

**The College of Graduate Studies and the College of Science Cordially Invite You to a  
PhD Dissertation Defense**

Entitled

*ROLE OF B CELL MEDIATED IMMUNE RESPONSES DURING SKIN 'ATOPIC DERMATITIS' DISEASE*

By

Hidaya Mohammed Abdul Kader

ID: 201790053

Faculty Advisor

Dr. Khalid Muhammad, Department of Biology

College of Science

Date & Venue

9:00 am

Friday, 8<sup>th</sup> November 2024

Room 238, F3 Building

Abstract

Atopic dermatitis (AD) is the most prevalent non-infectious skin allergies with approximately 10-30% adults and 40% children being affected worldwide. It is clinically characterized by eczema tic lesions and elevated IgE levels and is a multifactorial disease that is heterogeneous in nature. AD results in a dominant Th2 polarized immune response. Until date, there is no cure for this disease. B cells are key players of humoral immune responses and contribute significantly to allergic responses through IgE secretion. However, recently a subset of B cells termed regulatory B cells (Bregs) were discovered that were shown to have a protective role by secretion of anti-inflammatory cytokine IL-10. Furthermore, NFATc1 is a transcription factor that functions through a calcium dependent calcineurin/calmodulin pathway to exert its effects on target genes. Nfatc1 has an important role in the development and function of the immune system. Previous studies suggested that NFATc1 can inhibit IL-10 by binding to its gene in association with HDAC1. Hence the aim of this research was to study the role of B cells during allergic responses using AD as a model for skin allergies. To achieve this, we used transgenic mouse lacking Nfatc1 in B cells (*Nfatc1<sup>ff</sup> x mb1cre*) and wild-type (WT) mice to induce AD model and study the outcome of the lacking NFATc1 in B cells responses during allergies. AD was induced by calcipotriol, a vitamin D3 analogue, on mouse ears by a method that was previously established. The calcipotriol induced AD response was evaluated through ear thickness to measure inflammation followed by histological examination. IgE levels in serum were also determined by ELISA. The ear draining lymph nodes (dLNs) were then used to study the various immune cell populations through immunophenotyping by flow cytometry. Finally, B cells were isolated from dLNs, and RNA sequencing was performed to study in detail the mechanisms that were involved in B cells during such immune responses at a transcriptome level. It was seen that *Nfatc1<sup>ff</sup> x mb1cre* AD mice exhibited a diminished AD phenotype compared to WT AD mice displaying weaker ear swelling and lower epidermal thickening and cellular infiltration in histological analysis and no change in IgE levels at the start and end of calcipotriol mediated AD induction. Further the *Nfatc1<sup>ff</sup> x mb1cre* AD mice showcased a higher percentage of IL-10 producing B220<sup>+</sup>CD5<sup>+</sup>CD1d<sup>+</sup> Breg cells supporting the fact that lack of NFATc1 promoted B cells to differentiate into Bregs producing more anti-inflammatory cytokine IL-10 and hence alleviated the AD symptoms. At the transcriptome level, compared to WT AD mice, *Nfatc1<sup>ff</sup> x mb1cre* AD mice demonstrated genes that were expressed differently which promoted B cell development and enhanced its response to stress and stimulus. This research sheds light on the possibility of developing NFATc1 as a potential molecular target to alleviate AD responses without compromising B cell functions and by promoting higher endogenous production of anti-inflammatory IL-10. However further research is required on models of human cells and strategies to manipulate NFATc1 *in-vivo* to establish this putative molecular target.

**Keywords:** Atopic Dermatitis (AD), Regulatory B cells (Bregs), IL-10, NFATc1, IgE

## تشرف كلية الدراسات العليا وكلية العلوم بدعوتكم لحضور مناقشة أطروحة الدكتوراه

### العنوان

دور الاستجابات المناعية بواسطة الخلايا البائية أثناء مرض "التهاب الجلد التأتبي" الجلدي

