



VIA MEDICA

www.fr.viamedica.pl

Olga Gumkowska-Sroka<sup>1</sup>, Przemysław Kotyla<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Rheumatology of The Regional Academic Hospital number 5 Sosnowiec

<sup>2</sup>Department of Internal Medicine and Rheumatology, Medical Faculty in Katowice, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

# B-cell homeostasis imbalance in systemic sclerosis

## SUMMARY

Systemic sclerosis is a chronic, connective tissue disease, which affects various organs. It is characterized by progressive fibrosis of the skin and internal organs, microangiopathy and formation of autoantibodies. The disease pathogenesis is still unknown and include vascular, fibrotic and immune T-and B-lymphocyte-mediated alterations. Recent evidence suggest that B-cells contribute in

the pathogenesis of the disease. B-cell depletion with rituximab improves or stabilizes skin fibrosis and lung function. These findings suggest that new therapeutic strategies targeting B-cell functions can be developed in the future. Therefore, B-cells are becoming a possible therapeutic targets in this still mysterious disease.

**Forum Reumatol. 2017, tom 3, nr 4: 230–236**

**Key words: systemic sclerosis; B lymphocyte; answer acquired; autoimmunity**

## INTRODUCTION

Systemic sclerosis is a chronic, systemic connective tissue disorder. Its aetiology still remains unclear. This disease is characterised by a progressive skin and internal organs fibrosis which is caused by an excessive synthesis and maturation of collagen. Even though the skin fibrosis is the most visible symptom of the disease, the involvement, damage and finally end stage insufficiency of the internal organs remains the most important negative clinical prognostic factor in this group of patients. Especially such pathological phenomena as impairment of blood vessels in the form of microangiopathy, are characterised by episodes of vessels constriction or by so called vasculopathy which is a atherosclerosis like condition and angiitis which leads to the thickening of internal wall of the vessel, stenosis of the blood vessels lumen and to the ischemia of the area of tissues supplied by this blood vessel. These phenomena clinically present as Raynaud syndrome, ulceration of the finger tips, pulmonary arterial hypertension or actually rarely diagnosed scleroderma renal crisis [1–3].

At the actual state of knowledge the disease is more and more often recognised as an autoimmunologic disorder and not a disease with accumulation of a connective tissue. This thesis is confirmed by presence, in the affected patients, of autoantibodies and of a different types of disturbances of the immune response. The presence of antinuclear antibodies, which are detected in more than 95% of patients is an universal phenomenon. These antibodies are specific and never detected in a healthy population. The evidence suggests that the impairment of the immune response is crucial. This justifies inclusion of systemic sclerosis into typical inflammatory connective tissue diseases.

The pathogenesis of the disease has been mostly associated with role of fibroblast due to the most characteristic symptom of this disease — skin and internal organs fibrosis. However, the histological of the skin excisions in the early stage of the disease reveals features of activation of the immune system such as infiltration of activated mononuclear lymphocytes (T cells and macrophages are the dominant cells). The T2 cells producing profibrotic cytokines (IL-4 and IL-13) are predominant [4].

### Adres do korespondencji:

dr hab n. med. Przemysław Kotyla  
Academic Department of Internal  
Diseases and Rheumatology Faculty  
of Medicine of the Silesian Medical  
University in Katowice  
e-mail: pkotyla@onet.eu

In the last years scientist mostly investigated the role of B lymphocytes which may enhance the fibrosis by several potential mechanisms: cytokines synthesis, intracellular interactions and synthesis of autoantibodies [5]. The recent studies confirm the role of lymphocytes B in the pathogenesis of this disease, not only in the context of autoantibodies but also of participation in the regulation of the immune response.

B-cells are not only precursors of antibodies producing cells but are also considered as a pleiotropic cells which have multiple, independent form production of antibodies functions, such as: antigen presentation, synthesis of cytokines (incl. IL-6), influence on Tregulatory cells, modulation of dendritic cells function. Any alternations of these functions play a key role in the genesis of an abnormal immune response [6, 7]. A B-cell during its maturation from early progenitor cell to a final differentiation into a plasmatic cell, gets through some strictly regulated stages. B and T lymphocytes derives form a common lymphopoietic, progenitor cell. Lymphocytes B are mostly produced in the bone marrow. The most important transcription factors which determine the differentiation to lymphocytes B, are Pax5 and EBF (early B-cell factor) [8]. The cells that express Pax5 are called pre-pro-lymphocytes B. The cell that undergoes first rearrangements of immunoglobulins genes' segments and expresses antigen CD19 is called pro-B lymphocyte. CD19 is a pan-lymphocytes B independently from the maturation stage. The expression of CD19 is limited to lymphocytes B lineage and to vascular dendritic cells, which are antigen presenting cells that are localised in a spleen. CD19 and CD21 are considered so called positive regulators, which enhance the signal transmitted by BCR (B-cell antigen receptor complex). A next step of maturations of B-cells is a lymphocyte pre-B. It is a cell in which express a heavy chain, first in the cytoplasm and then on the cell membrane. The appearance of the cell surface of the mature M immunoglobulin receptor characterize transformation into immature lymphocyte B (expression of CD22). Glycoprotein CD22 is a specific adhesive molecule, associated with BCR, which play a role in maintaining of immune tolerance. Immature lymphocytes B may leave the bone marrow, get into the bloodstream and migrate to the peripheral lymphatic organs.

Synthesis of the heavy chain delta and occurrence on the cell surface except for BCR IgM, also of receptor for IgD, constitute a marker of termination of the maturation process. Appearance of IgD is associated with expression of CD21 and CD23 which IL-1 participate in a co-stimulation — a mature lymphocyte B is being created (Fig. 1).

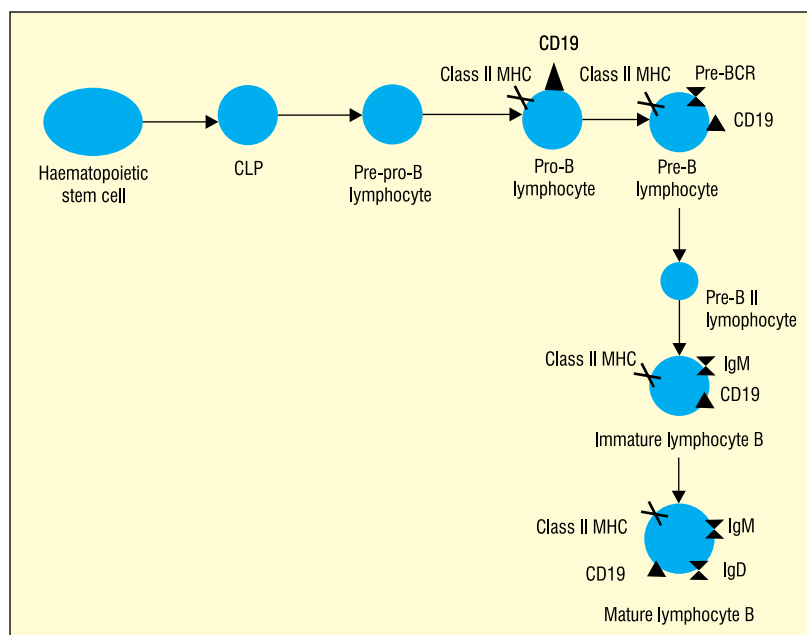
Antigen CD20 is present on the mature B-cells (except for pre-B-cells and for plasmatic cells) [8, 9]. The differentiation and proliferation of B-cells also depend on local stimulators including such cytokines like: IL-10, IL-21, IL-6 as well as growth factors incl. BAFF. Any alteration of the response to these regulatory factors may result in a crisis of tolerance of self-antigens and survival of the autoreactive B-cells. BAFF (B-cell activating factor belonging to TNF-alfa family) also called Bly protein (B-lymphocyte stimulator) — belongs to a superfamily of TNF, is a strong lymphocytes B stimulator. It support survival, activation and differentiation of B lymphocytes into plasmatic cell which secret antibodies [10, 11].

