

KEMÉNY LAJOS, SZABÓ KORNÉLIA, SZÉLL MÁRTA, BATA-CSÖRGŐ ZSUZSANNA

## *Dermatoimmunológiai kutatások*

### 1. A dermatoimmunológiai kutatások kezdete az SZTE Bőrgyógyászati Klinikán

A bőrgyógyászatban évtizedekig szinte kizárólag a morfológiai szemlélet uralkodott. A szegedi bőrklinikán a tudományos kutatásokban áttörő változást eredményezett, amikor a Simon Miklós vezetése alatt álló klinikán Dobozy Attila a nemzetközi trendeknek megfelelően bevezette a funkcionális dermatológiai kutatásokat, melynek fókuszában a bőr immunológiai funkciójának megértése állt. Nagy változást hozott a klinika életében, amikor Dobozy Attila akadémiai kutatócsoport megalapítására nyert el támogatást és 1999-ben vezetésével megalakult az MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoport. A kutatócsoport vezetését 2007-től Kemény Lajos vette át. A Kutatócsoport keretében az Akadémia alkalmazásában álló kutatók és a klinika munkatársai közösen végzik munkájukat, melynek elsődleges célja a multifaktoriális bőrbetegségek hátterében álló genetikai és molekuláris folyamatok megértése (1. ábra).



1. ábra. Az SZTE ÁOK Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikán folyó kutatások.

A Kutatócsoport az elmúlt 15 évben nagyon termékeny munkát folytatott, melyet a munkatársak által közölt publikációk, elnyert pályázatok, PhD dolgozatok és tudományos diákköri tevékenység fémjelez. Az elért eredmények azt is jól tükrözik, hogy a klinikusok és a kutatók szoros, mindennapi együttműködése milyen rendkívüli

módon tudja elősegíteni egy tudományág mélyreható, eredményes művelését. A szegedi immundermatológiai kutatásokat elősegítették nemzetközi kapcsolataink is. A nagyszerű 1992-es „Immunodermatology Symposium Szeged” kongresszuson a világ vezető kutató bőrgyógyászai jöttek Szegedre, és a két évente megrendezésre kerülő „Szeged Dermatology Days” kongresszusokon is Európa vezető bőrgyógyászai látogattak el hozzánk. Ezen együttműködések és kongresszusok „hozadékként” a klinika számos munkatársa töltött el éveket külföldi kutatólaboratóriumokban, majd hazatérve – és a kollaborációkat megtartva - folytatták kutatásaikat.

## 2. Dermatoimmunológiai kutatási irányok

Munkacsoportunk évek óta a bőr, mint immunszerv működését kutatja, elsősorban az immunológiai hátterű bőrbetegségek patomechanizmusának és terápiás lehetőségeinek felderítése céljából. Elsőként mutattuk ki, hogy a hámsejtek (keratinociták) rendelkeznek a mikrobiális patogének felismerésére alkalmas receptorokkal, melyek közvetlen, azonnali védekezési mechanizmusokat indítanak be a keratinocitákban. Munkacsoportunk Széll Márta vezetésével a gyulladásos bőrbetegségek immungenetikai hátterét is kutatja. Nagyszámú kontroll és betegcsoport (pikkelysömör, atóniás dermatitis, akne, lábszárfekély, vitiligo, stb.) izolált DNS-ének összehasonlítása alapján az adott betegségekre hajlamosító/védő genetikai polimorfizmusokat mutattunk ki. Husz Sándor vezetésével az autoimmun hólyagos bőrbetegségek korszerű diagnosztikai lehetőségeit és a betegségek kialakulásának mechanizmusát is vizsgáltuk. A pikkelysömör hátterében álló fokozott keratinocita proliferáció patogenezisét a Bata Zsuzsanna által vezetett csoport vizsgálja. A nem léziós pikkelysömörös hámban kimutattuk a fibronektin speciális formáját (onkofötális fibronektin), amely szerepet játszhat a pikkelysömörös léziók iniciálásában. Kemény Lajos vezetésével az UV fény immunszuppresszív hatásainak sejtes mechanizmusainak számos részletét tártuk fel, új terápiás eszközt fejlesztettünk ki, és a fototerápiát új indikációban is bevezettük.

## 3. Nemzetközileg is kiemelkedő kutatási eredményeink.

### 3. 1. A hámsejtek szerepe a bőr immunrendszer működésében

A szervezetet a külvilágtól elhatároló szervek folyamatos támadásnak vannak kitéve a környezeti hatások és a különféle patogének által, így kiemelkedően

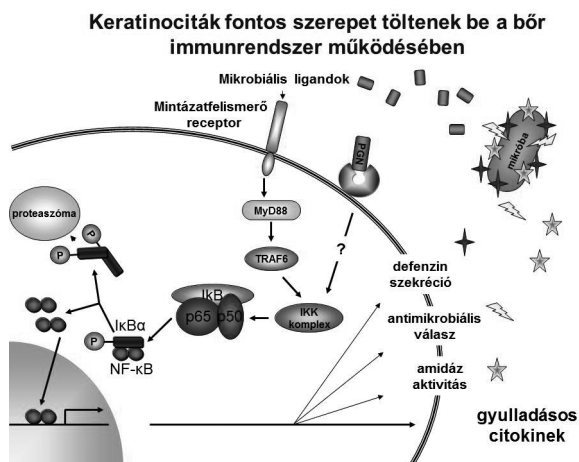
fontos védelmi funkciókat látnak el. A bőr az emberi szervezet egyik legnagyobb szerve, amelynek feladata a környezettől való elhatárolásunk, belső szerveink védelme különféle fizikai, kémiai és mechanikai hatásokkal, illetve különféle patogén mikroorganizmusok támadásával szemben.

