

Szegedi Andrea dr.<sup>1</sup>, Czirják László dr.<sup>2</sup>, Boros Péter dr.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Debreceni Orvostudományi Egyetem Bőr- és Nemikórtani Klinika (igazgató: Hunyadi János dr., egyetemi tanár), <sup>2</sup>Debreceni Orvostudományi Egyetem III. sz. Belgyógyászati Klinika (igazgató: Szegedi Gyula dr., egyetemi tanár), <sup>3</sup>Liver Transplant Research Laboratory, Mount Sinai School of Medicine New York, N. Y. USA közleménye.

## Fc $\gamma$ -receptor specifikus autoantitestek szűrése progresszív szisztémás sclerosisban

### Screening of Fc $\gamma$ -receptor specific autoantibodies in progressive systemic sclerosis

SZEGEDI ANDREA<sup>1</sup> DR., CZIRJÁK LÁSZLÓ<sup>2</sup> DR.,  
BOROS PÉTER<sup>3</sup> DR.

#### ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők 42 magyar, 27 japán és 24 amerikai progresszív szisztémás sclerosisban (PSS) szenvedő beteg szérumában vizsgálták az Fc $\gamma$ -receptorok ellen termelődő IgG illetve IgM osztályú autoantitestek jelenlétét ELISA teszt segítségével. A szerzők az irodalomban az elsők között végeztek anti-Fc $\gamma$ -receptor autoantitest meghatározást nagy számú, PSS-ben szenvedő beteganyagon és először hasonlították össze három etnikum adatait. A magyar szérumok 21,4%-a, a japán szérumok 33%-a, az amerikai szérumok 20,8%-a tartalmazott IgG típusú anti-Fc $\gamma$ -receptor antitestet, míg IgM osztályú ellenanyag csak egy szérumban volt kimutatható. Megállapították, hogy az egyes népcsoportokban detektálható specifikus antitest gyakoriság nem mutatott szignifikáns különbséget.

#### Kulcsszavak:

Fc $\gamma$ -receptor – autoantitest – scleroderma

#### SUMMARY

The authors assayed the sera of 42 Hungarian, 27 Japanese and 24 American patients with progressive systemic sclerosis (PSS) for the presence of IgG or IgM class autoantibodies against Fc $\gamma$ -receptors, using ELISA technique. The paper is one of the first ones examining the sera of great number of patients with PSS for anti-Fc $\gamma$ -receptor antibody and comparing the data of 3 different ethnic groups. 21,4 percent of the Hungarian, 33 percent of the Japanese and 20,8 percent of the American sera contained IgG class anti-Fc $\gamma$ -receptor autoantibody, while IgM class antibody was detected in only one serum. Significant difference regarding the prevalence of the specific anti-Fc $\gamma$ -receptor antibody in the 3 ethnic groups was not detected.

#### Keywords:

Fc $\gamma$ -receptor – autoantibody – scleroderma

Az Fc $\gamma$ -receptorok (Fc $\gamma$ R) ellen termelődő, az érpályában keringő autoantitestek kimutatásával foglalkozó közlemények száma az irodalomban igen kevés (1, 2). Sjögren szindrómában, szisztémás lupus erythematosusban (SLE), primer Raynaud szindrómában, osteoarthritisben, rheumatoid arthritisben

és progresszív szisztémás sclerosisban (PSS) szenvedő betegekben Boros és munkatársai mutatták ki Fc $\gamma$ R specifikus antitestek jelenlétét, de nagyobb beteganyagon más kutatócsoportok még nem végeztek szűrővizsgálatokat (3). Az Fc $\gamma$ R elleni autoantitesteknek fontos szerepük lehet az autoimmun be-