Disturbances of immune response may also result from altered process of co-stimulation. A CD-40 molecule expressed on the lymphocytes B, dendritic cells, macrophages, endothelial cells, binds to the CD40L molecule expressed o T lymphocytes. This fusion provides a main co-stimulatory signal. Lymphocytes B are being activated, they proliferate, synthetize antibodies and to release more cytokines, incl. of interleukin 6. IL-6 play is an important factor maintaining the local inflammatory process.

## **DISORDERS OF B-CELLS HOMEOSTASIS IN THE SYSTEMIC SCLEROSIS**

The evidence from the recent studies performed in both animal models of systemic sclerosis and in humans, suggests an important role of B lymphocytes in the pathogenesis of this disease. A potential role of different pathogenetic mechanisms is considered: B-cells may promote cytokines or intracellularly induced fibrosis . Also a role o autoantibodies is suggested.

In the systemic sclerosis B-cells are hyperactive what results in a presence of hypergammaglobulinemia, in a synthesis of specific autoantibodies and of increased serum level of free light immunoglobulins chains [12]. Increased proliferation and survival of B lymphocytes which is observed in systemic scler-

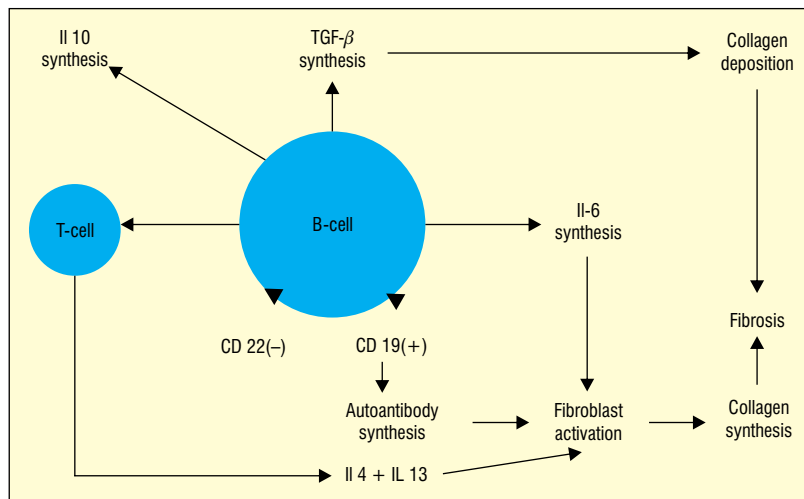


**Figure 1.** Phases of lymphocytes B development/maturation — expression of key surface molecules

rosis is induced not only by activation of the BCR but also by many other c-stimulatory molecules (CD19, CD40, BAFR, TLR). Their overactivation plays a role in breaking down the tolerance of B lymphocytes in the autoimmune diseases and is also observed in this clinical medical entity [13]. An increased level of B lymphocytes survival factor (BAFF) has been also detected in systemic sclerosis. On the other side the function of the CD22 molecule which inhibits functioning of B lymphocytes, is inhibited by autoantibodies directed against the CD22 [14]. It has also been stated that a CD19 molecule is overexpressed in a systemic sclerosis. A CD19 molecule is crucial for a normal response of B-cells, is considered to be a positive regulator of B-cell functioning (it enhance the activity of MAPK-mitogen-activated protein kinase, increase the intracellular calcium load), to promote cellular proliferation. This function of a positive enhancement is well explored. However, a much less know function of CD19 in inhibition of the signal transduced by BCR, is also suggested. The overexpression of CD19 correlates with development of autoimmune diseases [15]. Some studies proved that the loss of CD19 in humans and mice leads to a generalized abnormal humoral response. Patients with deficiency of CD19 have a hypogammaglobulinemia, impaired response to antigens transmitted by BCR and an increased susceptibility to infections. A decreased expression of CD19 is associated with a chronic lymphocytic leukaemia

(CLL), large B lymphocytes leukaemia [16–18]. Based on the flow cytometry analysis of patients with systemic sclerosis it was stated that a surface density of CD19 on B-cells is by 20% higher than in healthy individuals. This overexpression of CD19 is present on both naïve B lymphocytes and on memory B-cells. B-cells present overexpression of CD19 in 54% of patients with early stage of systemic sclerosis and in 28% of patients with long-lasting disease. It seems that already this minor increase in CD19 expression is sufficient to produce autoantibodies but its relation with fibrosis and progression of the disease is still unknown [19]. Overexpression of CD19 results in an increased count of naïve lymphocytes (naïve-B-cells) and in an enhanced activity of memory B-cells [20]. The expression of CD20 remains normal. Another mechanism that should be taken into consideration when we discuss a role of B lymphocytes in the pathogenesis of systemic sclerosis, is a production by these cells fibrosis inducing cytokines, such as: IL-6, TGF-beta. IL-6 may induce production of collagen by the fibroblasts (both increased serum level of IL-6 and increased production in the skin have been detected). On the other hand TGF-beta is a cytokine that enhances fibrosis.

An intensified fibrosis, induced by the ongoing inflammation, may also result from the activity of autoantibodies detected in systemic sclerosis. These autoantibodies e.g. anti-ICAM-1, cause an increase in ROS production (reactive antigen species) by the en-



**Figure 2.** Role of B-cells in augmentation of fibrosis in patients with SSC

dothelial cells. The increased synthesis of ROS is probably secondary to the ischemia and reperfusion damage which results from the Raynaud syndrome. ROS lead to a tissues damage and fibrosis, induce apoptosis which leads to the overexpression of TLR (toll-like receptors) ligands what induces activation of the inflammatory response [9, 21]. The autoantibodies anti-ETAR (endothelin-1 type A receptor) stimulate the tissues damage and are a strong predictor of the formation of fingers ulcerations in patients with systemic sclerosis. Also anti CD22 autoantibodies, a major factor which inhibits B lymphocytes, have been detected in the systemic sclerosis. This may promote the **hyperresponsiveness** of the B-cells. The role of B-cells in the fibrotic processes also consists in the interaction between B and Th2 lymphocytes, which leads to an enhanced fibrotic response of Th2 cells (Fig. 2). B-cells through the intracellular contact induce the maturation of the dendritic cells. There is a growing evidence that the B-cells interact with dendritic cells in order to enhance the Th2 response. In the human agammaglobulinemia, in which a primary defect of B-cells is present — mostly a Th1 dependant response is observed [3].

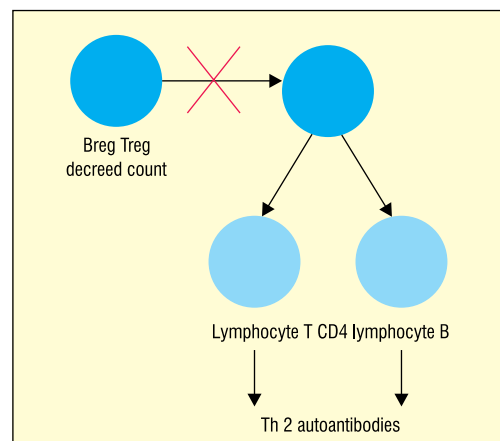
B regulatory cells (Bregs) are another mechanism which role in the pathogenesis of systemic sclerosis was strongly accentuated in the recent studies.

B regulatory cells are a recently described subtype of B lymphocytes. They inhibit inflammation by the inhibition of the differentiation of Th1 and Th17 lymphocytes as well as by the induction of Treg [22, 23].

Regulatory B lymphocytes (Breg) play a key role in the maintenance of the immuno-

logical tolerance. A major characteristic of this population which enables its identification, is the capacity to excrete interleukine-10 and probably also IL-35 [24]. Breg cells are induced during the ongoing inflammatory process and are capable to limit the inflammation. There are two subtypes of Bregs: transitional and memory.

Some new studies show that the number of Breg producing IL-10 is decreased in systemic sclerosis. This is another proof of their role in this disease. It was stated that the number of memory Bregs is decreased, especially in the long-lasting systemic sclerosis and in the sub-form associated with the lungs fibrosis [25]. Also a negative correlation between the Bregs and the titre of the anti-topoisomerase I antibodies and anti-centromeres antibodies has been detected [3, 26] (Fig. 3).