A világ számos laboratóriumában már évtizedek óta vizsgálják a profeszionális immunrendszer sejtjeinek válaszát mikroorganizmusok hatására. Az a jelenség azonban, hogy bőrünkben a hámsejtek passzív elhatároló funkciójuk mellett aktív immunfunkciókat is ellátnak, csak a 80-as években került felismerésre. A Szegedi Tudományegyetem Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikáján működő kutatólaboratóriumban Csató Miklósnak és munkatársainak jelentős szerepe volt ezekben a kezdeti vizsgálatokban. Munkacsoportunk írta le először azt, hogy a keratinociták önállóan is képesek egyes patogén mikroorganizmusok, például a *Candida albicans* humánpatogén gomba elpusztítására (Csató, 1987; Csató, 1990). A jelenség felismerése mellett azok háttérében lezajló folyamatok feltárásában is jelentős szerepet játszottunk. Megfigyeltük, hogy a fenti folyamatok hatékonyságát szervezetünk különféle belső tényezői, és külső környezeti faktorok egyaránt befolyásolják. Előbbire példa a melanocita stimuláló hormon (α-MSH), illetve különféle gyulladásszerű mediátorok szintje, míg a környezeti tényezők közül részletesen elemeztük és igazoltuk az ultraibolya (UV) sugárzás hatását (Csató, 1987). Ezt követően arra a kérdésre is választ kerestünk, hogy milyen sejt- és molekuláris biológiai folyamatok állhatnak a megfigyelt jelenségek háttérében. Számos olyan molekulát is azonosítottunk, melyek elengedhetetlennek bizonyultak a *Candida*-ölő hatás kifejtésében (Csató, 1990). Végül az események mechanizmusára vonatkozó adatokat is sikerült nyerni. Többek között arra is fényt derített, hogy a gomba speciális felszíni struktúrái a humán sejtek felszínén található mannóz receptorokhoz (KcMR) képesek kapcsolódni (Szolnoky, 2001). Ennek a jelnek a hatására a keratinocitákban nitrogén-monoxid képződik, mely molekulának, fontos szerepe van a baktériumok, gombák, vírusok és paraziták elleni általános immunválaszban.

A fenti eredmények a 80-as és 90-es években úttörőnek számítottak, hiszen a rezidens bőrsejtek korábban nem feltételezett, aktív védő szerepét igazolták. Ezek eredményeképpen a kutatócsoport egyrészt nemzetközi szinten is jelentős elismertségre tett szert, másrészt pedig a kísérleti adatok alapul szolgáltak egy új kutatási irány megerősödéséhez, melynek célja a keratinociták bőr immunitásában betöltött szerepének megismerése volt. Ezek a vizsgálatok a 90-es évek második felétől a klinika keretei között működő kutatócsoport mellett az MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoport egyik fő profilja is lett. Ebben az időszakban a specifikus *Candida*-ellenes hatás mellett vizsgálatain-

kat már kiterjesztettük más mikróbák, illetve mikrobiális eredetű anyagok hatásának vizsgálatára is. Munkánk eredményei alapján megállapítottuk, hogy az akkoriban újonnan felfedezett Toll-like receptor (TLR) család tagjai fontos szerepet játszanak azokban a folyamatokban, melyek segítségével a bőr sejtjei felismerik, és különbséget tesznek a környezetükben megfigyelhető, és az őket támadó mikroorganizmusok között (Pivarcsi, 2003). Ennek eredményeképpen hatékony, patogén specifikus válasz kialakulását kezdeményezhetik, mely elsősorban úgynevezett veleszületett immun-, és gyulladásos folyamatok formájában nyilvánulnak meg. Érdekesnek bizonyult azonban az a megfigyelés is, mely szerint **macrophages** őssejtek a patogén mikróbák mellett az egészséges bőrben is megfigyelhető, a bőr mikrobiomjának fontos tagját jelentő *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) baktériumfaj felismerésére is képesek voltak (Nagy, 2005).

A mikróbák hatására induló veleszületett immunfolyamatok jelentősége óriási, hiszen az ekkor keletkező molekulák fontos szerepet játszanak a szervezet immunvédekezését biztosító egyéb sejttípusoknak a fertőzések helyére történő irányításában (2. ábra)



2. ábra. A keratinocitákban mikrobiális faktorok hatására induló folyamatok, és képződő molekulák.

Ilyen faktorok keletkezését a munkacsoportunk tagjai is leírták tenyésztett keratinociták esetében, különböző mikrobiális anyagokkal történő kezelést követően (Pivarcsi, 2003).

A képződő molekulák egy másik nagy csoportjába a gyulladásos folyamatok kialakulását elősegítő faktorok, úgynevezett citokinek (pl. tumor nekrosis faktor  $\alpha$  -TNF $\alpha$ , interleukin-1 $\alpha$  -IL-1 $\alpha$ ) tartoznak. Ez utóbbi folyamatok

a támadás helyén a betolakodó patogén mikroorganizmusok eliminálásában kulcsfontosságúak, de ha túlzott mértékűek, az a környező szövetekben kóros, szövetkárosító reakciók indulását is eredményezhetik.

A tenyésztett normál humán keratinocita kultúrák segítségével végzett vizsgálatok arra is rámutattak, hogy a bőr sejtjei természetes mikrobaellenes hatású faktorokat is termelnek, mint például a humán  $\beta$ -defensin 2 (hBD2) nevű fehérjét, mely közvetlenül is képes különféle baktériumok és gombák elpusztítására. Vizsgálataink eredményei arra is rámutattak, hogy egyes *P. acnes* törzsek hatására a hBD2 szintje megemelkedik a keratinocitákban, azonban a mesterséges eljárásokkal termelt fehérjének nem volt hatása laboratóriumi körülmények között a baktérium életképességére. Ez arra utalt, hogy szerepe inkább a baktérium által kiváltott immunválasz elindításában és szabályozásában lehet (Nagy, 2005).

Kutatásaink során a keratinociták mellett a bőr follikulusainak felépítésében szintén szerepet játszó faggyútermelő sejtek, az úgynevezett szebociták és a mikrobák kapcsolatát is elemeztük. Eredményeink alapján ez utóbbi sejt-típusban is a keratinocitákban megismertekhez hasonló molekuláris folyamatokat azonosítottunk. Emellett a szebociták egyes baktériumok, mint például a *P. acnes* jelenlétében fokozott faggyútermelést is mutattak.

