

**А.И. Курченко
И.Ф. Курченко²**

Национальный медицинский
университет им. А.А. Богомольца,
г.Киев

²Буковинский государственный
медицинский университет, г.Черновцы

ЭКСПРЕССИЯ КОСТИМУЛЯТОРНЫХ МОЛЕКУЛ НА АНТИГЕНПРЕДСТАВЛЯЮЩИХ КЛЕТКАХ ЭПИДЕДЕРМИСА ВОСПАЛЕННОЙ КОЖИ ПРИ АТОПИЧЕСКОМ ДЕРМАТИТЕ

Ключевые слова: атопический
дерматит, дендритическая клетка,
CD1a, CD80 и CD86.

Резюме. С целью уяснения механизмов формирования при атопическом дерматите воспалительной реакции иммуногистохимическим методом в эпидермисе воспаленной кожи изучали количественные особенности распределения клеток с CD1a, CD80 и CD86 позитивностью. Отмечено увеличение числа CD1a, CD80 и CD86 позитивных клеток с морфологическими свойствами дендритических клеток Лангерганса, что указывает на высокий уровень функциональной зрелости этих клеток.

Вступление

Атопический дерматит (АД) является кожным проявлением атопии (атопический дерматит, аллергический ринит, аллергическая астма), которая наблюдается у 5-20% детей и у 1-3% взрослых [1]. Механизмы, лежащие в основе формирования АД не ясны. Предполагается, что патогенез этого заболевания проявляет себя в развитии аллергического воспаления, опосредованного хелперными Т лимфоцитами второго типа (ТН2) [2]. Дендритические клетки Лангерганса (ДК), локализованные в эпидермисе, играют важную роль в процессе поляризации "наивных" CD4+ Т лимфоцитов и их трансформацию в ТН2 лимфоциты. Однако факторы, побуждающие антигенпредставляющие ДК стимулировать Т хелперную поляризацию в направлении формирования проаллергического ТН2 фенотипа, не ясны. Предполагается [3,4,5], что таким иницирующим фактором активации ДК является цитокин - тимический стромальный лимфопоетин (TSLP-thymic stromal lymphopoietin). Установлено, что TSLP в условиях АД синтезируется кератиноцитами воспаленной кожи [3]. TSLP активирует ДК, определяет их превращение из "незрелой" в "зрелую" форму, что завершается последующей миграцией ДК в лимфатический узел. В лимфатическом узле ДК, представляя антиген, направляют дифференциацию "наивных" Т лимфоцитов в ТН2 эффекторные клетки, что характерно для АД [3,5]. Однако свойства ДК, которыми определяется поляризация ТН2 под воздействием TSLP, не ясны.

© А.И. Курченко, И.Ф. Курченко, 2006

Для стимуляции ТН лимфоцитов необходимо два сигнала. Первый сигнал к активации передается в момент взаимодействия Т клеточного рецептора (TCR) лимфоцита и пептидсодержащего комплекса гистосовместимости антиген-представляющей ДК. Однако для активации Т клетки действия только этого сигнала не является достаточным. Необходимо действие, сопряженного с первым, второго сигнала, которым определяется направление дифференцировки Т клетки - ТН1 или же ТН2. Такими костимуляторными молекулами Т лимфоцита являются CD28 и CD152 (CTLA-4), которые взаимодействуют с молекулами семейства В7 - CD80 и CD86 дендритической клетки. Экспрессия молекул CD80 и CD86 проявляется после активации ДК, однако, кинетика нарастания экспрессии CD80 медленнее, чем CD86 [6]. Более того, молекулы CD80 и CD86 ДК имеют большую аффинитивность к молекуле CD152, чем к CD28 поверхности Т лимфоцита [7]. Характер экспрессии лиганд CD80 и CD86 ДК и молекул CD28 и CD152 поверхности Т лимфоцита будет определять поляризацию - ТН1 или ТН2.

Цель исследования

Выяснить, какими свойствами в экспрессии CD80 и CD86 обладают ДК эпидермиса при АД. После миграции ДК из эпидермиса в дерму эти особенности в экспрессии CD80 и CD86 должны определять свойства воспалительного инфильтрата и, в целом, воспалительной реакции в дермальном компоненте кожи с экзематозными проявлениями.

