

Mechanizmy odporności nieswoistej

The mechanisms of innate immunity

MARTA GRUCHAŁA NIEDOSZYTKO^{1,2}, MAREK NIEDOSZYTKO²

¹ Katedra Żywienia Klinicznego, Gdański Uniwersytet Medyczny

² Klinika Alergologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

Streszczenie

Układ immunologiczny pełni swoją funkcję dzięki mechanizmom: odporności nieswoistej i swoistej. Rola odporności swoistej w rozwoju nadwrażliwości alergicznej jest znana i znalazła swoje miejsce w definicji alergii. Badania ostatnich lat, w tym analiza znaczenia polimorfizmu genów metodą GWAS (ang. *genome wide association study*) w rozwoju chorób z kręgu alergii, podkreślają znaczenie mechanizmów odporności nieswoistej.

Podstawową rolą odporności nieswoistej jest szybka, niespecyficzna obrona przed zakażeniem. Biorą w niej udział komórki nabłonka, makrofagi, komórki dendrytyczne, neutrofile, receptory PPR, TLR, białka układu dopełniacza, cytokiny, filagryna i molekuly adhezyjne jak kadheryny. Zaburzenie odporności nieswoistej może sprzyjać kolonizacji dróg oddechowych szczepami patogennymi bakterii, sprzyjąc zakażeniom wirusowym i prowadzić do rozwoju i zaostrzenia chorób alergicznych.

Szczególną uwagę zwraca się w ostatnich latach na znaczenie mutacji genu filagryny prowadzącej do zaburzeń funkcji naskórka i rozwoju atopowego zapalenia skóry, rozwoju zakażeń i penetracji alergenów. Prowadzić mogą one również do rozwoju alergicznego nieżytu nosa i astmy. Zaburzenia funkcji e-kadheryny białka biorącego udział w strukturalnej i immunologicznej regulacji funkcji nabłonka oddechowego wpływają na powstanie uszkodzeń nabłonka dróg oddechowych, powstawania stanu zapalnego i remodeling dróg oddechowych. Zwiększenie ekspresji kładyny stwierdzono zarówno w nabłonku jak i mięśniach gładkich oskrzeli u chorych na astmę. Mechanizm ten ma znaczenie w remodelingu dróg oddechowych. Miejscowe stosowanie EGF jest badane w leczeniu astmy i choroby Crohna. Dalsze badania nad rolą mechanizmów odporności nieswoistej u chorych na astmę mogą doprowadzić do powstania nowych leków stosowanych w chorobach z kręgu alergii.

Słowa kluczowe: odporność nieswoista, polimorfizm genów, filagryna, kadheryna, kładyna

Summary

The immune system can be divided into two parts depending on the mechanisms used in recognition and defense: (1) innate and (2) adaptive immune systems. The function of adaptive, specific immunity in the development of allergic hypersensitivity has been widely studied and it has been included in the definition of allergy. The recent studies, including GWAS (*genome wide association studies*) have indicated the importance of innate immune system in the pathophysiology of allergic diseases.

Rapid, nonspecific defense in response to an infection is the crucial function of the innate immunity. The innate immunity is a complex mechanism involving epithelial cells, macrophages, dendritic cells, neutrophils, PPR and TLR receptors, complement system proteins, cytokines, filaggrin, cadherins and other similar adhesion molecules. The disorders of innate immunity may lead to the colonization of pathogens, infections, development of allergic diseases.

Particular attention has been paid in recent years to filaggrin gene mutations and the resultant dysfunction of epithelium, atopic dermatitis, infections and penetration of allergens. They may also lead to the development of allergic rhinitis and asthma. The polymorphism of e-cadherin, a protein involved in structural and functional regulation of respiratory epithelium, may result in damage to the respiratory epithelium, inflammation and remodeling of the airways. The expression of claudin was increased in both epithelium and smooth muscles of the asthmatic patients. Topical EGF administration was studied in asthma and Crohn disease. Further studies on the innate immunity in asthma may contribute to the development of novel anti-asthmatic drugs.

