総 説

特集：自己免疫疾患の病態形成に関わる細胞・分子と臨床応用

制御性 T 細胞と自己免疫疾患

田 中 聡, 坂 口 志 文

Regulatory T cell and autoimmune diseases

Satoshi TANAKA, Shimon SAKAGUCHI

Department of Experimental Pathology, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

(Received September 16, 2005)

summary

CD25+CD4+ regulatory T cells are naturally anergic and suppressive. They differentiate through thymus as professional regulator to control immunological self-tolerance in the periphery. When they are depleted from normal animals, various organ-specific autoimmune diseases spontaneously develop, and reconstitution of regulatory T cells prevents the diseases. Transcriptional factor FoxP3 is the master gene for differentiation and function of regulatory T cells. Mutation of FoxP3 gene causes development of autoimmune disease in both human and mouse. There are accumulating reports that regulatory T cells are abnormal in their number or function in several animal models and also patients with autoimmune diseases. These findings indicate that regulatory T cells are involved in the pathogenesis of many autoimmune diseases. Regulatory T cells can also be employed for the treatment of autoimmune diseases. Further studies of regulatory T cells, especially the detection of their specific markers and the development of the method to propagate them in an antigen-specific manner, will facilitate their clinical application.

Key words——CD25+CD4+ regulatory T cell, Autoimmune disease, Peripheral tolerance, Treatment

抄 録

内在性 CD25+CD4+ 制御性 T 細胞は、胸腺で産生され、試験管内での抗原刺激に対して、自らは低反応であり、他の T 細胞の増殖を抑制する。この細胞集団を生体より除去すると、各種の臓器特異的な自己免疫疾患が自然発症する。その際、制御性 T 細胞を移入すれば、自己免疫病の発症が阻止される。すなわち、制御性 T 細胞は、末梢での免疫自己寛容の維持に重要な働きをしている。CD25+CD4+ 制御性 T 細胞の発生及び機能発現のマスター制御分子は、転写因子 FoxP3 であり、FoxP3 の異常は、ヒトの自己免疫病の原因となる。また、自己免疫マウスモデルや自己免疫疾患患者において、制御性 T 細胞に量的もしくは機能的異常を認める。自己免疫マウスモデルを用いた実験では、制御性 T 細胞の移入により、発症後の自己免疫疾患を治療することが可能である。制御性 T 細胞をヒトの自己免疫疾患の治療に応用するには、制御性 T 細胞と活性化 CD25+ T 細胞を区別できる細胞表面マーカーの検索、抗原特異的な制御性 T 細胞の増殖法の開発などが重要課題である。

1. CD25+CD4+ 制御性 T 細胞とは

免疫自己寛容、すなわち、自己と非自己を識別し、自己抗原とは反応せず、非自己抗原のみに反応するため、高等生物は種々の機序を進化させてきた。代表的なのは、胸腺での自己反応性 T 細胞レパトアの除去であるが、これ単独では、免疫自己寛容は不完全である。胸腺は自己反応性リンパ球を抑制するような細胞集団を同時に産生することで、そ

れを補っている。CD25+CD4+ 制御性 T 細胞（以下、制御性 T 細胞）は、抑制機能をもつように特化した細胞として胸腺で産生され、末梢において、自己反応性 T 細胞レパトアを抑制することで、免疫自己寛容の維持に重要な役割を果たしている¹⁾。マウスやヒトで、末梢 CD4+ T 細胞の 5-10% を制御性 T 細胞が占めている。制御性 T 細胞は、試験管内での TCR 刺激に対して自らの増殖活性は低い、他の T 細胞の増殖反応を細胞接着依存性に抑制する。制御性 T 細胞がどのような分子的機序により、他の T 細胞増殖を抑制しているかは、現在

