

DOI: 10.15690/vramn656

П.Н. Кравченко¹, Г.А. Жулай¹, А.В. Чуров¹, Е.К. Олейник¹, В.М. Олейник¹,
О.Ю. Барышева², Н.Н. Везикова², И.М. Марусенко²

¹ Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Российская Федерация

² Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Российская Федерация

Субпопуляции регуляторных Т-лимфоцитов в периферической крови больных ревматоидным артритом

Обоснование. Ревматоидный артрит (РА) представляет собой воспалительное аутоиммунное заболевание, связанное с нарушением Т-клеточной толерантности в организме. Контроль за активацией Т-клеток и развитием аутоиммунных реакций обеспечивают регуляторные CD4⁺ Т-лимфоциты (Treg), которые вызывают супрессию иммунного ответа. Вместе с тем в литературе нет единого мнения о содержании этих клеток в периферической крови у больных РА и о их роли в патогенезе заболевания. **Цель исследования.** Оценить количество регуляторных Т-клеток (Treg) периферической крови больных РА по экспрессии молекул CD4, CD25, CD127, FOXP3, а также уровень экспрессии двух функциональных молекул (CTLA-4 и CCR4) Treg-клетками больных РА. **Методы.** Исследовали образцы периферической крови больных РА (в возрасте 65,5 года [54; 68,3]) и здоровых доноров (в возрасте 58 лет [44; 66]). Содержание клеток и экспрессию молекул оценивали методом проточной цитометрии. **Результаты.** Изучены образцы крови 36 больных РА и 20 здоровых доноров. Число клеток с Treg-ассоциированными фенотипами CD4⁺CD25^{hi} и CD4⁺CD25^{hi}CD127^{low/-} у больных РА было больше по сравнению со здоровыми донорами ($p < 0,05$). Также у больных РА отмечено повышенное число CD4⁺ Т-клеток, экспрессирующих FOXP3 ($p < 0,01$), что можно связать с увеличением популяции CD4⁺FOXP3⁺CD25⁻ лимфоцитов ($p < 0,05$), тогда как содержание CD4⁺FOXP3⁺CD25⁺Treg-клеток при РА было на уровне контроля. У больных РА экспрессия CTLA-4 Treg-клетками не отличалась от контроля, в то время как уровень экспрессии хемокинового рецептора CCR4, обеспечивающего миграцию лимфоцитов в воспаленные и барьерные ткани, значительно возрастал ($p < 0,01$). **Заключение.** При РА наблюдается увеличение содержания Т-клеток с высокой экспрессией антигена CD25, который является маркером как активированных клеток, так и Treg-лимфоцитов. Однако содержание Treg-клеток у больных РА было на уровне контроля. Повышенная экспрессия хемокинового рецептора CCR4 на Т-клетках пациентов с РА позволяет предположить значительное усиление миграции CD4-лимфоцитов с периферии к местам воспаления, в частности в синовиальную жидкость суставов.

Ключевые слова: регуляторные Т-клетки, ревматоидный артрит, FOXP3, CD127, CCR4, CTLA-4.

(Для цитирования: Кравченко П.Н., Жулай Г.А., Чуров А.В., Олейник Е.К., Олейник В.М., Барышева О.Ю., Везикова Н.Н., Марусенко И.М. Субпопуляции регуляторных Т-лимфоцитов в периферической крови больных ревматоидным артритом. *Вестник РАМН.* 2016;71(2):148–153. doi: 10.15690/vramn656)

P.N. Kravchenko¹, G.A. Zhulai¹, A.V. Churov¹, E.K. Oleinik¹, V.M. Oleinik¹,
O.Yu. Barysheva², N.N. Vezikova², I.M. Marusenko²

¹ Karelian Research Center of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation

² Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russian Federation

Subpopulations of Regulatory T-lymphocytes in the Peripheral Blood of Patients with Rheumatoid Arthritis

