

Zaburzenia odporności komórkowej u chorych na stwardnienie rozsiane

Małgorzata Bilińska

Katedra i Klinika Neurologii Akademii Medycznej we Wrocławiu

STRESZCZENIE

W patogenezie stwardnienia rozsianego (SM, *sclerosis multiplex*) istotną rolę odgrywają zaburzenia odporności komórkowej. Aktywacja autoreaktywnych wobec antygenów mielinowych limfocytów T na obwodzie wymaga 2 sygnałów. Sygnał 1 jest swoisty i wobec braku antygeny mielinowy może być realizowany w procesie molekularnej mimikry i/lub reakcji z superantygenem. Sygnał 2 — antygenowo nieswoisty — jest realizowany przez cząsteczki kostymulujące i ich ligandy. W niniejszym przeglądzie przedstawiono wyniki badań dotyczące zmian ekspresji molekuł kostymulujących CD28 i CTLA-4 oraz ich liganda B7 w odniesieniu do rozwoju i przebiegu zwierzęcego modelu SM oraz dane dokumentujące dysregulację tych molekuł u chorych z rozpoznaniem SM.

Polski Przegląd Neurologiczny 2008; 4 (1): 20–25

Słowa kluczowe: stwardnienie rozsiane, EAE, kostymulacja, limfocyty TCD4⁺

Wprowadzenie

Istnieje wiele dowodów przemawiających za udziałem zaburzeń immunologicznych w patomechanizmie stwardnienia rozsianego (SM, *sclerosis*

multiplex) u osób podatnych genetycznie na tę chorobę. Mimo dynamicznego rozwoju badań z zakresu immunologii i genetyki wiele aspektów dotyczących etiologii i patomechanizmu SM pozostaje niejasnych, a możliwości leczenia wciąż są ograniczone. Badania genetyczne, których celem jest określenie związku poszczególnych genów z podatnością na zachorowanie i/lub progresją schorzenia, nie przyniosły ostatecznych rozstrzygnięć. Głównym genetycznym wskaźnikiem ryzyka podatności na rozwój SM jest obecność allelu HLA-DR2 w zakresie głównego układu zgodności tkankowej (MHC, *major histocompatibility complex*) [1]. Również inne geny, których produkty białkowe uczestniczą w odpowiedzi immunologicznej, wydają się wpływać na rozwój i/lub progresję schorzenia [2–4]. Prawdopodobnie podłoże genetyczne schorzenia jest bardzo złożone, warunkowane wielogenowo. W badaniach nad etiologią stwardnienia rozsianego zwraca się również uwagę na znaczenie środowiskowych czynników narażenia, w tym czynników zakaźnych [5–7].

Wiele danych przemawia za kluczowym udziałem w rozwoju i progresji SM zaburzeń odpowiedzi komórkowej, realizowanych przez limfocyty TCD4⁺. Spośród innych składowych odpowiedzi komórkowej biorących udział w procesie demielinizacji podkreśla się rolę cytotoksycznych limfocytów TCD8⁺ oraz regulatorowych komórek CD4⁺CD25^{hi} [8, 9]. W świetle najnowszych danych dotyczących etiologii tej choroby wysuwa się hipotezę zakładającą, że proces chorobowy rozpoczyna pierwotny proces neurodegeneracyjny w ośrodko-

Adres do korespondencji: dr hab. med. Małgorzata Bilińska
Katedra i Klinika Neurologii AM
Akademicki Szpital Kliniczny
im. Jana Mikulicza-Radeckiego
ul. Borowska 213, 50-556 Wrocław
e-mail: mbilinsk@mp.pl
Polski Przegląd Neurologiczny 2008, tom 4, 1, 20–25
Wydawca: „Via Medica sp. z o.o.” sp.k.
Copyright © 2008 Via Medica

wym układzie nerwowym (OUN), z następowym włączeniem odpowiedzi ze strony układu immunologicznego [10, 11].

Modelem zwierzęcym SM jest alergiczne zapalenie mózgu i rdzenia (EAE, *experimental allergic encephalomyelitis*), do którego rozwoju prowadzą zaburzenia odporności komórkowej, z dominującym udziałem pomocniczych limfocytów TCD4⁺. We krwi obwodowej szczepów zwierząt podatnych na EAE są obecne autoreaktywne wobec antygenów mielinowych limfocyty T. Do ich aktywacji niezbędna jest prezentacja antygenów mielinowych przez komórki prezentujące antygen (APC, *antigen presenting cell*), w kontekście cząsteczek układu zgodności tkankowej MHC. W wyniku aktywacji limfocytów T, przy nieprawidłowo funkcjonujących mechanizmach eliminacji pobudzonych limfocytów, dochodzi do klonalnej ekspansji autoreaktywnych komórek T. Zaktywowane komórki przełamują barierę krew–mózg i rozpoczynają złożony proces interakcji międzykomórkowych, prowadzących do demielinizacji.

