

Т регуляторные клетки при системной красной волчанке и ревматоидном артрите

А.В. Торгашина, С.Ю. Быковская, С.К. Соловьев, Е.Л. Насонов
НИИР РАМН, Москва

Способность иммунной системы дискриминировать между «своим» и «чужим» контролируется механизмами центральной и периферической толерантности. Это может быть элиминация аутореактивных клонов Т клеток на ранних стадиях развития тимуса (центральная толерантность) или на периферии, при участии таких механизмов, как анергия, игнорирование и супрессия. Супрессию осуществляют субклассы CD4⁺ Т лимфоцитов, которые образуются для подавления аутореактивных Т лимфоцитов и названы регуляторными Т клетками (Трег) [1-3].

Известно три наиболее изученных субкласса CD4⁺ Т клеток, ответственных за иммуносупрессию, которые включают Т-регуляторные клетки 1 класса (Tr1), Th3 и CD4⁺CD25⁺ Т клетки. Tr1 продуцируют интерлейкин (ИЛ)-10, и могут быть индуцированы из CD4⁺ Т клеток повторной антигенной стимуляцией в присутствии ИЛ-10 или незрелых дендритных клеток (ДК) [4]. Клетки Th3 секретируют трансформирующий фактор роста-β (ТФР-β) и неспецифически ингибируют эффект активированных Т лимфоцитов [5].

Ведущая роль среди клеток с регуляторной активностью принадлежит уникальной популяции Т лимфоцитов CD4⁺CD25⁺, которые рождаются в тимусе и заселяют периферические лимфоидные органы в первые 3-4 дня неонатального развития. Эти клетки называют *естественными* регуляторными клетками (eТрег); они составляют 5-10% периферических CD4⁺ Т клеток мыши и человека и подавляют активацию и эффекторные функции аутореактивных Т клеток [6, 7]. Неонатальная тимэктомия на 3-й день после рождения препятствует расселению Трег на периферию и вызывает развитие органоспецифических аутоиммунных заболеваний, таких как тиреоидиты, оофориты, артриты, гломерулонефриты [8]. Адоптивный перенос CD4⁺CD25⁺ Т клеток от нормальных мышей нейтрализует развитие полиаутоиммунного синдрома, что свидетельствует о

критической роли этих клеток в развитии периферической толерантности к аутоантигенам [9].

Естественные Трег анэргичны, они не могут пролиферировать или секретировать цитокины в ответ на антигенспецифическую стимуляцию, но подавляют активацию обычных CD4⁺CD25⁻ и CD8⁺ Т клеток [10]. Выделенные из периферической крови человека Трег ингибируют эффект обычных Т клеток контакт-зависимым и дозозависимым способом. Трег могут снижать продукцию антител В лимфоцитами [11], цитотоксичность и продукцию интерферона гамма (ИФ-γ) натуральными киллерами (НК), [12], эффект цитотоксических Т клеток [13], функции моноцитов и ДК [14].

Функциональное удаление eТрег, с одной стороны, приводит к возникновению мультиорганного полиаутоиммунного синдрома, но с другой, — усиливает иммунитет против опухолей и микробных патогенов [1].

В норме Трег представляют небольшую субпопуляцию CD4⁺ клеток, которые характеризуются постоянной экспрессией α-цепи рецептора ИЛ-2 (CD25). В отличие от обычных CD4⁺ Т клеток, которые на разных стадиях активации могут проявлять умеренную экспрессию CD25⁺, 2-4% CD4⁺ Т клеток проявляют высокую степень экспрессии CD25⁺⁺ (CD4⁺CD25^{high}) и, как было показано, только эти клетки обладают супрессорной активностью [15].

Недавно выявлен альтернативный маркер CD25⁻-рецептор ИЛ-7, CD127⁺. Этот новый маркер усиливает степень идентификации и повышает шансы успешной очистки Трег [16,17].

Другой характерный маркер Трег — продукт гена Foxp3 [18]. Трег экспрессируют высокие уровни Foxp3 [19], который является ключевым фактором транскрипции при развитии естественных CD4⁺CD25⁺ Т клеток. Например, eТрег CD4⁺CD25⁺ не выявляются у мышей с выключенным геном Foxp3 (Foxp3^{-/-}). У таких животных развиваются фатальные аутоиммунные и воспалительные заболевания [20].

У людей с мутациями гена Foxp3 отсутствуют функционирующие Трег, что приводит к развитию иммунодисрегуляции, полиэндокринопатии и

энтеропатии, синдрома, связанного с дефектом X хромосомы [21].

Помимо вышеперечисленных основных маркёров, Трег экспрессируют цитотоксический лимфоцитарный антиген-4 (CTLA-4), глюкокортикоид-индуцированный рецептор фактора некроза опухоли-ФНО (GITR), CD62L^{high}, рецептор ФНО, OX-40, CD45RB, CCR4, CCR7, CCR8 и другие маркёры [22].

Индукцированные Т регуляторные клетки (иТрег). На протяжении всей жизни Трег возникают в периферии как следствие иммунных реакций под воздействием разнообразных факторов, что подтверждает их постстимулическое развитие. В культурах *ex vivo* Трег можно индуцировать из субпопуляции клеток CD4⁺CD25⁻ в присутствии ИЛ-2 или ТФР-β и в отсутствие костимуляторных сигналов антиген-презентирующих клеток [23].

Фенотип и функция иТрег не отличаются от тех, которые наблюдаются у еТрег. Оба типа клеток осуществляют супрессию через контакт-зависимый механизм, который до настоящего времени плохо изучен [24] (табл. 1).

Системная красная волчанка (СКВ) – хроническое аутоиммунное заболевание с широким спектром клинических проявлений, варьирующих от кожных изменений до тяжёлых системных поражений органов. СКВ характеризуется активацией В клеток и потерей толерантности иммунной системы больного к собственным антигенам, ведущей к образованию аутоантител и иммунокомплексному поражению тканей [30]. Подобное нарушение толерантности многие авторы объясняют подавлением популяции Трег клеток [31].

