

Received: 2014.03.02
Accepted: 2015.03.24
Published: 2015.04.28

Rola białka PD-1 w patogenezie chorób autoimmunizacyjnych, ze szczególnym uwzględnieniem reumatoidalnego zapalenia stawów oraz toczenia rumieniowatego układowego

The role of the PD-1 protein in pathogenesis of autoimmune diseases, with particular consideration of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus

Anna Siwiec, Maria Majdan

Katedra i Klinika Reumatologii i Układowych Chorób Tkanki Łącznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Streszczenie

Polimorfizm genu *PDCD1* białka PD-1 (the programmed cell death 1, kodowane przez *PDCD1*) jest istotnie powiązany z częstszym występowaniem chorób autoimmunizacyjnych, takich jak reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) oraz toczeń rumieniowaty układowy (TRU), co może wskazywać na udział białka PD-1 w ich patogenezie. Zidentyfikowano ponad 30 polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP) dla ludzkiego genu *PDCD1*. W niektórych grupach etnicznych wykazano związek między występowaniem SNP w genie *PDCD1* a większym ryzykiem rozwoju chorób autoimmunizacyjnych. RZS i TRU to przewlekłe układowe choroby tkanki łącznej o podłożu autoimmunizacyjnym. RZS jest postacią przewlekłego, postępującego zapalenia stawów stosunkowo często występującą u dorosłych. TRU charakteryzuje przewlekły proces zapalny w wielu tkankach i narządach, prowadzący do rozwoju wielobjawowego zespołu chorobowego. Patogeneza chorób autoimmunizacyjnych nie została jeszcze dokładnie poznana. Przeważa pogląd, że czynniki genetyczne, zaburzenia immunologiczne oraz czynniki środowiskowe odgrywają decydującą rolę w ich powstawaniu. W TRU za rozwój choroby odpowiadają złożone zaburzenia układu odpornościowego, a w RZS aktywowane limfocyty T wytwarzają cytokiny, interleukinę 2 (IL-2) i interferon- γ (IFN- γ), które pobudzają makrofagi i monocyty. Główna rola PD-1 polega na hamowaniu proliferacji limfocytów T i wytwarzaniu IL-2, IL-10 oraz IFN- γ , a także na hamowaniu aktywacji autoreaktywnych limfocytów. Ze względu na szeroki zakres dystrybucji ligandów PD-1 w organizmie, biologiczne znaczenie białka odnosi się niemal do wszystkich aspektów odpowiedzi immunologicznej, włączając autoimmunologię, immunologię guzów, zapaleń, transplantacji i alergii. Obecnie można zaobserwować wzrost zainteresowania znaczeniem białka PD-1 w utrzymaniu równowagi immunologicznej oraz jego rolą w rozwoju chorób autoimmunizacyjnych.

W pracy podsumowano wybrane, dostępne w piśmiennictwie wyniki badań nad PD-1 przeprowadzone u chorych na RZS oraz na TRU.

Słowa kluczowe:

białko PD-1 • choroby autoimmunizacyjne • toczeń rumieniowaty układowy • reumatoidalne zapalenie stawów • patogeneza • genetyka • polimorfizm • immunologia



Summary

Polymorphism of the *PDCD1* gene for the PD-1 protein (programmed cell death 1, encoded by *PDCD1*) is significantly associated with higher incidence of autoimmune diseases, such as rheumatoid arthritis (RA) and systemic lupus erythematosus (SLE), which may suggest the participation of PD-1 in the pathogenesis of these diseases. Over 30 single nucleotide polymorphisms (SNPs) have been identified in the human *PDCD1* gene. SNPs in the *PDCD1* gene in humans have demonstrated relevant associations with a higher risk of developing autoimmune diseases in certain ethnic groups. RA and SLE are chronic connective tissue diseases with autoimmune background. RA is a common form of chronic, progressive arthritis in adults. SLE is characterized by chronic inflammation in most of the body's tissues and organs, leading to a complex clinical syndrome. The pathogenesis of the autoimmune diseases is not well examined. However, genetic factors, immunological disorders and environmental factors are believed to play a decisive role in the occurrence of the illnesses. Complex immune system disorders are responsible for the development of SLE. In RA activated T cells produce cytokines such as interleukin 2 (IL-2) and interferon γ (IFN- γ) that stimulate macrophages and monocytes. The main role of PD-1 is inhibition of T-cell proliferation, inhibition of production of IL-2, interleukin 10 (IL-10) and IFN- γ , and inhibition of activation of autoreactive lymphocytes. Because of the wide range of ligand distribution in the body, the biological significance of protein refers to almost all aspects of the immune response, including autoimmunology, tumour immunology, inflammation, transplantation, and allergy. Currently, there is increasing interest in the importance of PD-1 in the maintenance of immunological balance and its role in the development of autoimmune diseases. We summarize the PD-1 research in patients with RA and SLE in recent years.

Key words:

PD-1 protein • autoimmune diseases • systemic lupus erythematosus • rheumatoid arthritis • pathogenesis • genetics • polymorphism • immunology

Full-text PDF:

<http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1150784>

Word count:

2510

Tables:

2

Figures:

1

References:

48

Adres autorki:

lek. Anna Siwec, Katedra i Klinika Reumatologii i Układowych Chorób Tkanki Łącznej, Uniwersytet Medyczny Lublin, ul. Jaczewskiego 8, 20-954 Lublin; e-mail: ankas2@op.pl

WSTĘP

Choroby autoimmunizacyjne to przewlekłe schorzenia stosunkowo często obserwowane w populacji ogólnej - około 4-7% [41,18]. Występują częściej u kobiet i osób starszych. Obejmują szeroką grupę chorób zarówno swoistych narządowo (autoimmunologiczne zapalenie tarczycy typu Hashimoto, choroba Gravesa-Basedowa, Addisona, zanikowe zapalenie żołądka, cukrzyca typu 1, stwardnienie rozsiane, choroba trzewna) oraz rzadziej występujących narządowo nieswoistych: toczeń rumieniowaty układowy (TRU), reumatoidalne zapalenie stawów (RZS), twardzina układowa, zapalenie skórno-mięśniowe, mieszana choroba tkanki łącznej, zespół Sjögrena.

