Perspektywy immunoterapii chorób alergicznych

II. Blokowanie funkcji interleukiny 4 (IL-4)

Perspectives in immunotherapy of allergic diseases

II. Targeting interleukin 4 (IL-4)

dr hab. n. med. Witold Lasek
Zakład Immunologii Centrum Biostruktury Akademii Medycznej w Warszawie

Streszczenie: Interleukina 4 (IL-4) jest cytokiną krytyczną w reakcjach nadwrażliwości typu I i chorobach alergicznych. IL-4 promuje między innymi rozwój limfocytów pomocniczych Th2 i jest istotna dla procesu przełączania klas immunoglobulin w kierunku IgE. W pracy przedstawiono bieżące kierunki rozwoju oraz perspektywy ograniczania funkcji IL-4 pod kątem leczenia chorób alergicznych.

Abstract: Interleukin 4 (IL-4) is a pivotal cytokine for type I hypersensitivity reactions and allergic diseases. IL-4, among others, promotes development of Th2 lymphocytes and is critical for IgE class switching. In the paper recent trends and perspectives of blocking function of IL-4 have been described from the point of view of therapy of allergic diseases.

Słowa kluczowe: immunoterapia, IL-4, choroby alergiczne
Key words: immunotherapy, IL-4, allergic diseases

Ogólna charakterystyka IL-4

Interleukina 4 jest cytokiną o charakterze globularnej glikoproteiny o masie cząsteczkowej około 20 kDa. W jej składzie można wyróżnić 4 helisy α oraz 3 oligosacharydy związane z atomami azotu aminokwasów stanowiące 6 kDa.

IL-4 została odkryta w pierwszej połowie lat osiemdziesiątych zeszłego stulecia jako produkt limfocytów różny od IL-2, stymulujący proliferację limfocytów B aktywowanych przeciwciałami anty-IgM. Stąd też pierwotna nazwa tej cytokiny – czynnik stymulujący wzrost limfocytów B (BCGF, *B cell growth factor*) [11]. Identyczną aktywność wykazywał równolegle scharakteryzowany czynnik różnicowania limfocytów B γ (BCDFγ, *B cell differentiation factor γ*). Ostatecznie nazwa IL-4 została wprowadzona w 1986 roku po sklonowaniu genu dla tej cytokiny i wykazaniu, że oddziałuje ona również na inne niż limfocyty B komórki układu odpornościowego [11].

IL-4 wykazuje wiele funkcji [3, 9, 11], z których najważniejsze, krytyczne z punktu widzenia alergologii to:

- zdolność sterowania procesem przełączania klas w kierunku IgE,
- promowanie rozwoju limfocytów pomocniczych Th2,
- wzmaganie ekspresji genu dla mucyny w komórkach kubkowych.

Oprócz tego IL-4 wzmaga ekspresję cząsteczek adhezyjnych VCAM-1 na komórkach śródbłonka

Alergoprofil 2007, Vol. 3, Nr 4, 2-6
Pracę nadesłano: 2007-09-13
Zaakceptowano do druku: 2007-09-28

„Copyright by Medical Education"
© Medical Education. For private and non-commercial use only. Downloaded from https://www.journalsmededu.pl/index.php/alergoprofil: 03.08.2025; 21:32,13
For non-commercial use only

(co jest ważne np. w zasiedlaniu tkanek przez eozynofile), podwyższa ekspresję cząsteczek MHC klasy II na monocytach i makrofagach, indukuje na tych komórkach oraz na limfocytach B ekspresję receptora o niskim powinowactwie do IgE (FcεRII, CD23), natomiast na komórkach tucznych i dendrytycznych ekspresję receptora o wysokim powinowactwie do IgE (FcεRII). Głównym źródłem IL-4 są limfocyty pomocnicze Th2, a także komórki tuczne, bazofile oraz komórki NKT [11].