Dwusygnalowy mechanizm aktywacji limfocytów T

Do zapoczątkowania odpowiedzi odpornościowej, zarówno humoralnej, jak i komórkowej, wymagana jest prezentacja antygenów pomocniczym limfocytom T przez komórki prezentujące antygen (APC, *antigen presenting cells*). Funkcję komórek APC spełniają makrofagi, komórki dendrytyczne i limfocyty B, mające na swojej powierzchni antygeny zgodności tkankowej. Prezentowane przez komórki APC antygeny, własne i obce, ulegają degradacji pod wpływem enzymów lizosomalnych w komórkach fagocytujących APC. Niefagocytujące komórki APC degradują antygen prawdopodobnie za pomocą proteinaz błonowych. Produkty trawienia antygenów wiążą się z antygenami MHC klasy I lub II w retikulum endoplazmatycznym, skąd są przenoszone w postaci kompleksu na powierzchnię APC. Związanie peptydu antygenowego przez swoje ugrupowanie aminokwasowe z antygenem zgodności tkankowej zapewnia mu odpowiednią orientację przestrzenną, sprzyjającą ekspozycji epitopów wiążących się z receptorem TCR limfocytów T. Cząsteczka MHC odgrywa podwójną rolę w prezentacji antygenów: uczestniczy w ułożeniu przestrzennym epitopów i pośrednio wpływa na odpowiednie usieciowanie receptorów TCR na limfocytach.

Pierwszym sygnałem aktywującym limfocyt T jest związanie struktury TCR/CD3 z kompleksem obcy antygen–własny antygen zgodności tkankowej klasy I lub II.

Pobudzenie komórki poprzez stymulację kompleksu TCR/CD3 jest niewystarczające do uzyskania pełnej aktywacji [12]. Niezbędny jest sygnał drugi, tak zwany kostymulujący. Jeśli limfocyt dziewiczy po rozpoznaniu antygenów nie otrzyma sygnału kostymulującego, nie tylko nie zostanie zaktywowany, ale wchodzi w stan anergii, to znaczy traci zdolność do aktywacji po rozpoznaniu antygenów, nawet jeśli otrzyma wystarczającą dla limfocytu dziewiczego kostymulację.

Dwusygnalowy model aktywacji limfocytu T jest realizowany poprzez stymulację receptora TCR/CD3 i antygenów kostymulujących. Po otrzymaniu drugiego sygnału limfocyt powiększa swoje rozmiary, zwiększa się synteza kwasu rybonukleinowego (RNA, *ribonucleic acid*) i białek. Następnie limfocyt przechodzi z fazy G0 do G1 cyklu komórkowego, rozpoczynając proliferację i wytwarzanie cytokin.

Cząsteczka kostymulująca CD28

Najsilniejszy sygnał kostymulujący powstaje w wyniku interakcji pomiędzy antygenem CD28 na powierzchni limfocytu T a jego ligandem B.7 (B.7.1 i B.7.2) na komórkach APC.

Cząsteczka CD28 jest glikozylowaną białkową o strukturze homodimerycznej, której domeny są połączone wiązaniem dwusiarczkowym. Cząsteczka CD28 należy do nadrodziny białek immunoglobulinowych. Występuje konstytutywnie na około 50% limfocytów CD8⁺ i 95–100% limfocytów CD4⁺, a jej ekspresja powierzchniowa gwałtownie wzrasta pod wpływem stymulacji [13]. Ekspresja molekule CD28 na powierzchni komórki obniża się w ciągu 12–24 godzin po stymulacji mitogenami i wraca do poziomu wyjściowego po 72 godzinach. Jest to prawdopodobnie wynikiem internalizacji lub upośledzenia syntezy tego receptora [14]. Interakcja CD28 z B.7 stymuluje proliferację komórek i produkcję interleukiny 2 (IL-2, *interleukin 2*) oraz indukuje ekspresję białka antyapoptotycznego bcl-xl [15]. Ponadto aktywacja CD28 wywołuje indukcję transkrypcji lub/i stabilizację mRNA cytokin: IL-4, IL-5, IL-8, IL-13, interferonu γ (IFN γ , *interferon γ*) oraz czynnika martwicy nowotworów α (TNF α , *tumor necrosis factor α*). Brak kostymulacji przez CD28 prowadzi do anergii klonalnej limfocytów T [12].