Mechanizmy powstawania oraz rozwoju chorób autoimmunizacyjnych są częściowo poznane. Predyspozycje ge-

netyczne, czynniki immunologiczne, środowiskowe, hormonalne mogą odgrywać dużą rolę w patogenezie chorób autoimmunizacyjnych. Podejmowane są próby ich definiowania jako zespołów klinicznych wywołanych aktywacją limfocytów T i/lub B; przy czym należy wykluczyć tło infekcyjne. Uważa się, że zaburzenia aktywacji limfocytów inicjują załamanie tolerancji układu immunologicznego, co powoduje rozwój chorób autoimmunizacyjnych. Wydaje się, że aktywacja limfocytów T jest podstawowym etapem w patogenezie chorób autoimmunizacyjnych.

TOCZEŃ RUMIENIOWATY UKŁADOWY

Toczeń rumieniowaty układowy jest przewlekłą chorobą autoimmunizacyjną, charakteryzującą się zajęciem wielu narządów i obecnością w surowicy autoprzeciwciał. Choroba przebiega z okresami remisji i zaostrzeń, prowadząc

do zwiększonej chorobowości oraz śmiertelności. Szczyt zachorowań występuje w wieku 16–55 lat. Kobiety chorują 6-10-krotnie częściej niż mężczyźni. Początek TRU może być skąpoobjawowy, z dominującą przewagą objawów ogólnych. W późniejszym okresie choroba charakteryzuje się różnorodnością objawów klinicznych.

Przyczyny TRU wciąż nie są w pełni wyjaśnione. W mechanizmach powstawania choroby brane są pod uwagę czynniki genetyczne i środowiskowe, które mogą być odpowiedzialne za złożone zjawiska immunologiczne [1]. Również czynniki hormonalne mogą odgrywać rolę w etiologii TRU; zachorowania częściej odnotowywane są u kobiet w wieku rozrodczym.

Na skutek osłabienia supresyjnej funkcji limfocytów T oraz utraty tolerancji na własne antygeny, dochodzi do wytwarzania autoprzeciwciał, tworzących kompleksy immunologiczne odkładające się w różnych narządach i wywołujących reakcję zapalną.

Patogeneza TRU łączy w sobie nieprawidłowe mechanizmy odpowiedzi wrodzonej i nabytej. Elementy odpowiedzi immunologicznej, w tym mechanizmy komórkowe i humoralne, współdziałają ze sobą przy zaburzonych mechanizmach hamujących. Istotną rolę w przełamaniu tolerancji immunologicznej (tolerance bypass) odgrywają genetycznie uwarunkowane niedobory białek układu odpornościowego, niedostateczna sprawność usuwania z ustroju antygenów oraz reakcje krzyżowe przeciwciał z autoantygenami.

Znane jest zjawisko nadreaktywności limfocytów B z następowym nadmiernym poliklonalnym wytwarzaniem autoprzeciwciał o dużej swoistości. Prawdopodobnie wzrost syntezy immunoglobulin G (IgG) u chorych z TRU może być wynikiem zaburzonej odpowiedzi nieprawidłowo funkcjonujących limfocytów B na skutek interakcji z pomocniczymi limfocytami T (T helper, Th).

Występujące na powierzchni aktywowanych limfocytów B, immunoreceptory kostymulacji (białka sygnału dodatkowego): CD80 i CD86 (cluster of differentiation 80, B7-1 i cluster of differentiation 86, B7-2) wiążą się z receptorami CD28 (cluster of differentiation 28) na limfocytach T. CD80 preferencyjnie stymuluje limfocyty pomocnicze Th1 (wytwarzające IL-2 i interferon), natomiast CD86 limfocyty Th2 (wytwarzające IL-4 i IL-10) [23]. Na limfocytach B chorych na TRU wykazano wzmożoną ekspresję CD86 nie tylko w okresie aktywności choroby, ale także w okresie remisji [5]. Wynik ten w powiązaniu z wykryciem wysokich stężeń IL-10 w surowicach chorych korelujących z aktywnością choroby wskazuje na szczególne znaczenie interakcji limfocytów B i Th2 w patogenezie TRU i przesunięciem równowagi stosunku limfocytów Th1:Th2 w kierunku Th2 [34].

W ostatnich latach zwraca się uwagę na rolę angiogenezy i waskulogenezy oraz ich zaburzeń w patogenezie TRU. Uszkodzenie naczyń ujawnia się klinicznie obecnością objawów skórnych, nerkowych, sercowo-naczyniowych,

mózgowo-naczyniowych oraz żołądkowo-jelitowych. W surowicy krwi chorych na TRU, oprócz typowych markerowych przeciwciał przeciwjadrowych, można stwierdzić również obecność wielu różnych innych autoprzeciwciał np. antyfosfolipidowych, przeciwko białku ostrej fazy - CRP oraz przeciwko komórkom śródbłonna naczyniowego (AECA – antiendothelial cell antibodies).

REUMATOIDALNE ZAPALENIE STAWÓW

RZS jest przewlekłą chorobą tkanki łącznej o podłożu autoimmunizacyjnym. Charakteryzuje się występowaniem: nieswoistego zapalenia symetrycznych stawów, zmian pozastawowych oraz powikłań układowych. Wraz z postępem choroby dochodzi do nieodwracalnej destrukcji w obrębie stawów oraz znacznego ograniczenia funkcji narządu ruchu, co prowadzi do niepełnosprawności i inwalidztwa. Przewidywana długość życia jest istotnie skrócona. Częstość występowania RZS w różnych populacjach wynosi 0,2-5,3%. Choroba może wystąpić w różnym wieku, jednak najczęściej pojawia się w czwartej i piątej dekadzie życia. Kobiety chorują trzy razy częściej na RZS niż mężczyźni. Głównym objawem choroby jest ból, obrzęk oraz sztywność poranna symetrycznych stawów rąk i stóp. Najczęściej jako pierwsze procesem zapalnym zajęte są stawy: międzypaliczkowe bliższe, śródreczno-paliczkowe oraz śródstopno-paliczkowe. W późniejszym okresie choroby może dojść do zajęcia wszystkich stawów obwodowych, w tym także dużych stawów: biodrowych, barkowych, łokciowych oraz szyjnego odcinka kręgosłupa.

