

Samenvatting

Het aantal mensen dat lijdt aan allergische aandoeningen, zoals rinitis (hooikoorts), astma en constitutioneel eczeem (atopische dermatitis), is de afgelopen decennia sterk toegenomen. Over de rol die macrofagen in de huid van mensen met atopische dermatitis spelen, was nog niet veel bekend. Macrofagen zijn cellen die deel uitmaken van het immuunsysteem en die een groot aantal verschillende taken vervullen. Zij zijn onder meer betrokken bij het opruimen van bacteriën en dode cellen. Bovendien scheiden deze macrofagen een groot aantal verschillende mediators uit. Deze mediators kunnen het lokale milieu beïnvloeden, bijvoorbeeld door het aantrekken van andere leukocyten. Daarnaast kunnen macrofagen immunologische processen zowel onderdrukken als activeren.

Dit proefschrift beschrijft de aanwezigheid van macrofagen in de huid. In **Hoofdstuk 2** wordt het aantal en fenotype (uiterlijk) van de macrofaag en dendritische cel (gespecialiseerde antigeen presenterende cellen) populaties beschreven. Het aantal macrofagen in de huid van atopische dermatitis patiënten is hoger dan bij gezonde niet-allergische personen. Verder blijkt dat tijdens de allergische ontsteking veel meer macrofagen dan dendritische cellen de huid binnenkomen. De macrofagen in de huid zijn zeer heterogeen qua fenotype en zijn derhalve in verschillende subpopulaties onder te verdelen. Deze fenotypische heterogeniteit is waarschijnlijk afhankelijk van het lokale micromilieu in de huid.

Dat het lokale milieu inderdaad een zeer belangrijke rol speelt bij het bepalen van macrofaag fenotypen, blijkt uit het onderzoek bij muizen in **Hoofdstuk 7**. Daarbij is allereerst de migratie van macrofagen vanuit huid, long, of buikholte (peritoneum) naar de drainerende lymfeklieren bekeken. Daarnaast is het fenotype onderzocht van de macrofagen nadat zij vanuit het ene weefsel naar een ander weefsel worden overgebracht. Dit onderzoek toont aan dat het migratiepatroon en het fenotype van macrofagen afhangt van het weefsel waar de cellen terecht komen, en niet van het weefsel waar de macrofagen oorspronkelijk vandaan komen. Een voorbeeld: macrofagen uit de long die in de huid teruggespoten worden migreren niet naar de lymfeklieren en krijgen het fenotype van huidmacrofagen, terwijl macrofagen uit de buikholte die in de long worden gespoten net als longmacrofagen migreren naar paracorticale velden van de drainerende lymfeklieren brengen zij markers tot expressie die specifiek zijn voor longmacrofagen.

In **Hoofdstuk 3** wordt de verdeling van mogelijk suppressieve (onderdrukkende) macrofagen in de huid van patiënten met bij atopische dermatitis beschreven. Uit experimenten van andere onderzoekers blijkt dat in de longen een subpopulatie macrofagen aanwezig is, die een remmende werking heeft op de activatie van T cellen. Astmapatiënten hebben minder suppressieve macrofagen in hun longen dan gezonde controles, en astmapatiënten ontwikkelen daarom wellicht sneller een allergische ontsteking in de longen. Deze subpopulatie macrofagen is met behulp van twee specifieke antilichamen (RFD1 en RFD7) aan te tonen. In de huid van patiënten met atopische dermatitis lijken juist veel meer van deze "suppressieve" macrofagen aanwezig te zijn, toch is er sprake van een chronische ontstekingsreactie. Dit suggereert dat deze

macrofagen niet functioneel zijn, of dat het micro-milieu voor een preferentieel RFD1+RFD7+ fenotype zorgt, dat niet gerelateerd is aan een suppressieve functie. Functionele studies met RFD1+RFD7+ cellen konden echter niet verricht worden gezien het kleine aantal macrofagen dat uit een huidbiopt geïsoleerd kan worden.

De voorlopercellen van weefselmacrofagen zijn de monocytten in het bloed. Deze cellen kunnen eenvoudig verkregen worden waarna zij onder invloed van verschillende kweekcondities uitrijpen tot macrofagen dan wel dendritische cellen. Er is op het niveau van deze uit het bloed afkomstige monocytten geen verschil in fenotype aan te tonen tussen niet-allergische individuen en patiënten met atopische dermatitis (**Hoofdstuk 4**). Er is ook geen verschil aan te tonen tussen uitgerijpte monocytten van gezonde dan wel atopische dermatitis patiënten qua expressie van celmembraan markers en T cel stimulatie capaciteit.

