

Особенности фенотипа Т-регуляторных клеток при раннем ревматоидном артрите

Авдеева А.С.¹, Рубцов Ю.П.², Попкова Т.В.¹, 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, Москва, Россия; 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. Трубецкая, 8, стр. 2

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, Moscow, Russia; 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 26.09.16

Цель — изучить содержание и особенности фенотипа Т-регуляторных клеток (T_{reg}) в периферической крови здоровых доноров и пациентов с ранним ревматоидным артритом (РА) методом многоцветной проточной цитометрии.

Материал и методы. В исследование было включено 39 пациентов с ранним РА. Процентное количество (ПК) и абсолютное содержание T_{reg} (FoxP3+CD25+; CD152+surface; CD152+intracellular; FoxP3+CD127; CD25+CD127-; FoxP3+ICOS+; FoxP3+CD154+; FoxP3+CD274+) определялось методом многоцветной проточной цитофлуориметрии. Контрольную группу составили 20 здоровых доноров, сопоставимых по полу и возрасту с обследованными пациентами.

Результаты и обсуждение. Среди включенных в исследование больных медиана [25-й; 75-й перцентили] DAS28 составили 5,01 [4,2; 5,8], при этом у 22 (48,9%) регистрировалась высокая, у 20 (44,4%) — умеренная и у 3 (6,7%) — низкая активность патологического процесса. У пациентов с ранним РА по сравнению со здоровыми донорами регистрировались более низкое ПК FoxP3+CD25+ клеток, ПК и абсолютное содержание FoxP3+ICOS+, FoxP3+CD154+ и FoxP3+CD274+ Т-клеток ($p < 0,05$ во всех случаях).

Регистрировалась отрицательная корреляционная взаимосвязь: ПК FoxP3+CD25+ с СРБ ($r = -0,4$); ПК CD152+intracellular с DAS28 ($r = -0,35$), СОЭ ($r = -0,46$) и СРБ ($r = -0,54$); ПК FoxP3+CD127- с СРБ ($r = -0,42$); ПК CD25+CD127- с DAS28 ($r = -0,38$), SDAI ($r = -0,41$), CDAI ($r = -0,36$), СОЭ ($r = -0,39$), СРБ ($r = -0,47$); $p < 0,05$ во всех случаях.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о нарушении функциональной активности T_{reg} при раннем РА, что оказывает влияние на активность воспалительного процесса.

Ключевые слова: ранний ревматоидный артрит; активность заболевания; острофазовые показатели; Т-регуляторные клетки.

Для ссылки: Авдеева АС, Рубцов ЮП, Попкова ТВ и др. Особенности фенотипа Т-регуляторных клеток при раннем ревматоидном артрите. Научно-практическая ревматология. 2016;54(6):660–666.

PHENOTYPIC FEATURES OF T REGULATORY CELLS IN EARLY RHEUMATOID ARTHRITIS

Avdeeva A.S.¹, Rubtsov Yu.P.², Popkova T.V.¹, Dyikanov D.T.², Nasonov E.L.^{1,3}

Objective: to investigate the count and characteristics of the phenotype of T regulatory cells (T_{reg}) in the peripheral blood of healthy donors and patients with early rheumatoid arthritis (RA), by using multicolor flow cytometry.

Subjects and methods. The investigation enrolled 39 patients with early RA. The percentage and absolute count of T_{reg} (FoxP3+CD25+, surface CD152+, intracellular CD152+, FoxP3+CD127, CD25+CD127, FoxP3+ICOS+, FoxP3+CD154+; and FoxP3+CD274+) was determined by multicolor flow-cytometry. A control group consisted of 20 healthy donors matched for sex and age with the examined patients.

Results and discussion. In the patients included in the study, the median [25th; 75th percentiles] DAS28 was 5.01 [4.2; 5.8]; high, moderate, and low activity showed 22 (48.9%), 20 (44.4%), and 3 (6.7%) patients, respectively. The patients with early RA had a lower percentage of FoxP3+CD25+ cells and a lower percentage and absolute count of FoxP3+ICOS+, FoxP3+CD154+, and FoxP3+CD274+ T cells than the healthy donors ($p < 0.05$ in all cases).

There was a negative correlation of the percentage of FoxP3+CD25+ cells with C-reactive protein (CRP) ($r = -0.4$), that of intracellular CD152+ with DAS28 ($r = -0.35$), erythrocyte sedimentation rate (ESR) ($r = -0.46$), and CRP ($r = -0.54$); that of FoxP3+CD127 with CRP ($r = -0.42$); that of CD25+CD127 with DAS28 ($r = -0.38$), Simplified Disease Activity Index ($r = -0.41$), Clinical Disease Activity Index ($r = -0.36$), ESR ($r = -0.39$), and CRP ($r = -0.47$) ($p < 0.05$ in all cases).

