

# Rola nowej subpopulacji limfocytów Th9 oraz interleukiny9 w patogenezie chorób o podłożu alergicznym

Prof. dr hab. n. med.  
**Jacek Roliński**

lek. med.  
**Ewelina Grywalska**

Katedra i Zakład Immunologii  
Klinicznej UM w Lublinie

Kierownik:  
Prof. dr hab. n. med. Jacek  
Roliński

I M M U N O L O G I A

## The role of a new lymphocyte subset Th9 and interleukin 9 in the pathogenesis of allergic diseases

### S U M M A R Y

Formerly, subsets of CD4+ Th lymphocytes were categorized as Th1 and Th2 based on their cellular functions and cytokine secretion capacities. Th9 is a new effector T-helper lymphocyte subset characterized by interleukin 9 (IL-9) production. Th9 cells lack a suppressive function and constitute a distinct population of effector T lymphocytes promoting mucus production and tissue inflammation. The main cytokine released by Th9 effector cells is the IL-9, is strongly associated with mast cell accumulation in the airways. Studies on an animal model of asthma demonstrated that this cytokine is a determining factor in the pathogenesis of bronchial hyperresponsiveness. IL-9 is an important stimulus for the process of airway remodeling. IL-9 and its receptor IL-9R are expressed in bronchial biopsies of patients with asthma. In experimental models, anti-IL-9 monoclonal antibodies decrease airway hyperreactivity, accumulation of eosinophils, and airway epithelium damage. Serum IL-9 levels are also related to symptom severity in patient with allergic rhinitis and may depend on allergen exposure. Further studies should therefore be conducted in order to assess if the Th9, the main source of IL-9, can be proposed as a therapeutic target for allergic diseases.

Początkowo na podstawie profilu wydzielniczego, wyróżniano jedynie dwie subpopulacje komórek pomocniczych Th CD4+: Th1 i Th2. Limfocyty Th9 należą do nowo odkrytej populacji komórek T pomocniczych, charakteryzujących się produkcją interleukiny 9 (IL-9). Limfocyty Th9 podtrzymują rozwój procesu zapalnego oraz produkcję śluzu, będąc jednocześnie komórkami pozbawionymi właściwości supresyjnych. Główna cytokina uwalniana przez limfocyty efektorowe Th9, IL-9, jest ściśle związana z akumulacją komórek tucznych w drogach oddechowych. Badania prowadzone na modelu zwierzęcym wykazały kluczową rolę tej cytokiny w patogenezie nadreaktywności oskrzeli. IL-9 jest czynnikiem stymulującym proces remodelingu w obrębie drzewa oskrzelowego. Wykazano wysoką ekspresję IL-9 oraz jej receptora IL-9R w biopsjach pochodzących od chorych na astmę. W

**modelach doświadczalnych wykazano, że podanie monoklonalnego przeciwciała przeciwko IL-9 obniża wzmożoną reaktywność oskrzeli, gromadzenie eozynofili oraz uszkodzenie nabłonka dróg oddechowych. Stężenie IL-9 w surowicy jest także powiązane z natężeniem objawów alergicznego nieżytu nosa u pacjentów narażonych na działanie alergenów. Dane te świadczą o potrzebie kontynuacji badań nad subpopulacją limfocytów Th9, będącą głównym źródłem IL-9, które być może staną się celem terapii w schorzeniach alergicznych.**

Roliński J.: Rola nowej subpopulacji limfocytów Th9 oraz interleukiny 9 w patogenezie chorób o podłożu alergicznym. *Alergia*, 2011, 1: 7-10

Limfocyty pomocnicze CD4+ (Th CD4+) odgrywają ważną rolę w regulacji swoistej odpowiedzi immunologicznej. Początkowo na podstawie profilu wydzielniczego, wyróżniano jedynie dwie subpopulacje komórek Th CD4+: Th1 i Th2. Szczegółowe badania ostatnich lat doprowadziły do opisanie kolejnych typów: Th17, Th22 oraz Th9. W zależności od rodzaju antygenów, na działanie których narażone są limfocyty dziewicze CD4+, mogą one różnicować się w poszczególne typy komórek efektorowych: Th1, Th2, Th9, Th17 oraz Th22 [1].