Vervolgens is er gekeken naar de expressie van immuunglobuline G (IgG) receptoren (receptoren voor antilichamen) in de huid. Deze receptoren binden specifiek IgG, en zijn betrokken bij een groot aantal immunologische processen, zoals antigeenopname. Er was tot op heden weinig bekend over de expressie van IgG receptoren in de huid en voornamelijk niet over de celtypen in de huid die deze receptoren tot expressie brengen tijdens ontstekingsreacties. De IgG receptor familie is onder te verdelen in drie typen, voornamelijk op basis van verschil in affiniteit voor IgG subklassen. In de huid van patiënten met atopische dermatitis zijn alle drie verschillende IgG receptoren aanwezig op macrofagen. Tijdens acute en chronische allergische ontsteking in de huid is het aantal macrofagen dat met name de hoog-affiene IgG receptor, Fc γ RI, CD64 tot expressie brengt sterk toegenomen (**Hoofdstuk 5**).

Deze hoog affiene IgG receptor heeft de unieke eigenschap dat het antilichaam gebonden antigenen kan opnemen. Via deze receptor (Fc γ RI) is het mogelijk om moleculen de cel in te brengen. Het huisstofmijt allergeen DerP1 blijkt via de Fc γ RI potenter T cellen tot deling aan te zetten, dan wanneer DerP1 niet via Fc γ RI aan de cellen wordt aangeboden.

Het is reeds bekend dat mensen met atopische dermatitis, naast een verhoogd serum gehalte aan IgE antilichamen, ook een verhoogd gehalte aan IgG4 antilichamen hebben. De rol van IgG4 in de allergische ontstekingsreacties in de huid is onduidelijk. Alleen de hoog affiene IgG receptor, Fc γ RI, kan IgG4 binden en internaliseren. IgG4 antilichamen kunnen binden in de huid van atopische dermatitis patiënten, waarschijnlijk aan Fc γ RI op macrofagen (**Hoofdstuk 6**).

Bovenbeschreven resultaten hebben geleid tot het volgende hypothetische model over de rol van Fc γ RI positieve macrofagen en IgG4 bij het in stand houden van ontstekingsreacties in de huid van patiënten met atopische dermatitis: Antigeenspecifieke IgG4 antilichamen binden aan relevant allergeen en dit antilichaam-allergeen complex bindt vervolgens aan Fc γ RI. Eerdere studies hebben aangetoond dat het cytokine interferon-gamma, sterk verhoogd is in ontstoken huid van atopische dermatitis patiënten. Interferon-gamma induceert Fc γ RI expressie op myeloïde cellen. Deze receptor, welke in de aangedane huid van atopische dermatitis patiënten voornamelijk door macrofagen tot

expressie wordt gebracht, is in staat om dit complex op te nemen en samen met MHC klasse II op het celoppervlak tot expressie te brengen. Dit complex kan herkend worden door allergeenspecifieke T cellen, die geactiveerd worden, gaan prolifereren en pro-inflammatoire mediators uitscheiden. Deze cascade zorgt er vervolgens weer voor dat macrofagen geactiveerd blijven en leukocyten de huid binnen blijven komen, ergo de ontsteking persisteert.

Dat macrofagen inderdaad betrokken zijn bij het in stand houden van de ontstekingsreactie in de huid blijkt uit onze experimenten met transgene muizen **(Hoofdstuk 8)**. Deze transgene muizen brengen de humane hoog-affiene IgG receptor (Fc γ RI) tot expressie. Door gebruik te maken van een immuun-toxine gekoppeld aan een Fc γ RI receptor antilichaam, is het gelukt om Fc γ RI-positieve macrofagen specifiek uit ontstokene huid te verwijderen. Eliminatie van deze macrofagen zorgt voor een afname van de ontsteking, te meten aan afname van de vasodilatatie, afname van de lokale huidtemperatuur en afname van het aantal andere ontstekingscellen. De macrofagen spelen dus een zeer belangrijke rol bij het in stand houden van de ontstekingsreactie.

Naar aanleiding van bovengenoemde bevindingen; expressie van IgG receptoren in de huid van patiënten met atopische dermatitis, en de remming van ontsteking in de huid door eliminatie van Fc γ RI-positieve macrofagen, is een klinische trial gestart. In deze trial wordt getest of specifieke eliminatie van geactiveerde, Fc γ RI-positieve macrofagen uit de aangedane (lesionale) huid van patiënten met atopische dermatitis leidt tot vermindering van ontsteking.

De resultaten behaalt in dit promotieonderzoek met als doelstelling het onderzoeken van de rol van macrofagen in de huid van patiënten met atopische dermatitis, hebben mede aanleiding gegeven tot de ontwikkeling van een nieuwe therapie voor ontsteking in de huid. In de toekomst zal gekeken worden of deze therapie ook bij andere chronische ontstekingen, zoals reuma, gebruikt kan worden.