

Immunoregulacja wrażliwości skóry a regulatorowe limfocyty T

Ian Kimber¹, Mark A. Travis^{2,3}, Stefan F. Martin⁴, Rebecca J. Dearman¹

¹Faculty of Life Sciences, Toxicology Group, University of Manchester M13 9PT, Wielka Brytania

²Manchester Immunology Group, University of Manchester, Manchester M13 9PT, Wielka Brytania

³Faculty of Life Sciences, Wellcome Trust Centre for Cell-Matrix Research, University of Manchester, Manchester M13 9PT, Wielka Brytania

⁴Allergy Research Group, Department of Dermatology, University of Freiburg Medical Centre, D-79104 Freiburg, Niemcy

Adres do korespondencji: Professor Ian Kimber, Faculty of Life Sciences, University of Manchester, Michael Smith Building, Oxford Road, Manchester M13 9PT, Wielka Brytania; e-mail: ian.kimber@manchester.ac.uk

Contact Dermatitis, 67, 179-183

Dermatologia po Dyplomie 2013;4(2):12-18

STRESZCZENIE

Dobrze wiadomo, że rozwój wrażliwości skóry, tak jak innych odpowiedzi immunologicznych typu adaptacyjnego, jest procesem dobrze zorganizowanym i dokładnie kontrolowanym dzięki różnym mechanizmom. Ostatnio wzrasta zainteresowanie znaczeniem limfocytów T regulatorowych w alergicznym kontaktowym zapaleniu skóry. W tym artykule przedstawiono zwięzły opis fenotypu i czynności limfocytów T regulatorowych oraz rozważono ich działanie na różne elementy wpływające na wrażliwość skóry, takie jak międzysobnicze różnice w podatności i zróżnicowanie mocy alergenów chemicznych. Przedstawiono także rolę tych komórek w hamowaniu rozwoju wrażliwości skóry.

SŁOWA KLUCZOWE

immunoregulacja, regulatorowe limfocyty T, wrażliwość skóry

Z immunologicznego punktu widzenia wrażliwość skóry charakteryzuje się zaawansowanym zorganizowaniem. Wiadomo, że rozwój tego zjawiska zależy od wielu interakcji komórkowych i molekularnych, które obejmują zarówno wrodzoną, jak i nabytą odpowiedź immunologiczną. Proces ten wymaga (oprócz innych zjawisk i interakcji) skoordynowanej ekspresji cytokin i chemokin w skórze, pobudzenia, mobilizacji i migracji naskórkowych komórek Langerhansa (LC) lub komórek dendrytycznych skóry (DC) oraz pobudzenia odpowiedzi limfocytów T o odpowiedniej jakości i sile.¹⁻⁸

W ostatnim dziesięcioleciu, a nawet wcześniej, zaczęto coraz bardziej doceniać znaczenie subpopulacji limfocytów T działających jako komórkowe efekторы wrażliwości skóry i jej alergicznego kontaktowego zapalenia.⁹⁻¹¹ Zauważono także, że zarówno u myszy, jak i ludzi reakcja immunologiczna po kontakcie z alergenem chemicznym odzwierciedla równowagę między elementami pobudzającymi i regulatorowymi, a limfocyty T regulatorowe CD4⁺ (Treg) odgrywa w niej istotną rolę.¹²⁻¹⁹

W tym artykule dokonano zwięzłego przeglądu fenotypu i czynności limfocytów Treg w kontekście mechanizmów immunoregulatorowych i rozważono, w jaki sposób aktywność tych komórek wpływa na wrażliwość skóry.

Limfocyty Treg a odpowiedzi immunologiczne

Układ immunologiczny, przez dopasowane odpowiedzi immunologiczne, umożliwia skierowaną przeciwko patogennym mikroorganizmom i komórkom nowotworowym odpowiedź gospodarza. Nadmierna, niekontrolowana i nieprawidłowo ukierunkowana odpowiedź immunologiczna wiąże się jednak z ciężkimi powikłaniami. Konieczne są zatem immunoregulatorowe procesy, które będą w stanie kontrolować, powstrzymać i nakierunkować odpowiedzi

immunologiczne oraz podtrzymywać tolerancję na własne antygeny. W jednym z takich mechanizmów uczestniczą limfocyty Treg.²⁰ Klasyczne limfocyty Treg były początkowo opisywane jako limfocyty T CD4⁺CD25⁺.²¹ Następnie odkryto, że większość limfocytów Treg wykazuje ekspresję czynnika transkrypcyjnego Foxp3 (Forkhead box p3), będącego głównym czynnikiem transkrypcyjnym klasycznych limfocytów Treg.^{22,23} Są dwa główne typy limfocytów Treg CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺: naturalnie występujące limfocyty Treg (nTreg), które rozwijają się w grasicy i odgrywają kluczową rolę w homeostazie immunologicznej i podtrzymywaniu tolerancji na antygeny własne oraz indukowane limfocyty Treg, które powstają obwodowo z naiwnych limfocytów T pod wpływem transformującego czynnika wzrostu β (TGF β).²⁴ Chociaż w pełni opisano fenotyp i funkcję limfocytów CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺, możliwe, że cechują się one pewnym poziomem plastyczności. Sugeruje się (co jest nieco kontrowersyjne), że w pewnych okolicznościach, limfocyty Treg mogą zmniejszać ekspresję Foxp3 i nabywać cech komórek efektorowych.^{25,26}

