

Immunoterapia alergenowa - mechanizmy indukcji tolerancji na alergen

Prof. dr hab. n. med.
Witold Lasek

Zakład Immunologii
Centrum Biostruktury
Warszawski UM

Kierownik Zakładu:
Prof. dr hab. n. med. Jakub
Gołąb

I M M U N O L O G I A

Allergen-specific immunotherapy - mechanisms of induction of tolerance to allergen

S U M M A R Y

Allergen-specific immunotherapy represents the potentially curative and specific method of treatment in selected patients with inhalant allergies, and especially effective in prevention of anaphylaxis in individuals allergic to venoms of hymenoptera insects. Successful immunotherapy is accompanied by the suppression of Th2 cells, diminished number and function of eosinophils and mast cells as well as increased level of protective “blocking” antibodies, mainly IgG4 and IgA2 subclasses. The most probable key mechanism responsible for a decrease in type I hypersensitivity reactions in patients undergoing allergen-specific immunotherapy is induction of tolerance mediated by regulatory T (Treg) cells and the release of cytokines such as IL-10 and TGF- β by these cells.

Immunoterapia alergenowa stanowi metodę leczenia alergii, skuteczną u wyselekcjonowanych pacjentów z alergiami wziewnymi, rekomendowaną także pacjentom uczulonym na jady owadów błonkoskrzydłych, u których może zapobiec anafilaksji po przypadkowym użądleniu. Skuteczność immunoterapii związana jest z supresją limfocytów Th2, osłabieniem funkcji eozynofilów i komórek tucznych, jak również ze stymulacją wytwarzania „blokujących” przeciwciał, szczególnie podklas IgG4 i IgA2. Postuluje się, że kluczowym mechanizmem hamowania reakcji nadwrażliwości typu I u pacjentów poddanych immunoterapii alergenowej jest indukcja tolerancji wynikająca z aktywacji limfocytów T regulatorowych (Treg) i wydzielanych przez nie cytokin takich, jak IL-10 i TGF- β .

Lasek W.: Immunoterapia alergenowa - mechanizmy indukcji tolerancji na alergen. *Alergia*, 2013, 1: 31-34



Immunoterapia alergenowa (allergen-specific immunotherapy) stanowi jedyne postępowanie profilaktyczno-terapeutyczne, skuteczne w wielu przypadkach alergii. Co więcej, udowodniono, że u pacjentów poddanych immunoterapii oprócz złagodzenia objawów lub wyleczenia konkretnej alergii, ryzyko nabycia kolejnego uczulenia w sposób istotny maleje. Niedawno minęło 100 lat od ustalenia podstawowych reguł jej stosowania (1).

W czasie ustalenia pierwszego zastosowania immunoterapii alergenowej poziom wiedzy o zjawiskach immunologicznych był znikomy, twórcy tej metody jednak trafnie intuicyjnie wprowadzili 2 podstawowe zasady: podawania wzrastających dawek źródła alergenu (konkretnie wodnego wyciągu pyłku roślinnego) w określonych interwałach czasowych (1-2 tygodnie) (2, 3).

Immunoterapia alergenowa jest najskuteczniejsza i szczególnie rekomendowana osobom uczulonym na jady owadów błonkoskrzydłych (pszczoły, osy), u których ujawniły się objawy anafilaksji w konsekwencji użądlenia (4). Jest również zalecana w alergiach wziewnych – u pacjentów uczulonych na pyłki roślin i sierść zwierząt. Ze zrozumiałych względów jej skuteczność u pacjentów z zaawansowanymi postaciami astmy, z utrwalonymi zmianami wytwórczymi, jest ograniczona.

W miarę odkrywania praw rządzących zjawiskami nadwrażliwości typu I starano się wyjaśniać mechanizmy korzystnego działania immunoterapii alergenowej. Obecnie uznaje się, że kluczem do sukcesu tej formy leczenia jest indukowanie alergenowo-swoistych limfocytów o funkcji regulatorowej (supresyjnej) (5, 6).

