

Sesja plenarna nauk podstawowych II

Nowe subpopulacje limfocytów T w chorobach alergicznych

Komórki Th17 i limfocyty T regulatorowe w astmie i zapaleniu zatok

WYKŁADOWCA: CEZMI AKDIS (SZWAJCARIA)

Profesor Akdis swój wykład poświęcił podsumowaniu aktualnej wiedzy na temat terapii modulujących układ immunologiczny i metod manipulacji tolerancją immunologiczną, ze szczególnym naciskiem na immunoterapię chorób alergicznych.

Patofizjologia chorób wynikających z zaburzenia tolerancji immunologicznej, takich jak alergia, astma czy choroby z autoagresji, jest bardzo złożona i wpływa na nią wiele czynników, takich jak podatność genetyczna, rodzaj antygeny inicjującego chorobę (dawka antygeny, czas ekspozycji, droga podania, charakterystyka strukturalna alergenu) oraz koekspozycja na substancje stymulujące odpowiedź wrodzoną (takie jak czynniki infekcyjne i flora bakteryjna). Typowo proces uczulenia/aktywacji komórek efektorowych prowadzi do rozwoju przewlekłego zapalenia. W fazie uczulenia alergen/antygen stymuluje klonalną ekspansję swoistych limfocytów T i B oraz produkcję swoistych przeciwciał. W zależności od bodźca, który wywołał reakcję, dziewicze limfocyty T mogą różnicować się w kierunku komórek Th1, Th2, Th17 lub Th9. W zależności od profilu cytokin produkowanych przez te komórki oraz interakcji z innymi komórkami, subpopulacje limfocytów T promują różne typy odpowiedzi immunologicznej. Rozwój w kierunku limfocytów CD4+ Th2 prowadzi do produkcji cytokin, takich jak IL-4 i IL-13, które odpowiadają za przełączenie klasy syntetyzowanych przeciwciał na IgE. Większość przeciwciał powstaje w tkance limfatycznej lub chronionych obszarach w szpiku kostnym. Dodatkowo w tkankach, w których toczy się proces zapalny, takich jak błona śluzowa nosa czy płuca, może również dochodzić do lokalnej produkcji przeciwciał. W krwi obwodowej występuje pula komórek Th0 z populacji komórek pamięci, które produkują wszystkie cytokiny w małych ilościach, bez dominacji którejś z cytokin. Subpopulacje komórek T rozwijają się w odpowiedzi na określone patogeny wewnątrzkomórkowe (Th1), pasożyty (Th2) i patogeny zewnątrzkomórkowe (Th17). Obecność i rola alergenowo swoistych limfocytów Th17 jest obecnie badana. Limfocyty Th17 były wykrywane w małej

ilości w miejscach zapalenia alergicznego, ale ulegają one zmianie w odpowiedzi na leczenie, a ich rola w zachowaniu równowagi pomiędzy subpopulacjami swoistych alergenowo limfocytów T wymaga wyjaśnienia. Ostatnio wykazano, że TGF- β w obecności IL-4 przeprogramowuje limfocyty Th2 i prowadzi do rozwoju populacji limfocytów Th9, które produkują IL-9 i IL-10. Wydaje się, że komórki Th9 nie pełnią funkcji supresorowych i stanowią odrębną populację limfocytów T efektorowych, które mogą promować zapalenie w tkankach.

W końcowej fazie przewlekłego zapalenia można stwierdzić produkcję przeciwciał przez limfocyty B w tkance objętej zapaleniem. Dochodzi do aktywacji eozynofili, neutrofilów, makrofagów, aktywacji gruczołów wydzielniczych i apoptozy komórek tkanki, przebudowy tkanki oraz zaburzenia funkcji tkanki. Ponieważ wszystkie te zjawiska wymagają aktywacji subpopulacji limfocytów T, tolerancja obwodowa wydaje się kluczowa dla rozwoju prawidłowej odpowiedzi immunologicznej oraz warunków opanowanie przewlekłego zapalenia mediowanego przez subpopulacje limfocytów.

