

# Rola komórek Langerhansa w immunopatogenezie atopowego zapalenia skóry

## The role of Langerhans cells in etiopathogenesis of atopic dermatitis

Kinga Polasik, Waldemar Placek, Krystyna Romańska-Gocka

Katedra i Klinika Dermatologii, Chorób Przenoszonych Drogą Płciową i Immunodermatologii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu  
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Waldemar Placek

Przegl Dermatol 2010, 97, 303–312

### STRESZCZENIE

#### SŁOWA KLUCZOWE:

komórki Langerhansa, atopowe zapalenie skóry, immunofluorescencja.

#### KEY WORDS:

Langerhans cells, atopic dermatitis, immunofluorescence.

**Wprowadzenie.** Atopowe zapalenie skóry (AZS) jest często występującą, przewlekłą chorobą zapalną, w której stwierdza się liczne nieprawidłowości immunologiczne, m.in.: wysokie stężenie IgE, nadmierną aktywność komórek Langerhansa (KL) oraz zwiększoną ekspresję receptora CD23. Komórki Langerhansa są komórkami dendrytycznymi pochodzenia szpikowego. Stanowią one 3–8% wszystkich komórek naskórka, a u osób z chorobami alergicznymi jest ich znacznie więcej. Komórki Langerhansa są zdolne wychwytywać antygeny egzogenne, takie jak hapteny czy antygeny wirusowe, przetwarzać je i prezentować limfocytom T. Komórki Langerhansa na swojej powierzchni mają antygeny HLA-DR, antygen CD4, receptory FcεRIα i CD23, receptory dla przeciwciała IgE i CD1a, a także cząsteczki kostymulujące CD 80/B7-1, CD 86/B7-2.

**Cel pracy.** Ustalenie liczby i cech morfologicznych komórek Langerhansa w naskórku chorych na AZS przy użyciu przeciwciał przeciw antygenom CD1a i HLA-DR w porównaniu z osobami zdrowymi oraz oznaczenie receptorów powierzchniowych FcεRIα, CD4, CD23, CD80/B7-1, CD86/B7-2, IgE.

**Materiał i metodyka.** Przebadano 18 wycinków pochodzących od osób chorych na atopowe zapalenie skóry. Próbkę kontrolną stanowiły wycinki od 10 zdrowych osób pobrane z pośladków lub z grzbietu ręki. Biopsję u osób chorych pobierano ze zmian chorobowych. Markery KL (CD1a, HLA-DR, FcεRIα, CD4, CD23, CD80/B7-1, CD86/B7-2, IgE) wykrywano, stosując podwójne barwienie immunofluorescencyjne.

**Wyniki.** U pacjentów z AZS stwierdzono w naskórku znacznie więcej KL CD1a<sup>+</sup> niż u zdrowych. Wygląd KL w naskórku różnił się u osób chorych i zdrowych. W naskórku chorych na powierzchni KL stwierdzono obecność wszystkich badanych receptorów, a u zdrowych tylko CD1a, HLA-DR, FcεRIα.

**Wnioski.** Rola KL zależy od obecności receptorów na ich powierzchni, a ich morfologia w naskórku osób chorych na AZS i w naskórku osób zdrowych znacznie się różni. Bardzo duża liczba KL w naskórku chorych na AZS świadczy o stanie zapalnym.

### ABSTRACT

**Introduction.** Atopic dermatitis (AD) is a very common chronic skin disease which displays many immunological abnormalities, e.g. high

ADRES DO KORESPONDENCJI:  
mgr Kinga Polasik  
Katedra i Klinika Dermatologii,  
Chorób Przenoszonych Drogą  
Płciową i Immunodermatologii  
ul. Kurpińskiego 5  
85-096 Bydgoszcz  
e-mail: dropss0@poczta.onet.pl

concentration of IgE, excessive activity of Langerhans cells (LC), increased expression of CD23 receptor. Langerhans cells are dendritic cells which make up 3-8% of epidermal cells and they are present in higher numbers in persons with allergic diseases. Langerhans cells are able to capture exogenous antigens, such as haptens or viral antigens, transform them and present them to T lymphocytes. On the surface of LC HLA-DR antigens, CD4 antigen, FcεRIα and CD 23 receptors, receptors for IgE and CD 1a and co-stimulation molecules CD 80/B7-1 and CD 86/B7-2a are present.

**Objective.** The aim of this study was to establish, using antibodies to CD1a and HLA-DR antigens, the number and morphological features of LC in the epidermis of patients with atopic dermatitis in comparison to healthy controls and to look for FcεRIα, CD4, CD23, CD80/B7-1, CD86/B7-2, and IgE receptors on their surface.

**Material and methods.** The study was performed by double staining in immunofluorescence method using labelled immune sera to CD1a, HLA-DR, FcεRIα, CD4, CD23, CD80/B7-1, CD86/B7-2, and IgE antigens. Eighteen biopsies from atopic dermatitis patients and, as a control, 10 biopsies from healthy persons were studied.

**Results.** In the epidermis of patients with atopic dermatitis a higher number of CD 1a positive LC in comparison to healthy controls was found and its morphology was different. On the surface of LC in the epidermis of AD patients all studied receptors were present, while in the epidermis of healthy persons only CD1a, HLA-DR and FcεRIα receptors were observed.

**Conclusion.** The role of LC depends on the presence of receptors on their surface. The morphology of epidermal LC cells in atopic dermatitis and in healthy persons is different. The higher number of LC in epidermis of patients with atopic dermatitis may be related to the inflammatory process.

---

## WPROWADZENIE

### Komórki Langerhansa

Komórki Langerhansa (KL) są komórkami dendrytycznymi pochodzenia szpikowego, które należą do puli komórek makrofag/monocyt. Ich prekursorem są komórki CD34<sup>+</sup>, z których wywodzą się także makrofagi oraz granulocyty. Stanowią one ok. 3–8% wszystkich komórek naskórka, natomiast u osób z chorobami alergicznymi ich liczba jest znacznie większa. Spotkać je można także w skórze właściwej, w węzłach chłonnych, naczyniach chłonnych oraz grasicy, a także w błonach śluzowych jamy ustnej, przełyku oraz macicy. Największa ich liczba występuje w warstwie podstawnej i kolczystej naskórka. Pojedyncze KL występują wokół naczyń krwionośnych warstwy brodawkowatej skóry właściwej. Cechą charakterystyczną KL są struktury zwane ziarnistościami Birbecka, które wyróżniają je spośród innych komórek dendrytycznych. Na powierzchni KL znajduje się bardzo wiele cząsteczek

(tab. I), które wpływają na funkcję KL znajdujących się w naskórku. Komórki Langerhansa pełnią ważną rolę w zainicjowaniu odpowiedzi immunologicznej. Są one zdolne wychwytywać antygeny egzogenne, takie jak hapteny czy antygeny wirusowe, przetwarzać je i prezentować limfocytom T. Funkcja ta jest związana z obecnością na powierzchni komórek antygenów zgodności tkankowej klasy II, w szczególności HLA-DR. Badania wykazały, że KL są niezbędne do produkcji limfocytów cytotoksycznych, które są skierowane przeciwko stymulującym je komórkom naskórka [1, 2].

