

Pregledni prispevek/Review article

ŽIVČNI RASTNI DEJAVNIK – NJEGOVA VLOGA PRI ASTMI IN ALERGIJSKIH REAKCIJAH

NERVE GROWTH FACTOR – ITS ROLE IN ASTHMA AND ALLERGIC REACTIONS

Mateja Štempelj, Ilonka Ferjan

Inštitut za farmakologijo in eksperimentalno toksikologijo, Medicinska fakulteta, Korytkova 2, 1000 Ljubljana

Prispelo 2005-02-04, sprejeto 2005-03-09; ZDRAV VESTN 2005; 74: 307-9

Ključne besede: NGF; mastociti; histamin; vnetje; astma

Izvleček – Izhodišča. Živčni rastni dejavnik (NGF; angl. nerve growth factor) je nevrotrofični dejavnik, potreben za rast, diferenciacijo in preživetje nevronov centralnega in perifernega živčnega sistema. Poleg nevrotrofičnega delovanja ima NGF številne učinke na celice imunskega sistema. Zadnje raziskave kažejo, da ima NGF pomembno vlogo pri astmi in alergijskih reakcijah, kot sta alergijski rinitis in urtikarija.

Zaključki. V bioloških tekočinah bolnikov z astmo in z alergijo se nahaja povišana koncentracija NGF, ki še naraste po senzitivaciji organizma z alergenom. NGF sintetizirajo skoraj vse vnetne in strukturne celice, ki sodelujejo pri alergijskih procesih. Prav tako večina celic, vključenih v vnetje, izraža receptorje TrkA in p75 za vezavo NGF. Mastociti so poglavitnega pomena v takojšnji fazi alergijske reakcije. Vezava NGF na receptorje TrkA na mastocitih v nekaj minutah sproži sproščanje vnetnega mediatorja histamina. NGF sproži tudi sproščanje citotoksičnih mediatorjev (poglaviti bazični protein) iz eozinofilcev, ki imajo ključno vlogo v pozni fazi alergijske reakcije. V dihalnih poteh sproži povečana koncentracija NGF simptome, ki so značilni za astmo, na primer vnetje in zožitev dihalnih poti, povečano odzivnost in preoblikovanje bronhov. Vse te študije kažejo, da ima NGF poleg nevrotrofične aktivnosti pomembno vlogo tudi pri uravnavanju alergijskih procesov in pri astmi.

Key words: NGF; mast cell; histamine; inflammation; asthma

Abstract – Background. Nerve growth factor (NGF) plays an important role in the growth, differentiation and survival of peripheral and central neurons. Beside neurotrophic activity, NGF exerts several effects on the cells of immune system. Recent studies have demonstrated the importance of NGF in asthma and allergic diseases, such as allergic rhinitis and urticaria.

Conclusions. Elevated NGF concentrations have been observed in biological fluids of patients with asthma and allergic diseases. The concentration of NGF further rises after sensitization with allergen. Numerous studies have reported NGF synthesis by almost all inflammatory cells. In addition, most inflammatory cells express TrkA and p75 NGF receptors. Since the activation of mast cells with NGF evokes release of histamine within minutes, this could indicate the potential role of NGF in the early stage of allergic reaction. The late phase of allergic reaction is characterized by infiltration of eosinophils. The activation of eosinophils with NGF evokes release of cytotoxic mediators (major basic protein). Several data also suggest that NGF plays a role in airway inflammation, bronchoconstriction, hyperresponsiveness and remodeling, all observed in patients with asthma. All these results indicate that NGF contributes to responses in allergic inflammation and asthma.

