

Az allergia és az asztma kevéssé ismert tényezői

Dr. Endre László

Vasútegészségügyi Központ, Budapest

Epitop, paratop, mimotop

Az allergiás reakció lényege, hogy a szervezetünkbe bekerülő allergén összetalálkozik az elene termelt IgE globulinnal, majd egy hízósejt vagy egy bazofil fehérvérsejt felszínén egymáshoz kapcsolódnak, és ennek hatására a sejtből olyan anyagok szabadulnak ki (pl. a hisztamin, majd később a leukotriének), amelyek allergiás tüneteket – pl. viszketést, duzzanatot, vérbőséget, fokozott nyáktermelést, hörgőgörcsöt, esetleg vérnyomásesést és ájulást, rossz esetben halált – okoznak.

Az allergének az esetek legnagyobb részében nagy kiterjedésűek (pl. a háziporban élő atka ürüléke vagy a pollenszemcsék), de természetesen csak egy részük tud kapcsolatba lépni az IgE molekulával. Ezek a kapcsolódásra képesek részeken többnyire az allergén külső felszínén helyezkednek el, és egy-egy allergéneken több ilyen kapcsolódásra képes molekuladarabka is lehet. Az allergénnek ez a része az **epitop**, az IgE globulin vele kapcsolódó része pedig a **paratop** nevet kapta (ez az ipszilon alakú IgE molekula szétnyílt szárának a legvégén található).

Ha allergiás bőrpróbát csinálunk, legtöbbször nem tisztított epitopot, hanem az egész allergénmolekulát használjuk, ezzel nyilvánvalóan sok felesleges anyagot is a szervezetbe juttatunk. Ugyanígy, ha az allergénnel specifikus hiposzenzitivizációt végzünk, szintén egy igen sok aminosavból álló keveréket adunk be. (Ma már történnek próbálkozások tisztított, „célirányosan” kiválasztott epitopokkal történő kezelésekre is).

Az első lépés a célzott diagnózis és a célzott kezelés terén az volt, hogy megállapították, hány epitopja van egy allergénnek és ezek közül melyek a legfontosabbak. Az esetek nagy részében

ezeknek az epitopoknak az aminosavsorrendjét is sikerült felderíteni. Ezt követte annak kiderítése, hogy az epitop molekulának melyik az a része, amelyik feltétlenül szerepet játszik az IgE-hez történő kötődésben. Ez általában legalább 8 aminosavból áll, de azt is bizonyítani tudták, hogy 5-6 aminosavból álló peptidek már megfelelően kötődnek az ellenanyaghoz, sőt, ha az epitop lineáris (pl. ilyen az ételallergének legnagyobb része), akkor 4-5 aminosav is elég lehet. Ezen ismeretek birtokában előállítottak olyan peptideket, amelyek úgy viselkedtek, mint maga a kezeletlen allergén, vagyis utánozták azok viselkedését, azaz kötődtek az ellenanyaghoz. *Mario Geysen* 1986-ban ezeknek a peptideknek a **mimotop** nevet adta¹. 2016-ra ez a felfedezés eljutott oda, hogy az előállított mimotopok jól felhasználhatóak a diagnosztika pontosabbá és a hiposzenzibilizáló kezelés veszélytelenebbé és eredményesebbé tételére².

Az asztma típusai

Az 1970-es években, fiatal gyermekgyógyász koromban még azt gondoltam (és akkoriban még mások is), hogy az asztmának csak két formája van: egyik az allergián alapuló extrinzik asztma (ilyen volt az asztmás gyermekek 90%-a), a másik pedig az intrinzik asztma, amelyikben nem tudtuk az allergént kimutatni.

A következő (számomra) új ismeret az volt, hogy a felnőttekkel foglalkozó tüdőgyógyászok **az asztmának legalább négy formáját** különböztetik el. Ehhez persze alapfeltétel volt az a felismerés, hogy a T helper limfocitáknak legalább három csoportja van, és ezek közül a Th2-es limfociták csoportja a citokinek közvetítésével fontos szerepet játszik az allergiás asztma tüneteinek kialakításában. A legalább négy fajta

asztma megértéséhez ismernünk kell a velünk született limfoid sejteket (az angol *innate lymphoid cell* elnevezés alapján rövidítve: ILC).

