A természetes regulatív T sejtek szerepe atópiás dermatitisben

The role of natural regulatory T cells in atopic dermatitis

GÁSPÁR KRISZTIÁN DR.¹, BARÁTH SÁNDOR DR.², KAPITÁNY ANIKÓ DR.¹,
SZEGEDI ANDREA DR.¹

Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Bőrgyógyászati Tanszék,
Bőrgyógyászati Allergológiai Tanszék¹
Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Labormedicina Intézet²

ÖSSZEFOGLALÁS

Az atópiás dermatitis (AD) egy krónikus, remissziókat és relapszusokat mutató, kifejezett viszketéssel járó, nem fertőző, gyulladásos bőrbetegség. A növekvő ismeretanyag segít megérteni a betegség kialakulásának hátterében álló, klinikailag is releváns patofiziológiai eseményeket. A szerzők bemutatják a természetes regulatív T (nTreg) sejteket, és az AD kialakulásának hátterében álló immunológiai folyamatokban játszott szerepüket. Az nTreg sejtek számának változásai fontos indikátorai a betegség súlyosságának. Emellett a sejtek funkciójának zavara is megfigyelhető az atópiás mikroenvironment hatására.

Kulcsszavak:
atópiás dermatitis - regulatív T sejtek -
Staphylococcus enterotoxin B

SUMMARY

Atopic dermatitis (AD) is a chronic, non-contagious, pruritic inflammatory skin disease showing frequent remissions and relapses. The expanding knowledge about the disease helps to understand the clinically relevant pathophysiological processes behind the development of the disorder. The authors present the natural regulatory T (nTreg) cells and their role in the immunological alterations in AD. The changes in the number of nTreg cells are important indicators of the severity of the disease. Besides the functional impairment of nTreg cells is apparent in the atopic microenvironment.

Key words:
atopic dermatitis - regulatory T cells -
Staphylococcus enterotoxin B

Az atópiás dermatitis (AD) egy gyakori, krónikus lefolyást mutató, remissziókkal és fellángolásokkal kísért gyulladásos bőrbetegség, melyet a bőr szárazsága és kifejezett viszketése jellemez.

Számos vizsgálat eredménye segítette a betegség patomechanizmusának megértését, de a pontos részletek máig sem tisztázottak. Az AD egy multifaktoriális betegség, hátterében genetikai prediszpozíció talaján a fiziko-kémiai bőrbarrier sérülése, valamint a természetes és szerzett immunválasz zavara (beleértve az immuntolerancia eltéréseit) játszik szerepet, ahol a tünetek kialakulását különböző környezeti faktorok (pl. allergiás szenzitivizáció és mikrobiális elemek jelenléte) is súlyosbíthatják (1, 2).

Az immunválasz szabályozásában fontos szereplők a regulatív tulajdonsággal rendelkező T sejtek. Az egyik ilyen sejtcsoport a forkhead box P3-t (FOXP3) expresszáló CD4⁺CD25^{bright}FOXP3⁺ természetes (natural) regulatív T (nTreg) sejtek csoportja, melyek szerepe intenzív kutatások tárgya AD-ben. Ugyanakkor az nTreg funkciók jellemzőire vonatkozó vizsgálati eredmények el-

lentmondások a betegségben. Cikkünk az nTreg sejteket és az AD kialakulásában betöltött szerepüket mutatja be.

Az adaptív immunmechanizmusok változásai AD-ben

Az AD immunmechanizmusainak megértéséhez elengedhetetlen a szerzett immunválasz résztvevőinek, közülük is elsősorban a T sejteknek az ismerete. A T lymphocyták központi szerepet játszanak a betegség lefolyásában. A bőrt infiltráló T sejtek között nagy számban találjuk a bőr (cutan) lymphocytá-asszociált antigén (CLA)⁺ memória és effektor T sejteket, melyekre a betegség akut fázisában a bőrben a barrier defektus következtében fenntartott T helper 2-típusú (Th2) citokin termelés (interleukin(IL)-4, IL-5, IL-13) jellemző (3). Megfigyelhetők azok az egymásra kölcsönösen ható és egymást erősítő események, miszerint a Th2 túlsúlyú gyulladás elősegíti a barrier károsodását, illetve a sérült barrieren keresztül átjutó kifejezett allergén

expozíció Th2 túlsúlyt idéz elő. Az AD krónikus fázisa során a bőrben már nem csupán Th2 sejtek detektálhatók, hanem a Th2 sejtek mellett fontos szerepet játszanak a Th1 és Th22 sejtek is (1, 4). A vérben a bifázisos Th eloszlás a bőrrel ellentétben nem jellemző, itt Th2 túlsúly figyelhető meg a betegség akut és krónikus szakaszában is.

