

Anna BOGDALI
Krystyna OBTUŁOWICZ

Zakład Alergologii Klinicznej
i Środowiskowej UJCM

Znaczenie białek inhibitorowych dopełniacza na limfocytach T regulatorowych w immunopatologii atopowego zapalenia skóry

Słowa kluczowe:

- kaskada komplementu
- limfocyty Treg
- ZAZS

Key words:

- complement cascade
- T reg lymphocytes
- EADS

Zespół atopowego zapalenia skóry charakteryzuje się niejednorodnością patomechanizmów, dlatego też wyróżnia się kilka odmian tego schorzenia o wspólnej manifestacji klinicznej. Atopowemu zapaleniu skóry towarzyszą zaburzenia swoistych i nieswoistych reakcji immunologicznych- w tym aktywacja kaskady dopełniacza oraz zaburzenie funkcjonowania limfocytów T regulatorowych. Obecność białek hamujących aktywność dopełniacza na własnych limfocytach regulatorowych organizmu sugeruje, że nadmierna aktywność dopełniacza w wybranych przypadkach zespołu atopowego zapalenia skóry mogła wpłynąć na zaburzenie regulacji immunologicznej.

The importance of inhibitory complement proteins on T regulatory lymphocytes in the immunopathology of Atopic Dermatitis Syndrome

Atopic Eczema/ Dermatitis Syndrome is characterized by multiplicity of molecular mechanisms disturbance so that a few variants of the disease with the common clinical manifestations have been distinguished. The atopic dermatitis symptoms are in line with specific and non-specific immunological reactions- among them the complement cascade activation and T regulatory lymphocytes functioning are disturbed. The presence of inhibitory proteins of the complement activity on the own organism T regulatory lymphocytes suggests that the influence of complement overactivity in the certain cases of atopic dermatitis syndrome may have contributed to the immunological regulation disruption.

Zespół atopowego zapalenia skóry (Atopic Eczema/ Dermatitis Syndrome (EADS)) to grupa schorzeń ze wspólnymi objawami klinicznymi, ale o różnym patomechanizmie. Podział ZAZS ze względu na patomechanizm został przyjęty w 2001 roku przez EAACI (*European Academy of Allergy and Clinical Immunology*), która wyróżnia następujące odmiany AZS: alergiczny związany z IgE (głównie mechanizm alergii natychmiastowej), alergiczny nie związany z IgE (mechanizm alergii opóźnionej) oraz niealergiczny AZS. Istnieje też mechanizm mieszany czyli współistnienie alergii natychmiastowej i opóźnionej. Klasyfikacja ta nie uwzględnia autoimmunologicznej odmiany AZS [18]. Powszechnie znanym faktem jest udział kaskady dopełniacza w pierwotnych i wtórnych reakcjach odpornościowych, która uczestniczy w swoistych reakcjach immunologicznych, a więc współdziała zarówno z limfocytami B jak i T oraz z nieswoiście oddziałującymi komórkami zapalnymi. Ponadto, wiązanie białka dopełniacza C1q do komórek wchodzących w apoptozę ułatwia usuwanie tych komórek, co może mieć znaczenie w przypadku odmiany AZS o podłożu autoimmunologicznym, aczkolwiek do tej pory nie wykazano takiej zależności [9-11,15].

Białka kaskady dopełniacza jako istotny element wrodzonego układu odpornościowego są obecne w surowicy krwi oraz w płynach tkankowych [19,21]. Aktywacja kaskady dopełniacza prowadzi do powstania biologicznie aktywnych peptydów tzw. anafilatoksyn przy udziale enzymów- konwertaz. Peptydy C3a, C4a i C5a powodują uwolnienie zapalnych mediatorów z mastocytów, indukują skurcz komórek mięśni gładkich, promują wzrost prze-

