozbawione komórek CD25+ immunizowane kolagenem typu II (model CIA), wykazywały nasilone objawy zapalenia stawów, ustępujące po podaniu komórek CD25+ [62]. Z kolei w modelu PGIA, indukowanym przez podanie myszom proteoglikanów, nie wykazano wpływu komórek Treg na przebieg choroby [7]. Co ciekawe, w obydwu modelach limfocyty Treg były funkcjonalne *in vitro*.

Zgodnie z większością badań, komórki regulatorowe CD4+CD25+ izolowane z krwi obwodowej pacjentów chorych na reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) wykazują wiele podobieństw do tych izolowanych od osób zdrowych: mają zbliżony fenotyp (ekspresja cząsteczek: CD69+, MHC II+, OX-40+, CTLA-4 jest wyższa niż na komórkach CD25-) [87], stanowią podobny udział procentowy we krwi [16] i wykazują właściwości supresorowe *in vitro* [16, 29, 87]. Większość subpopulacji Treg ze stawów stanowią aktywowane komórki pamięci o fenotypie CD45RO, CD122, CD58, CD71, HLA-DR wykazując przez to podobieństwo do limfocytów Treg pochodzących z krwi zarówno osób zdrowych, jak i chorych na RZS [16]. Ponadto komórki Treg ze stawów wyróżniają się wyższą ekspresją CTLA-4, GITR i HLA-DR niż Treg z krwi, co może świadczyć o dojrzewaniu tej populacji w stawie [16, 27].

Ostatnie badania sugerują, że komórki regulatorowe Foxp3+ w stawie mogą być identyfikowane za pomocą koekspresji CD25 i CD27 [72]. U większości chorych stwierdzono zdecydowanie mniejszą niż u osób zdrowych liczbę komórek CD4+CD25^{bright} o wybitnych właściwościach regulatorowych (lub według niektórych badaczy właściwą populację Treg) [17, 27]. Niektóre doniesienia wskazują jednak na upośledzenie ilościowe innej subpopulacji komórek regulatorowych, mianowicie Tr1, we krwi i płynie stawowym chorych na RZS [11]. Obniżoną liczbę komórek Treg CD4+CD25+ obserwowano także w toczeniu rumieniowatym układowym [60] i toczeniu dziecięcym [49]. Natomiast w zespole Sjögrena nie stwierdzono ani obniżonej liczby limfocytów Treg, ani ich dysfunkcji [48]. W wielu chorobach reumatycznych wykazano natomiast akumulację komórek Treg w stawach objętych procesem chorobowym [16, 17, 27, 87]. Co więcej, populacja Treg w stawie była liczniejsza niż we krwi obwodowej tych samych pacjentów, niezależnie od rodzaju schorzenia (łuszczykowe zapalenie stawów, spondyloartropatie, młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów, RZS) [17]. Co ciekawe, komórki Treg izolowane ze stawów wykazywały działanie supresyjne (hamowały proliferację) nie tylko względem komórek CD25- pochodzących ze stawu, ale także tych izolowanych z krwi [16]. Ponadto działanie supresyjne komórek Treg ze stawów było silniejsze niż komórek Treg pochodzących z krwi osób chorych lub zdrowych [27, 87].

Doniesienia na temat wpływu komórek Treg na produkcję cytokin biorących udział w patogenezie RZS są rozbieżne. Niektórzy badacze wykazali, że komórki Treg izolowane z płynów stawowych hamują produkcję TNF- α , IFN- γ , IL-10, IL-13 i IL-17 [17, 87]. Natomiast badania Ehrensteina i wsp. [29] wskazują, że komórki Treg izolowane z krwi chorych na RZS (w przeciwieństwie do tych izolowanych od ludzi zdrowych), nie hamują produkcji cytokin prozapalnych (TNF- α , IFN- γ) przez aktywowane limfocyty T i monocyty, a także nie indukują różnicowania dodatkowej subpopulacji Treg z komórek CD4+CD25-. Jak wykazano, wynika to z upośledzenia czynnościowego limfocytów Treg, a nie oporności komórek efektorowych na ich działanie. Leczenie polegające na neutralizacji czynnika martwicy nowotworów (TNF- α – ang. *tumor necrosis factor- α*) przywracało te funkcje całkowicie, powodowało także wzrost liczby komórek regulatorowych we krwi pacjentów [29], prawdopodobnie m.in. poprzez obniżenie ich spontanicznej apoptozy [71]. Co więcej, po leczeniu obserwowano wzrost liczby komórek produkujących IL-10, a spadek tych produkujących TNF- α [29]. Ostatnie badania wykazały, iż TNF- α hamuje funkcje supresorowe naturalnych i indukowanych komórek Treg obniżając w nich ekspresję Foxp3 [84]. Wyniki van Amelsfort [87] wykazały jednak supresyjny wpływ komórek Treg pochodzących z krwi chorych na RZS na produkcję TNF- α i IFN- γ , pomimo że większość pacjentów biorących udział w badaniu nie była leczona terapią anty-TNF α . Limfocyty T od pacjentów chorych na RZS paradoksalnie wykazują obniżoną odpowiedź na stymulację (swoistą anergię), co może wynikać z długotrwałej ekspozycji na TNF- α . Przypuszcza się również, że komórki Treg są szczególnie wrażliwe na działanie tej cytokiny, gdyż TNF- α wpływa na komórki T jeszcze w grasicy, a grasicze CD4+CD25+ ludzi zdrowych mają, w porównaniu z komórkami CD4+CD25-, zwiększoną ekspresję receptora typu II dla TNF- α (TNFR_{II}) [3]. Fakt ten może

tłumaczyć, dlaczego u chorych na RZS terapia anty-TNF- α przywraca prawidłowy stan fizjologiczny komórek Treg.