tegségeiben megfigyelhető Fc $\gamma$ R funkciózavar kialakításában. Autoimmun egér törzsekben (NZB, me<sup>V</sup>, TSK), melyekben kimutatható a receptorok működésének károsodása, Fc $\gamma$ R elleni antitestek nagy mennyiségben vannak jelen a szérumban (4). Az egerek autoantitestjeinek mennyisége a korral emelkedik és összefüggést mutat a betegség intenzitásával is. Ezen egértörzsek közé tartozó „tight skin” (TSK) törzs egyedeiből, melyek bizonyos értelemben a humán PSS állatmodelljét reprezentálják, sikerült előzetes immunizálás nélkül anti-Fc $\gamma$ R autoantitesteket termelő hybridoma sejtvonalakat előállítani. Az IgM osztályba tartozó monoklonális antitestek, kapcsolódva az Fc $\gamma$ -receptor-antigénhez, gátolják az immunkomplexek macrophagokhoz való kötődését és humán neutrophil granulocytákból képesek lysosomális enzimek felszabadulását előidézni (5).

Korábbi munkánkban egy PSS-ben szenvedő beteg peripheriás lymphocytáit Epstein-Barr vírussal transzformálva olyan B lymphoblastoid sejtvonalat nyertünk, amely humán, Fc $\gamma$ R ellenes antitestet termel (6). Az IgG osztályú ellenanyag erősen kötődik neutrophil granulocytákhoz és natural killer (NK) sejtekhez, de nem reagál a peripheriás monocytákkal, ami az ellenanyag CD16 (Fc $\gamma$ RIII) specificitására utal. Vizsgálataink szerint az autoantitest neutrophil granulocyták degranulációját idézte elő és oxygen szabadgyök felszabadulást váltott ki. Ezen funkcionális hatásai alapján feltételezhető, hogy szerepe van a PSS-ben zajló szövetkárosodásban (6).

Jelen közleményünkben anti-Fc $\gamma$ R antitestek szűréséről számolunk be PSS-ben szenvedő beteganyagban. Vizsgáltuk az ellenanyagok IgG vagy IgM osztályba tartozását és összehasonlítottuk az egyes népcsoportokban kimutatható előfordulási gyakoriságot.

### Anyag és módszer

Beteganyag: 42 magyar, 27 japán és 24 amerikai PSS-ben szenvedő beteg szérumát vizsgáltuk. A PSS diagnózisának felállítása minden esetben az American Rheumatism Association kritériumai alapján történt. Kontrollként 25 egészséges magyar személy szérumát használtuk.

Anti-Fc $\gamma$ R-receptor antitestek kimutatása ELISA teszt segítségével: 96 lyukú polystyren lemezeket rekombináns, egér Fc $\gamma$ RII-vel fedtünk, amely