Etiologia RZS nie jest w pełni poznana; przeważa pogląd, że czynniki genetyczne, zaburzenia immunologiczne oraz czynniki środowiskowe odgrywają decydującą rolę w powstawaniu tej choroby. Uważa się, że również czynniki hormonalne, palenie papierosów oraz stres mogą wpływać na rozwój choroby. Udział czynników genetycznych jest ściśle powiązany z rozwojem RZS - głównie obecność DRB1. U krewnych pierwszego stopnia chorych na RZS występuje cztery razy większe ryzyko zachorowania na RZS niż populacja ogólna.

Początek RZS prawdopodobnie jest związany z odpowiedzią immunologiczną limfocytów T na antygen egzogeny lub autoantygen u osoby genetycznie predysponowanej. Nadmierna reaktywność limfocytów T klinicznie jest ujawniana przez uogólnione powiększenie węzłów chłonnych. W błonie maziowej dochodzi do powstania nacieku zapalnego z limfocytów T CD4⁺, limfocytów B oraz plazmacytów, natomiast w płynie stawowym są obecne cytokiny prozapalne. Aktywowane limfocyty T występują także w krwi obwodowej, przechodzą ekspansję klonalną, są hamowane przez proces apoptozy. Aktywowane limfocyty T wytwarzają cytokiny IL-2, IFN- γ , które pobudzają makrofagi i monocyty. Główną rolę w patomechanizmie RZS odgrywa czynnik martwicy guza (TNF- α , tumor necrosis factor) oraz interleukina 1 β (IL-1 β). Pod wpływem cytokin i czynników wzrostu uwalnianych przez aktywowane monocyty i makrofagi, dochodzi do pobudzenia fibroblastów i komórek śródbłonna, a następnie do angiogenezy i aktywacji osteoklastów. Cytokiny prozapalne oddziałują na metabolizm



Tabela 1. Zestawienie informacji dla wybranych SNP dla genu białka PD-1

Piśmiennictwo	Nazwa zwozycajowa ¹	Zmiana nukleotydów	Referencje SNP ID	Pozycja	Rodzaj mutacji	Znaczenie kliniczne
[22]	PD-1.1	G/A	rs36084323	242801596 (-538-126 w promotorze)	w promotorze	RZS
[36,37]	PD-1.3	G/A	rs11568821	242793912 (7147)	w intronie (4)	TRU,RZS
[26]	PD-1.5	C/T	rs2227981	242793273 (7786)	synonimiczna (ekson 5)	RZS
[48], [29]	PD-1 7209	C/T	rs41386349	242793849 (7610)	w intronie (4)	TRU
[25]	PD-1.9	C/T	rs2227982	242793433 (7626)	missensowna (ekson 5, Ala/Val)	SpA

G - guanina, A- adenina, C- cytozyna, T- tymina, Ala- alanina, Val- walina, SpA- spondyloartropatie zapalne,

¹ Nomenklatura PD-1 wprowadzona przez Prokuninę i wsp.

tkanki kostnej i chrzęstnej; pobudzają synowioocyty do wydzielania kolagenazy czy elastazy.

AKTYWACJA LIMFOCYTÓW T-SYGNAŁ PIERWOTNY I WΤÓRNY

Początek odpowiedzi immunologicznej odnosi się do interakcji między komórką prezentującą antygen (makrofag, limfocyt B i komórka dendrytyczna) a limfocytom CD4⁺ za pośrednictwem związanych z błoną komórkową białek kodowanych przez geny głównego kompleksu zgodności tkanekowej (MHC, HLA). Częściczk HLA kontrolują liczbę autoreaktywnych komórek T docierających na obwód, różnicując w procesie delekcji klonalnej tymocyty wędrujące między korą i rdzeniem grasicy. Sygnał pierwotny odnosi się tylko do oddziaływania typu HLA/antygen/TCR (receptor komórek T, T cell receptor), co może skutkować m.in. tym, że komórki T nie wydzielają IL-2 i IFN-γ, osiągają stan anergii i nie odpowiadają na bodźce różnicujące. Sygnał pierwotny jest niewystarczający do proliferacji limfocytów T.

Do prawidłowej aktywacji limfocytów T nie tylko niezbędne jest związanie obcego peptydu przez układ HLA/TCR, ale również udział kostymulatorów odpowiadających za powstanie dodatkowego, wtórnego sygnału do aktywacji. Sygnał dodatkowy przyczynia się do wzmoczonego wydzielania cytokin, m.in.: IL-2 (prolifercja limfocytów T), IL-10 (różnicowaniu komórek B), czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF), TNF-α, IFN-γ. Ponadto wtórny sygnał indukuje ekspresję białka bcl-x_L (B-cell lymphoma-extra large), które zapobiega apoptozie i wpływa na przeżywalność komórek. W aktywacji limfocytów T biorą udział również inne cytokiny: IL-1 i IFN-α wytwarzane przez komórki prezentujące antygen. Skutkiem oddziaływania cząsteczek kostymulujących, otoczonych wieńcem białek adhezyjnych, określanym mianem synapsy immunologicznej, jest utrwalenie kontaktu z receptorem TCR i umożliwienie transmisji sygnału [13].

Najlepiej poznane układy biorące udział w przekazywaniu sygnału kostymulującego to: B7 i CD28/CTLA4 (cytotoxic T-cell antygen 4)/ICOS (inducible co-stimulator). Dotychczas uważano, że jedną z najważniejszych cząsteczek kostymulujących w błonie limfocytów T jest CD28. Jednak u myszy typu knock out pozbawionych CD28 stwierdzono obecność odpowiedzi na antygen, co może przemawiać za występowaniem innych sygnałów biorących udział w aktywacji limfocytów T. Sugeruje się, że białko PD-1 reguluje odpowiedź immunologiczną w szerszym zakresie, w porównaniu z innymi członkami rodziny CD28.

BIAŁKO PD-1

Jedną z cząsteczek biorących udział w kostymulacji jest białko PD-1.