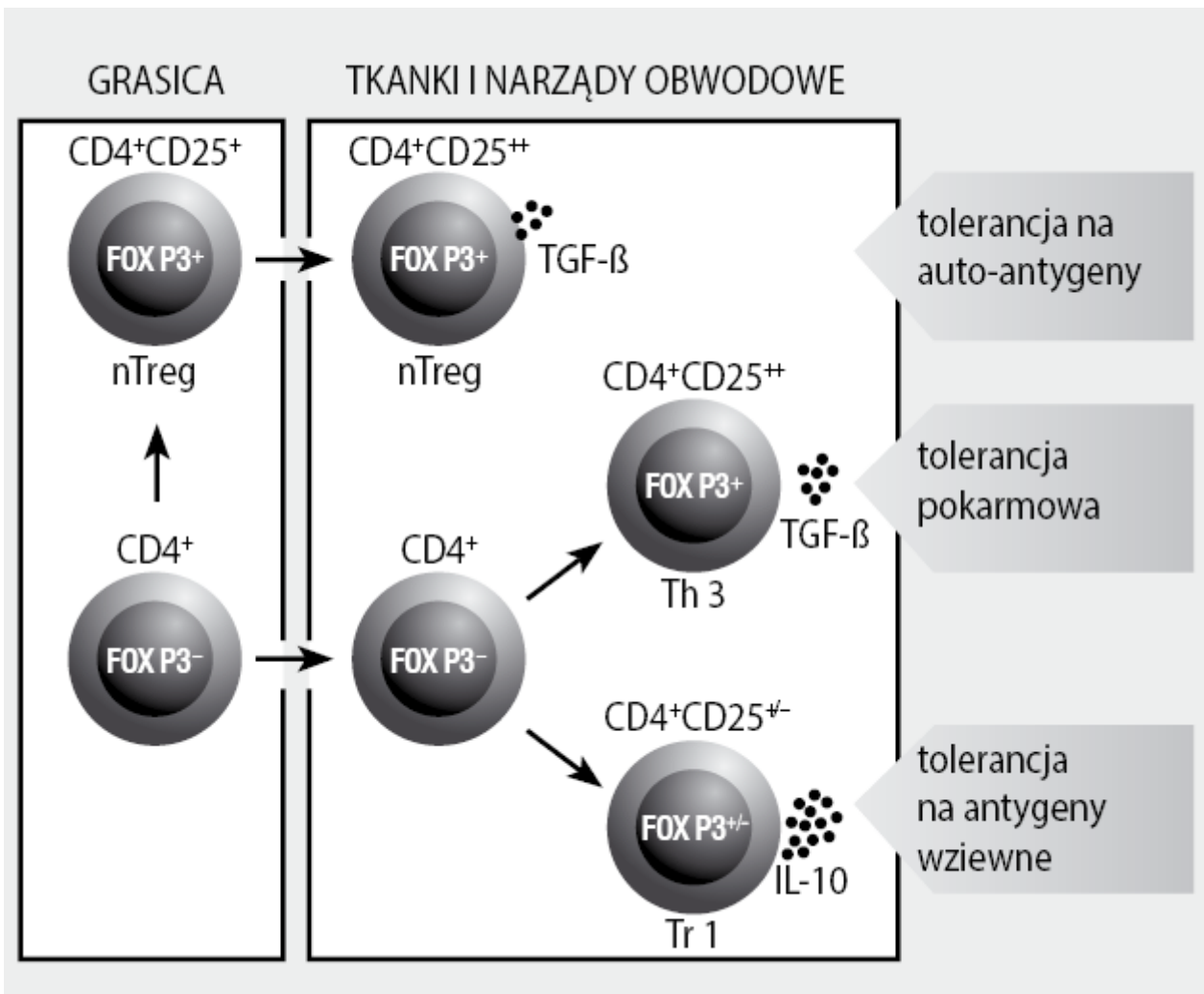
Limfocyty regulatorowe

Funkcje regulatorowe mogą wypełniać zarówno limfocyty B (7) jak i T (8, 9), przy czym te drugie mają dominujące znaczenie i określa się je zbiorczo jako limfocyty T regulatorowe (Treg) (10).

