ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Взаимосвязь содержания Т-регуляторных клеток, уровня сывороточных аутоантител у больных системной красной волчанкой на фоне лечения ритуксимабом

А.В. Торгашина
НИИ ревматологии РАМН, Москва

Резюме

Цель. Выявить изменения количества $CD^+CD25^+FoxP3^+$ Т регуляторных клеток (Т рег) у больных СКВ, получающих ритуксимаб, и определить взаимосвязь содержания Т рег с изменением активности заболевания и уровнем сывороточных аутоантител на фоне лечения.

Материал и методы. Включены 12 пациенток с доставерной СКВ. ср. возраст больных 30,5±9,8 лет (Me – 31 лет, диапазон от 18 до 49 лет), продолжительность болезни 7-148 мес. Больные обследовались до начала лечения, через 1,3, 6 мес. Активность СКВ оценивали с помощью шкалы SLEDAI 2K. Помимо рутинных лабораторных исследований определялись антитела к двухспиральной ДНК, количество В лимфоцитов и Трег клеток методом флоуцитометрии. Ритуксимаб вводился еженедельно внутривенно капельно по 500 мг в течение 4-х недель, у 4 больных проведена комбинированная терапия с циклофосфаном.

Результаты. Количество Т рег до начала терапии не было снижено. Не обнаружено корреляции между количеством Трег клеток и уровнем антител к ДНК. Корреляционный анализ показал значимую связь динамики маркеров Трег ($Foxp3^+$, $CD25^+$, $CD4^+CD25^+$), а также значения активности СКВ по SLEDAI 2K после завершения лечения с наличием клинического ответа на терапию ритуксимабом через 3 мес. Модель бинарной логистической регрессии с включением указанных 4 предикторов в совокупности способна корректно предсказать клинический ответ на терапию в 83% случаев.

Заключение. Изменение количества $CD25^+$, $CD4^+CD25^+$, $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ Т клеток сразу после окончания лечения коррелировало с клиническим эффектом терапии ритуксимабом и определяло последующий ответ на анти-В-клеточную терапию больных СКВ.

Ключевые слова: *системная красная волчанка, ритуксимаб, Т регуляторные клетки*

Системная красная волчанка (СКВ) – хроническое аутоиммунное заболевание, характеризующееся В клеточной активацией и потерей толерантности иммунной системы больного к собственным антигенам, ведущей к образованию аутоантител и иммунокомплексному поражению тканей [1].

Адрес: 115522 Москва, Каширское шоссе, 34а,
НИИ Институт ревматологии РАМН
Тел.: 8-499-614-44-80

Т-регуляторные клетки (Трег) – уникальная субпопуляция лимфоцитов, регулирующая толерантность и позволяющая избежать патологических аутоиммунных реакций [2]. Трег с фенотипом $CD4^+CD25^+$ были впервые идентифицированы в 1990 г. B.M.Hall и соавт.[3] и позднее охарактеризованы S.Sakaguchi и соавт.[4], которые продемонстрировали, что адаптивный перенос эффекторных клеток мышам с удаленным тимусом вызывает у них появление аутоиммунной болезни, течение которой улучшается введением $CD4^+CD25^+$ Т-клеток.

В настоящее время есть данные о существовании двух субпопуляций Т регуляторных клеток: натуральные Treг (НТreг), определяющие центральную толерантность, и индуцированные Treг (ИТreг), обеспечивающие периферическую толерантность.

НТreг развиваются в тимусе и имеют структуру обычных Т клеток. Механизм развития НТreг в тимусе точно не известен. Наиболее вероятно, что часть тимоцитов получают сигнал через Т-клеточный рецептор и CD28 и, избежав негативной селекции, деференцируются в НТreг. НТreг впоследствии мигрируют на периферию и супрессируют аутореактивные Т-клетки, подавляя аутоиммунитет [5].

ИТreг генерируются на периферии после представления антигена $CD4^+CD25^+$ Т-клеткам. Эти клетки так же как и НТreг экспрессируют FoxP3 и CD25 и имеют супрессорную функцию. ИТreг клетки способны генерироваться после экспозиции наивных клеток с антигеном в присутствии цитокинов, таких как интерлейкин (ИЛ)-10, ИЛ-4, трансформирующий фактор роста-бета и ряд других [6].

