

Az allergén-specifikus immunterápia 100 éve

A rekombináns allergénekkal végzett immunkezelés lehetőségei és napjainkig elért klinikai eredményei

Dr. Endre László, Heim Pál Gyermekkórház, Központi MÁV Rendelőintézet, Budapest

Történeti előzmények

Plinius (a történetírás „atyja”) szerint a pontuszi Mitriadész király (i. e. 132–63) az akkoriban szokásos mérgezések elleni önvédelem céljából növekvő adagban kígyómérget adott saját magának. Ezt tekinthetjük a hiposzzenibilizáló kezelés első dokumentált leírásának. (Az már teljesen más lapra tartozik, hogy amikor a rómaiak elfoglalták a birodalmát, egy karddal ledöfte magát...).

A napjainkban is használt allergén-specifikus immunkezelést (továbbiakban a nemzetközileg elfogadott rövidítéssel: ASIT) 100 éve írták le először. Nem lenne igazságos azonban, ha megfeledkeznénk ennek a forradalmian új kezelési eljárásnak az előfutáiról.

Alexander Bezredka (1870–1940) Párizsban állatokat immunizált fokozatosan növekvő dózisú allergénekkal, majd a kúra végén már akkora adagban tudott reakciómentesen allergént injiciálni nekik, amekkorától korábban anafilaxiás sokkot kaptak. Az eljárást antianafilaxiás vakcinációnak nevezte el, és eredményeit 1907-ben közölte. (Az „öreg” allergológusok a mai napig „bezredkázásnak” nevezik azt az eljárást, melynek során aránylag rövid időközönként emelik a beadott allergén-injekciók adagját.)

Feltehetően a fiatal *Leonard Noon* (1878–1913) is olvasta ezt a közleményt és innét merítette a bátorságot, hogy hasonló eljárással szénanáthában szenvedő embereknél is megpróbálkozzon. Ehhez először pollen-kivonatokat kellett készítenie, majd azok hígításaival bőrpróbát kellett végeznie, hogy kiterássa a kezdő adagot. A kezelés eredményét a kúra előtt és után a kötőhártyán (ugyanazzal az allergén-kivonattal) végzett provokációval állapította meg. Kedvező eredményeit először 1911 júniusában, a *Lancet*-ben publikálta. Ezt követően (még mindig nagyon fiatalon) tuberkulózisban meghalt.

A tudomány (és a betegek) szerencséjére módszere nem merült a feledés homályába, mert kollégája, *John Freeman* (1877–1962) folytatta az eljárást és még ugyanabban az évben (ugyancsak a *Lancet*-ben) nagyobb számú betegen szerzett kedvező tapasztalatairól tudott beszámolni. Ezt követően a módszer gyorsan elterjedt és 1914-ben *Robert Cook* (1880–1960) már az Egyesült Államokban is használta. Ő javasolta a kezelés leírására a „hiposzzenitizáció” kifejezést (és ő volt az „atopia” szó megalkotója is). Az első, mai szemmel is modernnek mondható, kontroll kezelésben részesülő betegeket is ismertető közleményt *William Frankland* (1912–) publikálta (az „Allergy” elődjében az „Acta Allergologica”-ban) 1955-ben.

A hozzáférhető adatok szerint Magyarországon az első ASIT kezeléssel *Hajós Károly* (1891–1976) számolt be a Magyar Belorvosi Archivumban 1966-ban. Jelen sorok szerzője pedig orvostanhallgatóként életében először – társszerzőként – éppen egy hiposzzenibilizáló kezeléssel beszámoló közleményben olvashatta nyomtatásban a nevét.

Törekvések a kezelés határfokának javítására

Az akkoriban használt természetes allergén-kivonatok hátránya volt, hogy sokféle anyagot tartalmaztak, olyanokat is, amelyekre a kezelt egyén nem is volt allergiás.

Az allergének szerkezetét megismerve kiderült, mely peptidok és molekulák okozzák az allergiás reakciót, és melyek azok, amelyek immunogének és az allergia megszűnését segítik elő. Mindezek ismeretében logikusnak tűnt, hogy egyrészt olyan tisztított allergéneket állítsanak elő, amelyek kizárólag az adott aller-

giáért felelős peptidet tartalmazzák, sőt ha lehetséges, ezt a peptidet úgy módosítják, hogy az immunogén tulajdonságát megtartsa, de az allergénitását veszítse el.

