

17-o tipo T limfocitų pagalbininkų reikšmė vėlyvosios fazės kvėpavimo takų uždegimui sergant alergine astma

Ieva Bajoriūnienė

LSMU MA Pulmonologijos ir imunologijos klinika

2014 metų rugpjūčio 27 d. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos akademijos (LSMU MA) viešame Medicinos mokslo krypties tarybos posėdyje Ieva Bajoriūnienė apgynė daktaro mokslo laipsnio disertaciją *17-o tipo T limfocitų pagalbininkų vaidmuo sergant alergine astma*. Mokslinis vadovas – prof. dr. Kęstutis Malakauskas. Disertacija rengta 2009–2014 metais Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos akademijos Pulmonologijos ir imunologijos klinikoje.

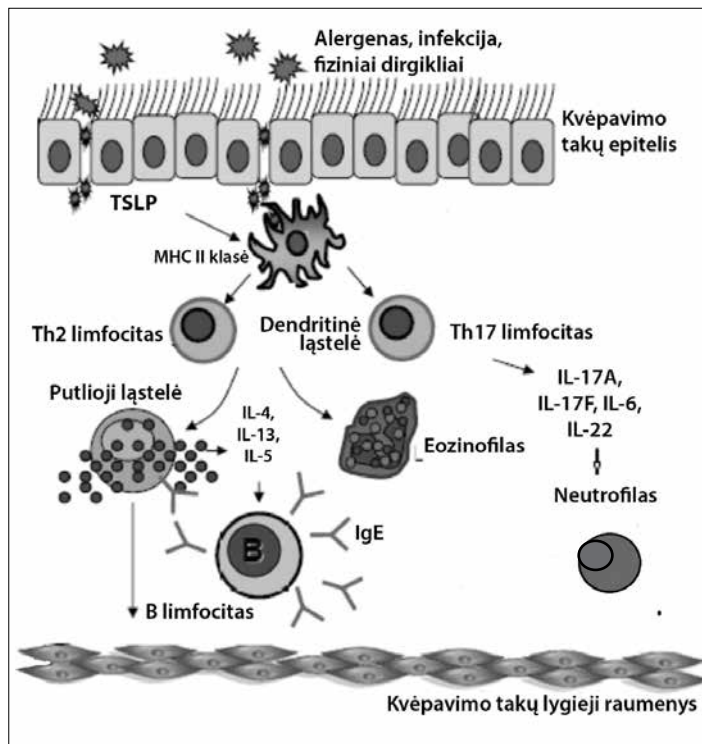
IVADAS

Astma yra lėtinė kvėpavimo takų uždegimo liga, kuriai būdingas padidėjęs bronchų reaktyvumas, pasikartojantys sutrikusio bronchų laidumo epizodai, pasireiškiantys veržimu krūtinėje, švokštimu, dusuliu ar kosuliu, išnykstantys savaime ar gydant [1]. Tai viena dažniausių ir vaikų, ir suaugusiųjų lėtinių ligų. Todėl įvairių šalių mokslininkai skiria itin daug dėmesio klinikiniais stebėjimams ir moksliniams tyrimams, siekdami išsiaiškinti astmos atsiradimo priežastis, provokuojančius veiksnius, uždegimo kvėpavimo takuose ypatumus, kurie ilgainiui sąlygoja ligos progresavimą ir plaučių funkcijos sutrikimą. Lietuvos sveikatos mokslo universiteto Medicinos fakulteto Pulmonologijos ir imunologijos klinikos mokslininkų grupė, tęsdama ilgalaikius lėtinių obstrukcinių ligų patogenezės tyrimus, 2009–2014 metais atliktame moksliniame darbe ištyrė 17-o tipo T limfocitų pagalbininkų (Th17 limfocitų) įtaką vėlyvosios fazės kvėpavimo takų uždegimui sergant alergine astma.