Изменение количества и функциональных особенностей Трег при СКВ описано в работах, приводящих зачастую противоречивые результаты. В первых исследованиях, посвященных этой проблеме, авторы отмечали уменьшение количества Трег у больных СКВ вне зависимости от активности заболевания или органного поражения по сравнению с контрольной группой здоровых доноров [32]. Например, в исследовании J.C. Crispin и соавт. приняли участие нелеченные больные с только что установленным диагнозом СКВ. Результаты, полученные авторами, позволили им сделать вывод,

Таблица 1

ХАРАКТЕРИСТИКА РАЗЛИЧНЫХ ПОДТИПОВ Т РЕГУЛЯТОРНЫХ КЛЕТОК В СРАВНЕНИИ С АКТИВИРОВАННЫМИ ЭФФЕКТОРНЫМИ Т ЛИМФОЦИТАМИ

Подтип Т рег клеток	Характерные маркёры	Механизм супрессии	Происхождение
Естественные Трег	CD4+CD25 ^{high} FoxP3+CTLA4+IL7R ^{low} GITR+ Постоянная экспрессия	Контакт-зависимый, CTLA4, ИЛ-10, ТФР-β	Тимус
Индукцированные Трег	FoxP3+CTLA4+GITR+CD62L +/- Постоянная экспрессия	Контакт-зависимый и в некоторых случаях ТФР-β – зависимый	Периферия, преобразование наивных CD4+ Т клеток
Активированные эффекторные CD4+ Т клетки	CD4+CD25+FoxP3+HLA-DR+CD62L +/- Кратковременная экспрессия	Не имеют супрессорных функций	Тимус, периферия

Сокращения: CTLA4 – цитотоксический Т лимфоцит-ассоциированный протеин 4, FoxP3 – forkhead box P3 фактор транскрипции, HLA-DR – главный комплекс гистосовместимости, класс II; ИЛ-7R – интерлейкин 7 рецептор (CD127), GITR – глюкокортикоид-индуцированный рецептор фактора некроза опухоли.

Трег и аутоиммунные заболевания.

Отсутствие или дефект Трег показаны на мышинных моделях аутоиммунных заболеваний, таких как экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит, экспериментальный аутоиммунный гастрит. В различных мышинных моделях значительно сниженное содержание клеток CD4⁺CD25⁺ коррелирует с продукцией аутоантител и началом люпус-подобного заболевания [25].

Неспособность Трег подавлять активированные Т клетки имеет тяжёлые последствия при аутоиммунных заболеваниях человека. Дефектная функция Т лимфоцитов CD4⁺CD25^{high} периферической крови, взятых у больных рассеянным склерозом, диабетом первого типа, псориазом, аутоиммунной миастенией, ревматоидным артритом, по сравнению со здоровыми донорами, показана разными группами исследователей [26-29]. Потеря функции Трег при аутоиммунных заболеваниях коррелирует со снижением уровней экспрессии Foxp3.

что у больных с высокой активностью заболевания наиболее выражено снижение Трег в периферической крови [33]. Однако результаты этих первых работ трудно интерпретировать, поскольку фенотипический анализ не учитывал разницы между регуляторными и активированными эффекторными CD4⁺CD25⁺ (Трег клетки человека составляют только CD4⁺CD25^{high} фракцию).

В работе X. Valencia и соавт. показано снижение количества CD4⁺CD25^{high} Т рег клеток в периферической крови больных активной СКВ по сравнению с больными в ремиссии и донорами. Было установлено, что у больных с высокой активностью заболевания наблюдается снижение уровня FoxP3, а у больных с невысокой активностью экспрессия FoxP3 Трег клетками не отличалась от таковой у здоровых доноров [34]. Обнаруженное M. Miyaга и соавт. снижение Трег клеток у больных СКВ также коррелировало с активностью заболевания, но не зависело от спектра органного поражения [35].

Снижение количества FoxP3⁺ Трег клеток выявлено и у больных СКВ детского возраста [36].

По имеющимся данным, стимуляция Т клеточных рецепторов CD4⁺CD25⁻Foxp3⁻ Т клеток ведет к кратковременной индукции Foxp3 экспрессии на CD4⁺ и на CD8⁺ Т клетках, не вызывая появления в этих клетках супрессорных функций [37-39]. Например, M. Bonelli и соавт. обнаружили CD4⁺CD25⁻Foxp3⁺ Т клетки, а также повышение количества Foxp3⁺ Т клеток среди субпопуляции CD4⁺CD25^{high} у больных СКВ с высокой степенью активности заболевания. Таким образом, хроническая Т клеточная активация при СКВ может привести к увеличению количества активированных Т клеток, не обладающих супрессорными функциями [40]. Данные последующих работ оказались противоречивыми, некоторые исследователи не находят изменения количества Трег в крови больных СКВ [41].

Не существует единого мнения и относительно изменения функциональной активности Трег у больных СКВ. Так, например, X. Valensia и соавт. сообщили о значительном снижении супрессорной функции CD4⁺CD25^{high} Трег периферической крови больных с активной СКВ по сравнению с донорами или больными в ремиссии [34].

Напротив, в вышеупомянутом исследовании M. Miyara и соавт. были протестированы клетки CD4⁺CD25^{high} здоровых доноров и больных СКВ с разной степенью активности заболевания на способность подавлять пролиферацию аутологических Т лимфоцитов и секрецию цитокинов. Трег клетки больных СКВ и здоровых доноров одинаково эффективно ингибировали пролиферацию аутологических Т лимфоцитов и подавляли Th1 и Th2 цитокиновую секрецию [35].

Нами была изучена функциональная активность Трег клеток больных СКВ, взятых до назначения иммуносупрессивной и глюкокортикоидной (ГК) терапии, или на фоне приема ГК и цитостатиков, а также в группе здоровых доноров. Трег клетки CD4⁺CD25⁺ больных СКВ подавляли пролиферацию на 35-52% CD8⁺ Т клеток. Таким образом, способность Трег клеток ингибировать пролиферацию CD4⁺ и CD8⁺ была существенно снижена у всех больных по сравнению с контрольной группой здоровых доноров [42]. Примечательно, что в исследовании X. Valencia и соавт. стимуляция *in vitro* CD4⁺CD25^{high} Трег клеток больных с высокой активностью СКВ способствовала увеличению FoxP3 mRNA и восстанавливала их супрессорные функции. Эти данные впервые продемонстрировали обратимость функционального дефекта Трег клеток [34].

Снижение количества Трег в периферической крови больных с высокой активностью СКВ некоторые авторы объясняют перераспределением клеток с их последующим накоплением в лимфоидных или других пораженных тканях [32,33]. Однако M. Miyara и соавт., определяя локализацию

CD4⁺CD25^{high} Т клеток в тканях больных СКВ, обнаружили значительное снижение количества Трег в лимфатических узлах больных по сравнению с контрольной группой. Содержание Трег клеток в ткани биоптата почки больных с волчаночным нефритом и в ткани селезенки больных с тромбоцитопенией не было увеличено. Авторы делают вывод, что при СКВ не происходит аккумуляции Трег в пораженных органах и тканях, а, напротив, наблюдается общее истощение этой субпопуляции [35].