Oprócz limfocytów Treg Foxp3⁺, istnieją inne regulatorowe limfocyty T (Foxp3⁻), które są swoiste antygenowo i indukowane obwodowo: Tr1, wytwarzające interleukinę 10 (IL-10), i limfocyty T pomocnicze 3 (Th3) – wytwarzające TGF β .²⁷⁻²⁹ Należy również wspomnieć, że w kontekście rozwoju i ekspresji wrażliwości skóry konwencjonalne komórki Th2 CD4⁺ mogą również działać jako komórki „regulatorowe” ze względu na ich zdolność przeciwdziałania odpowiedzi z limfocytów Th1 CD4⁺ i efektorowych limfocytów T cytotoksycznych CD8⁺.^{18,30} Wiadomo, że jest wiele różnych fenotypów limfocytów T mogących uczestniczyć w ujemnej kontroli odpowiedzi immunologicznych, ale głównie dotyczy to limfocytów Treg CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ i ich potencjalnego wpływu na nabywanie wrażliwości skóry.

Mechanizmy działania limfocytów Treg

Jednym z bardziej intrygujących aspektów biologii limfocytów Treg są mechanistyczne podstawy regulacji czynności układu immunologicznego, będące tematem licznych opublikowanych ostatnio prac przeglądowych; w tym artykule omówiono jedynie kluczowe kwestie.³¹⁻³⁵

Wykazano, że limfocyty Treg wpływają na odpowiedzi immunologiczne przez inhibicję aktywacji, proliferacji i różnicowania limfocytów T; co (na podstawie danych z badań *in vitro*), oznacza, że potrzebny jest kontakt między komórkami. Ze względu na to czynność limfocytów Treg jest w dużym stopniu, ale nie wyłącznie, swoista an-

tygenowo. Wiadomo, że limfocyty Treg modyfikują czynność limfocytów T (i B) na różne sposoby. Należy wśród nich wymienić: indukcję wytwarzania cytokin hamujących/immunoregulatorowych (takich jak IL-10, TGF β i IL-35),³⁶⁻³⁸ aktywność cytotoxiczną,^{39,40} przerywanie procesów metabolicznych,⁴¹ hamowanie proliferacji⁴² oraz zaburzenia czynności komórek DC.^{43,44} Warto pamiętać, że te sposoby nie muszą się wykluczać. Zatem, przykładowo, wydzielanie cytokin immunomodulujących przez limfocyty Treg może wpływać na integralność czynności DC i siłę odpowiedzi proliferacyjnych limfocytów T.

Limfocyty Treg a wrażliwość skóry

Od jakiegoś czasu wiadomo, że indukcja wrażliwości skóry i wywołanie alergicznego kontaktowego zapalenia skóry wraz z aspektami immunologicznej odpowiedzi adaptacyjnej idą w parze z ograniczeniami regulatorowymi, które chronią gospodarza przed nadmiernymi odpowiedziami. Koncepcja równowagi między promującymi wpływami komórek efektorowych a supresyjnym wpływem komórek regulatorowych w alergicznym kontaktowym zapaleniu skóry nabrała rozmachu po opisie przeciwstawnych ról pewnych populacji limfocytów T.¹⁶

Cavani i wsp.¹³ stwierdzili limfocyty T CD4⁺ odpowiadające na alergen (nikiel) we krwi obwodowej zarówno u osób uczulonych, jak i nieuczulonych na nikiel. Natomiast limfocyty T CD8⁺ (pierwotne komórki efektorowe w alergicznym kontaktowym zapaleniu skóry) odpowiadające na nikiel zostały wykryte jedynie u osób cierpiących na alergię na nikiel. Poczyniono interesującą obserwację, że klony limfocytów T CD4⁺ swoiste dla niklu pochodzące od osób bez alergii wytwarzały więcej IL-10 i mniej IFN γ niż odpowiednie klony CD4⁺ pochodzące od osób z alergią na nikiel. Stwierdzono, że pierwotne komórki efektorowe powodujące odpowiedzi alergiczne na nikiel to limfocyty T CD8⁺ wytwarzające dużo IFN γ , a podtyp swoistych antygenowo regulatorowych komórek T CD4⁺ hamuje czynność efektorowych komórek CD8⁺ u chorych z alergią i zapobiega rozwojowi nadwrażliwości u osób bez alergii.¹³ Następnie ten sam zespół opisał populację odpowiadających na nikiel we krwi obwodowej limfocytów T CD4⁺CD25⁺ odpowiedzialnych za duże stężenie IL-10 (i IL-5) i bardzo małe stężenie IFN γ . Hamowały one różnicowanie komórek DC wywodzących się z monocytów i ich zdolność do pobudzania komórek efektorowych swoistych dla niklu. Hamujący wpływ na komórki efektorowe mógł być w tym przypadku zniesiony całkowicie przez neutralizację IL-10.¹⁵ Podobna równowaga między limfocytami Treg a efektorowymi ko-

mórkami CD8⁺ została opisana u myszy uwrażliwionych na 3-pentadecylkatechol (urushiol).¹⁴