A fenti eredmények elméleti jelentőségük mellett sok adatot szolgáltatottak az egyik leggyakoribb gyulladásoos bőrbetegség, a tinédzserkorú populáció jelentős hányadát érintő pattanásos bőrbetegség, vagy acne vulgaris patogenezisének mélyebb megismeréséhez is. Ez egy kizárólag embereken előforduló krónikus gyulladásoos betegség, ami leggyakrabban az arc, a mellkas, a váll és a hát faggyúmirigyeit érinti, és kialakulásában számos tényezőnek együttes szerepe van. Ugyan régóta feltételezték a *P. acnes* jelentőségét is a tünetek kialakulása folyamán megfigyelhető veleszületett immun-, és gyulladásoos folyamatok kiváltásában, de arról, hogy a baktériumnak van-e, és pontosan mi a jelentősége a bőrtünetek kialakulása során, a mai napig megoszlanak a vélemények. Ennek az oka az lehet, hogy jelenleg még nem sikerült magyarázatot találni arra, hogy milyen hatásokra, és hogyan válhat egy egyébként ártalmatlan, az egészséges bőr mikrobiomjában is fontos szerepet játszó mikroba patogénné.

A 2000-es években az addig végzett sejt- és molekuláris biológiai vizsgálatok mellett a molekuláris genetika módszereit is alkalmazni kezdtük. Az új kutatási irány alapjául azok a korábbi megfigyelések szolgáltak, melyek szerint a *P. acnes* által kiváltott immun-, és gyulladásoos folyamatok kialakulásakor a baktérium hatására a keratinociták által termelt gyulladáskeltő citokinek mennyisége is meghatározó. Hipotézisünk szerint ezek fokozott mértékű

termelődése súlyosabb acnés tünetek kialakulásával járhat együtt. Genetikai vizsgálatokat indítottunk tehát, melyekben olyan örökletes faktorokat vizsgáltunk, melyek az örökítő anyagunk, a DNS molekulák egy-egy pontján található eltéréseket jelentenek. Ezeket egynukleotidos polimorfizmusoknak (single nucleotide polymorphisms – SNP) nevezzük. Emellett úgynevezett hosszúság polimorfizmusok (variable number of tandem repeats – VNTR) azonosítását és pathogenetikát jelentőségének megismerését is elkezdjük. A vizsgált örökletes faktorok olyan génekben helyezkednek el, melyek befolyásolhatják a *P. acnes* baktérium felismerését, illetve a termelődő gyulladássos citokinek szintjét, szerkezetét, és/vagy funkcióját. Ily módon többek között a patogénfelismerő TLR2 és 4 receptorok, a TNFA és az IL-1A gyulladássos citokinek, valamint egy természetes gyulladáellenes molekula, az IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) kódoló génjének (IL1RN) kiválasztott polimorfizmusait elemeztük. Ezekről irodalmi adatok alapján már ismert volt az is, hogy szerepet játszhatnak különféle krónikus gyulladássos betegségekre való hajlam kialakításában.

Az IL-1a citokint kódoló génben egy olyan SNP-t azonosítottunk, melynek hordozói nagyobb eséllyel szenvednek súlyosabb acnés tünetektől. Irodalmi adatok alapján azt is feltételeztük, hogy ez az eltérés befolyásolhatja az érett, szekretált, biológiailag aktív fehérje mennyiségét, ily módon fokozhatja a gyulladás mértékét (Szabó, 2010). Ezzel szemben a TNFA citokint kódoló TNFA gén esetében egy védő hatású SNP-t találtunk. További vizsgálataink eredményei alapján ez a polimorfizmus a gén szabályozását, és ezen keresztül szintén a képződő gyulladássos molekula mennyiségét befolyásolhatja (Szabó, 2011).

Napjainkban tovább folynak azok a vizsgálatok, melyek a bőr sejtjeinek és a bőrünkben egészséges körülmények között is itt élő mikrobák, vagy más néven a mikrobiom közötti kölcsönhatás természetét és jellegzetességeit vizsgálják. Modern sejt- és molekuláris biológiai módszerek alkalmazásával részletesen elemezzük a keratinocitákban zajló változásokat, valamint azt, hogy hogyan hat a baktériumok növekedése és ezáltal mennyiségének változása az induló folyamatok mértékére. Emellett arra a kérdésre is választ szeretnénk kapni, hogy van-e eltérés a különböző *P. acnes* törzsek hatásában. Tovább elemezzük a keratinocitákban és a szebocitákban a baktérium hatására induló folyamatokat, azonban olyan gének kifejeződését és ezek változásait is elemezzük, melyek a veleszületett immun- és gyulladássos folyamatokat gátló funkcióval rendelkeznek. Végül, de nem utolsó sorban arra a kérdésre is választ szeretnénk találni, hogy a keratinocitákon és a szebocitákon kívül milyen más, a szervezet immunfolyamataiban szerepet játszó sejt képes még a *P. acnes*

jelenlétének érzékelésére, és milyen szerepük lehet annak eldöntésében, hogy végső soron hogyan reagálunk a mikrobiom jelenlétére.

### 3. 2. *A pikkelysömör immunpatogenezise*

A pikkelysömör a lakosság megközelítőleg 2%-át érintő gyulladós bőrbetegség, melynek patomechanizmusa mindeddig nem ismert pontosan. A pikkelysömörre szövettanilag a különféle immunsejtek epidermiszbe való kóros bevándorlása, a bőr felső rétegében, az epidermiszben található keratinociták kóros mértékű növekedése, valamint ezen sejtek abnormális érési folyamatai jellemzőek. Valódi multifaktoriális betegséggként a pikkelysömörös tünetek kialakulásában a környezeti hatások és a genetikai háttér komplex interakciója játszik meghatározó szerepet.