W grupie tej mieszczą się 2 podstawowe populacje:

- tak zwane naturalne limfocyty regulatorowe (nTreg)
- indukowane limfocyty regulatorowe (iTreg, czasami określane adaptywnymi limfocytami regulatorowymi - aTreg) (11, 12) (ryc. 1).

Ryc. 1 Uproszczony schemat rozwoju i rodzaje limfocytów T regulatorowych



Naturalne limfocyty regulatorowe

nTreg, jak nazwa wskazuje, działają hamująco na odpowiedź immunologiczną niejako „z marszu”, bez wcześniejszego pobudzenia. Są limfocytami CD4⁺, osiągają pełną gotowość funkcjonalną w grasicy i cechują się wysoką ekspresją cząsteczki CD25⁺ (podjednostka α receptora dla IL-2), a ich funkcjonalnym markerem jest wewnątrzkomórkowa cząsteczka FOXP3 (forkhead box P3) (10). Wywierają efekt supresyjny przez bezpośrednie oddziaływanie na komórkę docelową i – co istotne – działanie to rozprzestrzenia się na komórki sąsiadujące.

Najważniejszą rolą nTreg jest tłumienie reakcji układu odpornościowego w stosunku do autoantygenów, czyli, ogólnie mówiąc, zabezpieczają nas przed autoagresją.

Indukowane limfocyty regulatorowe

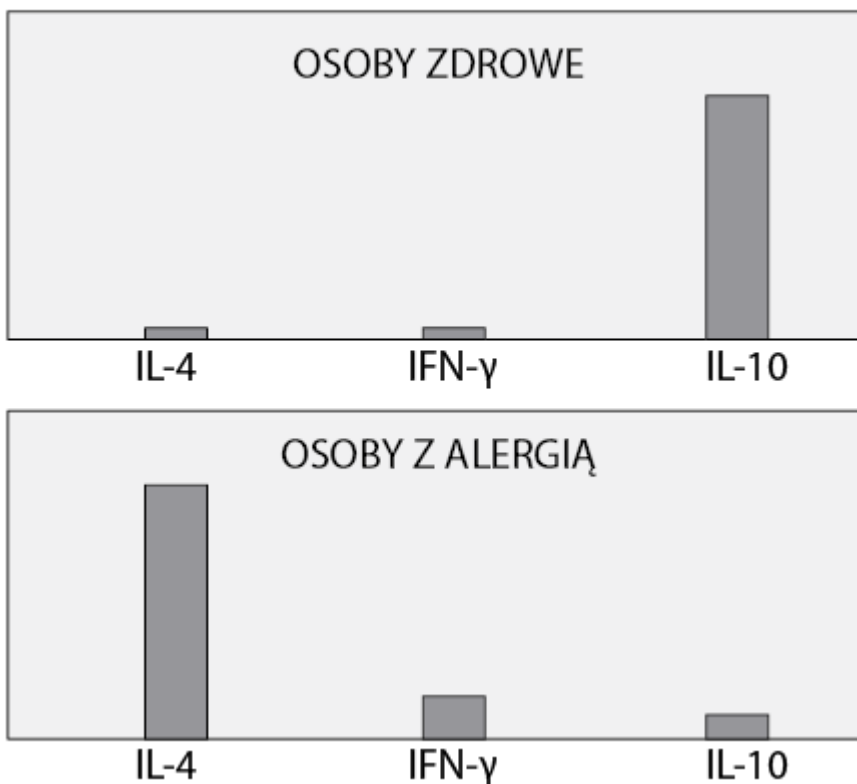
Limfocyty iTreg zawierają dwie główne subpopulacje: limfocyty Th3 i Tr1. Obie rozwijają się z limfocytów Th0, a efekt supresyjny w ich przypadku wynika z wytwarzanych cytokin – oddziałują hamująco na różne populacje limfocytów B i T, zarówno efektorowych jak i pamięci, komórki NK, ale także na inne komórki, na przykład prezentujące antygen. Limfocyty Th3 powstają w warunkach dużego stężenia w mikrośrodkowisku transformującego czynnika wzrostu β (TGF-β) i – podobnie jak nTreg – ich markerem jest FOXP3 (13). Gdy są w pełni dojrzałe, wydzielają duże ilości TGF-β. Odgrywają bardzo ważną rolę w układzie pokarmowym, broniąc organizm przed niepotrzebnymi reakcjami odpornościowego w stosunku do antygenów pokarmowych i, prawdopodobnie, utrzymując stan tolerancji na bardzo liczną w jelicie grubym fizjologiczną florę bakteryjną. Limfocyty regulatorowe Tr1 są komórkami z reguły FOXP3⁻, sprzyjająco na ich rozwój w mikrośrodkowisku działa przede wszystkim IL-27, a za ich supresyjne oddziaływanie