**Spośród wymienionych subpopulacji, komórki Th9 wydają się być zaangażowane w największym stopniu w rozwój i podtrzymanie reakcji alergicznej [2].**

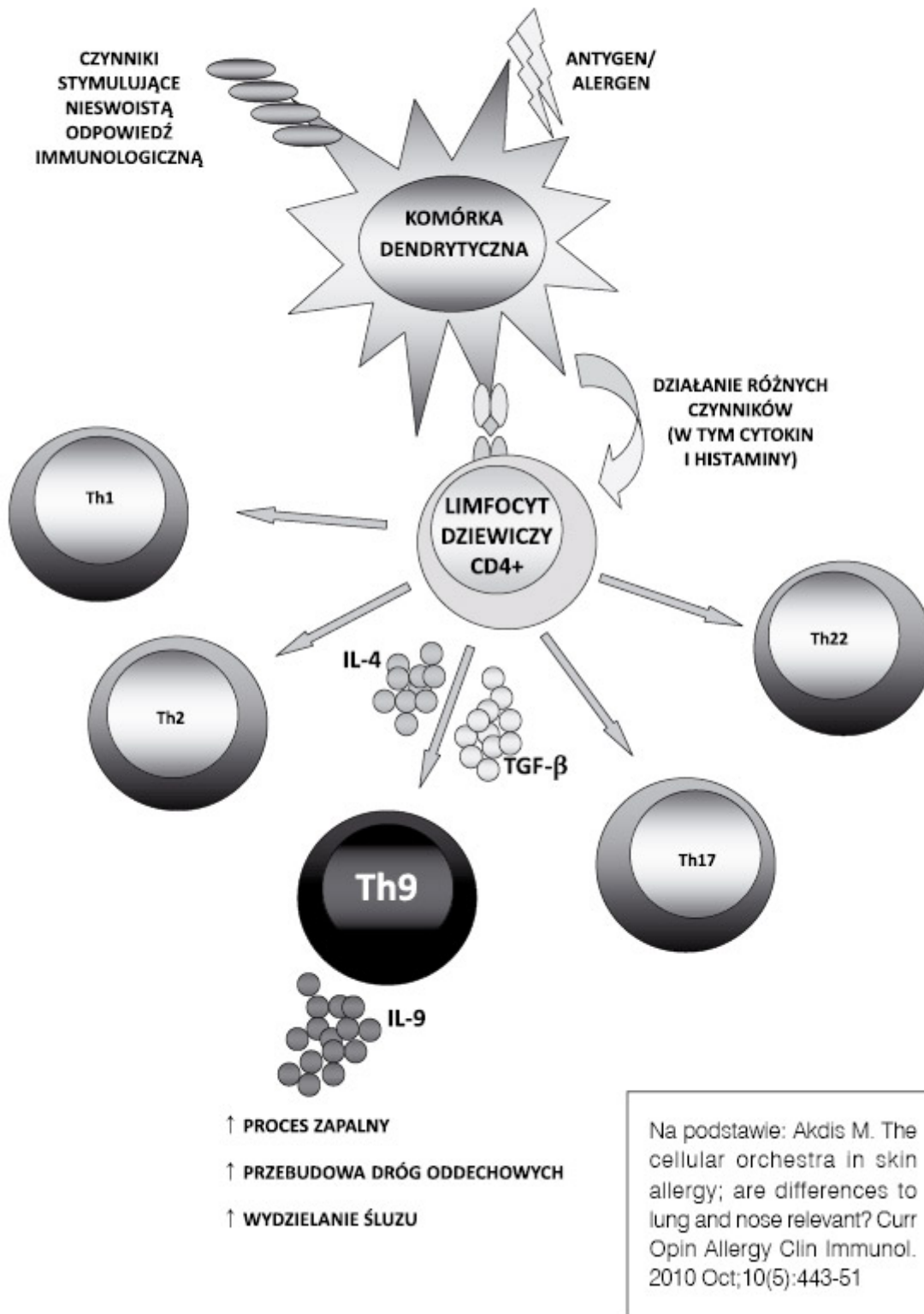
Powszechnie uważa się, że jednym z najważniejszych czynników różnicujących limfocyty Th jest ekspozycja na alergeny środowiskowe [1], doprowadzająca do przekształcenia niestymulowanych uprzednio antygenami komórek, w limfocyty produkujące interleukinę (IL) 9. Dziewicze komórki T CD4+ w obecności transformującego czynnika wzrostu (TGF- $\beta$ ) i IL-4 zaczynają produkować IL-9 oraz IL-10. Nie dochodzi jednak wówczas do wydzielania innych cytokin, charakterystycznych dla limfocytów Th2 [3, 4], co sugeruje istnienie odrębnej subpopulacji komórek. Czynnikiem transkrypcyjnym, warunkującym produkcję IL-9 oraz IL-10 jest PU.1 [5]. Rycina 1 przedstawia komórkę dendrytyczną, która prezentuje antygen / alergen limfocytowi dziewiczemu CD4+, doprowadzając w obecności IL-4 oraz transformującego czynnika wzrostu (TGF- $\beta$ ) do wykształcenia profilu wydzielniczego, charakteryzującego limfocyty Th9.

