

Клинико-патогенетическое значение Fохр3+ регуляторных Т-клеток при ревматоидном артрите

Авдеева А.С.¹, Рубцов Ю.П.², Дыйканов Д.Т.², Насонов Е.Л.^{1,3}

¹ФГБНУ Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой, Москва, Россия; ²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», кафедра биохимии и молекулярной медицины факультета фундаментальной медицины; ³ФГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, кафедра ревматологии Института профессионального образования, Москва, Россия ¹115522 Москва, Каширское шоссе, 34А; ²119192 Москва, Ломоносовский проспект, 31, корп. 5; ³119991 Москва, ул. Трубетцкая, 8, стр. 2



А.С. Авдеева – научный сотрудник лаборатории иммунологии и молекулярной биологии ревматических заболеваний ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой, канд. мед. наук



Ю.П. Рубцов – доцент кафедры биохимии и молекулярной медицины факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова, канд. хим. наук



Д.Т. Дыйканов – аспирант кафедры биохимии и молекулярной медицины факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова



Е.Л. Насонов – директор ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой, зав. кафедрой ревматологии ИПО ФГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, академик РАН, профессор, докт. мед. наук

¹V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia; ²Department of Biochemistry and Molecular Medicine, Faculty of Fundamental Medicine, M.V. Lomonosov Moscow State University; ³Department of Rheumatology, Institute of Professional Education, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia ¹34A, Kashirskoe Shosse, Moscow 115522; ²31, Lomonosovsky Prospect, Build. 5, Moscow 119192; ³8, Trubetskaya St., Build. 2, Moscow 119991

Контакты: Анастасия Сергеевна Авдеева; 9056249400@mail.ru

Contact: Anastasia Avdeeva; 9056249400@mail.ru

Поступила 04.05.16

Регуляторные Т-клетки (T_{рег}) играют ключевую роль в иммунной системе благодаря подавлению гипериммунного ответа в отношении аутоантигенов, а также кишечных условно-патогенных микроорганизмов. В последние годы получены данные о способности T_{рег} подавлять различные иммуновоспалительные реакции в ответ на широкий спектр физиологических и патологических стимулов, включая микроорганизмы, опухолевые клетки, аллогенные трансплантаты, клетки плода.

T_{рег} экспрессируют широкий спектр мембранных молекул, которые определяют их функциональную активность и дают возможность идентифицировать эти клетки, однако до сих пор не обнаружен универсальный поверхностный маркер, который позволил бы выделить данную клеточную субпопуляцию из пула Т-лимфоцитов. Наиболее специфическим внутриклеточным маркером T_{рег} является ядерный фактор транскрипции Fохр3, который имеет фундаментальное значение в развитии T_{рег} и их ингибиторной функции.

Результаты подавляющего большинства исследований указывают на увеличение содержания T_{рег} в синовиальной жидкости пациентов с ревматоидным артритом (РА), однако данные об уровне данной клеточной субпопуляции в периферической крови весьма противоречивы. Большинство исследователей наблюдали уменьшение процентного содержания циркулирующих T_{рег}, в то время как в других работах выявлено его увеличение или отсутствие отличий от соответствующего показателя здоровых доноров или пациентов с остеоартрозом. Полагают, что количественный дефект CD4+CD25+Fохр3+CD127-регуляторных клеток особенно характерен для раннего РА и ассоциируется с риском развития последнего у бессимптомных пациентов, позитивных по антителам к циклическому цитрулинированному пептиду. Применение базисных и генно-инженерных биологических препаратов сопровождается определенным изменением уровня и функциональной активности T_{рег}, с чем в ряде случаев связывают лечебный эффект препаратов.

Таким образом, T_{рег} в настоящее время отводят важную роль в патогенезе аутоиммунных ревматических заболеваний, в частности, РА. Снижение уровня и функциональной активности T_{рег}, вероятно, лежит в основе развития неконтролируемого хронического воспаления, приводящего к множественным органам повреждениям.

Ключевые слова: ревматоидный артрит; Т-регуляторные клетки; активность заболевания; генно-инженерные биологические препараты; базисные противовоспалительные препараты.

Для ссылки: Авдеева АС, Рубцов ЮП, Дыйканов ДТ, Насонов ЕЛ. Клинико-патогенетическое значение Fохр3+ регуляторных Т-клеток при ревматоидном артрите. Научно-практическая ревматология. 2016;54(4):442-455.

THE CLINICAL AND PATHOGENETIC VALUE OF FOXP3+ T REGULATORY CELLS IN RHEUMATOID ARTHRITIS
Avdeeva A.S.¹, Rubtsov Yu.P.², Dyikanov D.T.¹, Nasonov E.L.^{1,3}

T regulatory cells (T_{regs}) play a key role in the immune system due to the suppression of a hyperimmune response to autoantigens and opportunistic enteric microorganisms. In recent years, there has been evidence that T_{regs} can suppress various immunoinflammatory responses to a wide range of physiological and pathological stimuli, including microorganisms, tumor cells, allogeneic grafts, and fetal cells.

T_{regs} express a broad spectrum of membrane molecules that determine their functional activity and make it possible to identify these cells; however, none has discovered a universal surface marker that would distinguish this cell subpopulation from a pool of T lymphocytes. The most specific intracellular marker for T_{regs} is the nuclear transcription factor Foxp3 that is of fundamental importance in the development of T_{regs} and their inhibitory function.

The results of the vast majority of studies indicate that there are increased numbers of T_{regs} in the synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis (RA); however, the data on the level of this cell population in their peripheral blood are very contradictory. The majority of investigators have observed a decrease in the percentage of circulating T_{regs} while other studies have revealed its increase or no differences from the corresponding value of healthy donors or patients with osteoarthritis. It is believed that a quantitative defect in CD4+CD25+Foxp3+CD127 regulatory cells is especially characteristic of early RA and associated with the risk of the latter in asymptomatic patients positive for anti-cyclic citrullinated peptide antibodies. The use of disease-modifying antirheumatic drugs and biologic agents is accompanied by a certain change in the level and functional activity of T_{regs} , which is responsible for the therapeutic effect of the medicaments.

Thus, an important part is assigned to T_{regs} in the pathogenesis of autoimmune rheumatic diseases, RA in particular. The decrease in the level and functional activity of T_{regs} is likely to underlie the development of uncontrolled chronic inflammation leading to multiple organ damages.

Key words: rheumatoid arthritis; T regulatory cells; disease activity; biologic agents; disease-modifying antirheumatic drugs.

For reference: Avdeeva AS, Rubtsov YuP, Dyikanov DT, Nasonov E.L. The clinical and pathogenetic value of Foxp3+ T regulatory cells in rheumatoid arthritis. *Nauchno-Prakticheskaya Revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2016;54(4):442-455 (In Russ.).

doi: <http://dx.doi.org/10.14412/1995-4484-2016-442-455>

Ревматоидный артрит (РА) – системное аутоиммунное воспалительное заболевание, характеризующееся хроническим воспалением синовиальной оболочки суставов и прогрессирующей деструкцией костной и хрящевой ткани [1, 2]. Для ревматоидного синовиита характерны гиперплазия и неоваскуляризация синовиальной ткани (СТ), а также массивная инфильтрация иммунными и воспалительными клетками: макрофагами, моноцитами, гранулоцитами, плазматическими и дендритными клетками, В-лимфоцитами, CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитами, представленными в основном эффекторными Т-клетками ($T_{эфф}$). Накопление в суставе активированных клеток иммунной системы приводит к повышенной продукции провоспалительных цитокинов и хемокинов [3, 4]. По современным представлениям, ключевую роль в развитии синовиального воспаления и суставной деструкции при РА играют активированные CD4+ Т-лимфоциты. Эти клетки распознают аутоантигены, что способствует активации В-лимфоцитов и макрофагов, а также усиливает продукцию цитокинов [2, 5, 6]. Ведущая роль CD4+ Т-лимфоцитов в патогенезе РА подтверждается развитием артрита у лабораторных животных при прямой передаче CD4+ Т-клеток от животных с коллаген-индуцированным артритом здоровым реципиентам [7], а также ассоциацией риска развития РА с полиморфизмом ряда генов, например *HLA-DR1*, *HLA-DR4*, *CTLA4* и др. Эти гены кодируют молекулы главного комплекса гистосовместимости II класса (HLA-DR у людей), которые необходимы для развития и активации аутоиммунных Т-клеток, либо участвуют в регуляции активации аутореактивных Т-клеток, являясь коstimуляторными молекулами (CTLA4 и др.) [5]. В настоящее время выделяют несколько субпопуляций эффекторных CD4+ Т-хелперов (Th), которые различаются в зависимости от набора продуцируемых ими цитокинов и спектра клеток-мишеней. При активации специфическим антигеном «наивные» Th-клетки дифференцируются в эффекторы Th1-, Th2-, Th17-лимфоциты, причем направление этой дифференцировки зависит от сигнала, который наивная клетка в момент активации Т-клеточного рецептора получает от цитокинов, представленных в ее микроокружении. Th1-клетки ответственные за клеточный иммунитет и участвуют в патогенезе аутоиммунных заболеваний, Th2-клетки – поддерживают гуморальный иммунитет и, наряду с регуляцией иммунитета к паразитам (гельминтам и простейшим), вовлечены в развитие аллергических

заболеваний. Th17-клетки обладают наиболее выраженным провоспалительным потенциалом и имеют ведущее значение в развитии коллаген-индуцированного артрита и ряда других экспериментальных аутоиммунных заболеваний у лабораторных животных [8]. Негативную регуляцию Th1-, Th2- и Th17- лимфоцитов осуществляют CD4+ регуляторные Т-клетки ($T_{рег}$), играющие основную роль в поддержании периферической толерантности к собственным антигенам [8]. $T_{рег}$ играют ключевую роль в иммунной системе благодаря подавлению гипериммунного ответа в отношении аутоантигенов, а также кишечных условно-патогенных микроорганизмов [9, 10]. В последние годы получены данные о способности $T_{рег}$ подавлять различные иммуновоспалительные реакции в ответ на широкий спектр физиологических и патологических стимулов, включая микроорганизмы, опухолевые клетки, аллогенные трансплантаты, клетки плода [10, 11]. Впервые эта роль была продемонстрирована у мышей, которые вследствие генетического дефекта с рождения лишены $T_{рег}$, что приводило к развитию аутоиммунного гастрита, тиреоидита, диабета и воспалительных заболеваний кишечника [12]. В генетической модели, которая позволяет специфически удалить $T_{рег}$ у мышей во взрослом состоянии либо избавиться от этой клеточной популяции вскоре после рождения, наблюдали развитие похожего летального аутоиммунного заболевания. Впоследствии во многих исследованиях было показано, что дефекты в CD4+CD25+FOXP3+ $T_{рег}$ клетках способствуют развитию аутоиммунных заболеваний и что эти процессы можно предотвратить путем адаптивного переноса функциональных $T_{рег}$ от здоровых животных [13]. Ведущую роль CD4+CD25+FOXP3+ Т-клеток в контроле иммунологической толерантности к собственным антигенам наглядно иллюстрируют врожденные наследственные заболевания человека, вызываемые мутациями в гене *FOXP3* и проявляющиеся в развитии летального синдрома IPEX (Immunodysregulation, Polyendocrinopathy and Enteropathy, X-Linked), характеризующегося сахарным диабетом 1-го типа, тиреоидитом, тяжелой аллергией и воспалительным поражением кишечника, которые сочетаются с цитокиновым «штормом» [14].

