

Symposium De Eo en de Baso*

De eosinofiele granulocyt: structuur en functie

L. KOENDERMAN

De eosinofiele granulocyt is betrokken bij de afweer tegen parasitaire infecties. Hiervoor is de cel uitgerust met een arsenaal aan cytotoxische mechanismen. De cel kan uittreden uit het perifere bloed en bewegen naar de ontstekingshaard toe in processen die extravasatie en chemotaxie worden genoemd. Vervolgens kan de cel binden aan de parasiet en giftige stoffen, eiwitten en zuurstof radicalen, afgeven die de parasiet doden. Naast deze nuttige functie in het lichaam is de eosinofiele granulocyt ook betrokken in de pathogenese van allergische ziekten zoals allergisch astma, rhinitis, en dermatitis. De cel wordt in deze ziekten aangetrokken en geactiveerd op geleide van allergene prikkels, zoals huisstof en pollen, in plaats van parasieten. De processen die betrokken zijn bij deze aantrekking en activatie zullen in dit korte artikel worden besproken.

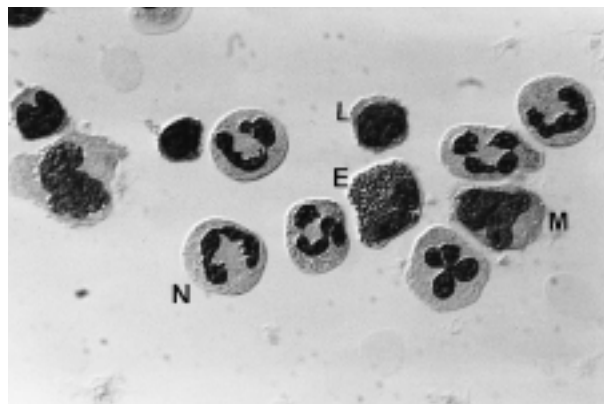
Trefwoorden: Eosinofiele granulocyt; functie; priming; structuur

De eosinofiele granulocyt werd voor het eerst beschreven door Paul Ehrlich in 1880. Deze cel wordt eosinofiele granulocyt genoemd omdat er vele korrels of granula in het cytosol gevonden worden die gevoelig zijn voor zure kleurstoffen zoals eosine die de granula rood kleuren (figuur 1). Slechts een klein gedeelte (1-2%) van alle witte bloedcellen bestaat uit eosinofiele granulocyten. De cellen bevinden zich slechts korte tijd in het perifere bloed (halfwaarde tijd 6-11 uur). Het is dan ook goed te realiseren dat meer dan 90% van alle eosinofiele granulocyten zich in de weefsels bevinden.

Onder normale omstandigheden is de eosinofiele granulocyt betrokken bij de afweer tegen parasieten. Voor de afweerreactie is de eosinofiele granulocyt uitgerust met twee belangrijke cytotoxische mechanismen, die de cel kan aanwenden voor het doden van parasieten. Dit gebeurt extracellulair, omdat de parasiet vele malen groter is dan de eosinofiele granulocyt. In de membraan bevindt zich een NADPH-oxidase complex dat na activatie moleculair zuurstof

omzet in superoxide. Het superoxide kan op zijn beurt worden omgezet in vele cytotoxische zuurstofmetabolieten. In de granula (korrels) van de eosinofiele granulocyt bevinden zich vele cytotoxische eiwitten. Als cellen worden geactiveerd bewegen deze korrels naar de celmembraan. Hier fuseren de korrels met de celmembraan en de inhoud van de korrels wordt uitgestoten, een proces dat degranulatie wordt genoemd. Het blijkt nu dat er een duidelijk synergisme optreedt tussen de cytotoxische eiwitten en de reactieve zuurstofmetabolieten tijdens de "killing" reactie van parasieten. In vitro worden schistosomula van *Schistosoma mansoni* (verwekker van Bilharzia) effectief gedood door eosinofiele granulocyten. Bovendien is aangetoond dat een parasitaire infectie met *Schistosoma mansoni* gepaard gaat met een grote infiltratie van eosinofiele granulocyten in het weefsel. Muizen worden gevoeliger voor infectie met parasieten, als in deze muizen de aanmaak van eosinofiele granulocyten wordt geremd in het beenmerg.