odpowiedzialna jest wytwarzana przez nie w dużych ilościach IL-10 (14, 15). Wewnątrzkomórkowym znacznikiem funkcjonalnym tej populacji jest AHR (aryl hydrocarbon receptor). Coraz więcej dowodów wskazuje, że limfocyty Tr1 bronią nas między innymi przed nadmiernymi reakcjami w stosunku do alergenów, w tym aeroalergenów.

Odpowiedź na alergeny w warunkach zdrowia

Może się to wydawać zaskakujące, ale niezależnie od tego, czy ktoś jest uczulony czy nie, układ odpornościowy identyfikuje alergeny w sposób swoisty – włączane są mechanizmy odpowiedzi immunologicznej (16). Istnieją jednak zasadnicze różnice w jakości i nasileniu tej odpowiedzi. We wczesnym dzieciństwie rozpoznanie aeroalergenów skutkuje przejściowym nieznacznym wzrostem IgE w surowicy i stabilizacją na niskim poziomie u przeważającej większości dzieci. U części jednak poziom IgE progresywnie wzrasta, co idzie zazwyczaj w parze z ujawnieniem się z czasem objawów alergii (17). W warunkach fizjologicznych u osoby zdrowej rozpoznanie alergenu, dzięki wykształceniu zjawiska tolerancji i obecności limfocytów Treg, blokowane jest przez mechanizmy efektorowe odpowiedzi przeciwko alergenom (16). Natomiast u alergików każdy ponowny kontakt z alergenem utrwała patologiczne reakcje nadwrażliwości, koordynowane przez coraz bardziej zróżnicowane limfocyty pomocnicze Th2 (18) (ryc. 2). Prowadzi to do nasilania objawów uczulenia.

Ryc. 2 Liczba alergenowo-swoistych limfocytów T we krwi wytwarzających odpowiednie cytokiny (5)



Mechanizmy immunoterapii alergenowej

Badania skuteczności immunoterapii alergenowej dotyczą przede wszystkim pacjentów po zastosowaniu najpowszechniej akceptowanego wariantu – immunoterapii podskórnej (SCIT – subcutaneous immunotherapy). W wielu pracach uzyskano zbieżne wyniki

wpływu odczulania na parametry immunologiczne, aczkolwiek nie zawsze skuteczność immunoterapii koreluje z wystąpieniem konkretnego zjawiska immunologicznego. Kontrowersje dotyczą zwłaszcza tak zwanych przeciwciał blokujących, w tym IgG4. Wydaje się, że różne mechanizmy immunologiczne odgrywają różną rolę w korzystnym efekcie odczulania w zależności od tego, czy badane są na początku, pod koniec, czy też po zakończeniu immunoterapii lub w fazie podtrzymującej.

