Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Biologie

Romana Kubrová

Jednotlivé subpopulace T regulačních buněk a jejich role při alergických onemocněních

Particular subpopulations of regulatory T cells and its role in allergic diseases

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Jiří Hrdý, Ph.D.

Praha, 2017

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 24. 8. 2017 Podpis.....

Poděkování

Touto cestou bych chtěla poděkovat svému školiteli RNDr. Jiřímu Hrdému, Ph.D. za odborné vedení práce, cenné rady, ochotu a trpělivost, se kterou se mi během psaní mé bakalářské práce věnoval.

Abstrakt

$CD4^+$ T regulační buňky představují heterogenní populaci T lymfocytů, kterou lze prostřednictvím charakteristických molekulových znaků a místa vzniku dělit na pestrou škálu jednotlivých subpopulací. T regulační buňky se uplatňují ve většině imunitních reakcí. Jednou z jejich klíčových funkcí je ustanovení tolerance vůči potenciálně neškodným antigenům vnějšího prostředí a potravy. U jedinců, u kterých mechanismus ustanovení tolerance selhal a došlo u nich k rozvoji alergického onemocnění, byla prokázána narušená funkce a snížené proporční množství T regulačních buněk. Neustále se zvyšující prevalence alergických onemocnění napříč světovou populací vede k hledání prognostických znaků, které by na zvýšené riziko rozvoje alergických onemocnění poukazovaly a jejichž včasná diagnostika by umožnila zavést vhodná preventivní opatření. Zatímco takovým prognostickým znakem se zdá být subpopulace přirozených T regulačních buněk, subpopulace indukovaných T regulačních buněk pak sehrává nezastupitelnou roli při specifické alergenové imunoterapii.

Klíčová slova

T regulační buňky, alergická onemocnění, pupečníková krev, FoxP3, specifická alergenová imunoterapie

Abstract

$CD4^+$ regulatory T cells represent a heterogeneous population of T lymphocytes which can be divided into a wide range of individual subpopulations by means of characteristic molecular markers and sites of origin. Regulatory T cells play a role in the majority of immune responses. One of their key functions is the provision of tolerance to potentially harmless environmental and food antigens. In individuals whose mechanism of tolerance failed and allergic disease has developed, impaired function and reduced proportion of regulatory T cells were demonstrated. Increasing prevalence of allergic diseases across the world population leads to the search for prognostic markers that point to an increased risk of allergic diseases development and whose early diagnosis would allow introduction of appropriate preventive measures. While such a prognostic marker appears to be a subpopulation of naturally occuring regulatory T cells, the subpopulation of induced regulatory T cells plays an irreplaceable role in specific allergen immunotherapy.

Key words

Regulatory T cells, allergic diseases, cord blood, FoxP3, specific allergen immunotherapy

Obsah

Seznam použitých zkratek 8

1. Úvod 10

2. T regulační buňky (T_{reg}) 11

3. Alergická onemocnění 12

3.1 Specifická alergenová imunoterapie 14

3.2 Další možnosti terapie alergických onemocnění 15

4. Molekulové znaky T regulačních buněk a mechanismus modulace imunitní odpovědi 16

4.1 Povrchová molekula CD25 16

4.2 Transkripční faktor FoxP3 16

4.3 Povrchová molekula CD127 17

4.4 Transkripční faktor Helios a koreceptor neuropilin-1 17

4.5 Koinhibiční receptor CTLA-4 (CD152) 18

4.6 Kostimulační receptor GITR 18

4.7 Povrchové molekuly GARP a LAP 19

4.8 Povrchové molekuly CD39, CD73 a cyklický adenosin monofosfát cAMP 19

4.9 Některé další molekulové znaky T regulačních buněk a mechanismus modulace imunitní odpovědi 19

4.10 Cytokiny IL-10, IL-35 a TGF-β 20

5. Alergická onemocnění a přirozené T regulační buňky 21

5.1 Pozitivní a negativní selekce T lymfocytů a přirozených T regulačních buněk 21

5.2 Vznik a vývoj nT_{reg} buněk 22

5.3 Role přirozených T regulačních buněk při alergických onemocněních a fetomaternální vztah 22

6. Alergická onemocnění a indukované T regulační buňky 24

6.1 Vznik a vývoj $FoxP3^+$ indukovaných T regulačních buněk 24

6.2 Role $FoxP3^+$ indukovaných T regulačních buněk při alergických onemocněních 24

6.3 Imunoterapie a $FoxP3^+$ indukované T regulační buňky 25

6.4 T_r1 indukované regulační buňky 26

6.5 Imunoterapie a T_r1 indukované regulační buňky 27

6.6 T_r1-like regulační buňky 27

6.7 T_h3 regulační buňky 28

7. Závěr 28

8. Seznam použité literatury 30

Seznam použitých zkratek

APC – antigen prezenting cells, buňky prezentující antigen

ATP – adenosine triphosphate, adenosin trifosfát

cAMP – cyclic adenosine monophosphate, cyklický adenosin monofosfát

CD – cluster of differentiation, diferenciační antigen

CTLA-4 – cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CD152)

DCs – dendritic cells, dendritické buňky

FoxP3 – forkhead box P3

FCεRI – vysokoafinitní receptor pro Fc-fragment IgE

GARP – glycoprotein A repetitions predominant

GITR – glucocorticoid-induced TNFR-related protein

ICOS – inducible costimulatory molekule, indukovatelná kostimulační molekula

IgE – imunoglobulin E

IgG – imunoglobulin G

IL – interleukin

ILC – innate lymphoid cells, přirozené lymfoidní buňky

IPEX – immunodysregulation polyendocrinopathy enteropathy X-linked syndrome
imunitní polyendokrinopatie a enteropatie vázaná na X chromosom

IFN-γ – interferon γ

iT_{reg} – induced regulatory T cells, indukované T regulační buňky

iT_r35 – induced IL-35 producing regulatory T cells, indukované T regulační buňky produkující IL-35

LAG-3 – lymphocyte activation gene 3

LAP – latency-associated peptide

MALT – mucosa-associated lymphoid tissue, slizniční imunitní systém

MHC – major histocompatibility komplex, hlavní histokompatibilní komplex

NFAT – nuclear factor of activated T cells, jaderný faktor aktivovaných T buněk

NK – natural killer, přirozený zabíječ

nT_{reg} – naturally occurring regulatory T cells, přirozené T regulační buňky

pre-T_{reg} – regulatory T cells precursor, prekurzor T regulačních buněk

pT_{reg} – peripherally induced T regulatory cells, T regulační buňky indukované na periferii

PD-1 – programmed cell death protein 1

SAIT – specific allergen immunotherapy, specifická alergenová imunoterapie

SCID – subcutaneous immunotherapy, subkutánní imunoterapie

SLIT – sublingual immunotherapy, sublinguální imunoterapie

TCR – T cell receptor, receptor T buněk

TGF-β – transforming growth factor β, transformující růstový faktror β

T_h – helper T cell, pomocná T buňka

TNFR – tumor necrosis factor receptor

T_r1 – type 1 regulatory T cells, T regulační buňky typu 1

TSDR – T_{reg} specific demethylated region, demethylační region specifický pro T regulační buňky

TSLP – thymic stromal lymphopoietin

tT_{reg} – thymic-derived T regulatory cells, T regulační buňky vzniklé v thymu

T_{reg} – regulatory T cells, regualční T buňky

1. Úvod

Imunitní systém se rozděluje na přirozenou a specifickou imunitu. Vývojově starší organizmy využívají mechanismů přirozené imunitní odpovědi, která je zprostředkována fagocytárními buňkami a humorálními složkami. U předků dnešních obratlovců se navíc asi před 500 – 450 miliony let začala vyvíjet specifická imunitní odpověď (Laird *et al.*, 2000). Ta je založena na širokém spektru antigenně specifických povrchových receptorů B a T lymfocytů vznikajících rekombinací genových segmentů (Litman *et al.*, 1993). Jejich prostřednictvím jsou pak rozpoznávány antigeny organismu vlastní i antigeny cizorodé. Cizorodé antigeny mohou mít svůj původ u patogenních organismů, jako jsou některé bakterie, viry nebo paraziti, může se ale jednat i o neškodné antigeny z vnějšího prostředí, složky mikrobioty a potravy, které by měly být u zdravých jedinců tolerovány. K nastolení tolerance právě vůči nepatogenním a komenzálním mikroorganismům a neškodným antigenům, s nimiž je člověk běžně v kontaktu, dochází zejména prostřednictvím slizničního imunitního systému, jenž spolu s kožním systémem představuje i efektivní bariéru zabraňující průniku patogenním mikroorganismů.

Až do poloviny 20. století byl jednou z největších výzev medicíny boj proti infekčním onemocněním. Postupem času se s rozvojem antibiotik a vakcinace podařilo některé patogenní kmeny mikroorganismů způsobující vážná nebo smrtelná onemocnění zcela vymýtit, proti jiným byla nalezena účinná léčba. Ačkoli se moderní medicína nikdy nepřestala s infekčními chorobami potýkat, za několik posledních desetiletí se otevřela i řada relativně nových otázek, kdy jednou z nich je neustále se zvyšující prevalence alergických onemocnění (Haahtela *et al.*, 2015).

Alergickou reakci vyvolávají alergeny, což jsou exoantigeny, proti kterým imunitní systém vnímavého jedince nedokáže ustanovit toleranci. Podle World Allergy Organization trpí nějakou formou alergického onemocnění 30 – 40 % celosvětové populace (Pawankar *et al.,* 2011, 2013). V některých regionech České republiky se podle posledního zjištění Státního zdravotního ústavu rozvinulo alergické onemocnění téměř u 30 % dětí (Kratěnová *et al.,* 2016). Přesný mechanismus, proč u některých jedinců dochází ke vzniku alergických onemocnění, nebyl zatím zcela objasněn. Existuje ale řada hypotéz dávající do souvislosti vliv genetických predispozic, znečištěného životního prostředí, změny složení přirozeného lidského mikrobiomu, nedostatečnou expozici běžným antigenům vnějšího prostředí a mnohé další faktory (Strachan, 1989; Lynch *et al.*, 2014). Na negativní dopad moderního životního stylu při rozvoji alergických onemocnění poukazují i studie srovnávající prevalenci alergií u populací z různě ekonomicky vyspělých zemí (Haahtela *et al.*, 2015).

Aby odpověď imunitního systému na prezentovaný antigen vnějšího i vnitřního prostředí byla vždy adekvátní a nedocházelo ke vzniku alergických, stejně jako autoimunitních a nádorových onemocnění, musí být aktivita imunokompetentních buněk patřičně regulována. Za to zodpovídají $CD4^+$ T regulační buňky (Sakaguchi *et al.*, 1995). Pokud mechanismus tolerance selže, dochází k nepřiměřené či neefektivní imunitní odpovědi, která má na zdraví a kvalitu života vážné dopady (Ling *et al.*, 2004).

Cílem mé bakalářské práce je shrnout nejdůležitější poznatky o jednotlivých subpopulacích $CD4^+$ T regulačních buněk, popsat, jakou roli sehrávají při alergických onemocněních, a nastínit alespoň některé možnosti prevence vzniku a terapie těchto onemocnění.

2. T regulační buňky (T_{reg})

$CD4^+$ T_{reg} jsou heterogenní populací T lymfocytů. Úkolem těchto buněk je udržování homeostáze organismu prostřednictvím regulace aktivity některých dalších imunokompetentních buněk (Xu *et al*., 2003; Chaudhry *et al*., 2009). Zajišťují tak adekvátní imunitní odpověď – regulují odpověď proti antigenům z vnějšího prostředí, antigenům přirozené lidské mikrobioty i antigenům vlastních tkání. Díky tomu brání rozvoji systémových i orgánově specifických autoimunitních onemocnění a alergií (Bennett *et al.*, 2001). T_{reg} se rovněž účastní imunitních reakcí při infekčních onemocněních. Během infekce dochází vlivem infekčního agens i vlivem samotné obranné činnosti imunitních buněk k lokálnímu poškození tkání. T_{reg} dokážou danou tkáň před vlivem zánětlivé reakce jednak chránit (Arpaia *et al*., 2015), jednak modulovat činnost imunokompetentních buněk takovým způsobem, aby jejich přílišná obranná aktivita nezpůsobovala rozsáhlejší poškození dané tkáně (Moser *et al.,* 2014). Tato ochrana je důležitá i proto, že poškozenou tkání se může infekce dále snadněji šířit. Funkce T_{reg} ovšem nemusí být pro organismus vždy pouze příznivá. U pacientů s nádorovým onemocněním byla v místě nádoru zjištěna vyšší koncentrace T_{reg} oproti běžnému množství pozorovanému u zdravých jedinců, což umocňuje jejich regulační činnost vedoucí k potlačení protinádorové odpovědi (Wolf *et al.*, 2003) a brání v účinné terapii (Antony *et al.*, 2005). Roli T_{reg} při nádorových onemocněních potvrzuje i studie provedené na myším modelu, kdy experimentální odstranění T_{reg} vedlo k ustanovení efektivní protinádorové odpovědi (Shimizu *et al.*, 1999). Protipólem zvýšené hladiny T_{reg} u nádorových onemocnění je pak jejich snížená hladina a funkce u pacientů s alergickým onemocněním a astmatem (Ling *et al.*, 2004; Provoost *et al*., 2009; Dang *et al.*, 2016).

Historie výzkumu regulace imunitní odpovědi sahá k počátkům 70. let 20. století, kdy Gershon a Kondo prvně popsali subpopulaci T supresorových buněk, které měly schopnost, na rozdíl od do té doby popsaných subpopulací, tlumit imunitní odpověď (Gershon *et* Kondo, 1970). Rovněž byla publikována studie, která popisovala rychlý rozvoj orgánově specifických onemocnění po provedení thymektomie (Nishizuka *et* Sakakura, 1969). Větší pozornosti se ale výzkumu supresorových buněk nedostalo. Jedním z důvodů byla složitá izolace vzhledem k jejich nízkému zastoupení v organismu, neboť i s ohledem na zvolenou metodiku výzkumu tvoří přibližně pouhých 6 % z celkového počtu $CD4^+$ T buněk lidské krve (Baecher-Allan *et al.*, 2001; Seddiki *et al*., 2006). Dále se nedařilo nalézt specifický molekulový znak, který by usnadnil izolaci a studium těchto buněk. Do popředí zájmu se proto supresorové buňky dostaly až v 90. letech, kdy se podařilo jako jeden z hlavních znaků určit přítomnost povrchové molekuly CD25, a byly označeny jako T regulační buňky (Sakaguchi *et al*., 1995). Ukázalo se ovšem, že ne všechny buňky s povrchovým znakem CD25 zastávají regulační

aktivitu, tudíž nelze na tento znak při určování T_{reg} jednoznačně spoléhat. Ovšem v porovnání s ostatními T buňkami, které rovněž CD25 produkují, je tato molekula v případě T_{reg} přítomna ve vyšší míře. Na základě této vlastnosti jsou proto T_{reg} popisovány jako $CD4^{+}CD25^{high}$ (Baecher-Allan *et al.*, 2001). Krátce nato byl objeven transkripční faktor FoxP3 (forkhead box P3), jenž se ukázal být zásadní pro správný vývoj a funkci T_{reg} a který je považován za hlavní faktor oddělující linii T_{reg} od dalších T buněčných linií (Hori *et al.*, 2003).

Nicméně jednoznačně charakteristický znak, který by jasně definoval populaci T_{reg} a který by jiné T buněčné linie nebyly za žádných okolností schopny vykazovat, nebyl dosud s jistotou nalezen. T_{reg} jsou proto popisovány pomocí celé řady povrchových molekul a transkripčních faktorů, jejichž přítomnost byla u T_{reg} prokázána, a díky kterým tvoří pestrou škálu subpopulací. Podle místa vzniku mohou být T_{reg} děleny na přirozené nT_{reg} (naturally occurring T_{reg}) vznikající v thymu z naivních T buněk a na různorodou skupinu indukovaných iT_{reg} (induced T_{reg}), které vznikají v sekundárních lymfatických tkáních. V označování jednotlivých subpopulací T_{reg} není ovšem mezi autory jednoznačná shoda a někteří proto doporučují používat označení tT_{reg} (thymic-derived T_{reg}) pro přirozené a pT_{reg} (peripherally induced T_{reg}) pro indukované T_{reg} (Abbas *et al.*, 2013). Bez ohledu na rozdíly v pojmenování má každá ze subpopulací T_{reg} svá specifika a v organismu dokáže zastávat poněkud odlišnou úlohu.

3. Alergická onemocnění

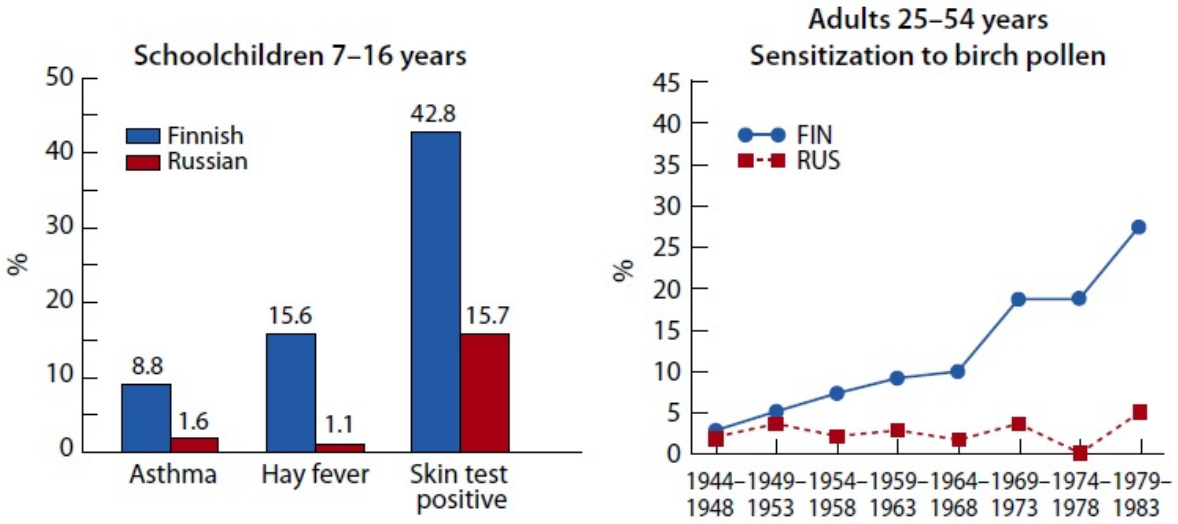
Na rozhraní vnějšího prostředí a vnitřního prostředí organismu stojí kůže a sliznice. Z hlediska imunitního systému slouží kůže jako bariéra zabraňující vstupu mikroorganismů. Proto při jejím poškození zajišťují kožní regenerační mechanismy relativně velmi rychlé uzavření rány a obnovu celistvosti tkáně. Další bariéra je reprezentována slizničním imunitním systémém (MALT – mucosa-associated lymphoid tissue). Sliznice tvoří výstelku dýchacího, gastrointestinálního a urogenitálního systému a právě na nich dochází k interakci cizorodých antigenů vnějšího prostředí s buňkami imunitního systému. Z tohoto důvodu jsou sliznice místem s největší koncentrací imunokompetentních buněk v organismu a zároveň jsou místem výskytu přirozené slizniční mikrobioty, která je pro správný vývoj imunitního systému nepostradatelná.