**Badania czynnościowe limfocytów Th9 wykazały, że komórki te nie są zdolne do tłumienia odpowiedzi immunologicznej bądź wchodzenia w stan anergii, co oznacza, że mogą intensywnie proliferować, prowadząc do podtrzymania i nasilenia procesu zapalnego [3].**

Badania przeprowadzone wśród pacjentów z objawami chorób alergicznych wykazały, że omawiane limfocyty T stanowią bogate źródło IL-9. Doświadczenia na modelu mysim ujawniły pleiotropowe działanie IL-9 w rozwoju zmian zapalnych o podłożu alergicznym. Interleukina ta odgrywa także istotną rolę w przebudowie dróg oddechowych, który to

proces jest ważnym elementem patogenezy astmy oskrzelowej [6].

**1 RVC.** Komórka dendrytyczna, prezentująca antygen/alergen limfocytowi dziewiczemu CD4+, doprowadzając w obecności IL-4 oraz TGF- $\beta$  do wykształcenia profilu wydzielniczego, charakteryzującego limfocyty Th9.



## Rola IL-9 w patogenezie astmy oskrzelowej

Astma oskrzelowa jest chorobą charakteryzującą się występowaniem przewlekłego zapalenia dróg oddechowych, połączonego z nadreaktywnością oskrzeli. Predyspozycje genetyczne wraz z ekspozycją na czynniki środowiskowe warunkują wystąpienie objawów

klinicznych astmy oskrzelowej. Od wielu lat podkreśla się zaangażowanie IL-9 w rozwój objawów tej choroby.

