

Received: 2015.03.30  
Accepted: 2016.05.20  
Published: 2016.06.28

## Udział komórek regulatorowych oraz wybranych cytokin w patogenezie astmy oskrzelowej

### Involvement of regulatory T cells and selected cytokines in the pathogenesis of bronchial asthma

Monika Zuśka-Prot, Jerzy J. Jaroszewski, Tomasz Maślanka

Katedra Farmakologii i Toksykologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

#### Streszczenie

Patogeneza astmy jest niezwykle złożona, gdyż składają się na nią wzajemne oddziaływania między licznymi czynnikami i mechanizmami. Zapaleniu dróg oskrzelowych w przebiegu astmy alergicznej towarzyszy zwiększona aktywacja komórek pomocniczych typu 2, wytwarzanie IgE oraz napływ i aktywacja eozynofiliów. Badania z ostatnich lat wskazują, że deficyt komórek regulatorowych o fenotypie  $\text{Foxp3}^+\text{CD25}^+\text{CD4}^+$  i  $\text{Foxp3}^+\text{CD25}^+\text{CD8}^+$  oraz komórek regulatorowych typu 1 odgrywa istotną rolę w rozwoju tej choroby. Ponadto, liczne badania dostarczają przekonujących dowodów na to, że zmniejszenie wytwarzania IL-10 oraz zwiększenie syntezy IL-17 mają istotne znaczenie w patofizjologii astmy. Inną ważną cytokiną mającą związek z tą chorobą jest TGF- $\beta$ . Uczestnicząc w patogenezie astmy, TGF- $\beta$  ma paradoksalny status, gdyż wydaje się jednocześnie zaangażowany w zapobieganie rozwojowi choroby, jak i w jej progresję. W artykule pokrótce omówiono dane kliniczne i doświadczalne dotyczące udziału limfocytów T- regulatorowych oraz IL-10, IL-17 i TGF- $\beta$  w patogenezie astmy.

Słowa kluczowe:

astma • limfocyty T regulatorowe • IL-10 • IL-17 • TGF- $\beta$

#### Summary

Asthma pathogenesis is complex and involves the interplay of many factors and actions. Airway inflammation in allergic asthma is characterized by an exaggerated activation of T helper type 2 cells, IgE production and infiltration and activation of eosinophils. The results of studies conducted in recent years indicate that the deficit of naturally occurring  $\text{Foxp3}^+\text{CD25}^+\text{CD4}^+$  and  $\text{Foxp3}^+\text{CD25}^+\text{CD8}^+$  regulatory T cells and type 1 regulatory T cells plays a pivotal role in the development of this disease. Moreover, numerous studies have provided convincing evidence that a decrease in IL-10 production and an increase in IL-17 production have an important place in the pathophysiology of asthma. TGF- $\beta$  is another important cytokine involved in this disease. TGF- $\beta$  has a paradoxical status in relation to asthma pathogenesis because it seems to play a role in both suppressing and promoting asthma development. This review discusses briefly clinical and experimental data concerning the involvement of T regulatory cells and IL-10, IL-17 and TGF- $\beta$  in the pathogenesis of asthma.

Key words:

asthma • regulatory T cells • IL-10 • IL-17 • TGF- $\beta$



**Full-text PDF:** <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1207511>**Word count:** 3956**Tables:** –**Figures:** –**References:** 90**Adres autorki:** lek. wet. Monika Zuška-Prot, Katedra Farmakologii i Toksykologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn; e-mail: monika.zuska@gmail.com**Wykaz skrótów:** **ASI** – alergenowo swoista immunoterapia; **BAL** – popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe (bronchoalveolar lavage); **CTLA-4** – antygen 4 limfocytów T cytotoksycznych (cytotoxic T cell antigen 4); **Foxp3** – czynnik transkrypcyjny z rodziny forkhead (forkhead box P3); **IFN- $\gamma$**  – interferon  $\gamma$  (interferon  $\gamma$ ); **iTreg** – indukowane komórki T-regulatorowe (induced regulatory T cells); **nTreg** – naturalne komórki T-regulatorowe (natural regulatory T cells); **PD-1** – receptor programowanej śmierci (programmed death-1 receptor); **TGF- $\beta$**  – transformujący czynnik wzrostu  $\beta$  (transforming growth factor  $\beta$ ); limfocyty **Th1** – limfocyty T pomocnicze typu 1 (type 1 T helper lymphocytes); limfocyty **Th2** – limfocyty T pomocnicze typu 2 (type 2 T helper lymphocytes); limfocyty/komórki **Th17** – limfocyty pomocnicze wydzielające IL-17 (T helper 17 cells); komórki **Tr1** – komórki regulatorowe typu 1 (type 1 regulatory T cells); komórki **Treg** – komórki T regulatorowe (regulatory T cells); **wGKS** – wziewny glikokortykosteroid.

## WPROWADZENIE

Astma jest jedną z najpoważniejszych chorób cywilizacyjnych; problem astmy dotyka około 300 mln ludzi na całym świecie i szacuje się, że liczba ta będzie stale rosnąć, zwłaszcza wśród dzieci [21]. Według międzynarodowej klasyfikacji chorób ICD-10, pod względem etiologicznym wyróżnia się cztery zasadnicze typy astmy: (a) astma oskrzelowa w głównej mierze z przyczyn alergicznych, (b) astma oskrzelowa niealergiczna, (c) astma oskrzelowa mieszana i (d) astma oskrzelowa nieokreślona. Z punktu widzenia mechanizmów patogenetycznych leżących u podstaw astmy zaproponowano następujący podział tej choroby:

- astma alergiczna,
- wewnątrzpochodna,
- neutrofilowa,
- aspirynowa i
- przebiegająca ze znacznym remodelingiem dróg oddechowych [1].

Najczęstszą postacią astmy jest astma alergiczna [35]. Klasyczna teoria dotycząca głównych elementów patomechanizmu astmy alergicznej zakłada, że jest to choroba przebiegająca z zapaleniem Th2-zależnym, tj. u podstaw którego leży zaburzona równowaga między aktywnością limfocytów Th1 i Th2, na korzyść tych drugich. Tak więc limfocyty Th2 inicjują i promują rozwój astmy oskrzelowej, m.in. przez wydzielanie prozapalnych interleukin, takich jak IL-4, -5, -9 oraz -13 [48]. Skutkiem tego jest „prze-programowanie” profilu przeciwciał syntetyzowanych przez limfocyty B w kierunku IgE, eozynofilii i wydzielania śluzu do światła oskrzeli [4]. Chroniczne zapalenie

prowadzi do nadreaktywności oskrzeli oraz remodelingu, charakteryzującego się trwałymi zmianami strukturalnymi w obrębie dróg oddechowych [44]. Bez wątpliwości limfocyty Th2 podtrzymują proces zapalny w przebiegu astmy alergicznej, jednak obserwacje poczynione w ostatnich latach świadczą o złożoności procesów zaangażowanych w patogenezę tej choroby, które wykraczają poza możliwości oddziaływania samych komórek Th2. Wyniki badań prowadzonych w ostatnim dziesięcioleciu wskazują na ważną rolę w etiopatogenezie astmy alergicznej komórek regulatorowych, IL-10, IL-17 oraz TGF- $\beta$ . Artykuł jest próbą przedstawienia współczesnego stanu wiedzy dotyczącego tych zagadnień.