Z vnějšího prostředí pronikají na povrch sliznic patogenní mikroorganismy i potenciálně neškodné částice. Obě tyto skupiny cizorodých agens nesou na svém povrchu antigeny, s nimiž buňky imunitního systému interagují. Daný antigen je prostřednictvím M-buněk přenesen na opačnou slizniční epiteliální vrstvu mechanismem transcytózy. Následně je fagocytován $CD103^{+}$ dendritickými buňkami ($CD103^{+}$ DCs – $CD103^{+}$ dendritic cells), hlavními buňkami prezentující antigeny (APC – antigen presenting cells), (Bogunovic *et al.,* 2009; Welty *et al.,* 2013). APC prostřednictvím svých povrchových MHC glykoproteinů (major histocompatibility komplex – hlavní histokompatibilní komplex) prezentují daný antigen T lymfocytům. Za předpokladu, že původcem prezentovaného

antigenu není patogenní mikroorganismus, dochází buď k nastolení tolerance, nebo k rozvoji alergické reakce. U zdravých jedinců, kteří žádným alergickým onemocněním netrpí, dochází součinností APC a slizničních epiteliálních buněk k sekreci cytokinů IL-10 a TGF-β (transforming growth factor β – transformující růstový faktror β), indukujících proliferaci T_{reg}, které ustanovení tolerance zajišťují (viz níže). U některých jedinců ovšem nastolení tolerance v důsledku narušené funkce nebo proliferace T_{reg} selhává a vede k rozvoji alergické reakce (Ling *et al.*, 2004; Provoost *et al.*, 2009; Dang *et al.*, 2016). Alergenní potenciál přitom má velice pestrá škála antigenů, mezi jejichž nejčastější původce patří pyly stromů a trav, spory plísní, prach a roztoči, zvířecí srst, peří, složky hmyzího jedu, z potravin například lepek, laktóza, vejce, ořechy, sója nebo ryby a mořské plody.

U alergických jedinců dochází při prvním setkání s alergenem k fázi senzibilizace. Alergeny prezentované na povrchu APC jsou rozpoznány naivními T lymfocyty, což pod vlivem cytokinu IL-4 spouští jejich diferenciaci v T_h2 efektorové buňky. Řada alergenů navíc dokáže narušit epiteliální bariéru, v důsledku čehož dojde k uvolnění cytokinů IL-25, IL-33 a TSLP (thymic stromal lymphopoietin), což významně přispívá k proliferaci T_h2 buněk a klinickým projevům alergie (Soumelis *et al.*, 2002; Gregory *et al.*, 2013; Ronzani *et al.*, 2014; Fukuoka *et al.,* 2016). T_h2 efektorové buňky stimulují prostřednictvím sekretovaných cytokinů IL-4, IL-5, a IL-13 B lymfocyty k přeměně na plazmatické buňky a k tvorbě protilátek isotypu IgE, které se následně váží na vysokoafinitní receptory pro Fc-fragment IgE, FCεRI, na mastocytech a bazofilech. Někteří autoři uvádí, že samotné protilátky IgE jsou schopny indukci T_{reg} potlačovat a přispívat tak k proliferaci T_h2 buněk (Burton *et al.*, 2014). Na rozvoji alergické reakce se dle výsledků řady studií podílí společně s T_h2 buňkami i přirozené lymfoidní buňy (ILC2 – innate type 2 lymphoid cells), (Neill *et al*, 2010; Salimi *et al*, 2013; Halim *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2016; Noval Rivas *et al*., 2016). Opětovné setkání s daným alergenem spouští fázi aktivace. Po aktivaci granulocytů dojde k vylití obsahu granul s látkami jako je histamin, heparin, prostaglandiny, kyselinu arachidonovou a další aktivní metabolity, které jsou zadpovědné za patofyziologické projevy alergických onemocnění. Mezi nejčastější projevy alergií patří opuchnutí sliznic, slzení, kýchání, alergická rýma, dermatitida, spasmus průdušnice a průdušek a s tím spojená dechová nedostatečnost. Ve vážných případech může dojít až k život ohrožujícímu anafylaktickému šoku.

S ohledem na vysokou prevalenci alergií se současný klinický výzkum nezaobírá pouze možností léčby těchto příznaků, ale i hledáním prognostických znaků poukazujících na zvýšené riziko rozvoje alergií. K tomuto účelu je řadou studií využívána pupečníková krev, která je relativně snadno dostupným biologickým materiálem pro hledání potencionálních prognostických znaků, jejichž nalezení by umožnilo zavedení včasných preventivních opatření vedoucích k zamezení rozvoje alergických onemocnění nebo alespoň zmírnění klinické závažnosti. Jedním ze slibných prognostických znaků by mohly být právě $CD4^+$ T_{reg}, respektive jejich proporční a funkční vlastnosti poukazující na zvýšené riziko rozvoje alergií (Dang *et al.*, 2016; Meng *et al*., 2016).



Obrázek 1: Srovnání finské a ruské populace žijící v oblasti Karélie z hlediska prevalence alergií. Obrázek vlevo ukazuje, kolik procent školáků finské (modrá barva) a ruské (červená barva) národnosti vykazovalo příznaky alergických onemocnění. Obrázek vpravo pak sleduje vývoj prevalence alergií dlouhodobého hlediska. Zatímco od 40. let lze u finské populace sledovat strmý nárůst specifického IgE, hodnoty IgE ruské populace se pohybují v relativně stabilních hodnotách. Příčiny, které by vysvětlovaly takový rozdíl u dvou populací žijící na geograficky stejném území, lze spatřovat zejména v historické, potažmo socioekonomické rovině. Srovnání finské a ruské populace tedy potvrzuje nepříznivý vliv změn moderního životního stylu na výskyt alergických onemocnění (převzato z Haahtela *et al*., 2015).

3.1 Specifická alergenová imunoterapie

Alergické reakce lze považovat za komplexní imunitní reakce, které zahrnují činnost celé řady imunokompetentních a epiteliálních buněk. Neexistuje přitom mnoho terapeutických metod, které by alergickým pacientům mohly být indikovány. Kromě profylaxe, která je možná pouze u některých typů alergií, jde o farmakologickou léčbu. Ta více či méně efektivně tlumí alergické projevy, ale neřeší jejich příčiny. Skutečně léčebný potenciál zavedený do klinické praxe má v současné době specifická alergenová imunoterapie (SAIT – specific alergen immunotherapy). Ta se ukázala být vhodným a zároveň nejvyužívanějším léčebným postupem vedoucím k dlouhodobé desenzitizaci alergického jedince a vymizení klinických příznaků (Durham *et al.,* 1999). Pokud je alergickému jedinci pravidelně podávána postupně se zvyšující dávka senzitizujícího alergenu, je v průběhu času indukována remodelace imunitní odpovědi a ustanovena tolerance vůči alergenům. Mechanismus remodelace spočívá v indukci proliferace T_{reg} a sekrece cytokinů IL-10, IL-35 a TGF-β. To vede k inhibici proliferace T efektorových buněk a granulocytů, snížení sekrece prozánětlivých cytokinů,

IgE a indukci IgG4 (Akdis *et al.,* 1998, 2004; Dodev *et al*., 2015). Hlavní subpopulací T_{reg}, k jejíž indukci při úspěšné SAIT dochází, je T_r1 iT_{reg} (Akdis *et al*., 1998). Z hlediska indikace specifické alergenové terapie se využívá sublinguální imunoterapie (SLIT – sublingual immunotherapy), kdy je alergen aplikován na sliznici. Prostřednictvím SLIT bývá ustanovována tolerance vůči vzdušným alergenům, jako jsou pyly, a tak je indikována především k léčbě alergického astmatu a rhinitidy (Trebuchon *et al.*, 2014). Dále se využívá injekční subkutánní imunoterapie (SCIT – subcutaneous immunotherapy), která rovněž cílí na vzdušné alergeny (Karakoc-Aydiner *et al*., 2015). Z hlediska léčby potravinových alergií se pak zdá být nejúčinnější tzv. perorální imunoterapie (Syed *et al.*, 2014; Giavi *et al.*, 2016; Ebrahimi *et al.*, 2017).

Míra účinnosti léčby prostřednictvím SAIT závisí na mnoha faktorech, mezi které patří i to, jak dlouho alergické onemocnění trvá a jak je intenzivní, jedná-li se o monovalentní nebo polyvalentní onemocnění a jaký je celkový zdravotní stav pacienta. Imunoterapie vůči danému alergenu navíc může předejít vzniku alergického onemocnění vůči alergenu jiného původu (Mondoulet *et al.*, 2015). S ohledem na to, že se funkce jednotlivých subpopulací T_{reg} při ustanovování tolerance vůči antigenům vzájemně překrývají a doplňují, nedochází během imunoterapie k indukci pouze jedné subpopulace T_{reg} a její efekt tak lze považovat za relativně pleiotropní (Radulovic *et al.*, 2008; Böhm *et al.*, 2015; Qamar *et al.*, 2015).

3.2 Další možnosti terapie alergických onemocnění

Jelikož specifická alergenová imunoterapie nemusí být s ohledem na osobní anamnézu vhodná pro každého pacienta, je třeba hledat i další možnosti léčby, které by mohly průběh alergických onemocnění příznivě ovlivnit. Podle řady autorů bylo dosaženo dobrých výsledků blokací IgE, v důsledku čehož dojde k inhibici degranulace mastocytů a bazofilů. Vzhledem ke schopnosti IgE přispívat k diferenciaci T_h2 linie na úkor T_{reg}, by tento postup mohl příznivě ovlivnit i samotnou fázi senzibilizace (Busse *et al.*, 2001; Burton *et al.*, 2014).

Slibnou terapeutickou metodou rovněž využívající funkci protilátek se podle některých autorů zdá být blokace T_h2 cytokinů (Beck *et al.*, 2014). Jiní autoři ovšem zlepšení alergického onemocnění prostřednictvím této metody nedosáhli (De Boever *et al.*, 2014). Studie na myších modelech dále popisují terapii založenou na přenosu T_{reg}, pomocí které bylo dosaženo zlepšení alergického stavu v důsledku regulace imunitní odpovědi (Yamashita *et al*., 2012; Xu *et al*., 2012; Mondoulet *et al*., 2015). Je tedy otázkou dalšího výzkumu, za jakých podmínek nebo při jakých formách alergických onemocnění mohou být výše uvedené metody účinné a uplatnitelné v klinické praxi.

4. Molekulové znaky T regulačních buněk a mechanismus modulace imunitní odpovědi

4.1 Povrchová molekula CD25

Objev asociace povrchové molekuly CD25, α-řetězce heterotrimerního receptoru pro IL-2, s populací T_{reg} znamenal velký mezník ve výzkumu jejich regulační aktivity (Sakaguchi *et al.*, 1995). Pro T_{reg} je charakteristická vysoká míra produkce molekuly CD25, $CD25^{high}$, zatímco její nižší míra zastoupení se objevuje i u dalších populací $CD4^+$ T lymfocytů (Baecher-Allan *et al.*, 2001). IL-2 je nezbytným faktorem pro vývoj a funkčnost T_{reg} (Setoguchi *et al.*, 2005; Bayer *et al.*, 2007). Zásadní úlohu v ustanovení interakce IL-2/IL-2R sehrává transkripční faktor FoxP3 ve spolupráci s NFAT (nuclear factor of activated T cells), jejichž prostřednictvím je u T_{reg} indukována vysoká produkce CD25, zároveň potlačena exprese genu *il-2* a tím znemožněna sekrece IL-2 samotnými T_{reg} (Wu *et al.*, 2006). T_{reg} jsou proto závislé na sekreci IL-2 ostatními imunokompetentními buňkami, a to zejména populací T efektorových buněk (Setoguchi *et al.*, 2005). Jelikož v imunitním systému zdravého jedince dochází k ustanovení rovnováhy mezi funkcí T efektorových buněk a T_{reg}, je i proporcionální množství sekretovaného IL-2 vyvážené (Almeida *et al.*, 2012; Amado *et al.*, 2013). Vychytávání volného IL-2 pomocí CD25 je pak jedním z mnoha mechanismů, jakým T_{reg} mohou zajišťovat regualci proliferace T efektorových buněk (Pandiyan *et al*., 2007).

4.2 Transkripční faktor FoxP3

Transkripční faktor FoxP3 je jedním z nezbytných faktorů podmiňující správný vývoj, stabilitu a regulační funkci T_{reg} (Hori *et al.*, 2003). Dojde-li u T_{reg} ke snížení nebo k neschopnosti produkce FoxP3, ztrácí tyto buňky regulační aktivitu a přeměňují se na buňky s vlastnostmi typickými pro T_h2 (Zhou *et al.*, 2009; Hansmann *et al.*, 2012). Exprese genu *foxp3* je u člověka charakteristická jak pro nT_{reg}, tak pro iT_{reg}. Subpopulace nT_{reg} získává schopnost produkce FoxP3 vývojem v thymu, kdežto iT_{reg} až při aktivaci $CD4^+CD25^-$ prekurzorů (Hori *et al.*, 2003; Walker *et al*., 2003; Josefowicz *et al.*, 2009).

Molekulární funkce transkripčního faktoru FoxP3 u T_{reg} spočívá v tom, že se váže na promotory některých genů asociovanými s imunitní odpovědí a tím ovlivňuje jejich transkripci, přičemž má úlohu jako aktivátor, represor i koregulátor exprese těchto genů (Zheng *et al.*, 2007; Hill *et al.*, 2007). Samotný gen *foxp3* a jeho exprese je spojena s řadou epigenetických modifikací (Floess *et al.*, 2007; Zheng *et al.*, 2010; Ohkura *et al.*, 2012) a vzniklý transkripční faktor následně prodělává posttranslační modifikaci prostřednictvím acetylace. Acetylovaný FoxP3 vykazuje vyšší stabilitu, neboť je chráněn před polyubiqitinylací a následnou degradací proteasomem, díky čemuž se zvyšuje i jeho celková hladina v buňce (Loosdregt *et al.*, 2010).

Klíčová role FoxP3 byla prokázána na myším i lidském modelu. Mutace v genu *foxp3* vede u myší k rozvoji letálních, orgánově specifických onemocnění (Brunkow *et al.*, 2001; Fontenot *et al.*, 2003). Podobně je tomu i u člověka, kdy mutace *foxp3* způsobuje IPEX syndrom (immunodysregulation polyendocrinopathy enteropathy X-linked syndrome) a neschopnost regulace imunitní odpovědi (Bennett *et al.*, 2001). U pacientů s alergickým onemocněním byla pozorována nižší míra produkce FoxP3 (Krogulska *et al.*, 2015) a rovněž větší variabilita v sekvenci genu *foxp3* u pacientů trpících zároveň alergickým i autoimunitním onemocněním. To by mohlo stát za zhoršenou funkcí FoxP3, potažmo T_{reg} (Pacheco-Gonzalez *et al.*, 2016).

Jelikož FoxP3 dokážou alespoň dočasně produkovat i efektorové T buňky (Allan *et al.*, 2007), jsou lidské $CD4^+CD25^{high}FoxP3^+$ T_{reg} kromě dalších znaků popisovány i pomocí povrchové molekuly CD127.

4.3 Povrchová molekula CD127

Povrchovou molekulu CD127, α-řetězec receptoru pro IL-7, lze zavést v rámci lidských T_{reg}. Ve vysoké míře je přítomna u většiny $CD4^+$ T buněk, u kterých nebyla zjištěna žádná regulační aktivita. U T_{reg} se tomu zdá být naopak a nízká exprese genu pro CD127 slouží jako znak pro identifikaci této buněčné linie (Liu *et al.*, 2006; Seddiki *et al.*, 2006; Hartigan-O'Connor *et al.*, 2007). Pozdější studie nicméně ukazují, že míra produkce CD127 se po aktivaci T_{reg} zvyšuje, a to i v závislosti na jejich lokalizaci (Simonetta *et al.*, 2010). IL-7 pak má u aktivovaných T_{reg} důležitou roli, neboť zvyšuje jejich citlivost k IL-2 a společně se podílí na ustanovení produkce molekuly CD25 (Simonetta *et al.*, 2014), čímž rovněž zvyšuje jejich schopnost regulace T efektorových buněk (Schmaler *et al.*, 2015).

4.4 Transkripční faktor Helios a koreceptor neuropilin-1

V porovnání s jinými T buněčnými liniemi byla u T_{reg} pozorována vyšší míra produkce transkripčního faktoru Helios, člena rodiny Ikaros. Nejprve se soudilo, že se jedná o jednoznačný znak definující subpopulaci nT_{reg} (Thornton *et al.*, 2010), pozdější studie ale prokázaly nízkou míru zastoupení Helios i u iT_{reg} (Akimova *et al.*, 2011; Gottschalk *et al.*, 2012). U obou těchto subpopulací sehrává Helios důležitou roli v ustanovení regulační aktivity a životnosti (Baine *et al.*, 2013).

U T_{reg} dochází k inhibici transkripce genu *il-2* pomocí FoxP3 (Wu *et al.*, 2006). Ukázalo se ale, že vazba FoxP3 na promotor genu pro cytokin IL-2 je umožněna právě prostřednictvím Helios a že na inhibici transkripce IL-2 se tedy podílejí oba tyto transkripční faktory. Helios navíc zodpovídá za indukci deacetylace histonů v oblasti tohoto genu, čímž je exprese genu *il-2* umlčena i epigeneticky (Baine *et al.*, 2013). Jelikož $FoxP3^+Helios^+$ T_{reg} vykazují v porovnání s $FoxP3^+Helios^-$ vyšší supresivní aktivitu, lze předpokládat, že snížená míra exprese genu pro Helios může mít vliv při rozvoji autoimunitních onemocnění (Elkord *et al.*, 2015). Naopak narušená produkce Helios u T_{reg} způsobující jejich nestabilitu by mohla mít pozitivní dopad v protinádorové odpovědi, kde je aktivita T_{reg} nežádoucí (Nakagawa *et al.*, 2016).