Фенотип и функциональная активность $T_{рег}$

В настоящее время выделяют две популяции $T_{рег}$: «естественные» регуляторные Т-клетки (natural, или n $T_{рег}$), образующиеся в тимусе, и периферические,

или индуцированные ($iT_{\text{рег}}$), которые образуются на периферии иммунной системы при активации наивных Т-клеток в определенных условиях (например, в лимфоидных органах, связанных с желудочно-кишечным трактом). Эти условия подразумевают присутствие стимулирующих сигналов через поверхностные рецепторы, которые стабилизируют экспрессию гена *Foxp3* (fork-head box protein 3), необходимого для проявления регуляторного фенотипа, а именно – энергии при активации Т-клеточного рецептора, неспособности секретировать интерлейкин 2 (ИЛ2) и провоспалительные цитокины, а также свойства подавлять активацию $T_{\text{эфф}}$ и угнетать созревание и функции других типов клеток иммунной системы. Индуцированные и естественные $T_{\text{рег}}$ обладают похожим набором функций, однако их вклад в контроль определенных аутоиммунных патологий может существенно различаться [10, 15]. $T_{\text{рег}}$ экспрессируют широкий спектр мембранных молекул, которые определяют их функциональную активность и позволяют идентифицировать эти клетки [15, 16], однако до сих пор не обнаружен универсальный поверхностный маркер, позволяющий выделить данную клеточную субпопуляцию из пула Т-лимфоцитов. Наиболее специфическим внутриклеточным маркером $T_{\text{рег}}$ является ядерный фактор транскрипции Foxp3, который имеет фундаментальное значение в развитии $T_{\text{рег}}$ и их ингибиторной функции [15]. Однако в литературе имеются данные, что FOXP3 могут транзитивно экспрессировать и $T_{\text{эфф}}$ после их активации [13, 17]; кроме того, показано, что экспрессия FOXP3 CD4+CD25+Th-клетками не всегда приводит к приобретению супрессорной активности и регуляторного фенотипа [18]. В качестве поверхностных маркеров $T_{\text{рег}}$ могут использоваться CD25 (α -цепь рецептора ИЛ2), CTLA-4 (CD152, cytotoxic T lymphocyte antigen 4), CD95 (Fas), CD127low (α -цепь рецептора ИЛ7) и ряд других; однако необходимо учитывать, что указанные молекулы могут синтезироваться и $T_{\text{эфф}}$ на определенных стадиях развития [19].

У человека $T_{\text{рег}}$ относятся к субпопуляции CD4+Foxp3+ Т-клеток и отличаются высоким уровнем CD25 и низким – CD127 на поверхности клеток [17, 20, 21]. CD25 совместно с CD 122 (β -цепь рецептора ИЛ2Р) и CD132 (γ -цепь ИЛ2Р) составляют высокоаффинный ИЛ2Р на поверхности $T_{\text{рег}}$, что позволяет им успешно конкурировать за потребление ИЛ2 с наивными клетками и $T_{\text{эфф}}$. Эта конкуренция приводит к истощению пула ИЛ2, доступного «обычным» Т-клеткам, ингибируя их пролиферацию и вызывая апоптоз, поскольку ИЛ2 необходим для поддержания пролиферации и выживания активированных антигеном Т-клеток [22, 23]. Низкий уровень поверхностного CD127 в комбинации с высоким содержанием CD25 позволяет идентифицировать популяцию $T_{\text{рег}}$ и отличить их от активированных эффекторных CD4+CD25+CD127high Т-клеток [24–26], не обладающих иммуносупрессорной активностью.

Функциональная активность $T_{\text{рег}}$ зависит от набора поверхностных маркеров: CTLA-4 [27–31], ICOS [32–40], CD154 [41–46], CD274 [47–53] и ряда других, участвующих в контроле активации Т-клеток.

Изменение уровня и функциональной активности $T_{\text{рег}}$ приводит к развитию целого ряда аутоиммунных заболеваний. Большое число исследований, посвященных изучению периферической толерантности, сосредоточены на изучении числа Foxp3+ регуляторных клеток,

но в них не учитывается стабильность экспрессии Foxp3, а также возможность экспрессии других факторов транскрипции, например ROR γ t (retinoid-related orphan receptor γ t), и возможность перехода $T_{\text{рег}}$ в ИЛ17-продуцирующие клетки [54–57]. Ряд недавно проведенных исследований указывают на взаимосвязь между $T_{\text{рег}}$ и Th17-клетками [58–60]. Было продемонстрировано, что часть циркулирующих Foxp3+ $T_{\text{рег}}$ могут экспрессировать ROR γ t и иметь потенциал для продукции ИЛ17 при активации [61–64]. Необходимо отметить, что продукция ИЛ17 данным подмножеством $T_{\text{рег}}$ связана с потерей их супрессорной функции. Тем не менее рядом авторов было продемонстрировано, что ИЛ17-продуцирующие Foxp3+ регуляторные клетки еще сохраняют свою супрессорную функцию [63–65]. Переход $T_{\text{рег}}$ в ИЛ17-продуцирующие клетки зависит от баланса между ИЛ2 и ИЛ6 и может быть усилен в среде провоспалительных цитокинов, в первую очередь ИЛ1 β , ИЛ6, ИЛ23 [66, 67]. На основании представленных данных можно предположить, что уменьшение числа $T_{\text{рег}}$ у пациентов с аутоиммунными заболеваниями связано с повышенной конверсией этих клеток в воспалительной среде в ИЛ17-продуцирующие.

Уровень $T_{\text{рег}}$ в периферической крови и синовиальной жидкости при ревматоидном артрите

В настоящее время в литературе представлено большое количество работ, посвященных оценке числа и фенотипа $T_{\text{рег}}$ при РА (табл. 1). Результаты подавляющего большинства исследований указывают на увеличение содержания $T_{\text{рег}}$ в синовиальной жидкости (СЖ) пациентов с РА [68, 69, 71–74, 79, 82, 83, 90], однако данные об уровне этой клеточной субпопуляции в периферической крови весьма противоречивы. Большинство исследователей наблюдали уменьшение процентного содержания циркулирующих $T_{\text{рег}}$ [69, 79, 82, 84–86, 88], в то время как в других работах выявлено его увеличение [71, 80] или отсутствие отличий соответствующего показателя от здоровых доноров [72, 73, 75, 76, 78, 83, 89] или пациентов с ОА [90]. Вероятно, подобное несоответствие связано со сложностью выделения данной клеточной субпопуляции из общего пула Т-лимфоцитов в связи с отсутствием универсального поверхностного маркера $T_{\text{рег}}$. В более ранних исследованиях $T_{\text{рег}}$ определяли как CD4+CD25+ лимфоциты и не оценивали экспрессию Foxp3 [68, 69, 71–73, 75, 76]; G. Nap и соавт. [80] отметили, что среди CD25+ клеток встречаются регуляторные; вероятно, с этим могут быть связаны завышенные уровни $T_{\text{рег}}$ в периферической крови при РА. Полагают, что количественный дефект CD4+CD25+Foxp3+CD127- регуляторных клеток особенно характерен для раннего РА и ассоциируется с риском развития РА у бессимптомных пациентов, позитивных по антителам к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) [92, 93]. Как уже говорилось выше, уровень $T_{\text{рег}}$ в СЖ пациентов с РА значительно повышен; также многочисленные публикации продемонстрировали сохранение супрессорного эффекта данных клеток *in vitro*, тем не менее воспалительная среда сустава может заметно снижать их активность. При этом на экспериментальных моделях, а также у пациентов с ревматическими заболеваниями была продемонстрирована потеря способ-

Таблица 1 Содержание $T_{рег}$ в периферической крови, СЖ и СТ больных РА

Источник	Содержание $T_{рег}$			Оценка экспрессии FoxP3	Супрессорная активность $T_{рег}$	
	ПК	СЖ	СТ		ПК	СЖ
D. Cao и соавт. (2003) [68]	Не отличается от здоровых доноров	↑ по сравнению с ПК при РА	Нет данных	Нет	Нет данных	Сохранена
D. Cao и соавт. (2004) [69]	↓ по сравнению со здоровыми донорами	То же	« «	Нет	« «	«
M.R. Ehrenstein и соавт. (2004) [70]	Нет данных	Нет данных	« «	Да	Ослаблена	Нет данных
J. van Amelsfort и соавт. (2004) [71]	↑ по сравнению со здоровыми донорами	↑ по сравнению с ПК при РА	« «	Нет	Сохранена	↑ по сравнению с ПК при РА
M. Möttönen и соавт. (2005) [72]	Не отличается от здоровых доноров	То же	« «	Да	Нет данных	Сохранена
M.-F. Liu и соавт. (2005) [73]	То же	« «	« «	Нет	Сохранена	«
D. Cao и соавт. (2006) [74]	Нет данных	« «	« «	Да	Нет данных	«
E.J. Dombrecht и соавт. (2006) [75]	Не отличается от здоровых доноров	Нет данных	« «	Нет	« «	Нет данных
J. van Amelsfort и соавт. (2007) [76]	Нет данных	« «	« «	Нет	Сохранена	Сохранена
F. Behrens и соавт. (2007) [77]	« «	« «	Выявлены	Да	Нет данных	Нет данных
S.C. Lin и соавт. (2007) [78]	Не отличается от здоровых доноров	« «	Нет данных	Да	« «	« «
Z. Jiao и соавт. (2007) [79]	↓ по сравнению со здоровыми донорами	↑ по сравнению с ПК при РА	« «	Да	« «	« «
G.M. Han и соавт. (2008) [80]	↑ по сравнению со здоровыми донорами	Нет данных	« «	Да	Сохранена	« «
S. Raghavan и соавт. (2009) [81]	Нет данных	« «	Выявлены	Да	Нет данных	Сохранена
J.M. Sempere-Ortells и соавт. (2009) [82]	↓ по сравнению со здоровыми донорами	« «	Нет данных	Да	« «	Нет данных
C. Dejaco и соавт. (2010) [83]	Не отличается от здоровых доноров	↑ по сравнению с ПК при РА	« «	Нет	« «	« «
S.-Y. Kawashiri и соавт. (2011) [84]	↓ по сравнению со здоровыми донорами	Нет данных	« «	Нет	« «	« «
C. Lina и соавт. (2011) [85]	То же	« «	« «	Да	« «	« «
Q. Niu и соавт. (2012) [86]	« «	« «	« «	Да	« «	« «
E. Xq и соавт. (2012) [87]	Нет данных	« «	Выявлены	↑ по сравнению с СТ при ОА	« «	« «
M. Samson и соавт. (2012) [88]	↓ по сравнению со здоровыми донорами	« «	Нет данных	Да	Сохранена	« «
L. Ji и соавт. (2013) [89]	Не отличается от здоровых доноров	« «	« «	Да	Нет данных	« «
B. Moradi и соавт. (2014) [90]	Не отличается от пациентов с ОА	↑ по сравнению с ПК при РА	Выявлены	Да	« «	« «
G. Guggino и соавт. (2015) [91]	↓ по сравнению со здоровыми донорами	Нет данных	Нет данных	Да	« «	« «

Примечание. ПК – периферическая кровь, ОА – остеоартроз.

ности $T_{рег}$ ингибировать синтез ИЛ6 и интерферона γ (ИФН γ) эффекторными клетками при сохранении способности ограничивать их пролиферацию [70, 94]. Рядом авторов представлены данные о резистентности $T_{эфф}$ при РА к супрессии $T_{рег}$. E. Wehrens и соавт. [95] продемонстрировали снижение подавления активности T-лимфоцитов, выделенных из СЖ пациентов с ювенильным ревматоидным артритом (ЮРА), $T_{рег}$. Авторы установили, что

этот эффект не связан с функциональным дефектом самих $T_{рег}$, так как они подавляли активность $T_{эфф}$ периферической крови; вместе с тем $T_{эфф}$, выделенные из воспаленного сустава, в меньшей степени реагировали на супрессорные стимулы $T_{рег}$. Авторы сделали предположение, что подобный эффект, возможно, связан с гиперактивацией протеинкиназы В под влиянием провоспалительных цитокинов – ИЛ6 и фактора некроза опухоли α

(ФНО α). Еще одним механизмом резистентности эффекторных клеток может служить нарушение чувствительности этих клеток к PD-1-сигнализации, что было продемонстрировано А. Raptoroulou и соавт. [96] при культивировании клеток здоровых доноров в присутствии СЖ пациентов с РА.

