

GILZ (Glucocorticoid-Induced Leucine Zipper), un mediatore dell'azione antinfiammatoria ed immunosoppressiva dei glucocorticoidi

C. Riccardi*

Parole chiave: Glucocorticoidi, infiammazione, immunità, GILZ

Key words: Glucocorticoids, inflammation, immune response, GILZ

Summary

GILZ (Glucocorticoid-Induced Leucine Zipper), a mediator of the anti-inflammatory and immunosuppressive activity of glucocorticoids

Glucocorticoids (GCs) are widely used in therapy as anti-inflammatory and immunosuppressive drugs. Their effects are the result of a number of genomic and non-genomic mechanisms including regulation of gene transcription. In fact, GCs through interaction with the glucocorticoid receptor (GR) regulate transcription of a number of target genes. Induction and/or inhibition of gene expression are responsible for the therapeutic effects of GC as well of unwanted side effects that can limit their therapeutic use. Dissecting the molecular mechanisms responsible for beneficial and/or detrimental actions of GC is an important challenge in basic research. In particular, a critical issue is to establish how a single gene might eventually be linked to a specific GC-induced effect.

We identified GILZ (Glucocorticoid-Induced Leucine Zipper), a gene rapidly activated by dexamethasone, during studies aimed at characterizing gene(s) activated by GCs. The first experimental evidence indicating GILZ as a player in the GC-induced immunomodulation comes from observation that GILZ up-regulation in T lymphocytes inhibits anti-CD3-induced activation/proliferation and apoptotic cell death. We then found that GILZ interacts with and inhibits NF- κ B. Subsequently, this observation has been confirmed in many other laboratories and other GILZ targets have been identified, including AP-1, Raf-1, and Ras, all involved in GC effects. Notably, GILZ inhibition by silencing counters the anti-proliferative activity of dexamethasone and reduces GC-mediated inhibition of COX-2 expression. All these effects suggest GILZ as a mediator of the anti-inflammatory/immunosuppressive activity of GCs.

Introduzione

Gli studi condotti, durante l'arco della sua attivissima carriera, dal Dr. Vincenzo Cuomo spaziano su diversi importanti argomenti. È quindi relativamente facile trovare radici nei suoi studi, che possano essere d'ispirazione per le moderne tematiche della medicina ed

in particolare della farmacologia. Uno dei temi autorevolmente trattati dal Dr. Cuomo è quello delle affezioni respiratorie, anche correlate ad episodi infettivi, ed è questo certamente un tema importante che per varie ragioni torna oggi di grande attualità. In particolare, le problematiche infiam-

* Presidente della Società Italiana di Farmacologia e Ordinario di Farmacologia, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Perugia

matorie delle vie respiratorie, siano esse legate a problemi infettivologici ma anche a problematiche ambientali e patologie allergiche, rivestono grande importanza nel capitolo della farmacologia e della terapia dell'infiammazione. Tra gli antinfiammatori e immunosoppressori, occupano un posto importante i glucocorticoidi (GC).

I GC sono coinvolti nella regolazione fisiologica di molti processi vitali tra i quali lo sviluppo della risposta immunitaria, il metabolismo, la crescita cellulare e dei tessuti, i processi di sviluppo ed embriogenesi. Il loro valore terapeutico è molto importante e sono usati per il trattamento di molte malattie autoimmunitarie ed infiammatorie. Infatti, i GC sono stati usati fin dalla prima metà del secolo scorso nel trattamento delle patologie autoimmunitarie, i disordini allergici, la prevenzione del rigetto dei trapianti e nelle patologie neoplastiche (7, 16, 27). Il loro potente effetto farmacologico e la loro efficacia terapeutica è il risultato della amplificazione di effetti fisiologici mediati dagli steroidi endogeni (34-35).

