



Doctoral Thesis

Role of immune cells and environmental influences in a genetic mouse model of chronic skin inflammation

Author(s):

Sulcova, Jitka

Publication Date:

2015

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010453608> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH NO. 22708

**ROLE OF IMMUNE CELLS AND
ENVIRONMENTAL INFLUENCES IN A GENETIC
MOUSE MODEL OF CHRONIC SKIN
INFLAMMATION**

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

JITKA SULCOVA

Mgr., Charles University in Prague, Czech Republic

born on 03.01.1986
citizen of Czech Republic

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Sabine Werner, examiner
Prof. Dr. Christoph Müller, co-examiner
Prof. Dr. Manfred Kopf, co-examiner
Dr. Hans-Dietmar Beer, co-examiner

2015

Summary

The skin, as the outer surface of our body, not only protects against external challenges, such as allergens, irritants and pathogens, but also prevents excessive water loss. Therefore, maintenance of its integrity is crucial for the organism's homeostasis. The above-mentioned insults, genetic or epigenetic alterations in genes that are expressed in keratinocytes, or immune system dysregulation can lead to skin damage, disruption of its barrier function and subsequent development of acute or chronic inflammation as seen in the human skin disease Atopic Dermatitis (AD). Even though AD is a common disease, the contribution of different immune cells to its development and phenotype progression as well as the effect of environmental influences on disease severity are still largely unknown.

Our laboratory previously demonstrated an important role of fibroblast growth factor (Fgf) signaling in the maintenance of skin homeostasis. Thus, mice lacking Fgf receptors 1 and 2 in keratinocytes (designated K5-R1/R2 mice) develop chronic dermatitis with similarities to AD. These similarities include a defect in barrier function, increased transepidermal water loss, dry skin, keratinocyte hyperproliferation, acanthosis, increased numbers of immune cells in the skin and upregulation of pro-inflammatory cytokines. Due to important anatomical differences between mouse and human skin, mouse models cannot fully mimic human skin diseases. However, the remarkable similarities between the phenotype of K5-R1/R2 mice and the abnormalities seen in AD patients make K5-R1/R2 mice a valuable animal model to address various aspects of AD pathogenesis. Therefore, we used these mice to study the effect of different immune cells and of environmental influences on development and progression of chronic skin inflammation.

In the first part of my thesis I demonstrated that numbers and activation of two innate immune cell types, mast cells and $\gamma\delta$ T cells, significantly increase in K5-R1/R2 mice prior to the development of the phenotype. Activated mast cells and $\gamma\delta$ T cells are able to quickly release large quantities of cytokines, thereby providing a rapid antimicrobial host defense. In addition, they are involved in the control of the following acquired immune response. Therefore, the early accumulation and activation of these cells suggested that they actively contribute to the chronic inflammation in K5-R1/R2 mice. However, the analysis of triple deficient mice lacking Fgfr1, Fgfr2 and mast cells/ $\gamma\delta$ T cells showed that neither mast cells nor $\gamma\delta$ T cells contribute to the development of the AD-like phenotype in K5-R1/R2 mice and its aggravation during aging.

While loss of these immune cells did not affect the dermatitis phenotype, an increase in humidity rapidly and efficiently reduced the cutaneous abnormalities in K5-R1/R2 mice. This effect was observed in young mice as well as in aged mice, suggesting that the development and progression of the phenotype can be prevented and even at least partially reverted by an increase in humidity. Quantitative proteomics using isolated epidermis from K5-R1/R2 and control mice kept at low or high humidity allowed the identification of proteins, which are regulated in the epidermis by Fgfr signaling or by humidity. Interestingly, expression/abundance of several genes/proteins that are abnormally expressed in AD patients was influenced by high humidity. This provides a mechanistic explanation for the beneficial effect of humidity on AD development and progression. Finally, some of the identified proteins may be novel targets for future therapeutic intervention.

Zusammenfassung

Die Haut ist die äusserste Schicht unseres Körpers und schützt nicht nur vor Umwelteinflüssen wie Allergenen und Pathogenen, sondern verhindert auch übermässigen Wasserverlust. Deshalb ist die Aufrechterhaltung ihrer Funktion essentiell für die Homöostase des Organismus. Die oben genannten Umwelteinflüsse, genetische oder epigenetische Veränderungen an Genen, die in Keratinozyten exprimiert sind, oder auch Fehlregulationen des Immunsystems können zu Hautschäden, Störungen der Barrierefunktion und daraus folgenden akuten oder chronischen Entzündungen wie Atopischer Dermatitis (AD) führen. Obwohl AD eine häufige Erkrankung ist, ist noch weitgehend unbekannt, in wie weit verschiedene Immunzellen zur Entstehung und Ausprägung des Krankheitsbilds beitragen und auf welche Weise Umwelteinflüsse die Schwere der Erkrankung beeinflussen.

