







Limfocyty Th22, Th17.1, Tc17, Tfh i NKTfh w patogenezie stwardnienia rozsianego

Th22, Th17.1, Tc17, Tfh and NKTfh lymphocytes in pathogenesis of multiple sclerosis

Michał K. Zarobkiewicz , Agnieszka Bojarska-Junak , Wioleta Kowalska ,
Jacek Roliński 

Katedra i Zakład Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

STRESZCZENIE

Stwardnienie rozsiane (*multiple sclerosis* – MS) jest najczęstszą chorobą zapalno-demielinizacyjną. Chorobowość wynosi od około 2/100 000 w okolicach równika do około 100/100 000 w Europie i Ameryce Północnej. Pomimo znacznego postępu medycyny, jaki dokonał się w ostatnich dziesięcioleciach, schorzenie to cały czas pozostaje nieuleczalne. Jedyną możliwością jest walka o spowolnienie nieuchronnego postępu choroby, który w końcu doprowadzi do niepełnosprawności pacjenta. Z tego względu ważne jest dokładne poznanie immunopatogenezy MS. Prowadzone dotychczas badania skupiały się na klasycznych subpopulacjach komórek T. W niniejszym artykule przyjrzymy się stanowi badań i dostępnej wiedzy na temat udziału „nowych” subpopulacji komórek T, tj. limfocytów Th22, Th17.1, Tc17, Tfh, NKTfh, w patogenezie MS.

SŁOWA KLUCZOWE

stwardnienie rozsiane, MS, SM, NKTfh, Tfh, Tc17, Th17.1, AHR, c-Maf, Th22

ABSTRACT

Multiple sclerosis (MS) is the most common inflammatory-demyelinating disease, its morbidity varies between 2 per 100 000 inhabitants in sub-Saharan Africa to 100 per 100 000 inhabitants in Europe and North America. Despite the unquestionable progress in medicine, MS is still incurable and all that can be done for a patient is to struggle to slow down the inevitable progress of the disease, which eventually will cause disability. Recognizing the detailed immunopathogenesis of MS is probably the only chance for fully effective treatment. Most of the immunological studies of the previous decades focused on the classic sub-populations of T lymphocytes. This review is focused, however, on novel sub-populations – Th22, Th17.1, Tc17, Tfh and NKTfh lymphocytes in the pathogenesis of MS.

KEY WORDS

multiple sclerosis, MS, SM, NKTfh, Tfh, Tc17, Th17.1, AHR, c-Maf, Th22

Received: 20.05.2017

Revised: 13.10.2017

Accepted: 22.01.2018

Published online: 30.01.2019

Adres do korespondencji: Michał Zarobkiewicz, Katedra i Zakład Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin, tel. + 48 81 448 64 20, e-mail: michal.zarobkiewicz@gmail.com

Copyright © Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
www.annales.sum.edu.pl



WPROWADZENIE

Stwardnienie rozsiane (*multiple sclerosis* – MS) jest najczęstszą zapalno-demielinizacyjną chorobą ośrodkowego układu nerwowego w Polsce. Badania epidemiologiczne prowadzone w różnych częściach Polski wskazują na chorobowość na poziomie 50–100/100 000 mieszkańców [1], co zgadza się ze statystykami światowymi – około 100/100 000 mieszkańców w Europie i Ameryce Północnej – a w przypadku leżącej na podobnej szerokości geograficznej Francji jest to 94,7/100 000 mieszkańców [2]. Częstość występowania choroby jest zależna wprost proporcjonalnie od szerokości geograficznej, co plasuje Polskę w strefie wysokiego zagrożenia. Choroba rozpoczyna się najczęściej między 20 a 40 rokiem życia i częściej dotyka kobiety. W większości przypadków z biegiem czasu objawy narastają i prowadzą do niepełnosprawności. Nawet 20% populacji polskich chorych wykazuje wysoką niepełnosprawność – 6 lub więcej punktów w skali EDSS (Expanded Disability Status Scale) [3]. Badania wskazują na rolę czynników genetycznych w patogenezie MS; prawdopodobnie około 15% przypadków ma charakter rodzinny.

W zależności od objawów i przebiegu klinicznego wyróżnia się cztery podstawowe postaci choroby:

- 1) rzutowo-remisyjną (*relapsing-remitting MS* – RRMS) – najczęstsza, występuje przede wszystkim u osób, u których choroba rozpoczęła się przed 40 rokiem życia; niedawne badania na dużej grupie chorych z terenu Polski ujawniają, że chorzy z tą postacią stanowią około $\frac{3}{4}$ wszystkich pacjentów [3]; przebiega pod postacią rzutów i okresów remisji, początkowo objawy rzutu ustępują całkowicie, z biegiem czasu ulegają utrwaleniu;
- 2) wtórnie postępującą – rozwija się najczęściej po kilkunastu latach trwania postaci RRMS, dotyczy około 17% polskich chorych [3];
- 3) pierwotnie postępującą – dotyczy około 10% chorych [3], przede wszystkim mężczyzn po 40 roku życia;
- 4) pierwotnie postępującą z zaostrzeniami – występuje u nie więcej niż 5% chorych.