A betegség kialakulása során az epidermális keratinociták fokozott mértékű növekedésének (hiperproliferáció) elindításában és fenntartásában az immunrendszer egyes elemei vesznek részt. Ezek a folyamatok többek között az úgynevezett T- és dendritikus sejtek aktivációjának és bőrbe vándorlásának, illetve az általuk termelt gyulladós és egyéb faktoroknak az eredménye. Ismert volt azonban az is, hogy a pikkelysömörös T-sejtek csak a jellegzetes tüneteket mutató, úgynevezett tünetes bőrben mutatnak működési zavarokat. Ez arra engedett következtetni, hogy az immunsejtek mellett a betegek bőrének jellegzetességei is hozzájárulnak a pikkelysömör kialakulásához.

Több évtizede folynak ezért a világ minden táján arra vonatkozó vizsgálatok, melyek az egészséges bőr, és a pikkelysömörös plakkok közötti sejt-, és molekuláris biológiai, valamint szerkezeti és funkcionális eltéréseket hivatottak felkutatni. Az 1990-es években munkacsoportunk tagjai azonban egy új, és egyedi megközelítést kezdtek alkalmazni, melynek során a pikkelysömörös betegek tünetmentes bőrét vettük górcső alá. Az alapja ezeknek a munkáknak az volt, hogy a betegek makroszkópiusan illetve mikroszkópiusan egyaránt normálisnak látszó bőre is már olyan inherens eltéréseket kell hogy tartalmazzon, melyek következtében az különböző hatásokra az egészséges bőrtől eltérően a jellegzetes tünetek kialakulásával válaszol.

Vizsgálatainkban laboratóriumi körülmények között tenyésztett normál humán keratinocita kultúrák alkalmazásával megállapítottuk, hogy a betegek tünetmentes bőrből származó sejtek fokozott növekedést mutattak a pikkelysömörös, aktivált T-sejtek felülülőjával történő kezelésre, míg az egészséges donorokból származó sejtek esetében ez a jelenség nem volt megfigyelhető

(Bata-Csörgő, 1996). További kísérleteink során azt is megmutattuk, hogy ezen speciális hiperproliferatív válasz kialakulását milyen faktorok okozzák. Ezek mesterségesen előállított keverékét limfokin keveréknek neveztük el, mely többek között gamma interferon (IFN $\gamma$ ), interleukin-3 citokin (IL-3), valamint granulocita-macrophág kolónia stimuláló faktor (GM-CSF) nevű molekulákat tartalmazott (Bata-Csörgő, 1996).

Későbbi sejtbíológiai kísérleteinkben azt is kimutattuk, hogy a fokozott mértékű sejtosztódás kialakításáért a sejtciklus szabályozásában központi szerepet játszó fehérje tehető felelőssé, melyet D ciklineknek nevezünk. Ezen fehérje működésének eredményeként a pikkelysömörös bőrsejtekben a keratinociták gyors egymásutánban osztódnak anélkül, hogy sejtnyugalmi fázisba kerülnének (Belső, 2008).

A pikkelysömörös tünetmentes epidermisszel kapcsolatos megfigyeléseink a 2000-es évek fordulóján további vizsgálatok egész sorát indították. Fontos elméleti alapját képezték az ekkor induló nagyskálájú génexpressziós vizsgálatoknak, melynek során a tünetmentes és az egészséges bőr epidermiszében megfigyelhető génkifejeződés különbségek azonosítását végeztük. Ennek során már ismert géneket (fibronektin, RAB10), a humán genom projekt által korábban már azonosított, de még ismeretlen funkciójú, valamint ismeretlen fehérjetermékű lókuszeket egyaránt azonosítottunk (Szél, 2004).

Az egyik ilyen fehérje a fibronektin EDA motívumot (EDA+) hordozó úgynevezett onkofötális formája volt, mely fokozott mértékű kifejeződést mutatott a pikkelysömörös tünetmentes mintákban az egészséges epidermisszel összehasonlítva. További vizsgálataink eredményei alapján igazoltuk, hogy az EDA+/EDA-, vagyis az érett, és az onkofötális fibronektin arányának változásai összefüggést mutattak a keratinociták növekedési és érési folyamatainak szabályozásával (Szél, 2004).

A másik molekula, amely ekkor kutatásaink középpontjába került, szintén fokozott kifejeződést mutatott a pikkelysömörös tünetmentes epidermiszben. Ezen gén esetében azonban érdekes módon fehérjévé átíródó terméket nem tudtunk kimutatni, így ez az azonosított transzkriptum később úgynevezett nem kódoló RNS-nek bizonyult. Mivel keratinocita kultúrákban végzett vizsgálataink adatai alapján ez a gén különböző stresszhatásokra fokozott expressziót mutatott, ezért a PRINS (Psoriasis-susceptibility Related RNA gene Induced by Stress) nevet adtuk neki (Sonkoly, 2005).

Funkcionális vizsgálatainkban egészséges és pikkelysömörös tünetmentes bőrmintákat levegő-folyadék határfelületen tartva, úgynevezett organotipikus kultúrákban is kezeltünk a korábban már bemutatott T-sejt limfokinokkal.



Ennek hatására az egészséges epidermiszben a PRINS gén kifejeződése nem változott, míg a pikkelysömörös tünetmentes minták epidermiszében erősen lecsökkent. Ez nagyon jó egyezést mutatott azzal a korábbi megfigyeléssel, mely szerint a PRINS gén kifejeződése alacsonyabb szintű a pikkelysömörös tünetes epidermiszben a tünetmentessel összehasonlítva. Megerősítette azt is, hogy a donorok örökletes sajátosságaitól függően nem csak az *in vitro* kultúrákban tartott izolált sejtek, de a szöveti struktúrát megtartó bőrminták reakciókészségében is eltérések figyelhetők meg hasonló kezelések, illetve külső noxák hatására.

