

# Peran Penting Sel T Regulator CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> Menjaga Homeostasis Sel T pada Transplantasi Alogenik

(*ESSENTIAL ROLES OF CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> REGULATORY T CELLS IN THE  
MAINTENANCE OF T CELLS HOMEOSTASIS IN ALLOGENEIC TRANSPLANTATION*)

Muhaimin Rifa'i, Aris Soewondo

Labotatorium Fisiologi Hewan,  
Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Brawijaya, Jln. Veteran Malang, Jawa Timur, 65145  
Email: rifa123@ub.ac.id

## ABSTRAK

Toleransi antara donor dan resipien merupakan kunci keberhasilan transplantasi alogenik. Untuk mengetahui keterlibatan sel T CD8 dalam meregulasi homeostasis sel T pada transplantasi alogenik dilakukan analisis sel limpa pascatransplantasi sumsum tulang. Pada penelitian ini digunakan mencit C57BL/6 sebagai donor dan mencit BALB/c sebagai resipien. Mencit BALB/c diradiasi dengan sinar dosis letal 850 rad sebelum pelaksanaan transplantasi. Setelah 24 jam pascaradiasi mencit BALB/c ditransplantasi dengan sel sumsum tulang ( $10 \times 10^6$ ) mencit C57BL/6 yang bebas dari sel T masak. Analisis sel hematopoietik pada limpa dilakukan dua bulan setelah pelaksanaan transplantasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sel T CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> bersama sel T regulator subset CD4, berkontribusi pada pencegahan *graft-versus-host diseases* (GVHD). Sel T *naïve* CD4<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> mendominasi sel T, sebaliknya sel T memori CD4<sup>+</sup>CD44<sup>+</sup> sangat terbatas perkembangannya. Simpulan yang dapat ditarik bahwa sel T regulator menjaga homeostasis dengan cara mempertahankan sel T tetap berada pada status *naïve*.

Kata kunci: CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>, transplantasi alogenik, T<sub>reg</sub>

## ABSTRACT

Tolerance between donor and recipient is a key for successful allogeneic transplantation. To determine the involvement of CD8<sup>+</sup> T cells in regulating T cell homeostasis in allogeneic transplantation, spleen cells were analyzed post bone marrow transplantation. In this study, C57BL/6 mice were used as donor and BALB/c mice were used as recipients. BALB/c mice were irradiated with a lethal dose of 850 rad prior to the transplantation. Twenty-four hours post a radiation BALB/c mice were transplanted with bone marrow cells ( $10 \times 10^6$ ) derived from C57BL/6 mice that free from mature T cells. Analysis of hematopoietic cells in the spleen was done two months post-transplantation. The results showed that CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> T cell in collaboration with CD4<sup>+</sup> regulatory T cell contribute to the prevention of graft-versus-host diseases (GVHD). In this study it was demonstrated that naïve CD4<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup> T cells dominated the sub set of T cells, whereas the development of CD4<sup>+</sup>CD44<sup>+</sup> memory T cells are very limited. In conclusion, that regulatory T cells maintain normal homeostasis by maintaining T cells remained at naïve status.

Keywords: CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>, allogeneic transplantation, Treg

## PENDAHULUAN

Sampai saat ini belum banyak peneliti yang memfokuskan perhatiannya pada *subset* sel timus (sel T) *cluster of differentiation 8* (CD8) sebagai kandidat sel T regulator. Sebaliknya kajian sel T regulator dari *subset* sel T CD4

telah memperoleh hasil yang dapat diaplikasi pada teknologi kedokteran. Sel T subset CD4 dari timus yang mengekspresikan reseptor interleukin-2 alpha (IL-2 $\alpha$ ), CD25 diketahui memiliki sifat sebagai regulator (Dai *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2003; Ermann *et al.*, 2005). Sel tersebut selanjutnya dikenal dengan istilah "sel