Pomimo wieloletnich badań prowadzonych w ośrodkach na całym świecie nie poznano patogeny MS. Uważa się, że choroba ma podłoże autoimmunizacyjne.

„Nowe” subpopulacje komórek T

Zasadniczy podział limfocytów na komórki T i B jest znany od wielu lat. Przynajmniej od lat 80. XX w. znane są dalsze subpopulacje limfocytów T – limfocyty T $\gamma\delta$, T regulatorowe, T pomocnicze i T cytotoksyczne. Z grona limfocytów T pomocniczych wydzielono później subpopulację Th17, której głównym wyróżnikiem jest ekspresja CD161 i ROR γ T oraz synteza interleukiny 17 (IL-17). Do grupy tych komórek w ostatnich latach dopisano kolejne, coraz mniejsze populacje – limfocyty Th17.1, Th22, limfocyty T pomocnicze folikularne (Tfh) oraz Tc17. Rola wymienionych subpopulacji

w patogenezie i rozwoju MS nadal nie jest wyjaśniona. Przede wszystkim brakuje badań sprawdzających możliwe korelacje między przebiegiem klinicznym, zaawansowaniem choroby czy odpowiedzią na leczenie a wskazanymi subpopulacjami.

Metodologia

Niniejszy artykuł ma na celu przystępną prezentację zakresu badań nad udziałem opisanych niedawno subpopulacji limfocytów T w patogenezie MS wraz z przedstawieniem najważniejszych ustaleń. Do przeglądu włączono artykuły naukowe, które prezentowały wyniki badań dotyczące wybranych subpopulacji. Wykluczono badania *in vivo* nad skutecznością leków z powodu braku możliwości odniesienia danych sprzed leczenia do zdrowej kontroli. Do identyfikacji artykułów posłużyła baza PubMed. Użyto wszystkich kombinacji słów kluczowych, które zawierały określenia poszczególnych subpopulacji (Th22, Th17/Th1, Th1/17, Tfh, NKTfh, Tc17) wraz z odniesieniem do stwardnienia rozsianego lub jego zwierzęcego modelu (MS, SM, *multiple sclerosis*, *experimental autoimmune encephalitis*, EAE), np. „Th22 multiple sclerosis”.

Komórki Th22

Komórki Th22 wyodrębniono w 2009 r. w badaniach nad układem immunologicznym ludzkiej skóry [4,5]. Do tego momentu za źródło interleukiny 22 (IL-22) uważano jedynie komórki Th17 oraz Th1. We wspomnianych badaniach zauważono jednak, że w ludzkiej skórze znajduje się nieznana subpopulacja komórek T, produkująca przede wszystkim IL-22, a ponadto IL-13 i TNF- α (*tumor necrosis factor alpha*) [6]. Na ich powierzchni poza markerami komórek T pomocniczych (CD3⁺/CD4⁺) odnaleziono także receptory dla chemokin – CCR10, CCR6, CCR4 [4,5]. Regulacja funkcji komórek Th22 związana jest z czynnikiem transkrypcyjnym AHR (*aryl hydrocarbon receptor*), którego indukcja prowadzi do produkcji IL-22 [7]. Indukcja ekspresji czynnika AHR jest związana z działaniem TNF- α oraz IL-6; przeciwnie działanie ma TGF- β , który po przyłączeniu się do c-Maf hamuje syntezę IL-22 [8]. Wzrost aktywności TGF- β jest również łączony z utratą komórek Th22 [9].

Głównym produktem komórek Th22 jest IL-22, która odgrywa istotną, chociaż nie kluczową rolę w przebiegu MS. Jak udowodniono w badaniach na zwierzętach, brak IL-22 nie hamował rozwoju EAE [10]. Dotychczas opublikowano wyniki dwóch badań dotyczących limfocytów Th22 w MS [11,12]. Pierwsze z nich przeprowadzono na niewielkiej grupie chorych (15 pacjentów z RRMS) z zastosowaniem cytometrycznej metody liczenia komórek (w tym Th22) oraz oznaczeniem poziomu cytokin w surowicy za pomocą testu ELISA (w tym IL-22) [12]. Wykazano wówczas istotny statystycznie wyższy odsetek komórek Th22 we krwi pacjentów z MS w porównaniu ze zdrową kontrolą. W tym samym badaniu potwierdzono także wyższy poziom IL-22 w osoczu chorych na MS. Drugie badanie objęło większą grupę (72 pacjentów z RRMS) [11]. Rola i wsp.