Conclusion. The findings suggest that the functional activity of T_{reg} is impaired in early RA, which has an impact on the activity of the inflammatory process.

Key words: early rheumatoid arthritis; disease activity; acute-phase proteins, T regulatory cells.

For reference: Avdeeva AS, Rubtsov YuP, Popkova TV, et al. Phenotypic features of T regulatory cells in early rheumatoid arthritis. Nauchno-Prakticheskaya Revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2016;54(6):660–666 (In Russ.). doi: <http://dx.doi.org/10.14412/1995-4484-2016-660-666>

По современным представлениям, ключевую роль в развитии синовиального воспаления и суставной деструкции при ревматоидном артрите (РА) играют активированные CD4+ Т-лимфоциты. Распознавание аутоантигенов этими клетками способствует активации В-лимфоцитов и мак-

рофагов, а также усиливает продукцию цитокинов [1–4]. В настоящее время выделяют несколько субпопуляций эффекторных CD4+ Т-хелперов (Th), которые различаются в зависимости от набора продуцируемых ими цитокинов и спектра клеточных мишеней. При активации специфическим ан-

тигеном «наивные» Th-клетки дифференцируются в эффекторные 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 ответственны 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 [5]. Негативную регуляцию Th1-, Th2- и Th17-лимфоцитов осуществляют CD4+ регуляторные Т-клетки (T_{reg}), играющие основную роль в поддержании периферической толерантности к собственным антигенам [5]. T_{reg} играют ключевую роль в иммунной системе благодаря подавлению гипериммунного ответа в отношении аутоантигенов, а также кишечных условно-патогенных микроорганизмов [6, 7]. В последние годы получены данные о способности T_{reg} подавлять различные иммуновоспалительные реакции в ответ на широкий спектр физиологических и патологических стимулов, включая микроорганизмы, опухолевые клетки, аллогенные трансплантаты, клетки плода [7, 8]. Во многих исследованиях было показано, что дефекты в CD4+CD25+FOXP3+ T_{reg} способствуют развитию аутоиммунных заболеваний и что эти процессы можно предотвратить путем адоптивного переноса функциональных T_{reg} от здоровых животных [9].

T_{reg} экспрессируют широкий спектр мембранных молекул, которые определяют их функциональную активность и позволяют идентифицировать эти клетки в кровотоке [10, 11], однако до сих пор ведутся споры по поводу универсального поверхностного маркера, позволяющего выделить данную клеточную субпопуляцию из пула Т-лимфоцитов. Наиболее специфическим внутриклеточным маркером T_{reg} является ядерный фактор транскрипции Foxp3, который имеет фундаментальное значение в развитии T_{reg} и осуществлении ими ингибиторной функции [10].

У человека T_{reg} относятся к субпопуляции CD4+Foxp3+ Т-клеток и отличаются высоким уровнем CD25 и низким — CD127 на поверхности клеток [12–14]. Функциональная активность T_{reg} зависит от набора поверхностных маркеров: CTLA4, ICOS, CD154, CD274 и ряда других, участвующих в контроле активации Т-клеток [15, 16].

В настоящее время в литературе представлено немало работ, посвященных оценке уровня и фенотипа T_{reg} при РА. В подавляющем большинстве из них отмечалось увеличение содержания T_{reg} в синовиальной жидкости пациентов с РА [17–25], однако данные об уровне этой клеточной субпопуляции в периферической крови весьма противоречивы. Большинство исследователей наблюдали уменьшение процентного отношения циркулирующих T_{reg} [18, 23, 26, 27], в то время как в других работах выявлено увеличение [19, 28] или отсутствие отличий в уровне T_{reg} по сравнению со здоровыми донорами [17, 20, 21, 25, 29–31]. 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) [32, 33].

Целью нашего исследования является изучение содержания и особенностей фенотипа T_{reg} в периферической крови здоровых доноров и пациентов с ранним РА методом многоцветной проточной цитометрии.