## FOXP3<sup>+</sup> LIMFOCYTY T-REGULATOROWE

Do prawidłowej czynności układu immunologicznego niezbędne są CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> limfocyty T-regulatorowe (Treg), których rolą jest kontrola odpowiedzi immunologicznej [16,58,79,85]. Dzięki właściwościom supresorowym biorą udział w utrzymywaniu tolerancji wobec własnych antygenów oraz kontrolują i hamują nadmierną odpowiedź immunologiczną. Osiągają to przez hamowanie proliferacji i/lub wywoływanie śmierci limfocytów efektorowych. Odbywa się to przede wszystkim w sposób zależny od bezpośredniego kontaktu komórka-komórka, choć również oddziaływanie cytokin (np. IL-10) oraz zużycie IL-2 mogą być w to zaangażowane [16,79,85]. Należy wyjaśnić, że mimo iż populacja komórek o fenotypie CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> jest uważana za komórki regulatorowe, to fenotyp ten jest wspólny z fenotypem aktywowanych limfocytów T-efektorowych. Obecnie czynnik transkrypcyjny Foxp3 (Forkhead box P3) jest uważany za najbardziej swoisty marker komórek regulatorowych CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>, na

podstawie jego obecności możliwe jest odróżnienie komórek regulatorowych (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>) od aktywowanych (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>) i nieaktywowanych (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>Foxp3<sup>-</sup>) limfocytów T-efektorowych. Czynnikiem Foxp3 jest regulatorem rozwoju, funkcji i homeostazy limfocytów z tej subpopulacji; jego działanie jest związane m.in. z blokowaniem promotorów genów niektórych cytokin (IL-2, IL-4, IFN- $\gamma$ ) [29]. W obrębie limfocytów regulatorowych o fenotypie CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> wyróżnia się dwie grupy: naturalne (nTreg) oraz indukowane (iTreg) limfocyty regulatorowe. Naturalne komórki Treg rozwijają się w grasicy i stanowią 5-10% obwodowych limfocytów CD4<sup>+</sup> myszy i człowieka, ale uważa się, że u ludzi wyłącznie populacja o wysokiej ekspresji cząsteczki CD25 (CD25<sup>high</sup>) ma właściwości regulatorowe [8].

Badania z ostatnich lat wskazują, że czynnikiem predysponującym do rozwoju astmy alergicznej jest deficyt naturalnie występujących limfocytów T-regulatorowych o fenotypie CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> [9,40,63,68,76,89] i CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> [18]. Barczyk i wsp. [9] oceniali koekspresję Foxp3 i TGF- $\beta$  wśród limfocytów CD4<sup>+</sup> wyizolowanych z płuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL; bronchoalveolar lavage) astmatyków i osób zdrowych; badania wykazały istotną redukcję odsetka komórek CD4<sup>+</sup>TGF- $\beta$ <sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> w pierwszej grupie. Jest to zgodne z wynikami Kawayama i wsp. [40], którzy wykazali, że odsetek komórek Foxp3<sup>+</sup> wśród limfocytów CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> pozyskanych z płuciny pacjentów z astmą był znacząco zredukowany (16,4%) w porównaniu do wartości kontrolnych (27,2%), chociaż nie zanotowano różnic w parametrze określającym dla limfocytów pozyskanych z krwi obwodowej, który nie jest zgodny z wynikami innych badaczy [3,68,76,89]. Provoost i wsp. [68] wykazali zmniejszony odsetek komórek wykazujących ekspresję Foxp3 w obrębie limfocytów CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> pochodzących z krwi obwodowej astmatyków; ich średni odsetek wynosił 67,3%, podczas gdy w grupie kontrolnej wartość tego parametru wynosiła 79,0%. Jest to zgodne z wynikami badań Agarwala i wsp. [3], którzy stwierdzili, że odsetek komórek Foxp3<sup>+</sup> wśród limfocytów CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> krwi obwodowej pacjentów z astmą był znacząco zredukowany (49,00%) w porównaniu do osób zdrowych (95,91%). Wyniki są relatywnie zgodne z obserwacjami innych autorów [76,89]. Shi i wsp. [76] wykazali znaczącą redukcję komórek Foxp3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> wśród limfocytów CD4<sup>+</sup> krwi obwodowej pacjentów cierpiących na ciężką i umiarkowaną astmę (2,73%) w porównaniu do grupy kontrolnej (4,10%) oraz pacjentów z łagodną (4,59%) postacią choroby. Inni badacze [89] ustalili istotną redukcję odsetka komórek CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> wśród limfocytów CD4<sup>+</sup> krwi obwodowej dzieci astmatycznych, przy czym redukcja ich liczebności również różniła się między sobą w zależności od stopnia ciężkości choroby; ich średni odsetek u dzieci z astmą ciężką i łagodną wynosił 0,9 i 1,3%, podczas gdy wartość kontrolna wynosiła 2,2%. Wyniki przytaczanych badań sugerują, że występowanie astmy, a zwłaszcza jej ciężkich postaci, jest skorelowane ze zmniejszeniem odsetka limfocytów T-regulatorowych CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>. Na tej podstawie sugeruje się, że deficyt i/lub dysfunkcja tych komórek może predysponować/

pozostawać w związku z rozwojem astmy oskrzelowej [9,46,89]; następstwem upośledzonej funkcji supresorowej tych limfocytów miałyby być masowa aktywacja i proliferacja komórek Th2, wywołująca indukcję wytwarzania przeciwciał klasy IgE oraz generowania rozlicznych czynników prozapalnych [31]. Nie jest pewne, czy niedobór komórek Treg poprzedza astmę, czy też pojawia się w czasie jej rozwoju, stąd pogląd, że ich deficyt predysponuje do rozwoju choroby, należy raczej traktować w kategoriach hipotezy, jakkolwiek dobrze udokumentowanej. Robinson [71] stawia hipotezę, że dysfunkcja komórek CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> może być spowodowana, przynajmniej częściowo, pojawieniem się sygnałów redukujących funkcję tych komórek. Takimi sygnałami miałyby być mediatory uwalniane w odpowiedzi na aktywację receptorów rozpoznających wzorce (PRRs, pattern recognition receptors/ „danger receptors”) oraz receptorów uszkodzenia komórki („cell damage receptors”) umiejscowionych w komórkach dendrytycznych i komórkach nabłonka dróg oddechowych przez takie czynniki jak alergeny (np. roztocza kurzu) i czynniki zakaźne. Niezwykle atrakcyjną wydaje się hipoteza zakładająca, że dzięki wzmacnianiu funkcji komórek Treg (tj. przez intensyfikację ich supresyjnego działania wobec limfocytów Th2) można by kontrolować stan zapalny towarzyszący astmie [71]. Wykazano, że limfocyty CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> pozyskane z krwi obwodowej pacjentów nieatopowych i atopowych hamowały indukowaną *in vitro* proliferację limfocytów CD4<sup>+</sup> efektorowych (tj. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>) oraz wytwarzanie przez nie IL-5 i INF- $\gamma$  [51]. Lewkowich i wsp. [49] w badaniach z wykorzystaniem mysiego modelu astmy wykazali, że utrata komórek CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> doprowadziła (w odpowiedzi na ekspozycję na alergen) m.in. do nadreaktywności oskrzeli, wzmocnienia zapalenia, eozynofili, zwiększenia wytwarzania IgE i cytokin typu Th2. Wyniki uzyskane w tych badaniach wyraźnie wskazują, że komórki Treg odgrywają główną rolę w zapobieganiu tych reakcji/procesów będących nierozzerwalnymi składowymi patomechanizmu astmy. Teza znajduje potwierdzenie w badaniach Kearley i wsp. [41,42]. W badaniach na myszach wykazali, że adoptywny transfer komórek CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> swoistych dla owalbuminy do myszy uczulonych tym białkiem, redukowało istotnie nadreaktywność oskrzeli, naciek eozynofiliów oraz wytwarzanie cytokin typu Th2 w płucach [41]. W innych badaniach [42] stwierdzili, że podawanie swoistych alergenowo komórek CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> myszom z modelem przewlekłej astmy alergicznej redukowało nadmierne wytwarzanie śluzu, rekrutację eozynofiliów do płuc oraz okołooskrzelowe odkładanie się kolagenu; to ostatnie sugeruje, że niedobór tych komórek może mieć udział w powstawaniu remodelingu dróg oddechowych w przebiegu astmy.

Warto wspomnieć, że dostępne są badania, w których we krwi pacjentów z astmą wykazano zmniejszony odsetek komórek regulatorowych o fenotypie CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> oraz zredukowaną ekspresję mRNA dla Foxp3 w limfocytach CD8<sup>+</sup> [18]. Wyniki tych badań sugerują istnienie zależności między limfocytami regulatorowymi CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> a występowaniem i stopniem ciężkości astmy oskrzelowej [18].