В исследовании B. Franz и соавт. проанализировано содержание Трег клеток в пораженной коже больных красной волчанкой (КВ). Выявлена CD4⁺ Т клеточная инфильтрация, соответствующая, наблюдаемой при других воспалительных заболеваниях кожи (псориаз, атопический дерматит, экзема). Количество Трег клеток в коже больных кожной формой красной волчанки (ККВ) оказалось значительно меньше, чем при других заболеваниях кожи. Снижение количества Трег клеток в дермальных инфильтратах не зависело от подтипа КВ. Поскольку в этом исследовании у больных ККВ обнаружено нормальное количество циркулирующих Трег клеток, неизменная чувствительность Трег к CD95L-зависимому апоптозу и супрессорная активность, сходная с группой здорового контроля, подобное уменьшение содержания Трег клеток в пораженной коже при ККВ, скорее всего, определяется спецификой заболевания, а не дефектами самих Трег клеток. Снижение количества Трег в коже отражает, вероятно, ограничение воспалительного процесса при ККВ, в то время как уменьшение циркулирующих Трег и их дисфункция ведут к развитию СКВ с вовлечением в процесс различных органов и тканей [43].

Среди других причин снижения Трег клеток при СКВ рассматривается повышенная чувствительность к апоптозу. Для Трег клеток здорового человека характерна экспрессия CD95 (Fas), но чувствительность этих клеток к CD95-опосредованной активной индукции клеточной смерти не изменена [44]. Трег клетки больных СКВ, напротив, гиперчувствительны к апоптозу, опосредованному Fas лигандом. Таким образом, массивное образование аутоантител при развитии СКВ может вызвать чрезмерную индукцию апоптоза, в результате чего происходит элиминация Трег клеток *in vivo* [35].

Кроме того, существует точка зрения, что дефект Т клеточной супрессии при СКВ не связан с нарушением количества или функции CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ клеток, а определяется повышенной резистентностью CD4⁺CD25⁻ эффекторных клеток к подавлению аутологичными регуляторными клетками [45].

Противоречивые результаты исследований содержания Трег при СКВ привлекли внимание к иммуносупрессивной терапии, получаемой больными. Так, в работе A. Suarez и соавт. уровень Трег у нелеченных больных СКВ не отличался от конт-

роля, в то время как у больных, получавших терапию ГК, количество Трег клеток было значительно увеличено. Повышение уровня Трег имело дозозависимый характер и не наблюдалось у больных, получавших менее 5 мг/сут преднизолона. В то же время количество Трег CD4⁺CD25^{high} в крови больных СКВ, принимающих цитостатики или антималярийные препараты, не отличалось от нелеченных больных и здоровых доноров [46]. Следует также отметить, что дексаметазон и ИЛ-7, добавленные *in vitro* в культуру лимфоцитов человека, увеличивали концентрацию CD4⁺CD25⁺ Т клеток и повышали количество CD25 молекул на поверхности клеток [47]. Однако до конца не определено, каким образом ГК увеличивают количество Трег. Возможно, они стимулируют индукцию или экспансию предшественников Трег клеток или индуцируют селективный апоптоз CD4⁺CD25⁻ Т клеток [48].

В проведенном нами исследовании было изучено количество CD4⁺CD25^{high} Трег клеток у 43 больных СКВ, 20 из которых находились на ранней стадии заболевания до назначения иммуносупрессивной терапии. В группе нелеченных больных наблюдалось уменьшение количества CD4⁺CD25⁺ и CD4⁺CD25^{high} клеток по сравнению с больными, получающими иммуносупрессивную терапию. Коэкспрессия FoxP3 CD4⁺CD25⁺ Т клетками была значительно снижена в обеих группах и не зависела от получаемой больными терапии [42].

В нескольких исследованиях авторы определяли изменение количества Трег клеток на фоне анти-В-клеточной терапии ритуксимабом (PM), которая в настоящее время активно применяется у больных СКВ, рефрактерных к традиционным иммуносупрессивным методам лечения. PM представляет собой химерные моноклональные антитела к CD20 антигену В-лимфоцитов. Поскольку функции В и Т лимфоцитов взаимосвязаны, при исчезновении В клеток из кровяного русла у больных, получающих PM, изменяется состав и популяции Т клеток. Например, T. Vallerskog и соавт. продемонстрировали повышение концентрации CD25^{high} Трег клеток при восстановлении популяции В клеток [49].

В работе P.P. Sfikakis и соавт. выявлено увеличение CD4⁺CD25⁺ Т лимфоцитов на 20-30% у больных СКВ на фоне терапии PM [50]. В последующих работах авторы отметили увеличение количества FoxP3⁺ Трег клеток у всех больных при достижении деплеции В лимфоцитов. Во время клинической ремиссии продолжалось увеличение количества Трег клеток, а при наступлении обострения концентрация Трег клеток вновь снижалась [51].

Повышение количества различных типов CD4⁺ регуляторных клеток (CD4⁺CD25⁺, CD4⁺ИЛ-10⁺ и CD4⁺ ТФР-β⁺) обнаружено в другом исследовании на 30 день после окончания лечения. Увеличение количества Трег сопровождалось усилением их супрессорных функций, особенно у больных, хорошо ответивших на терапию PM [52].

В настоящее время механизм увеличения количества и функциональной активности Трег клеток до конца неясен. Как сообщалось выше, Трег образуются из предшественников, находящихся в тимусе. В период пубертатного развития происходит инволюция тимуса, но, предположительно, даже у взрослого человека небольшая часть тимуса продолжает функционировать и остается способной к регенерации [53]. Кроме того, возможно также увеличение количества Трег клеток за счет периферических CD4⁺CD25⁻ Т клеток. Повышение функциональной активности Трег после терапии PM может быть связано с тем, что снижение количества антиген-презентирующих клеток на фоне лечения ведет к снижению количества активированных Т клеток, которые экспрессируют GITR лианд. Поскольку GITR лиганд способен ингибировать супрессорные функции Трег, снижение числа экспрессирующих его лимфоцитов способствует увеличению количества и улучшению функций Трег клеток [54,55].

По некоторым данным, PM, вызывая деплецию В клеток, может способствовать уменьшению синтеза антилимфоцитарных антител к CD4⁺ Трег клеткам [56]. Кроме того, возможно, что после терапии PM увеличивается чувствительность эффекторных клеток к супрессорному сигналу Трег лимфоцитов. В одном из исследований сообщается, что CD4⁺CD25⁻ эффекторные клетки MRL/Мр мышей менее чувствительны к супрессии аутологичными Трег клетками, что может быть связано с дефектом внутриклеточных регуляторных молекул Сbl-b [57]. Последующие исследования должны помочь ответить на вопрос, связана ли эффективность PM с увеличением функциональных способностей Трег клеток или с увеличением чувствительности эффекторных CD4⁺CD25⁻ клеток к регуляторным сигналам.

