مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال بیست و نهم/شماره ۱۵۵/هفته سوم آبان ماه ۱۳۹۰
مقاله پژوهشی
تاریخ دریافت: ۹۰/۳/۷ تاریخ پذیرش: ۹۰/۶/۱۰

بررسی سلول‌های $CD4^+Foxp3^+Treg$ و $CD8^+Foxp3^+Treg$ در مبتلایان به آرتریت روماتویید

مهتاب تاپاک[۱]، دکتر علیرضا عندلیب[۲]، دکتر پیمان متقی[۳]، دکتر شادی بابازاده[۴]،
دکتر عباس رضایی[۵]، دکتر منصور ثالثی[۶]

خلاصه

مقدمه: آرتریت روماتویید به عنوان بیماری Th1 غالب تعریف می‌شود. سلول‌های Tregs گروه جدیدی از سلول‌های T هستند که سایر سلول‌های اجرایی سیستم ایمنی از جمله Th1 و Th2 را تنظیم می‌کنند. Foxp3 عامل توسعه و همچنین حفظ فعالیت مهاری سلول‌های Treg است. در این مطالعه فراوانی سلول‌های $CD4^+Foxp3^+Treg$ و $CD8^+Foxp3^+Treg$ را در مبتلایان به آرتریت روماتویید بررسی کردیم.

روش‌ها: نمونه‌ی خون محیطی از ۳۱ بیمار مبتلا به آرتریت روماتویید و ۲۱ فرد سالم گرفته شد. نمونه‌ها برای رنگ‌آمیزی با آنتی‌بادی‌های ضد CD4، CD8 و Foxp3 آماده شد و شمارش سلول‌ها به روش فلوسیتومتری طبق پروتکل‌های استاندارد انجام گرفت.

یافته‌ها: میانگین سلول‌های واجد بروز Foxp3 در جمعیت سلول‌های $TCD4^+$ در گروه شاهد برابر ۰/۳ ± ۱/۲۵ و در گروه مبتلایان به RA ۰/۲۸ ± ۱/۰۳ درصد محاسبه گردید ($P < ۰/۰۱$). فراوانی سلول‌های واجد بروز Foxp3 در جمعیت سلول‌های $TCD8^+$ در گروه شاهد و بیمار به ترتیب ۰/۱۶ ± ۰/۶۳ و ۰/۱۸ ± ۰/۷۹ درصد بود ($P < ۰/۰۰۲$). گلوبول‌های سفید و لنفوسیت‌ها در گروه بیماران مبتلا به آرتریت روماتویید به طور معنی‌داری بیشتر از افراد سالم بود ($P < ۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: نتایج این بررسی نشان داد که فراوانی سلول‌های Treg در روند پاتوژنز بیماران مبتلا به آرتریت روماتویید نقش قابل سنجشی دارند. این تغییرات ممکن است عامل مؤثری در زمینه‌ی استعداد ابتلا به این بیماری‌ها باشد و یا در روند بیماری به تغییرات قابل توجهی منجر شود. هدف قرار دادن سلول‌های Treg می‌تواند از اهداف روش‌های نوین درمانی ایمونولوژیک در این بیماران باشد.

واژگان کلیدی: آرتریت روماتویید، Regulatory T cells، Foxp3، CD4، CD8.

مقدمه

به طور معمول سلول‌های Th (T helper) بر حسب سایتوکاین‌هایی که تولید می‌کنند به دو دسته‌ی Th1 و Th2 تقسیم می‌شوند (۱). سلول‌های Th1 در پاسخ به IL-12 (Interlukin 12)، از لنفوسیت‌های $TCD4^+$ تولید می شوند. ترشح سیتوکاینی غالب آن‌ها IL-2 و IFNγ است و مکانیسم های ایمنی سلولی را نیز تقویت می کنند. از سوی دیگر سلول های Th2 در حضور IL-4 تمایز پیدا نموده، IL-4، IL-5 و IL-13 تولید و ایمنی همورال را تقویت می‌کنند و در پاک‌سازی عفونت‌های انگلی نیز اهمیت دارند (۲).