Annak megértésére, hogy a PRINS gén fokozott kifejeződése valóban szerepet játszik-e a sejtek stressz válaszában kialakításában számos kísérletet végeztünk. Ezek alapján megállapítottuk, hogy amennyiben a PRINS mennyiségét mesterségesen lecsökkentjük *in vitro* sejt kultúrákban, az a sejtek osztódási sebességének csökkenését eredményezte. Ezekkel a megfigyelésekkel sikeresen igazoltuk, hogy a PRINS molekula fontos szerepet játszik a sejtek külső hatásokra kialakuló válaszában. Mindezek az eredmények azonban arra is utaltak, hogy a PRINS csendesítésének hatására a sejtek jellegzetes sejtbiológiai paraméterei megváltoznak, ennek hátterében azonban feltehetően komplex molekuláris események állhatnak, mely során számos gén kifejeződése egymással koordinált módon változik. Ennek igazolására az MTA SZBK Funkcionális Genomikai Laboratóriumával együttműködésben újabb vizsgálatokat végeztünk. Mintegy 18.000 gén expressziós szintjét hasonlítottuk össze kontroll, illetve olyan sejtekben, melyekben korábban a PRINS mennyiségét mesterségesen csökkentettük. Olyan géneket kerestünk, melyek kifejeződése párhuzamosan változott a PRINS szintjének csökkenésével. Az egyik ilyen eltérő mRNS kifejeződést mutató génnek a G1P3 bizonyult, melyről már ismert volt, hogy a sejtek programozott sejthalál (apoptotikus) folyamatainak szabályozásában játszik fontos szerepet. Jelenlétét később minden általunk vizsgált szervben és szövetben igazoltuk, ami a rendelkezésre álló irodalmi adatokkal egybevetve arra utalt, hogy általános funkcióval bír, a sejtek túlélését elősegítő fehérje lehet. Eredményeink alapján feltételeztük, hogy a G1P3 gént a PRINS nem-kódoló RNS szabályozhatja, és ez a folyamat szerepet játszhat a betegek keratinocitáinak osztódásának szabályozásában (Szegedi, 2010).

További vizsgálatainkban olyan nukleinsav és/vagy fehérje molekulákat is azonosítottunk, melyek összekapcsolódva, fizikai kölcsönhatásban állhatnak ezzel a nem-kódoló RNS molekulával. Az alkalmazott komplex vizsgálatok eredményeképpen két ilyen fehérjét azonosítottunk, melyek közül az egyik a nucleophosmin nevű fehérje volt. Ez egy minden sejt magjában előforduló

molekula, amely fontos szerepet tölt be a sejtmag és a citoplazma közötti anyagcserében. A másik PRINS-sel kölcsönható fehérje a GRP94 nevű protein volt, mely a sejtek stresszválaszának fontos komponense. Eredményeink alapján feltételezzük, hogy a PRINS molekulához kapcsolódva és vele együttműködve az azonosított fehérjék olyan szabályozó komplex részei lehetnek, mely fontos szerepet játszik a sejtek stresszválaszának, osztódási, és differenciációs folyamataik szabályozásában. A komplex zavart működése esetén különféle kórképek, mint például a pikkelysömör, vagy egyes ráktípusok kialakulásához vezethetnek (Szegeci, 2012).

A 2000-es évek második felében folytattuk a pikkelysömörös tünetmentes bőr jellegzetességeinek vizsgálatát. A korábbi vizsgálataink tapasztalatai ugyanis megerősítettek minket abban, hogy ez lehet az az út, ami olyan folyamatok és faktorok azonosítását eredményezheti, melyek a tünet kialakulásának okai, illetve a patogén folyamatok korai lépései lehetnek. Ekkor indultak azok a kísérletek, melyekben a fentebb ismertetett egészséges és pikkelysömörös tünetmentes bőrből származó organotipikus kultúrákat használtunk modellként. Ezek limfokin kezelését követően nagyskálájú cDNS microarray kísérletekben páronként hasonlítottuk össze a kezeltlen és limfokin kezelt mintákban a detektálható génkifejeződés változásokat. Első lépésben minden donor esetében meghatároztuk, hogy melyek azok a gének, melyek kifejeződése megváltozott a kezelésre. Ezt követően egy második lépésben a 4 egészséges egyéntől származó, és a 4 pikkelysömörös tünetmentes bőrminta esetében összevetettük azt is, hogy melyek azok a gének, melyek eltérő módon reagáltak a kezelés hatására a betegek és az egészségesek esetében. Úgy gondoltuk, hogy az ily módon azonosított gének lehetnek felelősek a korábban megfigyelt és részletesen elemzett funkcionális eltérésekért (Szabó, 2014).

Hatvanegy ismert funkciójú gént, és 11 részletesen még nem jellemzett transzkriptumot azonosítottunk, melyek megfeleltek a fenti kritériumoknak. Bioinformatikai módszerekkel történő hálózatelemzés eredményei alapján megállapítottuk, hogy ezek a molekulák két hálózatba rendezhetőek. Az egyik fontos szerepet játszik a sejthalál, fejlődés és sejthalál folyamatok szabályozásában, míg a másik a kismolekulák és lipidek metabolizmusában. Azt is megfigyeltük, hogy míg számos gén kifejeződése emelkedett a limfokinek hatására az egészséges bőrben, a pikkelysömörös tünetmentes mintákban ezek szintje nem változott, vagy csökkent. Ennek oka azonban részben az is lehetett, hogy a betegekből származó mintákban ezen faktorok szintje már eleve enyhén emelkedett volt, így további változást az alkalmazott kezelés már nem eredményezett. Ezt láttuk két, a gyulladásos folyamatok kialakításában szerepet játszó citokin molekula, az IL-23 és az IL-1b esetében. Érdekes volt



azonban az a megfigyelés, hogy ezek magasabb szintje már a látható gyulladási tünetek megjelenését is megelőzte (Szabó, 2014).

Bár vizsgálataink a bőr, és ezen belül döntően a keratinociták szerepét analizálják a betegség kialakulásában, az immunsejtek, ezen belül a betegség kialakításában fontos szerepet játszó T-sejtek jellegzetességeit is elemeztük. Munkacsoportunk tagjai megállapították, hogy ezen sejtek egy speciális csoportjának jellegzetes működési zavarai figyelhetőek meg a pikkelysömörös betegekben, melyet a bőrben megfigyelhető gyulladási, IL-1 citokin-gazdag környezet eredményezhet (Bebes, 2014).