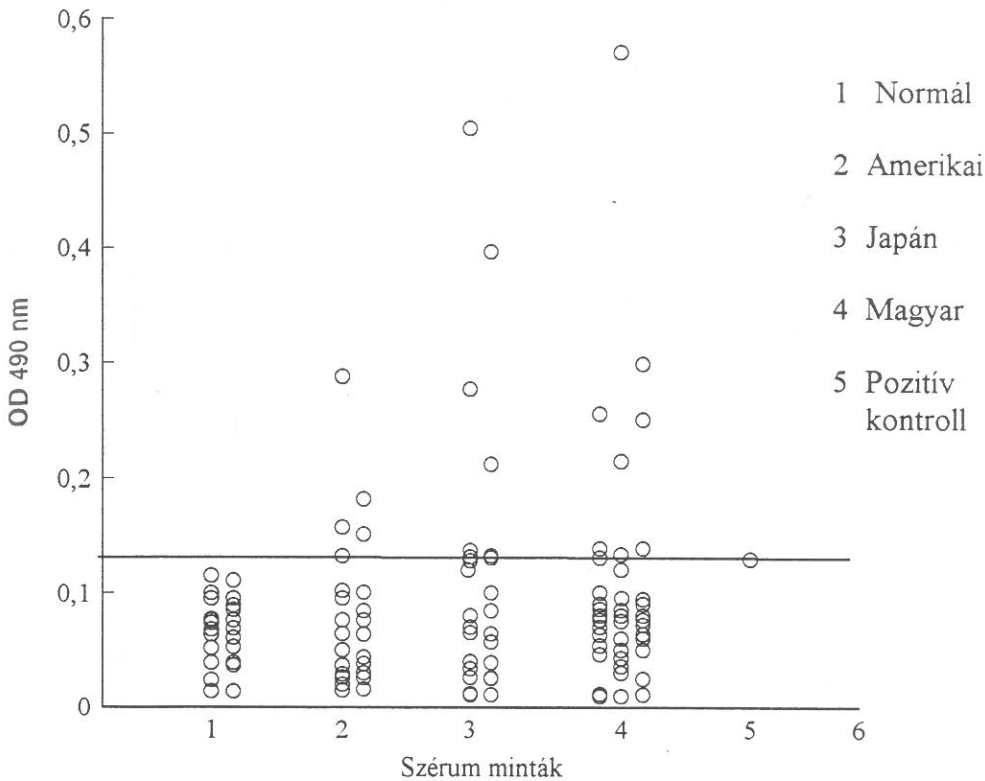
nagyfokú homológiát mutat a humán Fc $\gamma$ RIII-mal és az eddigi vizsgálatok szerint mindhárom humán Fc $\gamma$ R elleni antitest szűrésére alkalmas (2.5 mg/ml, 1 éjszakán át, 4 C, karbonát puffer pH:9.7) (7, 8). A rekombináns egér receptort dr. Jay Unkelless laboratóriumában állították elő (Dept. of Biochemistry, Mount Sinai School of Medicine, New York), és vizsgálatainkhoz ő bocsájtotta rendelkezésünkre, amiért köszönettel tartozunk. Az immunoglobulin Fc rész aspecificus kötődésének zárása céljából redukált és alkilált egér Fc $\gamma$ RII-t alkalmaztunk, amely formában a receptor nem képes Fc-kötésre de megtartja antigenitását. A szérumokkal, melyeket 1% NP40-t tartalmazó PBS-ben 1:100 és 1:400 arányban hígítottunk, szobahőmérsékleten 1 órán át inkubáltuk a lemezeket. Ismételt mosást követően a specifikusan kötődött autoantitestek kimutatására peroxidáz enzimmel jelölt, kecskében termelt, anti-humán IgG vagy anti-humán IgM második antitestet használtunk (1 óra, szobahőmérséklet, Sigma Chemical Co. St. Louis, MO). A végső lépésben kifejlesztett színreakciót ELISA-readerrel olvastuk le 490 nm-en. Minden esetben 3 párhuzamos mérést végeztünk. Pozitív kontrollként TSK-23 IgM osztályú, egér, Fc $\gamma$ R specifikus monoklonális ellenanyagot (5) használtunk (5mg/ml) Azokat a szérummintákat tekintettük pozitívnak, amelyek reaktivitása meghaladta a pozitív kontrollban kapott reakció intenzitását és a színreakció a szérum hígításával csökkent, utalva a kötődés specifikusságára.

### Eredmények

Egér Fc $\gamma$ RII-vel fedett lemezekben, ELISA teszt használatával a 93 szérumból 24 (24,7%) mutatott pozitív reakciót. A 42 magyar mintából 9 esetben (21,4%), a 27 japán mintából 9 esetben (33%) és a 24 amerikai mintából 5 esetben (20,8%) tudtunk IgG típusú anti-Fc $\gamma$ R ellenanyagot kimutatni. IgM osztályú autoantitest mindössze egy japán beteg szérumában volt jelen, ez a szérum IgG típusú anti-Fc $\gamma$ R ellenanyagot nem tartalmazott. A kontrollként alkalmazott 25 egészséges egyén széruma közül egy sem mutatott pozitív reakciót. A szérumok ELISA tesztrel mért reaktivitását az 1. ábra szemlélteti.

A specifikus ellenanyagokat tartalmazó szérumokat az ELISA-ban mutatott reakciók intenzitása alapján 2 típusba lehetett osztani. Megfigyelhető volt egy erősen és egy mérsékeltlen reagáló csoport.