В некоторых случаях эффект анти-В-клеточной терапии наблюдается не сразу после окончания курса лечения, что является особенностью действия PM. Например, ответ на терапию PM волчаночного нефрита проявляется только через несколько месяцев после окончания лечения. В связи с этим особую важность приобретают некоторые показатели, способные прогнозировать эффективность терапии PM в ближайшие сроки после окончания лечения, что в дальнейшем позволяет избежать нецелесообразного усиления цитостатической терапии. В настоящее время в качестве таких показателей рассматриваются антитела к ДНК, костимуляторные молекулы CD40 и CD80 и другие маркеры. Однако ценность этих показателей как предикторов ответа еще неочевидна.

По нашим данным, таким предиктором может служить совокупность различных маркеров Трег клеток. Изменение количества CD25⁺, CD4⁺CD25⁺, CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ Т клеток сразу после окончания терапии коррелирует с клиническим эффектом и предопределяет последующий отдаленный резуль-

тат анти-В-клеточной терапии. Поскольку период наблюдения в 1 год был завершен у 4 из 12 больных, нами были представлены только предварительные результаты [58]. Окончание исследования позволит более точно определить значение динамики Трег клеток на фоне терапии РМ.

Пока еще невозможно определить, является ли обнаруженное снижение $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ клеток в периферической крови и пораженных тканях больных СКВ причиной или следствием воспаления. В любом случае это снижение может только усилить тканевое поражение, определяя особую роль Трег в патогенезе СКВ.

Ревматоидный артрит (РА) – системное аутоиммунное заболевание, характеризующееся хроническим воспалением синовиальной оболочки и ведущее к деструкции суставов. Различные клетки и их медиаторы поддерживают воспалительный процесс в суставе: Т и В лимфоциты, моноциты/макрофаги, провоспалительные цитокины, ФНО α и ИЛ-1 [59]. Трег клетки $CD4^+CD25^+$ играют важную роль в контроле системного аутоиммунного воспаления, а потеря этой клеточной популяции усиливает клинические симптомы хронического артрита в экспериментальных моделях [60].

Изменение количества Трег клеток в периферической крови больных РА изучалось в нескольких исследованиях. D. Сао и соавт. не выявили различий в содержании $CD4^+CD25^+$ в периферическом кровотоке между контрольной группой и больными РА, получающими терапию базисными противовоспалительными препаратами (БПВП). В данном исследовании не учитывалось содержание клеток с низкой экспрессией $CD25^+$, не являющихся регуляторами [26]. Результаты последующих работ этой группы авторов продемонстрировали снижение популяции $CD4^+CD25^{high}$ Т клеток у больных РА [61].

Напротив, J.M.van Amelsfort и соавт. обнаружил увеличение $CD4^+CD25^+$ клеток в крови больных РА, получающих БПВП, по сравнению с контрольной группой здоровых доноров, причем авторами обнаружена корреляция между количеством Трег клеток и СОЭ [62]. В нескольких других исследованиях не выявлено существенной разницы в количестве периферических Трег клеток между больными РА и здоровыми донорами [56, 63]. Несоответствие результатов данных исследований можно объяснить отсутствием учета БПВП, получаемых больными, и длительности заболевания.

S.A. Lawson и соавт. выявили снижение количества $CD4^+CD25^{high}$ Т клеток у больных на ранней стадии РА до назначения БПВП и ГК по сравнению с больными реактивным артритом и здоровыми донорами. Количество Трег клеток в данном исследовании не коррелировало с продолжительностью заболевания или уровнем С-реактивного белка [64].

Трег клетки $CD4^+CD25^{high}$, выделенные из сино-

виальной жидкости больных РА, имеют некоторые особенности. Среди $CD4^+CD25^{high}$ воспаленной синовиальной оболочки содержится более высокий процент клеток, экспрессирующих CTLA-4 и GITR, чем в периферической крови больных РА и здоровых доноров. Кроме того, синовиальные Трег имеют активированный фенотип с более высокой экспрессией CD69 и молекул 2 класса МНС, чем такие же клетки периферической крови того же больного [65]. При оценке сравнительного количества Трег $CD4^+CD25^{high}$ в сыворотке и синовиальной жидкости каждого больного обнаружено более высокое содержание Трег в синовиальной жидкости, чем в периферической крови, как при ранней стадии РА, так и при реактивном артрите [64]. Непосредственно в синовиальной ткани обнаружено значительное снижение количества Трег клеток по сравнению с кровью и синовиальной жидкостью. В данном исследовании наличие Трег определялось по экспрессии Foxp3 mRNA и подтверждалось иммуногистохимически. Снижение уровня FoxP3⁺ в синовиальной оболочке коррелировало с высокой активностью РА по индексу DAS (Disease Activity Score) и сопровождалось выраженной лимфоцитарной инфильтрацией синовиальной мембраны [66]. Эти данные прямо указывают на активное участие Трег клеток в патогенезе РА.

Содержание Трег в синовиальной жидкости повышено не только при РА, но и при спондилоартропатиях и ювенильном идиопатическом артрите [67]. Увеличению количества $CD4^+CD25^+$ клеток в синовиальной жидкости при РА могут способствовать различные механизмы. В частности, рассматривается усиленная миграция этих клеток в воспаленные ткани сустава, поскольку $CD4^+CD25^+$ Т клетки интенсивно экспрессируют хемокиновые рецепторы CXCR4, CCR4 и CCR8 [68]. В синовиальной ткани в большом количестве экспрессируются лиганды CCR4, CCL17 и CCL22 [69], что способствует миграции $CD4^+CD25^+$ Т клеток. Кроме того, синовиальные эндотелиальные клетки экспрессируют CXCR4 лиганд [70], а персистирующая экспрессия хемокинового рецептора CXCR4 синовиальными $CD4^+$ Т лимфоцитами активно удерживает их в синовиальной оболочке [71]. Подобный механизм перемещения и удержания Трег клеток через взаимодействие CXCR4 наблюдается в костном мозге [72].

Еще один возможный механизм увеличения количества $CD4^+CD25^+T$ клеток в суставах при РА связан с тем, что синовиальные Т клетки активно избегают апоптоза, соответственно продолжительность их жизни увеличивается по сравнению с периферическими клетками [73]. Секретируемый фибробластами ИФ- β также способен ингибировать апоптоз $CD4^+CD25^+$ Т клеток [44]. Существует гипотеза, что Трег активно накапливаются в очаге хронического воспаления в целях предупреждения поражения тканей эффекторными клетками.

Вместе с тем остается открытым вопрос о дефиците Трег в синовиальной оболочке и их накоплении именно в синовиальной жидкости.