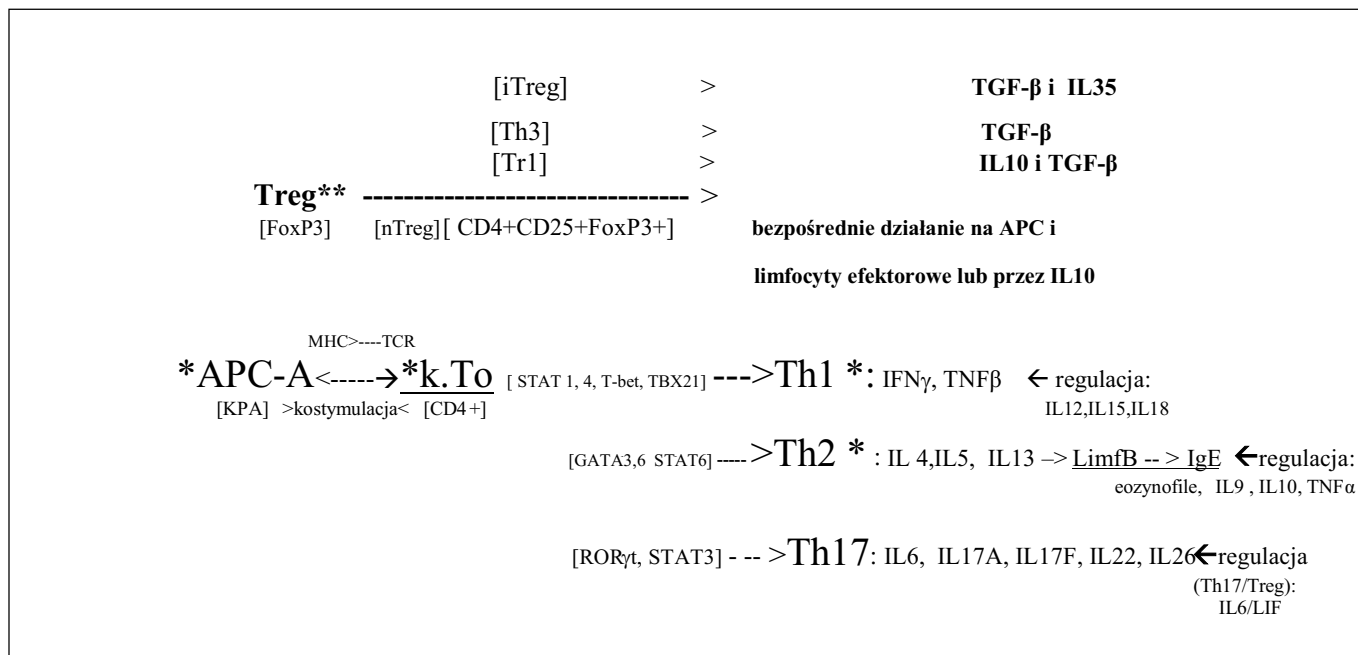
puszczalności nabłonka naczyń krwionośnych i indukują ekspresję molekuł adhezyjnych na powierzchni komórek endotelialnych. Dodatkowo, C3a wpływa na produkcję cytokin prozapalnych tj. $TNF\alpha$ i $IL-1\beta$. Natomiast C3b ułatwia opsonizację patogenu poprzez oddziaływanie z receptorem dopełniacza obecnym na komórkach fagocytujących, co umożliwia efektywne usuwanie patogenu i jego degradację w lizosomach komórek żernych. W końcowym etapie aktywacji kaskady formowany jest kompleks atakujący błonę (MAC) będący kanałem w błonie komórkowej, co w rezultacie prowadzi do lizy komórki. Własne komórki organizmu posiadają białka hamujące powstawanie kompleksu MAC na swojej powierzchni. Do grupy powierzchniowych inhibitorów dopełniacza należą: DAF=CD55 (*Decay Accelerating Factor*), MCP=CD46 (*Membrane Cofactor Protein*) oraz CD59. Zarówno czynnik DAF oraz CR1 przyspieszają rozpad konwertazy C3/C5, natomiast MCP jest kofaktorem dla czynnika 1, który powoduje powstanie nieaktywnej formy iC3b z C3b. Z kolei czynnik CD59 zaburza powstanie aktywnego kompleksu MAC poprzez hamowanie reakcji przyłączania czynnika C9 niezbędnego do uformowania ostatecznej postaci kompleksu atakującego błonę [14-17]. Zainteresowanie rolą układu dopełniacza w patomechanizmie odczynów i schorzeń alergicznych stopniowo wzrasta, jakkolwiek dotychczasowe wyniki badań nie wyjaśniły tego zagadnienia [20].