NESPECIFINIO IMUNITETO VEIKSNIAI ASTMOS PATOGENEZĖJE

Kvėpavimo takus dengia daugiasluoksnis stulpinis epitelis, darniai reguliuojamas organizmo apsaugos barjeras nepralaidus daugeliui aplinkos veiksnių. Glaudžiosios tarp-ląstelinės jungtys tvirtai sujungia greta esančias epitelio ląsteles ir palaiko kvėpavimo takų gleivinės struktūrinį

vientisumą. Sergant astma, apsauginė kvėpavimo takų epitelio funkcija sutrinka, o pralaidumas antigenams padidėja. Toki epitelio struktūros pakitimą sergant astma gali nulemti ir genetiniai, ir aplinkos veiksniai. Pavyzdžiui, genetiniai pokyčiai nulemia pakitusią citokinų (interferono- β ir interferono- λ) gamybą, sumažėjusį fermentų (superoksido dismutazės ir gliutinationo peroksidazės) kiekį epitelyje [2]. Kvėpavimo takų epitelio ląstelių skatina dendritinių ląstelių sankaupą kvėpavimo takuose, todėl, sergant astma, nustatomas didesnis jų kiekis [3]. Nespecifinio imuniteto grandies pažeidimas sudaro palankias sąlygas įkvėptiems alergenams, virusams ar cheminėms medžiagoms lengvai prasiskverbti į gilesnius kvėpavimo organų audinius ir sukelti imuninį atsaką. Užkrūčio stromos limfopoetinas (angl. *thymic stromal lymphopoietin*, TSLP) yra citokinas, kurį išskiria žmogaus kvėpavimo takų epitelio ląstelės, sąveikaudamos su kai kuriais mikrobu produktais (peptidoglikanais, lipoteichoinės rūgšties dariniais ir dvigrande viruso ribonukleino rūgštimi), fiziniais stimulais, uždegimo citokinais (interleukinu-1 β , tumoro nekrozės veiksmu). Padidėjęs užkrūčio stromos limfopoetino kiekis nustatomas ir sergančių astma kvėpavimo takuose [4]. Be to, užkrūčio stromos limfopoetinas padidina bronchų reaktyvumą ir skatina nespecifinį imuninį atsaką, sužadindamas putliąsias ląsteles [5]. Užkrūčio stromos limfopoetinas svarbus ir sužadinant specifinį imuninį atsaką. Jis yra viena iš pagrindinių dendritinių ląstelių, kurios kvėpavimo takuose atlieka antigeną pateikiančios ląstelės funkciją, aktyvintojų.



1 pav. Užkrūčio stromos limfopoetinas alerginės astmos patogenezėje (parengta pagal 6–8 šaltinius).

Užkrūčio stromos limfopoetinas didina transmembraninių atpažinimo receptorių T limfocitams pagalbininkams raišką, skatina kvėpavimo takų dendritines ląsteles pateikti perdirtus alergenus kartu su II klasės pagrindiniu audinių suderinamumo kompleksu T limfocitams. Apskritai, koku būdu užkrūčio stromos limfopoetinas ir dendritinės ląstelės gali nukreipti T limfocitų diferenciaciją patologiniu ar reguliaciniu keliu, nėra aišku. Tačiau jau dabar galima sakyti, kad jis veikia daugelį astmos patogenezės grandžių ir greičiausiai yra susijęs ir su nealerginiu uždegimu (nesusijusiu su antro tipo T limfocitų pagalbininkų (Th2 limfocitų) imuniniu atsaku) [6].

Užkrūčio stromos limfopoetinas paskatina dendritines ląsteles pradėti T limfocitų pagalbininkų (Th1, Th2, Th17, T reguliacinių limfocitų) imuninį atsaką bei lėtinio uždegimo kaskadą (1 pav.) [6–8]. Savo ruožtu dendritinės ląstelės, reaguodamos į aplinkos pokyčius, gali tiesiogiai reguliuoti skirtingų subpopuliacijų T limfocitų diferenciaciją: išskirdamos interleukiną (IL)-6 kartu su transformuojančiu augimo veiksniu-β ar IL-23, veikia Th2 limfocitus pagalbininkus; išskirdamos transformuojantį augimo veiksni-β ar IL-10, reguliuoja T reguliacinių limfocitų subpopuliaciją; išskirdamos IL-12, reguliuoja Th1 limfocitų pagalbininkų, o IL-1, IL-6 ar IL-23 – Th17 limfocitų subpopuliaciją.