Background: Rheumatoid arthritis (RA) is an inflammatory rheumatic disease associated with a dysfunction of the T cell-mediated tolerance and leading to the disability of working population. The regulatory CD4⁺ T cells play an important role in the regulation of autoimmunity and can suppress immune responses. With that, there is no consensus on the content of these lymphocytes and their role in the pathogenesis of RA. **Objective:** The aim of the study was to assess the content of peripheral blood regulatory T cells (Treg) according to the expression of membrane markers CD4, CD25, CD127 and intracellular FOXP3 marker, as well as the expression of two functional molecules (CTLA-4 and CCR4) in Treg cells of patients with RA. **Methods:** Peripheral blood samples of RA patients (median age 65,5 years [54;68,3]) and healthy controls (median age 58 years [44; 66]) were analyzed. Cell count and the expression level of molecules were assessed by flow cytometry. **Results:** Peripheral blood samples of 36 RA patients and 20 healthy donors were analyzed. The number of the cells with Treg-associated phenotypes CD4⁺CD25^{hi} and CD4⁺CD25^{hi}CD127^{low/-} was higher in RA patients in comparison with healthy donors. Increased levels of RA CD4⁺ T cells expressing FOXP3 were also observed. This may be due to increasing in the number of CD4⁺FOXP3⁺CD25⁻ lymphocytes, whereas the content of RA CD4⁺FOXP3⁺CD25⁺ Treg cells was at the level of the control. The expression of the functional molecule CTLA-4 in Treg cells of patients with RA was not different from the control, while the expression level of the chemokine receptor CCR4 which provides migration of lymphocytes at sites of inflammation and barrier tissues was significantly increased in RA patients. **Conclusion:** Increase in the levels of certain Treg-associated lymphocyte populations were detected in peripheral blood of RA patients. During the natural course of RA, alterations in the level of the chemokine receptor CCR4 might indicate the enhanced lymphocyte migration.

Key words: regulatory T cells, rheumatoid arthritis, FOXP3, CD127, CCR4, CTLA-4.

(For citation: Kravchenko PN, Zhulai GA, Churov AV, Oleinik EK, Oleinik VM, Barysheva OYu, Vezikova NN, Marusenko IM. Subpopulations of Regulatory T-lymphocytes in the Peripheral Blood of Patients with Rheumatoid Arthritis. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2016;71(2):148–153. doi: 10.15690/vramn656)

Обоснование

Методы

Ревматоидный артрит (РА) относится к числу наиболее распространенных и тяжелых аутоиммунных заболеваний, связанных с нарушением иммунологической толерантности. Ключевую роль в развитии РА играет популяция Т-хелперов, которые участвуют в развитии воспаления с помощью хемокинов и цитокинов. Важную роль в предотвращении развития аутоиммунных реакций и поддержании гомеостаза выполняет популяция регуляторных CD4⁺ Т-лимфоцитов (Treg) [1], которые проявляют супрессорную активность по отношению к другим иммунцитам. Поэтому изучение развития и функционального состояния пула Treg-клеток при РА представляется очень важным для понимания патогенеза этого заболевания.

Для характеристики фенотипа Treg-клеток применяют ряд молекулярных маркеров [2, 3]. Однако в большинстве случаев при активации эти маркеры могут экспрессироваться и на эффекторных Т-лимфоцитах.

На сегодняшний день самым надежным маркером для определения таких клеток служит транскрипционный фактор FOXP3 (Forkhead Box P3), который необходим для развития и функционирования Treg-клеток. Еще одной особенностью Treg-клеток является конститутивная повышенная экспрессия α-цепи рецептора интерлейкина (Interleukin, IL) 2 (CD25) [2]. Также для идентификации Treg-клеток стали использовать молекулу CD127 (α-цепи рецептора IL 7), поскольку было обнаружено, что ее экспрессия обратно пропорциональна экспрессии транскрипционного фактора FOXP3 [3].

Для реализации своих функций Treg-клетки используют различные механизмы [4]. Один из механизмов Treg-опосредованной супрессии иммунного ответа связан с понижением костимуляции посредством экспрессии цитотоксического Т-лимфоцитарного антигена 4 (CTLA-4). Эта молекула является негативной костимуляторной молекулой, передающей клетке-мишени сигнал, ингибирующий ее активацию и пролиферацию. Известно, что Treg-клетки конститутивно экспрессируют эту молекулу, и что использование анти-CTLA-4 моноклональных антител отменяет подавление пролиферации эффекторных Т-клеток *in vitro* [4]. Несмотря на многочисленные исследования, посвященные изучению Treg-лимфоцитов при аутоиммунных заболеваниях, по-прежнему нет однозначных данных о содержании и роли этих клеток в периферической крови больных РА [5–9]. Отмечается увеличение количества Treg-клеток в синовиальной жидкости сустава у больных РА [5, 9]. Кроме того, Treg-клетки экспрессируют целый ряд рецепторов хоминга, к которым относятся CCR1, CCR2, CCR4, CCR5, CCR6, CCR8 и др., предположительно участвующие в привлечении Treg-клеток в места воспаления. Предполагается, что ассоциированный с Treg-клетками хемокиновый рецептор CCR4 может обеспечивать такую миграцию периферических Treg-клеток [10].