CD1 są cząsteczkami zdolnymi do prezentacji antygenów limfocytom T. CD1a, b i c występują na wyspecjalizowanych komórkach prezentujących antygen [2–5].

Na powierzchni KL znajdują się struktury wiążące IgE: receptor o niskim powinowactwie dla IgE (CD23) i o wysokim powinowactwie dla IgE (FcεRI). IgE odgrywa ważną rolę efektorową: wiąże rozmaite alergeny, które ulegają modyfikacji wewnątrz KL, tworzy stabilne wiązanie z receptorami FcεRI na komórkach

tucznych i bazofilach. Receptor FcεRI bezpośrednio uczestniczy w reakcjach alergicznych. Jest on charakterystyczny dla bazofilów, komórek tucznych, KL, eozynofilów i monocytów. Receptor CD23 pośredniczy w cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał. Bierze także udział w regulacji syntezy IgE, oraz w prezentacji związanego przez limfocyty B antygeny w kompleksie z IgE limfocytom T. Odgrywa przez to znaczącą rolę w odpowiedzi alergicznej. HLA-DR należy do klasy II MHC, które występują wyłącznie na komórkach immunokompetentnych. Najczęściej do identyfikacji KL używa się antygeny CD1a oraz HLA-DR. Dzięki HLA-DR komórki Langerhansa wychwytyują antygen, przedstawiają go limfocytom T i inicjują odpowiedź immunologiczną. CD80/B7-1 i CD86/B7-2 występują na powierzchni komórek prezentujących antygen (w naskórku KL), które pobudzają aktywację limfocytów T, po to aby nastąpiła reakcja na alergen [2, 3, 5–7].

### Atopowe zapalenie skóry

Atopowe zapalenie skóry (AZS) jest często występującą przewlekłą chorobą zapalną skóry. Zwykle ujawnia się w okresie niemowlęcym bądź we wczesnym dzieciństwie. Cechuje się intensywnym świądem, ma przewlekły i nawrotowy przebieg, a zmiany skórne są rozmieszczone w charakterystyczny sposób. Najnowsze badania mówią, że ok. 1–30% populacji cierpi na AZS, które dotyka głównie dzieci (10–30%), natomiast dorośli chorują rzadziej (1–3%) [8–11]. U chorych na AZS występowanie zmian skórnych związane jest najczęściej z obecnością przeciwciał w klasie IgE swoistych dla alergenów środowiskowych. Ta postać choroby zwana jest „zewnątrzpochodną” odmianą AZS. Odmiana „wewnątrzpochodna” ma cechy kliniczne typowego atopowego zapalenia skóry, ale nie występują swoiste IgE [11]. Etiopatogeneza AZS obejmuje zarówno wpływ czynników genetycznych, immunologicznych, jak i środowiskowych. Na ryzyko wystąpienia atopowego zapalenia skóry wpływają w 70% czynniki genetyczne. Do tej pory nie zidentyfikowano jednego genu odpowiedzialnego za tę chorobę. Ryzyko wystąpienia atopii u dzieci zdrowych rodziców wynosi ok. 5–10%, natomiast, gdy jedno z rodziców jest chore ryzyko rośnie do 20–40%.

Uważa się, że czynnikiem genetycznym może podlegać kilka etapów patogenezy reakcji atopowej. Należą do nich:

- synteza IgE i innych immunoglobulin;
- swoista odpowiedź na alergeny;
- dystrybucja i zdolność do aktywacji komórek uczestniczących w patogenezie;
- próg odpowiedzi narządów docelowych.

Jednym z ważniejszych genów, którego mutacja wywołuje AZS, jest gen kodujący podjednostkę β re-

**Tabela I.** Najważniejsze cząsteczki powierzchniowe na komórkach Langerhansa

*Table I.* The most important surface molecules on Langerhans cells

Cząsteczka powierzchniowa	Przykład cząsteczki powierzchniowej
cząsteczki MHC	HLA-DR, -DQ, -DP, HLA-A, -B, -C, łańcuch niezmienny cząsteczki MHC klasy II
receptory dla fragmentu Fc przeciwciał	FcεRI FcεRII (CD23) FcεRII (CD32)
cząsteczki adhezyjne i kostymulujące	CD11a/CD18 CD11b/CD18 CD11c/CD18 integryny β1 (CD24) CD54 CD58 CD80 (B7-1) CD86 (B7-2) kadheryna E
receptory dla cytokin i chemokin	CD121a (receptor typu I dla IL-1) CD25 (łańcuch α receptora dla IL-2) CD116 (receptor dla GM-CSF) receptory dla TNF
inne cząsteczki	CD1a/c CD4 CD36 CD45 ATP-aza langeryna (CD207)

ceptora dla IgE o wysokim powinowactwie – FcεRIα. Najwięcej genów znajduje się na chromosomie 5 w locus 5q31.1-q33. Są to geny dla cytokin IL-3, IL-5, IL-9, IL-13, GM-CSF, SPINK5. W AZS stwierdzano również mutację w genach, które kodują: chymazę komórek tucznych, HLA-DR, receptor TLR-2, chymotrypsynę warstwy rogowej SCCE, chymazę mastocytów CMA1, transferazę glutaminową GSTP1 i filagrynę [8, 12, 13].

U osób chorych na atopowe zapalenie skóry stwierdza się zmiany w układzie immunologicznym [14–18]. Należą do nich:

- zwiększone wytwarzanie IgE;
- nadmierna aktywność KL;
- zwiększone spontaniczne uwalnianie histaminy z bazofilów;
- zmniejszenie liczby i osłabienie funkcji limfocytów T supresorowych CD8<sup>+</sup>;
- zwiększona ekspresja receptora CD23 na komórkach jednojądrzastych;
- osłabiona odpowiedź skóry typu późnego;
- przewlekłe pobudzenie makrofagów i monocytów do zwiększonego wytwarzania GM-CSF, PGE<sub>2</sub> i IL-10;

- zwiększona liczba limfocytów Th2, które wytwarzają IL-4 i IL-5;
- zmniejszona liczba limfocytów Th1, które wytwarzają IFN- $\gamma$ .

Na rozwój choroby i występowanie zaostrzeń w jej przebiegu mają wpływ czynniki środowiskowe. Należą do nich: klimat, zanieczyszczenia środowiska (głównie CO<sub>2</sub> i dymem tytoniowym), alergeny pokarmowe i powietrzno pochodne, bakteryjne, alergeny kontaktowe, czynniki drażniące, czynniki psychiczne, sytuacje stresowe [12, 15, 19–21].

W przebiegu AZS dochodzi do uszkodzenia warstwy rogowej naskórka na skutek oddziaływania szeregu czynników. Należą do nich:

- zwiększony poziom endogennej proteazy SCCE (ang. *stratum corneum chymotryptic enzyme*), która uszkodza korneodesmosomy;
- egzogenne proteinazy, które wytwarzane są przez roztocza kurzu domowego;
- zaburzenia struktury filagryny;
- zmniejszona ilość lipidów w obrębie naskórka;
- nieprawidłowa funkcja neutrofilów, która prowadzi do częstszego występowania infekcji bakteryjnych i wirusowych w skórze chorych na AZS [16].

