

¹Debreceni Orvostudományi Egyetem Bőr- és Nemikórtani Klinika
(igazgató: Hunyadi János dr.)² Erlangeni Bőrgyógyászati Klinika
(igazgató: Hornstein Otto Paul dr.)

A 25F9 és 27E10 monocita/makrofág marker expressziója humán keratinocitán Expression of the Macrophage Markers 25F9 and 27E10 on Human Keratinocytes

BÉGÁNY ÁGNES DR¹., SIMON MIKLÓS JR. DR².,
HUNYADI JÁNOS DR¹.

ÖSSZEFOGLALÁS:

A humán keratinociták számos citokin termelésére, valamint élő mikroorganizmusok fagocitózisára és elpusztítására képesek, felszínükön limfocitákra és monocita/makrofág eredetű sejtekre jellemző struktúrák mutathatók ki. Szerzők egészséges egyének, valamint különböző bőrbetegségben szenvedő betegek (cutan T-sejt lymphoma, lichen ruber planus, DLE és chronicus urticaria) bőrben immunhisztokémiai módszer segítségével vizsgálták a gyulladásos folyamatok különböző fázisaiban résztvevő monocita/makrofágok aktuális aktivitási állapotának megfelelően megjelenő 25F9, 27E10 és RM3/1 antigének expresszióját. A nyugvó/pihenő makrofágra jellemző 25F9 antigén mind az egészségesektől, mind a betegektől vett bőrben, a stratum basale keratinocitáin kimutatható volt. Az akut gyulladásos reakció makrofágjaira jellemző 27E10 antigén expressziója normál bőrben nem, vagy csak a folliculusok területén volt megfigyelhető. Ezzel szemben citokin mediált bőrbetegségekben a stratum spinosum és a stratum granulosum keratinocitái mindazon esetben 27E10 pozitívak voltak, amikor a hám acanthotikus volt. A humán hámsejtek 25F9 és 27E10 expressziós képessége újabb bizonyítéka annak, hogy a keratinociták és a monocita/makrofág sejtek közös felszíni struktúrákkal rendelkeznek.

A DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft) által támogatott kutatómunka alapján készült közlemény (kódszám: Si 291/4-2)

Kulcsszavak:

humán hámsejt, makrofág markerek,
bőr-immunrendszer

SUMMARY

Human keratinocytes (HKs) are able to produce several cytokines, under certain circumstances are able to capture and kill living microorganisms, and to express cell surface antigens characteristic of lymphocytes and/or monocytes/macrophages. In the present study skin biopsies from healthy volunteers and from patients with psoriasis vulgaris, cutan T cell lymphoma, chronic discoid lupus erythematoses, lichen planus and chronic urticaria were investigated with regard to the reactivity with the monoclonal antibodies against 25F9, 27E10 and RM3/1 antigens (monocyte/macrophage markers indicating the actual activity stage of the macrophage) on keratinocytes.

In biopsies from the healthy volunteers and from both clinically involved and uninvolved skin of the patients, the keratinocytes of the basal cell layer exhibited a specific peroxidase-positive reaction when the monoclonal antibody against 25F9 was used.

Expression of the 27E10, a characteristic marker of macrophages of acute inflammation, was not detectable on keratinocytes of the healthy volunteers, in some of them it was localised to the area of follicles. In contrast HKs in stratum basale, spinosum and granulosum of acanthotic epidermis showed regularly a specific positive reaction with the monoclonal antibody against 27E10 when the biopsy was taken from patients with cytokine-mediated dermatoses. The present findings provide further evidence that human keratinocytes and macrophages share a number of common cell surface moieties.

Key words:

human keratinocytes, macrophage
markers, skin immune system

Az utóbbi évek kutatási eredményei bebizonyították, hogy az emberi bőr keratinocitái fontos és aktív részét képezik a bőr-immunrendszernek (3). Számos adat igazolja, hogy a keratinociták immunmoduláló hatású citokineket termelnek, aktívan reagálnak a különböző limfokin stimulációra, s az immunrendszer sejtjeire jellemző sejt felszíni antigének szintézisére és expressziójára képesek (3, 4, 5, 6, 7, 8). Ismert és számos szerző által igazolt tény, hogy a humán keratinociták felszínén citokin mediált bőrbetegségekben monocita/makrofág (M/M) sejtekre jellemző antigének jelenhetnek meg (3, 4, 8). Így egyes bőrbetegségekben a lezionális bőr keratinocitái specifikusan reagálnak a HLADR-, CD13-, CD14-, CD16-, CD36-, CD54-, CD68-antigének elleni monoklonális antitestekkel (3, 7, 8).

