

РЕГУЛЯТОРНЫЕ Т-КЛЕТКИ ПРИ АЛЛЕРГИИ У ДЕТЕЙ

Донецкова А.Д., Шарова Н.И., Литвина М.М.,
Бурменская О.В., Трофимов Д.Ю., Ярцев М.Н.,
Алексеев Л.П., Ярилин А.А.

ГНЦ – Институт иммунологии ФМБА России, Москва

Резюме. При аллергических заболеваниях, независимо от их конкретной нозологии, тяжести, сенсибилизации и уровня общего IgE в крови повышено процентное содержание CD4⁺CD25^{hi}. Экспрессия FOXP3 практически не изменяется. Ингаляционное применение кортикостероидов при астме приводит к повышению экспрессии FOXP3, что может рассматриваться как один из механизмов их терапевтического действия. У детей без аллергии содержание Treg постепенно снижается с возрастом, тогда как при аллергии численность этих клеток снижается лишь до 6 лет, а затем стабилизируется. Высказана гипотеза, что первичное изменение Treg при аллергии состоит в ослаблении их функции; в тех случаях, когда этот дефект полностью или частично компенсируется за счет повышения численности клеток, развивается ремиссия; отсутствие компенсации обуславливает развитие обострений аллергических заболеваний.

Ключевые слова: регуляторные Т-клетки, CD4⁺CD25^{hi}, FOXP3, аллергия, дети.

Donetskova A., Sharova N., Litvina M., Burmenskaya O., Trofimov D., Yartsev M., Alexeev L., Yarilin A.
REGULATORY T CELLS IN CHILDREN WITH ALLERGY

Abstract. Percentage of CD4⁺CD25^{hi} is increased in children with allergy, and it is independent on their nosology, severity, sensitization and IgE level in blood. FOXP3 expression virtually was not altered. Inhalation of corticosteroids in asthma causes increase of FOXP3 expression that may represent some mechanisms of their therapeutic effects. The amount of Treg's gradually decrease with age in non-atopic children; they also decrease in atopic ones until 6 years, followed by their subsequent stabilization. Thus, a hypothesis is proposed, that the initial changes of Treg's in case of allergy comprise a reduction in their functions, and, upon complete or partial compensation of this defect by increasing of cell amounts, a remission is initiated. However, in absence of compensation, acute attacks of allergic disorders are developed. (*Med. Immunol.*, 2008, vol. 10, N 2-3, pp 159-166)

Начиная с середины 90-х годов XX века, было описано несколько субпопуляций регуляторных Т-лимфоцитов, как естественных (т.е. развивающихся в ходе реализации онтогенетической программы вне зависимости от внешних воздействий), так и адаптивных (индуцируемых антигенами в процессе иммунного ответа). Наиболее детально изучены естественные регуляторные Т-клетки (Treg), подавляющие пролиферацию Т-лимфоцитов и секрецию ими цитокинов [11]. Treg экспрессируют корецептор CD4 и распознают антигены в контексте молекул МНС класса II. Их мембранными маркерами служат мо-

лекулы CD25 (α-цепь рецептора IL-2), а также CTLA-4 (гомолог костимулирующих молекул, передающий в клетку супрессорный сигнал) [10]. Наиболее специфичным маркером Treg является внутриклеточный транскрипционный фактор Foxp3 [3].

Основное назначение естественных Treg состоит в недопущении аутоиммунных процессов в результате инактивации аутоагрессивных Т-лимфоцитов [1, 10]. Однако круг заболеваний, при которых дефициту Treg или, наоборот, их повышенной активности отводится важная роль, не ограничивается аутоиммунными болезнями; в частности, он включает аллергические заболевания [1].

В последнее время в представления о ведущей патогенетической роли дисбаланса Th1- и Th2-клеток при аллергии внесены существенные кор-

Адрес для переписки:

Донецкова Альмира Дмитриевна
Тел.: (499) 617-79-19.
E-mail: almira_donetskova@yahoo.com

рективы, связанные с признанием важной роли дефицита Treg (в основном, их функциональной недостаточности [2]) в формировании предрасположенности к аллергическим заболеваниям. В связи с этим постулируется ключевая роль в их развитии дисбаланса Th2-клеток и Treg с относительным дефицитом последних [7]. Основой представлений об участии Treg в ограничении аллергических процессов явился факт наличия у детей с IPЕХ-синдромом (носителей мутаций гена FOXP3) аллергических проявлений – экзематозного поражения кожи, пищевой аллергии с эозинофилией и повышенным уровнем IgE [13].