Treг могут селективно супрессировать различные Т эффекторные функции, такие как пролиферация, продукция цитокинов, экспрессия хемокиновых рецепторов или цитолиз [7]. Treг могут супрессировать иммунологический ответ, напрямую контактируя с эффекторными клетками, либо посредством антиген-презентирующих клеток (АПК). Контакт-зависимая супрессия опосредована взаимодействием CTLA-4 на Treг с CD80/CD86 на Т эффекторных клетках, что ведет к подавлению их функций. Кроме того, CTLA-4 на Treг может взаимодействовать с CD80/CD86 на АПК, в результате чего происходит индукция индоламин диоксигеназы АПК, которая вызывает истощение триптофана и формирование токсических метаболитов, ведущее к локальной супрессии Т клеточной пролиферации [8]. Внутри Treг обнаружены гранзимы и перфорины, посредством которых также могут поражаться эффекторные клетки [9]. Другие механизмы могут включать цитотоксическое поражение клеток мишеней путем продукции Treг супрессивных цитокинов [10]

У человека и грызунов Treг характеризуются экспрессией CD25 – альфа цепи рецептора ИЛ-2 [11]. Однако в отличие от грызунов, у человека супрессивная способность Treг ограничена $CD4^+CD25^+$ клетками с высокой экспрессией CD25 ($CD4^+CD25^{high}$), тогда как $CD4^+$ Т-клетки с меньшей экспрессией $CD25^+$ могут содержать недавно активированные Т-клетки без регуляторных функций [12].

Ядерный фактор транскрипции Foxp3, связанный с Х хромосомой, служит ключевым элементом развития и функционирования НТreг и в настоящее время считается наиболее специфическим маркером Treг [13]. Перенос Foxp3 в $CD4^+CD25^-$ Т-клетки фенотипически и функционально трансформирует их в НТreг клетки, способные супрессировать Т клеточную пролиферацию in vitro, а также предотвращать развитие воспалительных аутоиммуннах заболеваний in vivo [14]. В некоторых исследованиях было продемонстрировано, что мутация Foxp3 может вызывать иммунную дисрегуляцию, полиэндокринопатию, энтеропатию, Х-синдром, характеризующийся высоким риском развития сахарного диабета 1 типа, тиреоидита, воспалительных заболеваний кишечника [15].

Многочисленные эксперименты показали, что снижение количества или утрата Treг ведет к развитию аутоиммунного заболевания, а введение этих клеток, напротив, может предотвратить этот процесс [16]. На основании этого наблюдения было предположено, что Treг могут играть важную роль в патогенезе СКВ. Изменение количества и функциональных особенностей Treг при СКВ описано в небольшом количестве работ, имеющих зачастую противоречивые результаты. В первых исследованиях, посвященных этой проблеме, авторы отмечали снижение количества Treг у больных СКВ вне зависимости от активности заболевания или органного поражения по сравнению с контрольной группой здоровых людей [17]. В исследовании J.C. Crispin и соавт. приняли участие нелеченные больные с только что установленным диагнозом СКВ. Полученные результаты позволили сделать вывод, что у больных с высокой активностью заболевания снижение Т рег в периферической крови наиболее выражено [18]. Интересно, что обнаруженное M. Miyara и соавт. снижение Т рег клеток у больных СКВ также коррелировало с активностью заболевания [19]. Последующие исследования дали противоположные результаты: не отмечалось снижения количества Т рег в крови больных СКВ [20].

В качестве основного фактора, определяющего противоречивые результаты исследований, обсуждается иммуносупрессорная терапия, проводимая больным СКВ. Так, в работе A. Suarez и соавт. уровень Treг у нелеченных больных СКВ не отличался от здорового контроля, в то время как у больных, получавших глюкокортикоиды (ГК), количество Treг клеток было значительно увеличено. Вероятно, терапия ГК ведет к увеличению экспрессии FoxP3 [21].