Pomimo opisanej powyżej akumulacji komórek Treg w stawach, w żadnej z badanych grup pacjentów (łuszczycowe zapalenie stawów, spondyloartropatie, młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów, RZS) nie stwierdzono korelacji pomiędzy liczbą komórek Treg w płynie stawowym czy we krwi a nasileniem objawów lub czasem trwania choroby [17]. Z drugiej strony, we krwi dzieci chorych na przetrwałe młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów z zajęciem niewielu stawów (pers-OA JIA – ang. *persistent oligoarticular juvenile idiopathic arthritis*), chorobie wyjątkowej wśród chorób autoimmunizacyjnych ze względu na samoistną remisję, wykazano znaczny wzrost komórek CD4+CD25^{bright} FoxP3+, w porównaniu z tzw. rozszerzającym się podtypem tej choroby (ext-OA JIA – ang. *extended oligoarticular juvenile idiopathic arthritis*), przebiegającym bez remisji [27]. Wyniki te mogą sugerować udział komórek Treg w remisji pers-OA JIA.

Wzrost liczby komórek Treg w stawach, z jednoczesnym spadkiem we krwi, może świadczyć o aktywnej migracji komórek z obwodu do tkanek stawu objętych procesem zapalnym [17]. W wielu modelach infekcyjnych (HSV, leishmania, schistosoma) wykazano, że limfocyty nTreg gromadzą się w zainfekowanych narządach [10]. Podczas chronicznych infekcji, krew może nie być odpowiednią tkanką do oceny obecności tej subpopulacji komórek. Podobnie przypuszcza się, że obniżenie liczby funkcjonalnych limfocytów nTreg we krwi pacjentów zakażonych HIV [2] czy HCV [13] może odzwierciedlać raczej redystrybucję tych komórek niż faktyczne obniżenie ich liczby. Za migrację komórek Treg do tkanek zapalnych mogą odpowiadać chemokiny CC4 i CC8, gdyż komórki te wykazują ekspresję receptorów swoistych dla tych właśnie chemokin. Co więcej, chemokiny te są wytwarzane *in situ*, głównie przez DCs, B i aktywowane makrofagi. Nie można też wykluczyć miejscowego namnażania komórek Treg w stawie objętym procesem zapalnym [17].

Dlaczego niekiedy działanie supresorowe komórek Treg jest nieskuteczne

Warunkami niezbędnymi skutecznej kontroli odpowiedzi immunologicznej przez komórki Treg jest nie tylko ich aktywność supresorowa, ale także podatność na tę supresję limfocytów efektorowych. Wyraźnie obniżoną podatność limfocytów CD4+CD25- na działanie komórek Treg CD4+CD25+ obserwowano w mysim modelu tocznia układowego (myszy MRL/Mp) [61]. Wykazano również, że całkiem niewrażliwe na supresję wywieraną przez komórki Treg są limfocyty CD4+CD25- izolowane od myszy pozbawionych dwóch czynników transkrypcyjnych NFAT: NFATc2/c3^{-/-}. NFAT są krytycznymi aktywatorami odpowiedzi immunologicznej, gdyż kontrolują m.in. ekspresję genów dla cytokin i cząsteczek powierzchniowych. Udowodniono, że brak NFATc2/c3 obniża próg aktywacji komórek T, co w obecności IL-2 pozwala komórkom efektorowym „ucieć od supresji” [12].

Dlaczego pomimo obecności komórek regulatorowych w stawie u osób z chorobami reumatycznymi, możliwy jest miejscowy rozwój chronicznego zapalenia i reakcji autoimmunologicznych? Po pierwsze, być może gdyby nie ich obecność w stawie

reumatycznym, przebieg choroby byłby znacznie bardziej agresywny. Po drugie, pomimo zwiększonej liczby komórek Treg w płynie stawowym, może być ich nadal zbyt mało, aby efektywnie zahamować rozwój choroby. Ponadto badania histochemiczne wskazują, że limfocyty T infiltrujące błonę maziową, gdzie toczy się proces zapalny, rzadko wykazują ekspresję CD25. Dalszych badań wymaga potwierdzenie, czy są to faktycznie komórki regulatorowe, czy też aktywowane patogenne komórki CD4+.

Wydaje się także, że za „oporność” komórek efektorowych na supresję odpowiedzialne są cytokiny: IL-6 [68], IL-7 i IL-15 [72], IL-2 i IL-15 [28]. Ma to szczególne znaczenie w przypadku chorób, w których patogenezie cytokiny te biorą udział, np. w RZS. W reumatoidalnych stawach panują warunki osłabiające efektywne działanie komórek Treg: wysokie stężenie IL-6, która znosi supresyjne działanie Treg [68], niski poziom IL-2 wpływający na ich funkcjonalność [63], a także obecność cząsteczek kostymulujących (np. CD28) [86]. Nie wykazano korelacji pomiędzy poziomem IL-6 a utratą funkcji supresorowych przez komórki Treg izolowane z krwi pacjentów chorych na stwardnienie rozsiane [88]. Natomiast czynnik płytkowy 4 (PF4), choć stymuluje proliferację komórek CD4+CD25+, powoduje także utratę ich właściwości supresorowych. Ponieważ jedynym źródłem PF4 są płytki, te obserwacje przemawiają za udziałem komórek Treg w patogenezie trombocytopenii – choroby o podłożu immunologicznym, związanej z aktywacją płytek [53]. Ponieważ w niektórych tkankach czynność komórek Treg może być znacznie ograniczona przez powyższe cytokiny, to terapie neutralizujące te cytokiny mogą nie tylko obniżyć aktywację komórek T, ale także przywracać funkcje supresorowe komórek Treg [72].