По некоторым данным, частота синовиальных CD4⁺CD25^{high} Т клеток различна у каждого отдельного больного, в то время как количество этих клеток значительно не изменяется с течением болезни в одном и том же суставе. Подобное стабильное количество синовиальных CD4⁺CD25^{high} Т клеток наблюдается при ювенильном идиопатическом артрите, псориатическом артрите и спондилоартритах. Установлено, что уровень синовиальных CD4⁺CD25^{high} Т клеток у больных РА не коррелирует с клиническими параметрами, такими как продолжительность заболевания, наличие ревматоидного фактора, уровень С-реактивного белка и наличие эрозий. Отсутствует также зависимость между количеством Трег в синовиальной жидкости и проводимой терапией метотрексатом, ГК или ингибиторами ФНО α . В связи с этим можно сделать вывод, что уровень CD4⁺CD25⁺ Т клеток в синовии при РА является качественным проявлением заболевания, не связанным с его течением, активностью воспалительного процесса или лечением.

Для более точной оценки роли CD4⁺CD25⁺ Трег х клеток при РА необходимо изучить их функциональную активность. *In vitro* синовиальные CD4⁺CD25^{high} Т клетки эффективно подавляют аутологичные CD4⁺CD25⁻ клетки синовиальной жидкости и периферической крови [61, 62]. Кроме того, функциональная активность синовиальных Трег клеток даже выше, чем у Трег клеток крови при РА [62] и ювенильном идиопатическом артрите [67].

Неясно, почему нормальное количество активно функционирующих Трег в крови и синовиальной жидкости не препятствует развитию воспаления при РА. Одним из объяснений этому может быть активное подавление функции Трег клеток непосредственно в пораженном суставе. Вероятно, функции Трег в очаге воспаления могут блокироваться большим количеством провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-2 и ИЛ-7 [10, 73]. Кроме того, было показано, что CD4⁺CD25^{high} периферической крови больных РА активно подавляют пролиферацию CD4⁺ клеток, но не изменяют секрецию провоспалительных цитокинов, например, ИФ γ и ФНО α [56].

Еще одно объяснение персистирующего синовиального воспаления на фоне повышения количества и супрессорной функции CD4⁺CD25⁺ Т клеток *in vitro* заключается в том, что синовиальные эффекторныe Т клетки менее восприимчивы к регуляторному эффекту CD4⁺CD25⁺ Т рег по сравнению с эффекторными клетками крови. Высказано предположение, что эффекторные клетки посредством рецептора глюкокортикоид-индуцированного ФНО взаимодействуют с их лигандом на антигенпрезентирующих клетках, в результате

чего они становятся резистентными к супрессии Трег клетками [74].

ИЛ-6, в большом количестве находящийся в синовии при РА [75], увеличивает резистентность Т эффекторов к супрессии [76]. Эти данные подчеркивают участие цитокинов в поддержании хронического воспаления *in vivo*.

ФНО – ключевой медиатор воспаления, в большом количестве содержащийся в сыворотке крови и синовиальной жидкости больных РА [77]. Как было показано, ФНО α подавляет функциональную активность как естественных, так и индуцированных Трег. У больных, получающих терапию ингибиторами ФНО α , на фоне снижения активности заболевания, в том числе лабораторной воспалительной активности, возрастают количество CD4⁺CD25⁺ Т клеток, экспрессия FoxP3 и восстанавливается способность Трег подавлять провоспалительные цитокины [78]. В то время как у больных, хорошо ответивших на терапию метотрексатом, функции Трег восстанавливаются не полностью [56]. Известно, что инфликсимаб блокирует как растворимую, так и трансмембранную формы ФНО α , но нет единого мнения по поводу эффекта метотрексата на продукцию цитокинов при РА. Недостаточная супрессия провоспалительных цитокинов на фоне терапии метотрексатом может ослаблять функции Трег клеток. Нельзя не отметить, что естественные CD4⁺CD25^{high} CD62L⁺ Трег клетки остаются дефектными даже после терапии ингибиторами ФНО α . Восстановление функции CD4⁺CD25^{high} Т клеток после курса терапии инфликсимабом происходит за счет супрессорных способностей CD62L⁻ Трег клеток. В результате анти-ФНО α терапии увеличивается продукция ТФР- β Т клетками, который в последующем индуцирует дифференцировку FoxP3⁺CD62L⁻ Трег клеток. Неизвестно, почему естественные Трег остаются дефектными после лечения. Возможно, после терапии инфликсимабом происходит только частичная нейтрализация провоспалительного микроокружения, достаточная для генерации Трег клеток из CD4⁺CD25⁻ Т клеток, но недостаточная для восстановления функции естественных CD62L⁺ Т рег [79].

В настоящее время невозможно выяснить, является ли восстановление Трег функций ответом на подавление воспаления под влиянием терапии или прямым следствием подавления ФНО α . Вместе с тем у больных, недостаточно хорошо отвечающих на терапию ингибиторами ФНО α , возможен необратимый дефект Трегуляторной функции [80].

В последнее время предметом специального изучения является применение Трег клеток в лечебных целях при аутоиммунных заболеваниях [81]. Несколько исследований посвящены генетическим манипуляциям с Т лимфоцитами при диабете 1 типа и экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите с целью стимулирования образования Трег клеток [82, 83].

Другой подход заключается в том, что испытуемым вводят препараты, вызывающие образование Трег *in vivo*. Так, в одном из исследований фактор колонизации, экспрессируемый сальмонеллами Ag I (CFA/I), использовался в качестве противовоспалительной вакцины, стимулирующей продукцию CD4⁺CD25⁺ Т рег клеток и регуляторных цитокинов. Применение данного вещества у DBA/1 мышей с коллаген-индуцированным артритом привело к снижению воспалительной активности и уменьшению разрушения хряща. Клиническая эффективность сопровождалась уменьшением концентрации провоспалительных цитокинов ФНОα, ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-27 и подавлением пролиферации коллаген II-специфических CD4⁺ Т клеток. Кроме того, отмечалось усиление продукции ИЛ-2 Th2 и ТФР-β CD4⁺ Т клетками [84]. Подобный эффект отмечался в результате приема больными РА в течение 6 месяцев пептида dnpJP1, выделенного из белка теплового шока бактерий, который также стимулирует образование Трег [85]. В исследованиях на мышах с коллаген-индуцированным артритом использовались вазоактивный интестинальный пептид (ВИП) [86], андреномеллин [87] и урокортин [88] для индукции ИЛ-10/ТФР-β продуцирующих CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Трег. Было показано, что ВИП индуцирует образование ИЛ-10 продуцирующих дендритных клеток (ДК),

способных генерировать CD4⁺ и CD8⁺ Трег клетки [89]. Генерированные Трег подавляли антигенспецифический Th1-опосредованный иммунный ответ. Подобная терапия могла быть еще более эффективной при РА, если бы ДК были обогащены аутоантигенами, которые они презентовали бы наивным Т клеткам, индуцируя развитие антигенспецифических Трег клеток [90]. В другом исследовании использовалась Т клеточная вакцина для индукции иммунного ответа у больных РА. Введение аутологичных патологических синовиальных Т клеток, инактивированных облучением, стимулировало индукцию ИЛ-10 продуцирующих CD4⁺Foxp3⁺ Т рег и улучшало клиническое течение заболевания [91].