Az immunológiai barrier AD-ben lejátszódó változásainak részletes megismerése napjainkban új terápiák kifejlesztéséhez vezetett. Ilyen, jelenleg III. fázisú klinikai vizsgálatokban tesztelt biológiai terápiás kezelés az anti-IL-4R ellenes antitest (dupilumab), mely mind az IL-4, mind az IL-13 hatását blokkolja, ezáltal gyors és jelentős javulást hozva a súlyos klinikai tüneteket mutató, terápia-refrakter AD betegeknek (5).

A természetes regulatív T sejtek

A jól működő immunrendszer alapvető feladata, hogy felismerje a saját és az idegen antigéneket, megkülönböztesse az ártalmas és az ártalmatlan behatásokat, és ezek alapján kontrollálja az immunválaszokat (a káros struktúrák ellen védekezzen a szervezet, míg a saját struktúrákat tolerálnia kell). A patológiás immunreakciók akár immundeficienciához, akár túlzott immunválaszhoz is vezethetnek. A folyamatok szabályozásában van szerepe a Treg sejteknek is, melyek a perifériás immuntolerancia fontos elemei. Feladataik közé tartozik az autoreaktív sejtek működésének szuppressálása, az immunológiai tolerancia kialakítása (6).

A Treg sejtek egészséges felnőttekben a CD4⁺ sejtek 5-10%-át teszik ki. A sejteknek 3 fő csoportja ismert (kialakulásukat az 1. ábra mutatja be): a transzformáló növekedési

faktor- β (transforming growth factor- β) termelő TGF- β ⁺FOXP3⁻ Th3 sejtek, az IL-10 termelő IL-10⁺ FOXP3⁻ immunszuppresszív Tr1 sejtek, valamint a CD4⁺ CD25^{bright} FOXP3⁺ Treg sejtek (7, 8). Ez utóbbi nTreg sejtek részt vesznek az allergénspecifikus immunválasz, így a normál immunhomeosztázis szabályozásában és az antigén prezentáló sejtek, effektor T sejtek és hízósejtek gátlásában is (9-11). Gátolják továbbá a T sejtek differenciációját, aktivációját, proliferációját, citokin szekrécióját, migrációját is. Ezen túlmenően az aktív nTreg-ek feladata az autoagresszív lymphoproliferatív betegségek kialakulásának megelőzése, az immunválasz modulálása infekciók, autoimmun folyamatok, malignus betegségek kialakulása során (12).

Az nTreg sejtek létrejötte a thymusban kétlépcsős folyamat eredménye. Először a T sejt receptor szignál CD25 upregulációt okoz, létrehozva az nTreg prekurzorokat, majd az IL-2 szignál a FOXP3 expressziójához vezet (6). A humán nTreg sejtek a CD25 antigént fokozott mértékben expresszálják (CD25^{bright}) szemben a CD25^{low} sejtekkel, és szuppresszív tulajdonságokkal csak a CD25^{bright} sejtek rendelkeznek. A CD25⁺ sejtek tehát nem kizárólag regulatív sejtek, közöttük lehetnek effektor funkciókkal bíró sejtek is.

A regulatív funkció kimutatása ugyanakkor igen nagy technikai kihívás, mert nincs olyan kizárólagos és specifikus marker az nTreg sejteken, amely akár fenotípusukat, akár funkciójukat vagy aktivitásuk mértékét tükrözné. A regulatív T sejtek azonosítására a legelterjedtebb módszer az áramlási citometria. Napjainkban a fent említett CD4 és CD25 markerek mellett a Treg sejtek azonosításához használt, leginkább elfogadott molekula a FOXP3 transzkripciós faktor jelenlétének, továbbá a CD127 sejtfelszíni

molekula alacsony expressziójának detektálása. Pontosabb meghatározást tehet lehetővé a FOXP3 lókuszt demetiláltságának kimutatása. Ez a módszer identifikálhatja a szuppresszor funkcióval rendelkező sejteket (13), habár emberben a FOXP3 önmagában kevésbé meghatározó a regulatív tulajdonsággal bíró sejtek kimutatásában (6).