В настоящем исследовании мы попытались определить изменение количества Т рег клеток на фоне анти В клеточной терапии ритуксимабом, которая в настоящее время активно применяется у больных СКВ, рефрактерных к традиционной иммуносупрессивной терапии. Целью работы было выявить изменения количества $CD^+CD25^+FoxP3^+$ Т рег у больных СКВ, получающих ритуксимаб, и определить взаимосвязь содержания Т рег с изменением активности заболевания и уровнем сывороточных аутоантител на фоне лечения.

Материал и методы

В исследование включены 12 женщин с достоверным диагнозом СКВ (согласно критериям

Американской коллегии ревматологов пересмотра 1997 г. [22]). Ср. возраст (M±SD) больных составил 30,5±9,8 лет (Me – 31 г., диапазон от 18 до 49 лет), продолжительность болезни – от 7 до 148 мес. Активность СКВ определялась по индексу SLEDAI 2K (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index) [23]. Всем пациенткам с клиническими проявлениями волчаночного нефрита до назначения ритуксимаба проводилась биопсия почки, гистологический тип нефрита классифицировался по критериям ВОЗ.

Больные обследовались до начала лечения ритуксимабом, затем через 1,3,6,12 мес. после его окончания. Выполнялись рутинные лабораторные тесты, определялись уровень аутоантител к двухспиральной (дс)ДНК. С помощью метода флоуцитометрии исследовался фенотип клеток периферической крови, в частности, определялось количество $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ Treг, деплеция В-клеток оценивалась по количеству $CD19^+$.

Ритуксимаб вводился еженедельно внутривенно капельно по 500 мг в течение 4-х недель. Четырем больным параллельно с ритуксимабом вводился циклофосфан от 800 до 1800 мг. Все больные продолжали получать Г.К. per os, средняя доза составила эквивалент 40 мг/сут преднизолона. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом Института ревматологии РАМН, все больные давали письменное информированное согласие.

Статистический анализ

Для описания данных использовались среднее значение (M) и стандартное отклонение (SD), а также медиана (Me) и диапазон. Значимость изменений лабораторных и клинических параметров в ходе лечения оценивалась с помощью критерия Уилкоксона. Силу связи между количеством Treг и различными показателями определяли при помощи корреляционного теста Спирмана. Для оценки клинического ответа через 3 мес после лечения была использована бинарная логистическая регрессия, в модель включались предикторы, оказавшиеся значимыми в одномерном анализе. За уровень значимости принимались значения $p<0,05$. Анализ выполнялся с помощью пакета SPSS 15.0 for Windows, © SPSS Inc.

Результаты

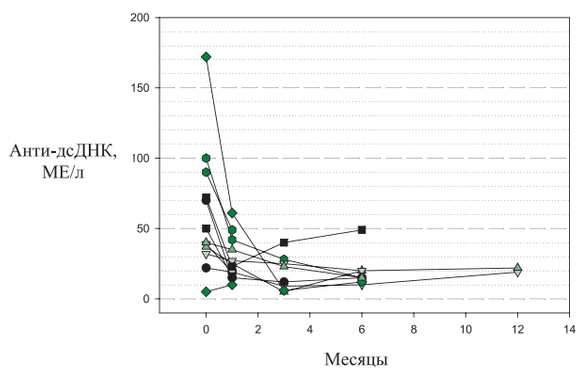
Все больные находились в активной стадии заболевания: активность по SLEDAI 2K – от 8 до 31 баллов. У 7 больных основным клиническим проявлением СКВ был волчаночный нефрит, у 4 из них нефрит сопровождался нефротическим синдромом. Результаты нефробиопсии продемонстрировали III тип нефрита у 1 пациентки, IV тип нефрита – у 6 больных. Тяжелое поражение ЦНС с развитием энцафаломиелорадикулоневрита являлось показанием для терапии у 4-х и цитопения у 3-х больных. Двое больных имели сочетанные клинические проявления. Большинство больных получали терапию ритуксимабом в связи с прогрессирующим течением заболевания при неэффективности традиционного лечения высокими дозами циклофосфана (ЦФ), метилпреднизолона. Ритуксимаб вводитлся еженедельно в/в капельно по 500 мл в течение 4-х недель, 4-м больным проведена комбинированная терапия с ЦФ.

