



3D-huidmodellen van filaggrinedeficiënte keratinocyten hebben een normale huidbarrièrefunctie

H. Niehues

*Radboud university medical center, Radboud
Institute for Molecular Life Sciences, Department of
Dermatology, Nijmegen*

Correspondentieadres:

Hanna Niehues

E-mail: Hanna.Niehues@radboudumc.nl

SAMENVATTING

Eerder is aangetoond dat zogenoemde *loss-of-function*-mutaties in het filaggrinegen leiden tot het ontstaan van ichthyosis vulgaris en bovendien het risico verhogen voor het ontstaan van eczeem. Hoewel deze ontdekkingen al meer dan tien jaar geleden zijn gedaan was tot heden niet bekend hoe deze genmutatie leidt tot ziekte. Eén van de typische kenmerken van eczeem is de verminderde huidbarrièrefunctie, in zowel de aangedane als de niet aangedane huid. Een algemeen geaccepteerd dogma, waarvoor echter nog geen goed bewijs bestond, was dan ook dat deze verstoorde huidbarrière wordt veroorzaakt door de filaggrinemutaties. Wij hebben gebruikgemaakt van volledig filaggrinedeficiënte primaire keratinocyten afkomstig van ichthyosis-vulgarispatiënten. In 3D-huidmodellen, gemaakt van deze patiëntencellen, hebben wij onderzocht of er veranderingen zijn in de morfologie en expressie van epidermale differentiatie-eiwitten. Verder hebben wij geanalyseerd of er veranderingen zijn in de huidbarrièrefunctie van deze 3D-huidmodellen in vergelijking met 3D-huidmodellen gemaakt van normale 'gezonde' cellen. We vonden dat het missen van filaggrine op zichzelf geen enkel typisch eczeemkenmerk tot gevolg had, met betrekking tot de morfologie en functie van de epidermis. We vonden echter dat door het gemis van filaggrine de samenstelling van het huidmicrobioom, oftewel de populatie micro-organismen die voorkomt op onze huid verandert. Het bleek dat bepaalde bacteriën, de

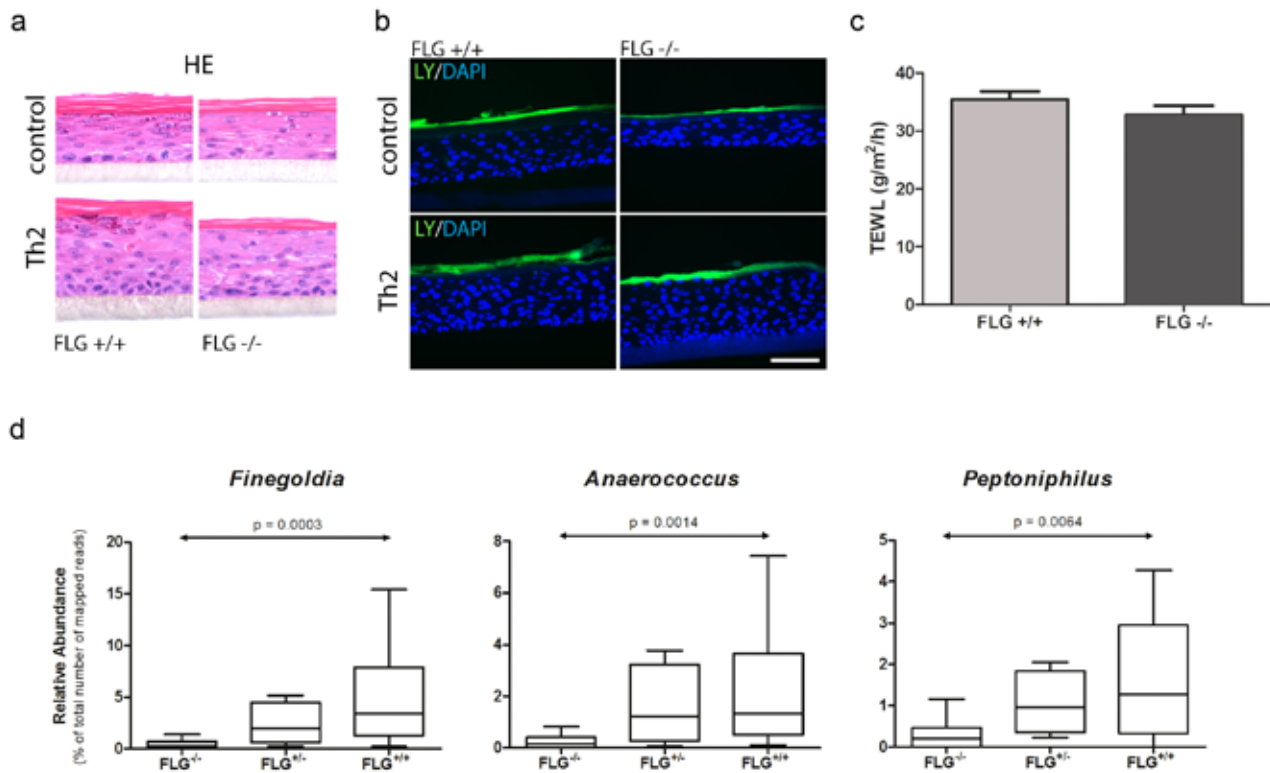
zogenoemde grampositieve anaerobe cocci (GPAC), verminderd voorkomen op de huid van ichthyosis-vulgarispatiënten die drager zijn van homozygote filaggrinemutaties, in vergelijking met de bacteriële samenstelling van gezonde vrijwilligers. Van deze GPAC-bacteriën is bekend dat zij afbraakproducten van onder andere filaggrine gebruiken als voedingsbron. Verder vonden wij dat deze bacteriën in staat zijn om keratinocyten aan te zetten tot een snelle afweerreactie, namelijk het aanmaken van antimicrobiële huideiwitten. Mogelijk draagt dit bij aan het verhoogde risico op eczeem en kolonisatie van huidpathogenen, zoals *Staphylococcus aureus*, voor dragers van filaggrinemutaties.

