

Η ανοσολογία της πνευμονικής ίνωσης: Ο ρόλος των Th1/Th2/Th17/Treg κυττάρων

Αργύρης Τζουβελέκης¹,
Ευάγγελος Μπούρος¹,
Δημοσθένης Μπούρος²

¹Ιατρική Σχολή, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο
Θράκης, Αλεξανδρούπολη
²Καθηγητής Πνευμονολογίας, Πνευμονολογική
Κλινική, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο
Αλεξανδρούπολης

Η ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΙΝΩΣΗ ΕΠΑΓΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ Th2 ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΑΝΤΗΣΗ

Η πνευμονική ίνωση χαρακτηρίζεται από προοδευτική ουλοποίηση του πνευμονικού παρεγχύματος και εναπόθεση εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, καταλήγοντας σε διαταραχές της λειτουργικής ικανότητας του πνεύμονα και σε αναπνευστική ανεπάρκεια. Τα τελευταία χρόνια έχουν δημοσιευτεί αρκετές μελέτες σχετικά με το σημαίνοντα ρόλο του ανοσοποιητικού συστήματος στην παθογένεια της νόσου.

Η Th2 ανοσολογική απάντηση χαρακτηρίζει πληθώρα αναπνευστικών νοσημάτων πολλά από τα οποία καταλήγουν σε ιστική αναδιαμόρφωση (remodeling) και σε ίνωση. Στην ιδιοπαθή πνευμονική ίνωση (IPF) έχει παρατηρηθεί ανισορροπία μεταξύ Th1 και Th2 ανοσολογικής απάντησης και με τάση προς την Th2, η οποία επάγει την ίνωση κυρίως μέσω έκκρισης προ-ινωτικών κυτταροκινών εντός του προσβεβλημένου επιθηλίου. Σε πειραματικά μοντέλα της νόσου, τα πειραματόζωα των οποίων η ανοσολογική απάντηση στην επιθηλιακή βλάβη είναι κυρίαρχη η Th2 απάντηση, είναι περισσότερο επιρρεπή στην ανάπτυξη πνευμονικής ίνωσης μετά από πρόκληση επιθηλιακής βλάβης σε σχέση με τα πειραματόζωα στα οποία κυριαρχεί η Th1 απάντηση^{1,2}.

Έχει παρατηρηθεί ότι οι δυο κύριες χημειοκίνες (CCL17 και CCL22) των οποίων η έκφραση ρυθμίζεται από Th2 κυτταροκίνες, σχετίζονται άμεσα με την πνευμονική ίνωση^{3,4}. Έχει βρεθεί ότι η έκφραση αυτών των χημειοκινών μαζί με του υποδοχέα τους, CCR4, είναι αυξημένη στον ινωτικό πνεύμονα σε σύγκριση με περιοχές φυσιολογικού πνευμονικού παρεγχύματος. Πιο συγκεκριμένα, ο CCR4 βρέθηκε να εκφράζεται κυρίως από μακροφάγα τα οποία εντοπίζονταν εντός των ινωτικών περιοχών.

Η Th2 ανοσολογική απάντηση συνεισφέρει ενεργά στην παθολογική επανα-ενδοθηλιοποίηση και επανα-επιθηλιοποίηση καταλήγοντας στην απελευθέρωση προ-ινωτικών αυξητικών παραγόντων στην περιοχή της επιθηλιακής βλάβης¹. Οι προ-ινωτικές αυτές κυτταροκίνες πυροδοτούν την μετανάστευση των ινοβλαστών στην περιοχή της βλάβης και επάγουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση τους σε μυοϊνοβλάστες. Σήμερα θεωρείται ότι η φλεγμονή είναι επακόλουθο της πνευμονικής βλάβης και ότι η IPF συμβαίνει ως πόλωση της ανοσολογικής απάντησης σε επαναλαμ-

Αλληλογραφία:

Δημοσθένης Μπούρος
Πνευμονολογική Κλινική
Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Αλεξανδρούπολης
68 100 Αλεξανδρούπολη
Τηλ./Fax: 25510 75096
e-mail: bouros@med.duth.gr

βανόμενα βλαπτικά ερεθίσματα του πνεύμονα (θεωρία των πολλαπλών χτυπημάτων-“multiple hits”). Ωστόσο, οι φαινότυποι των ανοσολογικών απαντήσεων Th2 και Th1 στην IPF, δεν είναι μέχρι σήμερα καλά αποσαφηνισμένοι, όπως ακριβώς συμβαίνει στα πειραματικά μοντέλα¹ της νόσου αλλά και στο άσθμα.