T regulator" CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> (T<sub>reg</sub>). Sel T<sub>reg</sub> dapat mencegah terjadinya aktivasi sel-sel autoreaktif yang lolos dari seleksi negatif pada timus melalui mekanisme supresi maupun mendorong apoptosis sel target. Dalam hal ini diduga sel T regulator bekerja dengan cara menghambat produksi IL-2 dan mengurangi ketersediaan triptofan (Thornton *et al.*, 2004; Meehan *et al.*, 1999; Toh *et al.*, 2000). Anergi (tidak merespons) pada stimulasi melalui reseptor sel T (TCR, *T cell receptor*) merupakan salah satu keunikan T<sub>reg</sub>. Dalam melakukan supresi T<sub>reg</sub> memerlukan kontak antar sel dan melepaskan molekul efektor seperti *transforming growth factor beta* (TGF-β) dan IL-10 (Meehan *et al.*, 1999). Sifat penting lain yang dimiliki T<sub>reg</sub> adalah kemampuan non-spesifik dalam melakukan supresi (Sundsted *et al.*, 2003; Vieira, 2004; Silva *et al.*, 2001; Kane dan Mosser, 2001; Chen, 2003).

Pada saat ini T<sub>reg</sub> dijadikan salah satu strategi penting untuk mengatasi baik reaksi penolakan maupun reaksi *graft-versus-host diseases* (GVHD). Pada awalnya sel T regulator dianggap sebagai sel yang hanya berperan menjaga toleransi pada *self-antigen*. Namun, pada perkembangannya diketahui peran lainnya, yaitu sebagai komponen penting mencegah penolakan (rejeksi) pada transplantasi alogenik. Penelitian mendalam tentang perkembangan T<sub>reg</sub> utamanya pada faktor terjadinya diversitasnya, memberi gambaran pentingnya sel itu sebagai regulator pada sistem imunitas (Adeegbe *et al.*, 2011; Weisdorf *et al.*, 1993; Wolff *et al.*, 2010).

Pada eksperimen menggunakan mencit transgenik yang mengekspresikan reseptor spesifik pada sel T maupun timus yang mengekspresikan peptida, diketahui bahwa sel T regulator CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> sangat tergantung pada afinitas ikatan peptide : *major histocompatibility complex* (MHC) kelas II pada saat proses maturasi. Fakta tersebut sesuai dengan data yang menunjukkan adanya diversitas sel T CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>. Dengan demikian, jika sel T CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> teraktivasi melalui jalur TCR oleh aloantigen, sel CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> yang sesuai akan segera melakukan supresi terhadap respons aloantigen itu. Peristiwa ini dapat dilihat pada reaksi GVHD setelah pelaksanaan transplantasi sumsum tulang. Pada transplantasi alogenik, sel T CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> mencegah GVHD yang diperantarai oleh ketidaksesuaian MHC (Adeegbe *et al.*, 2011). Hal penting lain, bahwa sel T CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> yang dibentuk *in vitro* dengan cara mencampurkan sel aloreaktif dengan antibodi

anti-CD40 ternyata dapat mencegah GVHD jika ditransfer bersama sel T donor aloreaktif (Chu dan Gress, 2008; Le dan Chao, 2007; Koreth *et al.*, 2006).

Pada kasus penolakan transplantasi alogenik, regulasi dapat dilihat ketika pelaksanaan transplantasi diiringi injeksi sel dengan marker CD45RB<sup>low</sup> dan CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>. Namun demikian, sel CD45RB<sup>low</sup> dan CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> hanya dapat meregulasi transplan yang mempunyai strain yang sama. Hal yang sangat penting, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> diketahui mempunyai peran aktif menjaga sel T CD8<sup>+</sup> agar tetap anergi (non-responsif), hal ini menggambarkan bahwa sel T<sub>reg</sub> mempunyai daya regulasi yang luas (Silva *et al.*, 2001; Le dan Chao, 2007; Malek dan Castro, 2010; Sakaguchi *et al.*, 1995). Penelitian ini bertujuan menunjukkan keterlibatan sel T regulator dari populasi sel T CD8, yakni CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>. Sel ini hanya muncul pada transplantasi yang sukses sedangkan pada resipien yang mengalami GVHD, sel CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> tidak dapat dideteksi pada organ limpa. Meskipun T CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> merupakan sel yang dominan pada transplantasi alogenik namun keberadaan sel T CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> sangat dibutuhkan agar terjadi toleransi antara donor dan resipien.