Rekombináns allergénekkel végzett ASIT

Az 1980-as évek végére sikerült először előállítani géntechnológia segítségével tiszta formában rekombináns allergéneket. Rekombináns allergénnel emberen végzett ASIT-ról elsőként *Mueller és munkatársai* számoltak be 1998-ban. Ők a méhméreg legfontosabb allergénjéből, az Api m1-ből származó 3 rövid peptid keverékével végeztek kezelést méhcsípésre allergiás egyéneken, és 5 betegük közül 3 toleránssá vált a méhcsípéssel történő provokációban.

Ezt követően állatkísérletekben beigazolódott, hogy elő lehet állítani olyan hipoallergén formákat is, melyeknek csökkent az IgE kötő kapacitása, T sejt epitopokat tartalmaznak és IgG ellenanyag termelést váltanak ki.

Megfigyelték, hogy a komplett (természetes) allergénnel szemben toleranciát lehet kiváltani azzal az allergénből kivágott peptiddel, amelyet az allergén-specifikus T sejt felismer. Macska-allergia esetén már klinikai vizsgálatok is folytak ilyen T sejt epitopokkal végzett immunizációval, de sajnos – nem IgE által közvetített – nem kívánatos mellékhatások itt is előfordultak.

Egy további lehetőség az allergia-vakcina hatékonyságának növelésére, ha az allergént valamilyen immunserkető anyaggal kapcsolják össze (pl. olyan DNS oligonukleotidával, amelyik CpG motívumot tartalmaz, vagy a baktériumok felszíni proteinjeit kódoló génekkel). Klinikai vizsgálatban parlagfűvel történő provokáció során jelentősen csökkentek a klinikai tünetek, ha az immunizáció során az Amb a1 parlagfű-pollen allergént egy immunstimuláló oligonukleotidával kapcsolták össze.

Rekombináns technológiával úgy próbálnak meg hipoallergén változatot előállítani, hogy valamilyen mutációval vagy delécióval megváltoztatják az allergén térszerkezetét az IgE-t megkötő B sejt epitop környékén. Ez például liszt-atka, nyírfa-, olajfa- és fűpollen esetében már megtörtént. Néhány tucat allergiás betegen már teszteltek is ilyen hipoallergén

variánsokat, és például a nyírfa-pollen Bet v1 fragmentjével akár ezredrésze csökkent allergén aktivitást észleltek bőrpróba során.

Jelenleg a rekombináns allergénekkel történő immunkezelésnek két elfogadott módszere van. Az egyikben a nyírfa-pollen allergiáért felelős legfontosabb (rekombináns) allergén molekulát (a Bet v1-et) adják monoszennitizált betegeknek, a másik esetben pedig a fűpollen okozta pollinózisban szenvedőknek a rekombináns fűpollen allergének „koktélját” adják (mivel esetükben nem csupán egy fő allergén állapítható meg). Bár több mint 15 éve folynak in vivo vizsgálatok rekombináns allergénekkel, csak 2005 után jelent meg néhány, placeboval összehasonlított, kettős vak módszerrel végzett kezeléssel szülő beszámoló.

Jutel és munkatársai fűpollen által kiváltott rhinitis allergiában szenvedő felnőtteket kezeltek bőr alá adott rekombináns allergén („koktél”) injekciókkal. 29 aktívan és 28 placeboval kezelt betegük volt. Az injekciókat 20 hónapig folyamatosan adták és a 2. pollen szezonban mérték az eredményességet. Az ASIT-t a *Phleum pratense* 5 legfontosabb allergénjének a keverékével végezték úgy, hogy a maximális adag összesen 40 µg (allergén) fehérjét tartalmazott. A tüneti és a gyógyszerhasználati pontszám is 37%-kal jobb volt az aktívan kezelt csoportban, mint a kontrollok között. A kombinált pontszám a kezelték között a kontroll csoporténál 38%-kal nagyobb javulást mutatott. Az aktívan kezelt csoportban szignifikánsan nőtt a *Phleum pratense* specifikus IgG1 és IgG4 koncentráció, az allergén-specifikus IgE szint viszont csökkent. A 29 beteg közül hétnél (24%) alakult ki kedvezőtlen mellékhatás (2 generalizált urticaria, 2 helyi urticaria, 2 nehézlégzés, 1 rhinoconjunctivitis). A szisztémás mellékhatások gyakorisága a beadott allergén igen nagy adagjával (40 µg) magyarázható.