Il meccanismo d'azione molecolare responsabile degli effetti dei GC è assai complesso e si basa su effetti non-genomici, cioè indipendenti dalla regolazione dell'espressione genica, e genomici, cioè dipendenti dalla regolazione trascrizionale. Infatti, molti degli effetti indotti dai GC dipendono dalla interazione con il loro recettore (GR). Tuttavia sebbene i GC inducono molti dei loro effetti per via trascrizionale, alcuni effetti non-genomici partecipano alla trasduzione del segnale (9, 13, 24, 29, 32). Per quanto riguarda invece l'attività di regolazione trascrizionale, il GR, dopo l'interazione con il GC, lega specifiche sequenze del DNA (Glucocorticoid Recognition Elements, GRE) e regola la transattivazione genica, in particolare di geni codificanti per molecole ad azione antiinfiammatoria/immunosoppressiva, come, per esempio, quelli codificanti per l'annessina-1, componenti delle

MAPK (mitogen activated protein kinases), fosfatasi-1, I-kB ed IL-10, o la transrepressione di geni codificanti per molecole che promuovono l'infiammazione e la risposta immunitaria come IL-1, IL-2 ed IL-17 (1, 25, 33, 36). Inoltre, il GR media effetti trascrizionali indiretti dei GC per mezzo di interazioni proteina-proteina con altri fattori di trascrizione, cofattori trascrizionali e proteine coinvolte nel segnale intracellulare. Infatti, il GR lega molecole della famiglia STAT (trasduttore ed attivatore del segnale), NF-kB (nuclear factor B), AP-1 (activation protein-1), molecole della famiglia 14-3-3 e Raf-1, tutte interazioni che risultano nella inibizione della trascrizione genica di specifici geni (6-7, 18-19).

Un gran numero di effetti molecolari sono indotti dai GC. Distinguere tra quelli responsabili degli effetti terapeutici benefici e quelli eventualmente responsabile delle reazioni avverse, è uno dei maggiori obiettivi della ricerca di base ed in particolare l'identificazione di singoli geni responsabili dei singoli effetti regolati dai GC. È questo uno di quei casi in cui è facile per chiunque capire come la distinzione tra ricerca di base e ricerca applicata non ha basi razionali nè ragione di esistere: capire cosa distingue l'effetto terapeutico da quello tossico è immediatamente applicativo ed indispensabile.

GILZ (Glucocorticoid-Induced Leucine Zipper)

Come precedentemente accennato, i GC regolano la trascrizione di numerosi geni. GILZ, un gene rapidamente attivato dai GC, è stato identificato nel nostro laboratorio nel 1997 nell'ambito di un ampio studio il cui fine era quello di scoprire geni la cui trascrizione fosse attivata da GC e che fossero eventualmente coinvolti nell'attività regolatoria dell'apoptosi da parte dei GC (17). In seguito, abbiamo dimostrato che GILZ è

in grado di mediare molti effetti indotti dai GC tra cui la modulazione dell'attivazione di linfociti T, la produzione di IL-2, l'apoptosi e la proliferazione cellulare (3-4, 21). Inoltre, durante lo studio delle diverse proteine codificate da GILZ, abbiamo evidenziato diversi domain in grado di meglio definire il ruolo fisiologico di GILZ.

GILZ omodimerizza e lega altre molecole a localizzazione citoplasmatica e nucleare

GILZ, è stato inizialmente proposto come un soppressore della trascrizione ed anche come fattore trascrizionale, benché non contenga nessuna sequenza tipica dei domini di legame al DNA. GILZ, per mezzo del dominio Leucine Zipper può formare omodimeri. Inoltre è in grado di eterodimerizzare con altre proteine del segnale, quale ad esempio il fattore di trascrizione NF-kB (3, 22). L'interazione di GILZ con NF-kB ne inibisce la traslocazione nucleare, il legame al DNA e l'attività transattivante (3). Gli ulteriori studi sull'interazione GILZ/NF-kB hanno messo in evidenza come l'omodimerizzazione e i primi 29 aminoacidi della regione COOH-terminale, ricca in proline (amino acidi 98-127), adiacente al dominio Leucine Zipper, sono essenziali per questa interazione e per l'effetto di inibizione dell'attività transattivante di NF-kB (22).