Также в литературе представлены противоречивые данные о взаимосвязи уровня $T_{рег}$ с клинико-лабораторными показателями активности РА. Так, в ряде работ выявлена обратная корреляционная взаимосвязь между DAS28 и процентом циркулирующих Foxp3+ регуляторных клеток [82, 84, 86]; с другой стороны, среди пациентов с высокой активностью заболевания авторы регистрируют высокое содержание CD25+Foxp3+ Т-клеток [82, 89]. В СТ пациентов с РА F. Behrens и соавт. [77] описали прямую взаимосвязь между T-bet/FoxP3 mRNA и DAS28. Что касается уровня С-реактивного белка (СРБ) и СОЭ, в литературе представлены противоречивые данные: ряд авторов продемонстрировали обратную взаимосвязь этих показателей с уровнем $T_{рег}$, другие исследователи никакой взаимосвязи не регистрировали [74, 79, 80, 84]. Также следует отметить, что ни в одной работе не выявлялась ассоциация процентного содержания $T_{рег}$ с возрастом, полом, длительностью заболевания, серопозитивностью по ревматоидному фактору (РФ) и АЦЦП и эрозивным поражением суставов [74, 79, 80, 84].

Таким образом, несмотря на противоречивые данные, следует отметить, что в большинстве работ регистрируется уменьшение числа циркулирующих $T_{рег}$ при РА. Увеличение содержания $T_{рег}$ в СЖ, вероятно, имеет компенсаторное значение, связанное с подавлением выраженности местного воспаления.

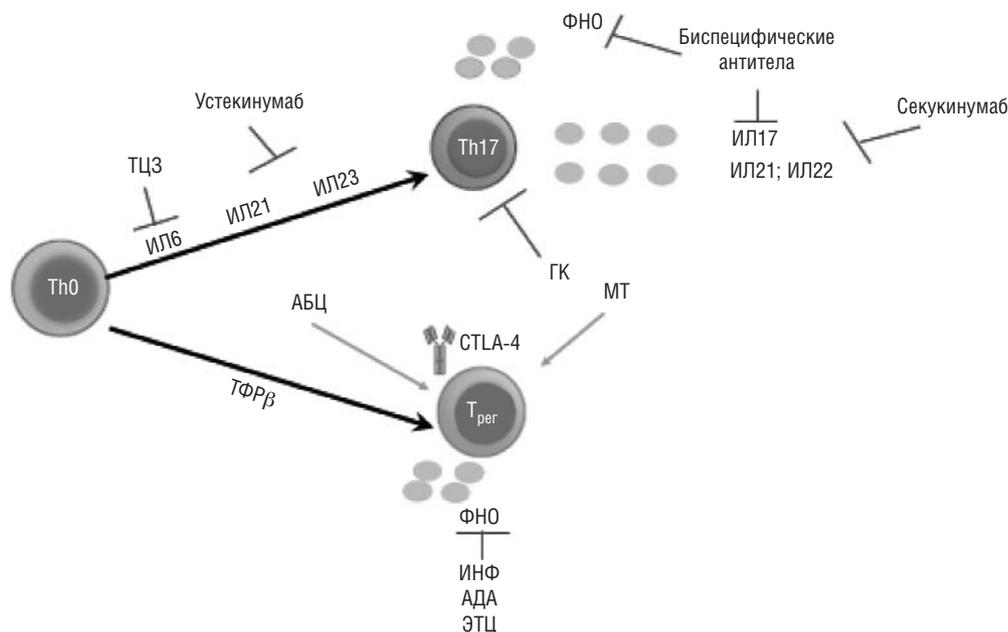
Влияние терапии ревматоидного артрита на уровень и функциональную активность $T_{рег}$

Современные принципы фармакотерапии РА основаны на ранней агрессивной терапии базисными про-

тивовоспалительными препаратами (БПВП), основным из которых является метотрексат (МТ), – концепция «окна возможностей», а также применении различных классов генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП), как правило, моноклональных антител (мАТ) – ингибиторов провоспалительных цитокинов или их рецепторов, что позволяет в ряде случаев добиться стойкой ремиссии заболевания [1]. Применение БПВП и ГИБП сопровождается определенным изменением уровня и функциональной активности $T_{рег}$, с чем в ряде случаев связывают лечебный эффект препаратов (см. рисунок, табл. 2).

Базисные противовоспалительные препараты и глюкокортикоиды

«Золотым стандартом» фармакотерапии РА в настоящее время является МТ. Современная тактика применения МТ (быстрая эскалация дозы, прием фолиевой кислоты) и, особенно, использование подкожных форм препарата позволяют повысить эффективность терапии на всех стадиях болезни и снизить потребность в назначении ГИБП. В ряде работ продемонстрировано изменение уровня $T_{рег}$, а также соотношения $T_{рег}/Th17$ на фоне применения МТ. Х. Yu и соавт. [97] на мышинных моделях продемонстрировали увеличение содержания $T_{рег}$, снижение числа Th17-лимфоцитов, а также дендритных клеток на фоне комбинированной терапии МТ и циклофосфамидом. Также в ряде исследований был продемонстрирован эффект МТ в культурах клеток [91, 98, 99, 115]. При воздействии препарата на мононуклеарные клетки, выделенные из периферической крови пациентов с РА, регистрировали усиление продукции Foxp3, а также секреции CD4+ лимфоцитами ИЛ10, ТФР β , отмечено повышение супрессорной активности $T_{рег}$ и снижение уровня мРНК ИЛ17 [98]. Е. Pericolini и соавт. [99] продемонстрировали способность МТ подавлять продукцию ИЛ17 и связанных с ним цитокинов



Основные мишени терапии БПВП и ГИБП (адаптировано из: Alunno A, et al. Mediators of inflammation. 2015: Article ID 751793). ТЦЗ – тоцилизумаб, АБЦ – абатацепт, ИНФ – инфликсимаб, АДА – адалимумаб, ЭТЦ – этанерцепт, ГК – глюкокортикоиды, ТФР β – трансформирующий фактор роста β

Таблица 2 Влияние современной терапии РА на уровень $T_{рег}$

Препарат	Источник	Число пациентов	Результат терапии
MT	X. Yu и соавт. [97]	Экспериментальные модели	Увеличение содержания $T_{рег}$, снижение числа Th17-лимфоцитов, а также дендритных клеток
	Y. Li и соавт. [98]	Мононуклеарные клетки пациентов с РА	Усиление продукции Foxp3, а также секреции CD4+ лимфоцитами ИЛ10, TФРβ, отмечено повышение супрессорной активности $T_{рег}$ и снижение уровня мРНК ИЛ17
	E. Pericolini и соавт. [99]	Мононуклеарные клетки пациентов с РА	Подавление продукции ИЛ17 и связанных с ним цитокинов ИЛ6, ИЛ22 и ИЛ23
	R. Peres и соавт. [100]	122 пациента с РА	В группе ответивших на терапию регистрировали увеличение пропорции Foxp3+ регуляторных клеток и продуцирующих ИЛ10 CD4+ лимфоцитов, а также более низкое процентное содержание CD4+ИЛ17+ (Th17) и CD4+ ИФНγ+ (Th1) клеток, по сравнению с группой не ответивших на лечение. Авторы продемонстрировали роль CD39 в качестве предиктора эффективности терапии MT: был выявлен более высокий уровень CD39 на поверхности $T_{рег}$, а также большее содержание CD4+CD39+CD25+ и CD4+CD39+CD25+Foxp3+ T-лимфоцитов у ответивших на терапию MT больных
	A. Cribbs и соавт. [101]	34 пациента с РА	Авторы представили данные, свидетельствующие о влиянии MT на эпигенетические дефекты функции $T_{рег}$. На фоне лечения MT отмечается усиление экспрессии FoxP3 и CTLA-4, связанное со снижением экспрессии гена ДНК метилтрансферазы, приводящим к существенному уменьшению метилирования ДНК, что способствует нормализации супрессивной функции $T_{рег}$
Гидрокси-хлорохин	J.C. da Silva и соавт. [102]	Мононуклеарные клетки пациентов с РА	Снижение продукции ИЛ17, ИЛ6 и ИЛ22
ГК	J.C. da Silva [103], B. de Paz [104]	13 пациентов с РА	Увеличение процентного содержания циркулирующих CD4+CD25+Foxp3+ $T_{рег}$ и CD25-Foxp3+ лимфоцитов
Ингибиторы ФНОα	M. Ehrenstein и соавт. [70]	27 пациентов с активным РА	Увеличение процентного содержания CD4+Foxp3+ клеток после начала терапии ИНФ, а также нормализация супрессорной функции этих клеток
	X. Valencia и соавт. [105]	15 пациентов с активным РА	После 3 мес применения ИНФ регистрировалась нормализация супрессорной функции $T_{рег}$ в отношении подавления синтеза ИФНγ и ФНОα эффекторными клетками, а также повышение экспрессии мРНК Foxp3 до уровня, сопоставимого с таковым у здоровых доноров
Ингибиторы рецепторов ИЛ6	Z. Huang и соавт. [106]	33 пациента с РА	Применение ЭТЦ сопровождается повышением уровня $T_{рег}$ и снижением содержания эффекторных клеток в периферической крови пациентов с РА
	M. Fujimoto и соавт. [107]	Экспериментальные модели	Снижение числа циркулирующих Th17-клеток при раннем применении антител к рецепторам ИЛ6, что коррелирует с уменьшением воспалительной активности заболевания
	M. Samson и соавт. [88]	15 пациентов с активным РА	На фоне терапии ТЦЗ регистрировалось уменьшение уровня Th17-лимфоцитов и повышение процентного количества $T_{рег}$
	B. Pesce и соавт. [108]	8 пациентов с активным РА	Увеличение числа $T_{рег}$ после 4 и 6 мес терапии ТЦЗ и отсутствие влияния препарата на содержание Th17-лимфоцитов
	J. Kikuchi и соавт. [109]	39 пациентов с РА	Достоверное повышение уровня CD4+CD25+CD127- $T_{рег}$ и отсутствие динамики числа Th17-лимфоцитов после 52 нед терапии ТЦЗ. Наиболее выраженное увеличение уровня $T_{рег}$ регистрировалось в группе пациентов, достигших ремиссии по CDAI на фоне лечения. Отрицательная корреляционная взаимосвязь между динамикой уровня $T_{рег}$ и изменением активности заболевания по SDAI
Анти-В-клеточная терапия	K. Hamel и соавт. [110]	Экспериментальные модели	Увеличение числа CD4+ лимфоцитов, экспрессирующих Foxp3 и CD25, а также повышение их супрессорной активности. Однако динамики содержания $T_{рег}$ на фоне терапии РТМ выявлено не было
Блокада костимуляции T-лимфоцитов	C. Alvarez-Quiroga и соавт. [111]	45 пациентов с РА	Снижение содержания CD4+CD25+Foxp3+ и CD4+CTLA4+ T-лимфоцитов, а также значительное повышение супрессорной функции $T_{рег}$
	J. Pieper и соавт. [112]	33 пациента с РА	Снижение уровня Foxp3+, Helios+ и CD39+ T-клеток после 3 мес терапии АБЦ. Также при культивировании СЖ <i>in vitro</i> в присутствии АБЦ регистрировалось снижение продукции ИФНγ эффекторными клетками, однако усиления функциональной активности $T_{рег}$ зарегистрировать не удалось
	A. Picchianti Diamanti и соавт. [113]	20 пациентов с РА	Отсутствие динамики уровня $T_{рег}$ на фоне терапии, однако было продемонстрировано восстановление нарушенной супрессорной функции $T_{рег}$ при использовании АБЦ
	M. Scarsi и соавт. [114]	24 пациента с РА	Повышение уровня $T_{рег}$ у пациентов с хорошим эффектом 6-месячного курса терапии АБЦ

ИЛ6, ИЛ22 и ИЛ23 в культурах мононуклеарных клеток пациентов с РА. Интересные данные были получены G. Guggino и соавт. [91], установившими снижение процентного содержания Th17-клеток у пациентов с ранним РА на фоне применения MT *in vitro*. Также необходимо отметить, что MT повышал продукцию Foxp3 мононуклеарными клетками периферической крови, вы-

деленными от больных РА, и не оказывал влияния на клетки здоровых доноров [99, 115]. R. Peres и соавт. [100] проанализировали уровень $T_{рег}$ у пациентов с РА в зависимости от эффективности MT. В исследование было включено 122 пациента с РА, получавших MT в стабильной дозе 15–20 мг/нед ≥ 4 нед. В зависимости от ответа на терапию все пациенты были разделены на

две группы: ответивших ($n=53$; DAS28 $<3,0$) и не ответивших ($n=69$; DAS28 $>4,0$) на терапию. В группе ответивших на терапию регистрировали увеличение пропорции Foxp3+ регуляторных клеток и продуцирующих ИЛ10 CD4+ лимфоцитов, а также более низкое процентное содержание CD4+ИЛ17+ (Th17) и CD4+ИФН γ + (Th1) клеток, по сравнению с группой не ответивших на лечение.