### للطالبة

هداية محمد عبد القادر

الرقم الجامعي: 201790053

### المشرف

د. خالد محمد، قسم الأحياء

كلية العلوم

التاريخ والمكان

9:00 صباحاً

الجمعة، 8 نوفمبر 2024

مبنى F3، غرفة 238

### الملخص

التهاب الجلد التأتبي (AD) هو أكثر أنواع الحساسية الجلدية غير المعدية انتشاراً حيث يتأثر ما يقرب من 10-30٪ من البالغين و40٪ من الأطفال في جميع أنحاء العالم. يتميز سريريا بأفات الأكرزما اللاإرادية ومستويات IgE المرتفعة وهو مرض متعدد العوامل غير متجانس بطبيعته. ينتج عن مرض الجلد التأتبي استجابة مناعية مستقطبة Th2 مهيمنة. حتى الآن، لا يوجد علاج لهذا المرض. تعد الخلايا البائية لاعبين رئيسيين في الاستجابات المناعية الخلطية وتساهم بشكل كبير في استجابات الحساسية من خلال إفراز IgE. ومع ذلك، تم اكتشاف مجموعة فرعية من الخلايا البائية تسمى الخلايا البائية التنظيمية (Bregs) والتي ثبت أن لها دوراً وقائياً عن طريق إفراز السيتوكين المضاد للالتهابات IL-10. علاوة على ذلك، فإن NFATc1 هو عامل نسخ يعمل من خلال مسار الكالسينورين / الكالمودولين المعتمد على الكالسيوم لممارسة تأثيراته على الجينات المستهدفة. NFATc1 له دور مهم في تطوير ووظيفة الجهاز المناعي. اقترحت الدراسات السابقة أن NFATc1 يمكن أن يثبط IL-10 عن طريق الارتباط بجينته بالاشتراك مع HDAC1. ومن هنا كان الهدف من هذا البحث هو دراسة دور الخلايا البائية أثناء الاستجابات التحسسية باستخدام مرض الجلد التأتبي كنموذج لحساسية الجلد. لتحقيق ذلك، استخدمنا الفئران المعدلة وراثياً التي تفتقر إلى NFATc1 في الخلايا البائية (*Nfatc1f / f x mb1cre*) والفئران من النوع البري (WT) للتحقق من نموذج AD ودراسة نتائج نقص NFATc1 في استجابات الخلايا البائية أثناء الحساسية. تم تحفيز مرض الجلد التأتبي بواسطة كالسيوترينول، وهو نظير لفيتامين D3، على أذان الفئران بطريقة تم إنشاؤها مسبقاً. تم تقييم استجابة الجلد التأتبي التي يسببها كالسيوترينول من خلال الأذن الخارجية لقياس الالتهاب متبوعاً بالفحص النسيجي. كما تم تحديد مستويات IgE في المصل بواسطة ELISA. ثم تم استخدام الغدد الليمفاوية التي تستنزف الأذن (dLNs) لدراسة مجموعات الخلايا المناعية المختلفة من خلال التمييز المناعي عن طريق قياس التندفخ الخلوي. أخيراً، تم عزل الخلايا البائية من dLNs، وتم إجراء تسلسل الحمض النووي RNA لدراسة الآليات التي شاركت في الخلايا البائية بالتفصيل خلال هذه الاستجابات المناعية على مستوى النسخ. لوحظ أن الفئران *Nfatc1f / f x mb1cre* أظهرت نمطاً ظاهرياً متناقصاً لمرض الجلد التأتبي مقارنة بفئران WT AD التي تظهر تورماً أضعف في الأذن وسماكة أقل للبشرة وتسلسل خلوي في التحليل النسيجي ولا يوجد تغيير في مستويات IgE في بداية ونهاية تحريض AD بواسطة كالسيوترينول. علاوة على ذلك، عرضت الفئران *Nfatc1f / f x mb1cre* نسبة أعلى من خلايا IL-10 المنتجة لـ B220 + CD5 + CD1d + Breg التي تدعم حقيقة أن نقص NFATc1 عزز الخلايا البائية للتمايز إلى Bregs لإنتاج المزيد من السيتوكين المضاد للالتهابات IL-10 وبالتالي خفف من أعراض AD. على مستوى النسخ، مقارنة بفئران WT AD، أظهرت الفئران *Nfatc1f / f x mb1cre* جينات تم التعبير عنها بشكل مختلف مما عزز نمو الخلايا البائية وعزز استجابتها للإجهاد والتحفيز. يلقي هذا البحث الضوء على إمكانية تطوير NFATc1 كهدف جزيئي محتمل للتخفيف من استجابات مرض الجلد التأتبي دون المساس بوظائف الخلايا البائية ومن خلال تعزيز الإنتاج الداخلي العالي لـ IL-10 المضاد للالتهابات. ومع ذلك، هناك حاجة إلى مزيد من البحث حول نماذج الخلايا البشرية واستراتيجيات التلاعب بـ NFATc1 في الجسم الحي لتحديد هذا الهدف الجزيئي المفترض.

**كلمات البحث الرئيسية:** التهاب الجلد التأتبي (AD)، الخلايا البائية التنظيمية (Bregs)، IgE، NFATc1، IL-10