Interesujące jest to, że limfocyty Treg mogą, w zależności od okoliczności, odgrywać dwie różne (ale mimo to powiązane) role w rozwoju wrażliwości skóry. Przemawia za tym to, że w pewnych okolicznościach, limfocyty Treg ograniczają rozwijające się odpowiedzi immunologiczne oraz aktywność efektorowych limfocytów T w celu zapobiegania nadmiernym i potencjalnie uszkadzającym reakcjom. W innych przypadkach mogą jednak zapobiegać rozwojowi wrażliwości. Jednym z istotnych czynników, który prawdopodobnie determinuje wpływ limfocytów Treg w czasie procesu uwrażliwiania, jest siła działania immunologicznego czynnika stymulującego. Przemawia za tym to, że limfocyty Treg nie mogą całkowicie zapobiegać nabywaniu przez skórę wrażliwości na silne alergeny kontaktowe, ale ograniczają nasilenie indukowanych odpowiedzi i rozmiar tego zjawiska. W konsekwencji aktywność limfocytów Treg może być wystarczająca, aby zapobiec rozwojowi wrażliwości na słabe alergeny, które są słabszym immunologicznym czynnikiem stymulującym. Wiarygodność tej hipotezy potwierdzają wyniki uzyskane przez Vocanson i wsp.⁴⁵ którzy wykorzystując model myszy, wykazali że alergiczne kontaktowe zapalenie skóry spowodowane działaniem słabych alergenów kontaktowych (w tym przypadku trzy alergeny kontaktowe) nie mogło zostać wywołane u zwierząt z grupy kontrolnej. Jeśli jednak myszy były całkowicie pozbawione limfocytów CD4⁺, obserwowano pobudzenie efektorowych limfocytów T CD8⁺ i dochodziło do indukcji alergicznego kontaktowego zapalenia skóry.⁴⁵ Na podstawie wyników badania modyfikującego tę metodę zaproponowano, że usunięcie regulatorowych limfocytów CD4⁺ toruje drogę do zwiększonej wrażliwości skóry na modelu mysim, w którym działanie uwrażliwiające substancji chemicznych było określane zgodnie z ich siłą na podstawie pobudzenia wytwarzania IFN γ przez komórki węzłów chłonnych drenujących daną okolicę.^{46,47}

Kusząca jest hipoteza, że inna indukcja limfocytów Treg jest jednym z czynników odróżniających silne i słabe alergeny kontaktowe. Innymi słowy, przedmiotem dyskusji pozostaje to, czy silne alergeny nie pobudzają limfocytów Treg lub wiążą się ze słabszymi odpowiedziami z limfocytów Treg. Obecnie nie ma dowodów na to, że tak jest ani nie jest jasne, czy zakres ekspozycji i dawka alergenu kontaktującego się z powierzchnią skóry wpływa na odpowiedzi limfocytów Treg.

Prawdopodobnie najważniejszym zjawiskiem w czasie nabywania przez skórę wrażliwości jest aktywacja i ekspansja klonalna limfocytów T odpowiadających na

alergen i to wydaje się celem działania limfocytów Treg. Ostatnio przeprowadzone badanie dostarczyło dowodów na jednoczesną ekspansję efektorowych limfocytów T i swoistej alergenowo populacji limfocytów Treg ICOS⁺ (Inducible T cell CO-Stimulator) w węzłach chłonnych mogącej wywodzić się z komórek nTreg.⁴⁸ Według jednego z proponowanych mechanizmów limfocyty Treg lokalizują w obszarze drenowania węzłów chłonnych i hamują aktywność komórek DC, prawdopodobnie przez zmienioną ekspresję cząsteczek kostymulujących, takich jak CD80 i CD86.^{49,50} Jest to spójne z obserwacjami *in vitro*, z których wynika, że limfocyty Treg Foxp3⁺ tworzą bliskie związki z DC i hamują ich dojrzewanie.^{43,44,51}