Цель данного исследования — определение количества регуляторных Т-клеток (Treg) периферической крови больных РА на основе анализа экспрессии молекулярных маркеров CD4, CD25, CD127, FOXP3, а также уровня экспрессии функциональных молекул Treg-клеток больных РА — CTLA-4 и CCR4; определение содержания отдельных Treg-ассоциированных фенотипов в периферической крови больных РА.

Дизайн исследования

Данное исследование является сравнительным нерандомизированным.

Критерии соответствия

В наблюдаемую группу входили пациенты обоего пола в возрасте от 38 до 80 лет. Диагноз РА устанавливался на основании критериев Американской коллегии ревматологов (American College of Rheumatology, ACR, 1987), которые также используются в качестве основных критериев в РФ. Контрольную группу составили относительно здоровые лица в возрасте от 25 до 70 лет, у которых в анамнезе отсутствовали указания на аутоиммунные, сердечно-сосудистые заболевания, аллергии, онкопатологии, персистирующие вирусные инфекции. К критериям исключения относили также острые респираторные вирусные инфекции, перенесенные в течение последнего месяца до момента взятия образцов периферической крови.

Условия проведения

Исследование проведено на базе ФГБУН «Институт биологии Карельского научного центра» РАН (ИБ КарНЦ РАН, Петрозаводск) на научном оборудовании Центра коллективного пользования ИБ КарНЦ РАН. Обследование больных и взятие клинического материала проводили в ГБУЗ «Республиканская больница им. В.А. Баранова» (Петрозаводск).

Продолжительность исследования

Исследование проведено в период с сентября 2014 по апрель 2015 г.

Исходы исследования

В качестве основного оцениваемого результата рассматривали содержание Treg-клеток с фенотипами CD4⁺CD25^{hi}, CD4⁺CD25^{hi}CD127^{low/-}, CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺, CD4⁺FOXP3⁺CD25⁻ в периферической крови больных РА по сравнению со здоровыми донорами. Дополнительно оценивали уровень экспрессии молекул CTLA-4 и CCR4, ассоциированных с Treg-клетками.

Методы регистрации исходов

Взятие крови проводили из локтевой вены в стандартные вакуумные пробирки объемом 4 мл, содержащие коагулянт. Цельную кровь использовали для анализа лимфоцитов методом проточной цитометрии на приборе Cytomics FC500 (Beckman Coulter, США). Окрашивание клеток выполняли при помощи моноклональных антител CD4-FITC, CD4-PC7, CTLA-4-PE, CCR4-PE, CD25-PC5, CD127-PC7 (Beckman Coulter, США), FOXP3-FITC (eBioscience, США), а также соответствующих изотипических контролей. Внутриклеточное окрашивание антителами к FOXP3 проводили с применением набора реагентов для пермеабиллизации и фиксации клеток (eBioscience, США). Для анализа внутриклеточной экспрессии CTLA-4 использовали набор для пермеабиллизации IntraPrep (Beckman Coulter, США). Для лизиса эритроцитов применяли реагент FACS Lysing Solution (BD Biosciences, США).

Этическая экспертиза

Для проведения исследования в соответствии с Хельсинкской декларацией было получено разрешение Комитета по медицинской этике при Министерстве здраво-

охранения и социального развития Республики Карелия и Петрозаводском государственном университете (протокол № 25 от 12.02.2013 г.), а также информированное согласие от участников исследования.

Статистический анализ

Полученные результаты анализировали с помощью компьютерного пакета прикладных программ Statistica 6.0. Применяли стандартные методы вычисления средних величин и стандартных отклонений ($M \pm SD$). Достоверность различий между группами рассчитывали по критерию Манна–Уитни. Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез принимали за 0,05.

Результаты

Участники исследования

В работе изучено 36 образцов периферической крови больных РА, возраст которых по медиане составил 65,5 [54; 68,25] лет. В исследовании принимали участие больные со II и III стадией заболевания по индексу активности болезни DAS28 (Disease Activity Score), у которых преобладала (94%) серопозитивная форма РА.