Материал и методы

Методом иммуногистохимии исследовано 9 биопсий больных хронической формой АД. Биоптический материал брался после письменного согласия пациентов. Контролем служили биоптаты кожи, полученные при косметических операциях. Диагностика АД проводилась в соответствии с широко используемыми критериями, предложенными Hanifin J.M., Rajka G. (1980) [8]. У всех больных отмечали кожный prick-тест к различного вида аллергенам. В условиях криостата получали последовательные серийные срезы толщиной 10µm. В исследовании применен стандартный метод биотин-стрептавидин иммунопероксидазного окрашивания (Strept ABC Complex/HRP, производство ДАКО) с использованием хромогенного субстрата - 3-амино-9-этилкарбазол. Фоновое окрашивание проводили гематоксилином. В исследовании использованы моноклональные антитела с направленностью на CD1a (дендритические клетки Лангерганса), CD80- и CD86-антиген (Vecton Dickinson). В последовательных серийных срезах определяли количественные соотношения реактогенных клеток. В эпидермальном пласте (в пределах 3мм) проводили подсчет числа эпителиальных клеток, клеток с CD1a, CD80 и CD86 позитивностью. Об изменениях в количественном распределении реактогенных клеток судили по изменениям в процентных соотношениях.

Обсуждение результатов исследования

При гистологическом исследовании биоптатов экзематозной кожи во всех случаях отмечены спонгиоз, пролиферативная активность в базальном отделе эпидермиса, наличие околосоудистых клеточных воспалительных инфильтратов в дермальной части кожи. CD1a позитивные ДК (клетки Лангерганса) отмечали во всех отделах эпидермиса. Число CD1a+ клеток в условиях АД составило $23 \pm 3.2\%$ клеточного состава эпителиального пласта, что значительно превышало показатели контроля ($7 \pm 0.5\%$). Отмеченное увеличение ДК является характерным для АД, принимая во внимание возрастающую антигенпредставляющую функцию КЛ в условиях воспаления [9]. В исследовании эпидермиса контрольной группы не отмечено клеток, проявляющих CD80 и CD86 позитивность. Это составило разительный контраст с эпидермисом АД. Во всех исследованных биоптатах АД отмечали присутствие CD80+ и CD86+ клеток. Численные показатели CD80+ и CD86+ клеток не совпадали: число клеток с CD80 позитивность составило $9 \pm 1.1\%$, тогда как численность CD86+ клеток -

$16 \pm 1.3\%$ (рис.1). Необходимо отметить, что морфологические свойства CD80+ и CD86+ клеток соответствовали морфологии дендритических клеток. Было характерным наличие цитоплазматических отростков, распределяющихся между кератиноцитами (рис.2,3). Все это дает право предполагать, что выявленная в пределах эпидермиса CD80 и CD86 позитивность свойственна ДК. Это предположение совпадает с данными исследований, указывающих на то, что при АД CD80 и CD86 позитивность в эпидермисе характерна для клеток Лангерганса [10]. Обращает на себя внимание факт несовпадения численности CD1a+ ДК ($23 \pm 3.2\%$) и численности CD80+ ($9 \pm 1.1\%$) и CD86+ ($16 \pm 1.3\%$) клеток (рис.1). Несовпадение в экспрессии CD1a и CD80, CD86, по-видимому, отражает особенности функционального состояния ДК, уровень их активации.

Клетка-предшественник ДК Лангерганса, мигрирующая в эпидермис из дермы, не имеет характерных фенотипических свойств, таких как CD1a и HLA-DR, а также CD80, CD86, позитивности. Эти свойства приобретаются в эпидермисе при воздействии на ДК активированных кератиноцитов (цитокины, TSLP) и при последующей переработке ДК захваченного антигена [9,5]. Приобретенная ДК уже в пределах эпидермиса функционально зрелость с экспрессией CD80 и CD86 предполагает возможность активного взаимодействия ДК не только с лимфоцитами лимфатического узла, но и возможность локального взаимодействия с клеточным окружением, непосредственно по выходе из эпидермиса.