## METODE PENELITIAN

### Mencit

Mencit yang digunakan pada penelitian ini adalah strain BALB/c dan C57BL/6. Mencit BALB/c diperoleh dari Hamamatsu, Jepang, sedangkan C57BL/6 diperoleh dari Taconic (Germantown, NY). Mencit dipelihara di *Animal Center*, Universitas Nagoya, Jepang, dengan fasilitas bebas patogen. Pada penelitian ini mencit C57BL/6 sebagai donor dan mencit BALB/c sebagai resipien.

### Transplantasi Sumsum Tulang

Sumsum tulang donor diisolasi dari tulang femur dan tibia. Sumsum tulang sebanyak 10x10<sup>6</sup> sel ditransplantasikan pada mencit resipien yang sebelumnya telah diradiasi dengan dosis letal 850 rad. Sumsum tulang yang ditransplantasikan, sebelumnya telah dibebaskan dari sel T dengan menggunakan anti-Thy1.2 bersama-sama komplemen. Depleksi sel T dilakukan pada suhu 37°C selama 30 menit. Untuk melihat keberhasilan depleksi dilakukan pengecekan CD4 dan CD8 dengan menggunakan

*flow cytometry*. Pada penelitian ini kemurnian mencapai 100% setelah dilakukan *sorting* menggunakan *Fluorescence Activated Cell Sorting (FACS) vantage*. Setelah dua bulan pelaksanaan transplantasi, sel hematopoietik diisolasi dari limpa dan dilakukan analisis terhadap status sel.

#### **Analisis Protein Intraseluler**

Analisis *Forkhead Box Protein 3 (FOXP3)* intranukleus dilakukan dengan menggunakan protokol BioLegend. Sel limpa atau sel *lymph node* diinkubasi dengan *fluorescein isothiocyanate (FITC)-conjugated anti-CD4*, *FITC-conjugated anti-CD8*, *phycoerythrin (PE)-conjugated anti-mouse CD25* (clone PC61.5), dan *PE-Cy5-conjugated anti-FOXP3*.

#### **Flow cytometry.**

Analisis data dilakukan dengan menggunakan *flow cytometry FACS Calibur™* dengan *software cellQuest*.

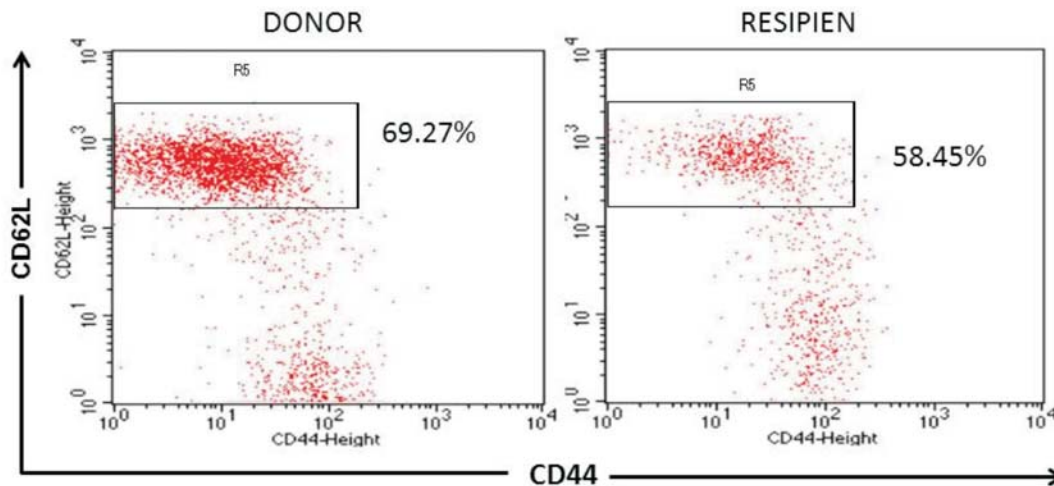
### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pada penelitian ini diperoleh bukti bahwa pada individu yang tidak mengalami GVHD, sel sumsum tulang yang ditransplantasikan berkembang menjadi sel-sel *naïve* yang mengekspresikan molekul CD62L (Gambar 1). Berkembangnya sel-sel sumsum tulang menjadi sel T *naïve* menjadi salah satu bukti bahwa antara sel donor dan resipien terdapat toleransi, sehingga tidak terjadi aktivasi baik sel yang berasal dari donor maupun resipien (Le dan Chao, 2007; Vamosi *et al.*, 2004; Damjanovich *et al.*, 1997; Rubin *et al.*, 1985; Earle *et al.*, 2005; Godfrey *et al.*, 2004). Terjadinya toleransi ini diduga karena terdeplesinya sel T yang telah masak dari sumsum tulang. Pada transplantasi sumsum tulang alogenik yang tidak dilakukan deplesi sel T, dipastikan terjadi aktivasi baik sel yang bersal dari donor maupun resipien yang selanjutnya menimbulkan GVHD. Dalam hal ini sel sumsum tulang donor memperoleh stimuli yang tepat untuk perkembangan sel granulosit. Stimuli yang tepat tersebut dapat berupa produksi sitokin oleh sel-sel yang teraktivasi.