Prawie od 100 lat swoista immunoterapia alergenowa jest wykorzystywana do odczulania pacjentów z chorobami alergicznymi. Immunoterapia alergenowa polega na podawaniu wzrastających dawek alergenu podskórnym lub podjęzykowo. Jest jedyną swoistą metodą leczenia alergii. Wprowadzenie stanu tolerancji immunologicznej jest istotnym punktem prowadzącym do prawidłowej reakcji organizmu na alergen. Efekt kliniczny utrzymuje się nawet po zakończeniu terapii, co sugeruje, że mogą odgrywać tu rolę swoiste limfocyty T i B pamięci. Prewencja nowych uczuleń i zahamowanie progresji w cięższą postać choroby, tak jak rozwój astmy u osoby z alergicznym nieżytem nosa, to istotne korzyści wynikające ze stosowania immunoterapii swoistej. Obecnie wiadomo, że tolerancja obwodowa jest głównie promowana przez swoiste alergenowi limfocyty T regulatorowe, które hamują odpowiedź proliferacyjną i odpowiedź cytokinową na główne alergeny. Lepszy wgląd w mechanizmy regulujące układem immunologicznym może doprowadzić do udoskonalenia metod leczenia stosowanych w chorobach wynikających z zaburzenia tolerancji immunologicznej.

Komórki T regulatorowe a nowe możliwości leczenia

WYKŁADOWCA: MARK LARCHE (KANADA)

Profesor Larche poświęcił swój wykład procesom tolerancji immunologicznej i subpopulacjom limfocytów T regulatorowych.

W ostatnich latach opublikowano wiele badań dotyczących metod regulacji układu immunologicznego, a także roli regulacji i tolerancji immunologicznej w rozwoju chorób alergicznych, chorób z autoagresji i nowotworów.

Reakcje swoiste alergenowi u osób niealergiczych

Produkcja cytokin o profilu Th2 związana jest z rozwojem chorób alergicznych. Historycznie rozwój fenotypu niealergicznego tłumaczony był brakiem rozpoznania alergenu lub zdolnością produkcji „ochronnych” cytokin o profilu Th1. Rzeczywiście u osób niealergiczych w odpowiedzi na alergen dochodzi do produkcji cytokin o profilu Th1. Tak więc alergicy odpowiadają na alergen zapalną reakcją typu Th2, podczas gdy u osób bez alergii odpowiedź na alergen jest odpowiedzią Th1, nie mającą charakteru zapalnego.

Ostatnie badania sugerują, że aktywna regulacja jest kluczowym elementem pomagającym utrzymać stan tolerancji obwodowej na alergeny u osób zdrowych. Profil produkowanych cytokin IFN- γ (marker komórek Th1), IL-4 (marker Th2) i IL-10 (cytokina przeciwzapalna, marker subpopulacji komórek regulatorowych Tr1) różni się u osób z alergią i bez alergii, a stosunek subpopulacji komórkowych determinuje rozwój prawidłowej lub alergicznej odpowiedzi immunologicznej. Mała liczba komórek regulatorowych i wysoka Th2 da odpowiedź alergiczną, a u osób niealergiczych odpowiedź Th1/Th2 będzie wiązała się z silną produkcją IL-10. Podobnie, komórki Th2 u dzieci z alergią na mleko krowie produkują cytokiny Th2, podczas gdy u osób alergicznych (ale nieuczulonych na mleko, tylko na inne pokarmy) dominują cytokiny Th1/Th2 związane z wysokimi stężeniami IL-10.

Limfocyty T regulatorowe nabyte

Rola komórek Tr1 produkujących IL-10 w podtrzymaniu tolerancji immunologicznej była przedstawiona w eksperymencie, do którego włączono 3 grupy pacjentów: pszczelarzy, osoby z dużą ekspozycją na sierść kota oraz osoby odczulane za pomocą immunoterapii swoistej. Poziom IL-10 produkowanej przez limfocyty T u pszczelarzy, ciągle żądlnych podczas sezonu, w sezonie stale wzrasta. Wiele osób wytwarza swoiste IgE i na początku sezonu podczas pierwszych użądleń obserwuje się u pszczelarzy niewielkie reakcje miejscowe. Reakcje na żądlenia znikają wraz ze wzrostem IL-10. Wydaje się, że osoby eksponowane na wysokie stężenia sierści kota też są chronione poprzez produkcję IL-10 oraz swoistych alergenowi przeciwciał w klasie IgG4, a nie IgE. Immunoterapia swoista związana jest zarówno z wpływem na komórki Th1, jak i Tr1. Początkowe badania sugerowały względny wzrost IFN- γ w stosunku do IL-4, zarówno w tkankach,

jak i krwi obwodowej, w odpowiedzi na immunoterapię. Ostatnio pojawiły się doniesienia dotyczące produkcji IL-10 przez limfocyty T, B i monocyty/makrofagi w odpowiedzi na immunoterapię. Tak więc immunoterapia swoista wpływa zarówno na komórki prezentujące antygen, jak i limfocyty T, poprzez indukcję produkcji IL-10 oraz TGF- β . Leczenie pacjentów peptydami alergenowymi będącymi głównymi epitopami limfocytów T prowadzi do produkcji IL-10 i rozwoju komórek regulatorowych CD4. IL-10 zwiększa produkcję przeciwciał w klasie IgG4, a TGF- β jest cytokiną odpowiedzialną za przełączenie klasy syntetyzowanych przeciwciał na IgA.