Активность СКВ значительно уменьшилась у половины больных уже через неделю после завершения курса терапии ритуксимабом. Такие проявления заболевания, как артриты, эритема, лихорадка, анемия, цитопения, купировались сразу после окончания курса лечения. У 4 больных с нефритом отмечалось снижение суточной протеинурии уже через неделю после окончания курса лечения в среднем с 2.6±3.2 до 1.7±2.7 г/сут ($p>0,05$).

У 10 больных до начала лечения имелось увеличение титров аутоантител к дсДНК до 60,7±44,7 (M±SD). К завершению курса терапии выявлено снижение уровня аутоантител к дсДНК (рис. 1). Уровни иммуноглобулинов умеренно снизились у большинства больных, что не сопровождалось увеличением частоты инфекционных заболеваний после окончание лечения.

Рисунок 1

ДИНАМИКА АНТИ-ДСДНК НА ФОНЕ ТЕРАПИИ РИТУКСИМАБОМ

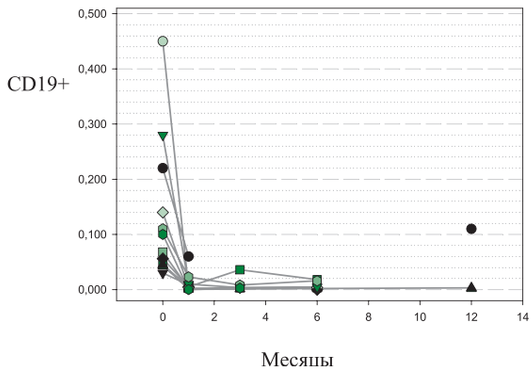


После курса ритуксимаба содержание $CD19^+$ в периферической крови менее 0.01 x 10^9/л выявлено у 10 из 12 больных. Продолжительность деплеции варьировала от 3 до 11 мес. (рис. 2). Восстановление популяции В клеток отмечалось через год у одной больной и не сопровождалось обострением СКВ.

Количество Treг до начала терапии не было снижено у большинства больных, несмотря на высокую активность заболевания. Изменение концентрации Treг на фоне терапии не коррелировало с изменением титров аутоантител к дсДНК. Через месяц после начала терапии у 6 больных выявлено увеличение концентрации Treг, а у 6 больных количество Treг уменьшилось ниже первоначального уровня. У больных, содержание периферических Т рег которых сразу после терапии увеличилось, в дальнейшем был отмечен лучший ответ на терапию (SLEDAI 2K<3 через 3 мес) (рис.3). Корреляционный анализ

Рисунок 2

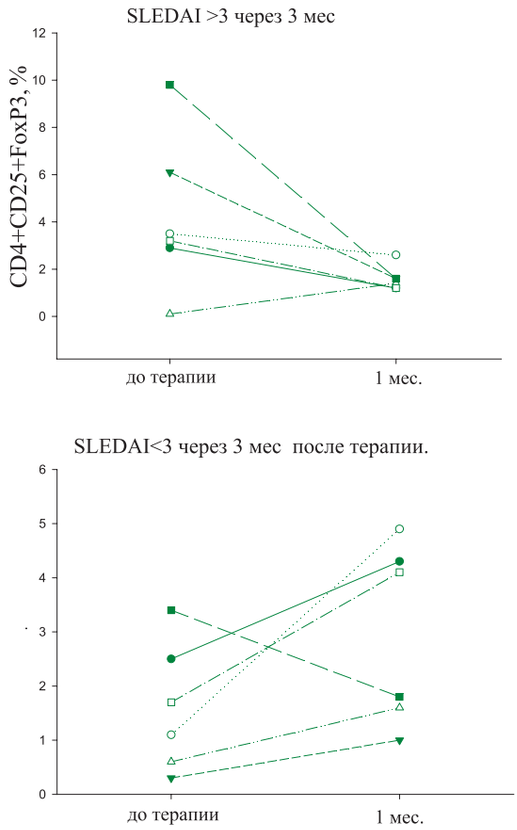
ИЗМЕНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА CD19+ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПОСЛЕ ТЕРАПИИ РИТУКСИМАБОМ



показал значимую связь динамики маркеров Treг (Foxp3$^+$, CD25$^+$, CD4$^+$CD25$^+$), а также значения активности СКВ по SLEDAI 2K после завершения лечения с наличием клинического ответа на терапию ритуксимабом через 3 мес (табл. 1).