Badania histopatologiczne wykazują nieswoiste zmiany różniące się w zależności od stopnia zaawansowania zmiany skórnej. Ostre zmiany charakteryzują się:

- śródskórnymi pęcherzykami, obrzękiem międzykomórkowym, tak zwanym stanem gąbczastym (spongiozą) w obrębie naskórka;
- okołowłośniczkowymi naciekami komórkowymi w skórze właściwej, które składają się z limfocytów i monocytów;
- występowaniem komórek tucznych zawierających niewielką liczbę ziarnistości;
- powiększonymi i zawierającymi duże jądra komórkami śródbłonka naczyń w powierzchniowych spłotach włósczkowych.

Przewlekłe zmiany cechują się:

- akantozą powstałą w wyniku hiperplazji naskórka;
- nadmiernym rogowaceniem i włóknieniem obecnym we wszystkich warstwach skóry;
- zwiększoną liczbą komórek tucznych i KL w skórze;
- demielinizacją nerwów w skórze [8].

Rozpoznanie atopowego zapalenia skóry ustala się na podstawie charakterystycznych objawów klinicznych [8, 11, 17, 19–21]. Aby rozpoznać AZS, należy stwierdzić przynajmniej 3 z 4 kryteriów głównych oraz co najmniej 3 z objawów mniejszych, które zostały zaproponowane przez Hanifina i Rajkę [8, 11, 17, 19–21].

Wyróżnia się trzy fazy choroby [8, 17, 19]:

- niemowlęcą, zwaną także wypryskiem atopowym wczesnego dzieciństwa – do 2. roku życia;

- dziecięcą, wyprysk atopowy późnego dzieciństwa – do 12. roku życia;
- młodzieżową i osób dorosłych.

## CEL PRACY

Ustalenie liczby i cech morfologicznych KL w naskórku chorych na AZS przy użyciu przeciwciał przeciw antygenom CD1a i HLA-DR w porównaniu z naskórkiem osób zdrowych. Dalszym celem było oznaczenie receptorów powierzchniowych Fc $\epsilon$ RI $\alpha$ , CD4, CD23, CD80/B7-1, CD86/B7-2, IgE oraz określenie na podstawie ich obecności roli KL w AZS.

## MATERIAŁ I METODYKA

Do badań użyto wycinków skóry, które pochodziły od 28 osób zgłaszających się na badania do Kliniki Dermatologii, Chorób Przenoszonych Drogą Płciową i Immunodermatologii Szpitala Uniwersyteckiego w Bydgoszczy. Osiemnaście wycinków pochodziło od pacjentów z AZS, dziesięć od osób zdrowych, które stanowiły grupę kontrolną.

Wycinki do badań pobierano z okolicy zmienionej chorobowo u osób w ostrej fazie choroby, natomiast osoby w fazie przewlekłej miały pobierane biopsje z ognisk liszajowacenia. U osób zdrowych materiał do badań pobierano z niezmienionej skóry pośladka. Biopsje zaraz po pobraniu były zamrażane w ciekłym azocie. Wycinki skrawano w kriostacie w temperaturze  $-28^{\circ}\text{C}$  na grubość  $4\ \mu\text{m}$  i umieszczano na szkiełkach podstawnych w celu przeprowadzenia reakcji immunofluorescencji (podwójne barwienie). Jako przeciwciała pierwotnego użyto CD1a znakowanego TRITC emitującym czerwoną fluorescencję. Uważa się, że przeciwciała *anti-human* CD1a pozwala zidentyfikować wszystkie KL w naskórku. Przeciwciała wtórne skierowane przeciw HLA-DR, Fc $\epsilon$ RI $\alpha$ , CD4, CD23, CD80/B7-1, CD86/B7-2 oraz IgE, były znakowane FITC emitującym zieloną fluorescencję. Dzięki technice podwójnego barwienia możliwe było wykrycie jednocześnie na tym samym skrawku dwóch antygenów. Wyznaczone preparaty oglądano pod mikroskopem fluorescencyjnym przy powiększeniu  $\times 400$ . W celu określenia liczby KL na  $\text{mm}^2$  naskórka policzono wszystkie komórki w jednym polu widzenia, a następnie wynik pomnożono przez 16.

## WYNIKI

Komórki Langerhansa stwierdzono w wycinkach od obu badanych grup. W grupie kontrolnej u wszystkich badanych stwierdzono wybarwienie trzech receptorów: CD1a, HLA-DR i Fc $\epsilon$ RI $\alpha$  (tab. II),

natomiast u chorych na AZS wszystkie badane receptory, które znajdują się na powierzchni KL (CD1a, CD4, CD23, CD80/B7-1, CD86/B7-2, HLA-DR, FcεRIα) dały pozytywną reakcję (tab. III).

U 18 (100%) chorych zaobserwowano fluorescencję CD1a i HLA-DR. Dwanaście (66%) osób miało na powierzchni KL receptor dla CD4. Komórki CD86<sup>+</sup> i IgE<sup>+</sup> barwiły się u 11 (61%) spośród 18 pacjentów. Receptor FcεRIα dał pozytywną reakcję u czternastu spośród 18 (77%) chorych. U 10 (55%) pacjentów zaobserwowano fluorescencję KL CD23<sup>+</sup> i CD80<sup>+</sup>.

U osób zdrowych liczba KL wybarwionych przeciwciałem *anti-human* CD1a/TRITC mieściła się w przedziale 144–272 KL/mm<sup>2</sup> naskórka (ryc. 1. A). Liczba KL inkubowanych z HLA-DR wyniosła od 96 KL/mm<sup>2</sup> do 272 KL/mm<sup>2</sup> naskórka (ryc. 1. B). Minimalna liczba komórek CD1a<sup>+</sup> FcεRIα<sup>+</sup> (ryc. 2. A, B) wyniosła 80 KL/mm<sup>2</sup>, a maksymalna 192 KL/mm<sup>2</sup> naskórka (tab. II).

Liczba komórek CD1a<sup>+</sup> u osób chorych na AZS mieści się w przedziale od 112 KL/mm<sup>2</sup> do 480 KL/mm<sup>2</sup> naskórka (ryc. 3. A). Komórki CD1a u osób zdrowych występowały pojedynczo, nie kontaktowały się z keratynocytami, a wypustki dendrytyczne były krótkie i mało liczne. W chorym naskórku komórki CD1a tworzyły skupiska, wypustki były długie i poplątane między keratynocytami.