Udział CD28 w rozwoju EAE

W badaniach przeprowadzonych w EAE wykazano, że blokowanie funkcji realizowanych przez cząsteczkę CD28 hamuje przebieg schorzenia. We-

dług Perrina i wsp. [16] podanie fragmentu F(ab) przeciwciała przeciwko CD28 w fazie indukcji aktywnie wywołanego EAE nie hamowało rozwoju choroby, ale zmniejszało nasilenie objawów w jej przebiegu. Na początku fazy efektorowej dochodziło do zatrzymania rozwoju choroby na 21 dni. Po tym czasie dalszy jej rozwój przebiegał łagodniej. Podanie F(ab) w fazie rozwiniętych objawów klinicznych blokowało kolejne rzuty. Cytowani wyżej autorzy badali także wpływ fragmentu F(ab) przeciwciała przeciwko CD28 na rozwój biernie wywołanego EAE. Jeżeli limfocyty od dawcy były poddane stymulacji antygenem w obecności przeciwciała *in vitro*, to EAE występowało u biorców z mniejszą częstością, cechował je ponadto późniejszy początek i łagodniejszy przebieg. Zablokowanie funkcji CD28 można również uzyskać, stosując fuzyjne białko CTLA-4Ig. Wyniki badań Cross i wsp. [17] wykazały, że podanie CTLA-4Ig w okresie indukcji czynnie wywołanego EAE powodowało efektywną i długotrwałą immunosupresję, z zahamowaniem rozwoju choroby. Jednakże u zwierząt poddanych temu badaniu następował równocześnie rozwój limfocytów T, które po stymulacji *in vitro* antygenami mielinowymi wywoływały chorobę u biorcy. Podanie CTLA-4Ig w fazie efektorowej czynnie wywołanego EAE również zmniejszało kliniczne objawy choroby. W badaniach immunocytochemicznych w tych przypadkach wykazywano w ogniskach zapalnych w OUN niską ekspresję TNF α , brak cytokin produkowanych przez komórki Th1 z równoczesnym wzrostem produkcji cytokin pochodzących z komórek Th2 [18]. Obserwowano także modyfikujący wpływ CTLA-4Ig na biernie wywoływane EAE. Jeżeli limfocyty T były przed podaniem biorcy stymulowane *in vitro* antygenem w obecności cząsteczki CTLA-4Ig, to choroba u biorcy miała łagodniejszy przebieg w porównaniu z biorcą, który otrzymywał limfocyty T aktywowane *in vitro* antygenem bez CTLA-4Ig [19]. Nie wykazano natomiast, aby podanie CTLA-4Ig bezpośrednio po immunizacji czy w fazie efektorowej osłabiało przebieg schorzenia, liczbę i nasilenie kolejnych rzutów [19].

Udział CD28 w rozwoju stwardnienia rozsianego

Jedną z najwcześniej pojawiających się cząsteczek kostymulujących na aktywowanych limfocytach T jest cząsteczka CD28. Svenningsson i wsp. [20] porównywali odsetki komórek CD4⁺ krwi obwodowej wykazujące koekspresję antygeny CD28 między chorymi ze zwalnającą postacią SM, pozostającymi w remisji a grupą osób zdrowych. Cy-

towani autorzy nie wykazali różnicy odsetka komórek CD4⁺CD28⁺ między badanymi grupami. Mena i Rochovsky-Kochan [21] oceniali odsetki limfocytów CD4⁺CD28⁺ krwi u chorych w zależności od stanu aktywności klinicznej choroby, bez uwzględnienia podziału na postaci kliniczne. Nie wykazali różnic w odsetkach tych komórek między chorymi pozostającymi w remisji przez 6 miesięcy poprzedzających badanie i wykazującymi progresję SM w tym okresie czasu, jak również w porównaniu z grupą kontrolną. Nie stwierdzili także różnic w odsetkach komórek CD4⁺CD28⁺ między pacjentami nieleczonymi i leczonymi immunomodulacyjnie oraz w porównaniu z grupą kontrolną. W badaniach własnych oceniano odsetki komórek CD4⁺ krwi wykazujące koekspresję antygeny CD28 u chorych ze zwalnającą i wtórnie postępującą postacią SM, pozostających w długotrwałej remisji [22]. Podobnie do wyników badań Svenningsson i wsp. [20] nie wykazano różnicy odsetka tych komórek we krwi pomiędzy chorymi z postacią zwalnającą a grupą kontrolną. Natomiast w grupie z postacią wtórnie postępującą odsetek tych komórek był istotnie niższy w porównaniu z wynikiem uzyskanym w grupie kontrolnej oraz niższy, choć nieznacznie, do wyniku z grupy z postacią zwalnającą. Obniżony odsetek komórek CD4⁺CD28⁺ we wtórnie postępującej postaci SM może być wynikiem przewlekłej aktywacji tych komórek *in vivo*, wiadomo bowiem, że w wyniku interakcji CD28 z ligandami dochodzi do przejściowej internalizacji receptora. Wyniki badań własnych wskazują, że w postaci wtórnie postępującej zwiększa się odsetek komórek CD4⁺CD28⁻. Markovic-Plese i wsp. [23] wykazali zwiększenie odsetka komórek o tym fenotypie we krwi u części chorych na SM. Komórki te proliferują znacznie intensywniej i produkują większe ilości prozapalnych cytokin (interferonu γ i interleukiny 12) podczas stymulacji przeciwciałem anti-CD3 w porównaniu z komórkami CD4⁺CD28⁺, stymulowanymi łącznie przeciwciałem anti-CD3 i anti-CD28. Mają one fenotyp komórek pamięci immunologicznej, a wśród nich znaczny odsetek stanowią komórki reaktywne wobec antygenów mielinowych. Dodatkowo komórki te w badaniach *in vitro* po stymulacji przeciwciałem anti-CD3, w odróżnieniu od komórek CD4⁺CD28⁺, nie wchodzą w apoptozę i w ten sposób mogą uniknąć fizjologicznego mechanizmu prowadzącego do hamowania reakcji immunologicznej. Komórki o tym fenotypie opisano również w reumatoidalnym zapaleniu stawów, chorobie o podłożu autoimmunologicznym [24].