Wpływ na czynność nTreg mają także podstawowe leki immunosupresyjne. Na modelach zwierzęcych wykazano, że cyklosporyna oraz cyklofosfamid indukują autoimmunizację, hamując bardziej funkcje supresorowe komórek CD4+CD25+ niż czynność komórek autoreaktywnych [11]. Z kolei rapamycyna – lek immunosupresyjny zapobiegający odrzucaniu przeszczepów, w warunkach *in vitro* selektywnie stymuluje rozwój mysich komórek CD4+CD25+FOXP3+ [9]. *In vitro* leki immunosupresyjne stymulują też proliferację innej populacji komórek regulatorowych – Tr1 [8]. Ten rodzaj leków stanowi podstawę leczenia chorób autoimmunizacyjnych, w tym chorób reumatycznych. Jednak w chorobach reumatycznych akumulację komórek CD4+CD25+ w stawie obserwuje się niezależnie od rodzaju choroby i stosowanej terapii [17]. Może to wskazywać na próby organizmu zmierzające do ograniczenia chronicznego zapalenia.

Czy można *ex vivo* namnożyć komórki Treg do celów terapeutycznych

Skuteczność immunoterapii z wykorzystaniem komórek regulatorowych jest zależna od dwóch warunków: swoistości antygenowej tych komórek i umiejętności ich namnożenia *ex vivo* bez utraty potencjału supresorowego. Pomimo anergii obserwowanej *in vitro*, w pewnych warunkach komórki Treg CD25+ mogą namnażać się w sposób zależny od antygeny i bez utraty właściwości supresorowych zarówno *in vivo* [23, 89], jak i *in vitro* [35, 38, 41]. Udowodniono, że użycie antygenowo swoistych komórek Treg obniża ich liczbę potrzebną dla efektywnej immunoterapii [42]. U myszy NOD, u których spontanicznie dochodzi do rozwoju cukrzycy typu I, wykazano ponadto,

że antygenowo swoiste komórki Treg mają większe działanie protekcyjne niż komórki namnożone w wyniku stymulacji poliklonalnej [81]. Jako krytyczną dla proliferacji różnych subpopulacji komórek regulatorowych, np. Tr1 [4], a także CD4+CD25+ [43], proponuje się ostatnio IL-15. Poprzez stymulację antygenem i IL-15 udało się otrzymać z populacji CD4+ komórki regulatorowe, których funkcja supresorowa nie jest zależna od TGF- β , IL-10 ani CTLA-4 [43]. Proliferację komórek CD4+CD25+ bez utraty funkcji indukują także dojrzałe komórki DC wywodzące się ze szpiku kostnego (BMDC – ang. *bone marrow-derived DC*) [14]. Są to jedyne spośród wielu subpopulacji DC komórki mające taką właściwość. Co ciekawe, tak namnożone limfocyty Treg nie hamują proliferacji komórek CD4+CD25-, ale znacznie ograniczają ich zdolność do wytwarzania IL-2. Wyniki Skapenko i wsp. wskazują, że także cytokiny produkowane przez limfocyty Th2 (IL-4 i IL-13) mogą odgrywać ważną rolę w antygenowo zależnym, pozagracicznym powstawaniu komórek Treg (Foxp3+CD25+) [78]. Z kolei IL-4, dodana do hodowli zawierającej już komórki Treg i efektorowe (CD25-), znosi supresorowe działanie limfocytów Treg i zwiększa przeżycie subpopulacji CD25- [65]. Wskazuje to na jeszcze jeden – całkowicie fizjologiczny mechanizm regulacji funkcji Treg.

Powyższe obserwacje wskazują, że istnieje możliwość uzyskania *ex vivo* odpowiedniej liczby sprawnych czynnościowo komórek Treg i ich terapeutycznego zastosowania. Postęp badań nad fizjologiczną rolą tych komórek i ich udziałem w procesach patogennych budzi nadzieję, że terapie normalizujące ilościowo i czynnościowo tę subpopulację limfocytów mogą stanowić alternatywę dla stosowanych dotychczas postępowań leczniczych w różnych chorobach.