Keywords: innate immune system, gene polymorphism, filaggrin, cadherin, claudin

© *Alergia Astma Immunologia* 2012, 17 (3): 123-126

www.alergia-astma-immunologia.eu

Przyjęto do druku: 16.01.2012

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Marek Niedoszytko

Klinika Alergologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

ul. Dębinki 7

80-210 Gdańsk

tel. +4858 349 16 26; fax +4858 349 16 25

e-mail:mnied@gumed.edu.pl

Wykaz skrótów:

EGF (ang. *epidermal growth factor*) – naskórkowy czynnik wzrostu;

GABRIEL (ang. *A Multidisciplinary Study to Identify the Genetic and Environmental Causes of Asthma in the European Community*) – wielodyscyplinarne badanie identyfikujące genetyczne i środowiskowe przyczyny astmy w populacji europejskiej;

GWAS (ang. *Genome wide association study*) – badanie asocjacyjne genomu;

MeDALL (ang. *Mechanisms of the Development of Allergy*) – mechanizmy rozwoju alergii SNP (ang. *Single nucleotide polymorphism*) – polimorfizm pojedynczej par zasad

Wprowadzenie

Badania epidemiologiczne wykazały zwiększenie częstości występowania chorób alergicznych w większości krajów świata w ciągu ostatnich 100 lat. Badania genetyczne, a zwłaszcza prowadzone metodą GWAS (ang. *genome wide association study*) wskazują na mechanizmy genetyczne, które mogą być związane z występowaniem atopii, alergii, astmy i innych chorób alergicznych. Wydaje się jednak, że proces powstawania zmian genetycznych w populacji wymaga czasu co najmniej kilkunastu pokoleń. Z drugiej strony teoria higieniczna wskazuje na związek zmiany stylu życia na zwiększenie ryzyka alergii. Jednym z czynników łączących zmianę warunków środowiska, zwiększenie częstości występowania alergii i uwarunkowania genetyczne są mechanizmy odporności nieswoistej. Odpowiadają one za pierwszy kontakt organizmu z środowiskiem, aktywację układu immunologicznego, penetrację alergenów przez barierę nabłonka i naskórka. Główne mechanizmy odporności nieswoistej przedstawiono w tabeli I [1-3].

Wykazano związek polimorfizmu genetycznego i ekspresji białek mechanizmu odporności nieswoistej z częstością i ciężkością chorób alergicznych [2,3, 4-9]. Jedna z teorii wskazuje na odmienny sposób reagowania na czynniki środowiskowe uwarunkowany działaniem mechanizmów odporności nieswoistej, jako czynnik rozwoju astmy u osób atopowych [2,10].

Jak wyniki badań genetycznych mogą pozwolić nam usystematyzować wiedzę na temat odporności nieswoistej

Lekarz pracujący w XXI wieku czuje się często zagubiony wśród zalewu danych pochodzących z badań podstawowych dotyczących etiopatogenezy chorób. Odkrycie tysięcy genów, setek tysięcy białek, milionów polimorfizmów genów, tysięcy typów komórek biorących udział w etiopatogenezie chorób skłania do zastanowienia co tak naprawdę jest ważne w tym gąszczu danych. Wydaje się, że pomoc może w tym zakresie matematyka i statystyka [4,7,11]. Badania metodą GWAS polegają na porównaniu częstości występowania setek tysięcy a nawet milionów polimorfizmów w grupie wielu tysięcy chorych oraz populacji zdrowej. Ocena znaczenia wyniku oparta jest przede wszystkim na czystym wyniku analizy matematycznej, w której każdy

z analizowanych polimorfizmów, niezależnie od informacji o jego funkcji brany jest pod uwagę w końcowej analizie. Powszechnie uznanym punktem odcięcia dla wyniku statystycznie istotnego jest wartość $p < 7.2 \times 10^{-8}$ choć często przyjmowana jest wartość mniejsza $p < 5 \times 10^{-7}$ [11].