Рисунок 3

РАЗЛИЧИЯ В ИЗМЕНЕНИИ УРОВНЯ CD4+CD25+FOXP3 ЧЕРЕЗ МЕСЯЦ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ ТЕРАПИИ РИТУКСИМАБОМ В СООТВЕТСТВИИ С КЛИНИЧЕСКИМ ОТВЕТОМ НА ТЕРАПИЮ ЧЕРЕЗ 3 МЕС



У больных с хорошим ответом на терапию через 3 мес (SLEDAI < 3) в основном отмечалось увеличение количества CD4+CD25+FoxP3 Т регуляторных клеток уже через месяц после курса лечения ритуксимабом.

Таблица 1

КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ОТВЕТА НА ЛЕЧЕНИЕ ЧЕРЕЗ 3 МЕС ПОСЛЕ ЕГО ОКАНЧАНИЯ

	r	p
Изменения содержания Foxp3 клеток	0,676	0,016
Изменения содержания CD25+ клеток	0,628	0,029
Изменения содержания CD4+CD25+ клеток	0,724	0,008
Изменение активности СКВ по SLEDAI	0,631	0,028
Значение индекса SLEDAI через 1 мес после проведения терапии РТ	0,703	0,011

В модель бинарной логистической регрессии, где клинический ответ на терапию через 3 мес являлся зависимой переменной, было включено 4 предиктора, продемонстрировавших статистическую значимость в корреляционном анализе: уровень Foxp3$^+$, CD4$^+$CD25$^+$, CD25$^+$ и активность заболевания по SLEDAI 2K через неделю после окончания терапии. Ни один из предикторов по отдельности не имел значимой предсказательной ценности. Модель с включением указанных 4 предикторов в совокупности была способна корректно предсказать клинический ответ на терапию в 83% случаев.

Обсуждение

По данным различных клинических исследований, терапия ритуксимабом высоко эффективна у больных СКВ. Несмотря на то, что ритуксимаб вызывает деплецию В лимфоцитов практически у всех больных, его механизм действия до конца не ясен. Поскольку функции В и Т лимфоцитов тесно связаны, при исчезновении В клеток из кровяного русла изменяется состав и Т клеточной популяции. В данном исследовании оценивалось изменение Treг на фоне терапии ритуксимабом. У большинства больных до начала терапии ритуксимабом не выявлено снижения количества Treг в периферической крови. Это может быть связано с тем, что больные перед включением в исследование получали активную терапию с применением традиционных цитостатических препаратов и высоких доз ГК, что, вероятно, вызвало увеличение экспрессии FoxP3$^+$ [21].

Динамика количества Treг на фоне анти-В-клеточной терапии оценивалась также в нескольких исследованиях. В работе T. Vallerskog и соавт. концентрация CD25^{bright} Treг повышалась при восстановлении В клеточной субпопуляции по сравнению с первоначальной [24].

В исследовании P.P. Sfikakis и соавт. выявлено увеличение CD4$^+$CD25$^+$ Т лимфоцитов на 20-300% у больных СКВ после оканчания лечения ритуксимабом [25]. В последующих работах авторы отмечают увеличение количества FoxP3$^+$ Treг у всех больных при получении деплеции В лимфоцитов. Во время клинической ремиссии увеличение количества Treг персистировало, а при наступлении обострения концентрация Treг вновь снижалась [26]. Повышение различных вариантов CD4$^+$ Treг (CD4$^+$CD25$^+$, CD4$^+$IL$^-$10$^+$ и CD4$^+$TGFβ$^+$) обнаруже-

но в другом исследовании на 30 день после окончания лечения. В большинстве случаев увеличение количества Treg сопровождалось увеличением их супрессорных функций. Интересно, что в последнем исследовании в двух случаях наихудшего клинического ответа на терапию не отмечено увеличения супрессивной функции Treg [27].

В настоящее время механизм изменения количества и функциональных способностей Treg до конца не ясен. Предположительно, даже у взрослого человека небольшая часть тимуса продолжает функционировать и остается способной к регенерации, в т.ч. к образованию Treg [28-30]. Кроме того, возможно также увеличение количества Treg за счет экстратимусных $CD4^+CD25^-$ Т-клеток.