PIŚMIENNICTWO

- [1] ALBERT MH, ANASETTI C, YU XZ. T regulatory cells as an immunotherapy for transplantation. *Expert Opin Biol Ther* 2006; **6**: 315–324.
- [2] ANDERSSON J, BOASSO A, NILSSON J, ZHANG R, SHIRE NJ, LINDBACK S, SHEARER GM, CHOUGNET CA. The prevalence of regulatory T cells in lymphoid tissue is correlated with viral load in HIV-infected patients. *J Immunol* 2005; **174**: 3143–3147.
- [3] ANNUNZIATO F, COSMI L, LIOTTA F, LAZZERI E, MANETTI R, VANINI V, ROMAGNANI P, MAGGIE, ROMAGNANI S. Phenotype, localization, and mechanism of suppression of CD4(+)CD25(+) human thymocytes. *J Exp Med* 2002; **196**: 379–387.
- [4] BACCHETTA R, SARTIRANA C, LEVINGS MK, BORDIGNON C, NARULA S, RONCAROLO MG. Growth and expansion of human T regulatory type 1 cells are independent from TCR activation but require exogenous cytokines. *Eur J Immunol* 2002; **32**: 2237–2245.
- [5] BAECHER-ALLAN C, VIGLIETTA V, HAFLER DA. Inhibition of human CD4(+)CD25(+high) regulatory T cell function. *J Immunol* 2002; **169**: 6210–6217.
- [6] BARATELLI F, LIN Y, ZHU L, YANG SC, HEUZE-VOURC'H N, ZENG G, RECKAMP K, DOHADWALA M, SHARMA S, DUBINETT SM. Prostaglandin E2 induces FOXP3 gene expression and T regulatory cell function in human CD4+ T cells. *J Immunol* 2005; **175**: 1483–1490.
- [7] BARDOS T, CZIPRI M, VERMES C, FINNEGAN A, MIKECZ K, ZHANG J. CD4+CD25+ immunoregulatory T cells may not be involved in controlling autoimmune arthritis. *Arthritis Res Ther* 2003; **5**: R106–113.
- [8] BARRAT FJ, CUA DJ, BOONSTRA A, RICHARDS DF, CRAIN C, SVELKOUL HF, DE WAAL-MALEFYT R, COFFMAN RL, HAWRYLOWICZ CM, O'GARRA A. *In vitro* generation of interleukin 10-producing regulatory CD4(+) T cells is induced by immunosuppressive drugs and inhibited by T helper type 1 (Th1)- and Th2-inducing cytokines. *J Exp Med* 2002; **195**: 603–616.

- [9] BATTAGLIA M, STABILINI A, RONCAROLO MG. Rapamycin selectively expands CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells. *Blood* 2005; **105**: 4743–4748.
- [10] BELKAID Y, ROUSE BT. Natural regulatory T cells in infectious disease. *Nat Immunol* 2005; **6**: 353–360.
- [11] BERTHELOT JM, MAUGARS Y. Role for suppressor T cells in the pathogenesis of autoimmune diseases (including rheumatoid arthritis). Facts and hypotheses. *Joint Bone Spine* 2004; **71**: 374–380.
- [12] BOPP T, PALMETSHOFER A, SERFLING E, HEIB V, SCHMITT S, RICHTER C, KLEIN M, SCHILD H, SCHMITT E, STASSEN M. NFATc2 and NFATc3 transcription factors play a crucial role in suppression of CD4+ T lymphocytes by CD4+ CD25+ regulatory T cells. *J Exp Med* 2005; **201**: 181–187.
- [13] BOYER O, SAADOUN D, ABRIOL J, DODILLE M, PIETTE JC, CACOUB P, KLATZMANN D. CD4+CD25+ regulatory T-cell deficiency in patients with hepatitis C-mixed cryoglobulinemia vasculitis. *Blood* 2004; **103**: 3428–3430.
- [14] BRINSTER C, SHEVACH EM. Bone marrow-derived dendritic cells reverse the anergic state of CD4+CD25+ T cells without reversing their suppressive function. *J Immunol* 2005; **175**: 7332–7340.
- [15] BRUSKO TM, WASSERFALL CH, AGARWAL A, KAPTURCZAK MH, ATKINSON MA. An integral role for heme oxygenase-1 and carbon monoxide in maintaining peripheral tolerance by CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Immunol* 2005; **174**: 5181–5186.
- [16] CAO D, MALMSTROM V, BAECHER-ALLAN C, HAFLER D, KLARESKOG L, TROLLMO C. Isolation and functional characterization of regulatory CD25brightCD4+ T cells from the target organ of patients with rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol* 2003; **33**: 215–223.
- [17] CAO D, VAN VOLLENHOVEN R, KLARESKOG L, TROLLMO C, MALMSTROM V. CD25brightCD4+ regulatory T cells are enriched in inflamed joints of patients with chronic rheumatic disease. *Arthritis Res Ther* 2004; **6**: R335–346.
- [18] CARAMALHO I, LOPES-CARVALHO T, OSTLER D, ZELENAY S, HAURY M, DEMENGEOT J. Regulatory T cells selectively express toll-like receptors and are activated by lipopolysaccharide. *J Exp Med* 2003; **197**: 403–411.
- [19] CHEN D, ZHANG N, FU S, SCHROPPEL B, GUO Q, GARIN A, LIRA SA, BROMBERG JS. CD4+ CD25+ regulatory T-cells inhibit the islet innate immune response and promote islet engraftment. *Diabetes* 2006; **55**: 1011–1021.
- [20] CHOI BM, PAE HO, JEONG YR, KIM YM, CHUNG HT. Critical role of heme oxygenase-1 in Foxp3-mediated immune suppression. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; **327**: 1066–1071.
- [21] CHORAŻY-MASSAŁSKA M, KONTNY E, MAŚLIŃSKI W. Naturalne komórki regulatorowe (CD4+CD25+). *Post Biol Kom* 2006; **33**: 71–80.
- [22] COSMI L, LIOTTA F, ANGELI R, MAZZINGHI B, SANTARLASCI V, MANETTI R, LASAGNI L, VANINI V, ROMAGNANI P, MAGGI E, ANNUNZIATO F, ROMAGNANI S. Th2 cells are less susceptible than Th1 cells to the suppressive activity of CD25+ regulatory thymocytes because of their responsiveness to different cytokines. *Blood* 2004; **103**: 3117–3121.
- [23] COZZO C, LARKIN J, 3RD, CATON AJ. Cutting edge: self-peptides drive the peripheral expansion of CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Immunol* 2003; **171**: 5678–5682.
- [24] CRELLIN NK, GARCIA RV, HADISFAR O, ALLAN SE, STEINER TS, LEVINGS MK. Human CD4+ T cells express TLR5 and its ligand flagellin enhances the suppressive capacity and expression of FOXP3 in CD4+CD25+ T regulatory cells. *J Immunol* 2005; **175**: 8051–8059.
- [25] CURIEL TJ, COUKOS G, ZOU L, ALVAREZ X, CHENG P, MOTTRAM P, EVDEMON-HOGAN M, CONEJO-GARCIA JR, ZHANG L, BUROW M, ZHU Y, WEI S, KRYCZEK I, DANIEL B, GORDON A, MYERS L, LACKNER A, DISIS ML, KNUTSON KL, CHEN L, ZOU W. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Nat Med* 2004; **10**: 942–949.
- [26] DANNULL J, SU Z, RIZZIERI D, YANG BK, COLEMAN D, YANCEY D, ZHANG A, DAHM P, CHAO N, GILBOA E, VIEWEG J. Enhancement of vaccine-mediated antitumor immunity in cancer patients after depletion of regulatory T cells. *J Clin Invest* 2005; **115**: 3623–3633.
- [27] DE KLEER IM, WEDDERBURN LR, TAAMS LS, PATEL A, VARSANI H, KLEIN M, DE JAGER W, PUGAYUNG G, GIANNONI F, RIJKERS G, ALBANI S, KUIS W, PRAKKEN B. CD4+CD25bright regulatory T cells actively regulate inflammation in the joints of patients with the remitting form of juvenile idiopathic arthritis. *J Immunol* 2004; **172**: 6435–6443.
- [28] DIECKMANN D, PLOTTNER H, BERCHTOLD S, BERGER T, SCHULER G. Ex vivo isolation and characterization of CD4(+)CD25(+) T cells with regulatory properties from human blood. *J Exp Med* 2001; **193**: 1303–1310.