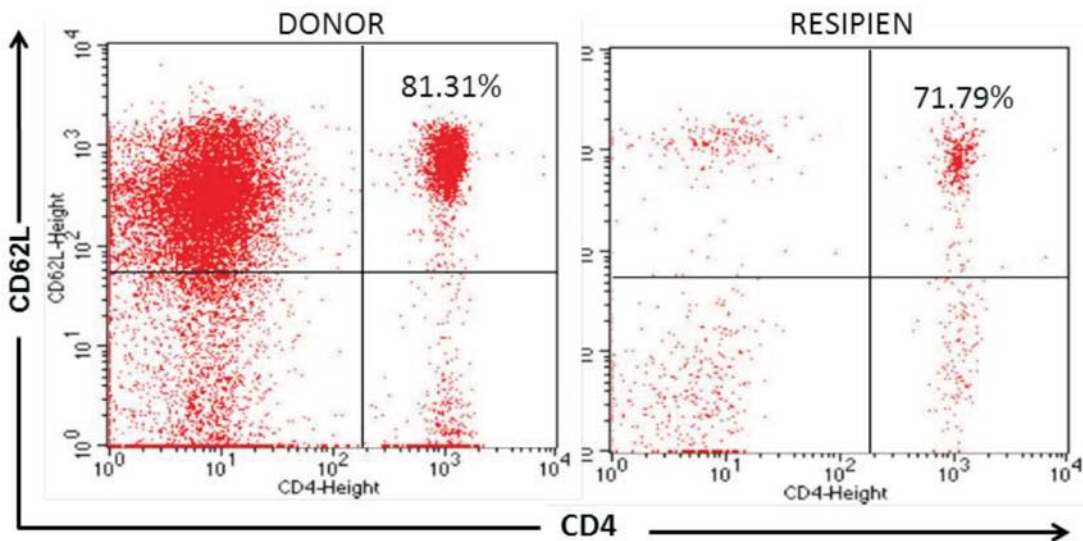
Pada transplantasi alogenik sel donor dan resipien masing-masing bertindak sebagai antigen. Telah diketahui bahwa efektor utama yang menyebabkan terjadinya penolakan adalah sel T yang terdapat pada donor yang ditransplantasikan. Sel T donor yang telah

masak tidak akan melewati seleksi ulang pada timus resipien. Dengan demikian tidak ada jaminan bahwa sel-sel tersebut bersifat toleran pada resipien. Dalam homeostasis yang normal, sel-sel autoreaktif akan terseleksi negatif dan akan mati melalui mekanisme apoptosis. Aktivasi sel T ditandai dengan hilangnya molekul CD62 dan munculnya molekul CD44. Pada penelitian ini diketahui bahwa resipien yang menerima transplantasi alogenik tetap sehat sampai dua bulan setelah transplantasi. Resipien sehat tersebut belum menunjukkan gejala GVHD dan pada pemeriksaan sel-sel limpa menunjukkan dominasi sel *naïve* dengan ekspresi molekul CD62L lebih tinggi daripada molekul CD44 (Gambar 2). Pada transplantasi alogenik terjadi *kimera* donor dan resipien pada sel hematopoietik. Pada pengamatan sel hematopoietik dua bulan setelah transplantasi diketahui bahwa sel limfosit resipien yang resisten terhadap radiasi 850 rad terus berkembang dan menyumbangkan sel T sekitar ~ 30%, dengan kata lain rasio donor atas resipien adalah 7:3 (Gambar 3). Pada pemeriksaan dua bulan setelah transplantasi tidak terjadi aktivasi baik pada sel T CD4 maupun CD8. Hal ini dimungkinkan karena sel-sel sumsum tulang donor terseleksi pada timus resipien sehingga hanya sel-sel toleran saja yang tetap hidup. Pada transplantasi alogenik terjadinya reaksi GVHD disebabkan oleh kurangnya regulasi oleh sel T regulator dari populasi CD4.