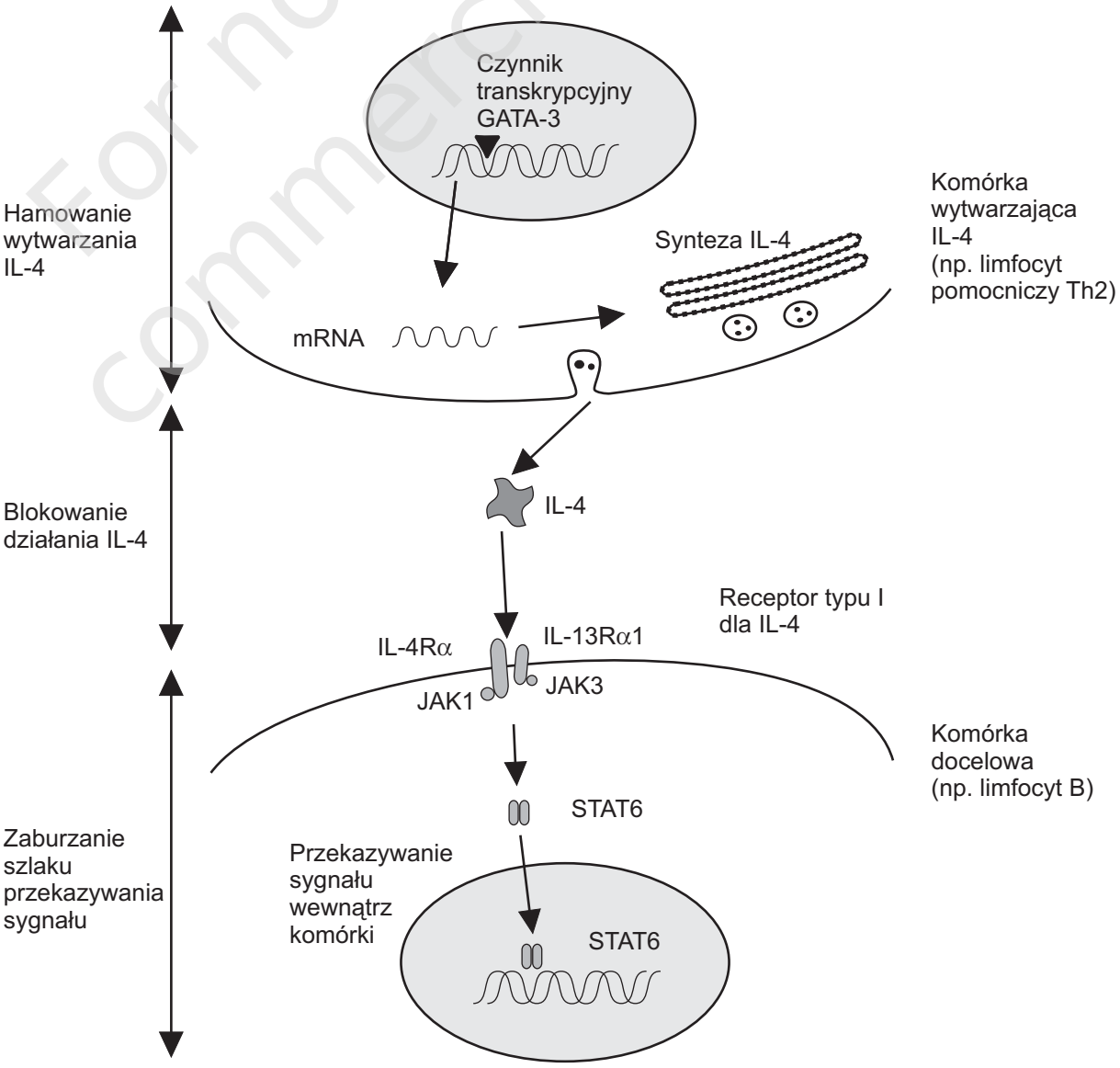
Receptory IL-4

Istnieją dwie formy receptora dla IL-4. Typ I ma charakter heterodimeru, składa się z łańcucha IL-4Rα o wysokim powinowactwie do IL-4 (K_d = 20–300 pM) i łańcucha γc (IL-2Rγ) niezaangażowanego bezpośrednio w wiązanie IL-4 i będącego podjednostką występującą także w receptorach dla IL-2, IL-7, IL-9, IL-15 i IL-21 [1, 12]. Typ II receptora jest bardziej interesujący. To heterodimer składający się z IL-4Rα i podjednostki wiążącej siostrzaną cytokinę IL-13 – IL-13Rα1 lub IL-13Rα2 [1]. Tak więc receptor ten może wiązać IL-4 lub IL-13, przy czym związanie jednej cytokiny wyklucza przyłączenie drugiej [1].