Antygen supresorowy CTLA-4

W przebiegu aktywacji limfocytów T pojawia się na ich powierzchni supresorowy antygen CTLA-4 (antygen 4 cytotoksycznego limfocyty T; CD152, *cytotoxic T lymphocyte associated antigen-4*), który jest strukturalnym homologiem CD28 [25]. Pod względem strukturalnym jest on — podobnie jak CD28 — glikozylowaną proteiną zaliczaną do nadrodziny immunoglobulin. Występuje ona na tych samych subpopulacjach limfocytów, na których występuje CD28 [26]. Po przekazaniu sygnału przez TCR/CD3 powierzchniowa ekspresja CTLA-4 osiąga maksymalny poziom po 48–72 godzinach i stanowi 2–3% powierzchniowej ekspresji CD28 na tej samej komórce [15]. Błonowy receptor CTLA-4 jest ekspresjonowany w postaci homodimeru połączonego mostkiem dwusiarczkowym utworzonym pomiędzy resztami cysteiny w pozycji 120. Ekspresja antygeny CTLA-4 nie ogranicza się tylko do powierzchni komórki. W czasie aktywacji limfocytów T zwiększa się liczba cząsteczek receptora CTLA-4 w strukturach wewnątrzkomórkowych (aparat Golgiego, lizosomy). Wewnątrzkomórkowe cząsteczki CTLA-4 są podczas aktywacji przenoszone na powierzchnię limfocyty T, gdzie następnie ulegają szybkiej internalizacji [27, 28].

Ligandami dla CTLA-4, jak również dla CD28, są molekuly B7.1 i B7.2, obecne na komórkach APC. W porównaniu z CD28, CTLA-4 wykazuje 10 razy większe powinowactwo do B7.1, co sprzyja wypieraniu CD28 z połączeń z B.7 [29]. Receptor CTLA-4 hamuje sekrecję IL-2 i proliferację stymulowanych limfocytów T [13]. Dotychczasowe wyniki badań wskazują, że w wyniku hamowania aktywacji komórek przez CTLA-4 może dojść do ich anergii lub do apoptozy [30, 31]. Mimo przynależności CD28 i CTLA-4 do jednej rodziny białek, obie cząsteczki po połączeniu z ligandem przeciwstawnie oddziałują na proces aktywacji; CD28 nasila aktywację limfocyty, uczestnicząc w procesie pozytywnej regulacji aktywacji limfocyty T, natomiast CTLA-4 wyhamowuje aktywację, uczestnicząc tym samym w procesie negatywnej regulacji.

Udział CTLA-4 w rozwoju EAE

Badania na zwierzęcym modelu SM potwierdzają, że zaburzenia ekspresji molekuly CTLA-4 wpływają na rozwój i/lub progresję EAE. Blokowanie sygnału przekazywanego przez CTLA-4 nasila objawy EAE. Według Hurwitza i wsp. [32] podanie przeciwciała przeciwko CTLA-4 w fazie indukcji czynnikiem wywołującego EAE powoduje cięższy przebieg choroby, z powstawaniem większych na-

cięków zapalnych w OUN. W badaniach Perrina i wsp. [33] wykazano natomiast, że podanie przeciwciała przeciwko CTLA-4 jedynie w fazie efektorowej czynnikiem wywołanego EAE nasila objawy schorzenia, a limfocyty T pobrane od tych zwierząt i poddane stymulacji antygenowej produkują znamienne większe ilości TNF α , IFN γ i IL-2 w porównaniu z limfocytami T pochodzącymi od zwierząt immunizowanych, ale niepoddanych działaniu przeciwciała przeciwko CTLA-4.