Все больные получали терапию базисными противовоспалительными препаратами. Базисная терапия включала преимущественно метотрексат, а также сульфасалазин. Терапия назначалась врачами согласно стандартной схеме лечения, принятой в данном клиническом учреждении. Контрольную группу составили 20 здоровых доноров в возрасте 58,0 [44; 66] лет.

Основные результаты исследования

Для определения популяции Treg-клеток широко используются мембранные молекулы CD25 и CD127 (рис. 1, А, Б). В работе проанализировано содержание Treg-клеток с фенотипами $CD4^+CD25^{hi}$ и $CD4^+CD25^{hi}CD127^{low/-}$ в периферической крови больных РА ($n=14$) и здоровых доноров ($n=20$) и отмечено их увеличение у пациентов с РА по сравнению с контролем (рис. 2).

Поскольку привлечение клеток из кровотока к местам локального воспаления обеспечивается хемокинами, было интересно оценить уровень экспрессии ассоциированного с Treg-клетками хемокинового рецептора CCR4: так, результаты проведенного исследования продемонстрировали более высокий его уровень у больных РА ($p<0,01$) (табл.). Повышенная экспрессия CCR4 наблюдалась также на $CD4^+$ Т-лимфоцитах у больных РА (см. табл.), в то время как экспрессия этого