- [29] EHRENSTEIN MR, EVANS JG, SINGH A, MOORE S, WARNES G, ISENBERG DA, 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.
- [30] FALLARINO F, GROHMANN U, HWANG KW, ORABONA C, VACCA C, BIANCHI R, BELLADONNA ML, FIORETTI MC, ALEGRE ML, PUCCETTI P. Modulation of tryptophan catabolism by regulatory T cells. *Nat Immunol* 2003; **4**: 1206–1212.
- [31] FINGER EB, BLUESTONE JA. When ligand becomes receptor-tolerance via B7 signaling on DCs. *Nat Immunol* 2002; **3**: 1056–1057.
- [32] FRITZSCHING B, OBERLE N, EBERHARDT N, QUICK S, HAAS J, WILDEMANN B, KRAMMER PH, SURI-PAYER E. In contrast to effector T cells, CD4+CD25+FoxP3+ regulatory T cells are highly susceptible to CD95 ligand- but not to TCR-mediated cell death. *J Immunol* 2005; **175**: 32–36.
- [33] FRITZSCHING B, OBERLE N, PAULY E, GEFFERS R, BUER J, POSCHL J, KRAMMER P, LINDER-KAMP O, SURI-PAYER E. Naive regulatory T cells: a novel subpopulation defined by resistance towards CD95L-mediated cell death. *Blood* 2006 Jul 25 [Epub ahead of print].
- [34] FUJINAMI RS. A tax on luxury: HTLV-I infection of CD4(+)CD25(+) Tregs. *J Clin Invest* 2005; **115**: 1144–1146.
- [35] GODFREY WR, GE YG, SPODEN DJ, LEVINE BL, JUNE CH, BLAZAR BR, PORTER SB. *In vitro*-expanded human CD4(+)CD25(+) T-regulatory cells can markedly inhibit allogeneic dendritic cell-stimulated MLR cultures. *Blood* 2004; **104**: 453–461.
- [36] GREGG R, SMITH CM, CLARK FJ, DUNNION D, KHAN N, CHAKRAVERTY R, NAYAK L, MOSS PA. The number of human peripheral blood CD4+ CD25high regulatory T cells increases with age. *Clin Exp Immunol* 2005; **140**: 540–546.
- [37] HEIKKINEN J, MOTTONEN M, ALANEN A, LASSILA O. Phenotypic characterization of regulatory T cells in the human decidua. *Clin Exp Immunol* 2004; **136**: 373–378.
- [38] HOFFMANN P, EDER R, KUNZ-SCHUGHART LA, ANDRESEN R, EDINGER M. Large-scale *in vitro* expansion of polyclonal human CD4(+)CD25high regulatory T cells. *Blood* 2004; **104**: 895–903.
- [39] HOFFMANN P, ERMANN J, EDINGER M, FATHMAN CG, STROBER S. Donor-type CD4(+)CD25(+) regulatory T cells suppress lethal acute graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation. *J Exp Med* 2002; **196**: 389–399.
- [40] JASPER MJ, TREMELLEN KP, ROBERTSON SA. Primary unexplained infertility is associated with reduced expression of the T-regulatory cell transcription factor Foxp3 in endometrial tissue. *Mol Hum Reprod* 2006; **12**: 301–308.
- [41] JIANG S, CAMARA N, LOMBARDI G, LECHLER RI. Induction of allopeptide-specific human CD4+CD25+ regulatory T cells *ex vivo*. *Blood* 2003; **102**: 2180–2186.
- [42] KOENEN HJ, FASSE E, JOOSTEN I. CD27/CFSE-based *ex vivo* selection of highly suppressive alloantigen-specific human regulatory T cells. *J Immunol* 2005; **174**: 7573–7583.
- [43] KOENEN HJ, FASSE E, JOOSTEN I. IL-15 and cognate antigen successfully expand *de novo*-induced human antigen-specific regulatory CD4+ T cells that require antigen-specific activation for suppression. *J Immunol* 2003; **171**: 6431–6441.
- [44] KONTNY E, RUDNICKA W, MAŚLIŃSKI W. Receptory TOLL-podobne: znaczenie fizjologiczne i udział w patogenezie chorób reumatycznych. *Reumatologia* 2004; **42**: 551–566.
- [45] KRETSCHMER K, APOSTOLOU I, HAWIGER D, KHAZAIE K, NUSSENZWEIG MC, VON BOEHMER H. Inducing and expanding regulatory T cell populations by foreign antigen. *Nat Immunol* 2005; **6**: 1219–1227.
- [46] KRIEGLER MA, LOHMANN T, GABLER C, BLANK N, KALDEN JR, LORENZ HM. Defective suppressor function of human CD4+ CD25+ regulatory T cells in autoimmune polyglandular syndrome type II. *J Exp Med* 2004; **199**: 1285–1291.
- [47] LA CAVA A, VAN KAER L, FU DONG S. CD4+CD25+ Tregs and NKT cells: regulators regulating regulators. *Trends Immunol* 2006; **27**: 322–327.
- [48] LAVIE F, GOTTENBERG J-E, ABBED K, GASNAULD J. CD4CD25 regulatory T cells are not impaired in patients with primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum* 2004; **50**: S223.
- [49] LEE JH, WANG LC, LIN YT, YANG YH, LIN DT, CHIANG BL. Inverse correlation between CD4+ regulatory T-cell population and autoantibody levels in paediatric patients with systemic lupus erythematosus. *Immunology* 2006; **117**: 280–286.
- [50] LEWKOWICZ P, LEWKOWICZ N, TCHÓRZEWSKI H. CD4+CD25+ T regulatory cells in pathophysiology and therapy of immunologic diseases. *Post Hig Med Dosw* 2005; **59**: 371–376.