Gen *PDCD1* znajduje się na długim ramieniu chromosomu 2q37 [10,39] i koduje białko PD-1, które nie wiąże ligandów B7. Zidentyfikowano ponad 30 polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP) dla ludzkiego genu PD-1. Polimorfizm genu PD-1 jest znacząco powiązany z częstszym występowaniem chorób autoimmunizacyjnych, co może sugerować udział białka PD-1 w patogenezie tych chorób [9]. Nadal trwają badania w wielu ośrodkach nad ustaleniem genów odpowiadających za kodowanie cząsteczek uczestniczących w aktywacji limfocytów. Ustalenie predyspozycji genetycznej do ekspresji patologicznego fenotypu może być przydatne w terapii chorób autoimmunizacyjnych.

Białko PD-1 należy do nadrodziny immunoreceptorów CD28/CTLA4. Jest to białko o masie cząsteczkowej 50-55 kDa, należy do białek przezbłonowych typu I, zawiera pozakomórkowe domeny IgC i IgV (mającą 21-33% wspólnych sekwencji z CTLA-4, CD28, ICOS). W części cytoplazmatycznej łańcucha PD-1 zawiera motyw ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif) - element charakterystyczny dla receptorów związanych z hamowaniem przekazywania

Tabela 2. Znaczenie kliniczne białka PD-1 w toczeniu rumieniowatym układowym

Piśmiennictwo	PD-1	Choroba
[31]	Brak PD-1 u myszy szczepu C57BL/6	Glomerulopatia toczniowa, postępujące zapalenie stawów
[36]	PD-1.3	TRU u Europejczyków i Meksykan
[4]	PD-1.3	TRU
[7]	Podanie PD-L1 <i>i.v.</i> myszom z TRU	Częściowe zahamowanie rozwoju postaci nerkowej TRU: <ul style="list-style-type: none"> • rzadsza proteinuria, • redukcja anty-dsDNA IgG w surowicy, • mniej zmian patologicznych w biopsji nerek Zwiększona ekspresja PD-L1 na komórkach śródbłonka kanalików nerkowych proksymalnych
[20]	Podanie przeciwciał anti-PD-L1 myszom NZB/W F1 Podanie anti-PD-1	Zaostrzenie toczniowego zapalenia nerek (hiperaktywacja limfocytów T) Poprawa toczniowego zapalenia nerek

anty-dsDNA: przeciwciała przeciw dwuniciowemu DNA (anti-double-stranded DNA)

sygnału, a także motyw ITSM (immunoreceptor tyrosine-based switch motif) [11,16,27,32,40]. Białko PD-1 ma monomeryczną budowę, w jego strukturze nie występują mostki dwusiarczkowe [2]. PD-1 przeważnie występuje w znacznych ilościach na powierzchni komórek hemopoetycznych. Ekspresja PD-1 jest silnie indukowana na powierzchni aktywowanych limfocytów T i B na obwodzie oraz w tymocytach podlegających B-selekcji. PD-1 wiążąc się ze swoimi ligandami PDL-L1 lub PD-L2, hamuje TCR-zależną proliferację limfocytów przez hamowanie cyklu komórkowego, a nie w wyniku apoptozy [35] oraz wytwarzanie cytokin przez aktywowane wcześniej limfocyty [15,3,19]. Działanie białka PD-1 jest w wielu aspektach podobne do działania CTLA-4 powodującego redukcję poziomu aktywacji limfocytów T. Główna rola PD-1 polega na hamowaniu proliferacji limfocytów T i hamowaniu wytwarzania: IL-2, IL-10, IFN- γ , a także na hamowaniu aktywacji autoreaktywnych limfocytów [24,44]. Ze względu na szeroki zakres dystrybucji ligandów w organizmie, biologiczne znaczenie białka odnosi się prawie do wszystkich aspektów odpowiedzi immunologicznej włączając: autoimmunologię oraz immunologię guzów, zapaleń, transplantacji i alergii [33].

PD-1 a TRU

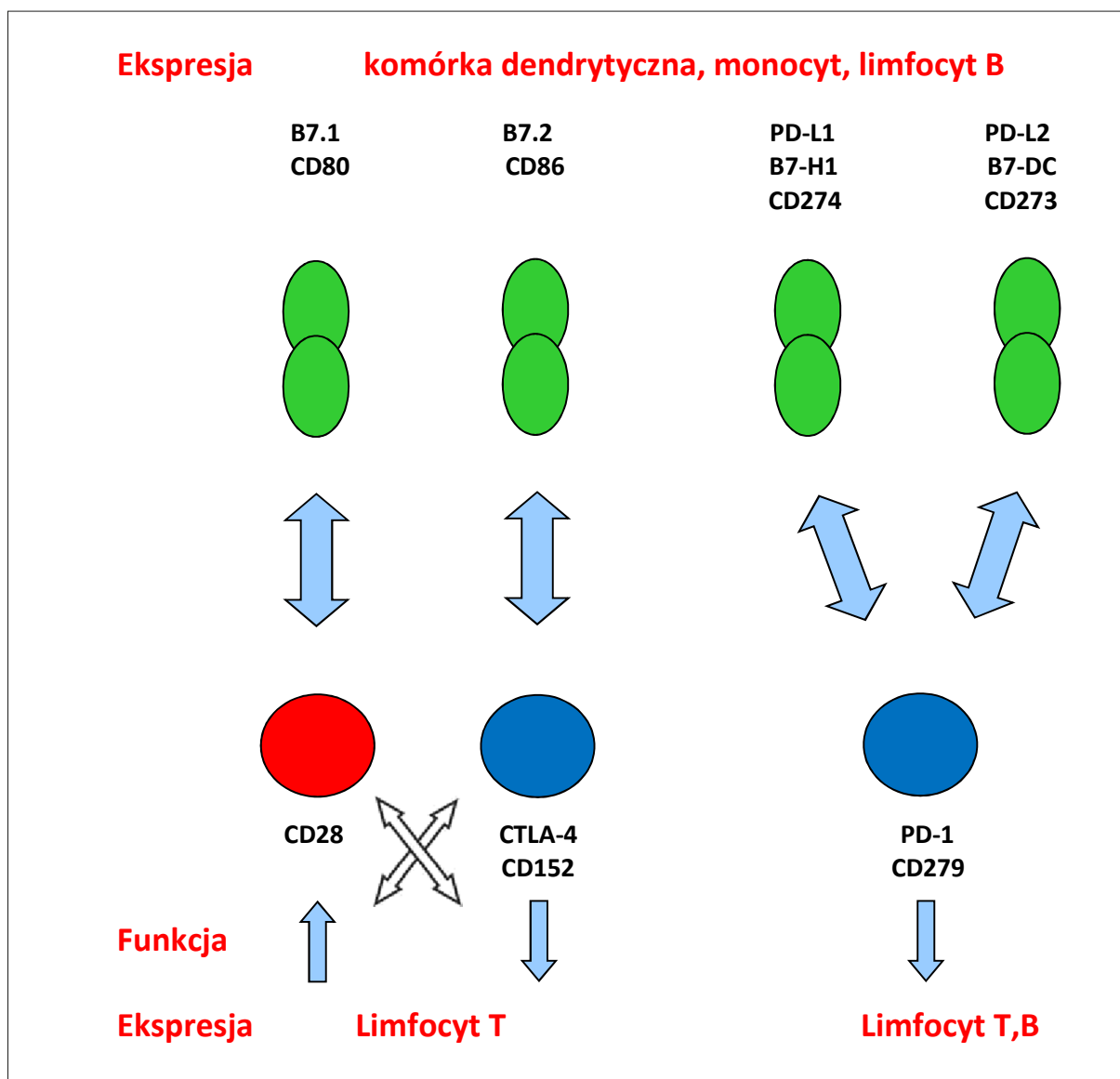
Białko PD-1 zostało po raz pierwszy wyizolowane przez Ishida i Honjo w 1992 r. [16]. Nishimura i wsp. zaobserwowali, że brak PD-1 u myszy szczepu C57BL/6 wywołał rozwój glomerulopatii toczniowej, a także postępujące zapalenie stawów [16,31]. Wzrosło zainteresowanie znaczeniem białka PD-1 w utrzymaniu równowagi immunologicznej oraz jego rolę w rozwoju chorób autoimmunizacyjnych. W wielu pracach opisano badanie polimorfizmu genu PD-1 w celu wyjaśnienia patogenezę chorób autoimmunizacyjnych, takich jak: RZS, TRU, nefropatia toczniowa, cukrzyca typu 1, zapalenia naczyń, spondyloartropatie zapalne oraz stwardnienie rozsiane (postać progresywna) [30]. Prokunińska pierwszy raz opisała związek między występowaniem