Сами CD4⁺CD25⁺ Трег клетки вводили мышам с коллаген-индуцированным артритом. Подобный адаптивный перенос Трег на ранней стадии развития артрита в сочетании с выраженной иммуносупрессией также улучшал течение заболевания [92].

Таким образом, Трег клетки являются важным иммунологическим показателем, позволяющим оценить тяжесть заболевания и эффективность проводимой терапии.

Дальнейшее изучение Трег клеток может способствовать разработке новых терапевтических подходов к аутоиммунным заболеваниям.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sakaguchi S. Naturally arising CD4⁺ regulatory t cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annu. Rev. Immunol.*, 2004, 22, 531-62.
2. Shevach E.M., DiPaolo R.A., Andersson J. et al. The lifestyle of naturally occurring CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells. *Immunol. Rev.*, 2006, 212, 60-73.
3. Bluestone J.A., Abbas A.K. Natural versus adaptive regulatory T cells. *Nat. Rev. Immunol.*, 2003, 3, 253-7.
4. Groux H., O'Garra A., Bigler M. et al. A CD4⁺ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature.*, 1997, 389(6652), 737-42.
5. Chen Y., Inobe J., Kuchroo V.K. et al. Oral tolerance in myelin basic protein T-cell receptor transgenic mice: suppression of autoimmune encephalomyelitis and dose-dependent induction of regulatory cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 1996, 93(1), 388-91.
6. Sakaguchi S., Sakaguchi N., Asano M. et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J. Immunol.*, 1995, 155, 1151-64.
7. Shevach E.M., McHugh R.S., Piccirillo C.A., Thornton A.M.. Control of T-cell activation by CD4⁺ CD25⁺ suppressor T cells. *Immunol. Rev.*, 2001, 182, 58-67.
8. Tung K.S., Setiady Y.Y., Samy E.T. et al. Autoimmune ovarian disease in day 3-thymectomized mice: the neonatal time window, antigen specificity of disease suppression, and genetic control. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2005, 293, 209-47.
9. Suri-Payer E., Amar A.Z., Thornton A.M., et al. CD4⁺CD25⁺ T Cells Inhibit Both the Induction and Effector Function of Autoreactive T Cells and Represent a Unique Lineage of Immunoregulatory Cells. *J. Immunol.*, 1998, 160, 1212-18.
10. Thornton A.M., Shevach E.M. CD4⁺CD25⁺ immunoregulatory T cells suppress polyclonal T-cell activation *in vitro* by inhibiting interleukin-2 production. *J. Exp. Med.*, 1998, 188, 287-96.
11. Lim H.W., Hillsamer P., Banham A.H. et al. Cutting edge: direct suppression of B cells by CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells. *J. Immunol.*, 2005, 175(7), 4180-3.
12. Smyth M.J., Teng M.W., Swann J. et al. CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells suppress NK cell-mediated immunotherapy of cancer. *J. Immunol.*, 2006, 176(3), 1582-7.
13. Trzonkowski P., Szmít E., Myśliwska J. et al. CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells inhibit cytotoxic activity of T CD8⁺ and NK lymphocytes in the direct cell-to-cell interaction. *Clin. Immunol.*, 2004, 112(3), 258-67.
14. Grossman W.J., Verbsky J.W., Barchet W. et al. Human T regulatory cells can use the perforin pathway

- to cause autologous target cell death. *Immunity*, 2004, 21(4), 589-601.
15. Alvarado-Sanchez B., Hernandez-Castro B., Portales-Perez D. et al. Regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus. *J. Autoimmun.*, 2006, 27, 110-8
 16. Boyer O., Saadoun D., Abriol J. et al. CD4⁺CD25⁺ regulatory T-cell deficiency in patients with hepatitis C-mixed cryoglobulinemia/vasculitis. *Blood.*, 2004, 103, 3428-30.
 17. Bolacchi F., Sinistro A., Ciaprini C. et al. Increased hepatitis C virus (HCV)-specific CD4⁺CD25⁺ regulatory T lymphocytes and reduced HCV-specific CD4⁺ T cell response in HCV-infected patients with normal versus abnormal alanine aminotransferase levels. *Clin Exp. Immunol.*, 2006, 144(2), 188-96.
 18. Brunkow M.E., Jeffery E.W., Hjerrild K.A. et al. Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurfy, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nat. Genet.*, 2001, 27(1), 68-73.
 19. Hori S., Takahashi T., Sakaguchi S. Control of autoimmunity by naturally arising regulatory CD4⁺ T cells. *Adv. Immunol.*, 2003, 81, 331-71.
 20. Fontenot J.D., Gavin M.A., Rudensky A.Y. Foxp3 programs the development and function of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells. *Nat. Immunol.*, 2003, 4(4), 330-6.
 21. Bennett C.L., Christie J., Ramsdell F. et al. The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nat. Genet.*, 2001, 27(1), 20-1.
 22. Matarese G., De Rosa V., La Cava A. Regulatory CD4⁺ T cells: sensing the environment. *Trends Immunol.*, 2008, 29(1), 12-7
 23. Curotto de Lafaille M. A., Lino A. C., Kutchukhidze N. et al. CD25⁺ T Cells generate CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T Cells by peripheral expansion. *The Journal of Immunology*, 2004, 173, 7259-68.
 24. Horwitz D.. Regulatory T cells in systemic lupus erythematosus: past, present and future. *Arthritis Res. Ther.* 2008, 10, 227
 25. Wu H.Y., Staines N.A. A deficiency of CD4⁺CD25⁺ T cells permits the development of spontaneous lupus-like disease in mice, and can be reversed by induction of mucosal tolerance to histone peptide autoantigen. *Lupus*, 2004, 13, 192-200.
 26. Cao D., Malmstrom V., Baecher-Allan C. et al. Isolation and functional characterization of regulatory CD25^{bright}CD4⁺ T cells from the target organ of patients with rheumatoid arthritis. *Eur. J. Immunol.*, 2003, 33, 215-23.
 27. Vigiotta V., Baecher-Allan C., Weiner H.L. et al. Loss of functional suppression by CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in patients with multiple sclerosis. *J. Exp. Med.*, 2004, 5, 199(7), 971-9.
 28. Sugiyama H., Gyulai R., Toichi E. et al. Dysfunctional blood and target tissue CD4⁺CD25^{high} regulatory T cells in psoriasis: mechanism underlying unrestrained pathogenic effector T cell proliferation. *J. Immunol.*, 2005, 1, 174(1), 164-73.
 29. Lindley S., Dayan C.M., Bishop A. et al. Defective suppressor function in CD4⁺CD25⁺ T cells from patients with type 1 diabetes. *Diabetes*, 2005, 54, 92-9.
 30. Wolf D., Hochegger K., Wolf A.M., et al. CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells inhibit experimental anti-glomerular basement membrane glomerulonephritis in mice. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2005, 16, 1360-70.
 31. Tsokos G.C., Wong H.K., Enyedy E.J. et al. Immune cell signaling in lupus. *Curr. Opin. Rheumatol.*, 2000, 12, 355-63.
 32. Liu M.F., Wang C.R., Fung L.L. et al. Decreased CD4⁺CD25⁺ T cells in peripheral blood of patients with systemic lupus erythematosus. *Scand. J. Immunol.*, 2004, 59, 198-202.
 33. Crispin J.C., Martinez A., Alcocer-Varela J. Quantification of regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus. *J. Autoimmun.*, 2003, 21, 273-6.
 34. Valencia X., Yarboro C. Illei G. et al. Deficient CD4⁺CD25^{high} T regulatory cell function in patients with active systemic lupus erythematosus. *J. Immunol.*, 2007, 178, 2579-88.
 35. Miyara M., Amoura Z., Parizot C. et al. Global natural regulatory T cell depletion in active systemic lupus erythematosus. *J. Immunol.*, 2005, 175, 8392-400.
 36. Lee J.H., Wang L.C., Lin Y.T. et al. Inverse correlation between CD4⁺ regulatory T-cell population and autoantibody levels in pediatric patients with systemic lupus erythematosus. *Immunology*, 2006, 117, 280-6.
 37. Pillai V., Ortega S.B., Wang C.K. et al. Transient regulatory T-cells: A state attained by all activated human T-cells. *Clin. Immunol.*, 2007, 123(1), 18-29.
 38. Gavin M.A., Torgerson T.R., Houston E. et al. Single-cell analysis of normal and FOXP3-mutant human T cells: FOXP3 expression without regulatory T cell development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 2006, 103(17), 6659-64.
 39. Wang J., Ioan-Facsinay A., van der Voort E.I. et al. Transient expression of FOXP3 in human activated nonregulatory CD4⁺ T cells. *Eur. J. Immunol.*, 2007, 37(1), 129-38.
 40. Bonelli M., Dalwigk K., Savitskaya A. et al. Foxp3 expression in CD4⁺ T cells of patients with systemic lupus erythematosus (SLE): A comparative phenotypic analysis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2008, 67(5), 664-71.
 41. Alvarado-Sanchez B., Hernandez-Castro B., Portales-Perez D. et al. Regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus. *J. Autoimmun.*, 2006, 27, 110-8.
 42. Lyssuk E.Y., Torgashina A.V., Soloviev S.K. et al. Reduced number and function of CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺ regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2007, 601, 113-9.
 43. Franz B., Fritzsching B., Riehl A., et al. Low number of regulatory T cells in skin lesions of patients with cutaneous lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 2007, 56(6), 1910-20.
 44. Taams L.S., Smith J., Rustin M.H. et al. Human anergic/suppressive CD4⁺CD25⁺ T cells: a highly dif-

