

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.134.40>

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ПАТОГЕНЕЗА АКНЕ ТЯЖЕЛОЙ СТЕПЕНИ

Научная статья

Демина О.М.^{1,*}¹ORCID : 0000-0001-9406-2787;¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (demina.om[at]mail.ru)

Аннотация

Последние достижения в исследовании патогенеза акне установили, что иммунологические факторы играют важную роль. Подтвержден факт того, что воспаление предшествует гиперкератинизации при ранних поражениях акне. Имеются сведения, что при акне происходят значительные изменения в профиле цитокинов, производных моноцитов, что проявляется повышением уровней IL-1 и IL-12 в сыворотке крови на фоне снижения IL-10, что отражает увеличение провоспалительных цитокинов и снижение противовоспалительных цитокинов. В настоящее время механизм активации воспалительной реакции при акне еще не до конца ясен. При этом роль IL2 и семейства IL12 в патогенезе акне до конца не установлена.

Цель: изучить роль IL-2, IL-12 (p40), IL-12 (p70), IL-27 (p28), IL-35 в патогенезе акне тяжелой степени тяжести.

Материалы и методы. В период 2020-2023 гг. проведено проспективное открытое нерандомизированное одноцентровое сравнительное исследование. Под нашим наблюдением на кафедре кожных болезней и косметологии ФДПО ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России находились 77 человек в возрасте от 16 до 44 лет (медиана – 23,5 [10,7; 25,9] год). Все исследуемые разделены на 2 группы: основная – 57 пациентов (23 мужчины и 34 женщины) с акне тяжелого течения в возрасте от 16 до 44 лет (медиана – 23,2 [11,5; 26,6] года). Группа контроля – 20 условно здоровых лиц (13 мужчин и 7 женщин) от 17 до 40 лет (медиана – 20,2 [10,1; 24,2] года). Иммунологические исследования концентрации цитокинов IL-2, IL-12 (p40), IL-12 (p70), IL-27 (p28), IL-35 проведены всем исследуемым лицам с помощью мультиплексной системы Bio-Plex по технологии Luminex xMAP с применением набора Bio-Plex Pro™ Human Treg Cytokine Panel, 12-Plex (Bio-Rad Laboratories, США). Обработка проведена в программном обеспечении FlowCytomixPro 3.0 («Bender Medsystems», Австрия). Автоматизированный анализ Bio-Plex 200 System проводили программной Luminex xPONENT. Статистически значимыми различия считали при $p < 0,05$.

Результаты. Содержание провоспалительных цитокинов IL-2, IL-12 (p40), IL-12 (p70) достоверно превышало показатели контрольных значений ($p < 0,05$). При этом концентрация противовоспалительных цитокинов не имела достоверно значимого отличия от контрольных показателей, однако IL-27 (p28) имел тенденцию к повышению, а IL-35 – к снижению ($p > 0,05$).

Закключение. Таким образом, полученные нами данные указывают на избыточный синтез провоспалительных цитокинов на фоне нарушения секреции противовоспалительных при тяжелом течении акне. В итоге это нарушение проявляется в недостаточности ингибирующего влияния на воспалительную реакцию при акне, что является одним из механизмов торпидного хронического течения дерматоза.

Ключевые слова: акне, цитокины, воспаление.

IMMUNOLOGICAL FACTORS IN THE PATHOGENESIS OF SEVERE ACNE

Research article

Demina O.M.^{1,*}¹ORCID : 0000-0001-9406-2787;¹ Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russian Federation

* Corresponding author (demina.om[at]mail.ru)

Abstract

Recent advances in the study of acne pathogenesis have established that immunological factors play an important role. It is confirmed that inflammation precedes hyperkeratinisation in early acne lesions. There is evidence that in acne there are significant changes in the profile of monocyte-derived cytokines, manifested by increased serum levels of IL-1 and IL-12 against a background of decreased IL-10, reflecting an increase in pro-inflammatory cytokines and a decrease in anti-inflammatory cytokines. At present, the mechanism of activation of the inflammatory response in acne is still not completely clear. The role of IL2 and IL12 family in the pathogenesis of acne has not been fully established.

