

Received: 2013.02.26
Accepted: 2013.10.17
Published: 2014.03.07

Rola receptorów Toll-podobnych (TLR) w patogenezie schorzeń alergicznych – gdzie leży prawda?

The role of Toll-like receptors in the pathogenesis of allergic diseases – where is the truth?

Anna Dębińska, Andrzej Boznański

I Katedra i Klinika Pediatrii, Alergologii i Kardiologii, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Streszczenie

Receptory Toll-podobne (TLR), jako receptory rozpoznające wzorce molekularne związane z patogenami (PAMP), odgrywają główną rolę w indukcji wrodzonej i nabytej odpowiedzi immunologicznej. Stymulacja receptorów TLR przez produkty drobnoustrojów prowadzi do aktywacji komórek prezentujących antygen, wpływa na aktywność komórek regulatorowych Treg, równowagę populacji limfocytów Th1 i Th2, różnicowanie subpopulacji limfocytów Th17, a także wytwarzanie cytokin przez komórki tuczne i aktywację eozynofili. Biologiczna funkcja jaką receptory TLR odgrywają w aktywacji i regulacji odpowiedzi immunologicznej wskazuje na ich udział w patogenezie schorzeń alergicznych, jakkolwiek ich rola pozostaje wciąż niejednoznaczna. Podczas gdy liczne badania epidemiologiczne wskazują na wyraźny efekt protekcyjny ekspozycji na mikrobiologiczne czynniki środowiskowe, wyniki badań eksperymentalnych dowodzą, że stymulacja wrodzonej odporności immunologicznej przez receptory TLR może zarówno promować, jak i hamować rozwój reakcji alergicznych. Do pełnego zrozumienia interakcji między aktywacją wrodzonej odpowiedzi immunologicznej a rozwojem schorzeń alergicznych należy uwzględnić dawkę, czas, drogę i częstość ekspozycji oraz indywidualne predyspozycje genetyczne. Ponadto szeroko zakrojone badania kliniczne dostarczają dowodów na możliwość wykorzystania ligandów receptorów TLR jako nowej metody zapobiegania i leczenia astmy i alergicznego nieżytu nosa.

W pracy przedstawiono aktualną wiedzę na temat roli receptorów TLR w patogenezie schorzeń alergicznych, podjęto próbę wyjaśnienia rozbieżności wynikających z przeprowadzonych badań oraz prześledzono potencjalne możliwości terapeutycznego zastosowania ligandów receptorów TLR w zapobieganiu i leczeniu schorzeń alergicznych.

Słowa kluczowe:

receptory Toll-podobne (TLR) • odporność wrodzona • alergia • astma

Summary

Toll-like receptors (TLRs) are pattern recognition receptors crucial for the innate and adaptive immune response to pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). TLR stimulation via microbial products activates antigen-presenting cells, influences the function of T regulatory cells (Treg), determines the Th1/Th2 balance and Th17 cell differentiation, and controls cytokine production in mast cells and activation of eosinophils. The role of TLR receptors in pathogenesis of allergic diseases results from the biological function that they play in activation and regulation of the immune response. However, the exact role still remains a controversial area. Whereas numerous epidemiological studies mainly indicate a protective effect of microbial

	exposure, experiments show that innate immune stimulation via TLRs may be involved in both development of and protection against allergic diseases. Timing, dose, site and intensity of exposure to environmental factors and host genetic predisposition are clearly crucial to understanding the interaction between innate immune stimulation and allergy development. Furthermore, extensive clinical trials suggest that ligands for TLRs provide new therapeutic targets for protection against and treatment of asthma and allergic rhinitis. The aim of this review is to summarize the current knowledge about the role of TLRs in pathogenesis of allergic diseases. We will further discuss how we can reconcile inconsistencies in the results of existing studies and review information on the potential use of ligands for TLRs in allergy prevention and therapy.
Keywords:	Toll-like receptors (TLR) • innate immunity • allergy • asthma
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1093202
Word count:	2535
Tables:	–
Figures:	1
References:	64

Adres autorki: lek. Anna Dębińska, I Katedra i Klinika Pediatrii, Alergologii i Kardiologii Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, ul. Chałubińskiego 2a, 50-368 Wrocław, e-mail: aanowak@tlen.pl

Wykaz skrótów: **APC** – komórka prezentująca antygen (antygen-presenting cell), **CD14** – monocytowy antygen różnicowania (monocyte differentiation antigen 14), **CpG-ODN** – oligonukleotydy z sekwencjami CpG (CpG oligodeoxynucleotides), **GM-CSF** – granulocytowo-makrofagowy czynnik wzrostu (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), **HDM** – roztocza kurzu domowego (house dust mite), **IFN** – interferon (interferon), **IL** – interleukina (interleukin), **LPS** – lipopolisacharyd (lipopolisacharyd), **MD-2** – mieloidalne białko różnicowania 2 (myeloid differentiation factor-2), **MPL** – monofosforyl lipidu A (monophosphoryl lipid A), **MyD88** – mieloidalny czynnik różnicowania 88 (myeloid differentiation factor 88), **NF-κB** – czynnik jądrowy κB (nuclear factor κB), **PAMP** – wzorce molekularne patogenów (pathogen-associated molecular pattern), **TARC** – chemokina regulowana przez grasicę i aktywację (thymus and activation-regulated chemokine), **TLR** – receptor Toll-podobny (Toll-like receptor), **TNF** – czynnik martwicy nowotworu (tumor necrosis factor), **TSLP** – limfopoetyna zrębu grasicy (thymic stromal lymphopoietin).

Receptory Toll-podobne (TLR), jako wysoko wyspecjalizowane receptory rozpoznające wzorce molekularne związane z patogenami (PAMP), odgrywają główną rolę w indukcji i regulacji zarówno wrodzonej, jak i nabytej odporności immunologicznej. Wykazując ekspresję na komórkach układu odpornościowego, w tym na makrofagach, komórkach tucznych, komórkach dendrytycznych, eozynofilach, subpopulacjach limfocytów T i B oraz komórkach nabłonkowych przewodu pokarmowego i dróg oddechowych zapoczątkowują, przez uruchomienie kaskady sygnałowej, ekspresję cząsteczek kostymulujących i sekrecję cytokin prozapalnych, reakcję obronną organizmu prowadzącą do eliminacji patogenów [21,43]. Rola receptorów TLR w patogenezie schorzeń alergicznych wynika z biologicznej funkcji jaką pełnią w odpowiedzi immunologicznej wpływając na aktywność komórek regulatorowych Treg, różnicowanie

subpopulacji limfocytów Th17, równowagę populacji limfocytów Th1 i Th2, a także wytwarzanie cytokin przez komórki tuczne i aktywację eozynofili [3,21,22].