Η φλεγμονή και η ιστική αναδιαμόρφωση (remodeling) σε συνδυασμό με την ανάπτυξη ουλώδους ιστού αποτελούν τις πιο συχνές συνέπειες των Th2 ανοσολογικών απαντήσεων, τόσο στον πνεύμονα όσο και σε άλλα όργανα. Η (IL)-13 και transforming growth factor - TGF -1 συνεκφράζονται αρκετά συχνά σε αυτού του τύπου τις απαντήσεις και θεωρείται ότι διαδραματίζουν σημαίνοντα ρόλο στις επαγόμενες από την ανοσολογική απάντηση βλάβες.

Η Th1/Th2 υπόθεση κυριάρχησε για δεκαετίες σχετικά με την ανοσολογική ρύθμιση και την ανοσοπαθogenεία της πνευμονικής ίνωσης αλλά και άλλων νοσημάτων που σχετίζονται με την άμυνα του οργανισμού, παρά τις ελλείψεις και την αδυναμία της να παράσχει επαρκείς ερμηνείες σχετικά με την επαγόμενη από τα T-λεμφοκύτταρα ιστική βλάβη.

Πρόσφατα, δυο νέοι υποπληθυσμοί CD4 T λεμφοκυττάρων, περιγράφησαν και άλλαξαν άρδην τα δεδομένα σχετικά με την κατανόηση της ανοσολογικής απάντησης. Αυτοί είναι, ο **Th17**, ο οποίος επάγεται με διαφορετικά σηματοδοτικά μόρια από εκείνα των Th1 και Th2 κυτταρικών σειρών, και τα **T ρυθμιστικά κύτταρα (T regulatory cells-Tregs)**. Ο υποπληθυσμός TH-17 χαρακτηρίζεται από την παραγωγή IL-17 και σχετίζεται με την αυτοάνοση ιστική βλάβη, συμπεριλαμβανομένων της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, και των ειδικών αλλεργικών αντιδράσεων.

Οι κύριοι παράγοντες που πυροδοτούν την παραγωγή νέων δραστικών CD4+ Th17 κυττάρων, είναι ο TGF-b καθώς και οι ιντερλευκίνες IL-23 και IL-17. Παρά την ολοένα αυξανόμενη ερευνητική προσπάθεια, υπάρχουν ακόμα αρκετές ασάφειες αναφορικά με τη σχέση των Th-17 και Th1/Th2 ανοσολογικών απαντήσεων στην παθogenεία αρκετών χρόνιων φλεγμονωδών και αυτοάνοσων νοσημάτων του πνεύμονα⁹⁻¹¹. Παρά το γεγονός ότι τα Th17 κύτταρα είναι λίαν σημαντικά στους αμυντικούς μηχανισμούς του αναπνευστικού βλεννογόνου, ωστόσο μπορούν σε κατάλληλες συνθήκες να επάγουν ανοσοπαθολογικά φαινόμενα.

Ο υποδοχέας της IL-17 έχει αναφερθεί ότι υπερκφράζεται στους πνεύμονες ασθενών με πνευμονίτιδα^{5,6} εξ'υπερευαισθησίας. Επιπλέον, ο TGF-b και η IL-6 είναι απαραίτητοι παράγοντες στα πειραματόζωα για τη διαφοροποίηση των άωρων CD4 T λεμφοκυττάρων σε

δραστικά Th17 κύτταρα ποντικού^{7,8}. Παράλληλα ο TGF-b αποτελεί αυξητικό παράγοντα κριτικής σημασίας για την ανάπτυξη πνευμονικής ίνωσης⁹. Επομένως, μπορούμε να υποθέσουμε ότι ο TGF-b μπορεί σε κατάλληλες συνθήκες να επάγει τη διαφοροποίηση Th17 κυττάρων με τελικό αποτέλεσμα την εναπόθεση κολλαγόνου και την προοδευτική ουλοποίηση του πνευμονικού παρεγχύματος.

Τα T ρυθμιστικά κύτταρα ή Tregs (CD4+CD25+foxp3+) αποτελούν τον πρώτο σαφώς καθορισμένο κυτταρικό υποπληθυσμό των δραστικών CD4+ T λεμφοκυττάρων¹⁰. Η ανάπτυξη των Treg χαρακτηρίζεται από την παρουσία του μεταγραφικού παράγοντα forkhead box protein 3 (foxp3), ενώ οι αντίστοιχοι μεταγραφικοί παράγοντες των Th2 και Th1 ανοσολογικών απαντήσεων είναι οι GATA-3 και STAT1. Τα Tregs καταστέλλουν την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος και βοηθούν στην ομοίωση της ανοσιακής απάντησης καθώς και στην ανοσοαντοχή στα αυτόαντιγόνα⁸.