A népcsoportok adatait összehasonlítva, a pozitív szérumok előfordulási gyakorisága



1. ábra  
Anti-FcγR antitestek PSS-ben szenvedő betegek szérumában

magasabb volt a japán betegcsoportban, de a két másik etnikum adataihoz képest az eltérés nem volt statisztikailag szignifikáns.

Részletes klinikai, laboratóriumi és immunszelológiai adatok a magyar betegcsoport esetében álltak rendelkezésünkre. Ezeket áttekintve az anti-Fcγ-receptor autoantitest pozitív és negatív betegek között sem a betegség fennállásának idejében sem lefolyásának súlyosságában nem találtunk szignifikáns különbséget.

### Megbeszélés

Számos autoimmun betegségben megfigyelhető az FcγR működés károsodása, melynek oka ma még nem ismert pontosan (9, 10). Az egyik lehetséges magyarázat a phagocytá sejtek csökkent FcγR expressziója, amely vagy genetikusan meghatározott, vagy a magas immunkomplex szint miatt másodlagosan jön létre. Ennek a feltételezésnek azonban ellentmond az a megfigyelés, hogy SLE-ben szenvedő betegek monocytái foko-

zott mértékben kötik meg az IgG-vel szenzitizált vörösvérsejteket és az erős ligandkötés ellenére a receptor által közvetített phagocytosis károsodott, ami a funkciók disszociációját jelzi (11, 12). Az FcγR funkciózavarának másik magyarázata lehet a receptorok ellen termelődő autoantitestek jelenléte, melyek kötődve a phagocytá sejtek receptoraihoz, gátolják a keringő immunkomplexek bekebelezését, ezáltal az immunkomplex szint emelkedéséhez és különböző szervekben való fokozott lerakódáshoz vezetnek (5). Ilyen autoantitesteket Sjögren szindrómában, szisztémás lupus erythematosesben, primer Raynaud szindrómában, osteoarthritisben, rheumatoid arthritisben és PSS-ben szenvedő betegek szérumában mutattak ki, melyek az FcγR által közvetített sejtfunkciókat részben gátolni (immunkomplex phagocytosis), részben kóros mértékben fokozni képesek (3, 8). Korábbi munkánkban beszámoltunk arról, hogy egy PSS-ben szenvedő beteg periferiás lymphocytáiból olyan B lymphoblastoid

sejtvonalat állítottunk elő, mely funkcionálisan aktív, Fc $\gamma$ R elleni autoantitestet termel (6). Az ellenanyag neutrophil granulocytákból lysosomális enzim (alkalikus foszfatáz, bétaglucuronidáz, arylszulfatáz) és oxygen szabadgyök felszabadulást vált ki, ami hozzájárulhat a szövetekben zajló gyulladás fokozódásához és a szövetpusztuláshoz (6). A magas immunkomplex szint kialakítása és a granulocyta aktivitás fokozása mellett, a monocyta-macrophag sejtvonal, a B lymphocyták és az NK sejtek receptoraihoz kötődve ezen autoantitestek hatására immunregulatív hatású lymphokinek szabadulhatnak fel és az immunglobulin termelés közvetlen befolyásolása is elképzelhető (13).

A PSS egy ismeretlen etiológiájú, generalizált megbetegedés, melynek pathogenesisében kitüntetett szerepet játszó endothel sejt károsodás és nagymértékű kollagén termelés hátterében az utóbbi évek kutatási eredményei alapján feltételezhetően az immunrendszer kóros regulációja áll (14, 15). Ennek során olyan citokinek termelése indulna el, melyek fibroblast proliferációhoz, fokozott kollagén termeléshez és endothel károsodáshoz vezetnek. A PSS-ben jellemző változatos citokin mintázat kialakításában is szerepet játszhatnak az Fc $\gamma$ R ellen termelődő autoantitestek az NK sejtek, lymphocyták és a monocyta-macrophag sejtvonal aktiválása révén. Ugyanakkor a PSS-re jellemző fokozott granulocyta aktivitás (16) létrejöttében is feltehetően szerephez jutnak ezen antitestek, mivel a granulocyták receptoraihoz kötődve lysosomális enzimek és oxygen szabadgyökök felszabadulását idézik elő és hozzájárulhatnak a szövetekben zajló gyulladás és degeneráció kialakulásához.