Dirgiklis (alergenai ar virusai), patekęs į kvėpavimo takus, skatina epitelio ląsteles gaminti ir išskirti užkrūčio stromos limfopoetiną. Šis, priklausomai nuo dirgiklio sudėties, skatina įgimto imuniteto dalyvių, dendritinių ląstelių, aktyvumą bei chemokinių sekreciją, putliųjų ląstelių stimuliaciją, IL-5, IL-6, IL-13 išsiskyrimą. Užkrūčio stromos

limfopoetino suaktyvintos dendritinės ląstelės migruoja į sritinius limfmazgius ir tampa specifinio imuninio atsako generatorėmis, be to, sukelia alergeniui specifinių naiviųjų T limfocitų virsmą į Th2 limfocitus, gaminančius IL-4, IL-5, IL-13 bei naviko nekrozės veiksnius, skatinančius imunoglobulino E (IgE) gamybą ir eozinofilinį kvėpavimo takų uždegimą, ir Th17 limfocitus, išskiriančius IL-17A, IL-17F, IL-6, IL-22, susijusius su neutrofilinio uždegimo vystymusi.

SPECIFINIO IMUNINIO ATSAKO ASPEKTAI SERGANT ALERGINE ASTMA

Padidėjusio jautrumo imuninė reakcija – specifinio imuninio atsako į įkvėptą alergeną, ankstyvosios ir vėlyvosios kvėpavimo takų uždegimo fazės pagrindas. Padidėjusio jautrumo imuninių reakcijų klasifikaciją, pagrįstą imuninio atsako tipu, 1963 metais aprašė mokslininkai P. G. H. Gell ir R. Coombs. Klasifikacija naudojama ir šiomis dienomis. Alerginė astma yra apibūdinama kaip greitojo tipo padidėjusio jautrumo imuninė reakcija, kurios nėra aišku, kodėl vėlyvosios fazės kvėpavimo takų uždegimas išsivysto ne visiems astma sergantiems asmenims, o ir aiškios ribos tarp ankstyvosios alerginio uždegimo fazės pabaigos ir vėlyvosios pradžios nėra. Putliųjų ląstelių mediatoriai, naujai gaminami ląstelėse (naviko nekrozės veiksny-α, leukotrienas B4, IL-8) gali tiesiogiai ir netiesiogiai skatinti uždegimo ląstelių migraciją į uždegimo židinį; naviko nekrozės veiksny-α ir IL-5 suaktyvina nespecifinio imuninio atsako ląsteles; IL-10, naviko nekrozės veiksny-α, transformuojantis augimo veiksny-β, histaminas stimuliuoja dendritines ląsteles, T ir B limfocitus [13, 14]. Kai kurie iš putliųjų ląstelių mediatorių reguliuoja ir kvėpavimo organų struktūrinių ląstelių – epitelio, endotelio, fibroblastų, lygiųjų raumenų ir nervų – veiklą. Astmos patofiziologiniai simptomai – vėlyvoji bronchų obstrukcija – pasireiškia dėl struktūrinių kvėpavimo organų ląstelių ir periferinio kraujo leukocitų, priplūstančių į kvėpavimo takuose esantį alerginio uždegimo židinį, veikimo [15].