Τα Tregs καταστέλλουν τόσο την Th1- και την Th2-επαγόμενη ανοσολογική απάντηση με τέτοιο τρόπο έτσι ώστε να διατηρείται επαρκής ανοσία για την κάθαρση των λοιμογόνων παραγόντων, ενώ παράλληλα να αποτρέπονται ανεπιθύμητες ανοσοπαθολογικές αντιδράσεις. Σε περίπτωση έλλειψης των **Tregs**, η ανοσογονικότητα των Th1 και Th2 απαντήσεων αυξάνεται δραματικά με αποτέλεσμα την πρόκληση αυτοάνοσων νοσημάτων, άσθματος και αλλεργικών αντιδράσεων. Ομοίως η υπερέκφραση των **Tregs**, μειώνει την ανοσογονικότητα των Th1 και Th2 απαντήσεων, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε ανεπαρκή ανοσολογική ρύθμιση του καρκίνου καθώς και λοιμωδών νοσημάτων^{8,10,11}.

Τα Tregs φαίνεται ότι αποτελούν την εξέλιξη των παλιών κατασταλτικών T-λεμφοκυττάρων. Παρά το γεγονός ότι τα **Tregs** φαίνεται να διαθέτουν διαφορετικό φαινότυπο, εντούτοις, είναι ικανά να καταστείλουν πληθώρα επαγόμενων από τα T λεμφοκύτταρα ανοσολογικών απαντήσεων. Υπάρχει ένας σημαντικός διαχωρισμός ανάμεσα στα φυσικώς παραγόμενα Tregs (nTreg), τα οποία απαιτούν άμεση κυτταρική επαφή για να δράσουν και στα επαγόμενα Tregs (iTreg), τα οποία επάγουν την καταστολή μέσω συνδεόμενων, με κυτταροκίνες, μηχανισμών. Δυστυχώς, μέχρι σήμερα, υπάρχει περιορισμένος αριθμός δεδομένων σχετικά με τον ρόλο των **Tregs** σε διάφορους παθήσεις, ωστόσο οι πιθανές κλινικές τους εφαρμογές είναι υπό διερεύνηση^{10,12}.

Ο ρόλος των Tregs στην παθogenεία της πνευμονικής ίνωσης

Πρόσφατα δεδομένα υποστηρίζουν το σημαίνοντα

ρόλο των Tregs στην παθοφυσιολογία και την παθογένεια των διαμέσων πνευμονοπαθειών (ILD). Οι Miyara και συν¹³, παρατήρησαν υπερέκφραση των Tregs στο περιφερικό αίμα, στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα καθώς και σε ιστικά δείγματα ασθενών με ενεργό σαρκοείδωση πνεύμονος. Ωστόσο, παρά τις υψηλές συγκεντρώσεις των Tregs και την κατασταλτική τους δράση στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, η οποία σύμφωνα με τους συγγραφείς μπορεί μερικώς να εξηγήσει την κατάσταση ανεργίας που χαρακτηρίζει τη σαρκοείδωση, τα Tregs ήσαν ανίκανα να αναστείλλουν επαρκώς την έκκριση προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως τον TNF-α και την IFN-γ, επιτρέποντας έτσι την ανάπτυξη κοκκιωμάτων.

Παράλληλα, μια ακόμα ομάδα ερευνητών βρήκε μειωμένη έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα Foxp3 στα CD4⁺ του βρογχοκυψελιδικού εκπλύματος ασθενών με σαρκοείδωση συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, εύρημα ενδεικτικό είτε ποσοτικής είτε ποιοτικής βλάβης των Tregs¹⁴.

Επιπρόσθετα, πρόσφατη μελέτη από την ομάδα μας¹⁵, ανέδειξε διαταραχή στην κατασταλτική ικανότητα των Tregs τόσο στο περιφερικό αίμα όσο και στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα ασθενών με IPF. Παράλληλα, παρατηρήθηκαν μειωμένοι αριθμοί τόσο στο περιφερικό αίμα όσο και στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα ασθενών με NSIP συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου. Αντίθετα τα Tregs βρέθηκαν σημαντικά αυξημένα στο BAL των ασθενών, ενώ η κατασταλτική τους ικανότητα παρέμεινε ανέπαφη. Παρόμοια ευρήματα προέκυψαν και από τη διπλή ανοσοϊστοχημική χρώση Foxp3⁺ και CD4⁺ σε ιστικές βιοψίες ασθενών με NSIP. Τελευταίο και περισσότερο ενδιαφέρον ήταν το εύρημα της γραμμικής συσχέτισης της διαταραγμένης έκφρασης των Tregs, τόσο σε ποσοτικό όσο και σε ποιοτικό επίπεδο, με παραμέτρους βαρύτητας της νόσου, συμπεριλαμβανομένων της λειτουργικής ικανότητας του πνεύμονα. Το παραπάνω εύρημα είναι υποστηρικτικό της υπόθεσης ότι η δυσλειτουργία αυτή των Tregs μπορεί να χρησιμεύσει ως αξιόπιστος προγνωστικός δείκτης εξέλιξης της νόσου και ανταπόκρισης στη θεραπεία, παρέχοντας με τον τρόπο αυτό στους σημερινούς θεράποντες ιατρούς ένα χρήσιμο εργαλείο ταξινόμησης των ασθενών με βάση τη βαρύτητα και την πρόγνωση της νόσου στην καθημέρα ιατρική πράξη¹⁵.