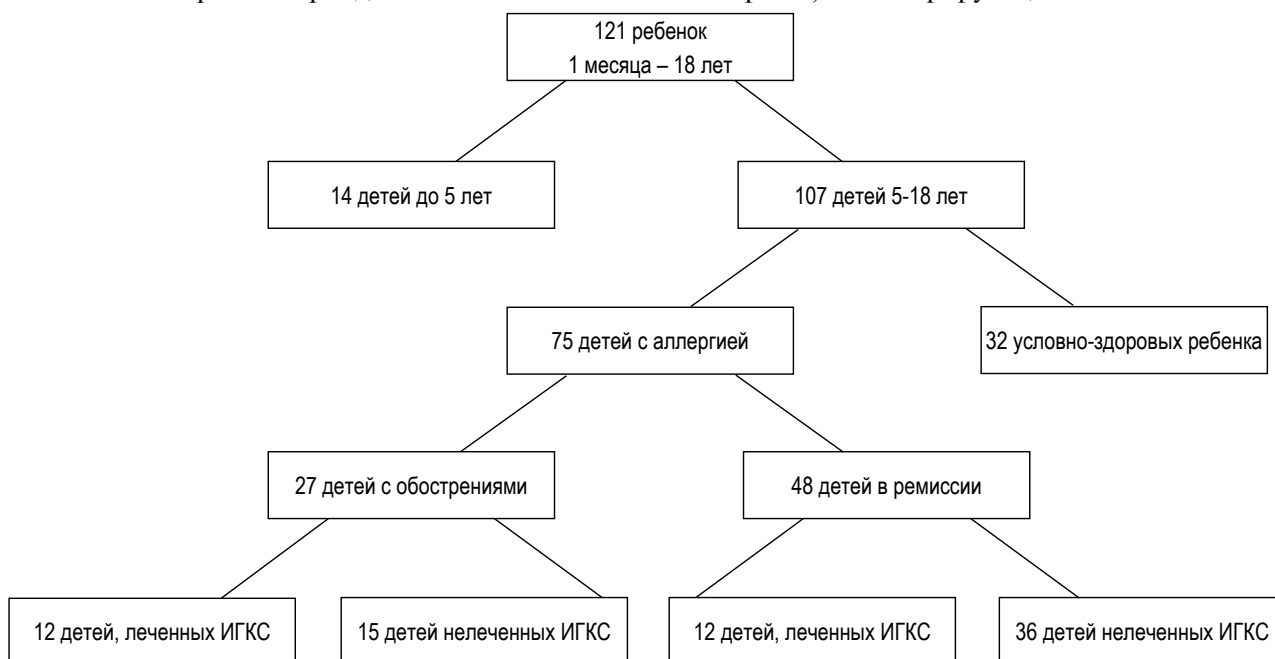
Тем не менее, данные о состоянии Treg при аллергических заболеваниях противоречивы [2]. Установлено, что у детей с гиперчувствительностью к лактальбумину в раннем постнатальном периоде снижено содержание Treg, а утрата гиперчувствительности совпадает с нормализацией численности этих клеток [5]. В то же время численность Treg при аллергических заболеваниях нередко повышается [9], что, как правило, сочетается со снижением их функциональной (супрессорной) активности [6, 8, 12]. Как правило (хотя и не всегда), регистрируется корреляция успешности специфической иммунотерапии аллергических заболеваний с изменением численности Treg [4]. В целом же информация, касающаяся взаимосвязей Treg и аллергии, немногочисленна и достаточно противоречива.

Цель настоящего исследования состояла в изучении содержания естественных регуляторных клеток и экспрессии их молекулярного маркера FOXP3 при аллергических заболеваниях у детей в зависимости от активности процесса, а также влияния на эти показатели терапии ингаляционными глюкокортикостероидами.

Материалы и методы

Всего был обследован 121 ребенок (68 мальчиков и 53 девочки) в возрасте от 1 месяца до 18 лет. Дети находились на амбулаторном и стационарном лечении в ГНЦ – Институте Иммунологии ФМБА России. Распределение обследованных по возрасту, особенностям патологии и лечения (применение ингаляционных глюкокортикостероидов – ИГКС) отражены на схеме. Выделение подгруппы детей до 5 лет в отдельную группу обусловлено наличием у них возрастного лимфоцитоза. Группа детей с аллергией старше 5 лет (75 детей) включала 53 ребенка с бронхиальной астмой, 13 детей с аллергическим риноконъюнктивитом и 9 детей с атопическим дерматитом; 13 детей с тяжелым течением заболевания, 41 – со среднетяжелым, 21 – с легким. В группу сравнения вошли 32 условно-здоровых ребенка, у которых диагноз аллергического заболевания был отвергнут.

Мононуклеарную фракцию выделяли из крови путем центрифугирования в градиенте плотности фиколла-верографина («Sigma») плотностью 1,077. Методом двуцветной проточной цитометрии определяли содержание в мононуклеарной фракции лимфоцитов с мембранным фенотипом CD4⁺CD25^{hi}. Для их идентификации использовали моноклональные антитела к молекуле CD4, меченные флюоресцеин-5-изотиоцианатом («Сорбент»), а также анти-CD25 антитела, меченные фикоэритрином («Becton Dickinson»). Анализ образцов клеточных суспензий проводили на проточном цитометре FACSCalibur («Becton Dickinson») в программе CELLQuest. Образцы гистограмм, иллюстрирующие использованный



подход к идентификации Treg, представлен на рисунке 1.

Фракционирование лимфоцитов с целью обогащения субпопуляции регуляторных клеток CD4⁺CD25⁺ производили при помощи магнитных бус – Dynal CD4⁺CD25⁺ Treg Kit («Dynal Biotech ASA») в соответствии с прилагаемым протоколом. В основу фракционирования положено предварительное физическое разделение лимфоцитов с помощью ферромагнитных шариков, нагруженных антителами к CD14, CD56, CD19, CD8, CD235a и CD45RA (отрицательная селекция CD4⁺T-лимфоцитов), с последующим выделением CD25⁺ из популяции CD4⁺ клеток (положительная селекция CD25⁺T-лимфоцитов) и освобождением CD25⁺ клеток от этих шариков. Процент CD4⁺CD25⁺ в выделенной фракции при цитометрическом анализе при контроле на чистоту выделенной популяции составил более 90%.