**Figure 3.** Role of B-regs lymphocytes — decrease count of B-regs facilitate activation of Th2 and synthesis of autoantibodies

Even poorly autoreactive B lymphocytes are regarded as able to initiate the development of an autoimmunological disease if they are ‘supported’ by Th lymphocytes. This situation may occur when a self-antigen is physically bounded with a foreign antigen. Then it comes to endocytosis, induction of CCR7 expression and a B lymphocyte presents a foreign antigen to the activated Th lymphocyte. This initiates the cooperation of T lymphocyte with a foreign antigen specific receptor and with an autoreactive B lymphocyte which starts to produce autoantibodies [26].

An intensified transmission of the signal by the BCR constitute an important element in the development of autoimmunization. A CD22/Siglec-2 complex plays an important role in the negative regulation of this transmission by BCR. Abnormal variants of SIAE/Siglec are present in the individuals with autoimmunological diseases [27].

A dozen percent of immunoglobulins G belong to so called asymmetric IgG antibodies. They may bind an antigen only with one fragment of Fab, while a second one is blocked by carbohydrates. It is considered that these immunoglobulins have a regulatory function [28]. About 10% of B lymphocytes circulating in the peripheral blood, co-express two different light chains and by reason of this they have 2 BCR receptors with different specificity, what consequently decreases the density of the autoreactive receptors.

The autoreactive B lymphocytes may be controlled by macrophages and by dendritic cells, e.g. by the production of IL-6 and expression of CD40L what inhibits their transformation into plasmatic cells.

When we discuss the mechanisms of tolerance, we should not overlook the role of intracellular mediators. A TRAF-6 molecule (tumour necrosis factor receptor-associated factor 6) is an adapter protein which take part in the intracellular processes induced by activation of multiple receptors which have an immunological function, so called superfamily of receptors TNF, TGF beta, TCR and TLR. TRAF6 activates a transcription factor NFkB, MAPK, PI3K as well as interferon regulating signalling pathways. This molecule is crucial for both appropriate activation and maintenance of homeostasis of the immune system. A normal function of the immune system involves not only recognition and elimination of foreign antigens, but also supporting a tolerance to the self-antigens. Human organism produces also some autoreactive cells which may become activated and may lead to the develop-

ment of an autoimmune disease, if not eliminated or properly controlled. That is why the immune system has developed some mechanisms that assure elimination of self-antigen recognising cells or of “silencing” these cells in the mechanism called- the immune tolerance. Reinstitution of tolerance is an important aim of therapy of the autoimmune diseases [29].

Based on the evidence concerning the pathomechanism of the disease development of some therapeutic modalities are being implemented such as:

- lymphocyte B depleting therapy with use of anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) — which decrease the fibrosis of the skin and stabilize the functioning of the lungs [30–33];
- neutralization of the IL-6 by to Tocilizumab (monoclonal antibody targeted against the IL-6 receptor — decreases sclerosis of the skin [3, 34].
- the therapeutic role of intravenously administered high doses of immunoglobulins (iv Ig) is also considered in systemic sclerosis — this therapy involves the pleiotropic activity of immunoglobulins on the different immune cells and on some mediators.

The mechanism of the immunosuppressive action of high doses of immunoglobulins is still unclear. Several potential mechanisms of their action are considered. By the receptor of the FcIgG fragment they may influence the activity of different cells of the immune system. It was proven that the IVIg lead to the apoptosis of T cells and restore the balance of the anti and pro inflammatory cytokines, inhibit production of antibodies by B-cells and influence the complement cascade. Administration of high doses of IVIg inhibits also differentiation and maturation of dendritic cells (DC) and decreases their ability to present antigens and to activate T lymphocyte. Moreover the anti-inflammatory activity of high doses of IVIg results from many other nonimmune mechanisms. The therapeutic formulations contain antibodies against cytokines, soluble CD4 and CD8, HLA molecules, which in high amount intensify the immunomodulatory effect [35]. Currently explored mechanisms of the immunosuppressive action of immunoglobulins are presented in table 1.

## A FUTURE THERAPEUTIC PERSPECTIVE

Increased expression of CD19 on the B-cells detected in the early stage of systemic

**Table 1.** Influence of the components of immunoglobulins on the immune system (by [35])

Fragment of an Immunoglobulin	Effect of action
Fragment Fc	<ul style="list-style-type: none"> <li>— inhibition of phagocytosis</li> <li>— inhibition of ADCC (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity)</li> <li>— influence of synthesis and circulation of antibodies mediated by FcR</li> <li>— inhibition of dendritic cells maturation and decrease of it ability of processing and presentation of self-antigens and of T lymphocytes activation</li> <li>— inhibition of binding of immunologic complexes with FcR</li> <li>— influence on the activity of CD4 (Treg) lymphocytes (Treg-CD4+CD25+FOXP3+)</li> </ul>
Fragment Fab	<ul style="list-style-type: none"> <li>— inhibition of cells proliferation</li> <li>— modulation of the process of apoptosis (CD95) and of cell cycle</li> <li>— activation of specific lymphocytes</li> <li>— influence on cells adhesion process</li> <li>— anti-idiotypic antibodies</li> <li>— influence on the cytokines concentration (decrease of IL-12 production and increase of IL-10 production with has anti-inflammatory proprieties)</li> <li>— antibodies against pathogens</li> <li>— inhibition of complement activation</li> </ul>
Other components present in the intravenous immunoglobulins formulation - IVIg	<ul style="list-style-type: none"> <li>— compounds having autoregulatory proprieties</li> <li>— cytokines</li> <li>— soluble cytokines inhibitors</li> <li>— HLA molecules</li> <li>— soluble CD4, CD8</li> </ul>

sclerosis and an important decrease of the IL-10 producing Bregs count, causes auto-aggressive transformation of B-cells. Both mechanisms are potentially attractive therapeutic targets.

## SUMMARY

Recently a significant advance was made in understanding the mechanism of the immune tolerance of the role of B, T, and innate cells in its maintenance. The breakthrough of different stages of the immune tolerance results in the development of autoimmune diseases.

Systemic sclerosis is still a ‘mysterious’ disease. The interaction between the ongoing autoimmune process and the clinical consequences are unclear. The pathogenetic mechanisms of this disease are still investigated with intention to invent effective therapy.

Summing up, the results of the ongoing clinical trials evaluating the pathogenesis of this disease, the following causative mechanism may be considered:

- B-cells are hyperactive in systemic sclerosis,
- there is an overexpression of CD19,
- B-cells may produce cytokines which promote fibrosis: IL-6, TGF-beta,
- autoantibodies detected in systemic sclerosis may intensify inflammation induced fibrosis in systemic sclerosis,
- B-cells promote profibrotic response of Th2,
- regulatory B-cells (B-regs) producing IL-10 are decreased in systemic sclerosis

The ongoing studies aim to discover the role of these mechanisms in the systemic sclerosis which still remains an undiscovered disease, and to elaborate some new therapeutic strategies which would involve different targets.

1. Kowal-Bielecka O, Kuryliszin-Moskal A. Twardzina układuwa. *Reumatologia* 2012; 50. ; 2: 124–129.
2. Puszczewicz M. Przeciwciała przeciwjądrowe w twardzinie układowej- charakterystyka antygenowa i znaczenie kliniczne. *Reumatologia* . 2006; 44(3): 169–175.
3. Sakkas LI, Bogdanos DP. Systemic sclerosis: New evidence re-enforces the role of B cells. *Autoimmun Rev.* 2016; 15(2): 155–161, doi: [10.1016/j.autrev.2015.10.005](https://doi.org/10.1016/j.autrev.2015.10.005), indexed in Pubmed: [26497107](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26497107/).
4. Kalogerou A, Gelou E, Mountantonakis S, et al. Early T cell activation in the skin from patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2005; 64(8): 1233–1235, doi: [10.1136/ard.2004.027094](https://doi.org/10.1136/ard.2004.027094), indexed in Pubmed: [16014686](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16014686/).
5. Sakkas LI, Chikanza IC, Platsoucas CD. Mechanisms of Disease: the role of immune cells in the pathogenesis of systemic sclerosis. *Nat Clin Pract Rheumatol.* 2006; 2(12): 679–685, doi: [10.1038/ncprheum0346](https://doi.org/10.1038/ncprheum0346), indexed in Pubmed: [17133253](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17133253/).
6. Elhai M, Avouac J, Kahan A, et al. Systemic sclerosis at the crossroad of polyautoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2013; 12(11): 1052–1057, doi: [10.1016/j.autrev.2013.05.002](https://doi.org/10.1016/j.autrev.2013.05.002), indexed in Pubmed: [23791632](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23791632/).