Strategie blokowania funkcji IL-4

W związku z kluczową rolą IL-4 w zjawiskach nadwrażliwości typu I i alergiach na świecie trwają intensywne poszukiwania i testy metod oraz związków blokujących jej funkcje. Generalnie strategie ograniczania działania IL-4 można podzielić na 3 grupy (ryc. 1):

Rycina 1. *Strategie ograniczania funkcji IL-4.*



© Medical Education. For private and non-commercial use only. Downloaded from https://www.journalsmededu.pl/index.php/alergoprofil: 03.08.2025; 21:32,13

1. Hamowanie wytwarzania IL-4.
2. Blokowanie interakcji IL-4 z receptorami.
3. Hamowanie indukowanych przez IL-4 szlaków przewodzenia sygnału w komórkach docelowych.

1. Hamowanie wytwarzania IL-4

Ideałem byłoby stworzenie leku specyficznie hamującego wytwarzanie IL-4 przez krytyczne dla alergii limfocyty Th2. Niestety, ekspresja genu dla IL-4, i co się z tym wiąże poziomu wytwarzania IL-4, jest regulowana wieloma czynnikami transkrypcyjnymi, między innymi NF-AT, AP-1, c-maf oraz GATA-3 [15]. Ten ostatni jest jednak wysoce specyficzny dla limfocytów Th2 – powstaje w wyniku aktywacji czynnika STAT6 i wywołuje w DNA zmiany umożliwiające transkrypcję genu dla IL-4 i jej wytwarzanie [24]. Gdyby w przyszłości udało się odkryć lek hamujący wybiórczo ten czynnik, to zablokowany byłby przede wszystkim rozwój limfocytów Th2. Działanie to miałoby charakter głównie profilaktyczny. Terapeutycznie w przypadku alergii mogłyby działać preparaty blokujące szlaki przekazywania sygnału w alergenowo-swoistych limfocytach T z zaangażowaniem innych, wymienionych wyżej czynników transkrypcyjnych [15]. W klinice znany jest lek dosyć specyficznie hamujący wytwarzanie IL-4 – suplatast tosylate. Dostępny jest on w Japonii pod nazwą IPD® [7, 9]. Lek ten po podaniu doustnym łagodzi objawy astmy [22]. Inhibitorami wytwarzania IL-4 są również pochodne związku 3-(4-pyridinylamino)-1H-indole-2-carboxylic acid [28].

Warto nadmienić, że niektóre leki i preparaty stosowane w medycynie w leczeniu innych chorób wykazują oprócz swojego podstawowego działania także zdolność hamowania wytwarzania IL-4. Takie właściwości ma na przykład teofilina, która w hodowlach ludzkich limfocytów stymulowanych alergenem ograniczała wytwarzanie IL-4, nie wpływając na wytwarzanie IL-2 i IFN-γ [23]. Podobnie działa kwas acetylosalicylowy [2]. Hamująco na wytwarzanie IL-4 działa także witamina E [15].

2. Blokowanie wiązania się IL-4 z receptorem

W przypadku tej grupy leków działania nakierowane są na:

- Neutralizowanie krążącej IL-4.
- Blokowanie receptora(ów) dla IL-4.

Neutralizowanie krążącej IL-4

Neutralizacji IL-4 można dokonać, stosując odpowiednie przeciwciała monoklonalne bądź rozpuszczalny receptor dla IL-4. Obie metody były lub są testowane w klinice. W pierwszym przypadku podawano przeciwciała humanizowane anty-IL-4 (pascolizumab, SB 240683). Przeciwciała te (bądź ich oryginalny mysi wariant 3B9) hamowały stymulowaną przez IL-4 syntezę IL-5, aktywację limfocytów Th2 i wytwarzanie IgE [8]. Wieloośrodkowe badania kliniczne (randomizowane, z zastosowaniem podwójnej ślepej próby) prowadzone w Stanach Zjednoczonych, mające na celu określenie efektywności pascolizumabu u pacjentów z przewlekłą astmą, nie dały zachęcających wyników [24, 27]. Pomimo obiecujących wyników wstępnych niepowodzeniem zakończyły się również badania nad rozpuszczalnym receptorem dla IL-4 (sIL-4Rα: altrakincept, Nouvance™) podawanym w postaci nebulizowanej w astmie [7, 10]. Pojawiają się przypuszczenia, że nieefektywność terapii mogła wynikać ze zbyt szybkiego proteolitycznego rozkładu tego preparatu w drogach oddechowych astmatyków.