Pro T_{reg} je rovněž charakteristická přítomnost neuropilinu-1. Neuropilin-1, koreceptor tyrozin-kinázy, je důležitý z hlediska stability a funkce T_{reg} (Bruder *et al.*, 2004; Delgoffe *et al.*, 2013). Podobně jako u transkripčního faktoru Helios se na základě některých studií soudí, že jeho vysoká míra produkce odlišuje nT_{reg} od iT_{reg} (Yadav *et al.*, 2012; Weiss *et al.*, 2012; Singh *et al.*, 2015). To ovšem někteří autoři zpochybňují (Szurek *et al.*, 2015).

4.5 Koinhibiční receptor CTLA-4 (CD152)

CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4) je membránový koinhibiční receptor, který zodpovídá za regulaci proliferace imunokompetentních buněk. Působí tedy opačně ke kostimulačnímu povrchovému receptoru CD28. Tato funkce má velký význam i z hlediska alergických onemocnění, neboť CTLA-4 přítomný na cytoplazmatické membráně T_{reg} dokáže interagovat s kostimulačními molekulami CD80 a CD86 na povrchu buněk účastnících se alergické reakce, jako jsou APC, schopné skrze své cytokiny indukovat i proliferaci T_h2 buněk. Prostřednictvím CTLA-4 může být tedy T_h2 odpověď inhibována (Read *et al.*, 2000; Misra *et al.*, 2004; Wing *et al.*, 2008; Qureshi *et al.*, 2011). Funkční význam CTLA-4 dokládají i nedávné studie, které popsaly, že narušená exprese genu pro CTLA-4 u T_{reg} může přispívat k rozvoji alergické reakce (Wing *et al.*, 2014; Sage *et al.*, 2014). Snížená regulační funkce T_{reg} v důsledku nižší produkce CTLA-4 sice může vést k navýšení jejich celkové populace, to lze ale považovat za pouhou snahu vytvořit kompenzační mechanismus (Sage *et al.*, 2014).

Receptor CTLA-4 se stal jedním z cílů, na který se soustřeďuje protinádorová terapie. Protilátka anti-CTLA-4 navázána s určitou cytotoxickou látkou je tak při léčbě nádorových onemocněnách jednou z často využívaných metod (Leach *et al*., 1996; Das *et al*., 2015).

4.6 Kostimulační receptor GITR

GITR (glucocorticoid-induced TNFR-related protein) byl popsán jako další znak, pomocí kterého lze blíže vymezit populaci T_{reg} oproti jiným $CD4^+$ T buňkám. Jendá se o povrchový kostimulační receptor, jenž je v nízké míře přítomen i u T efektorových buněk, avšak pro T_{reg} se ukázala být typická jeho vysoká míra produkce (Shimizu *et al.*, 2002). Jedná se o člena TNFR (tumor necrosis factor receptor superfamily). V kontextu T_{reg} spouští navázání ligandu GITR-L na receptor GITR signalizační dráhu, která má pro ustanovení této buněčné populace zásadní význam (McHugh *et al.*, 2002).

Ačkoli byla funkce GITR ve větší míře studována zejména z hlediska nT_{reg}, produkují tento znak i u iT_{reg} (Bianchini *et al.*, 2011). Molekula GITR nT_{reg} je důležitá zejména při jejich vývoji (Mahmud *et al.*, 2014), přičemž transkripci samotného genu *gitr* pak pozitivně ovlivňuje FoxP3 (Tone *et al.*, 2014). Jak u nT_{reg}, tak u iT_{reg} se pak GITR zdá být důležitým faktorem, který přispívá k proliferaci obou těchto subpopulací (Liao *et al.*, 2010; Carrier *et al.*, 2012; Nocentini *et al.*, 2014).

4.7 Povrchové molekuly GARP a LAP

Mezi faktory přispívající k funkci T_{reg} rovněž patří povrchové proteiny GARP (Glycoprotein A repetitions predominant) a LAP (latency-associated peptide). Tyto molekuly jsou v asociaci s transkripčními faktory důležitými pro ustanovení populace T_{reg}. V tom, jestli se jedná spíš o FoxP3 nebo Helios, není mezi autory jednoznačná shoda (Wang *et al.*, 2008; Elkord *et al*., 2015). LAP je dále asociován s membránovým i rozpustným TGF-β a LAP^+ T_{reg} tak oproti LAP^- T_{reg} vykazují silnější regulační aktivitu (Chen *et al.*, 2008; Elkord *et al*., 2015). Přímo do souvislosti s alergickými onemocněními se GARP i LAP dostaly do popředí zájmů před několika málo lety, kdy byla pozorována schopnost antigenně specifických $GARP^+$ a LAP^+ T_{reg} potlačovat prozánětlivou odpověď T efektorových buněk (Noyan *et al.*, 2014; Meyer-Martin *et al.*, 2016).

4.8 Povrchové molekuly CD39, CD73 a cyklický adenosin monofosfát cAMP

V místě alergického zánětu dochází k uvolňování ATP (adenosine triphosphate) do extracelulárního prostoru. T_{reg} dokážou prostřednictvím svých povrchových molekul CD39 a CD73 přeměnit extracelulární ATP na adenosin, který následně navázáním na A_{2A} a A_{2B} receptory samotných T_{reg} zvyšuje intacelulární produkci cAMP (cyclic adenosine monophosphate), druhého posla signalizačních drah (Deaglio *et al.*, 2007; Mandapathil *et al.*, 2010; Ohta *et al.*, 2012). T_{reg} mají schopnost molekuly cAMP hromadit a následně je skrze skulinové spoje, gap junctions, uvolnit do cílových buněk (Bopp *et al.*, 2007; Fassbender *et al.*, 2010). V cílových buňkách spouští cAMP signalizační dráhu vedoucí ke snížení sekrece cytokinů a kostimulačních molekul, což inhibuje jejich další diferenciaci a proliferaci dané buněčné linie. Takto dokážou T_{reg} působit na buňky dendritické, efektorové i naivní T lymfocyty (Fassbender *et al.*, 2010).

4.9 Některé další molekulové znaky T regulačních buněk a mechanismus modulace imunitní odpovědi

Mezi další znaky T_{reg} patří receptor OX40, který podobně jako GITR patří do rodiny TNFR. Prostřednictvím interakce OX40/OX40L jsou T_{reg} schopné inhibovat degranulaci mastocytů a bazofilů a potlačovat tak klinické projevy alergií (Gri *et al.*, 2008). Roli interakce OX40/OX40L při regulaci alergických reakcí potvrzují i některé studie na myších modelech (Burrows *et al*., 2015). Na regulační funkci T_{reg} se rovněž podílí adhezivní molekula LAG-3, lymphocyte activation gene 3, která interaguje s MHC II glykoproteiny (Workman *et al.*, 2002). Jejím prostřednictvím pak může být regulována jak proliferace a maturace APC (Liang *et al.*, 2008), tak i samotných T lymfocytů (Workman *et al.*, 2004).

Jednou ze zajímavých schopností regulace, kterou T_{reg} využívají, je i indukce buněčné smrti cílových buněk. Tu zprostředkovávají pomocí povrchového receptroru PD-1 (programmed cell death protein 1), (Freeman *et al*., 2000; Latchman *et al.*, 2001; Francisco *et al.*, 2009). Inhibice PD-1 pomocí protilátky anti-PD-1 se spolu s anti-CTLA-4 ukázala být jedním z efektivních mechanismů využívaným při protinádorové terapii (Herbst *et al*., 2014; Das *et al*., 2015). Kromě výše popsaného

mechanismu mohou T_{reg} buněčnou smrt navodit i prostřednictvím sekrece granzymu A, granzymu B nebo pefrorinu (Grossman *et al.*, 2004; Gondek *et al.*, 2005).

4.10 Cytokiny IL-10, IL-35 a TGF-β

T_{reg} mohou svoji regulační funkci zastávat i nezávisle na přímém buněčném kontaktu. Tento mechanismus je kromě již popsaného vychytávání volného IL-2 a uvolňování granzymů a perforinu založen zejména na sekreci protizánětlivých cytokinů IL-10, IL-35 a TGF-β. To jsou zároveň cytokiny, jejichž prostřednictvím jednotlivé subpopulace T_{reg} vznikají a supresi pomocí imunomodulačních cytokinů zastávají všechny subpopulace T_{reg} (Asseman *et al.,* 1999; Joss *et* al., 2000; Nakamura *et al,* 2001; Huber *et* al., 2004; Collison *et al.,* 2010).

Sekretovaný IL-10 se na cílových buňkách váže na svůj receptor IL-10R. Vazba IL-10/IL-10R pak spouští aktivací tyrosin-kinázy Tyk-2 signalizační dráhu vedoucí k narušení hlavní indukční dráhy zprostředkovanou interakcí povrchových molekul CD28/CD80-CD86 a ICOS/ICOSL (Taylor *et al*., 2007). Tím dojde k inhibici diferenciace a proliferace T_h2 buněk a jejich cytokinů (Joss *et al.*, 2000; Akbari *et al.*, 2002; Barrat *et al.*, 2002). Na podobném principu funguje i IL-35, heterodimer z rodiny IL-12, který se na cílových buňkách navazuje na receptor IL-12Rβ2:gp130 a IL-35R, což spouští STAT signalizační dráhu (Collison *et al.,* 2012). Z hlediska alergických onemocnění vede pak regulace prostřednictvím IL-35 ke snížení produkce IgE a cytokinů jako jsou IL-4, IL-5 a IL-13. (Huang *et al*., 2011; Collison *et al*., 2007, 2010; Yokota *et al*., 2015). Kromě toho IL-35 brání proliferaci T_h17 efektorových buněk sekretujících cytokin IL-17, který se na rozvoji některých alergických onemocnění rovněž podílí (Whitehead *et al*., 2012). TGF-β, respektive jeho isoformy TGF-β1, TGF-β2 a TGF-β3, pak zabraňují aktivaci B lymfocytů, jejich konverzi na plazmatické buňky a sekreci protilátek, proliferaci T lymfocytů a diferenciaci T efektorových buněk. Relativně pleiotropií efekt TGF-β vede k modulaci řady signalizačních drah a inhibici produkce řady molekul nezbytných pro vývoj a proliferaci B lymfocytů (Heath *et al.*, 2000; Read *et* al*.,* 2000; Tsuchida *et al.*, 2017).

Tabulka 1

Jednotlivé subpoplace T_{reg} a některé molekulové znaky nejčastěji používané k popisu jejich fenotypu

Název	Zkratka		Původ	Fenotyp	Literatura
Přirozené	nT_{reg} (tT_{reg})		Thymus	$CD4^+CD25^+FoxP3^+CD127^-Helios^+$	(1) – (4)
Indukované (Periferní)	iT_{reg} (pT_{reg})	$FoxP3^+$	Sekundární lymfatická tkáň	$CD4^+CD25^+FoxP3^+$	(5) – (6)
		T_r1		$CD4^+IL\text{-}10^+$	(7)
		T_r1-like (iT_r35)		$CD4^+IL\text{-}35^+$	(8)
		T_h3		$CD4^+TGF\text{-}\beta^+$	(9)

Literatura: (1) Sakaguchi *et al.*, 1995; (2) Hori *et al.*, 2003; (3) Liu *et al.*, 2006; (4) Thornton *et al*, 2010; (5) Walker *et al.*, 2003; (6) Chen *et al.*, 2003; (7) Groux *et al.*, 1997; (8) Collison *et al.*, 2007; (9) Youhai-Chen *et al.*, 1994.

5. Alergická onemocnění a přirozené T regulační buňky

5.1 Pozitivní a negativní selekce T lymfocytů a přirozených T regulačních buněk

Všechny T lymfocyty nesou na povrchu své cytoplazmatické membrány TCR (T cell receptor), které interagují s MHC glykoproteiny. MHC glykoproteiny prezentují TCR antigenní peptidové fragmenty, které jsou následně T lymfocyty rozpoznávány buď jako organismu vlastní, nebo cizorodé. Vzhledem k různorodosti peptidových fragmentů, které mohou být takto prezentovány, je nutné generovat minimálně stejně pestrou škálu TCR. To se děje procesem náhodné rekombinace genových segmentů, jež zajišťuje variabilitu TCR. Díky této variabilitě se v organismu vždy najde alespoň jeden T lymfocyt s takovým TCR, který je schopen vysokoafinitně se navázat na předkládaný fragment patogenního mikroorganismu, což následně vede k diferenciaci daného T lymfocytu, vzniku populace jeho klonů a zahájení adaptivní imunitní odpovědi organismu.

Mechanismus náhodné rekombinace genových segmentů ovšem dává vzniknout i autoreaktivním T lymfocytům s vysokou afinitou TCR k autoantigenům, které pak mají schopnost napadat organismu vlastní tkáně (Horai *et al.,* 2015). Z tohoto důvodu musí být autoantigeny, stejně jako fragmenty komenzálních mikroorganismů, rozeznávány pouze s nízkou afinitou. Aby byl tento mechanismus tolerance zaručen, prodělávají T lymfocyty při svém vývoji v thymu proces pozitivní a negativní selekce.

Pozitivní selekce podmiňuje vývoj T lymfocytů rozeznávající autoantigeny prezentované MHC II glykoproteiny pouze s nízkou afinitou. Negativní selekce je proces, kdy jsou T lymfocyty vysokoafinitně rozeznávající autoantigeny prostřednictvím apoptózy eliminovány, aby se dále nedělily a nedávaly vzniknout autoreaktivní buněčné populaci. Aby ovšem mohly nT_{reg} vykonávat svou regualční funkci, představují výjimku a procesu negativní selekce unikají. Na tom se zásadně

podílí TGF-β sekretovaný $CD103^+$ DCs, neboť spouští signalizační dráhu zabraňující jejich apoptóze (Ouyang *et al.*, 2010).

5.2 Vznik a vývoj nT_{reg} buněk

Subpopulace nT_{reg} je pomocí svých povrchových molekul popisována jako $CD4^+CD25^+FoxP3^+CD127^-Helios^+$ a představuje největší část z celkové populace T_{reg}. K jejich vzniku dochází v thymu z $CD4^+CD8^-$ prekurzorů, přičemž vývoj v $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ nT_{reg} probíhá ve dvou krocích. Z $CD4^+CD8^-$ thymocytů jsou nejprve prostřednictvím interakce TCR/MHC II, CD40/CD40L a CD28/CD80-CD86 generovány $CD4^+CD25^+FoxP3^-$ prekurzory, tzv. pre-T_{reg} (Lio *et* Hsieh, 2008). Pro tento krok se ukázala být důležitá kostimulace $CD4^+CD8^-$ buněk přímým buněčným kontaktem s B buňkami (Lu *et al.*, 2015). Pre-T_{reg} jsou následně ve vhodném cytokinovém prostředí za přítomnosti IL-2, IL-15 a TGF-β konvertovány na funkční $CD4^+CD25^+FoxP3^+Helios^+$ nT_{reg}, čemuž přispívají zejména dendritické a epiteliální buňky thymu (Huber *et al.*, 2004; Liu *et al*., 2008; Caramalho *et al.*, 2015). Oproti iT_{reg} se nT_{reg} vyznačují stabilitou svého fenotypu. To je dáno demethylací v regionu TSDR (T_{reg} specific demethylated region) zajišťující stabilní produkci transkripčního faktoru FoxP3 důležitou pro jejich správnou funkčnost (Floess *et al.*, 2007; Hinz *et al.*, 2012; Kim *et al.,* 2012). Prostředí thymu posléze nT_{reg} opouštějí jako maturovaná buněčná subpopulace migrující do sekundárních tkání.

Modulace imunitní odpovědi je v případě nT_{reg} založena jak na přímém buněčném kontaktu za účasti membránově vázaných molekul, tak i prostřednictvím sekrece regulačních cytokinů IL-10, IL-35 a TGF-β (Nakamura *et al.,* 2001; Joetham *et al.*, 2007; Collison *et al.,* 2010). Prostřednictvím nT_{reg} mohou být v cílových buňkách indukovány změny v zastoupení povrchových kostimulačních molekul nebo sekretovaných cytokinů, které mohou vést k inhibici jejich diferenciace a proliferace, případně až k apoptické smrti daných buněk. Cílovými buňkami, které takové regulaci podléhají, jsou lymfocyty (Nakamura *et al.,* 2001; Joetham *et al.*, 2007), APC (Fassbender *et al.,* 2010) i NK buňky (Ghiringhelli *et al.*, 2005).

5.3 Role přirozených T regulačních buněk při alergických onemocněních a fetomaternální vztah

S ohledem na způsob vývoje v thymu a řadu mechanismů umožňující supresi široké škály imunokompetentních buněk, zastávají nT_{reg} v organismu řadu funkcí. Kromě výše zmíněné regulace autoreaktivních lymfocytů dále modulují imunitní odpověď při infekčních onemocněních (Belkaid *et al*., 2002; Kullberg *et al.*, 2002), podílejí se na ochraně zánětem zasažené tkáně (Arpaia *et al.*, 2015) a rovněž udržují toleranci vůči komenzálním bakteriím (Cebula *et al.*, 2013).

Během těhotenství i kojení je imunitní systém matky a dítěte silně provázán a při vzniku alergií má prokazatelnou roli matčina anamnéza, neboť děti alergických matek mají zvýšené riziko rozvoje těchto onemocnění (Hinz *et* al., 2010; Fu *et al,* 2013; Meng *et al*., 2016). Přestože se alergie mohou

v některých případech projevit až v průběhu dospělosti, často se objevují již v kojeneckém nebo batolecím věku a riziko vzniku alergií lze uvažovat prakticky od narození. Vyšetření pupečníkové krve může odhalit indicie poukazující na zvýšené riziko rozvoje alergií, přičemž prokazatelným diagnostickým znakem se ukázalo být zejména snížené proporční množství a regulační funkce nT_{reg} (Hinz *et al.*, 2010; Stelmaszczyk-Emmel *et al.*, 2013; Meng *et al.*, 2016).

Ačkoli je podle některých studií proporční zastoupení nT_{reg} v pupečníkové krvi novorozenců alergických matek relativně srovnatelné s těmi zdravými, snížená funkce přítomných nT_{reg} není schopna efektivně regulovat proliferaci T_h2 efektorové linie, respektive produkci cytokinů charakteristických pro imunitní odpověď typu T_h2 (Smith *et al.*, 2008; Fu *et al*., 2013). Jiné studie pak nepopisují pouze sníženou schopnost regulace, ale i celkově nižší proporční zastoupení nT_{reg}. To může být podle některých autorů způsobeno narušenou expresí genu pro FoxP3 v důsledku epigenetických změn v TSDR regionu a sníženou sekrecí IL-10 (Hinz *et al*., 2012; North *et al.*, 2013; Bullens *et al.*, 2015; Meng *et al.*, 2016). Pokles hladiny nT_{reg} a s tím spojený rozvoj T_h2 v důsledku zvýšené methylace TSDR regionu potvrzuje i studie provedená na myším modelu (Tan *et al*., 2017).