GILZ è anche in grado di legare Raf-1 per mezzo del suo dominio di legame a Ras (RBD) (5). Questa interazione, che coinvolge la porzione NH2-terminale di GILZ fu inizialmente considerata come il meccanismo più importante di inibizione della via MAPK (MEK1/2, ERK1/2) e dell'attivazione trascrizionale di AP-1, in grado peraltro di spiegare l'azione antiproliferativa dei GC (5). Più recentemente abbiamo messo in evidenza che GILZ è in grado di interagire anche con Ras (4). In particolare, GILZ interagisce soprattutto con Ras attivato e GILZ,

Raf-1 e Ras possono formare un complesso trimetrico la cui formazione dipende dallo stato di attivazione di Ras: da questo infatti dipende l'equilibrio tra il trimero Raf-1/GILZ ed eventuali aggregati dimerici quali GILZ/Ras e GILZ/Raf-1. Lo studio molecolare per definire quali porzioni legano le diverse proteine ha messo evidenza come il legame di GILZ con Raf-1 avviene attraverso una porzione della molecola contenuta nei primi 60 aminoacidi della porzione N-terminale, mentre il legame con Ras è mediato dal TSC-box, una porzione adiacente al Leucine Zipper nella parte opposta a quella che lega NF-kB. L'interazione con Ras e Raf-1 porta all'inibizione della via MAPK (via di ERK) e della via della serina treonina chinasi AKT/Pkb, mentre l'interazione con il solo Raf-1 porta alla sola inibizione della via MAPK/ERK. Questi dati dimostrano come entrambe le interazioni, dimerica e trimetrica, hanno rilevanza funzionale (4). In questo modo GILZ esercita sia un'azione anti-proliferativa, ben compatibile con le azioni dei GC, sia un'azione anti-oncogenesi, associate con l'inibizione dell'attivazione di ERK1/2 ed Akt, della fosforilazione di Rb e dell'espressione della Ciclina D1.

Ruolo di GILZ nella risposta antinfiammatoria/immunosoppressiva indotta dai GC

Le attività antinfiammatoria ed immunosoppressiva dei GC condividono molti meccanismi comuni a livello molecolare e cellulare. Infatti entrambi gli effetti dipendono dalle variazioni funzionali che i GC sono in grado di indurre nei leucociti. La transrepressione dei geni infiammatori è il meccanismo più largamente accettato essere responsabile della inibizione dell'infiammazione. In diversi tipi di cellule, i GC sopprimono, per esempio, la produzione di fattori critici per la generazione della risposta infiammatoria

con la conseguente diminuzione di fattori vasoattivi, fattori chemotattici, enzimi lipolitici e proteolitici, inibizione dell'extravasazione dei leucociti nelle aree infiammatorie ed inibizione del processo fibrotico. Inoltre, i GC sono in grado di inibire l'espressione di enzimi proinfiammatori, come la cicloossigenasi-2 (COX-2) e la nitrossido sintasi (NOS2) (14, 34).

Allo stesso modo, i GC inibiscono la produzione di mediatori critici della risposta immunitaria. Sono in grado di sopprimere sia la risposta innata che la risposta adattiva-specifica attraverso la modulazione dell'espressione di citochine e loro recettori, dell'apoptosi e della proliferazione cellulare in un complesso sistema che coinvolge praticamente tutte le cellule del sistema immunitario quali macrofagi e cellule dendritiche, timociti, linfociti T e B (2, 35).

Sebbene gli effetti dei GC sulle cellule del sistema immunitario siano stati molto studiati, si sa ancora poco relativamente al possibile ruolo di geni indotti da trattamento con GC. Tra le numerose proteine regolate dai GC, per mezzo della regolazione della trascrizione genica, GILZ potrebbe essere un buon esempio di gene attivato da GC ed il cui prodotto proteico è coinvolto nel mediare l'effetto immunosoppressivo and antinfiammatorio.