Материал и методы

В исследование было включено 45 пациентов с ранним РА (критерии Американской коллегии ревматологов / Европейской антиревматической лиги — ACR/EULAR — 2010 г.), наблюдавшихся в ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой в период с 2014 по 2016 г. Общая клиничко-иммунологическая характеристика больных представлена в табл. 1. Как следует из таблицы, большинство больных были женского пола, среднего возраста, с ранней и очень ранней стадией заболевания (медиана длительности болезни составила 5 [4; 6] мес), серопозитивные по IgM ревматоидному фактору (РФ) и АЦЦП, имели высокую активность воспалительного процесса, I и II рентгенологические стадии, I функциональный класс, до включения в исследование пациенты не получали терапии базисными противовоспалительными препаратами (БПВП) и глюкокортикоидами. Всем больным в качестве первого БПВП был назначен метотрексат (МТ) в подкожной форме (Методжект) в начальной дозе 10 мг/нед.

Определение СОЭ осуществляли стандартным международным методом по Вестергрэну (норма ≤ 30 мм/ч). Сывороточную концентрацию С-реактивного белка (СРБ) и IgM РФ измеряли иммунонефелометрическим методом на анализаторе BN ProSpec (Siemens, Германия). Нормальный уровень СРБ в сыворотке крови составлял $\leq 5,0$ мг/л. По инструкции фирмы-изготовителя за верхнюю границу нормы IgM РФ была принята концентрация, равная 15,0 МЕ/мл. Количественное опре-

Таблица 1 Общая клиничко-иммунологическая характеристика пациентов, включенных в исследование (n=45)

Показатель	Значение
Пол, мужчины/женщины, n	6/39
Возраст, годы, Ме [25-й; 75-й перцентили]	52,0 [32,5; 57,5]
Длительность заболевания, мес, Ме [25-й; 75-й перцентили]	5 [4; 6]
Рентгенологическая стадия РА, n (%):	
I	21 (46,7)
II	24 (53,3)
III	0
IV	0
DAS28, Ме [25-й; 75-й перцентили]	5,01 [4,18; 5,8]
СОЭ, мм/ч, Ме [25-й; 75-й перцентили]	36,0 [18,0; 54,0]
СРБ, мг/л, Ме [25-й; 75-й перцентили]	12,1 [2,9; 37,4]
IgM РФ, МЕ/мл, Ме [25-й; 75-й перцентили]	94,5 [17,8; 186,0]
Число РФ-позитивных, n (%)	34 (75,6)
АЦЦП, Ед/мл, Ме [25-й; 75-й перцентили]	105,0 [42,5; 230,6]
Число АЦЦП-позитивных, n (%)	40 (88,9)

деление АЦП в сыворотке крови проводили электрохемиллюминесцентным методом на анализаторе Cobas e411 (Roche, Швейцария; верхняя граница нормы — 17,0 ЕД/мл), а также методом иммуноферментного анализа с помощью коммерческого набора реагентов (Axis-Shield, Великобритания; верхняя граница нормы — 5,0 ЕД/мл).

Мононуклеарные клетки выделяли из цельной крови в градиенте плотности фикола, затем окрашивали на различные поверхностные и внутриклеточные маркеры (FoxP3+CD25+; CD152+surface; CD152+intracellular; FoxP3+CD127-; CD25+CD127-; FoxP3+ICOS+; FoxP3+CD154+; FoxP3+CD274+), фиксировали и анализировали методом многоцветной проточной цитофлуориметрии на анализаторе BD LSR Fortessa Special Order Research Product (BD). Контрольную группу составили 20 здоровых доноров, сопоставимых по полу и возрасту с обследованными пациентами.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft, США), включая общепринятые методы параметрического и непараметрического анализа. Для параметров, распределение которых отличалось от нормального, при сравнении двух групп использовали критерий Манна–Уитни, а при сравнении трех и более групп — критерий Краскела–Уоллеса, результаты представлены в виде медианы (Me) с интерквартильным размахом [25-й; 75-й перцентили]. Корреляционный анализ проводился по методу Спирмена. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Среди включенных в исследование больных медиана DAS28 составила 5,01 [4,2; 5,8], при этом у 22 (48,9%) регист-

рировалась высокая, у 20 (44,4%) — умеренная и у 3 (6,7%) — низкая активность патологического процесса. Медиана SDAI составила 22,8 [17,0; 28,7], CDAI — 20,0 [15,0; 26,0]. Повышенный уровень СРБ регистрировался у 30 (66,7%), а СОЭ — у 26 (57,8%) больных.