С целью активации клеток использовали моноклональные антитела (МАТ) к CD3 (нанесенные на пластик) и CD28 (растворимые), рекомбинантный IL-2 (rIL-2) («Becton Dickinson»). МАТ к CD3 наносили на пластик в концентрации 5 мкг/мл, оставляли на 12 часов при 4°C; далее в культуру добавляли МАТ к CD28 в концентрации 5 мкг/мл и rIL-2 – 300 ЕД/мл. Культивирование CD4⁺CD25⁻, CD4⁺CD25⁺, а также их совместное культивирование в концентрации 5 × 10⁴/лунку (соотношение 1 : 1) проводили в ПКС в 96-луночных планшетах в течение 72 часов при 37°C и 5% CO₂. В качестве антигенпредставляющих клеток использовали лимфоциты, обработанные митомином (50 мкг/мл) в концентрации 5 × 10³/лунку. За 18 часов до окончания культивирования во все лунки добавляли по 40 кБк ³H-тимидина. Затем клетки собирали на фильтры с помощью аппарата «Harvester». Уровень ³H-тимидина определяли на счетчике «Wallac 1409». Все варианты (при оценке пролиферативного ответа) ставили в трех повторностях. Эффекты оценивали как в абсолютных величинах (количество импульсов в минуту), так и путем вычисления индексов подавления пролиферации – соотношение включения ³H-тимидина в образцах CD4⁺CD25⁻ клеток к его включению в их совместной культуре с CD4⁺CD25⁺ клетками.

Экспрессию мРНК FOXP3 определяли методом полимеразной цепной реакции с предварительной обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Использовались качественный и количественный варианты реакции (рис. 2). Для выделения нуклеиновых кислот использовали наборы «Проба НК» («ДНК-Технология»). Метод основан на лизисе образцов в 4М растворе гуанидинтиоцианата, осаждении нуклеиновых кислот изопропанолом, с последующими отмывками этанолом и ацетоном. Реакцию обратной транскрипции

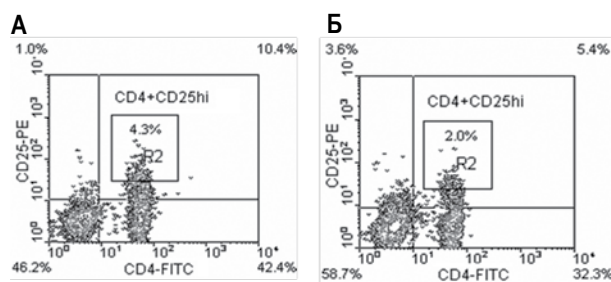


Рисунок 1. Цитофлуорометрическое определение Treg

Примечание. Определение CD4⁺ (по осям абсцисс) и CD25⁺ (по осям ординат) клеток; CD4⁺CD25⁺ клетки локализируются в правом верхнем квадранте. По осям абсцисс – интенсивность зеленой флуоресценции, по осям ординат – интенсивность оранжевой флуоресценции; А – ребенок с бронхиальной астмой; Б – ребенок из группы сравнения.

проводили при температуре 40°C в течение 1 часа, с последующей инактивацией обратной транскриптазы при 95°C в течение 15 минут. Амплификацию проводили на приборах «ДТ-322» (для ПЦР в режиме «реального времени») и «Терцик» («ДНК-Технология») с использованием «горячего старта». Праймеры и зонды для ПЦР были подобраны с учетом структур экзонов и интронов таким образом, чтобы исключить отжиг на матрице геномной ДНК FOXP3. Зонды метили Fam(dT). Уровень экспрессии мРНК FOXP3 определяли относительно экспрессии мРНК гена «домашнего хозяйства» HPRT1. Последовательно проводили денатурацию, отжиг, синтез (всего 50 циклов). Уровень флуоресценции в ПЦР в режиме «реального времени» измеряли на каждом цикле при температуре 64°C. Анализ продуктов реакции амплификации, а также дополнительный контроль прохождения ПЦР в режиме «реального времени» осуществляли методом электрофореза в 2% агарозном геле. Специфичность полосы амплифицированной ДНК подтверждалась ее положением по отношению к фрагменту «маркерной» (леддерной) ДНК («Invitrogen»). Регистрацию проводили с помощью видеосистемы с программным обеспечением Gel Imager.

Исследованные показатели представляли в виде Me (L-N), где Me – медиана, L – нижний квартиль, N – верхний квартиль. Для сопоставления двух групп по количественным признакам использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни; нескольких групп – метод сравнения Краскела–Уоллиса с последующим (в случае $p < 0,05$) парным сравнением групп с использованием теста Манна–Уитни с поправкой Бонферрони при оценке значения p . Различие групп считали статистически значимым при $p < 0,05$. Для выявления взаимосвязи переменных проводили расчет коэффициента ранговой корреляции по Спирмену. Обработку проводили в программном пакете StatSoft Statistica.