Hoe de immuunreactie gericht tegen parasieten precies verloopt is nog niet geheel duidelijk. In muizen is aangetoond dat verschillende parasieten verschillende T-cel responsen kunnen initiëren. Sommige studies in muizemodellen tonen aan dat de CD4+/Th2 type immuunrespons (IL-4/IgE en IL-5/eosinophils) essentieel is voor de afweer tegen verschillende parasieten zoals *Trichuris muris*, *Nippostrongylus brasiliensis* of *Brugia malayi*. Echter andere studies tonen aan dat de Th2 type immuunrespons niet essentieel is en zelfs betrokken kan zijn bij een verergering van de ziekte. Een voorbeeld is de afweer tegen *Leishmania* infecties. Hierbij spelen macrofagen een prominente



Figuur 1. Humane witte bloedcellen. N: neutrofiële granulocyt E: eosinofiele granulocyt, M: monocyt en L: lymfocyt. Nomarski opname 1000 x vergroot, May-Grünwald/Giemsa kleuring.

Afdeling Longziekten, Academisch Ziekenhuis Utrecht

Correspondentie: Dr. L. Koenderman, Afd. Longziekten, HpNr. F.02.333, AZU, Postbus 85500, 3508 GA Utrecht.

*Samenvatting van voordrachten gehouden tijdens het symposium "de Eo en de Baso" op 10 januari 1996 te Zwolle.

rol. Deze macrofagen moeten echter geactiveerd worden door IFN- γ voor een optimale killing van deze parasiet. In de afweer tegen *Leishmania* is het duidelijk dat een CD4+/Th1 (IL-2/IFN- γ) respons beschermend is, terwijl een CD4+/Th2 type respons leidt tot de dood van de muis. Voor uitleg van de Th2/Th1 dichotomie zie de review van Mosmann en Coffman.

In de westerse wereld zijn er relatief weinig parasitaire infecties en de rol van de eosinofiele granulocyt in de afweer lijkt hier dan ook beperkt. Echter de cel speelt een belangrijke rol in de pathogenese van allergische ziekten. Het blijkt namelijk dat de cel infiltreert in de weefsels gedurende de late fase van de allergische reactie in de long, huid, neus en darm. Hier aangekomen wordt de cel om nog onduidelijke redenen geactiveerd en veroorzaakt schade aan het weefsel via mechanismen die ook worden gebruikt voor het onschadelijk maken van parasieten.

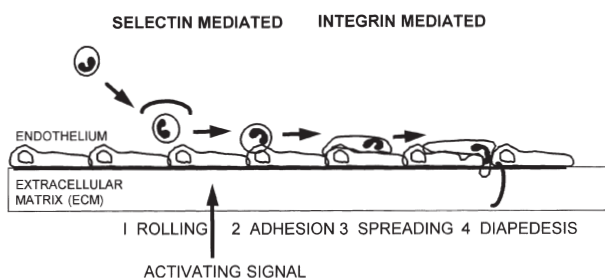
Om te kunnen begrijpen hoe de cel ter plaatse komt en hoe de cel deelneemt aan de ontstekingsreactie wordt in het hierna volgende ingegaan op de verschillende responsen die de eosinofiele granulocyt vertoont na activatie met verschillende agonisten.

Regulatie van activatie van eosinofiele granulocyten in vitro

De eosinofiele granulocyt wordt pas geactiveerd als de cel een target herkent en eraan bindt. Hiervoor zijn vele receptoren aanwezig op de celmembran van deze cel. De receptoren zijn kunstmatig op te delen in receptoren voor immunoglobulinen (Fc-receptoren), complement, cytokinen, bioactieve lipiden, immunomodulators en steroïden.