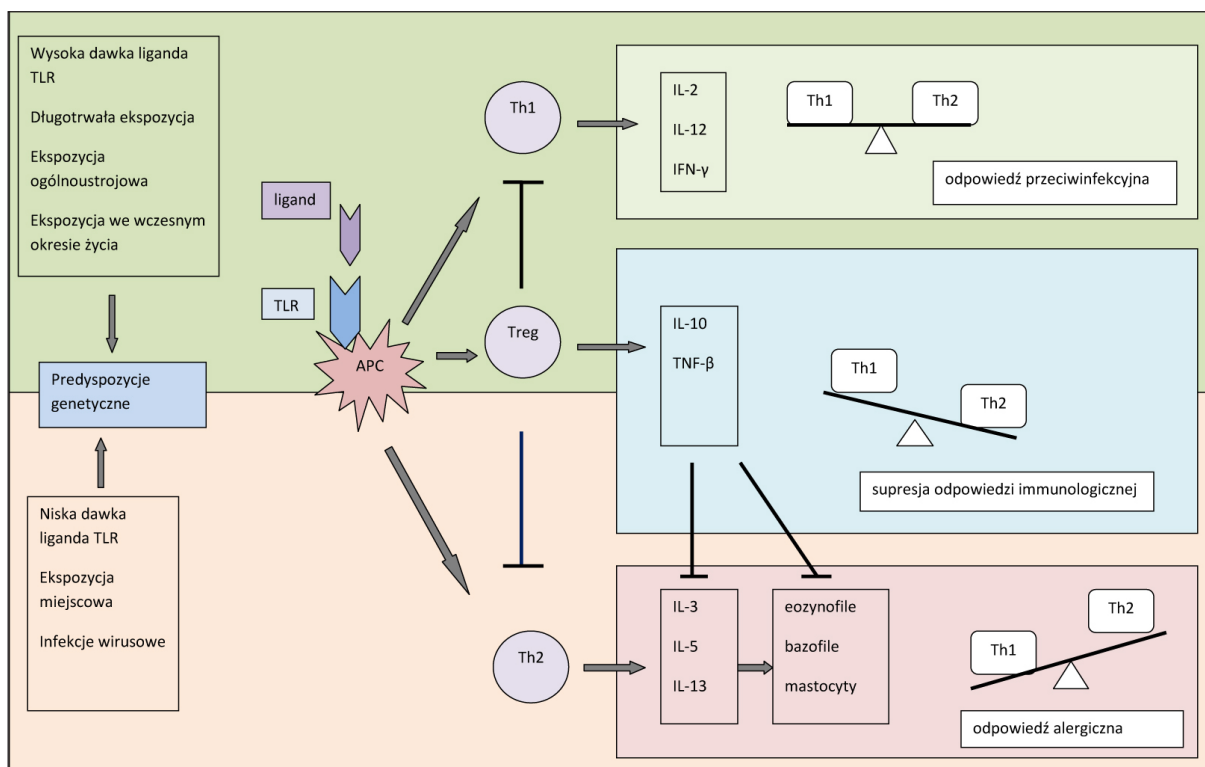
Liczne badania epidemiologiczne wskazują na wyraźny efekt protekcyjny ekspozycji na mikrobiologiczne czynniki środowiskowe, wyniki badań eksperymentalnych jednak dowodzą, że stymulacja wrodzonej odporności immunologicznej poprzez receptory TLR może zarówno promować, jak i hamować rozwój reakcji alergicznych [5,14,52,60]. Badania wskazujące na rolę protekcyjną promują nadal najbardziej popularną hipotezę higieniczną rozwoju alergii, zgodnie z którą ograniczenie ekspozycji na mikrobiologiczne czynniki środowiskowe może odpowiadać za gwałtowny wzrost zachorowań na schorzenia atopowe [51]. Immunologiczne podstawy tej teorii zakładają dwa biologicznie prawdopodobne mechanizmy,

według których aktywacja odporności wrodzonej decyduje o rozwoju odpowiedzi immunologicznej. W pierwszym wczesna stymulacja receptorów TLR przez czynniki mikrobiologiczne prowadzi do aktywacji komórek DC i ukierunkowania odpowiedzi immunologicznej w stronę równowagi Th1/Th2. W drugim, niewykluczającym wspomnianego wyżej, stymulacja receptorów TLR indukuje proliferację i aktywność komórek Treg hamujących nadmierną odpowiedź alergiczną przez supresyjny wpływ na komórki prezentujące antygen, limfocyty Th1 i Th2, eozynofile, bazofile i mastocyty oraz zahamowanie syntezy IgE (rycina 1) [4,16,42]. Jednak część badań epidemiologicznych i eksperymentalnych dowodzi, że stymulacja receptorów TLR przez wybrane bakteryjne, a zwłaszcza wirusowe czynniki infekcyjne prowadzi do nasilenia zapalenia alergicznego u osób z rozpoznaną astmą oskrzelową, a w określonych warunkach może predysponować do rozwoju schorzeń alergicznych [6,33,45,49]. Wiele kontrowersji przynoszą również badania dotyczące ekspozycji na sierść zwierząt domowych, psów i kotów, traktowanej jako marker zwiększonego narażenia na czynniki mikrobiologiczne [55].

CZY STYMULACJA RECEPTORÓW TLR CHRONI PRZED ROZWOJEM SCHORZEŃ ALERGICZNYCH?