Taki mechanizm potwierdza inne ostatnio przeprowadzone na myszach badanie, w którym poszukiwano wpływu limfocytów Treg na czynność nabytej odporności immunologicznej.⁵² Na modelu zakażenia wirusowego wykazano, że limfocyty Treg mogą wpływać na rozwijające się odpowiedzi immunologiczne zaraz po stymulacji antygenem przez interakcje z DC i zmniejszanie ekspresji CD80 i CD86. Upośledzona czynność kostymulacyjna DC prowadzi do zmniejszenia wytwarzania czynnika wzrostu limfocytów T IL-2, co jest związane z upośledzonym wytwarzaniem limfocytów efektorowych CD8⁺.⁵² Autorzy podkreślają, że działanie limfocytów Treg w tym kontekście pozwala na zapewnienie dokładnie dostrojonej immunoregulacji. Chociaż więc limfocyty Treg wydają się zmniejszać pulę komórek efektorowych, rozwój komórek pamięci pozostaje niezaburzony. W ten sposób, przez ograniczenie wytwarzania komórek efektorowych bez upośledzania zdolności do szybkiej odpowiedzi po ponownej ekspozycji na ten sam antygen, można uniknąć ryzyka nadmiernej agresywnej reakcji immunologicznej.⁵²

Podobne obserwacje zostały poczynione przez Ring i wsp.,⁵³ przy wykorzystaniu modelu mysiego wrażliwości skóry na trinitrochlorobenzen. Wykazano, że to zjawisko było hamowane przez limfocyty Treg zasiedlające węzły chłonne drenujące ekspozowaną okolicę, gdzie umiejscawiały się wraz z komórkami dendrytycznymi. Wykazano, że bezpośrednia interakcja limfocytów Treg i DC pośredniczona przez tworzenie połączeń jonowo-metabolicznych (gap junction) powodowała zmniejszoną ekspresję cząsteczek kostymulujących DC oraz upośledzoną aktywację i proliferację limfocytów CD8⁺ swoistych alergenowo.⁵³

Interesująca wydaje się sugestia, że działanie limfocytów Treg ogranicza rozmiar proliferacji limfocytów T w drenujących węzłach chłonnych po powtarzanej ekspozycji myszy na ten sam alergen kontaktowy. Objaw, po raz pierwszy opisany jakiś czas temu, polegał na tym, że jeżeli

myszki były ekspozowane zewnętrznie na silnie uwrażliwiające substancje chemiczne, takie jak oksazonon, w drenujących węzłach chłonnych dochodziło do nasilonej odpowiedzi proliferacyjnej. Jeśli jednak następnie (dni lub tygodnie później) różne miejsca na skórze tej samej myszki były ekspozowane na ten sam alergen chemiczny, proliferacja limfocytów T w drenujących węzłach chłonnych istotnie się zmniejszała.^{54,55} Interpretowano to w taki sposób, że zjawisko to zapobiega (przez do tej pory nieznaną mechanizm) rozwojowi zbyt dużej puli komórek efektorowych. Jest to ciekawe, ponieważ ostatnio zaproponowano również, że powtarzająca się ekspozycja myszki na p-fenylenodiaminę (silny alergen kontaktowy zawarty w farbach do włosów) prowadzi do rozwoju w czasie limfocytów Treg, które osłabiają odpowiedź.⁵⁶ W tym kontekście istotne są dwie ostatnie obserwacje. Pierwsza z nich to zdolność naskórkowych DC do aktywacji i regulacji limfocytów Treg rezydujących w skórze.⁵⁷ Zgodnie z drugą limfocyty Treg tworzą dużą migrującą populację, przemieszczającą się ze skóry do regionalnych węzłów chłonnych, gdzie odgrywają istotną rolę w przerywaniu skórnych odpowiedzi immunologicznych.⁵⁸ Te migrujące limfocyty Treg mogą hamować silne odpowiedzi z limfocytów T po powtarzanej ekspozycji na alergen chemiczny.

Implikacje i podsumowanie

Potrzebna jest dokładna regulacja nabytej odpowiedzi odpornościowej, a jednym z elementów służących do zapewnienia tak dokładnej kontroli są limfocyty Treg. Są one odpowiedzialne za utrzymywanie autotolerancji, a w przypadku ich nieobecności dochodzi do ciężkich układowych reakcji autoimmunologicznych. Dodatkowo odgrywają ważną rolę w sterowaniu odpowiedzią immunologiczną skierowaną przeciwko antygenom egzogennym i sprawiają, że te reakcje nie są nadmierne i uszkodzające. Dostępne dowody sugerują, że być może najważniejszego mechanizmu, przez który limfocyty Treg wpływają na poziom wrażliwości skóry, dochodzi przez interakcję z komórkami dendrytycznymi w drenujących węzłach chłonnych, co prowadzi do upośledzonej proliferacji oraz pobudzania komórek efektorowych.

Na podstawie dowodów sugeruje się, że limfocyty Treg charakteryzują się zdolnością do wpływania na rozwój wrażliwości skóry na różne, podsumowane poniżej, sposoby:

- Zróznicowana aktywność limfocytów Treg może przyczyniać się do międzysobicznych różnic w podatności na rozwój wrażliwości skóry. Dostępne są dowody, że może tak być w przypadku alergii na nikiel.¹³

- W przypadku silnych alergenów kontaktowych wpływ limfocytów Treg może polegać na hamowaniu odpowiedzi immunologicznej. Możliwe jednak, że w przypadku słabszych alergenów działanie limfocytów Treg może być wystarczające do ograniczenia pierwszych reakcji immunologicznych w takim zakresie, że nie dochodzi do rozwoju wrażliwości skórnej.⁴⁵ Możliwe również, że różnice między alergenami kontaktowymi w potencjale uwrażliwiającym mogą w pewnym zakresie być odbiciem zmiennej indukcji odpowiedzi z limfocytów Treg.