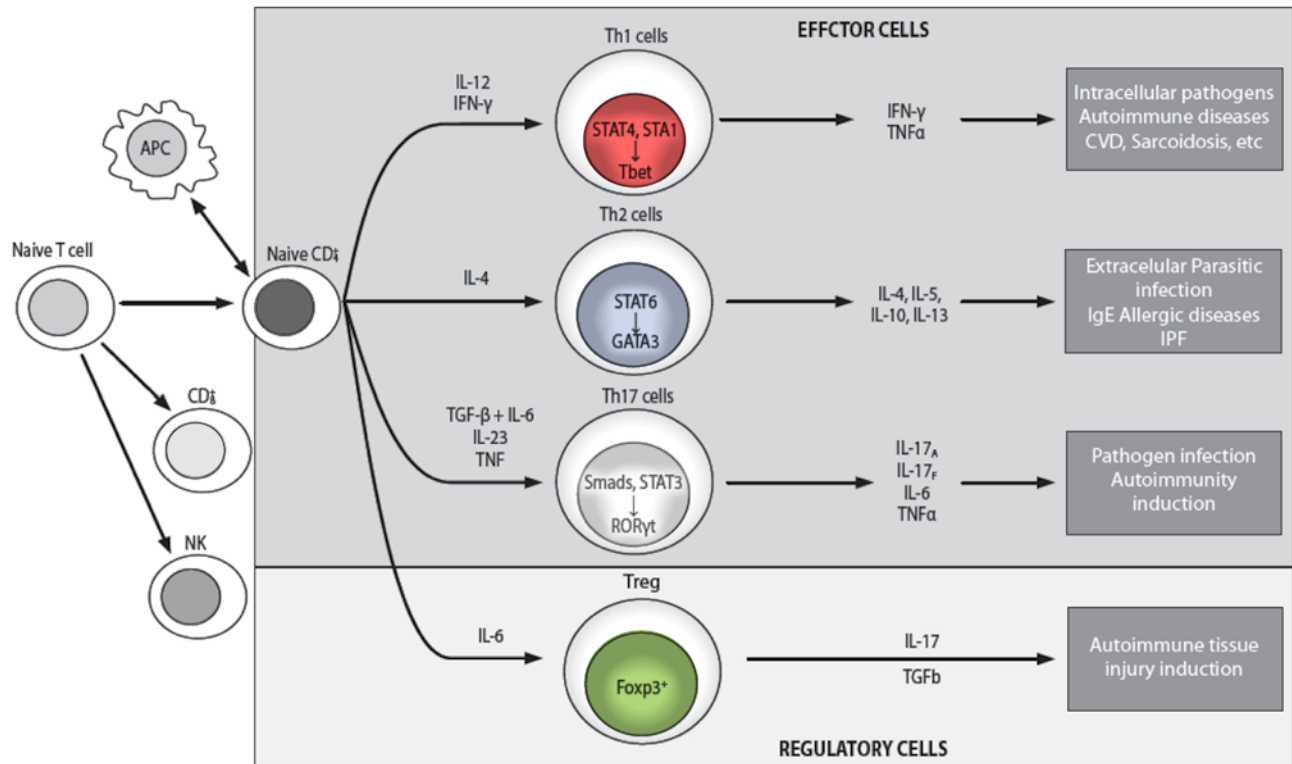
Επομένως, μπορεί κανείς να συμπεράνει ότι τα Tregs μπορούν να καταστείλουν όχι μόνο την Th1 αλλά και την Th2 ανοσολογική απάντηση. Σε ένα πειραματικό μοντέλο οξείας πνευμονικής βλάβης (ALI) τα ποντίκια με παντελή έλλειψη λεμφοκυττάρων άρα και Treg (Rag-1^{-/-}), χαρακτηρίζονταν από σημαντική διαταραχή στην επούλωση της

κυψελιδικής βλάβης η οποία επάγονταν από τη χορήγηση LPS. Επιπλέον η εξωγενής έγχυση CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺ κυττάρων αποκατέστησε την αναγεννητική ικανότητα των ποντικών με έλλειψη Treg¹⁶.