عدم تعادل Thl و Th2 ممکن است مسؤول بروز و

[۱] کارشناس ارشد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۲] دانشیار، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۳] دانشیار، گروه داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۴] متخصص رادیوتراپی و انکولوژی، بیمارستان سیدالشهدا (ع)، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۵] استاد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۶] استادیار، گروه داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
نویسنده‌ی مسؤول: دکترعلیرضا عندلیب
Email: andalib@med.mui.ac.ir

پیشرفت بیماری‌های متعدد و عوارض حاصل از آن‌ها باشد. آرتریت روماتویید (Rheumatoid arthritis یا RA)، دیابت نوع ۱ و Multiple sclerosis (MS) از جمله بیماری های مزمن التهابی و خودایمنی هستند که در آن‌ها Th1 غالب است (۴-۳).

سلول‌های T تنظیمی (T regulatory یا Treg) انواعی از سلول‌های ایمنی بدن هستند که در بلوکه کردن فعالیت Th1، Th2 و یا هر دو دخالت دارند و توسط بیان دایمی زنجیره‌ی آلفای گیرنده‌ی اینترلوکین ۲ (CD25) شناخته می‌شوند (۵).

سلول‌های Treg زیرمجموعه‌ی مشخصی از سلول‌های T هستند که می‌توانند پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی را مهار کنند (۶). نقش این سلول ها در شبکه‌ی سلول‌های ایمنی توسط Sakaguchi و همکاران اثبات شده است (۷). سلول‌های Treg نماینده‌ی زیر مجموعه‌ی مهمی از سلول‌های $TCD4^+$ هستند که در حفظ تحمل ایمنی نسبت به خود نقش دارند و حدود ۵ تا ۱۰ درصد سلول های $TCD4^+$ در خون محیطی انسان را شامل می‌شوند (۹-۸)؛ این سلول‌ها از تیموس منشأ می‌گیرند (۱۰).

Foxp3 عضو خانواده‌ی فاکتور نسخه‌برداری Fork head winged-helix، به عنوان فاکتور شاخص رده و عامل توسعه و همچنین حفظ فعالیت مهاری سلول‌های Treg است که به طور اختصاصی در سلول‌های $TCD4^+CD25high$ بیان می‌شود (۱۱).

دسته‌ای از سلول‌های Treg وجود دارند که از تیموس مشتق نشده‌اند و در محیط قابلیت تولید دایم Foxp3 را کسب می نمایند. این سلول ها در انسان منبع عمده‌ی سلول‌های Treg را تشکیل می‌دهند (۱۲). بنابراین Foxp3 مارکر ملکولی اختصاصی سلول های Treg در خون محیطی انسان شناخته شده است (۱۳). کاهش بیان Foxp3 با کاهش عملکرد مهاری سلول های Treg و تبدیل سلول های T به سلول‌های اجرایی (Effector) همراه است که باعث ایجاد بیماری‌های خودواکنشگر ایمنی می‌شود (۱۴). جهش در ژن Foxp3 انسان ایجاد بیماری شدید خودایمنی/آلرژی (IPEX) می‌کند که با نقص ایمنی کلی مشخص می‌شود (۱۷-۱۵).

در گزارش Lawson و همکاران نشان داده شد که سلول های $CD4^+CD25^+$Treg در بیماران مبتلا به RA کاهش می یابد (۱۸). مطالعات انجام گرفته توسط Cao و همکاران (۱۹) و Mottonen و همکاران (۹) نیز نشان داد که فراوانی سلول های $CD4^+CD25^+$Treg در خون محیطی بیماران مبتلا به RA کاهش داشته است. برخلاف این مطالعات، تحقیقات انجام شده توسط Han و همکاران (۲۰) و van Amelsfort و همکاران (۸) نشان داد که $CD4^+CD25^+Foxp3^+$Treg در بیماران مبتلا به RA افزایش می‌یابد. مطالعات متعددی بین بیان Foxp3 و بروز CD25 همبستگی مثبتی را نشان دادند؛ بنابراین اثبات وجودی یکی می‌تواند مؤید وجود دیگری تلقی گردد (۲۱).

طبق مطالعات موجود می توان از سلول‌های Treg به عنوان پایه ی درمان ایمونولوژیک در طیف بیماری های مختلف استفاده نمود، ولی در مورد تغییرات Treg در مراحل مختلف بیماری‌ها و در روند درمان آن‌ها اطلاعات کم و گاه متناقضی وجود دارد که مانع از طراحی جامع و بهینه در جهت گسترش ایمونوتراپی شده است (۲۲). طراحی ایمونوتراپی برای هر مورد خاص نیاز به اطلاعات جامع از روند بیماری و ویژگی های فردی و حضور سلول‌های ایمنی به ویژه

Treg دارد. با توجه به آن چه که گفته شد در این مطالعه به بررسی سلول‌های $CD4^+Foxp3^+$Treg و $CD8^+Foxp3^+$Treg در مبتلایان به RA پرداختیم.