Zdecydowana większość badań eksperymentalnych opublikowanych w ostatnich latach wskazuje na protekcyjną rolę receptorów TLR w rozwoju chorób alergicznych i astmy. W kilku odrębnych badaniach przeprowadzonych na mysim modelu astmy alergicznej wykazano, że ligandy receptora TLR2 (lipopeptyd Pam3CSK4 i pep-

tydoglikan), lipid A – ligand TLR4 oraz wspólna dla obydwu receptorów lipoproteina I pochodząca z *Pseudomonas aeruginosa* hamują rozwój reakcji alergicznej. Podaż tych syntetycznych ligandów podczas immunizacji alergenem (OVA) obniżała tkankową eozynofilię i surowicze stężenia IgE, zmniejszała napływ komórek zapalnych i nadreaktywność oskrzeli, hamowała syntezę IL-4, -5 i -13 oraz nasilała wytwarzanie cytokin typu Th1 – IL-10, IL-12, IFN- γ i TNF- α [30,36,41,58]. Protekcyjny skutek stymulacji kompleksu TLR2/TLR6 wykazano również w badaniu na bardziej fizjologicznym modelu przewlekłego zapalenia alergicznego, indukowanego przez donosową podaż wyciągu alergenowego tymotki łąkowej [13]. Taylor i wsp. w eksperymencie na jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej pacjentów uczulonych na roztocza kurzu domowego zaobserwowali, że jednoczesna stymulacja alergenem (HDM) i ligandami receptora TLR2 (kwas lipoteichoowy, Pam3CSK4) hamuje Th2-zależną reakcję alergiczną przez zablokowanie wydzielania IL-5 i IL-13 [53]. Badania potwierdziły również protekcyjny wpływ LPS, głównego liganda receptora TLR4 [15,20,62]. W badaniu Tulic i wsp. LPS hamował rozwój reakcji alergicznej w błonie śluzowej nosa dzieci z potwierdzoną atopią w sposób zależny od TLR4. Po stymulacji LPS wraz z ekstraktem alergenowym autorzy wykazali znaczący wzrost aktywności limfocytów T i wytwarzania cytokin Th1-zależnych (IL-10, IL-12, IFN- γ) przy jednoczesnym zahamowaniu indukowanej alergenem syntezy MBP, tryptazy i cytokin typu Th2 (IL-4, -5, -13) [57]. U myszy wcześniej immunizowanych OVA ekspozycja na LPS modulowała toczącą się w drogach oddechowych reakcję alergiczną, redukując



Ryc. 1. Wpływ receptorów odporności wrodzonej na ukierunkowanie odpowiedzi immunologicznej i rozwój procesów alergicznych (ujęcie schematyczne)

napływ eozynofili i odpowiedź na metacholinę, nasilając jednak zapalenie neutrofilowe. Stała, codzienna podaż LPS prowadziła również do znaczącego obniżenia syntezy cytokin IL-4, IL-5, IL-13 i zwiększenia wydzielania IL-10 i IFN- γ po prowokacji OVA [28]. Istotne zahamowanie reakcji alergicznej autorzy zaobserwowali także po ekspozycji na ekstrakt kurzu domowego, przy czym było to bezpośrednim wynikiem stymulacji receptorów TLR2, TLR4 i TLR9 [28,55]. Kolejnych dowodów dostarczają, opublikowane w ostatnich latach, badania dotyczące mikroorganizmów wyizolowanych z działającego protekcyjnie środowiska wiejskiego (kurz z obory). Stymulacja receptorów TLR przez *Acinetobacter lwoffii* (TLR2, TLR4), *Lactococcus lactis* (TLR2), *Bacillus licheniformis* (TLR4) hamowała rozwój indukowanej alergenem reakcji alergicznej w drogach oddechowych myszy i zmniejszała nadreaktywność oskrzeli. Autorzy dowodzą, że aktywacja TLR2 i TLR4 poprzez zwiększoną syntezę IL-12, IFN- γ i nasiloną ekspresję swoistych ligandów NOTCH na komórkach DC prowadzi do równowagi Th1/Th2, a nawet ukierunkowania odpowiedzi immunologicznej w stronę Th1 [10,11,59].

Modulujący wpływ na rozwój reakcji alergicznej wykazują również ligandy receptorów TLR3 i TLR7, rozpoznających odpowiednio wirusowe dsRNA i ssRNA. Stymulacja tych receptorów za pomocą syntetycznych ligandów poli I:C (TLR3) i R-848 (TLR7) hamuje syntezę swoistych dla OVA przeciwciał IgE i IgG1, zapobiega rozwojowi zapalenia alergicznego w drogach oddechowych i nadreaktywności oskrzeli na mysim modelu astmy. Było to głównie związane ze zwiększonym wytwarzaniem IL-12 [47]. Podobne wyniki uzyskano dla receptora TLR9, którego aktywacja przez syntetyczny oligodwunukleotyd CpG (CpG-ODN) skutkuje u myszy prowokowanych OVA osłabieniem reakcji alergicznej i nasiloną syntezą anty-OVA IgG2 oraz cytokin charakterystycznych dla fenotypu Th1 (IL-12, -18, -28, IFN- α) [39]. Badania przeprowadzone na szczepach myszy BALB/c wykazały, że zarówno podskórne, jak i systemowe podanie liganda TLR9 (CpG-ODN), zmniejsza eozynofilię tkankową i stopień nadreaktywności oskrzeli, zahamowuje nadmierne wytwarzanie śluzu i cytokin Th2-zależnych. Obserwowane zablokowanie reakcji alergicznej po prowokacji OVA było wynikiem nasilonej syntezy IL-12, uwalniania IFN- γ przez limfocyty Th1 oraz zahamowania napływu limfocytów Th2 do płuc. Dodatkowo stymulacja receptora TLR9 ligandem CpG-ODN istotnie obniżała stężenie TGF- β w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych i tkance płucnej, co dowodzi, że podaż CpG-ODN chroni nie tylko przed rozwojem Th2-zależnej reakcji alergicznej, ale również ogranicza proces przebudowy oskrzeli [1,19].

CZY STYMULACJA RECEPTORÓW TLR PROWADZI DO ROZWOJU SCHORZEŃ ALERGICZNYCH?

Wyniki części badań eksperymentalnych dowodzą, że stymulacja receptorów TLR w pewnych warunkach może promować rozwój schorzeń alergicznych. Redecke i wsp.