Επομένως, μπορεί να υποθεθεί ότι τόσο οι ποσοτικές όσο και οι ποιοτικές διαταραχές της έκφρασης των Treg στους ασθενείς με IPF δύνανται να οδηγήσουν είτε σε ανεπαρκή έλεγχο της ήδη υπερλειτουργικής Th2 ανοσολογικής απάντησης είτε να συνεισφέρουν σε πόλωση της ανοσολογικής απάντησης προς την Th2'. Επιπλέον, τα Tregs βρέθηκαν πλήρως λειτουργικά στους ασθενείς με NSIP, υποδηλώνοντας την ύπαρξη ευδιάκριτων παθογενετικών μονοπατιών μεταξύ των δυο νοσημάτων. Επιπρόσθετα, το ενδιαφέρον εύρημα της υπερέκφρασης των BALF Tregs στους ασθενείς με NSIP χρήζει περαιτέρω διερεύνησης καθώς μπορεί να αποκρύπτει υπερβολική καταστολή της τοπικής ανοσιακής απάντησης. Η τοπική συσσώρευση των Tregs στους NSIP ασθενείς μπορεί να προκύπτει είτε από τη στρατολόγηση των Tregs του περιφερικού αίματος είτε από αυξημένο πολλαπλασιασμό των τοπικών Tregs λόγω αναγνώρισης τοπικών αντιγόνων. Εναλλακτικά, θα μπορούσε κανείς να υποθέσει ότι τα υψηλά επίπεδα φλεγμονής και η παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών όπως η IL-2, δύνανται να τα ενεργοποιήσουν από την άνεργη κατάσταση επάγοντας έτσι τον πολλαπλασιασμό τους. Αυτό που μένει να αποσαφηνιστεί είναι το αν η παρατηρούμενη αυτή αύξηση του αριθμού των Tregs στο κυψελιδικό επιθήλιο των ασθενών με NSIP αποτελεί πρωτογενές γεγονός της αιτιοπαθογένειας της νόσου το οποίο επάγει της αναστολή της τοπικής ανοσιακής απάντησης ή αντιπροσωπεύει απλά μια αντιδραστική διαδικασία.

Προς υποστήριξη των ευρημάτων μας, ο Mark και οι συν¹⁷, διαπίστωσαν ότι η παρουσία αυξημένων αριθμών λειτουργικών και καλά διαφοροποιημένων CD4⁺FoxP3⁺ Treg κυττάρων εντός του διηθημένου από τον ιό της ηπατίτιδας C ηπατικό ιστό μπορεί να οδηγήσει σε περιορισμό της έκτασης της ίνωσης. Το παραπάνω εύρημα είναι ενδεικτικό του σημαίνοντα ρόλου που φαίνεται να διαδραματίζουν τα CD4⁺FoxP3⁺ Treg κύτταρα στον περιορισμό των παράπλευρων απωλειών υγιούς ιστού, με το να αναστέλλουν την επαγόμενη από τον ιό της ηπατίτιδας C καταστροφή ηπατικού παρεγχύματος μέσω ενεργοποίησης της τοπικής ανοσιακής απάντησης.

Συμπερασματικά, η ανακάλυψη του μονοπατιού της Th17 ανοσολογικής απάντησης και η συσχέτιση του με τα T ρυθμιστικά κύτταρα (Tregs) άνοιξε νέους ορίζοντες στην κατανόηση μας αναφορικά με τον ρόλο των CD4⁺ T λεμφοκυττάρων στην παθογένεια των διαφόρων νο-



ΕΙΚΟΝΑ 1. Η διαφοροποίηση και η ρύθμιση των T βοηθητικών κυττάρων (Bouros D. Pneumon 2007;20:216-218).

σημάτων του αναπνευστικού, η οποία μέχρι πρότινος αποδιδόταν στην ανισορροπία μεταξύ Th1 και Th2 ανοσολογικής απάντησης (Εικόνα 1)¹⁸. Παράλληλα η διαπίστωση αυτή θέτει τις βάσεις για την ανεύρεση νέων περισσότερο αποτελεσματικών θεραπευτικών προσεγγίσεων για μια σειρά αυτοάνοσων και φλεγμονωδών

νοσημάτων που έχουν αιτιοπαθογένεια μέχρι στιγμής άγνωστη και θεραπεία αναποτελεσματική.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

(Βλέπε αγγλικό κείμενο)

The Immunology of pulmonary fibrosis: The role of Th1/Th2/Th17/Treg cells

Argyris Tzouvelekis¹,
Evangelos Bouros¹,
Demosthenes Bouros²

¹Medical School, Democritus University
of Thrace, Alexandroupolis, Greece

²Professor of Pneumology,
Department of Pneumology,
Medical School, Democritus University
of Thrace, Alexandroupolis, Greece

PULMONARY FIBROSIS IS DRIVEN BY TH2 IMMUNE RESPONSE

Pulmonary fibrosis is characterized by chronic scar formation and deposition of extracellular matrix, resulting in impaired lung function and respiratory failure. There is growing evidence of immune system involvement in the pathogenesis of pulmonary fibrosis.

Th2 responses characterize a number of pulmonary diseases, many of which culminate in tissue remodelling and fibrosis. A shift towards a Th2 immune response appears to predominate in idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) and this promotes fibrosis, primarily via secretion of profibrotic cytokines into the injured epithelium. In murine models of lung disease, animals whose response to tissue injury is predominantly of the Th2 type are more prone to pulmonary fibrosis after lung injury than those with a predominantly Th1 response^{1,2}.