17-o TIPO T LIMFOCITŲ PAGALBININKŲ REIŠMĖ VĒLYVOSIOS FAZĖS KVĒPAVIMO TAKŲ UŽDEGIMUI

Žinoma, kad Th17 limfocitų pagalbininkų imuninis atsakas reikšmingas autoimuninių ligų, kaip antai reumatoidinis artritas [16], sisteminė raudonoji vilkligė [17], Krono liga ir opinis kolitas [18], raidai. Alerginė astma laikoma Th2 limfocitų imuninio atsako sukelta ir būdingu eozinofiliniu uždegimu kvėpavimo takuose pasireiškianti liga. Tyrimuose su gyvūnų alerginės astmos modeliais nustatytas padidėjęs Th17 limfocitų bei IL-17 kiekis kvėpavimo takuose ir periferiniame kraujyje. Taip pat pastebėta, kad įkvėptas IL-17 skatina bronchų struktūrinių ląstelių (fibroblastų, epitelinių ir lygiųjų raumenų ląstelių) aktyvumą ir, veikdamas netiesiogiai, sukelia kvėpavimo takų neutrofiliją bei pakeičia neutrofilų funkcijas [19, 20]. Astma sergančių asmenų moksliniais tyrimais nustatytas ryšys tarp padi-

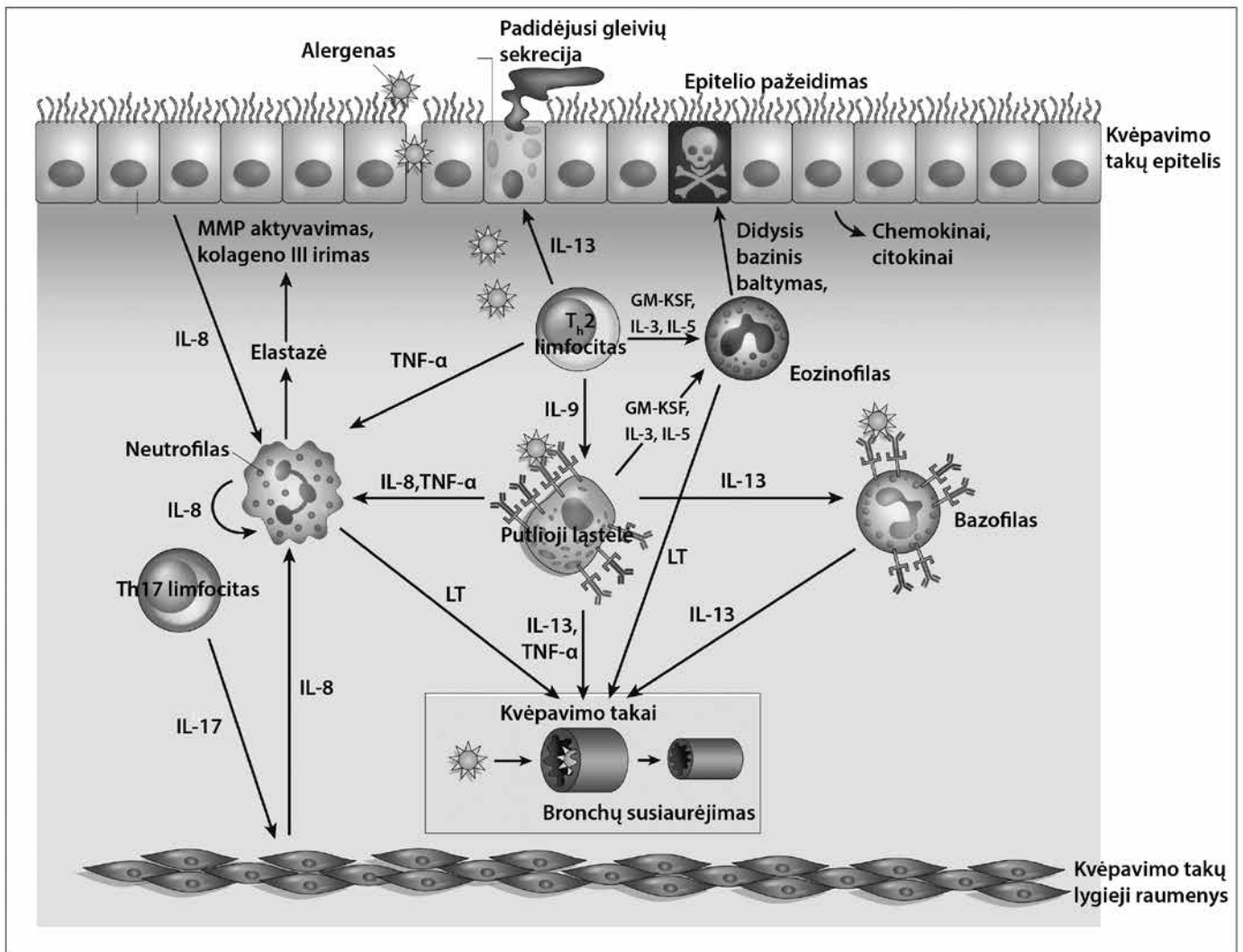
dėjusio IL-17 kiekio skrepliuose ir padidėjusio bronchų reaktyvumo [21] bei astmos sunkumo [22]. O sergančių alerginiu rinitu ir alergine astma periferiniame kraujyje buvo nustatyti T limfocitai, gaminantys ir išskiriantys IL-17. Remiantis šiais pastebėjimais, astmos patogenezės aiškinimas įgavo naujų argumentų.