Największym opublikowanym dotychczas badaniem, w którym zastosowano tę metodę badawczą u chorych na astmę jest badanie GABRIEL (ang. *A Multidisciplinary Study to Identify the Genetic and Environmental Causes of Asthma in the European Community*, wielodyscyplinarne badanie identyfikujące genetyczne i środowiskowe przyczyny astmy w populacji europejskiej) [1,8]. W badaniu tym poddano analizie materiał genetyczny 10 365 chorych na astmę i 16 110 osób zdrowych, którzy wzięli udział poprzednio w 23 badaniach prowadzonych w Europie, Rosji, Australii, Kanadzie. U wszystkich chorych badano polimorfizm 582 892 pojedynczych par zasad genów (ang. *single nucleotide polymorphism*, SNP). W przypadku 10 z 582 892 analizowanych SNP przedstawionych w tabeli II, wykazano związek z występowaniem astmy. Funkcja większości zidentyfikowanych genów związana jest z uszkodzeniem nabłonka, które może prowadzić do inicjacji zapalenia i rozwoju astmy [7]. Grupa badanych genów: ORMDL3/GSDMB, IL18R1, SLC22A5 i RORA, bierze udział w szlaku transportera karnityny, a ich istotna rola wykazana została oprócz astmy w patogenezie choroby Leśniowskiego-Crohna. Może to wskazywać na podobny patomechanizm związany z interakcją błony śluzowej z czynnikami infekcyjnymi. Znaczenie większości genów i mechanizmów opisanych powyżej wymaga jeszcze badań funkcjonalnych i odniesienia do danych klinicznych.

Mechanizmy odporności nieswoistej a klinika alergii

Do znanych mechanizmów odporności nieswoistej, których znaczenie poparte jest badaniami funkcjonalnymi, epidemiologicznymi i klinicznymi należą mutacje genu filagryny [12], klaudyny 1 [8], E-cadheryny [5] oraz EGF [2]. Ostatni z wymienionych genów może stać się źródłem celem? Nowych leków stosowanych w leczeniu astmy.

Filagryna jest białkiem, którego ekspresja zachodzi w komórkach nabłonka w wyniku proteolizy białka prekursorowego profilagryny. Szeroko znana jest rola mutacji non-

Tabela I. Mechanizmy odporności nieswoistej [1-3]

Mechanizmy odporności nieswoistej	
1	Komórki nabłonka błon śluzowych
2	Białka międzykomórkowe nabłonka, błon śluzowych (m.in. kadheryna, klaudyna, filagryna)
3	Wydzieliny nabłonka i błon śluzowych: pot, łój, kwas solny, lizozym, laktoferyna, transferyna
4	Ruch rzęsek, kaszel, kichanie, wydzieliny śluzowo-surowicze, perystaltyka, złuszczenie nabłonka
5	Flora fizjologiczna skóry i błon śluzowych
6	Układ dopełniacza, białka ostrej fazy, interferon, TNF, IL4, IL13
7	Komórki żerne, komórki NK, komórki dendrytyczne

sensowych 2282 del 4 oraz R501X genu FLG prowadzących do braku produkcji białka w patogenezie atopowego zapalenia skóry [12,13]. Odkrycie tego mechanizmu tłumaczy znaczenie suchości skóry w mechanizmie AZS oraz konieczność korekcji mechanizmu przelnaskórkowej utraty wody poprzez stosowanie emolientów [13]. Badania Ponińskiej i wsp. prowadzone w ramach badania ECAP (Epidemiologia chorób alergicznych w Polsce) obejmujące dużą grupę prawie 3 802 badanych, wykazały zwiększenie ryzyka występowania nie tylko atopowego zapalenia skóry, ale także astmy i alergicznego nieżytu nosa u chorych będących nosicielami opisywanych wariantów genetycznych [12]. Ryzyko wystąpienia astmy było większe także u chorych, u których nie stwierdzono objawów atopowego zapalenia skóry. Nie stwierdzono związku wariantów polimorficznych genu *FLG* z uczuleniem oraz stężeniem IgE, co może potwierdzać rolę mechanizmów nieswoistych w etiopatogenezie chorób z kręgu alergii. Poczyszczającym może być fakt, że występowanie wariantów 2282 del 4 oraz R501X genu *FLG* jest rzadkie w populacji polskiej i dotyczy odpowiednio 3,76% i 0,8% badanych [12].