Udział CTLA-4 w rozwoju stwardnienia rozsianego

W mechanizmie negatywnej regulacji procesu aktywacji limfocytów najistotniejszą rolę przypisuje się supresorowemu antygenowi CTLA-4. Jest on nieobecny lub występuje w śladowych ilościach na powierzchni spoczynkowych komórek T, a jego ekspresja gwałtownie wzrasta po aktywacji limfocytów [26, 34]. Potwierdzeniem udziału antygeny CTLA-4 w końcowym etapie aktywacji komórek jest wykazanie jego hamującego wpływu na sekrecję IL-2 i proliferację stymulowanych limfocytów [35]. Długofalowe badania ekspresji molekuly CTLA-4 na komórkach nacieków zapalnych w OUN w przebiegu EAE przeprowadzili Issazadeh i wsp. [36]. Cytowani autorzy prześledzili ekspresję tego antygeny w czynnikiem indukowanym EAE przebiegającym przewlekłe w postaci naprzemiennie występujących rzutów i remisji. W okresach klinicznych remisji znacznie zwiększała się ekspresja supresorowego antygeny CTLA-4, co prawdopodobnie prowadziło do terminacji procesu aktywacji. U ludzi zwiększoną ekspresję supresorowego antygeny CTLA-4 na komórkach T świeżo izolowanych z krwi wykazano między innymi w toczeniu układowym [37], chorobie o podłożu zapalno-immunologicznym i to zarówno w okresie aktywności klinicznej choroby, jak i w okresie remisji oraz w ostrej malarii [38] czy infekcji ludzkim wirusem niedoboru odporności (HIV, *human immunodeficiency virus*) [39].

Ekspresja antygeny CTLA-4 na powierzchni limfocytów T we krwi u chorych na SM była tematem nielicznych doniesień. W badaniach Meny i Rochovsky-Kochan [21], ekspresja tego supresorowego antygeny była oznaczana u chorych w klinicznej fazie stacjonarnej lub progresywnej, bez uwzględnienia podziału na postaci kliniczne choroby. Cytowani autorzy wykazali niskie odsetki komórek CD4⁺ z powierzchniową ekspresją CTLA-4 w obu grupach chorych, nieróżniące się znamienne między nimi, jak również w porównaniu z odsetkiem

tych komórek w grupie osób zdrowych. Nie wykazano też wpływu leczenia immunomodulacyjnego na ekspresję tego antygeny supresorowego na komórkach CD4⁺.

W badaniach własnych wykazano, że w okresie długotrwałej remisji klinicznej zarówno w postaci zwalnającej, jak i wtórnie postępującej występuje znamienne wyższy odsetek komórek CD4⁺ z powierzchniową ekspresją CTLA-4 w porównaniu z odsetkiem tych komórek w grupie kontrolnej [40]. Odsetek tych komórek we krwi w grupie kontrolnej nie różnił się natomiast od wartości dla grup kontrolnych, uzyskiwanych w innych opracowaniach [37, 41, 42]. Wykazanie w obu postaciach klinicznych SM podwyższonych odsetków komórek CD4⁺ z powierzchniową ekspresją CTLA-4, świeżo izolowanych z krwi, sugeruje, że może to być wynikiem ich przewlekłej stymulacji *in vivo*. Rezultaty badań własnych wskazują, że pomimo długotrwałej klinicznie fazy stacjonarnej układ immunologiczny w obu postaciach choroby podlega ciągłej aktywacji, co wyraża się zwiększeniem odsetka tych komórek. Poziom ekspresji antygeny supresorowego może być jednak niewystarczający do efektywnej terminacji aktywacji limfocytów.

CD80/CD86 — ligandy cząsteczek kostymulujących CD28 i CTLA-4

Molekuły B7.1 (CD80) i B7.2 (CD86) są ligandami dla CD28 i CTLA-4. Należą one do nadrodziny białek immunoglobulinopodobnych i wstępują na makrofagach, limfocytach B, komórkach dendrytycznych, a także na aktywowanych limfocytach T [31]. Molekuła CD86 występuje na spoczynkowych komórkach APC, a jej ekspresja gwałtownie wzrasta po aktywacji i utrzymuje się na maksymalnym poziomie przez 24–96 godzin, natomiast ekspresja CD80 pojawia 48–72 godzin po aktywacji [43]. W badaniach *in vitro* wykazano, że antygenowo specyficzna stymulacja w obecności molekuly CD80 powoduje polaryzację komórek w kierunku Th1, a w obecności molekuly CD86 — w kierunku Th2 [44].