Pauli és munkatársai 134 nyírfa-pollen-allergiás, rhinoconjunctivitis allergiában szenvedő beteget kezeltek 2 évig, havonta adott, 15 µg allergént tartalmazó injekcióval. A betegeket négy csoportba osztották. A placebo csoport mellett az egyik csoportot hagyományos nyírfa-pollen (keverék) allergénnel kezelték, egy másik csoport tisztított Bet v1 allergént kapott, és a 4. csoportnak rekombináns Bet v1-et adtak. Mind az első,

mind a második pollenszezonban mindhárom aktívan kezelt csoportban 48–58%-kal jobb lett a tüneti pontszám és 64–67%-kal a gyógyszerhasználati pontszám, mint a kontroll csoportban. A betegségi súlyossági pontszám különbsége 57–59% volt. A három aktívan kezelt csoport javulása csaknem azonos volt. Az aktívan kezelt csoportokban szignifikánsan nőtt a Bet v1 specifikus IgG1, IgG2 és IgG4 szint. A hagyományos (keverék) pollen kivonattal kezelt csoportból 3 betegnél keletkezett de novo Bet v2 IgE ellenanyag, míg a rekombináns és a tisztított Bet v1-gyel kezelt csoportokban ilyen nem fordult elő. A rekombináns Bet v1-gyel kezelt csoport bőrreaktivitása szignifikánsan jobban csökkent, mint a hagyományos extraktummal kezelt csoporté. A 2 éves kezelés alatt mindössze egy generalizált reakció fordult elő. Egy tisztított Bet v1-gyel kezelt beteg csalánkiütéssel és hipotenzióval járó anafilaxia lépett fel. Az injekció helyén fellépő reakciók a rBet v1 csoportban voltak gyakoribbak. Ez a vizsgálat bebizonyította, hogy a rekombináns allergénnel végzett hiposzzenzibilizáció van olyan eredményes, mint a hagyományos.

Purohit és munkatársai 124 rhinitises betegnél olyan nyírfapollen allergén-kivonatokkal végeztek placeboval összehasonlított, kettős vak hiposzzenzibilizáló kezelést, amelyekről azt feltételezték, hogy hipoallergének. Összesen három betegcsoportot képeztek. Az egyik aktív csoport a rekombináns Bet v1 trimerjét kapta (ezt a gén háromszoros lemásolásával képezték), a másik csoport a Bet v1 fragmentjét (ezt 2 olyan rekombináns peptidből állították össze, amelyek együtt a teljes Bet v1 szekvenciát reprezentálták), a harmadik pedig a placebo csoport volt. A vizsgálat több centrumban folyt, a kezelés a szezon előtt 4-5 hónapig tartott. Miután elérték a 80 µg-os adagot, havonta adták a bőr alá az injekciókat. Nem volt szignifikáns különbség a három csoport tüneti és gyógyszerfelhasználási pontszámában. Az aktívan kezelt csoportban szignifikánsan nőtt az allergén-specifikus IgG1 és IgG4 szint. Az immunkezelés kezdete után 12 hónappal nem volt különbség a három csoport között a bőr-szenzitivitás és a nazális provokációval elért eredmény tekintetében. Szisztémás mellékhatások mindkét aktívan kezelt csoportban gyakran előfordultak. A fragmentummal kezelték 21%-ában, míg a trimérral kezelték 16%-ában