GILZ, GC e cellule dell'immunità innata

I GC sono in grado di regolare l'attività dei macrofagi e delle cellule dendritiche (DC) in diverse maniere. Ad esempio i GC inibiscono la processazione dell'antigene, la sua presentazione e l'azione attivante dell'interferone gamma (IFN γ) (28, 38). Inoltre, i GC riducono la sopravvivenza e la maturazione delle DC, riducono l'espressione dell'HLA, della molecola costimolatoria CD80 ed il rilascio di varie citochine quali IL-1, IL-6, IL12p70 e TNF- α , chemochine, Rantes

e MIP-1 α (38). Studi precedenti indicano come GILZ sia costitutivamente espresso nei macrofagi e la sua espressione è aumentata dal trattamento con GC (8, 12). GILZ inibisce la risposta dei macrofagi ad LPS e la loro secrezione di TNF α e Rantes (26). Inoltre in cellule macrofagiche THP-1 la trasfezione di GILZ mima gli effetti dei GC inibendo la produzione di IFN γ , l'espressione di CD80 e CD86, la produzione di Rantes e MIP-1 α . Inoltre il trattamento di THP-1 con GC aumenta l'espressione di GILZ che lega ed inibisce p65NF-kB (8). Allo stesso modo in DC umane i GC inducono l'espressione di GILZ che inibisce l'espressione di MHCII ed altre molecole costimolatorie, e l'attività immunogenica (15).

GILZ, GC e linfociti T

Tra le varie cellule componenti del sistema immunitario GILZ è fortemente indotto dal trattamento con GC nei timociti (17) dove i GC hanno diversi ruoli quali l'induzione di apoptosi e la protezione dalla morte indotta dalla stimolazione del TCR (T-cell receptor) (2). Più in particolare, i GC inducono apoptosi soprattutto in cellule CD4+CD8+ doppio positive, non ancora completamente differenziate a cellule mature, sebbene il meccanismo responsabile di tale effetto non sia stato ancora completamente chiarito. Inoltre, l'apoptosi dei timociti è regolata da molti segnali che coinvolgono anche molecole della famiglia di Bcl-2 tra cui Bcl-xL (30-31). GILZ potrebbe giocare un ruolo nell'apoptosi da GC ed alcune indicazioni vengono dalle osservazioni su topi GILZ transgenici da cui si evidenzia come la maggior espressione di GILZ correla con un' aumentata apoptosi dei timociti CD4+CD8+ doppio positivi paragonabile a quella indotta dal trattamento con GC (21). Inoltre l'apoptosi indotta dalla stimolazione del TCR è inibita nei timociti dei topi transgenici in

modo comparabile a quanto accade con il trattamento con GC di timociti attivati tramite stimolo del TCR (20).

L'attività immunosoppressiva ed antinfiammatoria dei GC è il risultato di molteplici azioni tra cui molto importante è la modulazione dell'attività dei linfociti T. Infatti i GC modulano non solo l'attivazione e l'apoptosi dei linfociti T, ma regolano anche la produzione di citochine tramite la modulazione della differenziazione di linfociti CD4+ verso il fenotipo Th1 e Th2. I GC inibiscono la risposta cellulo-mediata responsabile della DTH, una risposta Th-1, ma non intaccano la risposta Th-2 (23). L'aumentata espressione di GILZ ha effetti sovrapponibili a quelli osservati dopo trattamento coi GC. Infatti, induce la produzione di IL-4 e inibisce la produzione di IFN γ , inibendo in questo modo la risposta Th-1 a favore della risposta Th-2 (10-11).

Altre osservazioni indicano come GILZ giochi un ruolo importante nel mediare gli effetti dei GC nella regolazione della risposta mediata da linfociti T. Ad esempio, studi in vitro indicano che GILZ antagonizza l'attivazione e l'apoptosi derivate dall'attivazione del TCR tramite l'inibizione di NF- κ B e la conseguente inibizione dell'espressione di Fas e FasL (3, 17). Inoltre GILZ media l'effetto antiproliferativo che i GC esercitano sui linfociti T impedendone l'espansione in seguito a stimoli di attivazione (4). Il meccanismo molecolare responsabile di tale effetto risiede nella capacità di GILZ di interagire con Ras e Raf-1 in una conformazione trimerica o dimerica (4), con conseguente inibizione dei segnali a valle di Ras quali ERK ed Akt (4).