SUMMARY

Epidermal equivalents of filaggrin null keratinocytes do not show impaired skin barrier function. Loss-of-function mutations of the filaggrin gene were shown to be causative for the development of ichthyosis vulgaris and a predisposing factor for atopic dermatitis (AD). Although this gene mutation was discovered about ten years ago, its exact mechanism leading to disease remained unknown. One of the hallmarks of atopic dermatitis is the impaired skin barrier function in lesional but also non-lesional skin. A widely accepted idea, or even dogma, was that filaggrin mutations might be the underlying factor for this phenomenon, although conclusive evidence was lacking. We have tested genetically defined, completely filaggrin-deficient primary keratinocytes of ichthyosis vulgaris patients in our 3D epidermal equivalent model. We investigated epidermal stratification and differentiation and the expression of epidermal barrier proteins. In addition, we analysed if there were any alterations in barrier function compared to filaggrin wild type keratinocytes. Intriguingly, we found that the loss of filaggrin alone does not relate to any of the keratinocyte-dependent hallmarks of atopic dermatitis. However,

using microbiome analysis, we have shown that loss of filaggrin protein causes significant alterations of the skin microbiome composition. Gram-positive anaerobic cocci, bacteria that feed on filaggrin breakdown products, were less abundant in filaggrin-deficient patients compared to healthy controls. Moreover, we found that these bacteria are able to

quickly induce antimicrobial peptides in keratinocytes. Together, we showed that the loss of filaggrin can influence the human microbiome and that this might lead to alterations in epidermal host defense, which, speculatively could contribute to the link between filaggrin deficiency and AD prevalence.



Figuur 1. De invloed van filaggrine (FLG)-nulmutaties op epidermale ontwikkeling, barrièrefunctie en huidmicrobioom. 3D-huidmodellen van wildtype (FLG+/+) of FLG-deficiënte (FLG-/-) keratinocyten hebben een (a) normale morfologie en Th2 respons, (b) een vergelijkbare barrièrefunctie tegen Lucifer yellow (LY) en (c) een vergelijkbare mate van transepidermaal waterverlies (TEWL). (d) Microbioomanalyse van FLG-deficiënte huid laat zien dat de afwezigheid van filaggrine leidt tot een verminderde colonisatie met grampositieve anaerobe cocci (GPACs).

Figure 1. Impact of filaggrin null mutations on epidermal morphology, barrier function and skin microbiome. 3D epidermal equivalents of wild type (FLG+/+) of FLG deficient (FLG-/-) keratinocytes show (a) normal morphology and response to AD-related Th2 cytokines, (b) an equal barrier against Lucifer yellow (LY) and (c) equal trans-epidermal water loss. (d) Microbiome analysis of FLG deficient skin shows lower amounts of Gram-positive anaerobic cocci (GPACs) compared to FLG wild type skin.