Действительно для АД характерно значительное число ДК с экспрессией CD86 в дермальном компоненте воспаленной кожи [11]. В этом плане привлекают внимание свойства Т лимфоцитов регуляторного типа (Treg), для которых характерна постоянная экспрессия рецептора CD152 для лиганды CD80 и CD86 ДК [12]. Баланс активации CD152+ Treg клеток с дендритическими клетками, обладающими позитивностью CD80 и CD86, и функциональная активность эффекторных ТН-лимфоцитов должны определять межклеточные взаимоотношения и напряженность воспалительного процесса в коже. Интересны недавние исследования, которыми выявлены дисрегуляторные изменения при АД в одной из групп Т лимфоцитов регуляторного типа - CD4+CD25+FoxP3+ Т лимфоциты [13]. Уменьшение в условиях АД численности регуляторных CD4+CD25+FoxP3+ Т лимфоцитов, что связывают с генетическими особенностями индивида, может сопровождаться регуляторным дисбалан-

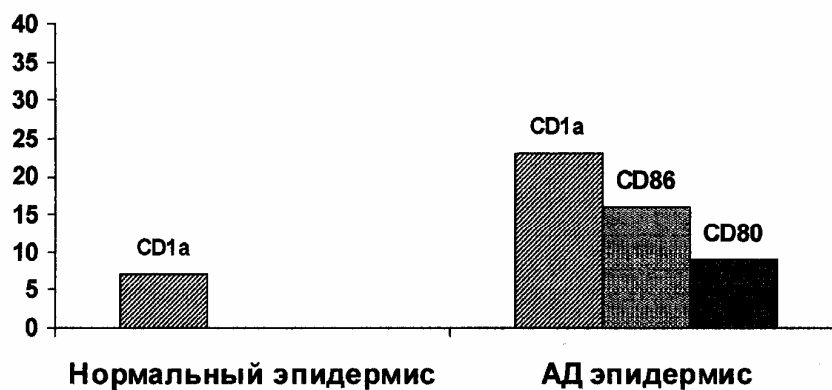


Рис. 1. Количественные соотношения CD1a+, CD80+ и CD86+ клеток в эпидермисе воспаленной кожи при АД и в контроле.



Рис. 2. Эпидермис воспаленной кожи при АД. CD80+ клетки с морфологическими свойствами ДК Лангерганса. X 400

сом. Следствием дефицита CD4+CD25+FoxP3+ Т лимфоцитов будет активация эффекторных Т лимфоцитов путем взаимодействия CD28 молекулы Т клетки с лигандой CD86 дендритической клетки при ее миграции из эпидермиса в дерму. Итогом взаимодействия будет продолжающаяся активность воспалительного процесса без должного корректирующего действия отсутствующих CD4+CD25+FoxP3+ Т лимфоцитов.

Выводы

1. Проявление CD80 и CD86 позитивности в эпидермисе при АД характерно для клеток с морфологическими свойствами дендритических клеток Лангерганса.

2. Проявление экспрессии коstimуляторных молекул CD80 и CD86 на ДК в пределах эпидермиса указывает на высокий уровень функциональной зрелости и активности этих клеток.

Перспективы дальнейших исследований

Дальнейшее изучение взаимодействия CD80+ и CD86+ дендритических клеток с Т регуляторными лимфоцитами и эффекторными лимфоцитами в поле воспаления даст возможность определить подходы к коррекции воспалительной реакции в коже при АД.