Aim: To study the role of IL-2, IL-12 (p40), IL-12 (p70), IL-27 (p28), IL-35 in the pathogenesis of severe acne.

Materials and Methods. A prospective open non-randomised open one-centre comparative study was conducted in the period 2020-2023. We monitored 77 people aged 16 to 44 years (median – 23.5 [10.7; 25.9] years) at the Department of Skin Diseases and Cosmetology, FSAEI HE N.I. Pirogov RNRMU, Ministry of Health of Russia. All subjects were divided into 2 groups: the main group – 57 patients (23 men and 34 women) with severe acne at the age of 16 to 44 years (median – 23.2 [11.5; 26.6] years). Control group – 20 conditionally healthy individuals (13 men and 7 women) from 17 to 40 years of age (median – 20.2 [10.1; 24.2] years). Immunological studies of IL-2, IL-12 (p40), IL-12 (p70), IL-27 (p28), IL-35 cytokine concentrations were carried out in all investigated individuals using Bio-Plex multiplex system by Luminex xMAP technology

with Bio-Plex Pro™ Human Treg Cytokine Panel, 12-Plex kit (Bio-Rad Laboratories, USA). Processing was performed in FlowCytomixPro 3.0 software (Bender Medsystems, Austria). Automated analysis of Bio-Plex 200 System was carried out by Luminex xPONENT software. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

Results. The content of proinflammatory cytokines IL-2, IL-12 (p40), IL-12 (p70) was significantly higher than the control values ($p < 0.05$). At the same time, the concentration of anti-inflammatory cytokines had no significant difference from the control values, but IL-27 (p28) tended to increase and IL-35 - to decrease ($p > 0.05$).

Conclusion. Thus, our obtained data suggest an excessive synthesis of proinflammatory cytokines against the background of impaired secretion of anti-inflammatory cytokines in severe acne. As a result, this violation is manifested in the insufficiency of inhibitory influence on the inflammatory reaction in acne, which is one of the mechanisms of torpid chronic course of dermatosis.

Keywords: acne, cytokines, inflammation.

Введение

Последние достижения в исследовании патогенеза акне установили, что иммунологические факторы играют важную роль. На сегодняшний день патогенез акне включает четыре основных фактора: андроген-зависимый себогенез, гиперкератинизация инфундибулума, колонизация *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) и воспаление. Показано, что при ранних поражениях акне происходит инфильтрация тканей вокруг сально-волосяного фолликула CD4+ лимфоцитами, в микрокомедонах наблюдаются макрофаги, клетки CD3+ и CD4+ и также активация молекул сосудистой адгезии, E-селектина и интегрина. Подтвержден факт того, что воспаление предшествует гиперкератинизации при ранних поражениях акне. Кроме того, *C. acnes* во внутрифолликулярных протоках и сальных железах при акне стимулируют клетки Лангерганса, инфундибулярные кератиноциты и себоциты через Toll-подобный рецептор 2 (TLR2), что приводит к выработке интерлейкина IL-12, IL-8, IL-6, интерферона- γ (IFN γ) и фактора некроза опухоли альфа (TNF α) [1], [2], [3].

Впоследствии образуются воспалительные поражения, такие как папулы и пустулы. Кроме того, клетки Th1 преимущественно наблюдаются в фолликулах акне. *C. acnes* активирует белок-активатор 1 (AP1) и ядерный фактор (NF)- κ B, в результате чего образуются матриксные металлопротеиназы (MMP), TNF α , IL-1 β и IL-8. Кроме того, IL-17, IL-23 и TNF α высоко экспрессируются при поражениях акне. Макрофаги TLR2(+) и клетки IL-17 также присутствуют в поражениях акне. Впоследствии MMP способствуют деградации и фрагментации коллагена, а TNF α , IL-1 β , IL-8 и MMP привлекают нейтрофилы, что приводит к разрыву волосяных фолликулов и обширному воспалению. Также установлено участие в воспалительном процессе при акне PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor). На поздних стадиях акне в атрофических рубцах преобладают Т-клетки памяти, плазматические клетки и В-клетки. *C. acnes* продуцирует липазу, гиалуронидазу и протеазу, которые могут разрушать стенки фолликулов, вызывая гранулемы инородного тела, гипертрофические рубцы и келоиды [4], [5], [6], [7].