Moksliniame tyrime „17-o tipo T limfocitų pagalbininkų vaidmuo sergant alergine astma“, atliktame Pulmonologijos ir imunologijos klinikoje, buvo nagrinėta šių limfocitų subpopuliacijos reikšmė sergant alergine astma. Išskirtinis dėmesys telktas į grupę alergine astma sergančių tiriamųjų, kuriems bronchų provokacija namų dulkių erkės *Dermatophagoides pteronyssinus* (*D. pteronyssinus*) alergenu sukėlė vėlyvąją bronchų obstrukciją bei vėlyvosios fazės kvėpavimo takų uždegimą.

Alerginė astma sergančių ir *D. pteronyssinus* alergenui įsijautrinusių asmenų periferiniame kraujyje nustatyta didesnė nei sveikiems asmenims Th17 limfocitų subpopuliacija [23]. Pakartotinai tiriant periferinį kraują praėjus 7 ir 24 val. po bronchų provokacijos sergantiems alergine astma nustatytas labiau, lyginant su sveikais asmenimis bei

pradiniais duomenimis, padidėjęs Th17 limfocitų kiekis. Svarbu tai, kad alergine astma sergančių tiriamųjų, kuriems išsivystė vėlyvoji bronchų obstrukcija, grupėje Th17 limfocitų kiekis buvo padidėjęs labiau nei tiems ligoniams, kuriems po bronchų provokacijos išsivystė tik ankstyvoji bronchų obstrukcija. Šie tyrimo rezultatai rodo, kad Th17 limfocitų subpopuliacija yra svarbi astmos patogenezės veikėja.

Th17 limfocitų subpopuliacija yra vienas pagrindinių IL-17 šaltinių [24]. Ištirta, kad alergine astma sergančių asmenų serume, lyginant su sveikais asmenimis, IL-17 koncentracija būna padidėjusi [25]. Reikia pabrėžti, kad svarbiausi IL-17 koncentracijos pokyčiai, nustatomi ligonių kvėpavimo takuose, ir yra susiję su tam tikru astmos fenotipu, kaip antai sunkios eigos astma ar neutrofilinis kvėpavimo takų uždegimas. Tyrėjai teigia, kad IL-17 koncentracija serume gali būti tiriama ne tik alerginei ligai nustatyti, bet ir jos sunkumui klasifikuoti. Kiti mokslininkai mano, kad padidėjusi serumo IL-17 koncentracija gali būti reikšmingesnis astmos klinikinės eigos prognozinis žymuo nei jau žinomi astmos rizikos veiksniai (nesteroidinių



2 pav. Vėlyvosios fazės kvėpavimo takų uždegimas sergant alergine astma [12]

vaistų nuo uždegimo vartojimas, rūkymas, nutukimas, lėtinis rinosinusitas, kraujo eozinofilija ar kvėpavimo funkcijos rodikliai) [26].