w badaniu na mysim modelu astmy indukowanym OVA zaobserwowali, że aktywacja TLR2 przez syntetyczny lipopeptyd Pam3Cys zwiększa syntezę swoistych dla OVA IgE i IgG1, nasila nadreaktywność dróg oddechowych, napływ eozynofili i wytwarzanie cytokin Th2-zależnych (IL-13, GM-CSF, IL-1 β) [39]. Podobnie stymulacja małą dawką LPS lub ekstraktem kurzu domowego w połączeniu z alergenem (OVA) nasilała Th2-zależną reakcję alergiczną i nadreaktywność w drogach oddechowych myszy pod wpływem mechanizmu związanego z aktywacją TLR4 i MyD88-zależnego szlaku sygnałowego [35,38]. W kolejnym badaniu na mysim modelu astmy Nigo i wsp. wykazali, że nasilenie zapalenia alergicznego w drogach oddechowych jest wynikiem aktywacji receptora TLR4 na komórkach tucznych, co prowadzi do indukcji czynnika NF- κ B, zwiększonej ekspresji GATA-1 i sekrecji IL-4, IL-5 i IL-13. Wytwarzanie cytokin typu Th2 było szczególnie nasilonie przy jednoczesnej stymulacji LPS i alergenem (OVA), znacznie wyższe niż w przypadku aktywacji komórek tucznych wyłącznie ekstraktem alergenowym [34]. Interesujących danych dostarczają eksperymenty wskazujące na możliwość bezpośredniego udziału receptora TLR4 w indukowaniu odpowiedzi alergicznej na roztocza kurzu domowego. W badaniu na szczepach myszy pozbawionych TLR4 lub białka MyD88 po donosowym podaniu ekstraktu alergenowego roztoczu kurzu domowego nie obserwowano indukowanej alergenem odpowiedzi Th2, eozynofili czy nadreaktywności oskrzeli [37]. Alergen roztoczy kurzu domowego (Der p 2) wykazuje strukturalną i funkcjonalną homologię z białkiem MD-2, składnikiem kompleksu CD14-MD2-TLR4 rozpoznającego LPS. Na zasadzie molekularnej mimikry, przy braku MD-2, umożliwia przyłączenie LPS i uruchomienie drogi sygnałowej związanej z aktywacją CD14-TLR4. Dodatkowo alergen Der p 2, ułatwiając przekazywanie sygnału aktywacji przez TLR4, promuje rozwój Th2-zależnej reakcji alergicznej nawet po stymulacji granicznie niską dawką LPS, wywołującą zwykle tolerancję [54]. Rolę receptora TLR4 w rozwoju reakcji alergicznej potwierdzili Hammad i wsp. dowodząc, że ekspresja TLR4 na komórkach nabłonka dróg oddechowych jest niezbędna do aktywacji komórek DC i indukcji Th2-zależnej reakcji alergicznej w odpowiedzi na alergen roztoczy kurzu domowego. Co więcej inhalacja antagonisty receptora jednoczesna z iniekcją ekstraktu alergenowego znacząco redukowała nadreaktywność oskrzeli i toczącą się reakcję alergiczną [18].

Wśród czynników wywołujących zaostrzenia astmy oskrzelowej główne znaczenie przypisuje się zakażeniom wirusowym, zwłaszcza wirusom RSV, rinowirusom, wirusom grypy i paragrypy, rozpoznawanym przede wszystkim przez receptor TLR3 [6]. Badania eksperymentalne potwierdziły, że stymulacja receptora TLR3 odgrywając główną rolę w odpowiedzi przeciwwirusowej organizmu jednocześnie może się przyczyniać do zaostrzenia zapalenia alergicznego [2,27,61]. W jednym z proponowanych mechanizmów dochodzi do tego za pośrednictwem limfopoetyny zrębu grasicy (TSLP – thymic stromal lymphopoietin), cytokiny przypominają

jącej IL-7, wydzielanej głównie przez komórki nabłonka dróg oddechowych, fibroblasty płuc i keratynocyty skóry, m.in. na skutek aktywacji TLR3 [24,29,50,64]. TSLP indukuje Th2-zależną reakcję alergiczną pobudzając niedojrzałe komórki dendrytyczne do wytwarzania IL-8, eotaksyn (eotaksyna -2/3) i chemokin (TARC - thymus and activation-regulated chemokine) o właściwościach silnie przyciągających neutrofile, eozynofile i limfocyty Th2. Komórki dendrytyczne aktywowane przez TSLP wykazują dodatkowo zwiększony poziom ekspresji liganda OX40L (CD134) prowadzącego do preferencyjnego różnicowania naiwnych limfocytów T w kierunku subpopulacji Th2 [24,29,63]. Potencjalną rolę aktywacji receptorów TLR na komórkach dendrytycznych w procesie nasilenia reakcji alergiczej w czasie infekcji wirusowej wykazano w dwóch niezależnych badaniach prowadzonych na mysich modelach astmy oskrzelowej indukowanej OVA. W badaniach tych u myszy zakażonych wirusem grypy po stymulacji OVA obserwowano znaczące nasilenie zapalenia alergicznego w porównaniu z myszami niezakażonymi [9,31].

GDZIE LEŻY PRAWDA?

W świetle przedstawionych wyżej rozbieżnych wyników niezwykle istotnych danych, dostarczają badania wskazujące, że wpływ receptorów wrodzonej odporności immunologicznej na rozwój procesów alergiczych zależy w znacznej mierze od dawki, czasu, miejsca i częstości ekspozycji (ryc. 1). W dwóch niezależnych badaniach przeprowadzonych na mysim modelu astmy indukowanego przez donosowe podanie OVA wykazano, że stymulacja TLR4 niewielką dawką LPS (0,1 µg) powoduje rozwój prowokowanej OVA odpowiedzi typu Th2 przebiegającej z eozynofilią tkankową, dużym stężeniem IgE, IgG1 i cytokin Th2-zależnych (IL-5, IL-13). Jednoczesna ekspozycja na 1000-krotnie wyższą dawkę LPS (100 µg) skutkowała, po immunizacji OVA, rozwojem silnej reakcji Th1-zależnej, związanej z syntezą IL-12, IFN-γ, IgG2a i napływem neutrofilów do tkanki płucnej. Według autorów obserwowane różnice wynikają z tego, że tylko duża dawka LPS indukuje syntezę IL-12 [12,25]. Schroder i wsp. stwierdzili zależność między stopniem ciężkości bakteryjnej infekcji dróg oddechowych i rozwojem indukowanej alergenem odpowiedzi immunologicznej. U myszy infekowanych małą dawką *Chlamydia pneumoniae* po immunizacji alergenem obserwowano reakcję typu Th2 z nasiloną eozynofilią i syntezą swoistych dla alergenu IgE i IgG1. Reakcje takie nie występowały u myszy infekowanych dużą dawką *Chlamydia pneumoniae*, powodującą ciężką postać zapalenia płuc. Obserwowany efekt był kontrolowany przez limfocyty Treg i związany z aktywacją komórek DC zależny od MyD88-zależnej [46]. Omówioną wcześniej zależność między dawką LPS a rodzajem odpowiedzi immunologicznej potwierdziły kolejne badania, wskazujące dodatkowo na istotną rolę czasu trwania ekspozycji [20,35]. W badaniu Nga i wsp. ekspozycja na wysoką dawkę LPS prowadziła do rozwoju indukowanej OVA odpowiedzi typu Th1. Cotygodniowa podaż niskiej dawki LPS pobudzała odpowiedź Th2-zależną, podczas gdy codzienna stymulacja