Ciekawą metodą blokowania funkcji cytokin (w tym IL-4 i IL-13) jest użycie tak zwanych „pułapek cytokinowych" (*cytokine traps*) [4]. Stworzono m.in. pułapkę IL-4/13 (*IL-4/13 trap*). Składa się ona z zewnątrzkomórkowych fragmentów receptorów IL-4Rα i IL-13Rα1 połączonych z fragmentem Fc przeciwciała IgG, co ma na celu przedłużenie krążenia tak stworzonego białka fuzyjnego we krwi. Obecnie trwają badania kliniczne sponsorowane przez firmę Regeneron Pharmaceuticals nad zastosowaniem pułapki IL-4/13 w leczeniu astmy [35]. Preparat ten testowany był również pod kątem użycia u nosicieli wirusa HIV w celu zablokowania IL-4 i IL-13 hamujących rozwój cytotoksycznych limfocytów T $CD8^+$ anty-HIV [18].

Blokowanie receptora(ów) dla IL-4

Dosyć częstą metodą blokowania działania mediatorów reakcji biologicznych w klinice jest stosowanie odpowiedniego antagonisty receptora. Przykładem są stosowane w terapii chorób alergicznych leki przeciwhistaminowe blokujące receptor H_1. Skłoniło to do poszukiwań odpowiednich metod blokowania receptorów dla IL-4 [14]. Dzięki postępowi biologii molekularnej udało się stworzyć warianty IL-4 łączące się z receptorem, wykazujące jednak właściwości antagonistyczne. Dokonano tego, zmieniając aminokwasy w określonych pozycjach cząsteczki. Tak modyfikowane białka (dotyczy to również innych cytokin) nazywane są muteinami lub białkami zmutowanymi [13]. Dla wiązania się IL-4 z receptorem typu I tej cytokiny istotne są aminokwasy w pozycjach 121 i 124 (odpowiednio arginina i tyrozyna), które umożliwiają powstanie aktywnego kompleksu i przekazanie sygnału do wnętrza komórki. Stworzono zatem podwójną muteinę IL-4, w której w pozycjach 121 i 124 zamiast

© Medical Education. For private and non-commercial use only. Downloaded from https://www.journalsmededu.pl/index.php/alergoprofil: 03.08.2025; 21:32,13

właściwych aminokwasów wprowadzono kwas asparaginowy: IL-4 (R121D/Y124D) [7, 20]. Muteina ta wiąże się z podjednostką IL-4Rα receptora typu I, uniemożliwiając jednocześnie przyłączenie podjednostki IL-2Rγ, przez co nie dochodzi do aktywacji procesów wewnątrzkomórkowych angażujących białka JAK i STAT. Podobnie blokowany jest receptor typu II dla IL-4. Muteina IL-4 (R121D/Y121D) testowana pod nazwą AER 001 (Aerovant™) (BAY 36-1677) na grupie 30 pacjentów z astmą w badaniach sponsorowanych przez firmę Aerovance z Wielkiej Brytanii dała zachęcające wyniki [25, 29]. Preparat muteiny podawany był w postaci inhalacji 2 razy dziennie przez 27 dni i redukował nasilenie późnej fazy astmatycznej. Aerovant™ wykazywał również umiarkowanie korzystny efekt po podaniu podskórnym. Badania są kontynuowane. W Stanach Zjednoczonych testowany jest w leczeniu astmy i atopowego zapalenia skóry.

W klinice aktualnie rozpoczęto testowanie przeciwciała monoklonalnego AMG 317 blokującego funkcję IL-4 i IL-13 (badanie randomizowane z podwójnie ślepą próbą – leczenie umiarkowanej i ciężkiej astmy) [30].

Niedawno przetestowano na zwierzętach [16] ciekawą metodę blokowania IL-4. Jest nią szczepienie fragmentami IL-4 w celu wyindukowania odpowiedzi immunologicznej i neutralizujących przeciwciał anty-IL-4. Szczepionka zawierająca 13-aminokwasowy fragment IL-4 połączony z nośnikiem składającym się z antygenu wirusa zapalenia wątroby typu B (HBcAg) na modelu astmy u myszy indukowała bardzo wysoki poziom neutralizujących przeciwciał IgG anty-IL-4, które hamują procesy zapalne i reakcje immunologiczne w drogach oddechowych. Aczkolwiek podejście to wydaje się być odległe od kliniki (problemem może być ryzyko związane z trudnością kontrolowania reakcji anty-IL-4), to warto wspomnieć, że szczepionki przeciwcytokinowe stosowano już w próbach leczenia innych przewlekłych chorób człowieka, aż do neutralizowania działania IFN-α u osób zakażonych wirusem HIV [6] i neutralizowania naskórkowego czynnika wzrostu (EGF, *epidermal growth factor*) u pacjentów z nowotworami [5].