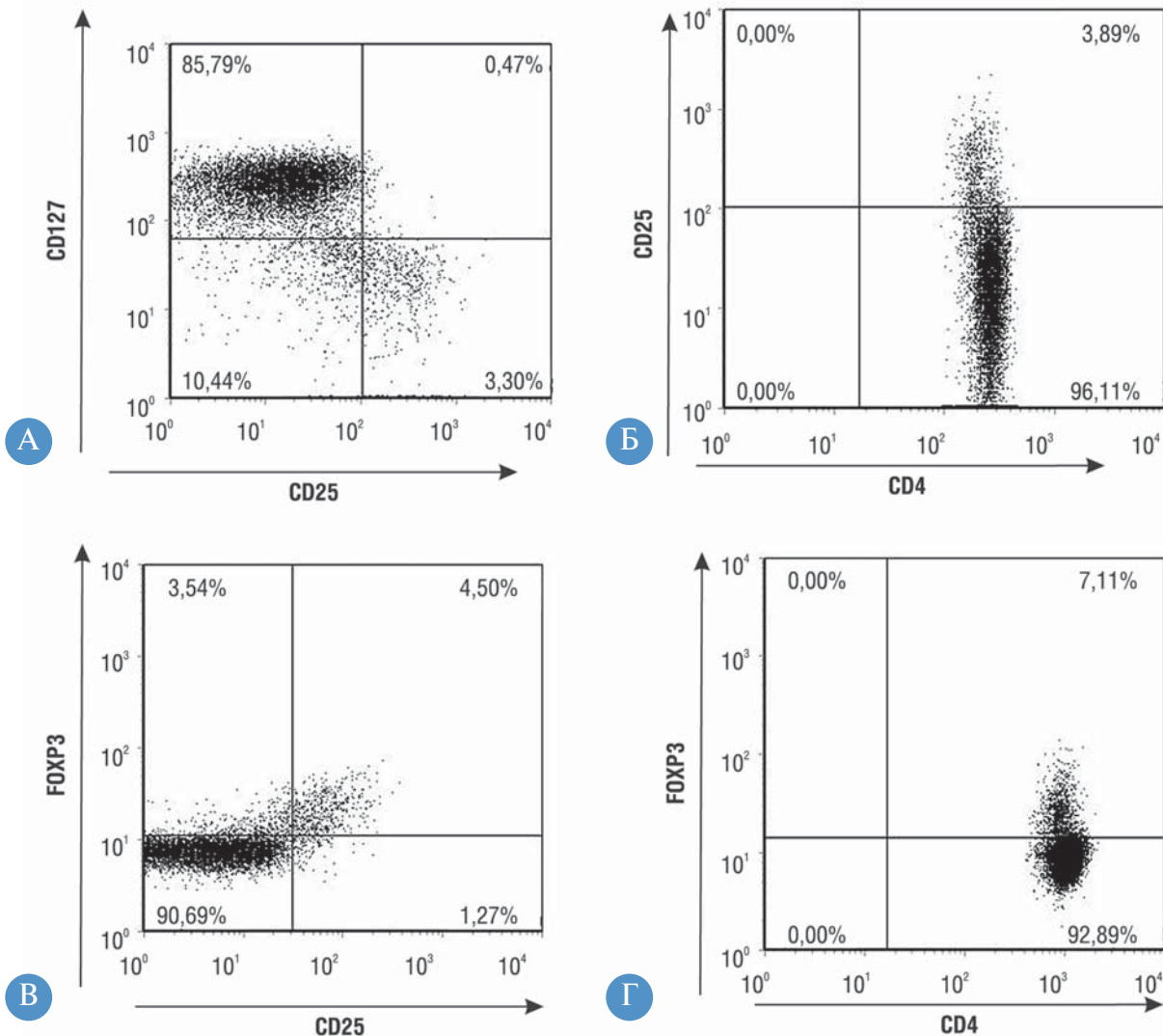


Рис. 1. Экспрессия Treg-ассоциированных молекул на $CD4^+$ Т-лимфоцитах периферической крови здорового донора
Примечание. Представлены индивидуальные значения относительного числа лимфоцитов после гейтирования по CD4: А — $CD4^+CD25^{hi}CD127^{low/-}$; Б — $CD4^+CD25^{hi}$; В — $CD4^+CD25^+FOXP3^+$; Г — $CD4^+FOXP3^+$.

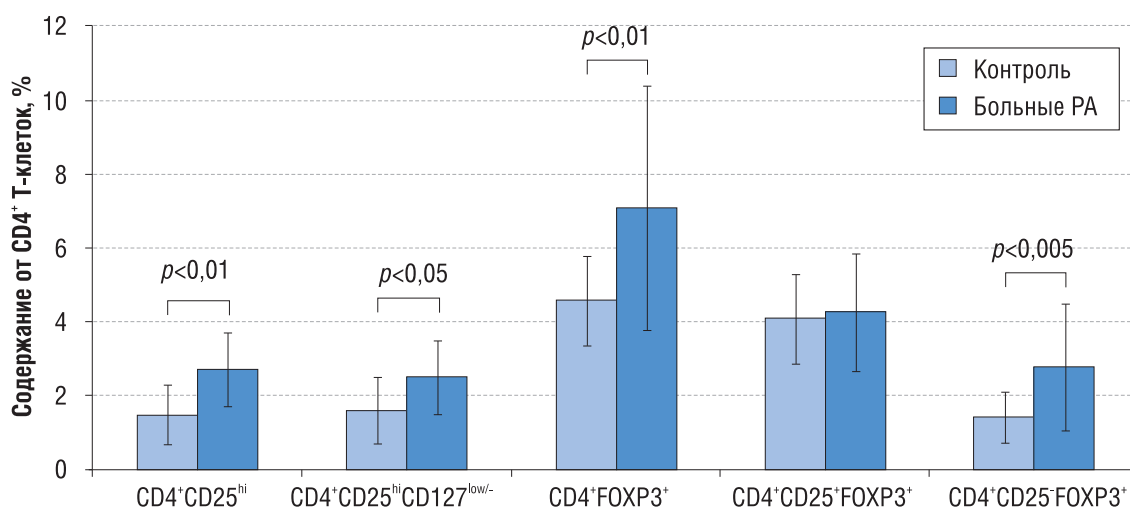


Рис. 2. Содержание CD4⁺ Т-клеток с Treg-ассоциированными фенотипами в периферической крови здоровых доноров (контроль) и у больных РА

Примечание. Данные представлены как M±SD, уровень значимости оценивали по критерию Манна–Уитни.

Таблица. Относительный уровень экспрессии CCR4 на лимфоцитах периферической крови больных ревматоидным артритом (РА)

Показатель	CD4 ⁺ Т-клетки		
	CCR4 ⁺ /CD4 ⁺	CCR4 ⁺ /(CD4 ⁺ CD25 ^{hi})	CCR4 ⁺ /(CD4 ⁺ CD25 ^{hi} CD127 ^{low/-})
Контроль (n=20)	39,92±8,5	78,42±9,4	72,43±14,2
Больные РА (n=14)	53,06±12,7*	90,21±4,2*	87,7±6,6*

Примечание. * — различия достоверны по сравнению с контролем при p<0,01. Данные представлены как M±SD.

