

Beata Kręcisz

Dorota Chomiczewska

Marta Kieć-Świerczyńska

ROLA LIMFOCYTÓW T REGULATOROWYCH W ALERGICZNYM KONTAKTOWYM ZAPALENIU SKÓRY

THE ROLE OF REGULATORY T CELLS IN ALLERGIC CONTACT DERMATITIS

Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera, Łódź

Pracownia Dermatologii, Ośrodek Alergii Zawodowej i Zdrowia Środowiskowego

STRESZCZENIE

Limfocyty T regulatorowe (Treg) odgrywają ważną rolę w mechanizmach regulacyjnych układu immunologicznego. Mają kluczowe znaczenie w powstawaniu i utrzymywaniu tolerancji immunologicznej organizmu. Biorą udział w patogenezie chorób autoimmunologicznych, alergicznych, immunologii nowotworów i przeszczepów. Stanowią niejednorodną fenotypowo grupę komórek, z których największe znaczenie mają limfocyty CD4+CD25+Foxp3+. Osłabienie lub wzmocnienie czynności limfocytów Treg może zostać wykorzystane w terapii różnych chorób, w tym immunoterapii chorób alergicznych. Med. Pr. 2009;60(4):315–319

Słowa kluczowe: limfocyty regulatorowe, limfocyty T CD4+CD25+, alergiczne kontaktowe zapalenie skóry

ABSTRACT

Regulatory T cells (Treg) play a crucial role in the regulatory mechanisms of immune system. They are responsible for the induction and maintenance of immune tolerance. They are also involved in the pathogenesis of autoimmune and allergic diseases and implicated in transplant rejection and immunopathology of cancers. Treg cells constitute the population of lymphocytes heterogeneous in their phenotype. CD4+CD25+Foxp3+ cells are most important among Treg subsets. Modification of Treg activity may be useful in the therapy of different diseases, including allergic disorders. Med Pr 2009;60(4):315–319

Key words: regulatory T cells, CD4+CD25+ cells, allergic contact dermatitis

Adres autorek: Pracownia Dermatologii, Ośrodek Alergii Zawodowej i Zdrowia Środowiskowego,
Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera, ul. św. Teresy 8, 91-348 Łódź, e-mail: krecisz@imp.lodz.pl
Nadesłano: 27 kwietnia 2009
Zatwierdzono: 13 maja 2009

Układ immunologiczny jest jednym z najważniejszych układów naszego organizmu. Ma on zdolność uczenia się, zapamiętywania i reagowania na bardzo różne bodźce oraz zdolność do oceny tych bodźców z punktu widzenia bezpieczeństwa organizmu. Głównym zadaniem układu odpornościowego jest zachowanie nienaruszalności ustroju oraz ochrona przed wpływem świata zewnętrznego, tj. przed potencjalnie groźnymi dla zdrowia drobnoustrojami — bakteriami, wirusami, grzybami, pierwotniakami i innymi czynnikami. Układ odpornościowy spełnia swoją rolę dzięki wielu mechanizmom wykształconym w toku ewolucji. W regulacji procesów immunologicznych biorą udział zarówno komórki, głównie różne subpopulacje limfocytów T regulatorowych, jak i cytokiny oraz przeciwciała, np. przeciwciała antyidiotypowe.

LIMFOCYTY T REGULATOROWE (Treg)

Aktywność pewnych populacji limfocytów T posiada kluczowe znaczenie w powstawaniu i utrzymywaniu tolerancji immunologicznej organizmu. Stanowią one niejednorodną fenotypowo grupę komórek pełniących funkcję regulacyjną w układzie odpornościowym (1). Uczestniczą w kontroli i hamowaniu nadmiernej odpowiedzi immunologicznej, zwłaszcza w stosunku do własnych antygenów, odgrywają ważną rolę w immunologii nowotworów, przeszczepów i patogenezie chorób autoimmunizacyjnych (2). Generalnie niedobór tych komórek sprzyja powstawaniu zjawisk autoimmunologicznych, a nadmiar zwiększa tolerancję immunologiczną, co może sprzyjać np. rozwojowi nowotworów.