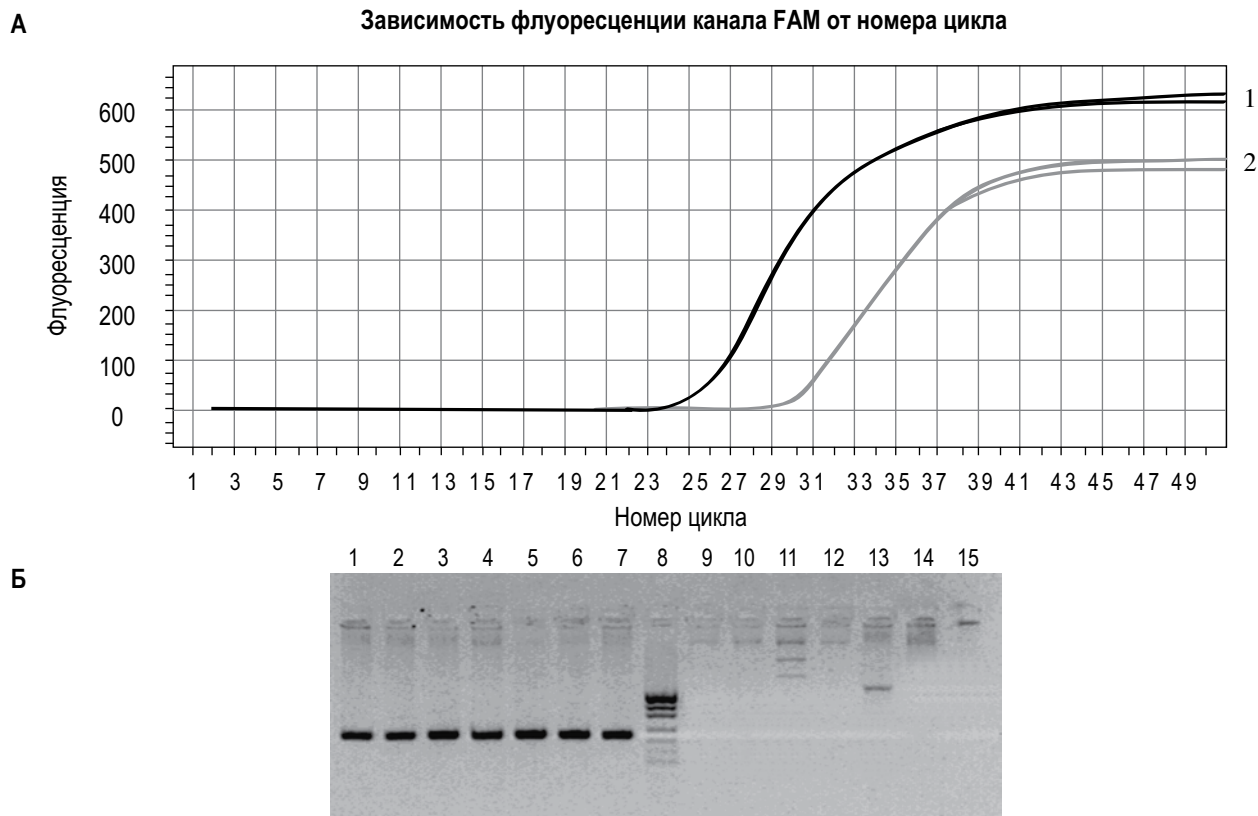


Рисунок 2. Определение экспрессии мРНК FOXP3 в ПЦР

А – ПЦР в режиме «реального времени». На рисунке представлены кривые накопления продуктов амплификации FOXP3 и нормировочного гена HPRT1. Уровень экспрессии FOXP3 ниже, чем HPRT1, примерно в 90-100 раз.

1 – кривая накопления HPRT1; 2 – кривая накопления FOXP3.

Б – Электрофореограмма продуктов ПЦР в качественном варианте. Дорожки 1-7 – образцы с реализованной ОТ (длина фрагмента – 213 п.н.); дорожки 9-15 – образцы без реализации ОТ; 8 – молекулярный маркер длины фрагментов (сверху вниз: 500-404-331; 242-190-147-110-67 п.н.).

Результаты

При сравнении детей внутри группы с аллергическими заболеваниями было выявлено, что показатели, характеризующие субпопуляцию Treg (численность CD4⁺CD25^{hi}, экспрессия FOXP3), не различаются при разных проявлениях аллергии (бронхиальная астма, аллергический риноконъюнктивит, atopический дерматит) ($p > 0,05$ для критерия Краскела–Уоллиса). Эти показатели не различались также в зависимости от степени тяжести аллергических заболеваний ($p > 0,05$ для критерия Краскела–Уоллиса). Поэтому все дети с аллергическими заболеваниями, независимо от нозологии и тяжести течения процесса, были объединены в одну группу.

При сравнении групп детей с аллергическими заболеваниями и условно-здоровых детей было выявлено, что процентное содержание Treg в группе детей с аллергией статистически значимо выше, чем в группе сравнения ($p = 0,03$): в 1-й группе относительное количество CD4⁺CD25^{hi} составило в среднем 3,4%, во 2-й – 2,6% (табл. 1). При оценке рассматриваемых показателей у детей с различной активностью процесса было обна-

ружено, что повышение содержания Treg статистически значимо только в период ремиссии ($p = 0,02$) и не достоверно во время обострения аллергического процесса ($p = 0,16$) (табл. 1). Группы условно-здоровых и больных с аллергией (как в приступном, так и межприступном периодах) не различались по абсолютному содержанию Treg, а также по уровню экспрессии гена FOXP3. Прямая корреляционная связь между количеством Treg и геном FOXP3 выявлена только в группе сравнения (коэффициент корреляции по Спирмену $r = 0,75$; $p = 0,0008$ для корреляции экспрессии мРНК FOXP3 и абсолютного содержания CD4⁺CD25^{hi}; $r = 0,65$; $p = 0,007$ для корреляции экспрессии мРНК FOXP3 и относительного содержания CD4⁺CD25^{hi}) (рис. 3А, Б). Экспрессия FOXP3 в носовом секрете была в 2-2,5 раза ниже, чем в клетках крови, причем уровень экспрессии был несколько выше у больных, чем в группе сравнения. Вероятно, это обусловлено низким содержанием клеток, в том числе Treg, в носовой слизи.