Нормальные значения различных субпопуляций $T_{рег}$ в крови здоровых доноров составили: процентное количество (ПК) FoxP3+CD25+ от 3,7 до 9,8%, абсолютное содержание (абс.) — от 0,03 до $0,11 \cdot 10^9/л$; ПК CD152+surface — 0,13–4,9%, абс. — $0,00006-0,0018 \cdot 10^9/л$; ПК CD152+intracellular — 36,3–89,8%, абс. — $0,00003-0,00108 \cdot 10^9/л$; ПК FoxP3+CD127- — 3,2–8,5%, абс. — $0,03-0,096 \cdot 10^9/л$; ПК CD25+CD127- — 3,9–9,7%, абс. — $0,03-0,09 \cdot 10^9/л$; ПК FoxP3+ICOS+ — 7,0–27,5%, абс. — $0,002-0,019 \cdot 10^9/л$; ПК FoxP3+CD154+ — 0,39–3,25%, абс. — $0,0001-0,0019 \cdot 10^9/л$; ПК FoxP3+CD274+ — 0,47–3,43%, абс. — $0,00016-0,00334 \cdot 10^9/л$.

Число пациентов с пониженными и повышенными уровнями различных субпопуляций $T_{рег}$ представлено в табл. 2. Как видно из таблицы, у многих наших больных регистрировались пониженные ПК и абс. число Foxp3+ICOS+ (65,5%), Foxp3+CD154+ (48,3%) и Foxp3+CD274+ клеток (37,9 и 24,1% соответственно), а также не было выявлено ни одного пациента с повышенным абс. Foxp3+CD25+ клеток, ПК и абс. Foxp3+ICOS+ клеток и ПК и абс. Foxp3+CD274+ Т-лимфоцитов.

В группе пациентов с ранним РА выявлено достоверно более низкое ПК Foxp3+CD25+Т лимфоцитов, а также более низкие ПК и абс. Foxp3+ICOS+; Foxp3+CD154+ и Foxp3+CD274+ Т-лимфоцитов по сравнению со здоровыми донорами ($p < 0,05$; см. табл. 2 и рисунок).

Регистрировалась отрицательная корреляционная взаимосвязь: ПК FoxP3+CD25+ с СРБ ($r = -0,4$); ПК

Таблица 2 Исходный уровень субпопуляций $T_{рег}$ в крови больных РА и здоровых доноров; число пациентов с пониженным и повышенным уровнем $T_{рег}$ в периферическом кровотоке

Субпопуляции $T_{рег}$	Группа РА		Доноры		p
	пониженный уровень, n (%)	повышенный уровень, n (%)	количество клеток, Me [25-й; 75-й перцентили]	количество клеток, Me [25-й; 75-й перцентили]	
ПК CD4+ (n=45)	7 (16,7)	1 (2,3)	45,0 [38,02; 49,2]	46,2 [39,14; 50,39]	нд
абс. CD4+ $\cdot 10^9/л$ (n=45)	8 (18,6)	1 (2,3)	0,82 [0,57; 1,09]	0,79 [0,68; 0,97]	нд
ПК FoxP3+ CD25+ (n=37)	4 (10,8)	1 (2,3)	5,57 [4,6; 6,93]	6,92 [5,84; 7,96]	0,028
абс. FoxP3+ CD25+ $\cdot 10^9/л$ (n=37)	7 (18,9)	0	0,05 [0,03; 0,06]	0,05 [0,04; 0,07]	нд
ПК CD152+ surface (n=34)	5 (14,7)	3 (8,8)	0,65 [0,22; 1,67]	0,51 [0,34; 1,2]	нд
абс. CD152+ surface $\cdot 10^9/л$ (n=34)	6 (17,6)	2 (5,8)	0,0002 [0,0001; 0,0008]	0,0003 [0,00014; 0,0008]	нд
ПК CD152+ intracellular (n=34)	3 (9,1)	0	62,9 [47,0; 75,4]	60,29 [50,62; 70,16]	нд
абс. CD152+ intracellular $\cdot 10^9/л$ (n=34)	3 (9,1)	6 (18,2)	0,0005 [0,00008; 0,002]	0,00021 [0,00008; 0,00058]	нд
ПК FoxP3+ CD127- (n=29)	2 (6,9)	3 (10,3)	5,96 [4,58; 7,32]	6,015 [4,99; 6,905]	нд
абс. FoxP3+ CD127- $\cdot 10^9/л$ (n=29)	5 (17,2)	1 (3,4)	0,05 [0,04; 0,064]	0,05 [0,04; 0,06]	нд
ПК CD25+ CD127- (n=29)	2 (6,9)	2 (6,9)	6,5 [5,11; 7,91]	6,47 [5,17; 7,58]	нд
абс. CD25+ CD127- $\cdot 10^9/л$ (n=29)	3 (10,3)	1 (3,4)	0,056 [0,037; 0,069]	0,054 [0,04; 0,064]	нд
ПК FoxP3+ ICOS+ (n=29)	16 (65,5)	0	5,33 [2,14; 11,3]	10,83 [9,27; 13,7]	0,003
абс. FoxP3+ ICOS+ $\cdot 10^9/л$ (n=29)	16 (65,5)	0	0,002 [0,0013; 0,0056]	0,0068 [0,0039; 0,009]	0,001
ПК FoxP3+ CD154+ (n=29)	14 (48,3)	1 (3,4)	0,38 [0,19; 0,83]	1,51 [1,12; 2,08]	0,00003
абс. FoxP3+ CD154+ $\cdot 10^9/л$ (n=29)	14 (48,3)	1 (3,4)	0,0002 [0,0001; 0,0005]	0,00087 [0,00047; 0,0014]	0,00007
ПК FoxP3+ CD274+ (n=29)	11 (37,9)	0	0,61 [0,28; 1,25]	1,94 [1,16; 2,25]	0,0002
абс. FoxP3+ CD274+ $\cdot 10^9/л$ (n=29)	7 (24,1)	0	0,00023 [0,0001; 0,00065]	0,001 [0,0006; 0,0016]	0,0003

