

A folliculáris T-helper sejtek pathológiás szerepe az immun-diszregulációban a Sjögren-szindróma különböző fenotípusai esetén

Az elért eredmények rövid ismertetése:

A primer Sjögren-szindróma (pSS) pathogenezisének egyik legfőbb jellemzője a humorális immunválasz károsodása; az abnormális B sejt aktiváció és fokozott autoantitest termelés. Az elmúlt években a legintenzívebben tanulmányozott sejtípus a folliculáris helper T (TFH) sejteké, melyek támogatják a B sejtek proliferációját és differenciációját memória B sejtekké, illetve hosszú életű plazmasejtekké. Annak ellenére, hogy e terület napjaink kutatásának fókuszában áll, a TFH sejtek funkciója és molekuláris szabályozása részleteiben nem ismert. Tanulmányunk első szakaszában a TFH sejtek, pSS pathogenezisében betöltött lehetséges szerepére koncentráltunk és vizsgáltuk a perifériás vérben. Megállapítottuk, hogy az extraglanduláris tüneteket mutató betegeknél szignifikánsan magasabb a TFH sejtek szintje a perifériás vérben a kontroll, illetve a csak glanduláris tüneteket mutató betegekhez képest. Szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a korai, illetve késői aktivált T és TFH sejtek százalékos aránya között, amely párhuzamba állítható az immunrendszer fokozott aktivált állapotával. Továbbá a TFH sejtek százalékos aránya ugyancsak pozitívan korrelált a Tr1 sejtek százalékos értékével is, amelyből a rendellenes immunválaszok ellen fellépő ellenregulációs mechanizmusok fokozódására következtethetünk. A TFH sejtek aránya szignifikánsan emelkedett az anti-SSA/SSB autoantitest pozitív betegek csoportjában, emellett azoknál a betegeknél is, akiknél magasabb IL-12, IL-21 citokin szintet mértünk. Az autoantitestekkel való szoros kapcsolat újabb bizonyíték a TFH sejtek kiemelt szerepére a pSS patogenezisében. (Clin. Immunol., 2013; Rheumatol. Oxford, 2014).

Eddigi ismereteinket kiterjesztve, vizsgáltuk a TFH sejtek előfordulását és potenciális szerepét a gyulladás területén a betegség kialakulásának időpontjában. Kísérleteinkbe olyan betegeket vontunk be, akik munkánk első szakaszában elvégzett perifériás vizsgálatokban is részt vettek és a klinikai adataik visszamenőleges áttekintésekor pozitív kisnyálmirigy (LSG) biopsziával rendelkeztek. A formalinban fixált és paraffinba ágyazott szövettani blokkokat (n=10), melyeket ezt megelőzően rutin diagnosztikai célból gyűjtöttünk, a Debreceni Egyetem Patológiai Intézetének archívumából válogattuk ki. A metszeteken a focus score (FS) meghatározása haematoxilin-eozin festéssel, a sejt-specifikus markerek azonosítása immunhisztokémiai és immunfluoreszcens módszerrel történt. A kisnyálmirigy biopsziás mintákat a focus score (FS) és a gyulladásos infiltrátumok szervezetségi szintje alapján osztályoztuk. A FS alapján két csoportot különítettünk el: pSS-FS=2 (n=3) és pSS-FS=3 (n=7). A limfocita beszűrődés szervezetségi szintje alapján 4 alcsoportot sikerült meghatározni: 1-4 szervezetségi szint, ahol a 4. szint felelt meg a legmagasabban szerveződött, ektópiás germinális centrum-szerű struktúráknak. A TFH sejt-specifikus markerek, mint a PD-1, CD84 és Bcl-6 expressziója döntően a szervezettebb limfocita infiltrátumokban és magasabb FS értékeknél fordult elő. Kettős immunfluoreszcens festés segítségével egy reprezentatív FS=3 szövettani mintában sikerült kimutatnunk a CD3 T sejt és a Bcl-6 TFH-sejt markerek ko-expresszióját, melyek alapján a TFH sejtek aktív jelenléte a CD20+Bcl-6+ B sejtek szomszédságában, a limfocita infiltrátum ektópiás germinális centrum-szerű struktúráiban tisztán bizonyítható. Érdekes módon, a betegek klinikai adatainak visszamenőleges áttekintésekor, összefüggést találtunk a betegség kezdetén a TFH sejtek kisnyálmirigyben való előfordulása és a betegség során kialakuló klinikai tünetek súlyosbodása között. Eredményeink szerint, a TFH sejtek fontos szerepet játszanak a glanduláris infiltrátumokban lévő autoreaktív B sejtek kialakulásában és hozzájárulhatnak a későbbi szisztémás tünetek kifejlődéséhez is. Reményeink szerint e sejtek, szabályozásuk és funkciójuk feltérképezése után, a jövőben új potenciális terápiás célpontként szolgálhatnak autoimmun betegségekben. (Med. Inflamm. 2014)