Ezek után lássuk, mi az a négy asztma fajta.

A **type 2 high** nevű csoportra (ez a klasszikus, allergiás asztma) a Th2-es limfociták által termelt 2-es típusú citokinek dominanciája jellemző. Ezek a citokinek aktiválják a dendritikus sejteket, az eozinofil sejteket és a 2-es csoportba tartozó ILC-eket.

Vannak olyan asztmások is, akiknek a vérében és hörgő váladékában kevesebb Th2-es citokin és eozinofil sejt mutatható ki. Őket neveztek el **type 2 low** típusú asztmásoknak.

A harmadik a szteroid kezelésre rosszul vagy egyáltalán nem reagáló, **szteroid-rezisztens** csoport. Esetükben a „cél-sejtek” a Th17-es limfociták (ezekről korábban az Amegában részletesen írtam)², a neutrofil fehérvérsejtek (szerepükről az 1980-as években Nagy Lajos kollégánk írt, több mint kétszázszor idézett klasszikus közleményeket), a 2-es típusú myeloid sejtek, valamint a 2-es és 3-as típusú ILC-k.

A negyedik (különállóként elfogadott) asztma féleség az **obezitáshoz társuló** asztma. Itt az idült gyulladás fenntartásában és esetenkénti romlásában a neutrofil fehérvérsejtek, az M1-es típusú makrofágok, valamint a 3-as csoportba tartozó ILC-k játszanak szerepet³.

A velünk született limfoid sejtek

A velünk született limfoid sejtek olyan sejtek, amelyeknek nincs se T sejtre, se B sejtre jellemző receptoruk. A *common lymphoid progenitor* sejtekből alakulnak ki. Az ILC elnevezést 2013-ban kapták⁴. Fontos szerepük van a szövetek, különösen a mucosa homeosztázisának a fenntartásában. Ha IL-25 és IL-33 hat rájuk, igen gyorsan tudnak IL-5-öt és IL-13-at (és egyéb citokineket) kibocsátani. Ennek alapján három csoportjukat (ILC1, ILC2, ILC3) lehet megkülönböztetni.

Nagyrészt olyan citokineket választanak ki, mint a Th1-es, Th2-es és Th3-as csoportba tartozó T helper sejtek (ez utóbbiak a Th17 és a Th22). Az ILC1-esek interferon-gammát és tumor nekrozis faktor alfát, az ILC2-esek a Th2-es limfocitákhoz hasonló citokineket (IL-5, IL-9, IL-13) bocsátanak ki. Az ILC3-asok IL-17A-t, IL-22-t, tumor nekrozis faktor alfát és granulocita-makrofág kolónia stimuló faktort termelnek.

Az allergiás asztma szempontjából legnagyobb jelentősége az ILC2 sejteknek van. Ezek egyrészt aktiválják a Th2-es limfocitákat, másrészt saját maguk is előállítják azokat a citokineket (nevezetesen az IL-5-öt, IL-9-et és az IL-13-at), amelyek megnövelik az eozinofil sejtek túlélési idejét, valamint hörgőgörcsöt és fokozott nyákválasztást váltanak ki. Emellett még arginase-1-et is kiválasztanak, ami a 2-es típusú makrofágokat aktiválja. Azonban nem csak „rosszat” csinálnak: az ő termékük az **amfiregulin** is, ami a hörgőnyálkahártya sejtjeinek megjavításáért felelős³.

A nuociták

Érdemes külön megemlékeznünk az ILC2 sejtek közé tartozó nuocitákról. Ezeket a sejteket angol, ír és amerikai kutatók fedezték fel és írták le a *Nature*-ben 2010-ben⁵. Azt vizsgálták, hogy a Th2-es limfocitákon kívül milyen egyéb sejt termel IL-13-at, amelynek nem csupán az allergiás reakciókban, de a bélféreg elleni védekezésben is kulcsszerepe van. Céljuk elérése érdekében előállítottak egy olyan egér törzset, amelyik zölden fluoreszkáló festékkel jelöli meg (élő állatban) az IL-13 gén expresszió helyszínét.