- Sugerowano, że limfocyty Treg mogą zmniejszać pobudzenie i proliferację limfocytów T po powtarzanej ekspozycji na ten sam alergen chemiczny i w ten sposób zapobiegać nadmiernej odpowiedzi immunologicznej.⁵⁴⁻⁵⁶

Być może bardziej szczegółowa ocena wpływu limfocytów Treg na wrażliwość skóry umożliwi rozwój nowych metod identyfikacji i charakteryzacji potencjalnych alergenów kontaktowych, jak również ulepszy matematyczne modelowanie odpowiedzi z limfocytów T, w wyniku której dochodzi do powstawania tego zjawiska.

© Copyright 2012 Wiley Periodicals, Inc. This translation of the article Immunoregulation of skin sensitization and regulatory T cells by Ian Kimber, Mark A. Travis, Stefan F. Martin, Rebecca J. Dearman from Contact Dermatitis, 67, 179-183 is reproduced with permission of John Wiley & Sons, Inc.

Piśmiennictwo

1. Watanabe H, Gaide O, Petrilli V et al. Activation of the IL-1beta-processing inflammasome is involved in contact hypersensitivity. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 1956-1963.
2. Martin S F, Dudda J C, Bachtanian E et al. Toll-like receptor and IL-12 signalling control susceptibility to contact hypersensitivity. *J Exp Med* 2008; 205: 2151-2162.
3. Antonopoulos C, Cumberbatch M, Mee J B, Dearman R J, Wie X Q, Liew F Y, Kimber I, Groves R W. IL-18 is a key proximal mediator of contact hypersensitivity and allergen-induced Langerhans cell migration in murine epidermis. *J Leukoc Biol* 2008; 83: 361-367.
4. Kimber I, Basketter D A, Gerberick G F, Ryan C A, Dearman R J. Chemical allergy: translating biology into hazard characterization. *Toxicol Sci* 2011; 120: S238-S268.
5. Igyarto B Z, Kaplan D H. The evolving function of Langerhans cells in adaptive skin immunity. *Immunol Cell Biol* 2010; 88: 361-365.
6. Martin S F, Esser P R, Weber F C, Jakob T, Freudenberg M A, Schmidt M, Goebeler M. Mechanisms of chemical-induced innate immunity in allergic contact dermatitis. *Allergy* 2011; 66: 1152-1163.
7. Kaplan D H, Igyarto B Z, Gaspari A A. Early immune events in the induction of allergic contact dermatitis. *Nat Rev Immunol* 2012; 12: 114-124.
8. Martin S F. Contact dermatitis: from pathomechanisms to immunotoxicology. *Exp Dermatol* 2012; 21: 382-389.
9. Wang B, Fujisawa H, Zhuang L et al. CD4+ Th1 and CD8+ type 1 cytotoxic T cells both play a crucial role in the full development of contact hypersensitivity. *J Immunol* 2000; 165: 6783-6790.
10. Girolomoni G, Sebastiani S, Albanesi C, Cavani A. T-cell subpopulations in the development of atopic and contact allergy. *Curr Opin Immunol* 2001; 13: 733-737.
11. Kimber I, Dearman R J. Allergic contact dermatitis: the cellular effectors. *Contact Dermatitis* 2002; 46: 1-5.
12. Grabbe S, Schwarz T. Immunoregulatory mechanisms involved in elicitation of allergic contact hypersensitivity. *Immunol Today* 1998; 19: 37-44.