- [51] LEWKOWICZ P, LEWKOWICZ N, TCHÓRZEWSKI H. CD4+CD25+ T regulatory cells: their physiology and role in modulating immune response. *Post Hig Med Dosw* 2005; **59**: 362–370.
- [52] LIM HW, HILLSAMER P, BANHAM AH, KIM CH. Cutting edge: direct suppression of B cells by CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Immunol* 2005; **175**: 4180–4183.
- [53] LIU CY, BATTAGLIA M, LEE SH, SUN QH, ASTER RH, VISENTIN GP. Platelet factor 4 differentially modulates CD4+CD25+ (regulatory) versus CD4+CD25- (nonregulatory) T cells. *J Immunol* 2005; **174**: 2680–2686.
- [54] LIU H, KOMAI-KOMA M, XU D, LIEW FY. Toll-like receptor 2 signaling modulates the functions of CD4+ CD25+ regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; **103**: 7048–7053.
- [55] LIU W, PUTNAM AL, XU-YU Z, SZOT GL, LEE MR, ZHU S, GOTTLIEB PA, KAPRANOV P, GINGERAS TR, DE ST GROTH BF, CLAYBERGER C, SOPER DM, ZIEGLER SF, BLUESTONE JA. CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4(+) T reg cells. *J Exp Med* 2006; **203**: 1701–1711.
- [56] LIYANAGE UK, MOORE TT, JOO HG, TANAKA Y, HERRMANN V, DOHERTY G, DREBIN JA, STRASBERG SM, EBERLEIN TJ, GOEDEGEBOURE PS, LINEHAN DC. Prevalence of regulatory T cells is increased in peripheral blood and tumor microenvironment of patients with pancreas or breast adenocarcinoma. *J Immunol* 2002; **169**: 2756–2761.
- [57] MAHIC M, YAQUB S, JOHANSSON CC, TASKEN K, AANDAHLM EM. FOXP3+CD4+CD25+ adaptive regulatory T cells express cyclooxygenase-2 and suppress effector T cells by a prostaglandin E2-dependent mechanism. *J Immunol* 2006; **177**: 246–254.
- [58] McDAID J, YAMASHITA K, CHORA A, OLLINGER R, STROM TB, LI XC, BACH FH, SOARES MP. Heme oxygenase-1 modulates the allo-immune response by promoting activation-induced cell death of T cells. *FASEB J* 2005; **19**: 458–460.
- [59] MELLOR AL, MUNN D. Policing pregnancy: Tregs help keep the peace. *Trends Immunol* 2004; **25**: 563–565.
- [60] MIYARA M, AMOURA Z, PARIZOT C, COSTEDOAT-CHALUMEAU N, HAROCHE J. Perturbation of CD4+CD25+++/CD4+CD25++ T cell balance in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2004; **50**: S222.
- [61] MONK CR, SPACHIDOU M, ROVIS F, LEUNG E, BOTTO M, LECHLER RI, GARDEN OA. MRL/Mp CD4+,CD25- T cells show reduced sensitivity to suppression by CD4+,CD25+ regulatory T cells *in vitro*: a novel defect of T cell regulation in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2005; **52**: 1180–1184.
- [62] MORGAN ME, SUTMULLER RP, WITTEVEEN HJ, VAN DUIVENVOORDE LM, ZANELLI E, MELIEF CJ, SNIJDERS A, OFFRINGA R, DE VRIES RR, TOES RE. CD25+ cell depletion hastens the onset of severe disease in collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; **48**: 1452–1460.
- [63] NELSON BH. IL-2, regulatory T cells, and tolerance. *J Immunol* 2004; **172**: 3983–3988.
- [64] OH GS, PAE HO, CHOI BM, CHAE SC, LEE HS, RYU DG, CHUNG HT. 3-Hydroxyanthranilic acid, one of metabolites of tryptophan via indoleamine 2,3-dioxygenase pathway, suppresses inducible nitric oxide synthase expression by enhancing heme oxygenase-1 expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; **320**: 1156–1162.
- [65] PACE L, PIOLI C, DORIA G. IL-4 modulation of CD4+CD25+ T regulatory cell-mediated suppression. *J Immunol* 2005; **174**: 7645–7653.
- [66] PAE HO, OH GS, CHOI BM, CHAE SC, CHUNG HT. Differential expressions of heme oxygenase-1 gene in CD25- and CD25+ subsets of human CD4+ T cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; **306**: 701–705.
- [67] PAE HO, OH GS, CHOI BM, CHAE SC, KIM YM, CHUNG KR, CHUNG HT. Carbon monoxide produced by heme oxygenase-1 suppresses T cell proliferation via inhibition of IL-2 production. *J Immunol* 2004; **172**: 4744–4751.
- [68] PASARE C, MEDZHITOV R. Toll pathway-dependent blockade of CD4+CD25+ T cell-mediated suppression by dendritic cells. *Science* 2003; **299**: 1033–1036.
- [69] PENG G, GUO Z, KINIWA Y, VOO KS, PENG W, FU T, WANG DY, LI Y, WANG HY, WANG RF. Toll-like receptor 8-mediated reversal of CD4+ regulatory T cell function. *Science* 2005; **309**: 1380–1384.
- [70] POLANCZYK MJ, CARSON BD, SUBRAMANIAN S, AFENTOULIS M, VANDENBARK AA, ZIEGLER SF, OFFNER H. Cutting edge: estrogen drives expansion of the CD4+CD25+ regulatory T cell compartment. *J Immunol* 2004; **173**: 2227–2230.
- [71] ROSNER I, MAHMUDOV Z, KESSEL A, SLOBODIN G. Active RA patients' increased CD4+CD25+ T cells apoptosis is reduced by Infliximab. *Arthritis Rheum* 2004; **50**: S108.