* Praca wykonana w ramach zadania finansowanego z dotacji na działalność statutową nr IMP 11.1 pt. „Alergiczne reakcje krzyżowe na metale. Poszukiwanie komórkowych mechanizmów warunkujących powstawanie odczynów uczuleniowych”. Kierownik zadania: dr med. Beata Kręcisz.



Pierwszy opis limfocytów mających zdolność hamowania innych komórek immunokompetentnych pochodzi z lat 70. ubiegłego wieku (3). Z kolei prace badawcze prowadzone przez Sakaguchiego i wsp. (4) w latach 90. pozwoliły na identyfikację fenotypu tych komórek i określenie ich roli w procesach autoimmunizacji u myszy. Autorzy ci wykazali, że ich markerem jest białko CD25 (receptor dla interleukiny 2) i że Treg należą do subpopulacji limfocytów TCD4+. U ludzi obecność podobnych fenotypowo komórek wykryli Ng i wsp. (5). Limfocyty te zidentyfikowano we krwi obwodowej, grasicy, śledzionie, migdałkach i krwi pępowinowej.

Obecnie za najważniejsze subpopulacje limfocytów T wykazujące czynność regulatorową uważa się komórki o fenotypie CD4+CD25+Foxp3+, limfocyty Tr1 oraz limfocyty Th3 (6). Wśród nich najlepiej scharakteryzowaną grupą są pochodzące z grasicy limfocyty T CD4+CD25+, tak zwane naturalne Treg. Stanowią one około 5–10% limfocytów CD4+ krwi obwodowej (7). Ich przeżycie i czynność zależą od IL-2, a antygen powierzchniowy CD25 jest receptorem dla jej łańcucha α . Czynnikiem transkrypcyjnym Foxp3 uważany jest za specyficzny marker naturalnych Treg i ma decydujące znaczenie dla rozwoju regulatorowej aktywności limfocytów. Do innych niespecyficznych markerów powierzchniowych należą m.in. CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte associated antigen 4) i GITR (glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor) (8).

Dwie pozostałe subpopulacje limfocytów regulatorowych określa się jako indukowalne Treg. Są to limfocyty Tr1 oraz Th3 (6). Powstają one w obwodowych narządach limfatycznych w wyniku stymulacji limfocytów T CD4+ przez częściowo dojrzałe komórki dendrytyczne. Funkcję immunosupresyjną pełnią za pośrednictwem immunomodulujących cytokin, a nie poprzez oddziaływanie komórka–komórka (8). Limfocyty Tr1 wydzielają głównie IL-10 oraz w niewielkiej ilości TGF- β (6). Wytwarzana przez nie IL-10 działa supresyjnie na proliferację i wytwarzanie cytokin przez naiwne limfocyty T CD4+ CD25–, zarówno Th1, jak i Th2 (9). Obecność limfocytów Tr1, swoistych dla różnych antygenów, w tym własnych, stwierdzono głównie w błonie śluzowej jelit (10). Z kolei limfocyty Th3, mające zdolność wytwarzania TGF- β , pojawiają się przede wszystkim w odpowiedzi na ekspozycję na antygeny pokarmowe. Obecność w błonie śluzowej jelit cytokin, takich jak TGF- β , IL-4 i IL-10 sprzyja transformacji naiwnych limfocytów T

w komórki o fenotypie Th3 (11). Wytwarzany przez te limfocyty TGF- β działa hamująco na proliferację limfocytów Th1 i Th2 (12).

Generalnie uważa się, że supresyjne działanie limfocytów T regulatorowych zachodzi poprzez bezpośrednie oddziaływanie na komórki efektorowe (limfocyty CD4+CD8+) lub pośrednio przez wpływ na komórki prezentujące antygen (komórki dendrytyczne i monocyty), bądź też przez uwalnianie supresyjnych cytokin (IL-10, TGF- β) (13,14). Trzy główne mechanizmy działania limfocytów Treg przyczyniają się do modulacji odpowiedzi immunologicznej. Są to:

- eliminacja komórek efektorowych poprzez bezpośrednie oddziaływanie komórka–komórka (cell-to-cell contact),
- hamowanie wytwarzania cytokin, w szczególności IL-2,
- wydzielanie immunomodulujących cytokin, tj. IL-10 i TGF- β (14).