13. Cavani A, Mei D, Guerra E, Corinti S, Giani M, Pirrotta M, Puddu P, Girolomoni G. Patients with allergic contact dermatitis to nickel and non-allergic individuals display different nickel-specific T cell responses. Evidence for the presence of effector CD8+ and regulatory CD4+ T cells. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 621-628.
14. Lopez C B, Kalergic A M, Becker M I, Garbarino J A, De Ioannes A E. CD8+ T cells are the effectors of the contact dermatitis induced by urushiol in mice and are regulated by CD4+ T cells. *Int Arch Allergy Immunol* 1998; 117: 194-129.
15. Cavani A, Nasorri F, Prezzi C, Sebastiani S, Albanesi C, Girolomoni G. Human CD4+ T lymphocytes with remarkable regulatory functions on dendritic cells and nickel-specific Th1 immune responses. *J Invest Dermatol* 2000; 114: 295-302.
16. Cavani A, Albanesi C, Traidl C, Sebastiani S, Girolomoni G. Effector and regulatory T cells in allergic contact dermatitis. *Trends Immunol* 2001; 22: 118-120.
17. Cavani A. T regulatory cells in contact hypersensitivity. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2008; 8: 294-298.
18. Vocanson M, Hennino A, Rozieres A, Poyet G, Nicolas J-F. Effector and regulatory mechanisms in allergic contact dermatitis. *Allergy* 2009; 64: 1699-1714.
19. Honda T, Miyachi Y, Kabashima K. Regulatory T cells in cutaneous immune responses. *J Dermatol Sci* 2011; 63: 75-82.
20. Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nat Immunol* 2005; 6: 345-352.
21. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda T. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cell expressing IL-2 receptor alpha chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995; 155: 1151-1164.
22. Brunkow M E, Jeffery EW, Hjerrild K A et al. Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurf, results in fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nat Genet* 2001; 27: 68-73.
23. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 2003; 299: 1057-1061.
24. Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell* 2008; 133: 775-787.
25. Zhou X, Bailey-Bucktrout S, Jeker L T, Bluestone J A. Plasticity of CD4+Foxp3+ T cells. *Curr Opin Immunol* 2009; 21: 281-285.
26. Bailey-Bucktrout S L, Bluestone J A. Regulatory T cells: stability revisited. *Trends Immunol* 2011; 32: 301-306.
27. Groux H, O'Garra A, Bigler M, Rouleau M, Antonenko S, de Vries J E, Roncarolo M G. ACD4+ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature* 1997; 389: 737-742.
28. Mills K H, McGuiirk P. Antigen-specific regulatory T cells - their induction and role in infection. *Semin Immunol* 2004; 16: 107-117.
29. Vieira P L, Christensen J R, Minaee S et al. IL1-secreting regulatory T cells do not express Foxp3 but have comparable regulatory function to naturally occurring CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Immunol* 2004; 172: 5986-5993.
30. Shevach E M. From vanilla to 28 flavours: multiple varieties of T regulatory cells. *Immunity* 2006; 25: 195-201.
31. Vignali D. How many mechanisms do regulatory T cells need. *Eur J Immunol* 2008; 38: 908-911.
32. Vignali D A A, Collison LW, Workman C J. How regulatory T cells work. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 523-532.
33. Corthay A. How do regulatory T cells work. *Scand J Immunol* 2009; 70: 326-336.
34. Li L, Boussiotis A A. Molecular and functional heterogeneity of T regulatory cells. *Clin Immunol* 2011; 141: 244-252.
35. Loser K, Beissert S. Regulatory T cells: banned for decades. *J Invest Dermatol* 2012; 132: 864-871.
36. Hawrylowicz C M, O'Garra A. Potential role of interleukin-10-secreting regulatory T cells in allergy and asthma. *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 271-283.
37. Green E A, Gorelik L, McGregor C M, Tran E H, Flavell R A. CD4+CD25+ T regulatory cells control anti-islet CD8+ T cells through TGF- β -TGF- β receptor interactions in type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 10878-10883.
38. Collison LW, Workman C J, Kuo T T et al. The inhibitory cytokine contributes to regulatory T-cell function. *Nature* 2007; 450: 566-569.
39. Zhao D M, Thornton A M, DiPaolo R J, Shevach E M. Activated CD4+CD25+ T cells selectively kill B lymphocytes. *Blood* 2006; 107: 3925-3932.
40. Ren X, Ye F, Jiang Z, Chu Y, Xiong S, Wang Y. Involvement of cellular death in TRAIL/DR5-dependent suppression induced by CD4(+)CD25(+) regulatory T cells. *Cell Death Differ* 2007; 14: 2076-2084.
41. Borsellino G, Kleinewietfeld M, Di Mitri D et al. Expression of ectonucleotidase CD39 by Foxp3+ Treg cells: hydrolysis of extracellular ATP and immune suppression. *Blood* 2007; 110: 1225-1232.
42. 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: 287-296.
43. Tadokoro C E, Shakhar G, Shen S, Ding Y, Lino A C, Maraver A, Lafaille J J, Dustin M L. Regulatory T cells inhibit stable contacts between CD4+ T cells and dendritic cells in vivo. *J Exp Med* 2006; 203: 505-511.
44. Tang Q, Adams J Y, Tooley A J et al. Visualizing regulatory T cell control of autoimmune responses in nonobese diabetic mice. *Nat Immunol* 2006; 7: 83-92.
45. Vocanson M, Hennino A, Cluzel-Tailhardat M et al. CD8+ T cells are effector cells of contact dermatitis to common skin allergens in mice. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 815-820.
46. Vocanson M, Hennino A, Rozierea A et al. Skin exposure to weak and moderate contact allergens induces IFN- γ production by lymph node cells of CD4 T-cell-depleted mice. *J Invest Dermatol* 2009; 129: 1185-1191.
47. Lass C, Vocanson M, Wagner S, Nicolas J-F, Merfort I, Martin S F. Anti-inflammatory and immune-regulatory mechanisms prevent contact hypersensitivity to Arnica Montana. *Exp Dermatol* 2008; 17: 849-857.
48. Vocanson M, Rozieres A, Hennino A et al. Inducible costimulator (ICOS) is a marker for highly suppressive antigen-specific T cells sharing features of TH17/TH1 and regulatory T cells. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 126: 280-289.
49. Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P, Yamaguchi T, Miyara M, Fehervari Z, Nomura T, Sakaguchi S. CTLA-4 control over Foxp3+ regulatory T cell function. *Science* 2008; 322: 271-275.
50. Honda T, Otsuka A, Tanizaki H et al. Enhanced murine contact hypersensitivity by depletion of endogenous regulatory T cells in the sensitization phase. *J Dermatol Sci* 2011; 61: 144-147.
51. Onishi Y, Fehervari Z, Yamaguchi T, Sakaguchi S. Foxp3+ natural regulatory T cells preferentially form aggregates on dendritic cells in vitro and actively inhibit their maturation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 10113-10118.
52. Kastenmuller W, Gasteiger G, Subramanian N, Sparwasser T, Busch D H, Belkaid Y, Drexler I, Germain R N. Regulatory T cells selectively control CD8+ effector cell pool size via IL-2 restriction. *J Immunol* 2011; 187: 3186-3197.
53. Ring S, Karakhanova S, Johnson T, Enk A H, Mahnke K. Gap junctions between regulatory T cells and dendritic cells prevent sensitization of CD8(+) T cells. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125: 237-246.
54. Kimber I, Shepherd C J, Mitchell J A, Turk J L, Baker D. Regulation of lymphocyte proliferation in contact sensitivity: homeostatic mechanisms and a possible explanation of antigenic competition. *Immunology* 1989; 66: 577-582.
55. Kimber I, Foster J R, Baker D, Turk J L. Selective impairment of T lymphocyte activation following contact sensitization with oxazolone. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1991; 95: 142-148.
56. Rubin I M C, Dabelsteen S, Nielsen M M, White I R, Jihansen J D, Geisler C, Bonfeld C M. Repeated exposure to hair dye induces regulatory T cells in mice. *Br J Dermatol* 2010; 163: 992-998.
57. Seneschal J, Clark R A, Gehad A, Baecher-Allan C M, Kupper T S. Human epidermal Langerhans cells maintain immune homeostasis in skin by activating skin resident regulatory T cells. *Immunity* 2012; 36: 1-12.
58. Tomura M, Honda T, Tanizaki H et al. Activated regulatory T cells are the major T cell type emigrating from the skin during a cutaneous immune response in mice. *J Clin Invest* 2010; 120: 883-893.