Obecnie trwają intensywne poszukiwania małocząsteczkowych blokerów receptorów dla IL-4, na razie jednak nie przyniosły one istotnych efektów.

3. Hamowanie wewnątrzkomórkowych szlaków przewodzenia sygnału indukowanych przez IL-4

Jak wspomniano wcześniej, w aktywowanych pod wpływem IL-4 (a także IL-13) komórkach dochodzi do fosforylacji pewnych białek i uczynnienia wewnątrzkomórkowych szlaków przekazywania sygnału, w których specyficzną rolę odgrywa STAT6 [15]. Na myszach wykazano, że zablokowanie tego czynnika transkrypcyjnego osłabia reakcję późną atopowego zapalenia skóry [26]. Kilka ośrodków na świecie prowadzi badania nad małocząsteczkowymi inhibitorami STAT6, które być może po zbadaniu na zwierzętach mogłyby być zastosowane w próbach klinicznych. Jednym z obiecujących związków z tej grupy jest TMC-264 wyizolowany z grzyba *Phoma sp*. TC 1674 [19]. Hamująco na STAT6 działają także pochodne bifenolowe [27] oraz pochodne związku 2-{[2-(4-hydroxyphenyl)etyl]amino}pyrimidyne-5carboxamide [17].

Podsumowanie

Spośród 3 głównych strategii ograniczania działania IL-4 największe możliwości stwarzają te, które nakierowane są na neutralizowanie IL-4 bądź blokowanie receptora dla tej cytokiny. Szczególnie obiecujące są preparaty mające charakter mutein IL-4 (Aerovant™), ponieważ blokują również częściowo funkcję IL-13. Pewnym ograniczeniem jest konieczność częstego podawania tego preparatu (w formie wziewnej). Z kolei pułapka IL-4/13 podawana podskórnie dzięki okresowi półtrwania wynoszącemu kilkanaście dni i zachowywaniu zdolności wyłączania funkcji IL-4 i IL-13 byłaby wygodniejsza w użyciu.

Piśmiennictwo:

1. *Brombacher F.: The role of interleukin-13 in infectious diseases and allergy. BioEssays 2000; 22: 646-656.*
2. *Cianferoni A., Schroeder J.T., Kim J. et al.: Selective inhibition of interleukin-4 gene expression in human T cells by aspirin. Blood 2001; 97: 1742-1749.*
3. *Dabbagh K., Takeyama K., Lee H.M. et al.: IL-4 induces mucin gene expression and goblet cell metaplasia in vitro and in vivo. J. Immunol. 1999; 162: 6233-6237.*
4. *Economides A.N., Rocco Carpenter L., Rudge J.S. et al.: Cytokine traps: multi-component, high-affinity blockers of cytokine action. Nature Med. 2003; 9: 47-52.*
5. *Gonzalez G., Crombet T., Catala M. et al.: A novel cancer vaccine composed of human-recombinant epidermal growth factor linked to a carrier protein: report of a pilot clinical trial. Ann. Oncol. 1998; 9: 431-435.*
6. *Gringeri A., Musicco M., Hermans P. et al.: Active anti-interferon-alpha immunization: a European-Israeli, randomized,*

© Medical Education. For private and non-commercial use only. Downloaded from https://www.journalsmededu.pl/index.php/alergoprofil: 03.08.2025; 21:32,13

double-blind, placebo-controlled clinical trial in 242 HIV-1-infected patients (the EURIS study). J. Acquir. Immune. Defic. Syndr. Human Retrovirol. 1999; 20: 358-370.

