

Epikután hiposzenzibilizáció

Dr. Endre László

Vasútegészségügyi Központ, Budapest

Az *Allergy* 2017 januári számában szerkesztőségi közlemény jelent meg egy forradalmian új, epikután úton történő hiposzenzibilizációs eljárásról (*epicutaneous allergen-specific immunotherapy* – a továbbiakban rövidítve: EPIT)¹. Érdemes egy pillanatra e szerkesztőségi cikk harmadik szerzőjénél megállnunk. *Haczkú Angéla* az Egyesült Államok egyik legismertebb egyetemén – University of California – dolgozó magyar allergológus, aki mellesleg a két legmagasabb impakt faktorú allergológiai szaklap (*Allergy* és *Journal of Allergy and Clinical Immunology*) szerkesztőbizottsági tagja.

Ezek után lássuk, mi készítette a szerkesztőbizottságot arra, hogy vezércikket írjanak. Ebben a számban jelent meg a *Rudolf Valenta és munkatársai* által írt közlemény, melyben nem egyszerűen csak az EPIT kipróbálásáról számoltak be, hanem arról is, hogy allergénként egy rekombináns nyírfapollen darabkát, adjuvánsként pedig az *Escherichia coli* egyik hőlabil toxinját használták².

Az adjuvánsok szerepe az immunizációban

Az már csaknem 100 éve ismert, hogy jobban lehet immunizálni a kísérleti állatokat, ha az allergén mellett valamilyen adjuváns anyagot is használunk. Erre teljesen véletlenül jött rá 1924-ben két angol kutató. *Lewis* és *Loomis* azt figyelték meg, hogy a tuberkulózisban szenvedő tengerimalacok több ellenanyagot tudtak termelni egy adott allergén injekció hatására, mint az egészségesek³.

Néhány évvel később Észak-Karolinában *Dienes* észrevette, hogy ugyanezt a hatást el lehet érni előlt tbc-baktériumokkal is⁴. Ismereteim szerint *Jules Freund* volt az első, aki az előlt tbc-baktériumot paraffin olajjal együtt

használta adjuvánsként. *Katherine McDermott*al közösen 1942-ben írt közleményükben⁵ részletesen bemutatják az általuk használt adjuváns és az azzal tengerimalacokon elért eredményt. Adjuvánsként paraffin olajat, előlt tbc-bacillust és egy Aquaphor nevű anyagot (ez egy olyan gyapjúzsír-kivonat, ami vízzel jól keverhető) használtak. Mindezt összekeverték az allergénként használt lószérummal, majd ezzel immunizálták (injekciós formában) a tengerimalacokat. Ezután vizsgálták a kísérleti állatok lószérum által kiváltott bőrreakcióját és a tőlük nyert szérum precipitációs titerét. A csak lószérummal szenitizált állatok savója 1/100-as hígításban már szinte egyáltalán nem precipitálta a lószérumot, míg azoké az állatoké, amelyek a lószérumot adjuvánsal kapták, még ezerszeres hígítás után is precipitálta.

Ezóta tudjuk azt is, hogy a több mint 100 éve ismert⁶ hiposzenzibilizáló kezelés injekciós formájában érdemes valamilyen adjuváns is használnunk. Erre a célra az 1970-es években többnyire alumínium-hidroxidot⁷, a későbbiekben pedig tirozint⁸ használtak. Ezek nemcsak az adott allergén immunitását fokozták, hanem az injekció felszívódását is lassították.

Immunizálás a bőr felszínéről

Glenn és *munkatársai* írták le elsőként 1998-ban a *Nature*-ben⁹, hogy bőrön keresztül is lehet immunizálni, és ugyancsak ők ismertették 1999-ben, hogy immunizálás során az adjuváns anyag baktérium toxin is lehet¹⁰. Az eljárás 2000-ben 18 önkéntes felnőttön is kipróbálták, akiket *Escherichia coli* hőlabil enterotoxinjával EPIT módszerrel immunizáltak. Azt tapasztalták, hogy 500 µg hőlabil enterotoxin háromszori felvitelével a vizsgált egyének enterotoxin-ellenes

IgG szintje átlagosan a kiindulási érték 14,6-szorosára, míg az enterotoxin-ellenes IgA szintje 7,2-szeresére emelkedett. Súlyos mellékhatás nem fordult elő (per os és injekciós formában nem lehet adni a hőlabil enterotoxint, mert egyik komponense erősen toxikus). Ez a magas ellenanyag titer legalább 35 hétig megmaradt¹¹.