A sejt- és molekuláris biológiai vizsgálatok mellett a molekuláris genetika eszköztárát is igénybe vettük kutatásaink során. Saját eredményeink és irodalmi adatok is régóta igazolták azt az elképzelést, hogy a betegség kialakulásában örökletes faktorok is fontos szerepet játszhatnak a betegek bőrén megfigyelhető eltérő reakcióképességének kialakításában. A TNF szupercládba tartozó TL1A vagy más néven TNFSF15 molekula esetében az elmúlt években sok adat gyűlt össze arról, hogy emelkedett kifejeződést mutat különféle krónikus gyulladási betegségek (Crohn, gyulladási bélbetegség) és többek között a pikkelysömörös egyének mintáiban is. Mindezek alapján feltételeztük, hogy a TNFSF15 génben található örökletes faktoroknak szerepe lehet a pikkelysömörre, illetve a pikkelysömörrel társult ízületi betegségre (arthritis psoriatica) való hajlam kialakításában. Eredményeink alapján a gén szabályozó régiójában található rs647810 egynukleotidos eltérésnek, vagy egynukleotidos polimorfizmusnak szerepe lehet a pikkelysömörre való hajlam kialakításában, mely hatás leginkább az ízületi tüneteket nem mutató betegek esetében volt kifejezett (Képiró, 2014).

A napjainkban folyó vizsgálatokban tovább elemezzük a nagyskálájú gén-expressziós kísérletek során kapott eredményeket. Ezekben több olyan gén is azonosításra került, melyek szerepet játszhatnak a sejtekben zajló mRNS érési folyamatokban. Ezek a peptidilprolil-izomeráz (PPIG), a luc-7 like 3 (LUC7L3), és egy szerin/arginin gazdag splicing faktor (SFRS18) gének voltak, melyek eltérő kifejeződés-változást mutattak az egészséges és a pikkelysömörös tünetmentes bőrmintákból készült organotipikus kultúrákban limfokin kezelést követően. Ezek az eredményeink azért is nagy jelentőségűek, mert a 2000-es évek fordulóján végzett kísérletekben azonosított EDA+ onkofötális fibronectin izoforma a fibronectin gén alternatív érési folyamatainak eredményeképpen jön létre, ami kapcsolatot teremt jelenlegi és korábbi eredményeink között. Felveti annak a lehetőségét, hogy abnormális mRNS érési folyamatok is hozzájárulhatnak a betegség kialakulásához, mely folyamatok jelentősége napjainkban még nem ismert.

### 3. 3. Fotoimmunológiai kutatásaink

#### Új eszköz kifejlesztése: excimer lézer

Az ultraibolya (UV) fényt immunszuppresszív hatása alapján számos immunmediált gyulladásos bőrbetegség kezelésében alkalmazuk a klinikai gyakorlatban. Jól ismert azonban az is, hogy az UV fény gyulladás-keltő és rákkeltő hatással is bír. A gyulladás-keltő hatás csökkentésére és a terápiás hatás növelésére 1996-ban munkacsoportunk az SZTE Optika és Kvantumelektronikai Tanszékkal közösen kifejlesztett egy lézer alapú fényterápiás készüléket, mellyel a környező ép bőrterületet megkímélve lehetővé vált a pikkelysömörös léziók nagyenergiájú UV-B fénnel történő besugárzása. A kifejlesztett készülék működése xenon-klorid (XeCl) excimer lézeren alapult, mely a teljes leadott energiát 308 nm-es hullámhosszon, vagyis a pikkelysömörben hatásos spektrum középső tartományában emittálja. Az elvégzett összehasonlító vizsgálatok során azt tapasztaltuk, hogy a 308 nm-es hullámhosszon emittáló XeCl lézer pikkelysömörben hatásosabb, mint a keskenysávú UV-B fényterápia (Bónis és mtsai, 1997). A XeCl lézerrel végzett fénykezelés esetében a tünetmentesség eléréséhez szükséges kumulatív dózis és az alkalmazott kezelések száma egyaránt alacsonyabb volt, mint a keskenysávú UV-B fényterápiánál. Eljárásunk előnye, hogy az alacsonyabb UV terhelés miatt a karcinogén kockázat és a többi, UV-sugárzással összefüggő mellékhatás, így a bőr fénykárosodása is mérséklődik. A XeCl lézerterápia keskenysávú UV-B fénykezeléshez viszonyított kifejezettebb klinikai hatása erőteljesebb apoptózis indukáló képességére vezethető vissza.

A XeCl lézer *in vitro* nagyobb mértékben fokozta a T-sejtek apoptózist, mint a keskenysávú UV-B fény (Novák és mtsai 2002; Novák és mtsai 2004). Ezen *in vitro* kísérleti adatok jól korreláltak pikkelysömörös betegek XeCl lézer kezelése során kapott *in vivo* eredményekkel, melyek azt támasztják alá, hogy a XeCl lézer alkalmazásakor megfigyelt kifejezettebb klinikai hatás hátterében annak erőteljesebb T-sejt apoptózist indukáló hatása áll. A pikkelysömör excimer lézer kezelése ma már a klinikai gyakorlatban is hasznosul, a nemzetközi szakmai irányelvek is hivatkozzák, és világszerte több ezer kezelőhelyen alkalmazzák az általunk kifejlesztett terápiát.

Mivel az UVB kezelés számos bőrbetegség kezelésében hatékony, a pikkelysömörben tapasztalt rendkívül kedvező hatás alapján elkezdtük más, UV terápiára egyébként jól reagáló bőrbetegségekben is az excimer lézerkezelés hatékonyságának vizsgálatát (3. ábra).

### 308 nm XeCl excimer lézer kezelés



3. ábra. A 308 nm XeCl excimer lézer terápiás alkalmazási lehetőségei.