LIMFOCYTY T REGULATOROWE W CHOROBAH ALERGICZNYCH

Badania prowadzone w ostatnich latach wskazują na udział limfocytów T CD4+CD25+ w etiopatogenezie chorób alergicznych układu oddechowego, pokarmowego i skóry, w których główną rolę odgrywają mechanizmy zależne od limfocytów Th2. W chorobach tych ekspozycja na alergen prowadzi do wydzielania cytokin o profilu Th2, w tym IL-4, IL-5 i IL-13, które stymulują wytwarzanie alergenowo swoistych IgE i pobudzenie eozynofili.

Za rolę Treg w hamowaniu alergicznej odpowiedzi Th2-zależnej przemawiają wyniki badań i obserwacji przeprowadzonych z udziałem ludzi i zwierząt. Wskazują one, że choroby alergiczne, podobnie jak autoimmunologiczne, mogą być związane z niedoborem lub upośledzoną funkcją Treg (8). Na przykład genetycznie uwarunkowany brak prawidłowej ekspresji czynnika transkrypcyjnego Foxp3 w przebiegu zespołu IPEX (immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome), równoznaczny z brakiem prawidłowych limfocytów T CD25+, wiąże się z obecnością zmian skórnych przypominających wyprysk, wzrostem IgE w surowicy, eozynofilią, alergią pokarmową, nasiloną odpowiedzią typu Th2, a także innymi zaburzeniami (15,16). W mysim modelu astmy oskrzelowej wykazano, że zmniejszona obecność limfocytów T CD4+CD25+ w drogach oddechowych wiąże się z nasileniem ich nadreaktywności (17), na-



tomiast transfer alergenowo swoistych limfocytów CD4+CD25+ powoduje supresję reakcji zapalnej i zmniejszenie nadreaktywności dróg oddechowych. Ponadto obserwowano zahamowanie migracji eozynofili i obniżenie wydzielania cytokin o profilu Th2 w odpowiedzi na alergen (18). Podobne właściwości hamowania alergenowo swoistej odpowiedzi typu Th2 przypisuje się innym populacjom Treg, a supresja ta odbywa się między innymi poprzez wzmożone wytwarzanie IL-10 i TGF- β (8,19).

W badaniach z udziałem zdrowych ochotników stwierdzono, że usunięcie limfocytów T CD4+CD25+ z krwi obwodowej powodowało nasilenie reakcji typu Th2 i wzmożone wytwarzanie cytokin w odpowiedzi na różne alergeny, w tym mleko, nikiel i pyłki traw. Obserwacja ta przemawia za aktywną rolą tych limfocytów w tłumieniu potencjalnej reakcji alergicznej typu Th2 u zdrowych osób (15). Wyniki dalszych badań sugerują ponadto, że u zdrowych osób występuje więcej limfocytów Treg wytwarzających IL-10 w porównaniu z alergikami i chorującymi na astmę. Nie jest natomiast jasne, czy dotyczy to limfocytów T CD4+CD25+, czy Tr1 (20). U dzieci, u których doszło do wygaśnięcia objawów alergii na mleko krowie stwierdzono zwiększoną liczbę krążących limfocytów Treg w porównaniu z dziećmi z utrzymującą się nadwrażliwością (21).

Za rolą limfocytów Treg w patomechanizmie chorób alergicznych przemawiają również doniesienia innych autorów, którzy obserwowali, że limfocyty o fenotypie T CD4+CD25+ pochodzące od osób bez cech atopii wykazywały zdolność do hamowania proliferacji limfocytów efektorowych T CD4+CD25- po stymulacji alergenem, podczas gdy u atopików właściwości supresyjne tych komórek były znacząco ograniczone. W szczególności upośledzenie funkcji Treg obserwowano w sezonie pylenia u pacjentów z pyłkowicą, między innymi u uczulonych na pyłki brzozy (15,22,23). Zaburzenia dotyczące populacji limfocytów Treg stwierdzano również w atopowym zapaleniu skóry. W ogniskach zapalnych nie wykazano wprawdzie udziału limfocytów T CD4+CD25+Foxp3+ w tworzeniu nacieku komórkowego, jednak obecność limfocytów Tr1 oraz ekspresja cytokin IL-10 i TGF- β była znacząca. Brak populacji limfocytów T Foxp3+ może wiązać się z niewłaściwą kontrolą stanu zapalnego w skórze (24).