У части детей с аллергическими заболеваниями (16 детей) уровень общего IgE составил более 1000 МЕ/мл и была выявлена полисенсibilизация

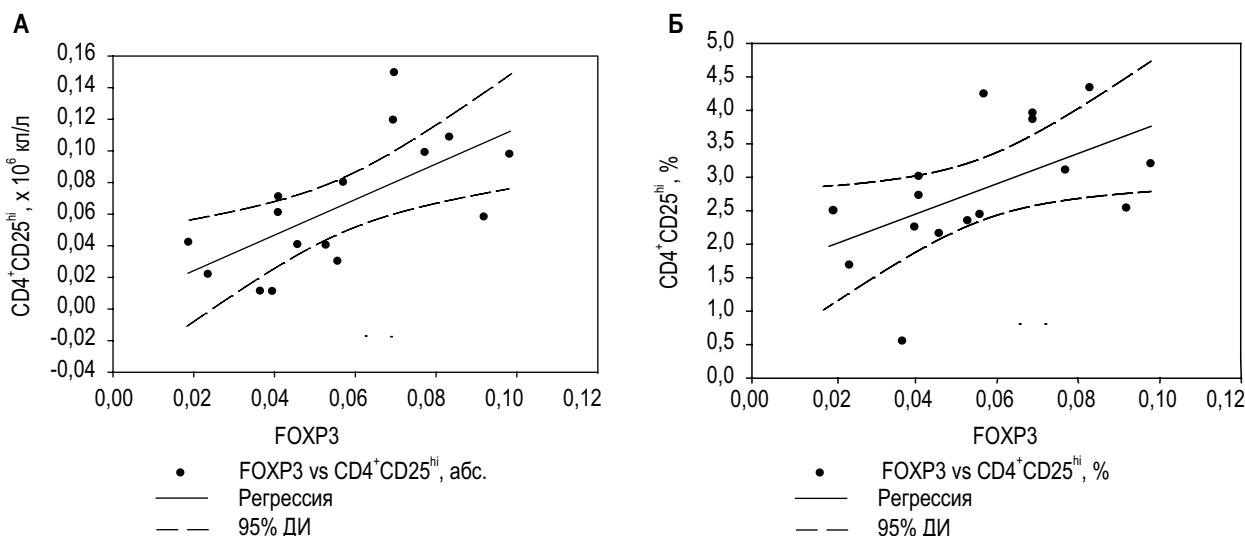


Рисунок 3. График рассеяния при анализе корреляционной связи в группе условно-здоровых детей (с указанием 95% доверительного интервала для коэффициента корреляции)

А — корреляция экспрессии мРНК FOXP3 и абсолютного содержания CD4⁺CD25^{hi};
Б — корреляция экспрессии мРНК FOXP3 и относительного содержания CD4⁺CD25^{hi}.

(бытовая, эпидермальная, пылевая, у некоторых детей — пищевая и грибковая). Однако у данной подгруппы детей не было выявлено статистически значимых различий показателей, характеризующих Treg в сравнении с группой условно-здоровых детей (табл. 1). Повышение процентного содержания Treg отмечалось у детей с более низким уровнем общего IgE и моносенсибилизацией (p = 0,03).

Лечение ингаляционными глюкокортикостероидами (ИГКС) приводило к статистически значимому повышению экспрессии мРНК FOXP3 — до 0,077 против 0,055 в группе условно-здоровых детей (p = 0,008) (табл. 2). При сравнении групп детей с аллергией, леченных и нелеченных ИГКС, было выявлено статистически значимое повышение экспрессии мРНК FOXP3: 0,077 у детей, получающих терапию ИГКС, и 0,050 при отсутствии данной терапии (p = 0,000005) (табл. 2). При этом наиболее высокий уровень экспрессии

FOXP3 — 0,087 — отмечался в период ремиссии на фоне терапии ИГКС, что статистически значимо превышало уровень этого показателя в группе сравнения — 0,055 (p = 0,003). При отсутствии терапии ИГКС у детей с аллергией статистически значимо повышалось относительное содержание CD4⁺CD25^{hi}: 3,5% против 2,6% в группе сравнения (p = 0,002).

При изучении пролиферативного ответа на альтернативную стимуляцию МАТ к CD3 и CD28 (рис. 4) у больного аллергическим заболеванием, у которого изначальное содержание CD4⁺CD25^{hi} было повышено (3,8%), было выявлено снижение индекса подавления пролиферации при аллергии (1,8 против 13,2 в контроле).