Wziewna, a w cięższych przypadkach systemowa glikokortykosteroidoterapia jest najbardziej skuteczną terapią przeciwzapalną w zwalczaniu objawów choroby i hamowaniu jej progresji. Najnowsze wytyczne zalecają stosowanie wziewnych glikokortykosteroidów (wGKS) u dorosłych i dzieci z przewlekłą astmą. W ostatnich latach pojawiło się wiele doniesień [17,37,66,68,88] sugerujących, że ważnymi elementami oddziaływań leżących u podstaw przeciwzapalnego i immunosupresyjnego działania glikokortykosteroidów jest indukowanie i wzmacnianie funkcji komórek o fenotypie CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>, czyli generowanie iTregs. Dao Nguyen i Robinson [17] wykazali, że inkubacja komórek CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> z flutykazonem (wGKS) zwiększała ich aktywność supresyjną wobec limfocytów CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> stymulowanych alergenem. Karagiannidis i wsp. [37] stwierdzili, że ekspresja mRNA dla Foxp3 w limfocytach CD4<sup>+</sup> krwi obwodowej była znacząco większa u pacjentów z astmą leczonych flutykazonem oraz prednizolonem (glikokortykosteroid do stosowania ogólnego). W badaniach tych wykazano ponadto, że ekspozycja (*in vitro*) limfocytów CD4<sup>+</sup> na deksametazon (glikokortykosteroid do stosowania ogólnego) prowadziła do indukcji ekspresji mRNA dla Foxp3 w tych komórkach. Wiąże się to z wynikami uzyskanymi przez innych badaczy [68], którzy wykazali, że stosowanie wGKS zwiększało odsetek komórek z ekspresją Foxp3 wśród limfocytów CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> pochodzących z krwi obwodowej pacjentów chorych na astmę. Obserwacje zostały potwierdzone przez Pace i wsp. [66], którzy stwierdzili, że terapia z użyciem budezonidu (wGKS) zwiększyła odsetek komórek Foxp3<sup>+</sup> wśród limfocytów CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> pochodzących z krwi obwodowej chorych na astmę. W innych badaniach [88] również wykazano, że wziewne stosowanie flutykazonu powodowało wzrost odsetka komórek Foxp3-pozytywnych wśród limfocytów CD4<sup>+</sup> krwi obwodowej. Tak więc wyniki badań sugerują, że stosowanie wGKS doprowadza do indukcji ekspresji Foxp3 wśród komórek CD4<sup>+</sup>, tj. do generowania iTregs. Wyniki niedawno opublikowanych badań [64] różnią się, gdyż wykazano w nich, że stosowanie zarówno deksametazonu, jak i budezonidu u myszy z wywołanym modelem astmy nie wpływało na liczebność bezwzględna komórek CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> w płucach lub ją redukowało, w zależności od alergenu użytego do wywołania modelu choroby.

Wiele wskazuje, że komórki Treg są generowane w czasie swoistej alergenowo immunoterapii (ASI). Jest ona uważana za najodpowiedniejsze podejście terapeutyczne, które stwarza duże możliwości regulacji zaburzeń układu immunologicznego. Głównym celem ASI jest indukowanie alergenowo niereaktywnych/tolerancyjnych limfocytów T oraz regulacja w dół komórkowej i humoralnej odpowiedzi immunologicznej [77]. Wytworzenie tolerancji obwodowej jest zapoczątkowane zwiększonym wydzielaniem IL-10 i TGF- $\beta$  przez swoiste alergenowo komórki Treg [5,36]. Na mysim modelu ASI wykazano, że generowanie limfocytów o fenotypie CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> jest w dużej mierze odpowiedzialne za korzystne wyniki tego typu terapii; komórki te przyczyniały się m.in. do tłumienia eozynofilii w drogach oddechowych podczas prowokacji alergenem [53]. Jest to zgodne z badaniami Radulovica i wsp. [69],

którzy wykazali, że ASI indukowała wzrost liczby komórek CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> w błonie śluzowej nosa osób cierpiących z powodu kataru siennego, a wiązało się z istotnym zmniejszeniem objawów choroby. W innych badaniach stwierdzono, że ASI zwiększała odsetek komórek Treg we krwi obwodowej dzieci z alergią oddechową współwystępującą z innym zaburzeniem alergicznym (alergia pokarmowa i/lub atopowe zapalenie skóry), chociaż nie stwierdzono tego u dzieci, które cierpiały wyłącznie na alergię oddechową [77]. W badaniach tych zaobserwowano także, że ASI miała większy wpływ na odsetek limfocytów Treg u pacjentów z mocniej wyrażoną chorobą alergiczną i mniejszą liczbą komórek Treg [77]. Należy jednak podkreślić, że autorzy wzmiankowanych badań zauważają, powołując się na wyniki badań Thunberga i wsp. [80], że zmiany w liczebności komórek Treg krwi obwodowej nie zawsze odzwierciedlają stan tych komórek w odpowiednich narządach/tkankach docelowych.

## IL-10

IL-10 jest cytokiną o właściwościach przeciwzapalnych i immunosupresyjnych, która działa przez hamowanie funkcji komórek prezentujących antygen oraz supresję sekrecji cytokin prozapalnych przez makrofagi i komórki dendrytyczne, doprowadzając do głębokiej inhibicji odpowiedzi Th1-zależnej [61]. Najprawdopodobniej występowanie astmy oskrzelowej pozostaje w związku z upośledzeniem wytwarzania IL-10. Wskazują na to zarówno starsze [33,76], jak i najnowsze badania [24,70], gdyż udowodniono w nich ujemną korelację między stężeniem IL-10 a występowaniem astmy. John i wsp. [33] wykazali, że stężenia mRNA IL-10, cytokiny w BAL i makrofagach pęcherzykowych astmatyków, były niższe niż u osób zdrowych. Gupta i wsp. [24] stwierdzili zmniejszone stężenie tej cytokiny w BAL dzieci cierpiących na ciężką astmę oporną na leczenie w porównaniu do grupy kontrolnej. Pobrane od nich komórki jednojądrzaste krwi obwodowej (PBMCs) wykazywały istotnie upośledzoną zdolność do syntezy IL-10. Ustalenia te są zgodne z wynikami innych badaczy [70], którzy stwierdzili zmniejszone stężenie IL-10 w surowicy pacjentów z astmą o różnym stopniu nasilenia. Shi i wsp. [76] również wykazali, że surowica pacjentów z umiarkowaną i ciężką postacią astmy odznaczała się mniejszymi stężeniami IL-10 (38 pg/ml) w porównaniu do osób zdrowych (61 pg/ml). U pacjentów z łagodną postacią choroby nie zaobserwowano różnic w stężeniu tej cytokiny (63 pg/ml) w porównaniu do wartości kontrolnych. Dane sugerują, że występowanie i stopień nasilenia astmy może być ujemnie skorelowany ze stężeniem IL-10. Wyjaśnienie tego zjawiska wydaje się oczywiste, uwzględniając właściwości biologiczne tej cytokiny. Wiadomo, że IL-10 reguluje aktywność wielu komórek oraz różne funkcje efektorowe, a także procesy związane z powstawaniem zaburzeń alergicznych (m.in. hamuje aktywację komórek Th2 oraz funkcję komórek tucznych i eozynofilii, a ponadto zmniejsza stężenie IgE) [26]. Wykazano, że IL-10 jest najważniejsza w skutecznym funkcjonowaniu mechanizmów zapobiegających rozwojowi zaburzeń alergicznych płuc [41,47]. W badaniach prowadzonych przez

Kearleya i wsp. [41] odkryto, że znoszenie stanu zapalnego dróg oddechowych wywołane adopcywnym transferem komórek CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> było zależne od wytwarzania IL-10. Dotyczyło to najwyraźniej jakiegoś innego źródła tej cytokiny niż transferowane komórki, gdyż nie miało związku z wytwarzaniem IL-10 przez limfocyty CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>. W innych badaniach mysiego modelu astmy wykazano, że dotchawicze podanie IL-10 za pomocą wektora adenowirusowego zmniejszało nadreaktywność oskrzeli w testach prowokacyjnych z użyciem metacholiny oraz hamowało napływ eozynofiliów [19]. Wynika z tego, że między niedoborem IL-10 a występowaniem astmy istnieje ścisły związek przyczynowo-skutkowy.