Atlikto tyrimo rezultatai rodo, kad serumo IL-17 koncentracija padidėja praėjus 7 ir 24 valandoms po bronchų provokacijos alergenu, lyginant su sveikais asmenimis bei pradiniais duomenimis. Didesnė IL-17 koncentracija nustatoma ir sergančių alergine astma pogrupyje, kuriems po bronchų provokacijos alergenu išsivystė vėlyvoji bronchų obstrukcija. Įvertinus citokinų koncentracijos kvėpavimo takų sekrete pokyčius, pastebėta, kad vietinis kvėpavimo takų uždegimas yra ryškesnis nei sisteminiai pokyčiai. Svarbu paminėti, kad tik alerginės astmos grupėje praėjus 24 val. po bronchų provokacijos alergenu IL-17 kiekis indukuotuose skrepliuose reikšmingai teigiamai siejosi su indukuotų skreplių neutrofilų bei IL-17 ir Th17 limfocitų kiekiu periferiniame kraujyje [27]. O sergantiems alergine astma, kuriems buvo ir ankstyvoji, ir vėlyvoji bronchų obstrukcija, lyginant su tais, kuriems buvo tik ankstyvoji bronchų obstrukcija, praėjus 7 ir 24 val. po bronchų provokacijos *D. pteronyssinus* alergenu nustatyta didesnė IL-17 koncentracija indukuotuose skrepliuose bei padidėjęs IL-17 kiekis periferiniame kraujyje. Praėjus 24 val. po bronchų provokacijos, Th17 limfocitų kiekis sergančių alergine astma, kuriems buvo ir ankstyvoji, ir vėlyvoji bronchų obstrukcija, periferiniame kraujyje reikšmingai teigiamai siejosi su IL-17 bei neutrofilų kiekiu, tuo tarpu esant tik ankstyvajai bronchų obstrukcijai tokių sąsajų nenustatyta.

APIBENDRINIMAS

Pastaruoju metu ištirti ir aprašyti nauji astmos patogenezės veiksniai, t. y. Th17 limfocitai ir IL-17, leidžia kitaip pažvelgti į alerginės astmos patogenezę, suprasti šios li-

gos ypatumus. Atliktas mokslinis tyrimas rodo, kad Th17 limfocitų ir IL-17 kiekio pokyčiai praėjus 7 ir 24 val. po bronchų provokacijos *D. pteronyssinus* alergenu yra svarbūs vėlyvosios fazės kvėpavimo takų uždegimui sergant alergine astma.

THE ROLE OF TYPE 17 HELPER T LYMPHOCYTES IN LATE-PHASE AIRWAY INFLAMMATION IN PATIENTS WITH ALLERGIC ASTHMA

IEVA BAJORIŪNIENĖ

DEPARTMENT OF PULMONOLOGY AND IMMUNOLOGY
ACADEMY OF MEDICINE LUHS

Keywords: allergic asthma, type 17 T helper lymphocytes, late-phase airway inflammation.

Summary. Allergic asthma is a chronic inflammatory disease of the airways. Allergen-induced early-phase asthmatic reaction occurs within minutes after allergen inhalation and is considered a result of immunoglobulin E-mediated mast cell activation and release of various mediators, which induce an acute fall in lung function and symptoms of acute asthma. In part of patients with allergic asthma, early-phase asthmatic reaction is followed by a secondary fall in lung function. This late-phase asthmatic reaction is characterized by the influx of inflammatory cells, which are predominantly eosinophils, as well as neutrophils, basophils, and T cells. The late-phase asthmatic reaction is associated with an increase in airway hyperresponsiveness and leads to airway remodeling, which develops as the disease progresses. The differences between the pathways leading to the isolated early- or late-phase asthmatic reaction have not been known. The study using mouse asthma models has shown that type 17 T helper lymphocytes and their cytokines are involved in antigen-induced neutrophil recruitment. The sputum interleukin-17 levels were found to be higher in patients with asthma and correlated with airway hyperresponsiveness to methacholine and asthma severity. The inhalation of *Dermatophagoides pteronyssinus* allergen leads to the increased percentage of type 17 T helper lymphocytes and elevated interleukin-17 levels associated with late-phase allergen-induced airway inflammation in allergic asthma.