Rolling, adhesion, diapedese en chemotaxie

Uitreding van granulocyten vanuit het perifere bloed naar de ontstekingshaard toe is een zeer goed gereguleerd proces (figuur 2). In een (allergische) ontstekingshaard ontstaan opgeloste mediators (zoals cytokinen en chemotaxinen) die de expressie induceren van adhesiemoleculen op het endotheel. Een klasse van adhesiemoleculen die betrokken zijn bij de eerste interactie tussen ontstekingscel en endotheel zijn de selectinen (P-selectin, E-selectin en L-selectin). Dit zijn relatief lange moleculen die eindstandig een lectine groep dragen. De selectinen herkennen liganden (glycoproteïnen) op de celmembran die bepaalde suikergroepen dragen. De binding tussen selectine en ligand is niet afhankelijk van activatie van de cellen.



Figuur 2. Model voor de extravasatie van eosinofiele granulocyten vanuit de bloedbaan naar de weefsels (voor uitleg zie tekst).

Onder stromingscondities gaan ontstekingscellen eerst rollen (figuur 2.1) over het endotheelloppervlak en dit rollende gedrag wordt gemedieerd door de selectinen. De selectinen worden dan ook wel rolling receptors genoemd.

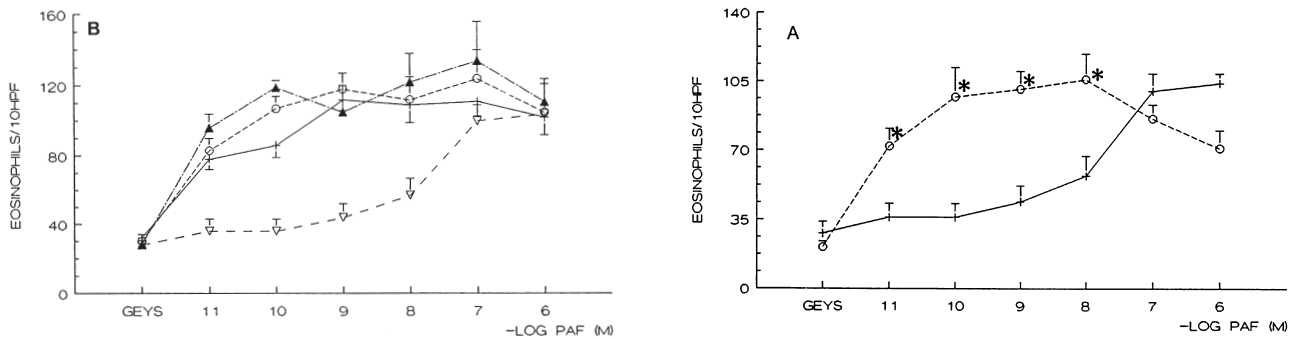
Tijdens het rollen worden de cellen afgeremd en een tweede groep van eiwitten raakt onder invloed van allerlei mediators (zoals endotheel gebonden PAF, figuur 2.2) geactiveerd. Deze groep, integrinen genaamd, bestaat uit een gemeenschappelijke β -keten, die niet covalent gebonden is aan de verschillende α -ketens. Integrinen binden aan verschillende liganden die tot expressie komen op endotheel na activatie door ontstekingsmediators. Deze geactiveerde integrinen zijn betrokken bij de stevige adhesie (figuur 2.3) van de granulocyten aan het epitheel en zijn belangrijk tijdens het kruipen door het endotheel heen (diapedese, figuur 2.4). Vervolgens migreren de eosinofiele granulocyten op basis van een gradiënt van chemotactische factoren in de richting van de ontstekingshaard (chemotaxie). Ook bij chemotaxie spelen de integrinen (vooral VLA-4 en MAC-1) een belangrijke rol.

Activatie van eosinofiele granulocyten in het weefsel

In de weefsels aangekomen raken eosinofiele granulocyten geactiveerd door nog onbegrepen mechanismen. Aanwijzingen dat eosinofiele granulocyten geactiveerd zijn komen van studies met immuno(histochemische) kleuringen van biopten en de bepaling van de aanwezigheid in het weefsel van eiwitten die specifiek zijn voor eosinofiele granulocyten. Het blijkt dat eosinofiele granulocyten in het weefsel positief zijn voor vele markers die geassocieerd zijn met celactivatie. Enige in het oogspringende markers zijn Mac-1, HLA-DR, ICAM-1, LFA-3, CD67, CD69, CD4, IL-2-R. De specifieke productie van cytotoxische stoffen (zuurstof metabolieten en basische eiwitten) kan grote schade veroorzaken aan het lichaams-eigen weefsel. Deze schade wordt dan ook gezien in allergische inflammatoire laesies. Naast het veroorzaken van weefselschade is de eosinofiele granulocyt betrokken bij de productie van mediators die oedeem en samentrekking van gladspierweefsel veroorzaken. Vooral leukotriënen en platelet-activating factor zijn lipide mediators die hierbij een belangrijke rol spelen. Op moleculaire basis is het leukotriëen C4 duizend maal zo potent als histamine in het laten samentrekken van glad spierweefsel in de long. Het zal duidelijk zijn dat de eosinofiele granulocyt een belangrijke rol wordt toebedacht in het ontstaan van bronchoconstrictie (veroorzaker benauwdheid) gedurende de astmatische reactie.