Ismert tulajdonság a T sejtek plaszticitása is, azaz nem minden T sejt alcsoport végérvényesen differenciált, hanem a sejtek plasztikusak, és megváltozott gyulladásos milieu-ben a mikrokozonyozattól függően képesek a memória T sejtek különböző fenotípusát és funkciót „felvenni” (14). Így az nTreg sejtek képesek akár Th2 sejté alakulni a FOXP3 expresszió csökkenése által (15). A folyamat fordítva is végbemehet, valamint egyéb effektor T sejtek

1. ábra

A CD4⁺ regulatív tulajdonsággal rendelkező T (Treg) sejtek formái

irányába is lejátszódhat. A folyamatban központi szerepet játszik a TGF- β . Az nTreg sejtek kialakulása 3 fő mechanizmus szerint történhet. A sejtek nagy része a thymusban alakul ki („thymus” nTreg-ek). Ezek a FOXP3⁺ sejtek már érésük során megszerzik regulatív irányú elkötelezettségüket, de emellett – például mikrobiális antigéneket bemutató CD103⁺ dendritikus sejtek hatására – a periférián is végbemehet az nTreg-ek kialakulása („perifériás” nTreg-ek) (16), továbbá a hagyományos CD4⁺ Th sejtek TGF- β jelenlétében a T sejt receptor stimuláció hatására „indukált” Treg-eket hozhatnak létre *in vitro*, mely folyamat az effektor T sejtek citokin indukált differenciációjához hasonlóan történik. Az így létrejött differenciált Treg-ek a fenotípusban hasonló T effektor sejteket regulálják (12, 17).

Az nTreg sejtek szerepe AD-ben

A Treg-ek emberben fiziológiás körülmények között nemcsak a perifériás vérben és a nyirokszervekben fordulnak elő, hanem számos olyan struktúrát hordoznak felszínükön, melyek a bőrbe való vándorlásukat segítik elő, ezáltal mintegy sugallva szerepüket az immunszabályozásban bőrgyulladás során. Ugyanakkor mégis kevés ismerettel rendelkezünk az nTreg sejtek szerepéről és funkciójáról atópiás bőrben. Érdekes megfigyelés, hogy a *FOXP3* gén mutációja esetén nem keletkeznek nTreg-ek, és hiányukban immundiszreguláció, polyendokrinopa-

thia, enteropathia, X-hez kötött szindróma alakul ki, ahol AD-szerű tünetek (súlyos eczema, eosinophilia, emelkedett immunglobulin (Ig)E szint, allergiás légúti betegségek, ételallergia) is megjelennek (18). Ezen betegség megfigyelése vezetett ahhoz a kérdéshez, hogy vajon az nTreg-ek számbeli és/vagy funkcióbeli változásai szerepet játszanak-e az AD kialakulásában (6, 8, 19)?

Kevés és ellentmondásos eredményeket bemutató human vizsgálat történt az nTreg szám és funkció meghatározására AD-ben. Tejfehérje allergiásokat vizsgálva a perifériás vérben nem találtak eltérést az nTreg számban és funkcióban, ugyanakkor atópiás hajlamot mutató betegekben a pollenszezon idején alacsonyabb allergén-specifikus nTreg számot mértek a vérben (20). A felnőtt AD populációban számos vizsgálat a keringő CD4⁺CD25^{bright} FOXP3⁺ nTreg sejtek magasabb számát írta le és azok pozitív korrelációját a betegség súlyosságával, továbbá feltételezték, hogy ezek a sejtek nem működnek megfelelően (6, 21-23). Más kutatócsoportok azonban az egészséges donorpopulációban talált nTreg számmal megegyező mennyiségű sejtet találtak AD betegek perifériás vérében (24). Saját vizsgálatainkban a perifériás vérben karakterizáltuk az nTreg-ek, ezen belül a speciális, bőrbe érkező nTreg sejtek komplex mennyiségi és funkcionális változásait AD betegekben (25). Azt találtuk, hogy a regulatív funkcióval rendelkező nTreg és a bőrbe vándorló CLA⁺ nTreg sejtpopulációk százalékos előfordulása szignifikánsan emelkedett volt AD betegek perifériás vérében az