Wszyscy chorzy na AZS mieli na KL receptor dla HLA-DR. Komórki Langerhansa HLA-DR<sup>+</sup> występ-

**Tabela II.** Średnia liczba komórek Langerhansa u osób zdrowych wyrażona w KL/mm<sup>2</sup> naskórka

**Table II.** Mean number of Langerhans cell in healthy controls (LC/mm<sup>2</sup> of epidermis)

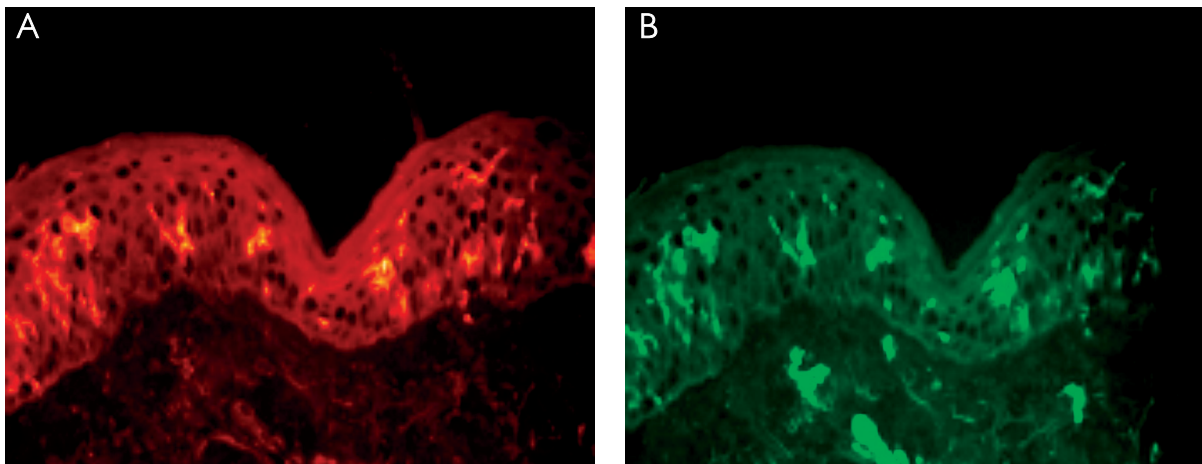
Lp.	CD1a <sup>+</sup>	HLA-DR <sup>+</sup>	FcεRIα <sup>+</sup>
1	224	208	176
2	208	208	160
3	208	176	128
4	144	128	80
5	160	96	80
6	176	176	144
7	240	192	192
8	192	192	112
9	256	240	160
10	272	272	192

owały w liczbie od 96 KL/mm<sup>2</sup> do 384 KL/mm<sup>2</sup> naskórka (ryc. 3. B). Od 43% nawet do 96% komórek CD1a<sup>+</sup> zawierało na swej powierzchni antygen HLA-DR (ryc. 4. A). U chorych komórki Langerhansa HLA-DR<sup>+</sup> nie były rozmieszczone równomiernie, a tworzyły skupiska w większych fragmentach naskórka. Bardzo często występowały w formie nacieków nie tylko w naskórku, ale także w skórze właściwej. Można także zaobserwować ekspresję HLA-DR na powierzchni keratynocytów.

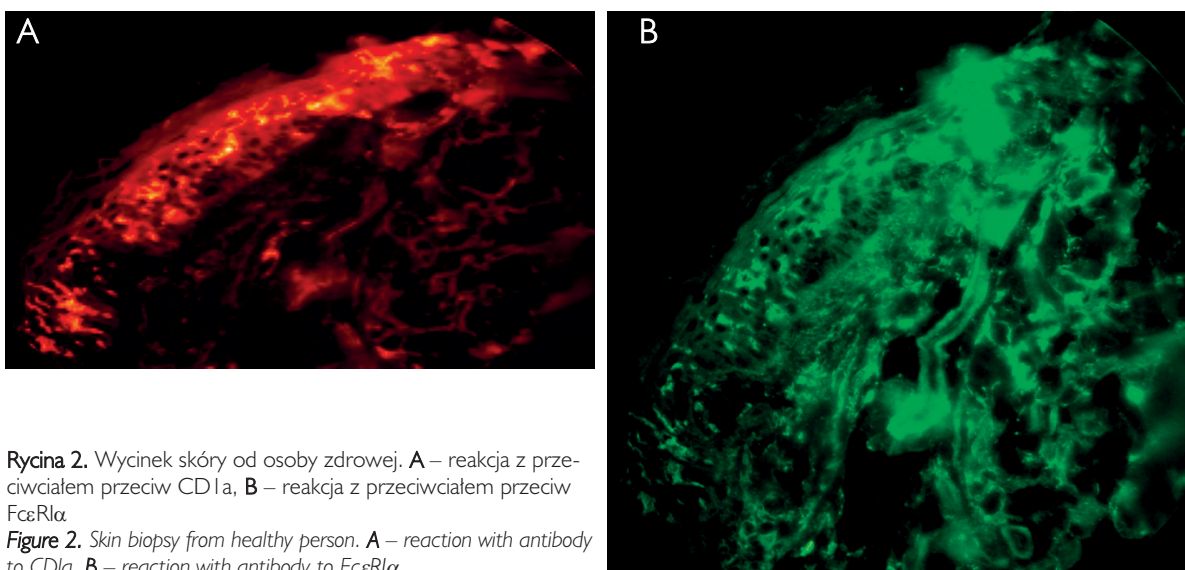
U osób zdrowych komórek Langerhansa CD1a<sup>+</sup> HLA-DR<sup>+</sup> było znacznie mniej niż u chorych. Były

**Tabela III.** Średnia liczba komórek Langerhansa u osób chorych na atopowe zapalenie skóry wyrażona w KL/mm<sup>2</sup> naskórka  
**Table III.** Mean number of Langerhans cell in patients with AD (LC/mm<sup>2</sup> of epidermis)

Lp.	CD1a <sup>+</sup>	HLA-DR <sup>+</sup>	FcεRIα <sup>+</sup>	CD23 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD80/B7-1 <sup>+</sup>	CD86/B7-2 <sup>+</sup>	IgE <sup>+</sup>
1	416	256	0	0	112	0	0	0
2	480	304	0	0	0	0	0	0
3	112	96	80	0	0	0	0	0
4	192	176	160	0	112	0	32	0
5	432	384	352	240	176	272	160	208
6	448	192	192	112	176	208	224	272
7	176	112	0	0	0	0	0	0
8	240	224	0	0	0	0	0	0
9	368	352	256	192	192	80	160	128
10	272	224	128	192	176	192	200	112
11	432	240	256	240	128	160	176	128
12	400	384	320	208	208	192	160	176
13	208	128	96	80	80	128	112	128
14	304	288	240	160	144	208	128	128
15	192	160	128	0	0	0	0	80
16	384	320	272	192	176	288	128	128
17	272	192	192	112	192	176	128	64
18	256	112	80	0	0	0	0	0



Rycina 1. Wycinek skóry od osoby zdrowej. **A** – reakcja z przeciwciałem przeciw CD1a, **B** – reakcja z przeciwciałem przeciw HLA-DR  
Figure 1. Skin biopsy from healthy person. **A** – reaction with antibody to CD1a, **B** – reaction with antibody to HLA-DR



Rycina 2. Wycinek skóry od osoby zdrowej. **A** – reakcja z przeciwciałem przeciw CD1a, **B** – reakcja z przeciwciałem przeciw FcεRIα  
Figure 2. Skin biopsy from healthy person. **A** – reaction with antibody to CD1a, **B** – reaction with antibody to FcεRIα

one pojedyncze, równomiernie rozmieszczone w całym naskórku i nie występowały w skórze właściwej. Cechowały się także krótkimi wypustkami i małym ciałem komórkowym.