Powyższe dane wskazują, że u osób zdrowych limfocyty Treg aktywnie kontrolują odpowiedź na alergeny, natomiast występowanie chorób alergicznych wiąże się między innymi z upośledzeniem ich roli i osłabieniem zdolności regulacyjnych (15).

LIMFOCYTY T REGULATOROWE W ALERGICZNYM KONTAKTOWYM ZAPALENIU SKÓRY

Pojedyncze doniesienia wskazują również na udział limfocytów T CD4+CD25+ w patogenezie alergicznego kontaktowego zapalenia skóry. Cavani i wsp. (25) badali zdolność tych komórek do hamowania reakcji alergicznej na nikiel, będący najczęstszym alergenem kontaktowym. W doświadczeniu limfocyty T CD4+ izolowane z krwi obwodowej zdrowych osób wykazywały ograniczoną zdolność do proliferacji w odpowiedzi na nikiel, natomiast usunięcie z tej populacji limfocytów CD25+ powodowało znaczne jej nasilenie.

Wyniki tego eksperymentu wskazują, że limfocyty CD25+ mają zdolność hamowania aktywacji limfocytów CD4+CD25-, tj. limfocytów efektorowych, w odpowiedzi na alergen. Supresja ta odbywa się w mechanizmie oddziaływania komórka-komórka. Równocześnie autorzy ci wykazali, że limfocyty CD25+ pochodzące od osób uczulonych tylko w niewielkim stopniu lub wcale hamowały odpowiedź limfocytów efektorowych na nikiel.

W kolejnym etapie doświadczenia od uczulonych i zdrowych uczestników badania pobierano biopaty skóry z miejsca aplikacji siarczanu niklu (5%) oraz ze skóry nieeksponowanej na nikiel. U osób nieuczulonych w wycinkach skóry pobranych z miejsca przylegania alergenu, mimo braku widocznej reakcji zapalnej, stwierdzono nacieki komórkowy złożony z limfocytów CD4+, niewielkiej ilości CD8+ oraz znaczącej liczby CD25+, podczas gdy w skórze nieeksponowanej na nikiel nie wykazano obecności CD25+. Wyniki te wskazują, że u osób zdrowych do miejsca ekspozycji na hapten odbywa się migracja limfocytów CD25+ posiadających zdolność hamowania odpowiedzi limfocytów efektorowych CD4+CD25- na alergen. Podobne wyniki uzyskali Moed i wsp. (26), potwierdzając tym samym rolę limfocytów Treg w modulowaniu odpowiedzi immunologicznej na alergeny kontaktowe.

Mimo prowadzonych prac badawczych mechanizmy supresyjnego działania limfocytów T CD4+CD25+ w alergicznym kontaktowym zapaleniu skóry wciąż nie są do końca poznane. Dotychczas najważniejszą rolę przypisywano bezpośredniemu oddziaływaniu komórka-komórka, z udziałem receptora CTLA-4 limfocytów Treg i cząsteczek kostymulujących CD80/CD86 na komórkach docelowych. Wynikiem interakcji tych receptorów jest zmniejszenie wytwarzania IL-2, niezbędnej do pobudzenia komórek efektorowych (27). Obecnie uważa się również, że modulacja odpowiedzi



na alergen kontaktowy może odbywać się za pośrednictwem cytokin. Przemawia za tym obecność limfocytów Tr1, wydzielających IL-10 w ogniskach alergicznego kontaktowego zapalenia skóry (28). Znaczenie IL-10 w patomechanizmie ACD wskazują również Ring i wsp. (29). Wyniki przeprowadzonego przez nich eksperymentu z użyciem mysiego modelu nadwrażliwości kontaktowej potwierdzają rolę cytokin w hamowaniu odpowiedzi na alergen kontaktowy.