Акне также может считаться аутовоспалительным заболеванием, так как оно может быть связано с синдромами, включая фульминантные акне; синовит, акне, пустулез, гиперостоз, синдром остеоита (SAPHO); гангренозный артрит, гангренозная пиодермия, синдром акне (PAPA); и гангренозная пиодермия, акне, синдром гнойного гидраденита (PASH). Также акне ассоциировано с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ), метаболическими заболеваниями кожи с резистентностью к инсулину и эндокринологическими нарушениями с избыточной выработкой андрогенов. Инфламмосомы участвуют в патогенезе акне. Эти врожденные рецепторы и датчики иммунной системы связаны с дифференцировкой IL-1 β , TNF α и Th17. IL-6 и IL-8 также участвуют в патогенезе акне [8], [9].

Имеются сведения, что при акне происходят значительные изменения в профиле цитокинов, производных моноцитов, что проявляется повышением уровней IL-1 и IL-12 в сыворотке крови на фоне снижения IL-10, что отражает увеличение провоспалительных цитокинов и снижение противовоспалительных цитокинов [10].

IL-2 является фактором для проявления супрессии Treg (CD4+, Foxp3+, CD25+, CD127). При этом недостаток IL-2 или отсутствие взаимодействия с IL2RA вызывает дефицит Treg, что ведет к развитию аутоиммунных процессов и апоптозу клеток [11], [12].

Семейство интерлейкина-12 (IL-12) включает единственные гетеродимерные цитокины, опосредующие разнообразные функциональные эффекты.

Среди широкого спектра цитокинов семейство интерлейкина 12 (IL-12) обладает уникальными структурными, функциональными и иммунологическими характеристиками, которые сделали это семейство важными иммунологическими игроками. Из-за важности гетеродимерных цитокинов IL-12 при микробных инфекциях, аутоиммунных заболеваниях и раке авторы этой литературы обсуждают общие характеристики членов семейства IL-12, взаимодействия между цитокинами IL-12 и патогенными микроорганизмами, рецепторы интерлейкинов и их стратегии выбора различных сигнальных путей. IL-12 и IL-23 сходны по субъединицам p40, и оба участвуют в провоспалительных реакциях, в то время как IL-27 и IL-35 способствуют противовоспалительной активности; однако IL-27 также участвует в провоспалительных реакциях. Среди членов семейства IL-12 есть некоторые сходства и различия, которые делают их уникальным связующим звеном между врожденной и адаптивной иммунными системами. Известно, что субъединица p40 секретируется дендритными клетками, макрофагами/моноцитами, микроглией, клетками костного мозга, и кератиноцитами. Показано, что имеется бимодальный ответ IL-12p70 на стимуляцию липополисахаридами (LPS) у здоровых доноров. Кроме того, интерферон β (IFN β) является основным фактором, определяющим продукцию IL-12p70, который также связан с количеством и активацией циркулирующих моноцитов [12], [13], [14].

Таким образом, в настоящее время механизм активации воспалительной реакции при акне еще не до конца ясен. При этом роль IL-2 и семейства IL-12 в патогенезе акне до конца не установлена.

Методы и принципы исследования

Цель: изучить роль IL-2, IL-12 (p40), IL-12 (p70), IL-27 (p28), IL-35 в патогенезе акне тяжелой степени тяжести.

Для достижения поставленной цели в период 2020-2023 гг. проведено проспективное открытое нерандомизированное одноцентровое сравнительное исследование. Под нашим наблюдением на кафедре кожных болезней и косметологии ФДПО ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России находились 77 человек в возрасте от 16 до 44 лет (медиана – 23,5 [10,7; 25,9] год). Размер выборки предварительно не рассчитывали. Исследование выполнено с информированного согласия всех пациентов, включенных в исследование, и одобрено этическим комитетом ФГАОУ ВО РНИМУ МЗ РФ в соответствии с Хельсинкской декларацией. Все исследуемые разделены на 2 группы, сопоставимые по половозрастным характеристикам ($p < 0,05$). Основная группа – 57 пациентов (23 мужчины и 34 женщины) с акне тяжелого течения в возрасте от 16 до 44 лет (медиана – 23,2 [11,5; 26,6] года). Группа контроля – 20 условно здоровых лиц (13 мужчин и 7 женщин) от 17 до 40 лет (медиана – 20,2 [10,1; 24,2] года). Таким образом, основная группа и группа сравнения были сопоставимы.