V souvislosti s diagnostikou pupečníkové krve můžeme sledovat i další prognostické znaky indikující zvýšené riziko rozvoje alergií. Jako rizikový faktor lze uvažovat i zvýšenou hladinu IgE (Hinz *et al.,* 2010) a snížené množství vitaminu D (Palmer *et al.*, 2015; Chiu *et al.*, 2015). Podle analýzy porovnávající výsledky téměř tří stovek studií mají největší riziko rozvoje alergie způsobené vzdušnými alergeny jedinci narození v zimních měsících, kdy je statisticky nejvíce zvýšeno množství IgE v důsledku největšího poklesu hladiny vitaminu D během roku (Susanto *et al.*, 2017).

Dalším důležitým faktorem je postnatální kolonizace mikrobiotou, která je s imunitním systémem v úzké spolupráci. Člověk přichází na svět jako relativně sterilní novorozenec, jenž je osidlován komenzálními mikroorganismy při průchodu porodními cestami, kontaktem s kůží matky a při kojení. Děti narozené císařským řezem mají menší zastoupení komenzálních bakteriálních kmenů (Stokholm *et al.*, 2016), což má nepříznivý vliv na vývoj jejich imunitního systému, a to včetně zvýšeného rizika rozvoje alergií (Huang *et al.*, 2015; Brandão *et al.*, 2016; Papathoma *et al.*, 2016). Na základě těchto zjištění lze u dětí alergických matek zavést preventivní nebo léčebná opatření, která by buď mohla přispět k mírnějším klinickým projevům alergií, nebo jejich rozvoj zastavit. Pozitivní vliv z hlediska prevence rozvoje alergií má i podle nedávných studií kojení (Sprenger *et al.*, 2017). Řada autorů dále poukázala na to, že podávání probiotických doplňků může proces kolonizace mikrobiotou pozitivně ovlivnit a přispět tak ke správnému vývoji imunitního systému, a to včetně indukce T_{reg} (Kim *et al*., 2014; Stefka *et al*., 2014; Liu *et al.*, 2016; Tan *et al*., 2016; Berni Canani *et al.*, 2016). Z hlediska prevence vniku alergických onemocnění se rovněž zdá být důležitá strava pestrá na potenciální alergeny jak u matky během těhotenství, tak i v raném věku dítěte (Roduit *et al.*, 2014; Lluis *et al.*, 2014; Loo *et al.*, 2017).

SAIT pak může prostřednictvím indukce subpopulací iT_{reg} a vhodného cytokinového prostředí přispívat i ke zvýšení množství nT_{reg} a zlepšení stavu alergického onemocnění (Böhm *et al*., 2015; Qamar *et al*., 2015).

6. Alergická onemocnění a indukované T regulační buňky

Subpopulace iT_{reg} se od nT_{reg} odlišuje v několika ohledech, ať už se jedná proporční zastoupení v organismu, způsob vzniku, fenotyp nebo roli při SAIT. Oproti nT_{reg}, které se alespoň na základě současných studií zdájí být fenotypově koherentní, představují iT_{reg} relativně heterogenní buněčnou populaci. Ačkoli je transkripční faktor FoxP3 považován za jeden z hlavních molekulových znaků $CD4^+$ T_{reg}, existují v rámci iT_{reg} subpopulace, které FoxP3 neprodukují, a přesto regulační funkce zastávají (Vieira *et al.,* 2004).

6.1 Vznik a vývoj $FoxP3^+$ indukovaných T regulačních buněk

$FoxP3^+$ iT_{reg} se vyvíjejí mimo prostředí thymu, a to v sekundárních lymfatických tkáních z naivních $CD4^+CD25^-$ T lymfocytů. Pro vznik $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ iT_{reg} a následnou proliferaci je nezbytná vysokoafinitní interakce TCR receptorů s prezentovanými antigeny vnějšího prostředí a přítomnost cytokinů TGF-β a IL-10, které sekretují APC. (Walker *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2003; Davidson *et al.*, 2007; Coombes *et al*., 2007; Schlenner *et al.*, 2012). Takto získají $FoxP3^+$ iT_{reg} schopnost regulovat zejména imunitní odpověď vyvolanou danými exoantigeny a ustanovovat tak homeostázi na slizniční tkáni (Curotto de Lafaille *et al.*, 2008). Indukce proliferace této buněčné subpopulace proto neprobíhá nepřetržitě, jako je tomu u nT_{reg}. K jejich největší koncentraci dochází v místech, kudy se exoantigeny do organismu dostávají nejčastěji, typicky jde o sliznice dýchacích cest a gastrointestinálního traktu. Proto se na indukci a tkáňové specificitě $FoxP3^+$ iT_{reg} v daném místě zásadně podílí i mikrobiota (Coombes *et al*., 2007; Sun *et al*., 2007; Arpaia *et al*., 2013; Furusawa *et al*., 2013), vůči které iT_{reg} rovněž toleranci udržují (Josefowicz *et al*., 2012). Jedním z charakteristických znaků $FoxP3^+$ iT_{reg} je epigenetická modifikace TSDR regionu, respektive jeho nižší demethylace oproti nT_{reg}. To sice této subpopulaci dává vyšší míru plasticity, na druhou stranu nepříznivým způsobem ovlivňuje její stabilitu, neboť mohou produkci transkripčního faktoru FoxP3 ztratit (Floess *et al*, 2007; Zheng *et al*., 2010; Kim *et al.,* 2012). Pokud ke ztrátě exprese genu *foxp3* dojde, promění se na T_h2-like-cells a začnou sekretovat cytokiny typické pro T_h2 (Jin *et al.*, 2013).

6.2 Role $FoxP3^+$ indukovaných T regulačních buněk při alergických onemocněních

Subpopulace nT_{reg} i iT_{reg} jsou v organismu současně lokalizovány ve stejných tkáních, na základě čehož lze tedy předpokládat, že se jejich funkce mohou vzájemně doplňovat nebo překrývat (Haribhai *et al.*, 2011; Huang *et al.*, 2014). Role nT_{reg} při ustanovení tolerance vůči cizorodým antigenům byla popsána řadou autorů. Většina se nicméně shoduje, že hlavními regulátory rozvoje T_h2

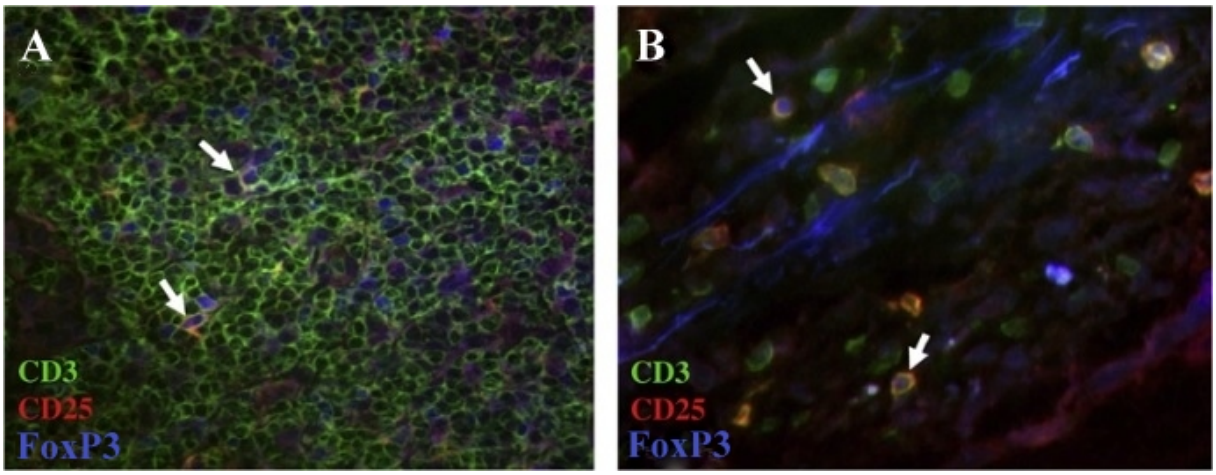
buněčné reakce v odpovědi na cizorodé antigeny jsou právě subpopulace iT_{reg} (Curotto de Lafaille *et al.*, 2008; Huang *et al*., 2013).

Jedněmi z nejčastějších alergií jsou potravinové alergie. V ústní dutině zdravých jedinců je vůči potravinovým antigenům prostřednictvím iT_{reg} a $CD103^+$ DCs, udržována tzv. orální tolerance, která zajišťuje, že přítomnost antigenu nevede k rozvoji T_h2 imunitní odpovědi (Esterházy *et al.*, 2016). Orální tolerance vůči danému antigenu ovšem vzniká v intestinálním prostředí. Antigeny z intestinálního lumen jsou zachytávány pomocí výběžků $CX3CR1^+$ makrofágů a skrze skulinové spoje předávány $CD103^+$ DCs. $CD103^+$ DCs následně migrují ze střev do lymfatických tkání, kde daný antigen prezentují $CD4^+CD25^-$ T lymfocytům (Worbs *et al.*, 2006; Mazzini *et al.*, 2014). $CD4^+CD25^-$ T lymfocyty jsou následně v přítomnosti IL-10 a TGF-β konvertovány na $FoxP3^+$ iT_{reg}, jejichž akumulace ve sliznici ústní dutiny nastolí orální toleranci. U alergických jedinců k indukci proliferace $FoxP3^+$ iT_{reg} v dostatečné míře nedochází a jejich nízká hladina nedokáže orální toleranci efektivně zajistit (Dang *et al.*, 2016).

V případě neškodných antigenů vnějšího prostředí, které pronikají do organismu dýchacími cestami, probíhá mechanismus obdobně. Ve slizniční tkáni zdravých jedinců jsou antigeny fagocytovány plicními $CD103^+$ DCs, jejichž množství se v přítomnosti antigenu zvyšuje. $CD103^+$ DCs následně migrují k hrudním lymfatickým uzlinám a v závislosti na TGF-β a kyselině retinové indukují vznik $FoxP3^+$ iT_{reg}. Jejich následná akumulace ve slizniční tkáni a plicích reguluje T_h2 imunitní odpověď (Josefowicz *et al.*, 2012; Khare *et al*., 2013). Na indukci $FoxP3^+$ iT_{reg} se podílejí i makrofágy (Soroosh *et al.*, 2013), nicméně jejich migraci do lymfatických uzlin spolu s $CD103^+$ DCs někteří autoři zpochybňují (Khare *et al.*, 2013).

6.3 Imunoterapie a $FoxP3^+$ indukovanéT regulační buňky

U alergických jedinců vede SAIT ke zvýšení $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ iT_{reg}, následné inhibici T_h2 buněčné odpovědi a zlepšení, případně úplnému vymizení klinických příznaků alergických onemocněních (Radulovic *et al.*, 2008; Syed *et al.*, 2014). Regulační efekt $FoxP3^+$ buněk při imunoterapii dokládá i studie provedená na myším modelu, kdy odstranění epikutánně indukovaných $FoxP3^+$ iT_{reg} vedlo k opětovné senzibilizaci. Tato studie rovněž popsala léčebný efekt přenosem $FoxP3^+$ buněk z již desenzibilizovaného jedince, který přispěl k *de novo* indukci T_{reg} u recipientní myši (Mondoulet *et al.*, 2015).



Obrázek 2: Tkáňová biopsie pacientů po podstoupení specifické alergenové imunoterapie, SAIT. Molekula CD3 zobrazena zeleně, molekula CD25 červeně a transkripční faktor FoxP3 modře. Obrázek (A) představuje vzorek získaný biopsií krčních mandlí, obrázek (B) vzorek nosní sliznice. Pomocí imunofluorescenčního zobrazení lze pozorovat vysoké proporcionální zastoupení $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ indukovaných regulačních T buněk, $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ iT_{reg}, k jejichž navýšení došlo pomocí specifické alergenové imunoterapie (převzato a upraveno z Radulovic *et al*, 2008).

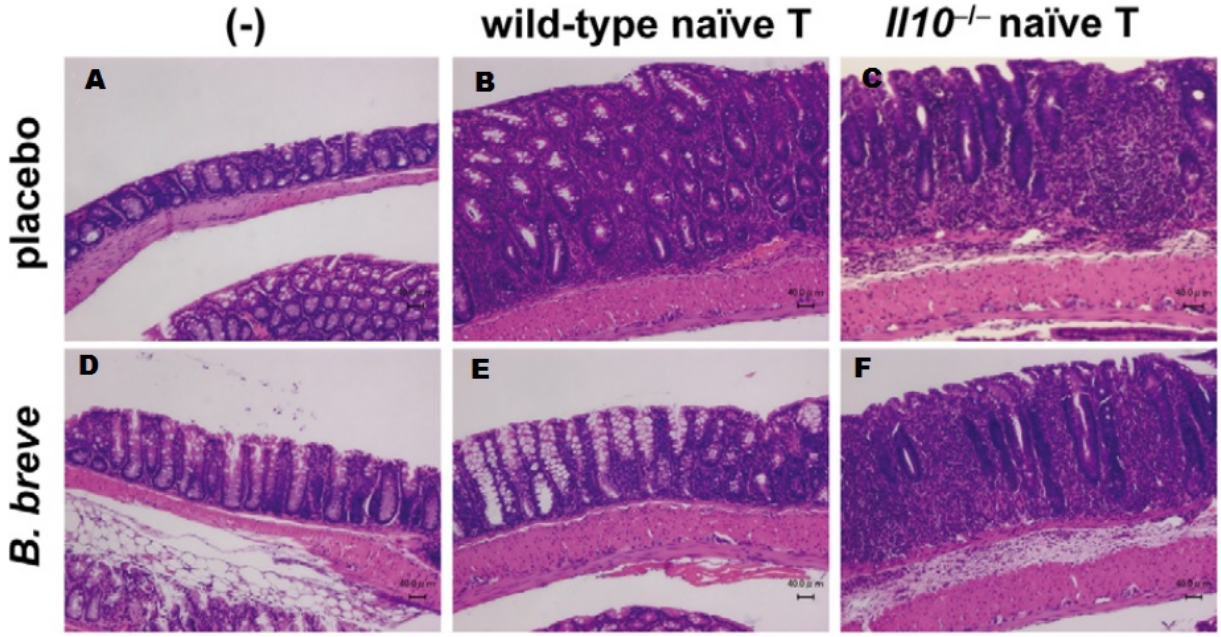
6.4 T_r1 indukované regulační buňky

T_r1 regulační buňky vznikají podobně jako $FoxP3^+$ iT_{reg} v periferních tkáních po setkání s antigenem. Hlavním rozdíl spočívá v tom, že T_r1 neexprimují gen *foxp3*. Na indukci T_r1 subpopulace se podílejí DCs prostřednictvím sekrece cytokinů IL-10, IL-6 a IL-27 a charakteristickou vlastností T_r1 je vysoká míra sekrece protizánětlivého cytokinu IL-10 a dále o něco nižší sekrece TGF-β, IFN-γ a IL-5 (Groux *et al.*, 1997; Vieira *et al*, 2004; Pot *et al.*, 2009; Gregori *et al.*, 2010). Imunomodulační schopnost T_r1 byla popsána u autoimunitních onemocnění, transplantací nebo při nádorových onemocněních (Battaglia *et al.*, 2006; Gianfrani *et al.*, 2006; Bergmann *et al.*, 2007).

Jejich hlavní role se však ukázala být nezastupitelná zejména z hlediska terapie alergických onemocnění a zánětlivých reakcí. T_r1 využívají různé regulační mechanismy, ať už založené například na přímém buněčném kontaktu prostřednictvím molekuly CTLA-4, interakce CD39/CD73, receptoru PD-1 nebo sekrece granzymu B a perforinu (Akdis *et al.*, 2004; Magnani *et al.*, 2011). Schopnost velice účinné regulace ovšem T_r1 buňkám uděluje právě ona vysoká míra sekrece IL-10 potlačující rozvoj T_h2 efektorové linie a dále schopnost indukce protizánětlivého imunoglobulinu IgG4 schopného kompetitivně blokovat IgE obsazováním epitopu alergenu (Groux *et al.,* 1997; Akdis *et al.,* 1998; Dodev *et al.*, 2015). Těmito mechanismy se podílejí na ustanovení imunitní tolerance vůči antigenům vnějšího prostředí (Akdis *et al.*, 2004; Reefer *et al.*, 2004; Meiler *et al.*, 2008; Volz *et al.*, 2014).

6.5 Imunoterapie a T_r1 indukované regulační buňky

SAIT vede u alergických pacientů k relativně rychlému zvýšení množství T_r1 a vysoké sekreci IL-10 i TGF-β a následné produkci IgG4 protilátek. To, vůči jakému konkrétnímu alergenu je imunoterapie indikována, nebo způsob, jakým byla podávána, se z hlediska indukce T_r1 buněk nezdá být relevantní. V důsledku zvýšené proliferace T_r1 buněk dojde u alergických pacientů k poklesu produkce T_h2 buněk a jejich cytokinů a s tím související změny na úrovni B lymfocytů a granulocytů (Akdis *et* al, 1998; Jutel *et al.*, 2003; Möbs *et al.*, 2012; Pellerin *et al.*, 2017). Vznik T_r1 může být rovněž indukován prostřednictvím nepatogenních, respektive probiotických bakteriálních kmenů, jejichž regulační aktivita vede k potlačení prozánětlivé imunitní reakce (Jeon *et al.*, 2012; Volz *et al.*, 2014). S ohledem na to tedy lze uvažovat, že podávání probiotik přispívajících ke vzniku T_r1 může být jednou z možností léčby alergických onemocnění.



Obrázek 3: Role podávaní probiotik při indukci T_r1 regulačních buněk ve střevní tkáni a zlepšení průběhu zánětlivé reakce. (A) – (C) kontrolní vzorky, (D) – (F) myši léčené probiotikem *Bifidobacterium breve (B. breve)*. Imunodeficientním myším (-) byly vpraveny $CD4^+$ T naivní buňky z wild-type nebo z *IL-10*$^-$ myší a po dobu 4 týdnů podávána probiotika *B. breve*. Na střevní tkáni (C) a (F) nelze pozorovat žádný rozdíl. To podle autorů studie dokládá schopnost *B. breve* navodit indukci T_r1 a regulaci zánětlivé reakce (převzato a upraveno z Jeon *et al*., 2012).