Odrębna populacja regulatorowych limfocytów T produkujących TGF- β została odnaleziona w jelitach. Komórki zostały nazwane limfocytami Th3. Komórki Th3 hamują prozapalną odpowiedź limfocytów T w jelitach i promują przełączenie na syntezę przeciwciał w klasie IgA. IL-10 i TGF- β kooperują ze sobą w regulacji odpowiedzi na alergeny zarówno u alergików, jak i u osób zdrowych.

Powstawanie komórek Tr1 produkujących IL-10 może być również stymulowane przez witaminę D3 i deksametazon. Leczenie wziewnymi lub systemowymi glikokortykosteroidami prowadzi do wzrostu ekspresji mRNA dla IL-10 oraz czynnika transkrypcyjnego Foxp3. Poziomy IL-10 i Foxp3 korelują ze sobą. Preinkubacja limfocytów CD4+CD25+ z flutikazonem zwiększa zdolność komórek do zahamowania proliferacji limfocytów CD4+CD25- oraz jest związana ze zwiększoną produkcją IL-10. Jednak komórki Tr1 produkujące IL-10 i Th3 produkujące TGF- β stanowią tylko 2 subpopulacje komórek regulatorowych nabytych. Istnieją dowody na to, że inne populacje komórek, szczególnie naturalne komórki regulatorowe pochodzące z grasicy, mogą odgrywać rolę w astmie i alergii.

Naturalne (pochodzące z grasicy) komórki regulatorowe CD4+CD25+Foxp3+

W skład populacji komórek CD4+CD25+ wchodzi zarówno aktywowane komórki T pomocnicze, jak i komórki regulatorowe. Ostatnio udaje się zróżnicować te populacje na podstawie koekspresji Foxp3. Naturalne komórki regulatorowe CD4+CD25+Foxp3+ stanowią 5-10% puli obwodowych limfocytów T. Nie wykazują one proliferacji w odpowiedzi na poliklonalną stymulację antyCD3 ani antygenową stymulację. Co więcej, mogą zahamować odpowiedź proliferacyjną ze strony limfocytów CD4+CD25neg.

Mutacja genu Foxp3 prowadzi do rozwoju zespołu IPEX (z ang. *immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome*), w którym dochodzi do nasilonej produkcji IgE oraz rozwoju atopowego zapalenia skóry. Jednak niektóre limfocyty T regulatorowe produkujące IL-10 nie wykazują ekspresji Foxp3.

Większość naturalnych limfocytów Treg powstaje w grasicy, ale komórki CD4+CD25+Foxp3+ mogą powstawać również na obwodzie w wyniku reakcji swoistych stymulacji niskimi dawkami antygeny. U osób z atopowym zapaleniem skóry liczba komórek regulatorowych w skórze jest obniżona, mimo ich prawidłowej obecności w krwi obwodowej.

Zaburzona regulacja w chorobach alergicznych i astmie

Wiele wyników badań wskazuje, że w astmie i chorobach alergicznych funkcja regulatorowych komórek jest w istotny sposób zaburzona. Limfocyty T CD4+CD25+ od osób z pyłkowicą miały słabszą zdolność hamowania proliferacyjnej odpowiedzi i produkcji IL-5 przez komórki CD4+CD25+.

Coraz więcej wiadomo na temat zaburzonej funkcji limfocytów Treg u osób z astmą. U osób z ciężką, niekontrolowaną astmą, liczba komórek CD4+ produkujących IL-10 jest niższa niż u pacjentów z astmą kontrolowaną i astmą lekką. Dawka glikokortykosterydów wziewnych stosowanych przez pacjentów nie wpływała na produkcję IL-10.

Porównując liczbę i czynność komórek CD4+CD25+ u dzieci z astmą leczoną i nieleczoną, dzieci z kaszlem i dzieci zdrowych, stwierdzono, że liczba komórek CD4+CD25+ i poziom ekspresji Foxp3 był porównywalny u dzieci zdrowych (z kaszlem lub bez) i u dzieci z astmą leczoną, ale liczba komórek regulatorowych i ekspresja Foxp3 była znacznie obniżona u dzieci z astmą nieleczoną.

Zrozumienie mechanizmów regulacji odpowiedzi immunologicznej może przyczynić się w przyszłości do odkrycia nowych metod terapii chorób wynikających z zaburzenia tolerancji immunologicznej.

OPRACOWANIE: JOANNA MAKOWSKA