## References

7. Hasegawa M, Fujimoto M, Takehara K, et al. Altered B lymphocyte function induces systemic autoimmunity in systemic sclerosis. *Mol Immunol*. 2004; 41(12): 1123–1133, doi: [10.1016/j.molimm.2004.06.025](https://doi.org/10.1016/j.molimm.2004.06.025), indexed in Pubmed: [15482848](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15482848/).
8. Gołab J, Kamiński R. Dojrzwianie limfocytów. In: Gołab J, Jakóbsiak M, Lasek W, Stokłosa T. ed. *Immunologia*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2008: 153–171.
9. Yoshizaki A. B lymphocytes in systemic sclerosis: Abnormalities and therapeutic targets. *J Dermatol*. 2016; 43(1): 39–45, doi: [10.1111/1346-8138.13184](https://doi.org/10.1111/1346-8138.13184), indexed in Pubmed: [26782005](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26782005/).
10. Hasegawa M, Fujimoto M, Kikuchi K, et al. Elevated serum levels of interleukin 4 (IL-4), IL-10, and IL-13 in patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 1997; 24(2): 328–332, indexed in Pubmed: [9034992](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9034992/).
11. Matsushita T, Hasegawa M, Yanaba K, et al. Elevated serum BAFF levels in patients with systemic sclerosis: enhanced BAFF signaling in systemic sclerosis B lymphocytes. *Arthritis Rheum*. 2006; 54(1): 192–201, doi: [10.1002/art.21526](https://doi.org/10.1002/art.21526), indexed in Pubmed: [16385515](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16385515/).
12. Lanteri A, Sobanski V, Langlois C, et al. Serum free light chains of immunoglobulins as biomarkers for systemic sclerosis characteristics, activity and severity. *Autoimmun Rev*. 2014; 13(9): 974–980, doi: [10.1016/j.autrev.2014.07.003](https://doi.org/10.1016/j.autrev.2014.07.003), indexed in Pubmed: [25067821](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25067821/).
13. Hasegawa M, Fujimoto M, Takehara K, et al. Altered B lymphocyte function induces systemic autoimmunity in systemic sclerosis. *Mol Immunol*. 2004; 41(12): 1123–1133, doi: [10.1016/j.molimm.2004.06.025](https://doi.org/10.1016/j.molimm.2004.06.025), indexed in Pubmed: [15482848](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15482848/).
14. Hitomi Y, Tsuchiya N, Hasegawa M, et al. Association of CD22 gene polymorphism with susceptibility to limited cutaneous systemic sclerosis. *Tissue Antigens*. 2007; 69(3): 242–249, doi: [10.1111/j.1399-0039.2007.00801.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2007.00801.x), indexed in Pubmed: [17493148](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17493148/).
15. Tsuchiya N, Kuroki K, Fujimoto M, et al. Association of a functional CD19 polymorphism with susceptibility to systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 2004; 50(12): 4002–4007, doi: [10.1002/art.20674](https://doi.org/10.1002/art.20674), indexed in Pubmed: [15593213](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15593213/).
16. Zhou LJ, Smith HM, Waldschmidt TJ, et al. Tissue-specific expression of the human CD19 gene in transgenic mice inhibits antigen-independent B-lymphocyte development. *Mol Cell Biol*. 1994; 14(6): 3884–3894, indexed in Pubmed: [7515149](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7515149/).
17. Asano N, Fujimoto M, Yazawa N, et al. B Lymphocyte signaling established by the CD19/CD22 loop regulates autoimmunity in the tight-skin mouse. *Am J Pathol*. 2004; 165(2): 641–650, doi: [10.1016/S0002-9440\(10\)63328-7](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63328-7), indexed in Pubmed: [15277237](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15277237/).
18. Sato S, Steeber DA, Jansen PJ, et al. CD19 expression levels regulate B lymphocyte development: human CD19 restores normal function in mice lacking endogenous CD19. *J Immunol*. 1997; 158(10): 4662–4669, indexed in Pubmed: [9144478](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9144478/).
19. Yoshizaki A, Iwata Y, Komura K, et al. CD19 regulates skin and lung fibrosis via Toll-like receptor signaling in a model of bleomycin-induced scleroderma. *Am J Pathol*. 2008; 172(6): 1650–1663, doi: [10.2353/ajpath.2008.071049](https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.071049), indexed in Pubmed: [18467694](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18467694/).
20. Sato S, Fujimoto M, Hasegawa M, et al. Altered blood B lymphocyte homeostasis in systemic sclerosis: expanded naive B cells and diminished but activated memory B cells. *Arthritis Rheum*. 2004; 50(6): 1918–1927, doi: [10.1002/art.20274](https://doi.org/10.1002/art.20274), indexed in Pubmed: [15188368](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15188368/).
21. Simonini G, Pignone A, Generini S, et al. Emerging potentials for an antioxidant therapy as a new approach to the treatment of systemic sclerosis. *Toxicology*. 2000; 155(1–3): 1–15, indexed in Pubmed: [11154792](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11154792/).
22. Gray M, Gray D. Regulatory B cells mediate tolerance to apoptotic self in health: implications for disease. *Int Immunol*. 2015; 27(10): 505–511, doi: [10.1093/intimm/dxv045](https://doi.org/10.1093/intimm/dxv045), indexed in Pubmed: [26306497](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26306497/).
23. Rosser EC, Mauri C. Regulatory B cells: origin, phenotype, and function. *Immunity*. 2015; 42(4): 607–612, doi: [10.1016/j.immuni.2015.04.005](https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.04.005), indexed in Pubmed: [25902480](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25902480/).
24. Shen P, Roch T, Lampropoulou V, et al. IL-35-producing B cells are critical regulators of immunity during autoimmune and infectious diseases. *Nature*. 2014; 507(7492): 366–370, doi: [10.1038/nature12979](https://doi.org/10.1038/nature12979), indexed in Pubmed: [24572363](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24572363/).
25. Matsushita T, Hamaguchi Y, Hasegawa M, et al. Decreased levels of regulatory B cells in patients with systemic sclerosis: association with autoantibody production and disease activity. *Rheumatology (Oxford)*. 2016; 55(2): 263–267, doi: [10.1093/rheumatology/kev331](https://doi.org/10.1093/rheumatology/kev331), indexed in Pubmed: [26350483](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26350483/).
26. Pillai S, Mattoo H, Cariappa A. B cells and autoimmunity. *Curr Opin Immunol*. 2011; 23(6): 721–731, doi: [10.1016/j.coi.2011.10.007](https://doi.org/10.1016/j.coi.2011.10.007), indexed in Pubmed: [22191110](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22191110/).
27. Hobeika E, Nielsen PJ, Medgyesi D. Signaling mechanisms regulating B-lymphocyte activation and tolerance. *J Mol Med (Berl)*. 2015; 93(2): 143–158, doi: [10.1007/s00109-015-1252-8](https://doi.org/10.1007/s00109-015-1252-8), indexed in Pubmed: [25627575](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25627575/).
28. Jakóbsiak M. Przeciwciała. In: Gołab J, Jakóbsiak M, Lasek W. ed. *Immunologia*. Wydawnictwo PWN, Warszawa 2008: 21–47.
29. Nepom GT, St Clair EW, Turka LA. Challenges in the pursuit of immune tolerance. *Immunol Rev*. 2011; 241(1): 49–62, doi: [10.1111/j.1600-065X.2011.01003.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2011.01003.x), indexed in Pubmed: [21488889](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21488889/).
30. Smilek DE, Ehlers MR, Nepom GT. Restoring the balance: immunotherapeutic combinations for autoimmune disease. *Dis Model Mech*. 2014; 7(5): 503–513, doi: [10.1242/dmm.015099](https://doi.org/10.1242/dmm.015099), indexed in Pubmed: [24795433](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24795433/).
31. Bosello S, De Luca G, Tolusso B, et al. B cells in systemic sclerosis: a possible target for therapy. *Autoimmun Rev*. 2011; 10(10): 624–630, doi: [10.1016/j.autrev.2011.04.013](https://doi.org/10.1016/j.autrev.2011.04.013), indexed in Pubmed: [21545850](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21545850/).
32. Jordan S, Distler JHW, Maurer B, et al. EUSTAR Rituximab study group. Effects and safety of rituximab in systemic sclerosis: an analysis from the European Scleroderma Trial and Research (EUSTAR) group. *Ann Rheum Dis*. 2015; 74(6): 1188–1194, doi: [10.1136/annrheumdis-2013-204522](https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-204522), indexed in Pubmed: [24442885](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24442885/).
33. Giuggioli D, Lumetti F, Colaci M, et al. Rituximab in the treatment of patients with systemic sclerosis. Our experience and review of the literature. *Autoimmun Rev*. 2015; 14(11): 1072–1078, doi: [10.1016/j.autrev.2015.07.008](https://doi.org/10.1016/j.autrev.2015.07.008), indexed in Pubmed: [26209905](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26209905/).
34. Lafyatis R, Kissin E, York M, et al. B cell depletion with rituximab in patients with diffuse cutaneous systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 2009; 60(2): 578–583, doi: [10.1002/art.24249](https://doi.org/10.1002/art.24249), indexed in Pubmed: [19180481](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19180481/).
35. Tokarski S, Kowalski M. Immunomodulatory działania i zastosowania immunoglobulin. *Alergia Astma Immunologia*. 2014; 19(4): 224–231.