## Badania na zwierzętach

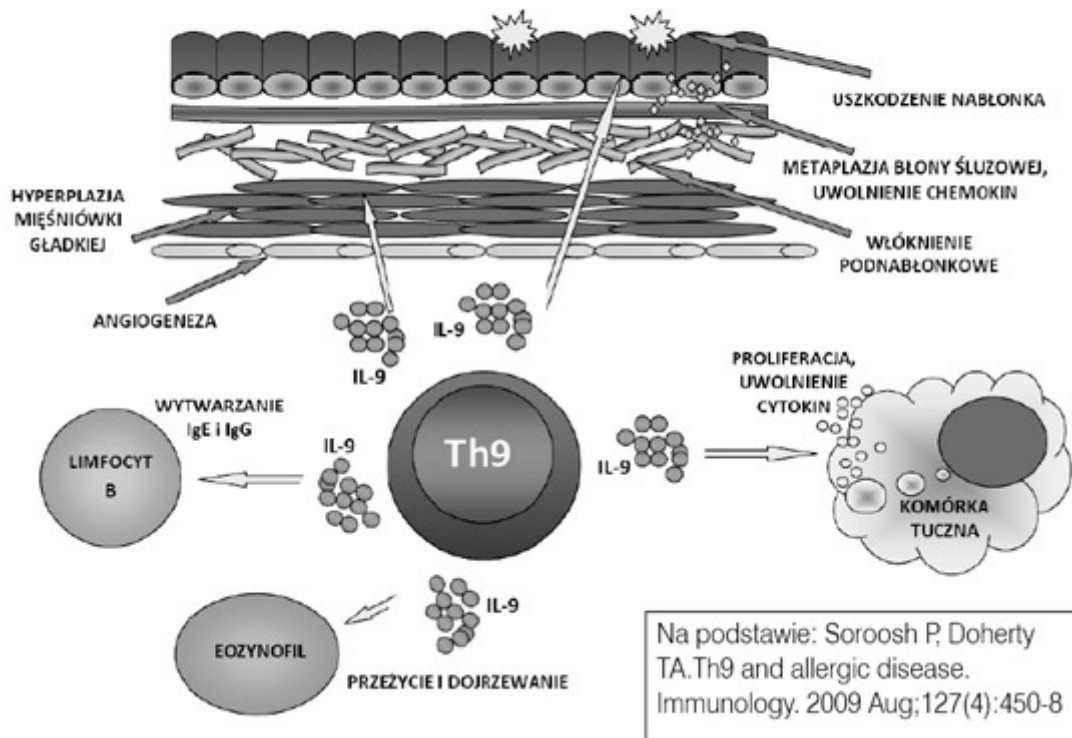
Doświadczenia prowadzone na transgenicznych myszach, cechujących się uogólnioną nadekspresją IL-9 wykazały wzmożoną reaktywność dróg oddechowych, nacieki eozynofilowe oraz zwiększoną produkcję IgE po stymulacji różnymi alergenami [7].

**Jednak nasilenie alergicznego procesu zapalnego związanego z nadekspresją IL-9, występowało tylko w obecności swoistych alergenów. Natomiast u transgenicznych myszy, u których IL-9 wydzielana była tylko w obrębie płuc, zauważono, że objawy w postaci eozynofilowego zapalenia płuc, napływu komórek tucznych, a także nadreaktywności mięśni gładkich drzewa oskrzelowego, występowały bez stosowania prowokacji antygenowej. Dodatkowo u myszy tych dochodziło do wzmożonej produkcji śluzu oraz włóknienia w obrębie dróg oddechowych, co stanowi istotę remodelingu drzewa oskrzelowego, będącego ważnym elementem patogenezy astmy [8].**

Celem potwierdzenia istotnej roli IL-9 w rozwoju astmy, oceniono odpowiedź ze strony dróg oddechowych u transgenicznych myszy pozbawionych IL-9 z wyindukowanymi objawami astmy. Nie stwierdzono charakterystycznych dla tej choroby zmian w drzewie oskrzelowym [9]. Natomiast przeciwciała blokujące działanie IL-9 doprowadziły do spadku reaktywności oskrzeli i redukcji nacieku eozynofilowego [10]. Powyższe dane sugerują, że obecność IL-9 nie jest konieczna do rozwoju objawów astmy, natomiast funkcja jej polegać może na podtrzymaniu stanu zapalnego w obrębie dróg oddechowych. Podobne wyniki badań, uzyskane przez różnych autorów potwierdzają jednoznacznie, że obecność IL-9 związana jest nie tylko z nadreaktywnością oskrzeli, ale również z ich remodelingiem oraz akumulacją komórek tucznych. Siła działania tej cytokiny jako czynnika chemotaktycznego dla mastocytów przejawia się w jej zdolności do rekrutacji niedojrzałych form tych komórek ze szpiku kostnego i stymulacji ich różnicowania [11].

2  
RYC.

## Schemat przedstawiający odpowiedź ze strony limfocytów Th9 podczas przewlekłego procesu zapalnego w obrębie drzewa oskrzelowego.