De eosinofiele granulocyt als producent van proinflammatoire cytokinen

Zoals uit het voorgaande gebleken is speelt de eosinofiele granulocyt een belangrijke rol in de effectorfase van de allergische ontsteking. Deze cel is echter ook belangrijk voor de prolongatie van de ontstekingsreactie. De laatste jaren is namelijk gebleken dat eosinofiele granulocyten verscheidene proinflammatoire cytokinen kunnen uitscheiden, die betrokken



Figuur 3. Priming van chemotaxie van eosinofiele granulocyten in vitro (A) en in vivo (B). A. Platelet-activating factor geïnduceerde chemotaxie van normale eosinofiele granulocyten na voorbehandeling met buffer (GEYS, ▽), IL-5 (▲), GM-CSF (o), en IL-3 (+). B. PAF geïnduceerde chemotaxie van eosinofiele granulocyten geïsoleerd uit het bloed van normale donoren (+) vergeleken met de respons van eosinofiele granulocyten geïsoleerd uit allergisch astma patiënten (o).

zijn bij de prolongatie van de allergische ontstekingsrespons. Tot deze groep behoren chemotaxinen (PAF, IL-5, GM-CSF, IL-3, TGF- β), groeifactoren voor fibroblasten zoals PDGF, en immunomodulators van lymfocyten (IL-4, IFN- γ , en TNF- α). De eosinofiele granulocyt worden heden ten dage dan ook gezien als proinflammatoire cel.

Het concept van priming versus activatie

Er zijn geen aanwijzingen dat eosinofiele granulocyten geïsoleerd uit het perifere bloed van allergische patiënten een geactiveerd fenotype hebben. De expressie van alle activatie markers, zoals hierboven beschreven zijn, verschillen niet significant tussen cellen geïsoleerd uit normale donoren vergeleken met cellen verkregen uit astma patiënten. Dit wil niet zeggen dat deze cellen niet veranderd zijn. Het blijkt dat de cellen een geprimeerd fenotype bezitten. Een respons van een cel is geprimeerd of geactiveerd wanneer deze respons niet is geactiveerd, maar verhoogd gevoelig is voor allerlei stimuli.

Tot op heden zijn er geen cellulaire markers bekend die geprimeerde cellen kunnen aantonen. Het is echter wel mogelijk priming functioneel aan te tonen door chemotaxie te bestuderen van cellen die worden geïsoleerd uit allergische patiënten en deze eosinofiele granulocyten te vergelijken met cellen afkomstig uit niet allergische controle personen. Zoals beschreven in figuur 3A blijkt dat eosinofiele granulocyten van normale personen slechts reageren op platelet-activating factor bij hoge concentraties PAF ($>10^{-8}$ M). Echter cellen geïsoleerd uit patiënten met allergisch astma reageren reeds bij erg lage concentraties PAF $\approx 10^{-11}$ M (figuur 3B). Dit is een duidelijke aanwijzing dat PAF geïnduceerde chemotaxie van eosinofiele granulocyten duidelijk geprimeerd is in patiënten met allergisch astma. Deze priming kan in vitro worden nagebootst door de cellen te preincuberen met cytokinen zoals IL-3, IL-5 en GM-CSF (figuur 3A). Dit is een eerste aanwijzing dat het eosinofiele compartiment in het perifere bloed van allergisch astma patiënten wel degelijk veranderd/geprimeerd is zonder dat er sprake is van activatie van de cellen. Deze priming zorgt ervoor dat cellen gevoelig worden voor concentraties van ontstekingsmediatoren die gevonden kunnen worden in ontstekingshaarden.