Wpływ na wytwarzanie przeciwciał: IgG, IgE i IgA

W początkowej fazie podawania szczepionek alergenowych obserwuje się zazwyczaj nieznaczne podwyższenie poziomu swoistych przeciwciał IgE, który z czasem u części chorych po miesiącach terapii obniża się. Jednocześnie obserwuje się dosyć szybki przyrost swoistych przeciwciał IgG: IgG1, a zwłaszcza IgG4 (19, 20). Przyrost ten może być kilkudziesięciokrotny i – jak wskazują badania *in vitro* – jest związany prawdopodobnie z oddziaływaniem IL-10, wytwarzanej przez limfocyty Tr1 i być może inne komórki (21, 22). IgG4 jest podklasą przeciwciał IgG o właściwościach przeciwzapalnych (38): przeciwciała te nie aktywują dopełniacza, słabo się wiążą z receptorami FcR i hamują tworzenie kompleksów immunologicznych. IgG4 działają jako przeciwciała blokujące – po ich związaniu alergen nie jest w stanie przyłączyć się do „uzbrajających” komórki tuczne i bazofile przeciwciał IgE i wyzwać degranulację tych komórek (5). Przeciwciała IgG4, a także IgG z innych podklas, mogą działać korzystnie osłabiając aktywację limfocytów T przez limfocyty B. Wiążąc za pomocą FcεRII kompleksy alergen-IgE, w zjawisku określanym FAB (facilitated allergen binding), limfocyty B uzyskują zdolność prezentowania wychwyconego alergenu limfocytom T; surowice pacjentów po immunoterapii alergenowej blokują to zjawisko (24).

Trzeba jednak podkreślić, że w wielu badaniach oceniających skuteczność immunoterapii alergenowej nie obserwuje się korelacji zmniejszania objawów alergii z ilością wytwarzanych IgG4. Z tego względu poziom IgG4 (a także IgE) w surowicy nie jest uznawany za parametr wskaźnikowy powodzenia leczenia.

W przebiegu odczulania obserwuje się w niektórych badaniach również wzrost w surowicy swoistych IgA. Dotyczy to na przykład podklasy IgA2 (25). IgA są typowe dla błon śluzowych. Jest prawdopodobne, że po immunoterapii alergenowej, wyindukowane przeciwciała IgA mogą w części przyczyniać się do korzystnego efektu immunoterapii neutralizując w sezonie część wdychanych porcji alergenów w tkankach i narządach docelowych (26).

Wpływ na limfocyty T

Coraz powszechniej akceptowana jest hipoteza, że jednym z ważniejszych zjawisk immunologicznych, gwarantujących trwałość terapeutyczną immunoterapii alergenowej jest indukcja limfocytów regulatorowych, przede wszystkim Tr1, ale także limfocytów T CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ i odtworzenie stanu tolerancji na alergen, analogicznie jak u osób zdrowych (27). Podawanie podskórne szczepionek alergenowych w leczeniu alergii wziewnych jest procedurą wybitnie „niefizjologiczną”. Po pierwsze, typowy kontakt organizmu z antygenem z powietrza w warunkach naturalnych odbywa się w błonach śluzowych, a nie w skórze, po drugie, depozycja alergenu w naturze nie jest tak masywna. Można założyć, że podany w szczepionce alergen przechwytywany jest przez komórki prezentujące antygen (dendrytyczne) w skórze, które po dotarciu do regionalnego węzła limfatycznego inicjują odpowiedź immunologiczną (14). Ponieważ podczas indukcji alergenowo-swoistych limfocytów T i B nie jest przekazywany sygnał zagrożenia („danger signal”), to preferencyjnie stymulowane są komórki regulatorowe i indukowana tolerancja. Powstałe (i ciągle powstające w trakcie kolejnych iniekcji) klony limfocytów regulatorowych przedostają się na obwód docierając do różnych tkanek, w tym

do błon śluzowych układu oddechowego, gdzie dochodzi do ich oddziaływania na mniej lub bardziej utrwalone mechanizmy nadwrażliwości typu I i alergeno-swoiste limfocyty Th2 (27).

Z oczywistych względów (dostępność próbki) wpływ podawania szczepionek alergicznych na limfocyty regulatorowe badany jest na podstawie limfocytów krwi.

Stwierdzono, że już po kilku tygodniach wykształca się funkcjonalna pula limfocytów Tr1 IL-10-dodatnich oddziałująca hamująco na alergeno-swoiste limfocyty T efektorowe, głównie Th2 (27).