Elsőként számoltunk be arról, hogy a XeCl lézer kezelés rendkívül hatékony a vitiligo (festékihiány betegség) kezelésében (Baltás és mtsai, 2001). Ma már a lokalizált vitiligo leghatékonyabb terápiájának tartják az általunk bevetetett XeCl lézerrel végzett kezelési eljárást. Eredményeink szerint az atopias dermatitis egyéni terápia rezisztens tüneteinek kezelésére is eredményesen használható az excimer lézer (Baltás és mtsi, 2004).

#### *Új alkalmazási mód: rhinofototerápia*

A fototerápia eredetileg a bőrgyógyászat ágaként fejlődött ki. Meglepő módon azonban a különböző fototerápiás eljárások eredményességük és a hatásmechanizmusukra vonatkozó tetemes szakirodalmi adatok ellenére sem terjedtek el más szakterületeken. Az invazív fototerápiás eljárások megjelenésének egyik akadálya az volt, hogy nem állt rendelkezésre a fény átvitelére alkalmas rendszer. Az új fototerápiás berendezések kifejlesztése révén lehetővé vált a bőrön kívül a szájnyálkahártya fénykezelése is.

Mivel korábban igazolni tudtuk, hogy a 308 nm-es excimer lézerrel végzett fototerápia, a PUVA kezelés, valamint az UV-A/UV-B sugárzás gátolja az azonali típusú túlérzékenységi reakciót a bőrben (Koreck és mtsai, 2004), érdeklődésünk a szénanátha (allergiás rhinitis) és a fototerápia intranazális alkalmazása felé fordult. Azt találtuk, hogy a 308 nm-es excimer lézerrel végzett intranazális kezelés és a topikális PUVA-kezelés hatásosan enyhítették az allergiás rhinitis klinikai tüneteit. Ezen kívül parlagrafü allergiás betegeken végzett randomizált, kettős vak vizsgálat során azt tapasztaltuk, hogy az alacsony dóziszú UV-B, nagy dóziszú UV-A és látható fényt kibocsátó Rhinolight készülékkel (Rhinolight Rt., Magyarország) végzett kezelés hatására a tüszögés, az orrfolyás és az orrvizketés súlyossági foka, valamint az ún. “total nasal score” (TNS) érték egyaránt

csökkentek. A fényterápia hatásmechanizmusa összetett: gátolja a dendritikus sejtek antigénprezentáló működését, apoptózist indukál az immunsejtekben valamint csökkenti a gyulladásos mediátorok szintézisét és felszabályozását számos sejttypusban (Koreck és mtsai, 2005). A fenti eredmények alapján megállapítottuk, hogy az intranazális fényterápia allergiás rhinitisben és a nyálkahártyákat érintő egyéb gyulladásos és immunmediált kórképekben, például nasalis polyposisban új, innovatív kezelési eljárás lehet (4. ábra).

### Új fényterápiás eljárások kidolgozása



4. ábra. A fényterápia új alkalmazási lehetőségei.

Túlzás nélkül állítható, hogy a bőrgyógyászati fényterápiában az elmúlt 20 év legnagyobb áttörését az általunk kifejlesztett célzott UV-B fényterápiás készülékek kifejlesztése jelentette. Ezen innovatív orvostechikai eszközök segítségével flexibilis száloptikán keresztül nagyenergiájú koherens (lézer) vagy inkoherens UV-B fény juttatható a kezelni kívánt bőrterületre. A léziók célzott kezelése révén a környező ép bőrterületet nem éri az esetlegesen károsító sugárzás. Emellett a pikkelysömörös lézióknak megfelelően kiszélesedett hámterületeken nagyobb – a MED többszörösének megfelelő – UV-B dózis alkalmazható, mint a környező ép bőrterületen, így gyorsabban érhető el a tünetmentesség. A XeCl lézer optikai tulajdonságainak (308 nm-es, nagyenergiájú, monochromatikus, koherens UV-B fény emissziója), valamint a száloptikán alapuló fénytovábbító rendszernek az ötvöztetésével olyan berendezés született, amellyel különböző bőrbetegségekben eredményesen végezhető lokális UV-B fénykezelés. A célzott fototerápiával megvalósítható olyan testtájak – például a hajas fejbőr vagy a száj- és az orrnyálkahártya – kezelése is, melyek a hagyományos fluoreszkáló fényforrással rendelkező berendezésekkel nem érhetőek el, ami egyúttal a fototerápia indikációs körének bővüléséhez vezethet.