Glenn és munkatársai 2007-ben elsőként számoltak be arról, hogy az immunválaszt tovább lehet fokozni, ha a bőr legfelső rétegét (a stratum corneumot) valamilyen módszerrel elvékonyítják¹². Ehhez a kijelölt bőrfelület felett 15× felragasztottak és lehúztak egy olyan ragasztószalagot, amilyent az EKG vizsgálatoknál használnak. A bőr előkezelésének standardizálására egy speciális – általuk Skin Prep Systemnek elnevezett – készüléket is szerkesztettek¹³.

Az EPIT módszerrel 2007-ben az utazók *Escherichia coli* által kiváltott hasmenéses betegségét is megkísérelték megelőzni. Placebóval ellenőrzött, kettős vak módszerrel végzett vizsgálatukban 59 felnőtt vett részt. Az immunizációt három alkalommal, az 1., a 21. és a 42. napon végezték transzskután módszerrel, 50 µg hőlabil enterotoxin antigénnel. A placebo kapók ellenanyag szintje egyáltalán nem emelkedett, az aktív hatóanyagot kapóké viszont mind az IgG, mind az IgA tekintetében legalább a négyszeresére nőtt. A bőr szövettani vizsgálata az antigén specifikus ellenanyagot kiválasztó sejtek számának 8-10-szeres szaporodását mutatta. A placebo kapók bőrében ez nem volt látható¹⁴. Sajnos, a klinikai eredmény nem volt ennyire kiváló: az aktív anyagot kapók 82%-a, a kontrollok 75%-a kapott utazási hasmenést...

A következő vizsgálatba még több (Mexikóba vagy Guatemalába utazó) egyént vontak be¹⁵, és 2-3 hetes időközzel kétszer tettek fel a bőrükre 37,5 µg hőlabil enterotoxint vagy placebo. A hőlabil enterotoxint kapók enterotoxin ellenes IgG és IgA szintje legalább a tízszeresére emelkedett, míg a placebo kapóké nem. Az aktív kezelést kapók hasmenése rövidebb és enyhébb volt, mint a placebo csoportban lévőké (0,5 nap vs. 2,1 nap; átlagosan 3,7 vs. 10,5 széklet).

Hiposzzenibilizáció a bőr felszínéről

Az EPIT módszer forradalmi újdonságát felismerve, elsőként svájci kutatók próbálták vele a légúti allergiát mérsékelni¹⁶. E kísérletükhöz

az elméleti alapot az jelentette, hogy a bőrben sok antigén-bemutató dendritikus sejt és Langerhans-sejt van. A kutatók 1,5 ml vazelinben keverték el 300 egység fű-allergén (*Phleum pratense*) kivonatot, és ezt ragasztották fel légmentesen 48 órára a páciensek bőrére. Ezt a műveletet egyhetes időközökkel 4× megisméltették a fűpollen szezon előtt (a vazelinen kívül egyéb adjuvánst nem használtak). A kezelésben részesülő 21 betegnél a szénanátha klinikai tünetei szignifikánsan enyhébbek voltak, mint a placebo csoport 16 betegénél, és ez még a kezelést követő második évben is így volt ($p=0,005$). A kezelteknél a nazális provokáció is sokkal kedvezőbb képet mutatott ($p<0,001$). A *Journal of Allergy and Clinical Immunology* szerkesztősége is felismerte, hogy ez a módszer a jövő új, fájdalommentes és biztonságos kezelési lehetősége lehet, és nagyon szép méltatást írt közvetlenül e cikk után¹⁷.