W badaniach in vitro wykazano, że limfocyty regulatorowe hamują stymulowaną przez alergen proliferację komórek efektorowych (CD4+CD25-) i zdolność wytwarzania cytokin proalergicznych. W dłuższym okresie czasu liczebność limfocytów Tr1 we krwi maleje, co jest być może związane z ich redystrybucją bądź z zaangażowaniem w mechanizmy supresyjne innych komórek regulatorowych, na przykład limfocytów T CD4+CD25+FOXP3+ (21).

Indukowanie przez immunoterapię alergenową limfocytów regulatorowych obejmuje tylko niewielką, swoistą pulę limfocytów o działaniu supresyjnym, stąd też określanie liczby i właściwości limfocytów Treg we krwi może dawać niespójne wyniki i nie musi zawsze korelować z efektem klinicznym. Warto jednak dodać, że efekt hamujący pojedynczych klonów limfocytów Treg może rozciągać się na limfocyty T efektorowe, w tym limfocyty Th2 o różnych swoistościach (28).

23537.jpg

Indukowane w wyniku zastosowania immunoterapii limfocyty Treg działają ochronnie prawdopodobnie we wszystkich okolicach organizmu, w tym w tkankach dotkniętych alergią (oskrzela, spojówki, jama nosowa), dzięki preferencyjnej migracji związanej z ujawnianiem się na powierzchni tych komórek receptorów dla chemokin (CCR4, 5, 6, 8, 10), a także innych receptorów zasiedlania (12, 18). Zwiększoną liczbę komórek CD4+CD25+FOXP3+, limfocytów wytwarzających IL-10 i TGF- β stwierdzono zarówno w modelu zwierzęcym, jak i u pacjentów poddawanych immunoterapii alergenowej (28, 29).

Oddziaływaniem tych komórek tłumaczy się obserwowaną od wielu lat w badaniach parametrów immunologicznych zmniejszoną po immunoterapii aktywność i liczbę limfocytów Th2 w błonach śluzowych i - co częściowo się wiąże z tym faktem - występowanie zjawiska dewiacji immunologicznej, czyli przeważania frakcji alergeno-swoistych limfocytów Th1 wytwarzających IFN- γ (27, 30).

Oslabienie funkcji limfocytów Th2 może wynikać także z innych przyczyn. Stała aktywacja tych komórek jest związana z przekazywaniem im sygnałów stymulujących, między innymi przez komórki dendrytyczne. W mechanizmie tym uczestniczą na przykład cząsteczki TIM-1 (T cell immunoglobulin and mucin domain molecule 1) na powierzchni limfocytów Th2, które przyjmują sygnał aktywujący po związaniu obecnych na komórkach dendrytycznych cząsteczek TIM-4 (31). Okazało się, że szlak ten jest zaburzony w wyniku zastosowania immunoterapii alergenowej - obserwowano zarówno mniejszą ekspresję TIM-1, jak i TIM-4 na odpowiednich komórkach (32).

Na marginesie trzeba dodać, że miejscowy supresyjny efekt limfocytów Treg rozpościera się również na inne, niż limfocyty Th2, komórki nacieku zapalnego, co skutkuje zmniejszeniem dolegliwości alergii już w pierwszym sezonie odczulania oraz spowalnianiem „marszu” alergicznego.

Wpływ na komórki efektorowe: bazofile, komórki tuczne, eozynofile

Immunoterapia alergenowa wywołuje bardzo szybki ochronny efekt, szczególnie w wariacie „rush”, w którym pacjenci uczuleni na jady owadów już po pierwszych dawkach podanych w pierwszej dobie odczulania mają zmniejszone ryzyko wystąpienia anafilaksji po przypadkowym użądleniu. Wynika to ze zjawiska desensytyzacji komórek tucznych i bazofilów. Kontrolowany wyrzut niewielkich (subklinicznych) ilości mediatorów i degranulacja w wyniku iniekcji preparatu alergenu czyni te komórki słabo wrażliwe lub niewrażliwe na „naturalną” dużą porcję jadu (33). Efekt desensytyzacji (zmniejszenie zdolności uwalniania histaminy i wytwarzania IL-4 i IL-13) występuje również po zastosowaniu wariantu „rush” w terapii alergii wziewnych (34).