## Irodalom:

- BATA-CSORGO Z, HAMMERBERG C, VOORHEES JJ, COOPER KD.: Kinetics and regulation of human keratinocyte stem cell growth in short-term primary ex vivo culture. Cooperative growth factors from psoriatic lesional T lymphocytes stimulate proliferation among psoriatic uninvolved, but not normal, stem keratinocytes. *J Clin Invest*, 95, 317-27, 1995
- BEBES A, KOVÁCS-SÓLYOM F, PRIHODA J, KUI R, KEMÉNY L, GYULAI R.: Interleukin-1 receptors are differentially expressed in normal and psoriatic T cells. *Mediators Inflamm*, doi: 10.1155/2014/472625, 2014
- BELSŐ N, SZÉLL M, PIVARCSI A, KIS K, KORMOS B, KENDERESSY AS, DOBOZY A, KEMÉNY L, BATA-CSÖRGŐ Z.: Differential expression of D-type cyclins in HaCaT keratinocytes and in psoriasis. *J Invest Dermatol*, 128, 634-642, 2008
- BÓNIS B, KEMÉNY L, DOBOZY A, BOR Z, SZABÓ G, IGNÁ CZ F: 308 nm UVB excimer laser for psoriasis. *Lancet*, 350, 1522-1523, 1997
- BALTÁS E, NAGY P, BÓNIS B, NOVÁK Z, IGNÁ CZ F, SZABÓ G, BOR Z, DOBOZY A, KEMÉNY L.: Repigmentation of localized vitiligo with the xenon chloride laser. *Br J Dermatol*, 144, 1266-1267, 2001
- BALTÁS E, CSOMA Z, BODAI L, IGNÁ CZ F, DOBOZY A, KEMÉNY L.: Treatment of atopic dermatitis with the xenon chloride excimer laser. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 20, 657-660, 2006
- CSATO M, KENDERESSY AS, DOBOZY A.: Enhancement of *Candida albicans* killing activity of separated human epidermal cells by ultraviolet radiation. *Br J Dermatol*, 116, 469-475, 1987
- CSATO M, KENDERESSY AS, JUDAK R, DOBOZY A.: Inflammatory mediators are involved in the *Candida albicans* killing activity of human epidermal cells. *Arch Dermatol Res*, 282, 348-350, 1990
- KÉPÍRÓ L, SZÉLL M, KOVÁCS L, KESZTHELYI P, KEMÉNY L, GYULAI R.: Genetic risk and protective factors of TNFSF15 gene variants detected using single nucleotide polymorphisms in Hungarians with psoriasis and psoriatic arthritis. *Hum Immunol*, 75, 159-162, 2014
- KORECK A, CSOMA Z, BOROS-GYEVÍ M, IGNÁ CZ F, BODAI L, DOBOZY A, KEMÉNY L.: Inhibition of immediate type hypersensitivity reaction by combined irradiation with ultraviolet and visible light. *J Photochem Photobiol B*, 77, 93-96, 2004

- KORECK AI, CSOMA Z, BODAI L, IGNACZ F, KENDERESSY AS, KADOCSA E, SZABO G, BOR Z, ERDEI A, SZONY B, HOMEY B, DOBOZY A, KEMÉNY L.: Rhinophototherapy: a new therapeutic tool for the management of allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*, 115, 541-547, 2005
- NAGY I PIVARCSI A, KORECK A, SZÉLL M, URBÁN E, KEMÉNY L.: Distinct strains of *Propionibacterium acnes* induce selective human beta-defensin-2 and interleukin-8 expression in human keratinocytes through toll-like receptors. *J Invest Dermatol*, 124, 931-938, 2005
- NOVAK Z, BERCES A, RONTÓ G, ET AL: „Efficacy of different UV-emitting light sources in the induction of T-cell apoptosis”, *Photochem. Photobiol.* (2004) 79, pp. 434-439.
- NOVÁK Z, BÉRCES A, RONTÓ G, PÁLLINGER E, DOBOZY A, KEMÉNY L.: Xenon chloride ultraviolet B laser is more effective in treating psoriasis and in inducing T cell apoptosis than narrow-band ultraviolet B. *J Photochem Photobiol B*, 67, 32-38, 2002
- PIVARCSI A, BODAI L, RÉTHI B, KENDERESSY-SZABÓ A, KORECK A, SZÉLL M, BEER Z, BATA-CSÖRGÖ Z, MAGÓCSI M, RAJNAVÖLGYI E, DOBOZY A, KEMÉNY L.: Expression and function of Toll-like receptors 2 and 4 in human keratinocytes. *Int Immunol*, 15, 721-730, 2003
- SONKOLY E, BATA-CSÖRGÖ Z, PIVARCSI A, POLYANKA H, KENDERESSY-SZABO A, MOLNAR G, SZENTPALI K, BARI L, MEGYERI K, MANDI Y, DOBOZY A, KEMÉNY L, SZÉLL M.: Identification and characterization of a novel, psoriasis susceptibility-related noncoding RNA gene, PRINS. *J Biol Chem*, 280, 24159-24167, 2005
- SZABÓ K, TAX G, KIS K, SZEGEDI K, TEODORESCU-BRINZEU DG, DIÓSZEGI C, KORECK A, SZÉLL M, KEMÉNY L.: Interleukin-1A +4845(G> T) polymorphism is a factor predisposing to acne vulgaris. *Tissue Antigens*, 76, 411-415, 2010
- SZABÓ K, TAX G, TEODORESCU-BRINZEU D, KORECK A, KEMÉNY L.: TNF $\alpha$  gene polymorphisms in the pathogenesis of acne vulgaris. *Arch Dermatol Res*, 303, 19-27, 2011
- SZABÓ K, BATA-CSÖRGŐ Z, DALLOS A, BEBES A, FRANCSISZTI L, DOBOZY A, KEMÉNY L, SZÉLL M.: Regulatory networks contributing to psoriasis susceptibility. *Acta Derm Venereol*, 94, 380-385, 2014
- SZEGEDI K, SONKOLY E, NAGY N, NÉMETH IB, BATA-CSÖRGÖ Z, KEMÉNY L, DOBOZY A, SZÉLL M.: The anti-apoptotic protein G1P3 is overexpressed in psoriasis and regulated by the non-coding RNA, PRINS. *Exp Dermatol*, 19, 269-278, 2011



- SZEGEDI K, GÖBLÖS A, BACSA S, ANTAL M, NÉMETH IB, BATA-CSÖRGŐ Z, KEMÉNY L, DOBOZY A, SZÉLL M.: Expression and Functional Studies on the Noncoding RNA, PRINS. *Int J Mol Sci*, 14, 205-225, 2012
- SZÉLL M, BATA-CSÖRGŐ Z, KORECK A, PIVARCSI A, POLYÁNKA H, SZEG C, GAÁL M, DOBOZY A, KEMÉNY L.: Proliferating keratinocytes are putative sources of the psoriasis susceptibility-related EDA+ (extra domain A of fibronectin) oncofetal fibronectin. *J Invest Dermatol*, 123, 537-546, 2004
- Szolnok G, Bata-Csörgő Z, Kenderessy AS, Kiss M, Pivarcsi A, Novák Z, Nagy Newman K, Michel G, Ruzicka T, Maródi L, Dobozy A, Kemény L.: A mannose-binding receptor is expressed on human keratinocytes and mediates killing of *Candida albicans*. *J Invest Dermatol*, 117, 205-13, 2001