Az utóbbi évek során számos M/M sejtre jellemző sejt felszíni antigént írtak le. Ezek közé tartoznak a 25F9, 27E10, és RM3/1 antigének, amelyek az M/M eredetű sejtek aktuális aktivitási állapotának megfelelően jelennek meg a sejteken. A 25F9 a nyugvó/pihenő makrofágra, a 27E10 az aktív, az RM3/1 a lezajlott gyulladásban jelenlévő makrofágra jellemző marker.

Jelen munkánkban azt vizsgáltuk, hogy a 25F9, 27E10 és az RM3/1 antigén kimutatható-e az egészséges bőrben, illetve citokin mediált bőrbetegségekben szenvedők tünetes és tünetmentes bőrből vett biopsziák keratinocitáin.

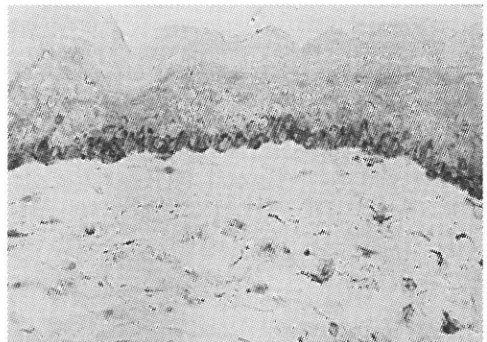
Anyag és módszer

A vizsgált bőrminták egészséges egyénekből (plasztikai műtét során nyert bőr) $n=3$, különböző klinikai megjelenésű psoriasisban $n=6$, korai II. stádiumú kután T-sejt lymphomában (CTCL) $n=3$, illetve lichen ruber planusban, discoid lupus erythematosusban (DLE) és chronicus urticariában $n=1-1$ szenvedő betegekből származtak. A betegek a bőrbopsziát megelőző 3 hét alatt sem belső, sem lokális steroid vagy egyéb immunszuppresszív kezelésben nem részesültek. Az antigén kimutatása fagyasztott metszeten többlépcsős indirekt immunperoxidáz módszerrel egérben termelt anti-25F9, -27E10, -RM3/1 monoklonális ellenanyag (Dia-

nova, Hamburg, Németország) felhasználásával történt. A kriosztáttal készített 4μ vastag metszeteket a Poppema és mtsai által leírt módon dolgoztuk fel (6). A preparátumokat $12-24$ h-ig -70°C -on tartottuk, majd a felolvasztás után, PBS-sel végzett mosást követően a különböző monoklonális ellenanyagokkal 30 percen át szobahőmérsékleten inkubáltuk (hígítás: 25F9 1:1000, 27E10 1:50, RM3/1 1:50). Háromszori PBS-sel végzett mosás után 1:10-es hígítású peroxidázal jelölt egér immunoglobulin ellenes nyúlszérummal inkubáltuk a metszeteket, hígító oldatként 1:1 arányban PBS-sel hígított human AB-szérumot használtunk. Ezt követően PBS-sel végzett mosás után 1:10-es hígítású, peroxidázal jelölt nyúllelles sertés-antitesttel inkubáltuk a metszeteket (30 perc, 20°C), majd háromszori mosás után aminoethyl-carbazol segítségével tettük láthatóvá a specifikus peroxidáz aktivitást. Monoklonális ellenanyaggal nem inkubált metszetek szolgáltak negatív kontrollként.