Иммунологические исследования концентрации цитокинов IL-2, IL-12 (p40), IL-12 (p70), IL-27 (p28), IL-35 проведены всем 57 пациентам основной и 20 условно здоровым лицам группы сравнения в сыворотке крови с помощью мультиплексной системы Bio-Plex по технологии Luminex xMAP с применением набора Bio-Plex Pro™ Human Treg Cytokine Panel, 12-Plex (Bio-Rad Laboratories, США). Обработку цитометрических файлов осуществляли в программном обеспечении FlowCytomixPro 3.0 («Bender Medsystems», Австрия). Автоматизированный анализ Bio-Plex 200 System проводили программной Luminex xPONENT. Статистически значимыми различия считали при $p < 0,05$.

Основные результаты

Анализ содержания изученных цитокинов семейства IL-2, IL-12 (p40), IL-12 (p70), IL-27 (p28), IL-35 представлены на рис. 1-5. Анализ данных (рис. 1-5) показал, что содержание провоспалительных цитокинов IL-2, IL-12 (p40), IL-12 (p70) достоверно превышало показатели контрольных значений ($p < 0,05$). При этом концентрация противовоспалительных цитокинов не имела достоверно значимого отличия от контрольных показателей, однако IL-27 (p28) имел тенденцию к повышению, а IL-35 – к снижению ($p > 0,05$).

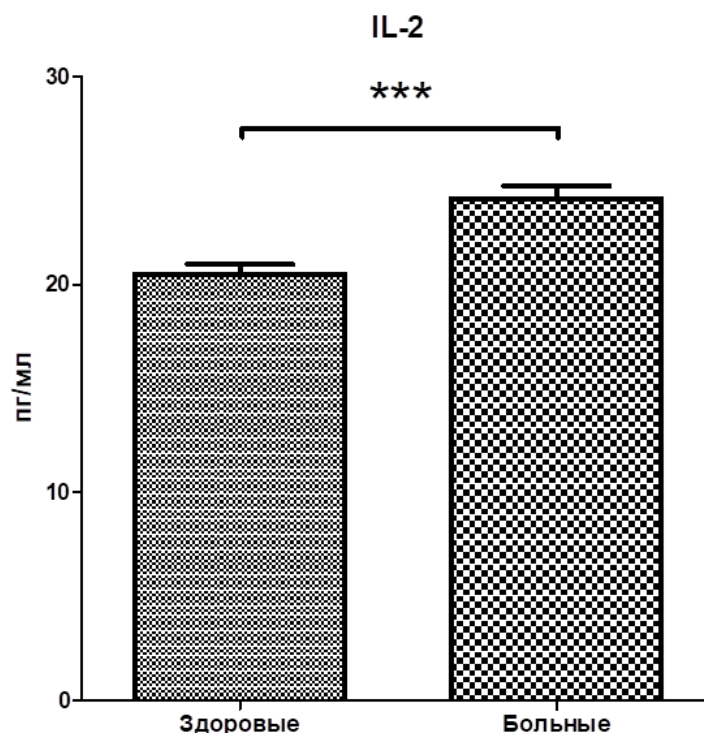


Рисунок 1 - Содержание IL-2 (пг/мл) в сыворотке крови основной (больные акне, n=57) и контрольной групп (здоровые лица, n=20)