Примечание. нд — различия между группами недостоверны.

CD152+ intracellular с DAS28 ($r=-0,35$), СОЭ ($r=-0,46$), СРБ ($r=-0,54$); ПК FoxP3+CD127- с СРБ ($r=-0,42$); ПК CD25+CD127- с DAS28 ($r=-0,38$), SDAI ($r=-0,41$), CDAI ($r=-0,36$), СОЭ ($r=-0,39$), СРБ ($r=-0,47$); $p<0,05$ во всех случаях.

Обсуждение

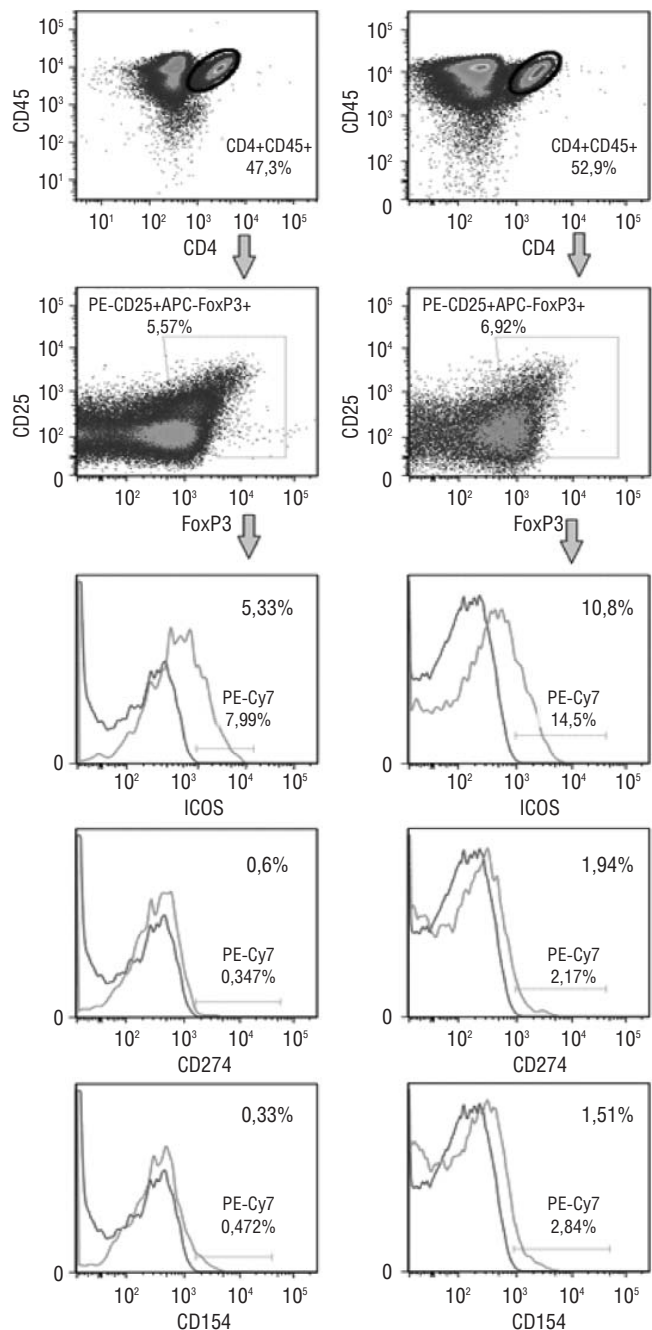
При изучении уровня и особенностей фенотипа T_{reg} нами было выявлено снижение ПК CD4+FoxP3+CD25+ T_{reg} в группе пациентов с ранним РА по сравнению со здоровыми донорами. В литературе представлены противоречивые данные об уровне T_{reg} в синовиальной жидкости и периферической крови при РА. В подавляющем большинстве исследований указывается на увеличение содержания T_{reg} в синовиальной жидкости пациентов с РА [17–25], однако данные об уровне данной клеточной субпопуляции в периферической крови весьма неоднозначны. Выявлено как уменьшение процентного содержания циркулирующих T_{reg} [18, 23, 26, 27], так и увеличение данного показателя [19, 28] или отсутствие отличий в уровне T_{reg} клеток от здоровых доноров [17, 20, 21, 25, 29–31] или пациентов с остеоартрозом [24]. Вероятно, подобное несоответствие связано со сложностью выделения данной клеточной субпопуляции из общего пула Т-лимфоцитов в связи с отсутствием универсального поверхностного маркера T_{reg} . В более ранних исследованиях T_{reg} определяли как CD4+CD25+ лимфоциты и не оценивали экспрессию Foxp3 [17–21, 31]. G. Nan и соавт. [28] отметили, что среди CD25+ клеток встречаются Foxp3- Т-лимфоциты, которые не являются регуляторными; вероятно, с этим может быть связана завышенная концентрация T_{reg} в периферической крови при РА, продемонстрированная в ряде исследований.