Eredmények

Az egészséges bőrből származó metszeten a 25F9 antigén ellenes monoklonális ellenanyag használatakor a keratinociták minden esetben specifikus reakciót adtak. Az antigén expresszió a basalmembrán feletti 1-2 sejt sor területén citoplazmatikusan volt megfigyelhető (1. ábra). Psoriasisban, CTCL-ben, lichen ruber planusban, DLE-ben és urticariában szenvedő betegek tünetes és tünetmentes bőrben a stratum basale keratinocitáin kívül a 25F9 antigén expresszió a stratum



1. ábra

Egészséges bőr, 25F9 ellenes monoklonális ellenanyag. A bazál membrán feletti 1-2 sejt sor keratinocitáin specifikus citoplazmatikus reakció látható (immunperoxidáz módszer, aminoethyl-carbazol festés $\times 100$).

1. táblázat

Monocita/makrofág markerek (25F9, 27E10, RM3/1) lokalizációja normál és beteg bőrben

	n	25F9			27E10			RM3/1		
		SG	SS	SB	SG	SS	SB	SG	SS	SB
normál	3	-	-	+	-	-	-	-	-	-
psoriasis	6	-	+	+	-	+	+	-	-	-
CTCL	1. beteg	-	-	+	+	+	+	-	-	-
	2. beteg	-	-	+	+	+	+	-	-	-
	3. beteg	-	+	+	-	-	-	-	-	-
DLE	1	-	+	+	-	+	+	-	-	-
lichen r.	1	-	+	+	+	+	+	-	-	-
urticaria	1	-	+	+	-	-	-	-	-	-

Rövidítések: SG – stratum granulosum
 SS – stratum spinosum
 SB – stratum basale

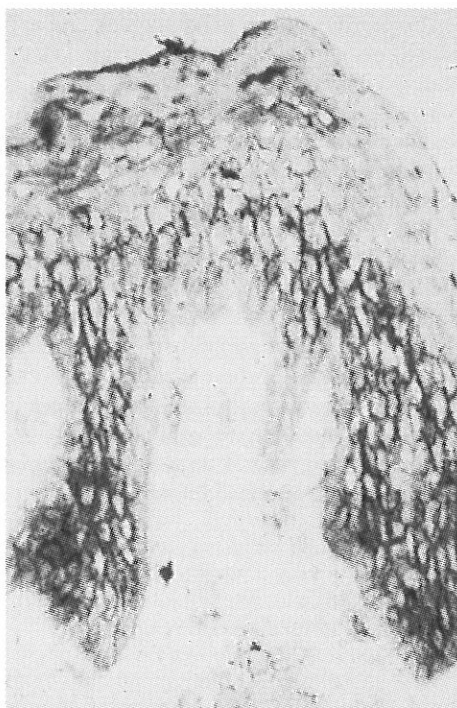
spinosum egyes sejtjein is kimutatható volt (1. táblázat).

A 27E10 antigén ellenes monoklonális ellenanyaggal normál bőrben, a betegek tünetmentes bőrében, valamint az urticariás beteg tünetes bőrében csak esetenként észleltünk specifikus reakciót, amely kizárólag a follikuláris hámsejtekre lokalizálódott. Ezzel szemben psoriasisban, lichen ruber planusban, DLE-ben a vizsgált betegek mindegyikénél, CTCL-ben a 3 beteg közül 2-nél a stratum basale, -spinosum, -granulosum területén intercellularisan specifikus pozitív reakció volt megfigyelhető (2. ábra). A harmadik CTCL-s betegnél – a másik 2 betegtől eltérően – nem észleltünk akantóvizist és a normál bőrhöz hasonlóan a 27E10 expresszió csak follikulárisan volt látható (1. táblázat).

Az RM3/1 antigén ellenes ellenanyaggal sem az egészségesektől származó, sem a betegekből nyert biopsziák keratinocitái nem reagáltak (1. táblázat).

Megbeszélés

A 25F9, a 27E10 és RM3/1 jelzésű antigének a gyulladáshoz vezető meghatározott szakaszaiban megjelenő M/M sejtek felszíni markerei. A 25F9 a nyugvó, pihenő makro-



2. ábra

Psoriasis tünetes bőr, 27E10 ellenes ellenanyag. A stratum basale, spinosum területén specifikus intercelluláris reakció látható (immunperoxidáz módszer, aminoethyl-carbazol festés x 100).