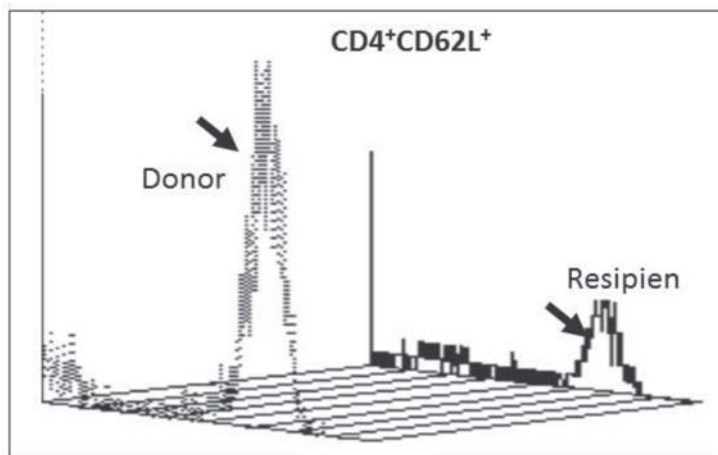
Pada penelitian ini ditunjukkan bahwa sel T dari populasi CD8 juga berkontribusi meregulasi sel-sel hematopoietik agar tetap toleran antara donor dan resipien. Sel T regulator dari *subset* CD8 ditandai dengan munculnya molekul CD25 dan faktor transkripsi FOXP3. Belum ada penelitian yang secara khusus mengkaji pentingnya sel T regulator CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP<sup>+</sup>, namun demikian munculnya berdampingan dengan sel T regulator CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP<sup>+</sup> (Gambar 4) diduga ada kerjasama yang kuat untuk mengatur normalitas homeostasis. Pada penelitian ini diketahui bahwa sel T regulator dari populasi CD4 lebih besar sepuluh kali lipat jika dibandingkan dengan sel T regulator dari populasi CD8. Namun demikian, tidak berarti bahwa sel T regulator CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP<sup>+</sup> lebih penting daripada sel T regulator CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP<sup>+</sup>. Banyak peneliti yang melaporkan pentingnya gen FOXP3 untuk mencegah terjadinya penyakit autoimun dan membantu mengatasi penolakan pada