روش‌ها

در این بررسی از ۳۱ بیمار مبتلا به RA مراجعه کننده به درمانگاه تخصصی روماتولوژی در بیمارستان الزهرای (س) اصفهان، مقدار ۵ میلی‌لیتر خون گرفته شد و برای آزمایشات مد نظر، انجام رنگ‌آمیزی و انجام فلوسیتومتری استفاده گردید. به علاوه از ۲۱ فرد سالم با شرایط سنی و جنسی مشابه بیماران نمونه‌ی خون گرفته شد و با روش مشابه آماده‌سازی گردید. انجام شمارش سلولی به روش استاندارد در لوله ی حاوی ماده‌ی ضد انعقاد EDTA با دستگاه هماتولوژی اتوماتیک انجام شد. تشخیص ابتلا به RA با بررسی نمونه‌ها توسط تیم درمانی متخصص تأیید شد.

برای بررسی نمونه ی خون با فلوسیتومتری ابتدا خون گرفته شده از بیمار بر اساس پروتکل‌های مرسوم در آزمایشگاه‌های ایمنی‌شناسی، در لوله‌ی حاوی هپارین، با فسفات بافر ایزوتونیک (PBS) سرد با حجم مشابه مخلوط شد و روی شیب چگالی فایکول هایپاک با چگالی ۱/۰۷۷ قرار گرفت.

پس از انجام سانتریفوژ نمونه در سانتریفیوژ یخچال‌دار بدون استفاده از ترمز و مشاهده‌ی سلول‌ها در حد فاصل دو لایه‌ی فایکول، لایه ی سلولی توسط پیت پاستور جدا و در لوله‌ی با بافر Hank's دو بار شستشو داده شد.

پس از جداسازی PBMC، به تعداد آنتی‌بادی‌های مورد استفاده و شاهد منفی (بدون آنتی بادی)، سلول‌ها در لوله‌ها تقسیم گردید. سپس مقدار ۱۰ میکرولیتر از آنتی‌بادی های مونوکلونال ضد CD4 و CD8 به طور مجزا به لوله‌های مورد اشاره اضافه گردید (۱۹-۱۸). نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی (برای اجتناب از نور) انکوبه شد. بعد از رنگ آمیزی سطح سلولی، در مرحله ی بعد برای رنگ آمیزی داخل سلولی آنتی‌بادی ضد Foxp3 اضافه و به مدت ۴۵ دقیقه همراه با ورتکس شدید انکوبه شد و سپس آنتی‌بادی‌های اضافه و واکنش نداده دوباره با بافر PBS شستشو داده شد. برای آنالیز فلوسیتومتری نمونه‌ها در ۴۰۰-۲۰۰ میکرولیتر از بافر PBS قرار گرفت.

برای انجام فلوسیتومتری از فلوروکروم ایزوتیو سیانات فلورسین (FITC) متصل به مارکرها (ویژه ی خوانش با دستگاه فلوسیتومتری) استفاده گردید. این ماده به دلیل فلورسنت بودن توانایی جذب طیف نوری ۴۸۸ نانومتر و انعکاس طول موج بالاتر از آن را (۵۳۰ نانومتر) دارد. به علاوه از فلوروکروم فیکواریترین (PE)، که طیف جذبی متفاوت (۵۷۰ نانومتر) در انعکاس طول موج دارد، برای تمایز مارکرهای رنگ‌آمیزی شده استفاده گردید.