KOMENTARZ



**Prof. dr hab. n. med.
Joanna Narbutt**

Katedra i Klinika Dermatologii
i Wenerologii UM w Łodzi

➤ Mimo prowadzonych badań laboratoryjnych wciąż niepoznanych jest wiele zjawisk molekularnych zaangażowanych w rozwój alergicznego kontaktowego zapalenia skóry. W ostatnich latach wiele publikacji naukowych poświęcono nowo poznanej subpopulacji limfocytów T, tj. limfocytom T regulatorowym (Treg). Coraz większą rolę przypisuje się również interakcjom między pierwotną a nabytą odpowiedzią immunologiczną. W świetle uzyskiwanej wiedzy wydaje się, że zawsze na pewnym etapie

dochodzi do określonych zależności między tymi szlakami immunologicznymi, co czyni patogenezę wielu chorób coraz bardziej złożoną. Komentowany artykuł Kimbera i wsp. przedstawia zagadnienia immunologiczne w sposób czytelny i nowoczesny. Autorzy starają się na każdym etapie swojej pracy przedstawić wzajemne zależności między elementami komórkowymi i humoralnymi odpowiedzi immunologicznej, ze szczególnym zwróceniem uwagi na limfocyty T, komórki Langerhansa, skórne komórki dendrytyczne. Prawidłowo działający układ immunologiczny jest podstawą utrzymania dobrostanu organizmu, stąd też ważne jest występowanie mechanizmów regulacyjnych, do których bez wątpienia należą limfocyty regulatorowe.

Pojęcie limfocytów T regulatorowych jest stosunkowo nowe w immunologii. Jest to heterogenna populacja limfocytów T, wyposażonych w różnorodne markery powierzchniowe, która charakteryzuje