Литература. 1. *Schultz Larsen F, Diepgen T, Svensson A.* The occurrence of atopic dermatitis in north Europe: an international questionnaire study // *J. Am. Acad. Dermatol.* - 1996. - V.34 - P.760-764. 2. *Novak N., Bieber T., Leung D.Y.M.* Immune mechanisms leading to atopic dermatitis. // *J. Allergy Clin. Immunol.* - 2003 - V.113 - P.651-657. 3. *Soumelis V., Reche P.A., Kanzler H., et al.* Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing TSLP // *Nat. Immunol.* - 2002. - V.3 - P.673-680. 4. *Yoo J., Omory M., Gyarmati D., Zhou B., et al.* Spontaneous atopic dermatitis in mice expressing an inducible thymic stromal lymphopoietin transgene specifically in the skin. // *J. Exp. Med.* - 2005 - V.202 - P.541-549. 5. *Yong-Jun Liu.* Thymic stromal lymphopoietin: master switch for allergic inflammation. *J. Exp. Med.* 2006; v.203, p.269-273. 6. *Inaba K., Witmer-Pack M., Inaba M., Hathcock K., et al.* The tissue distribution of B7 costimulator in mice: abundant expression on dendritic cells in situ and during maturation in vitro. // *J. Exp. Med.* - 1994 - V.180 - P.1849-1860. 7. *Biedermann T., Rocken M., Carballido J.M.* TH1 and TH2 lymphocyte development and regulation of TH cell-mediated immune responses of the skin. // *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.* - 2004 - V.9 - P.5-14. 8. *Hanifin J.M., Rajka G.* Diagnostic features of atopic dermatitis. // *Acta Derm. Veneriol. (Stockh.). Suppl.* - 1980 - V.92 - P.44-47. 9. *Banfield C.C., Callard R.E., Harper J.I.* The role of cutaneous dendritic cells in the immunopathogenesis of atopic dermatitis. // *Br. J. Dermatol.* - 2001 - V.144 - P.940-946. 10. *Ohki O., Yokozeki H., Katayama I., Umeda T., et al.*



Рис. 3. Епідерміс запаленої шкіри при АД. CD86+ клітини з морфологічними властивостями ДК Лангерганса. X 400

Functional CD86 (B7-2/B70) is predominantly expressed on Langerhans cells in atopic dermatitis. // *Br. J. Dermatol.* - 1997 - V.136 - P.838-845. 11. *Stry G., Bangert C., Stingl G., Kopp T.* Dendritic cells in atopic dermatitis: expression of Fc γ RI on two distinct inflammation-associated subsets. // *Int. Arch. Allergy Immunol.* - 2005 - V.138 - P.278-290. 12. *Sansom D.M., Manzotty C.N., Zheng Y.* What's the difference between CD80 and CD86 // *TRENDS in Immunology.* - 2003 - V.24 - P.313-318. 13. *Verhagen J., Akdis M., Traidl-Hoffmann C., et al.* Absence of T-regulatory cell expression and function in atopic dermatitis. // *J. Allergy Clin. Immunol.* - 2006 - V.117 - P.176-183.

ЕКСПРЕСІЯ КОСТИМУЛЯТОРНИХ МОЛЕКУЛ НА АНТИГЕНПРЕДСТАВЛЯЮЧИХ КЛІТИНАХ ЕПІДЕРМІСУ ЗАПАЛЬНОЇ ШКІРИ ПРИ АТОПІЧНОМУ ДЕРМАТИТІ

A.I. Kurchenko, I.F. Kurchenko

Резюме. З метою з'ясування механізмів у формуванні запальної реакції в шкірі при атопічному дерматиті імуногістохімічним методом вивчали кількісні особливості розподілу в епідермісі запальної шкіри клітин з CD1a, CD80 і CD86 позитивністю. Відзначено збільшення чисельності CD1a+, CD80+ та CD86+ клітин із морфологічними ознаками дендритичних клітин Лангерганса, що означає високий рівень функціональної зрілості цих клітин.

Ключові слова: атопічний дерматит, дендритична клітина, CD1a, CD80, CD86.

CO-STIMULATORY MOLECULES EXPRESSION ON THE ANTIGEN-PRESENTING CELLS LOCATED IN THE EPIDERMIS OF INFLAMED SKIN IN ATOPIC DERMATITIS

A.I. Kurchenko, I.F. Kurchenko

Abstract. With the purpose to elucidate mechanisms of initiation of the skin inflammation in atopic dermatitis the immunohistochemical investigation of the quantitative distribution character of cells with CD1a, CD80 and CD86 positivity in epidermis were performed. The rise in number of CD1a+, CD80+ and CD86+ cells with morphological features for dendritic Langerhans cells has been found that reflects the high level functional activity of these cells.

Key words: atopic dermatitis, dendritic cell, CD1a, CD80, CD86.

National Medical University (Kyiv)

Bucovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2006. - Vol.5, №1. - P.52-55.

Надійшла до редакції 19.03.2006