のところ不明である。制御性 T 細胞の胸腺での分化および機能発現には、マスター遺伝子として、転写因子 FoxP3 が関与している²⁾。また、制御性 T 細胞が胸腺においてどのように細胞選択を受けているかは明らかでないが、制御性 T 細胞は、CD25-CD4+ T 細胞に比べて、自己抗原に高い親和性をもつ T 細胞受容体を有している³⁾。このことは、自己抗原により制御性 T 細胞が容易に活性化を受け、自己反応を抑制するのに有利である。制御性 T 細胞は、IL-2 受容体である CD25 を細胞表面に発現している以外にも、CTLA-4 や GITR を CD25-CD4+ T 細胞に比べて高発現しており、前述の FoxP3 の細胞内での発現は制御性 T 細胞特異的である。また、制御性 T 細胞の末梢での生存維持に

は、CD25-CD4+ T 細胞に比べて、インターロイキン-2 への依存度が高い⁴⁾。このように、制御性 T 細胞は、他の T 細胞と比べて、機能的にも発生的にも特異な T 細胞亜群である。

2. 制御性 T 細胞の異常と自己免疫

制御性 T 細胞が、末梢での免疫自己寛容の維持に重要であることは、この細胞集団を生体から除去すると、種々の臓器特異的自己免疫疾患を発症することから明らかである。例えば、BALB/c マウスの末梢 CD4+ T 細胞から CD25+ 細胞を除去して、同系のヌードマウスに移入すると、自己免疫性胃炎、卵巣炎、甲状腺炎が起きる⁵⁾。あるいは、新生仔胸腺摘出術や抗 IL-2 抗体投与により、正常マウ

図1 制御性 T 細胞の分化と機能

表1 制御性 T 細胞特異的のマーカー

マウス				ヒト			
	制御性 T 細胞	ナイーブ CD4+ T 細胞	活性化 CD4+ T 細胞		制御性 T 細胞	ナイーブ CD4+ T 細胞	活性化 CD4+ T 細胞
CD25	+	-	+	CD25	High	Low	High
CD45RB	Low	High	Low	CD45RA	Low	High	Low-Moderate
				CD45RO	High	Low	Moderate
CD69	-	-	+	CD69	-	-	+
CD103	+	+/-	+				
CD122	+	-	+	CD122	High	Low	High
CLTA-4	+	-	+	CLTA-4	High	Low	High
GITR	High	Low	High	GITR	High	Low	High
				HLA-DR	High	Low	High-Moderate
FoxP3	+	-	-	FoxP3	+	-	-

図2 制御性 T 細胞の異常の機序

スから、制御性 T 細胞を選択的に除去しても、同様の自己免疫疾患を誘導できる^{4,6)}。また、自己免疫疾患を誘導すると同時に、制御性 T 細胞を移入すると、自己免疫疾患の発症を阻止できる。例えば、BALB/c マウスの CD25-CD4+ T 細胞を同系 T 細胞欠損マウスに移入する際、BALB/c マウス由来の制御性 T 細胞を共移入すると、自己免疫性胃炎や卵巣炎を発症しない⁵⁾。新生仔胸腺摘出術後、数日のうちに、制御性 T 細胞を移入した場合も、自己免疫疾患発症を抑制する。一方、FoxP3 遺伝子変異のために FoxP3 蛋白を欠損している Scurfy マウスは、制御性 T 細胞が分化できず、非制御性 CD4+ T 細胞が過剰に増殖し、さまざまな臓器にリンパ球浸潤を認め、自己免疫疾患を生じる⁷⁾。同様にヒトの FoxP3 遺伝子の変異は、糖尿病、腸炎など多種の自己免疫疾患を合併した Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) の原因となる⁸⁾。すなわち、制御性 T 細胞の異常は、ヒトでも自己免疫病の原因となる。

3. 制御性 T 細胞と自己免疫モデルマウス

制御性 T 細胞は、マウスの自己免疫疾患モデルにおいても、発症に関与している。I 型糖尿病（自己免疫性糖尿病）を自然発症する、NOD マウスでは、CD4+ 細胞中の制御性 T 細胞の頻度が他のマウスに比べて少ない⁹⁾。また、このマウス由来の制御性 T 細胞は、加齢とともに生体内及び試験管内での抑制機能も低下する¹⁰⁾。さらには、このマウスでは、若年期に制御性 T 細胞を移入することで、糖尿病の発症を予防できる。NOD マウスの糖尿病発症の原因には、主要組織適合性複合体 (MHC) など多くの遺伝子が発症に関与していることが知られている。また、このマウスでは、胸腺での T 細胞選択など、他の免疫自己寛容維持機構にも異常を