SNP w pozycji PD-1.3 na intronie 4 (rs 11568821, G/A) dla genu PD-1 a rozwojem TRU wśród Europejczyków i Meksykan, lecz nie zaobserwowała tej zależności u Afroamerykanów. Uważała, że allel A w pozycji PD-1.3 zakłóca wiązanie czynnika transkrypcyjnego RUNX-1 (runt-related transcription factor 1) z enhancerem, co zaburza ekspresję genu [36]. W populacji hiszpańskiej wykazano znacząco rzadsze występowanie allelu A w pozycji PD-1.3 wśród chorych na TRU w porównaniu z grupą kontrolną [8]. Związek między występowaniem polimorfizmu PD-1.3 a rozwojem TRU potwierdzono na grupie 289 chorych [4]. PD-1.9 T na eksonie 5 wykazuje związek ze spondyloartropatiami seronegatywnymi [25].

Rozważano zastosowanie białka PD-1 oraz szlaku PD-1/PD-L1 w terapii chorób autoimmunizacyjnych. Ding podawał dożylnie (*i.v.*) myszom z TRU, PD-L1 w rekombinowanym adenowirusie (Ad. PD-L1), co zapobiegało częściowo rozwojowi postaci nerkowej TRU (rzadsza proteinuria, redukcja przeciwciał przeciw dwuniciowemu DNA (anti-double-stranded DNA, anty-dsDNA) IgG w surowicy, mniej zmian patologicznych w biopsji nerek). Obserwowano synergistyczny skutek działania Ad. PD-L1 z blokującymi przeciwciałami ICOS-L w supresji TRU. Wykryto znacznie zwiększoną ekspresję PD-L1 na komórkach śródbłonka kanalików nerkowych proksymalnych po podaniu Ad. PD-L1 *i.v.* Stwierdzono ochronne działanie Ad.PD-L1 w hamowaniu autoreaktywnych limfocytów T w narządzie docelowym [7]. Mostowska wykazała istnienie związku między polimorfizmem 7209 C/T umiejscowionym na intronie 4 genu PD-1 a ryzykiem rozwoju TRU w polskiej populacji, a więc potwierdziła wcześniejsze badania przeprowadzone w tajwańskiej populacji [29,48].

Rolę szlaku PD-1/PD-L1 w chorobach autoimmunizacyjnych zbadano na doświadczalnych modelach zwierzęcych uwzględniając: TRU, RZS, autoimmunologiczne zapalenie mięśnia sercowego, autoimmunologiczne zapalenie mózgu





Ryc. 1. Schemat wybranych cząsteczek z rodziny CD28 i ich ligandy (wg [11] zmodyfikowano)

i rdzenia, enteropatię. Stwierdzono, że szlak PD-1/PD-L1 ulega nadekspresji w zapaleniu błony maziowej w przebiegu RZS. Zaobserwowano, że indukowane kolagenem II zapalenie stawów (collagen II-induced arthritis: CIA) u myszy jest hamowane dootrzewnowo podanym PD-L1Ig; co zostało potwierdzone histopatologicznie [12,38,46].

Udowodniono, że nadmierna stymulacja antygenem u myszy prowadzi do rozwoju komórek T CD4, które mogą generować różne auto-przeciwciała, w tym identyczne z obserwowanymi w TRU. Zaobserwowano, że powstawaniu nowej populacji komórek T efektorowych towarzyszy ekspresja PD-1, jak również zwiększone wytwarzanie IL-2 i IL-6 [28].

Do badań nad PD-1 i jego ligandami w toczniowym zapaleniu nerek wykorzystano myszy NZB/W F1. Podanie anti-PD-1 zmniejszyło liczbę komórek T CD4⁺, PD-1⁺ w nerce

myszy i znacznie zmniejszyło śmiertelność. Jednak blokowanie PD-L1, stosując przeciwciała anti-PD-L1 prowadziło do zwiększenia liczby limfocytów T CD4⁺, PD-1⁺ w nerkach, zwiększenia stężenia IFN- γ , IL-10 i anti-dsDNA w surowicy, przyspieszyło zapalenie nerek i zwiększało śmiertelność [20].