**Tabela I.** Markery powierzchniowe charakterystyczne dla danych subpopulacji, umożliwiające ich łatwe fenotypowanie, oraz podstawowe cytokiny przez nie wydzielane**Table I.** Surface markers characteristic of given subpopulations, enabling their easy phenotyping and basic cytokines secreted by them

Subpopulacja	Fenotyp	Wydzielane cytokiny
Th22	CD3 ⁺ /CD4 ⁺ /IL-22 ⁺ /IL-17 ⁻	IL-22
Th17.1	CD3 ⁺ /CD4 ⁺ /IL-17 ⁺ /IFN- γ ⁻	IL-17, IFN- γ , GM-CSF
Tc17	CD3 ⁺ /CD8 ⁺ /CD161 ⁺	IL-17, także: IL-22, IFN- γ , GM-CSF
Tfh	CD3 ⁺ /CD4 ⁺ /CXCR5 ⁺	IFN- γ (Th1-podobne), IL-4, IL-5, IL-13 (Th2-podobne) oraz IL-17A i IL-22 (Th17-podobne)
NKTfh	CD3 ⁺ /TCR Va24-Ja18 ⁺ /CXCR5 ⁺	-

udowodnili w nim, że komórki Th22 są liczniejsze w grupie chorych na MS niż w grupie kontrolnej oraz że komórki Th22 cechują się niską ekspresją IFN γ R1, przez co są mało wrażliwe na terapię interferonem. Ostatnie badania przeprowadzone w Hiszpanii wskazują ponadto na różną aktywność komórek Th22 u chorych na MS i u zdrowych ludzi – podanie melatoniny *in vitro* zmniejszało znacząco syntezę IL-22 w hodowlach komórek pobranych od chorych, nie zmieniało jednak w próbkach od zdrowych dawców [13].

Komórki Th17.1

Komórki Th17.1 są niedawno odkrytą subpopulacją komórek Th17, która łącznie z IL-17 produkuje główną cytokinę komórek Th1 – IFN- γ , ponadto komórki te uwalniają GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) [14,15]. W literaturze zwane są także Th17/Th1, Th1/17 oraz Th17 spolaryzowane w kierunku Th1. Immunofenotypowo można je opisać jako CD3⁺/CD4⁺/CCR4⁺/CCR6⁺/CXCR3⁺/IL-17⁺/IFN- γ ⁺ [16,17]. Duhon i Campbell [15] zwracają także uwagę na możliwość prostego immunofenotypowania komórek Th17.1 jako CCR6⁺/CXCR3⁺. Komórki Th17.1 cechują się również stabilną ekspresją glikoproteiny P, białka c-kit oraz białka MDR1 [16]. Badania wskazują na oporność komórek Th17.1 na leczenie glikokortykosteroidami. Dane eksperymentalne ze zwierzęcego mo-

delu MS wskazują na bardzo znaczący udział komórek Th17.1 w całkowitej produkcji IFN- γ [18].

Komórki Th17.1 powstają najprawdopodobniej z komórek Th17 pod wpływem jednoczesnej podwójnej stymulacji za pomocą IL-12 i IFN- γ , przy czym rolą interferonu jest przede wszystkim indukcja ekspresji łańcucha IL-12R β 2 receptora dla IL-12, jak również samej interleukiny. Interleukina 12 odpowiada za aktywację syntezy czynnika T-bet [19]. Alternatywne wyjaśnienie zostało zaproponowane przez Duhona i Campbella [15], którzy udowodnili, że komórki Th17.1 powstają pod wpływem jednoczesnego działania IL-1 β oraz IL-12 na komórki Th17. Nistala i wsp. [20] zwracają uwagę na udział wysokiego stężenia IL-12 oraz niskiego TGF- β w różnicowaniu Th17 do Th17.1. Wskazują jednocześnie na możliwość dalszej konwersji do „czystej” postaci Th1, przy czym czynnikiem odróżniającym te komórki od typowych Th1 jest ekspresja CD161, co później potwierdzili także Cosmi i wsp. [21]. Badacze włoscy ustalili ponadto, że obok CD161 kolejnym markerem konwersji Th17/Th17.1 \rightarrow Th1 jest specyficzny typ metylacji genu *RORC2*, który w typowej komórce Th1 jest całkowicie zmetylowany, natomiast w komórkach Th17/Th17.1 czy powstałych z nich nieklasycznych Th1 gen ten nie występuje w formie zmetylowanej [22]. Nistala i wsp. [20] podkreślają jednocześnie, że nie jest możliwa konwersja odwrotna, tzn. od Th1 do Th17 lub Th17.1.

**Ryc. 1.** Proces różnicowania od Th17 przez Th17.1 aż do Th1 CD161⁺.**Fig. 1.** TH17 Th17.1 Th1 CD161⁺ differentiation.



Podwójna produkcja (IL-17, IFN- γ) wiąże się z ekspresją czynników ROR γ T i T-bet [18]. Istnieje dalsza subpopulacja komórek Th17.1, która wydziela jedynie niewielkie ilości IL-17, pod względem wydzielniczym odpowiada więc komórkom Th1, jednak odróżnia je od nich brak ekspresji CCR6 oraz ekspresja czynnika AHR, a także wysoka ekspresja IL-1R [18]. Stymulacja komórek Th17.1 przez IL-1 prowadzi do znacznego wzrostu produkcji obu cytokin – IL-17 i IFN- γ . Opublikowane w 2016 r. wyniki badań da Costy i wsp. [23] wskazują m.in. na pozytywną korelację między poziomem komórek CD4⁺/IL-17⁺/IFN- γ ⁺ a objawami neurologicznymi u pacjentów z MS.

