

Badania asocjacyjne całego transkryptomu (TWAS) w astmie

Transcriptome-Wide Association Studies (TWAS) in asthma



Dr n. med.
Beata Narożna

Pracownia Badań
Komórkowych
i Molekularnych Kliniki
Pneumonologii, Alergologii
Dziecięcej i Immunologii
Klinicznej

Kierownik Pracowni:
Prof. dr hab. n. med.
Aleksandra
Szczepankiewicz

Kierownik Kliniki:
Dr hab. n. med.
Irena Wojsyk-Banaszak

S U M M A R Y

The greatest advantage of genome-wide association studies (GWAS) is the identification of new genes and biological pathways that underlie the cause of various diseases. However, they often require further functional studies, which is not always straightforward: some disease-related regions of the genome might be non-coding or are indirectly related to the disease or have a small effect. Thus, transcriptome-wide association studies, i.e. TWAS, became an interesting alternative to GWAS studies. These studies integrate the results obtained in GWAS with data on gene expression in selected tissue types. It is therefore possible to detect genetically regulated transcriptome changes in the target tissue where the pathophysiology of the disease is observed. This paper aims to look at the most important and recent findings of TWAS in asthma.

.....

Największą korzyścią badań asocjacyjnych całego genomu (GWAS) jest identyfikacja nowych genów i szlaków biologicznych, leżących u podłoża przyczyny różnych chorób. Wymagają one jednak dalszych badań funkcjonalnych, co nie zawsze jest proste: niektóre regiony genomu związane z chorobą są regionami niekodującymi lub są pośrednio związane z chorobą lub ich efekt jest niewielki. Ciekawą alternatywą dla badań GWAS stały się więc badania asocjacyjne całego transkryptomu, tj. TWAS. Badania te integrują wyniki uzyskane w ramach analiz GWAS wraz z danymi o ekspresji genów w wybranych typach tkanek. Dzięki temu można wykryć genetycznie regulowane zmiany transkryptomu w tkance docelowej, w której obserwuje się zmiany spowodowane przez chorobę. Niniejsza praca ma na celu przyjrzenie się jednemu z najważniejszych odkryć TWAS w astmie.

Narożna B.: Badania asocjacyjne całego transkryptomu (TWAS) w astmie. *Alergia*, 2022, 4; 22-24

Od ponad dekady wysoce popularne wśród naukowców są badania asocjacyjne całego genomu (ang. Genome-Wide Association Study, GWAS). Analizy te potwierdziły udział czynników genetycznych w ryzyku rozwoju astmy poprzez identyfikację ponad 140 loci predysponujących do zachorowania [1]. Większość z odkryć GWAS to sekwencje znajdujące się w regionach niekodujących genomu, a ich funkcja często pozostaje niezbadana [2]. Ponadto, najczęściej dziedziczone warianty ryzyka nie wyjaśniają w całości heterogeniczności tej choroby. W szczególności zaś nie uwzględniają efektu dodatkowych wariantów o mniejszym efekcie, wpływu wariantów rzadkich oraz interakcji geny-środowisko.

Badania GWAS charakteryzują się niewielkim przełożeniem w praktyce klinicznej, gdyż każde z odkryć wymaga weryfikacji funkcjonalnej i badań klinicznych, w których potencjalne korzyści przewyższają potencjalne ryzyko. W rezultacie, na ten moment tylko najlepiej poznane geny (IL4, IL13, TSLP, IL17, IL33, IL25, CRTH2, IL8 i CXCR2) są analizowane w kontekście leków biologicznych.

Wszystko to sprawiło, iż coraz większe zainteresowanie generują tzw. badania asocjacyjne całego transkryptomu

(ang. Transcriptome-Wide Association Study, TWAS) [3]. Ich celem jest identyfikacja zależności pomiędzy genetycznie regulowaną ekspresją genów i chorobą lub cechą, co pozwala na poznanie działania poszczególnych genów i sposób ich regulacji. Chodzi więc o wykorzystanie ekspresji genów jako fenotypu i dalszą ocenę wpływu polimorfizmów DNA na ich ekspresję oraz na fenotyp samej choroby.

Analizy TWAS integrują więc badania GWAS z badaniami ekspresji genów w wybranych tkankach, gdzie możemy zaobserwować patofizjologię danej choroby. W przypadku astmy jest to więc w szerszym kontekście płuco, a w spojrzeniu szczegółowym konkretny typ komórki, czyli np. nabłonek dróg oddechowych lub mięśnie gładkie układu oddechowego.