Обследование показало, что содержание Treg у детей в группе сравнения постепенно снижается с возрастом (рис. 5А). В возрасте до 3 лет отмечался наиболее высокий уровень CD4⁺CD25^{hi} —

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИЕ СУБПОПУЛЯЦИЮ Treg, У ДЕТЕЙ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ И УСЛОВНО-ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ

Параметр	Дети с аллергией, n = 75	Обострение, n = 27	Ремиссия, n = 48	IgE > 1000 МЕ/мл, поли-сенсибилизация, n = 16	IgE < 1000 МЕ/мл, моно-сенсибилизация, n = 59	Группа сравнения, n = 32
CD4+CD25hi, %	3,4* (2,5-4,6)	3,4 (2,3-4,5)	3,4* (2,6-4,6)	3,6 (2,3-5,1)	3,4* (2,6-4,5)	2,6 (2,2-3,5)
CD4+CD25hi, кл/мкл	71,3 (46,5-89,3)	67,0 (40,1-86,5)	74,4 (46,5-92,4)	71,2 (44,8-89,3)	71,3 (46,5-94,8)	59,5 (33,9-98,7)
FOXP3/HPRT1 (моноклеары)	0,056 (0,044-0,079)	0,055 (0,040-0,069)	0,059 (0,047-0,080)	0,058 (0,047-0,071)	0,056 (0,044-0,083)	0,055 (0,041-0,073)
FOXP3/HPRT1 (клетки назального секрета)	0,030 (0,014-0,081)	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	0,022 (0,011-0,036)

Примечания. Здесь и в табл. 2 данные представлены в виде Me (L-H). * — p < 0,05 (относительно группы сравнения); н.д. — нет данных.

ТАБЛИЦА 2. ПОКАЗАТЕЛИ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИЕ СУБПОПУЛЯЦИЮ Treg, У ДЕТЕЙ, ЛЕЧЕННЫХ ИНГАЛЯЦИОННЫМИ ГЛЮКОКОРТИКОСТЕРОИДАМИ (ИГКС), И УСЛОВНО-ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ

Параметр	Дети, леченные ИГКС			Дети, нелеченные ИГКС			Группа сравнения, n = 32
	Все дети, n = 24	Обострение, n = 12	Ремиссия, n = 12	Все дети, n = 51	Обострение, n = 15	Ремиссия, n = 36	
CD4 ⁺ CD25 ^{hi} , %	3,1 (2,0-4,3)	2,8 (1,3-3,7)	3,4 (2,3-5,2)	3,5** (2,6-4,6)	3,4 (2,3-4,7)	3,6* (2,8-4,6)	2,6 (2,2-3,5)
CD4 ⁺ CD25 ^{hi} , кл/мкл	63,4 (35,2-80,1)	52,0 (23,5-63,4)	78,1 (71,2-102,1)	72,8 (49,2-90,6)	68,2 (46,4-86,5)	72,8 (49,6-92,1)	59,5 (33,9-98,7)
FOXP3/HPRT1 (моноклеары)	0,077** (0,065-0,095)	0,068 (0,054-0,082)	0,087** (0,070-0,098)	0,050 ^{ooo} (0,041-0,060)	0,051 ^{oo} (0,025-0,060)	0,050 ^{ooo} (0,042-0,064)	0,055 (0,041-0,073)

Примечания:

- * – p < 0,05 (относительно группы сравнения);
- ** – p < 0,01 (относительно группы сравнения);
- ^{oo} – p < 0,01 (относительно аналогичной группы детей, леченных ИГКС);
- ^{ooo} – p < 0,001 (относительно аналогичной группы детей, леченных ИГКС).

123,8 кл/мкл, затем их уровень постепенно снижался до 6 лет; между 6 до 11 годами он сохранялся приблизительно на одном уровне, а затем вновь снижался и достигал минимума в возрасте старше 12 лет – 15,3 кл/мкл. Экспрессия гена FOXP3 практически не изменялась с возрастом, составляя 0,049-0,063 (относительно экспрессии гена HPRT1) (рис. 5Б).

При аллергических заболеваниях в возрасте до 6-8 лет наблюдалось снижение содержания Treg, аналогичное таковому в группе сравнения. Однако снижения численности этих клеток после 11 лет не происходило, и в возрасте 12 лет и старше их абсолютное содержание было выше, чем у детей без аллергии, составляя 68,2 кл/мкл против 15,3 кл/мкл в группе сравнения (рис. 5А) (p = 0,01). Аналогичных изменений экспрессии FOXP3 не отмечалось (рис. 5Б). При изучении

особенностей возрастной динамики Treg в циркуляции при обострении и ремиссии было выявлено снижение Treg в обострении у детей младше 12 лет и повышение их в этой возрастной группе во время ремиссии (рис. 6).

Обсуждение

Итак, процентное содержание CD4⁺CD25^{hi} среди моноклеаров крови при аллергических заболеваниях было повышено независимо от нозологии заболевания, его тяжести, сенсибилизации и уровня общего IgE в крови, т.е. свойственно аллергическому процессу как таковому. Повышение проявляется особенно четко при ремиссии заболеваний. При этом экспрессия FOXP3 в моноклеарной фракции не изменяется. Повышение содержания Treg при аллергии описано и другим авторами, причем, как правило, оно сопровождалось ослаблением функции этих клеток [6, 8, 12]. В единичных пробах, пока недостаточных для статистически обоснованного вывода, мы также наблюдали выраженное снижение супрессорной функции Treg. В связи с этим можно предположить, что повышение содержания Treg можно рассматривать как компенсаторную реакцию на снижение их функции, которая обеспечивает нормальный уровень суммарной экспрессии FOXP3 и частично восполняет функциональную недостаточность. Отсутствие увеличения численности Treg, наблюдаемое при рецидивах аллергических процессов, можно рассматривать как фактор, способствующий обострению (отсутствие или недостаточность компенсации).

