

ВЗАИМОСВЯЗЬ УРОВНЯ И ФЕНОТИПА FOXP3+ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-КЛЕТОК С АКТИВНОСТЬЮ ЗАБОЛЕВАНИЯ И УРОВНЕМ ОСТРОФАЗОВЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С РАННИМ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

¹ А.С.Авдеева, ² Ю.П.Рубцов, ¹ Т.В.Попкова, ² Д.Т.Дыйканов,
¹ Е.Н.Александрова, ¹ Е.Л.Насонов

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А.Насоновой»
(ФГБНУ НИИР им. В.А.Насоновой), г.Москва, Российская Федерация
Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В.Ломоносова,
г.Москва, Российская Федерация

FoxP3+ регуляторные Т клетки (Т-рег) играют ключевую роль в поддержании периферической толерантности к собственным антигенам. Т-рег клетки способны подавлять Т-клеточный иммунный ответ и таким образом регулировать иммунные реакции, в результате чего им отводится ведущая роль в патогенезе аутоиммунных заболеваний. При раннем ревматоидном артрите (РА) выявлено снижение уровня Т-рег клеток в периферическом кровотоке, а также уменьшение уровня маркеров функционально-активных Т-рег, что ассоциировалось с более высокой активностью заболевания.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, Т-регуляторные клетки, активность заболевания.

FoxP3+ регуляторные Т клетки (Т-рег) играют ключевую роль в поддержании периферической толерантности к собственным антигенам. Т-рег клетки способны подавлять Т-клеточный иммунный ответ и таким образом регулировать иммунные реакции, в результате чего им отводится ведущая роль в патогенезе аутоиммунных заболеваний [1, 2]. Регуляторные Т-клетки экспрессируют широкий спектр мембранных молекул, которые определяют их функциональную активность и позволяют идентифицировать эти клетки в кровотоке [3, 4], однако до сих пор ведутся споры по поводу универсального поверхностного маркера, позволяющего выделить данную клеточную субпопуляцию из пула Т-лимфоцитов. Наиболее специфическим внутриклеточным маркером Т-рег клеток является ядерный фактор транскрипции Foxp3, который имеет фундаментальное значение в развитии Т-рег клеток и их ингибиторной функции [3]. В качестве поверхностных маркеров Т-рег клеток могут использоваться CD25 (α-цепь рецептора IL-2), CTLA-4 (CD152, cytotoxic T lymphocyte antigen 4), CD95 (Fas), CD127^{low} и ряд других. У человека Т-рег клетки относятся к субпопуляции CD4+Foxp3+Т клеток и отличаются высокой экспрессией CD25 и низкой экспрессией CD127 [5, 6].

В настоящее время в литературе представлено большое количество работ, посвященных оценке числа и фенотипа Т-рег клеток при РА. В подав-

ляющем большинстве из них выявляется увеличение содержания Т-рег клеток в синовиальной жидкости пациентов с РА [7, 8], однако данные об уровне данной клеточной субпопуляции в периферической крови весьма противоречивы. Большинство исследователей наблюдали уменьшение процентного числа циркулирующих Т-рег клеток [9, 10], в то время как в других работах выявлено увеличение [11] или отсутствие отличий в уровне Т-рег клеток от здоровых доноров [12]. Полагают, что количественный дефект CD4+CD25+Foxp3+CD127- регуляторных клеток особенно характерен для раннего РА и ассоциируется с риском развития РА у бессимптомных пациентов, позитивных по АЦЦП [13]. Также в литературе представлены противоречивые данные о взаимосвязи уровня Т-рег клеток с клинико-лабораторными показателями активности РА. Так в ряде работ выявлена обратная корреляционная взаимосвязь между DAS 28 и процентом циркулирующих Foxp3+ регуляторных клеток [9]; с другой стороны среди пациентов с высокой активностью заболевания авторы регистрируют высокое содержание CD25+Foxp3+ Т-клеток [14]. Также следует отметить, что ни в одной работе не выявлялась ассоциация между процентным содержанием Т-рег клеток, а также возрастом, полом, длительностью заболевания, серопозитивностью по РФ и АЦЦП и эрозивным поражением суставов [10]. Целью нашей работы являлось: проана-

лизировать процентное и абсолютное содержание Т-рег клеток в периферической крови здоровых доноров и пациентов с ранним РА методом проточной цитометрии; оценить взаимосвязь между количеством и фенотипом Т-рег клеток и активностью РА.