1/7 dawki tygodniowej chroniła przed rozwojem reakcji alergiczej indukowanej OVA [35]. Hollingsworth i wsp. na szczepach myszy pozbawionych receptora TLR4 wykazali, że tylko długotrwała ekspozycja na niską dawkę LPS i alergen działa protekcyjnie, podczas gdy krótkotrwała stymulacja nie ma wpływu na rozwój reakcji alergiczej [20]. Istotne znaczenie może mieć również miejsce ekspozycji. Ogólnoustrojowa aktywacja odpowiedzi immunologicznej wydaje się wpływać protekcyjnie, podczas gdy miejscowa ekspozycja błony śluzowej na ligandy TLR może prowadzić do nasilenia toczącej się reakcji alergiczej [4].

Liczne badania epidemiologiczne dowodzą, że szczególnie znaczenie w zapobieganiu schorzeniom alergicznym ma ekspozycja na mikrobiologiczne czynniki środowiska wiejskiego we wczesnym okresie życia. Taka koncepcja znajduje potwierdzenie w pracach doświadczalnych dotyczących wpływu aktywacji receptorów wrodzonej odporności immunologicznej w okresie prenatalnym i wczesnym dzieciństwie na późniejszy rozwój odpowiedzi immunologicznej. Wang i wsp. przeprowadzili badanie na mysich noworodkach poddawanych donosowej stymulacji LPS w pierwszych tygodniach życia. Po prowokacji alergenem u noworodków otrzymujących LPS obserwowano brak syntezy anty-OVA IgE, brak nadreaktywności oskrzeli na metacholinę, zahamowanie wydzielania IL-13, IL-4 oraz wzrost ekspresji limfocytów Treg i cytokin Th1 – IL-10 i IFN-γ [62]. Ciekawe wyniki uzyskano w badaniu na ciężarnych myszach szczepu BALB/c, którym w okresie prenatalnym podawano przez inhalację LPS. Prenatalna ekspozycja na LPS powodowała, że u potomstwa po urodzeniu dominowała odpowiedź Th1, a po prowokacji alergenem nie obserwowano syntezy alergenowoswoistych IgE, rozwoju eozynofilowego zapalenia w drogach oddechowych i nadreaktywności oskrzeli na metacholinę. Było to widoczne tylko wtedy, gdy ekspozycja prenatalna była połączona z ekspozycją po urodzeniu. Zahamowanie indukowanej alergenem Th2-zależnej odpowiedzi zapalnej wiązało się ze wzrostem stężenia sCD14, nasileniem ekspresji receptorów TLR2 i TLR4 oraz przekierowaniem odpowiedzi immunologicznej w stronę Th1 [15]. Podobne rezultaty przedstawiono w opublikowanym niedawno badaniu potwierdzającym protekcyjną rolę *Acinetobacter lwoffii*, bakterii wyizolowanej z kurzu pochodzącego z obory. Donosowa podaż *A. lwoffii* ciężarnym myszom powodowała rozwój nasilonej odpowiedzi Th1, wzrost ekspresji receptorów TLR2/3/4/7/9 i zapobiegała rozwojowi astmy u potomstwa. Protekcyjnego wpływu ekspozycji nie obserwowano u potomstwa myszy pozbawionych TLR2/3/4/7/9 [7]. Niezwykle istotnych danych dostarczyło badanie Schaub i wsp. dowodzące, że ekspozycja na środowisko gospodarstwa wiejskiego w czasie ciąży moduluje odpowiedź immunologiczną potomstwa. W krwi pępowinowej potomstwa matek mieszkających w gospodarstwie wiejskim stwierdzono znaczący wzrost liczby i aktywności limfocytów Treg, obniżenie sekrecji cytokin Th2 przy wzroście stężenia IL-6 i IFN-γ [44]. Znaczenie czasu ekspozycji potwierdza badanie Tulic i wsp., w którym autorzy wykazali, że inkubacja błony śluzowej

wej nosa pacjentów atopowych z LPS prowadzi do zahamowania miejscowej reakcji alergicznej u dzieci, ale nie u dorosłych. Co ciekawe, ekspresja receptora TLR4 w błonie śluzowej nosa osób dorosłych była dziesięciokrotnie niższa niż w przypadku dzieci [57].

TERAPEUTYCZNE ZASTOSOWANIE AGONISTÓW TLR

Wyniki badań epidemiologicznych i eksperymentalnych pozwoliły wysunąć sugestię dotyczącą możliwości wykorzystania ligandów receptorów TLR, jako nowej metody zapobiegania schorzeniom alergicznym. Dodatkowo doniesienia na temat zastosowania ligandów tych receptorów, jako adiuwantów w immunoterapii swoistej dostarczają dowodów na możliwość wykorzystania terapeutycznego w astmie i alergicznym nieżycie nosa. Największym zainteresowaniem cieszyły się ligandy receptorów TLR4 i TLR9, odpowiednio: monofosforylu lipidu A (MPL) i immunomodulujących oligonukleotydów z niemetylowanymi sekwencjami CpG (CpG-ODN). Randomizowane badania kliniczne wykazały, że użycie ligandów receptorów TLR jako adiuwantów w immunoterapii swoistej umożliwia redukcję dawki antygeny i zwiększenie immunogennej siły szczepionki poprzez ukierunkowanie odpowiedzi w stronę Th1 [16,17,23]. W badaniach klinicznych obejmujących preparaty (Pollinex® Quattro) zawierające połączenie ekstraktu pyłków traw, drzew lub chwastów z MPL u pacjentów z alergicznym nieżyciem nosa i/lub astmą już po czterech iniekcjach obserwowano istotną redukcję objawów, nadwrażliwości w punktowych testach skórnych i stężenia swoistych IgE oraz wzrost poziomu alergenowoswoistych IgG [32]. Obiecujących danych dostarczyły również badania kliniczne z użyciem koniugatu pyłku ambrozji z CpG ODN (koniugat AIC - Amb a 1/immunostymulujące DNA). Wykazano, że u pacjentów z alergicznym nieżyciem nosa i/lub astmą uczulonych na pyłek ambrozji immunoterapia koniugatem AIC zmniejsza nasilenie objawów klinicznych oraz mody-

fikuje reakcję alergiczną przez zmniejszenie eozynofili i wytwarzania cytokin Th2, obniżenie stężenia swoistych IgE, wzrost poziomu alergenowoswoistych IgG oraz nasilenie odpowiedzi Th1-zależnej [8,56]. Podobne zachęcające wyniki uzyskano w najnowszych badaniach klinicznych przeprowadzonych u pacjentów z rozpoznaną astmą i/lub alergicznym nieżyciem nosa poddawanych terapii preparatem CYT003-QbG10 (CpG ODN połączone z cząsteczką wirusa Qbeta), u których zaobserwowano istotne zmniejszenie nasilenia objawów klinicznych, poprawę kontroli przebiegu choroby i ograniczenie konieczności przyjmowania leków doraźnych [26,40,48].