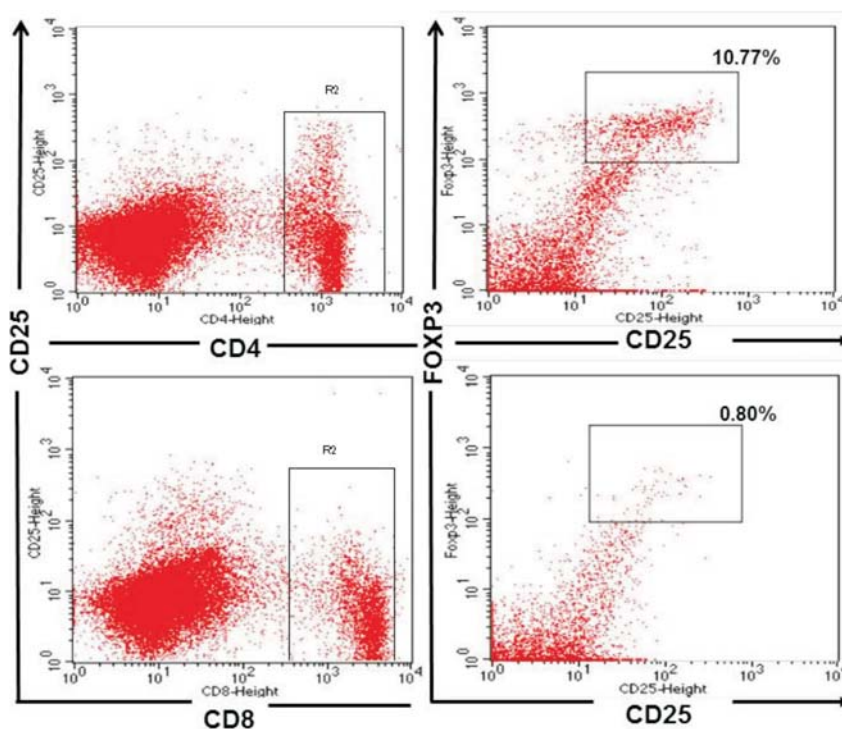
**Gambar 1.** Mencit sehat hasil transplantasi alogenik didominasi oleh sel T *naïve* yang mengekspresikan molekul CD62L. Mencit BALB/c (resipien) diradiasi 850 rad dan ditransplantasi dengan sel sumsum tulang secara intra vena 24 jam setelah radiasi. Sumsum tulang yang ditransplantasi ke mencit BALB/c sebanyak  $10 \times 10^6$  berasal dari mencit C57BL/6 (donor). Analisis sel hematopoietik dilakukan dua bulan setelah pelaksanaan transplantasi. Sel limpa diwarnai dengan antibodi anti-CD4-FITC, anti-CD62L-PE, dan anti-CD45.1-PECy5. Panel kiri merupakan sel donor yang mengekspresikan molekul CD45.1 dan panel kanan merupakan sel resipien yang tidak mengekspresikan CD45.1. Data mewakili tiga kali hasil eksperimen.



**Gambar 2.** Mencit sehat hasil transplantasi alogenik mempunyai sel memori dalam jumlah yang rendah. Mencit BALB/c (resipien) diradiasi 850 rad dan ditransplantasi dengan sel sumsum tulang secara intra vena 24 jam setelah radiasi. Sumsum tulang yang ditransplantasi ke mencit BALB/c sebanyak  $10 \times 10^6$  berasal dari mencit C57BL/6 (donor). Analisis sel hematopoietik dilakukan dua bulan setelah pelaksanaan transplantasi. Sel limpa diwarnai dengan antibodi anti-CD4-FITC, anti-CD62L-PE, anti-CD44-PerCp, dan anti-CD45.1-APC. Panel kiri merupakan sel donor yang mengekspresikan molekul CD45.1 dan panel kanan merupakan sel resipien yang tidak mengekspresikan CD45.1. Pada panel kiri sel T CD4 *naïve* 81.31% dan sel T CD4 memori 18.69%, sedangkan panel kanan sel T CD4 *naïve* 71.79% dan sel T CD4 memori 28.21%. Data mewakili tiga kali hasil eksperimen.



**Gambar 3.** Mencit sehat hasil transplantasi alogenik mempunyai sel T donor yang dominan. Mencit BALB/c (resipien) diradiasi 850 rad dan ditransplantasi dengan sel sumsum tulang secara intra vena 24 jam setelah radiasi. Sumsum tulang yang ditransplantasi ke mencit BALB/c sebanyak  $10 \times 10^6$  berasal dari mencit C57BL/6 (donor). Analisis sel hematopoietik dilakukan dua bulan setelah pelaksanaan transplantasi. Sel limpa diwarnai dengan antibodi anti-CD4-FITC, anti-CD62L-PE, dan anti-CD45.1-APC. Pada gambar ditunjukkan komposisi sel T yang berasal dari donor (CD45.1<sup>+</sup>) dan sel T yang berasal dari resipien (CD45.1<sup>-</sup>). Data mewakili tiga kali hasil eksperimen.