рецептора относительно общего числа лимфоцитов была на уровне контроля (31,72±10,2 и 32,31±7,4%, соответственно).

Развитие аутоиммунной реакции сопровождается не только изменением содержания Treg-клеток, но и нарушением их функциональной активности [1], что может быть связано с уровнем экспрессии некоторых Treg-ассоциированных молекул, важных для проявления супрессорной активности, в частности с изменением уровня экспрессии СТЛА-4. По нашим данным, у больных РА экспрессия антигена СТЛА-4 в CD4⁺CD25^{hi} и CD4⁺CD25^{hi}CD127^{low/-} Т-клетках составила 90,76±7,0 и 90,78±7,1% от CD4⁺ Т-клеток, соответственно, и, несмотря на повышенное содержание этих клеток у больных РА, была на уровне контроля (95,6±2,9 и 94,55±2,8%, соответственно). В доступной литературе отмечены колебания уровня экспрессии этой молекулы у больных РА [8, 11, 12].

Помимо этого, в работе проанализирована экспрессия транскрипционного фактора FOXP3 (рис. 1, В, Г), необходимого для поддержания пула Treg-клеток на периферии и важного для реализации их супрессорной функции [2]. У больных РА (n=22) число CD4⁺ Т-клеток, экспрессирующих FOXP3⁺, было выше, тогда как относительное содержание CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ Т-клеток соответствовало уровню контроля (n=20; см. рис. 2). Интересно, что экспрессия FOXP3 была увеличена также в клетках, не экспрессирующих антиген CD25: содержание CD4⁺FOXP3⁺CD25⁻ Т-клеток при РА было выше, чем в контроле (см. рис. 2). В связи с этим была проведена оценка экспрессии FOXP3 Т-хелперами больных и здоровых лиц в гейтах CD25^{hi} и CD25⁺: оказалось, что уровень экспрессии FOXP3 у больных РА в этих клетках снижен (CD25^{hi} — 82,17±14,2%, CD25⁺ — 39,21±12,0%) по сравнению с контролем (CD25^{hi} — 93,54±4,12%, CD25⁺ — 65,28±17,6%; p<0,05).

Обсуждение

Ревматоидный артрит — это системное воспалительное аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии, связанное с нарушением Т-клеточной толерантности в организме. Важную роль в поддержании толерантности и предотвращении аутоиммунизации играют Treg-клетки. Так, в экспериментальных исследованиях было показано, что удаление Treg-клеток приводит к экспансии Т-эффекторных лимфоцитов с последующим развитием аутоиммунных расстройств [2]. Поэтому предполагают, что патогенез РА может быть связан с нарушением иммунной регуляции, опосредованным недостаточностью Treg-клеток. Данные литературы о содержании этих клеток в периферической крови больных РА неоднозначны [5–9]. Данные, полученные в результате нашего исследования, показали, что в периферической крови пациентов с РА увеличено число клеток с фенотипами CD4⁺CD25^{hi}, CD4⁺CD25^{hi}CD127^{low/-}, CD4⁺FOXP3⁺. В то же время относительное число CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ Т-клеток было на уровне контроля (см. рис. 2).

Повышение экспрессии молекулы CD25, так же как и снижение экспрессии CD127, происходит в период активации Т-лимфоцитов. N.E. Aerts с соавт. [13] сообщают, что не все CD4⁺CD25^{hi} и CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} Т-клетки, выделенные из крови больных РА, могут обладать супрессорными свойствами: экспрессия FOXP3 наблюдается при стимуляции и активации некоторых популяций эффекторных лимфоцитов, которые не относятся к Treg-клеткам [1, 14], что с учетом особенностей патогенеза РА усложняет идентификацию минорной популяции Treg-клеток. Исходя из этого, можно предположить, что использование фенотипов CD4⁺CD25^{hi}, CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} и CD4⁺FOXP3⁺ недостаточно точно отражает уровень Treg-клеток при РА, поскольку