Komórki Tfh i NKTfh

Komórki Tfh (*T follicular helper cells*) są podtypem komórek T, znajdującym się głównie w obrębie centrów germinalnych narządów limfatycznych, jest jednak wśród nich także pula komórek krążących we krwi obwodowej. Podstawowy immunofenotyp komórek Tfh to CD3⁺/CD4⁺/CXCR5⁺ [24]. Receptor CXCR5 jest kluczowy ze względu na funkcję tej populacji – umożliwia on migrację do centrów germinalnych, czyli do strefy B-komórkowej [25]. Dalszego podziału komórek Tfh można dokonać m.in. z uwagi na ekspresję CCR7, ICOS, PD-1, CXCR-3 i SAP [24,26]. Na wzór komórek Th niektórzy autorzy dzielą je na Th1- (CXCR3⁺/CCR6⁻), Th2- (CXCR3⁻/CCR6⁻) i Th17-podobne (CXCR3⁻/CCR6⁺) [25]. Subpopulacje te wykazują także ekspresję odpowiednich czynników transkrypcyjnych – TBX21/T-bet, GATA3 oraz ROR γ T odpowiednio – a także właściwych tym grupom komórek Th interleukin – IFN- γ (Th1), IL-4, IL-5, IL-13 (Th2) oraz IL-17A i IL-22 (Th17) [25]. W obrębie komórek Tfh można dalej wydzielić m.in. „pozagrudkowe” Tfh (*extrafollicular Tfh*), których cechą charakterystyczną jest obecność CXCR4 przy braku ekspresji CXCR5 [27,28,29]. Kolejną niewielką grupą są komórki NKTfh – populacja wykazująca cechy komórek NKT, ekspresję CXCR5 oraz PD-1 i wymagająca czynnika transkrypcyjnego Bcl6 [30]. Populacja ta jest zdolna do oddziaływania z komórkami B w sposób podobny do typowych Tfh, nie indukuje jednak długo żyjących plazmocytów. Komórki NKTfh uczestniczą m.in. w pobudzeniu komórek B ukierunkowanych na antygeny lipidowe i glikolipidowe [31]. Badania wskazują na ważną rolę CD1d w odpowiedzi komórek NKTfh na stymulację wskazanymi typami antygenów [32]. Rozwój komórek Tfh zależy przede wszystkim od czynnika transkrypcyjnego Bcl6, a jego ekspresja jest warunkowana aktywacją ICOS [26,33]. Badania wskazują jednak, że ekspresja Bcl6 nie dotyczy komórek Tfh krążących we krwi obwodowej [25]. Najprawdopodobniej aktywność tego czynnika jest istotna tylko w momencie różnicowania do komórek Tfh, za czym przemawia fakt, że również wśród komórek Tfh z centrów germinalnych jedynie 10–15% wykazuje jego ekspresję [25]. Główną funkcją komórek Tfh jest regulacja różnicowania komórek B w centrach germinalnych do plazmocytów i komórek B pamięci.

Fan i wsp. [24], oceniając subpopulację krążących Tfh pamięci u pacjentów z MS w porównaniu ze zdrową kontrolą, ustalili, że poziom Tfh CCR7⁺, Tfh ICOS⁺ oraz Tfh CCR7⁺/ICOS⁺ był w grupie chorych znacząco podwyższony. Zespół duńskich naukowców pod kierownictwem Christensena [34] opisał wzrost odsetka krążących Tfh ICOS⁺, spadek odsetka subpopulacji Th1-podobnej oraz w przypadku pacjentów z postacią pierwotnie postępującą także wzrost odsetka subpopulacji Th17-podobnej. Zespół opisał ponadto wzrost odsetka komórek Tfh w płynie mózgowo-rdzeniowym. Li i wsp. [35] nie znaleźli istotnej różnicy w odsetku krążących komórek Tfh u pacjentów z MS w porównaniu ze zdrową kontrolą.

W ostatnich latach odchodzi się od tradycyjnego pojmowania MS jako zaburzenia funkcji komórek T i coraz większą uwagę zwraca się na udział limfocytów B w patogenezie tej choroby. W diagnostyce MS od dawna wykorzystuje się prącki oligoklonalne w płynie mózgowo-rdzeniowym, a badania ostatnich lat pozwalają coraz dokładniej poznać tworzące je grupy przeciwciał [36,37]. Źródłem tych przeciwciał mogą być komórki B pozostające poza grudkami i ich centrami germinalnymi, dlatego potencjalnie istotny może być udział „pozagrudkowych” komórek Tfh. Biorąc pod uwagę fakt, że wspomniane przeciwciała często skierowane są przeciwko lipidowym antygenom osłonek mielinowych, warto zwrócić uwagę na potencjalną rolę komórek NKTfh w patogenezie choroby.