It has been shown that two CC chemokines that are regulated by Th2 cytokines, specifically CCL17 and CCL22, are associated with pulmonary fibrosis^{3,4}. These chemokines and their receptor CCR4 have been found to be elevated in areas of fibrotic lung tissue, compared with normal pulmonary parenchyma. In particular, CCR4 has been found to be expressed mostly by macrophages present in fibrotic areas.

Th2 immune response contributes to a failure of re-endothelialization and reepithelialization, and leads to the release of profibrotic growth factors into the region of injury¹. These profibrotic cytokines initiate fibroblast migration into the site of injury and promote their proliferation and differentiation into myofibroblasts. It is considered that the inflammation is subsequent to lung injury, and that IPF occurs as a result of a polarization of the immune response of the body to repeated injury (i.e., "multiple hits") to the lung. However, Th2 and Th1 phenotypes are not as well defined in IPF as they are in asthma and animal models¹.

Inflammation and tissue remodelling with pathological fibrosis are common consequences of Th2 responses in the lung and other organs. Interleukin (IL)-13 and transforming growth factor-1 (TGF-1) are frequently co-expressed in these responses and are believed to play an important role in the pathogenesis of Th2-induced pathological conditions.

This Th1/Th2 hypothesis has dominated the understanding of immune

Correspondence to:

Demosthenes Bouros MD, PhD, FCCP
Professor of Pneumology
Head, Dept of Pneumology,
and Chairman, Dept of Internal Medicine,
University Hospital of Alexandroupolis
Alexandroupolis, Greece, 68100
Tel./Fax: 25510 75096,
E-mail: bouros@med.duth.gr

regulation, immune pathogenesis and host defenses for decades, despite flaws and its inability to explain certain data regarding T-cell mediated tissue damage.

Recently, two novel CD4 T cell subsets have been described which have revolutionized the understanding of immune function. These are the **Th17**, which develops via different cytokine signals from those of Th1 and Th2 lineages, and the **T regulatory cells (Tregs)**. The Th17 subset is characterized by production of IL-17 and is involved in the pathogenesis of autoimmune tissue injury, including rheumatoid arthritis and allergen-specific responses.

The central players in the generation of the new effector CD4+ Th17 subset are TGF- β , IL-23 and IL-17. Despite intense research, there is still considerable uncertainty regarding the relationship of Th-17 and Th1/Th2 responses in chronic inflammatory and autoimmune disease⁹⁻¹¹. Although Th17 cells are important agents in mucosal host defence, they can also mediate immunopathology.

The IL-17 receptor has been shown to be upregulated in the lungs of patients with hypersensitivity pneumonitis^{5,6}. Tumour growth factor- β (TGF- β) and IL-6 are necessary for the differentiation of naive CD4 T lymphocytes into Th17 cells in mice^{7,8}. TGF- β has been shown to be a critical cytokine for the development of pulmonary fibrosis⁹, and may promote differentiation of Th17 cells with the adverse consequence of promoting collagen deposition in the lung.

Tregs (i.e., CD4+CD25+foxp3+) represent the first well-defined expansion of the CD4+ T cell functional range¹⁰. Treg development is specified by the transcription factor forkhead box protein 3 (foxp3), while GATA-3 and STAT1 are the master regulators for Th2 and Th1 differentiation, respectively. Tregs suppress activation of the immune system and help maintain immune homeostasis and tolerance to self-antigens⁸.

Tregs suppress both Th1- and Th2-mediated immune responses in such a way that sufficient immunity remains for clearing infectious agents, while unwanted immunopathology is prevented. In the case of a shortage of Tregs, the potential amplitude of Th1 and Th2 responses is increased, resulting in excessive T cell immunity, associated with autoimmune disease, asthma and allergy. An abundance of Tregs, on the other hand, will reduce the potential amplitude of Th1 and Th2 responses and may impair the adequacy of immunity to tumours and infectious diseases^{8,10,11}.

Tregs appear to represent the resurrection of the old suppressor T cells. Although of a different phenotype, Tregs are able to suppress many T cell mediated immune

responses. A distinction is made between naturally occurring regulatory T cells (nTreg), which require cell-cell contact for suppression, and inducible regulatory T cells (iTreg), which mediate suppression predominantly via cytokine dependent pathways. Limited studies on Tregs in human disease are available to date, but the possible clinical applications are under investigation^{10,12}.

ROLE OF T-REGULATORY CELLS IN THE PATHOGENESIS OF PULMONARY FIBROSIS

Recent findings support a role for Tregs in the pathophysiology and pathogenesis of interstitial lung disease (ILD). Miyara et al.¹³ observed a substantial expansion of Tregs in the peripheral blood (PB), bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and disease sites of patients with active sarcoidosis. Nevertheless, despite their high numbers and their potent suppression of cell proliferation, which may be responsible for the anergic state seen in sarcoidosis, Tregs were unable to efficiently abrogate the secretion of proinflammatory cytokines such as TNF- α and IFN- γ , thus permitting the development of granulomas.