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.134.40.1>

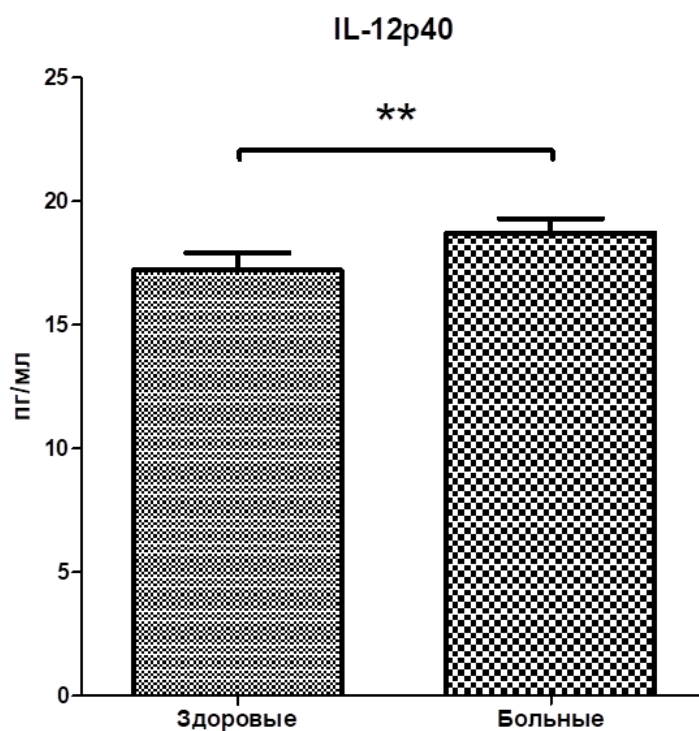


Рисунок 2 - Содержание IL-12 (p40) (пг/мл) в сыворотке крови основной (больные акне, n=57) и контрольной групп (здоровые лица, n=20)

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.134.40.2>

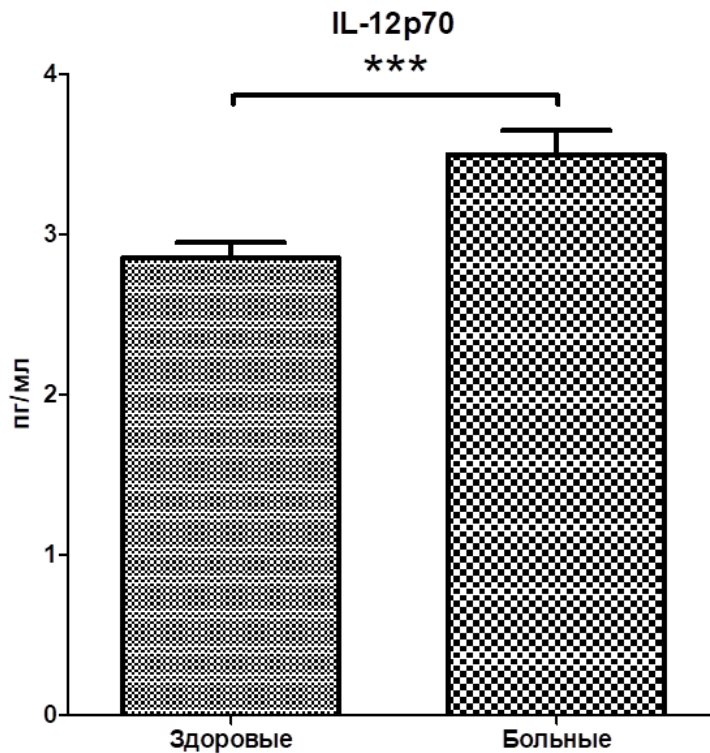


Рисунок 3 - Содержание IL-12 (p70) (пг/мл) в сыворотке крови основной (больные акне, n=57) и контрольной групп (здоровые лица, n=20)