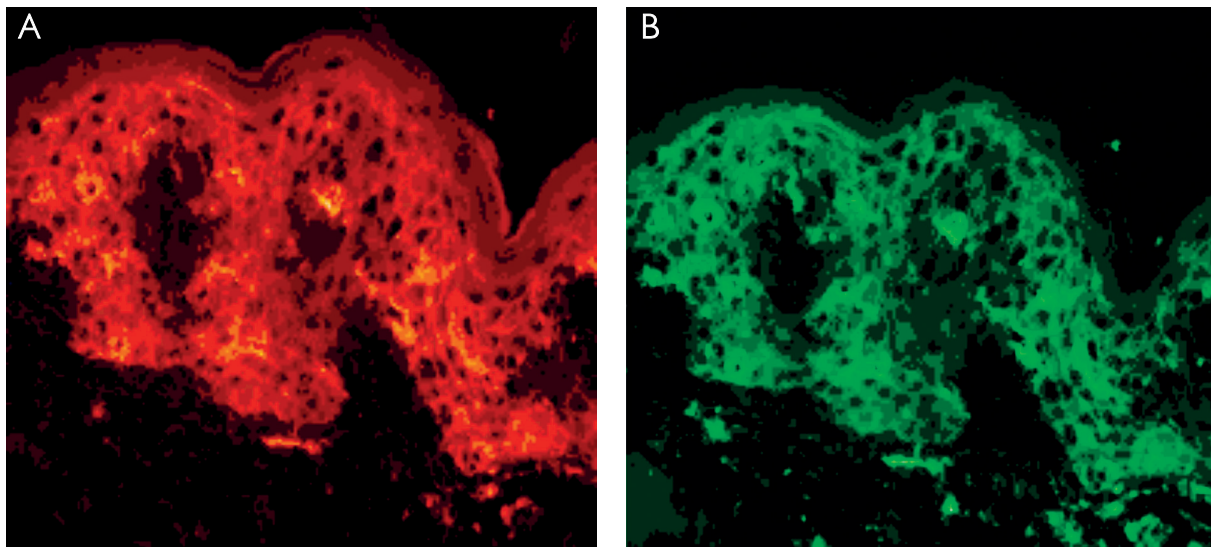
U chorych na AZS liczba komórek Langerhansa FcεRIα<sup>+</sup> mieściła się w przedziale 80–352 KL/mm<sup>2</sup> naskórka (tab. III); 31–83% KL miało na swej powierzchni receptor dla przeciwciała przeciw FcεRIα (ryc. 5. A, B). Komórki Langerhansa u osób chorych występowały liczniej w naskórku (ryc. 6.) niż u zdrowych. Były one znacznie większe i tworzyły skupiska. Bardzo często obserwowano długie, płączące się wypustki KL, FcεRIα<sup>+</sup> obecne było także w skórze właściwej.

W wycinkach pobranych od chorych na AZS na powierzchni KL stwierdzono również receptory CD23, CD4, CD80, CD86 i IgE, których nie obserwowano u ludzi zdrowych.

Liczba komórek CD 23<sup>+</sup> mieściła się w przedziale 80–240 KL/mm<sup>2</sup> naskórka, a CD4<sup>+</sup> w przedziale 80–208 KL/mm<sup>2</sup> naskórka. Komórki Langerhansa CD23<sup>+</sup> oraz CD4<sup>+</sup> znajdowały się w naskórku. Występowały one pojedynczo i były dość równomiernie rozmieszczone.

Liczba KL mających na swej powierzchni receptor CD80/B7-1 mieściła się w przedziale 80–288 KL/mm<sup>2</sup> naskórka, natomiast liczba komórek dających pozytywną reakcję z cząsteczką kostymulującą CD86/B7-2 wyniosła od 32 KL/mm<sup>2</sup> do 224 KL/mm<sup>2</sup> naskórka (tab. III).

Liczba KL mających na powierzchni receptor dla IgE (ryc. 7. A, B) wynosiła od 64 KL/mm<sup>2</sup> do 272 KL/mm<sup>2</sup> naskórka (tab. III). U chorych poziom tej immunoglobuliny w naskórku był bardzo różny. Nawet 60% KL zidentyfikowanych przy użyciu przeciwciała *anti-human* CD1a, zawierało receptor



Rycina 3. Wycinek skóry od pacjenta z AZS. **A** – reakcja z przeciwciałem przeciw CD1a, **B** – reakcja z przeciwciałem przeciw HLA-DR  
 Figure 3. Skin biopsy from patient with atopic dermatitis. **A** – reaction with antibody to CD1a, **B** – reaction with antibody to HLA-DR

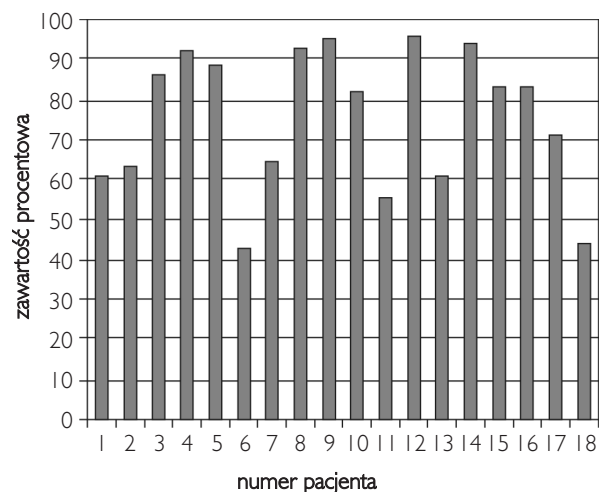
dla IgE (ryc. 8.). Komórki Langerhansa IgE<sup>+</sup> tworzyły skupiska w naskórku lub, u niektórych pacjentów, występowały pojedynczo. Cechowały się one dużym ciałem komórkowym i długimi wypustkami.

#### OMÓWIENIE

Atopowe zapalenie skóry jest chorobą o bardzo złożonej etiologii. Główną rolę w odporności immunologicznej odgrywają KL, które znajdują się w naskórku. U osób zdrowych są one mało aktywne, natomiast u chorych na AZS uczestniczą w prezentacji antygenów. Głównym markerem, który wykrywa KL w naskórku, jest przeciwciało skierowane przeciw CD1a. Do określenia aktywności KL używa się także przeciwciał HLA-DR, CD4, CD23, CD80, CD86, IgE oraz FcεRIα.

Komórki Langerhansa, zarówno u osób zdrowych, jak i chorych na AZS, charakteryzowały się najczęściej fenotypem CD1a<sup>+</sup> HLA-DR<sup>+</sup>. Takiego zdania są także Kuna i Placek [5, 8]. Według Kuny komórki Langerhansa, jako jedyne komórki w naskórku osób zdrowych, mają ekspresję antygenów zgodności tkankowej klasy II, do których należą HLA-DR [8].