Konkretny typ tkanki stosowany w badaniach jest więc zarówno zaletą (poznajemy zmiany funkcjonalne w materiale docelowym), jak i wadą, gdyż aby uzyskać dany materiał konieczne są często inwazyjne procedury, np. biopsja lub bronchoskopia. Dużo łatwiejsze są badania na mniej inwazyjnym materiale, tj. nabłonku dróg oddechowych pochodzącym z nosa, ale należy upewnić się czy materiał alternatywny jest zbliżony do docelowego. W tym przypadku,

Słowa kluczowe:
GWAS, ekspresja genów, nabłonek dróg oddechowych

Key words:
GWAS, gene expression, airway epithelium

nabłonek nosa zawiera te same typy komórek co nabłonek oskrzeli i jest narażony na te same czynniki środowiskowe.

TWAS w astmie

Jednym z największych i zarazem najnowszych badań TWAS w astmie jest badanie Sajuthi i wsp. z 2022 roku [4]. Autorzy wykorzystali w swoich analizach dane z sekwencjonowania całego genomu i transkryptomu w nabłonku dróg oddechowych z nosa 434 dzieci z astmą i 247 dzieci zdrowych. Badacze zidentyfikowali 34725 niezależnych wariantów genetycznych, które wykazały związek z ekspresją 13807 genów, co oznacza iż 81% genów ulegających ekspresji w nabłonku nosa jest w jakiś sposób regulowana genetycznie.

Zaawansowana analiza bioinformatyczna, wykorzystująca dane GWAS pacjentów z astmą dziecięcą i astmą dorosłych pochodzące z Biobanku Zjednoczonego Królestwa (ang. UK Biobank), pozwoliła na identyfikację 93 istotnych transkryptomycznie genów w astmie dziecięcej (m.in. receptory interleukin: IL1R2, IL7R, IL4R, geny STAT5A, CRHR1-IT1, MUC16, czynnik transkrypcyjny FOXA3, locus 17q21 z genami GSDMA, GSDMB, IKZF3) i 21 genów w astmie dorosłych (m.in. mucyny MUC2, MUC5AC), z czego 12 genów było wspólnych (m.in. receptor interleukiny 18 IL18R1, interleukina 33 i limfopoetyna zrębu grasicy, TSLP). Analizy TWAS wykorzystujące inny materiał (np. płuco) nie były w stanie zidentyfikować 58 z tych genów, co świadczy o tym jak duży udział w rozwoju choroby ma zmieniona ekspresja w nabłonku dróg oddechowych.

Cytokiny Th2

IL33 była najistotniejszym genem związanym z rozwojem astmy dorosłych i drugim najważniejszym w przypadku astmy dziecięcej. Jej rolą jest aktywacja wrodzonej odpowiedzi immunologicznej oraz wywołanie odpowiedzi Th2-zależnej poprzez interakcję z receptorem ST2 i ko-receptorem IL-1RAcP [5]. W badaniach wielokrotnie wykazywała związek z astmą i korelację z ciężkością tej choroby [6, 7].

Białko TSLP ulegało ekspresji w obu typach astmy, co zgadza się z dotychczasowymi doniesieniami literaturowymi. TSLP może bowiem ulegać aktywacji przez cytokiny prozapalne Th2, a poprzez komórki dendrytyczne stymulować różnicowanie komórek CD4+ T w limfocyty Th2 [8, 9]. Nadekspresja TSLP w płucach powoduje rozwój ciężkiego stanu zapalnego i nadaktywności oskrzeli [10].

Co ciekawe, obydwa białka okazały się istotne jedynie w analizach nabłonka dróg oddechowych, co sugeruje że to właśnie w tym miejscu wywierają one największy efekt na rozwój choroby.

Locus 17q21

Najsilniejszą asocjację z astmą dziecięcą wykazał gen GSDMB kodujący białko gasderminę B. Polimorfizmy tego genu związane są z ciężkością astmy i częstszymi zaostrzeniami [11]. Sama funkcja gasderminy B została odkryta stosunkowo niedawno: jest odpowiedzialna za nadreaktywność oskrzeli i remodeling, nawet w przypadku braku obecności stanu zapalnego [12]. GSDMB indukuje bowiem TGF-β1 poprzez wpływ na 5-lipooksygenazę (ALOX5). Polimorfizmy w obrębie genu ALOX5 są związane ze zwiększoną produk-

cją leukotrientów i gorszą funkcją płuc [13]. Z kolei, TGF-β1 bierze udział w remodelingu dróg oddechowych i indukuje włóknienie nabłonka [14].