Материал и методы: В исследование было включено 39 пациентов (5 мужчин и 34 женщины) с ранним РА (критерии ACR/EULAR 2010 г.), не получавших предшествующей терапии базисными противовоспалительными препаратами и глюкокортикоидами, средний возраст 50 (32-58) лет, длительность заболевания 5 (4-6) месяцев, медиана DAS 28 5,1 (4,3-5,8). РФ позитивных – 26 (66,7%), АЦЦП позитивных – 34 (87,2%). Всем пациентам в качестве первого БПВП был назначен метотрексат (МТ) в начальной дозе 10 мг/нед. Определение СОЭ осуществляли стандартным международным методом по Вестергрену (норма ≤ 30 мм/ч). Сывороточную концентрацию СРБ и IgM РФ измеряли иммунонефелометрическим методом на анализаторе BN ProSpec («Siemens», Германия). Нормальный уровень СРБ в сыворотке крови составлял $\leq 5,0$ мг/л. По инструкции фирмы-изготовителя за верхнюю границу нормы IgM РФ была принята концентрация, равная 15,0 МЕ/мл. Количественное определение АЦЦП в сыворотке крови проводили электрохемилюминисцентным методом на анализаторе Cobas e411 («Roche», Швейцария) (верхняя граница нормы 17,0 ЕД/мл), а также методом иммуноферментного анализа с помощью коммерческого набора реагентов («Axis-Shield», Великобритания), верхняя граница нормы – 5,0 Ед/мл. Относительное и абсолютное количество Т-рег клеток (FoxP3+CD25+; CD152+surface; CD152+intracellular; FoxP3+CD127-; CD25+CD127-; FoxP3+ICOS+; FoxP3+CD154+; FoxP3+CD274+) определялось методом многоцветной проточной цитофлуориметрии на анализаторе BD LSR Fortessa Special Order Research Product (BD). Контрольную группу составили 20 здоровых доноров, сопоставимых по полу и возрасту с обследованными пациентами.

Результаты и обсуждение. У пациентов с ранним РА по сравнению со здоровыми донорами регистрировалось более низкое процентное количество FoxP3+CD25+ клеток ((5,53 (4,09-6,48 и 6,92 (5,84-7,96)), процентное и абсолютное количество FoxP3+ICOS+ клеток ((6,91 (2,14-11,47) и 10,83 (9,27-13,7); 0,0035 (0,0013-0,0067) и 0,0068 (0,0039-0,009)), процентное и абсолютное количество FoxP3+CD154+ клеток ((0,47 (0,19-0,83) и 1,51 (1,12-2,08); 0,0002 (0,00009-0,0005) и 0,00087 (0,00047-0,0014)) и

FoxP3+CD274+ Т-клеток (0,63 (0,34-1,49) и 1,94 (1,16-2,25); 0,0003 (0,0002-0,00065) и 0,001 (0,0006-0,0016), $p < 0,05$ во всех случаях) (рис. 1).

Регистрировалась отрицательная корреляционная взаимосвязь: процентного количества FoxP3+CD25+ с СРБ ($r = -0,4$) и СОЭ ($r = -0,43$); ПК CD152+intracellular с DAS 28 ($r = -0,4$), СОЭ ($r = -0,52$) СРБ ($r = -0,55$); ПК FoxP3+CD127- с СОЭ ($r = -0,41$), СРБ ($r = -0,48$); ПК CD25+CD127- с DAS28 ($r = -0,53$), SDAI ($r = -0,5$), CDAI ($r = -0,44$), СОЭ ($r = -0,56$), СРБ ($r = -0,53$), $p < 0,05$ во всех случаях.