In addition, another group of investigators found reduced Foxp3 expression in the BALF CD4+ cells of patients with sarcoidosis compared to that of controls, indicative of low numbers, or, alternatively, a qualitative Treg defect¹⁴.

A significant impairment of Treg suppressor function was evident in both the PB and BALF of patients with IPF, most of whom also showed low Treg numbers in PB and BALF compared to both control subjects and patients with NSIP. In contrast, Tregs were overly expanded in the BALF of patients with NSIP, while their suppressor function remained intact. Identical findings were obtained from lung biopsy tissue assessed for the presence of Tregs by dual immunostaining for Foxp3+ and CD4+. Finally, an almost linear correlation of Treg global impairment at both the functional and numerical levels with parameters of disease severity, including pulmonary function tests, was also demonstrated, suggesting that Treg dysfunction may serve as a reliable predictor of disease progressiveness and treatment responsiveness, and may provide clinicians with a novel tool for risk stratification of patients with IPF¹⁵.

Tregs can suppress not only the Th1, but also the Th2 response. In an experimental model of acute lung injury (ALI) it was clearly demonstrated that lymphocyte-, and consequently Treg-deficient (Rag-1^{-/-}) mice showed strikingly impaired recovery of the alveolar injury induced

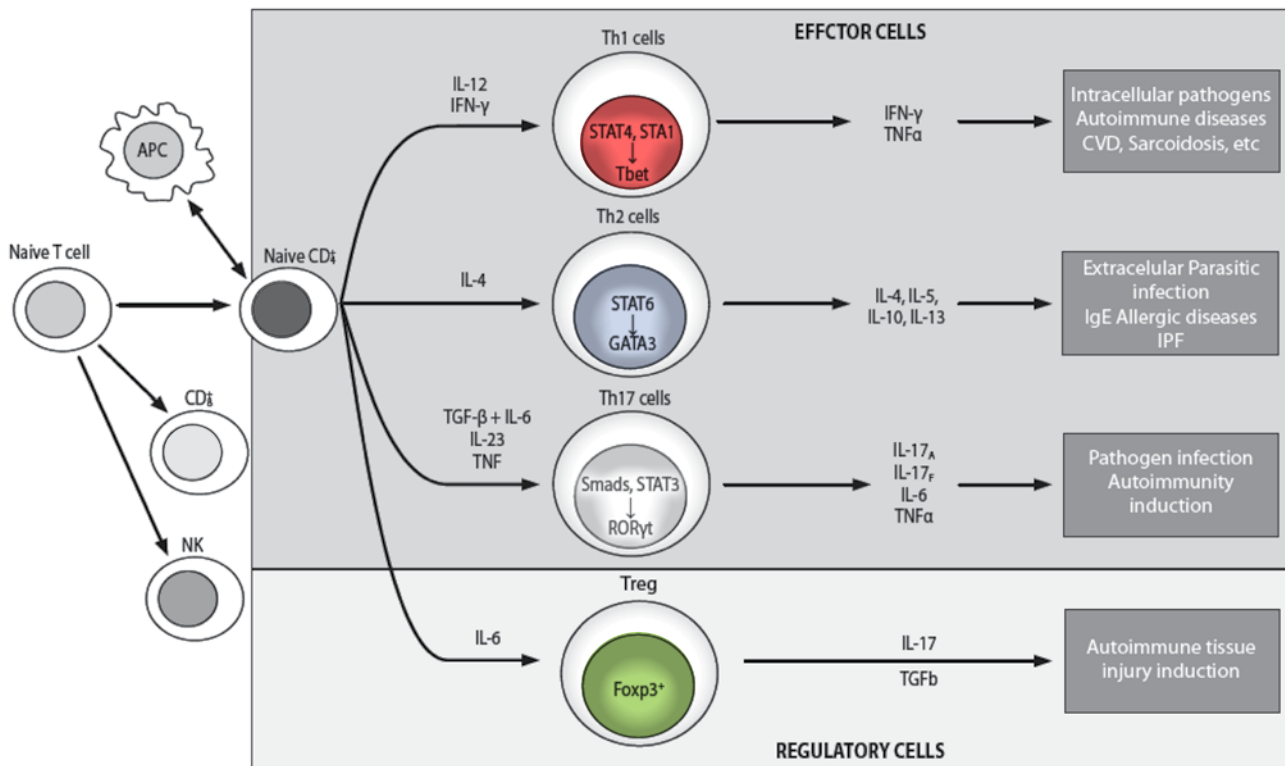


FIGURE 1. T helper cell differentiation and regulation (Bouros D. Pneumon 2007;20:216-218).

by LPS administration, and that exogenous infusion of CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺ restored the resolution capacity of the Treg deficient mice¹⁶.