Conclusies

In de humane immunologie kan de afweer door de eosinofiele granulocyt worden gezien als een tweesnijdend zwaard. Aan de ene kant is de eosinofiele granulocyt betrokken in de afweer tegen parasieten. Aan de andere kant, speelt deze cel een belangrijke rol in de pathogenese van allergische ziekten. De eosinofiele granulocyt is een belangrijke veroorzaker van weefsel schade ter plaatse van een allergische ontsteking via het uitscheiden van cytotoxische eiwitten en reactieve zuurstofmetabolieten. Bovendien is de cel duidelijk proinflammatoir, omdat eosinofiele granulocyten vele proinflammatoire cytokinen en groeifactoren kunnen produceren. Het zal duidelijk zijn dat antagonisme van de werking van de eosinofiele granulocyt een kansrijke therapie voor allergische ziekten kan zijn. Echter de afweer tegen parasieten kan in dat geval verlaagd zijn. In de westerse wereld zal waarschijnlijk de verlaagde afweer tegen parasieten van ondergeschikt belang zijn als dit wordt afgezet tegen de therapie kansen voor allergische ziekten.

Literatuur

- Gleich GJ, Adolphson CR. The eosinophilic leukocyte: structure and function. *Adv Immunol* 1986; 39: 177.
- Gleich GJ, Ottesen EA, Leiferman KM, Ackerman SJ. Eosinophils and human disease. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1989; 88: 59.
- Kroegel C, Virchow JC Jr, Luttman W, Walker C, Warner JA. Pulmonary immune cells in health and disease: the eosinophil leucocyte (Part I). *Eur Respir J* 1994; 7: 519.
- Kroegel C, Warner JA, Virchow JC Jr, Matthys H. Pulmonary immune cells in health and disease: the eosinophil leucocyte (Part II). *Eur Respir J* 1994; 7: 743.
- Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: Different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol* 1989; 7: 145.
- Resnick MB, Weller PF. Mechanisms of eosinophil recruitment. *Am J Res Cell Mol Biol* 1993; 8: 349.
- Silberstein DS, David JR. The regulation of human eosinophil function by cytokines. *Immunol* 1987; 8: 380.
- Warringa RAJ, Mengelers HJJ, Kuijper PHM, Raaijmakers JAM, Bruijnzeel PLB, Koenderman L. In vivo priming of platelet-activating factor induced eosinophil chemotaxis in allergic asthmatic individuals. *Blood* 1992; 79: 1836.

Summary

The eosinophilic granulocyte: structure and function. Koenderman L. Ned Tijdschr Klin Chem 1996; 21: 197-200.

Eosinophilic granulocytes are involved in the host defense against invading parasites. These cells can kill these microorganisms via different cytotoxic mechanisms. Eosinophils can extravasate and migrate to an inflammatory locus in response to chemotaxins. Subsequently, the cells can bind and can kill its targets by the release of cytotoxic proteins and the

production of toxic oxygen metabolites. Next to the host defense against parasites, the eosinophil is involved in the pathogenesis of allergic diseases such as allergic asthma, rhinitis and dermatitis. In these diseases the cell extravasates and becomes activated in response to allergens instead of parasites. The processes involved in extravasation and activation are discussed.