Ugyanez a svájci munkacsoport 2015-ben az *Allergy* című folyóiratban ismertette további vizsgálataik kedvező eredményét. 48 rhinokonjunktivitiszes betegnek – a bőr ragasztószalagos előkezelése után – egyhetes időközökkel 6×, egy-egy alkalommal 8 órán keresztül helyeztek a bőrére 1,5 ml vazelinben elkeverve 200 egység fűpollen kivonatot, míg a placebo csoport 50 betegénél csak vazelint tettek a bőrre. A kezelés évében a klinikai javulás 48%-os volt, és még a következő évben is 40%-os maradt, míg a placebo csoportban a 10%-ot is alig érte el¹⁸.

Rekombináns allergénnel és baktérium toxin adjuvánssal végzett EPIT kezelés

A hosszú bevezetés után lássuk, miről írtak Rudolf Valenta és munkatársai az *Allergy* 2017. évi első számában. A munkacsoport az állatkísérletekhez nehezen immunizálható beltenyésztett felnőtt tengerimalacokat használt. Az EPIT módszerrel végzett immunizáció az 1., a 15. és a 28. napon történt. Az immunizációhoz adjuvánsként a már többször említett hőlabil enterotoxint, allergénként pedig az általuk előállított két fajta – a komplett „összehajtogatott” és a „hajtogatás” nélküli – rekombináns nyírfa-pollen allergént (rBet v 1) használták. A bőrrel érintkező felület 2,85 négyzetcentiméteres volt, az allergént legalább 12 órán át hagyták az előkezelt bőrön légmentesen leragasztva.

Kontrollként alumínium-hidroxidhoz kapcsolt allergénnel szubepiteliális injekciókat adtak. Azt találták, hogy az alumínium-hidroxidhoz kapcsolt allergénnel szubepiteliálisan immunizált állatok és a hőlabil enterotoxinnal plusz komplett allergénnel immunizáltak egyaránt termeltek allergén-specifikus IgG-t. A termelt IgG allergén-specifitását az igazolta, hogy a nyírfapollen-allergiában szenvedő betegek véréből származó IgE-t meg tudta gátolni abban, hogy a Bet v 1 allergénhez kapcsolódjon.

Korábbi humán vizsgálatok során azt tapasztalták, hogy a hőlabil enterotoxin nélküli, nagy adagú (160 µg/patch) Bet v 1 allergénnel EPIT módszerrel kezelt betegek allergén-specifikus T sejt választ mutattak, de nem termeltek allergén-specifikus IgG-t. Úgy gondolják, hogy a hőlabil enterotoxin valószínűleg közvetlenül stimulálja a B sejteket, mégpedig úgy, hogy hatására tovább marad az allergén intakt állapotban az antigént bemutató sejt felszínén, és így lehetősége lesz a B limfocitának arra, hogy felismerje az allergént és plazmasejtté átalakulva ellenanyagot termeljen ellene. (Fontos az intakt állapot, ezért nem volt hatásos az „összehajtogatás” nélküli rekombináns pollen-allergén.) Az allergén-specifikus immunterápia lényege, hogy hatására csökken az allergén-specifikus IgE koncentráció és nő az allergén-specifikus IgG4 szintje, amit *Rudolf Valenta és munkatársai* jelen állatkísérletükben igazolni is tudtak.

Végző megállapításuk, hogy a hőlabil enterotoxin az EPIT során még nagy adagban is biztonságosan használható és nagyon jó adjuváns¹. Az EPIT azért lehet ennyire eredményes, mert a bőrben rengeteg antigén-bemutató sejt (dendritikus sejt és Langerhans-sejt) van, másrészt a stratum corneumban egyáltalán nincsenek erek, így az általános reakció veszélye nagyon kicsi.