они могут включать в себя значительную долю активированных CD4⁺ Т-клеток. Повышенный уровень клеток с такими фенотипами у больных РА наблюдали и другие авторы [5, 11]. При этом увеличение Трег-клеток было отмечено не только на периферии, но и в синовиальной жидкости пораженных суставов [5, 9]. Миграцию клеток к местам воспаления обеспечивают хемокины. Предполагается, что секреция хемокинового рецептора CCR4, лигандами которого являются CCL22 и CCL17, позволяет Т-лимфоцитам и Трег-клеткам мигрировать к местам воспаления [10]. В пользу этого могут свидетельствовать полученные нами данные об усилении экспрессии CCR4 на Т-хелперах и Трег-клетках в периферической крови при РА. Среди немногочисленных исследований по изучению экспрессии CCR4 при РА известны данные Z. Jiao с соавт. [15], которые показали, что в привлечении периферических Трег-клеток в синовиальную жидкость сустава больных могут участвовать несколько хемокиновых рецепторов (CCR5, CXCR4), в том числе CCR4. Однако, помимо Трег-клеток, выполняющих защитную роль при РА, хемокиновый рецептор CCR4 может приводить и к увеличению миграции патогенных активированных клонов Т-хелперов.

Заключение

У больных РА выявлено повышенное содержание клеток с фенотипами CD4⁺CD25^{hi} и CD4⁺CD25^{hi}CD127^{low/-}. При анализе количества CD4 Т-клеток, экспрессирующих FOXP3, было также от-

мечено их увеличение у больных РА, происходившее за счет нарастания CD4⁺FOXP3⁺CD25⁺-лимфоцитов, тогда как число CD4⁺FOXP3⁺CD25⁺ Трег-клеток при РА было на уровне контроля. Повышенный уровень Трег-ассоциированных фенотипов CD4⁺CD25^{hi}, CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} и CD4⁺FOXP3⁺ у больных РА может быть связан с активацией Т-хелперов при развитии патологии. Также интерес представляет значительное увеличение экспрессии хемокинового рецептора CCR4 как на Трег-клетках, так и на CD4⁺ Т-лимфоцитах периферической крови больных РА. Мы предполагаем, что повышенная экспрессия хемокинового рецептора CCR4, по-видимому, способствует привлечению периферических Т-хелперов и Трег-клеток в синовиальную жидкость сустава больных.

Источник финансирования

Финансирование проекта осуществлялось на средства гранта Президента РФ (МК-3680.2015.7), РФФИ (№ 16-04-00567) и из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания № 0221-2014-0011

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие иных явных и потенциальных конфликтов интересов, о которых необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Buckner JH. Mechanisms of impaired regulation by CD4(+) CD25(+)FOXP3(+) regulatory T cells in human autoimmune diseases. *Nat Rev Immunol.* 2010;10(12):849–859. doi: 10.1038/nri2889.
2. Sakaguchi S, Miyara M, Costantino CM, Hafler DA. FOXP3+ regulatory T cells in the human immune system. *Nat Rev Immunol.* 2010;10(7):490–500. doi: 10.1038/nri2785.
3. Seddiki N, Santner-Nanan B, Martinson J, et al. Expression of interleukin (IL)-2 and IL-7 receptors discriminates between human regulatory and activated T cells. *J Exp Med.* 2006;203(7):1693–1700. doi: 10.1084/jem.20060468.
4. Shevach EM. Mechanisms of foxp3+ T regulatory cell-mediated suppression. *Immunity.* 2009;30(5):636–645. doi: 10.1016/j.immuni.2009.04.010.
5. 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. doi: 10.1016/j.cellimm.2008.05.007.
6. Kawashiri S-Y, Kawakami A, Okada A, et al. CD4⁺CD25^{high}CD127^{low/-}-Treg cell frequency from peripheral blood correlates with disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2011;38(12):2517–2521. doi: 10.3899/jrheum.110283.
7. Kim JR, Chae JN, Kim SH, Ha JS. Subpopulations of regulatory T cells in rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, and Behcet's disease. *J Korean Med Sci.* 2012;27(9):1009–1013. doi: 10.3346/jkms.2012.27.9.1009.
8. Kosmaczewka A, Ciszak L, Swierkot J, et al. Alterations in Both the Activatory and Inhibitory Potential of Peripheral Blood CD4+ T Cells in Rheumatoid Arthritis Patients Correlate with Disease Progression. *Pathol Oncol Res.* 2014;20(2):235–243. doi: 10.1007/s12253-013-9687-0.
9. Moradi B, Schnatzer P, Hagmann S, et al. CD4+CD25+/highCD127low/- regulatory T cells are enriched in rheumatoid arthritis and osteoarthritis joints — analysis of frequency and phenotype in synovial membrane, synovial fluid and peripheral blood. *Arthritis Res Ther.* 2014;16(2):R97. doi: 10.1186/ar4545.
10. Campbell DJ, Koch MA. Phenotypical and functional specialization of FOXP3+ regulatory T cells. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(2):119–130. doi: 10.1038/nri2916.
11. Alvarez-Quiroga C, Abud-Mendoza C, Doniz-Padilla L, et al. CTLA-4-Ig therapy diminishes the frequency but enhances the function of Treg cells in patients with rheumatoid arthritis. *J Clin Immunol.* 2011;31(4):588–595. doi: 10.1007/s10875-011-9527-5.
12. Flores-Borja F, Jury EC, Mauri C, Ehrenstein MR. Defects in CTLA-4 are associated with abnormal regulatory T cell function in rheumatoid arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(49):19396–19401. doi: 10.1073/pnas.0806855105.
13. Aerts NE, Dombrecht EJ, Ebo DG, et al. Activated T cells complicate the identification of regulatory T cells in rheumatoid arthritis. *Cell Immunol.* 2008;251(2):109–115. doi: 10.1016/j.cellimm.2008.04.008.
14. Miyara M, Yoshioka Y, Kitoh A, et al. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4+ T cells expressing the FoxP3 transcription factor. *Immunity.* 2009;30(6):899–911. doi: 10.1016/j.immuni.2009.03.019.
15. Jiao Z, Wang W, Jia R, et al. Accumulation of FoxP3-expressing CD4+CD25+ T cells with distinct chemokine receptors in synovial fluid of patients with active rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol.* 2007;36(6):428–433. doi: 10.1080/03009740701482800.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Кравченко Полина Николаевна, младший научный сотрудник группы иммунологии ФГБУН «ИБ КарНЦ» РАН
 Адрес: 185910, Республика Карелия, Петрозаводск, ул. Пушкинская, д. 11, тел.: +7 (8142) 76-98-10,
 e-mail: k-polina13@mail.ru

