

Rekonstruerad human hud för prediktiv allergi- och toxicitetstestning samt studier av initiala mekanismer vid allergiska eksem.

*Annika Scheynius
Inst. För laboratoriemedicin
Avd. för klinisk immunologi
Karolinska Sjukhuset
171 76 Stockholm*

Projekt: 38/99

Nyckelord: allergi- och toxicitetstestning, rekonstruerad human hud, hudmodell

Rekonstruerad human hud för prediktiv allergi- och toxicitetstestning samt studier av mekanismer vid allergiska eksem. Vi har satt upp metoder för att odla fram antigenpresenterande dendritiska celler från humana blodceller. Genom olika tillsatser av tillväxtfaktorer kan vi få dessa celler att imitera de antigenpresenterande Langerhanscellerna i huden. Dessa celler tillhör de mest potenta antigenpresenterande cellerna i kroppen och är nödvändiga för uppkomst av allergiska reaktioner. Vi har därmed möjlighet att i laboratoriet studera dessa cellers interaktion med kontaktallergen som nickel och allergen som bidrar till atopiskt eksem. Dessa studier ger kunskap om de initiala mekanismerna vid uppkomst av allergi och kan leda till förbättrade preventiva och terapeutiska åtgärder.

Individer med atopiskt eksem är en utsatt och i antal ökande grupp där prevalensen idag är 20% bland barn och ungdomar i Sverige. I våra studier av cellulära och molekylära patogenesmekanismer vid atopiskt eksem har vi fokuserat på den på huden normalt förekommande lipofila jästsvampen *Malassezia* som ett modellsystem då nära 70% av patienterna med atopiskt eksem har IgE och/eller T cellsreaktivitet mot denna mikroorganism (Scheynius et al 2002). Med stöd av projektmedlen har vi:

- Visat att in vitro genererade CD1a+ Langerhanscellslika humana dendritiska celler kan effektivt binda och internalisera *Malassezia* och allergena komponenter när de har en omogen fenotyp liknande den i epidermis, men att denna förmåga är kraftigt sänkt när de odlats till en mogen fenotyp liknande den i lymfknotor (Buentke et al 2000). Vi har funnit att drygt 90% av de omogna dendritiska cellerna uttrycker mannosreceptorn i jämförelse med knappt 10% hos de mogna och via blockeringsförsök visat att mannosreceptorn är en viktig upptagsmekanism för *Malassezia* komponenter (Buentke et al 2000). Detta upptag sker i frånvaro av IgE antikroppar vilket tyder på att sensibilisering mot *Malassezia* kan ske via antigenpresenterande dendritiska celler i huden.
- Gjort den intressanta observationen att *Malassezia* aktiverar omogna antigenpresenterande celler till produktion av cytokiner med förmåga att driva det inflammatoriska svaret i riktning mot Th2 aktivitet (Buentke et al 2001).
- Visat att NK-celler ("naturliga mördarceller") har en regulatorisk roll i interaktionen mellan antigenpresenterande celler och *Malassezia*. I hudbiopsier från positiva lapptestreaktioner mot *Malassezia* har vi för första gången presenterat bevis att dendritiska celler och NK celler kan interagera in vivo (Buentke et al 2002).

I studier av kontaktallergiska reaktioner har vi funnit att under sensibiliseringsfasen mot ett kontaktallergen (diphenylcyclopropenone) ökar antalet MMP-9+ Langerhansceller i huden (Heffler et al 2002). MMP-9 är ett metalloprotein som är av betydelse för Langerhanscellens förmåga att förflytta sig i huden. Det ökade uttrycket av MMP-9 avspeglar sannolikt kontaktallergenets aktivering av de antigenpresenterande Langerhanscellerna.

Vidare har vi utvärderat ELISPOT -tekniken som ett tänkbart in vitro alternativ till lapptestning på huden vid diagnostik av nickelallergi (Jakobson et al 2002). Metoden kunde särskilja kontaktallergipatienter från friska individer, och behöver nu utvärderas på ett större patientmaterial.

Delprojektet att utveckla en komplett human hudmodell innehållande antigenpresenterande Langerhansceller för allergi- och toxicitetstestning, som initierades i ett EU finansierat samarbetsprojekt, visade sig innebära betydande svårigheter att standardisera modellen avseende in vivo-lik täthet av Langerhansceller. Efter ihärdiga försök har projektet därför lagts ned inom vår forskargrupp.

Originalartiklar i internationella tidskrifter

1. Buentke E, Zargari A, Heffler LC, Avila-Carino J, Savo1ainen J, Scheynius A. Uptake of the yeast *Malassezia furfur* and its allergenic components by immature CD1a + dendritic cells. Clin. Exp. Allergy 30, 1759-1770, 2000.
2. Buentke E, Heffler L C, Wallin R P A, Löfman C, Ljunggren H G, Scheynius A. The allergenic yeast *Malassezia furfur* induces maturation of human dendritic cells. Clin Exp Allergy 31, 1583-1593, 2001.
3. Heffler L C, Kastman A-L, Jacobsson, Ekman G, Scheynius A, Fransson J. Langerhans cells that express matrix metalloproteinase 9 increase in human dermis during sensitisation to diphenylcyclopropanone. Br J Dermatol 147, 222-229, 2002.
4. Jakobson E, Masjedi K, Ahlborg N, Lundeberg L, Karlberg A-T, Scheynius A. Cytokine production in nickel-sensitized individuals analyzed with enzyme-linked immunospot assay: possible implication for diagnosis. Br J Dermatol 147, 1-8, 2002.
5. Buentke E, Heffler L C, Wilson J, Wallin R, Ljunggren H-G, Scheynius A. Natural killer and dendritic cell contact in lesional atopic dermatitis skin – *Malassezia*-influenced cell interaction. J Invest Dermatol 119, 850-857, 2002.

Översiktsartikel

1. Scheynius A, Johansson C, Buentke E, Zargari A, Tengvall Linder M. Atopic eczema/dermatitis syndrome and *Malassezia*. Int Arch Allergy Immunol 127, 161-169, 2002.

Licentiatexamen

Heffler L. In vivo and in vitro studies on allergic contact dermatitis. Karolinska Institutet 2001.