VIA MEDICA

www.fr.viamedica.pl

Olga Gumkowska-Sroka<sup>1</sup>, Przemysław Kotyla<sup>2</sup><sup>1</sup>Oddział Reumatologii, Wojewódzki Szpital Kliniczny nr 5, Sosnowiec<sup>2</sup>Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Reumatologii, Wydział Lekarski Katowice, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

## Zaburzenia homeostazy komórek B w twardzinie układowej

Artykuł jest tłumaczeniem pracy: Olgi Gumkowskiej-Sroki, Przemysława Kotyli. B-cell homeostasis imbalance in systemic sclerosis. Forum Reumatol. 2017 tom 3, nr 4: 230–236.

Należy cytować wersję pierwotną.

Piśmiennictwo znajduje się na stronie 235–336.

### STRESZCZENIE

Twardzina układowa jest przewlekłą, układową chorobą tkanki łącznej, w przebiegu której dochodzi do zajęcia wielu narządów. Charakteryzuje się postępującym włóknieniem skóry i narządów wewnętrznych, uszkodzeniem naczyń krwionośnych (mikroangiopatią) oraz obecnością autooprzeciwciał. Patogeneza choroby jest wciąż nieznana, ale bierze się pod uwagę nieprawidłowości naczyniowe w przebiegu procesu włóknienia

oraz w funkcjonowaniu układu immunologicznego — zaburzenia funkcji limfocytów T i B. Ostatnie doniesienia sugerują istotną rolę komórek B w patogenezie choroby. Deplecja komórek B przez rytuksymab poprawia lub stabilizuje stan skóry oraz czynność płuc. Te doniesienia czynią komórki B atrakcyjnym celem terapeutycznym w tej wciąż tajemniczej chorobie.

**Forum Reumatol. 2017, tom 3, nr 4: 237–242**

**Słowa kluczowe: twardzina układowa; limfocyt B; odpowiedź nabyta; autoimmunizacja**

### WSTĘP

Twardzina układowa (*systemic sclerosis*) jest przewlekłą, układową chorobą tkanki łącznej o ciągle nie w pełni poznanej etiologii, charakteryzująca się postępującym włóknieniem skóry i narządów wewnętrznych, co spowodowane jest nadmierną syntezą i dojrzewaniem kolagenu. Chociaż włóknienie skóry jest najbardziej widocznym znacznikiem choroby, to jednak z punktu widzenia klinicznego zajęcie narządów wewnętrznych, ich uszkodzenie, a z czasem krańcowa niewydolność decydują o poważnym rokowaniu i zwiększonej śmiertelności w tej grupie chorych. Zwłaszcza takie zjawiska chorobowe, jak uszkodzenie naczyń krwionośnych przebiegające pod postacią mikroangiopatii, charakteryzujące się epizodami skurczu naczyń, jak również tak zwaną waskulopatią będącą stanem przypominającym miażdżycę i zapalenia naczyń doprowadzają do pogrubieniem błony wewnętrznej, zwężenia światła naczyń i klinicznych konsekwencji w postaci niedokrwienia zaopatrywanych przez naczynie obszarów tkanki. Zjawiska te klinicz-

nie przebiegają jako objaw Raynauda, owrzodzenia opuszek palców, tętnicze nadciśnienie płucne czy stwierdzany obecnie znacznie rzadziej twardzinowy przełom nerkowy [1–3].

Na obecnym stanie wiedzy chorobę postrzega się coraz częściej jako zaburzenie o podłożu autoimmunizacyjnym, a nie chorobę, w której dochodzi do gromadzenia tkanki łącznej. Tezę tę potwierdza występowanie u chorych autooprzeciwciał, różnego rodzaju zaburzenia odpowiedzi immunologicznej. Zjawiskiem uniwersalnym jest obecność przeciwciał przeciwjądrowych, które występują u ponad 95% chorych i są to przeciwciała swoiste, takie, których nie stwierdza się u zdrowej populacji. Dane te wskazują na znaczne zaburzenia odpowiedzi immunologicznej, uzasadniając zaliczenie twardziny układowej do typowych chorób zapalnych tkanki łącznej.

W patogenezie choroby zwracano głównie uwagę na rolę fibroblastów, ze względu na najbardziej charakterystyczny objaw choroby — włóknienie skóry i narządów wewnętrznych. Badania histologiczne wycinków skóry we wczesnych stadiach choroby wykazały jednak-

**Adres do korespondencji:**  
dr hab n. med. Przemysław Kotyla  
Katedra i Klinika Chorób  
Wewnętrznych i Reumatologii  
Wydział Lekarski Katowice,  
Śląski Uniwersytet Medyczny  
w Katowicach  
e-mail: pkotyla@onet.eu



że cechy pobudzenia układu odpornościowego przejawiającego się obecnością nacieków limfocytarnych komórek jednojądrowych (komórki T i makrofagi są komórkami dominującymi). Przeważają komórki Th2 produkujące promującą włóknienie cytokiny IL-4 i IL-13 [4].

W ostatnich latach uwaga badaczy skupiła się na roli limfocytów B, które mogą nasilać włóknienie poprzez różne mechanizmy: produkcję cytokin, oddziaływania międzykomórkowe oraz produkcję autoprzeciwciał [5]. Ostatnie badania potwierdzają istotną rolę komórek B w patogenezie choroby, nie tylko w aspekcie produkcji autoprzeciwciał, ale także udziału w regulacji odpowiedzi immunologicznej.

Komórki B są nie tylko prekursorami komórek produkujących przeciwciała, uważane są za komórki pleiotropowe (*pleios* — wiele, *trophos* — droga), które pełnią różne funkcje, niezależnie od produkcji przeciwciał, takie jak: prezentacja antygeny, produkcja cytokin (m.in. IL-6), wpływ na komórki T efektorowe, modulacja czynności komórek dendrytycznych. Zaburzenia tych funkcji mają istotne znaczenie w rozwoju nieprawidłowej odpowiedzi immunologicznej [6, 7].