Keywords: Eosinophilic granulocyte; function; priming; structure

Ned Tijdschr Klin Chem 1996; 21: 200-206

Morfologie en functie van basofiele granulocyten

E.F. KNOL

De basofiele granulocyt is de minst voorkomende witte bloedcel. Slechts $\pm 0,5\%$ van de witte bloedcellen zijn basofiele granulocyten. De basofiel is een unieke cel in het perifere bloed vanwege de aanwezigheid van histamine in korrels en de expressie van grote hoeveelheden van de hoge avide Fc receptor voor immunoglobuline E (IgE) (Fc ϵ R-I) op de plasmamembraan. Net als de mestcel, die zich in de weefsels bevindt, maakt de basofiel histamine vrij wanneer allergenen, zoals huisstofmijt of graspollen, binden aan specifiek IgE dat heeft gebonden aan de Fc ϵ RI. Naast histamine kunnen de basofielen ook andere ontstekingsmediatoren, zoals leukotrienen C4 en verschillende cytokinen, zoals interleukine 4 vrijmaken na stimulatie. De basofielen bewegen vanuit de bloedbaan naar de allergisch aangedane weefsels toe. Zowel producten uit de basofiel als de basofielen zelf zijn aangetoond in de huid, neus en longen tijdens allergische ziektebeelden. De eigenschappen van basofiele granulocyten geven aan dat deze mogelijk een belangrijk celtype zijn bij allergische ziekteprocessen.

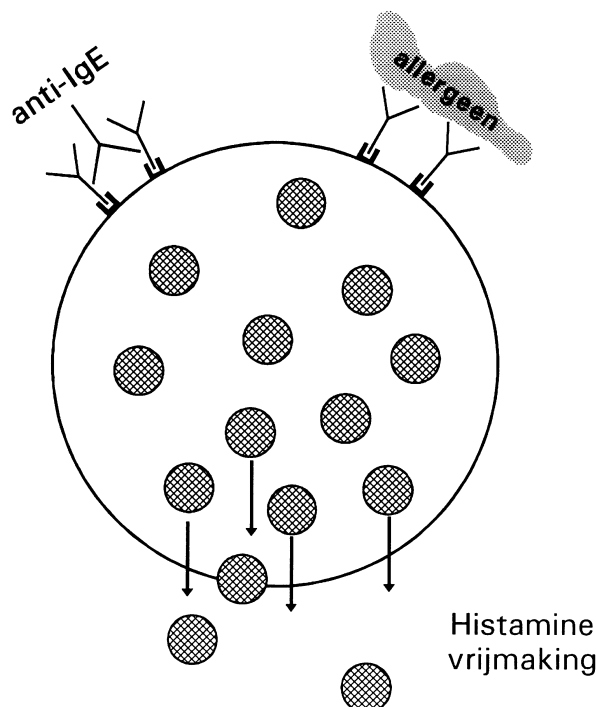
Trefwoorden: Basofielen; histamine vrijmaking; allergie; degranulatie

In 1879 werd door Paul Ehrlich een speciaal celtype in het bloed beschreven die korrels bevatte en na incubatie met een basische kleurstof een karakteristieke metachromatische kleuring te zien gaf. Deze eigenschappen gaven de naam aan deze cel: "basofiele granulocyt".

De leukocyten in het humane perifere bloed bestaan voor slechts ongeveer 0,5% uit basofiele granulocyten. Deze cellen synthetiseren en bevatten onste-

kingsmediatoren, zoals histamine en leukotrienen C4. Op de celmembraan van basofiele granulocyten bevinden zich receptoren die met hoge affiniteit het Fc gedeelte van het IgE binden (Fc ϵ R-I). Dit IgE kan specifiek zijn voor bepaalde allergenen, zoals graspollen of huisstofmijt. Wanneer een allergeen bindt aan het IgE en twee IgE moleculen met elkaar verbindt (crosslinkt) wordt de basofiel geactiveerd en kunnen opgeslagen, en nieuw gevormde, ontstekingsmediatoren worden vrijgemaakt (figuur 1).

Er zijn veel overeenkomsten tussen de basofiel en de mestcel. Mestcellen hebben ook histamine opgeslagen dat kan worden vrijgemaakt na aggregatie van IgE receptoren. Echter mestcellen bevinden zich in de



Figuur 1. Schema van de degranulatie van de basofiel. Allergeen of anti-IgE crosslinkt IgE gebonden aan de Fc ϵ R-I en de cel degranuleert. Tijdens de degranulatie komt histamine uit de korrels vrij dat allergische symptomen veroorzaakt.

Centraal Laboratorium van de Bloedtransfusiedienst van het Nederlandse Rode Kruis, en Laboratorium voor Experimentele en Klinische Immunologie, Universiteit van Amsterdam, Amsterdam

Correspondentie: E.F. Knol, CLB, Afdeling Stamcellaboratorium, Plesmanlaan 125, 1066 CX Amsterdam.