認める。制御性 T 細胞の異常が、どの程度に糖尿病発症を説明できるか、更なる検討を要する。次に、多発性硬化症のモデルである experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) では、疾患の誘導時に制御性 T 細胞を除去すると、脳脊髄炎の発症率や重症度が上昇する。また、制御性 T 細胞を発症前に移入することで、やはりその発症を予防することができる^{11,12)}。関節リウマチのモデルであるコラーゲン誘発性関節炎でも、疾患誘導時に制御性 T 細胞を除去すると、その重症度が上がる¹³⁾。その際に、制御性 T 細胞を移入すると、予防することはできないが、重症度は低下する。最後に、全身性エリテマトーデス (SLE) のモデルマウスである、MRL/MP マウスでは、制御性 T 細胞自体には異常を認めないが、CD25-CD4+ 細胞が、試験管内での制御性 T 細胞による抑制に対して耐性である¹⁴⁾。このことは、受動的な意味での制御性 T 細胞による抑制異常が発症に関与している可能性を示している。

4. 制御性 T 細胞とヒト自己免疫疾患

前述したモデルマウスのみならず、実際、さまざまな自己免疫疾患患者で、制御性 T 細胞に異常を認めるという報告が集積されている。I 型糖尿病患者では、制御性 T 細胞の数は正常だが、その抑制能が低下している¹⁵⁾。多発性硬化症患者でも、制御性 T 細胞の数は正常だが、その抑制能が低下している¹⁶⁾。ただし、両者ともに、患者由来の制御性 T 細胞の抑制能に差がないという報告もある^{17,18)}。いわゆる膠原病患者においても類似の異常は報告されている。例えば、関節リウマチ患者では、炎症性サイトカイン分泌に対する、制御性 T 細胞の抑制能が低下しており、抗 TNF- α 抗体治療後、その抑制能が回復する¹⁹⁾。また、リウマチ患者の関節液中の制御性 T 細胞は、活性化されており、その抑制能

表2 制御性 T 細胞の異常と自己免疫疾患

ヒト自己免疫疾患		自己免疫疾患モデルマウス	
関節リウマチ	CD25-T 細胞が耐性	CIA	除去すると重症化
全身性エリテマトーデス	活動期に減少	MRL	CD25-T 細胞が耐性
強皮症	不明	TSK	不明
多発性筋炎	不明		
シェーグレン症候群	異常なし	aly/aly	減少?
ANCA 関連性血管炎	増加	SCG/kj	不明
ベーチェット病	不明		
川崎病	減少		
混合性クリオグロブリン血症	減少		
多発性硬化症	機能不全	EAE	除去すると重症化
ギランバレー症候群	不明	EAN	不明
筋無力症	機能不全		
I 型糖尿病	減少/機能不全/異常なし	NOD	加齢とともに機能低下
バセドウ病	不明		
橋本病	不明	EAT	G-CSF 治療で増加
アジソン病	不明		
IPEX	欠損	Scurfy	欠損
APS type-II	機能不全		
自己免疫性心筋炎	不明	EAM	不明
間質性肺炎	不明		
気管支喘息	増悪時に増加		
自己免疫性肝炎	減少, 機能不全	EAH	不明
原発性胆汁性肝硬変	不明		
クローン病	不明	SAMP1/yit	機能不全?
潰瘍性大腸炎	不明		
乾癬	機能不全		
アトピー性皮膚炎	増加, 機能不全?		
溶血性貧血	不明	murine AIHA	除去すると発症率上昇