LIMFOCYTY T REGULATOROWE A TERAPIA CHOROÓB ALERGICZNYCH

Szczegółowe poznanie i zrozumienie mechanizmów funkcjonowania limfocytów Treg budzi nadzieje na ich wykorzystanie w leczeniu różnych chorób. Osłabienie ich działania może być korzystne w terapii chorób nowotworowych. Z kolei wzmocnienie ich funkcji może znaleźć zastosowanie w leczeniu chorób alergicznych, o podłożu autoimmunologicznym oraz w indukowaniu stanu tolerancji u pacjentów po przeszczepach allogenicznym.

Znaczenie limfocytów CD4+CD25+Foxp3+ w swojej alergenoimmunoterapii potwierdzono u myszy. U uczulonych zwierząt eksponowanych na alergen wziewny dochodziło do wytwarzania limfocytów T Foxp3+ odpowiedzialnych za indukcję stanu immunosupresji i tolerancji immunologicznej. Efektem zastosowanej immunoterapii był długoterminowy efekt leczniczy, zależny według autorów od limfocytów Foxp3+, i krótkoterminowy zależny prawdopodobnie od Tr1 (30). W opracowywaniu nowych metod terapii chorób alergicznych przewiduje się również wykorzystanie supresyjnego działania IL-10 i TGF- β , a także zjawiska nasilenia funkcji limfocytów T CD4+CD25+ pod wpływem kortykosteroidów i witaminy D3 (8,19,31).

PIŚMIENNICTWO

1. Jagła M., Cichocka-Jarosz M.: Limfocyty regulatorowe. *Alerg. Astma Immun.* 2007;12(1):22–29
2. Lewkowicz P., Lewkowicz N., Tchórzewski H.: Limfocyty T regulatorowe CD4+CD25+: fizjologia i rola tych komórek w modulowaniu odpowiedzi immunologicznej. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2005;59:362–370
3. Gershon R.K., Kondo K.: Infectious immunological tolerance. *Immunology* 1971;21:903–914
4. Sakaguchi S., Sakaguchi N., Asano M., Itoh M., Toda M.: Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor α -chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J. Immunol.* 1995;155:1151–1164
5. Ng W.F., Duggan P.J., Ponchel F., Matarase G., Lombardi G., Edwards A.D. i wsp.: Human CD4+CD25+ cells: a naturally occurring population of regulatory T cells. *Blood* 2001;98:2736–2744
6. Lasek W., Jakóbisiak M.: Populacje i subpopulacje limfocytów. W: Gołąb J., Jakóbisiak M., Lasek W., Stokłosa T. [red]. *Immunologia*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2007, ss. 172–190
7. Fehervari Z., Sakaguchi S.: CD4(+) Tregs and immune control. *J. Clin. Invest.* 2004;114(9):1209–1217
8. Elkord E.: Role of regulatory T cells in allergy: implications for therapeutic strategy. *Inflamm. Allergy Drug Targets* 2006;5:211–217
9. Roncarolo M.G., Bacchetta R., Bordignon C., Narula S., Levings M.K.: Type 1 T regulatory cells. *Immunol. Rev.* 2001;182:68–79
10. Cottrez F., Groux H.: Specialization in tolerance: innate CD(4+)CD(25+) versus acquired TR1 and TH3 regulatory T cells. *Transplantation* 2004;77(1, Supl.):S12–S15
11. Lan R.Y., Ansari A.A., Lian Z.-X., Gershwin M.E.: Regulatory T cells: development, function and role in autoimmunity. *Autoimm. Rev.* 2005;4:351–363
12. Weiner H.L.: Induction and mechanism of action of transforming growth factor-beta-secreting T3 regulatory cells. *Immunol. Rev.* 2001;182:207–214
13. Von Brehmer H.: Mechanisms of suppression by suppressor T cells. *Nat. Immunol.* 2005;5:338–344
14. Askenasy N., Kaminitz A., Yarkoni S.: Mechanisms of T regulatory cell function. *Autoimm. Rev.* 2008;7:370–375
15. Taams L., Palmer D., Akbar A., Robinson D.S., Brown Z., Hawrylowicz C.M. i wsp.: Regulatory T cells in human disease and their potential for therapeutic manipulation. *Immunology* 2006;118(1):1–9
16. Foley S.C., Prefontaine D., D'Antoni M., Hamid Q.: Regulatory T cells in allergic disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2007;120:482–486
17. Doganci A., Eigenbrod T., Krug N., De Sanctis G.T., Hausding M., Erpenbeck V.J. i wsp.: The IL-6R α chain controls lung CD4+CD25+ Treg development and function during allergic airway inflammation *in vivo*. *J. Clin. Invest.* 2005;115:313–325
18. Kearley J., Barker J.E., Robinson D.S., Lloyd C.M.: Resolution of airway inflammation and hyperreactivity after *in vivo* transfer of CD4+CD5+ regulatory T cells is interleukin 10 dependent. *J. Exp. Med.* 2005;202:1539–1547
19. Jiang S., Lechler R.I.: CD4+CD25+ regulatory T-cell therapy for allergy, autoimmune disease and transplant rejection. *Inflamm. Allergy Drug Targets* 2006;5:239–242