IL-10 jest wytwarzana przez prawie wszystkie leukocyty [73], podczas gdy wiadomości na temat związku zaburzeń alergicznych z liczebnością komórek wytwarzających tę cytokinę ogranicza się do nielicznych prac i dotyczą głównie limfocytów CD4<sup>+</sup> [24,41,70]. Dlatego też nie jest możliwe pełne określenie genetyki/źródła zmniejszonego wytwarzania IL-10 u pacjentów z astmą. Jednak bardzo wiele wskazuje, że jednym z elementów złożonej patogenezы astmy, może być nieskuteczność/upośledzenie procesu generowania komórek regulatorowych Tr1. Mówiąc o komórkach regulatorowych Tr1 ma się na myśli limfocyty z populacji CD4<sup>+</sup>, do indukcji których jest wymagana obecność IL-10 i których działanie regulatorowe opiera się głównie o jej wytwarzanie, stąd też są nazywane komórkami regulatorowymi wydzielającymi IL-10. W przeciwieństwie do komórek nTreg, limfocyty Tr1 są komórkami indukowanymi; powstają z naiwnych limfocytów CD4<sup>+</sup> w obecności IL-10 m.in. w odpowiedzi na antygeny peptydowe, rozpuszczalne białka i glikokortykosteroidy [58]. Po aktywacji swoistym antygenem komórki Tr1 działają supresorowo na limfocyty Th1 i Th2, hamując/ograniczając zjawiska patologiczne, w których wywołanie są zaangażowane [72]. W badaniach prowadzonych z udziałem pszczelarzy wykazano, że zmniejszająca się odczynowość, tj. rozwijająca się tolerancja na jad pszczoł z powtarzającymi się ukąszeniami, wiąże się z indukowaniem swoistych wobec alergenów jadu pszczoł komórek CD4<sup>+</sup> wydzielających IL-10 [59]. Wykazano, że subpopulacja limfocytów CD4<sup>+</sup>IL-10<sup>+</sup> (czyli komórek o fenotypie utożsamianym z komórkami Tr1) może być indukowana podczas swoistej immunoterapii alergenem i wykazywać działanie supresorowe na swoiste alergeny limfocyty Th2, za pośrednictwem różnych mechanizmów, m.in. angażujących IL-10, TGF-β, CTLA-4 (antygen 4 limfocytów T cytotoksycznych) i PD-1 (receptor programowanej śmierci) [6]. W badaniach tych stwierdzono istotnie większą liczebność alergenowoswoistych komórek CD4<sup>+</sup> wydzielających IL-10 we krwi osób nieatopowych w porównaniu do pacjentów ze stwierdzoną alergią (np. alergia na pyłek brzozy lub roztocza kurzu domowego); odwrotną korelację stwierdzono w komórkach CD4<sup>+</sup> wydzielających IL-4 (czyli limfocytów o fenotypie utożsamianym z komórkami Th2). Zmniejszone stężenia IL-10 u pacjentów cierpiących na astmę mogą również wynikać ze zmniejszonego jej wytwarzania przez te komórki o fenotypie CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>. Najnowsze badania wykazały,

że odsetek komórek CD4<sup>+</sup> wytwarzających IL-10 i wykazujących ekspresję Foxp3, pozyskanych z BAL pacjentów astmatycznych był znacząco niższy (16,9%) w porównaniu do grupy kontrolnej (31,3%) [9]. Należy podkreślić, że nie jest pewne, czy obniżone stężenie IL-10 u pacjentów cierpiących na astmę wynika wyłącznie ze zmniejszonej liczebności komórek regulatorowych wytwarzających tę cytokinę bądź też innych jej producentów, czy też ma w tym udział zmniejszenie wytwarzania cytokiny przez pojedynczą komórkę.

W dostępnej literaturze znajdują się dane wskazujące, że witamina D może indukować powstawanie CD4<sup>+</sup> komórek regulatorowych wydzielających IL-10, jakkolwiek nie jest pewne czy limfocyty te są tożsame z komórkami Tr1. Stwierdzono, że witamina D sama lub z glikokortykosteroidami, indukowała różnicowanie się naiwnych limfocytów T w limfocyty T CD4<sup>+</sup> regulatorowe wydzielające IL-10 [11,81]. Wykazano także, że przyjmowanie witaminy D zwiększało stężenie TGF-β oraz IL-10, cytokin ściśle związanych z funkcją komórek Treg i Tr1 - w surowicy ludzi [54,81] oraz wzmacniało korzystnie immunoterapię u myszy z alergicznym zapaleniem dróg oddechowych przez mechanizmy IL-10- i TGF-β-zależne [78]. Wyniki badań Hawryłowicza i wsp. [27] wskazują, że u pacjentów z astmą wrażliwą na terapię glikokortykosteroidami leki te indukują powstawanie limfocytów CD4<sup>+</sup>IL-10<sup>+</sup>, podczas gdy u pacjentów z astmą steroidooporną nie indukują. W dalszych badaniach [87] ustalono, że stosowanie witaminy D<sub>3</sub> u pacjentów z astmą steroidooporną przywracało zdolność indukcji przez glikokortykosteroidy limfocytów CD4<sup>+</sup> wytwarzających IL-10.

## IL-17

Wiele badań z ostatnich lat wskazuje, że IL-17, główny czynnik wytwarzany przez komórki Th17, odgrywa ważną rolę w regulacji ekspresji mediatorów prozapalnych oraz rekrutacji i funkcji komórek zapalnych w przebiegu różnych chorób zapalnych, włączając w to astmę [67] i choroby autoimmunologiczne [32]. Należy jednak nadmienić, że mimo iż limfocyty te zyskały „sławę” przede wszystkim jako komórki prozapalne, zaangażowane w patogenezę różnych chorób alergicznych i autoimmunologicznych, to pełnią również istotne funkcje fizjologiczne, m.in. tworząc ważną linię obrony przed zakażeniami bakteryjnymi (umieściwionymi głównie zewnątrzkomórkowo) i grzybiczymi [57]. Cechą charakterystyczną limfocytów Th17, oprócz zdolności do sekrecji dużych ilości IL-17, jest uczestnictwo w rozwoju nadreaktywności oskrzeli. Komórki te nie wydzielają IL-4 i IFN-γ, a także nie wykazują ekspresji czynnika transkrypcyjnego Foxp3 [45]. Pod względem fenotypowym można je określić jako CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup>IL-4<sup>-</sup>IFN-γ<sup>-</sup>Foxp<sup>-</sup>. Działanie limfocytów Th17 wobec komórek Th1 oraz Th2 jest przeciwne do tego jakie wykazuje wobec nich populacja komórek Treg [9]. Obecnie komórki Th17 są uznawane za ważne w patogenezie astmy. Wykazano, że stężenie IL-17 mierzone w BAL pacjentów astmatycznych były znacząco wyższe (15 pg/ml) w porównaniu do grupy kontrolnej (9 pg/ml) [60].



W badaniach porównawczych stężenia IL-17 w płwocinie astmatyków i osób zdrowych również stwierdzono większe stężenia tej cytokiny w pierwszej grupie. Wykazano, że stężenia IL-17 w płwocinie astmatyków korelowały dodatnio ze stopniem nadreaktywności oskrzeli występującej w testach prowokacyjnych z użyciem metacholiny [10]. Ponadto badania prowadzone wśród dzieci astmatycznych i zdrowych wykazały istotnie większe stężenia IL-17 u dzieci chorych (12,09 pg/ml) w porównaniu z wartościami kontrolnymi (2,01 pg/ml) [3]. W innych badaniach stwierdzono, że ekspresja mRNA IL-17 w płwocinie pacjentów astmatycznych była znacząco wyższa w porównaniu do pacjentów zdrowych [12]. Przytaczane wyżej wyniki badań dowodzą istnienia ścisłego związku między zwiększonym wytwarzaniem IL-17 a występowaniem astmy. Istnieje również doniesienie sugerujące, że między stężeniem IL-17 a stopniem ciężkości choroby występuje dodatnia korelacja [2].