Uvod

Živčni rastni dejavnik (NGF; angl. nerve growth factor) je v petdesetih letih 20. stoletja skupaj s sodelavci odkrila Rita Levi-Montalcini (1). NGF spada v družino nevrotrofičnih dejavnikov, kamor uvrščamo še nevrotrofični dejavnik možganskega izvora (BDNF; angl. brain-derived neurotrophic factor), nevrotrofin (NT-3), nevrotrofin 4/5 (NT-4/5) in nevrotrofin 6 (NT-6) (2). Potreben je za rast, diferenciacijo in preživetje nevronov centralnega in perifernega živčnega sistema. Deluje na simpatične in senzorne nevrone ter omogoča razvoj in preživetje holinergičnih nevronov v bazalnem predelu velikih možganov (2-4). Poleg nevrotrofičnega delovanja ima NGF številne učinke na nenevronske celice (5). Mastociti so bili identificirani kot prve nenevronske celice, ki odgovarjajo na delovanje NGF (6, 7). Zadnje raziskave kažejo, da ima NGF pomembno vlogo pri astmi in alergijskih reakcijah (8, 9).

Receptorji za vezavo NGF

NGF je peptid, sestavljen iz podenot α , β in γ . Veže se na visokoafinitetne receptorje TrkA, ki so selektivni za vezavo NGF, in na nizkoafinitetne receptorje p75, na katere se lahko vežejo tudi ostali nevrotrofini (10). Receptorji TrkA spadajo v družino receptorjev z intrinzično tirozin-kinazno aktivnostjo, receptorji p75 pa v družino receptorjev za dejavnike tumorske nekroze. Biološki učinki NGF so večinoma posledica njegovega delovanja na receptorje TrkA, ki se izražajo na celicah živčnega sistema (11), na strukturnih celicah in na celicah imunskega sistema (8). Rezultat aktiviranja receptorjev TrkA je proliferacija, diferenciacija in preživetje celic, inhibicija apoptoze, povečana vzdraženost nevronov in stimulacija sproščanja mediatorjev iz nevronov, strukturnih in vnetnih celic (1). Nevrotrofinski receptorji p75 regulirajo celično preživetje in apoptozo, vendar natančneje njihova funkcija še ni pojasnjena (8).

Na receptor TrkA se vežejo kovalentni homodimeri NGF. Aktivacija receptorjev z NGF sproži homodimerizacijo receptorjev, aktivacijo citosolnih kinaz in transfosforilacijo receptorjev. Na fosforilirana mesta na receptorju se v nevronih vežejo majhni proteini G (Ras, Rac), fosfatidilinozitol-3-kinaza (PI-3-kinaza) in fosfolipaza C (PLC) (10, 11). V naslednji stopnji se aktivira protein-kinaza C (PKC) in nato z mitogeni aktivirane protein-kinaze (MAP-kinaze), ki sprožijo biološki odgovor nevronov (10, 11). Podobno kot v nevronih se tudi v mastocitih, po vezavi NGF na receptor TrkA, aktivirajo encimi PI-3-kinaza, PLC in PKC, medtem ko se MAP-kinaze v prenosu signala, ki privede do degranulacije in sproščanja histamina iz mastocitov, ne aktivirajo (12).