PD-1 a RZS

Tokuhiro i wsp. opisali zależność między częstością występowania nosicielstwa polimorfizmu PDCD-1 w obrębie miejsca wiązania czynnika transkrypcyjnego RUNX-1 w intronie 6, a rozwojem RZS [43]. Prokunina i wsp. wykazali związek między częstością występowania polimorfizmu w pozycji PD-1.3, a występowaniem RZS w szwedzkiej populacji wśród pacjentów z nieobecnym czynnikiem reumatoidalnym oraz nieobecnym wspólnym epitopem [37].

Kong i wsp. przedstawili badania, z których wynika, że obecność SNP w pozycji PD-1.3 nie wykazuje związku zarówno z grupą pacjentów z RZS, jak i grupą kontrolną Chińczyków z Hong Kongu [22]. Stwierdzono natomiast związek między występowaniem polimorfizmu (C/T) w pozycji PD-1.5 na eksonie 5 (rs 2227981), a rozwojem RZS wśród Chińczyków z Tajwanu [26]. Kong i wsp. stwierdzili, że odsetek nosicieli genotypu AA w pozycji -531 PD-1.1 promotora genu PD-1 jest powiązany z występowaniem RZS w badanej grupie chorych. Wykazali także, że haplotypy zawierające allel G PD-1.1 oraz allel T PD1.5 są czynnikami ryzyka dla RZS wśród Chińczyków z Hong Kongu [22]. Iwamoto nie wykazał związku między występowaniem polimorfizmu (PD-1.1, PD-1.3, PD-1.5) a występowaniem RZS w populacji japońskiej. Również analiza haplotypu nie potwierdziła związku między PD-1 a RZS [17]. Prawdopodobne przyczyny różnic w wynikach badań w poszczególnych ośrodkach mogą wynikać z odrębności etnicznych w różnych populacjach (polimorfizm występujący wśród Szwedów nie jest obecny wśród Japończyków) oraz liczebności grup pacjentów (Lin: 84 chorych i 135 osób w grupie kontrolnej, Kong: 180 chorych i 647 w grupie kontrolnej, Iwamoto: 1504 chorych oraz 449 w grupie kontrolnej).

Zwiększoną ekspresję PD-1 stwierdzono na limfocytach T z płynu stawowego w RZS, a także na limfocytach T pobranych ze ślinianek w zespole Sjögrena [6,14,21]. Wan stwierdził obecność rozpuszczalnego PD-1 zarówno w surowicy, jak i w płynie stawowym u pacjentów z RZS. Stwierdził również, że stężenie rozpuszczalnego PD-1 w surowicy (lecz nie w płynie stawowym) pozytywnie koreluje z ilością czynnika reumatoidalnego (rheumatoid factor, RF) w surowicy oraz TNF- α w płynie stawowym.

Sądzi, że rozpuszczalny PD-1 funkcjonalnie blokuje regulatorowy efekt błonowego wiązania PD-1 na aktywowanych limfocytach T, przez co osłabia szlak PD-1 i powoduje pogorszenie choroby [45]. W 2011 r. potwierdzono związek między polimorfizmem PD-1.1A w pozycji -538 w regionie promotora genu PD-1, a występowaniem RZS u irańskich pacjentów [42]. W badaniach immunologicznych u pacjentów ze świeżo rozpoznany RZS stwierdzono wysoki odsetek aktywowanych limfocytów B w surowicy krwi. Wykazano korelację między liczbą limfocytów B CD95⁺ a częstością występowania ekspresji PD-1⁺ na limfocytach Tfh (T follicular helper cell). Stwierdzono także, w następstwie miesięcznego leczenia farmakologicznego (10 mg Methotrexat na tydzień, 20 mg Leflunomid na dobę lub 60 mg Tripterygium wilfordii) znaczący spadek liczby limfocytów B CD86⁺ oraz PD-1⁺ limfocytów Tfh u chorych na RZS, u których zastosowane leczenie przyniosło zadawalające wyniki [47].

PODSUMOWANIE

Dalsze badania dotyczące PD-1 u chorych na RZS oraz na TRU powinny określić zależności między występowaniem chorób autoimmunizacyjnych a polimorfizmem w obrębie genu białka PD-1 oraz określić ewentualne różnice w przebiegu chorób, związane z polimorfizmem genu kodującego białko PD-1. Umożliwi to opracowanie schematów postępowania diagnostycznego i prognostycznego oraz wyjaśni udział PD-1 w procesie autoimmunizacji. Nowe terapie w chorobach autoimmunizacyjnych będą oparte o modulowanie szlaku PD1/PD-L1. Możliwe, że badania immunologiczne pozwolą na ustalenie biomarkerów skutecznej terapii RZS oraz TRU.