GILZ, GC e cellule mesenchimali

I GC sono largamente usati nel trattamento di molte malattie infiammatorie ed autoimmunitarie, quale ad esempio l'artrite

reumatoide (RA), tramite la regolazione di numerosi stimoli e segnali. Citochine infiammatorie, come ad esempio IL-1 e TNF α , l'inibizione della COX-2, un enzima importante per il metabolismo dell'acido arachidonico ed il processo infiammatorio, e progenitori del midollo osseo di cellule stromali (MSC) sono alcuni esempi dei numerosi mediatori e cellule potenzialmente coinvolte nella patogenesi della RA. I GC sono in grado di inibire tali processi e risultare efficaci nella terapia della RA. GILZ sembra essere uno dei mediatori attraverso cui i GC sono in grado di inibire la progressione della RA. Infatti, in modelli sperimentali murini la aumentata espressione di GILZ indotta dal trattamento con GC, è in grado di inibire la produzione di TNF α e della COX-2 indotta da IL-1- β , attraverso l'inibizione di NF- κ B. Il silenziamento di GILZ, inoltre, inibisce l'effetto terapeutico dei GC (39). Nel loro insieme tutte queste osservazioni suggeriscono che GILZ media gli effetti antinfiammatori ed immunosoppressivi dei GC e che, come evidenziato in molti modelli sperimentali in diversi laboratori, l'interazione con NF- κ B e MAPK riveste un ruolo importante nel contribuire a tali effetti.

Conclusione

In conclusione le osservazioni ottenute in diversi laboratori indicano come GILZ sia coinvolto nel complesso meccanismo d'azione dei glucocorticoidi ed in particolare nella regolazione di alcuni dei meccanismi cellulari e molecolari responsabili della loro azione antinfiammatoria ed immunosoppressiva. Nel loro insieme questi studi evidenziano come la regolazione della trascrizione genica sia un meccanismo determinante nel mediare, attraverso l'induzione della trascrizione di diversi geni, come ad esempio GILZ, gli effetti terapeutici. Studi futuri miranti ad una sempre più approfondita conoscenza

dei meccanismi molecolari potrà permettere una migliore appropriatezza prescrittiva atta anche a minimizzare possibili effetti avversi conseguenti alla terapia.

Riassunto

I glucocorticoidi (GC) sono ampiamente usati nella terapia delle malattie infiammatorie ed autoimmunitarie. I loro effetti sono il risultato di numerosi meccanismi genomici e non genomici inclusa la regolazione della trascrizione genica. Infatti, i GC regolano la trascrizione di numerosi geni attraverso l'interazione con il loro recettore (GR). L'induzione e/o l'inibizione dell'espressione genica sono responsabili degli effetti terapeutici dei GC così come degli effetti collaterali che possono rappresentare un limite per il loro uso terapeutico. L'analisi dei meccanismi molecolari alla base degli effetti terapeutici e degli effetti collaterali dei GC è molto importante e richiede ulteriori approfondite ricerche. In particolare, un tema importante è riuscire a capire come un singolo gene può essere legato ad uno specifico effetto indotto dai GC. Noi abbiamo identificato GILZ (Glucocorticoid-Induced Leucine Zipper), un gene rapidamente attivato dal desametasone, nel contesto di uno studio il cui scopo era quello di identificare gene attivati dal trattamento con GC. La prima osservazione indicante che GILZ gioca un ruolo nell'immunomodulazione indotta da GC viene dall'osservazione che l'aumento di espressione di GILZ nei linfociti T li protegge dall'apoptosi indotta dalla stimolazione del TCR. Abbiamo poi trovato che GILZ inibisce NF- κ B. Questa osservazione, insieme all'osservazione della interazione di GILZ anche con AP-1, Ras e Raf-1, è stata confermata da molti altri laboratori e spiega in parte alcune delle azioni dei GC. In accordo con questi dati, l'inibizione dell'espressione di GILZ contrasta la capacità antiproliferativa dei GC e la loro capacità di inibire l'espressione della COX-2. Tutte queste osservazioni suggeriscono che GILZ è un importante mediatore degli effetti antinfiammatori ed immunosoppressivi dei GC.