6.6 T_r1-like regulační buňky

T_r1-like buňky, některými autory rovněž označovány jako iT_r35, představují relativně nedávno objevenou subpopulaci T_{reg}. Jedním ze společných rysů s T_r1 je, že neexprimují gen *foxp3* a že sekretují vysoké dávky regulačního cytokinu. Zatímco v případě T_r1 je hlavním regulančím cytokinem IL-10, u subpopulace T_r1-like buněk se jedná o cytokin IL-35 (Collison *et al.,* 2007). IL-35 je rovněž nezbytný i pro samotný vznik této buněčné linie. Sekrece IL-35 byla popsána i u jiných subpopulací

T_{reg}, zejména u nT_{reg}, a proto jsou nT_{reg} hlavním induktorem konverze naivních T lymfocytů v T_r1-like subpopulaci. Na základě aktivace získají T_r1-like buňky schopnost IL-35 samy sekretovat (Collison *et al.*, 2010, 2012).

U alergických jedinců byla popsána snížená hladina subpopulace T_r1-like buněk, což s ohledem na způsob jejich vzniku pravděpodobně přímo souvisí i se sníženou hladinou dalších subpopulací T_{reg}. Z hlediska SAIT lze předpokládat, že by zvýšení počtu T_{reg} sekretujích IL-35 mohlo vést i ke zvýšení T_r1-like buněčné subpopulace. Díky specifické alergenové imunoterapii bylo u těchto pacientů pozorováno navýšení proporčního množství T_r1-like buněk a s tím spojená regulace T_h2 imunitní odpovědi (Shamji *et al.*, 2013).

6.7 T_h3 regulační buňky

T_h3 buňky vznikají stejně jako ostatní iT_{reg} v periferních tkáních po setkání s antigenem a podobně jako T_r1 nebo T_r1-like buňky neexprimují gen *foxp3*. Na rozdíl od ostatních subpopulací T_{reg} se T_h3 buňkám, respektive jejich roli při alergických onemocněních, zatím příliš pozornosti nedostalo. Charakteristickou vlastností T_h3 buněk je vysoká sekrece cytokinu TGF-β, který kromě imunomodulačních vlastností sehrává významnou roli i při indukci $FoxP3^+$ T_{reg} (Youhai-Chen *et al.,* 1994; Huber *et al.*, 2004). Tím se zásadním způsobem podílejí na ustanovení tolerance vůči cizorodým antigenům, a to zejména v kontextu orální tolerance (Carrier *et al.*, 2007). Jejich narušená funkčnost v důsledku snížené sekrece TGF-β tak přispívá zejména ke vzniku potravinových alergií (Pérez-Machado *et al.*, 2003; Marcondes Rezende *et al.*, 2011).

7. Závěr

Jednotlivé subpopulace T_{reg} se účastní většiny imunitních reakcí v organismu. Jejich funkcí je regulovat ostatní imunokompetentní buněčné linie, aby odpověď imunitního systému byla adekvátní a efektivní. T_{reg} tak představují nezastupitelnou složku zprostředkovávající fyziologický průběh imunitních reakcí. Změny v jejich proporčním množství a regulační aktivitě byly popsány u onkologických, autoimunitních nebo alergických onemocnění, stejně jako u řady dalších patofyziologických dějů.

Subpopulace nT_{reg} se vyvíjí v prostředí thymu a je nezbytná především z hlediska regulace proliferace autoreaktivních lymfocytů, které mají potenciál vyvolávat autoimunitní omenocnění. Dále moduluje imunitní odpověď při infekčních onemocněních a podílí se na ustanovení tolerance vůči komenzální mikrobiotě. Snížené proporční zastoupení a regulační aktivita nT_{reg} v pupečníkové krvi se ukázaly být prognostickým znakem poukazujícím na zvýšené riziko rozvoje alergických onemocnění. Na základě toho by bylo možné u jedinců, u kterých hrozí rozvoj alergií, zavést včasná preventivní a léčebná opatření přispívající k ustanovení mechanismu tolerance vůči neškodným antigenům vnějšího

prostředí a potravy. Takových výsledků bylo dosaženo podáváním probiotických doplňků, zejména pak pomocí SAIT.

Diferenciace iT_{reg} se uskutečňuje v sekundárních lymfatických tkáních po setkání s antigenem. Podle molekulových znaků, jakými jsou sekretované cytokiny nebo transkripční faktor FoxP3, lze iT_{reg} dělit na $FoxP3^+$, T_r1, T_r1-like a T_h3 iT_{reg}. Subpopulace iT_{reg} zajišťuje ustanovení mechanismu tolerance vůči nepatogenním antigenům na sliznicích gastrointestinálního a dýchacího systému, kde ke kontaktu s antigeny vnějšího prostředí a potravy dochází. V případě sníženého proporčního množství a regulační aktivity iT_{reg} není slizniční tolerance ustanovena a u takto postižených jedinců dochází k rozvoji alergického onemocnění. Jediná léčebná metoda, která vede až k úplné desenzibilizaci alergického pacienta, je SAIT, jejíž prostřednictvím dochází k proliferaci a správné supresivní aktivtě iT_{reg}. Nejlepší výsledky při léčbě pomocí SAIT lze pozorovat na subpopulaci T_r1.

Další studium T_{reg} rozšiřující poznatky o této buněčné populaci pomůže objasnit jednotlivé mechanismy, které stojí za rozvojem řady onemocnění, a mohlo by rovněž přispět k nalezení charakteristického molekulového znaku, jehož prostřednictvím by byla populace T_{reg} jednoznačně definována. Takový znak by mohl otevřít řadu terapeutických možností. Relativně jednoduchá identifikace T_{reg} prostřednictvím takového znaku by teoreticky umožnila zavedení transferu těchto buněk při léčbě alergií do klinické praxe, rovněž by umožnila specificky cílit protinádorovou terapii. Otázkou ovšem zůstává, zda takový znak skutečně existuje a T_{reg} netvoří pestrou fenotypovou mozaiku znaků, které jsou společné i jiným imunokompetentním buňkám, jak ji známe dnes.

Seznam použité literatury

1. Abbas, A. K., Benoist, C., Bluestone, J. A., Campbell, D. J., Ghosh, S., Hori, S., ... & Rudensky, A. (2013). Regulatory T cells: recommendations to simplify the nomenclature. Nature immunology, 14(4), 307-308.

2. Akbari, O., Freeman, G.J., Meyer, E.H., Greenfield, E.A., Chang, T.T., Sharpe, A.H., Berry, G., DeKruyff, R.H., and Umetsu, D.T. (2002). Antigen-specific regulatory T cells develop via the ICOS?ICOS-ligand pathway and inhibit allergen-induced airway hyperreactivity. Nature Medicine *8*, 1024.

3. Akdis, C. A., Blesken, T., Akdis, M., Wüthrich, B., & Blaser, K. (1998). Role of interleukin 10 in specific immunotherapy. *Journal of Clinical Investigation*, *102*(1), 98.

4. Akdis, M., Verhagen, J., Taylor, A., Karamloo, F., Karagiannidis, C., Crameri, R., Thunberg, S., Deniz, G., Valenta, R., Fiebig, H., et al. (2004). Immune Responses in Healthy and Allergic Individuals Are Characterized by a Fine Balance between Allergen-specific T Regulatory 1 and T Helper 2 Cells. J Exp Med *199*, 1567–1575.

5. Akimova, T., Beier, U.H., Wang, L., Levine, M.H., and Hancock, W.W. (2011). Helios Expression Is a Marker of T Cell Activation and Proliferation. PLoS One *6*.

6. Allan, S.E., Crome, S.Q., Crellin, N.K., Passerini, L., Steiner, T.S., Bacchetta, R., Roncarolo, M.G., and Levings, M.K. (2007). Activation-induced FOXP3 in human T effector cells does not suppress proliferation or cytokine production. Int Immunol *19*, 345–354.

7. Almeida, A.R.M., Amado, I.F., Reynolds, J., Berges, J., Lythe, G., Molina-París, C., and Freitas, A.A. (2012). Quorum-Sensing in CD4+ T Cell Homeostasis: A Hypothesis and a Model. Front Immunol *3*.

8. Amado, I.F., Berges, J., Luther, R.J., Mailhé, M.-P., Garcia, S., Bandeira, A., Weaver, C., Liston, A., and Freitas, A.A. (2013). IL-2 coordinates IL-2–producing and regulatory T cell interplay. J Exp Med *210*, 2707–2720.

9. Antony, P.A., Piccirillo, C.A., Akpinarli, A., Finkelstein, S.E., Speiss, P.J., Surman, D.R., Palmer, D.C., Chan, C.-C., Klebanoff, C.A., Overwijk, W.W., et al. (2005). CD8+ T cell immunity against a tumor/self-antigen is augmented by CD4 T helper cells and hindered by naturally occurring T regulatory cells. J Immunol *174*, 2591–2601.

10. Arpaia, N., Campbell, C., Fan, X., Dikiy, S., van der Veeken, J., deRoos, P., Liu, H., Cross, J.R., Pfeffer, K., Coffer, P.J., et al. (2013). Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T cell generation. Nature *504*, 451–455.

11. Arpaia, N., Green, J.A., Moltedo, B., Arvey, A., Hemmers, S., Yuan, S., Treuting, P.M., and Rudensky, A.Y. (2015). A Distinct Function of Regulatory T Cells in Tissue Protection. Cell *162*, 1078–1089.

12. Asseman, C., Mauze, S., Leach, M. W., Coffman, R. L., & Powrie, F. (1999). An essential role for interleukin 10 in the function of regulatory T cells that inhibit intestinal inflammation. *Journal of Experimental Medicine*, *190*(7), 995-1004.

13. Baecher-Allan, C., Brown, J.A., Freeman, G.J., and Hafler, D.A. (2001). CD4+CD25high Regulatory Cells in Human Peripheral Blood. The Journal of Immunology *167*, 1245–1253.

14. Baine, I., Basu, S., Ames, R., Sellers, R.S., and Macian, F. (2013). Helios induces epigenetic silencing of Il2 gene expression in regulatory T cells. J Immunol *190*, 1008–1016.

15. Barrat, F.J., Cua, D.J., Boonstra, A., Richards, D.F., Crain, C., Savelkoul, H.F., de Waal-Malefyt, R., Coffman, R.L., Hawrylowicz, C.M., and O'Garra, A. (2002). In Vitro Generation of Interleukin 10–producing Regulatory CD4+ T Cells Is Induced by Immunosuppressive Drugs and Inhibited by T Helper Type 1 (Th1)– and Th2-inducing Cytokines. J Exp Med *195*, 603–616.

16. Battaglia, M., Stabilini, A., Draghici, E., Gregori, S., Mocchetti, C., Bonifacio, E., and Roncarolo, M.-G. (2006). Rapamycin and Interleukin-10 Treatment Induces T Regulatory Type 1 Cells That Mediate Antigen-Specific Transplantation Tolerance. Diabetes *55*, 40–49.

17. Bayer, A.L., Yu, A., and Malek, T.R. (2007). Function of the IL-2R for Thymic and Peripheral CD4+CD25+ Foxp3+ T Regulatory Cells. The Journal of Immunology *178*, 4062–4071.

18. Beck, L.A., Thaçi, D., Hamilton, J.D., Graham, N.M., Bieber, T., Rocklin, R., Ming, J.E., Ren, H., Kao, R., Simpson, E., et al. (2014). Dupilumab treatment in adults with moderate-to-severe atopic dermatitis. N. Engl. J. Med. *371*, 130–139.

19. Belkaid, Y., Piccirillo, C.A., Mendez, S., Shevach, E.M., and Sacks, D.L. (2002). CD4+CD25+ regulatory T cells control Leishmania major persistence and immunity. Nature *420*, 502–507.

20. Bennett, C. l. (1), Chance, P. f. (1), Christie, J.(2), Ochs, H. d. (2), Ramsdell, F.(3), Brunkow, M. e. (3), Ferguson, P. j. (4), Whitesell, L.(5), Kelly, T. e. (6), and Saulsbury, F. t. (6) (2001). The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. Nature Genetics *27*, 20–21.

21. Bergmann, C., Strauss, L., Zeidler, R., Lang, S., and Whiteside, T.L. (2007). Expansion and characteristics of human T regulatory type 1 cells in co-cultures simulating tumor microenvironment. Cancer Immunology, Immunotherapy: CII *56*, 1429–1442.

22. Berni Canani, R., Sangwan, N., Stefka, A.T., Nocerino, R., Paparo, L., Aitoro, R., Calignano, A., Khan, A.A., Gilbert, J.A., and Nagler, C.R. (2016). Lactobacillus rhamnosus GG-supplemented formula expands butyrate-producing bacterial strains in food allergic infants. ISME J *10*, 742–750.

23. Bianchini, R., Bistoni, O., Alunno, A., Petrillo, M.G., Ronchetti, S., Sportoletti, P., Bocci, E.B., Nocentini, G., Gerli, R., and Riccardi, C. (2011). CD4+CD25lowGITR+ cells: A novel human CD4+ T-cell population with regulatory activity. Eur. J. Immunol. *41*, 2269–2278.

24. Bogunovic, M., Ginhoux, F., Helft, J., Shang, L., Hashimoto, D., Greter, M., ... & Stanley, E. R. (2009). Origin of the lamina propria dendritic cell network. *Immunity*, *31*(3), 513-525.

25. Böhm, L., Maxeiner, J., Meyer-Martin, H., Reuter, S., Finotto, S., Klein, M., Schild, H., Schmitt, E., Bopp, T., and Taube, C. (2015). IL-10 and Regulatory T Cells Cooperate in Allergen-Specific Immunotherapy To Ameliorate Allergic Asthma. The Journal of Immunology *194*, 887–897.

26. Bopp, T., Becker, C., Klein, M., Klein-Hessling, S., Palmetshofer, A., Serfling, E., Heib, V., Becker, M., Kubach, J., Schmitt, S., et al. (2007). Cyclic adenosine monophosphate is a key component of regulatory T cell-mediated suppression. J. Exp. Med. *204*, 1303–1310.

27. Brandão, H.V., Vieira, G.O., de Oliveira Vieira, T., Camargos, P.A., de Souza Teles, C.A., Guimarães, A.C., Cruz, A.A., and Cruz, C.M.S. (2016). Increased risk of allergic rhinitis among children delivered by cesarean section: a cross-sectional study nested in a birth cohort. BMC Pediatrics *16*, 57.

28. Bruder, D., Probst-Kepper, M., Westendorf, A.M., Geffers, R., Beissert, S., Loser, K., von Boehmer, H., Buer, J., and Hansen, W. (2004). Frontline: Neuropilin-1: a surface marker of regulatory T cells. Eur. J. Immunol. *34*, 623–630.

29. Brunkow, M.E., Jeffery, E.W., Hjerrild, K.A., Paeper, B., Clark, L.B., Yasayko, S.-A., Wilkinson, J.E., Galas, D., Ziegler, S.F., and Ramsdell, F. (2001). Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurfin, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. Nature Genetics *27*, 68.

30. Bullens, D.M.A., Seys, S., Kasran, A., Dilissen, E., Dupont, L.J., and Ceuppens, J.L. (2015). Low cord blood Foxp3/CD3γ mRNA ratios: a marker of increased risk for allergy development. Clin. Exp. Allergy *45*, 232–237.

31. Burrows, K.E., Dumont, C., Thompson, C.L., Catley, M.C., Dixon, K.L., and Marshall, D. (2015). OX40 blockade inhibits house dust mite driven allergic lung inflammation in mice and in vitro allergic responses in humans. Eur. J. Immunol. *45*, 1116–1128.

32. Burton, O.T., Noval Rivas, M., Zhou, J.S., Logsdon, S.L., Darling, A.R., Koleoglou, K.J., Roers, A., Houshyar, H., Crackower, M.A., Chatila, T.A., et al. (2014). Immunoglobulin E Signal Inhibition during Allergen Ingestion Leads to Reversal of Established Food Allergy and Induction of Regulatory T Cells. Immunity *41*, 141–151.

33. Busse, W., Corren, J., Lanier, B.Q., McAlary, M., Fowler-Taylor, A., Cioppa, G.D., van As, A., and Gupta, N. (2001). Omalizumab, anti-IgE recombinant humanized monoclonal antibody, for the treatment of severe allergic asthma. J. Allergy Clin. Immunol. *108*, 184–190.

34. Caramalho, I., Nunes-Silva, V., Pires, A.R., Mota, C., Pinto, A.I., Nunes-Cabaço, H., Foxall, R.B., and Sousa, A.E. (2015). Human regulatory T-cell development is dictated by Interleukin-2 and -15 expressed in a non-overlapping pattern in the thymus. J. Autoimmun. *56*, 98–110.

35. Carrier, Y., Yuan, J., Kuchroo, V.K., and Weiner, H.L. (2007). Th3 Cells in Peripheral Tolerance. I. Induction of Foxp3-Positive Regulatory T Cells by Th3 Cells Derived from TGF-β T Cell-Transgenic Mice. The Journal of Immunology *178*, 179–185.

36. Carrier, Y., Whitters, M.J., Miyashiro, J.S., LaBranche, T.P., Ramon, H.E., Benoit, S.E., Ryan, M.S., Keegan, S.P., Guay, H., Douhan, J., et al. (2012). Enhanced GITR/GITRL interactions augment IL-27 expression and induce IL-10-producing Tr-1 like cells. Eur. J. Immunol. *42*, 1393–1404.

37. Cebula, A., Seweryn, M., Rempala, G.A., Pabla, S.S., McIndoe, R.A., Denning, T.L., Bry, L., Kraj, P., Kisielow, P., and Ignatowicz, L. (2013). Thymus-derived regulatory T cells contribute to tolerance to commensal microbiota. Nature *497*, 258–262.

38. Chaudhry, A., Rudra, D., Treuting, P., Samstein, R.M., Liang, Y., Kas, A., and Rudensky, A.Y. (2009). CD4+ regulatory T cells control TH17 responses in a Stat3-dependent manner. Science *326*, 986–991.

39. Chen, M. L., Yan, B. S., Bando, Y., Kuchroo, V. K., & Weiner, H. L. (2008). Latency-associated peptide identifies a novel CD4+ CD25+ regulatory T cell subset with TGFβ-mediated function and enhanced suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis. The Journal of Immunology, 180(11), 7327-7337.

40. Chen, W., Jin, W., Hardegen, N., Lei, K., Li, L., Marinos, N., McGrady, G., and Wahl, S.M. (2003). Conversion of Peripheral CD4+CD25− Naive T Cells to CD4+CD25+ Regulatory T Cells by TGF-β Induction of Transcription Factor Foxp3. Journal of Experimental Medicine *198*, 1875–1886.

41. Chiu, C.-Y., Huang, S.-Y., Peng, Y.-C., Tsai, M.-H., Hua, M.-C., Yao, T.-C., Yeh, K.-W., and Huang, J.-L. (2015). Maternal vitamin D levels are inversely related to allergic sensitization and atopic diseases in early childhood. Pediatric Allergy & Immunology *26*, 337–343.