- [72] RUPRECHT CR, GATTORNO M, FERLITO F, GREGORIO A, MARTINI A, LANZAVECCHIA A, SALLUSTO F. Coexpression of CD25 and CD27 identifies FoxP3⁺ regulatory T cells in inflamed synovia. *J Exp Med* 2005; **201**: 1793–1803.
- [73] RYBA M, MYŚLIWSKA J. Biologia naturalnych limfocytów regulatorowych CD4⁺CD25⁺. *Post Biol Kom* 2006; **33**: 427–436.
- [74] RYTER SW, OTTERBEIN LE, MORSE D, CHOI AM. Heme oxygenase/carbon monoxide signaling pathways: regulation and functional significance. *Mol Cell Biochem* 2002; **234–235**: 249–263.
- [75] SAKAGUCHI S. Control of immune responses by naturally arising CD4⁺ regulatory T cells that express toll-like receptors. *J Exp Med* 2003; **197**: 397–401.
- [76] SEDDIKI N, SANTNER-NANAN B, MARTINSON J, ZAUNDERS J, SASSON S, LANDAY A, SOLOMON M, SELBY W, ALEXANDER SI, NANAN R, KELLEHER A, FAZEKAS DE ST GROTH B. Expression of interleukin (IL)-2 and IL-7 receptors discriminates between human regulatory and activated T cells. *J Exp Med* 2006; **203**: 1693–1700.
- [77] SHARMA S, YANG SC, ZHU L, RECKAMP K, GARDNER B, BARATELLI F, HUANG M, BATRA RK, DUBINETT SM. Tumor cyclooxygenase-2/prostaglandin E2-dependent promotion of FOXP3 expression and CD4⁺ CD25⁺ T regulatory cell activities in lung cancer. *Cancer Res* 2005; **65**: 5211–5220.
- [78] SKAPENKO A, KALDEN JR, LIPSKY PE, SCHULZE-KOOPS H. The IL-4 receptor alpha-chain-binding cytokines, IL-4 and IL-13, induce forkhead box P3-expressing CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells from CD25⁺CD4⁺ precursors. *J Immunol* 2005; **175**: 6107–6116.
- [79] SOMERSET DA, ZHENG Y, KILBY MD, SANSOM DM, DRAYSON MT. Normal human pregnancy is associated with an elevation in the immune suppressive CD25⁺ CD4⁺ regulatory T-cell subset. *Immunology* 2004; **112**: 38–43.
- [80] SUTMULLER RP, DEN BROK MH, KRAMER M, BENNINK EJ, TOONEN LW, KULLBERG BJ, JOOSTEN LA, AKIRA S, NETEA MG, ADEMA GJ. Toll-like receptor 2 controls expansion and function of regulatory T cells. *J Clin Invest* 2006; **116**: 485–494.
- [81] TARBELL KV, YAMAZAKI S, OLSON K, TOY P, STEINMAN RM. CD25⁺ CD4⁺ T cells, expanded with dendritic cells presenting a single autoantigenic peptide, suppress autoimmune diabetes. *J Exp Med* 2004; **199**: 1467–1477.
- [82] TAYLOR PA, PANOSKALTSIS-MORTARI A, SWEDIN JM, LUCAS PJ, GRESS RE, LEVINE BL, JUNE CH, SERODY JS, BLAZAR BR. L-Selectin(hi) but not the L-selectin(lo) CD4⁺25⁺ T-regulatory cells are potent inhibitors of GVHD and BM graft rejection. *Blood* 2004; **104**: 3804–3812.
- [83] TEITELBAUM SL. Postmenopausal osteoporosis, T cells, and immune dysfunction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; **101**: 16711–16712.
- [84] VALENCIA X, STEPHENS G, GOLDBACH-MANSKY R, WILSON M, SHEVACH EM, LIPSKY PE. TNF downmodulates the function of human CD4⁺CD25^{hi} T-regulatory cells. *Blood* 2006; **108**: 253–261.
- [85] VALZASINA B, PICONESI S, GUIDUCCI C, COLOMBO MP. Tumor-induced expansion of regulatory T cells by conversion of CD4⁺CD25⁺ lymphocytes is thymus and proliferation independent. *Cancer Res* 2006; **66**: 4488–4495.
- [86] VAN AMELSFORT J, NOORDEGRAAF M, BIJLSMA J, TAAMS LS. Influence of the inflammatory milieu on the suppressive function of CD4⁺CD25⁺ T cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; **50**: S526.
- [87] VAN AMELSFORT JM, JACOBS KM, BIJLSMA JW, LAFEVER FP, TAAMS LS. CD4⁽⁺⁾CD25⁽⁺⁾ regulatory T cells in rheumatoid arthritis: differences in the presence, phenotype, and function between peripheral blood and synovial fluid. *Arthritis Rheum* 2004; **50**: 2775–2785.
- [88] VIGLIETTA V, BAECHER-ALLAN C, WEINER HL, HAFLER DA. Loss of functional suppression by CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in patients with multiple sclerosis. *J Exp Med* 2004; **199**: 971–979.
- [89] WALKER LS, CHODOS A, EGGENA M, DOOMS H, ABBAS AK. Antigen-dependent proliferation of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells *in vivo*. *J Exp Med* 2003; **198**: 249–258.
- [90] WOO EY, CHU CS, GOLETZ TJ, SCHLIENGER K, YEH H, COUKOS G, RUBIN SC, KAISER LR, JUNE CH. Regulatory CD4⁽⁺⁾CD25⁽⁺⁾ T cells in tumors from patients with early-stage non-small cell lung cancer and late-stage ovarian cancer. *Cancer Res* 2001; **61**: 4766–4772.
- [91] YANG XH, YAMAGIWA S, ICHIDA T, MATSUDA Y, SUGAHARA S, WATANABE H, SATO Y, ABO T, HORWITZ DA, AOYAGI Y. Increase of CD4⁽⁺⁾CD25⁽⁺⁾ regulatory T-cells in the liver of patients with hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2006; **45**: 254–262.