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.134.40.3>

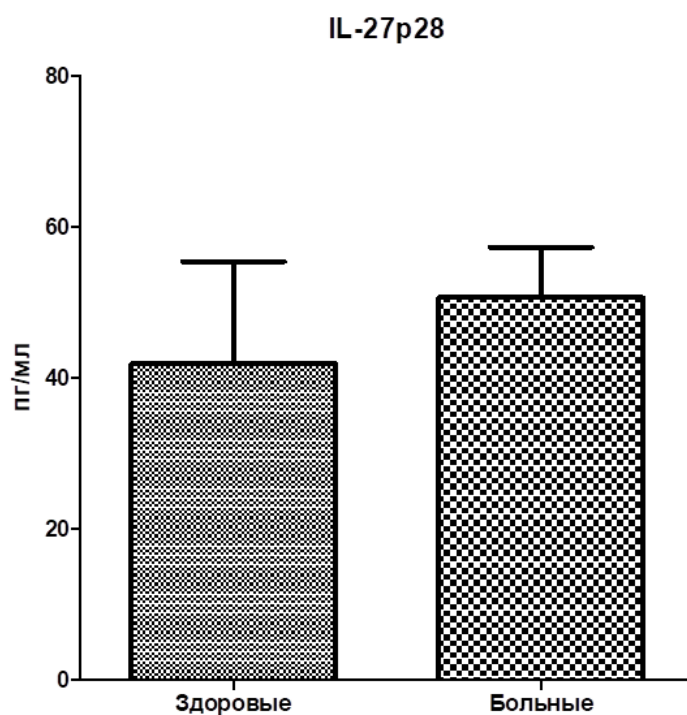


Рисунок 4 - Содержание IL-27 (p28) (пг/мл) в сыворотке крови основной (больные акне, n=57) и контрольной групп (здоровые лица, n=20)

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.134.40.4>

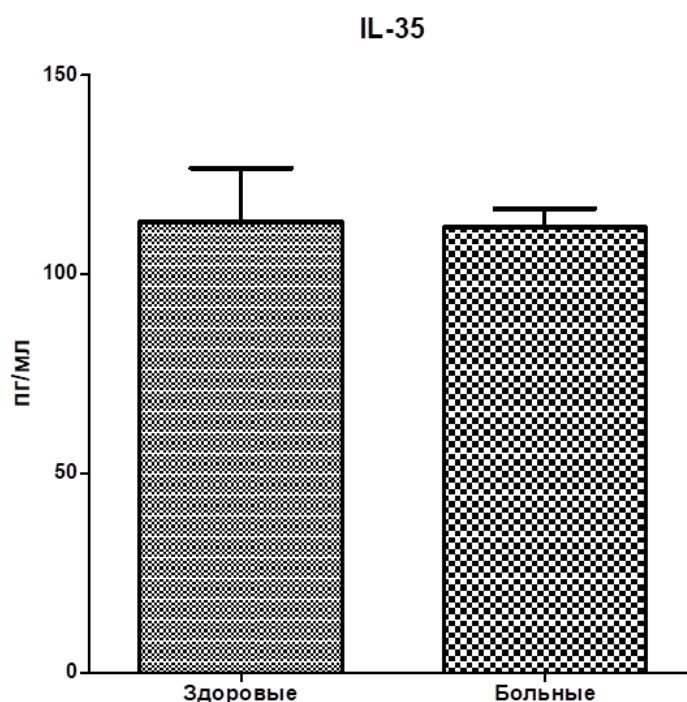


Рисунок 5 - Содержание IL-35 (пг/мл) в сыворотке крови основной (больные акне, n=57) и контрольной групп (здоровые лица, n=20)

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.134.40.5>

Обсуждение

Антигенная стимуляция вызывает секрецию цитокинов «первого поколения» IL-1, IL-6 и TNF α , обеспечивающих выработку центрального регуляторного цитокина IL-2. На первом этапе макрофаг распознает антиген, расщепляет его с помощью ферментов и секретирует IL-1, который активирует деление и пролиферацию клеток иммунной системы.

Далее IL-2 обеспечивает дифференцировку и пролиферацию Т-клеток. По нашим данным увеличение синтеза IL-2 у больных тяжелым течением акне, вероятно, ведет к повышению литических свойств NK-клеток и секрецию INFg Т-лимфоцитами.