Klaudyny i kadheryny są białkami, które występują między innymi w połączeniach międzykomórkowych w obrębie komórek nabłonka. Klaudyny wchodzi w skład połączeń ścisłych (ang. *tight junctions*, TJ), kadheryny biorą udział w tworzeniu połączeń adherentnych (ang. *adherent junctions*) położonych w niższych warstwach komórek [3,6].

Zwiększoną ekspresję klaudyny stwierdzono zarówno w nabłonku jak i mięśniach gładkich oskrzeli u chorych na astmę. Zwiększenie ekspresji klaudyny zależne jest między innymi od cytokin prozapalnych, podczas gdy podanie steroidów powoduje zmniejszenie ekspresji tego białka. Klaudyna bierze udział w 3 kluczowych mechanizmach remodelingu oskrzeli: nasileniu zapalenia, zaburzeniu naprawy tkanki oraz angiogenezie [8].

E-kadheryna jest elementem integrującym funkcję bariery i immunologiczną komórek nabłonka [5]. Bierze

udział w obronie przed czynnikami środowiskowymi (alergenami, wirusami); indukowaniu cytokin prozapalnych (np. IL-8), metaloprotein; dojrzewaniu komórek dendrytycznych oraz limfocytów Treg Foxp3+ [5]. Badanie 17 znanych genotypów E-kadheryny u chorych na astmę leczonych sterydami wziewnymi oraz w grupie badanej przed rozpoczęciem leczenia wykazało związek siedmiu polimorfizmów z remodelingiem dróg oddechowych, trzech z liczbą limfocytów CD8+, dwóch z liczbą eozynofiliów oraz siedmiu ze zmniejszeniem FEV1. Związek badanych polimorfizmów z ekspresją e-kadheryny w nabłonku stwierdzono jedynie u chorych, którzy nie byli leczeni steroidami wziewnymi. Wskazuje to na możliwość zwiększenia ekspresji badanego białka podczas leczenia steroidami a przez to uszczelnieniu bariery międzykomórkowej [14].

Leczenie „celowane” na naprawę mechanizmów odporności nieswoistej w alergii

Stosowanie emolientów w leczeniu atopowego zapalenia skóry jest prostą i skuteczną metodą „korygującą” efekt mutacji genu filagryny. Niestety stosowanie tej metody jest trudne w przypadku dróg oddechowych. Być może znaczenie mogą mieć tu metody prewencji alergii polegające na odpowiednim nawilżeniu pomieszczeń, w których przebywa się (wysuszenie śluzówek może sprzyjać penetracji drobnoustrojów), prowadzeniu szczepień przeciwgrypowych i metod immunomodulacji zmniejszającą liczbę i ciężkość zakażeń bakteryjnych. Jak już wspomniano stosowanie steroidów wziewnych może zwiększyć ekspresję e-kadheryny.

Xiao i wsp. wykazali, że nabłonek dróg oddechowych chorych na astmę wykazuje uszkodzenie połączeń ścisłych (TJ) [2]. Stosowanie miejscowe naskórkowego czynnika wzrostu EGF (ang. *epidermal growth factor*, EGF) doprowadziło do odbudowy TJ. Efektu tego nie stwierdzono podczas ogólnoustrojowego stosowania EGF. Podawanie ogólnoustrojowe EGF może sprzyjać niekontrolowanej

Tabela II. Geny, dla których uzyskano istotne różnice występowania u chorych na astmę w badaniu GABRIEL [7]

Nazwa genu	Prawdopodobny mechanizm działania
IL18R1	Uszkodzenie nabłonka oddechowego, receptor dla IL18, 1,33, IL12
HLA-DQ	Odpowiedź na czynniki zakaźne np. bakterie
IL33	Uszkodzenie nabłonka, aktywacja Th2, IL4,13
SMAD3	Homeostaza nabłonka i procesy naprawcze, modulacja transkrypcji komórek zapalnych m.in. limfocytów T
GSDMB	Geny związane z ORMDL3, ekspresja w retikulum endoplazmatycznym, biorą udział
GSMA	w odporności komórkowej w procesach zapalnych, metabolizmie sfingolipidów i regulacji cyklu komórkowego, apoptozy
IL2RB	Homeostaza nabłonka i procesy naprawcze
SLC22A5	Transporter karnityny nabłonka, odporność przeciwzakaźna
IL13	Związany ze stężeniem surowiczej IgE
RORA	Odporność nieswoista nabłonka, receptor dla hormonalny NR1 w keratynocytach