PODSUMOWANIE

Zgodnie z obecnym stanem wiedzy receptory wrodzonej odporności immunologicznej odgrywają niezwykle istotną, aczkolwiek niejednoznaczną rolę w rozwoju schorzeń alergicznych. Wyniki badań epidemiologicznych i doświadczalnych dowodzą, że stymulacja wrodzonej odporności immunologicznej poprzez receptory TLR może zarówno promować, jak i hamować rozwój reakcji alergicznych. Do pełnego zrozumienia interakcji między aktywacją wrodzonej odpowiedzi immunologicznej i rozwojem schorzeń alergicznych należy uwzględnić dawkę, czas, drogę i częstość ekspozycji. Podkreślenia wymaga również to, że w świetle wyników badań genetycznych modulujący wpływ mikrobiologicznych czynników środowiskowych na proces alergizacji zależy w znacznej mierze od indywidualnych predyspozycji genetycznych, a szczególnie wariantów polimorficznych genów receptorów TLR oraz ich interakcji z czynnikami środowiskowymi. Bez wątpienia konieczne są dalsze badania nad złożonym zagadnieniem, jakim jest rola receptorów wrodzonej odpowiedzi immunologicznej w patogenie schorzeń alergicznych, pozwalające określić możliwości potencjalnego wykorzystania ligandów receptorów TLR w zapobieganiu i leczeniu tych schorzeń.

PIŚMIENICTWO

- [1] Ashino S., Wakita D., Zhang Y., Chamoto K., Kitamura H., Nishimura T.: CpG-ODN inhibits airway inflammation at effector phase through down-regulation of antigen-specific Th2-cell migration into lung. *Int. Immunol.*, 2008; 20: 259-266
- [2] Bartlett N.W., Walton R.P., Edwards M.R., Aniscenko J., Caramori G., Zhu J., Glanville N., Choy K.J., Jourdan P., Burnet J., Tuthill T.J., Pedrick M.S., Hurler M.J., Plumpton C., Sharp N.A. i wsp.: Mouse models of rhinovirus-induced disease and exacerbation of allergic airway inflammation. *Nat. Med.*, 2008; 14: 199-204
- [3] Bauer S., Hangel D., Yu P.: Immunobiology of toll-like receptors in allergic disease. *Immunobiology*, 2007; 212: 521-533
- [4] Belderbos M., Levy O., Bont L.: Neonatal innate immunity in allergy development. *Curr. Opin. Pediatr.*, 2009; 21: 762-769
- [5] Bloomfield S.F., Stanwell-Smith R., Crevel R.W., Pickup J.: Too clean, or not too clean: the hygiene hypothesis and home hygiene. *Clin. Exp. Allergy*, 2006; 36: 402-425
- [6] Busse W.W., Lemanske R.F. Jr., Gern J.E.: Role of viral respiratory infections in asthma and asthma exacerbations. *Lancet*, 2010; 376: 826-834
- [7] Conrad M.L., Ferstl R., Teich R., Brand S., Blümer N., Yildirim A.O., Patrascu C.C., Hanuszkiewicz A., Akira S., Wagner H., Holst O., von Mutius E., Pfefferle P.I., Kirschning C.J., Garn H., Renz H.: Maternal TLR signaling is required for prenatal asthma protection by the nonpathogenic microbe *Acinetobacter lwoffi* F78. *J. Exp. Med.*, 2009; 206: 2869-2877
- [8] Creticos P.S., Schroeder J.T., Hamilton R.G., Balcer-Whaley S.L., Khattignavong A.P., Lindblad R., Li H., Coffman R., Seyfert V., Eiden J.J., Broide D., Immune Tolerance Network Group: Immunotherapy with a ragweed-toll-like receptor 9 agonist vaccine for allergic rhinitis. *N. Engl. J. Med.*, 2006; 355: 1445-1455
- [9] Dahl M.E., Dabbagh K., Liggitt D., Kim S., Lewis D.B.: Viral-induced T helper type 1 responses enhance allergic disease by effects on lung dendritic cells. *Nat. Immunol.*, 2004; 5: 337-343