**Gambar 4.** Mencit sehat hasil transplantasi alogenik mengekspresikan molekul CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> pada populasi CD4 dan CD8. Mencit BALB/c (resipien) diradiasi 850 rad dan ditransplantasi dengan sel sumsum tulang secara intra vena 24 jam setelah radiasi. Sel sumsum tulang yang ditransplantasi ke mencit BALB/c sebanyak  $10 \times 10^6$  berasal dari mencit C57BL/6 (donor). Analisis intraseluler sel hematopoietik dilakukan dua bulan setelah pelaksanaan transplantasi. Sel limpa diwarnai dengan antibodi anti-CD4-FITC, anti-CD8-PE, anti-CD25-PerCp, dan anti-FOXP3-APC. Pada panel kanan atas dan bawah berasal masing masing dari total CD4 dan CD8 secara berturut-turut. Persentase sel T CD4 dan CD8 yang mengekspresikan CD25FOXP3 ditunjukkan pada panel kanan (atas dan bawah). Data mewakili tiga kali hasil eksperimen.

transplantasi alogenik. Secara khusus FOXP3 hanya diekspresikan sel T yang mempunyai molekul CD25. Molekul CD25 merupakan salah satu rantai reseptor alpha IL-2 (IL-2R $\alpha$ ). Reseptor ini akan meningkat ekspresinya apabila sel T sedang aktif melakukan proliferasi. Untuk melakukan proliferasi sel T memanfaatkan interleukin-2 (IL-2), dengan demikian kebutuhan reseptor-IL-2 akan meningkat pula pada sel T yang aktif melakukan proliferasi. Pada transplantasi alogenik keberadaan sel T regulator CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> dan CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>, sangat penting peranannya untuk menekan aktivitas sel-sel imunokompeten, karena aktivitas yang sangat tinggi akan mengganggu homeostasis. Pada transplantasi alogenik aktivitas yang sangat tinggi dari sel-sel efektor akibat pengenalan antigen asing dapat menimbulkan GVHD. Pada penelitian ini kami tunjukkan bahwa sel-sel hematopoietik berada pada status *naïve* pada analisis dua bulan setelah transplantasi alogenik. Dengan demikian deplesi sel T donor yang sudah masak sangat dianjurkan pada transplantasi alogenik mengingat banyaknya laporan mengenai munculnya GVHD oleh sel-sel efektor yang berasal dari donor.

### SIMPULAN

Sel T pada mencit yang tidak menderita GVHD berkembang menjadi sel T *naïve* yang mengekspresikan molekul CD62L. Sebaliknya perkembangan sel-sel memori yang mengekspresikan molekul CD44 sangat terbatas. Pada transplantasi alogenik sel T yang resisten terhadap radiasi 850 rad berkembang dan tetap berada pada status *naïve* pada pengamatan dua bulan setelah transplantasi alogenik. Antara sel T donor dan resipien membentuk *kimera*, namun pada pengamatan dua bulan setelah transplantasi, sel T didominasi sel donor dengan rasio 7:3 dan sel baik yang berasal dari donor maupun resipien tetap berada pada status *naïve*. Sel T *naïve* dikendalikan oleh sel T regulator yang berasal dari populasi CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> dan CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>.

### SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui fungsi sel T CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> sebagai sel T regulator baik *in vivo* maupun *in vitro*.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini kami menyampaikan ucapan terima kasih kepada Prof. Kenichi Isobe dan Dr. Haruhiko Suzuki dari Universitas Nagoya yang memberikan fasilitas laboratorium dan beberapa antibodi yang diperlukan. Kami juga mengucapkan terima kasih pada Zhe Shi yang membantu memelihara mencit BABL/c dan C57BL/c pada animal center.