が同じ患者の末梢血中の制御性 T 細胞よりも高いが、関節液中の CD4+CD25- T 細胞はその抑制に耐性を示す²⁰⁾。また、活動期の SLE 患者では、非活動期の患者や健康人に比べて、制御性 T 細胞数が減少している²¹⁾。一方、シェーグレン症候群の患者では、制御性 T 細胞数は増加しており、その機能にも異常を認めない²²⁾。その他、自己免疫性肝炎、Autoimmune polyendocrinopathy syndrome (APS)-type 2、乾癬、筋無力症、川崎病、ANCA 関連性血管炎などの患者でも、何らかの制御性 T 細胞の異常が示されている^{23~29)}。こういった、ヒト自己免疫疾患で制御性 T 細胞に異常があるかどうか検討

する際の問題点は、ヒトでは CD25+ T 細胞に多くの非制御性 T 細胞が混在し、しかもその割合に個人差が大きいことである。また、制御性 T 細胞に異常を認める場合でも、疾患の原因なのか、炎症が起きた結果なのかが、判然としない。したがって、現在のところ、制御性 T 細胞の数的あるいは質的異常が、全てのヒト自己免疫疾患の発症に関与しているとは断定できないが、少なくとも、エフェクター T 細胞による病的な自己反応と制御性 T 細胞によるその抑制のバランスが、さまざまな自己免疫疾患で崩れている。

図3 制御性 T 細胞を用いた自己免疫疾患の治療 その問題点と対策

図4 自己免疫の発症と制御性 T 細胞

5. 制御性 T 細胞と自己抗体

自己反応性 T 細胞とともに、自己免疫の病態を考えるうえで不可欠な要素が自己抗体であるが、制御性 T 細胞は、自己抗体産生をも抑制している。前述したように、BALB/c CD25-CD4+ 細胞と制御性 T 細胞を同系ヌードマウスに共移入すると、自己免疫性胃炎の発症が抑制される。このとき、自己免疫性胃炎特異的な自己抗体である抗胃壁細胞抗体の産生も抑制される。EAE においても同様に疾患特異的な自己抗体の産生が、制御性 T 細胞によ

り抑制される。ただし、これらの疾患では、自己反応性 CD4+ T 細胞が、その病態の本体であり、制御性 T 細胞は、そのような自己反応性 T 細胞を抑制することで、間接的に自己抗体産生を抑制していると思われる。一方、膠原病特異的な自己抗体に関しても、同様の報告がある。例えば、抗二重鎖 DNA 抗体を産生するような B 細胞は、T 細胞のヘルプを受けて活性化するが、この際に制御性 T 細胞が共存すると、その活性化が抑制され、抗二重鎖 DNA 抗体は産生されない^{30,31)}。したがって、この場合も、制御性 T 細胞が直接的に自己反応性 B 細胞

胞を抑制するのではなく、そのような B 細胞をヘルプする T 細胞を抑制するという間接的な機序が働いている。SLE において、抗 DNA 抗体は病態形成に重要であり、制御性 T 細胞が間接的であるにせよ抗 DNA 抗体産生に関与していることは、SLE の病態解明や治療法開発に結びつく可能性がある。

6. 制御性 T 細胞と innate immunity

これまでに述べてきたことから、制御性 T 細胞が自己免疫に抑制的に働き、その異常が自己免疫疾患の発症に関与していることは明らかである。では、制御性 T 細胞による末梢での免疫自己寛容が破綻する機序はどうなっているのだろうか。一つの可能性は、IPEX で認められるように、先天的に制御性 T 細胞が欠損あるいは機能異常をもっている場合である。しかし、実際には、多くの自己免疫疾患の発症は成人以降であり、一卵性双生児間の一致も不完全であることから、遺伝的因子だけでなく、環境因子が関与していると考えられる。特に、制御性 T 細胞と innate immunity の関係は重要である。微生物が生体内に侵入すると、抗原提示細胞、主として樹状細胞が活性化するが、この際、制御性 T 細胞による抑制が解除される可能性がある³²⁾。この作用には、Toll-like receptor を介して活性化された樹状細胞によるインターロイキン-6 産生が関与している。この機序は、微生物に反応するエフェクター T 細胞が抑制されないので、感染症に対しては有利に作用する。しかし、もしその作用が遷延すると、自己反応性エフェクター細胞の活性化を許容し、自己免疫の発症につながるかもしれない。これを支持する知見として、マウスに抗 IL-2 抗体を投与すると、一過性に制御性 T 細胞が減少するが、その間に各種自己免疫疾患が生じ、それらは、制御性 T 細胞数が回復しても治癒しないことがある。したがって、自己免疫疾患の発症には、制御性 T 細胞による抑制が、一定期間、解除されていればよいと思われる。多くのヒト自己免疫疾患において、発症の契機に感染症を認める。従来、感染微生物と交差する自己抗原の存在や、微生物による抗原提示細胞の活性化などが、その機序とされてきた。しかし、上記のような、innate immunity の活性化による制御性 T 細胞の抑制解除も、発症の契機となりうる。詳細については、今後のさらなる研究が必要である。