Учитывая высокую пластичность T_{reg} , а также экспрессию широкого спектра маркеров, необходимо оценивать не только их содержание в периферической крови, но и функциональную активность [10]. Нами был выбран ряд поверхностных маркеров, участвующих в контроле активации Т-клеток: CTLA4, ICOS, CD154, CD274.

CTLA4 – поверхностный иммуноглобулин-подобный гликопротеин, имеющий структурное сходство с CD28 (молекула положительной коstimуляции на поверхности Т-клеток), но обладающий большим, по сравнению с CD28, родством к коstimуляторным молекулам CD80/86 (B7-1/B7-2) на поверхности антиген-презентирующих клеток (АПК) [34, 35]. CD28 и CTLA4 оказывают противоположные эффекты на активацию Т-лимфоцитов; CTLA4 ингибирует Т-клеточный ответ, приводя к уменьшению пролиферации и продукции цитокинов [36]. Установлено, что CTLA4 вызывает индукцию фермента индоламин-2,3-диоксигеназы в АПК, катаболизирующего трансформацию триптофана в кинуренин, который подавляет деление эффекторных Т-клеток [37, 38].

ICOS (Inducible costimulator) является членом семейства коstimуляторных молекул, похожих на CD28, уровень которого возрастает на поверхности клеток после их активации [39, 40]. ICOS специфически взаимодействует только с ICOS-лигандом (ICOS-L), представленным в большом количестве на В-клетках и дендритных клетках (ДК) и, в меньшей степени, на Т-клетках

и лимфоидных клетках [40–42]. *In vitro* коstimуляция посредством ICOS повышает пролиферацию Т-клеток и продукцию цитокинов, играя важную роль в Th1- и Th2-иммунных реакциях. Блокада ICOS приводит к подавлению эффекторной функции Т-лимфоцитов на поздних стадиях иммунного ответа, что связано с замедлением пролиферации клеток и снижением продукции цитокинов [43–46]. Так, в работе B. Grimbacher и соавт. [47] было продемонстрировано развитие иммунодефицита у пациентов с дефицитом ICOS. Высокий уровень ICOS регистрируют также на поверхности T_{reg} , что коррелирует с активированным состоянием T_{reg} и свидетельствует об их повышенной иммуносупрессорной активности [44, 45].



ПК T_{reg} в периферической крови больных РА и здоровых доноров

Костимуляторная молекула CD154 (CD40L) является членом семейства фактора некроза опухоли и маркером, который одним из первых появляется на CD4⁺Т-лимфоцитах после активации. Связываясь с рецептором CD40 на поверхности В-клеток, CD40L активирует их, стимулирует дифференцировку в плазматические клетки, секретирующие иммуноглобулины, а также способствует формированию В-клеток памяти [48, 49]. CD40 также присутствует на фибробластах, клетках синовиоцитов, которые при связывании лиганда активно продуцируют молекулы адгезии, провоспалительные цитокины и хемокины [49]. Избыточная экспрессия CD154 на Т-клетках коррелирует с более высокой активностью РА и меньшей частотой ремиссии патологического процесса [50]. Однако в популяции T_{рег} CD154, по-видимому, выполняет совсем другую функцию. D. Hill и соавт. [51] установили, что CD154 можно использовать в качестве маркера активации T_{рег}, поскольку его уровень хорошо коррелирует с их способностью к иммуносупрессии. Авторы пришли к выводу, что измерение уровня CD154 является простым и чувствительным методом оценки функционального потенциала T_{рег}.