Повышение функциональной активности Treg связано с тем, что снижение количества АПК на фоне терапии ведет к снижению количества активированных Т клеток, которые экспрессируют GITRL [31]. Поскольку GITR лиганд способен ингибировать супрессивные функции [31, 32], снижение количества лимфоцитов, экспрессирующих его, способствует увеличению количества и улучшению функций Treg. Аналогично механизму действия других биологических препаратов, ритуксимаб, вызывая деплецию В клеток, может способствовать уменьшению синтеза антилимфоцитарных антител к $CD4^+$ Т reg [33]. Кроме того, вероятно, что после введения ритуксимаба увеличивается чувствительность эффекторных клеток к супрессивному сиглалу Treg лимфоцитов. В одном из исследований сообщается, что $CD4^+CD25^-$ эффекторные клетки MRL/Mp мышей менее чувствительны к супрессии аутологичными Treg [34], что может быть связано с дефектом внутриклеточных регуляторных молекул Cbl-b [35] .

Последующие исследования должны помочь ответить на вопрос, связана эффективность ритуксимаба с увеличением функциональных способностей Treg или с увеличением чувствительности эффекторных $CD4^+CD25^-$ клеток к регуляторным сигналам.

В некоторых случаях эффект анти-В-клеточной терапии наблюдается не сразу после окончания курса лечения, что является особенностью действия ритуксимаба. Например, при поражении почек анти-В-клеточная терапия не сопровождается незамедлительным результатом. Ответ на терапию в таких случаях проявляется только через несколько месяцев после её окончания [36]. В связи с этим особую важность приобретают некоторые показатели, способные предсказать эффективность терапии ритуксимабом в ближайшие сроки после окончания лечения, что в дальнейшем позволяет избежать нецелесообразного усиления цитостатической терапии. В настоящее время в качестве таких показателей рассматриваются В клетки [37], антитела к дсДНК [38], ко-стимуляторные молекулы CD40L [25], CD40 и CD80 [39], человеческие анти-химерные антитела [40] и другие. Однако предсказательная ценность этих показателей не очевидна. В нашей работе подобным предиктором служила совокупность различных маркеров Treg. В данном исследовании изменение количества $CD25^+$, $CD4^+CD25^+$, $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ Т клеток сразу после окончания терапии коррелировало с клиническим ответом и определяло последующий ответ на анти-В-клеточную терапию. Поскольку период наблюдения в 1 год был завершен у 4 из 12 больных, в данной работе представлены только предварительные результаты. Окончание исследования позволит более точно определить значение динамики Treg на фоне терапии ритуксимабом.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Tsokos G.C.,Wong H.K., Enyedy E.J. et al. Immune cell signaling in lupus. Curr. Opin. Rheumatol, 2000, 12, 355–63.*
2. *Shevach E.M., McHugh R.S., Piccirillo C.A., Thornton A.M. Control of T-cell activation by $CD4^+$ $CD25^+$ suppressor T cells. Immunol Rev, 2001,182,58-67.*
3. *Hall B.M., Pearce N.W., Gurley K.E. et al. Specific unresponsiveness in rats with prolonged cardiac allograft after treatment with cyclosporine. III. Further characterization of the $CD4^+$ suppressor cell and its mechanisms of action. J. Exp. Med., 1990, 171,141-57.*
4. *Sakaguchi S., Sakaguchi N., Asano M. et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. J Immunol., 1995, 155, 1151-64.*
5. *Bluestone J.A., Abbas A.K., Natural versus adaptive regulatory T cells. Nat. Rev. Immunol., 2003, 3, 253–57.*
6. *Piccirillo C.A., Thornton A.M. Cornerstone of peripheral tolerance: naturally occurring $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells. Trends Immunol., 2004, 25, 374–80.*
7. *Von Boehmer H. Mechanisms of suppression by suppressor T cells. Nat. Immunol., 2005, 6, 338–44.*
8. *Thompson C.B., Allison J.P. The emerging role of CTLA-4 as an immune attenuator. Immunity, 1997, 7, 445-50.*
9. *Grossman W.J., Verbsky J.W., Barchet W. et al. Human T regulatory cells can use the perforin pathway to cause autologous target cell death. Immunity, 2004, 21, 589-601.*
10. *Dieckmann D., Bruett C.H., Ploettner H. et al. Human $CD4^+CD25^+$ regulatory, contact-dependent T cells induce IL-10 producing, contact-independent type 1-like regulatory T cells. J. Exp. Med., 2002, 196, 247-53.*
11. *Thornton A.M., Shevach E.M. $CD4^+CD25^+$ immunoregulatory T cells suppress polyclonal T-cell activation*

in vitro by inhibiting interleukin-2 production. J. Exp. Med., 1998, 188, 287–96.