42. Collison, L.W., Workman, C.J., Kuo, T.T., Boyd, K., Wang, Y., Vignali, K.M., Cross, R., Sehy, D., Blumberg, R.S., and Vignali, D.A.A. (2007). The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function. Nature *450*, 566–569.

43. Collison, L.W., Chaturvedi, V., Henderson, A.L., Giacomin, P.R., Guy, C., Bankoti, J., Finkelstein, D., Forbes, K., Workman, C.J., Brown, S.A., et al. (2010). Interleukin-35-mediated induction of a novel regulatory T cell population. Nat Immunol *11*, 1093–1101.

44. Collison, L.W., Delgoffe, G.M., Guy, C.S., Vignali, K.M., Chaturvedi, V., Fairweather, D., Satoskar, A.R., Garcia, K.C., Hunter, C.A., Drake, C.G., et al. (2012). The composition and signaling of the IL-35 receptor are unconventional. Nat Immunol *13*, 290–299.

45. Coombes, J.L., Siddiqui, K.R.R., Arancibia-Cárcamo, C.V., Hall, J., Sun, C.-M., Belkaid, Y., and Powrie, F. (2007). A functionally specialized population of mucosal CD103+ DCs induces Foxp3+ regulatory T cells via a TGF-β– and retinoic acid–dependent mechanism. J Exp Med *204*, 1757–1764.

46. Curotto de Lafaille, M.A., Muriglan, S., Sunshine, M.J., Lei, Y., Kutchukhidze, N., Furtado, G.C., Wensky, A.K., Olivares-Villagómez, D., and Lafaille, J.J. (2001). Hyper immunoglobulin E response in mice with monoclonal populations of B and T lymphocytes. J. Exp. Med. *194*, 1349–1359.

47. Curotto de Lafaille, M.A., Kutchukhidze, N., Shen, S., Ding, Y., Yee, H., and Lafaille, J.J. (2008). Adaptive Foxp3+ regulatory T cell-dependent and -independent control of allergic inflammation. Immunity *29*, 114–126.

48. Dang, T.D., Allen, K.J., J. Martino, D., Koplin, J.J., Licciardi, P.V., and Tang, M.L.K. (2016). Food-allergic infants have impaired regulatory T-cell responses following in vivo allergen exposure. Pediatric Allergy & Immunology *27*, 35–43.

49. Das, R., Verma, R., Sznol, M., Boddupalli, C. S., Gettinger, S. N., Kluger, H., ... & Dhodapkar, K. M. (2015). Combination therapy with anti–CTLA-4 and anti–PD-1 leads to distinct immunologic changes in vivo. The Journal of Immunology, 194(3), 950-959.

50. Davidson, T.S., DiPaolo, R.J., Andersson, J., and Shevach, E.M. (2007). Cutting Edge: IL-2 Is Essential for TGF-β-Mediated Induction of Foxp3$^+$ T Regulatory Cells. The Journal of Immunology *178*, 4022–4026.

51. De Boever, E.H., Ashman, C., Cahn, A.P., Locantore, N.W., Overend, P., Pouliquen, I.J., Serone, A.P., Wright, T.J., Jenkins, M.M., Panesar, I.S., et al. (2014). Efficacy and safety of an anti–IL-13 mAb in patients with severe asthma: A randomized trial. Journal of Allergy and Clinical Immunology *133*, 989–996.e4.

52. Deaglio, S., Dwyer, K.M., Gao, W., Friedman, D., Usheva, A., Erat, A., Chen, J.-F., Enjyoji, K., Linden, J., Oukka, M., et al. (2007). Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression. J. Exp. Med. *204*, 1257–1265.

53. Delgoffe, G., Woo, S., Turnis, M., Gravano, D., Guy, C., Overacre, A., Bettini, M., Vogel, P., Finkelstein, D., Bonnevier, J., et al. (2013). Stability and function of regulatory T cells is maintained by a neuropilin-1-semaphorin-4a axis. NATURE *501*, 252–+.

54. Dodev, T. S., Bowen, H., Shamji, M. H., Bax, H. J., Beavil, A. J., McDonnell, J. M., ... & James, L. K. (2015). Inhibition of allergen-dependent IgE activity by antibodies of the same specificity but different class. Allergy, 70(6), 720-724.

55. Durham, S. R., Walker, S. M., Varga, E. M., Jacobson, M. R., O'Brien, F., Noble, W., ... & Nouri-Aria, K. T. (1999). Long-term clinical efficacy of grass-pollen immunotherapy. *New England Journal of Medicine*, *341*(7), 468-475.

56. Ebrahimi, M., Gharagozlou, M., Mohebbi, A., Hafezi, N., Azizi, G., and Movahedi, M. (2017). The Efficacy of Oral Immunotherapy in Patients with Cow's Milk Allergy. Iranian Journal of Allergy, Asthma & Immunology *16*, 183–192.

57. Elkord, E., Abd Al Samid, M., and Chaudhary, B. (2015). Helios, and not FoxP3, is the marker of activated Tregs expressing GARP/LAP. Oncotarget *6*, 20026–20036.

58. Esterházy, D., Loschko, J., London, M., Jove, V., Oliveira, T.Y., and Mucida, D. (2016). Classical dendritic cells are required for dietary antigen-mediated peripheral regulatory T cell and tolerance induction. Nat Immunol *17*, 545–555.

59. Fassbender, M., Gerlitzki, B., Ullrich, N., Lupp, C., Klein, M., Radsak, M.P., Schmitt, E., Bopp, T., and Schild, H. (2010). Cyclic adenosine monophosphate and IL-10 coordinately contribute to nTreg cell-mediated suppression of dendritic cell activation. Cell. Immunol. *265*, 91–96.

60. Floess, S., Freyer, J., Siewert, C., Baron, U., Olek, S., Polansky, J., Schlawe, K., Chang, H.-D., Bopp, T., Schmitt, E., et al. (2007). Epigenetic Control of the foxp3 Locus in Regulatory T Cells. PLoS Biol *5*.

61. Fontenot, J.D., Gavin, M.A., and Rudensky, A.Y. (2003). Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. Nature Immunology *4*, 330–336.

62. Francisco, L. M., Salinas, V. H., Brown, K. E., Vanguri, V. K., Freeman, G. J., Kuchroo, V. K., & Sharpe, A. H. (2009). PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells. Journal of Experimental Medicine, 206(13), 3015-3029.

63. Freeman, G. J., Long, A. J., Iwai, Y., Bourque, K., Chernova, T., Nishimura, H., ... & Horton, H. F. (2000). Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. Journal of Experimental Medicine, 192(7), 1027-1034.

64. Fu, Y., Lou, H., Wang, C., Lou, W., Wang, Y., Zheng, T., and Zhang, L. (2013). T cell subsets in cord blood are influenced by maternal allergy and associated with atopic dermatitis. Pediatr Allergy Immunol *24*, 178–186.

65. Fukuoka, A., Matsushita, K., Morikawa, T., Takano, H., & Yoshimoto, T. (2016). Diesel exhaust particles exacerbate allergic rhinitis in mice by disrupting the nasal epithelial barrier. *Clinical & Experimental Allergy*, *46*(1), 142-152.

66. Furusawa, Y., Obata, Y., Fukuda, S., Endo, T.A., Nakato, G., Takahashi, D., Nakanishi, Y., Uetake, C., Kato, K., Kato, T., et al. (2013). Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. Nature *504*, 446–450.

67. Gershon, R.K., and Kondo, K. (1970). Cell interactions in the induction of tolerance: the role of thymic lymphocytes. Immunology *18*, 723–737.

68. Ghiringhelli, F., Ménard, C., Terme, M., Flament, C., Taieb, J., Chaput, N., Puig, P.E., Novault, S., Escudier, B., Vivier, E., et al. (2005). CD4+CD25+ regulatory T cells inhibit natural killer cell functions in a transforming growth factor-beta-dependent manner. J. Exp. Med. *202*, 1075–1085.

69. Gianfrani, C., Levings, M.K., Sartirana, C., Mazzarella, G., Barba, G., Zanzi, D., Camarca, A., Iaquinto, G., Giardullo, N., Auricchio, S., et al. (2006). Gliadin-Specific Type 1 Regulatory T Cells from the Intestinal Mucosa of Treated Celiac Patients Inhibit Pathogenic T Cells. The Journal of Immunology *177*, 4178–4186.

70. Giavi, S., Vissers, Y.M., Muraro, A., Lauener, R., Konstantinopoulos, A.P., Mercenier, A., Wermeille, A., Lazzarotto, F., Frei, R., Bonaguro, R., et al. (2016). Oral immunotherapy with low allergenic hydrolysed egg in egg allergic children. Allergy *71*, 1575–1584.

71. Gondek, D.C., Lu, L.-F., Quezada, S.A., Sakaguchi, S., and Noelle, R.J. (2005). Cutting edge: contact-mediated suppression by CD4+CD25+ regulatory cells involves a granzyme B-dependent, perforin-independent mechanism. J. Immunol. *174*, 1783–1786.

72. Gottschalk, R.A., Corse, E., and Allison, J.P. (2012). Expression of Helios in Peripherally Induced Foxp3+ Regulatory T Cells. The Journal of Immunology *188*, 976–980.

73. Gregori, S., Tomasoni, D., Pacciani, V., Scirpoli, M., Battaglia, M., Magnani, C.F., Hauben, E., and Roncarolo, M.-G. (2010). Differentiation of type 1 T regulatory cells (Tr1) by tolerogenic DC-10 requires the IL-10–dependent ILT4/HLA-G pathway. Blood *116*, 935–944.

74. Gregory, L.G., Jones, C.P., Walker, S.A., Sawant, D., Gowers, K.H.C., Campbell, G.A., McKenzie, A.N.J., and Lloyd, C.M. (2013). IL-25 drives remodelling in allergic airways disease induced by house dust mite. Thorax *68*, 82–90.

75. Gri, G., Piconese, S., Frossi, B., Manfroi, V., Merluzzi, S., Tripodo, C., Viola, A., Odom, S., Rivera, J., Colombo, M.P., et al. (2008). CD4+CD25+ regulatory T cells suppress mast cell degranulation and allergic responses through OX40-OX40L interaction. Immunity *29*, 771–781.

76. Grindebacke, H., Wing, K., Andersson, A.-C., Suri-Payer, E., Rak, S., and Rudin, A. (2004). Defective suppression of Th2 cytokines by CD4+CD25+ regulatory T cells in birch allergics during birch pollen season. Clinical & Experimental Allergy *34*, 1364–1372.

77. Grossman, W.J., Verbsky, J.W., Barchet, W., Colonna, M., Atkinson, J.P., and Ley, T.J. (2004). Human T regulatory cells can use the perforin pathway to cause autologous target cell death. Immunity *21*, 589–601.

78. Groux, H., O'Garra, A., Bigler, M., Rouleau, M., Antonenko, S., de Vries, J.E., and Roncarolo, M.G. (1997). A CD4+ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. Nature *389*, 737–742.

79. *Haahtela, T.(1), von Hertzen, L.(1), Mäkelä, M. j. (1), Laatikainen, T.(2, 3), Jousilahti, P.(2), Vartiainen, E.(2), Alenius, H.(4), Fyhrquist, N.(4), Auvinen, P.(5), Hanski, I.(6), et al. (2015). Hunt for the origin of allergy - comparing the Finnish and Russian Karelia. Clinical and Experimental Allergy *45*, 891–901.

80. Halim, T. Y., Steer, C. A., Mathä, L., Gold, M. J., Martinez-Gonzalez, I., McNagny, K. M., ... & Takei, F. (2014). Group 2 innate lymphoid cells are critical for the initiation of adaptive T helper 2 cell-mediated allergic lung inflammation. Immunity, 40(3), 425-435.

81. Hansmann, L., Schmidl, C., Kett, J., Steger, L., Andreesen, R., Hoffmann, P., Rehli, M., and Edinger, M. (2012). Dominant Th2 Differentiation of Human Regulatory T Cells upon Loss of FOXP3 Expression. The Journal of Immunology *188*, 1275–1282.

82. Haribhai, D., Williams, J.B., Jia, S., Nickerson, D., Schmitt, E.G., Edwards, B., Ziegelbauer, J., Yassai, M., Li, S.-H., Relland, L.M., et al. (2011). A Requisite Role for Induced Regulatory T cells in Tolerance Based on Expanding Antigen Receptor Diversity. Immunity *35*, 109–122.

83. Hartigan-O'Connor, D.J., Poon, C., Sinclair, E., and McCune, J.M. (2007). Human CD4+ regulatory T cells express lower levels of the IL-7 receptor alpha chain (CD127), allowing consistent identification and sorting of live cells. Journal of Immunological Methods *319*, 41–52.

84. Heath, V.L., Murphy, E.E., Crain, C., Tomlinson, M.G., and O'Garra, A. (2000). TGF-β1 down-regulates Th2 development and results in decreased IL-4-induced STAT6 activation and GATA-3 expression. Eur. J. Immunol. *30*, 2639–2649.

85. Herbst, R. S., Soria, J. C., Kowanetz, M., Fine, G. D., Hamid, O., Gordon, M. S., ... & Kohrt, H. E. (2014). Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. Nature, 515(7528), 563.

86. Hill, J.A., Feuerer, M., Tash, K., Haxhinasto, S., Perez, J., Melamed, R., Mathis, D., and Benoist, C. (2007). Foxp3 Transcription-Factor-Dependent and -Independent Regulation of the Regulatory T Cell Transcriptional Signature. Immunity *27*, 786–800.

87. Hinz, D., Simon, J.C., Maier-Simon, C., Milkova, L., Röder, S., Sack, U., Borte, M., Lehmann, I., and Herberth, G. (2010). Reduced maternal regulatory T cell numbers and increased T helper type 2 cytokine production are associated with elevated levels of immunoglobulin E in cord blood. Clin. Exp. Allergy *40*, 419–426.

88. Hinz, D., Bauer, M., Röder, S., Olek, S., Huehn, J., Sack, U., Borte, M., Simon, J.C., Lehmann, I., Herberth, G., et al. (2012). Cord blood Tregs with stable FOXP3 expression are influenced by prenatal environment and associated with atopic dermatitis at the age of one year. Allergy *67*, 380–389.

89. Horai, R., Zárate-Bladés, C. R., Dillenburg-Pilla, P., Chen, J., Kielczewski, J. L., Silver, P. B., ... & Caspi, R. R. (2015). Microbiota-dependent activation of an autoreactive T cell receptor provokes autoimmunity in an immunologically privileged site. *Immunity*, *43*(2), 343-353.

90. Hori, S., Nomura, T., and Sakaguchi, S. (2003). Control of Regulatory T Cell Development by the Transcription Factor Foxp3. Science 1057.

91. Huang, C.-H., Loo, E.X.-L., Kuo, I.-C., Soh, G.H., Goh, D.L.-M., Lee, B.W., and Chua, K.Y. (2011). Airway Inflammation and IgE Production Induced by Dust Mite Allergen-Specific Memory/Effector Th2 Cell Line Can Be Effectively Attenuated by IL-35. The Journal of Immunology *187*, 462–471.

92. Huang, H., Ma, Y., Dawicki, W., Zhang, X., and Gordon, J.R. (2013). Comparison of Induced versus Natural Regulatory T Cells of the Same TCR Specificity for Induction of Tolerance to an Environmental Antigen. The Journal of Immunology *191*, 1136–1143.

93. Huang, L., Chen, Q., Zhao, Y., Wang, W., Fang, F., and Bao, Y. (2015). Is elective cesarean section associated with a higher risk of asthma? A meta-analysis. Journal of Asthma *52*, 16–25.

94. Huang, Y.-J., Haist, V., Baumgärtner, W., Föhse, L., Prinz, I., Suerbaum, S., Floess, S., and Huehn, J. (2014). Induced and thymus-derived Foxp3+ regulatory T cells share a common niche. Eur. J. Immunol. *44*, 460–468.

95. Huber, S., Schramm, C., Lehr, H.A., Mann, A., Schmitt, S., Becker, C., Protschka, M., Galle, P.R., Neurath, M.F., and Blessing, M. (2004). Cutting edge: TGF-beta signaling is required for the in vivo expansion and immunosuppressive capacity of regulatory CD4+CD25+ T cells. J. Immunol. *173*, 6526–6531.

96. Jeon, S.G., Kayama, H., Ueda, Y., Takahashi, T., Asahara, T., Tsuji, H., Tsuji, N.M., Kiyono, H., Ma, J.S., Kusu, T., et al. (2012). Probiotic Bifidobacterium breve Induces IL-10-Producing Tr1 Cells in the Colon. PLoS Pathog *8*.

97. Jin, H., Park, Y., Elly, C., and Liu, Y.-C. (2013). Itch expression by Treg cells controls Th2 inflammatory responses. J Clin Invest *123*, 4923–4934.

98. Joetham, A., Takada, K., Taube, C., Miyahara, N., Matsubara, S., Koya, T., Rha, Y.-H., Dakhama, A., and Gelfand, E.W. (2007). Naturally Occurring Lung $CD4^{+}CD25^{+}$ T Cell Regulation of Airway Allergic Responses Depends on IL-10 Induction of TGF-β. The Journal of Immunology *178*, 1433–1442.

99. Josefowicz, S.Z., Wilson, C.B., and Rudensky, A.Y. (2009). Cutting edge: TCR stimulation is sufficient for induction of Foxp3 expression in the absence of DNA methyltransferase 1. J. Immunol. *182*, 6648–6652.

100. Josefowicz, S.Z., Niec, R.E., Kim, H.Y., Treuting, P., Chinen, T., Zheng, Y., Umetsu, D.T., and Rudensky, A.Y. (2012). Extrathymically generated regulatory T cells control mucosal Th2 inflammation. Nature *482*, 395–399.

101. Joss, A., Akdis, M., Faith, A., Blaser, K., and Akdis, C.A. (2000). IL-10 directly acts on T cells by specifically altering the CD28 co-stimulation pathway. Eur. J. Immunol. *30*, 1683–1690.

102. Jutel, M., Akdis, M., Budak, F., Aebischer-Casaulta, C., Wrzyszcz, M., Blaser, K., and Akdis, C.A. (2003). IL-10 and TGF-beta cooperate in the regulatory T cell response to mucosal allergens in normal immunity and specific immunotherapy. Eur. J. Immunol. *33*, 1205–1214.

103. Karakoc-Aydiner, E., Eifan, A.O., Baris, S., Gunay, E., Akturk, E., Akkoc, T., Bahceciler, N.N., and Barlan, I.B. (2015). Long-Term Effect of Sublingual and Subcutaneous Immunotherapy in Dust Mite-Allergic Children With Asthma/Rhinitis: A 3-Year Prospective Randomized Controlled Trial. J Investig Allergol Clin Immunol *25*, 334–342.