- [10] Debarry J., Garn H., Hanuszkiewicz A., Dickgreber N., Blümer N., von Mutius E., Buße A., Gattermann S., Renz H., Holst O., Heine H.: *Acinetobacter lwoffii* and *Lactococcus lactis* strains isolated from farm cowsheds possess strong allergy-protective properties. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2007; 119: 1514-1521
- [11] Debarry J., Hanuszkiewicz A., Stein K., Holst O., Heine H.: The allergy-protective properties of *Acinetobacter lwoffii* F78 are imparted by its lipopolysaccharide. *Allergy*, 2010; 65: 690-697
- [12] Eisenbarth S.C., Piggott D.A., Huleatt J.W., Visintin I., Herrick C.A., Bottomly K.: Lipopolysaccharide-enhanced Toll-like receptor 4-dependent T helper cell type 2 responses to inhaled antigen. *J. Exp. Med.*, 2002; 196: 1645-1651
- [13] Fuchs B., Knothe S., Rochlitz S., Nassimi M., Greweling M., Lauenstein H.D., Nassenstein C., Müller M., Ebensen T., Dittrich A.M., Krug N., Guzman C.A., Braun A.: A Toll-like receptor 2/6 agonist reduces allergic airway inflammation in chronic respiratory sensitisation to Timothy grass pollen antigens. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2010; 152: 131-139
- [14] Garn H., Renz H.: Epidemiological and immunological evidence for hygiene hypothesis. *Immunobiology*, 2007; 212: 441-452
- [15] Gerhold K., Avagyan A., Seib C., Frei R., Steinle J., Ahrens B., Dittrich A.M., Blumchen K., Lauener R., Hamelmann E.: Prenatal initiation of endotoxin airway exposure prevents subsequent allergen-induced sensitization and airway inflammation in mice. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2006; 118: 666-673
- [16] Goldman M.: Translational mini-review series on Toll-like receptors: Toll-like receptor ligands as novel pharmaceuticals for allergic disorders. *Clin. Exp. Immunol.*, 2007; 147: 208-216
- [17] Gupta G.K., Agrawal D.K.: CpG oligodeoxynucleotides as TLR9 agonists: therapeutic application in allergy and asthma. *BioDrugs*, 2010; 24: 225-235
- [18] Hammad H., Chieppa M., Perros F., Willart M.A., Germain R.N., Lambrecht B.N.: House dust mite allergen induces asthma via Toll-like receptor 4 triggering of airway structural cells. *Nat. Med.*, 2009; 15: 410-416
- [19] Hayashi T., Raz E.: TLR-9 based immunotherapy for allergic disease. *Am. J. Med.*, 2006; 119: 897.e1-897.e6
- [20] Hollingsworth J.W., Whitehead G.S., Lin K.L., Nakano H., Gunn M.D., Schwartz D.A., Cook D.N.: TLR4 signaling attenuates ongoing allergic inflammation. *J. Immunol.*, 2006; 176: 5856-5862
- [21] Iwamura C., Nakayama T.: Toll-like receptors in the respiratory system: their roles in inflammation. *Curr. Allergy Asthma Rep.*, 2008; 8: 7-13
- [22] Iwasaki A., Medzhitov R.: Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nat. Immunol.*, 2004; 5: 987-995
- [23] Kanzler H., Barrat F.J., Hessel E.M., Coffman R.L.: Therapeutic targeting of innate immunity with Toll-like receptor agonists and antagonists. *Nat. Med.*, 2007; 13: 552-559
- [24] Kato A., Favoreto S. Jr., Avila P.C., Schleimer R.P.: TLR3- and Th2 cytokine-dependent production of thymic stromal lymphopoietin in human airway epithelial cells. *J. Immunol.*, 2007; 179: 1080-1087
- [25] Kim Y.K., Oh S.Y., Jeon S.G., Park H.W., Lee S.Y., Chun E.Y., Bang B., Lee H.S., Oh M.H., Kim Y.S., Kim J.H., Cho Y.S., Cho S.H., Min K.U., Kim Y.Y., Zhu Z.: Airway exposure levels of lipopolysaccharide determine type 1 versus type 2 experimental asthma. *J. Immunol.*, 2007; 178: 5375-5382
- [26] Klimek L., Willers J., Hammann-Haenni A., Pfaar O., Stocker H., Mueller P., Renner W.A., Bachmann M.F.: Assessment of clinical efficacy of CYT003-QbG10 in patients with allergic rhinoconjunctivitis: a phase IIb study. *Clin. Exp. Allergy*, 2011; 41: 1305-1312
- [27] Kuo C., Lim S., King N.J., Bartlett N.W., Walton R.P., Zhu J., Glanville N., Anisenco J., Johnston S.L., Burgess J.K., Black J.L., Oliver B.G.: Rhinovirus infection induces expression of airway remodelling factors in vitro and in vivo. *Respirology*, 2011; 16: 367-377
- [28] Lam D., Ng N., Lee S., Batzer G., Horner A.A.: Airway house dust extract exposures modify allergen-induced airway hypersensitivity responses by TLR4-dependent and independent pathways. *J. Immunol.*, 2008; 181: 2925-2932
- [29] Liu Y.J.: Thymic stromal lymphopoietin: master switch for allergic inflammation. *J. Exp. Med.*, 2006; 203: 269-273
- [30] Lombardi V., Van Overtvelt L., Horiot S., Moussu H., Chabre H., Louise A., Balazuc A.M., Mascarell L., Moingeon P.: Toll-like receptor 2 agonist Pam3CSK4 enhances the induction of antigen-specific tolerance via the sublingual route. *Clin. Exp. Allergy*, 2008; 38: 1819-1829
- [31] Marsland B.J., Scanga C.B., Kopf M., Le Gros G.: Allergic airway inflammation is exacerbated during acute influenza infection and correlates with increased allergen presentation and recruitment of allergen-specific T-helper type 2 cells. *Clin. Exp. Allergy*, 2004; 34: 1299-1306
- [32] McCormack P.L., Wagstaff A.J.: Ultra-short-course seasonal allergy vaccine (Pollinex Quattro). *Drugs*, 2006; 66: 931-938
- [33] Newcomb D.C., Peebles R.S. Jr.: Bugs and asthma: a different disease? *Proc. Am. Thorac. Soc.*, 2009; 6: 266-271
- [34] Nigo Y.I., Yamashita M., Hirahara K., Shinnakasu R., Inami M., Kimura M., Hasegawa A., Kohno Y., Nakayama T.: Regulation of allergic airway inflammation through Toll-like receptor 4-mediated modification of mast cell function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103: 2286-2291
- [35] Ng N., Lam D., Paulus P., Batzer G., Horner A.A.: House dust extracts have both TH2 adjuvant and tolerogenic activities. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2006; 117: 1074-1081
- [36] Patel M., Xu D., Kewin P., Choo-Kang B., McSharry C., Thomson N.C., Liew F.Y.: TLR2 agonist ameliorates established allergic airway inflammation by promoting Th1 response and not via regulatory T cells. *J. Immunol.*, 2005; 174: 7558-7563
- [37] Phipps S., Lam C.E., Kaiko G.E., Foo S.Y., Collison A., Mattes J., Barry J., Davidson S., Oreo K., Smith L., Mansell A., Matthaie K.I., Foster P.S.: Toll/IL-1 signaling is critical for house dust mite-specific Th1 and Th2 responses. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2009; 179: 883-893
- [38] Piggott D.A., Eisenbarth S.C., Xu L., Constant S.L., Huleatt J.W., Herrick C.A., Bottomly K.: MyD88-dependent induction of allergic Th2 responses to intranasal antigen. *J. Clin. Invest.*, 2005; 115: 459-467
- [39] Redecke V., Häcker H., Datta S.K., Fermin A., Pitha P.M., Broide D.H., Raz E.: Cutting edge: activation of Toll-like receptor 2 induces a Th2 immune response and promotes experimental asthma. *J. Immunol.*, 2004; 172: 2739-2743
- [40] Renner W.A., Beeh K.M., Schilder C., Wagner F., Kannies F., Naudts I., Hammann A., Willers J., Mueller P., Bachmann M.: Novel TLR-9 agonist CYT003-QbG10 shown to improve asthma control in placebo-controlled phase II clinical trial. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2011; 183: A4063
- [41] Revets H., Pynaert G., Grooten J., De Baetselier P.: Lipoprotein I, a TLR2/4 ligand modulates Th2-driven allergic immune responses. *J. Immunol.*, 2005; 174: 1097-1103
- [42] Romagnani S.: The increased prevalence of allergy and the hygiene hypothesis: missing immune deviation, reduced immune suppression, or both? *Immunology*, 2004; 112: 352-363
- [43] Sandor F., Buc M.: Toll-like receptors. II. Distribution and pathways involved in TLR signalling. *Folia Biol.*, 2005; 51: 188-197
- [44] Schaub B., Liu J., Höppler S., Schleich I., Huehn J., Olek S., Wieczorek G., Illi S., von Mutius E.: Maternal farm exposure modulates neonatal immune mechanisms through regulatory T cells. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2009; 123: 774-782.e5
- [45] Schröder N.W.: The role of innate immunity in the pathogenesis of asthma. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*, 2009; 9: 38-43