В группе пациентов с высокой активностью заболевания (DAS 28 > 5,1 SDAI > 26 CDAI > 22, $n = 27$) регистрировалось более низкое процентное количество CD25+CD127- Т-клеток по сравнению с больными с низкой/умеренной активностью патологического процесса (5,1; 4,9-5,6 и 6,9; 6,4-7,9, $P < 0,05$) (рис. 2).

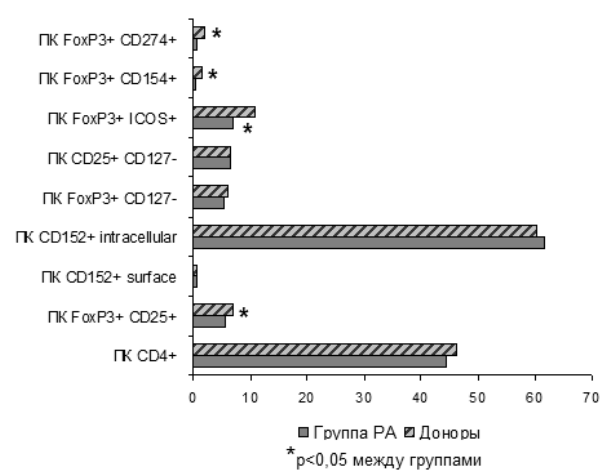


Рис. 1. Процентное содержание субпопуляций Т-рег клеток в периферической крови больных РА и здоровых доноров

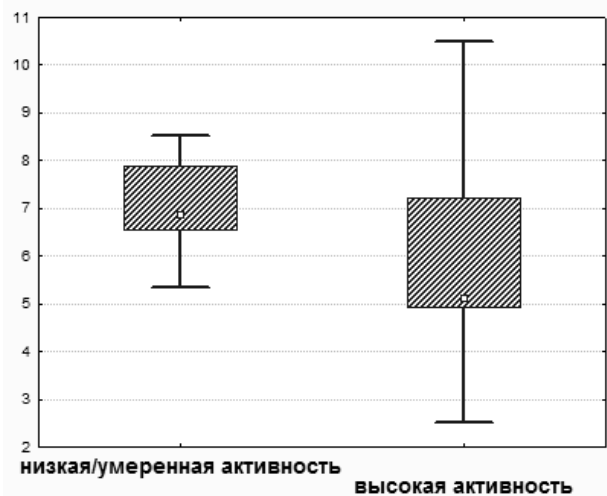


Рис. 2. Процентное количество CD25+CD127-Т клеток в группах пациентов с РА в зависимости от активности заболевания