Vizsgálatainkkal kimutattuk, hogy pSS-ben a vérben lévő folliculáris TFH-sejtek magasabb arányban fordulnak elő és az IL-21 citokin szintje megnövekszik. A sejtek közötti interakció vizsgálata nagyon fontos, hiszen ezt a citokint más sejtek is termelik. Ebben a vizsgálatban tanulmányoztuk az intracelluláris granzyme B-t (GrB), a CD9 (+) CD5 (+) és CD19 (+) CD5 (-) B sejtek IL-21 receptor (IL-21R) expresszióját, valamint meghatároztuk az invariáns NKT (iNKT) sejtek IL-21 expresszióját. Ugyanebben a munkában párhuzamosan méréseket végeztünk különböző B-sejt alcsoportokban (transitionalis, érett, elsődleges memória). Megállapítottuk, hogy a CD19 (+) CD5 (+) B sejtek fokozott IL-21R expressziója és az iNKT sejtek megnövekedett IL-21 termelése fontos tényezők a pSS patogenezisében. Hatásukat elsősorban a CD19 (+) CD5 (+) B sejtek funkciójára fejtik ki és a fokozott GrB termeléshez vezetnek. Ez a folyamat jelentős a betegség kialakulásában megfigyelhető immunregulációs zavarokban. (Med. Inflamm. 2016)

Vizsgálatunkban a perifériás TFH sejtek és a B-sejtek patológiás kapcsolatát tanulmányoztuk. Megállapítottuk, hogy a naív B-sejtek aránya növekedett, míg az osztályváltott (switched) és osztályt nem váltott (unswitched) B-sejtek aránya csökkent a perifériás vérben. A kettősnegatív B-sejtek és plasmablastok aránya emelkedett SLE-ben, ezzel szemben pSS-ben csökkent. Az érett naív és a transitionális B-sejtek százaléka magasabb volt SLE-ben, és a súlyosabb betegségformában a TFH sejtek is magasabb arányban fordultak elő, valamint nőtt az IL-21 termelés. A TFH sejtek magasabb aránya pozitívan korrelált az autoantitest termeléssel, a szérum immunglobulin és immunkomplex szinttel. A TFH sejtek és az egyes B-sejt alcsoportok közötti korreláció rávilágított a B-sejt szelekció során észlelt defektusokra. Ezek a megfigyelések bizonyítják a TFH sejtek fontos szerepét a B-sejt szelekció folyamatában. (Clin. Exp. Immunol. 2016)

A TFH sejtek fontos szerepet töltenek be a B-sejt érésben és az antitest termelésben. Az atópiás dermatitisben (AD) emelkedett IgE termelés jellemző, mely az adaptív immunitás szerepére utal. Vizsgálatunkban megállapítottuk, hogy a keringő TFH sejtek szignifikánsan magasabb szinten fordulnak elő a gyermekkori AD-ben és az IL-21 termelés is magasabb, mely eredmények pozitívan korrelálnak a betegség súlyosságával, ami felhívja a figyelmet a TFH sejtek vizsgálatának fontosságára AD-ben, különösen a betegség alcsoportjaiban. (Közlésre beküldve: Immunol. Lett.)