2. ábra

A CD4⁺CD25^{bright}FOXP3⁺ nTreg sejtek feltételezett szerepe AD-ben. Az atópiás bőrfelszínen lévő allergén és bakteriális stimulusok gyulladásához vezetnek, mely a FOXP3⁺ T sejtek helyi indukcióját okozza. Ezek a sejtek lehetnek regulatív funkcióval rendelkező indukált Treg-ek, melyek funkcióját a folyamatos SEB jelenlét elnyomhatja további bőrgyulladásához vezetve. Emellett a FOXP3⁺ sejtek lehetnek átmeneti Th2-szerű effektor sejtek is, amik önmagukban is elősegíthetik az atópiás bőrgyuladást. A perifériás FOXP3⁺ sejtek mennyisége mérhető, mely adat információt adhat a betegség súlyosságáról. (SEB: *staphylococcus* enterotoxin B; TSLP: thymus stromális lymphopoetin)

egészséges kontrollokhoz képest, és szignifikáns korrelációt mutatott a betegség súlyossági paramétereivel (25).

Hasonlóan az előzőekhez az atópiás gyulladásos bőrben talált nTreg sejtvizsgálatok eredményei is igen ellentmondásosak. Míg az egyik vizsgálat nem talált nTreg sejteket lézionális AD bőrben (26), addig egy másik nagy mennyiségű sejtet írt le a bőrben (27). Saját vizsgálataink szerint a CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ nTreg sejtek szignifikánsan emelkedett számát találtuk atópiás bőrben, továbbá az atópiás ráhelyezési teszt (atopy patch test) pozitív AD betegek biopsziáiban olyan epidermális sejtaggregátumokat figyeltünk meg, melyek szoros kapcsolatot mutattak a FOXP3⁺ nTreg sejtekkel, utalva ezen sejtek AD kialakulásában betöltött elengedhetetlen szerepére (28).

Az AD betegek nagy százalékában írtak le *Staphylococcus aureus* kolonizációt. Az nTreg sejtek funkcióinak változásait AD-ben vizsgálva leírták, hogy *S. aureus* jelenlétében a regulatív sejtek elvesztették az effektor T sejteken való szuppresszív hatásukat (21). Korábbi vizsgálatainkban funkcionális tesztekkel azt is bizonyítottuk, hogy az nTreg szuppresszor funkciók aktivitás homeosztatisztikus körülmények között az atópiás betegekben megtartott, de dózisfüggő *staphylococcus* enterotoxin B (SEB) stimuláció hatására károsodik (nTreg sejtek másodlagos funkciózavar), és a sejtek elveszítik szuppresszív képességüket mind az AD betegekben, mind az egészségesekben (25). Azaz az egyént körülvevő mikrokörnyezet (folyamatos SEB jelenlét a betegek bőrén) jelenti a legnagyobb különbséget a betegekben az egészségesekhez viszonyítva (25, 29).

Az eddig közölt tudományos eredmények alapján egy hipotézis állítható fel az nTreg sejtek lehetséges szerepéről AD-ben (2. ábra). Az állandóan jelenlévő allergén és bakteriális stimulusok szignifikáns effektor T sejt aktivációhoz vezetnek az AD betegek bőrében. A bőrgyulladás során a FOXP3⁺ T sejtek helyi indukciója figyelhető meg. Ha ezek a sejtek regulatív funkcióval rendelkező FOXP3⁺ indukált Treg-ek (25), akkor az AD-ben tapasztalt folyamatos SEB jelenlét elnyomja funkciójukat további intenzív bőrgyuladáshoz vezetve. Ha ezek a sejtek átmeneti FOXP3⁺ Th2-szerű effektor sejtek, akkor önmagukban is képesek az atópiás bőrgyulladás elősegítésére. Ezek a FOXP3⁺ sejtek a periférián megjelenve mérhetők, és információt adnak a betegség súlyosságáról (30, 31).