PISMIENICTWO

- [1] Adhami E.: Calculating the etiology of systemic lupus erythematosus. *Med. Hypotheses*, 2004; 62: 237-246
- [2] Agata Y., Kawasaki A., Nishimura H., Ishida Y., Tsubata T., Yagita H., Honjo T.: Expression of the PD-1 antigen on the surface of stimulated mouse T and B lymphocytes. *Int. Immunol.*, 1996; 8: 765-772
- [3] Bennett F., Luxenberg D., Ling V., Wang I.M., Marquette K., Lowe D., Khan N., Veldman G., Jacobs K.A., Valge-Archer V.E., Collins M., Carreno B.M.: Program death-1 engagement upon TCR activation has distinct effects on costimulation and cytokine-driven proliferation: attenuation of ICOS, IL-4, and IL-21, but not CD28, IL-7, and IL-15 responses. *J. Immunol.*, 2003; 170: 711-718
- [4] Bertias G.K., Nakou M., Choulaki C., Raptopoulou A., Papadimitraki E., Goulielmos G., Kritikos H., Sidiropoulos P., Tzardi M., Kardassis D., Mamalaki C., Boumpas D.T.: Genetic, immunologic, and immunohistochemical analysis of the programmed death 1/programmed death ligand 1 pathway in human systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 2009; 60: 207-218
- [5] Bijl M., Horst G., Limburg P.C., Kallenberg C.G.: Expression of costimulatory molecules on peripheral blood lymphocytes of patients with systemic lupus erythematosus. *Ann. Rheum. Dis.*, 2001; 60: 523-526
- [6] Bolstad A.I., Eiken H.G., Rosenlund B., Alarcón-Riquelme M.E., Jonsson R.: Increased salivary gland tissue expression of Fas, Fas ligand, cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4, and programmed cell death 1 in primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.*, 2003; 48: 174-185
- [7] Ding H., Wu X., Wu J., Yagita H., He Y., Zhang J., Ren J., Gao W.: Delivering PD-1 inhibitory signal concomitant with blocking ICOS co-stimulation suppresses lupus-like syndrome in autoimmune BXSB mice. *Clin. Immunol.*, 2006; 118: 258-267
- [8] Ferreira-Vidal I., Gomez-Reino J.J., Barros F., Carracedo A., Carreira P., Gonzalez-Escribano F., Liz M., Martin J., Ordi J., Vicario J.L., Gonzalez A.: Association of PDCD1 with susceptibility to systemic lupus erythematosus: evidence of population-specific effects. *Arthritis Rheum.*, 2004; 50: 2590-2597
- [9] Fife B.T., Pauken K.E.: The role of the PD-1 pathway in autoimmunity and peripheral tolerance. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2011; 1217: 45-59
- [10] Finger L.R., Pu J., Wasserman R., Vibhakhar R., Louie E., Hardy R.R., Burrows P.D., Billips L.G.: The human PD-1 gene: complete cDNA, genomic organization, and developmentally regulated expression in B cell progenitors. *Gene*, 1997; 197: 177-187
- [11] Freeman G.J., Long A.J., Iwai Y., Bourque K., Chernova T., Nishimura H., Fitz L.J., Malenkovich N., Okazaki T., Byrne M.C., Horton H.F., Fouser L., Carter L., Ling V., Bowman M.R., Carreno B.M., Collins M., Wood C.R., Honjo T.: Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J. Exp. Med.*, 2000; 192: 1027-1034