A D vitaminnak ismert széleskörű immunmoduláns hatása. A D vitamin receptor gén polymorfizmusa számos betegségben ismert. Több tanulmány felveti, hogy ezek a polymorfizmusok rizikófaktorai lehetnek az autoimmun betegségek kialakulásának. Tekintettel arra, hogy pSS-ben ilyen adat nem állt rendelkezésre, így vizsgálatunkban meghatároztuk a D vitamin receptor gén BsmI, ApaI, TaqI és FokI polymorfizmusok genotípusait. Megállapítottuk, hogy ezek a polymorfizmusok nem mutatnak eltérést az egészséges egyénekhez képest, így nem valószínű, hogy szerepet játszanak a magyar betegek betegségének kialakulásában. (Clin. Rheumatol. 2015)

Korábbi vizsgálatok eredményei azt sugallják, hogy a Toll-like receptorok (TLRs) esszenciális szerepet játszanak az autoimmun betegségek patogenezisében. A TLRs-ek a mintázat felismerő receptorok családjába tartoznak, melyek a patogénekhez asszociált molekuláris mintázatokat ismerik fel. A gazdasejtből felszabaduló receptorok különböző intracelluláris útvonalakat triggerelnek és proinflammatorikus citokinek, kemokinek és co-stimulátor molekulák termelődését idézik elő. A TLR útvonalhoz asszociált fehérjék, mint az IRAK, TRAF, és SOCS gyakran diszreguláltak az autoimmun betegségekben és szerepet játszhatnak ezek patomechanizmusában. Korábbi vizsgálataink alapján, melyben emelkedett micro-RNA-146a/b, TRAF6 gén és csökkent IRAK1 gén expressziót mutattunk ki pSS betegek perifériás mononucleáris sejtjeiben, összefoglaltuk a TLR útvonal szerepét autoimmun kórképekben. (Clin. Rev. Allergy. Immunol. 2016)

Egyre gyűlnek azok a tudományos bizonyítékok, melyek szerint a miRNS-k nagyon fontos szerepet töltenek be a génexpresszió szabályozásában, a sejtek fejlődésében, differenciációjában és funkciójában. Az elmúlt években több olyan közlemény jelent meg, melyben a miRNS-k biomarker szerepére utalnak, illetve a betegségek patogenezisében való részvételre. Az Autoimmun Review-ban megjelent cikkünkben összefoglaltuk a miRNS-k jellemzőit, funkciójukat az immunrendszer szabályozásában és az autoimmun betegségekben. (Autoimmun. Rev. 2016) Betegség-specifikus miRNS-eket mutattunk ki pSS-ben. (Közlésre beküldve Plos one)

A Mikulicz betegség a pSS egyik alcsoportja. Az újabb ismeretek szerint inkább az IgG4-related (IgG4R) betegség csoportba lehet sorolni. Immunológiai Centrumunkban gondozott 800 pSS beteg közül 51-nél merült fel az IgG4R lehetősége, melyre a perzisztáló nyálmirigyduzzanat, anti-Ro/SSA-, anti-La/SSB, autoantitest negativitás, pozitív kisnyálmirigy biopszia, társuló autoimmun-pancreatitis,- hepatitis,- sclerosáló cholangitis és perzisztáló lymphadenopathia jellemző. A betegcsoportban a nemzetközi kritériumokat 4 beteg teljesítette, melynek jelentős differenciál diagnosztikai és terápiás konzekvenciája van. (Scand. J. Rheumatol.2014)

A pSS-ben és az IgG4R betegségben nő a malignus limfóma előfordulási gyakorisága. Összehasonlítottuk a pSS és az IgG4R és a limfómára nagy rizikót mutató betegek klinikai és laboratóriumi paramétereit. Kimutattuk, hogy az IgG4R betegségben, a szérumban szignifikánsan magasabb az IgG4/IgG arány. A legmagasabb nyálmirigy duzzanatban és lymphadenopathiában. Ez a megállapítás azért fontos, mert a két klinikai tünet önmagában is nagyobb limfómás rizikót jelent mindkét betegségben. (Pathol. Oncol. Res. 2016)