104. Khare, A., Krishnamoorthy, N., Oriss, T.B., Fei, M., Ray, P., and Ray, A. (2013). Inhaled Antigen Upregulates Retinaldehyde Dehydrogenase In Lung CD103+ But Not Plasmacytoid Dendritic Cells To Induce Foxp3 De Novo in CD4+ T cells and Promote Airway Tolerance. J Immunol *191*, 25–29.

105. Kim, Y. C., Bhairavabhotla, R., Yoon, J., Golding, A., Thornton, A. M., Tran, D. Q., & Shevach, E. M. (2012). Oligodeoxynucleotides stabilize Helios-expressing Foxp3+ human T regulatory cells during in vitro expansion. *Blood*, *119*(12), 2810-2818.

106. Kim, H.-J., Kim, Y.-J., Lee, S.-H., Yu, J., Jeong, S.K., and Hong, S.-J. (2014). Effects of Lactobacillus rhamnosus on allergic march model by suppressing Th2, Th17, and TSLP responses via CD4(+)CD25(+)Foxp3(+) Tregs. Clin. Immunol. *153*, 178–186.

107. Kratěnová, J., Žejglicová, K., Malý, M., Puklová, V. (2016). Systém monitorování zdravotního stavu obyvatelstva ve vztahu k životnímu prostředí. Státní zdravotní ústav Praha.
Dostupné: http://www.szu.cz/uploads/documents/chzp/odborne_zpravy/Zprava_MSK_2016.pdf
Publikace byla z webové adresy stažena v srpnu 2017

108. Krogulska, A., Polakowska, E., Wąsowska-Królikowska, K., Małachowska, B., Młynarski, W., and Borowiec, M. (2015). Decreased FOXP3 mRNA expression in children with atopic asthma and IgE-mediated food allergy. Ann. Allergy Asthma Immunol. *115*, 415–421.

109. Kullberg, M.C., Jankovic, D., Gorelick, P.L., Caspar, P., Letterio, J.J., Cheever, A.W., and Sher, A. (2002). Bacteria-triggered CD4+ T Regulatory Cells Suppress Helicobacter hepaticus–induced Colitis. J Exp Med *196*, 505–515.

110. *Laird, D.J., De Tomaso, A.W., Cooper, M.D., and Weissman, I.L. (2000). 50 million years of chordate evolution: Seeking the origins of adaptive immunity. Proc Natl Acad Sci U S A *97*, 6924–6926.

111. Latchman, Y., Wood, C. R., Chernova, T., Chaudhary, D., Borde, M., Chernova, I., ... & Greenfield, E. A. (2001). PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. Nature immunology, 2(3), 261.

112. Lee, J.-B., Chen, C.-Y., Liu, B., Mugge, L., Angkasekwinai, P., Facchinetti, V., Dong, C., Liu, Y.-J., Rothenberg, M.E., Hogan, S.P., et al. (2016). IL-25 and CD4(+) TH2 cells enhance type 2 innate lymphoid cell-derived IL-13 production, which promotes IgE-mediated experimental food allergy. J. Allergy Clin. Immunol. *137*, 1216-1225.e1-5.

113. Leach, D. R., Krummel, M. F., & Allison, J. P. (1996). Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. Science, 271(5256), 1734-1736.

114. Liang, B., Workman, C., Lee, J., Chew, C., Dale, B.M., Colonna, L., Flores, M., Li, N., Schweighoffer, E., Greenberg, S., et al. (2008). Regulatory T cells inhibit dendritic cells by lymphocyte activation gene-3 engagement of MHC class II. J. Immunol. *180*, 5916–5926.

115. Liao, G., Nayak, S., Regueiro, J.R., Berger, S.B., Detre, C., Romero, X., de Waal Malefyt, R., Chatila, T.A., Herzog, R.W., and Terhorst, C. (2010). GITR engagement preferentially enhances proliferation of functionally competent CD4+CD25+FoxP3+ regulatory T cells. Int Immunol *22*, 259–270.

116. Ling, E.M., Smith, T., Nguyen, X.D., Pridgeon, C., Dallman, M., Arbery, J., Carr, V.A., and Robinson, D.S. (2004). Mechanisms of Disease: Relation of CD4+CD25+ regulatory T-cell suppression of allergen-driven T-cell activation to atopic status and expression of allergic disease. The Lancet *363*, 608–615.

117. Lio, C.-W.J., and Hsieh, C.-S. (2008). A two-step process for thymic regulatory T cell development. Immunity *28*, 100–111.

118. *Litman, G.W., Rast, J.P., Shamblott, M.J., Haire, R.N., Hulst, M., Roess, W., Litman, R.T., Hinds-Frey, K.R., Zilch, A., and Amemiya, C.T. (1993). Phylogenetic diversification of immunoglobulin genes and the antibody repertoire. Mol Biol Evol *10*, 60–72.

119. Liu, W., Putnam, A. L., Xu-Yu, Z., Szot, G. L., Lee, M. R., Zhu, S., ... & Clayberger, C. (2006). CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4+ T reg cells. Journal of Experimental Medicine, 203(7), 1701-1711.

120. Liu, J., Chen, F., Qiu, S.-Q., Yang, L.-T., Zhang, H.-P., Liu, J.-Q., Geng, X.-R., Yang, G., Liu, Z.-Q., Li, J., et al. (2016). Probiotics enhance the effect of allergy immunotherapy on regulating antigen specific B cell activity in asthma patients. Am J Transl Res *8*, 5256–5270.

121. Liu, Y., Zhang, P., Li, J., Kulkarni, A., Perruche, S., and Chen, W. (2008). A critical function for TGF-beta signaling in the development of natural CD4(+)CD25(+)Foxp3(+) regulatory T cells. NATURE IMMUNOLOGY *9*, 632–640.

122. Lluis, A., Depner, M., Gaugler, B., Saas, P., Casaca, V.I., Raedler, D., Michel, S., Tost, J., Liu, J., Genuneit, J., et al. (2014). Increased regulatory T-cell numbers are associated with farm milk exposure and lower atopic sensitization and asthma in childhood. J. Allergy Clin. Immunol. *133*, 551–559.

123. Loo, E.X.L., Ong, L., Goh, A., Chia, A.-R., Teoh, O.H., Colega, M.T., Chan, Y.H., Saw, S.M., Kwek, K., Gluckman, P.D., et al. (2017). Effect of Maternal Dietary Patterns during Pregnancy on Self-Reported Allergic Diseases in the First 3 Years of Life: Results from the GUSTO Study. Int. Arch. Allergy Immunol. *173*, 105–113.

124. Loosdregt, J. van, Vercoulen, Y., Guichelaar, T., Gent, Y.Y.J., Beekman, J.M., Beekum, O. van, Brenkman, A.B., Hijnen, D.-J., Mutis, T., Kalkhoven, E., et al. (2010). Regulation of Treg functionality by acetylation-mediated Foxp3 protein stabilization. Blood *115*, 965–974.

125. Lu, F.-T., Yang, W., Wang, Y.-H., Ma, H.-D., Tang, W., Yang, J.-B., Li, L., Ansari, A.A., and Lian, Z.-X. (2015). Thymic B cells promote thymus-derived regulatory T cell development and proliferation. J. Autoimmun. *61*, 62–72.

126. Lynch, S.V., Wood, R.A., Boushey, H., Bacharier, L.B., Bloomberg, G.R., Kattan, M., O'Connor, G.T., Sandel, M.T., Calatroni, A., Matsui, E., et al. (2014). Effects of Early Life Exposure to Allergens and Bacteria on Recurrent Wheeze and Atopy in Urban Children. J Allergy Clin Immunol *134*, 593–601.e12.

127. Magnani, C.F., Alberigo, G., Bacchetta, R., Serafini, G., Andreani, M., Roncarolo, M.G., and Gregori, S. (2011). Killing of myeloid APCs via HLA class I, CD2 and CD226 defines a novel mechanism of suppression by human Tr1 cells. Eur J Immunol *41*, 1652–1662.

128. Mahmud, S.A., Manlove, L.S., Schmitz, H.M., Xing, Y., Wang, Y., Owen, D.L., Schenkel, J.M., Boomer, J.S., Green, J.M., Yagita, H., et al. (2014). Tumor necrosis factor receptor superfamily costimulation couples T cell receptor signal strength to thymic regulatory T cell differentiation. Nat Immunol *15*, 473–481.

129. Mandapathil, M., Hilldorfer, B., Szczepanski, M.J., Czystowska, M., Szajnik, M., Ren, J., Lang, S., Jackson, E.K., Gorelik, E., and Whiteside, T.L. (2010). Generation and Accumulation of Immunosuppressive Adenosine by Human CD4+CD25highFOXP3+ Regulatory T Cells. J Biol Chem *285*, 7176–7186.

130. Marcondes Rezende, M., Hassing, I., Bol-Schoenmakers, M., Bleumink, R., Boon, L., van Bilsen, J., and Pieters, R. (2011). CD4(+) CD25(+) T regulatory cells do not transfer oral tolerance to peanut allergens in a mouse model of peanut allergy. Clin. Exp. Allergy *41*, 1324–1333.

131. Mazzini, E., Massimiliano, L., Penna, G., and Rescigno, M. (2014). Oral Tolerance Can Be Established via Gap Junction Transfer of Fed Antigens from CX3CR1+ Macrophages to CD103+ Dendritic Cells. Immunity *40*, 248–261.

132. McHugh, R.S., Whitters, M.J., Piccirillo, C.A., Young, D.A., Shevach, E.M., Collins, M., and Byrne, M.C. (2002). CD4+CD25+ Immunoregulatory T Cells: Gene Expression Analysis Reveals a Functional Role for the Glucocorticoid-Induced TNF Receptor. Immunity *16*, 311–323.

133. Meiler, F., Zumkehr, J., Klunker, S., Rückert, B., Akdis, C.A., and Akdis, M. (2008). In vivo switch to IL-10–secreting T regulatory cells in high dose allergen exposure. J Exp Med *205*, 2887–2898.

134. Meng, S., Gao, R., Yan, B., Ren, J., Wu, F., Chen, P., Zhang, J., Wang, L., Xiao, Y., and Liu, J. (2016). Maternal allergic disease history affects childhood allergy development through impairment of neonatal regulatory T-cells. Respiratory Research *17*, 114.

135. Meyer-Martin, H., Hahn, S.A., Beckert, H., Belz, C., Heinz, A., Jonuleit, H., Becker, C., Taube, C., Korn, S., Buhl, R., et al. (2016). GARP inhibits allergic airway inflammation in a humanized mouse model. Allergy *71*, 1274–1283.

136. Misra, N., Bayry, J., Lacroix-Desmazes, S., Kazatchkine, M.D., and Kaveri, S.V. (2004). Cutting edge: human CD4+CD25+ T cells restrain the maturation and antigen-presenting function of dendritic cells. J. Immunol. *172*, 4676–4680.

137. Möbs, C., Ipsen, H., Mayer, L., Slotosch, C., Petersen, A., Würtzen, P.A., Hertl, M., and Pfützner, W. (2012). Birch pollen immunotherapy results in long-term loss of Bet v 1-specific TH2 responses, transient TR1 activation, and synthesis of IgE-blocking antibodies. J. Allergy Clin. Immunol. *130*, 1108–1116.e6.

138. Mondoulet, L., Dioszeghy, V., Puteaux, E., Ligouis, M., Dhelft, V., Plaquet, C., Dupont, C., and Benhamou, P.-H. (2015). Specific epicutaneous immunotherapy prevents sensitization to new allergens in a murine model. J. Allergy Clin. Immunol. *135*, 1546–1557.e4.

139. Moser, E., Hufford, M., and Braciale, T. (2014). Late Engagement of CD86 after Influenza Virus Clearance Promotes Recovery in a FoxP3(+) Regulatory T Cell Dependent Manner. PLOS PATHOGENS *10*.

140. Nakagawa, H., Sido, J.M., Reyes, E.E., Kiers, V., Cantor, H., and Kim, H.-J. (2016). Instability of Helios-deficient Tregs is associated with conversion to a T-effector phenotype and enhanced antitumor immunity. Proc Natl Acad Sci U S A *113*, 6248–6253.

141. Nakamura, K., Kitani, A., and Strober, W. (2001). Cell Contact–Dependent Immunosuppression by Cd4+Cd25+Regulatory T Cells Is Mediated by Cell Surface–Bound Transforming Growth Factor β. J Exp Med *194*, 629–644.

142. Neill, D. R., Wong, S. H., Bellosi, A., Flynn, R. J., Daly, M., Langford, T. K., ... & Jolin, H. E. (2010). Nuocytes represent a new innate effector leukocyte that mediates type-2 immunity. *Nature*, *464*(7293), 1367.

143. Nishizuka, Y., and Sakakura, T. (1969). Thymus and reproduction: sex-linked dysgenesia of the gonad after neonatal thymectomy in mice. Science *166*, 753–755.

144. Nocentini, G., Alunno, A., Petrillo, M.G., Bistoni, O., Bartoloni, E., Caterbi, S., Ronchetti, S., Migliorati, G., Riccardi, C., and Gerli, R. (2014). Expansion of regulatory GITR+CD25low/-CD4+ T cells in systemic lupus erythematosus patients. Arthritis Research & Therapy *16*, 444.

145. North, M., Mah, S., Steacy, L., Brook, J., Kobor, M., and Ellis, A.K. (2013). Effects of Maternal Allergy On Umbilical Cord Blood Regulatory T Cell Forkhead Box Protein 3 (FOXP3) DNA Methylation. Journal of Allergy and Clinical Immunology *131*, AB53.

146. Noval Rivas, M., Burton, O.T., Oettgen, H.C., and Chatila, T. (2016). IL-4 production by group 2 innate lymphoid cells promotes food allergy by blocking regulatory T-cell function. Journal of Allergy and Clinical Immunology *138*, 801–811.e9.

147. Noyan, F., Lee, Y.-S., Zimmermann, K., Hardtke-Wolenski, M., Taubert, R., Warnecke, G., Knoefel, A.-K., Schulde, E., Olek, S., Manns, M.P., et al. (2014). Isolation of human antigen-specific regulatory T cells with high suppressive function. Eur. J. Immunol. *44*, 2592–2602.

148. Ohkura, N., Hamaguchi, M., Morikawa, H., Sugimura, K., Tanaka, A., Ito, Y., Osaki, M., Tanaka, Y., Yamashita, R., Nakano, N., et al. (2012). T Cell Receptor Stimulation-Induced Epigenetic Changes and Foxp3 Expression Are Independent and Complementary Events Required for Treg Cell Development. Immunity *37*, 785–799.

149. Ohta, A., Kini, R., Ohta, A., Subramanian, M., Madasu, M., and Sitkovsky, M. (2012). The development and immunosuppressive functions of CD4+ CD25+ FoxP3+ regulatory T cells are under influence of the adenosine-A2A adenosine receptor pathway. Front Immunol *3*.

150. Ouyang, W., Beckett, O., Ma, Q., and Li, M.O. (2010). Transforming Growth Factor-β Signaling Curbs Thymic Negative Selection Promoting Regulatory T Cell Development. Immunity *32*, 642–653.

151. Pacheco-Gonzalez, R.M., Avila, C., Dávila, I., García-Sánchez, A., Hernández-Hernández, L., Benito-Pescador, D., Torres, R., Prieto-Matos, P., Isidoro-Garcia, M., Lorente, F., et al. (2016). Analysis of FOXP3 gene in children with allergy and autoimmune diseases. Allergologia et Immunopathologia *44*, 32–40.

152. Palmer, D.J., Sullivan, T.R., Skeaff, C.M., Smithers, L.G., and Makrides, M. (2015). Higher cord blood 25-hydroxyvitamin D concentrations reduce the risk of early childhood eczema: in children with a family history of allergic disease. World Allergy Organ J *8*.

153. Pandiyan, P., Zheng, L., Ishihara, S., Reed, J., & Lenardo, M. J. (2007). CD4+ CD25+ Foxp3+ regulatory T cells induce cytokine deprivation-mediated apoptosis of effector CD4+ T cells. Nature immunology, 8(12), 1353.

154. Papathoma, E., Triga, M., Fouzas, S., and Dimitriou, G. (2016). Cesarean section delivery and development of food allergy and atopic dermatitis in early childhood. Pediatr Allergy Immunol *27*, 419–424.

155. Pawankar, R., Canonica, G., Holgate, S., Lockey, R., Blaiss, M. (2011). White Book on Allergy. World Allergy Organization. Update 2013.
Dostupné: http://www.worldallergy.org/UserFiles/file/WAO-White-Book-on-Allergy_web.pdf
Update dostupný: http://www.worldallergy.org/UserFiles/file/ExecSummary-2013-v6-hires.pdf
Publikace byla z webové adresy stažena v srpnu 2017

156. Pellerin, L., Jenks, J.A., Chinthrajah, S., Dominguez, T., Block, W., Zhou, X., Noshirvan, A., Gregori, S., Roncarolo, M.G., Nadeau, K.C., et al. (2017). Peanut-specific Tr1 cells induced in vitro from allergic individuals are functionally impaired. Journal of Allergy and Clinical Immunology.

157. Pérez-Machado, M.A., Ashwood, P., Thomson, M.A., Latcham, F., Sim, R., Walker-Smith, J.A., and Murch, S.H. (2003). Reduced transforming growth factor-beta1-producing T cells in the duodenal mucosa of children with food allergy. Eur. J. Immunol. *33*, 2307–2315.

158. Pot, C., Jin, H., Awasthi, A., Liu, S.M., Lai, C.-Y., Madan, R., Sharpe, A.H., Karp, C.L., Miaw, S.-C., Ho, I.-C., et al. (2009). IL-27 induces the transcription factor c-Maf, cytokine IL-21 and costimulatory receptor ICOS that coordinately act together to promote differentiation of IL-10-producing Tr1 cells. J Immunol *183*, 797–801.

159. Provoost, S., Maes, T., van Durme, Y.M., Gevaert, P., Bachert, C., Schmidt-Weber, C.B., Brusselle, G.G., Joos, G.F., and Tournoy, K.G. (2009). Decreased FOXP3 protein expression in patients with asthma. Allergy *64*, 1539–1546.

160. Qamar, N., Fishbein, A.B., Erickson, K.A., Cai, M., Szychlinski, C., Bryce, P.J., Schleimer, R.P., Fuleihan, R.L., and Singh, A.M. (2015). Naturally Occurring Tolerance Acquisition to Foods in Previously Allergic Children is Characterized by Antigen Specificity and Associated with Increased Subsets of Regulatory T cells. Clin Exp Allergy *45*, 1663–1672.

161. Qureshi, O.S., Zheng, Y., Nakamura, K., Attridge, K., Manzotti, C., Schmidt, E.M., Baker, J., Jeffery, L.E., Kaur, S., Briggs, Z., et al. (2011). Trans-endocytosis of CD80 and CD86: a molecular basis for the cell extrinsic function of CTLA-4. Science *332*, 600–603.