Co ciekawe, trzeci gen wykazujący największą asocjację z astmą dziecięcą to IKZF3 (ang. IKAROS Family Zinc Finger 3), kodujący czynnik transkrypcyjny odpowiedzialny za regulację proliferacji limfocytów B. Pochodzi on prawdopodobnie nie z samego nabłonka, ale z komórek układu immunologicznego, pobranych w trakcie wykonywania wymazu.

Mucyny

Dwa unikalne dla astmy dorosłej geny to geny kodujące mucyny: MUC2 i MUC5AC. Co ciekawe, badacze zauważyli, iż polimorfizm rs12788104, odpowiedzialny za nasiloną ekspresję MUC2 i MUC5AC kolokalizuje z sygnałem z GWASów powiązanych z astmą dorosłych. Obydwa geny są więc prawdopodobnie związane z predyspozycją do zachorowania. MUC5AC jest glikoproteiną wchodzącą w skład śluzu, chroniącego drogi oddechowe przed infekcją i uszkodzeniami chemicznymi [15]. Jej ekspresja jest znacznie wyższa u osób chorych na astmę Th2-zależną, zapewne dlatego, iż jest indukowana przez IL13 [16]. Niewiele natomiast wiadomo o MUC2 w kontekście astmy, gdyż występuje ona głównie w nabłonku jelit.. Co ciekawe, leukotrieny D4 mogą zwiększać jej ekspresję [17]

Dalsze analizy bioinformatyczne wykazały związek genotypu GG polimorfizmu rs12788104 z astmą o wysokim stężeniu cytokin Th2 i genotypu AA z astmą o niskim stężeniu cytokin. Eksperymenty in vitro na organoidach uzyskanych z modelu komórkowego ALI (ang. air-liquid interface) zróżnicowanego nabłonka dróg oddechowych od dawców o obu genotypach wykazały znacząco większą ilość komórek kubkowych w hodowlach dawców o genotypach GG. Analiza śluzu wydzielanego przez komórki wykazała natomiast 4,6-krotne wyższe stężenia białka MUC5AC w komórkach o genotypie GG w porównaniu do komórek AA. Co ciekawe, allel ryzyka astmy rs12788104-G wykazał dodatkowo związek z siedmioma innymi genami, z czego trzy z nich – AGR2, BHLHA15 i FKBP11 – zostały także powiązane z mechanizmem wydzielania śluzu.

FOXA3

Intrygującym odkryciem okazał się czynnik transkrypcyjny FOXA3. Stan zapalny Th2-zależny indukuje ekspresję tego czynnika powodując transformację oskrzelikowych komórek maczugowatych w komórki kubkowe.

Analizy badaczy wykazały, iż polimorfizm rs8103278 wpływający na ekspresję FOXA3 kolokalizuje z locus z GWAS związanym z astmą dziecięcą. Allel ryzyka astmy rs8103278-G wykazał asocjację z innymi genami o zwiększonej ekspresji: BPIFB2, CLCA1, CLCA2, TFF1. Geny te związane są ze zwiększoną produkcją śluzu wywoływanej przez IL13. Eksperymenty in vitro na komórkach nabłonka dróg oddechowych o genotypie rs8103278 GG i rs8103278 AA potwierdziły, iż po stymulacji IL13 ekspresja FOXA3 spada, natomiast w komórkach niestymulowanych i komórkach o genotypie GG stężenie FOXA3 rośnie.

FOXA3 był dotychczas analizowany w niewielu pracach poświęconych astmie, zapewne ze względu na sprzeczne

doniesienia: w modelu zwierzęcym jego nadekspresja nie wykazała wpływu na zwiększenie ilości komórek kubkowych, z kolei w innych badaniach wykazał wysoką ekspresję u pacjentów z astmą i zwiększone różnicowanie nabłonka w komórki produkujące śluz [18, 19].