По-прежнему актуальной остается проблема персонализированного выбора оптимальной схемы лечения раннего РА. Диапазон времени, когда может быть получен максимальный эффект от противовоспалительных препаратов («окно возможностей»), составляет, по разным данным, 14–19 нед от начала заболевания [116], и назначение адекватной терапии именно в этот период позволяет добиться наилучших результатов. Поэтому по-прежнему актуальной остается проблема поиска биомаркеров, позволяющих осуществлять персонализированный выбор схемы лечения в каждом конкретном случае. Учитывая, что МТ является «золотым стандартом» терапии РА, поиск предикторов эффективности именно МТ представляется крайне необходимым. R. Peges и соавт. [100] продемонстрировали роль CD39 в качестве предиктора эффективности терапии МТ в группе из 122 пациентов с РА. Авторы выявили более высокий уровень CD39 на поверхности T_{рег}, а также большее содержание CD4+CD39+CD25+ и CD4+CD39+CD25+Foxp3+ Т-лимфоцитов у ответивших на терапию МТ, по сравнению с пациентами, не ответившими на лечение. Уровень CD73+CD4+ клеток достоверно не различался среди ответивших и не ответивших на лечение. Также авторы проанализировали плотность CD39 на поверхности CD4+CD25+Foxp3+ клеток до и после терапии МТ и установили, что исходно более низкая экспрессия данного клеточного маркера ассоциируется с отсутствием эффекта МТ с более чем 99% вероятностью. Подобные результаты могут быть обусловлены одним из возможных механизмов действия МТ, связанным с поддержанием высокого внеклеточного уровня аденозина, являющегося «антивоспалительным» медиатором [117, 118]. CD39 обладает способностью катализировать внеклеточный гидролиз аденозинтрифосфата (АТФ) и совместно с CD73 индуцирует синтез аденозина [119]. Блокирование аденозиновых рецепторов снижает противовоспалительный эффект МТ, что было продемонстрировано как в организме человека, так и на моделях лабораторных животных [120, 121]. Кроме того, МТ не оказывает противовоспалительного эффекта у мышей с дефицитом CD73 [122]. Экспрессия CD39 характерна для T_{рег} и определяет, видимо, один из иммуносупрессивных механизмов [119]. Аденозин подавляет T_{эфф} посредством активации рецепторов аденозина 2a и 2b, которые блокируют пролиферацию клеток, высвобождение цитотоксических гранул и секрецию провоспалительных цитокинов [123–125]. Активация 2a-рецепторов увеличивает пролиферацию iT_{рег} путем ингибирования экспрессии ИЛ6 и повышения продукции ТФР β . Кроме того, аденозин может влиять на функцию дендритных клеток, модулируя их созревание и фенотип [126, 127].

Совсем недавно были получены новые данные, свидетельствующие о влиянии МТ на эпигенетические дефекты функции T_{рег} [30, 101]. Напомним, что эпигенетическая регуляция генов, в первую очередь метилирова-

ние ДНК, играет существенную роль в контроле их функции [23]; было продемонстрировано, что метилирование ДНК участвует в экспрессии транскрипционного регулятора T_{рег} – FoxP3 [23]. Недавно получены данные о том, что снижение функции T_{рег} у пациентов с ранним РА, не получавших БПВП, ассоциируется со снижением экспрессии CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte protein 4) [30]. Полагают, что механизм, определяющий этот феномен, связан с усилением метилирования фактора транскрипции NFAT (nuclear factor of activated T cells), располагающегося в промоторном участке гена CTLA-4. Это приводит к нарушению транскрипционной активности и, как следствие, снижению экспрессии CTLA-4 [30]. На фоне лечения МТ отмечается усиление экспрессии FoxP3 и CTLA-4, что способствует нормализации супрессивной функции T_{рег}. Механизм, лежащий в основе этого уникального эпигенетического эффекта МТ, связан со снижением экспрессии гена ДНК метилтрансферазы, приводящим к существенному уменьшению метилирования ДНК [101].

Применение других классов БПВП и ГК также оказывает определенное влияние на уровень T_{рег} при РА. J.C. da Silva и соавт. [102] сообщают об эффектах гидроксихлорохина, добавление которого к культурам мононуклеарных клеток пациентов с РА приводит к снижению продукции ИЛ17, ИЛ6 и ИЛ22.

Применение ГК при РА сопровождается увеличением процентного содержания циркулирующих CD4+CD25+Foxp3+ регуляторных клеток и CD25-Foxp3+ лимфоцитов [103, 104]. Напротив, в образцах синовиальной жидкости, полученных от пациентов с РА до и после внутрисуставного введения ГК, регистрировали уменьшение экспрессии Foxp3, а следовательно, уменьшение числа Foxp3+ клеток, параллельно со снижением активности воспалительной реакции в целом [81]. Однако, учитывая пластичность T_{рег}, и возможное присутствие в синовиальной жидкости Foxp3+ ИЛ17-продуцирующих клеток, снижение экспрессии Foxp3, вероятно, связано с уменьшением именно этой клеточной субпопуляции.

Таким образом, МТ и, в определенной степени, ГК позитивно влияют на уровень и функциональную активность T_{рег} при РА, что, видимо, обуславливает один из возможных механизмов действия этой группы лекарственных препаратов. Представленные данные дают возможность лучше понять механизм действия МТ при РА, а также выявить вероятные предикторы эффективности терапии, что позволит персонализировать лечение на самых ранних стадиях заболевания.

Ингибиторы фактора некроза опухоли α

Ингибиторы ФНО α являются эффективными средствами лечения РА. ФНО α – это плейотропный цитокин, обладающий провоспалительной и иммуномодулирующей активностью. Действие ФНО α на T_{рег} противоречиво. С одной стороны, имеются сообщения о негативном влиянии ФНО α на функциональную активность T_{рег}, которое опосредуется подавлением экспрессии Foxp3 [105]; с другой стороны, в литературе представлено большое количество данных, демонстрирующих позитивный эффект ингибиторов ФНО α на уровень и функциональную активность T_{рег}. Одна из первых работ по оценке влияния ИФН на гомеостаз T_{рег} была представлена в 2004 г. M. Ehrenstein и соавт. [70].

На группе из 27 пациентов с активным РА они продемонстрировали увеличение процентного содержания CD4+Foxp3+ клеток после начала терапии ИНФ, а также нормализацию супрессорной функции этих клеток. После применения препарата T_{рег} пациентов с РА были способны подавлять продукцию провоспалительных цитокинов (ИНФγ и ФНОα) наравне с клетками здоровых доноров. X. Valencia и соавт. [105] в группе из 15 пациентов с активным РА после 3 мес применения ИНФ регистрировали нормализацию супрессорной функции T_{рег} в отношении подавления синтеза ИНФγ и ФНОα T_{эфф}, а также повышение экспрессии мРНК Foxp3 до уровня, сопоставимого с таковым у здоровых доноров. Влияние терапии АДА на уровень и функциональную активность T_{рег} противоречиво. E.J. Dombrecht и соавт. [75] и C. Blache и соавт. [128] не выявили изменений процентного содержания T_{рег} при РА на фоне терапии АДА. В работах других авторов было продемонстрировано повышение процентного уровня циркулирующих CD25+Foxp3+ Т-клеток при использовании АДА, что было связано с эффективностью терапии [94] или не зависело от нее [129, 130]. Кроме того, T_{рег}, выделенные из крови пациентов с РА и хорошим клиническим эффектом АДА, обладали более выраженной подавляющей активностью в отношении пролиферации эффекторных клеток [94, 130]. Также было установлено, что применение АДА сопровождается увеличением числа T_{рег}, подавляющих синтез ИНФγ и ИЛ17, что зависело от модуляции продукции ИЛ6 моноцитами. [94]. Применение ЭТЦ также сопровождается повышением уровня T_{рег} и снижением содержания эффекторных клеток в периферической крови пациентов с РА, что было продемонстрировано Z. Huang и соавт. [106] при сравнении эффекта комбинированной терапии МТ + ингибиторы ФНОα и монотерапии МТ в группе из 33 пациентов с активным РА. Молекулярные механизмы, лежащие в основе тормозящего влияния ФНОα на функциональную активность T_{рег}, можно объяснить рядом факторов. X. Valencia и соавт. [105] было продемонстрировано снижение уровня мРНК Foxp3 на фоне высокой концентрации ФНОα в кровотоке. Этот эффект, возможно, опосредуется ФНОР2, который присутствует на поверхности T_{рег}. H. Nie и соавт. [131] сообщают, что способность Foxp3 регулировать транскрипцию, а следовательно, и супрессорную активность T_{рег}, зависит от ФНОα-зависимого дефосфорилирования С-концевого участка ДНК-связывающего домена этой молекулы. Эффект связан с активностью протеинфосфатазы I, транскрипция гена которой ФНОα индуцирует через активацию ядерного фактора каппа-В (NF-κB). Применение ингибиторов ФНОα сопровождается уменьшением продукции протеинфосфатазы I, увеличением фосфорилирования Foxp3 и повышением функциональной активности T_{рег}.

Эффекты ФНОα опосредуются двумя типами рецепторов: ФНОР1 (p55) и ФНОР2 (p75), которые могут быть связаны с поверхностью клеток, а также представлены растворимыми формами, обладающими способностью нейтрализовать действие ФНОα [132–134]. ФНОР1 представлен на большинстве клеток, с ним связана реализация ряда классических эффектов ФНОα (провоспалительных, цитотоксических, апоптотических) [135, 136]. В противоположность ему, ФНОР2 преимущественно отвечает за сигналы, обеспечивающие

активацию и пролиферацию лимфоцитов [137, 188]. Провоспалительные эффекты ФНОα хорошо известны и достаточно изучены в большом количестве клинических исследований, однако в ряде работ обсуждается противовоспалительное и иммунодепрессивное действие ФНОα [139–141]. Это было продемонстрировано на модели развития сахарного диабета 1-го типа, а также волчаночного нефрита у лабораторных животных [142–144]. Таким образом, на мышинных моделях аутоиммунных заболеваний продемонстрированы различные эффекты ФНОα, опосредующие как подавление, так и стимуляцию аутоиммунной патологии, что, вероятно, зависит от стадии заболевания, генетической предрасположенности, длительности и сроков секреции ФНОα. Следует уточнить, что применение ингибиторов ФНОα, как правило, оказывает положительный эффект на течение РА и воспалительных заболеваний кишечника, но у ряда пациентов отмечено развитие неблагоприятных реакций в виде волчаночноподобного аутоиммунного синдрома и воспалительных заболеваний центральной нервной системы (ЦНС) [145]. Применение ингибиторов ФНОα при рассеянном склерозе приводит к активации иммунной системы и обострению заболевания [145]. На сегодняшний день клеточные и молекулярные механизмы, лежащие в основе контрастных эффектов ФНОα, а также ингибиторов ФНОα в отношении аутоиммунитета, остаются не до конца понятными. X. Chen и соавт. [146] на мышинных моделях продемонстрировали высокий уровень ФНОР2 на поверхности T_{рег} в тимусе (>80%), а также на периферических CD4+ клетках по сравнению с CD8+ лимфоцитами. В недавних исследованиях было показано, что ФНОР2 играет решающее значение в экспансии CD4+ и CD8+ T_{рег} [147, 148]. Foxp3+ Т-лимфоциты здоровых доноров экспрессируют значительно более высокие уровни ФНОР2 (около 70%), по сравнению с Foxp3- T_{эфф} (около 20%). Связывание ФНОα с ФНОР2 способствует выживанию T_{рег} при онкологических заболеваниях [149]. Важно отметить, что экспрессия ФНОР2 у мышей характерна для субпопуляции T_{рег} с максимальными супрессорными свойствами [146, 150], также эти клетки отличаются высоким пролиферативным потенциалом [150]. T_{рег} с дефицитом ФНОР2 не способны контролировать воспалительные реакции *in vivo* [151]. T_{эфф} характеризуются низкой экспрессией ФНОР2 в покое ($<10\%$), однако после стимуляции экспрессия ФНОР2 может достигать 30% и более даже в присутствии T_{рег} [152], что ассоциируется с резистентностью T_{эфф} к подавляющим стимулам у лабораторных животных [150, 153]. Таким образом, ФНОα может оказывать стимулирующее влияние как на T_{рег}, так и на T_{эфф}, которое, вероятно, опосредуется одним и тем же ФНОР2. X. Chen и соавт. [154] предложили двухфазную модель развития иммунной реакции: на начальной стадии ФНОα вызывает активацию T_{эфф} и T_{рег} и освобождает эффекторные клетки от тормозящего влияния T_{рег}, что позволяет им обеспечивать эффективную иммунную реакцию против патогенов. Позднее за счет более высокой экспрессии ФНОР2 на T_{рег} происходит активация и пролиферация T_{рег} в значительно больших количествах, что может являться причиной накопления активированных T_{рег} в очаге хронической инфекции, при аутоиммунных и онкологических заболеваниях. Таким образом, стиму-

лирующее действие ФНО α на $T_{\text{рег}}$ представляет собой важный противовоспалительный механизм обратной связи, необходимый для прекращения слишком длительного или чрезмерного воспаления.