Istnieją sugestie, że rozwój alergii może mieć związek z zaburzeniem funkcjonowania limfocytów regulatorowych tzw. Treg. Wykazano, że naturalne nTreg oraz Tr1 mogą odgrywać rolę w rozwoju AZS. Chorzy z AZS mają podwyższony poziom limfocytów Tr1 w krwi obwodowej oraz naturalnych Treg w zmianach skórnych [1,5,22,23].

Limfocyty T regulatorowe odgrywają podstawową rolę w tworzeniu tolerancji oraz immunoregulacji [Ryc. 1]. Populacja limfocytów regulatorowych składa się z przynajmniej trzech podgrup powstających z peryferyjnych, naiwnych limfocytów prekursorowych CD4+ (TH_1) tzw. adaptacyjnych limfocytów regulatorowych,

Adres do korespondencji:

Zakład Alergologii Klinicznej i Środowiskowej
Collegium Medicum Uniwersytet Jagielloński
31-531 Kraków, ul. Śniadeckich 10
Tel./Fax: 12 423 11 22



Rycina 1
Regulacja reakcji immunologicznej na antygen [A].
Regulation of immunological reaction on antigen [A].

* Receptory typu Toll Like (TLR: Th3 i Tr1): TLR 1,2,4,5 i 6 zlokalizowane w błonie komórkowej. Receptory TLR 3,7, 8 i 9 zlokalizowane w endosomach cytoplazmy APC/KPA [komórki prezentujące antygen] rozpoznają A [antygen] poprzez receptory TLR (Toll Like Receptor)

** Treg (Th3, Tr1, iTreg oraz nTreg) - limfocyty regulatorowe; w różnicowaniu odgrywa rolę czynnik transkrypcyjny FoxP3 (Forkhead box P3) [22-27].

czyli Th3 wydzielających TGF- β oraz limfocytów regulatorowych Tr1 wydzielających IL10 i TGF β , a także indukowanych limfocytów regulatorowych tzw. iTreg wydzielających TGF β , IL35. Natomiast naturalnie występujące limfocyty regulatorowe CD4+CD25+FoxP3+ Treg różnicują z obecnych w grasicy CD4+ limfocytów prekursorowych, z których powstają również komórki efektorowe (Th1, Th2, Th17) [2,3,7,22-27]. Różnicowanie komórek prekursorowych w odpowiednie subpopulacje limfocytów regulatorowych jest uzależnione od selektywnego działania cytokin i czynników transkrypcyjnych.

Limfocyty Th3, które są głównie indukowane przez ustne podanie antygeny są raczej związane z tolerancją pokarmową. Natomiast komórki Tr1 są indukowane przez podanie antygeny w obecności IL10, która obniża poziom odpowiedzi immunologicznej wpływając na obniżenie ekspresji cytokin prozapalnych oraz hamuje ekspresję cząsteczek MHC klasy II na monocytach. Naturalne limfocyty regulatorowe CD4+CD25+Treg powstają w grasicy i wykazują ciągłą ekspresję łańcucha receptora dla IL2 czyli IL-2R α (CD25). Te komórki działają głównie poprzez mechanizm kontaktowy z limfocytami cytotoksycznymi poprzez receptor CTLA-4. Wykazano obecność TGF- β na powierzchni błony komórkowej tych limfocytów regulatorowych, a charakterystycznym ich markerem jest czynnik transkrypcyjny FoxP3. Komórki CD4+CD25+FoxP3+ Treg oddziałują z limfocytami efektorowymi i komórkami prezentującymi antygen (APC) bezpośrednio lub poprzez produkcję immunosupresyjnej IL10. Wykazano, że białka chroniące własne komórki przed autoagresją ze strony kaskady dopełniacza tj. CR1 oraz DAF są obecne na mysich CD4+CD25+Foxp3-, a nieobecne na CD4+CD25+Foxp3+ Treg, co sugeruje, że czynnik transkrypcyjny FoxP3 wydaje się być zaangażowany u myszy w regulację ekspresji białek kaskady dopełniacza tj. CR1 oraz DAF występujących na powierzchni limfocytów regulatorowych [2, 6- 8, 13].