Заключение: У МТ-наивных пациентов с ранним РА наблюдается более низкий относительный уровень FoxP3+CD25+T-рег клеток, а также низкое процентное и абсолютное количество FoxP3+ICOS+, FoxP3+CD154+, FoxP3+CD274+ T-клеток по сравнению со здоровыми донорами. Данные маркеры характеризуют активированные T-рег клетки, способные к эффективной иммуносупрессии. Учитывая снижение их уровня на поверхности T-рег клеток, а также уменьшение числа клеток, их синтезирующих, можно говорить о снижении функции T-рег при раннем РА. Также было установлено, что снижение уровня T-рег клеток при раннем РА (CD25+CD127-, FoxP3+CD127-) ассоциируется с более высокой активностью заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Быковская С.Н., Насонов Е.Л. Роль дефектов иммуносупрессии в развитии аутоиммунных заболеваний. Научно-практическая ревматология. 2005;(4):81–4. [Bykovskaya S.N., Nasonov E.L. Role of immunosuppression defects in the development of autoimmune diseases. Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2005;(4):81–4. (In Russ.)]. DOI: <http://dx.doi.org/10.14412/1995-4484-2005-623>.
2. Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance. Cell. 2008;133(5):775–87. DOI: 10.1016/j.cell.2008.05.009
3. Rudensky AY. Regulatory T cells and FoxP3. Immunol Rev. 2011;241:260–8. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2011.01018.x.
4. Abbas A.K., Benoist C., Bluestone J.A. et al. Regulatory T cells: recommendations to simplify the nomenclature. Nat Immunol. 2013;14(4):300–8. DOI: 10.1038/ni.2554.
5. Miyara M., Yoshioka Y., Kitoh A. et al. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4+ T cells expressing the FoxP3 transcription factor. Immunity. 2009b; 30: 899–911.
6. Miyara M, Ito Y, Sakaguchi S. T reg-cell therapies for autoimmune rheumatic diseases. Nat Rev Rheumatol. 2014. DOI: 10.1038/nrhheum.2014.105.
7. D. Cao, R. van Vollenhoven, L. Klareskog, C. Trollmo, and V. Malmstrom, “CD25+CD4+ regulatory T cells are enriched in inflamed joints of patients with chronic rheumatic disease,” Arthritis research & therapy, 2004; 6: R335–R346.
8. J. M. R. van Amelsfort, K. M. G. Jacobs, J. W. J. Bijlsma, F. P. J. G. Lafeber, and L. S. Taams, “CD4+CD25+ regulatory T cells in rheumatoid arthritis: differences in the presence, phenotype, and function between peripheral blood and synovial fluid,” Arthritis and Rheumatism. 2004; 50: 2775–2785.
9. J. M. Sempere-Ortells, V. Prerez-Garcera, G. Marrón-Alberca et al., “Quantification and phenotype of regulatory T cells in rheumatoid arthritis according to disease activity Score-28,” Autoimmunity. 2009; 42: 636–645.
10. S.-Y. Kawashiri, A. Kawakami, A. Okada et al., “CD4+CD25(high)CD127(low/-) Treg cell frequency from peripheral blood correlates with disease activity in patients with rheumatoid arthritis,” Journal of Rheumatology. 2011; 38: 2517–2521.
11. J. M. R. van Amelsfort, K. M. G. Jacobs, J. W. J. Bijlsma, F. P. J. G. Lafeber, and L. S. Taams, “CD4+CD25+ regulatory T cells in rheumatoid arthritis: differences in the presence, phenotype, and function between peripheral blood and synovial fluid,” Arthritis and Rheumatism. 2004; 50: 2775–2785.
12. D. Cao, V. Malmstrom, C. Baecher-Allan, D. Hafler, L. Klareskog, and C. Trollmo, “Isolation and functional characterization of regulatory CD25brightCD4+ T cells from the target organ of patients with rheumatoid arthritis,” European Journal of Immunology. 2003; 33: 215–223.
13. Hensor R.M.A., Hunt L., Patmar R. et al. Predicting the evaluation of inflammatory arthritis in ACPA-positive individuals: can T-cell subset help? Ann Rheum Dis. 2014;73 (Suppl 1):A14. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-205124.32>.
14. L. Ji, Y. Geng, W. Zhou, and Z. Zhang, “A study on relationship among apoptosis rates, number of peripheral T cell subtypes and disease activity in rheumatoid arthritis,” International Journal of Rheumatic Diseases, 2016; 19:167-171.

CORRELATION OF FOXP3+ REGULATORY T (TREG) CELLS LEVELS AND PHENOTYPE WITH DISEASE ACTIVITY AND ACUTE-PHASE INDICES IN PATIENTS WITH EARLY RHEUMATOID ARTHRITIS

Avdeeva A.S.¹, Rubcov Yu.P.², Popkova T.V.¹, Dyykanov D.T.², Aleksandrova E.N.¹, Nasonov E.L.¹

¹ V.A.Nasonova Scientific and Research Institute of Rheumatology (FSBSI “V.A.Nasonova SRI R”), Moscow, Russian Federation; ² Biochemistry and Molecular Medicine Department of Fundamental Medicine Faculty of M.V.Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

FoxP3+ regulatory T (Treg) cells play a critical role in the regulation of peripheral tolerance to own antigens. Treg cells are able to suppress T-cell immunological response, and thereby to regulate immune reactions, due to which they have a key role in the pathophysiology of autoimmune diseases. In early rheumatoid arthritis (RA), decreased levels of Treg cells in the peripheral blood were identified as well as decreased levels of indicators of functionally active Treg cells which were associated with a higher disease activity.

Keywords: rheumatoid arthritis, regulatory T cells, disease activity.