Komórki Tc17

Komórki Tc17 to subpopulacja komórek T CD8⁺, wykazująca niewielki potencjał cytotoksyczny i produkująca IL-17. Podobnie jak inne komórki uwalniające IL-17 także Tc17 posiadają na powierzchni marker CD161 [38,39]. Mogą powstawać z komórek Tc1 pod wpływem jednoczesnego działania IL-21 i TGF- β [40]. W badaniach na zwierzętach transgenicznych (pozbawionych genu *IRF4*)¹ wykryto, że komórki Tc17 prawdopodobnie poprzez produkcję IL-17 odpowiadają za migrację limfocytów Th17 do centralnego układu nerwowego, przyczyniając się tym samym do rozwoju EAE [41]. Ponadto w badaniach na wycinkach mózgow zmarłych chorych na MS znaleziono liczne komórki Tc17 [42].

Badania przeprowadzone przez zespół z Uniwersytetu Sapienza w Rzymie wskazują na zwiększony odsetek komórek CD3⁺/CD8⁺/CD161⁺ we krwi osób chorych na MS w porównaniu ze zdrową grupą kontrolną [38]. Udział limfocytów T CD8⁺/IL-17⁺ w patogenezie MS potwierdzają badania preparatów tkanki mózgowej od zmarłych chorych na MS. Tzartos i wsp. [42] znaleźli limfocyty T CD8⁺/IL-17⁺ w obrębie aktywnych zmian chorobowych. Ze względu na stopień ekspresji CD161 Nicol B. i wsp. [43] dzielą komórki Tc17 na dwie dalsze subpopulacje – o pośredniej ekspresji (CD161^{int}) oraz wysokiej ekspresji (CD161^{hi}), wskazując jednocześnie

¹ Zwierzęta transgeniczne pozbawione genu *IRF4* (*IFN regulatory factor 4*) nie są zdolne do rozwoju EAE.



na obniżony odsetek pierwszej grupy u osób chorych na MS w porównaniu ze zdrową kontrolą oraz na to, że stanowią wyższy odsetek limfocytów w płynie mózgowo-rdzeniowym niż we krwi u chorych. Ustalili ponadto, że grupa o pośredniej ekspresji ma wyraźne cechy aktywacji oraz znacząco wyższy potencjał do migracji przez barierę krew–mózg niż zarówno grupa o wysokiej ekspresji CD161, jak i typowe komórki CD8⁺ (nie wydzielające IL-17 i niewykazujące w związku z tym ekspresji CD161).

Tajima i wsp. [44] oraz Annibaldi i wsp. [38] odkryli, że w wyniku stymulacji za pomocą IL-12 komórki Tc17 zaczynają wydelać obok IL-17 także IFN- γ .

PODSUMOWANIE

Zebrane dotychczas przez naukowców z całego świata dane pokazują wyraźnie deregulację niemal całego

układu immunologicznego w przebiegu MS. Niestety mimo lat wysiłków wiedza na temat przyczyn, podstaw molekularnych i dokładnego przebiegu na poziomie komórkowym jest cały czas szczątkowa. Nasza wiedza na temat dawniej odkrytych „podstawowych” populacjach jest bardzo duża w porównaniu z wiedzą o niedawno odkrytych, niewielkich subpopulacjach, których rola w patogenezie choroby może być znaczna.

Wyniki wieloletnich badań wskazują na równoczesne zaburzenie linii komórek B i T, bez wyraźnej przewagi jednej z nich. W związku z tym ważnym aspektem badania jest analiza komórek pęcherzykowych (Tfh oraz NKTfh), które poprzez rezydowanie w centrach germinalnych bezpośrednio oddziałują na komórki B, regulując ich funkcję i różnicowanie.

Author's contribution

Manuscript preparation – M.K. Zarobkiewicz, W. Kowalska, A. Bojarska-Junak, J. Roliński