Podwyższony poziom białka C3 w krwi obwodowej pacjentów chorych na zespół atopowego zapalenia skóry oraz wybranych podgrup limfocytów regulatorowych we krwi obwodowej i zmianach skórnych, a także obecność inhibitora aktywacji komplementu na własnych komórkach organizmu tj. CD46 obecnego na limfocytach regulatorowych, których głównym ligandem jest produkt rozpadu białka komplementu C3 tj. C3b sugeruje istnienie

zależności pomiędzy zaburzeniem mechanizmów funkcjonowania kaskady komplementu oraz limfocytów T regulatorowych w atopowym zapaleniu skóry. Dodatkowo, nieobecność naturalnych Treg w niektórych stwierdzonych przypadkach AZS, a podwyższony poziom tych komórek w innych przypadkach ZAZS sugeruje, że teoretyczny patomechanizm dopełniacz-Treg mógłby odgrywać rolę w niektórych odmianach zespołu atopowego zapalenia skóry. Zrozumienie molekularnych mechanizmów powstawania i rozwoju ZAZS pozwoli na opracowanie odmiennych zaleceń postępowania lekarskiego, w zależności od stwierdzonego patomechanizmu, mających na celu przywrócenie immunologicznej równowagi w organizmie pacjenta [3,4,12,14-17].

Piśmiennictwo

1. Ou LS, Goleva E, Hall C, Leong DY. T regulatory cells in atopic dermatitis and subversion of their activity by superantigens. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 756-763
2. Mahan CS, Thomas JJ, Boom WH, Rojas RE. CD4+CD25highFoxp3+ regulatory T cells downregulate human δ 2+ T-lymphocyte function triggered by anti-CD3 or phosphoantigen. *Immunology* 2009; 127: 398-407
3. Akdis CA. New insights into mechanisms of immunoregulation in 2007. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122: 700-709
4. Jung T, Stingl G. Atopic dermatitis: Therapeutic concepts evolving from new pathophysiological insights. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122: 1074-1081
5. Szegedi A, Barath S, Nagy G, Szodoray P, Gal M, Sipka S, Bagdi E, Banham AH, Krenacs L. Regulatory T cells in atopic dermatitis: epidermal dendritic cell clusters may contribute to their local expansion. *Br J Dermatol* 2009; 160: 984-993
6. Caproni M, Antiga E, Torchia D, Volpi W, Barletta E, Gitti G, De Campora E, Fabbri P. FoxP3-expressing T regulatory cells in atopic dermatitis lesions. *Allergy Asthma Proc* 2007; 28: 525-528
7. Sakaguchi S, Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P, Yamaguchi T. Regulatory T cells: how do they suppress immune responses? *International Immunology* 2009; 21:1105-1111.
8. Li Q, Nacion K, Bu H, Lin F. Mouse CD4+ CD25+ T regulatory cells are protected from autologous complement mediated injury by Crry and CD59. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 382: 223-226
9. Fuchs A, Atkinson JP, Fremeaux-Bacchi V, Kemper C. CD46-induced human Treg enhance B-cell responses. *Eur J Immunol* 2009; 39: 1-13
10. Ghannam A, Pernollet M, Fauquet J-L, Monnier N, Ponard D, Villiers MB, Navarro-Peguet J, Tridon A, Lunardi J, Gerlier D, Drouet C. Absence of memory B

cells and unbalanced T cell responses in a C3 deficient patient. The XIth European Meeting on Complement in Human Disease. *Mol Immunol* 2007; 44: 3909-3994