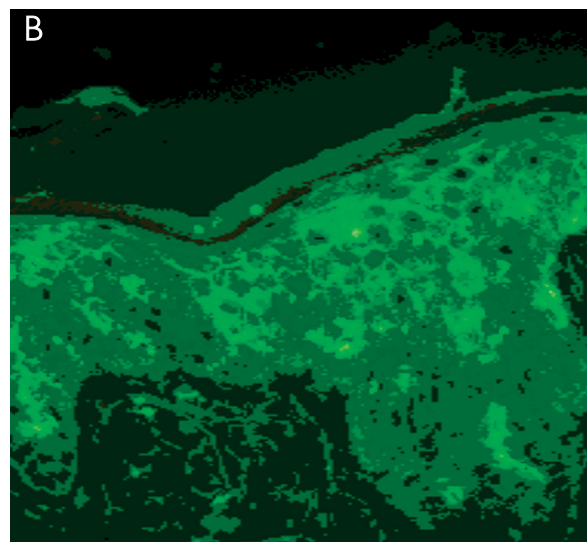
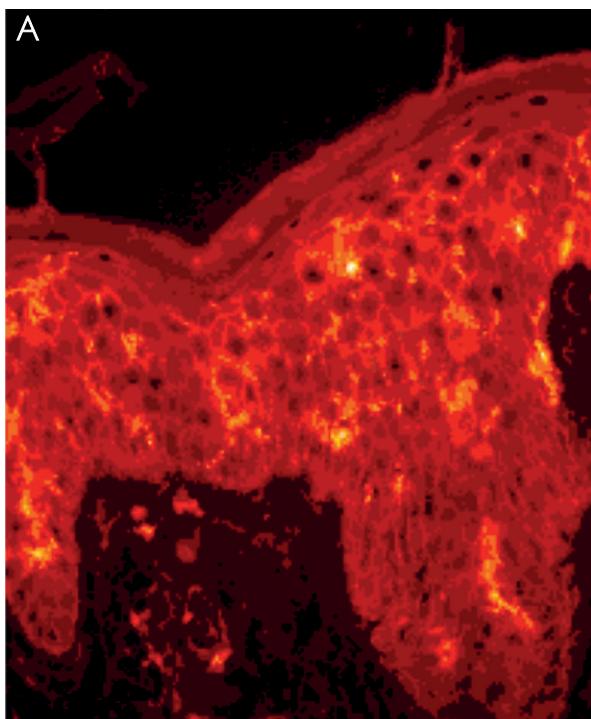
Liczba KL na mm<sup>2</sup> naskórka w wycinkach skóry chorych na atopowe zapalenie skóry barwionej przeciwciałami *anti-human* CD1a i *anti-human* HLA-DR znacznie różniła się od liczby tych komórek u osób zdrowych, co zaobserwowano również w badaniach własnych. Obserwacje te może tłumaczyć fakt, że u osób chorych występuje zwiększona aktywność



Rycina 4. Odsetek komórek HLA-DR<sup>+</sup> w stosunku do komórek Langerhansa CD1a<sup>+</sup> u osób chorych na atopowe zapalenie skóry  
 Figure 4. Ratio of HLA-DR<sup>+</sup> to CD1a<sup>+</sup> Langerhans cells in patients with atopic dermatitis

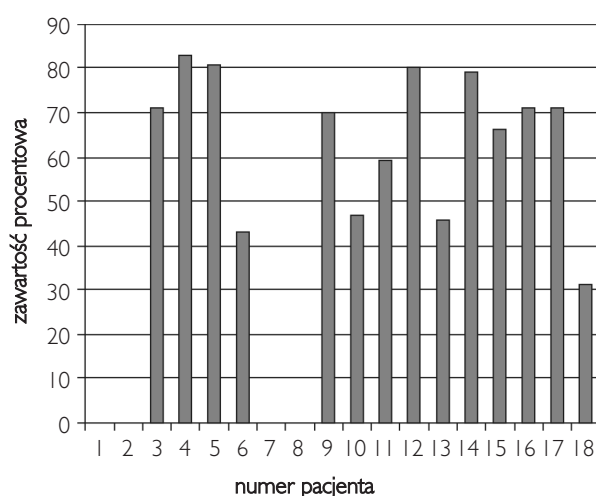
prezentacji antygenów limfocytom T, zapoczątkowująca reakcję nadwrażliwości [8].

Wielu badaczy, m.in. Placek i wsp., uważa, że nacieki KL w skórze właściwej świadczą o stanie zapalnym, miejscowej prezentacji antygenów, a także o aktywacji limfocytów T [18]. Ponadto u chorych na AZS stwierdzono ekspresję HLA-DR na powierzchni keratynocytów. Zarówno Roszkiewicz i wsp. [22], jak i Placek i wsp. [18] uważają, że u chorych na AZS komórki Langerhansa HLA-DR<sup>+</sup> łączą się z wypustkami keratynocytów. Placek w swoich badaniach sugeruje, iż przyleganie KL HLA-DR<sup>+</sup> do keratynocytów ma na celu nabycie ekspresji antyge-



Rycina 5. Wycinek skóry od pacjenta z AZS. **A** – reakcja z przeciwciałem przeciw CD1a, **B** – reakcja z przeciwciałem przeciw FcεRIα

Figure 5. Skin biopsy from patient with atopic dermatitis. **A** – reaction with antibody to CD1a, **B** – reaction with antibody to FcεRIα



Rycina 6. Odsetek komórek FcεRIα w stosunku do komórek Langerhansa CD1a<sup>+</sup> u osób chorych na atopowe zapalenie skóry  
Figure 6. Ratio of FcεRIα<sup>+</sup> to CD1a<sup>+</sup> Langerhans cells in patients with atopic dermatitis

nu HLA-DR przez keratynocyty [5]. Takiego samego zdania są także Roszkiewicz i wsp., którzy uważają, że keratynocyty HLA-DR<sup>+</sup> mogą wspomagać KL w prezentacji antygenów [22, 23].

FcεRIα jest receptorem o wysokim powinowactwie do IgE. Znajduje się na powierzchni KL. Jeśli przeciwciało *anti-human* FcεRIα przyłączyło się do bardzo dużej liczby KL, to ekspresja IgE na ich powierzchni w naskórku była bardzo niska lub nie było jej wcale. Wybarwienie komórek CD1a<sup>+</sup> Fcε-