Wiele badań wskazuje, że podstawowym źródłem zwiększenia stężenia IL-17 w drogach oddechowych pacjentów cierpiących na astmę są limfocyty Th17 (zakładając, jak to jest obecnie, że fenotyp CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup> jest tożsamy z tymi komórkami), jednak również inne komórki mogą być za to odpowiedzialne. Najnowsze badania wskazują, że w przebiegu astmy dochodzi do znacznego wzrostu liczby limfocytów Th17 w drogach oddechowych. Wykazano bowiem, że odsetek komórek o fenotypie CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup> wyizolowanych z BAL pacjentów astmatycznych był znacząco wyższy (4,6%) w porównaniu do osób zdrowych (2,2%) [9]. Podobne wyniki uzyskano w badaniach eksperymentalnych. W badaniach z użyciem mysiego modelu astmy stwierdzono, że w przebiegu choroby dochodziło do napływu limfocytów Th17 do płuc, co wiązało się ze wzmacnianiem rekrutacji neutrofilów do dróg oddechowych, a także z rozwojem zapalenia eozynofilowego, zależnego od aktywacji limfocytów Th2 [82,84]. Badania przeprowadzone przez Zhao i wsp. [90] z użyciem modelu przewlekłego, alergicznego zapalenia dróg oddechowych wykazały, że w przebiegu choroby dochodziło do mocno wyrażonego nacieku komórek Th17 w płucach oraz do wzrostu ich liczebności w BAL, jednak limfocyty Th17 nie są jedynymi komórkami odpowiedzialnymi za zwiększone wytwarzanie IL-17 u astmatyków, gdyż wykazano znaczący wzrost liczebności komórek IL-17<sup>+</sup>-pozytywnych wśród eozynofilów występujących w płwocinie oraz BAL pozyskanych od pacjentów astmatycznych w porównaniu do osób zdrowych [60]. W innych badaniach stwierdzono zwiększenie liczby komórek IL-17<sup>+</sup> wśród komórek nabłonka dróg oddechowych uzyskanych z biopłatów pacjentów cierpiących na astmę w porównaniu do wartości kontrolnych [7].

## TGF-β - WRÓG I SPRZYMIERZIEC

Transformujący czynnik wzrostu (TGF-β) jest białkiem regulującym procesy rozwoju i homeostazy przez kontrolę przebiegu proliferacji, przeżycia, różnicowania i migracji różnych komórek [28]. W astmie TGF-β ma status cytokiny o podwójnym działaniu w zależności od mikrośrodowiska [55]:

- jest cytokiną wykazującą działanie przeciwzapalne i immunosupresyjne, a upośledzenie jej wytwarzania wydaje się usposabiać do rozwoju astmy;
- wywiera pewne oddziaływania natury prozapalnej i jest zaangażowana w rozwój remodelingu dróg oddechowych w przebiegu astmy.

TGF-β hamuje proliferację i różnicowanie limfocytów T [22], a także jest ważną cytokiną efektorową komórek regulatorowych Tr1 [86] oraz nTreg i iTreg o fenotypie CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> [30]. Ponadto jest niezbędnym czynnikiem do powstawania komórek Treg. Sygnalizacja komórkowa z udziałem TGF-β jest koniecznym bodźcem do rozwoju limfocytów nTreg w grasicy [50,52], prawdopodobnie przez promowanie ich przeżycia [65]. TGF-β sprzyja powstawaniu komórek iTreg przez wzbudzenie ekspresji genu Foxp3 w aktywowanych komórkach niebędących limfocytami regulatorowymi [23,83]. Badania przeprowadzone na modelu astmy wykazały, że upośledzona sygnalizacja TGF-β w obrębie limfocytów T nasilała reakcję zapalną w drogach oddechowych w odpowiedzi na prowokację alergenem [62,75]. Scherf i wsp. [74], w badaniach przeprowadzonych na myszach pozbawionych genu TGF-β wykazali, że jej brak zaostża przebieg astmy doświadczalnej, co ujawniało się m.in. prawie czterokrotnym wzrostem eozynofilów w BAL. Ponadto, dowiedziono, że wywołanie nadekspresji TGF-β w limfocytach T CD4<sup>+</sup> myszy z wywołaną doświadczalnie astmą spowodowało zmniejszenie natężenia zapalenia w drogach oddechowych oraz redukowało nadreaktywność oskrzeli [25], podobnie jak w dotchawicznym wprowadzaniu plazmidów zawierających cDNA TGF-β [19]. Nakashima i wsp. [63], w badaniach z wykorzystaniem modelu astmy, wykazali lokalny (dotyczący węzłów chłonnych płuc) spadek ekspresji mRNA dla TGF-β, połączony ze zredukowaną liczbą komórek Treg. Uwzględniając rolę TGF-β w rozwoju komórek Treg, powyższe wyniki sugerują, że zmniejszone wytwarzanie tej cytokiny zmniejsza liczebność komórek Treg. Pozostaje to w związku z wynikami badań Barczyka i wsp. [9], którzy wykazali, że u pacjentów z astmą przewlekłą dochodzi do zaburzenia równowagi między subpopulacją komórek Treg wytwarzających TGF-β (tj. komórek o fenotypie CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>TGF-β<sup>+</sup>) a subpopulacją Th17. W grupie astmatyków odsetek limfocytów CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>TGF-β<sup>+</sup> był istotnie mniejszy (0,8%) niż w grupie kontrolnej (1,4%), a odsetek komórek CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup> był znacząco większy (4,6%) w porównaniu do pacjentów zdrowych (2,2%). Dysproporcja może mieć znaczenie w rozwoju przebudowy dróg oddechowych; dowiedziono, że obniżenie FEV<sub>1</sub>% (natężona objętość wydechu pierwszosekundowa) występujące u astmatyków, jest skorelowane ze zmniejszeniem odsetka komórek o fenotypie CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>TGF-β<sup>+</sup> z jednoczesnym zwiększeniem odsetka limfocytów CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup> [9].

TGF-β jest odpowiedzialny za promowanie odpowiedzi zapalnej, bowiem wraz z IL-6 indukuje ekspresję IL-17

w naiwnych limfocytach T, tym samym doprowadzając do powstawania komórek Th17 [56], tworzących ważną komponentę reakcji zapalnej w przebiegu wielu chorób. Ponadto niezwykle istotnym aspektem oddziaływania TGF- $\beta$  w astmie jest jej udział w patogenezie przebudowy dróg oddechowych w przebiegu astmy. TGF- $\beta$  oddziałuje na komórki kubkowe nasilając ich proliferację oraz wzmacnia wydzielanie przez nie śluzu. Przez indukcję proliferacji fibroblastów i syntezy macierzy zewnątrzkomórkowej, TGF- $\beta$  przyczynia się do rozprzestrzeniania włóknienia podnabłonkowego w drogach oddechowych. Ponadto nasila proliferację komórek mięśni gładkich oskrzeli oraz bierze udział w przebudowie naczyniowej dróg oddechowych [55]. W biopsjach pobranych z oskrzeli pacjentów z astmą i osób zdrowych, zaobserwowano wzrost ekspresji TGF- $\beta$  u astmatyków [43]. Wiąże się to z wynikami badań uzyskanymi przez Chakira i wsp. [13], którzy również wykazali nasiloną ekspresję TGF- $\beta$  w drogach oddechowych astmatyków w porównaniu do grupy kontrolnej. Ponadto, zwiększone stężenie TGF- $\beta$  wykazano także w osoczu pacjentów z astmą (2,5 ng/ml) w porównaniu do osób zdrowych (1,5 ng/ml) [34], co potwierdziły inne badania [38].

Powyższe badania wskazują na dwoistość roli/udziału TGF- $\beta$  w patogenezie astmy: z jednej strony niedobór TGF- $\beta$  może pozostawać w związku z rozwojem tej choroby, z drugiej zaś, cytokina ta bierze udział w przebudowie dróg oddechowych u pacjentów z astmą. Należy zakładać, że kierunek działania TGF- $\beta$  zależy od tego, gdzie i przez jaki rodzaj komórek jest wydzielana. W patogenezie astmy najwyraźniej ma udział upośledzenie sygnalizacji TGF- $\beta$  w „kompartymencie komórek Treg” oraz wzrost wytwa-

rzania tej cytokiny przez inne komórki, np. fibroblasty, eozynofile, makrofagi i komórki tuczne.