Összefoglalás

A regulatív T sejtek fontos kontroll funkciókat töltenek be az immunológiai folyamatokban, habár pontos feladatuk AD-ben még nem teljesen tisztázott. Az allergiás, autoimmun és krónikus gyulladásos kórképeket félresiklott effektor T sejt mediált immunválaszok jellemezik, melyeket részlegesen magyarázhatnak az nTreg sejtek mennyiségi és/vagy funkcionális változásai is.

A regulatív sejtek heterogenitása és a specifikus sejtmargók hiánya miatt azonban a különböző vizsgálatok nTreg-ek karakterizálására vonatkozó eredményei nehezen összehasonlíthatók (6, 8). Bár kezdetben feltételezték az nTreg sejtek alacsonyabb számát perifériás vérben AD so-

rán, az irodalmi adatok azt mutatják, hogy a betegek vérében az nTreg sejtek száma emelkedett, és számuk a betegség súlyosságával pozitív korrelációt mutat, mely a FOXP3⁺ nTreg sejtek AD kialakulásában betöltött patogenetikai szerepére utal. A funkcionális tesztek bizonyítják, hogy a betegek perifériás vérében az nTreg sejtek primeren megtartják szuppresszor aktivitásukat, de SEB stimulus hatására az egészségesekhez hasonlóan elvesztik szuppresszív képességüket, azaz az egészségesekkel ellentétben, AD esetén a regulatív sejtek funkciójára a legnagyobb mértékű befolyással a beteg körülvevő mikrokörnyezet van.

A munka elvégzéséhez az OTKA K108421 pályázat nyújtott segítséget.

IRODALOM

1. Bieber T.: Atopic dermatitis. *Ann Dermatol* (2010) 22, 125-137.
2. Levin J., Friedlander S. F., Del Rosso J. Q.: Atopic dermatitis and the stratum corneum: part 1: the role of filaggrin in the stratum corneum barrier and atopic skin. *J Clin Aesthet Dermatol* (2013) 6, 16-22.
3. Toda M., Leung D. Y., Molet S. et al.: Polarized in vivo expression of IL-11 and IL-17 between acute and chronic skin lesions. *J Allergy Clin Immunol* (2003) 111, 875-881.
4. Harskamp C. T., Armstrong A. W.: Immunology of atopic dermatitis: novel insights into mechanisms and immunomodulatory therapies. *Semin Cutan Med Surg* (2013) 32, 132-139.
5. Beck L. A., Thaci D., Hamilton J. D. et al.: Dupilumab treatment in adults with moderate-to-severe atopic dermatitis. *NEJM* (2014) 371, 130-139.
6. Loser K., Beissert S.: Regulatory T cells: banned cells for decades. *J Invest Dermatol* (2012) 132, 864-871.
7. Buzás E.: Immuntolerancia. In: Falus A, Buzás E, Rajnavölgyi É (szerk.): Az immunológia alapjai, Budapest: Semmelweis Kiadó; (2007) 169-172 p.
8. Romagnani S.: Regulatory T cells: which role in the pathogenesis and treatment of allergic disorders? *Allergy* (2006) 61, 3-14.
9. Akdis M., Blaser K., Akdis C. A.: T regulatory cells in allergy: novel concepts in the pathogenesis, prevention, and treatment of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* (2005) 116, 961-968.
10. Honda T., Miyachi Y., Kabashima K.: Regulatory T cells in cutaneous immune responses. *J Dermatol Sci* (2011) 63, 75-82.
11. Samochocki Z., Alifier M., Bodera P. et al.: T-regulatory cells in severe atopic dermatitis: alterations related to cytokines and other lymphocyte subpopulations. *Arch Dermatol Res* (2012) 304, 795-801.
12. Caton A. J., Weissler K. A.: Regulatory cells in health and disease. *Immunol Rev* (2014) 259, 5-10.
13. Agrawal R., Wisniewski J. A., Woodfolk J. A.: The role of regulatory T cells in atopic dermatitis. *Curr Probl Dermatol* (2011) 41, 112-124.
14. Bangert C., Brunner P. M., Stingl G.: Immune functions of the skin. *Clin Dermatol* (2011) 29, 360-376.
15. Wan Y. Y., Flavell R. A.: Regulatory T-cell functions are subverted and converted owing to attenuated Foxp3 expression. *Nature* (2007) 445, 766-770.
16. Geginat J., Paroni M., Maglie S. et al.: Plasticity of human CD4 T cell subsets. *Front Immunol* (2014) 5, 630.
17. Shevach E. M.: From vanilla to 28 flavors: multiple varieties of T regulatory cells. *Immunity* (2006) 25, 195-201.
18. Wildin R. S., Smyk-Pearson S., Filipovich A. H.: Clinical and molecular features of the immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X linked (IPEX) syndrome. *J Med Genet* (2002) 39, 537-545.
19. Boguniewicz M., Leung D. Y.: Atopic dermatitis: a disease of altered skin barrier and immune dysregulation. *Immunol Rev* (2011) 242, 233-246.
20. Romagnani S.: The increased prevalence of allergy and the hygiene hypothesis: missing immune deviation, reduced immune suppression, or both? *Immunology* (2004) 112, 352-363.