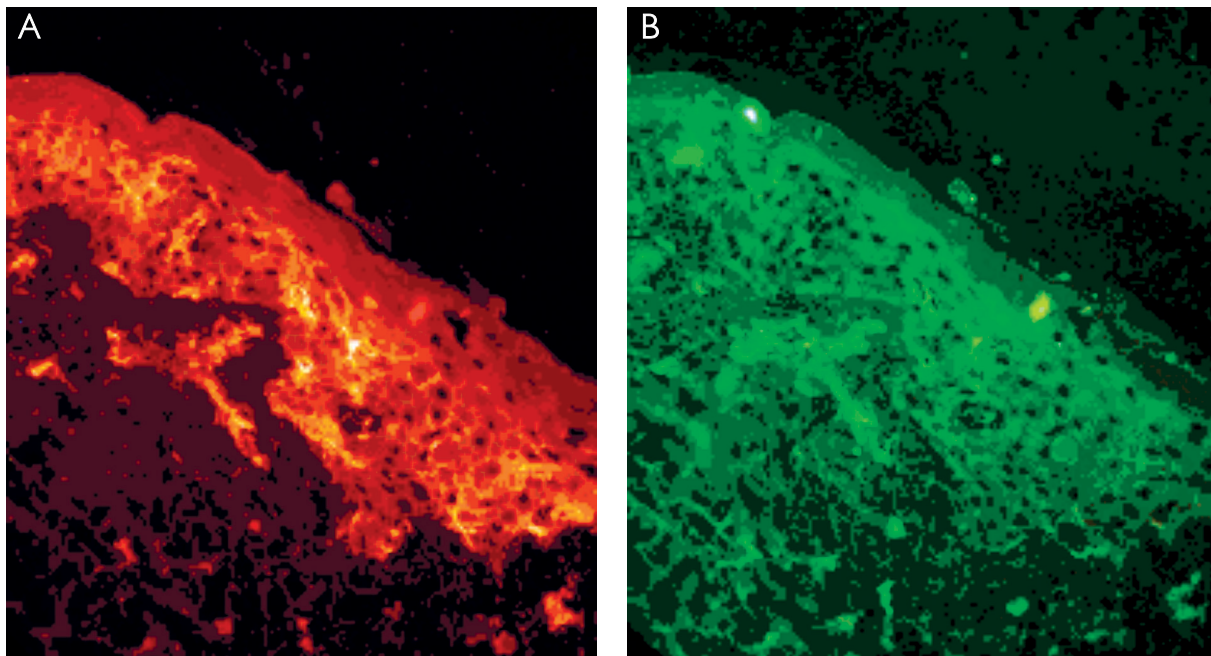
RIα<sup>+</sup> świadczy o tym, że mają one wysoką ekspresję receptora FcεRIα na swojej powierzchni oraz że poziom IgE w skórze jest bardzo niski.

Poziom IgE w skórze osób zdrowych oraz u chorych w łagodnej fazie AZS jest dość niski lub niewykrywalny [26, 27]. Słabe świecenie FcεRIα następuje, jeżeli receptor FcεRIα jest zablokowany przez IgE [24, 25]. U niektórych osób poziom IgE zarówno w surowicy, jak i w skórze nie zmienia się, mimo ostrego przebiegu choroby. Zaobserwowali to również Wanat-Krzak i Kurzawa [21]. Obecność IgE bądź też jej brak w skórze pacjentów związane są z procesem prezentacji antygenów. W naszym materiale nawet 60% KL zidentyfikowanych przy użyciu przeciwciała *anti-human* CD1a zawierało receptor dla IgE. Duża rozpiętość liczby KL IgE<sup>+</sup> dotyczy zróżnicowania aktywności choroby.

Werfel i Kapp [11] uważają, że alergeny wiążą się z przytwierdzonymi do komórek Langerhansa IgE, które nie wytworzyły jeszcze kompleksu za pośrednictwem FcεRIα – receptora Fc o wysokim powinowactwie dla IgE. Duża ilość immunoglobuliny IgE w skórze świadczy o ostrym przebiegu choroby [11, 21].

Komórki Langerhansa IgE<sup>+</sup> krążą w skórze, aby zapoczątkować szybką reakcję immunologiczną zależną od IgE w momencie ponownego pojawienia się alergenu. Komórki te mogą także brać udział w prezentacji antygenów, które dotarły do skóry poprzez naczynia krwionośne. Wysokie stężenie IgE



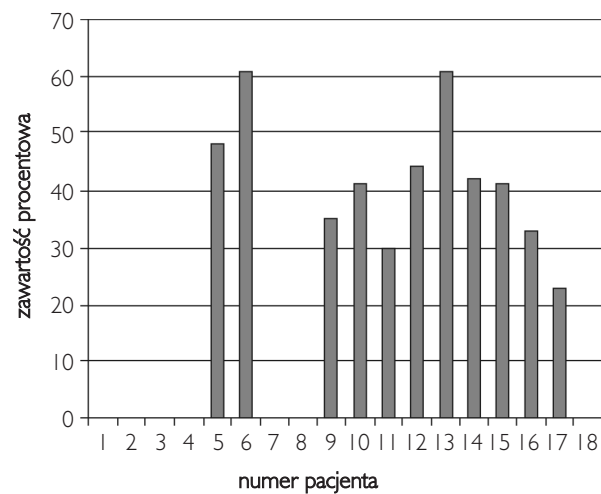


Rycina 7. Wycinek skóry od pacjenta z AZS. **A** – barwiony przeciwciałem przeciw CD1a, **B** – reakcja z przeciwciałem przeciw IgE  
 Figure 7. Skin biopsy from patient with atopic dermatitis. **A** – reaction with antibody to CD1a, **B** – reaction with antibody to IgE

w skórze stymuluje KL, a także monocyty i eozynofile do ekspresji receptorów dla IgE. Obecność swoistych IgE we krwi potwierdza uczulenie na swoiste alergeny, ale nie musi to jeszcze świadczyć o AZS [8, 26, 27].

W wycinkach skóry od osób zdrowych nie zaobserwowano reakcji pozytywnej z przeciwciałami przeciw CD4, CD23, CD80/B7-1, CD86/B7-2 oraz IgE. Może to wynikać z faktu, że receptory te wykazują bardzo niską ekspresję w warunkach fizjologicznych.

Dużą ekspresję receptora CD23 (FcεRII) można zaobserwować u osób z ostrym przebiegiem AZS. Chorzy przewlekle mają bardzo niski poziom tego receptora bądź w ogóle nie jest on ujawniany. Z badań własnych wynika, że w porównaniu z receptorem o wysokim powinowactwie do IgE – FcεRIα – receptorów CD23 jest ok. 30% mniej. Zwiększona ekspresja CD23 może ułatwić prezentację antygenów limfocytom T i w ten sposób modulować odpowiedź immunologiczną. Zdaniem Machury i wsp. [28] ekspresja CD23 nie koreluje ze stężeniem IgE. Poziom ekspresji CD23 nie odzwierciedla również nasilenia zmian skórnych, które koreluje ze stopniem ciężkości AZS [28]. Zwiększona ekspresja receptora CD23 ułatwia wiązanie IgE. U osób zdrowych jest to znacznie utrudnione ze względu na niskie powinowactwo CD23 do IgE. CD23 pomaga w fagocytozie prowadzonej przez makrofagi, która zachodzi z udziałem IgE [3]. Związanie IgE przez receptor, zarówno FcεRIα, jak i CD23, pełni bardzo



Rycina 8. Odsetek komórek mających na powierzchni IgE<sup>+</sup> w stosunku do komórek Langerhansa CD1a<sup>+</sup> u osób chorych na atopowe zapalenie skóry

Figure 8. Ratio of IgE<sup>+</sup> to CD1a<sup>+</sup> Langerhans cells in patients with atopic dermatitis

ważną rolę w patomechanizmie AZS. Wiązanie IgE za pomocą właśnie tych receptorów umożliwia wyłapywanie alergenów oraz rozpoczęcie IgE-zależnej reakcji immunologicznej.

W niniejszej pracy zaobserwowano, że podwyższonej ekspresji CD23 towarzyszyła zwiększona ekspresja CD86. Cząsteczki CD80/B7-1 i CD86/B7-2 wykazują ekspresję u chorych w ostrej fazie. Komórki B7-2 mają większą ekspresję niż B7-1. Cząsteczki CD86, zwiększając syntezę IgE, mogą oddziaływać

na natężenie oraz na przebieg reakcji alergicznej. Pod wpływem alergenów ich ekspresja wzrasta [6].