Kezeletlen egereken alig lehetett látni fluoreszcenciát, viszont ha ezeknek a speciális egereknek IL-25-öt vagy IL-33-at adtak, percek belül megjelentek a fluoreszkáló sejtek a mezenterialis nyirokcsomókban, az ott lévő limfociták mintegy 3%-át képezve. Furcsa volt, hogy a sejt felszíni markereket vizsgálva ezeknek a fluoreszkáló sejteknek legalább 80%-a nem volt azonosítható egyik korábban megismert sejtfeleséggel (T és B sejtek, természetes ölü sejtek, dendritikus sejtek, neutrofil, bazofil és eozinofil sejtek, hízósejtek, makrofágok) sem. Ilyen fluoreszkáló sejtek a vékonybélben és a lépben is megtalálhatók voltak. A szerzők ezeket a speciális sejteket nuocitáknak nevezték el, azért mert IL-13-at termelnek, és a görög ábécé 13. betűje a „nú”. A nuocitákat tisztítás után tenyésztani is tudták, így azt is megállapították, hogy nem kizárólag IL-13-at, de 70%-uk IL-5-öt és kevesebb, mint 5%-uk IL-4-et is képes kiválasztani⁵.

A lipokalinok

Az *Allergy* egyik 2016-ban megjelent számából a lipokalinokról volt alkalmam ismereteket szerezni⁶. Ebből a cikkből azt is megtudtam, hogy egy

2009-es adatbázis alapján az akkor ismert valamennyi fehérjének csupán 1,4%-a szerepelhet allergénként. Az emlősök (pl. a kutya, a macska és az ember) legfontosabb légúti allergénjei a lipokalinok, szekretoglobulinok és a kallikreinek.

A lipokalinoknak csupán az emberben több mint 70 fajtájuk van. Nevük onnan ered, hogy rendszerint lipideket vagy más, hidrofób „alkatrészeket” hordoznak. Előfordulnak a nyálban, a könnyben, a vizeletben és a levált hámsejtekben. Közös jellegzetességük, hogy van a felszínükön egy nagy, csészeszerű bemélyedés, amelynek fontos szerepe van a velünk született immunvédekezésben.

Szerkezetük alapján a lipokalinokat két csoportra lehet osztani aszerint, hogy kettő vagy három konzervált (valamennyiben előforduló, állandó) régió van bennük. Amelyikében kettő ilyen van, azokat „kernel” lipokalinoknak, amelyekben három, azokat „outlier” lipokalinoknak nevezik. A humán neutrofil lipokalinok antibakteriális aktivitása is van. Ezt az okozza, hogy a „csészéje” nagy affinitással tud egy siderofor-Fe³⁺ komplexet képezni, ezzel elvonja a baktériumokból a vasat, ami meggátolja azok szaporodását (sőt szerencsés esetben azok pusztulását okozhatja). A humán lipokalin a máj és a makrofágok termelik szfingozin-1-foszfát hatására. Koncentrációja gyulladás, fertőzések (különösen húgyúti infekciók) és szepszis esetén emelkedett.

A lipokalin akut fázis protein, különösen a Gram-negatív baktériumok ellen hatásos. Kísérletekkel azt is ki tudták mutatni, hogy az „üres” lipokalin a Th2 választ és a gyulladást segíti elő, míg a valamivel kapcsolt humán lipokalin a regulatorikus T sejteket serkenti. Tanulságos, hogy a lipokalin nemcsak allergén (ezáltal „rossz”), hanem fontos védekező szerepe is van⁶.

A periosztin

Ugyancsak 2016-ban és szintén az *Allergy*-ben talákoztam egy olyan közleménnyel, amiben arról írtak, hogy a periosztin fontos jelzője lehet a súlyos asztmának⁷. Ebből a cikkből nemcsak az derült ki számomra, hogy a periosztin egy mátrix protein (vagyis a sejtek közötti térben található), de az is, hogy Th2 biomarkerként is használható, mert az IL-4 és IL-13 tudja fokozni a termelődését.