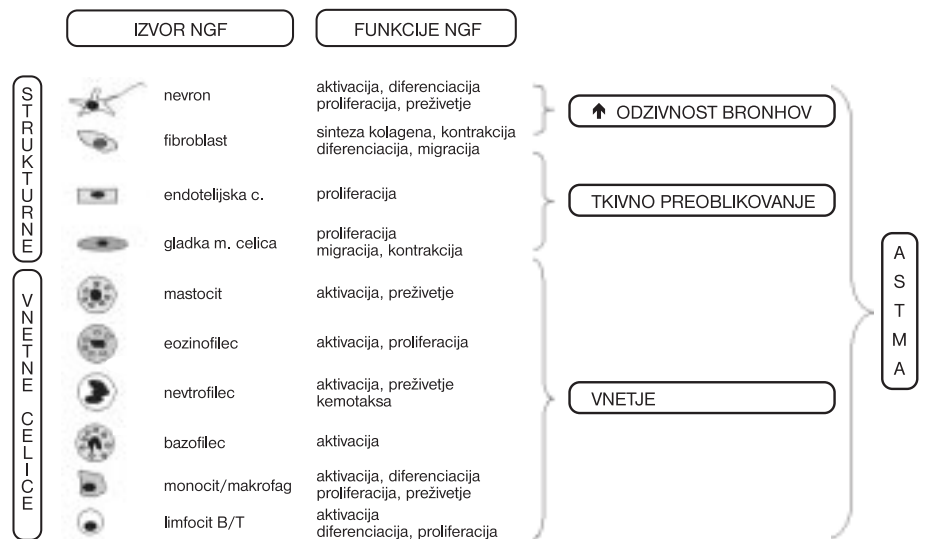
Vloga NGF pri alergijskih reakcijah

Preobčutljivost tipa I ali alergija je ena najbolj razširjenih imunskih bolezni. Razvije se, kadar imunski sistem proti neškodljivim snovem v okolju (alergenom) začne izdelovati protitelesa IgE. Ta protitelesa po vnovičnem stiku z alergenom sprožijo sproščanje mediatorjev iz mastocitov, ki povzročijo vnetje. K alergijskemu vnetju poleg mastocitov prispevajo tudi druge vnetne celice, kot so eozinofili, limfociti T in B, nevtrofilci in makrofagi, ter strukturne celice, kot so epitelijske celice, fibroblasti, endotelijske celice in gladke mišične celice (13). Alergijske reakcije, ki se razvijejo po vezavi protiteles IgE na mastocite, razdelimo v takojšnjo in pozno fazo (14).

Mastociti imajo ključno vlogo v takojšnji fazi alergije. Aktivirajo jih križna povezava protiteles IgE, vezanih na mastocite, z alergenom. Aktivirani mastociti začnejo po nekaj sekundah ali minutah sproščati histamin iz zrnca v citoplazmi in zunajcelični prostor. Nekoliko kasneje se začnejo sproščati metaboliti arahidonske kisline in po več urah še citokini. Klinični znaki, ki se pojavijo v takojšnji fazi alergije, so posledica delovanja histamina na tarčne celice. Pozna faza se razvije nekaj ur po sprožitvi takojšnje preobčutljivosti. Poglavitnega pomena za reakcijo pozne faze so eozinofili, ki jih aktivirajo in privabijo v prizadeto tkivo citokini in kemokini. Ti se sproščajo iz mastocitov. Najpomembnejši mediatorji, ki se sproščajo iz eozinofilcev, so levkotrieni, poglaviti bazični protein in kationski proteini (13, 14).

Alergijske reakcije se kažejo v različnih oblikah, kot so alergijski rinitis (vnetje nosu in nosne sluznice), konjunktivitis (vnetje očesne veznice), urtikarija (kožna reakcija) ali anafilaksa (sistemska reakcija na alergen). Vdihani alergen pa je tudi pogost sprožilni dejavnik akutnega poslabšanja alergijske astme.

Vloga NGF pri alergijskih procesih in astmi je leta 1996 prvi odkril Sergio Bonini. Ugotovil je, da se v serumu bolnikov z astmo, alergijskim rinitisom in konjunktivitisom nahaja značilno višja koncentracija NGF kot v serumu zdravih oseb (15, 16). Kasneje so dokazali povišano koncentracijo NGF tudi v bronhoalveolarni tekočini astmatikov (17). Koncentracija NGF v bioloških tekočinah astmatikov se še dodatno poviša po senzitivaciji organizma z alergenom (18). Ugotovili so, da se sproščanje NGF pri astmatikih uravnava lokalno. Mastociti in eozinofili, efektorske celice takojšnje in pozne faze alergijske reakcije, so sposobni sintetizirati in sproščati NGF (13). Aktivacija receptorjev TrkA z NGF sproži degranulacijo in sprošča-



Sl. 1. Sinteza NGF v dihalnih poteh in njegovi učinki na strukturne in vnetne celice, ki imajo vlogo pri astmi.

Figure 1. Sources and role of NGF in the airways. NGF is expressed in airways by structural and inflammatory cells. Once released, NGF can stimulate different types of cells involved in asthma.

nje histamina iz mastocitov v nekaj minutah, kar kaže na pomembno vlogo NGF v začetni fazi alergijske reakcije (12, 19). NGF sproži tudi sproščanje citotoksičnih mediatorjev iz eozinofilcev, ki imajo ključno vlogo v reakciji pozne faze (20).