## WNIOSKI

Rola KL zależy od obecności cząstek na ich powierzchni. U chorych na AZS stwierdzono w naskórku bardzo dużą liczbę komórek Langerhansa CD1a<sup>+</sup>, większą niż u osób zdrowych – 90% tych komórek zawierało receptor dla HLA-DR.

Wygląd KL w naskórku osób chorych i zdrowych różni się znacznie. U osób chorych KL miały dłuższe wypustki dendrytyczne, tworzyły nacieki i kontaktowały się z keratynocytami. Na powierzchni komórek Langerhansa zaobserwowano odwrotną zależność ekspresji receptora FcεRIα i receptora dla IgE.

## Piśmiennictwo

- Bauer J., Bahmer F.A., Worl J., Neuhuber W., Schuler G., Fartasch M.: A strikingly constant ratio exists between Langerhans cells and other epidermal cells in human skin. A stereologic study using the optical dissector method and the confocal laser scanning microscope. *J Invest Dermatol* 2001, 116, 313-318.
- Silny W., Czarnecka-Operacz M., Piotrowski M.: Komórki Langerhansa i ich prawdopodobny udział w patomechanizmie atopowego zapalenia skóry. *Przeegl Dermatol* 1996, 83, 133-139.
- Gołąb J., Jakóbskiak M., Lasek W., Stokłosa T.: *Immunologia*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2007.
- Hunger R., Sieling P.A., Ochoa M.T., Sugaya M., Burdick A.E., Rea T.H. i inni. Langerhans cells utilize CD1a and langerin to efficiently present nonpeptide antigens to T cells. *J Clin Invest* 2004, 5, 701-708.
- Placek W. Współczesny pogląd na temat czynności komórek Langerhansa. *Przeegl Dermatol* 1989, 76, 454-459.
- Pogorzelska-Dyrbuś J., Pogorzelska-Antkowiak A., Hadas E. Rola komórek Langerhansa w układzie immunologicznym skóry. *Przeegl Dermatol* 2004, 91, 147-152.
- Zielonka M.T. Pathogenesis of pulmonary Langerhans cell histiocytosis. *Alergia Astma Immunologia* 2003, 8, 121-127.
- Kuna P. Atopowe zapalenie skóry. [w:] *Immunologia kliniczna*. M.L. Kowalski (red.), Mediton, Łódź, 2000, 199-240.
- Boguniewicz M. Postępy w rozumieniu zespołu atopowego zapalenia skóry: drobnoustroje i makrolaktyny. *Alergia Astma Immunologia* 2004, 9, 169-173.
- Machura E., Halkiewicz F., Mazur B., Karczevska K., Goleniec E.: Subpopulacje limfocytów krwi obwodowej u dzieci z zespołem atopowego zapalenia skóry. *Alergia Astma Immunologia* 2002, 7, 205-210.
- Werfel T., Kapp A.: Atopowe zapalenie skóry i alergiczne kontaktowe zapalenie skóry. [w:] *Alergia*. S.T. Holgate, M.K. Church, L.M. Lichtenstein (red.), Wydawnictwo Czelej, Lublin, 2003, 105-125.
- Adamek-Guzik T., Guzik T., Czerniawska-Mysik G., Pryjma J.: Znaczenie obniżonej odporności na infekcje w patogenezie atopowego zapalenia skóry: rola *Staphylococcus aureus*. *Alergia Astma Immunologia* 2001, 6, 169-179.
- Zabłotna M., Nedoszytko B., Wilkowska A., Gleń., Roszkiewicz J.: Związek polimorfizmu 181 Ile/Leu podjednostki beta receptora o wysokim powinowactwie do IgE z atopowym zapaleniem skóry. *Post Dermatol Alergol* 2007, 24, 11-15.
- Kraft S., Wessendorf J.H.M., Hanau D., Bieber T.: Regulation of the high affinity receptor for IgE on human epidermal Langerhans cells. *Immunol* 1998, 16, 1000-1006.
- Romańska-Gocka K., Gocki J., Placek W., Zegarska B.: Rola bariery skórnej, wybranych czynników środowiskowych i karmienia piersią w atopowym zapaleniu skóry. *Post Dermatol Alergol* 2006, 23, 228-233.
- Bartoszak L., Czarnecka-Operacz M.: Alergia kontaktowa u dzieci chorych na atopowe zapalenie skóry. *Post Dermatol Alergol* 2007, 24, 120-126.
- Braun-Falo O., Plewig G., Wolff H.H., Burgdorf W.H.C.: *Dermatologia*. Wydawnictwo Czelej, Lublin, 2003, 474-487.
- Placek W., Haftek M., Szarmach H.: Komórki Langerhansa w łuszczycy. *Przeegl Dermatol* 1992, 79, 5-13.
- Jabłońska S., Majewski S.: *Choroby skóry i choroby przenoszone drogą płciową*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2005, 179-185.
- Rosińska A., Stajkowska I., Cichy W.: Rola alergenów pokarmowych w etiopatogenezie atopowego zapalenia skóry. *Post Dermatol Alergol* 2007, 5, 224-232.
- Wanat-Krzak M., Kurzawa R.: Diagnostyka i leczenie wyprysku atopowego. *Alergia Astma Immunologia* 2006, 11, 11-21.
- Roszkiewicz J., Roszkiewicz A., Szarmach H.: Fibronektyna w skórze chorych z wypryskiem. *Przeegl Dermatol* 1990, 77, 233-240.
- Roszkiewicz J., Roszkiewicz A., Szarmach H.: Obraz ultrastrukturalny komórek Langerhansa w skórze chorych z alergicznym wypryskiem kontaktowym. *Przeegl Dermatol* 1990, 77, 241-248.
- Allan J.P., Novak N., Fuchs C., Asen S., Berge S., Apple T. i inni: Characterization of dendritic cells from human oral mucosa. A new Langerhans cell type with high constitutive FcεRI expression. *J Allergy Clin Immunol* 2003, 112, 141-145.
- Semper A.E., Heron K., Woolard A.G.S., Kochan J.P., Friedmann P.S., Church M.K. i inni: Surface expression of FcεRI on Langerhans cells of clinically uninvolved skin in atopic dermatitis, allergic asthma and rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2003, 112, 411-419.
- Saini S., Mac Glashan D., Beskow J., Nath Jr.: Culture with IgE increase density and FcεRI expression on human basophils. *J Allergy Clin Immunol* 1997, 99, 102.
- Saito H., Nakajima T., Tachimoto H., Hino A., Sato S.: Up regulation of FcεRIα by IgE molecules on human cultured mast cells and basophils. *J Allergy Clin Immunol* 1997, 99, 103.
- Machura E., Mazur B., Grzywka E., Karczevska K., Goleniec E.: Ekspresja CD23 na limfocytach B krwi obwodowej i stężenie cytokin IL-4, IL-10, IL-12 u dzieci z zespołem atopowego zapalenia skóry. *Alergia Astma Immunologia* 2004, 9, 39-44.

Otrzymano: 2 IV 2010 r.

Zaakceptowano: 2 IX 2010 r.