در سیستم فلوسیتومتری دتکتورهای نوری FL1 برای شناسایی نورهای بازتابی ۵۳۰ نانومتر طراحی شده است و FL2 ویژه‌ی جذب، شناسایی و تمایز نورهای بازتابی ۵۷۵ نانومتر می باشد. به علاوه دتکتور SSC برای جذب و شناسایی و جمع آوری نورهای بازتابی با طول موج ۴۸۸ نانومتر طراحی شده است. مقادیر هر یک از نورهای جذب شده توسط سیستم رایانه ایی به صورت گراف‌های نرم‌افزاری و اعداد محاسبه شده منعکس می‌شود و در این مطالعه از آن‌ها به صورت داده‌های آماری استفاده شد. لوله‌های حاوی سلول‌های رنگ‌آمیزی شده با آنتی‌بادی‌های مونوکلونال با استفاده

از دستگاه فلوسیتومتری FACSCalibur خوانده شد. Gate دستگاه با لنفوسیت ها تنظیم شد تا سلول های دیگر را از آنالیز خارج کند. ۱۰۰۰۰ سلول از هر لوله شمارش و نتایج به صورت درصد کل PBMC در سوسپانسیون سلولی گزارش شد. برای تصحیح اتصالات غیر اختصاصی و کنترل زمینه از آنتی بادی ایزوتایپ موشی جهت شاهد منفی استفاده شد. نتایج به صورت نمودارهای هیستوگرام یا دات پلات جهت مطالعات تکمیلی در فایل‌های مجزا جمع‌آوری گردید (۲۰). اطلاعات حاصل از فلوسیتومتری با استفاده از نرم‌افزار Cell Quest تجزیه و تحلیل گردید. داده‌های هر نمونه ی حاصل از خوانش ۱۰۰۰۰ سلول توسط نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) با آزمون Student-t تجزیه و تحلیل شد. شاخص معنی‌دار آماری $P < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تعداد گلبول‌های سفید خون، تعداد و نسبت لنفوسیت ها و فراوانی سلول های $CD4^+Foxp3^+Treg$ و $CD8^+Foxp3^+Treg$ در جدول ۱ آمده است.

مقایسه‌ی میانگین فراوانی سلول‌های $CD4^+Foxp3^+Treg$ بین دو گروه شاهد و بیماران مبتلا به RA نشان دهنده‌ی کاهش معنی‌دار درصد سلول‌های $CD4^+Foxp3^+Treg$ در گروه مبتلایان بود.

فراوانی سلول های $CD8^+Foxp3^+Treg$ نشانگر افزایش آماری معنی‌دار میانگین این سلول‌ها در مبتلایان به RA نسبت به گروه شاهد بود. شمارش مطلق سلول‌های $CD8^+Foxp3^+Treg$ در گروه مبتلا به RA برابر ۱۲/۰۱ ± ۲۶/۱۲ و در گروه شاهد برابر ۴/۸۲ ± ۱۳/۱۹ در میکرولیتر بود. میانگین شمارش مطلق این سلول‌ها در گروه شاهد و RA با $P < ۰/۰۰۱$، نشانگر افزایش آماری معنی‌دار این سلول‌ها در گروه RA بود.

فراوانی لنفوسیت‌های $TCD4^+$ در گروه شاهد و بیماران به ترتیب ۳/۶ ± ۳۴/۴۶ و ۵/۶ ± ۳۱/۸ درصد بود. مقایسه ی دو گروه نشان داد که اختلاف آماری معنی‌داری بین لنفوسیت های TCD4 در دو گروه وجود ندارد ($P = ۰/۰۶۴$).

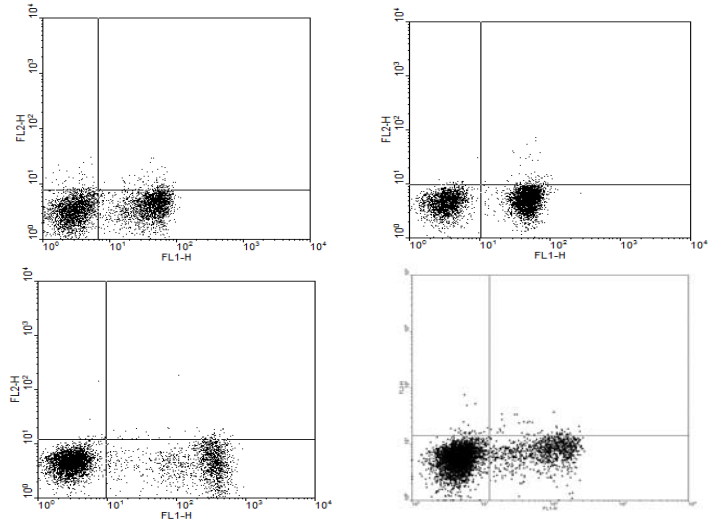
فراوانی جمعیت لنفوسیت های TCD8 در گروه بیماران RA برابر ۴/۱ ± ۲۲/۹۷ درصد و در گروه شاهد ۲/۴۷ ± ۲۰/۹۹ درصد بود ($P = ۰/۰۵۴$).