proliferaacji i transformacji nowotworowej komórek. W opisywanym modelu efektu tego nie stwierdzano podczas stosowania miejscowego na powierzchnię dojrzałych komórek nabłonka oddechowego. Stosowanie miejscowe EGF badano również w leczeniu choroby Leśniowskiego–Crohna [15]. Chorem podawano 14-dniowe wlewki z EGF w połączeniu z mesalazyną, uzyskując remisję choroby trwającą do 12 tygodni po zakończeniu leczenia [16]. Stosowanie tej metody leczenia wymaga dalszych badań oraz oceny stosunku korzyści do ryzyka odległych działań niepożądanych związanych z możliwością transformacji nowotworowej komórek nabłonka.

Piśmiennictwo

- Gołąb J, Jakóbskiak M. Mechanizmy rozpoznawania drobnoustrojów. (w) Immunologia. Gołąb J (red.). PWN, Warszawa 2007.
- Xiao C, Puddicombe SM, Field S i wsp. Defective epithelial barrier function in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 128: 549-56.
- Knight DA, Stick SM, Hackett TL. Defective function at the epithelial junction: a novel therapeutic frontier in asthma? *J Allergy Clin Immunol* 2011; 128: 557-8.
- Torgerson DG, Ampleford EJ, Chiu GY i wsp. Meta-analysis of genome-wide association studies of asthma in ethnically diverse North American populations. *Nat Genet* 2011; 43: 887-92.
- Nawijn MC, Hackett TL, Postma DS i wsp. E-cadherin: gatekeeper of airway mucosa and allergic sensitization. *Trends Immunol* 2011; 32: 248-55.
- Postma DS, Kerkhof M, Boezen HM i wsp. Asthma and chronic obstructive pulmonary disease: common genes, common environments? *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 183: 1588-94.
- Moffatt MF, Gut IG, Demenais F i wsp. GABRIEL Consortium. A large-scale, consortium-based genomewide association study of asthma. *N Engl J Med* 2010; 363: 1211-21.
- Fujita H, Chalubinski M, Rhyner C i wsp. Claudin-1 expression in airway smooth muscle exacerbates airway remodeling in asthmatic subjects. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127: 1612-21.
- Holt PG, Sly PD. Interaction between adaptive and innate immune pathways in the pathogenesis of atopic asthma: operation of a lung/bone marrow axis. *Chest* 2011; 139: 1165-71.
- Holgate ST, Davies DE, Powell RM i wsp. Local genetic and environmental factors in asthma disease pathogenesis: chronicity and persistence mechanisms. *Eur Respir J* 2007; 29: 793-803.
- Zhang Y, Moffatt MF, Cookson WO. Genetic and genomic approaches to asthma: new insights for the origins. *Curr Opin Pulm Med* 2012; 18: 6-13.
- Ponińska J, Samoliński B, Tomaszewska A i wsp. Filaggrin gene defects are independent risk factors for atopic asthma in a Polish population: a study in ECAP cohort. *PLoS One* 2011; 6(2): e16933.
- Palmer CN, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A i wsp. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nat Genet* 2006; 38: 441-6.
- Ierodiakonou D, Postma DS, Koppelman GH i wsp. E-cadherin gene polymorphisms in asthma patients using inhaled corticosteroids. *Eur Respir J* 2011; 38: 1044-52.
- Sinha A, Nightingale J, West KP i wsp. Epidermal growth factor enemas with oral mesalazine for mild-to-moderate left-sided ulcerative colitis or proctitis. *N Engl J Med* 2003; 349: 350-7.
- Bousquet J, Anto J, Auffray C i wsp. MeDALL (Mechanisms of the Development of ALLergy): an integrated approach from phenotypes to systems medicine. *Allergy* 2011; 66: 596-604.