Ингаляционное применение кортикостероидов при астме повышает экспрессию FOXP3, что может рассматриваться как один из механизмов их терапевтического действия. Данные о влиянии ИГКС на функцию Treg отсутствуют, и это затрудняет более интегральную оценку эффектов ИГКС с точки зрения их влияния на проявления действия Treg при аллергических заболеваниях.

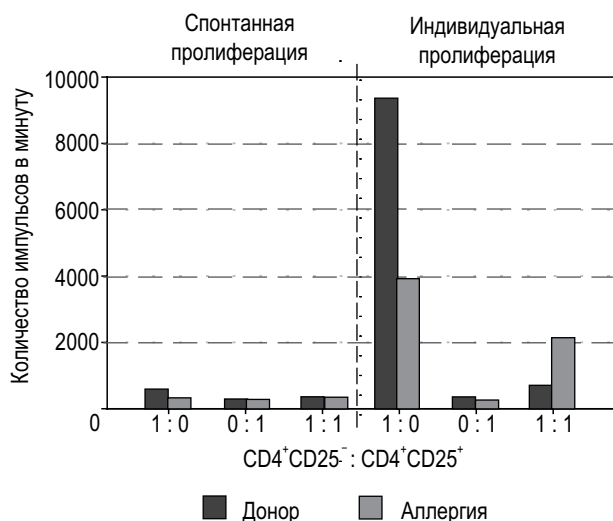


Рисунок 4. Пролиферативный ответ и подавление пролиферации у донора (левые столбики) и больного поллинозом (правые столбики) (данные типичного эксперимента)

Примечание. По оси абсцисс – соотношение CD4⁺CD25⁻ : CD4⁺CD25⁺, по оси ординат – пролиферативный ответ.

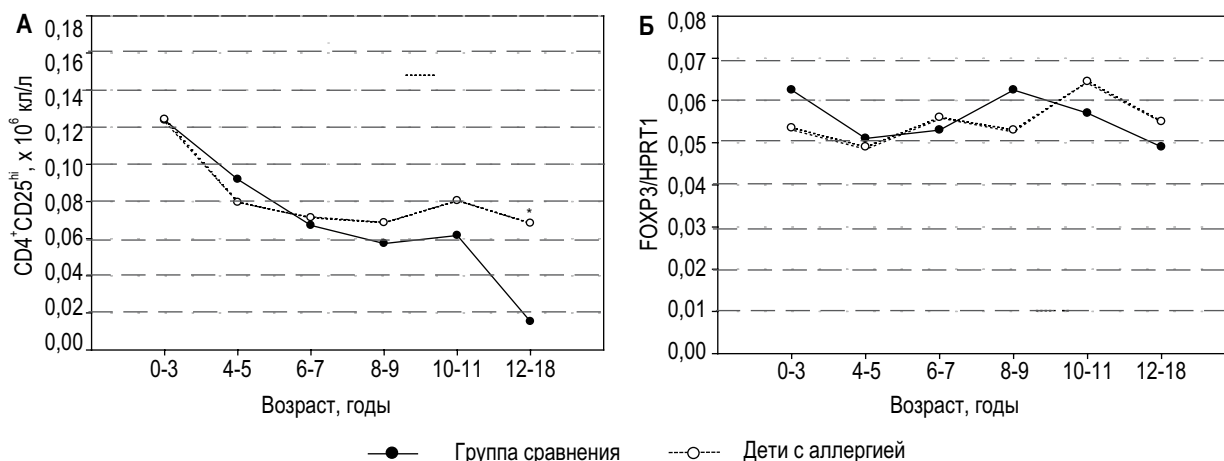


Рисунок 5. Особенности возрастной динамики Treg (А) и экспрессии мРНК FOXP3 (Б) в группах детей с аллергическими заболеваниями (АЗ) и условно-здоровых детей

Примечание. Здесь и на рисунке 6 данные представлены в виде Me (L-H).

Изменение содержания Treg в возрастном аспекте показывает, что в норме содержание Treg постепенно снижается с возрастом, тогда как при аллергии проявляется лишь начальный этап этого снижения (до 6 лет), который в дальнейшем остается незавершенным. Оценить значимость этой особенности онтогенеза Treg для развития аллергопатологии пока не представляется возможным.

Результаты исследования с очевидностью показывают, что полная картина изменений в популяции Treg при аллергии (как и при любой другой патологии) может быть достигнута лишь при сочетании применения для изучения этих клеток фенотипической характеристики, оценки экспрессии гена FOXP3 и оценки функции клеток. С учетом гипотезы о недостаточности компенсации функционального дефицита Treg как причины обострений аллергических заболеваний,

можно постулировать, что первичным изменением Treg при аллергии является ослабление их функции; при благоприятном течении процесса, проявляющемся в ремиссии, это ослабление вызывает компенсаторное увеличение численности Treg, которое, однако, нельзя рассматривать как показатель роста активности этих клеток.