Mivel napjainkban a népességnek legkevesebb egynegyede szenved légúti allergiában és az allergia egyetlen oki kezelése az allergén-specifikus immunterápia, nem kell nagy képzelőerő annak megjósolásához, hogy a rekombináns allergénekkal és az adjuváns hőlabil enterotoxinnal végzett epikután hiposzenzibilizáció ígéretes jövő előtt áll. ■

Irodalom

1. Killingbeck SS, Ge MQ, Haczku A. Patching it together: epicutaneous vaccination with heat-labile *Escherichia coli* toxin against birch pollen allergy. *Allergy* 2017; 72: 5-8.
2. Cabauatan CR, Campana R, Niespodziana K, et al. Heat-labile *Escherichia coli* toxin enhances the induction of allergen-specific IgG antibodies in epicutaneous patch vaccination. *Allergy* 2017; 72: 164-168.
3. Lewis PA, Loomis D. Allergic irritability. The formation of anti-sheep hemolytic amboceptor in the normal and tuberculous guinea pig. *J Exp Med* 1924; 40: 503-515.
4. Dienes L. Further observations concerning the sensitization of tuberculous guinea pigs. *J Immunol* 1928; 15: 153-174.
5. Freund J, McDermott K. Sensitization to horse serum by means of adjuvants. *Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine* 1942; 49: 548-553.
6. Endre L. Az allergén-specifikus immunterápia 100 éve. A rekombinációs allergénekkal végzett immunkezelés lehetőségei és napjainkig elért klinikai eredményei. *Ameqa* 2011; 18(3): 9-13.
7. Osváth P, Endre L. Asthma bronchialis gyermekek kezelése aluminiumhidroxidhoz adszorbeált kivonatot tartalmazó (Allpyral) oltóanyaggal. *Orv Hetil* 1969; 110: 1549-1551.
8. Endre L, Osváth P. Tyrosinnal praecipitált Dermatophagoides atkát tartalmazó deszenzibilizáló kezelés eredménye gyermekkori asthma bronchialisban. *Tbc és Tüdőgyógyász Társaság: Asthma Bronchiale, Budapest, 1977. pp:292-297.*
9. Glenn GM, Rao M, Matyas GR, et al. Skin immunization made possible by cholera toxin. *Nature* 1998; 391: 851.
10. Glenn GM, Schariton-Kersten T, Vassell R, et al. Transcutaneous immunization with bacterial ADP-ribosylating exotoxins as antigens and adjuvants. *Infect Immun* 1999; 67: 1100-1106.
11. Glenn GM, Taylor DT, Li X, et al. Transcutaneous immunization: A human vaccine delivery strategy using a patch. *Nature Medicine* 2000; 6(12): 1403-1406.
12. Glenn GM, Villar CP, Flyer DC, et al. Safety and immunogenicity of an enterotoxigenic *Escherichia coli* vaccine patch containing heat-labile toxin: use of skin pretreatment to disrupt the stratum corneum. *Infect Immun* 2007; 75: 2163-2170.
13. Glenn GM, Flyer DC, Ellingsworth LR, et al. Transcutaneous immunization with heat-labile enterotoxin: development of a needle-free vaccine patch. *Expert Rev Vaccines* 2007; 6: 809-819.
14. McKenzie R, Bourgeois AL, Frech SA, et al. Transcutaneous immunization with the heat-labile toxin (LT) of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC): Protective efficacy in a double-blind, placebo-controlled challenge study. *Vaccine* 2007; 25: 3684-3691.
15. Frech SA, DuPont HL, Bourgeois AL, et al. Use of a patch containing heat-labile toxin from *Escherichia coli* against travellers' diarrhoea: a phase II, randomised, double-blind, placebo-controlled field trial. *Lancet* 2008; 371: 2019-2025.
16. Senti G, Graf N, Haug S, et al. Epicutaneous allergen administration as a novel method of allergen-specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 124: 997-1002
17. Werfel T. Epicutaneous allergen administration: A novel approach for allergen-specific immunotherapy? *J Allergy Clin Immunol* 2009; 124: 1003-1004.
18. Senti G, von Moos S, Tay F, et al. Determinants of efficacy and safety in epicutaneous allergen immunotherapy: summary of three clinical trials. *Allergy* 2015; 70: 707-710.