- [12] Giancchetti E., Delfino D.V., Fierabracci A.: Recent insights into the role of the PD-1/PD-L1 pathway in immunological tolerance and autoimmunity. *Autoimmun. Rev.*, 2013; 12: 1091-1100
- [13] Grakoui A., Bromley S.K., Sumen C., Davis M.M., Shaw A.S., Allen P.M., Dustin M.L.: The immunological synapse: a molecular machine controlling T cell activation. *Science*, 1999; 285: 221-227
- [14] Hatachi S., Iwai Y., Kawano S., Morinobu S., Kobayashi M., Koshiba M., Saura R., Kurosaka M., Honjo T., Kumagai S.: CD4+PD-1+T cells accumulate as unique anergic cells in rheumatoid arthritis synovial fluid. *J. Rheumatol.*, 2003; 30: 1410-1419
- [15] Ishida M., Iwai Y., Tanaka Y., Okazaki T., Freeman G.J., Minato N., Honjo T.: Differential expression of PD-L1 and PD-L2, ligands for an inhibitory receptor PD-1, in the cells of lymphohematopoietic tissues. *Immunol. Lett.*, 2002; 84: 57-62
- [16] Ishida Y., Agata Y., Shibahara K., Honjo T.: Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J.*, 1992; 11: 3887-3895
- [17] Iwamoto T., Ikari K., Inoue E., Toyama Y., Hara M., Yamanaka H., Tomatsu T., Momohara S., Kamatani N.: Failure to confirm association between PDCD1 polymorphisms and rheumatoid arthritis in a Japanese population. *J. Hum. Genet.*, 2007; 52: 557-560
- [18] Jacobson D.L., Gange S.J., Rose N.R., Graham N.M.: Epidemiology and estimated population burden of selected autoimmune diseases in the United States. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1997; 84: 223-243
- [19] Kasagi S., Kawano S., Kumagai S.: PD-1 and autoimmunity. *Crit. Rev. Immunol.*, 2011; 31: 265-295
- [20] Kasagi S., Kawano S., Okazaki T., Honjo T., Morinobu A., Hatachi S., Shimatani K., Tanaka Y., Minato N., Kumagai S.: Anti-programmed cell death 1 antibody reduces CD4⁺PD-1⁺ T cells and relieves the lupus-like nephritis of NZB/W F1 mice. *J. Immunol.*, 2010; 184: 2337-2347
- [21] Kobayashi M., Kawano S., Hatachi S., Kurimoto C., Okazaki T., Iwai Y., Honjo T., Tanaka Y., Minato N., Komori T., Maeda S., Kumagai S.: Enhanced expression of programmed death-1 (PD-1)/PD-L1 in salivary glands of patients with Sjögren's syndrome. *J. Rheumatol.*, 2005; 32: 2156-2163
- [22] Kong E.K., Prokunina-Olsson L., Wong W.H., Lau C.S., Chan T.M., Alarcón-Riquelme M., Lau Y.L.: A new haplotype of PDCD1 is associated with rheumatoid arthritis in Hong Kong Chinese. *Arthritis Rheum.*, 2005; 52: 1058-1062
- [23] Kuchroo V.K., Das M.P., Brown J.A., Ranger A.M., Zamvil S.S., Sobel R.A., Weiner H.L., Nabavi N., Glimcher L.H.: B7-1 and B7-2 costimulatory molecules activate differentially the Th1/Th2 developmental pathways: application to autoimmune disease therapy. *Cell*, 1995; 80: 707-718
- [24] Latchman Y., Wood C.R., Chernova T., Chaudhary D., Borde M., Chernova I., Iwai Y., Long A.J., Brown J.A., Nunes R., Greenfield E.A., Bourque K., Boussiotis V.A., Carter L.L., Carreno B.M. i wsp.: PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat. Immunol.*, 2001; 2: 261-268
- [25] Lee S.H., Lee Y.A., Woo D.H., Song R., Park E.K., Ryu M.H., Kim Y.H., Kim K.S., Hong S.J., Yoo M.C., Yang H.I.: Association of the programmed cell death 1 (PDCD1) gene polymorphism with ankylosing spondylitis in the Korean population. *Arthritis Res. Ther.*, 2006; 8: R163
- [26] Lin S.C., Yen J.H., Tsai J.J., Tsai W.C., Ou T.T., Liu H.W., Chen C.J.: Association of a programmed death 1 gene polymorphism with the development of rheumatoid arthritis, but not systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 2004; 50: 770-775
- [27] Long E.O.: Regulation of immune responses through inhibitory receptors. *Annu. Rev. Immunol.*, 1999; 17: 875-904
- [28] Miyazaki Y., Tsumiyama K., Yamane T., Ito M., Shiozawa S.: Expansion of PD-1-positive effector CD4 T cells in an experimental model of SLE: contribution to the self-organized criticality theory. *Kobe J. Med. Sci.*, 2013; 59: E64-E71
- [29] Mostowska M., Wudarski M., Chwalińska-Sadowska H., Jagodziński P.P.: The programmed cell death 1 gene 7209 C>T polymorphism is associated with the risk of systemic lupus erythematosus in the Polish population. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 2008; 26: 457-460
- [30] Nielsen C., Hansen D., Husby S., Jacobsen B.B., Lillevang S.T.: Association of a putative regulatory polymorphism in the PD-1 gene with susceptibility to type 1 diabetes. *Tissue Antigens*, 2003; 62: 492-497
- [31] Nishimura H., Nose M., Hiai H., Minato N., Honjo T.: Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor. *Immunity*, 1999; 11: 141-151
- [32] Okazaki T., Honjo T.: PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application. *Int. Immunol.*, 2007; 19: 813-824
- [33] Okazaki T., Honjo T.: The PD-1 - PD-L pathway in immunological tolerance. *Trends Immunol.*, 2006; 27: 195-201
- [34] Park Y.B., Lee S.K., Kim D.S., Lee J., Lee C.H., Song C.H.: Elevated interleukin-10 levels correlated with disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 1998; 16: 283-288
- [35] Paterson D.J., Jefferies W.A., Green J.R., Brandon M.R., Cortesy P., Puklavec M., Williams A.F.: Antigens of activated rat T lymphocytes including a molecule of 50,000 Mr detected only on CD positive T blasts. *Mol. Immunol.*, 1987; 24: 1281-1290
- [36] Prokunina L., Castillejo-López C., Oberg F., Gunnarsson I., Berg L., Magnusson V., Brookes A.J., Tentler D., Kristjansdóttir H., Gröndal G., Bolstad A.I., Svenungsson E., Lundberg I., Sturfelt G., Jönsson A. i wsp.: A regulatory polymorphism in PDCD1 is associated with susceptibility to systemic lupus erythematosus in humans. *Nat. Genet.*, 2002; 32: 666-669
- [37] Prokunina L., Padyukov L., Bennet A., de Faire U., Wiman B., Prince J., Alfredsson L., Klareskog L., Alarcón-Riquelme M.: Association of the PD-1.3A allele of the PDCD1 gene in patients with rheumatoid arthritis negative for rheumatoid factor and the shared epitope. *Arthritis Rheum.*, 2004; 50: 1770-1773
- [38] Raptopoulou A.P., Bertias G., Makrygiannakis D., Verginis P., Kritikos I., Tzardi M., Klareskog L., Catrina A.I., Sidiropoulos P., Boumpas D.T.: The programmed death 1/programmed death ligand 1 inhibitory pathway is up-regulated in rheumatoid synovium and regulates peripheral T cell responses in human and murine arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2010; 62: 1870-1880
- [39] Shinohara T., Taniwaki M., Ishida Y., Kawauchi M., Honjo T.: Structure and chromosomal localization of the human PD-1 gene (PDCD1). *Genomics*, 1994; 23: 704-706
- [40] Sidorenko S.P., Clark E.A.: The dual-function CD150 receptor subfamily: the viral attraction. *Nat. Immunol.*, 2003; 4: 19-24
- [41] Sinha A.A., Lopez M.T., McDevitt H.O.: Autoimmune diseases: the failure of self tolerance. *Science*, 1990; 248: 1380-1388
- [42] Tahoori M.T., Pourfathollah A.A., Akhlaghi M., Daneshmandi S., Nicknam M.H., Soleimanifar N.: Association of programmed cell death-1 (PDCD-1) gene polymorphisms with rheumatoid arthritis in Iranian patients. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 2011; 29: 763-767
- [43] Tokuhira S., Yamada R., Chang X., Suzuki A., Kochi Y., Sawada T., Suzuki M., Nagasaki M., Ohtsuki M., Ono M., Furukawa H., Nagashima M., Yoshino S., Mabuchi A., Sekine A. i wsp.: An intronic SNP in a RUNX1 binding site of SLC22A4, encoding an organic cation transporter, is associated with rheumatoid arthritis. *Nat. Genet.*, 2003; 35: 341-348
- [44] Vibhakar R., Juan G., Traganos F., Darzynkiewicz Z., Finger L.R.: Activation-induced expression of human programmed death-1 gene in T-lymphocytes. *Exp. Cell Res.*, 1997; 232: 25-28

[45] Wan B., Nie H., Liu A., Feng G., He D., Xu R., Zhang Q., Dong C., Zhang J.Z.: Aberrant regulation of synovial T cell activation by soluble costimulatory molecules in rheumatoid arthritis. *J. Immunol.*, 2006; 177: 8844-8850

[46] Wang G., Hu P., Yang J., Shen G., Wu X.: The effects of PDL-Ig on collagen-induced arthritis. *Rheumatol. Int.*, 2011; 31: 513-519

[47] Wang J., Shan Y., Jiang Z., Feng J., Li C., Ma L., Jiang Y.: High frequencies of activated B cells and T follicular helper cells are correlated with disease activity in patients with new-onset rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Immunol.*, 2013; 174: 212-220

[48] Wang S.C., Chen Y.J., Ou T.T., Wu C.C., Tsai W.C., Liu H.W., Yen J.H.: Programmed death-1 gene polymorphisms in patients with systemic lupus erythematosus in Taiwan. *J. Clin. Immunol.*, 2006; 26: 506-511

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.