نمونه ای از نتایج حاصل از فلوسیتومتری به صورت دات پلات از یک بیمار مبتلا به RA و یک نمونه‌ی شاهد در شکل ۱ آورده شده است.

جدول ۱. مقایسه‌ی فراوانی گلبول‌های سفید، لنفوسیت‌ها و سلول‌های واجد Foxp3 در خون محیطی در دو گروه مورد مطالعه

متغیر	گروه مبتلا به RA انحراف معیار ± میانگین	گروه سالم انحراف معیار ± میانگین	مقدار P
تعداد گلوبول‌های سفید	۲۹۷۲ ± ۸۸۵۸	۱۶۸۵۸ ± ۶۳۰۹	۰/۰۰۱
نسبت لنفوسیت‌ها (درصد)	۱۲/۴۷ ± ۳۸/۲۴	۸/۴۹ ± ۳۴/۳۲	۰/۲۱۶
تعداد لنفوسیت‌ها	۱۵۳۳ ± ۳۳۶۳	۳۳۷ ± ۲۰۵۷	۰/۰۰۱
$CD4^+Foxp3^+Treg$ (درصد)	۰/۲۸ ± ۱/۰۳	۰/۳ ± ۱/۲۵	۰/۰۱
$CD8^+Foxp3^+Treg$ (درصد)	۰/۱۸ ± ۰/۷۹	۰/۱۶ ± ۰/۶۳	۰/۰۰۲

www.mui.ac.ir



شکل ۱. نتایج فلوسیتومتری به صورت دات پلات از یک بیمار مبتلا به RA و یک نمونه‌ی شاهد.

به طور عموم در این گونه نمودارها هر نقطه حاصل نمایش یک سلول مورد خوانش می‌باشد (گاهی شباهت پارامترهای سلول‌های مشابه باعث بر هم قرار گرفتن داده‌ها در صفحه می‌گردد). هر صفحه‌ی دات پلات با دو خط عمود بر هم به چهار خانه تقسیم می‌گردد. نقاط موجود در خانه‌ی چپ پایین، نمایانگر شاهد سلولی بدون رنگ‌آمیزی به عنوان استاندارد جمعیت سلولی مورد مطالعه و یا در نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده به عنوان جمعیت سلولی فاقد پارامترهای به کار برده شده می‌باشد. خانه‌ی چپ بالایی در کنار محور Y نمایانگر درصد سلول‌های رنگ‌آمیزی شده با مارکر متصل به FITC و از لحاظ PE منفی می‌باشد. خانه‌ی سمت راست پایین نمایانگر درصد سلول‌های رنگ آمیزی شده با مارکر متصل به PE و از لحاظ FITC منفی می‌باشد. خانه‌ی سمت راست بالا شامل درصد سلول‌هایی است که واجد هر دو مارکر متصل به FITC و PE یا مثبت دوگانه (Double positive) می‌باشد. پلات‌های ارائه شده به عنوان نماینده‌ی بررسی Foxp3 مطالعه شده بر روی سلول‌های CD4 یا CD8 نشان داده شده است که درصد سلول‌های حاصل از رنگ‌آمیزی در محاسبات آماری لحاظ و در جدول ۱ منعکس شده است.

بحث

هم اکنون مشخص شده است که سلول های Treg در کنترل بیماری‌های خودایمنی نقش دارند (۲۳). در بررسی حاضر فراوانی و شمارش مطلق سلول های $CD4^+Foxp3^+Treg$ در خون محیطی بیماران مبتلا به RA اندازه گیری و با گروه شاهد مقایسه گردید و تفاوت آماری معنی‌داری در فراوانی و شمارش مطلق سلول های $CD4^+Foxp3^+Treg$ در خون محیطی بیماران مبتلا به RA در مقایسه با گروه شاهد دیده شد.