Однако следует отметить, что большинство данных, демонстрирующих позитивное влияние ФНО α на функциональную активность $T_{\text{рег}}$, получены на мышинных моделях и не были подтверждены на клетках человека. Вероятно, $T_{\text{рег}}$ мышей и человека могут по-разному реагировать на ФНО α , и большинство данных демонстрируют негативное влияние ФНО α на функцию $T_{\text{рег}}$ человека. Однако результаты исследований по данному вопросу весьма противоречивы и требуют дальнейшего подтверждения.

Ингибиторы рецепторов интерлейкина 6

Учитывая важную роль ИЛ6 в регуляции функциональной активности $T_{\text{рег}}$ и возможность их дифференцировки в сторону продуцирующих ИЛ17 клеток, влияние ТЦЗ – гуманизированных мАТ к рецепторам ИЛ6 – на соотношение $T_{\text{рег}}/Th17$ -клеток представляется крайне интересным. М. Fujimoto и соавт. [107] на модели экспериментального артрита у лабораторных животных продемонстрировали снижение числа циркулирующих Th17-клеток при раннем применении антител к рецепторам ИЛ6, что коррелировало с уменьшением воспалительной активности заболевания. М. Samson и соавт. [88] проанализировали влияние ТЦЗ на соотношение $T_{\text{рег}}/Th17$ -клеток в группе из 15 пациентов с активным РА. До начала терапии у них регистрировалось повышение процентного содержания CD4+ИЛ17+ Т-лимфоцитов и снижение уровня CD4+CD25+Foxp3+ клеток по сравнению со здоровыми донорами, однако супрессорная функция $T_{\text{рег}}$ не была нарушена. На фоне терапии ТЦЗ наблюдалось достоверное снижение активности заболевания, а также уменьшение уровня Th17 лимфоцитов (с 0,9 до 0,45%) и повышение процентного содержания $T_{\text{рег}}$ (3,05 и 3,94%). В. Pesce и соавт. [108] также выявили увеличение числа $T_{\text{рег}}$ после 4 и 6 мес терапии ТЦЗ в группе из 8 пациентов с активным РА, но не отметили влияния препарата на содержание Th17-лимфоцитов. J. Kikuchi и соавт. [109] в группе из 39 пациентов с РА продемонстрировали достоверное повышение уровня CD4+CD25+CD127- $T_{\text{рег}}$ и отсутствие динамики числа Th17-лимфоцитов после 52 нед терапии ТЦЗ. Наиболее выраженное увеличение уровня $T_{\text{рег}}$ регистрировалось в группе пациентов, достигших ремиссии по CDAI на фоне лечения. Также авторами была выявлена отрицательная корреляционная взаимосвязь между динамикой уровня $T_{\text{рег}}$ и изменением активности заболевания по SDAI ($r=-0,4$; $p=0,01$). Положительное влияние ТЦЗ на уровень $T_{\text{рег}}$ было продемонстрировано рядом других исследователей [155]. А. Thiolat и соавт. [156] проанализировали экспрессию CD39 на поверхности $T_{\text{рег}}$ на фоне применения ТЦЗ у 15 пациентов с РА. CD39 определяет один из иммуносупрессивных механизмов $T_{\text{рег}}$; данный маркер экспрессируют около 50% $T_{\text{рег}}$ здоровых доноров. Экспрессия CD39 $T_{\text{рег}}$ достоверно повышалась при применении ТЦЗ и в группе ответивших на терапию была выше, чем у тех, кто не ответил на лечение (72 ± 4 и $44\pm 8\%$ соответственно; $p<0,05$). Эти различия были зафиксированы уже через 1 мес после начала терапии ТЦЗ, но достигали статистической достоверности после

3 мес применения препарата. Также авторами была продемонстрирована более выраженная иммуносупрессорная активность CD39+ $T_{\text{рег}}$ по сравнению с CD39- $T_{\text{рег}}$. Содержание Th17-лимфоцитов существенно не менялось.

Таким образом, применение ТЦЗ сопровождается достоверным повышением уровня и функциональной активности $T_{\text{рег}}$, а также уменьшением соотношения Th17/ $T_{\text{рег}}$.

Другие группы генно-инженерных биологических препаратов

Анти-В-клеточная терапия

Ритукисмаб (РТМ) – химерные мАТ к антигену CD20 В-лимфоцитов – является эффективным препаратом в терапии РА. Механизм действия РТМ при РА до сих пор вызывает определенный интерес. Снижение числа В-лимфоцитов, регистрирующееся на фоне терапии, не всегда коррелирует с клиническим эффектом препарата; в связи с этим было высказано предположение о возможном влиянии РТМ на уровень и функциональную активность $T_{\text{рег}}$. К. Namel и соавт. [110] на модели артрита мышей, индуцированного протеогликанами, при введении мАТ к CD20 выявили увеличение числа CD4+ лимфоцитов, экспрессирующих Foxp3 и CD25, а также повышение их супрессорной активности. Однако динамики количества $T_{\text{рег}}$ на фоне терапии РТМ выявлено не было [157].

Блокада костимуляции Т-лимфоцитов

Учитывая важное значение CTLA-4 в ингибировании Т-клеточного иммунного ответа, а также снижение экспрессии данного маркера на поверхности $T_{\text{рег}}$ при РА, особый интерес представляет изучение влияния АБЦ на уровень и функциональную активность $T_{\text{рег}}$ при РА. АБЦ представляет собой растворимую гибридную белковую молекулу, состоящую из внеклеточного домена CTLA-4 человека, связанного с модифицированным Fc-фрагментом (CH2- и CH3-областями) IgG1. В литературе представлены противоречивые данные о влиянии АБЦ на функциональную активность $T_{\text{рег}}$. С. Alvarez-Quiroga и соавт. [111] в группе из 45 пациентов с РА (30 из них получали АБЦ и 15 – стандартную терапию БПВП) выявили снижение содержания CD4+CD25+Foxp3+ и CD4+CTLA4+ Т-лимфоцитов, а также значительное повышение супрессорной функции $T_{\text{рег}}$ на фоне лечения АБЦ. Сходные результаты были получены J. Piereg и соавт. [112] в группе из 33 пациентов с РА. Авторами было продемонстрировано снижение уровня Foxp3+, Helios+ и CD39+ Т-клеток после 3 мес терапии АБЦ. Также при культивировании СЖ *in vitro* в присутствии АБЦ регистрировалось снижение продукции ИФН γ эффекторными клетками, однако усиления функциональной активности $T_{\text{рег}}$ зарегистрировать не удалось. А. Picchianti Diamanti и соавт. [113] проанализировали влияние 6-месячного курса терапии АБЦ на уровень Т- и В-лимфоцитов в группе из 20 пациентов с РА, у которых терапия ингибиторами ФНО α была неэффективной. Авторам не удалось выявить динамики уровня $T_{\text{рег}}$ на фоне терапии, однако было продемонстрировано восстановление нарушенной супрессорной функции $T_{\text{рег}}$ при использовании АБЦ. М. Scarsi и соавт. [114] в группе из 24 пациентов с РА обнаружили повышение уровня $T_{\text{рег}}$ у пациентов

с хорошим эффектом 6-месячного курса терапии АБЦ (n=17). Интерес вызывает недавно представленный клинический случай 14-летней пациентки из Кореи с впервые выявленным генетическим дефектом CTLA-4 и развитием множественных аутоиммунных нарушений. Применение АБЦ привело к частичной редукции клинической симптоматики, что не наблюдалось при использовании ГК и других классов лекарственных препаратов [158].

Заключение

Таким образом, $T_{\text{рег}}$ в настоящее время отводят важную роль в патогенезе аутоиммунных ревматических заболеваний, в частности РА. Снижение уровня и функциональной активности $T_{\text{рег}}$, вероятно, лежит в основе развития неконтролируемого хронического воспаления, приводящего к множественным органам повреждением. Сложности в изучении данной проблемы связаны, в первую очередь, с трудностями определения $T_{\text{рег}}$ в периферической крови в связи с отсутствием универсального поверхностного маркера данной клеточной субпопуляции, с феноменом «пластичности» $T_{\text{рег}}$ — способностью их к быстрому переходу в эффекторные Th17-лимфоциты, а также необходимостью не только количественного определения, но и оценки функциональной активности $T_{\text{рег}}$, а также их способности к активной иммуносупрессии. Большинство исследователей указывают на отрицательную корреляционную взаимосвязь уровня $T_{\text{рег}}$ с показателями активности РА, однако эти результа-

ты все же достаточно противоречивы, малочисленны и требуют дальнейшего уточнения. Не до конца понятными остаются данные о повышенном уровне $T_{\text{рег}}$ в СЖ пациентов с РА.

Большое количество работ демонстрирует позитивное влияние современной терапии РА БПВП и ГИБП на уровень и функциональную активность $T_{\text{рег}}$, с чем, вероятно, может быть связан один из возможных механизмов их действия. Однако ряд исследований представляют противоречивые данные о динамике уровня $T_{\text{рег}}$ на фоне лечения. Также имеются единичные работы, демонстрирующие роль $T_{\text{рег}}$ в качестве предикторов эффективности терапии БПВП. Анализ существующих наблюдений указывает на необходимость дальнейших исследований, призванных улучшить наше понимание роли $T_{\text{рег}}$ в развитии аутоиммунных заболеваний, а также обеспечить возможность реализации их терапевтического потенциала.

Прозрачность исследования

Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях

Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за статью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Насонов ЕЛ, Каратеев ДЕ, Балабанова РМ. Ревматоидный артрит. В кн.: Насонов ЕЛ, Насонова ВА, редакторы. Ревматология: Национальное руководство. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2008. С. 290-331 [Nasonov EL, Karateev DE, Balabanova RM. Rheumatoid arthritis. In: Nasonov EL, Nasonova VA, editors. *Revmatologiya: Natsional'noe rukovodstvo* [Rheumatology: National guidelines]. Moscow: GEOTAR-Media; 2008. P. 290-331].
2. Firestein G. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature*. 2003;423:356-61. doi: 10.1038/nature01661
3. Choy E, Panayi G. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*. 2001;344:907-16. doi: 10.1056/NEJM200103223441207
4. Weyand C, Goronzy J. Ectopic germinal center formation in rheumatoid synovitis. *Ann NY Acad Sci*. 2003;987:140-9. doi: 10.1111/j.1749-6632.2003.tb06042.x
5. Cope A. T cells in rheumatoid arthritis. *Arthr Res Ther*. 2008;10 Suppl 1:S1. doi: 10.1186/ar2412
6. Choy E. Selective modulation of T cell co-stimulation: a novel mode of action for the treatment of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2009;27:510-8.
7. Klimiuk PA, Yang H, Goronzy JJ, Weyand CM. Production of cytokines and metalloproteinases in rheumatoid synovitis is T cell dependent. *Clin Immunol*. 1999;90:65-78. doi: 10.1006/clim.1998.4618
8. Steward-Tharp S, Song Y, Siegel R, O'Shea J. New insights into T cells biology and T cells directed therapy for autoimmunity inflammation and immunosuppression. *Ann NY Acad Sci*. 2010;1183:123-48. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.05124.x
9. Быковская СН, Насонов ЕЛ. Роль дефектов иммуносупрессии в развитии аутоиммунных заболеваний. Научно-практическая ревматология. 2005;(4):81-4. [Bykovskaya SN, Nasonov EL. Role of immunosuppression defects in the development of autoimmune diseases. *Nauchno-Prakticheskaya Revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2005;43(4):81-4 (In Russ.)]. doi: 10.14412/1995-4484-2005-623
10. Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell*. 2008;133(5):775-87. doi: 10.1016/j.cell.2008.05.009
11. Zeng H, Chi H. The interplay between regulatory T cells and metabolism in immune regulation. *Oncol Immunology*. 2013;2(11):e26586. Epub 2013 Oct 21. doi: 10.4161/onci.26586
12. Lahl K, Loddenkemper C, Drouin C, et al. Selective depletion of Foxp3+ regulatory T cells induces a scurfy-like disease. *J Exp Med*. 2007;204(1):57-63. doi: 10.1084/jem.20061852. Epub 2007 Jan 2.
13. Buckner JH. Mechanisms of impaired regulation by CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells in human autoimmune diseases. *Nat Rev Immunol*. 2010;10:849-59. doi: 10.1038/nri2889
14. Wildin RS, Freitas A. IPEX and FOXP3: clinical and research perspectives. *J Autoimmun*. 2005;25 Suppl:56-62. doi: 10.1016/j.jaut.2005.04.008
15. Rudensky AY. Regulatory T cells and FoxP3. *Immunol Rev*. 2011;241:260-8. doi: 10.1111/j.1600-065X.2011.01018.x
16. Abbas AK, Benoist C, Bluestone JA, et al. Regulatory T cells: recommendations to simplify the nomenclature. *Nat Immunol*. 2013;14:300-8. doi: 10.1038/ni.2554
17. Miyara M, Yoshioka Y, Kitoh A, et al. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4+ T cells expressing the FoxP3 transcription factor. *Immunity*. 2009b;30:899-911. doi: 10.1016/j.immuni.2009.03.019
18. Sakaguchi S, Miyara M, Costantino CM, Hafler DA. FOXP3+ regulatory T cells in the human immune system. *Nat Rev Immunol*. 2010;10:490-500. doi: 10.1038/nri2785
19. Tran DQ, Andersson J, Hardwick D, et al. Selective expression of latency-associated peptide (LAP) and IL-1 receptor type I/II (CD121a/CD121b) on activated human FOXP3+ regulatory T cells allows for their purification from expansion cultures. *Blood*. 2009a;113:5125-33. doi: 10.1182/blood-2009-01-199950

20. Miyara M, Ito Y, Sakaguchi S. T reg-cell therapies for autoimmune rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2014 Sep;10(9):543-51. doi: 10.1038/nrhheum.2014.105
21. Prakken B, Wehrens E, van Wijl F. Quality or Quantity? Unraveling the role of T reg cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2013;65:552-4. doi: 10.1002/art.37831
22. Kmiecik M, Gowda M, Graham L, et al. Human T cells express CD25 and Foxp3 upon activation and exhibit effector/memory phenotypes without any regulatory/suppressor function. *J Transl Med*. 2009;7:89. doi: 10.1186/1479-5876-7-89
23. Kennedy A, Schmiudt EM, Cribbs AP, et al. A novel upstream enhancer of FOXP3, sensitive to methylation-induced silencing, exhibit dysregulated methylation in rheumatoid arthritis Treg cells. *Eur J Immunol*. 2014;44:2668-78. doi: 10.1002/eji.201444453
24. Seddiki N, Santner-Nanan B, Martinson J, et al. Expression of interleukin (IL)-2 and IL-7 receptors discriminates between human regulatory and activated T cells. *J Exp Med*. 2006;203:1693-700. doi: 10.1084/jem.20060468
25. Hartigan-O'Connor DJ, Poon C, Sinclair E, McCune JM. Human CD4+ regulatory T cells express lower levels of the IL-7 receptor α chain (CD127), allowing consistent identification and sorting of live cells. *J Immunol Met*. 2007;319:41-52. doi: 10.1016/j.jim.2006.10.008
26. Liu W, Putnam AL, Xu-Yu Z, et al. CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4+ Treg cells. *J Exp Med*. 2006;203:1701-1. doi: 10.1084/jem.20060772
27. Linsley PS, Greene JL, Tan P, et al. Coexpression and functional cooperation of CTLA-4 and CD28 on activated T lymphocytes. *J Exp Med*. 1992;176:1595-604. doi: 10.1084/jem.176.6.1595
28. Harper K, Balzano C, Rouvier E, et al. CTLA-4 and CD28 activated lymphocyte molecules are closely related in both mouse and human as to sequence, message expression, gene structure, and chromosomal location. *J Immunol*. 1991;147:1037-44.
29. Yokosuka T, Kobayashi W, Takamatsu M, et al. Spatiotemporal basis of CTLA-4 costimulatory molecule-mediated negative regulation of T cell activation. *Immunity*. 2010;33:326-39. doi: 10.1016/j.immuni.2010.09.006
30. Cribbs AP, Kennedy A, Penn H, et al. Regulatory T cell function in rheumatoid arthritis is compromised by CTLA-4 promoter methylation resulting in a failure to activate the IDO pathway. *Arthritis Rheum*. 2014 Sep;66(9):2344-54. doi: 10.1002/art.38715
31. Schneider H, Downey J, Smith A, et al. Reversal of the TCR stop signal by CTLA-4. *Science*. 2006;313:1972-5. doi: 10.1126/science.1131078
32. Hutloff A, Dittrich AM, Beier KC, et al. ICOS is an inducible T-cell co-stimulator structurally and functionally related to CD28. *Nature*. 1999;397:263-6. doi: 10.1038/16717
33. Yoshinaga SK, Whoriskey JS, Khare SD, et al. T-cell co-stimulation through B7RP-1 and ICOS. *Nature*. 1999;402:827-32. doi: 10.1038/45582
34. Kroczeck RA, Mages HW, Hutloff A. Emerging paradigms of T-cell co-stimulation. *Curr Opin Immunol*. 2004;16:321-7. doi: 10.1016/j.coi.2004.03.002
35. Greenwald RJ, Freeman GJ, Sharpe AH. The B7 family revisited. *Ann Rev Immunol*. 2005;23:515-48. doi: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115611
36. Sperling AI, Bluestone JA. ICOS costimulation: it's not just for TH2 cells anymore. *Nat Immunol*. 2001;2:573-4. doi: 10.1038/89709
37. Bonhagen K, Liesenfeld O, Stadecker MJ, et al. ICOS Th cells produce distinct cytokines in different mucosal immune responses. *Eur J Immunol*. 2003;33:392-401. doi: 10.1002/immu.200310013
38. Burmeister Y, Lischke T, Dahler A, et al. ICOS controls the pool size of effector-memory and regulatory T cells. *J Immunol*. 2008;180:774-82. doi: 10.4049/jimmunol.180.2.774
39. Hasegawa M, Fujimoto M, Matsushita T, et al. Augmented ICOS expression in patients with early diffuse cutaneous systemic sclerosis. *Rheumatology*. 2013;52:242-51. doi: 10.1093/rheumatology/kes258
40. Grimbacher B, Hutloff A, Schlesier M, et al. Homozygous loss of ICOS is associated with adult-onset common variable immunodeficiency. *Nat Immunol*. 2003;4:261-8. doi: 10.1038/ni902
41. Bishop GA, Hostager BS. The CD40-CD154 interaction in B cell-T cell liaisons. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2003;14:297-309. doi: 10.1016/S1359-6101(03)00024-8
42. O'Sullivan B, Thomas R. CD40 and dendritic cell function. *Crit Rev Immunol*. 2003;23:83-107. doi: 10.1615/CritRevImmunol.v23.i12.50
43. Peters A, Stunz L, Bishop G. CD40 and autoimmunity: the dark side of a great activator. *Semin Immunol*. 2009 Oct;21(5):293-300. doi: 10.1016/j.smim.2009.05.012
44. Munroe M. Functional roles for T cell CD40 in infection and autoimmune disease: The role of CD40 in lymphocyte homeostasis. *Semin Immunol*. 2009;21(5):283-8. doi: 10.1016/j.smim.2009.05.008
45. Berner B, Wolf G, Hummel KM, et al. Increased expression of CD154 on CD4+ T cells as a marker of disease activity in RA. *Ann Rheum Dis*. 2000;59:190-5. doi: 10.1136/ard.59.3.190
46. Hill D, Eastaff-Leung N, Bresatz-Atkins S, et al. Inhibition of activation induced CD154 on CD4+CD25- cells: a valid surrogate for human Treg suppressor function. *Immunol Cell Biol*. 2012;90:812-21. doi: 10.1038/icb.2012.18
47. Sharpe AH, Wherry EJ, Ahmed R, Freeman GJ. The function of programmed cell death 1 and its ligands in regulating autoimmunity and infection. *Nat Immunol*. 2007; 8:239-45. doi: 10.1038/ni1443
48. Okazaki T, Honjo T. PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application. *Int Immunol*. 2007;19:813-24. doi: 10.1093/intimm/dxm057
49. Nurieva RI, Liu X, Dong C. Yin-Yang of costimulation: crucial controls of immune tolerance and function. *Immunol Rev*. 2009;229:88-100. doi: 10.1111/j.1600-065X.2009.00769.x
50. Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol*. 2008;26:677-704. doi: 10.1146/annurev.immunol.26.021607.090331
51. Freeman GJ, Wherry EJ, Ahmed R, Sharpe AH. Reinvigorating exhausted HIV-specific T cells via PD-1-PD-1 ligand blockade. *J Exp Med*. 2006;203:2223-7. doi: 10.1084/jem.20061800
52. Francisco L, Sage P, Sharpe A. The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity. *Immunol Rev*. 2010;236:219-42. doi: 10.1111/j.1600-065X.2010.00923.x
53. Fife B, Pauken K. The role of the PD-1 pathway in autoimmunity and peripheral tolerance. *Ann NY Acad Sci*. 2011;1217:45-59. doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05919.x
54. Komatsu N, Okamoto K, Sawa S, et al. Pathogenic conversion of Foxp3+ T cells into TH17 cells in autoimmune arthritis. *Nat Med*. 2014;20:62-70. doi: 10.1038/nm.3432
55. Fossiez F, Djossou O, Chomarat P, et al. T cell interleukin-17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines. *J Exp Med*. 1996;183:2593-603. doi: 10.1084/jem.183.6.2593
56. Moran EM, Mullan R, McCormick J, et al. Human rheumatoid arthritis tissue production of IL-17A drives matrix- and cartilage degradation: synergy with tumour necrosis factor- α , Oncostatin M and response to biologic therapies. *Arthr Res Ther*. 2009;11:R113. doi: 10.1186/ar2772
57. Sato K, Suematsu A, Okamoto K, et al. Th17 functions as an osteoclastogenic helper T cell subset that links T cell activation and bone destruction. *J Exp Med*. 2006;203:2673-82. doi: 10.1084/jem.20061775
58. Abdulhad W, Boots A, Kallenberg C. FoxP3+ CD4+ T cells in systemic autoimmune diseases: the delicate balance between true regulatory T cells and effector Th-17 cells. *Rheumatology*. 2011;50:646-56. doi: 10.1093/rheumatology/keq328
59. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature*. 2006;441:235-8. doi: 10.1038/nature04753

60. Du J, Huang C, Zhou B, Ziegler SF. Isoform-specific inhibition of ROR alpha-mediated transcriptional activation by human FOXP3. *J Immunol.* 2008;180:4785-92. doi: 10.4049/jimmunol.180.7.4785
61. Koenen HJ, Smeets RL, Vink PM, et al. Human CD25^{high}Foxp3^{pos} regulatory T cells differentiate into IL-17-producing cells. *Blood.* 2008;112:2340-52. doi: 10.1182/blood-2008-01-133967
62. Ayyoub M, Deknuydt F, Raimbaud I, et al. Human memory FOXP3+ Tregs secrete IL-17 ex vivo and constitutively express the T(H)17 lineage-specific transcription factor RORgamma t. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106:8635-40. doi: 10.1073/pnas.0900621106
63. Voo KS, Wang YH, Santori FR, et al. Identification of IL-17-producing FOXP3+ regulatory T cells in humans. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106:4793-8. doi: 10.1073/pnas.0900408106
64. Beriou G, Costantino CM, Ashley CW, et al. IL-17-producing human peripheral regulatory T cells retain suppressive function. *Blood.* 2009;113:4240-9. doi: 10.1182/blood-2008-10-183251
65. Wang T, Sun X, Zhao J. Regulatory T cells in rheumatoid arthritis showed increased plasticity toward Th17 but retained suppressive function in peripheral blood. *Ann Rheum Dis.* 2014;0:1-9. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204228
66. Harris KM, Fasano A, Mann DL. Monocytes differentiated with IL-15 support Th17 and Th1 responses to wheat gliadin: implications for celiac disease. *Clin Immunol* 2010;135:430-9. doi: 10.1016/j.clim.2010.01.003
67. Ferretti S, Bonneau O, Dubois GR, et al. IL-17, produced by lymphocytes and neutrophils, is necessary for lipopolysaccharide-induced airway neutrophilia: IL-15 as a possible trigger. *J Immunol.* 2003;170:2106-12. doi: 10.4049/jimmunol.170.4.2106
68. 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. doi: 10.1002/immu.200390024
69. Cao D, van Vollenhoven R, Klareskog L, et al. CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells are enriched in inflamed joints of patients with chronic rheumatic disease. *Arthr Res Ther.* 2004;6:R335-46. doi: 10.1186/ar1192
70. Ehrenstein MR, Evans JG, Singt A, et al. Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNF α therapy. *J Exp Med.* 2004;200(3):277-85. doi: 10.1084/jem.20040165. Epub 2004 Jul 26.
71. Van Amelsfort JMR, Jacobs KMG, Bijlsma JWJ, 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. doi: 10.1002/art.20499
72. 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 Exper Immunol.* 2005;140:360-7. doi: 10.1111/j.1365-2249.2005.02754.x
73. Liu M-F, Wang C-R, Fung L-L, et al. The presence of cytokine-suppressive CD4⁺CD25⁺ T cells in the peripheral blood and synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Immunol.* 2005;62:312-7. doi: 10.1111/j.1365-3083.2005.01656.x
74. Cao D, Borjesson O, Larsson P, et al. FOXP3 identifies regulatory CD25^{bright}CD4⁺ T cells in rheumatic joints. *Scand J Immunol.* 2006;63:444-52. doi: 10.1111/j.1365-3083.2006.001755.x
75. Dombrecht EJ, Aerts NE, Schuerwegh AJ, et al. Influence of anti-tumor necrosis factor therapy (Adalimumab) on regulatory T cells and dendritic cells in rheumatoid arthritis. *Clin Exper Rheumatol.* 2006;24:31-7.
76. Van Amelsfort JMR, Van Roon JAG, Noordegraaf M, et al. Proinflammatory mediator-induced reversal of CD4⁺, CD25⁺ regulatory T cell-mediated suppression in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2007;56:732-42. doi: 10.1002/art.22414
77. Behrens F, Himsel A, Rehart S, et al. Imbalance in distribution of functional autologous regulatory T cells in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2007;66:1151-6. doi: 10.1136/ard.2006.068320
78. Lin SC, Chen K-H, Lin C-H, et al. The quantitative analysis of peripheral blood FOXP3-expressing T cells in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis patients. *Eur J Clin Invest.* 2007;37:987-96. doi: 10.1111/j.1365-2362.2007.01882.x
79. Jiao Z, Wang W, Jia R, et al. Accumulation of FoxP3-expressing CD4⁺CD25⁺ T cells with distinct chemokine receptors in synovial fluid of patients with active rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol.* 2007;36:428-33. doi: 10.1080/03009740701482800
80. Han GM, O'Neil-Andersen NJ, Zurier RB, Lawrence DA. CD4⁺CD25^{high} T cell numbers are enriched in the peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis. *Cell Immunol.* 2008;253:92-101. doi: 10.1016/j.cellimm.2008.05.007
81. Raghavan S, Cao D, Widhe M, et al. FOXP3 expression in blood, synovial fluid and synovial tissue during inflammatory arthritis and intra-articular corticosteroid treatment. *Ann Rheum Dis.* 2009;68:1908-15. doi: 10.1136/ard.2008.100768
82. Sempere-Ortells JM, Perez-Garcia V, Marin-Alberca G, et al. Quantification and phenotype of regulatory T cells in rheumatoid arthritis according to disease activity Score-28. *Autoimmunity.* 2009;42:636-45. doi: 10.3109/08916930903061491
83. Dejaco C, Duftner C, Klauser A, Schirmer M. Altered T-cell subtypes in spondyloarthritis, rheumatoid arthritis and polymyalgia rheumatica. *Rheumatol Int.* 2010;30:297-303. doi: 10.1007/s00296-009-0949-9
84. Kawashiri S-Y, Kawakami A, Okada A, et al. CD4⁺CD25^(high)CD127^(low/-) Treg cell frequency from peripheral blood correlates with disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2011;38:2517-21. doi: 10.3899/jrheum.110283
85. Lina C, Conghua W, Nan L, Ping Z. Combined treatment of etanercept and MTX reverses Th1/Th2, Th17/Treg imbalance in patients with rheumatoid arthritis. *J Clin Immunol.* 2011;31:596-605. doi: 10.1007/s10875-011-9542-6
86. Niu Q, Cai B, Huang Z-C, et al. Disturbed Th17/Treg balance in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2012;32:2731-6. doi: 10.1007/s00296-011-1984-x
87. Xq E, Meng HX, Cao Y, et al. Distribution of regulatory T cells and interaction with dendritic cells in the synovium of rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol.* 2012;41:413-20. doi: 10.3109/03009742.2012.696135
88. Samson M, Audia S, Janikashvili N, et al. Brief report: inhibition of interleukin-6 function corrects Th17/Treg cell imbalance in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2012;64:2499-503. doi: 10.1002/art.34477
89. Ji L, Geng Y, Zhou W, Zhang Z. A study on relationship among apoptosis rates, number of peripheral T cell subtypes and disease activity in rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis.* 2016;19:167-71. doi: 10.1111/1756-185X.12211
90. Moradi B, Schnatzer P, Haggmann S, et al. CD4⁺CD25⁺/highCD127^{low/-} regulatory T cells are enriched in rheumatoid arthritis and osteoarthritis joints — analysis of frequency and phenotype in synovial membrane, synovial fluid and peripheral blood. *Arthr Res Ther.* 2014;16:R97. doi: 10.1186/ar4545
91. Guggino G, Giardina A, Ferrante A, et al. The in vitro addition of methotrexate and/or methylprednisolone determines peripheral reduction in Th17 and expansion of conventional Treg and of IL-10 producing Th17 lymphocytes in patients with early rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2015;35:171-5. doi: 10.1007/s00296-014-3030-2
92. Lawson CA, Brown AK, 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(10):1210-7. doi: 10.1093/rheumatology/ke1089

93. Hensor RMA, Hunt L, Patmar R, et al. Predicting the evaluation of inflammatory arthritis in ACPA-positive individuals: can T-cell subset help? *Ann Rheum Dis.* 2014;73 Suppl 1:A14. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-205124.32
94. McGovern JL, Nguyen DX, Notley CA, et al. Th17 cells are restrained by T reg cells via the inhibition of interleukin-6 in patients with rheumatoid arthritis responding to anti-tumor necrosis factor antibody therapy. *Arthritis Rheum.* 2012;64(10):3129-38. doi: 10.1002/art.34565
95. Wehrens EJ, Mijneer G, Duurland CL, et al. Functional human regulatory T cells fail to control autoimmune inflammation due to PKB/c-akt hyperactivation in effector cells. *Blood.* 2011;118:3538-48. doi: 10.1182/blood-2010-12-328187
96. Raptopoulou AP, Bertias G, Makrygiannakis D, et al. The programmed death 1/programmed death ligand 1 inhibitory pathway is up-regulated in rheumatoid synovium and regulates peripheral T cell responses in human and murine arthritis. *Arthritis Rheum.* 2010;62:1870-80. doi: 10.1002/art.27500
97. Yu X, Wang C, Luo J, et al. Combination with methotrexate and cyclophosphamide attenuated maturation of dendritic cells: inducing treg skewing and Th17 suppression *in vivo*. *Clin Devel Immunol.* 2013;Article ID 238035, 12 p.
98. Li Y, Jiang L, Zhang S, et al. Methotrexate attenuates the Th17/IL-17 levels in peripheral blood mononuclear cells from healthy individuals and RA patients. *Rheumatol Internat.* 2012;32:2415-22. doi: 10.1007/s00296-011-1867-1
99. Pericolini E, Gabrielli E, Alunno A, et al. Functional improvement of regulatory T cells from rheumatoid arthritis subjects induced by capsular polysaccharide glucuronoxylomannogalactan. *PLoS One.* 2014;9:Article ID e111163. doi: 10.1371/journal.pone.0111163
100. Peres R, Liew F, Talbot J, et al. Low expression of CD39 on regulatory T cells as a biomarker for resistance to methotrexate therapy in rheumatoid arthritis. *PNAS.* 2015;122:2509-14. doi: 10.1073/pnas.1424792112
101. Cribbs AP, Kennedy A, Penn H, et al. Methotrexate restores regulatory T cell function through demethylation of the FoxP3 upstream enhancer in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2015;67:1182-92. doi: 10.1002/art.39031
102. Da Silva JC, Mariz HA, da Rocha LF Jr, et al. Hydroxychloroquine decreases Th17-related cytokines in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis patients. *Clinics.* 2013;68:766-71. doi: 10.6061/clinics/2013(06)07
103. De Paz B, Alperi-Lopez M, Ballina-Garcia FJ, et al. Cytokines and regulatory T cells in rheumatoid arthritis and their relationship with response to corticosteroids. *J Rheumatol.* 2010;37:2502-10. doi: 10.3899/jrheum.100324
104. De Paz B, Prado C, Alperi-Lopez M, et al. Effects of glucocorticoid treatment on CD25-FOXP3+ population and cytokine producing cells in rheumatoid arthritis. *Rheumatology.* 2012;51:1198-207. doi: 10.1093/rheumatology/kes039
105. Valencia X, Stephens G, Goldbach-Mansky R, et al. TNF down modulate the function of human CD4+CG25hiT-regulatory cells. *Blood.* 2006;108(1):253-61. doi: 10.1182/blood-2005-11-4567
106. Huang Z, Yang B, Shi Y, et al. Anti-TNF- α therapy improves Treg and suppresses T_H17 responses in patients with rheumatoid arthritis. *Cell Immunol.* 2012;279:25-9. doi: 10.1016/j.celimm.2012.09.001
107. Fujimoto M, Serada S, Mihara M, et al. Interleukin-6 blockade suppresses autoimmune arthritis in mice by the inhibition of inflammatory Th17 responses. *Arthritis Rheum.* 2008;58:3710-9. doi: 10.1002/art.24126
108. Pesce B, Soto L, Sabugo F, et al. Effect of interleukin-6 receptor blockade on the balance between regulatory T cells and T helper type 17 cells in rheumatoid arthritis patients. *Clin Exper Immunol.* 2012;171:237-42. doi: 10.1111/cei.12017
109. Kikuchi J, Hashizume M, Kaneko Y, et al. Peripheral blood CD4+CD25+CD127low regulatory T cells are significantly increased by tocilizumab treatment in patients with rheumatoid arthritis: increase in regulatory T cells correlates with clinical response. *Arthr Res Ther.* 2015;17:10. doi: 10.1186/s13075-015-0526-4
110. Hamel KM, Cao Y, Ashaye A, et al. B cell depletion enhance T regulatory cell activity essential in the suppression of arthritis. *J Immunol.* 2011;187(9):4900-6. doi: 10.4049/jimmunol.1101844
111. Alvarez-Quiroga C, Abud-Mendoza C, Doniz-Padilla L, et al. CTLA-4-Ig therapy diminishes the frequency but enhances the function of treg cells in patients with rheumatoid arthritis. *J Clin Immunol.* 2011;31:588-95. doi: 10.1007/s10875-011-9527-5
112. Pieper J, Herrath J, Raghavan S, et al. CTLA4-Ig (abatacept) therapy modulates T cell effector functions in autoantibody-positive rheumatoid arthritis patients. *BMC Immunol.* 2013;14:34. doi: 10.1186/1471-2172-14-34
113. Picchianti Diamanti A, Rosado MM, Scarsella M, et al. Abatacept (cytotoxic T lymphocyte antigen 4-immunoglobulin) improves B cell function and regulatory T cell inhibitory capacity in rheumatoid arthritis patients non-responding to anti-tumour necrosis factor- α agents. *Clin Exper Immunol.* 2014;177:630-40. doi: 10.1111/cei.12367
114. Scarsi M, Zanotti C, Chiarini M, et al. Reduction of peripheral blood T cells producing IFN- γ and IL-17 after therapy with abatacept for rheumatoid arthritis. *Clin Exper Rheumatol.* 2014;32:204-10.
115. Oh JS, Kim Y-G, Lee SG, et al. The effect of various disease modifying anti-rheumatic drugs on the suppressive function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Rheumatol Int.* 2013;33:381-8. doi: 10.1007/s00296-012-2365-9
116. Van Nies JA, Gaujoux-Viala C, Tsonaka R, et al. When does the therapeutic window of opportunity in rheumatoid arthritis close? A study in two early RA cohorts. *Ann Rheum Dis.* 2014;73 Suppl. 2:73. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-eular.5266
117. Cronstein BN. Low-dose methotrexate: A mainstay in the treatment of rheumatoid arthritis. *Pharmacol Rev.* 2005;57(2):163-72. doi: 10.1124/pr.57.2.3
118. Cronstein BN, Eberle MA, Gruber HE, Levin RI. Methotrexate inhibits neutrophil function by stimulating adenosine release from connective tissue cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1991;88(6):2441-5. doi: 10.1073/pnas.88.6.2441
119. Deaglio S, Dwyer KM, Gao W, et al. Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression. *J Exp Med.* 2007;204(6):1257-65. doi: 10.1084/jem.20062512
120. Montesinos MC, Yap JS, Desai A, et al. Reversal of the antiinflammatory effects of methotrexate by the nonselective adenosine receptor antagonists theophylline and caffeine: Evidence that the antiinflammatory effects of methotrexate are mediated via multiple adenosine receptors in rat adjuvant arthritis. *Arthritis Rheum.* 2000;43(3):656-63. doi: 10.1002/1529-0131(200003)43:3<656::AID-ANR23>3.0.CO;2-H
121. Neshet G, Mates M, Zevin S. Effect of caffeine consumption on efficacy of methotrexate in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2003;48(2):571-2. doi: 10.1002/art.10766
122. Montesinos MC, Takedachi M, Thompson LF, et al. The antiinflammatory mechanism of methotrexate depends on extracellular conversion of adenine nucleotides to adenosine by ecto-5'-nucleotidase: findings in a study of ecto-5'-nucleotidase gene-deficient mice. *Arthritis Rheum.* 2007;56(5):1440-5. doi: 10.1002/art.22643
123. Sitkovsky MV, Ohta A. The 'danger' sensors that STOP the immune response: The A2 adenosine receptors? *Trends Immunol.* 2005;26(6):299-304. doi: 10.1016/j.it.2005.04.004
124. Hasko G, Linden J, Cronstein B, Pacher P. Adenosine receptors: therapeutic aspects for inflammatory and immune diseases. *Nat Rev Drug Discov.* 2008;7(9):759-70. doi: 10.1038/nrd2638
125. Hasko G, Cronstein BN. Adenosine: An endogenous regulator of innate immunity. *Trends Immunol.* 2004;25(1):33-9. doi: 10.1016/j.it.2003.11.003