7. 制御性 T 細胞を用いた自己免疫病の治療

制御性 T 細胞を移入することで、免疫自己寛容を強化し、自己免疫疾患の治療を行う試みは、いくつもの自己免疫疾患モデルで検討されている。例えば、腸炎モデルや EAE, NOD マウスでは、その疾患の発症後に制御性 T 細胞を移入することで、疾患が治癒する^{33~35)}。しかし、このような臓器特異的な自己免疫疾患に比べて、関節リウマチモデルのコラーゲン誘導性関節炎に対しては、制御性 T 細胞移入の治療効果は小さい³⁶⁾。プロテオグリカン誘導性関節炎でも、制御性 T 細胞は関節炎を抑制できない³⁷⁾。このことは、臓器特異的自己免疫疾患では自己反応性 T 細胞が直接に標的臓器を破壊するのに対して、自己免疫性関節炎では T 細胞がマクロファージや滑膜細胞に作用して、間接的に標的器官を破壊するからかもしれない。あるいは、関節炎では、IL-6 などの炎症性サイトカインの影響により制御性 T 細胞が作用しにくい環境にあるのかもしれない。一方、生体外から制御性 T 細胞を移入するのでなく、生体内で制御性 T 細胞を特異的に増殖させる薬剤の探索も進んでいる。免疫抑制剤の一種であるラパマイシンは、少なくとも生体外では制御性 T 細胞を選択的に増殖させるため、自己免疫疾患の治療に際して、他の免疫抑制剤よりも有利に作用する可能性がある^{38,39)}。また、G-CSF 投与により、制御性 T 細胞が自己免疫標的臓器に集積しやすいことが報告されている⁴⁰⁾。また、これまで述べてきたような、制御性 T 細胞の量的な調節のアプローチだけでなく、質的な調節を行うような薬剤や抗体の探索も進んでいる。インターロイキン-10 や TGF- β は、従来から、炎症に対して抑制的に作用するサイトカインとして知られているが、CD25+CD4+ 制御性 T 細胞による抑制にも関わっているかもしれない。アデノウイルスを用いて、これらのサイトカインを生体内で強制発現させると、NOD マウスでの糖尿病発症を抑制し、その際に CD25+CD4+ 制御性 T 細胞が関与していることが示唆されている^{41,42)}。以上のように、制御性 T 細胞の抑制機能を直接的あるいは間接的に強化して、自己免疫の治療を行うことが、マウスでは可能である。