## Badania kliniczne

Badania przeprowadzone wśród chorych z objawami astmy wykazały, że stymulacja alergenami wziewnymi powoduje zwiększone wydzielanie IL-4, IL-5 oraz IL-13 przez limfocyty Th2. Wiadomym jest, że wysokie stężenia miejscowe tych cytokin warunkują rozwój eozynofilowego zapalenia płuc [12]. Erpenbeck i wsp. zwrócili również uwagę na podwyższone stężenie IL-9 w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych po ekspozycji na działanie alergenów wziewnych u pacjentów z atopią w porównaniu do osób zdrowych. Za najważniejsze źródło tej cytokiny w dolnych drogach oddechowych uznana została populacja limfocytów T CD3+ [13]. Dodatkowo w materiale uzyskanym z biopsji drzewa oskrzelowego od osób z rozpoznaniem astmy atopowej ujawniono podwyższone ilości komórek z ekspresją mRNA dla IL-9 w porównaniu do grupy kontrolnej zdrowych ochotników oraz chorych na przewlekłe zapalenie oskrzeli lub sarkoidozę [14]. Rycina 2 przedstawia schemat ilustrujący wielokierunkowość działania limfocytów Th9 w obrębie drzewa oskrzelowego podczas przewlekłego procesu zapalnego. Przytoczone powyżej wyniki badań dowodzą, że ekspresja IL-9 jest wyraźnie wzmożona podczas alergicznego procesu zapalnego, toczącego się w obrębie drzewa oskrzelowego, jednak precyzyjne określenie roli omawianej interleukiny w patogenezie astmy oskrzelowej wymaga przeprowadzenia dalszych badań. Nie zostało bowiem wyjaśnione, czy źródłem IL-9 są limfocyty Th2 wytwarzające równocześnie IL-4, IL-5 i IL-13, czy też wyspecjalizowane w produkcji IL-9 komórki Th9 [15]. Wykazanie zwiększonego odsetka tej subpopulacji limfocytów w dolnych drogach oddechowych osób z objawami astmy ostatecznie rozstrzygnęłoby kwestię pochodzenia IL-9.

**Polimorfizm genów znajdujących się na długim ramieniu chromosomu 5 (5q31-35), odpowiedzialnych za kodowanie m.in. IL-9 związany jest z rozwojem zjawiska atopii [16] i jest jednym z ważniejszych czynników warunkujących predyspozycje genetyczne do wystąpienia chorób alergicznych.**

Wyniki badań wykonane przez Doull i wsp. u 685 osób potwierdzają istnienie ścisłego związku pomiędzy regionem 5q a podwyższonym całkowitym stężeniem IgE w surowicy [17]. Z kolei Holroyd i wsp. zauważyli, że polimorfizm regionu zawierającego gen kodujący receptor dla IL-9 (IL-9R) związany jest z wystąpieniem objawów astmy [18]. Przedstawione powyżej wyniki badań świadczą o zróżnicowaniu ekspresji genów dla IL-9 oraz dla IL-9R, co może stanowić ważny element podatności na wystąpienie objawów astmy.

## Rola IL-9 w patogenezie alergicznego nieżytu nosa

Dotychczas opublikowano zaledwie kilka doniesień na temat związku objawów alergicznego nieżytu nosa z poziomem IL-9. W jednym z badań jednojądrzaste komórki krwi obwodowej, pozyskane od chorych na astmę i alergiczny nieżyt nosa oraz od osób zdrowych, stymulowano in vitro alergenami, mierząc wydzielanie IL-9, IL-5 oraz IL-13. Stwierdzono, że poziom IL-9 najsilniej korelował ze stężeniem alergenowo swoistych IgE, a wyższe wartości występowały u chorych na astmę w porównaniu do pacjentów z alergicznym nieżytem nosa [19]. W innym badaniu oceniono odpowiedź alergenowo swoistą u dzieci z atopią, stwierdzając dodatnią korelację pomiędzy stężeniem IL-9 a objawami astmy indukowanymi alergenami. Zależności takiej nie wykazano w odniesieniu do alergicznego nieżytu nosa. Przedstawione dane sugerują, że wydzielanie przez limfocyty T IL-9 po stymulacji alergenami in vitro może być traktowane jako marker alergenowo swoistej odpowiedzi u chorych na astmę atopową.