## PODSUMOWANIE

Współczesna medycyna upatruje nowe perspektywy leczenia chorób alergicznych w modulowaniu funkcji i liczności komórek Treg oraz wytwarzaniu IL-10, IL-17 i TGF- $\beta$ . Obecnie najlepszą terapią astmy pozostaje steroidoterapia połączona z lekami  $\beta$ -adrenergicznymi, co potwierdzają liczne badania wskazujące na modulacyjną rolę glikokortykosteroidów wobec komórek efektorowych i regulatorowych [66,68,89]. Istnieją również doniesienia przedstawiające możliwość promowania funkcji komórek Treg i wytwarzania cytokin przeciwzapalnych za pomocą takich substancji jak jad pszczeleli,  $\beta$ -glukany, czy witamina D<sub>3</sub> [14,15,39], co wskazuje na ich potencjalną wartość terapeutyczną w astmie steroidoopornej oraz jako leczenie wspomagające w innych chorobach alergicznych.

W artykule podjęto próbę omówienia współczesnego stanu wiedzy na temat roli komórek T-regulatorowych, IL-10, IL-17 oraz TGF- $\beta$  w patogenezie astmy oskrzelowej. Wiele wskazuje, że upośledzona funkcja lub zmniejszona liczba komórek Treg, a także zaburzenia wytwarzania tych cytokin wiążą się z rozwojem astmy. Uwzględniając wiele wzajemnych oddziaływań między różnymi typami komórek immunokompetentnych, a tym samym między różnymi procesami immunologicznymi, nie można stwierdzić, czy zaburzenia te leżą u podstaw rozwoju astmy, czy też są tylko elementem składającym się na złożony patomechanizm astmy.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Agache I., Akdis C., Jutel M., Virchow J.C.: Untangling asthma phenotypes and endotypes. *Allergy*, 2012; 67: 835-846
- [2] Agache I., Ciobanu C., Agache C., Anghel M.: Increased serum IL-17 is an independent risk factor for severe asthma. *Respir. Med.*, 2010; 104: 1131-1137
- [3] Agarwal A., Singh M., Chatterjee B.P., Chauhan A., Chakraborti A.: Interplay of T helper 17 cells with CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>FOXP3<sup>+</sup>Tregs in regulation of allergic asthma in pediatric patients. *Int. J. Pediatr.*, 2014; 2014: 636238
- [4] Akdis C.A.: Therapies for allergic inflammation: refining strategies to induce tolerance. *Nat. Med.*, 2012; 18: 736-749
- [5] Akdis C.A., Blesken T., Akdis M., Wüthrich B., Blaser K.: Role of interleukin 10 in specific immunotherapy. *J. Clin. Invest.*, 1998; 102: 98-106
- [6] Akdis M., Verhagen J., Taylor A., Karamloo F., Karagiannidis C., Cramer R., Thunberg S., Deniz G., Valenta R., Fiebig H., Kegel C., Disch R., Schmidt-Weber C.B., Blaser K., Akdis C.A.: 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
- [7] Al-Ramli W., Préfontaine D., Chouiali F., Martin J.G., Olivenstein R., Lemièrre C., Hamid Q.: T<sub>H</sub>17-associated cytokines (IL-17A and IL-17F) in severe asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2009; 123: 1185-1187
- [8] Baecher-Allan C., Brown J.A., Freeman G.J., Hafler D.A.: CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> regulatory cells in human peripheral blood. *J. Immunol.*, 2001; 167: 1245-1253
- [9] Barczyk A., Pierzchała W., Caramori G., Wiaderkiewicz R., Kaminski M., Barnes P.J., Adcock I.M.: Decreased percentage of CD4<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>TGF- $\beta$ <sup>+</sup> and increased percentage of CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup> cells in bronchoalveolar lavage of asthmatics. *J. Inflamm.*, 2014; 11: 22
- [10] Barczyk A., Pierzchała W., Sozanska E.: Interleukin-17 in sputum correlates with airway hyperresponsiveness to methacholine. *Respir. Med.*, 2003; 97: 726-733
- [11] Barrat F.J., Cua D.J., Boonstra A., Richards D.F., Crain C., Savelkoul H.F., de Waal-Malefyt R., Coffman R.L., Hawrylowicz C.M., O'Garra A.: In vitro generation of interleukin 10-producing regulatory CD4<sup>+</sup> T cells is induced by immunosuppressive drugs and inhibited by T helper type 1 (Th1)- and Th2-inducing cytokines. *J. Exp. Med.*, 2002; 195: 603-616
- [12] Bulls D.M., Truyen E., Coteur L., Dilissen E., Hellings P.W., Dupont L.J., Ceuppens J.L.: IL-17 mRNA in sputum of asthmatic patients: linking T cell driven inflammation and granulocytic influx? *Respir. Res.*, 2006; 7: 135
- [13] Chakir J., Shannon J., Molet S., Fukakusa M., Elias J., Lavolette M., Boulet L.P., Hamid Q.: Airway remodeling-associated mediators in moderate to severe asthma: effect of steroids on TGF- $\beta$ , IL-11, IL-17, and type I and type III collagen expression. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2003; 111: 1293-1298
- [14] Chambers E.S., Suwannasaen D., Mann E.H., Urry Z., Richards D.F., Lertmengkolchai G., Hawrylowicz C.M.: 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin



- D<sub>3</sub> in combination with transforming growth factor- $\beta$  increases the frequency of Foxp3<sup>+</sup>regulatory T cells through preferential expansion and usage of interleukin-2. *Immunology*, 2014; 143: 52-60
- [15] Choi M.S., Park S., Choi T., Lee G., Haam K.K., Hong M.C., Min B.I., Bae H.: Bee venom ameliorates ovalbumin induced allergic asthma via modulating CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in mice. *Cytokine*, 2013; 61: 256-265
- [16] Corthay A.: How do regulatory T cells work? *Scand. J. Immunol.*, 2009; 70: 326-336
- [17] Dao Nguyen X., Robinson D.S.: Fluticasone propionate increases CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T regulatory cell suppression of allergen-stimulated CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T cells by an IL-10-dependent mechanism. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2004; 114: 296-301
- [18] Eusebio M., Kraszula L., Kupczyk M., Kuna P., Pietruczuk M.: Low frequency of CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>BRIGHT T cells and FOXP3 mRNA expression in the peripheral blood of allergic asthma patients. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents*, 2012; 26: 211-20
- [19] Fu C.L., Chuang Y.H., Chau L.Y., Chiang B.L.: Effects of adenovirus-expressing IL-10 in alleviating airway inflammation in asthma. *J. Gene. Med.*, 2006; 8: 1393-1399
- [20] Fu C.L., Ye Y.L., Lee Y.L., Chiang B.L.: Effects of overexpression of IL-10, IL-12, TGF- $\beta$  and IL-4 on allergen induced change in bronchial responsiveness. *Respir. Res.*, 2006; 7: 72
- [21] GINA. <http://www.ginasthma.org> (05.12.2014)
- [22] Gorelik L., Flavell R.A.: Transforming growth factor- $\beta$  in T-cell biology. *Nat. Rev. Immunol.*, 2002; 2: 46-53
- [23] Gu A.D., Wang Y., Lin L., Zhang S.S., Wan Y.Y.: Requirements of transcription factor Smad-dependent and -independent TGF- $\beta$  signaling to control discrete T-cell functions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012; 109: 905-910
- [24] Gupta A., Dimeloe S., Richards D.F., Chambers E.S., Black C., Urry Z., Ryanna K., Xystrakis E., Bush A., Saglani S., Hawrylowicz C.M.: Defective IL-10 expression and in vitro steroid-induced IL-17A in paediatric severe therapy-resistant asthma. *Thorax*, 2014; 69: 508-515
- [25] Hansen G., McIntire J.J., Yeung V.P., Berry G., Thorbecke G.J., Chen L., DeKruyff R.H., Umetsu D.T.: CD4<sup>+</sup> T helper cells engineered to produce latent TGF- $\beta$ 1 reverse allergen-induced airway hyperreactivity and inflammation. *J. Clin. Invest.*, 2000; 105: 61-70
- [26] 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
- [27] Hawrylowicz C., Richards D., Loke T.K., Corrigan C., Lee T.: A defect in corticosteroid-induced IL-10 production in T lymphocytes from corticosteroid-resistant asthmatic patients. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2002; 109: 369-370
- [28] Horbelt D., Denkis A., Knaus P.: A portrait of transforming growth factor  $\beta$  superfamily signalling: Background matters. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2012; 44: 469-474
- [29] Hori S., Nomura T., Sakaguchi S.: Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science*, 2003; 299: 1057-1061
- [30] Horwitz D.A., Zheng S.G., Wang J., Gray J.D.: Critical role of IL-2 and TGF- $\beta$  in generation, function and stabilization of Foxp3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Treg. *Eur. J. Immunol.*, 2008; 38: 912-915
- [31] Huang H.R., Liu T.T., Wei J., Mai X.D., Wu B.J., Tan W.P.: Changes of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells and their relation with the allergic physique and the levels of IgE in peripheral blood of asthmatic children. *Chin. J. Clinicians.*, 2004; 3: 780-784
- [32] Hus I., Maciąg E., Roliński J.: Znaczenie limfocytów Th17 w odporności przeciwnowotworowej. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 244-250
- [33] John M., Lim S., Seybold J., Jose P., Robichaud A., O'Connor B., Barnes P.J., Chung K.F.: Inhaled corticosteroids increase interleukin-10 but reduce macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$ , granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, and interferon- $\gamma$  release from alveolar macrophages in asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1998; 157: 256-262
- [34] Joseph J., Benedict S., Badrinath P., Wassef S., Joseph M., Abdulkhalik S., Nicholls M.G.: Elevation of plasma transforming growth factor  $\beta$ 1 levels in stable nonatopic asthma. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2003; 91: 472-476
- [35] Jutel M.: Allergen-specific immunotherapy in asthma. *Curr. Treat. Options Allergy*, 2014; 1: 213-219
- [36] Jutel M., Akdis M., Budak F., Aebischer-Casaulta C., Wrzyszczyk M., Blaser K., Akdis C.A.: IL-10 and TGF- $\beta$  cooperate in the regulatory T cell response to mucosal allergens in normal immunity and specific immunotherapy. *Eur. J. Immunol.*, 2003; 33: 1205-1214
- [37] Karagiannidis C., Akdis M., Holopainen P., Woolley N.J., Hense G., Ruckert B., Mantel P.Y., Menz G., Akdis C.A., Blaser K., Schmidt-Weber C.B.: Glucocorticoids upregulate FOXP3 expression and regulatory T cells in asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2004; 114: 1425-1433
- [38] Karagiannidis C., Hense G., Martin C., Epstein M., Rückert B., Mantel P.Y., Menz G., Uhlig S., Blaser K., Schmidt-Weber C.B.: Activin A is an acute allergen-responsive cytokine and provides a link to TGF- $\beta$ -mediated airway remodeling in asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2006; 117: 111-118
- [39] Kawashima S., Hirose K., Iwata A., Takahashi K., Ohkubo A., Tamachi T., Ikeda K., Kagami S., Nakajima H.:  $\beta$ -glucan curdlan induces IL-10-producing CD4<sup>+</sup> T cells and inhibits allergic airway inflammation. *J. Immunol.*, 2012; 189: 5713-5721
- [40] Kawayama T., Matsunaga K., Kaku Y., Yamaguchi K., Kinoshita T., O'Byrne P.M., Hoshino T.: Decreased CTLA4<sup>+</sup> and Foxp3<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>CD4<sup>+</sup> cells in induced sputum from patients with mild atopic asthma. *Allergol. Int.*, 2013; 62: 203-213
- [41] Kearley J., Barker J.E., Robinson D.S., Lloyd C.M.: Resolution of airway inflammation and hyperreactivity after in vivo transfer of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells is interleukin 10 dependent. *J. Exp. Med.*, 2005; 202: 1539-1547
- [42] Kearley J., Robinson D.S., Lloyd C.M.: CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells reverse established allergic airway inflammation and prevent airway remodeling. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2008; 122: 617-624
- [43] Kokturk N., Tatlicioglu T., Memis L., Akyurek N., Akyol G.: Expression of transforming growth factor  $\beta$ 1 in bronchial biopsies in asthma and COPD. *J. Asthma*, 2003; 40: 887-893
- [44] Kudo M., Ishigatsubo Y., Aoki I.: Pathology of asthma. *Front. Microbiol.*, 2013; 4: 263
- [45] Kudo M., Melton A.C., Chen C., Engler M.B., Huang K.E., Ren X., Wang Y., Bernstein X., Li J.T., Atabai K., Huang X., Sheppard D.: IL-17A produced by  $\alpha\beta$  T cells drives airway hyper-responsiveness in mice and enhances mouse and human airway smooth muscle contraction. *Nat. Med.*, 2012; 18: 547-554
- [46] Langier S., Sade K., Kivity S.: Regulatory T cells in allergic asthma. *Isr. Med. Assoc. J.*, 2012; 14: 180-183
- [47] Leech M.D., Benson R.A., De Vries A., Fitch P.M., Howie S.E.: Resolution of Der p1-induced allergic airway inflammation is dependent on CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory cells. *J. Immunol.*, 2007; 179: 7050-7058
- [48] Lemanske R.F., Busse W.W.: Asthma: clinical expression and molecular mechanisms. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2010; 125: S95-S102
- [49] Lewkowich I.P., Herman N.S., Schleifer K.W., Dance M.P., Chen B.L., Dienger K.M., Sproles A.A., Shah J.S., Köhl J., Belkaid Y., Wills-Karp M.: CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T cells protect against experimentally induced asthma and alter pulmonary dendritic cell phenotype and function. *J. Exp. Med.*, 2005; 202: 1549-1561