طبق بررسی ما، در بیماران مبتلا به RA در مقایسه با گروه شاهد، کاهش درصد سلول‌های $TCD4^+Foxp3^+Treg$ مشاهده شد که مؤید نتایج بررسی‌های Mottonen و همکاران (۹)، Lawson و همکاران (۱۸) و Cao و همکاران (۱۹) بود. کاهش فراوانی سلول های $CD4^+Foxp3^+Treg$ ممکن است مربوط به عدم تنظیم ایمنی در بیماران RA باشد؛ اما گزارش‌های Han و همکاران (۲۰) و van Amelsfort و همکاران (۸) نشان داد که فراوانی سلول‌های $TCD4^+CD25highTreg$ در خون محیطی بیماران مبتلا به RA افزایش می یابد. این افزایش ممکن است ناشی از التهاب دایمی باشد که این بیماران را درگیر ساخته و سیستم ایمنی با بازخورد منفی سلول های Treg را افزایش داده است تا التهاب را کنترل نماید. لازم به ذکر است که فعالیت مهارکنندگی این سلول ها بر خلاف

www.mui.ac.ir

افزایش تعداد، کاهش عملکرد آن‌ها را نشان می‌دهد (۸). این اختلاف به تفاوت‌های موجود در تفسیر و پلاستیسیتی سلول‌های Treg نسبت داده می‌شود (۱۶).

بر اساس فرضیه های مختلف, سلول های Treg در درمان RA نقش محوری بازی می کنند. بنابراین، درمان سلول های هدف به صورت اولیه یا ثانویه از طریق اثرات غیرمستقیم بر روی سلول‌های Treg اعمال می‌شود. ممکن است قسمتی از تنوع در اثربخشی درمان سلول های هدف به علت وضعیت سلول های Treg در این بیماران باشد که هنوز مشخص نشده است (۲۴).

فعال شدن یا دوباره فعال کردن سلول‌های Treg در بیماران مبتلا به RA ممکن است توازن پاسخ ایمنی را بازگردانده، پروسه‌های التهابی را متوقف و در نتیجه از پیشرفت بیماری جلوگیری کند. با این وجود بسیاری از جنبه‌های این درمان‌ها احتیاج به بررسی بیشتری دارد (۱۶). در بیماری‌های خودایمنی درمان با سلول‌های Treg کمتر استفاده شده است. با این حال استفاده از آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال و Tregهای اختصاصی آنتی‌ژن، قبل از شروع بیماری در مدل موشی MS (EAE) از شروع بیماری جلوگیری نموده است (۲۵).

سلول‌های $CD8^+Foxp3^+Treg$ گروه جدیدی از سلول‌های Treg هستند که اثرات مهار کننده‌ای بر سلول‌های $TCD4^+$ برای آن‌ها ذکر شده است (۲۶). یافته‌های ما نشان داد که میانگین سلول‌های $CD8^+Foxp3^+Treg$ در بیماران مبتلا به RA افزایش داشته است. همچنین، شمارش مطلق سلول‌های $CD8^+Foxp3^+Treg$ در این بیماران افزایش یافته است، که شاید به علت مزمن بودن بیماری و اثر تعدیلی آن‌ها در کنترل پاسخ‌های TCD8 باشد.

بررسی $CD8^+Foxp3^+Treg$ در مطالعات مشابه مانند مطالعه ی Frisullo و همکاران در بیماران مبتلا به MS تفاوت معنی‌داری از لحاظ درصد سلول‌های Treg نوع $CD8^+CD25^+Foxp3^+$ با گروه سالم نشان نداد (۲۷)؛ ولی در مطالعه‌ی Lim و همکاران که بر روی بیماران مبتلا به HIV انجام شد، درصد سلول های Treg نوع $CD8^+CD25^+Foxp3^+$ افزایش داشت که این موضوع نیاز به بررسی بیشتر دارد (۲۸). نقش سلول‌های Treg نوع $CD8^+CD25^+Foxp3^+$ در بیماری های خودایمنی هنوز هم تا حد زیادی ناشناخته است، ولی این زیر مجموعه از سلول های CD8 ممکن است نه تنها در مقاومت های ویروسی و پیشرفت سرطان، بلکه در گسترش بیماری های خودایمنی مانند MS نیز نقش داشته باشند (۲۷).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تغییرات جمعیت سلول های Treg در پاتوژنز بیماران مبتلا به RA نقش مهمی دارد. این تغییرات ممکن است عامل مؤثری در استعداد ابتلا به این بیماری ها باشد و هدف قرار دادن سلول های Treg می تواند به عنوان روشی نوین در درمان این بیماری ها مطرح باشد که در بعضی از بررسی‌های اخیر نیز منعکس شده است.