Regulacija sinteze NGF v dihalnih poteh

Razen v mastocitih in eozinofilcih poteka sinteza NGF še v drugih vnetnih in strukturnih celicah v dihalnih poteh (sl. 1). Izmed vnetnih celic, ki se infiltrirajo v sluznico bronhov, sintetizirajo NGF limfociti B in T, mastociti, monociti/makrofagi in eozinofili. NGF sintetizirajo tudi strukturne celice, kot so fibroblasti, epitelijske celice in gladke mišične celice (9). Sinteza NGF v teh celicah stimulirajo citokini interleukin 1 β (IL-1 β), dejavnik tumorske nekroze α (TNF- α) in transformirajoči rastni dejavnik β (TGF- β), ki se sproščajo iz vnetnih celic v dihalnih poteh (21).

Vloga NGF pri astmi

Astmo opredeljujejo tri značilnosti: vnetje dihalnih poti, reverzibilna zožitev dihalnih poti in povečana odzivnost dihalnih poti. Študije, izdelane v zadnjem času, kažejo, da NGF pomembno vpliva na uravnavanje vseh treh procesov (8).

Učinek NGF na vnetne celice poveča imunski odgovor organizma na alergen. Transgene miške, ki imajo povečano izražanje NGF v epitelu bronhov, imajo po senzitivaciji z alergenom povečano vnetje dihalnih poti. Tretiranje s protitelesi proti NGF v epitelu bronhov to vnetje zavre (22). Receptorje TrkA za vezavo NGF v dihalnih poteh izražajo vnetne celice, kot so mastociti, eozinofili, celice B in T, makrofagi in bazofili (13, 23). NGF stimulira diferenciacijo in preživetje mastocitov, diferenciacijo in proliferacijo limfocitov B in T, proliferacijo eozinofilcev in monocitov, sproščanje mediatorjev iz mastocitov, eozinofilcev, nevtrofilcev, bazofilcev in makrofagov, kemotakso nevtrofilcev in stimulacijo sinteze imunoglobulinov v limfocitih B (sl. 1) (24–26).

Po vdihanju alergena v zgodnji fazi alergijske astme NGF stimulira kontrakcijo gladkih mišičnih celic žilja in povzroči akutno zoženje dihalnih poti (sl. 1) (8, 27). Rezultati raziskav kaže-

jo, da NGF pospeši tudi fazo nespecifično povečane odzivnosti bronhov pri astmatiku. V študijah, kjer so uporabili protitelesa proti NGF, in pri transgenih miškah z odsotnostjo izražanja gena za receptor p75, na katerega se veže NGF, se povečana odzivnost bronhov ni pojavila (28). Podobno zavirajo povečano odzivnost bronhov tudi spojine, ki zavirajo sproščanje neuropeptidov iz senzornih nevronov. Znano je, da v senzornih nevronih, udeleženih pri zaznavanju bolečinskega dražljaja, NGF stimulira sproščanje snovi P in peptida, sorodnega genu za kalcitonin (CGRP; angl. calcitonin gene-related peptide) (8, 29), katerih koncentracija je v bronhoalveolarni tekočini astmatikov povečana. Glede na to, da oba neuropeptida uravnava zaznavanje bolečinskega dražljaja in nevrogeno vnetje, je povečana odzivnost dihalnih poti lahko posledica nevrogenega vnetja, ki ga sprožita neuropeptida (8, 9, 30).

Čeprav je za astmo značilno, da je ovirana prehodnost dihalnih poti reverzibilna, se pri večini astmatikov pojavi tudi nepovratna komponenta, ki je posledica preoblikovanja dihalnih poti. Kemokini in rastni dejavniki, ki sprožijo tkivno preoblikovanje v dihalnih poteh astmatikov, se sproščajo iz vnetnih celic, ki se infiltrirajo v sluznico bronhov, in strukturnih celic tkiva (31). NGF pri tem stimulira kontrakcijo in migracijo pljučnih fibroblastov in sproži sproščanje citokinov, pomembnih za mehanizme preoblikovanja (IL-4, IL-13, TGF- β) (21). NGF stimulira tudi proliferacijo endotelijskih in gladkih mišičnih celic žilja in angiogenezo ter tako prispeva k povečanemu prežiljenju stene pri astmatikih (32).