### DAFTAR PUSTAKA

- Adeegbe D, Matsutani T, Yang J, Altman NH, Malek TR. 2011. CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> T regulatory cells with limited T cell receptor diversity in control of autoimmunity. *J Immunol* 184(1):56–66.
- Chen W, Jin W, Hardegen N. 2003. Conversion of peripheral CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> naive T cells to CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med* 198:1875–1886.
- Chen W. 2003. Conversion of peripheral CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> naive T cells to CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med* 198:1875–1886.
- Chu YW, Gress RE. 2008. Murine models of chronic graft-versus-host disease: insights and unresolved issues. *Biol Blood Marrow Transplant* 14: 365–378.
- Dai Z, Li Q, Wang. 2004. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells suppress allograft rejection mediated by memory CD8<sup>+</sup> T cells via a CD30-dependent mechanism. *J Clin Invest* 113:310–317.
- Damjanovich S, Bene L, Matkó J. 1997. Preassembly of interleukin 2 (IL-2) receptor subunits on resting Kit 225 K6 T cells and their modulation by IL-2, IL-7, and IL-15: a fluorescence resonance energy transfer study. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:13134–13139.
- Earle KE, Tang Q, Zhou X. 2005. In vitro expanded human CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells suppress effector T cell proliferation. *Clin Immunol* 115:3–9.
- Ermann J, Hoffmann P, Edinger M. 2005. Only the CD62L<sup>+</sup> subpopulation of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells protects from lethal acute GVHD. *Blood* 105:2220–2226.

- Godfrey WR, Ge YG, Spoden DJ. 2004. In vitro-expanded human CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T-regulatory cells can markedly inhibit allogeneic dendritic cell-stimulated MLR cultures. *Blood* 104:453–461.
- Kane MM, Mosser DM. 2001. The role of IL-10 in promoting disease progression in leishmaniasis. *J Immunol* 166:1141–1147.
- Koreth J, Matsuoka K, Kim HT, McDonough SM, Bindra B, Alyea EP. 2006. Interleukin-2 and regulatory T cells in graft-versus-host disease. *N Engl J Med* 365: 2055–2066.
- Le NT, Chao N. 2007. Regulating regulatory T cells. *Bone Marrow Transplant* 39: 1–9.
- Malek TR, Castro I. 2010. Interleukin-2 receptor signaling: at the interface between tolerance and immunity. *Immunity* 33:153–165.
- Meehan KR, Arun B, Gehan EA. 1999. Immunotherapy with interleukin-2 and alpha-interferon after IL-2-activated hematopoietic stem cell transplantation for breast cancer. *Bone Marrow Transplant* 23: 667–673.
- Rubin LA, Kurman CC, Fritz ME. 1985. Soluble interleukin 2 receptors are released from activated human lymphoid cells in vitro. *J Immunol* 135:3172–3177.
- Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, 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.
- Silva RA, Pais TF, Appelberg R. 2001. Blocking the receptor for IL-10 improves antimycobacterial chemotherapy and vaccination. *J Immunol* 167:1535–1541.
- Sundstedt A, O'Neill EJ, Nicolson KS, Wraith DC. 2003. Role for IL-10 in suppression mediated by peptide-induced regulatory T cells in vivo. *J Immunol* 170:1240–1248.
- Thornton AM, Donovan EE, Piccirillo CA, Shevach EM. 2004. Cutting edge: IL-2 is critically required for the in vitro activation of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T cell suppressor function. *J Immunol* 172:6519–6523.
- Toh HC, McAfee SL, Sackstein R. 2000. High-dose cyclophosphamide carboplatin and interleukin-2 (IL-2) activated autologous stem cell transplantation followed by maintenance IL-2 therapy in metastatic breast carcinoma – a phase II study. *Bone Marrow Transplant* 25: 19–24.
- Vámosi G, Bodnár A, Vereb G. 2004. IL-2 and IL-15 receptor alpha-subunits are coexpressed in a supramolecular receptor cluster in lipid rafts of T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:11082–11087.
- Vieira PL. 2004. IL-10 secreting regulatory T cells do not express Foxp3 but have comparable regulatory function to naturally occurring CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells. *J Immunol* 172:5986–5993.
- Weisdorf DJ, Anderson PM, Blazar BR. 1993. Interleukin-2 immediately after autologous bone marrow transplantation for acute lymphoblastic leukemia: a phase I study. *Transplantation* 55(1):61–66.
- Wolff D, Gerbitz A, Ayuk F, Kiani A, Hildebrandt GC, Vogelsang GB. 2010. Consensus conference on clinical practice in chronic graft-versus-host disease (GVHD): first-line and topical treatment of chronic GVHD. *Biol Blood Marrow Transplant* 16: 1611–1628.