Udział CD80 i CD86 w rozwoju EAE

Każda z molekuly w odmienny sposób wpływa na rozwój aktywnie wywołanego EAE. W badaniach Racke i wsp. [45] w aktywnie wywoływanych EAE wykazano, że zablokowanie funkcji CD80 48 godzin po immunizacji, prawie całkowicie hamuje rozwój choroby, natomiast zablokowanie funkcji CD86 nasila jej przebieg. Podobne wyniki przedstawili Kuchroo i wsp. [44]. W biernie indukowa-

nym EAE antygenowa stymulacja *in vitro* limfocytów dawcy w obecności przeciwciała przeciwko CD80 lub przeciwko CD86 nie wykazuje wpływu na przebieg choroby [45].

Udział B7 w rozwoju stwardnienia rozsianego

W patogenezie SM wiele danych przemawia za nieprawidłowo wysoką ekspresją cząsteczek B7 na komórkach APC. Genc i wsp. [46] udokumentowali znamienne wyższy odsetek limfocytów B wykazujących koekspresję antygeny CD80 u chorych w klinicznie aktywnym okresie SM, niezależnie od klinicznej postaci choroby, w porównaniu z chorymi pozostającymi w okresie stacjonarnym i osobami z grupy kontrolnej. Svenningsson i wsp. [20] stwierdzili istotnie wyższy odsetek limfocytów B wykazujących koekspresję molekuly CD80 w płynie mózgowo-rdzeniowym u chorych na SM pozostających w długotrwałej remisji w porównaniu z odsetkiem tych komórek w płynie mózgowo-rdzeniowym osób zdrowych. W badaniach Filion i wsp. [47] ujawniono, że progresji choroby towarzyszy wzrost gęstości receptora CD86 na monocytach krwi; jest on wyższy u chorych z postacią wtórnie postępującą w porównaniu z chorymi z postacią zwalnającą, zarówno leczonych, jak i nieleczonych immunomodulacyjnie. Wysoka ekspresja molekuly CD80 charakteryzuje świeże ogniska demielinizacji w badaniach autopsyjnych mózgow osób zmarłych z powodu SM, czego nie potwierdzono w badaniach mózgow osób zmarłych z innych przyczyn niż SM [48].

Podsumowując, można stwierdzić, że w stwardnieniu rozsianym dochodzi do zaburzenia mechanizmów odpowiedzialnych za utrzymanie tolerancji immunologicznej. Wydaje się, że wśród tych mechanizmów istotną rolę odgrywa nieprawidłowa kostymulacja.

PIŚMIENNICTWO

1. Oksenberg J.E., Baranzini S.E., Barcellos L.F., Hauser S.L. Multiple sclerosis: Genomic rewards. *J. Neuroimmunol.* 2001; 113: 171–184.
2. Bilińska M., Frydecka I., Noga L. i wsp. Progression of multiple sclerosis is associated with exon 1 CTLA-4 gene polymorphism. *Acta Neurol. Scand.* 2004; 108: 67–71.
3. Fukuzawa T., Yanagawa T., Kikuchi S. i wsp. CTLA-4 gene polymorphism may modulate disease in Japanese multiple sclerosis patients. *J. Neurol. Sci.* 1999; 171: 49–55.
4. Ligers A., Xu Ch., Saarinen S., Olerup O. The CTLA-4 gene is associated with multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 1999; 97: 182–190.
5. Challoner P.B., Smith K.T., Parker J.D. i wsp. Plaque-associated expression of human herpes virus 6 in multiple sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1995; 92: 7440–7444.
6. Panitch H.S. Influence of infection on exacerbations of multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 1994; 36: S25–S28.
7. Perron H., Garson J.A., Bedin F. i wsp. and the Collaborative Research Group on Multiple Sclerosis. Molecular identification of a novel retrovirus