12. *Baecher-Allan C., Brown J.A., Freeman G.J. et al. $CD4^+CD25^{high}$ regulatory cells in human peripheral blood. J. Immunol., 2001, 167(3), 1245-53.*
13. *Fontenot J.D., Gavin M.A., Rudensky A.Y., Foxp3 programs the development and function of $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells. Nat. Immunol., 2003, 4(4), 330-6.*
14. *Hori S., Nomura T., Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. Science, 2003, 299(5609), 1057-61.*
15. *Bennett C.L., Christie J., Ramsdell F. et al. The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. Nat. Genet., 2001, 27(1), 20-1.*
16. *Wolf D., Hochegger K., Wolf A.M. et al. $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells inhibit experimental anti-glomerular basement membrane glomerulonephritis in mice, J. Am. Soc. Nephrol., 16, 2005, 1360–70.*
17. *Liu M.F., Wang C.R., Fung L.L. et al. Decreased $CD4^+CD25^+$ T cells in peripheral blood of patients with systemic lupus erythematosus. Scand. J. Immunol., 2004, 59, 198–202.*
18. *Crispin J.C., Martinez A., Alcocer-Varela J. Quantification of regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus. J. Autoimmun., 2003, 21, 273–6.*
19. *Miyara M., Amoura Z., Parizot C. et al. Global natural regulatory T cell depletion in active systemic lupus erythematosus. J. Immunol., 2005, 175, 8392–400.*
20. *Alvarado-Sanchez B., Hernandez-Castro B., Portales-Perez D. et al. Regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus. J. Autoimmun., 2006, 27, 110-8.*
21. *Suarez A., Lopez P., Gomez J. et al. Enrichment of $CD4^+CD25^{high}$ T cell population in SLE patients treated with glucocorticoids. Ann. Rheum. Dis., 2006, 65(11), 1512-7.*
22. *Hochberg M. C. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematotosus. Arthr. Rheum., 1997,40, 1725.*
23. *Vitali C., Bencivelli W., Isenberg D. A. et al. Disease activity in SLE: report of the Consensus Study Group of the European Workshop for Rheumatology Research. II Identification of the variables indicative of disease activity and their use in the development of an activity score. The European Consensus Study Group for Disease Activity in SLE. Clin. Exp. Rheumatol., 1992,10, 541-47.*
24. *Vallerskog T., Gunnarsson I., Widhe M. et al. Treatment with rituximab affects both the cellular and the humoral arm of the immune system in patients with SLE. Clin. Immun., 2007, 122, 62-74.*
25. *Sfikakis P.P., Boletis J.N., Lionaki S. et al. Remission of proliferative lupus nephritis following B cell depletion therapy is preceded by down-regulation of the T cell costimulatory molecule CD40 ligand: an open-label trial. Arthritis Rheum., 2005, 52, 501–13.*
26. *Sfikakis P.P., Souliotis V.L., Fragiadaki K.G. et al. Increased expression of the FoxP3 functional marker of regulatory T cells following B cell depletion with rituximab in patients with lupus nephritis. Clin. Immun., 2007, 123, 66-73.*
27. *Vigna-Perez M., Hernandez-Castro B., Paredes-Saharopulos O. et al. Clinical and immunological effects of rituximab in patients with lupus nephritis refractory to conventional therapy: a pilot study. Arthritis Res. Ther., 2006, 8, R83.*
28. *Douek D.C., Vescio R.A., Betts M.R. et al. Assessment of thymic output in adults after hematopoietic stem cell transplantation and prediction of T-cell reconstitution. Lancet, 2000, 355, 1875–81.*
29. *Pawelec G., Barnett Y., Forsey R. et al. Tcells and aging. Front. Biosci., 2002, 7, 1056–183.*
30. *Sfikakis P.P., Gourgoulis G.M., Moulopoulos L.A. et al. Age-related thymic activity in adults following chemotherapy-induced lymphopenia. Eur. J. Clin. Invest., 2005, 35, 380–7.*
31. *Tone M., Tone Y., Adams E. et al. Mouse glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor ligand is costimulatory for T cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2003, 100, 15059-64.*
32. *Shevach E.M. Regulatory/suppressor T cells in health and disease. Arthritis Rheum., 2004, 50, 2721-4.*
33. *Ehrenstein M.R., Evans J.G., Singh A. et al. Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNF-alpha therapy. J. Exp. Med., 2004, 200, 277-85.*
34. *Monk C.R., Spachidou M., Rovis F. et al. MRL/Mp $CD4^+$, $CD25^-$ T cells show reduced sensitivity to suppression by $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells in vitro: a novel defect of T cell regulation in systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum., 2005, 52, 1180-4.*
35. *Wohlfert E.A., Gorelik L., Mittler R. et al. Deficiency in the E3 ubiquitin ligase Cbl-b results in a multifunctional defect in T cell TGF-β sensitivity in vitro and in vivo. J. Immunol., 2006, 176, 1316-20*
36. *Leandro M.J., Cambridge G., Edwards J.C. et al. B-cell depletion in the treatment of patients with systemic lupus erythematosus: a longitudinal analysis of 24 patients. Rheumatology, 2005, 44, 1542-5.*
37. *Albert D., Dunham J., Khan S. et al. Variability in the biological response to anti-CD20 B-cell depletion in SLE. Ann. Rheum. Dis., 2008, 67(12),1724-31.*
38. *Cambridge G., Leandro M.J., Teodorescu M. et al. B Cell Depletion therapy in systemic lupus erythematosus, effect on autoantibody and antimicrobial antibody profiles. Arthritis Rheum., 2006, 11, 3612-22.*
39. *Tokunaga M., Saito K., Kawabata D. et al. Efficacy of rituximab (anti-CD20) for refractory systemic lupus erythematosus involving the central nervous system. Ann. Rheum. Dis., 2007, 66, 470–5.*
40. *Looney R.J., Anolik J.H., Campbell D., et al. B cell depletion as a novel treatment for systemic lupus erythematosus: a phase I/II dose-escalation trial of rituximab. Arthritis Rheum., 2004, 50, 2580–9*