Интерлейкин IL-12 особенно важен, поскольку его экспрессия во время инфекции регулирует врожденные реакции и определяет тип и продолжительность адаптивного иммунного ответа. Повышенная секреция IL-12 выявленная нами у больных акне тяжелого течения индуцирует выработку IFN-g NK, Т-клетками, дендритными клетками и макрофагами. IL-12 также способствует дифференцировке наивных CD4⁺ Т-клеток в Т-хелперы 1 (Th1), которые продуцируют IFN-g и способствуют клеточно-опосредованному иммунитету. Поскольку IL-12 индуцируется микробными продуктами и регулирует развитие адаптивных иммунных клеток, IL-12 играет центральную роль в координации врожденного и адаптивного иммунитета. IL-12 и недавно идентифицированные цитокины, IL-23 и IL-27, определяют семейство родственных цитокинов, которые индуцируют продукцию IFN-g и способствуют экспансии и пролиферации Т-клеток [15], [16], [17].

IL-35, в отличие от IL-12, IL-23 и IL-27, которые способствуют воспалительным реакциям, может играть существенную роль в подавлении иммунных реакций, секретируемых регуляторными моноцитами, дендритными клетками, Т-клетками (Tregs) и макрофагами IL-35 подавляет Т-клетки (Th1, Th17) путем прекращения клеточного цикла в фазе G1. Было показано, что IL-35 обеспечивает антиоксидантные, антиапоптотические и противовоспалительные свойства [18], [19].

Полученные нами данные о семействе IL-12 свидетельствуют о последовательном участии на разных этапах костимуляции Т-клеток этих цитокинов в воспалительном ответе при акне тяжелого течения. Так, IL-27 играет роль в быстром иницировании ответа на воспаление, но, по-видимому, не нужен для его поддержания. IL-12 имеет значение как в первичной реакции, так и при ответе Т-клеток памяти. Более того, для стимулирования выработки IFN IL-27 действует самостоятельно или синергично с IL-12, поэтому можно предположить, что IL-27 способствует Th1-поляризации иммунного ответа. Недостаток активации IL-35 свидетельствует о снижении проявления его иммунодепрессивного эффекта.

Заключение

Таким образом, полученные нами данные указывают на избыточный синтез противовоспалительных цитокинов на фоне нарушения секреции противовоспалительных при тяжелом течении акне. В итоге это нарушение проявляется в недостаточности ингибирующего влияния на воспалительную реакцию при акне, что является одним из механизмов торпидного хронического течения дерматоза.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Kim J. Review of the Innate Immune Response in Acne Vulgaris: Activation of Toll-like Receptor 2 in Acne Triggers Inflammatory Cytokine Responses / J. Kim // *Dermatology*. — 2005. — 211. — p. 193-198. — DOI: 10.1159/000087011.
2. Kurokawa I. Recent Advances in Understanding and Managing Acne / I. Kurokawa, K. Nakase // *F1000Res*. — 2020. — 9. — p. 792. — DOI: 10.12688/f1000research.25588.1.
3. Cong T.X. From Pathogenesis of Acne Vulgaris to Anti-Acne Agents / T.X. Cong, D. Hao, X. Wen [et al.] // *Arch Dermatol Res*. — 2019. — 311(5). — p. 337-349. — DOI: 10.1007/s00403-019-01908.
4. Kelh   H.L. IL-17/Th17 Pathway is Activated in Acne Lesions / H.L. Kelh  , R. Palatsi, N. Fyhrquist [et al.] // *PLoS ONE*. — 2014. — 25(9). — DOI: 10.1371/journal.pone.0105238.
5. Carlv  n B. Atrophic Scar Formation in Patients with Acne Involves Long-Acting Immune Responses with Plasma Cells and Alteration of Sebaceous Glands / B. Carlv  n, I. Carlv  n, B. Bertino [et al.] // *Br J Dermatol*. — 2018. — 179. — p. 906-917. — DOI: 10.1111/bjd.16680.
6. Kolar S.L. Propionibacterium Acnes-Induced Immunopathology Correlates with Health and Disease Association / S.L. Kolar, C.M. Tsai, J. Torres [et al.] // *JCI Insight*. — 2019. — 7-4(5). — DOI: 10.1172/jci.insight.124687.
7. Yang L. Elucidating the Immune Infiltration in Acne and its Comparison with Rosacea by Integrated Bioinformatics Analysis / L. Yang, Y.H. Shou, Y.S. Yang [et al.] // *PLoS One*. — 2021. — 16(3). — DOI: 10.1371/journal.pone.0248650.
8. Kurokawa I. Updated Treatment for Acne: Targeted Therapy Based on Pathogenesis / I. Kurokawa, A.M. Layton, R. Ogawa // *Dermatol Ther (Heidelb)*. — 2021. — 11(4). — p. 1129-1139. — DOI: 10.1007/s13555-021-00552-6.
9. Tan J.K.L. Current Concepts in Acne Pathogenesis: Pathways to Inflammation / J.K.L. Tan, L.F. Stein Gold, A.F. Alexis [et al.] // *Semin Cutan Med Surg*. — 2018. — 37(3S). — p. S60-S62. — DOI: 10.12788/j.sder.2018.024.
10. Mohamed M. Evaluation of Serum Levels of Interleukins 1-beta, 10 and 12 in Patients with Acne Vulgaris / M. Mohamed, H.A.A. Shehata, N.F. Fahmy [et al.] // *J Cosmet Dermatol*. — 2022. — 21(12). — p. 7100-7106. — DOI: 10.1111/jocd.15399.
11. Abul K.A. Revisiting IL-2: Biology and Therapeutic Prospects / K.A. Abul, E.R. Trotta, D. Simeonov [et al.] // *Sci. Immunol*. — 2018. — 3. — DOI: 10.1126/sciimmunol.aat1482.