It can therefore be surmised that the low numbers of Treg and the systemic and local Treg dysfunction found in IPF patients may either result in inefficient control of the pre-existing overexuberant Th2 response or contribute to a Th2 skew⁷. On the other hand, Tregs were found to be fully functional in NSIP patients, implying the existence of two distinct pathogenetic pathways for the two disorders. In addition, the finding of Treg expansion only in the BALF of patients with NSIP deserves further consideration as it may potentially entail excessive suppression of the local immune response. The local accumulation of Tregs in NSIP may result from either vigorous recruitment of peripheral blood Tregs or local expansion due to the recognition of lung tissue antigens. Alternatively, the high levels of inflammation and the production of proinflammatory cytokines such as IL-2 may release the anergic state of Tregs inducing them to proliferate. It remains to be elucidated whether the observed increase of Tregs in the lung epithelium of patients with NSIP occurs as a primary event inducing aberrant inhibition of local im-

munity or merely represents a reactive process.

In support of these findings, Mark et al¹⁷ demonstrated that large numbers of highly activated and differentiated CD4⁺FoxP3⁺ Tregs localize in the infiltrations of chronically HCV-infected liver, which may result in limitation of the extent of fibrosis. This suggests that CD4⁺FoxP3⁺ Tregs play a pivotal role in limiting collateral damage by suppressing excessive HCV-induced immune activation.

In conclusion, although functional CD4⁺ T cell development has been dominated by the Th1-Th2 paradigm, more recently the discovery of the Th17 pathway and its relationship with Tregs¹⁸ (Figure 1) has opened a new, promising era in the understanding of adaptive immune regulation, resulting in novel and more effective therapeutic approaches in a number of autoimmune and inflammatory diseases.

REFERENCES

1. Gross TJ, Hunninghake GW Idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2001;345:517-525.
2. Strieter RM Pathogenesis and natural history of usual interstitial pneumonia: the whole story or the last chapter of a long novel. *Chest* 2005;128:526S-532S.

3. Agostini C, Gurrieri C. Chemokine/cytokine cocktail in idiopathic pulmonary fibrosis. *Proc Am Thorac Soc* 2006;3:357-363.
4. Steinman L. A brief history of T(H)17, the first major revision in the T(H)1/T(H)2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. *Nat Med* 2007;13:139-145.
5. Joshi AD, Fong DJ, Oak SR, et al. Interleukin-17-mediated immunopathogenesis in experimental hypersensitivity pneumonitis. *Am J Respir Crit Care Med* 2009;179:705-716.
6. Simonian PL, Roark CL, Wehrmann F, et al. Th17-polarized immune response in a murine model of hypersensitivity pneumonitis and lung fibrosis. *J Immunol* 2009;182:657-665.
7. Belghith M, Bluestone JA, Barriot S, Megret J, Bach JF, Chatenoud L. TGF-beta-dependent mechanisms mediate restoration of self-tolerance induced by antibodies to CD3 in overt autoimmune diabetes. *Nat Med* 2003;9:1202-1208.
8. Bettelli E, Carrier Y, Gaoet W, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006; 441:235-238.
9. Huang MC, Liao JJ, Bonasera S, Longo DL, Goetzl EJ. Nuclear factor-kappaB-dependent reversal of aging-induced alterations in T cell cytokines. *FASEB J* 2008;22:2142-2150.
10. O'Garra A, Vieira P. Regulatory T cells and mechanisms of immune system control. *Nat Med* 2004;10:801-805.
11. Kearley J, Buckland KF, Mathie SA, Lloyd CM. Resolution of allergic inflammation and airway hyperreactivity is dependent upon disruption of the T1/ST2-IL-33 pathway. *Am J Respir Crit Care Med* 2009;179:772-781.
12. Feghali-Bostwick CA, Tsai CG, Valentine VG, et al. Cellular and humoral autoreactivity in idiopathic pulmonary fibrosis. *J Immunol* 2007;179:2592-2599.
13. Miyara M, Amoura Z, Parizot C, et al, Chapelon-Abrieu P, Debre J, C. Piette, and G. Gorochov. The immune paradox of sarcoidosis and regulatory T cells. *J Exp Med* 2006;203:359-370.
14. Grunewald J, Eklund A. Role of CD4+ T cells in sarcoidosis. *Proc Am Thorac Soc* 2007;4:461-464.
15. Kotsianidis I, Nakou E, Bouchliou I, et al. Global impairment of CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2009;179:1121-1130.
16. D'Alessio FR, Tsushima K, Aggarwal NR, et al. CD4+CD25+Foxp3+ Tregs resolve experimental lung injury in mice and are present in humans with acute lung injury. *J Clin Invest* 2009;119:2898-2913.
17. Mark AAC, de Kneegt RJ, Tilanus HW et al. Abundant numbers of regulatory T cells localize to the liver of chronic hepatitis C infected patients and limit the extent of fibrosis. *J Hepatol* 2010;52:315-321
18. Bouros D. Sex and 17: Two novel pathways in immune regulation. *Pneumon* 2009;19:216-218