- repeatedly isolated from patients with multiple sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997; 94: 7583–7588.
8. Baecher-Allan C., Vigiotta V., Hoffer D.A. Human CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells. *Sem. Immunol.* 2004; 16: 89–97.
 9. Skulina Ch., Schmidt S., Dormair K. i wsp. Multiple sclerosis: Brain-infiltrating CD8⁺T cells persist as clonal expansion in the cerebrospinal fluid and blood. *PNAS* 2004; 101: 2428–2433.
 10. Bruck W., Stadelmann Ch. The spectrum of multiple sclerosis: new lessons from pathology. *Curr. Opin. Neurol.* 2005; 18: 221–224.
 11. Prat A., Antel J. Pathogenesis of multiple sclerosis. *Curr. Opin. Neurol.* 2005; 18: 225–230.
 12. Harding F.A., McArthur J.G., Gross J.A., Raulet D.H., Allison J.P. CD28-mediated signaling co-stimulates murine T cells and prevents induction of anergy in T-cell clones. *Nature* 1992; 356: 607–609.
 13. June Ch., Bluestone J.A., Nadler L.M., Thompson C.B. The B7 and CD28 receptor families. *Immunol. Today* 1994; 15: 321–331.
 14. Linsley P.S., Bradshaw J., Urnes M., Grosmarie L., Ledbetter J.A. CD28 engagement by B7/BB-1 induces transient down-regulation of CD28 synthesis and prolonged unresponsiveness to CD28 signaling. *J. Immunol.* 1993; 150: 3136–3169.
 15. Linsley P. S., Greene J. L., Tan P., Bradshaw J., Ledbetter J. A., Anasetti C., Damlle N. K. Coexpression and functional cooperation of CTLA-4 and CD28 on activated T lymphocytes. *J. Exp. Med.* 1992; 176: 1595–1604.
 16. Perrin J.P., June C.H., Maldonado J.H., Ratts R.B., Racke M.K. Blockade of CD28 during in vivo activation of encephalitogenic T cells or after disease onset ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol.* 1999; 163: 1704–1710.
 17. Cross A.H. Long-term inhibition of murine experimental autoimmune encephalomyelitis using CTLA-4Fc supports a key role for CD28 costimulation. *J. Clin. Invest.* 1995; 95: 2783–2789.
 18. Khoury S.J., Akalin E., Chandraker A. i wsp. CD28-B7 costimulatory blockade by CTLA4Ig prevents actively induced experimental autoimmune encephalomyelitis and inhibits Th1 but spares Th2 cytokines in central nervous system. *J. Immunol.* 1995; 155: 4521–4524.
 19. Perrin P.J., Scott D., Quigley L. i wsp. Role of B7:CD28/CTLA-4 in the induction of chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis. *J. Immunol.* 1995; 154: 1481–1490.
 20. Svenningsson A., Dotevall L., Stemme L., Andersen O. Increased expression of B7-1 costimulatory molecule on cerebrospinal fluid cells of patients with multiple sclerosis and infectious central nervous system disease. *J. Neuroimmunol.* 1997; 75: 59–68.
 21. Mena E., Rochovsky-Kochan C. Expression of costimulatory molecules on peripheral blood mononuclear cells in multiple sclerosis. *Acta Neurol. Scand.* 1999; 100: 92–96.
 22. Bilińska M., Gruszka E., Kosmaczewska A., Ciszak L., Pawlak E., Pokryszko-Dragan A. Ekspresja receptora CD28 na limfocytach CD4⁺ krwi obwodowej u chorych ze zwalniającą i wtórnie postępującą postacią stwardnienia rozsianego. *Adv. Clin. Exp. Med.* 2004; 13: 955–600.
 23. Markovic-Plese S., Cortese I., Wandinger K-P., McFarland H.F., Martin R. CD4⁺CD28[−] costimulation independent T cells in multiple sclerosis. *J. Clin. Invest.* 2001; 108: 1185–1194.
 24. Schmidt D., Goronzy J.J., Weyand C.M. CD4⁺CD7[−]CD28[−] T cells are expanded in rheumatoid arthritis and are characterized by autoreactivity. *J. Clin. Invest.* 1996; 97: 2027–2037.
 25. Harper K., Bolzano Ch., Rouvier E., Mattei M.-G., Luciani M.-F., Golstein P. CTLA-4 and CD28 activated lymphocyte molecules are closely related in both human and mouse as to sequence, message expression, gene structure, and chromosomal localization. *J. Immunol.* 1991; 147: 1037–1044.
 26. Perkins D., Wang Z., Donovan C. i wsp. Regulation of CTLA-4 expression during T cell activation. *J. Immunol.* 1996; 156: 4154–4159.
 27. Leung H. T., Bradshaw J., Cleaveland J. S., Linsley P. S.: Cytotoxic T lymphocyte-associated molecule-4, a high avidity for CD80 and CD86, contains an intracellular localization motif in its cytoplasmic tail. *J. Biol. Chem.* 1995; 270: 1–8.