Unser Labor hat vor kurzem eine wichtige Rolle der Fibroblasten-Wachstumsfaktoren (Fgfs) bei der Aufrechterhaltung der Haut-Homöostase entdeckt. Mäuse, denen die Fgf-Rezeptoren 1 und 2 in Keratinozyten fehlen (K5-R1/R2 Mäuse), entwickeln eine chronische Dermatitis, die Parallelen zu AD aufweist. Diese Parallelen reichen von einem Barrieredefekt, erhöhtem transepidermalen Wasserverlust, trockener Haut, Keratinozyten-Hyperproliferation, Akanthose und einer erhöhten Anzahl von Immunzellen, bis zur erhöhten Expression von entzündungsfördernden Zytokinen. Da es zwischen der Haut von Mäusen und Menschen offensichtliche anatomische Unterschiede gibt, können Mausmodelle nicht alle Aspekte menschlicher Hauterkrankungen widerspiegeln. Angesichts der bemerkenswerten Ähnlichkeiten zwischen dem Phänotyp unserer K5-R1/R2 Mäuse und den Hautveränderungen bei AD Patienten sind die K5-R1/R2 Mäuse jedoch ein wertvolles Tiermodell, um die Mechanismen der Pathogenese von AD zu untersuchen. Deshalb haben wir diese Mäuse verwendet, um den Einfluss verschiedener Immunzellen und von Umweltfaktoren auf die Entwicklung und Progression einer chronischen Entzündung der Haut zu untersuchen.

Im ersten Teil meiner Arbeit konnte ich zeigen, dass die Anzahl und Aktivierung von zwei zum angeborenen Immunsystem gehörenden Zelltypen, den Mastzellen und $\gamma\delta$ T-Zellen, in K5-R1/R2 Mäusen signifikant zunimmt, bevor sich der Phänotyp entwickelt. Aktivierte Mastzellen und $\gamma\delta$ T-Zellen können nach Aktivierung rasch grosse Mengen an Zytokinen freisetzen, wodurch sie eine schnelle antimikrobielle Wirkung zeigen. Zusätzlich sind diese Zellen auch für die darauffolgende erworbene Immunantwort von Bedeutung. Deshalb

deutete die frühe Akkumulation und Aktivierung dieser Zellen darauf hin, dass sie massgeblich an der chronischen Entzündung in den K5-R1/R2 Mäusen beteiligt sind. Die Generierung und Analyse von tripel-defizienten Mäusen (Verlust von Fgf-Rezeptor 1, Fgf-Rezeptor 2 und Mastzellen / $\gamma\delta$ T-Zellen) zeigte jedoch, dass weder Mastzellen noch $\gamma\delta$ T-Zellen zur Entstehung und Entwicklung des AD-ähnlichen Phänotyps in den K5-R1/R2 Mäusen beitragen.

Während der Verlust dieser Immunzellen den AD Phänotyp nicht veränderte, kam es nach Erhöhung der Luftfeuchtigkeit zu einer raschen und effizienten Reduktion der Hautveränderungen in K5-R1/R2 Mäusen. Dieser Effekt war sowohl in jungen wie auch in alten Mäusen zu beobachten, was darauf hindeutet, dass die Entstehung und Entwicklung des Phänotyps durch eine Erhöhung der Luftfeuchtigkeit verhindert und sogar teilweise rückgängig gemacht werden kann. Quantitative Proteomanalysen von isolierter Epidermis von K5-R1/R2 und Kontroll-Mäusen, die in niedriger oder hoher Luftfeuchtigkeit gehalten wurden, führten zur Identifizierung von Proteinen, die durch den Fgf-Rezeptor Signalweg oder durch Luftfeuchtigkeit reguliert werden. Interessanterweise konnten wir zeigen, dass in K5-R1/R2 Mäusen die Expression verschiedener Gene oder Proteine, die auch in AD Patienten abnormal exprimiert werden, durch hohe Luftfeuchtigkeit beeinflusst wird. Dies liefert eine mechanistische Erklärung für die vorteilhafte Wirkung von hoher Luftfeuchtigkeit auf die Auslösung und Ausprägung des AD-Krankheitsbildes. Einige der identifizierten Proteine könnten zudem wichtige Angriffspunkte für die Entwicklung neuer Therapeutika zur Behandlung von AD darstellen.