- [46] Schröder N.W., Crother T.R., Naiki Y., Chen S., Wong M.H., Yilmaz A., Slepkin A., Schulte D., Alsabeh R., Doherty T.M., Peterson E., Nel A.E., Arditi M.: Innate immune responses during respiratory tract infection with a bacterial pathogen induce allergic airway sensitization. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2008; 122: 595-602.e5
- [47] Sel S., Wegmann M., Sel S., Bauer S., Garn H., Alber G., Renz H.: Immunomodulatory effects of viral TLR ligands on experimental asthma depend on the additive effects of IL-12 and IL-10. *J. Immunol.*, 2007; 178: 7805-7813
- [48] Senti G., Johansen P., Haug S., Bull C., Gottschaller C., Müller P., Pfister T., Maurer P., Bachmann M.F., Graf N., Kündig T.M.: Use of A-type CpG oligodeoxynucleotides as an adjuvant in allergen-specific immunotherapy in humans: a phase I/IIa clinical trial. *Clin. Exp. Allergy*, 2009; 39: 562-570
- [49] Sevin C.M., Peebles R.S. Jr.: Infections and asthma: new insights into old ideas. *Clin. Exp. Allergy*, 2010; 40: 1142-1154
- [50] Soumelis V., Reche P.A., Kanzler H., Yuan W., Edward G., Horney B., Gilliet M., Ho S., Antonenko S., Lauerman A., Smith K., Gorman D., Zurawski S., Abrams J., Menon S., McClanahan T., de Waal-Malefyt R., Bazan F., Kastelein R.A., Liu Y.J.: Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing TSLP. *Nat. Immunol.*, 2002; 3: 673-680
- [51] Strachan D.P.: Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ*, 1989; 299: 1259-1260
- [52] Strachan D.P.: Family size, infection and atopy: the first decade of the "hygiene hypothesis". *Thorax*, 2000; 55 (Suppl. 1): S2-S10
- [53] Taylor R.C., Richmond P., Upham J.W.: Toll-like receptor 2 ligands inhibit TH2 responses to mite allergen. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2006; 117: 1148-1154
- [54] Trompette A., Divanovic S., Visintin A., Blanchard C., Hegde R.S., Madan R., Thorne P.S., Wills-Karp M., Gioannini T.L., Weiss J.P., Karp C.L.: Allergenicity resulting from functional mimicry of a Toll-like receptor complex protein. *Nature*, 2009; 457: 585-589
- [55] Tse K., Horner A.A.: Allergen tolerance versus the allergic march: the hygiene hypothesis revisited. *Curr. Allergy Asthma Rep.*, 2008; 8: 475-483
- [56] Tulic M.K., Fiset P.O., Christodoulopoulos P., Vaillancourt P., Desrosiers M., Lavigne F., Eiden J., Hamid Q.: Amb a 1-immunostimulatory oligodeoxynucleotide conjugate immunotherapy decreases the nasal inflammatory response. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2004; 113: 235-241
- [57] Tulic M.K., Fiset P.O., Manoukian J.J., Frenkiel S., Lavigne F., Eidelman D.H., Hamid Q.: Role of toll-like receptor 4 in protection by bacterial lipopolysaccharide in the nasal mucosa of atopic children but not adults. *Lancet*, 2004; 363: 1689-1697
- [58] Velasco G., Campo M., Manrique O.J., Bellou A., He H., Arestides R.S., Schaub B., Perkins D.L., Finn P.W.: Toll-like receptor 2 or 4 agonists decrease allergic inflammation. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2005; 32: 218-224
- [59] Vogel K., Blümer N., Korthals M., Mittelstädt J., Garn H., Ege M., von Mutius E., Gattermann S., Bufe A., Goldmann T., Schwaiger K., Renz H., Brandau S., Bauer J., Heine H., Holst O.: Animal shed *Bacillus licheniformis* spores possess allergy-protective as well as inflammatory properties. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2008; 122: 307-312.e8
- [60] von Mutius E.: Allergies, infections and the hygiene hypothesis – the epidemiological evidence. *Immunobiology*, 2007; 212: 433-439
- [61] Wang Q., Nagarkar D.R., Bowman E.R., Schneider D., Gosangi B., Lei J., Zhao Y., McHenry C.L., Burgens R.V., Miller D.J., Sajjan U., Hershenson M.B.: Role of double-stranded RNA pattern recognition receptors in rhinovirus-induced airway epithelial cell responses. *J. Immunol.*, 2009; 183: 6989-6997
- [62] Wang Y., McCusker C.: Neonatal exposure with LPS and/or allergen prevents experimental allergic airways disease: development of tolerance using environmental antigens. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2006; 118: 143-151
- [63] Wang Y.H., Liu Y.J.: Thymic stromal lymphopoietin, OX40-ligand, and interleukin-25 in allergic responses. *Clin. Exp. Allergy*, 2009; 39: 798-806
- [64] Zhou B., Comeau M.R., De Smedt T., Liggitt H.D., Dahl M.E., Lewis D.B., Gyarmati D., Aye T., Campbell D.J., Ziegler S.F.: Thymic stromal lymphopoietin as a key initiator of allergic airway inflammation in mice. *Nat. Immunol.*, 2005; 6: 1047-1053

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.