fordult elő generalizált urticaria. A fragmentumos csoportban egy betegnél hipotenzióval járó anafilaxia alakult ki, egynél generalizált urticaria, súlyos gasztrointesztinális tünetekkel. A másodlagos szisztémás reakciók a fenntartó adag elérése előtt is előfordultak, viszont a 28 közül csupán 5 lépett fel 30 percen belül. A Bet v1 hipoallergén készítményei mind in vitro, mind in vivo csökkent allergén-aktivitást mutattak, ezért biztonságos (és hatékony) eszköznek tűntek az immunkezelés számára. Ez a vizsgálat ezt a várakozást nem igazolta. Ennek egyik lehetséges oka, hogy nagyon sok beteg (az egyik centrumban a felük) lemorzsolódott. Kiderült, hogy mind a fragment, mind a trimér képes az allergén-specifikus IgG1 és IgG4 termelés kiváltására. Úgy tűnik, hogy ez az ellenanyag termelés azonban önmagában nem elég a klinikai hatékonysághoz. Az is valószínű, hogy a mellékhatások nagy része nem IgE által közvetített volt (többségük több mint 1 órával az injekció után alakult ki).

Egy „összehajtogatott” (folding) rekombináns Bet v1 allergén variánssal (rBet v1-FV) végzett ASIT-ról két előzetes tanulmányt írt ugyanaz a szerzőcsoport. Az egyikben 24 beteg a rBet v1-FV-t kapta a pollenszezon előtt 5 hónapig, míg 27 másik a hagyományos natív nyírfapollen allergént. A pollenszezon 3 hete alatt az összesített tüneti és gyógyszer pontszám a rBet v1-FV csoportban 5,9 volt, míg hagyományos kezelés esetén 12,48. Az adverz reakciók száma és súlyossága a két csoportban hasonló volt.

Egy másik előzetes közleményben, III. fázisú klinikai vizsgálatban szereplő 116 rhinconjunctivitiszes beteg rBet v1-FV-t, 112 pedig placebo-t kapott 18 hónapig folyamatosan. Az aktívan kezelt csoportban szignifikánsan alacsonyabb lett az összesített tüneti és gyógyszer pontszám, és szignifikánsan nőtt az allergén-specifikus IgG1 és IgG4 szint, míg a kontrolloké nem változott.

Lehetőségek a jövőben

Mivel az allergia oki kezelésének pillanatnyilag egyetlen lehetősége az ASIT, sok kutató foglalkozik hatékonyságának lehetséges növelésével, egyszerűsítéssel a nem kívánatos mellékhatások számának és súlyosságának a csökkentésével.

Az egyik ilyen próbálkozás az ún. haptén hordozó alkalmazása, amivel csökkenthető

vagy megszüntethető az új vakcinák IgE reaktivitása. Ilyen hordozó lehet például a Q-béta bakteriophag burkoló fehérjéből kiasított vírusszerű részecske, ami emberekben nagymértékben immunogén. Ha ezt Fel d 1 allergénnel kombinálták, egér-kísérletben erőteljesen csökkent az azonnali típusú allergiás válasz és teljesen megszűnt a memória sejtek általi IgE válasz a következő allergén provokációknál.

A másik lehetséges módszer, melyet *Valenta* bécsi munkacsoportja ajánl, hogy válasszanak ki egy olyan peptidet az allergén IgE-kötő helyéről vagy annak közvetlen közeléből, amelyeknek alacsony vagy egyáltalán nincs allergén aktivitása, és amelyek lehetőleg egyáltalán nem vált ki T-sejt válaszokat, majd ezt fuzionálják egy hordozó molekulával (pl. egy rhinovírus kapszid

fehérjével), ami a vakcina immunogenitását megnöveli.

Az eddigi klinikai vizsgálatok bebizonyították, hogy a rekombináns allergének klinikailag hatékonyak és erősen immunogének. A fragmentumokkal végzett vizsgálatokat érdemes folytatni. A mellékhatások csökkentése lehetséges a legkisebb hatékony dózis kititrálásával (még ez is a jövő feladata). A reményt keltő in vitro kísérletekből és az allergiás egyéneken végzett bőrpróbák eredményéből nem lehet a vakcina klinikai hatékonyságára egyértelműen következtetni. Feltétlenül klinikai vizsgálatokat kell végezni, amelyek pollen-allergének esetében legalább két éven át zajlanak, így a közeli jövőben még nem számíthatunk a rekombináns allergénekkal rutinszerűen végezhető ASIT-ra. □