- ferentiated and apoptosis-prone population. *Eur. J. Immunol.*, 2001, 31, 1122–31.
45. Vargas-Rojas M.I., Crispín J.C., Richaud-Patin Y. et al. Quantitative and qualitative normal regulatory T cells are not capable of inducing suppression in SLE patients due to T-cell resistance. *Lupus*, 2008, 17(4), 289–94.
 46. Suárez A., López P., Gómez J. et al. Enrichment of CD4⁺CD25^{high} T cell population in patients with systemic lupus erythematosus treated with glucocorticoids. *Ann. Rheum. Dis.*, 2006, 65, 1512–7.
 47. Chung I.Y., Dong H.F., Zhang X. et al. Effects of IL-7 and dexamethasone: induction of CD25, the high affinity IL-2 receptor, on human CD4⁺ cells. *Cell Immunol.*, 2004, 232, 57–63.
 48. Chen X., Murakami T., Oppenheim J.J., Howard O.M. Differential response of murine CD4⁺CD25⁺ and CD4⁺. *Eur. J. Immunol.*, 2004, 34, 859–69.
 49. Vallerskog T., Gunnarsson I., Widhe M. et al. Treatment with rituximab affects both the cellular and the humoral arm of the immune system in patients with SLE. *Clin. Immunol.*, 2007, 122, 62–74.
 50. Sfrikakis P.P., Boletis J.N., Lionaki S. et al. Remission of proliferative lupus nephritis following B cell depletion therapy is preceded by down-regulation of the T cell costimulatory molecule CD40 ligand: an open-label trial. *Arthritis Rheum.*, 52 (2005), 501–13.
 51. Sfrikakis P.P., Souliotis V.L., Fragiadaki K.G. et al. Increased expression of the FoxP3 functional marker of regulatory T cells following B cell depletion with rituximab in patients with lupus nephritis. *Clin. Immunol.*, 2007, 123, 66–73.
 52. Vigna-Perez M., Hernandez-Castro B., Paredes-Saharopulos O. et al. Clinical and immunological effects of rituximab in patients with lupus nephritis refractory to conventional therapy: a pilot study. *Arthritis Res. Ther.*, 8 (2006), R83, 48.
 53. Pawelec G., Barnett Y., Forsey R. et al. T cells and aging. *Front. Biosci.*, 2002, 7, 1056–1183.
 54. Tone M., Tone Y., Adams E. et al. Mouse glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor ligand is costimulatory for T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, 100, 15059–64.
 55. Shevach E.M. Regulatory/suppressor T cells in health and disease. *Arthritis Rheum.*, 2004, 50, 2721–4.
 56. Ehrenstein M.R., Evans J.G., Singh A. et al. Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNF- α therapy. *J. Exp. Med.*, 2004, 200, 277–85.
 57. Monk C.R., Spachidou M., Rovis F. et al. 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, 1180–4.
 58. Torgashina A.V., Lyssuk E.Yu., Bykovskaia S.N. et al. Increased number of CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺ regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus following rituximab therapy. *Ann. Rheum. Dis.*, 2008, 67, S II.
 59. Weyand C.M. New insights into the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, 2000, 39, suppl 1, 3–8.
 60. Frey O., Petrow P.K., Gajda M. et al. The role of regulatory T cells in antigen-induced arthritis: aggravation of arthritis after depletion and amelioration after transfer of CD4⁺CD25⁺ T cells. *Arthritis Res. Ther.*, 2005, 7(2), R291–301.
 61. Cao D., van Vollenhoven R., Klareskog L. et al. CD25^{bright}CD4⁺ regulatory T cells are enriched in inflamed joints of patients with chronic rheumatic disease. *Arthritis Res. Ther.*, 2004, 6, R335–46.
 62. van Amelsfort J.M., Jacobs K.M., Bijlsma J.W. et al. 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, 2775–85.
 63. Mottonen M., Heikkinen J., Mustonen L. et al. CD4⁺CD25⁺ T cells with the phenotypic and functional characteristics of regulatory T cells are enriched in the synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Immunol.*, 2005, 140, 360–7.
 64. Lawson C.A., Brown A.K., Bejarano V. et al. Early rheumatoid arthritis is associated with a deficit in the CD4⁺CD25^{high} regulatory T cell population in peripheral blood. *Rheumatology (Oxford)*, 2006, 45, 1210–7.
 65. Leipe J., Skapenko A., Lipsky P.E. et al. Regulatory T cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.*, 2005, 7, 93–9.
 66. Behrens F., Himsel A., Rehart S. et al. Imbalance in distribution of functional autologous regulatory T cells in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2007, 66(9), 1151–6.
 67. de Kleer I.M., Wedderburn L.R., Taams L.S. et al. CD4⁺CD25^{bright} regulatory T cells actively regulate inflammation in the joints of patients with the remitting form of juvenile idiopathic arthritis. *J. Immunol.*, 2004, 172, 6435–43.
 68. Iellem A., Mariani M., Lang R. et al. Unique chemotactic response profile and specific expression of chemokine receptors CCR4 and CCR8 by CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells. *J. Exp. Med.*, 2001, 194, 847–53.
 69. Radstake T.R., Van Der Voort R., Ten Brummelhuis M. et al. Increased expression of CCL18, CCL19, and CCL17 by dendritic cells from patients with rheumatoid arthritis and regulation by Fc gamma receptors. *Ann. Rheum. Dis.*, 2005, 64(3), 359–67.
 70. Buckley C.D., Amft N., Bradfield P.F. et al. Persistent induction of the chemokine receptor CXCR4 by TGF- β 1 on synovial T cells contributes to their accumulation within the rheumatoid synovium. *J. Immunol.*, 2000, 165, 3423–9.
 71. Nanki T., Hayashida K., El-Gabalawy H.S. et al. Stromal cell-derived factor-1-CXC chemokine receptor 4 interactions play a central role in CD4⁺T cell accumulation in rheumatoid arthritis synovium. *J. Immunol.*, 2000, 165, 6590–8.
 72. Zou L., Barnett B., Safah H. et al. Bone marrow is a