Inne badanie

Chociaż niniejsza praca skupia się głównie na najnowszym doniesieniu w tej dziedzinie, warto oczywiście wspomnieć, iż nie jest ono jedynym. Praca Hao i wsp. łączy dane z GWASów z danymi o ekspresji genów z płuc [20]. Istotny okazał się związek allelu T w polimorfizmie rs7216389 z czterema genami: ORMDL3, GSDMA, GSDMB i CRKRS. W pracy tej autorzy skupili się głównie na poszukiwaniu sieci genów, które są głównymi regulatorami astmy, wylaniając 6 genów (CCL2, SOCS3, CXCL2, IL1-B, CXCR3 i CD200R1) mających największy wpływ na geny kontrolujące astmę, tj. ACP1, CCL5, CCL11, CCR5, IL1A, IL1RN, IL8, IL12B, IL12RB1, IRF1, LTA, VCAM1 i TNF. Zidentyfikowali także, iż z dużym prawdopodobieństwem największy wpływ na predyspozycję astmy

na chromosomie 2q12 ma gen IL1R1, a na chromosomie 17q21 gen GSDMA.

Podsumowanie

Badania asocjacyjne całego transkryptomu integrują wyniki GWAS z ekspresją genów w tkankach objętych zmianami chorobowymi. Dzięki nim możliwa jest identyfikacja genów, na których ekspresję istotnie wpływają polimorfizmy powiązane z chorobą. Najnowsze analizy nie tylko potwierdziły istotność białek, które są już analizowane w kontekście leków biologicznych (IL33 czy TSLP), ale wskazały geny odpowiedzialne za produkcję i skład śluzu jako bardzo istotne w patofizjologii astmy (MUC5AC, MUC 2, FOXA3). Wskazuje to na konieczność nadania kontekstu badaniom genomowych poprzez analizę zmian w transkryptomie w poszczególnych tkankach. Należy również wziąć pod uwagę analizę nie tylko całych narządów, jak płuco, ale też wchodzących w jego skład poszczególnych tkanek i komórek, które w analizie ogólnej mogą stanowić niewielki procent i w rezultacie zostaną pominięte, kiedy to być może właśnie w nich zachodzą kluczowe procesy chorobotwórcze. ■

Prace nadesłano
21.11.2022
Zaakceptowano do
druku 25.11.2022

Konflikt interesów nie występuje.
Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednolicenymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

Piśmiennictwo: 1. Han Y, Jia Q, Jahani PS, Hurrell BP, Pan C, Huang P, et al. Genome-wide analysis highlights contribution of immune system pathways to the genetic architecture of asthma. *Nat Commun.* 2020;11(1):1776. 2. Li B, Ritchie MD. From GWAS to Gene: Transcriptome-Wide Association Studies and Other Methods to Functionally Understand GWAS Discoveries. *Front Genet.* 2021;12:713230. 3. Wainberg M, Sinnott-Armstrong N, Mancuso N, Barbeira AN, Knowles DA, Golan D, et al. Opportunities and challenges for transcriptome-wide association studies. *Nat Genet.* 2019;51(4):592-9. 4. Sajuthi SP, Everman JL, Jackson ND, Saef B, Rios CL, Moore CM, et al. Nasal airway transcriptome-wide association study of asthma reveals genetically driven mucus pathobiology. *Nat Commun.* 2022;13(1):1632. 5. Saikumar Jayalatha AK, Hesse L, Ketelaar ME, Koppelman GH, Nawijn MC. The central role of IL-33/IL-1R1 pathway in asthma: From pathogenesis to intervention. *Pharmacol Ther.* 2021;225:107847. 