Kicsit furcsának találtam a csonttal kapcsolatos nevét, ezért utánanézttem, honnan eredhet ez az elnevezés? Elég messzire kellett visszamenem az időben, mert 1993-ban közzölték az első olyan cikket⁸, amelyikből kiderült, hogy egyáltalán létezik. Japán gyógyszerügyi kutatók egy MC3T3-E1 nevű egér oszteoblaszt sejt-vonalát vizsgálva izoláltak egy addig ismeretlen fehérjét, és a japánokra jellemző részletességgel feltárták annak pontos aminosavsorrendjét, sőt szerkezeti sajátosságait is. Ebből kiderült, hogy a periosztin 811 aminosavból áll, van benne egy tipikusnak mondható „jelző” (signal) sorrend, ezt követi egy ciszteinben gazdag rész, majd egy négyszer ismétlődő (az adhézións molekulákra jellemző) szakasz és természetesen egy C-terminális domén. Viszont nincs benne tipikus transzmembrán szakasz. Ők még nem periosztinnak, hanem az osteoblast-specific factor rövidítéseként OSF-2-nek nevezték el a molekulát. Megállapították, hogy hasonlít a rovarok egyik adhézións molekulájához, a fasciclin I fehérjéhez, és ebből arra következtettek, hogy valószínűleg ez is az lehet (azóta tudjuk, hogy igazuk volt). Megvizsgálták azt is, hogy van-e ilyen fehérje az (egérhez hasonlóan) emberekben is. Kiderült, hogy van, sőt az is, hogy nagymértékben hasonlít az egérben található. Elsősorban a csontban és kisebb mértékben a tüdőben tudták kimutatni. Mindebből arra következtettek, hogy bizonyára a csontképződésben, adhézións molekulaként van szerepe (ez igaz, de azóta tudjuk, hogy máshol is fontos)⁸.

Japán és brit kutatók 2006-ban tovább folytatták a periosztinnal megkezdett kutatásokat⁹. Abból indultak ki, hogy asztmában a szubepiteliális fibrózisnak fontos patológiai szerepe van, aminek a kialakulását az IL-4 és az IL-13 elősegíti. Ugyanezen szerzők korábban kimutatták, hogy a hörgők epiteliális sejtjeiben van egy olyan gén, amit IL-4 és IL-13 tud aktiválni és a periosztin termelést indítja be. Most ismertető vizsgálatukhoz egyrészt 7 asztmás és 8 nem asztmás ember hörgőbiopsziás anyagát, másrészt ovalbuminnal érzékenyített (majd ugyanezen anyaggal provokált) egereket használtak. Igazolták, hogy az IL-4 is és az IL-13 is periosztin szekréciót vált ki az egér, és az emberi tüdő fibroblasztjaiból egyaránt, és ehhez a hatásához nincs szükség TGF-β-tára.

Azt is megállapították, hogy a periosztin nem csak egy másik periosztin molekulához tud kapcsolódni de fibronectinhez, tenascin-C-hez és kollagén V-hez is. Normális embrionális tüdőfibroblaszt sejtenyészetet IL-4 vagy IL-13 hatásának kitéve, azokon már 3 órával később kimutatható volt a periosztin kiválasztás, ami a maximumát 24 óra múlva érte el. Ezt követően immunfluoreszcens festéssel azt igazolták, hogy valamennyi asztmás beteg hörgőjének a szubepiteliális részén megtalálható a periosztin lerakódás, míg a nem asztmás betegekből származó szövetmintákból egyben sem. Eredményeik összesítéséből azt a következtetést vonták le, hogy a periosztin, amit IL-4 és/vagy IL-13 hatására a tüdő fibroblasztjai választanak ki, a különböző extracelluláris mátrix proteinek egymáshoz kapcsolásával fontos szereplője az asztmásoknál észlelhető szubepiteliális fibrózis kialakulásának⁹.

2013-ban japán szerzők 224, legalább négy éve szteroid kezelésre szoruló felnőtt asztmás részletes kivizsgálása alapján arra a megállapításra jutottak, hogy akiknek a vérében magas (95 ng/ml feletti) a periosztin szint, azoknak a FEV₁ értéke fog a leggyorsabban csökkenni, évente több mint 30 ml-rel. Véleményük szerint a szérumban periosztin jól használható biomarker lehet a szteroid kezelésre szoruló asztmás betegek légzésfunkciós kilátásainak prognosztizálására¹⁰.