- reservoir for CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells that traffic through CXCL12/CXCR4 signals. *Cancer Res.*, 2004, 64, 8451-5.
73. van Amelsfort J.M., Noordegraaf M. Influence of the inflammatory milieu on the suppressive function of CD4⁺CD25⁺ T cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2004, 50, S526.
 74. Stephens G.L., McHugh R.S., Whitters M.J. et al. Engagement of glucocorticoid-induced TNFR family-related receptor on effector T cells by its ligand mediates resistance to suppression by CD4⁺CD25⁺ T cells. *J. Immunol.*, 2004, 173, 5008-20.
 75. Hirano T., Matsuda T., Turner M. et al. Excessive production of interleukin 6/B cell stimulatory factor-2 in rheumatoid arthritis. *Eur. J. Immunol.*, 1988, 18, 1797-801.
 76. Pasare C., Medzhitov R. Toll pathway-dependent blockade of CD4⁺CD25⁺ T cell-mediated suppression by dendritic cells. *Science*, 2003, 299, 1033-6.
 77. Feldmann M. Development of anti-TNF therapy for rheumatoid arthritis. *Nat. Rev. Immunol.*, 2002, 2, 364-71.
 78. Valencia X., Stephens G., Goldbach-Mansky R. et al. TNF downmodulates the function of human CD4⁺CD25^{high} T-regulatory cells. *Blood*, 2006, 108, 253-61.
 79. Nadkarni S., Mauri C., Ehrenstein M.R. Anti-TNF-alpha therapy induces a distinct regulatory T cell population in patients with rheumatoid arthritis via TGF-beta. *J. Exp. Med.*, 2007, 22, 204(1), 33-9.
 80. Fousteri G., Matthias G. von Herrath. A novel vicious cycle in rheumatoid arthritis. *Blood*, 2006, 108 (1), 3-4.
 81. Bluestone J.A., Tang Q. Therapeutic vaccination using CD4⁺CD25⁺ antigen-specific regulatory T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, 101, 14622-6.
 82. Mekala D.J., Geiger T.L. Immunotherapy of autoimmune encephalomyelitis with redirected CD4⁺CD25⁺ T lymphocytes. *Blood*, 2005, 105, 2090-2.
 83. Jaeckel E., von Boehmer H., Manns M.P. Antigen-specific FoxP3-transduced T-cells can control established type 1 diabetes. *Diabetes*, 2005, 54, 306-10.
 84. Kochetkova I., Trunkle T., Callis G. et al. Vaccination without autoantigen protects against collagen II-induced arthritis via immune deviation and regulatory T cells. *J. Immunol.*, 2008, 15, 181(4), 2741-52.
 85. Prakken B.J., Samodal R., Le T.D. et al. Epitope-specific immunotherapy induces immune deviation of proinflammatory T cells in rheumatoid arthritis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, 101, 4228-33.
 86. Gonzalez-Rey E., Fernandez-Martin A., Chorny A. et al. Vasoactive intestinal peptide induces CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells with therapeutic effect in collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2006, 54, 864-76.
 87. Gonzalez-Rey E., Chorny A., O'Valle F. et al. Adrenomedullin protects from experimental arthritis by down-regulating inflammation and Th1 response and inducing regulatory T cells. *Am. J. Pathol.*, 2007, 170, 263-71.
 88. Gonzalez-Rey E., Chorny A., Varela N. et al. Therapeutic effect of urocortin on collagen-induced arthritis by down-regulation of inflammatory and Th1 responses and induction of regulatory T cells. *Arthritis Rheum.*, 2007, 56, 531-43.
 89. Gonzalez-Rey E., Chorny A., Fernandez-Martin A. et al. Vasoactive intestinal peptide generates human tolerogenic dendritic cells that induce CD4 and CD8 regulatory T cells. *Blood*, 2006, 107, 3632-8.
 90. Anderson A.E., Isaacs J.D. T regs and rheumatoid arthritis. *Acta Rheumatol. Port.*, 2008, 33, 17-33.
 91. Chen G., Li N., Zang Y.C. et al. Vaccination with selected synovial T cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2007, 56, 453-63.
 92. Morgan M.E., Flierman R., van Duivenvoorde L.M. et al. Effective treatment of collagen-induced arthritis by adoptive transfer of CD25⁺ regulatory T cells. *Arthritis Rheum.*, 2005, 52(7), 2212-21.

Поступила 12.02.09