8. 制御性 T 細胞を用いたヒト自己免疫の治療

マウスでの制御性 T 細胞による免疫疾患の治療

を、ヒトへと応用する場合、いくつかの課題がある。まず、制御性 T 細胞を移入するにあたって、ドナーおよび移入細胞数を決定せねばならない。制御性 T 細胞は、末梢 CD4+ T 細胞の 5-10% に過ぎないため、一人のドナーより多くの細胞を採取することが困難である。MHC 適合を考慮すれば、自己血由来の制御性 T 細胞を移入することが望ましいが、同じ理由で難しい。また、自己免疫疾患の治療に際しては、一旦、活性化した T 細胞を抑制せねばならず、予防するときよりも多くの制御性 T 細胞を移入する必要がある。さらに、マウスと異なり、ヒトでは、CD25+CD4+ T 細胞中に、たくさんの非制御性 T 細胞が含まれており、単に CD25+ 細胞を移入すると、同時に多くの活性化 T 細胞を移入してしまう。また、制御性 T 細胞は自己免疫のみならず、腫瘍免疫をも抑制するため、制御性 T 細胞移入により、人によっては、腫瘍発生のリスクが高まるかもしれない。上記のような問題点に対して、さまざまな工夫が試みられている。まず、制御性 T 細胞を体外で増殖させて、その数が少ないことを補う方法がある⁴³⁾。またその際に、標的抗原を提示させて、制御性 T 細胞の抗原特異性を高めることも可能である³⁵⁾。さらには、培養にサイトカインを組み合わせることで、非制御性 T 細胞から制御性 T 細胞を抗原特異的に作り出せるとの報告もある^{44,45)}。一方、CD25+ 活性化 T 細胞の混入に対しては、制御性 T 細胞に、より特異的な細胞表面マーカーが必要である。現在のところ、制御性 T 細胞に最も特異的な分子は FoxP3 であるが、これは細胞表面に発現していないため、制御性生きた T 細胞の採取には不向きである。いくつかの細胞表面抗原を組み合わせることで、より純度の高い制御性 T 細胞を採取することは可能であるが、制御性 T 細胞に対する、簡便で特異度の高いマーカーが期待される。

9. ま と め

制御性 T 細胞は、自己反応性 T 細胞を抑制し、末梢での免疫自己寛容の維持に重要な働きをしている。制御性 T 細胞の異常は、自己免疫が起きる原因の全てではないが、自己免疫疾患全般の発症に大きく関与している。この細胞を用いて、免疫疾患の治療を行うことは生理的であり、理にかなっているが、臨床応用するには、解決すべき課題は多い。制御性 T 細胞による抑制機序を解明し、このユニー

クな細胞をコントロールできるようになれば、自己免疫疾患の原因究明と治療に寄与するであろう。

文 献

- 1) Sakaguchi S. : Naturally arising CD4+ regulatory cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annu Rev Immunol* **22** : 531-562, 2004.
- 2) Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. : Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* **299** : 1057-1061, 2003.
- 3) Hsieh CS, Liang Y, Tyznik AJ, Self SG, Littig D, Rudensky AY. : Recognition of the peripheral self by naturally arising CD25+ CD4+ T cell receptors. *Immunity* **21** : 267-277, 2004.
- 4) Setoguchi R, Hori S, Takahashi T, Sakaguchi S. : IL-2 and autoimmunity : homeostatic maintenance of CD25+CD4+ regulatory T cells via IL-2 secreted by other T cells and induction of autoimmune disease by IL-2 neutralization. *J Exp Med*. 2005.
- 5) Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. : 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, 1995.
- 6) Asano M, Toda M, Sakaguchi N, Sakaguchi S. : Autoimmune disease as a consequence of developmental abnormality of a T cell subpopulation. *J Exp Med* **184** : 387-96, 1996.
- 7) Brunkow ME, Jeffery EW, Hjerrild KA, et al. : Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurfy, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nat Genet* **27** : 68-73 ; 2001.
- 8) Bennett CL, Christie J, Ramsdell F, et al. : The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nat Genet* **27** : 20-21, 2001.
- 9) Wu AJ, Hua H, Munson SH, McDevitt HO. : Tumor necrosis factor-alpha regulation of CD4+CD25+ T cell levels in NOD mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99** : 12287-12292, 2002.
- 10) Gregori S, Giarratana N, Smirardo S, Adorini L. : Dynamics of pathogenic and suppressor T