Поступила 01.12.08

Abstract

A.V. Torgashina

Relationship of T regulatory cells content, activity and serum autoantibodies level in patients with systemic lupus erythematosus receiving rituximab

Objective. To reveal changes of CD+CD25+FoxP3+ T regulatory cells (T reg) number in pts with systemic lupus erythematosus (SLE) receiving rituximab and to assess relationship T reg content with changes of disease activity and serum autoantibodies level during treatment.

Material and methods. 12 pts with definite SLE were included. Pts were examined before treatment, after 1, 3 and 6 months. Besides routine laboratory tests anti-double-stranded DNA antibodies, B lymphocytes and T reg cells number was evaluated with flow-cytometry. SLE activity was assessed with SLEDAI 2K scale. Rituximab 500 mg was administered every week iv during 4 weeks. 4 pts received combined treatment with cyclophosphan.

Results. Mean age of pts was 30,5±9,8 years (Me 31 years, varied from 18 to 49 years), disease duration varied from 7 to 148 months. T reg number before treatment was not decreased and did not correlated with anti-DNA antibodies level. T reg markers (Foxp3+, CD25+, CD4+CD25+) changes and values of SLE activity on SLEDAI 2K after the end of treatment correlated with presence of clinical response to treatment with rituximab in 3 months. Binary logistic regression model including 4 above mentioned predictors in total allows predicting correctly clinical response to therapy in 83% of cases.

Conclusion. Changes of CD25+, CD4+CD25+, CD4+CD25+FoxP3+ T cells number immediately after the end of treatment with rituximab correlated with clinical effect of the treatment and determined subsequent response to anti-B cell therapy.

Key words: *systemic lupus erythematosus, rituximab, T regulatory cells*