Еще один механизм регуляции баланса между активацией Т-клеток, толерантностью и иммуноопосредованным повреждением тканей — это стимуляция рецептора PD1 (programmed death 1, CD279) лигандами: PD-L1 (CD274) и PD-L2 (CD273). PD1 и CTLA4 являются ключевыми ингибиторными молекулами, влияющими на баланс между защитным иммунитетом и толерантностью [52, 53]. PD1 присутствует на CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетках, Т-клетках — естественных киллерах, В-клетках, моноцитах и некоторых ДК; его уровень повышен в Т-клетках, утративших эффекторную активность, главным образом, способность секретировать интерферон γ в результате хронической вирусной инфекции [54]. PD-L1 широко представлен как на гемопозитивных, так и на негемопозитивных клетках: ДК, макрофагах, тучных клетках и ряде других. PD-L2, напротив, выявлен только у определенных типов клеток, в частности, ДК, макрофагов, В-клеток памяти, тучных клеток. PD1 и его лиганды оказывают различное влияние на Т-клетки: с одной стороны, стимулируют развитие и функционирование T_{рег}, с другой — ингибируют пролиферацию эффекторных Т-клеток на периферии [54]. PD-L1 — это негативная костимуляторная молекула, которая ингибирует активацию Т-клеток, связываясь с молекулой PD1 на их поверхности, может рассматриваться в качестве функционального маркера T_{рег}; способствует развитию и усиливает функцию T_{рег} в лимфоидных органах и тканях, а также может способствовать развитию T_{рег} *de novo* [55, 56]. В нашей

группе пациентов с ранним РА было выявлено снижение ПК и абс. FoxP3+ICOS⁺, FoxP3+CD154⁺, FoxP3+CD274⁺ Т-клеток по сравнению со здоровыми донорами, что может свидетельствовать о снижении функции T_{рег} при раннем РА.

Данные о взаимосвязи уровня T_{рег} с активностью заболевания также весьма противоречивы. Так, в ряде работ выявлена обратная корреляционная взаимосвязь между DAS28 и ПК циркулирующих Foxp3⁺ регуляторных клеток [21, 26, 27]; с другой стороны, среди пациентов с высокой активностью заболевания авторы регистрируют высокое содержание CD25⁺Foxp3⁺ Т-клеток [26, 30]. В синовиальной ткани пациентов с РА F. Behrens и соавт. [57] описали прямую взаимосвязь между T-bet/FoxP3 мПНК и DAS28. Также в ряде исследований была продемонстрирована обратная взаимосвязь СОЭ и концентрации СРБ с уровнем T_{рег}, другие авторы подобной взаимосвязи не обнаружили [22, 23, 27, 28]. Нами была выявлена отрицательная корреляционная взаимосвязь уровня СРБ с ПК FoxP3+CD25⁺ клеток и ПК FoxP3+CD127⁻ клеток, а также ПК CD25⁺CD127⁻ лимфоцитов с индексами активности DAS28, SDAI, CDAI и уровнями острофазовых показателей (СОЭ и СРБ).

Таким образом, нами было выявлено более низкое ПК FoxP3+CD25⁺ Т-клеток, а также низкие ПК и абс. FoxP3+ICOS⁺, FoxP3+CD154⁺, FoxP3+CD274⁺ Т-лимфоцитов у МТ-наивных пациентов с ранним РА по сравнению со здоровыми донорами. Данные маркеры характеризуют активированные T_{рег}, способные к эффективной иммуносупрессии. Учитывая снижение их уровня на поверхности T_{рег}, а также уменьшение числа клеток, их синтезирующих, можно говорить о снижении функции T_{рег} при раннем РА. Также было установлено, что снижение содержания T_{рег} при раннем РА ассоциируется с более высокой активностью заболевания и повышенным уровнем острофазовых показателей. Полученные данные свидетельствуют о нарушении функциональной активности T_{рег} при раннем РА, что оказывает влияние на активность воспалительного процесса.

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

- 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. *Rheumatology: National guidelines*. Moscow: GEOTAR-Media; 2008. P. 290–331].
- Firestein G. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature*. 2003;423:356–61. doi: 10.1038/nature01661
- Cope A. T cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2008;10 Suppl 1:S1. doi: 10.1186/ar2412
- 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.
- 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
- 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
7. 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
 8. Zeng H, Chi H. The interplay between regulatory T cells and metabolism in immune regulation. *OncoImmunology*. 2013;2(11):e26586. Epub 2013 Oct 21. doi: 10.4161/onci.26586
 9. 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
 10. Rudensky AY. Regulatory T cells and FoxP3. *Immunol Rev*. 2011;241:260-8. doi: 10.1111/j.1600-065X.2011.01018.x
 11. 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
 12. 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
 13. 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/nrrheum.2014.105
 14. Prakken B, Wehrens E, van Wijk 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
 15. 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
 16. 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.
 17. Cao D, Malmstrom V, Baecher-Allan C, et al. Isolation and functional characterization of regulatory CD25brightCD4+ T cells from the target organ of patients with rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol*. 2003;33:215-23. doi: 10.1002/immu.200390024
 18. 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. *Arthritis Res Ther*. 2004;6:R335-46. doi: 10.1186/ar1192
 19. 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
 20. 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
 21. 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
 22. Cao D, Borjesson O, Larsson P, et al. FOXP3 identifies regulatory CD25brightCD4+ T cells in rheumatic joints. *Scand J Immunol*. 2006;63:444-52. doi: 10.1111/j.1365-3083.2006.001755.x
 23. 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
 24. Moradi B, Schnatzer P, Hagmann S, et al. CD4+CD25+/highCD127low/- regulatory T cells are enriched in rheumatoid arthritis and osteoarthritis joints – analysis of frequency and phenotype in synovial membrane, synovial fluid and peripheral blood. *Arthritis Res Ther*. 2014;16: R97. doi: 10.1186/ar4545
 25. Dejaco C, Duftner C, Klauser A, Schirmer M. Altered T-cell subtypes in spondyloarthritis, rheumatoid arthritis and polymyalgia rheumatic. *Rheumatol Int*. 2010;30:297-303. doi: 10.1007/s00296-009-0949-9
 26. Sempere-Ortells JM, Perez-Garcia V, Martin-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
 27. 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
 28. Han GM, O'Neil-Andersen NJ, Zurier RB, Lawrence DA. CD4+CD25high 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
 29. 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
 30. 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
 31. 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.
 32. Lawson CA, Brown AK, Bejarano V, et al. Early rheumatoid arthritis is associated with a deficit in the CD4+CD25high regulatory T cell population in peripheral blood. *Rheumatology (Oxford)*. 2006;45(10):1210-7. doi: 10.1093/rheumatology/ke1089
 33. 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
 34. 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
 35. 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.
 36. 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
 37. 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
 38. 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
 39. 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
 40. 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

41. 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
42. 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
43. Sperling AI, Bluestone JA. ICOS costimulation: it's not just for TH2 cells anymore. *Nat Immunol.* 2001;2:573-4. doi: 10.1038/89709
44. Bonhagen K, Liesenfeld O, Staderker 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
45. 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
46. 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
47. 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
48. 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
49. O'Sullivan B, Thomas R. CD40 and dendritic cell function. *Crit Rev Immunol.* 2003;23:83-107. doi: 10.1615/CritRevImmunol.v23.i12.50
50. 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
51. 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
52. 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
53. 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
54. Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Ann Rev Immunol.* 2008;26:677-704. doi: 10.1146/annurev.immunol.26.021607.090331
55. 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
56. 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
57. 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

Уважаемые коллеги!

**ОБЩЕРОССИЙСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
«АССОЦИАЦИЯ РЕВМАТОЛОГОВ РОССИИ»**

**Приглашает вас на VII Съезд ревматологов России,
который состоится 26–28 апреля 2017 г.**

Программа Съезда будет охватывать клинические аспекты практически всего спектра ревматических заболеваний, достижения в их диагностике и лечении, новые направления научных исследований, применение новых, передовых технологий в ревматологии.

Для достижения поставленных задач планируется проведение многочисленных пленарных лекций и заседаний, научных симпозиумов, круглых столов, мастер-классов.

Прием тезисов с 1.12.2016 по 1.02.2017.

Место проведения: Москва, Ленинский проспект, 32А,
новое здание Президиума РАН.

Оргкомитет: 115522, Москва, Каширское ш., 34А.

Тел/факс: 8 (499) 614-44-56 или 8 (499) 614-44-86

sokrat@irramn.ru или *nauka@irramn.ru*