11. Peng Q, Li K, Sacks SH, Zhou W. Local C5aR signalling is critical for development of DC function in regulating alloreactive T cell response. The XIth European Meeting on Complement in Human Disease. *Mol Immunol* 2007; 44: 3909-3994

12. Isolauri E, Pelto L, Nuutila J, Majamaa H, Lilius E-M, Salminen S. Immuno-deficiency and other clinical immunology. Altered expression of IgG and complement receptors indicates a significant role of phagocytes in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 707-13

13. Nandakumar S, Miller CWT, Kumaraguru U. T regulatory cells: an overview and intervention techniques to modulate allergy outcome. *Clin Mol Allergy* 2009; 7: 5-13

14. Werfel T, Kirchhoff K, Wittmann M, Begemann G, Kapp A, Heidenreich F, Gotze O, Zwirner J. Activated Human T Lymphocytes Express Functional C3a Receptor. *J Immunol* 2000; 165: 6599-6605

15. Kapp A, Wokalek H, Schopf E. Involvement of Complement in Psoriasis and Atopic Dermatitis - Measurement of C3a and C5a, C3, C4 and C1 Inactivator. *Arch Dermatol Res* 1985; 277: 359-361

16. Kawamoto S, Yalcindag A, Laouini D, Brodeur S, Bryce P, Lu B, Humbles AA, Oettgen H, Gerard C, Geha RS. The anaphylatoxin C3a downregulates the Th2 response to epicutaneously introduced antigen. *J Clin Invest* 2004; 114: 399-407

17. Yalcindag A, He R, Laouini D, Alenius H, Carroll M, Oettgen HC, Geha RS. The complement component C3 plays a critical role in both TH1 and TH2 responses to antigen. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 1455-61

18. Rudzki E, Parapura K. Czy podział atopowego zapalenia skóry ma znacze-

nie praktyczne? *Przegl Dermatol* 2003; 90: 59-63

19. Kapusta M, Obtulowicz K, Solnica B. Kliniczne znaczenie badań układu dopełniacza. *Alergologia Immunologia* 2009; 6: 65-72.

20. Obtulowicz K, Kapusta M, Antoszczyk G, Obtulowicz A. Immunoglobulina E i dopełniacz u chorych z alergią kontaktową na nikiel cierpiących na wyprysk atopowy i kontaktowy. *Przegl Lek* 2002; 59: 427- 429

21. Kacińska E. Rola dopełniacza w procesach biologicznych-nowe spojrzenie. Cz. I i II. *Alergologia Immunologia* 2004; 2:1-9.

22. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3 *Science* 2003; 299: 1057-1061.

23. Ivanov II, McKenzie BS, Zhou L, Tadokoro CE, Lepelley A, Lafaille JJ, Cua DJ, Littman DR. The orphan nuclear receptor ROR δ t directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells *Cell* 2006; 126:1121-1133

24. Weaver CT, Hatton RD. Interplay between the TH17 and TReg cell lineages: a (co-) evolutionary perspective *Nature Reviews Immunology* 2009; 9: 883-889

25. Oukka M. Tolerance and inflammation Th17 cells in immunity and autoimmunity. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 26-29

26. Di Cesare A, Di Meglio P, Nestle FO. A Role for Th17 Cells in the Immunopathogenesis of Atopic Dermatitis? *J Invest Dermatol* 2008; 128: 2569-2571

27. Gao W, Thompson L, Zhou Q, Putheti P, Fahmy TM, Strom TB, Metcalfe SM. Treg versus Th17 lymphocyte lineages are cross-regulated by LIF versus IL-6 *Cell Cycle* 2009; 8: 1444-1450.