References

1. Liyanage UK, Moore TT, Joo HG, Tanaka Y, Herrmann V, Doherty G, et al. Prevalence of regulatory T cells is increased in peripheral blood and tumor microenvironment of patients with pancreas or breast adenocarcinoma. J Immunol 2002; 169(5): 2756-61.
2. Wilson NJ, Boniface K, Chan JR, McKenzie BS, Blumenschein WM, Mattson JD, et al. Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells.

www.mui.ac.ir

Nat Immunol 2007; 8(9): 950-7.
3. Cope AP. T cells in rheumatoid arthritis. Arthritis Res Ther 2008; 10(Suppl 1): S1.
4. Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. Altern Med Rev 2003; 8(3): 223-46.
5. McGuirk P, Mills KH. Pathogen-specific regulatory T cells provoke a shift in the Th1/Th2 paradigm in immunity to infectious diseases. Trends Immunol 2002; 23(9): 450-5.
6. Shevach EM. $CD4^+$ $CD25^+$ suppressor T cells: more questions than answers. Nat Rev Immunol 2002; 2(6): 389-400.
7. Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance. Cell 2008; 133(5): 775-87.
8. van Amelsfort JM, Jacobs KM, Bijlsma JW, Lafeber FP, Taams LS. $CD4(^+)CD25(^+)$ regulatory T cells in rheumatoid arthritis: differences in the presence, phenotype, and function between peripheral blood and synovial fluid. Arthritis Rheum 2004; 50(9): 2775-85.
9. Mottonen M, Heikkinen J, Mustonen L, Isomaki P, Luukkainen R, Lassila O. $CD4^+$ $CD25^+$ T cells with the phenotypic and functional characteristics of regulatory T cells are enriched in the synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis. Clin Exp Immunol 2005; 140(2): 360-7.
10. Jordan MS, Boesteanu A, Reed AJ, Petrone AL, Holenbeck AE, Lerman MA, et al. Thymic selection of $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells induced by an agonist self-peptide. Nat Immunol 2001; 2(4): 301-6.
11. Williams LM, Rudensky AY. Maintenance of the Foxp3-dependent developmental program in mature regulatory T cells requires continued expression of Foxp3. Nat Immunol 2007; 8(3): 277-84.
12. Pillai V, Karandikar NJ. Human regulatory T cells: a unique, stable thymic subset or a reversible peripheral state of differentiation? Immunol Lett 2007; 114(1): 9-15.
13. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. Science 2003; 299(5609): 1057-61.
14. Wan YY, Flavell RA. Regulatory T-cell functions are subverted and converted owing to attenuated Foxp3 expression. Nature 2007; 445(7129): 766-70.
15. Bennett CL, Christie J, Ramsdell F, Brunkow ME, Ferguson PJ, Whitesell L, et al. The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. Nat Genet 2001; 27(1): 20-1.
16. Boissier MC, Assier E, Biton J, Denys A, Falgarone G, Bessis N. Regulatory T cells (Treg) in rheumatoid arthritis. Joint Bone Spine 2009; 76(1): 10-4.
17. Hueman MT, Stojadinovic A, Storrer CE, Foley RJ, Gurney JM, Shriver CD, et al. Levels of circulating regulatory $CD4^+CD25^+$ T cells are decreased in breast cancer patients after vaccination with a HER2/neu peptide (E75) and GM-CSF vaccine. Breast Cancer Res Treat 2006; 98(1): 17-29.
18. Lawson CA, Brown AK, Bejarano V, Douglas SH, Burgoyne CH, Greenstein AS, et al. Early rheumatoid arthritis is associated with a deficit in the $CD4^+$CD25high regulatory T cell population in peripheral blood. Rheumatology (Oxford) 2006; 45(10): 1210-7.
19. Cao D, van VR, Klareskog L, Trollmo C, Malmstrom V. CD25brightCD4$^+$ regulatory T cells are enriched in inflamed joints of patients with chronic rheumatic disease. Arthritis Res Ther 2004; 6(4): R335-R346.
20. Han GM, O'Neil-Andersen NJ, Zurier RB, Lawrence DA. $CD4^+$CD25high T cell numbers are enriched in the peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis. Cell Immunol 2008; 253(1-2): 92-101.
21. Zvaifler NJ. The immunopathology of joint inflammation in rheumatoid arthritis. Adv Immunol 1973; 16(0): 265-336.
22. Rech AJ, Mick R, Kaplan DE, Chang KM, Domchek SM, Vonderheide RH. Homeostasis of peripheral FoxP3($^+$) CD4 (+) regulatory T cells in patients with early and late stage breast cancer. Cancer Immunol Immunother 2010; 59(4): 599-607.
23. Christodoulou MI, Kapsogeorgou EK, Moutsopoulos NM, Moutsopoulos HM. Foxp3+ T-regulatory cells in Sjogren's syndrome: correlation with the grade of the autoimmune lesion and certain adverse prognostic factors. Am J Pathol 2008; 173(5): 1389-96.
24. Falgarone G, Duclos M, Boissier MC. TNFalpha antagonists in rheumatoid arthritis patients seen in everyday practice. Joint Bone Spine 2007; 74(6): 523-6.
25. Riley JL, June CH, Blazar BR. Human T regulatory cell therapy: take a billion or so and call me in the morning. Immunity 2009; 30(5): 656-65.
26. Correale J, Villa A. Role of $CD8^+$ $CD25^+$ $Foxp3^+$ regulatory T cells in multiple sclerosis. Ann Neurol 2010; 67(5): 625-38.
27. Frisullo G, Nociti V, Iorio R, Plantone D, Patanella AK, Tonali PA, et al. $CD8(^+)Foxp3(^+)$ T cells in peripheral blood of relapsing-remitting multiple sclerosis patients. Hum Immunol 2010; 71(5): 437-41.
28. Lim A, Tan D, Price P, Kamarulzaman A, Tan HY, James I, et al. Proportions of circulating T cells with a regulatory cell phenotype increase with HIV-associated immune activation and remain high on antiretroviral therapy. AIDS 2007; 21(12): 1525-34.