- cells in autoimmune diabetes development. *J Immunol* **171** : 4040–4047, 2003.
- 11) Kohm AP, Carpentier PA, Anger HA, Miller SD. : Cutting edge : CD4+CD25+ regulatory T cells suppress antigen-specific autoreactive immune responses and central nervous system inflammation during active experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* **169** : 4712–4716, 2002.
  - 12) Hori S, Haury M, Coutinho A, Demengeot J. : Specificity requirements for selection and effector functions of CD25+4+ regulatory T cells in anti-myelin basic protein T cell receptor transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99** : 8213–8218, 2002.
  - 13) Morgan ME, Suttmuller RP, Witteveen HJ, et al. : CD25+ cell depletion hastens the onset of severe disease in collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum* **48** : 1452–1460, 2003.
  - 14) Monk CR, Spachidou M, Rovis F, et al. : MRL/Mp CD4+, CD25– T cells show reduced sensitivity to suppression by CD4+, CD25+ regulatory T cells in vitro : a novel defect of T cell regulation in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* **52** : 1180–1184, 2005.
  - 15) Lindley S, Dayan CM, Bishop A, Roep BO, Peakman M, Tree TI. : Defective suppressor function in CD4(+)CD25(+) T-cells from patients with type 1 diabetes. *Diabetes* **54** : 92–99, 2005.
  - 16) Viglietta V, Baecher-Allan C, Weiner HL, Hafler DA. : Loss of functional suppression by CD4+CD25+ regulatory T cells in patients with multiple sclerosis. *J Exp Med* **199** : 971–979, 2004.
  - 17) Putnam AL, Vendrame F, Dotta F, Gottlieb PA. : CD4+CD25 high regulatory T cells in human autoimmune diabetes. *J Autoimmun* **24** : 55–62, 2005.
  - 18) Putheti P, Pettersson A, Soderstrom M, Link H, Huang YM. : Circulating CD4+CD25+ T regulatory cells are not altered in multiple sclerosis and unaffected by disease-modulating drugs. *J Clin Immunol* **24** : 155–161, 2004.
  - 19) Ehrenstein MR, Evans JG, Singh A, et al. : Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNFalpha therapy. *J Exp Med* **200** : 277–285, 2004.
  - 20) van Amelsfort JM, Jacobs KM, Bijlsma JW, Lafeber FP, Taams LS. : CD4(+)CD25(+) regulatory T cells in rheumatoid arthritis : differences in the presence, phenotype, and function between peripheral blood and synovial fluid. *Arthritis Rheum* **50** : 2775–2785, 2004.
  - 21) Crispin JC, Martinez A, Alcocer-Varela J. Quantification of regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun* **21** : 273–276, 2003.
  - 22) Gottenberg JE, Lavie F, Abbed K, et al. : CD4 CD25high regulatory T cells are not impaired in patients with primary Sjogren's syndrome. *J Autoimmun* **24** : 235–242, 2005.
  - 23) Sugiyama H, Gyulai R, Toichi E, et al. : Dysfunctional blood and target tissue CD4+CD25 high regulatory T cells in psoriasis : mechanism underlying unrestrained pathogenic effector T cell proliferation. *J Immunol* **174** : 164–173, 2005.
  - 24) Luther C, Poeschel S, Varga M, Melms A, Tolosa E. : Decreased frequency of intrathymic regulatory T cells in patients with myasthenia-associated thymoma. *J Neuroimmunol* **164** : 124–128, 2005.
  - 25) Furuno K, Yuge T, Kusuhashi K, et al. : CD25+ CD4+ regulatory T cells in patients with Kawasaki disease. *J Pediatr* **145** : 385–390, 2004.
  - 26) Kriegel MA, Lohmann T, Gabler C, Blank N, Kalden JR, Lorenz HM. : Defective suppressor function of human CD4+CD25+ regulatory T cells in autoimmune polyglandular syndrome type II. *J Exp Med* **199** : 1285–1291, 2004.
  - 27) Longhi MS, Ma Y, Bogdanos DP, Cheeseman P, Mieli-Vergani G, Vergani D. : Impairment of CD4(+)CD25(+) regulatory T-cells in autoimmune liver disease. *J Hepatol* **41** : 31–37, 2004.
  - 28) Balandina A, Lecart S, Darteville P, Saoudi A, Berrih-Aknin S. : Functional defect of regulatory CD4(+)CD25+ T cells in the thymus of patients with autoimmune myasthenia gravis. *Blood* **105** : 735–741, 2005.
  - 29) Marinaki S, Neumann I, Kalsch AI, et al. : Abnormalities of CD4 T cell subpopulations in ANCA-associated vasculitis. *Clin Exp Immunol* **140** : 181–191, 2005.
  - 30) Seo SJ, Fields ML, Buckler JL, et al. : The impact of T helper and T regulatory cells on the regulation of anti-double-stranded DNA B cells. *Immunity* **16** : 535–546, 2002.
  - 31) La Cava A, Ebling FM, Hahn BH. : Ig-reactive