Bibliografia

1. Abraham SM, Lawrence T, Kleiman A, et al. Anti-inflammatory effects of dexamethasone are partly dependent on induction of dual specificity phosphatase 1. *J Exp Med* 2006; **203**: 1883-9.
2. Ashwell JD, Lu FW, Vacchio MS. Glucocorticoids in T cell development and function. *Annu Rev Immunol* 2000; **18**: 309-45.
3. Ayroldi E, Migliorati G, Bruscoli S, et al. C. Modulation of T-cell activation by the glucocorticoid-induced leucine zipper factor via inhibition of nuclear factor κ B. *Blood* 2001; **98**: 743-53.
4. Ayroldi E, Zollo O, Bastianelli A, et al. GILZ mediates the antiproliferative activity of glucocorticoids by negative regulation of Ras signaling. *J Clin Invest* 2007; **117**: 1605-15.
5. Ayroldi E, Zollo O, Macchiarulo A, Di Marco B, Marchetti C, Riccardi C. Glucocorticoid-induced leucine zipper inhibits the Raf-extracellular signal-regulated kinase pathway by binding to Raf-1. *Mol Cell Biol* 2002; **22**: 7929-41.
6. Barnes PJ. Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clin Sci (Lond)* 1998; **94**: 557-72.
7. Barnes PJ, Adcock I. Anti-inflammatory actions of steroids: molecular mechanisms. *Trends Pharmacol Sci* 1993; **14**: 436-41.
8. Berrebi D, Bruscoli S, Cohen N, et al. Synthesis of glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ) by macrophages: an anti-inflammatory and immunosuppressive mechanism shared by glucocorticoids and IL-10. *Blood* 2003; **101**: 729-38.
9. Bianchini R, Nocentini G, Krausz LT, et al. Modulation of pro- and antiapoptotic molecules in double-positive (CD4+CD8+) thymocytes following dexamethasone treatment. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; **319**: 887-97.
10. Cannarile L, Cuzzocrea S, Santucci L, et al. Glucocorticoid-Induced Leucine Zipper Is Protective in Th1-Mediated Models of Colitis. *Gastroenterology* 2008; **136**: 530-41.
11. Cannarile L, Fallarino F, Agostini M, et al. Increased GILZ expression in transgenic mice up-regulates Th-2 lymphokines. *Blood* 2006; **107**: 1039-47.
12. Cannarile L, Zollo O, D'Adamio F, et al. Cloning, chromosomal assignment and tissue distribution of human GILZ, a glucocorticoid hormone-induced gene. *Cell Death Differ* 2001; **8**: 201-3.
13. Cifone MG, Migliorati G, Parroni R, et al. Dexamethasone-induced thymocyte apoptosis: apoptotic signal involves the sequential activation of phosphoinositide-specific phospholipase C, acidic sphingomyelinase, and caspases. *Blood* 1999; **93**: 2282-96.
14. Clark AR. Anti-inflammatory functions of glucocorticoid-induced genes. *Mol Cell Endocrinol* 2007; **275**: 79-97.
15. Cohen N, Mouly E, Hamdi H, et al. GILZ expression in human dendritic cells redirects their maturation and prevents antigen-specific T lymphocyte response. *Blood* 2006; **107**: 2037-44.