Literature research – M.K. Zarobkiewicz, W. Kowalska

PIŚMIENNICTWO

1. Potemkowski A. Stwardnienie rozsiane w świecie i w Polsce – ocena epidemiologiczna. *Aktual. Neurol.* 2009; 9(2): 91–97.
2. Leray E., Moreau T., Fromont A., Edan G. Epidemiology of multiple sclerosis. *Rev. Neurol. (Paris)* 2016; 172(1): 3–13, doi: 10.1016/j.neuro.2015.10.006.
3. Mitosek-Szewczyk K., Kułakowska A., Bartosik-Psujek H., Hożejowski R., Drozdowski W., Stelmasiak Z. Quality of life in Polish patients with multiple sclerosis. *Adv. Med. Sci.* 2014; 59(1): 34–38, doi: 10.1016/j.advms.2013.07.002.
4. Duhon T., Geiger R., Jarrossay D., Lanzavecchia A., Sallusto F. Production of interleukin 22 but not interleukin 17 by a subset of human skin-homing memory T cells. *Nat. Immunol.* 2009; 10(8): 857–863, doi: 10.1038/ni.1767.
5. Trifari S., Kaplan C.D., Tran E.H., Crellin N.K., Spits H. Identification of a human helper T cell population that has abundant production of interleukin 22 and is distinct from TH-17, TH1 and TH2 cells. *Nat. Immunol.* 2009; 10(8): 864–871, doi: 10.1038/ni.1770.
6. Fard N.A., Azizi G., Mirshafiey A. The Potential Role of T Helper Cell 22 and IL-22 in Immunopathogenesis of Multiple Sclerosis. *Innov. Clin. Neurosci.* 2016; 13(7–8): 30–36.
7. Duarte J.H., Di Meglio P., Hirota K., Ahlfors H., Stockinger B. Differential Influences of the Aryl Hydrocarbon Receptor on Th17 Mediated Responses in vitro and in vivo. *PLoS One* 2013; 8(11): e79819, doi: 10.1371/journal.pone.0079819.
8. Rutz S., Noubade R., Eidsenck C., Ota N., Zeng W., Zheng Y., Hackney J., Ding J., Singh H., Ouyang W. Transcription factor c-Maf mediates the TGF- β -dependent suppression of IL-22 production in TH17 cells. *Nat. Immunol.* 2011; 12(12): 1238–1245, doi: 10.1038/ni.2134.
9. Leung J.M., Davenport M., Wolff M.J., Wiens K.E., Abidi W.M., Poles M.A., Cho I., Ullman T., Mayer L., Loke P. IL-22-producing CD4⁺ cells are depleted in actively inflamed colitis tissue. *Mucosal Immunol.* 2014; 7(1): 124–133, doi: 10.1038/mi.2013.31.
10. Kreymborg K., Etzensperger R., Dumoutier L., Haak S., Rebollo A., Buch T., Heppner F.L., Renauld J.C., Becher B. IL-22 is expressed by Th17 cells in an IL-23-dependent fashion, but not required for the development of autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol.* 2007; 179(12): 8098–8104.
11. Rolla S., Bardina V., De Mercanti S., Quaglino P., De Palma R., Gned D., Brusca D., Durelli L., Novelli F., Clerico M. Th22 cells are expanded in multiple sclerosis and are resistant to IFN- β . *J. Leukoc. Biol.* 2014; 96(6): 1155–1164, doi: 10.1189/jlb.5A0813-463RR.
12. Xu W., Li R., Dai Y., Wu A., Wang H., Cheng C., Qiu W., Lu Z., Zhong X., Shu Y., Kermod A.G., Hu X. IL-22 secreting CD4⁺ T cells in the patients with neuromyelitis optica and multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 2013; 261(1–2): 87–91, doi: 10.1016/j.jneuroim.2013.04.021.
13. Álvarez-Sánchez N., Cruz-Chamorro I., Díaz-Sánchez M., Sarmiento-Soto H., Medrano-Campillo P., Martínez-López A., Lardone P.J., Guerrero J.M., Carrillo-Vico A. Melatonin reduces inflammatory response in peripheral T hel-