Komórka B na swojej drodze rozwoju od wczesnych komórek progenitorowych do ostatecznego zróżnicowania w komórki plazmatyczne przechodzi przez ściśle regulowane etapy. Limfocyty B i T powstają ze wspólnej komórki progenitorowej limfopoety, limfocyty B są wytwarzane głównie w szpiku kostnym. Najważniejszymi czynnikami transkrypcyjnymi determinującymi różnicowanie w kierunku limfocytów B są Pax5 i EBF (*early B-cell factor*) [8]. Komórki, na których pojawia się Pax5 to **limfocyty pre-pro-B**. Z kolei komórka, w której dochodzi do pierwszych rearanżacji segmentów genów immunoglobulinowych i na których pojawia się CD19 to **limfocyt pro-B**. CD19 to marker wszystkich limfocytów B niezależnie od stadium dojrzewania. Ekspresja CD19 jest ograniczona do linii komórek B i komórek dendrytycznych pęcherzykowych, które są komórkami prezentującymi antygen zlokalizowanymi w śledzionie. CD19 i CD21 należą do tak zwanych pozytywnych regulatorów, które wzmacniają sygnał przekazywany przez BCR (*B-cell antigen receptor complex*).

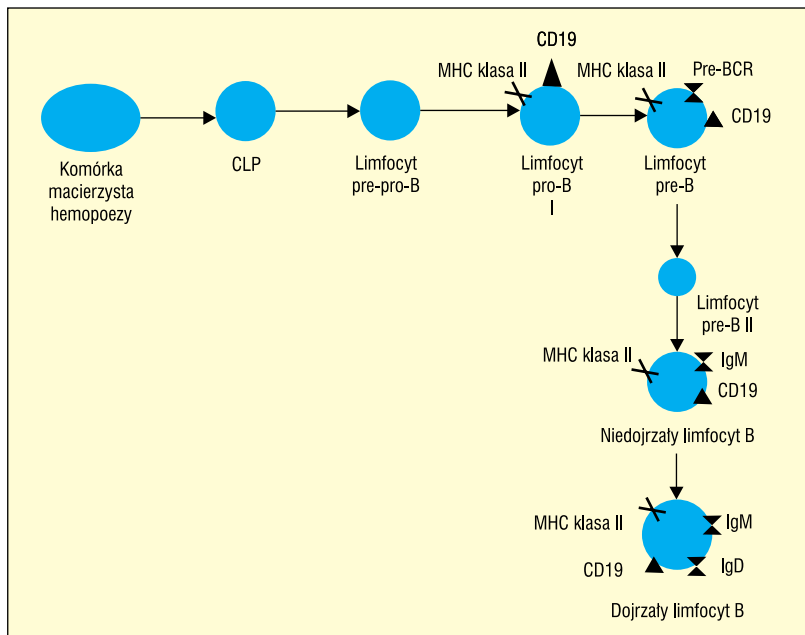
Kolejny etap dojrzewania komórek B to **limfocyt pre-B**. Jest to komórka, w której dochodzi do pojawienia w cytoplazmie, a następnie błonie komórkowej łańcucha ciężkiego. Pojawienie się na powierzchni komórki dojrz

łego receptora immunoglobulinowego klasy Ig M jest cechą przejścia w **niedojrzały limfocyt B** (pojawia się CD22). Glikoproteina CD22 jest specyficzną cząsteczką adhezyjną, związaną z BCR, która odgrywa rolę w utrzymaniu tolerancji immunologicznej. Niedojrzałe limfocyty B mogą opuszczać szpik, przedostawać się do krwiobiegu i wędrować do obwodowych narządów limfatycznych. Wytworzenie łańcucha ciężkiego delta i pojawienie się na powierzchni komórki oprócz BCR IgM także receptora dla IgD jest markerem zakończenia dojrzewania. Pojawieniu się IgD towarzyszy ekspresja CD21 i CD23, które będą uczestniczyć w kostymulacji — powstaje **dojrzały limfocyt B** (ryc. 1). Antygen CD20 występuje na dojrzałych komórkach linii B (oprócz komórek pre-B oraz komórek plazmatycznych) [8, 9]. Różnicowanie i proliferacja komórek B zależą także od lokalnych stymulatorów, do których należą cytokiny: IL-10, IL-21, IL-6, a także czynniki wzrostu, między innymi BAFF. Nieprawidłowości odpowiedzi na te czynniki regulujące mogą skutkować przełamaniem tolerancji na własne antygeny i przeżycie autoreaktywnych komórek B. *B-cell activating factor belonging to TNF-family* (BAFF), czyli białko Blyś (*B-lymphocyte stimulator*), należy do nadrodziny TNF, jest silnym stymulatorem limfocytów B. Podtrzymuje przeżycie, aktywację i różnicowanie limfocytów B w komórki plazmatyczne wydzielające przeciwciała [10, 11].

Na zaburzenia odpowiedzi immunologicznej mogą mieć także wpływ zaburzenia procesu kostymulacji. Cząsteczka CD40 znajdująca się między innymi na limfocytach B, komórkach dendrytycznych, makrofagach, komórkach śródbłonna wiąże się z cząsteczką CD40L na limfocytach T. To połączenie dostarcza głównego sygnału kostymulacji, następuje aktywacja limfocytów B, ich proliferacja, synteza przeciwciał oraz wzrasta uwalnianie przez nie cytokin, między innymi interleukiny 6. Interleukina 6 pełni istotną funkcję w podtrzymywaniu miejscowego stanu zapalnego.

## ZABURZENIA HOMEOSTAZY KOMÓREK B W TWARDZINIE UKŁADOWEJ

W ostatnich latach coraz więcej danych uzyskanych na podstawie badań wykonanych zarówno na zwierzęcych modelach twardziny układowej, jak i badań u ludzi wskazuje na istotną rolę komórek B w patogenezie choroby. Rozważa się udział różnych mechanizmów patogenetycznych: komórki B mogą promo-

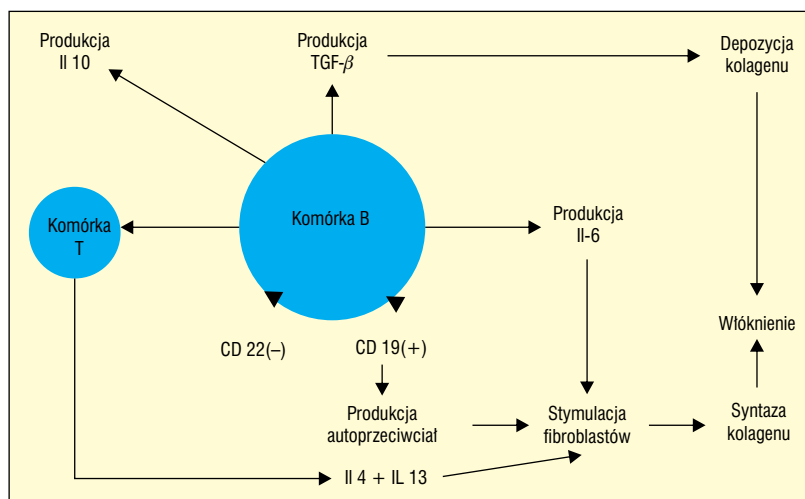


**Rycina 1.** Etapy dojrzewania limfocytów B — ekspresja najważniejszych cząsteczek powierzchniowych

wać włóknienie poprzez produkcję cytokin, poprzez kontakt międzykomórkowy, zwraca się także uwagę na rolę autoprzeciwciał. W twardzinie układowej komórki B są hiperaktywne, co znajduje swoje odzwierciedlenie w obecności hipergammaglobulinemii, produkcji swoistych autoprzeciwciał oraz zwiększonego surowiczego stężenia wolnych łańcuchów lekkich immunoglobulin [12]. Na zwiększoną proliferację i przeżycie limfocytów B, obserwowane w twardzinie układowej ma wpływ, oprócz aktywacji BCR, wiele molekuł kostymulatorowych (CD19, CD40, BAFR, TLR). Ich nadmierna aktywność odgrywa rolę w przełamaniu tolerancji limfocytów B w chorobach autoimmunizacyjnych i jest obserwowana także w tej jednostce chorobowej [13]. Stwierdzono także, że stężenie czynnika przeżycia komórek B (BAFF, *B-cell activating factor*) jest zwiększone w twardzinie układowej, a funkcja cząsteczki CD22 cząsteczki hamującej funkcje komórek B jest zahamowana przez autoprzeciwciała skierowane przeciwko CD22 [14]. Wykazano również, że w twardzinie układowej dochodzi do nadekspresji CD19. Molekuła CD19 jest kluczowa dla prawidłowej odpowiedzi komórek B, jest uważana za pozytywny regulator funkcji komórek B (wzmacnia aktywność *mitogen-activated protein kinase* [MAPK], zwiększa napływ jonów wapniowych do komórki), promuje proliferację komórkową. Ta funkcja pozytywnego wzmocnienia jest dobrze poznana, choć sugeruje się także już mniej poznana rolę CD19 w hamowaniu sygnału przekazywa-