się możliwością ograniczenia nadmiernej aktywacji układu immunologicznego oraz ma zdolność hamowania rozwoju autoimmunizacji. Do najlepiej opisanych subpopulacji limfocytów Treg należą komórki Tr1, CD4⁺CD25⁺, Th3. Mniej poznane są komórki NKT regulatorowe, CD8⁻CD28⁻ oraz CD8⁺. Komórki Tr1 i CD4⁺CD25⁺ są zdolne do supresji odpowiedzi antygenowo swoistej, a przez to do hamowania nadmiernej patologicznej reakcji immunologicznej. Dodatkowo CD4⁺CD25⁺ mogą wywoływać zjawisko anergii. Natomiast komórki Th3 działają supresyjnie głównie przez wydzielanie czynnika TGFβ, co ma szczególne znaczenie w ograniczaniu odpowiedzi autoimmunologicznej. Limfocyty Treg mają duże znaczenie w odpowiedzi przeciwirusowej, przeciwbakteryjnej oraz przeciw pasożytniczej. Ciekawa jest również zdolność limfocytów CD4⁺CD25⁺ do hamowania aktywności komórek dendrytycznych. W ten sposób zapobiegają proliferacji limfocytów T efektorowych, w konsekwencji prowadzą do ich apoptozy i rozwoju tolerancji immunologicznej. Prowadzono badania nad udziałem limfocytów Treg w patogenezie zapalnych chorób skóry. Obserwacje te wciąż jednak nie są zbyt liczne, ograniczały się głównie do określenia liczby poszczególnych subpopulacji w zmianach chorobowych, jak też we krwi obwodowej. Stąd przedstawiona w komentowanym artykule całościowa koncepcja udziału Treg w rozwoju kontaktowego zapalenia skóry jest niezwykle cenna, wartościowa i częściowo uzupełnia brakującą wiedzę. Udział Treg dyskutowany jest też w patomechanizmie innych chorób. W łuszczycy wykazano dysfunkcję komórek Treg. Zarówno we krwi obwodowej, jak i w tarczach łuszczycowych stwierdzono co prawda liczną subpopulację limfocytów CD4⁺CD25⁺, cechujących się dodatkowo ekspresją cząsteczki kostymulacyjnej CTLA4, jednak komórki te pozbawione są funkcji regulatorowych. Przeprowadzono także badania eksperymentalne dotyczące występowania limfocytów T regulatorowych w skórze u chorych na AZS. W badaniach immunohistochemicznych wykazano ekspresję subpopulacji limfocytów Tr1, a także wydzielanych przez nie cytokin wykazujących działanie supresyjne, tj.: IL-10 i TGFβ oraz ich receptorów. Nie stwierdzono natomiast obecności limfocytów T CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺. Wykazano również istotną dysregulację między populacją lim-

focytów T efektorowych wywołujących stan zapalny a limfocytami regulatorowymi T CD4⁺CD25⁺FoxP3 i Tr1. We krwi obwodowej chorych na AZS wykazano nadmierną liczbę krążących limfocytów Treg CD4⁺CD25⁺, a także zmniejszone wydzielanie przez nie IL-10. Wiadomo również, że superantygeny bakteryjne są zdolne do hamowania aktywności limfocytów T CD4⁺CD25⁺ i ich zdolności do supresji limfocytów T efektorowych, jednak mechanizm tego zjawiska nie został w pełni poznany. Wydaje się, że może ono zachodzić na drodze zwiększenia ekspresji cząsteczki GITR-L (glucocorticoid-induced TNF receptor-related protein ligand) na monocytach. Te badania według części autorów rzucają nowe światło na patogenezę AZS, wyjaśniając mechanizm, przez który zakażenia gronkowcowe wzmacniają odpowiedź ze strony limfocytów T u chorych na AZS. W kolejnych badaniach obserwowano zwiększoną liczbę komórek CD25⁺/FOXP3⁺ tylko w zmianach skórnych typu przewlekłego w przebiegu AZS, inni zaś wykazali zwiększoną liczbę limfocytów Treg CD4⁺/CD25⁺/FOXP3⁺ zarówno w ostrych zmianach zapalnych, jak i zmianach przewlekłych. Autorzy ci nie stwierdzili natomiast zwiększonej liczby tej subpopulacji limfocytów T we krwi obwodowej. Uzyskane dotychczas wyniki są niejednoznaczne i wskazują na konieczność kontynuowania badań.

W komentowanym artykule autorzy omówili wszystkie subpopulacje Treg, przypomnieli też, co jest niezwykle ważne ze względu na patomechanizm wielu chorób, że limfocyty pomocnicze Th2CD4⁺ same mogą przejmować rolę regulatorową i hamować powstawanie subpopulacji limfocytów CD8⁺ bądź Th1CD4⁺. Działanie supresorowe Treg jest w dużym stopniu wynikiem wydzielania przez nie IL-10, cytokiny o silnych właściwościach immunosupresyjnych, stąd w ostatnich latach coraz więcej badań dotyczy tego białka, szczególnie w odniesieniu do rozwoju procesu autoimmunizacji oraz nowotworzenia. W świetle przedstawionych wyników można więc stwierdzić, że wciąż mamy zbyt mało informacji na temat Treg i ich udziału w rozwoju zapalnych chorób skóry, jednak bez wątpienia lepsze poznanie ich mechanizmów regulacyjnych zaowocuje nowszymi, być może skuteczniejszymi metodami leczenia i prewencji rozwoju stanu zapalnego.