- per lymphocytes from relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *J. Pineal Res.* 2017; 63(4): e12442, doi: 10.1111/jpi.12442.
14. Annunziato F., Cosmi L., Santarlasci V., Maggi L., Liotta F., Mazzinghi B., Parente E., Fili L., Ferri S., Frosali F., Giudici F., Romagnani P., Parronchi P., Tonelli F., Maggi E., Romagnani S. Phenotypic and functional features of human Th17 cells. *J. Exp. Med.* 2007; 204(8): 1849–1861.
15. Duhon T., Campbell D.J. IL-1 β Promotes the Differentiation of Polyfunctional Human CCR6⁺CXCR3⁺ Th1/17 Cells That Are Specific for Pathogenic and Commensal Microbes. *J. Immunol.* 2014; 193(1): 120–129, doi: 10.4049/jimmunol.1302734.
16. Ramesh R., Kozhaya L., McKeivitt K., Djuretic I.M., Carlson T.J., Quintero M.A., McCauley J.L., Abreu M.T., Unutmaz D., Sundrud M.S. Pro-inflammatory human Th17 cells selectively express P-glycoprotein and are refractory to glucocorticoids. *J. Exp. Med.* 2014; 211(1): 89–104, doi: 10.1084/jem.20130301.
17. Ramstein J., Broos C.E., Simpson L.J., Ansel K.M., Sun S.A., Ho M.E., Woodruff P.G., Bhakta N.R., Christian L., Nguyen C.P., Antalek B.J. i wsp. IFN- γ -Producing T-Helper 17.1 Cells Are Increased in Sarcoidosis and Are More Prevalent than T-Helper Type 1 Cells. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2016; 193(11): 1281–1291, doi: 10.1164/rccm.201507-1499OC.
18. Hirota K., Duarte J.H., Veldhoen M., Hornsby E., Li Y., Cua D.J., Ahlfors H., Wilhelm C., Tolaini M., Menzel U., Garafalaki A., Potocnik A.J., Stockinger B. Fate mapping of IL-17-producing T cells in inflammatory responses. *Nat. Immunol.* 2011; 12(3): 255–263, doi: 10.1038/ni.1993.
19. Lexberg M.H., Taubner A., Albrecht I., Lepenies I., Richter A., Kamradt T., Radbruch A., Chang H.D. IFN- γ and IL-12 synergize to convert in vivo generated Th17 into Th1/Th17 cells. *Eur. J. Immunol.* 2010; 40(11): 3017–3027, doi: 10.1002/eji.201040539.
20. Nistala K., Adams S., Cambrook H., Ursu S., Olivito B., de Jager W., Evans J.G., Cimaz R., Bajaj-Elliott M., Wedderburn L.R. Th17 plasticity in human autoimmune arthritis is driven by the inflammatory environment. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2010; 107(33): 14751–14756, doi: 10.1073/pnas.1003852107.
21. Cosmi L., Cimaz R., Maggi L., Santarlasci V., Capone M., Borriello F., Frosali F., Querci V., Simonini G., Barra G., Piccinni M.P., Liotta F., De Palma R., Maggi E., Romagnani S., Annunziato F. Evidence of the transient nature of the Th17 phenotype of CD4⁺CD161⁺ T cells in the synovial fluid of patients with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum.* 2011; 63(8): 2504–2515, doi: 10.1002/art.30332.
22. Mazzoni A., Santarlasci V., Maggi L., Capone M., Rossi M.C., Querci V., De Palma R., Chang H.D., Thiel A., Cimaz R., Liotta F. i wsp. Demethylation of the *RORC2* and *IL17A* in Human CD4⁺ T Lymphocytes Defines Th17 Origin of Nonclassical Th1 Cells. *J. Immunol.* 2015; 194(7): 3116–3126, doi: 10.4049/jimmunol.1401303.
23. da Costa D.S., Hygino J., Ferreira T.B., Kasahara T.M., Barros P.O., Monteiro C., Oliveira A., Tavares F., Vasconcelos C.C., Alvarenga R., Bento C.A.