Jelen munkánkban az irodalomban az elsők között vizsgáltuk 93 PSS-ben szenvedő

beteg szérumában az anti-Fc $\gamma$ R atitestek jelenlétét és eredményeink szerint a betegek 25%-ában tudtunk ilyen típusú keringő ellenanyagot kimutatni. Boros és mtsai hasonló módszerrel 40 PSS-ben szenvedő beteg esetében 40%-ban detektáltuk Fc $\gamma$ R ellenes keringő antitesteket (3).

Irodalmi adatok szerint PSS-ben bizonyos autoantitestek jelenlétének gyakorisága eltérést mutat különböző népcsoportok között, ami az ellenanyag termelés genetikai meghatározottságára utal (17). Mi három etnikum adatait vizsgáltuk és hasonlítottuk össze az Fc $\gamma$ R ellenes antitestek előfordulási arányát tekintve, de szignifikáns eltérést nem kaptunk. Ezen eredményeink és az irodalmi adatok alapján úgy véljük, hogy az anti-Fc $\gamma$ R autoantitesteknek összetett szerepe van a PSS pathophysiológiájában, melynek pontosabb megértése további kutatást igényel.

#### IRODALOM

1. Lalezari, P., Khorshidi, M., Petrosova, M.: J. Pediatr. 109, 764. (1986)
2. Sipos, A. és mkt.: Immunol. Lett. 19, 329. (1988)
3. Boros, P. és mkt.: J. Immunol. 150, 2018. (1993)
4. Boros, P. és mkt.: J. Exp. Med. 171, 1581. (1990)
5. Boros, P. és mkt.: J. Exp. Med. 173, 1473. (1991)
6. Szegedi, A. és mkt.: Immunol. Lett. 35, 69. (1993)
7. Qu, Z. és mkt.: J. Exp. Med. 167, 1195. (1988)
8. Boros, P. és mkt.: J. Immunol. 152, 302. (1994)
9. Fries, L. F. és mkt.: J. Immunol. 132, 695. (1984)
10. Lanley, T. J. és mkt.: N. Engl. J. Med. 304, 185. (1981)
11. Kárai, M. és mkt.: J. Immunol. 24, 527. (1986)
12. Salmon, J. E. és mkt.: J. Immunol. 133, 2523. (1984)
13. Anegon, I. M. és mkt.: J. Exp. Med. 167, 452. (1988)
14. Asherson, R. A. és mkt.: Postgrad. Med. J. 67, 114. (1991)
15. Kantor, T. V. és mkt.: Clin. Immunol. Immunopathol. 65, 278. (1992)
16. Czirják, L. és mkt.: Ann. Rheum. Dis. 46, 302. (1987)
17. Reveille, J. D. és mkt.: Arthritis. Rheum. 35, 216. (1992)

Érkezett: 1994. 08. 08. közlésre elfogadva: 1994. 12. 02.

## HAZAI HÍREK

1995. szeptember 8–9-én kerül megrendezésre a Bőrgyógyászati klinika szervezésében Pécsen az V. Dermatológiai Kongresszus, nemzetközi részvétellel. Rendező: Prof. Dr. Schneider Imre. Szeptember 7-én (csütörtök) a Hoffmann-La Roche rendezésében Loceryl symposium lesz (Pécs, Király u. 5., Hotel Palatinus).

A kongresszus helye: Pécsi Orvostudományi Egyetem Központi Épülete, Pécs, Szigeti út 12.

A rendezvény ügyintézője: Simonné Werner Mária, Pécsi Akadémiai Bizottság Székháza.

Tel.: 72-327-733; Fax: 72-314-684

Szerkesztőség