Glukokortikoidi, ki se veliko uporabljajo za zdravljenje astme, ker blokirajo nastanek citokinov in zavirajo vnetje, zavirajo tudi nastanek NGF. Po zdravljenju z glukokortikoidi se pri astmatikih povečana koncentracija NGF spet zniža na bazalno raven (33, 34).

Zaključki

Leta 1996 je Sergio Bonini prvi objavil, da se v serumu astmatikov in pri bolnikih z alergijskim rinitisom nahaja višja koncentracija NGF kot v serumu zdravih oseb. Rezultati te študije so spodbudili številne raziskovalce k preučevanju vloge NGF v alergijskih procesih. Danes je znano, da NGF sintetizirajo skoraj vse celice, ki sodelujejo pri alergijskem vnetju (limfociti B in T, mastociti, makrofagi, eozinofilci, fibroblasti, epiteljske celice in gladke mišične celice). Prav tako večina celic, vključenih v vnetje, izraža receptorje TrkA in p75 za vezavo NGF. Rezultati vseh teh študij kažejo, da ima NGF poleg nevrotrofične aktivnosti pomembno vlogo tudi pri uravnavanju alergijskih procesov. Boljše poznavanje delovanja in učinkov NGF ter celičnih procesov, ki potečejo po aktivaciji z NGF, bi lahko odprlo nove možnosti za zdravljenje astme in alergijskih reakcij.