21. *Ou L. S., Goleva E., Hall C. et al.*: T regulatory cells in atopic dermatitis and subversion of their activity by superantigens. *J Allergy Clin Immunol* (2004) *113*, 756-763.
22. *Ito Y., Adachi Y., Makino T. et al.*: Expansion of FOXP3-positive CD4⁺CD25⁺ T cells associated with disease activity in atopic dermatitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* (2009) *103*, 160-165.
23. *Palomares O., Yaman G., Azkur A. K. et al.*: Role of Treg in immune regulation of allergic diseases. *Eur J Immunol* (2010) *40*, 1232-1240.
24. *Brandt C., Pavlovic V., Radbruch A. et al.*: Low-dose cyclosporin A therapy increases the regulatory T cell population in patients with atopic dermatitis. *Allergy* (2009) *64*, 1588-1596.
25. *Gáspár K., Baráth S., Nagy G. et al.*: Regulatory T-cell subsets in atopic dermatitis: important indicators of disease severity with acquired functional impairment. *Acta Derm Venerol* (2015) *95*, 151-155.
26. *Verhagen J., Akdis M., Traidl-Hoffmann C. et al.*: Absence of T-regulatory cell expression and function in atopic dermatitis skin. *J Allergy Clin Immunol* (2008) *117*, 176-183.
27. *Schnopp C., Rad R., Weidinger A. et al.*: Fox-P3-positive regulatory T cells are present in the skin of generalized atopic eczema patients and are not particularly affected by medium-dose UVA1 therapy. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* (2007) *23*, 81-84.
28. *Szegedi A., Barath S., Nagy G. et al.*: Regulatory T cells in atopic dermatitis: epidermal dendritic cell clusters may contribute to their local expansion. *Br J Dermatol* (2009) *160*, 984-993.
29. *Ong P. Y., Leung D. Y.*: The infectious aspects of atopic dermatitis. *Immunol Allergy Clin North Am* (2010) *30*, 309-321.
30. *Reefer A. J., Satinover S. M., Solga M. D. et al.*: Analysis of CD25^{hi}CD4⁺ "regulatory" T-cell subtypes in atopic dermatitis reveals a novel T(H)2-like population. *J Allergy Clin Immunol* (2008) *121*, 415-422 e3.
31. *Lin Y. T., Wang C. T., Chao P. S. et al.*: Skin-homing CD4⁺ Foxp3⁺ T cells exert Th2-like function after staphylococcal superantigen stimulation in atopic dermatitis patients. *Clin Exp Allergy* (2011) *41*, 516-525.

Érkezett: 2015. 06. 24.

Közlésre elfogadva: 2015. 06. 30.

A Bőrgyógyászati és Venerológiai Szemle Szerkesztősége fenntartja magának a jogot a hirdetések és szponzorált közlemények elfogadására, de ezek tartalmáért semmilyen körülmények között nem vállal felelősséget.