 28. Linsley P.S., Bradshaw J., Greene J., Peach R., Bennet K.L., Mittler R.S. Intracellular trafficking of CTLA-4 and focal localization towards sites of TCR engagement. *Immunity* 1996; 4: 535–543.
 29. Van der Merve P.A. CD80 (B7.1) binds both CD28 and CTLA-4 with low affinity and fast kinetic. *J. Exp. Med.* 1997; 185: 393–404.
 30. Gribben J.G. CTLA-4 mediates antigen-specific apoptosis of human T-cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1995; 92: 811–815.
 31. Jenkins M.K. The ups and downs of costimulation. *Immunity* 1994; 1: 443–446.
 32. Hurwitz A.A., Sullivan T.J., Krummel M.F., Sobel R.A., Allison J.P. Specific blockade of CTLA-4/B7 interactions result in exacerbated clinical and histologic disease in an actively-induced model for experimental allergic encephalomyelitis. *J. Neuroimmunol.* 1997; 73: 57–62.
 33. Perrin P.J., Maldonado J.H., Davis T.A., June C.H., Racke M.K. CTLA-4 blockade enhances clinical disease and cytokine production during experimental allergic encephalomyelitis. *J. Immunol.* 1996; 157: 1333–1336.
 34. Wolunas T.L., Lenshaw P.J., Bakker C.Y. i wsp. CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation. *Immunity* 1994; 1: 405–413.
 35. Krummel M.F., Allison J.P. CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation. *J. Exp. Med.* 1995; 182: 459–465.
 36. Issazadeh S., Navikas V., Schaub M., Sayegh M., Khoury S. Kinetics of expression of costimulatory molecules and their ligands in murine relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis in vivo. *J. Immunol.* 1998; 161: 1104–1112.
 37. Liu M.F., Liu H.S., Wang Ch.R., Lei H.Y. Expression of CTLA-4 molecule in peripheral blood T lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus. *J. Clin. Invest.* 1998; 18: 392–398.
 38. Scholtmann T., Waase I., Julch C. i wsp. CD4 alpha/beta T lymphocytes express high levels of the T lymphocyte antigen CTLA4 (CD152) in acute malaria. *J. Infect. Dis.* 2000; 182: 367–370.
 39. Steiner K., Waase I., Rau T., Dietrich M., Fleischer B., Broker B. M. Enhanced expression of CTLA-4 (CD152) on CD4⁺ T cells in HIV infection. *Clin. Exp. Immunol.* 1999; 115: 451–457.
 40. Kosmaczewska A., Bilińska M., Ciszak L. i wsp. Different patterns of activation markers expression and CD4⁺ T-cell responses to ex vivo stimulation in patients with clinically quiescent multiple sclerosis (MS). *J. Neuroimmunol.* 2007; 189: 137–146.
 41. Kosmaczewska A., Frydecka I., Ciszak L., Boćko D., Teodorowska R. Correlation of blood lymphocyte CTLA-4 (CD152) induction in Hodgkin's disease with proliferative activity, interleukin 2 and interferon-gamma production. *Br. J. Haematol.* 2002; 118: 202–209.
 42. Liu M.F., Yang C.Y., Li J.S., Lai K.A., Chao S.C., Lei H.Y. Increased expression of down-regulatory CTLA-4 molecule on T lymphocytes from rheumatoid synovial compartment. *Scand. J. Immunol.* 1999; 50: 68–72.
 43. Hathcock K.S. Identification of an alternative CTLA-4 ligand co-stimulatory for T cell activation. *Science* 1993; 262: 905–907.
 44. Kuchroo V.K., Das M.P., Brown J.A. i wsp. B7-1 and B7-2 costimulatory molecules activate differentially the Th1/Th2 developmental pathways: Application to autoimmune disease therapy. *Cell* 1995; 80: 707–718.
 45. Racke M.K., Scott D.E., Quigley L. i wsp. Distinct roles for B7-1 (CD80) and B7-2 (CD86) in the initiation of experimental allergic encephalomyelitis. *J. Clin. Invest.* 1995; 96: 2195–2203.
 46. Genc K., Dona D.L., Reder A.T. Increased CD80 B cells in active multiple sclerosis and reversal by interferon β -1b therapy. *J. Clin. Invest.* 1997; 99: 2664–2671.
 47. Filion L.G., Matusiewicz D., Graziani-Bowering G.M., Kumar A., Freedman M.S. Monocyte-derived IL-12, CD86 (B7-2) and CD40L expression in relapsing and progressive multiple sclerosis. *Clin. Immunol.* 2003; 106: 127–138.
 48. Windhagen A., Newcombe J., Dangond F. i wsp. Expression of costimulatory molecules B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), and interleukin 12 cytokine in multiple sclerosis. *J. Exp. Med.* 1995; 182: 1985–1996.