- [92] YVONES, VIGOUROUX S, ROUSSEAU RF, BIAGIE, AMROLIA P, DOTTI G, WAGNER HJ, BRENNER MK. Overexpression of the Notch ligand, Jagged-1, induces alloantigen-specific human regulatory T cells. *Blood* 2003; **102**: 3815–3821.
- [93] ZHAO DM, THORNTON AM, DIPAOLO RJ, SHEVACH EM. Activated CD4+CD25+ T cells selectively kill B lymphocytes. *Blood* 2006; **107**: 3925–3932.
- [94] ZHENG Y, MANZOTTI CN, LIU M, BURKE F, MEAD KI, SANSOM DM. CD86 and CD80 differentially modulate the suppressive function of human regulatory T cells. *J Immunol* 2004; **172**: 2778–2784.
- [95] ŻYLICZ M, BOCIANK, KORCZAK-KOWALSKA G. Regulatory cells: their development, mechanisms and effects of action, and their potential use in transplantation. *Post Hig Med Dosw* 2005; **59**: 160–171.

Redaktor prowadzący – Barbara Płytycz

Otrzymano: 17.09. 2006 r.

Przyjęto: 27.10. 2006 r.

ul..Spartańska 1, 02-637 Warszawa,

e-mail: zpatiir@warman.com.pl

e-mail: MChorazy@ir.ids.pl