6. Momen T, Ahanchian H, Reisi M, Shamsdin SA, Shahsanai A, Keivanfar M. Comparison of Interleukin-33 Serum Levels in Asthmatic Patients with a Control Group and Relation with the Severity of the Disease. *Int J Prev Med.* 2017;8:65. 7. Prefontaine D, Lajoie-Kadach S, Foley S, Audusseau S, Olivenstein R, Halayko AJ, et al. Increased expression of IL-33 in severe asthma: evidence of expression by airway smooth muscle cells. *J Immunol.* 2009;183(8):5094-103. 8. West EE, Kashyap M, Leonard WJ. TSLP: A Key Regulator of Asthma Pathogenesis. *Drug Discov Today Dis Mech.* 2012;9(3-4). 9. Soumelis V, Reche PA, Kanzler H, Yuan W, Edward G, Homey B, et al. Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing TSLP. *Nat Immunol.* 2002;3(7):673-80. 10. Zhou B, Comeau MR, De Smedt T, Liggitt HD, Dahl ME, Lewis DB, et al. Thymic stromal lymphopoietin as a key initiator of allergic airway inflammation in mice. *Nat Immunol.* 2005;6(10):1047-53. 11. Li X, Christenson SA, Modena B, Li H, Busse WW, Castro M, et al. Genetic analyses identify GSDMB associated with asthma severity, exacerbations, and antiviral pathways. *J Allergy Clin Immunol.* 2021;147(3):894-909. 12. Das S, Miller M, Beppu AK, Mueller J, McGeough MD, Vuong C, et al. GSDMB induces an asthma phenotype characterized by increased airway responsiveness and remodeling without lung inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016;113(46):13132-7. 13. Mougey E, Lang JE, Allayee H, Teague WG, Dozor AJ, Wise RA, et al. ALOX5 polymorphism associates with increased leukotriene production and reduced lung function and asthma control in children with poorly controlled asthma. *Clin Exp Allergy.* 2013;43(5):512-20. 14. Duvernelle C, Freund V, Frossard N. Transforming growth factor-beta and its role in asthma. *Pulm Pharmacol Ther.* 2003;16(4):181-96. 15. Bonser LR, Erle DJ. Airway Mucus and Asthma: The Role of MUC5AC and MUC5B. *J Clin Med.* 2017;6(12). 16. Zhen G, Park SW, Ngyuyenvu LT, Rodriguez MW, Barbeau R, Paquet AC, et al. IL-13 and epidermal growth factor receptor have critical but distinct roles in epithelial cell mucin production. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2007;36(2):244-53. 17. Suzuki S, Takeuchi K, Ishinaga H, Basbaum C, Majima Y. Leukotriene D4 upregulates MUC2 gene transcription in human epithelial cells. *Pharmacology.* 2008;81(3):221-8. 18. Park SW, Verhaeghe C, Ngyuyenvu LT, Barbeau R, Easley CJ, Nakagami Y, et al. Distinct roles of FOXA2 and FOXA3 in allergic airway disease and asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;180(7):603-10. 19. Chen G, Korfhagen TR, Karp CL, Impey S, Xu Y, Randell SH, et al. Foxa3 induces goblet cell metaplasia and inhibits innate antiviral immunity. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014;189(3):301-13. 20. Hao K, Bosse Y, Nickle DC, Pare PD, Postma DS, Laviolette M, et al. Lung eQTLs to help reveal the molecular underpinnings of asthma. *PLoS Genet.* 2012;8(11):e1003029.