20. Akdis M., Verhagen J., Taylor A., Karamloo F., Karagianidis C., Crameri R. i wsp.: Immune responses in healthy and allergic individuals are characterized by a fine balance between allergen-specific T regulatory 1 and T helper 2 cells. *J. Exp. Med.* 2004;199:1567–1575
21. Karlsson M.R., Rugtveit J., Brandtzaeg P.: Allergen-responsive CD4+CD25+ regulatory T cells in children who have outgrown cow's milk allergy. *J. Exp. Med.* 2004;114:1389–1397
22. Grindebacke H., Wing K., Andersson A.-C., Suri-Payer E., Rak S., Rudin A.: Defective suppression of Th2 cytokines by CD4+CD25+ regulatory T cells in birch allergies during birch pollen season. *Clin. Exp. Allergy* 2004;34:1364–1372
23. Ling E.M., Smith T., Nguyen X.D., Pridgeon C., Dallman M., Arbery J. i wsp.: Relation of CD4+CD25+ regulatory T-cell suppression of allergen-driven T-cell activation to atopic status and expression of allergic disease. *Lancet* 2004;363:608–615
24. Verhagen J., Akdis M., Traidl-Hoffmann C., Schmid-Grendelmeier P., Hijnen D.J., Knol E.F. i wsp.: Absence of T-regulatory cell expression and function in atopic dermatitis skin. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2006;117(1):176–183
25. Cavani A., Nasorri F., Ottaviani C., Sebastiani S., de Pita O., Girolomoni G.: Human CD25+ regulatory T cells maintain immune tolerance to nickel in healthy, non-allergic individuals. *J. Immunol.* 2003;171:5760–5768
26. Moed H., von Blomberg M.E., Bruynzeel D.P., Scheper R.J., Gibbs S., Rustemeyer T.: Regulation of nickel-induced T-cell responsiveness by CD4+CD25+ cells in contact allergic patients and healthy individuals. *Contact Dermatitis* 2005;53:71–74
27. Shevach E.M.: CD4+CD25+ suppressor T cells: more questions than answers. *Nat. Rev. Immunol.* 2002;2:389–400
28. Gober M.D., Gaspari M.: Allergic contact dermatitis. *Curr. Dir. Autoimmun.* 2008;10:1–26
29. Ring S., Schäfer S.C., Mahnke K., Lehr H.A., Enk A.H.: CD4+CD25+ regulatory T cells suppress contact hypersensitivity reactions by blocking influx of effector T cells into inflamed tissue. *Eur. J. Immunol.* 2006;36(11):2981–2992
30. Winkler B., Hufnagl H., Spittler A., Ploder M., Kálay E., Vrtala S. i wsp.: The role of Foxp3+ T cells in long-term efficacy of prophylactic and therapeutic mucosal tolerance induction in mice. *Allergy* 2006;61(2):173–180
31. Umetsu D.T., Akbari O., Dekruyff R.H.: Regulatory T cells control the development of allergic disease and asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2003;112(3):480–487