12. Pol J.G. Effects of Interleukin-2 in Immunostimulation and Immunosuppression / J.G. Pol, P. Caudana, J. Paillet [et al.] // *J Exp Med.* — 2020. — 217(1). — DOI: 10.1084/jem.20191247.
13. Hildenbrand K. Biogenesis and Engineering of Interleukin 12 Family Cytokines / K. Hildenbrand, I. Aschenbrenner, F.C. Franke [et al.] // *Trends Biochem Sci.* — 2022. — 47(11). — p. 936-949. — DOI: 10.1016/j.tibs.2022.05.005.
14. Detry S. Revisiting the Combinatorial Potential of Cytokine Subunits in the IL-12 Family / S. Detry, K. Składanowska, M. Vuylsteke [et al.] // *Biochem Pharmacol.* — 2019. — 165. — p. 240-248. — DOI: 10.1016/j.bcp.2019.03.026.
15. Posseme C. Milieu Intérieur Consortium. Early IFN β Secretion Determines Variable Downstream IL-12p70 Responses upon TLR4 Activation / C. Posseme, A. Llibre, B. Charbit [et al.] // *Cell Rep.* — 2022. — 39(13). — DOI: 10.1016/j.celrep.2022.110989.
16. Kawabe T. Homeostasis and Immunological Function of Self-Driven Memory-Phenotype CD4⁺ T lymphocytes / T. Kawabe // *Immunol Med.* — 2023. — 46(1). — p. 1-8. — DOI: 10.1080/25785826.2022.2129370.
17. Wang X. The IL-12 Family Cytokines in Fish: Molecular Structure, Expression Profile and Function / X. Wang, A. Zhang, X. Qiu [et al.] // *Dev Comp Immunol.* — 2023. — 141. — DOI: 10.1016/j.dci.2023.104643.
18. Pflanz S. Kastelein IL-27, a Heterodimeric Cytokine Composed of EB13 and p28 Protein, Induces Proliferation of Naive CD4⁺ T CellsImmunity / S. Pflanz, J.C. Timans, J. Cheung [et al.] // *Immunity.* — 2002. — 16(6). — p. 779-90. — DOI: 10.1016/s1074-7613(02)00324-2.
19. Yang J. Interleukin-35 Inhibits Angiogenesis through T Helper17/ Interleukin-17 Related Signaling Ppathways in IL-1 β -Stimulated SW1353 Cells / J. Yang, L. Yao, Y. Li [et al.] // *Mol Immunol.* — 2022. — 147. — p. 71-80. — DOI: 10.1016/j.molimm.2022.04.015.