Piśmiennictwo ze str. 21: 1. Kim JH. The Emerging Role of TRPV1 in Airway Inflammation. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2018;10(3):187-8. 10.4168/air.2018.10.3.187. 2. Cheng Y, TRPV1 and Piezo: the 2021 Nobel Prize in Physiology or Medicine. *UCR J.* 2022;9(P1):4-5. 10.1107/S2052252521013488. 3. Xiao T, Sun M, Kang J, Zhao C. Transient Receptor Potential Vanilloid1 (TRPV1) Channel Opens Sesame of T Cell Responses and T Cell-Mediated Inflammatory Diseases. *Front Immunol.* 2022;13:870952. 10.3389/fimmu.2022.870952. 4. Gronenberg DA, Niimi A, Dinh QT, Cosio B, Hew M, Fischer A, et al. Increased expression of transient receptor potential vanilloid-1 in airway nerves of chronic cough. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;170(12):1276-80. 10.1164/rccm.200402-1740C. 5. McLeod RL, Fernandez X, Correll CC, Phelps TP, Jia Y, Wang X, et al. TRPV1 antagonists attenuate antigen-provoked cough in ovalbumin sensitized guinea pigs. *Cough.* 2006;2:10. 10.1186/1745-9974-2-10. 6. Caterina MJ, Julius D. The vanilloid receptor: a molecular gateway to the pain pathway. *Annu Rev Neurosci.* 2001;24:487-517. 10.1146/annurev.neuro.24.1.487. 7. Vangeel L, Voets T. Transient Receptor Potential Channels and Calcium Signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2019;11(6). 10.1101/cshperspect.a035048. 8. Holzer P. The pharmacological challenge to tame the transient receptor potential vanilloid-1 (TRPV1) nociceptor. *Br J Pharmacol.* 2008;155(8):1145-62. 10.1038/bjp.2008.351. 9. Julius D. TRP channels and pain. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2013;29:355-84. 10.1146/annurev-cellbio-101011-155833. 10. Cao E, Cordero-Morales JF, Liu B, Qin F, Julius D. TRPV1 channels are intrinsically heat sensitive and negatively regulated by phosphoinositide lipids. *Neuron.* 2013;77(4):667-79. 10.1016/j.neuron.2012.12.016. 11. Seki N, Shirasaki H, Kikuchi M, Sakamoto T, Watanabe N, Himi T. Expression and localization of TRPV1 in human nasal mucosa. *Rhinology.* 2006;44(2):128-34. 12. Majhi RK, Sahoo SS, Yadav M, Pratheek BM, Chattopadhyay S, Goswami C. Functional expression of TRPV1 channels in T cells and their implications in immune regulation. *FEBS J.* 2015;282(14):2661-81. 10.1111/febs.13306. 13. Andresen MC. Understanding diverse TRPV1 signaling - an update. *F1000Res.* 2019;8. 10.12688/f1000research.20795.1. 14. Cantero-Recasens G, Gonzalez JR, Fandos C, Duran-Iauleria E, Smit LA, Kauffmann F, et al. Loss of function of transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) genetic variant is associated with lower risk of active childhood asthma. *J Biol Chem.* 2010;285(36):27532-5. 10.1074/jbc.C110.159491. 15. Wang Q, Bai X, Xu D, Xu D, Li H, Fang J, et al. TRPV1 UTR-3 polymorphism and susceptibility of childhood asthma of the Han Nationality in Beijing. *Wei Sheng Yan Jiu.* 2009;38(5):516-21. 16. Doherty MJ, Mister R, Pearson MG, Calverley PM. Capsaicin responsiveness and cough in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax.* 2000;55(8):643-9. 10.1136/thorax.55.8.643. 17. Hathaway TJ, Higenbottam TW, Morrison JF, Clelland CA, Wallwork J. Effects of inhaled capsaicin in heart-lung transplant patients and asthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis.* 1993;148(5):1233-7. 10.1164/ajrccm/148.5.1233. 18. Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Faster rise of exhaled breath temperature in asthma: a novel marker of airway inflammation? *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165(2):181-4. 10.1164/ajrccm.165.2.2103053. 19. Hunt JF, Fang K, Malik R, Snyder A, Malhotra N, Platts-Mills TA, et al. Endogenous airway acidification. Implications for asthma pathophysiology. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161(3 Pt 1):694-9. 10.1164/ajrccm.161.3.9911005. 20. Wenzel SE. Arachidonic acid metabolites: mediators of inflammation in asthma. *Pharmacotherapy.* 1997;17(1 Pt 2):3S-12S. 21. McGarvey LP, Butler CA, Stokesberry S, Polley L, McQuaid S, Abdullah H, et al. Increased expression of bronchial epithelial transient receptor potential vanilloid 1 channels in patients with severe asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133(3):704-12 e4. 10.1016/j.jaci.2013.09.016. 22. Sachs D, Cunha FQ, Poole S, Ferreira SH. Tumour necrosis factor-alpha, interleukin-1beta and interleukin-8 induce persistent mechanical nociceptor hypersensitivity. *Pain.* 2002;96(1-2):89-97. 10.1016/s0304-3959(01)00433-x. 23. Choi JY, Lee HY, Hur J, Kim KH, Kang JY, Rhee CK, et al. TRPV1 Blocking Alleviates Airway Inflammation and Remodeling in a Chronic Asthma Murine Model. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2018;10(3):216-24. 10.4168/air.2018.10.3.216. 24. Nakagawa H, Hiura A. Four Possible Itching Pathways Related to the TRPV1 Channel, Histamine, PAR-2 and Serotonin. *Malays J Med Sci.* 2013;20(4):5-12. 25. Shim WS, Tak MH, Lee MH, Kim M, Kim M, Koo JY, et al. TRPV1 mediates histamine-induced itching via the activation of phospholipase A2 and 12-lipoxygenase. *J Neurosci.* 2007;27(9):2331-7. 10.1523/JNEUROSCI.4643-06.2007. 26. Park CW, Kim BJ, Lee YW, Won C, Park CO, Chung BY, et al. Asivatrep, a TRPV1 antagonist, for the topical treatment of atopic dermatitis: Phase 3, randomized, vehicle-controlled study (CAPTAIN-AD). *J Allergy Clin Immunol.* 2022;149(4):1340-7 e4. 10.1016/j.jaci.2021.09.024. 27. Alenmyr L, Hogestatt ED, Zygmunt PM, Greiff L. TRPV1-mediated itch in seasonal allergic rhinitis. *Allergy.* 2009;64(5):807-10. 10.1111/j.1398-9995.2009.01937.x. 28. Alenmyr L, Greiff L, Andersson M, Sterner O, Zygmunt PM, Hogestatt ED. Effect of mucosal TRPV1 inhibition in allergic rhinitis. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2012;110(3):264-8. 10.1111/j.1742-7843.2011.00803.x