126. Carregaro V, Sa-Nunes A, Cunha TM, et al. Nucleosides from *Phlebotomus papatasi* salivary gland ameliorate murine collagen-induced arthritis by impairing dendritic cell functions. *J Immunol.* 2011;187(8):4347-59. doi: 10.4049/jimmunol.1003404
127. Li L, Huang L, Ye H, et al. Dendritic cells tolerized with adenosine A2AR agonist attenuate acute kidney injury. *J Clin Invest.* 2012;122(11):3931-42. doi: 10.1172/JCI63170
128. Blache C, Lequerre T, Roucheux A, et al. Number and phenotype of rheumatoid arthritis patients' CD4+CD25hi regulatory T cells are not affected by adalimumab or etanercept. *Rheumatology.* 2011;50:1814-22. doi: 10.1093/rheumatology/ker183
129. Aravena O, Pesce B, Soto L, et al. Anti-TNF therapy in patients with rheumatoid arthritis decreases Th1 and Th17 cell populations and expands IFN- γ -producing NK cell and regulatory T cell subsets. *Immunobiology.* 2011;216:1256-63. doi: 10.1016/j.imbio.2011.07.006
130. Vigna-Perez M, Abud-Mendoza C, Portillo-Salazar H, et al. Immune effects of therapy with Adalimumab in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exper Immunol.* 2005;141:372-80. doi: 10.1111/j.1365-2249.2005.02859.x
131. Nie H, Zheng Y, Li R, et al. Phosphorylation of FOXP3 controls regulatory T cell function and is inhibited by TNF- α in rheumatoid arthritis. *Nat Med.* 2013;19:322-8. doi: 10.1038/nm.3085
132. Vandenaebelle P, Declercq W, Beyaert R, Fiers W. Two tumor necrosis factor receptors: structure and function. *Trends Cell Biol.* 1995;5:392-9. doi: 10.1016/S0962-8924(00)89088-1
133. Pinckard JK, Sheehan KC, Arthur CD, Schreiber RD. Constitutive shedding of both p55 and p75 murine TNF receptors *in vivo*. *J Immunol.* 1997;158:3869-73.
134. Xanthoulea S, Pasparakis M, Kousteni S, et al. Tumor necrosis factor (TNF) receptor shedding controls thresholds of innate immune activation that balance opposing TNF functions in infectious and inflammatory diseases. *J Exp Med.* 2004;200:367-76. doi: 10.1084/jem.20040435
135. Chen G, Goeddel DV. TNF-R1 signaling: a beautiful pathway. *Science.* 2002;296:1634-5. doi: 10.1126/science.1071924
136. Wajant H, Pfizenmaier K, Scheurich P. Tumor necrosis factor signaling. *Cell Death Differ.* 2003;10:45-65. doi: 10.1038/sj.cdd.4401189
137. Grell M, Becke FM, Wajant H, et al. TNF receptor type 2 mediates thymocyte proliferation independently of TNF receptor type 1. *Eur J Immunol.* 1998;28:257-63. doi: 10.1002/(SICI)1521-4141(199801)28:01<257::AID-IMMU257>3.0.CO;2-G
138. Arnett HA, Mason J, Marino M, et al. TNF alpha promotes proliferation of oligodendrocyte progenitors and remyelination. *Nat Neurosci.* 2001;4:1116-22. doi: 10.1038/nn738
139. Cope AP. Regulation of autoimmunity by proinflammatory cytokines. *Curr Opin Immunol.* 1998;10:669-76. doi: 10.1016/S0952-7915(98)80087-3
140. Clark J, Vagenas P, Panesar M, Cope AP. What does tumour necrosis factor excess do to the immune system long term? *Ann Rheum Dis.* 2005;64 Suppl 4:70-6. doi: 10.1136/ard.2005.042523
141. Kollias G, Kontoyiannis D. Role of TNF/TNFR in autoimmunity: specific TNF receptor blockade may be advantageous to anti-TNF treatments. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2002;13:315-21. doi: 10.1016/S1359-6101(02)00019-9
142. Grewal IS, Grewal KD, Wong FS, et al. Local expression of transgene encoded TNF alpha in islets prevents autoimmune diabetes in nonobese diabetic (NOD) mice by preventing the development of auto-reactive islet-specific T cells. *J Exp Med.* 1996;184:1963-74. doi: 10.1084/jem.184.5.1963
143. Jacob CO, Aiso S, Michie SA, et al. Prevention of diabetes in nonobese diabetic mice by tumor necrosis factor (TNF): similarities between TNF-alpha and interleukin 1. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990;87:968-72. doi: 10.1073/pnas.87.3.968
144. Kontoyiannis D, Kollias G. Accelerated autoimmunity and lupus nephritis in NZB mice with an engineered heterozygous deficiency in tumor necrosis factor. *Eur J Immunol.* 2000;30:2038-47. doi: 10.1002/1521-4141(200007)30:7<2038::AID-IMMU2038>3.0.CO;2-K
145. Kollias G, Kontoyiannis D, Douni E, Kassiotis G. The role of TNF/TNFR in organ-specific and systemic autoimmunity: implications for the design of optimized 'anti-TNF' therapies. *Curr Dir Autoimmun.* 2002;5:30-50. doi: 10.1159/000060546
146. Chen X, Subleski JJ, Kopf H, et al. Cutting edge: expression of TNFR2 defines a maximally suppressive subset of mouse CD4+CD25+FoxP3+ T regulatory cells: applicability to tumor-infiltrating T regulatory cells. *J Immunol.* 2008;180:6467-71. doi: 10.4049/jimmunol.180.10.6467
147. Kleijwegt FS, Laban S, Duinkerken G, et al. Critical role for TNF in the induction of human antigen-specific regulatory T cells by tolerogenic dendritic cells. *J Immunol.* 2010;185:1412-8. doi: 10.4049/jimmunol.1000560
148. Ablamunits V, Bisikirska B, Herold KC. Acquisition of regulatory function by human CD8(+) T cells treated with anti-CD3 antibody requires TNF. *Eur J Immunol.* 2010;40:2891-901. doi: 10.1002/eji.201040485
149. Mougiakakos D, Johansson CC, Jitschin R, et al. Increased thioredoxin-1 production in human naturally occurring regulatory T cells confers enhanced tolerance to oxidative stress. *Blood.* 2011;117:857-61. doi: 10.1182/blood-2010-09-307041
150. Chen X, Hamano R, Subleski JJ, et al. Expression of costimulatory TNFR2 induces resistance of CD4+FoxP3- conventional T cells to suppression by CD4+FoxP3+ regulatory T cells. *J Immunol.* 2010;185:174-82. doi: 10.4049/jimmunol.0903548
151. Van Mierlo GJ, Scherer HU, Hameetman M, et al. Cutting edge: TNFR-shedding by CD4+CD25+ regulatory T cells inhibits the induction of inflammatory mediators. *J Immunol.* 2008;180:2747-51. doi: 10.4049/jimmunol.180.5.2747
152. Chen X, Baumel M, Mannel DN, et al. Interaction of TNF with TNF receptor type 2 promotes expansion and function of mouse CD4+CD25+ T regulatory cells. *J Immunol.* 2007;179:154-61. doi: 10.4049/jimmunol.179.1.154
153. Calzascia T, Pellegrini M, Hall H, et al. TNF-alpha is critical for antitumor but not antiviral T cell immunity in mice. *J Clin Invest.* 2007;117:3833-45.
154. Chen X, Oppenheim J. Contrasting effects of TNF and anti-TNF on the activation of effector T cells and regulatory T cells in autoimmunity. *FEBS Letters.* 2011;585:3611-8. doi: 10.1016/j.febslet.2011.04.025
155. Sarantopoulos A, Tselios K, Gkougkourelas I, et al. Tocilizumab treatment leads to a rapid and sustained increase in Treg cell levels in rheumatoid arthritis patients: comment on the article by Thiolat et al. *Arthritis Rheum.* 2014;66:2638. doi: 10.1002/art.38714
156. Thiolat A, Semerano L, Pers YM, et al. Interleukin-6 receptor blockade enhances CD39 regulatory T cell development in rheumatoid arthritis and in experimental arthritis. *Arthritis Rheum.* 2014;66:273-83. doi: 10.1002/art.38246
157. Feuchtenberger M, Muller S, Roll P, et al. Frequency of regulatory T cells is not affected by transient B cell depletion using anti-CD20 antibodies in rheumatoid arthritis. *Open Rheumatol J.* 2008;2:81-8. doi: 10.2174/1874312900802010081
158. Lee S, Moon J, Lee C, et al. Abatacept alleviates severe autoimmune symptoms in a patient carrying a de novo variant in CTLA-4. *J Allerg Clin Immunol.* 2015;137:327-30. doi: 10.1016/j.jaci.2015.08.036