- Vitamin D modulates different IL-17-secreting T cell subsets in multiple sclerosis patients. *J. Neuroimmunol.* 2016; 299: 8–18, doi: 10.1016/j.jneuroim.2016.08.005.
24. Fan X., Jin T., Zhao S., Liu C., Han J., Jiang X., Jiang Y. Circulating CCR7+ICOS+ Memory T Follicular Helper Cells in Patients with Multiple Sclerosis. *PLoS One* 2015; 10(7): e0134523, doi: 10.1371/journal.pone.0134523.
25. Ma C.S., Deenick E.K. Human T follicular helper (T_{fh}) cells and disease. *Immunol. Cell Biol.* 2014; 92(1): 64–71, doi: 10.1038/icb.2013.55.
26. Crotty S. Follicular Helper CD4 T Cells (T_{fh}). *Annu. Rev. Immunol.* 2011; 29: 621–663, doi: 10.1146/annurev-immunol-031210-101400.
27. Lee S.K., Rigby R.J., Zotos D., Tsai L.M., Kawamoto S., Marshall J.L., Ramiscal R.R., Chan T.D., Gatto D., Brink R., Yu D., Fagarasan S., Tarlinton D.M., Cunningham A.F., Vinuesa C.G. B cell priming for extrafollicular antibody responses requires Bcl-6 expression by T cells. *J. Exp. Med.* 2011; 208(7): 1377–1388, doi: 10.1084/jem.20102065.
28. Odegard J.M., Marks B.R., DiPlacido L.D., Poholek A.C., Kono D.H., Dong C., Flavell R.A., Craft J. ICOS-dependent extrafollicular helper T cells elicit IgG production via IL-21 in systemic autoimmunity. *J. Exp. Med.* 2008; 205(12): 2873–2886, doi: 10.1084/jem.20080840.
29. Zotos D., Coquet J.M., Zhang Y., Light A., D'Costa K., Kallies A., Corcoran L.M., Godfrey D.I., Toellner K.M., Smyth M.J., Nutt S.L., Tarlinton D.M. IL-21 regulates germinal center B cell differentiation and proliferation through a B cell-intrinsic mechanism. *J. Exp. Med.* 2010; 207(2): 365–378, doi: 10.1084/jem.20091777.
30. Chang P.P., Barral P., Fitch J., Pratama A., Ma C.S., Kallies A., Hogan J.J., Cerundolo V., Tangye S.G., Bittman R., Nutt S.L., Brink R., Godfrey D.I., Batista F.D., Vinuesa C.G. Identification of Bcl-6-dependent follicular helper NKT cells that provide cognate help for B cell responses. *Nat. Immunol.* 2011; 13(1): 35–43, doi: 10.1038/ni.2166.
31. King I.L., Fortier A., Tighe M., Dibble J., Watts G.F., Veerapen N., Haberman A.M., Besra G.S., Mohrs M., Brenner M.B., Leadbetter E.A. Invariant natural killer T cells direct B cell responses to cognate lipid antigen in an IL-21-dependent manner. *Nat. Immunol.* 2011; 13(1): 44–50, doi: 10.1038/ni.2172.
32. Rampuria P., Lang M.L. CD1d-dependent expansion of NKT follicular helper cells in vivo and in vitro is a product of cellular proliferation and differentiation. *Int. Immunol.* 2015; 27(5): 253–263, doi: 10.1093/intimm/dxv007.
33. Tellier J., Nutt S.L. The unique features of follicular T cell subsets. *Cell. Mol. Life Sci.* 2013; 70(24): 4771–4784, doi: 10.1007/s00018-013-1420-3.
34. Christensen J.R., Börnsen L., Rätzer R., Piehl F., Khademi M., Olsson T., Sørensen P.S., Sellebjerg F. Systemic Inflammation in Progressive Multiple Sclerosis Involves Follicular T-Helper, Th17- and Activated B-Cells and Correlates with Progression. *PLoS One* 2013; 8(3): e57820, doi: 10.1371/journal.pone.0057820.
35. Li Y.J., Zhang F., Qi Y., Chang G.Q., Fu Y., Su L., Shen Y., Sun N., Borzanci A., Yang C., Shi F.D., Yan Y. Association of circulating follicular helper T cells with disease course of NMO spectrum disorders. *J. Neuroimmunol.* 2015; 278: 239–246, doi: 10.1016/j.jneuroim.2014.11.011.
36. Fraussen J., de Bock L., Somers V. B cells and antibodies in progressive multiple sclerosis: Contribution to neurodegeneration and progression. *Autoimmun. Rev.* 2016; 15(9): 896–899, doi: 10.1016/j.autrev.2016.07.008.
37. Rivas J.R., Ireland S.J., Chkheidze R., Rounds W.H., Lim J., Johnson J., Ramirez D.M., Ligoocki A.J., Chen D., Guzman A.A., Woodhall M. i wsp. Peripheral VH4+ plasmablasts demonstrate autoreactive B cell expansion toward brain antigens in early multiple sclerosis patients. *Acta Neuropathol.* 2017; 133(1): 43–60, doi: 10.1007/s00401-016-1627-0.
38. Annibaldi V., Ristori G., Angelini D.F., Serafini B., Mechelli R., Cannoni S., Romano S., Paolillo A., Abderrahim H., Diamantini A., Borsellino G., Aloisi F., Battistini L., Salvetti M. CD161(high)CD8+T cells bear pathogenetic potential in multiple sclerosis. *Brain* 2011; 134(Pt 2): 542–554, doi: 10.1093/brain/awq354.
39. Maggi L., Santarlasci V., Capone M., Peired A., Frosali F., Crome S.Q., Querci V., Fambrini M., Liotta F., Levings M.K., Maggi E., Cosmi L., Romagnani S., Annunziato F. CD161 is a marker of all human IL-17-producing T-cell subsets and is induced by RORC. *Eur. J. Immunol.* 2010; 40(8): 2174–2181, doi: 10.1002/eji.200940257.
40. Chen H.W., Tsai J.P., Yao T.Y., Hsieh C.L., Chen I.H., Liu S.J. TGF- β and IL-21 cooperatively stimulate activated CD8(+) T cells to differentiate into Tc17 cells. *Immunol. Lett.* 2016; 174: 23–27, doi: 10.1016/j.imlet.2016.04.006.
41. Huber M., Heink S., Pagenstecher A., Reinhard K., Ritter J., Visekruna A., Guralnik A., Bollig N., Jeltsch K., Heinemann C., Wittmann E. i wsp. IL-17A secretion by CD8+ T cells supports Th17-mediated autoimmune encephalomyelitis. *J. Clin. Invest.* 2013; 123(1): 247–260, doi: 10.1172/JCI63681.
42. Tzartos J.S., Friese M.A., Craner M.J., Palace J., Newcombe J., Esiri M.M., Fugger L. Interleukin-17 Production in Central Nervous System-Infiltrating T Cells and Glial Cells Is Associated with Active Disease in Multiple Sclerosis. *Am. J. Pathol.* 2008; 172(1): 146–155.
43. Nicol B., Salou M., Vogel I., Garcia A., Dugast E., Morille J., Kilens S., Charpentier E., Donnart A., Nedellec S., Jacq-Foucher M. i wsp. An intermediate level of CD161 expression defines a novel activated, inflammatory, and pathogenic subset of CD8+ T cells involved in multiple sclerosis. *J. Autoimmun.* 2018; 88: 61–74, doi: 10.1016/j.jaut.2017.10.005.
44. Tajima M., Wakita D., Satoh T., Kitamura H., Nishimura T. IL-17/IFN- γ double producing CD8+ T (Tc17/IFN- γ) cells: A novel cytotoxic T-cell subset converted from Tc17 cells by IL-12. *Int. Immunol.* 2011; 23(12): 751–759, doi: 10.1093/intimm/dxr086.