nego przez BCR. Nadekspresja CD19 koreluje z rozwojem chorób autoimmunologicznych [14]. Badania wykazały, że utrata CD19 u człowieka i myszy prowadzi do uogólnionej nieprawidłowej odpowiedzi humoralnej. Niedobór CD19 u pacjentów skutkuje hipogammaglobulinemią, upośledzoną odpowiedzią na antygeny przekazywane przez BCR i zwiększeniem podatności na infekcje. Zmniejszona ekspresja CD19 wiąże się z przewlekłą białaczką limfocytową CLL, białaczką z dużych komórek B [16–18]. Na podstawie analizy w cytometrii przepływowej krwi pacjentów z TU stwierdzono, że powierzchniowa gęstość CD19 na komórkach B jest o 20% większa niż u ludzi zdrowych. Ta nadekspresja CD19 występuje zarówno w limfocytach B dziewiczych, jak i w komórkach pamięci. Komórki B wykazują nadekspresję CD19 u 54% pacjentów z wczesną SSc i u 28% pacjentów z długotrwałą chorobą. Wydaje się, że ten niewielki wzrost ekspresji CD19 jest już wystarczający do produkcji autoprzeciwciał, ale nie wiadomo, czy ma to związek z włóknieniem i progresją choroby [19]. Nadekspresja CD19 powoduje też zwiększenie liczby limfocytów dziewiczych (*naive B-cells*) i zwiększenie aktywności komórek B pamięci [20]. Ekspresja CD20 pozostaje natomiast prawidłowa.

Kolejnym mechanizmem, który należy brać pod uwagę, rozważając rolę komórek B w patogenezie twardziny jest produkcja przez te komórki cytokin powodujących włóknienie, takich jak : IL-6, TGF-beta. Interleukina 6 może indukować produkcję kolagenu przez



**Rycina 2.** Rola komórek w promocii włóknienia u pacjentów z SSc

fibroblasty (stwierdzono zarówno zwiększone surowicze stężenia IL-6, jak i zwiększoną produkcję w skórze), z kolei TGF-beta jest cytokiną nasilającą włóknienie.

Nasilone włóknienie, indukowane toczącym się zapaleniem, może być także wynikiem działania auto przeciwciał wykrywanych w twardzinie układowej. Auto przeciwciała te, na przykład anti-ICAM-1, powodują wzrost produkcji reaktywnej formy tlenu (ROS, *reactive oxygen species*) przez komórki śródbłonna.

Zwiększona produkcja ROS jest prawdopodobnie wtórna do niedokrwienia i uszkodzenia reperfuzyjnego związanego z objawem Raynauda. Reaktywne formy tlenu powodują uszkodzenie tkanek i włóknienie, indukują apoptozę, prowadzącą do zwiększonej ekspresji ligandów dla receptorów Toll podobnych (TLR, *toll-like receptors*), co indukuje aktywację odpowiedzi zapalnej [9, 21]. Auto przeciwciała anti-ETAR (*endothelin-1 type A receptor*) stymulują uszkodzenie tkanek i są silnym predyktorem owrzodzeń palców u pacjentów z SSc. W twardzinie układowej stwierdzono także auto przeciwciała anti-CD22 głównemu czynnikowi hamującemu komórki B, co sprzyja ich nadreaktywności. Udział komórek B w procesach włóknienia polega również na oddziaływaniu komórek B na limfocyty Th2, nasilając profibrotyczną odpowiedź Th2 (ryc. 2).

Komórki B poprzez kontakt międzykomórkowy indukują dojrzewanie komórek dendrytycznych. Jest coraz więcej dowodów, że komórki B współdziałając z komórkami dendrytycznymi, wzmacniają odpowiedź Th2. W ludzkiej agammaglobulinemii, gdzie występuje pierwotny defekt komórek B obserwuje się głównie odpowiedź Th1 zależną [3].

Kolejnym mechanizmem, którego znaczenie mocno akcentuje się w ostatnich badaniach nad patogenezą choroby są komórki B regulatorowe (Bregs, *regulatory B-cells*). Komórki B regulatorowe są ostatnio opisanym podtypem komórek B, które hamują zapalenie poprzez hamowanie różnicowania komórek Th1 i Th17 i poprzez indukowanie Treg [22, 23]. Limfocyty B regulatorowe (Breg) odgrywają istotną rolę w utrzymaniu tolerancji immunologicznej. Główną właściwością tej populacji, pozwalającą na ich identyfikację, jest zdolność do wydzielania IL-10 i prawdopodobnie również IL-35 [24]. Komórki Breg indukowane są w warunkach toczącego się stanu zapalnego i są zdolne do jego ograniczania. Wyróżnia się dwa podtypy komórek Bregs — transitional i memory.

Nowe badania wykazują, że liczba komórek Breg produkujących IL-10 jest obniżona w SSc, co jest kolejnym dowodem na rolę tych komórek w tej chorobie. Stwierdzono, że dochodzi do obniżenia liczby komórek Bregs pamięci, szczególnie w przewlekłej chorobie i w SSc związanej z włóknieniem płuc [25]. Wykazano ponadto odwrotną korelację pomiędzy Bregs i mianem przeciwciał przeciwko topozomerazie I i przeciwciał przeciwko centromerom [3, 25] (ryc. 2).

Uważa się, że nawet wykazujące słabą autoreaktywność limfocyty B, mogą rozpocząć rozwój choroby autoimmunizacyjnej, jeśli otrzymają „pomoc” od limfocytów Th. Może do tego dochodzić w przypadku, gdy antygen własny jest fizycznie związany z antygenem obcym. Zachodzi wówczas proces endocytozy, indukowana jest ekspresja CCR7, limfocyt B prezentuje obcy antygen aktywowanemu lim-

focytowi Th. Tak dochodzi do współpracy limfocyty T z receptorem specyficznym dla antygeny obcego i autoreaktywnego limfocyty B, który rozpoczyna produkcję auto-przeciwciał [26].

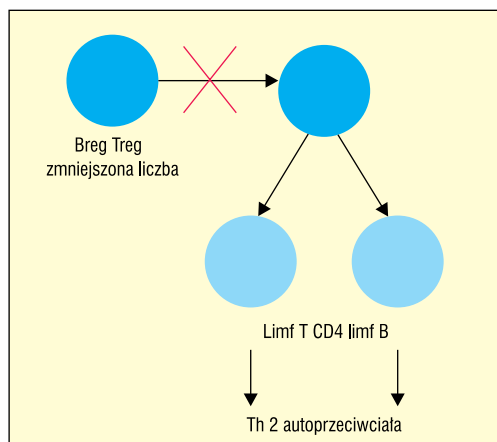
Ważną składową w rozwoju autoimmunizacji jest wzmożona transmisja sygnału przez BCR. Kompleks CD22/Siglec-2 odgrywa istotną rolę w negatywnej regulacji tej transmisji przez BCR. Nieprawidłowe warianty SIAE/Siglec występują u osób z chorobami autoimmunizacyjnymi [27].