16. Cupps TR, Fauci AS. Corticosteroid-mediated immunoregulation in man. *Immunol Rev* 1982; **65**: 133-55.
17. D'Adamio F, Zollo O, Moraca R, et al. new dexamethasone-induced gene of the leucine zipper family protects T lymphocytes from TCR/CD3-activated cell death. *Immunity* 1997; **7**: 803-12.
18. Davies L, Karthikeyan N, Lynch JT, et al. Cross talk of signaling pathways in the regulation of the glucocorticoid receptor function. *Mol Endocrinol* 2008; **22**: 1331-44.
19. De Bosscher K, Vanden Berghe W, Haegeman G. Mechanisms of anti-inflammatory action and of immunosuppression by glucocorticoids: negative interference of activated glucocorticoid receptor with transcription factors. *J Neuroimmunol* 2000; **109**: 16-22.
20. Delfino DV, Agostini M, Spinicelli S, Vacca C, Riccardi C. Inhibited cell death, NF-kappaB activity and increased IL-10 in TCR-triggered thymocytes of transgenic mice overexpressing the glucocorticoid-induced protein GILZ. *Int Immunopharmacol* 2006; **6**: 1126-34.
21. Delfino DV, Agostini M, Spinicelli S, Vito P, Riccardi C. Decrease of Bcl-xL and augmentation of thymocyte apoptosis in GILZ overexpressing transgenic mice. *Blood* 2004; **104**: 4134-41.
22. Di Marco B, Massetti M, Bruscoli S, et al. Glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ)/NF-kappaB interaction: role of GILZ homo-dimerization and C-terminal domain. *Nucleic Acids Res* 2007; **35**: 517-28.
23. Elenkov IJ. Glucocorticoids and the Th1/Th2 balance. *Ann N Y Acad Sci* 2004; **1024**: 138-46.
24. Falkenstein E, Wehling M. Nongenomically initiated steroid actions. *Eur J Clin Invest*; 30 2000 (3 Suppl): 51-4.
25. Goulding NJ, Guyre PM. Regulation of inflammation by lipocortin 1. *Immunol Today* 1992; **13**: 295-7.
26. Hamdi H, Godot V, Maillot MC, et al. Induction of antigen-specific regulatory T lymphocytes by human dendritic cells expressing the glucocorticoid-induced leucine zipper. *Blood* 2007; **110**: 211-9.
27. Hoffman GS. Immunosuppressive therapy for autoimmune diseases. *Ann Allergy* 1993; **70**: 263-74.
28. Hu X, Li WP, Meng C, Ivashkiv LB. Inhibition of IFN-gamma signaling by glucocorticoids. *J Immunol* 2003; **170**: 4833-9.
29. Kumar R, Thompson EB. Gene regulation by the glucocorticoid receptor: structure: function relationship. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005; **94**: 383-94.
30. Lepine S, Sulpice JC, Giraud F. Signaling pathways involved in glucocorticoid-induced apoptosis of thymocytes. *Crit Rev Immunol* 2005; **25**: 263-88.
31. Ma A, Pena JC, Chang B, et al. Bclx regulates the survival of double-positive thymocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; **92**: 4763-7.
32. Marchetti MC, Di Marco B, Cifone G, Migliorati G, Riccardi C. Dexamethasone-induced apoptosis of thymocytes: role of glucocorticoid receptor-associated Src kinase and caspase-8 activation. *Blood* 2003; **101**: 585-93.
33. Payne DN, Adcock IM. Molecular mechanisms of corticosteroid actions. *Paediatr Respir Rev* 2001; **2**: 145-50.
34. Rhen T, Cidlowski JA. Antiinflammatory action of glucocorticoids--new mechanisms for old drugs. *N Engl J Med* 2005; **353**: 1711-23.
35. Rook GA. Glucocorticoids and immune function. *Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 1999; **13**: 567-81.
36. Scheinman RI, Cogswell PC, Lofquist AK, Baldwin AS, Jr. Role of transcriptional activation of I kappa B alpha in mediation of immunosuppression by glucocorticoids. *Science* 1995; **270**: 283-6.
37. Simons SS, Jr. What goes on behind closed doors: physiological versus pharmacological steroid hormone actions. *Bioessays* 2008; **30**: 744-56.
38. van den Heuvel MM, van Beek NM, Broug-Holub E, et al. Glucocorticoids modulate the development of dendritic cells from blood precursors. *Clin Exp Immunol* 1999; **115**: 577-83.
39. Yang N, Zhang W, Shi XM. Glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ) mediates glucocorticoid action and inhibits inflammatory cytokine-induced COX-2 expression. *J Cell Biochem* 2008; **103**: 1760-71.