www.mui.ac.ir

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol 29, No 155, 3rd week, November 2011 Received: 28.5.2011 Accepted: 1.9.2011

A Study of $CD4^+Foxp3^+$Treg and $CD8^+Foxp3^+$Treg Cells in Patients with Rheumatoid Arthritis

Mahtab Tapak MSc[1], Alireza Andalib PhD[2], Pyman Mottaghi MD[3], Shady Babazadeh MD[4], Abbas Rezaei PhD[5], Mansoor Salesi MD[6]

Abstract

Background: Rheumatoid arthritis (RA) is defines as a Th1 dominant disease. Tregs cell are a rather new group of T cells that regulates other immune cells including Th1 and Th2. Foxp3 is a lineage-determining factor for Treg cells. Several subsets of $Foxp3^+$regulatory T cells are ever identified. In this study we investigated the frequency of $CD4^+Foxp3^+$Treg and $CD8^+Foxp3^+$Treg cells in patients with rheumatoid arthritis.

Methods: Peripheral blood samples were obtained from 31 patients with rheumatoid arthritis and 21 healthy controls. Monoclonal antibodies including anti-CD4 and anti-CD8 and anti-Foxp3 were used and the staining process was performed. Flow cytometry were applied to evaluate the markers.

Findings: The percentage of $CD4^+Foxp3^+$Treg cells was 1.03% ± 0.28 % in rheumatoid arthritis and 1.25% ± 0.3% in control group (P = 0.010). The percentage of $CD8^+Foxp3^+$ Treg cells was 0.79 ± 0.18, and 0.63 ± 0.16 in rheumatoid arthritis and control groups respectively (P = 0.002). The WBC and Lymphocytes population in rheumatoid arthritis group were higher than control group (P = 0.001).

Conclusion: These data demonstrate that frequency of Treg cells might be involved in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. This may be a contributory factor in the susceptibility to rheumatoid arthritis (Th1 dominant), or it may achieved during the progression of the disease.

Keywords: Regulatory T cells, Rheumatoid arthritis, Foxp3, CD4, CD8.

[1] Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[2] Associate Professor, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[3] Associate Professor, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[4] Department of Radiotherapy and Oncology, Seyed-Al-Shohada Hospital, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[5] Professor, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[6] Assistant Professor, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
Corresponding Author: Alireza Andalib PhD, Email: andalib@med.mui.ac.ir