162. Radulovic, S., Jacobson, M.R., Durham, S.R., and Nouri-Aria, K.T. (2008). Grass pollen immunotherapy induces Foxp3-expressing CD4+CD25+ cells in the nasal mucosa. Journal of Allergy and Clinical Immunology *121*, 1467–1472.e1.

163. Read, S., Malmström, V., and Powrie, F. (2000). Cytotoxic T Lymphocyte–Associated Antigen 4 Plays an Essential Role in the Function of Cd25+Cd4+ Regulatory Cells That Control Intestinal Inflammation. J Exp Med *192*, 295–302.

164. Reefer, A.J., Carneiro, R.M., Custis, N.J., Platts-Mills, T.A.E., Sung, S.-S.J., Hammer, J., and Woodfolk, J.A. (2004). A Role for IL-10-Mediated HLA-DR7-Restricted T Cell-Dependent Events in Development of the Modified Th2 Response to Cat Allergen. The Journal of Immunology *172*, 2763–2772.

165. Roduit, C., Frei, R., Depner, M., Schaub, B., Loss, G., Genuneit, J., Pfefferle, P., Hyvärinen, A., Karvonen, A.M., Riedler, J., et al. (2014). Increased food diversity in the first year of life is inversely associated with allergic diseases. Journal of Allergy and Clinical Immunology *133*, 1056–1064.e7.

166. Ronzani, C., Casset, A., and Pons, F. (2014). Exposure to multi-walled carbon nanotubes results in aggravation of airway inflammation and remodeling and in increased production of epithelium-derived innate cytokines in a mouse model of asthma. Archives of Toxicology *88*, 489–499.

167. Sage, P.T., Paterson, A.M., Lovitch, S.B., and Sharpe, A.H. (2014). The coinhibitory receptor CTLA-4 Controls B cell Responses by Modulating T Follicular Helper, T Follicular Regulatory and T Regulatory Cells. Immunity *41*, 1026–1039.

168. Sakaguchi, S., Sakaguchi, N., Asano, M., Itoh, M., and Toda, M. (1995). Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. J. Immunol. *155*, 1151–1164.

169. Salgado, F.J., Pérez-Díaz, A., Villanueva, N.M., Lamas, O., Arias, P., and Nogueira, M. (2012). CD26: A negative selection marker for human Treg cells. Cytometry *81A*, 843–855.

170. Salimi, M., Barlow, J.L., Saunders, S.P., Xue, L., Gutowska-Owsiak, D., Wang, X., Huang, L.-C., Johnson, D., Scanlon, S.T., McKenzie, A.N.J., et al. (2013). A role for IL-25 and IL-33–driven type-2 innate lymphoid cells in atopic dermatitis. J Exp Med *210*, 2939–2950.

171. Schlenner, S.M., Weigmann, B., Ruan, Q., Chen, Y., and von Boehmer, H. (2012). Smad3 binding to the foxp3 enhancer is dispensable for the development of regulatory T cells with the exception of the gut. J Exp Med *209*, 1529–1535.

172. Schmaler, M., Broggi, M.A.S., Lagarde, N., Stöcklin, B.F., King, C.G., Finke, D., and Rossi, S.W. (2015). IL-7R signaling in regulatory T cells maintains peripheral and allograft tolerance in mice. PNAS *112*, 13330–13335.

173. Seddiki, N., Santner-Nanan, B., Martinson, J., Zaunders, J., Sasson, S., Landay, A., ... & Kelleher, A. (2006). Expression of interleukin (IL)-2 and IL-7 receptors discriminates between human regulatory and activated T cells. Journal of Experimental Medicine, 203(7), 1693-1700.

174. Setoguchi, R., Hori, S., Takahashi, T., and Sakaguchi, S. (2005). Homeostatic maintenance of natural Foxp3+ CD25+ CD4+ regulatory T cells by interleukin (IL)-2 and induction of autoimmune disease by IL-2 neutralization. J Exp Med *201*, 723–735.

175. Shamji, M., Layhadi, J., Perera-web, A., Scadding, G., and Durham, S.R. (2013). IL-35+ Regulatory T Cells Suppress Grass Pollen-Driven Th2 Responses and Are Induced Following Grass Pollen-Specific Sublingual Immunotherapy. Journal of Allergy and Clinical Immunology *131*, AB146.

176. Shimizu, J., Yamazaki, S., and Sakaguchi, S. (1999). Induction of Tumor Immunity by Removing CD25+CD4+ T Cells: A Common Basis Between Tumor Immunity and Autoimmunity. The Journal of Immunology *163*, 5211–5218.

177. Shimizu, J., Yamazaki, S., Takahashi, T., Ishida, Y., and Sakaguchi, S. (2002). Stimulation of CD25+CD4+ regulatory T cells through GITR breaks immunological self-tolerance. Nature Immunology *3*, 135.

178. Simonetta, F., Chiali, A., Cordier, C., Urrutia, A., Girault, I., Bloquet, S., Tanchot, C., and Bourgeois, C. (2010). Increased CD127 expression on activated FOXP3+CD4+ regulatory T cells. Eur. J. Immunol. *40*, 2528–2538.

179. Simonetta, F., Gestermann, N., Bloquet, S., and Bourgeois, C. (2014). Interleukin-7 Optimizes FOXP3+CD4+ Regulatory T Cells Reactivity to Interleukin-2 by Modulating CD25 Expression. PLOS ONE *9*, e113314.

180. Singh, K., Hjort, M., Thorvaldson, L., and Sandler, S. (2015). Concomitant analysis of Helios and Neuropilin-1 as a marker to detect thymic derived regulatory T cells in naïve mice. Scientific Reports *5*, 7767.

181. Smith, M., Tourigny, M.R., Noakes, P., Thornton, C.A., Tulic, M.K., and Prescott, S.L. (2008). Children with egg allergy have evidence of reduced neonatal CD4+CD25+CD127lo/− regulatory T cell function. Journal of Allergy and Clinical Immunology *121*, 1460–1466.e7.

182. Soroosh, P., Doherty, T.A., Duan, W., Mehta, A.K., Choi, H., Adams, Y.F., Mikulski, Z., Khorram, N., Rosenthal, P., Broide, D.H., et al. (2013). Lung-resident tissue macrophages generate Foxp3+ regulatory T cells and promote airway tolerance. J Exp Med *210*, 775–788.

183. Soumelis, V., Reche, P.A., Kanzler, H., Yuan, W., Edward, G., Homey, B., Gilliet, M., Ho, S., Antonenko, S., Lauerma, A., et al. (2002). Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing TSLP. Nat. Immunol. *3*, 673–680.

184. Sprenger, N., Odenwald, H., Kukkonen, A.K., Kuitunen, M., Savilahti, E., and Kunz, C. (2017). FUT2-dependent breast milk oligosaccharides and allergy at 2 and 5 years of age in infants with high hereditary allergy risk. Eur J Nutr *56*, 1293–1301.

185. Stefka, A.T., Feehley, T., Tripathi, P., Qiu, J., McCoy, K., Mazmanian, S.K., Tjota, M.Y., Seo, G.-Y., Cao, S., Theriault, B.R., et al. (2014). Commensal bacteria protect against food allergen sensitization. Proc Natl Acad Sci U S A *111*, 13145–13150.

186. Stelmaszczyk-Emmel, A., Zawadzka-Krajewska, A., Szypowska, A., Kulus, M., and Demkow, U. (2013). Frequency and activation of CD4+CD25 FoxP3+ regulatory T cells in peripheral blood from children with atopic allergy. Int. Arch. Allergy Immunol. *162*, 16–24.

187. Stokholm, J., Thorsen, J., Chawes, B.L., Schjørring, S., Krogfelt, K.A., Bønnelykke, K., and Bisgaard, H. (2016). Cesarean section changes neonatal gut colonization. Journal of Allergy and Clinical Immunology *138*, 881–889.e2.

188. Strachan, D. P. (1989). Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ: British Medical Journal*, *299*(6710), 1259.

189. Sun, C.-M., Hall, J.A., Blank, R.B., Bouladoux, N., Oukka, M., Mora, J.R., and Belkaid, Y. (2007). Small intestine lamina propria dendritic cells promote de novo generation of Foxp3 T reg cells via retinoic acid. J Exp Med *204*, 1775–1785.

190. Susanto, N. H., Vicendese, D., Salim, A., Lowe, A. J., Dharmage, S. C., Tham, R., ... & Heinrich, J. (2017). Effect of season of birth on cord blood IgE and IgE at birth: A systematic review and meta-analysis. Environmental Research, 157, 198-205.

191. Syed, A., Garcia, M.A., Lyu, S.-C., Bucayu, R., Kohli, A., Ishida, S., Berglund, J.P., Tsai, M., Maecker, H., O'Riordan, G., et al. (2014). Peanut oral immunotherapy results in increased antigen-induced regulatory T-cell function and hypomethylation of forkhead box protein 3 (FOXP3). Journal of Allergy and Clinical Immunology *133*, 500–510.e11.

192. Szurek, E., Cebula, A., Wojciech, L., Pietrzak, M., Rempala, G., Kisielow, P., and Ignatowicz, L. (2015). Differences in Expression Level of Helios and Neuropilin-1 Do Not Distinguish Thymus-Derived from Extrathymically-Induced CD4+Foxp3+ Regulatory T Cells. PLOS ONE *10*, e0141161.

193. Tan, J., McKenzie, C., Vuillermin, P.J., Goverse, G., Vinuesa, C.G., Mebius, R.E., Macia, L., and Mackay, C.R. (2016). Dietary Fiber and Bacterial SCFA Enhance Oral Tolerance and Protect against Food Allergy through Diverse Cellular Pathways. Cell Reports *15*, 2809–2824.

194. Tan, L., Ou, J., Tao, Z., Kong, Y., and Xu, Y. (2017). Neonatal Immune State Is Influenced by Maternal Allergic Rhinitis and Associated With Regulatory T cells. Allergy Asthma Immunol Res *9*, 133–141.

195. Taylor, A., Akdis, M., Joss, A., Akkoç, T., Wenig, R., Colonna, M., Daigle, I., Flory, E., Blaser, K., and Akdis, C.A. (2007). IL-10 inhibits CD28 and ICOS costimulations of T cells via src homology 2 domain—containing protein tyrosine phosphatase 1. Journal of Allergy and Clinical Immunology *120*, 76–83.

196. Thornton, A.M., Korty, P.E., Tran, D.Q., Wohlfert, E.A., Murray, P.E., Belkaid, Y., and Shevach, E.M. (2010). Expression of Helios, an Ikaros Transcription Factor Family Member, Differentiates Thymic-Derived from Peripherally Induced Foxp3+ T Regulatory Cells. J Immunol *184*, 3433–3441.

197. Tone, Y., Kidani, Y., Ogawa, C., Yamamoto, K., Tsuda, M., Peter, C., Waldmann, H., and Tone, M. (2014). Gene Expression in the Gitr Locus Is Regulated by NF-κB and Foxp3 through an Enhancer. The Journal of Immunology *192*, 3915–3924.

198. Trebuchon, F., Lhéritier-Barrand, M., David, M., and Demoly, P. (2014). Characteristics and management of sublingual allergen immunotherapy in children with allergic rhinitis and asthma induced by house dust mite allergens. Clinical and Translational Allergy *4*, 15.

199. Tsuchida, Y., Sumitomo, S., Ishigaki, K., Suzuki, A., Kochi, Y., Tsuchiya, H., Ota, M., Komai, T., Inoue, M., Morita, K., et al. (2017). TGF-β3 Inhibits Antibody Production by Human B Cells. PLoS ONE *12*, 1–16.

200. Vieira, P. L., Christensen, J. R., Minaee, S., O'Neill, E. J., Barrat, F. J., Boonstra, A., ... & O'Garra, A. (2004). IL-10-secreting regulatory T cells do not express Foxp3 but have comparable regulatory function to naturally occurring CD4+ CD25+ regulatory T cells. The Journal of Immunology, 172(10), 5986-5993.

201. Volz, T., Skabytska, Y., Guenova, E., Chen, K.-M., Frick, J.-S., Kirschning, C.J., Kaesler, S., Röcken, M., and Biedermann, T. (2014). Nonpathogenic Bacteria Alleviating Atopic Dermatitis Inflammation Induce IL-10-Producing Dendritic Cells and Regulatory Tr1 Cells. Journal of Investigative Dermatology *134*, 96–104.

202. Walker, M., Kasprowicz, D.J., Gersuk, V.H., Bènard, A., Van Landeghen, M., Buckner, J.H., and Ziegler, S.F. (2003). Induction of FoxP3 and acquisition of T regulatory activity by stimulated human CD4+CD25– T cells. J Clin Invest *112*, 1437–1443.

203. Wang, R., Wan, Q., Kozhaya, L., Fujii, H., and Unutmaz, D. (2008). Identification of a Regulatory T Cell Specific Cell Surface Molecule that Mediates Suppressive Signals and Induces Foxp3 Expression. PLoS ONE *3*.

204. Weiss, J.M., Bilate, A.M., Gobert, M., Ding, Y., Curotto de Lafaille, M.A., Parkhurst, C.N., Xiong, H., Dolpady, J., Frey, A.B., Ruocco, M.G., et al. (2012). Neuropilin 1 is expressed on thymus-derived natural regulatory T cells, but not mucosa-generated induced Foxp3+ T reg cells. J Exp Med *209*, 1723–1742.

205. Welty, N. E., Staley, C., Ghilardi, N., Sadowsky, M. J., Igyártó, B. Z., & Kaplan, D. H. (2013). Intestinal lamina propria dendritic cells maintain T cell homeostasis but do not affect commensalism. *Journal of Experimental Medicine*, *210*(10), 2011-2024.

206. Whitehead, G.S., Wilson, R.H., Nakano, K., Burch, L.H., Nakano, H., and Cook, D.N. (2012). IL-35 production by inducible costimulator (ICOS)-positive regulatory T cells reverses established IL-17-dependent allergic airways disease. J. Allergy Clin. Immunol. *129*, 207-215.e1-5.

207. Wing, J., Ise, W., Kurosaki, T., and Sakaguchi, S. (2014). Regulatory T Cells Control Antigen-Specific Expansion of Tfh Cell Number and Humoral Immune Responses via the Coreceptor CTLA-4. IMMUNITY *41*, 1013–1025.

208. Wing, K., Onishi, Y., Prieto-Martin, P., Yamaguchi, T., Miyara, M., Fehervari, Z., Nomura, T., and Sakaguchi, S. (2008). CTLA-4 Control over $Foxp3^{+}$ Regulatory T Cell Function. Science 271.

209. Wolf, A.M., Wolf, D., Steurer, M., Gastl, G., Gunsilius, E., and Grubeck-Loebenstein, B. (2003). Increase of Regulatory T Cells in the Peripheral Blood of Cancer Patients. Clin Cancer Res *9*, 606–612.

210. Worbs, T., Bode, U., Yan, S., Hoffmann, M.W., Hintzen, G., Bernhardt, G., Förster, R., and Pabst, O. (2006). Oral tolerance originates in the intestinal immune system and relies on antigen carriage by dendritic cells. J Exp Med *203*, 519–527.

211. Workman, C. J., Dugger, K. J., & Vignali, D. A. (2002). Cutting edge: molecular analysis of the negative regulatory function of lymphocyte activation gene-3. The Journal of Immunology, 169(10), 5392-5395.

212. Workman, C. J., Cauley, L. S., Kim, I. J., Blackman, M. A., Woodland, D. L., & Vignali, D. A. (2004). Lymphocyte activation gene-3 (CD223) regulates the size of the expanding T cell population following antigen activation in vivo. The Journal of Immunology, 172(9), 5450-5455.

213. Wu, Y., Borde, M., Heissmeyer, V., Feuerer, M., Lapan, A.D., Stroud, J.C., Bates, D.L., Guo, L., Han, A., Ziegler, S.F., et al. (2006). FOXP3 Controls Regulatory T Cell Function through Cooperation with NFAT. Cell *126*, 375–387.

214. Xu, D., Liu, H., Komai-Koma, M., Campbell, C., McSharry, C., Alexander, J., and Liew, F.Y. (2003). CD4+CD25+ Regulatory T Cells Suppress Differentiation and Functions of Th1 and Th2 Cells, Leishmania major Infection, and Colitis in Mice. The Journal of Immunology *170*, 394–399.

215. Xu, W., Lan, Q., Chen, M., Chen, H., Zhu, N., Zhou, X., Wang, J., Fan, H., Yan, C.-S., Kuang, J.-L., et al. (2012). Adoptive Transfer of Induced-Treg Cells Effectively Attenuates Murine Airway Allergic Inflammation. PLOS ONE *7*, e40314.

216. Yadav, M., Louvet, C., Davini, D., Gardner, J.M., Martinez-Llordella, M., Bailey-Bucktrout, S., Anthony, B.A., Sverdrup, F.M., Head, R., Kuster, D.J., et al. (2012). Neuropilin-1 distinguishes natural and inducible regulatory T cells among regulatory T cell subsets in vivo. Journal of Experimental Medicine jem.20120822.

217. Yamashita, H., Takahashi, K., Tanaka, H., Nagai, H., and Inagaki, N. (2012). Overcoming food allergy through acquired tolerance conferred by transfer of Tregs in a murine model. Allergy *67*, 201–209.

218. Yokota, M., Suzuki, M., Nakamura, Y., Ozaki, S., and Murakami, S. (2015). Cytokine modulation by IL-35 in mice with allergic rhinitis. Am J Rhinol Allergy *29*, 251–256.

219. Youhai-Chen, V. K. K., Inobe, J. I., Hafler, D. A., & Weiner, H. L. (1994). Regulatory T cell clones induced by oral tolerance: suppression of autoimmune encephalomyelitis. *Science*, *265*, 1237.

220. Zheng, Y., Josefowicz, S.Z., Kas, A., Chu, T.-T., Gavin, M.A., and Rudensky, A.Y. (2007). Genome-wide analysis of Foxp3 target genes in developing and mature regulatory T cells. Nature *445*, 936–940.

221. Zheng, Y., Josefowicz, S., Chaudhry, A., Peng, X.P., Forbush, K., and Rudensky, A.Y. (2010). Role of conserved non-coding DNA elements in the Foxp3 gene in regulatory T-cell fate. Nature *463*, 808–812.

222. Zhou, X., Bailey-Bucktrout, S., Jeker, L.T., Penaranda, C., Martínez-Llordella, M., Ashby, M., Nakayama, M., Rosenthal, W., and Bluestone, J.A. (2009). Foxp3 instability leads to the generation of pathogenic memory T cells in vivo. Nat Immunol *10*, 1000–1007.

*Review