Kilkanaście procent immunoglobuliny G stanowią tak zwane przeciwciała asymetryczne w klasie IgG. Mogą one wiązać antygen tylko jednym fragmentem Fab, drugi natomiast jest zablokowany przez węglowodany. Uważa się, że immunoglobuliny te pełnią funkcje regulacyjne [28]. Około 10% limfocytów B krwi obwodowej wykazuje koekspresję dwóch różnych łańcuchów lekkich, w związku z tym posiadają one dwa receptory BCR o odmiennej swoistości, zmniejszając w rezultacie gęstość receptora autoreaktywnego.

Autoreaktywne limfocyty B mogą być kontrolowane przez makrofagi i komórki dendrytyczne, na przykład poprzez produkcję IL-6 i ekspresję CD40L, co hamuje przekształcanie ich w komórki plazmatyczne.

Omawiając mechanizmy tolerancji nie można pominąć roli mediatorów wewnątrzkomórkowych. Częsteczką TRAF-6 (*tumor necrosis factor receptor-associated factor 6*) jest białkiem adaptorowym, biorącym udział w wewnątrzkomórkowych procesach zachodzących po aktywacji wielu receptorów o funkcji immunoregulacyjnej, czyli nadrodziny receptorów TNF, TG-beta, TCR i TLR. Częsteczką TRAF6 aktywuje czynnik transkrypcyjny NFkB, MAPK, PI3K i szlaki sygnałowe czynników regulatorowych interferonu. Jest to bardzo ważna częsteczka zarówno dla prawidłowej aktywacji, jak i utrzymania homeostazy układu odporności.

Prawidłowa funkcja układu immunologicznego polega nie tylko na rozpoznawaniu i eliminacji obcych antygenów, ale również na utrzymywaniu stanu tolerancji na antygeny własne. W organizmie człowieka powstają również komórki autoreaktywne, które przy braku eliminacji lub odpowiedniej kontroli zostają aktywowane i prowadzą do rozwinięcia się choroby autoimmunizacyjnej. Dlatego układ immunologiczny rozwinął szereg mechanizmów prowadzących do eliminacji komórek rozpoznających antygeny własne lub do ich „wyciszenia” w mechanizmie zwanym toleran-



**Rycina 3.** Rola limfocytów Bregs — zmniejszona liczba Bregs ułatwia aktywację Th2 i produkcję auto-przeciwciał

cją immunologiczną. Przywrócenie stanu tolerancji stanowi ważny cel terapii chorób autoimmunizacyjnych [29].

Wykorzystując wiedzę na temat patomechanizmów rozwoju choroby, próbuje się wdrożyć różne terapie, są to między innymi:

- terapia powodująca deplecję komórek B (*B-cell depleting therapy*) z użyciem przeciwciała monoklonalnego anty-CD20 (rytuksymab Rtx) zmniejsza włóknienie skóry i stabilizuje/poprawia funkcję płuc [30–33];
- neutralizacja IL-6 przez tocilizumab (przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko receptorowi dla IL-6) zmniejszało stwardnienie skóry [3, 34];
- rozważa się także terapeutyczną rolę dużych dawek dożylnie podawanych immunoglobulin (iv Ig) w twardzinie układowej, wykorzystując wielokierunkowe działanie na różne komórki immunologiczne i mediatory.

Mechanizm immunosupresyjnego działania dużych dawek immunoglobulin nie jest do końca poznany, postuluje się liczne prawdopodobne mechanizmy działania. Przez receptor dla fragmentu FcIgG mogą wpływać na aktywność różnych komórek układu odpornościowego. Wykazano, że iv Ig prowadzą do apoptozy komórek T i przywracają równowagę cytokin przeciw- i prozapalnych, hamują produkcję przeciwciał przez komórki B, wpływają na kaskadę dopełniacza. Podawanie dużych dawek iv Ig hamuje również różnicowanie i dojrzewanie komórek dendrytycznych (DC, *dendritic cells*) i zmniejsza ich zdolność do prezentacji antygenów i aktywacji limfocytów T. Ponadto działanie przeciwzapalne dużych dawek iv Ig wynika z wielu innych nieim-

**Tabela 1.** Wpływ składowych immunoglobulin na układ odpornościowy (wg [35])

Fragment Immunoglobuliny	Efekt działania
Fragment Fc	<ul style="list-style-type: none"> <li>— Zahamowanie fagocytozy</li> <li>— Zahamowanie ADCC (cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (<i>antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity</i>))</li> <li>— Wpływ na wytwarzanie i krążenie przeciwciał za pośrednictwem FcR</li> <li>— Zahamowanie dojrzewania komórek dendrytycznych zmniejszenie ich zdolności do przetwarzania i prezentacji własnych antygenów oraz aktywacji limfocytów T</li> <li>— Hamowanie wiązania kompleksów immunologicznych z FcR</li> <li>— Wpływ na aktywność CD4 (Treg-CD4+CD25+FOXP3+)</li> </ul>
Fragment Fab	<ul style="list-style-type: none"> <li>— Zahamowanie namnażania komórek</li> <li>— Modulacja procesu apoptozy (CD95) i cyklu komórkowego</li> <li>— Aktywacja swoistych limfocytów</li> <li>— Wpływ na proces adhezji komórek</li> <li>— Przeciwciała antyidiotypowe</li> <li>— Wpływ na stężenie cytokin (obniżenie produkcji IL-12 i zwiększenie produkcji IL-10 o właściwościach przeciwzapalnych)</li> <li>— Przeciwciała przeciwko patogenom</li> <li>— Hamowanie aktywacji dopełniacza</li> </ul>
Pozostałe składniki obecne w preparacie dożylnych immunoglobulin — iv Ig	<p>Związki o własnościach immunoregulacyjnych np.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>— cytokiny</li> <li>— rozpuszczalne inhibitory cytokin</li> <li>— cząstki HLA</li> <li>— rozpuszczalne CD4, CD8</li> </ul>

munologicznych mechanizmów, preparat do zastosowania terapeutycznego zawiera przeciwciała przeciwko cytokinom, rozpuszczalne CD4 i CD8, cząsteczki HLA, których obecność w dużych ilościach nasila działanie immunomodulujące [35]. Znane obecnie mechanizmy immunosupresyjnego działania immunoglobulin zebrano w tabeli 1.

### **PERSPEKTYWY TERAPEUTYCZNE NA PRZYSZŁOŚĆ**

Zwiększona ekspresja CD19 na komórkach B we wczesnej twardzinie układowej i znaczne zmniejszenie produkujących IL-10 Bregs powoduje autoagresję komórek B i czyni te punkty uchwytu atrakcyjnymi celami terapeutycznymi.

### **PODSUMOWANIE**

W ostatnich latach dokonał się znaczący postęp w rozumieniu mechanizmów tolerancji immunologicznej oraz roli jaką w jej utrzymaniu odgrywają limfocyty T, B, komórki odpowiedzi wrodzonej. Przełamanie tolerancji immunologicznej na wielu etapach skutkuje rozwojem chorób autoimmunizacyjnych.

Twardzina układowa jest ciągle „tajemniczą” chorobą o nie do końca jasnych współzależnościach, pomiędzy zachodzącym procesem autoimmunologicznym a konsekwencjami klinicznymi, ale cały czas trwają próby poznania mechanizmów patogenetycznych leżących u podstaw tej choroby, co umożliwi skuteczniejsze postępowanie terapeutyczne.

Podsumowując wyniki toczących się badań nad patogenezą choroby, można uwzględnić następujące mechanizmy:

- komórki B są hiperaktywne w twardzinie układowej;
- dochodzi do nadekspresji CD19;
- komórki B mogą produkować promujące włóknienie cytokiny: IL-6, TGF-beta;
- autoprzeciwciała stwierdzone w twardzinie układowej mogą nasilać indukowane zapalenie włóknienie w SSc;
- komórki B promują profibrotyczną odpowiedź Th2;
- komórki B regulatorowe Bregs (*regulatory B-cells*) produkujące IL-10 są obniżone w SSc.

Poznanie roli tych mechanizmów w twardzinie układowej, wciąż jeszcze niezbadanej do końca choroby, i opracowanie nowych strategii terapeutycznych o różnych punktach uchwytu jest celem toczących się badań.