Список литературы

1. Ярилин А.А., Донецкова А.Д. Естественные регуляторные Т-клетки и фактор FOXP3 // Иммунология. – 2006. – Т. 37, № 3. – С. 176-188.
2. Ярилин А.А., Донецкова А.Д. Регуляторные Foxp3⁺Т-клетки и их роль при аллергии // Рос. аллергологический журн. – 2005. – № 2. – С. 22-26.
3. Fontenot J.D., Gavin M.A., Rudensky A.Y. Foxp3 programs the development and function of

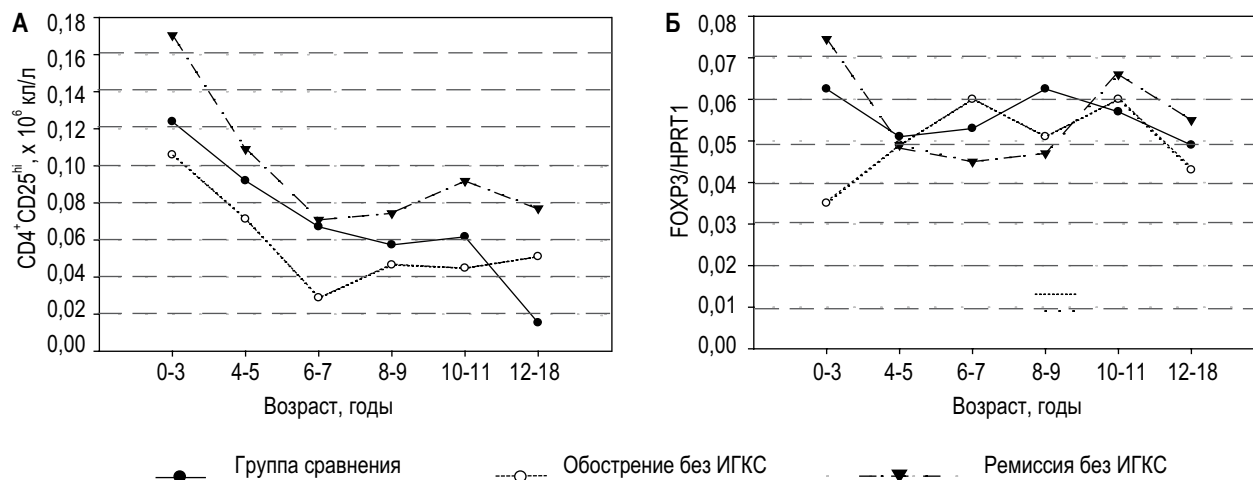


Рисунок 6. Особенности возрастной динамики Treg (А) и экспрессии мРНК FOXP3 (Б) в группах детей с обострением и ремиссией аллергических заболеваний без терапии ИГКС и в группе условно-здоровых детей

CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells // Nat. Immunol. – 2003. – Vol. 4. – P. 330-336.

4. Francis J.N., Till S.J., Durham S.R. Induction of IL-10⁺CD4⁺CD25⁺ T cells by grass pollen immunotherapy // J. Allergy Clin. Immunol. – 2003. – Vol. 111. – P. 1255-1261.

5. Karlsson M.R., Rugtveit J., Brandtzaeg P. Allergen-responsive CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in children which have outgrown cow's milk allergy // J. Exp. Med. – 2004. – Vol. 199. – P. 1679-1688.

6. Ling E.M., Smith T., Nguyen X.D., Pridgeon C., Dallman M., Arbery J., Carr V.A., Robinson D.S. Relation of CD4⁺CD25⁺ regulatory T-cell suppression of allergen-driven T-cell activation to atopic status and expression of allergic disease // Lancet. – 2004. – Vol. 363. – P. 608-615.

7. Mamesier E., Botturi K., Vervloet D., Magnan A. T regulatory lymphocytes, atopy and asthma: a new concept in three dimensions // Rev. Mal. Respir. – 2005. – Vol. 22. – P. 305-311.

8. Ou L.S., Goleva E., Hall C., Leung D.Y. T regulatory cells in atopic dermatitis and subversion of their activity by superantigens // J. Allergy Clin. Immunol. – 2004. – Vol. 113. – P. 756-763.

9. Saint-Mezard P., Berard F., Dubois B., Kaiserlian D., Nicolas J.F. The role of CD4⁺ and

CD8⁺ T cells in contact hypersensitivity and allergic contact dermatitis // Eur. J. Dermatol. – 2004. – Vol. 14. – P. 131-138.

10. Sakaguchi S. Naturally arising CD4⁺ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses // Annu. Rev. Immunol. – 2004. – Vol. 22. – P. 531-562.

11. Sakaguchi S., Sakaguchi N., Asano M., Itoh M., Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor α -chains (CD25) // J. Immunol. – 1995. – Vol. 155. – P. 1151-1164.

12. Shi H.Z., Li S., Xie Z.F., Qin X.J., Qin X., Zhong X.N. Regulatory CD4⁺CD25⁺ T lymphocytes in peripheral blood from patients with atopic asthma // Clin. Immunol. – 2004. – Vol. 113. – P. 172-178.

13. Wildin R.S., Smyk-Pearson S., Filipovich A.H. Clinical and molecular features of the immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X linked (IPEX) syndrome // J. Med. Genet. – 2002. – Vol. 39. – P. 537-545.

поступила в редакцию 20.07.2007

принята к печати 21.12.2007