- CD4+CD25+ T cells from tolerized (New Zealand Black×New Zealand White) F1 mice suppress in vitro production of antibodies to DNA. *J Immunol* **173** : 3542–3548, 2004.
- 32) Pasare C, Medzhitov R. : Toll pathway-dependent blockade of CD4+CD25+ T cell-mediated suppression by dendritic cells. *Science* **299** : 1033–1036, 2003.
- 33) Mottet C, Uhlig HH, Powrie F. : Cutting edge : cure of colitis by CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Immunol* **170** : 3939–3943, 2003.
- 34) Mekala DJ, Geiger TL. : Immunotherapy of autoimmune encephalomyelitis with re-directed CD4+CD25+ T-lymphocytes. *Blood* 2004.
- 35) Tang Q, Henriksen KJ, Bi M, et al. : In vitro-expanded antigen-specific regulatory T cells suppress autoimmune diabetes. *J Exp Med* **199** : 1455–1465, 2004.
- 36) Morgan ME, Flierman R, van Duivenvoorde LM, et al. : Effective treatment of collagen-induced arthritis by adoptive transfer of CD25+ regulatory T cells. *Arthritis Rheum* **52** : 2212–2221, 2005.
- 37) Bardos T, Czipri M, Vermes C, Finnegan A, Mikecz K, Zhang J. : CD4+CD25+ immunoregulatory T cells may not be involved in controlling autoimmune arthritis. *Arthritis Res Ther* **5** : R106–R113, 2003.
- 38) Baan CC, van der Mast BJ, Klepper M, et al. : Differential effect of calcineurin inhibitors, anti-CD25 antibodies and rapamycin on the induction of FOXP3 in human T cells. *Transplantation* **80** : 110–117, 2005.
- 39) Battaglia M, Stabilini A, Roncarolo MG. : Rapamycin selectively expands CD4+CD25+ FoxP3+ regulatory T cells. *Blood* **105** : 4743–4748, 2005.
- 40) Hadaya K, Kared H, Masson A, Chatenoud L, Zavala F. : G-CSF treatment prevents cyclophosphamide acceleration of autoimmune diabetes in the NOD mouse. *J Autoimmun* **24** : 125–134, 2005.
- 41) Goudy KS, Burkhardt BR, Wasserfall C, et al. : Systemic overexpression of IL-10 induces CD4+CD25+ cell populations in vivo and ameliorates type 1 diabetes in nonobese diabetic mice in a dose-dependent fashion. *J Immunol* **171** : 2270–2278, 2003.
- 42) Luo X, Yang H, Kim IS, et al. : Systemic transforming growth factor-beta1 gene therapy induces Foxp3+ regulatory cells, restores self-tolerance, and facilitates regeneration of beta cell function in overtly diabetic nonobese diabetic mice. *Transplantation* **79** : 1091–1096, 2005.
- 43) Taylor PA, Lees CJ, Blazar BR. : The infusion of ex vivo activated and expanded CD4(+)CD25(+) immune regulatory cells inhibits graft-versus-host disease lethality. *Blood* **99** : 3493–3499, 2002.
- 44) Chen W, Jin W, Hardegen N, et al. : Conversion of peripheral CD4+CD25– naive T cells to CD4+CD25+ regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med* **198** : 1875–1886, 2003.
- 45) Zheng SG, Gray JD, Ohtsuka K, Yamagiwa S, Horwitz DA. : Generation ex vivo of TGF-beta-producing regulatory T cells from CD4+CD25– precursors. *J Immunol* **169** : 4183–4189, 2002.