fágra, a 27E10 a korai gyulladásban, az RM3/1 a lezajlott gyulladásban jelen lévő makrofágra jellemző antigén. Míg a 25F9 és a RM3/1 funkciója nem ismert, a 27E10 szerepe a makrofág aktivációban a gyulladásosejtek mozgósításában elfogadott (1). A 27E10 antigén szerkezetéről és funkciójáról ismert, hogy az ellene termelt antitest a makrofág azon epitópjához kötődik, melynek felépítésében kettő, a makrofág migrációt gátló faktorhoz kapcsolódó fehérje az MRP-8 (MIF Related Protein), és MRP-14 vesz részt. A két fehérje komplexképzése Ca^{++} igényes folyamat, a komplex felszíni expressziója az intracitoplazmatikus Ca^{++} szint emelkedésével fokozódik (9). Ezen két fehérje molekula megfelel a Gabrielsen és mtsai által vizsgált L1 antigén könnyű és nehéz láncának. Az L1 mielo-monocita antigén a bőr keratinocitáin is kimutatható. Normál bőrben nem, vagy csak a folliculus területén detektálható, de különböző a hám érintettségével járó gyulladásosejtes és proliferatív betegségekben a keratinociták is expresszálják. Az expresszió elsősorban a stratum basale felett a stratum spinosum területére lokalizált (1, 2).

Vizsgálatunk azt mutatja, hogy a keratinociták a stratum basale és spinosum területén mind az egészséges, mind a beteg bőrben expresszálják a nyugvó makrofágra jellemző 25F9 antigént. Ezzel ellentétben a korai gyulladásosejtes reakció makrofágjaira jellemző 27E10 antigén a normál bőrben csak folliculárisan mutatható ki, illetve megjelenik citokin mediált bőrbetegségekben (1. táblázat, 2. ábra). A tünetes bőrben észlelt 27E10 expresszió a stratum spinosum és stratum granulosum keratinocitáin a legkifejezettebb. Feltehetően, hogy ennek az antigénnek a megjelenése a hámot érintő citokin inger következménye.

A keratinociták sejt felszíni tulajdonságait megváltoztató citokinek (pl. granulocita makrofág kolóniastimuláló faktor) – hasonlóan ahhoz a hatáshoz, amely a nyirokcsomók csíracentrumában immunsejtproliferációhoz vezet – egyidejűleg a stratum basale sejteinek mitotikus aktivitását is fokozhatják. A fokozott mitotikus aktivitás és a 27E10 expresszió kapcsolatára utal az is, hogy normál bőrben a 27E10 antigén csupán a folliculusoknak megfelelően észlelhető, ahol a legintenzívebb a sejtosztás.

Amennyiben a hám akantozis nem észlelhető, az irhában jelenlévő 25F9 pozitív, 27E10 pozitív M/M sejtek és egyéb gyulladásosejtek ellenére sem detektálható a keratinociták felszínén a 27E10 antigén expressziója.

A humán hámsejtek 25F9 és 27E10 expressziós képessége újabb bizonyítéka annak, hogy a keratinociták és a M/M sejtvonalak közös immunmarkerekkel rendelkeznek.

IRODALOM

- Gabrielsen T-O, Dale I., Brandtzaeg P., Hoel P. S., Fagerhol M. K., Larsen T.E., Thune P. O.: *J Am Acad Dermatol* 15, 173 (1986)
- Gabrielsen T-O, Brandtzaeg P., Hoel P. S., Dale I.: *Br J Dermatol* 118, 59 (1988)
- Hunyadi J., Simon M. Jr., Dobozy A.: *Immunol Lett* 31, 209 (1992)
- Hunyadi J., Simon M. Jr., Kenderessy Sz. A., Dobozy A.: *J Dermatol (Tokyo)* (1993) közlés alatt
- Hunyadi J., Simon M. Jr.: *Br J Dermatol* 116, 283 (1987)
- Poppema S., Bahn A. K., Reiherz E. L.: *J Exp Med* 153, 30 (1981)
- Simon M. Jr., Hunyadi J.: *Dermatologica* 175, 121 (1987)
- Soyer H. P., Smolle J., Kerl H.: *J Cutan Pathol* 16, 60 (1989)
- Sorg C.: *Behring Inst Mitt* 91, 126 (1992)

Érkezett: 1993. 09. 27. Közlésre elfogadva: 1993. 10. 13.