LITERATŪRA

- Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary. *The European respiratory journal*. 2008; 31(1):143-78.
- Comhair SA, Xu W, Ghosh S, Thunnissen FB, Almasan A, Calhoun WJ, et al. Superoxide dismutase inactivation in pathophysiology of asthmatic airway remodeling and reactivity. *The American journal of pathology*. 2005; 166(3):663-74.
- Pichavant M, Charbonnier AS, Taront S, Brichet A, Wallaert B, Pestel J, et al. Asthmatic bronchial epithelium activated by the proteolytic allergen Der p 1 increases selective dendritic cell recruitment. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2005; 115(4):771-8.
- Ying S, O'Connor B, Ratoff J, Meng Q, Mallett K, Cousins D, et al. Thymic stromal lymphopoietin expression is increased in asthmatic airways and correlates with expression of Th2-attracting chemokines and disease severity. *Journal of immunology*. 2005; 174(12):8183-90.
- Allakhverdi Z, Comeau MR, Jessup HK, Yoon BR, Brewer A, Chartier S, et al. Thymic stromal lymphopoietin is released by human epithelial cells in response to microbes, trauma, or inflammation and potently activates mast cells. *The Journal of experimental medicine*. 2007; 204(2):253-8.
- Tanaka J, Watanabe N, Kido M, Saga K, Akamatsu T, Nishio A, et al. Human TSLP and TLR3 ligands promote differentiation of Th17 cells with a central memory phenotype under Th2-polarizing conditions. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 2009; 39(1):89-100.
- Comeau MR, Ziegler SF. The influence of TSLP on the allergic response. *Mucosal immunology*. 2010; 3(2):138-47.
- Levine SJ, Wenzel SE. Narrative review: the role of Th2 immune pathway modulation in the treatment of severe asthma and its phenotypes. *Annals of internal medicine*. 2010; 152(4):232-7.
- Bloemen K, Verstraelen S, Van Den Heuvel R, Witters H, Nelissen I, Schoeters G. The allergic cascade: review of the most important molecules in the asthmatic lung. *Immunology letters*. 2007; 113(1):6-18.
- Elias JA. Airway remodeling in asthma. *Unanswered questions. American journal of respiratory and critical care medicine*. 2000; 161(3 Pt 2):S168-71.
- Gauvreau GM, Evans MY. Allergen inhalation challenge: a human model of asthma exacerbation. *Contributions to microbiology*. 2007; 14:21-32.
- Galli SJ, Tsai M, Piliponsky AM. The development of allergic inflammation. *Nature*. 2008; 454(7203):445-54.
- Grimbaldeston MA, Metz M, Yu M, Tsai M, Galli SJ. Effector and potential immunoregulatory roles of mast cells in IgE-associated acquired immune responses. *Current opinion in immunology*. 2006; 18(6):751-60.
- Galli SJ, Tsai M. Mast cells in allergy and infection: versatile effector and regulatory cells in innate and adaptive immunity. *European journal of immunology*. 2010; 40(7):1843-51.
- Holgate ST, Polosa R. Treatment strategies for allergy and asthma. *Nature reviews Immunology*. 2008; 8(3):218-30.
- van Hamburg JP, Asmawidjaja PS, Davelaar N, Mus AM, Colin EM, Hazes JM, et al. Th17 cells, but not Th1 cells, from patients with early rheumatoid arthritis are potent inducers of matrix metalloproteinases and proinflammatory cytokines upon synovial fibroblast interaction, including autocrine interleukin-17A production. *Arthritis and rheumatism*. 2011; 63(1):73-83.

Kiti literatūros šaltiniai (iš viso 27) redakcijoje.