Nouri-Aria i wsp. ocenili ilościowo komórki cechujące się ekspresją mRNA dla IL-9 oraz scharakteryzowali metodami immunohistochemicznymi komórki produkujące IL-9 w błonie śluzowej nosa u pacjentów z alergicznym nieżytem nosa przed i po wdrożeniu immunoterapii alergenowej [20]. Badania wykazały dodatnią korelację pomiędzy odsetkiem komórek IL-9 mRNA – dodatnich, wśród których około 33% stanowiły limfocyty T, a eozynofilią w obrębie błony śluzowej nosa.

**Po dwuletniej immunoterapii, poziom IL-9 oraz odsetek komórek z wysoką ekspresją mRNA dla tej cytokiny uległ znacznemu obniżeniu.**

Autorzy ci potwierdzili również szczególną zdolność IL-9 do indukcji infiltracji tkanek komórkami tucznyymi. Proces ten zachodzić może zarówno na drodze parakrynej, endokrynej, jak i autokrynej. Oprócz limfocytów T, IL-9 wydzielana jest także przez eozynofile i neutrofile oraz same komórki tuczne. Biopsja błony śluzowej nosa wykazała wzrost miejscowego stężenia IL-9 w sezonie pylenia [20].

**Udowodniono również liniową zależność pomiędzy stężeniem IL-9 w surowicy a nasileniem objawów alergicznego nieżytu nosa [21]. Najnowsze badania wykazały także związek poziomu IL-9 z ekspozycją na alergeny środowiskowe w sezonie pylenia [22].**

## Podsumowanie

Reasumując, przedstawione w niniejszej pracy wyniki badań sugerują, że nowo wyodrębniona subpopulacja limfocytów Th9 promuje rozwój alergii. Wykazano, że najważniejszym źródłem IL-9 są limfocyty Th CD4+. Doświadczenia przeprowadzone na modelach mysich wskazują na wielokierunkowe działanie IL-9 zarówno w rozwoju i podtrzymaniu zapalenia alergicznego, jak i w procesie remodelingu ściany oskrzeli. Otwartym pozostaje pytanie, czy w toku odpowiedzi alergicznej komórki T wydzielające IL-9 stanowią odrębną subpopulację komórek Th, w pełni funkcjonalną, zdolną do syntezy

IL-9, czy też limfocyty T przekształcają się w komórki Th9 dopiero po stymulacji alergenami. Wyjaśnienie tego zagadnienia wymaga prowadzenia dalszych badań.

## Limfocyty produkujące IL-9 powinny stać się bowiem, w świetle zaprezentowanych odkryć, celem terapii schorzeń alergicznych.

Piśmiennictwo:

1. Akdis CA, Akdis M. Mechanisms and treatment of allergic disease in the big picture of T regulatory cells. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123: 735–746.
2. Dardalhon V, Awasthi A, Kwon H, Galileos G, Gao W, Sobel RA, et al. IL-4 inhibits TGF- $\beta$ -induced Foxp3<sup>+</sup> T cells and, together with TGF- $\beta$ , generates IL-9<sup>+</sup> IL-10<sup>+</sup> Foxp3(-) effector T cells. *Nat Immunol* 2008; 9: 1347–1355.
3. Dardalhon V, Awasthi A, Kwon H, et al. IL-4 inhibits TGF-beta-induced Foxp3+ T cells and, together with TGF-beta, generates IL-9+ IL-10+ Foxp3(-) effector T cells. *Nat Immunol* 2008; 9:1347–1355.
4. Veldhoen M, Uyttenhove C, van Snick J, et al. Transforming growth factor-beta 'reprograms' the differentiation of T helper 2 cells and promotes an interleukin 9-producing subset. *Nat Immunol* 2008; 9:1341–1346.
5. Chang HC, Sehra S, Goswami R, et al. The transcription factor PU.1 is required for the development of IL-9-producing T cells and allergic inflammation. *Nat Immunol* 2010; 11:527–534.
6. Soroosh P, Doherty TA. Th9 and allergic disease. *Immunology* 2009; 127:450–458.
7. McLane M P, Haczk A, van de Rijn M, Weiss C, Ferrante V, MacDonald D, Renauld JC, Nicolaides NC, Holroyd KJ, Levitt RC. Interleukin-9 promotes allergen-induced eosinophilic inflammation and airway hyperresponsiveness in transgenic mice. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1998 19:713–720.
8. Temann UA, Geba GP, Rankin JA, Flavell RA. Expression of interleukin 9 in the lungs of transgenic mice causes airway inflammation, mast cell hyperplasia, and bronchial hyperresponsiveness. *J. Exp. Med.* 1998; 188:1307–1320.
9. McMillan, S. J., Bishop, B., Townsend, M. J., McKenzie, A. N., Lloyd, C. M. (2002). The absence of interleukin 9 does not affect the development of allergen-induced pulmonary inflammation nor airway hyperactivity. *J. Exp. Med.* 195:51–57.
10. Cheng G, Arima M, Honda K, Hirata H, Eda F, Yoshida N, Fukushima F, Ishii Y, Fukuda T. Anti-interleukin-9 antibody treatment inhibits airway inflammation and hyperactivity in mouse asthma model. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002 166:409–416.
11. Lu LF, Lind EF, Gondek DC, Bennett KA, Gleeson MW, Pino-Lagos K, Scott ZA, Coyle AJ, Reed JL, Van Snick J, et al. Mast cells are essential intermediaries in regulatory T-cell tolerance. *Nature* 2006; 442:997–1002.
12. Busse WW, Lemanske RF Jr. Asthma. *N Engl J Med* 2001; 344:350–62.
13. Erpenbeck VJ, Hohlfeld JM, Discher M, Krentel H, Hagenberg A, Braun A, Krug N. Increased expression of interleukin-9 messenger RNA after segmental allergen challenge in allergic asthmatics. *Chest* 2003; 123(Suppl. 3):370S.
14. Ying S, Meng Q, Kay AB, Robinson DS. Elevated expression of interleukin-9 mRNA in the bronchial mucosa of atopic asthmatics and allergen-induced cutaneous late-phase reaction: relationships to eosinophils, mast cells and T lymphocytes. *Clin Exp Allergy* 2002; 32:866–71.
15. Durrant DM, Metzger DW. Emerging roles of T helper subsets in the pathogenesis of asthma. *Immunol Invest.* 2010;39(4-5):526-49.
16. Noguchi E, Shibasaki M, Arinami T et al. Evidence for linkage between asthma/atopy in childhood and chromosome 5q31–q33 in a Japanese population. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156:1390–3.
17. Doull IJ, Lawrence S, Watson M, Begishvili T, Beasley RW, Lampe F, Holgate T, Morton NE. Allelic association of gene markers on chromosomes 5q and 11q with atopy and bronchial hyperresponsiveness. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 1:1280–4.
18. Holroyd KJ, Martinati LC, Trabetti E et al. Asthma and bronchial hyperresponsiveness linked to the XY long arm pseudoautosomal region. *Genomics* 1998; 52:233–5.
19. Devos S, Cormont F, Vrtala S, Hooghe-Peters E, Pirson F, Snick J. Allergen-induced interleukin-9 production in vitro: correlation with atopy in human adults and comparison with interleukin-5 and interleukin-13. *Clin Exp Allergy* 2006; 36:174–82.
20. Nouri-Aria KT, Pilette C, Jacobson MR, Watanabe H, Durham SR. IL-9 and c-Kit<sup>+</sup> mast cells in allergic rhinitis during seasonal allergen exposure: effect of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116:73–9.
21. Ciprandi G. Serum interleukin in allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2010; 104: 180–181.
22. Ciprandi G, De Amici M, Castellazzi AM, Tosca MA, Marseglia G. Serum IL-9 Levels Depend on Allergen Exposure: Preliminary Study. *Int Arch Allergy Immunol.* 2011;154(3):246-8.

Zamknij

Drukuj