Egy 2014-ben megjelent közleményben szintén japán szerzők 121 asztmás beteg vizsgálata kapcsán arra a következtetésre jutottak, hogy azoknál a betegeknél, akiknek a vérében magas (95 ng/ml feletti) a periosztin szint és a kilégtet levegőjükben magas (50 ppb feletti) a nitrogén-monoxid koncentrációja, gyorsan fog csökkenni a FEV₁ értéke akkor is, ha nagy adagban kapnak inhalációs szteroidot (vagyis szteroid-rezisztens asztmások)¹¹.

Már említettem, hogy a periosztinnal egy – 2016 végén az *Allergy*-ben megjelent – japán szerzők által írott közlemény kapcsán kezdem foglalkozni⁷. Ebben 30 olyan, súlyos asztmás beteg követéses vizsgálatának eredményeit ismertették, akik már legalább egy éve kaptak 2 vagy 4 hetente omalizumab kezelést (az omalizumab egy humanizált anti-IgE globulin, ami specifikusan a szérumban szabadon lévő IgE globulinhoz kötődik). Azt figyelték meg, hogy azoknak

a betegeknek volt az egy éves követés alatt kevesebb exacerbációjuk, akiknek kezdetben magasabb volt a periosztin szintjük és a vérben az eozinofilsejt számuk. 14 olyan beteg volt, akik a kezelés első évében még gyakran estek vissza, viszont a második évben már ők is kevesebbet fulladtak és a szérumban a szabad IgE szintjük is szignifikánsan csökkent. Arra következtetnek, hogy a kezelés kiindulásakor mért periosztin szint és a kezelés alatt bekövetkező szabad IgE koncentráció változás alkalmas az omalizumab kezelés hatásfokának megítélésére, prognosztizálására⁷. ■

Irodalom

- Geysen HM, Rodda SJ, Mason TJ. A-priori delineation of a peptide which mimics a discontinuous antigenic determinant. *Mol Immunol* 1986; 23: 709-715.
- Luzar J, Strukelj B, Lunder M. Phage display peptide libraries in molecular allergology: from epitope mapping to mimotope-based immunotherapy. *Allergy* 2016; 71: 1526-1532.
- Kim HY, Umetsu DT, Dekruff RH. Innate lymphoid cells in asthma: Will they take your breath away? *Eur J Immunol* 2016; 46: 795-806.
- Spits H, Artis D, Colonna M, et al. Innate lymphoid cells – a proposal for uniform nomenclature. *Nat Rev Immunol* 2013; 13: 145-149.
- Neill DR, Wong SH, Bellosi A, et al. Nuocytes represent a new innate effector leukocyte that mediates type-2 immunity. *Nature* 2010; 464: 1367-1371.
- Jensen-Jarolim E, Pacios LF, Bianchini R, et al. Structural similarities of human and mammalian lipocalins, and their function in innate immunity and allergy. *Allergy* 2016; 71: 286-294.
- Tajiri T, Matsumoto H, Gon Y, et al. Utility of serum periostin and free IgE levels in evaluating responsiveness to omalizumab in patients with severe asthma. *Allergy* 2016; 71: 1472-1479.
- Takeshite S, Kikuno R, Tezuka KI, et al. Osteoblast-specific factor 2: cloning of a putative bone adhesion protein with homology with the insect protein fasciclin 1. *Biochem J* 1993; 294: 271-278.
- Takayama G, Arima K, Kanaji T, et al. Periostin: A novel component of subepithelial fibrosis of bronchial asthma downstream of IL-4 and IL-13 signals. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 98-104.
- Kanemitsu Y, Matsumoto H, Izuhara K, et al. Increased periostin associates with greater airflow limitation in patients receiving inhaled corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 132: 305-312.
- Nagasaki T, Matsumoto H, Izuhara K, et al. Using exhaled nitric oxide and serum periostin as a composite marker to identify severe/steroid-insensitive asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2014; 190: 1449-1452.
- Endre L. A Th17-es lymphocyták szerepe asztmában. *Ameqa* 2015; 22(3): 12-19.