7. *Haitchi H.M., Holgate S.T.: New strategies in the treatment and prevention of allergic diseases. Expert Opin. Investig. Drugs 2004; 13: 107-124.*
8. *Hart T.K., Blackburn M.N., Brigham-Burke M. et al.: Preclinical efficacy and safety of pascolizumab (SB 240683): a humanized anti-interleukin-4 antibody with therapeutic potential in asthma. Clin. Exp. Immunol. 2002; 130: 93-100.*
9. *Hennekes H., Asadullah K.: Strategies for targeting IL-4 as a novel therapeutic approach for the treatment of atopic dermatitis. Curr. Med. Chem. – Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents 2002; 1: 41-53.*
10. *Holgate S.T.: Cytokine and anti-cytokine therapy for the treatment of asthma and allergic disease. Allergology Int. 2004; 53: 47-54.*
11. *Keegan A.D.: IL-4. W: Cytokine Reference vol. 1. Oppenheim J.J., Feldman M. (red.). Academic Press, San Diego 2000: 127-135.*
12. *Keegan A.D.: IL-4 receptor. W: Cytokine Reference vol. 2. Oppenheim J.J., Feldman M. (red.). Academic Press, San Diego 2000: 1471-1480.*
13. *König B., Fischer A., König W.: Modulation of cell-bound and soluble CD23, spontaneous and ongoing IgE synthesis of human peripheral blood mononuclear cells by soluble IL-4 receptors and the partial antagonistic IL-4 mutant protein IL-4 (Y124D). Immunology 1995; 85: 604-610.*
14. *La Porte S.L., Forsyth C.M., Cunningham B.C. et al.: De novo design of an IL-4 antagonist and its structure at 1.9 Ĺ. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2005; 102: 1889-1894.*
15. *Li-Weber M., Krammer P.H.: Regulation of IL4 gene expression by T cells and therapeutic perspectives. Nature Rev. Immunol. 2003; 3: 534-543.*
16. *Ma Y., Hayglass K.T., Becker A.B. et al.: Novel cytokine peptide-based vaccines: an interleukin-4 vaccine suppress airway allergic responses in mice. Alergy 2007; 62: 675-682.*
17. *Nagashima S., Yokota M., Nakai E. et al.: Synthesis and evaluation of 2-{[2-(4-hydroxyphenyl)-ethyl]amino}pyrimidine-5-carboxamide derivatives as novel STAT6 inhibitors. Bioorg. Medicin. Chem. 2007; 15: 1044-1055.*
18. *Parsey M., Fauci G., Dunn J. et al.: Human pharmacokinetic evaluation of the IL-4/13 trap : a novel immunomodulatory agent for the treatment of HIV disease. 11th Conference Retrovir Opportunistic Infect, Febr 8-11, 2004, abstract 522.*
19. *Sakurai M., Nishio M., Yamamoto K. et al.: TMC-264, a novel antiallergic heptaketide produced by the fungus Phoma sp. TC 1674. Org. Lett. 2003; 5: 1083-1085.*
20. *Shanafelt A.B., Forte C.P., Kasper J.J. et al.: An immune cell-selective interleukin 4 agonist. Proc Natl. Acad. Sci. USA 1998; 95: 9454-9458.*
21. *Sunesis Pharm. Inc.: WO0198245: Small molecule IL-4 antagonists. Expert Opin. Ther. Patents 2002; 12: 1103-1105.*
22. *Tamaoki J., Kondo M., Sakai N. et al.: Effect of suplatast tosilate a Th2 cytokine inhibitor, on steroid-dependent astma – a double-blind randomised study. Lancet 2000; 356: 373-378.*
23. *Tohda Y., Nakahara H., Kubo H. et al.: Theophylline suppresses the release of interleukin-4 by peripheral blond mononuclear cells. Int. Arch. Allergy Immunol. 1998; 115: 42-46.*
24. *Tsitoura D.D., Tarsios Y.: Immunomodulation in the future cure for allergic diseases. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2006; 1088: 100-115.*
25. *Ward M.: Breathless opportunities. BioCentury, the Bernstein report on biobusiness, Feb. 6, 2006: 1-7.*
26. *Yokozeki H., Wu M.-H., Sumi K. et al. In vivo transfection of a cis element 'decoy' against signal transducers and activation of transcription 6 (STAT6)-binding site ameliorates IgE-mediated late-phase reaction in an atopic dermatitis mouse model. Gene. Ther. 2004; 11: 1753-1762.*
27. *[online: http://clinicaltrials.gov/ct/show/NCT00024544 (9.07.2007)].*
28. *[online: http://www.freepatentsonline.com/EP1501796.html (10.09.2007)].*
29. *[online: http:/www.aerovance.com/aer001.html (10.09.2007)].*
30. *[online: http://clinicaltrials.gov/ct/show/NCT00436670 (10.09.2007)].*

Adres autora:
dr hab. n. med. Witold Lasek
Zakład Immunologii Centrum Biostruktury
Akademii Medycznej w Warszawie
02-097 Warszawa, ul. Banacha 1 (blok „F")
e-mail: wlasek@ib.amwaw.edu. pl

For non-commercial use only

© Medical Education. For private and non-commercial use only. Downloaded from https://www.journalsmededu.pl/index.php/alergoprofil: 03.08.2025; 21:32,13