- [50] Li M.O., Sanjabi S., Flavell R.A.: Transforming growth factor- $\beta$  controls development, homeostasis, and tolerance of T cells by regulatory T cell-dependent and -independent mechanisms. *Immunity*, 2006; 25: 455-471
- [51] Ling E.M., Smith T., Nguyen X.D., Pridgeon C., Dallman M., Arbery J., Carr V.A., Robinson D.S.: Relation of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T-cell suppression of allergen-driven T-cell activation to atopic status and expression of allergic disease. *Lancet*, 2004; 363: 608-615
- [52] Liu Y., Zhang P, Li J., Kulkarni A.B., Perruche S., Chen W.: A critical function for TGF- $\beta$  signaling in the development of natural CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells. *Nat. Immunol.*, 2008; 9: 632-640
- [53] Maazi H., Shirinbak S., Willart M., Hammad H.M., Cabanski M., Boon L., Ganesh V., Baru A.M., Hansen G., Lambrecht B.N., Sparwasser T., Nawijn M.C., van Oosterhout A.J.: Contribution of regulatory T cells to alleviation of experimental allergic asthma after specific immunotherapy. *Clin. Exp. Allergy*, 2012; 42: 1519-1528
- [54] Mahon B.D., Gordon S.A., Cruz J., Cosman F., Cantorna M.T.: Cytokine profile in patients with multiple sclerosis following vitamin D supplementation. *J. Neuroimmunol.*, 2003; 134: 128-132
- [55] Makinde T., Murphy R.F., Agrawal D.K.: The regulatory role of TGF- $\beta$  in airway remodeling in asthma. *Immunol. Cell Biol.*, 2007; 85: 348-356
- [56] Mangan P.R., Harrington L.E., O'Quinn D.B., Helms W.S., Bullard D.C., Elson C.O., Hatton R.D., Wahl S.M., Schoeb T.R., Weaver C.T.: Transforming growth factor- $\beta$  induces development of the T<sub>H</sub>17 lineage. *Nature*, 2006; 441: 231-234
- [57] Marwaha A.K., Leung N.J., McMurchy A.N., Levings M.K.: TH17 cells in autoimmunity and immunodeficiency: protective or pathogenic? *Front. Immunol.*, 2012; 3: 129
- [58] Maślanka T.: Komórki regulatorowe z populacji limfocytów CD4<sup>+</sup>. *Med. Wet.*, 2010; 66: 827-832
- [59] Meiler F., Zumkehr J., Klunker S., Rückert B., Akdis C.A., Akdis M.: In vivo switch to IL-10-secreting T regulatory cells in high dose allergen exposure. *J. Exp. Med.*, 2008; 205: 2887-2898
- [60] Molet S., Hamid Q., Davoine F., Nutku E., Taha R., Page N., Olivenstein R., Elias J., Chakir J.: IL-17 is increased in asthmatic airways and induces human bronchial fibroblasts to produce cytokines. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001; 108: 430-438
- [61] Moore K.W., de Waal Malefyt R., Coffman R.L., O'Garra A.: Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu. Rev. Immunol.*, 2001; 19: 683-765
- [62] Nakao A., Miike S., Hatano M., Okumura K., Tokuhisa T., Ra C., Iwamoto I.: Blockade of transforming growth factor  $\beta$ /Smad signaling in T cells by overexpression of Smad7 enhances antigen-induced airway inflammation and airway reactivity. *J. Exp. Med.*, 2000; 192: 151-158
- [63] Nakashima T., Hayashi T., Mizuno T.: Regulation of the development of asthmatic inflammation by in situ CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>T cells in a mouse model of late allergic asthma. *Inflammation*, 2014; 37: 1642-1653
- [64] Olsen P.C., Kitoko J.Z., Ferreira T.P., de-Azevedo C.T., Arantes A.C., Martins M.A.: Glucocorticoids decrease Treg cell numbers in lungs of allergic mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 2015; 747: 52-58
- [65] Ouyang W., Beckett O., Ma Q., Li M.O.: Transforming growth factor- $\beta$  signaling curbs thymic negative selection promoting regulatory T cell development. *Immunity*, 2010; 32: 642-653
- [66] Pace E., Di Sano C., La Grutta S., Ferraro M., Albergiani G., Liotta G., Di Vincenzo S., Uasuf C.G., Bousquet J., Gjomarkaj M.: Multiple in vitro and in vivo regulatory effects of budesonide in CD4<sup>+</sup> T lymphocyte subpopulations of allergic asthmatics. *PLoS One*, 2012; 7: e48816
- [67] Park S.J., Lee Y.C.: Interleukin-17 regulation: an attractive therapeutic approach for asthma. *Respir. Res.*, 2010; 11: 78
- [68] Provoost S., Maes T., van Durme Y.M., Gevaert P., Bachert C., Schmidt-Weber C.B., Brusselle G.G., Joos G.F., Tournoy K.G.: Decreased FOXP3 protein expression in patients with asthma. *Allergy*, 2009; 64: 1539-1546
- [69] Radulovic S., Jacobson M.R., Durham S.R., Nouri-Aria K.T.: Grass pollen immunotherapy induces Foxp3-expressing CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> cells in the nasal mucosa. *J Allergy Clin. Immunol.*, 2008; 121: 1467-1472
- [70] Raeiszadeh Jahromi S., Mahesh P.A., Jayaraj B.S., Madhunapantula S.R., Holla A.D., Vishweswaraiha S., Ramachandra N.B.: Serum levels of IL-10, IL-17F and IL-33 in patients with asthma: a case-control study. *J. Asthma*, 2014; 51: 1004-1013
- [71] Robinson D.S.: The role of the T cell in asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2010; 126: 1081-1091
- [72] Roncarolo M. G., Bacchetta R., Bordignon C., Narula S., Levings, M. K.: Type 1 T regulatory cells. *Immunol. Rev.*, 2001; 182: 68-79
- [73] Saxena A., Khosraviyani S., Noel S., Mohan D., Donner T., Hamad A.R.: Interleukin-10 paradox: a potent immunoregulatory cytokine that has been difficult to harness for immunotherapy. *Cytokine*, 2015; 74: 27-34
- [74] Scherf W., Burdach S., Hansen G.: Reduced expression of transforming growth factor  $\beta$ 1 exacerbates pathology in an experimental asthma model. *Eur. J. Immunol.*, 2005; 35: 198-206
- [75] Schramm C., Herz U., Podlech J., Protschka M., Finotto S., Reddehase M.J., Köhler H., Galle P.R., Lohse A.W., Blessing M.: TGF- $\beta$  regulates airway responses via T cells. *J. Immunol.*, 2003; 170: 1313-1319
- [76] Shi Y.H., Shi G.C., Wan H.Y., Jiang L.H., Ai X.Y., Zhu H.X., Tang W., Ma J.Y., Jin X.Y., Zhang B.Y.: Coexistence of Th1/Th2 and Th17/Treg imbalances in patients with allergic asthma. *Chin. Med. J.*, 2011; 124: 1951-1956
- [77] Stelmaszczyk-Emmel A., Zawadzka-Krajewska A., Głodkowska-Mrówka E., Demkow U.: FoxP3 Tregs response to sublingual allergen specific immunotherapy in children depends on the manifestation of allergy. *J. Immunol. Res.*, 2015; 2015: 731381
- [78] Taher Y.A., van Esch B.C., Hofman G.A., Henricks P.A., van Oosterhout A.J.: 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> potentiates the beneficial effects of allergen immunotherapy in a mouse model of allergic asthma: role for IL-10 and TGF- $\beta$ . *J. Immunol.*, 2008; 180: 5211-5221
- [79] Tang Q., Bluestone J.A.: The Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cell: a jack of all trades, master of regulation. *Nat. Immunol.*, 2008; 9: 239-244
- [80] Thunberg S., Gafvelin G., Nord M., Grönneberg R., Grunewald J., Eklund A., van Hage M.: Allergen provocation increases TH2-cytokines and FOXP3 expression in the asthmatic lung. *Allergy*, 2010; 65: 311-318
- [81] Urry Z., Xystrakis E., Richards D.F., McDonald J., Sattar Z., Cousins D.J., Corrigan C.J., Hickman E., Brown Z., Hawrylowicz C.M.: Ligation of TLR9 induced on human IL-10-secreting Tregs by 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> abrogates regulatory function. *J. Clin. Invest.*, 2009; 119: 387-398
- [82] Wakashin H., Hirose K., Maezawa Y., Kagami S., Suto A., Watanabe N., Saito Y., Hatano M., Tokuhisa T., Iwakura Y., Puccetti P., Iwamoto I., Nakajima H.: IL-23 and Th17 cells enhance Th2-cell-mediated eosinophilic airway inflammation in mice. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2008; 178: 1023-1032
- [83] Wan Y.Y., Flavell R.A.: Identifying Foxp3-expressing suppressor T cells with a bicistronic reporter. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 5126-5131
- [84] Wilson R.H., Whitehead G.S., Nakano H., Free M.E., Kolls J.K., Cook D.N.: Allergic sensitization through the airway primes Th17-dependent neutrophilia and airway hyperresponsiveness. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2009; 180: 720-730
- [85] Workman C.J., Szymczak-Workman A.L., Collison L.W., Pillai M.R., Vignali D.A.: The development and function of regulatory T cells. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2009; 66: 2603-2622



[86] Wu K., Bi Y., Sun K., Wang C.: IL-10-producing type 1 regulatory T cells and allergy. *Cell. Mol. Immunol.*, 2007; 4: 269-275

[87] Xystrakis E., Kusumakar S., Boswell S., Peek E., Urry Z., Richards D.F., Adikibi T., Pridgeon C., Dallman M., Loke T.K., Robinson D.S., Barrat F.J., O'Garra A., Lavender P., Lee T.H., Corrigan C., Hawrylowicz C.M.: Reversing the defective induction of IL-10-secreting regulatory T cells in glucocorticoid-resistant asthma patients. *J. Clin. Invest.*, 2006; 116: 146-155

[88] Yang L., Ma Q., Yao W., Zhang Q., Chen H., Wang G., Wang C.: Relationship between the anti-inflammatory properties of salmeterol/fluticasone and the expression of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory

T cells in COPD. *Respir. Res.*, 2011; 12: 142

[89] Yang Y.L., Pan Y.Q., He B.S., Zhong T.Y.: Regulatory T cells and Th1/Th2 in peripheral blood and their roles in asthmatic children. *Transl. Pediatr.*, 2013; 2: 27-33

[90] Zhao J., Lloyd C.M., Noble A.: Th17 responses in chronic allergic airway inflammation abrogate regulatory T-cell-mediated tolerance and contribute to airway remodeling. *Mucosal Immunol.*, 2013; 6: 335-346

---

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów