

Intraepitelyal Lenfositler

Dr. Hikmet ÇEVİK (1)

ÖZET

Gastrointestinal sistem mukozasında yer alan intraepitelyal lenfositler fonksiyonları tam anlaşılama- makla beraber immün sistem içinde özel bir yere sahiptir- ler.

Anahtar Kelime: Intraepitelyal Lenfositler.

SUMMARY

Intraepitelyal Lymphocytes

Although their functions are not understood well enough gastrointestinal system lymphocytes may have a very special place in human immune system.

Key Word: Intraepitelyal lymphocytes.

MORFOLOJİSİ

Bu hücreler epitel bölgesinde bazal laminanın üzerinde epitel hücrelerinin arasında yer alır. Şimdiye kadar epitel hücrelerinin içinde olduğu gösterilme- miştir. İEL çoğunlukla epitel hücrelerinin tabanında epitelial çekirdeğin altında bulunur (1).

Normal barsakta İEL orta büyüklüktedir (5-9 m çapında). Mitokondiri, lizozomal granüller, ribozomlar (hem tek-tek hem de poliribozomlar şeklinde), endo- plazmik reticulum ve küçük bir golgi cihazını içerir (1,2).

Çekirdek çok miktarda heterokromatin, az miktarda da eukromatin içerir.

Sıklıkla çekirdekçik de görülür. Sitoplazması bitişik olduğu epitel hücrelerinden daha az yoğundur ve plazma membranı boyunca endositik veziküller içerir.

İEL'in iltihabi durumlarda bitişik epitel hücreleri ile zayıf bağlantılar kuran sitoplazmik çıkıntıları mevcuttur. Normal barsakta İEL epitel hücreleri tarafından sarılmıştır, ancak elektron mikroskopi

çalışmalarında gösterildiği gibi bu hücrelerle desmo- zomlar ve sıkı bağlantılar yapmazlar (1).

İEL'de görülen granüllerin natüri İEL fonksiyon- larının tanımlanmasında rolü olduğu için çok tartışma konusu olmuştur. Rodent İEL 4'lerinde büyük granüller saptandığı ve bunların bir kısmının da hist- amin içerdiğinin gösterilmesi bunların mast hücre kökenli olabileceğini düşündürmüştür. Ancak insan- larda da böyle olduğunu gösteren sağlam kanıtlar yok- tur ve yapılan çalışmalar insan İEL granüllerinin küçük olduğunu göstermektedir (3). Bu granüller membrana bağlı lizozomlardır. Bu granüllerin lizo- zomal natürde olduğu 1965'te granüllerin asit fosfataz içerdiğinin gösterilmesiyle dokümanite edilmiştir. Ashında bunlara literatürde lizozom denmesi birçok tartışmayı ortadan kaldırabilir. Bu granüller Giemsa ve Wright ile boyanmış preparatlarda azurofilik özel- lik gösterirler ve alcian mavisi (pH 2.2) ile boyan- abilirler ve toludin mavisi (pH 4) ile metakromazi gös- terirler. Lenfositler myelomonositik seride mevcut olduğu gibi peroksidaz enzimini içermezler.

İncelenen hemen tüm hücre altgruplarının lizo- zomal granüller içerdiği gösterilmiştir. Cerf- Bensussanve ark. periferik kan lenfositleri ve İEL'i beraber inceledikleri çalışmalarında sitoplazmadaki granüller nedeniyle lenfositlerin sınıflandırılmıyacağı sonucuna varmıştır (4).

1975'te Guy-grand ve ark. sıçanda İEL'in büyük

(1) Eyüp SSK Hastanesi İç Hastalıkları Uzmanı

çoğunluğunun T hücreleri olduğunu gösterdi. 1976'da ise Meuwissen ve ark. bir anti-T hücre globulin kullanarak immünperoksidaz yöntemiyle insan kalın ve ince barsak İEL'inin çoğunluğunun T hücrelerinden oluştuğunu gösterdi (5).

Bu bulgular daha sonra birçok araştırma tarafından immünperoksidaz ve immünfloresan yöntemler kullanılarak tekrar tekrar gösterildi (3, 4, 6, 7, 8, 9).

Eldeki in vitro data İEL içindeki B lenfosit miktarının çok az olduğunu göstermekle birlikte daha fazla olduğunu iddia eden çalışmalar da mevcuttur (10, 11), ancak bu çalışmalarda fazla gözükmesinin sebebinin İEL'in izolasyonu sırasında lamina propria ve lenfoid folliküllerden kontaminasyon olduğu gösterilmiştir (12).

Makrofaj ve mast hücreleri epitelde nadiren bulunurlar. Polimorfonükleer lökositler ve eozinofiller ise inflamatuvar olaylar dışında hiç bulunmazlar (2).

IEL yukarıda da belirtildiği gibi hemen tamamı T hücrelerinden oluşur ve bunların da çok büyük kısmı T8 olduğu için MHC-II antijenlerini ekspres etmezler. Bu durum inflamasyonda da değişmez (6).

%80-90'ı T hücrelerinden oluşan İEL ancak %10-20'si helper-inducer fenotipi gösterir ve T4 markırları taşırlar (3, 4, 6-9). Lamina propriada ise T4 ve T8'ler karşılaştırıldığında T4'lerin daha çok olduğu görülür.

Epitelyal bölgede T4/T8 oranı 0.1 ± 0.3 şeklindedir ve bu oran hastalık halinde de değişmez (6, 13).

Çoğunluğu T8'lerden oluşan İEL beklendiği gibi MHC-1 antijeni taşırlar ve T hücre aktivasyon antijeni (Tac) taşımazlar (14). Nadiren Natural Killer (NK) hücre markırları taşırlar (HNK-1, LEU 7, LEU 11 gibi). İEL'in özellikle taşıdıkları granüller nedeniyle NK hücreleri olduğu doğrultusunda literatürde çok spekülasyon olmasına rağmen bu konuda yapılan in vitro çalışmalarda (ileride daha ayrıntılı anlatılacak) ne fonksiyon ve ne de yüzey markırları açısından bu tezi destekleyen sağlam kanıtlar mevcut değildir (3, 4, 8).

IEL'in sayımı için iki yöntem önerilmektedir: 1- IEL'in epitel hücre sayısına oranı (15), 2- "Areal Dansite" adı verilen IEL sayısının alttaki mükülaris mukoza uzunluğu ile belirlenen mukozal volüme oranı (16). Orneğin Çölyak Sprue hastalığında ilk yonteme ancak ikinci yonteme göre ise normale göre azaldığı gösterilmiştir. Belki de ikinci yöntem daha çok tüm mukoza katlarını tutan hastalıklarda tercih edilmelidir. Literatürde en sık kullanılan yöntem birinci yöntemdir.

Yukarıda birinci yonteme göre yapılan sayımlarda ince barsakta kalın barsağa oranla daha fazla sayıda İEL bulunur. IEL sayısı ince barsakta anti-t3 ile $12 \pm 5 / 100$ epitel hücresi (4), T11 ile $13 \pm 8.2/100$ epitel hücresi (6), hematoksilen eozin boyası ile proksimalde

$14.9 \pm 9/100$ epitel hücresi, distalde ise $20.5 \pm 10.7 / 100$ epitel hücresi (2), kalın barsakta ise anti-T11 ile $5.1 \pm 1.8 / 100$ epitel hücresi (6), hematoksilen eozin boyası ile $17 \pm 1.8 / 100$ epitel hücresi (10) olarak bulunmuştur.

İEL birçok bakımdan vücudun diğer bölgelerinde bulunan lenfositlerden farklıdır. İnsan barsak İEL'in hemen tamamının HML-1 olarak adlandırılan yüzey reseptörünü taşıdıkları ve bunun lamina propria dahil diğer doku veya periferik kan lenfositlerinde olmadığı gösterilmiştir. Ancak bu molekülün ne işe yaradığı henüz bilinmemektedir. Lenfosit trafiği ile ilgili olabileceği düşünülmüş ancak bloke edilmesinin homingi önlemediği görülmüştür (17, 18).

İnsanda T8 lenfositleri supresör ve sitotoksik olarak alt gruplarına ayırmak için kullanılan ve bir kısım NK ve K hücrelerini de tanıyan H366 yüzey markırı (19) kolon mukoza İEL'inde negatif bulunmuştur. Bu İEL'in sitotoksik olmaktan çok supressör olduklarını ve oral toleransta rolleri olabileceğini düşündürmektedir (20).

Normalde periferik kanda CD3 T lenfositlerin %95'inden fazlası T hücre reseptörü olarak alfa/beta zinciri taşır, %5'inden daha azı ise gama/delta T hücre reseptörü taşır ve bu hücreler de CD4, CD8(+) hücrelerdir. Düşük oranda bulunan bu hücrelerin fonksiyonu tam olarak bilinmemekle beraber sitotoksitede rollerinin olduğu düşünülmektedir. Yapılan hayvan deneylerinde fare barsak İEL'inin yaklaşık yarısının gama/delta T hücre reseptörü taşıdığı ve anti-CD3 monoklonal antikoları ile muamele edildiğinde sitolitik aktivite gösterdiği bulunmuştur (21).

Yine İEL uyarılmış ve bellek hücre ayırımında kullanılan CD45R/2H4 (uyarılmış) ve UCHL1 (bellek) markırlarıyla incelendiğinde bunların CD45R/2H4 taşımayıp yaklaşık %40 oranında UCHL1 pozitif olduğu bulunmuştur (22). Bu bulgu da barsak lümeninin çok değişik ve çok sayıda antijenle dolu olması nedeniyle buradaki lenfositlerin hazırlıklı olarak bekledikleri şeklinde yorumlanabilir (22).

İntraepitelyal Lenfositlerle Yapılan İn Vitro Çalışmalar

IEL dokudan değişik yöntemlerle izole edilip çeşitli işlemlere tabi tutulabilirler. Ancak in vitro sonuçlar in vivo hakkında fikir verebilmekle beraber hücreler değişik işlemlere tabi tutulduklarından in vivo özelliklerini yitirmiş olabilirler.

İzole edilen hücrelerde yapılan çalışmalarda daha önce de bahsedildiği gibi hücrelerin çoğunluğu T hücrelidir ve yine bunların da çoğunluğu TS alt grubundandır. İzole edilmiş İEL'in replikasyon hızları çok düşüktür. Değişik mitojenlere cevapları (fito-

hemaglutinin, pokeweed mitojen ve concanavalin A) ya yoktur, ya da çok azdır (23). Ortalama interlökin-1, IL-2, otolog periferik kan makrofajları veya sefaroza bağlı anti-CD3 antikörlerinin eklenmesi bu durumu değiştirmez. Ancak CD2 reseptörünün anti-T11-2 veya anti T11-3 gibi antikörlerle uyarılıp mitojenlerle muamele edilirse belirgin cevap alınır. Bu ortama koyun eritrositleri eklendiğinde de gözlenir. Yukarıdaki gözlemler periferik kan ve lamina propria lenfositleri ile karşılaştırıldığında elde edilen sonuçlardır ve IEL'in uyarılmak için konvansiyonel CD3 reseptörü yerine CD2'nin kullanılması diğer lenfositlerden önemli farkları olduğunu göstermektedir (24).

İEL NK aktivitesi göstermezler (4). İEL lamina propria lenfositleri gibi mitojenle stimüle edilince Chang hücrelerine karşı sitotoksiste görülmez (11). İzole edilmiş IEL kültürlerine gamainterferon, IL-e ve histamin veya protoglandin antagonistlerinin eklenmesine rağmen NK aktivitesi (K562 hücrelerine karşı) görülmez (3).

İEL pokeweed mitojenle stimüle edilen periferik kan lenfosit hücre kültürlerine eklendiğinde immüno-regülatör aktivite gösterir (12). İEL'in etkisi hem otolog hem de heterolog kültürlerde aynı etkiye sahiptir ve IgA ve IgM sentezini artırır. Ortama, artan miktarda İEL eklendiğinde bu artış yok olup yerini immüno-supresyona bırakır (12).

İEL'in spesifik fonksiyonlarının ne olduğu hala anlaşılammıştır. Çoğunluğu supressör fenotipik özellik gösteren T hücrelerinden oluşan IEL diğer supresör efektör hücreler gibi mitojen stimulasyonuna zayıf bir cevap verirler.

İnflamatuvar barsak hastalıklarının aksine Çölyak Sprue hastalığında, sut intoleransında, parazitik hastalıklarda ve graft versus host hastalığında İEL sayıları artmış bulunur. İntestinal immün cevap özellikle lamina propria lenfositleri esas alındığında bir helper cevabıdır. Elde yeterli veri olmamasına rağmen özellikle epitelyal "supressör" hücrelerin bu helper cevabını bozdukları kuvvetle düşünülmektedir.

Cerf-Bensussan ve ark. izole edilmiş sıçan İEL'iyle yaptıkları çalışmada IEL'in epitel hücrelerinin antijen ekspresyonunu artıran (muhtemelen gama-interferon) bir faktör sentezlediklerini gösterdiler (24). Bu bulgular IEL'in epitel hücrelerinin bazı fonksiyonlarını düzenleme işinde yer aldığını düşündürmektedir.

SONUÇ

SONUÇ olarak İEL özel bir grup T lenfosit olup daha çok supresör fenotip özellikler gösterirler ve aynı zamanda diğer T hücre antijenlerini de taşırlar. İEL HLA-DR ve Tac antijeni gibi aktivasyon antijenleri

taşımazlar yani uyarılmış değildir ve nonspesifik mitojenlere cevap vermezler. NK hücrelerine benzedikleri halde NK fenotipik özellikleri ve NK aktivitesi göstermezler.

Rodent İEL'i mast hücreleri ile benzerlik gösterirler ancak bu insan İEL'i için geçerli bir özellik değildir. İEL'in insanda immüno-regülatör fonksiyonları olabilir.

Bunu muhtemelen mukozada da (liman propia) eş zamanlı olarak helper cevabı oluşturan antijenlerin olduğu sistemik immün cevabı suprese ederek gerçekleştirirler.

Epiteldeki az sayıdaki helper hücreler de özellikle kolon epitel hücrelerinin MHC-II ekspresyonunun stimüle edildiği inflamasyon durumlarında supressör hücre fonksiyonlarına ek katkılar sağlıyor olabilirler (4, 6, 13).

KAYNAKLAR

- 1- **Toner PG, Ferguson A:** Intraepithelial cells in the human intestinal mucosa. *J Ultrastructure Res* 1971; 34: 329-344.
- 2- **Austin LE, Dobbins III WO:** Intraepithelial leukocytes of the intestinal mucosa in normal man and in Whipple's disease: a light and electromicroscopic study. *Dig Dis Sci* 1982; 27: 311-320.
- 3- **Cerf-Bensussan N:** Guy-Grand D, Grisscelli G. Intraepithelial lymphocytes of human gut: isolation, characterisation and study of naturel killer activity. *Gut* 1985; 26: 81-88.
- 4- **Cerf-Bensussan N, Schneeberger EE, Bhan AK:** Immunohistologic and immunoelectron microscopic characterisation of the mucosal lymphocytes of human small intestine by the use of monoclonal antibodies. *J Immunol* 1983; 130: 2615-2622.
- 5- **Meuwissen SGM, Feltkamp-Vroom TM, De La Riviera AB, Von Dem Borne AEGKR, Tygat GN:** Analysis of the lympho-plasmacytic infiltrate in Crohn's disease with special reference to identification of lymphocyte-subpopulations. *Gut* 1976; 17: 770-780.
- 6- **Hirata I, Berebbi G, Austin LL, Keren DF, Dobbins III WO:** Immunohistological characterisation of intraepithelial and lamina propria lymphocytes in control ileum and colon and in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 1986; 31: 593-603.
- 7- **Lyscom N, Bructo MJ:** Intraepithelial, lamina propria and Peyer's patch lymphocytes of the rat small intestine: isolation and characterisation in terms of immunoglobulin markers and receptors for monoclonal antibodies. *Immunology* 1981; 45:

775-783.

- 8- **Selby WS, Janossy G, Bofill M, Jewell DP:** Lymphocyte subpopulations in the human small intestine. The findings in normal mucosa of patients with adult coeliac disease *Clin Exp Immunol* 1983; 52: 219-228.
 - 9- **Selby WS, Janossy G, Goldstein G, Jewell DP:** T lymphocyte subsets in human intestinal mucosa: the distribution and relationship to MHC derived antigens. *Clin Exp Immunol* 1981; 44: 453-458.
 - 10- **Bartnik W, ReMine SG, Chiba M, Thayer WR, Shorter RG:** Isolation and characterisation of colonic intraepithelial and lamina propria lymphocytes. *Gastroenterology* 1980; 78: 976-985.
 - 11- **Chiba M, Bartnik W, ReMine SG, Thayer WR, Shorter RG:** Human colonic and lamina propria lymphocytes: cytotoxicity in vitro and the potential effects of the isolation method on their functional properties. *Gut* 1981; 22: 177-186.
 - 12- **Greenwood JH, Austin LL, Dobbins III WO:** In vitro characterisation of human intestinal intraepithelial lymphocytes. *Gastroenterology* 1983; 85: 1023-1035.
 - 13- **Selby WS, Janossy G, Bofill M, Jewell DP:** Intestinal lymphocytes subpopulations in inflammatory bowel disease: an analysis by immunohistological and cell isolation techniques. *Gut* 1984; 25: 32-40.
 - 14- **Selby WS, Janossy G, Jewell DP:** Immunohistological characterisation of intraepithelial lymphocytes of the human gastrointestinal tract. *Gut* 1981; 22: 169-176.
 - 15- **Ferguson A, Murray D:** Quantitation of intraepithelial lymphocytes in human jejunum. *Gut* 1971; 12: 988-994.
 - 16- **Marsh MN:** Studies of intestinal lymphoid tissue. Quantitative analysis of epithelial lymphocytes in the small intestine of human control subjects and of patients with coeliac sprue. *Gastroenterology* 1980; 79: 481-492.
 - 17- **Cerf-Bensussan N, Jarry A, Brousse N, Lisowska-Grospierre B., Giscellic, Guygrand D:** Monoclonal antibodies for human and rat intestinal lymphocytes. *Adv. Exp Med Biol* 1987; 216A: 483-491.
 - 18- **Cerf-Bensussan N, Jarry A, Brousse N, Lisowska-Grospierre B, Guy-Grand D, Griscelli D:** A monoclonal antibody (HML-1) defining a novel membrane molecule present on human intestinal lymphocytes. *Eur J Immunol* 1987; 17: 1279-1285.
 - 19- **Al-Sakkaf L, Pozilli P, Sensi M, Inwing WI, Botazzo GF:** A cell surface monoclonal antibody (H366) helps to discriminate human cytotoxic from suppressor T cells. *Clin Exp Immunol* 1985; 62: 594-599.
 - 20- **Trejdosiowics LK, Malizia G, Badr-El-din S, Smart CJ, Oakes DJ, Southgate J and et al:** T cell and mononuclear phagocyte populations of the human small and large intestine. *Adv Exp Med Biol* 1987; 216A:465-473.
 - 21- **Goodman T Lefrançois L:** Expression of the gamma-delta T cell receptor on intestinal CD8 intraepithelial lymphocytes. *Nature* 1988; 333: 855-858.
 - 22- **Brandtzaeg P, Bosnes V, Halstensen TS, Scott H, Sollid LM, Valnes KN:** T lymphocytes in human gut epithelium preferentially express the alpha/beta antigen receptor and are often CD45/UCHL1- positive. *Scand J Immunol* 1989; 30: 123-128.
 - 23- **Smart CJ, Trejdosiowics LK, Badr-el-din S, Heathley RV:** T lymphocytes of the human colonic mucosa: functional and phenotypic analysis. *Clin Exp Immunol* 1988; 73: 63-69.
 - 24- **Cerf-Bensussan N, Quaroni N, Kurnick JT, Bhan AK:** Intraepithelial lymphocytes modulates Ia expression by intestinal epithelial cells. *J Immunol* 1985; 132: 2244-2252.
-