Жулай Галина Анатольевна, младший научный сотрудник группы иммунологии ФГБУН «ИБ КарНЦ» РАН
 Адрес: 185910, Республика Карелия, Петрозаводск, ул. Пушкинская, д. 11, тел.: +7 (8142) 76-98-10,
 e-mail: zhgali-111@rambler.ru

Чуров Алексей Викторович, кандидат биологических наук, научный сотрудник группы иммунологии ФГБУН «ИБ КарНЦ» РАН
 Адрес: 185910, Республика Карелия, Петрозаводск, ул. Пушкинская, д. 11, тел.: +7 (8142) 76-98-10,
 e-mail: achurov@yandex.ru

Олейник Евгения Константиновна, доктор биологических наук, доцент, главный научный сотрудник, руководитель группы иммунологии ФГБУН «ИБ КарНЦ» РАН
 Адрес: 185910, Республика Карелия, Петрозаводск, ул. Пушкинская, д. 11, тел.: +7 (8142) 76-98-10,
 e-mail: ole@krc.karelia.ru

Олейник Виктор Михайлович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник группы иммунологии ФГБУН «ИБ КарНЦ» РАН
 Адрес: 185910, Республика Карелия, Петрозаводск, ул. Пушкинская, д. 11, тел.: +7 (8142) 76-98-10,
 e-mail: scigraph@yandex.ru

Барышева Ольга Юрьевна, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры госпитальной терапии медицинского института ФГБОУ ВПО «Петрозаводский государственный университет»
 Адрес: 185910, Республика Карелия, Петрозаводск, пр. Ленина, д. 33, тел.: +7 (8142) 76-44-45,
 e-mail: olgar@karelia.ru

Везикова Наталья Николаевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой госпитальной терапии медицинского института ФГБОУ ВПО «Петрозаводский государственный университет»
 Адрес: 185910, Республика Карелия, Петрозаводск, пр. Ленина, д. 33, тел.: +7 (8142) 76-42-88,
 e-mail: vezikov23@mail.ru

Марусенко Ирина Михайловна, доктор медицинских наук, профессор кафедры госпитальной терапии медицинского института ФГБОУ ВПО «Петрозаводский государственный университет»
 Адрес: 185910, Республика Карелия, Петрозаводск, пр. Ленина, д. 33, тел.: +7 (8142) 77-31-78,
 e-mail: feva@karelia.ru