Literatura

- Levi-Montalcini R. The nerve growth factor 35 years later. *Science* 1987; 237: 1154–62.
- Levi-Montalcini R, Skaper SD, Dal Toso R, Petrelli L, Leon A. Nerve growth factor: from neurotrophin to neurokin. *Trends Neurosci* 1996; 19: 514–20.
- Carman-Krzan M. Nerve growth factor and related neurotrophins – their role in the CNS. *Zdrav Vestn* 1997; 66: 1–4.
- Juric DM, Carman-Krzan M. Interleukin-1 beta, but not IL-1 alpha, mediates nerve growth factor secretion from rat astrocytes via type I IL-1 receptor. *Int J Dev Neurosci* 2001; 19: 675–83.
- Otten U, Ehrhard P, Peck R. Nerve growth factor induces growth and differentiation of human B lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 10059–63.
- Aloe L, Levi-Montalcini R. Mast cells increase in tissues of neonatal rats injected with the nerve growth factor. *Brain Res* 1977; 133: 358–66.
- Aloe L. The effect of nerve growth factor and its antibody on mast cells in vivo. *J Neuroimmunol* 1988; 18: 1–12.
- Hoyle GW. Neurotrophins and lung disease. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003; 14: 551–8.
- Frossard N, Freund V, Advenier C. Nerve growth factor and its receptors in asthma and inflammation. *Eur J Pharmacol* 2004; 500: 453–65.
- Patapoutian A, Reichardt LF. Trk receptors: mediators of neurotrophin action. *Curr Opin Neurobiol* 2001; 11: 272–80.
- Kaplan DR, Miller FD. Signal transduction by the neurotrophin receptors. *Curr Opin Cell Biol* 1997; 9: 213–21.
- Štempelj M. Mehanizem sproščanja histamina iz mastocitov podgane po aktivaciji z živčnim rastnim dejavnikom [doktorsko delo]. Ljubljana: Univerza v Ljubljani; 2004.
- Micera A, Puxeddu I, Aloe L, Levi-Schaffer F. New insights on the involvement of Nerve Growth Factor in allergic inflammation and fibrosis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003; 14: 369–74.
- Vozelj M. Temelji imunologije. Ljubljana: DZS 2000: 405–34.
- Bonini S, Lambiase A, Bonini S, Angelucci F, Magrini L, Manni L, et al. Circulating nerve growth factor levels are increased in humans with allergic diseases and asthma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 10955–60.
- Bonini S, Lambiase A, Lapucci G, Properzi F, Bresciani M, Bracci Laudiero ML, et al. Nerve growth factor and asthma. *Allergy* 2002; 57 Suppl 72: 13–5.
- Olgart Hoglund C, Frossard N. Nerve growth factor and asthma. *Pulm Pharmacol Ther* 2002; 15: 51–60.
- Kassel O, de Blay F, Duvernelle C, Olgart C, Israel-Biet D, Krieger P, et al. Local increase in the number of mast cells and expression of nerve growth factor in the bronchus of asthmatic patients after repeated inhalation of allergen at low-dose. *Clin Exp Allergy* 2001; 31: 1432–40.
- Freund V, Frossard N. Expression of nerve growth factor in the airways and its possible role in asthma. *Prog Brain Res* 2004; 146: 335–46.
- Solomon A, Aloe L, Pe'er J, Frucht-Pery J, Bonini S, Bonini S, et al. Nerve growth factor is preformed in and activates human peripheral blood eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102: 454–60.
- Micera A, Vigneti E, Pickholtz D, Reich R, Pappo O, Bonini S, et al. Nerve growth factor displays stimulatory effects on human skin and lung fibroblasts, demonstrating a direct role for this factor in tissue repair. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 6162–7.
- Path G, Braun A, Meents N, Kerzel S, Quarcoo D, Raap U, et al. Augmentation of allergic early-phase reaction by nerve growth factor. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: 818–26.
- Lambiase A, Bracci-Laudiero L, Bonini S, Bonini S, Starace G, D'Elios MM, et al. Human CD4+ T cell clones produce and release nerve growth factor and express high-affinity nerve growth factor receptors. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 408–14.
- Pearce FL, Thompson HL. Some characteristics of histamine secretion from rat peritoneal mast cells stimulated with nerve growth factor. *J Physiol* 1986; 372: 379–93.
- Ferjan HI, Carman-Krzan M. Differential effect of interleukin-3, stem cell factor and nerve growth factor on histamine and serotonin release from rat mast cells. *Inflamm Res* 2000; 49 Suppl 1: 15–6.
- Štempelj M, Carman-Krzan M, Ferjan I. Regulatory role of extracellular Na+ and Ca2+ ions in nerve growth factor induced histamine secretion from rat mast cells. *Inflamm Res* 2003; 52: 74–8.
- Cantarella G, Lempereur L, Presta M, Ribatti D, Lombardo G, Lazarovici P, et al. Nerve growth factor-endothelial cell interaction leads to angiogenesis in vitro and in vivo. *FASEB J* 2002; 16: 1307–9.
- Tokuoka S, Takahashi Y, Masuda T, Tanaka H, Furukawa S, Nagai H. Disruption of antigen-induced airway inflammation and airway hyper-responsiveness in low affinity neurotrophin receptor p75 gene deficient mice. *Br J Pharmacol* 2001; 134: 1580–6.
- Lindsay RM, Harmar AJ. Nerve growth factor regulates expression of neuropeptide genes in adult sensory neurons. *Nature* 1989; 337: 362–4.
- Donnerer J, Schuligoi R, Stein C. Increased content and transport of substance P and calcitonin gene-related peptide in sensory nerves innervating inflamed tissue: evidence for a regulatory function of nerve growth factor in vivo. *Neuroscience* 1992; 49: 693–8.
- Chiappara G, Gagliardo R, Siena A, Bonsignore MR, Bousquet J, Bonsignore G, et al. Airway remodelling in the pathogenesis of asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001; 1: 85–93.
- Calza L, Giordano L, Giuliani A, Aloe L, Levi-Montalcini R. Nerve growth factor control of neuronal expression of angiogenic and vasoactive factors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 4160–5.
- Olgart C, Frossard N. Human lung fibroblasts secrete nerve growth factor: effect of inflammatory cytokines and glucocorticoids. *Eur Respir J* 2001; 18: 115–21.
- Noga O, Hanf G, Schaper C, O'Connor A, Kunkel G. The influence of inhaled corticosteroids on circulating nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 in allergic asthmatics. *Clin Exp Allergy* 2001; 31: 1906–12.