Po zastosowaniu immunoterapii alergenowej u wielu pacjentów długofalowo dochodzi do ograniczenia funkcji i zmniejszenia liczby nie tylko bazofilów i komórek tucznych, ale także eozynofiliów.

Efekt ten wynika z działania mechanizmów bezpośrednich i pośrednich. Stwierdzono na przykład bezpośrednio blokujące działanie limfocytów T regulatorowych (CD4+CD25+) na komórki tuczne. W wyniku interakcji cząsteczki OX40 na limfocycie z OX40L na komórce tucznej blokowana była zdolność degranulacji tej ostatniej, pomimo stymulacji FcεRI-zależnej (35). Jednym z ważniejszych mechanizmów pośrednich jest natomiast oddziaływanie supresyjne wytwarzanych przez limfocyty regulatorowe cytokin: IL-10 i TGF-β.

Przykładowo:

- **TGF-β bezpośrednio hamuje funkcje komórek tucznych (36).**
- **Z kolei IL-10 wytwarzana przez limfocyty Tr1 ogranicza funkcje limfocytów Th2 i zmniejsza zdolność wydzielania przez te komórki cytokin, takich jak IL-4, IL-5 i IL-13 (22).**

Skutkiem jest wtórne hamowanie czasu przeżycia i aktywności komórek tucznych (na przykład wydzielania histaminy i mediatorów lipidowych) oraz – co wynika przede wszystkim z ograniczenia ilości IL-5 – zmniejszenia liczby, osłabienia funkcji i nacieków eozynofiliów (33, 37). Aktywność proalergiczna komórek tucznych może maleć u niektórych pacjentów, u których immunoterapia alergenem obniża długofalowo poziom IgE. Przeciwciała te bowiem wydłużają przeżycie mastocytów (38), a gęstość receptorów FcεRI na tych komórkach i tym samym efektywność tych komórek jest proporcjonalna do stężenia IgE. Komórki tuczne są komórkami aktywnie modyfikującymi procesy zapalne na poziomie mikrośrodowiska nie tylko poprzez wyrzut mediatorów, ale także poprzez wydzielanie cytokin, np. TNF-α i IL-4 (39). Ograniczenie po immunoterapii liczby i aktywności komórek tucznych, skutkuje wtórnym ograniczeniem stanu zapalnego w tkankach.

Podsumowanie

Immunoterapia alergenowa może trwale wpłynąć na stan kliniczny pacjenta i złagodzić przebieg alergii, a nawet doprowadzić do pełnego wyleczenia. Jest to o tyle ciekawe, że według ustalonych definicji nie jest to leczenie objawowe, ale również nie mieści się w pojęciu klasycznego leczenia przyczynowego. Za efekt terapeutyczny odpowiedzialne są w istocie, występujące wskutek działań нефизjologicznych (przynajmniej, jeśli chodzi o immunoterapię aeroalergii) zmiany funkcji układu odpornościowego przebiegające w długim czasie. Poszczególne mechanizmy regulacyjne i efektorowe występują bądź szybko, w pierwszych dniach leczenia, inne z kolei wymagają wielomiesięcznego (lub kilkuletniego) stosowania odczulania (ryc. 3).

Ryc. 3

Względna
zmiana
parametru
/ zjawiska
(33)

W związku z coraz lepszym rozumieniem tych mechanizmów jest szansa optymalizacji i zwiększenia skuteczności immunoterapii alergenowej (40). Przykładem są próby iniekcji preparatów szczepionek przeciwalergiczných bezpośrednio do węzłów limfatycznych (41, 42) bądź podawanie peptydów wywodzących się z alergenów (28, 43, 44). □

Piśmiennictwo dostępne w redakcji.

[Zamknij](#)

[Drukuj](#)