

Ontwikkeling van een astmavaccin: mogelijke adjuvans kandidaten

Christina Draijer
Immunologie en infectieziekten
16-4-2009
Begeleider: Dr. M.C. Nawijn

Samenvatting

De incidentie van astma is de laatste 50 jaar sterk toegenomen in ontwikkelde landen. Astma, een chronische ontsteking van de luchtwegen, wordt gekarakteriseerd door steeds terugkerende perioden van kortademigheid, hoesten en 'piepend' ademen. De huidige behandeling van astma is voornamelijk gebaseerd op het gebruik van farmacologische medicaties, maar deze kunnen alleen de symptomen van astma bestrijden. De T-helper type 2 (Th2)-cel speelt een belangrijke rol in de pathogenese van allergisch astma. De meest bekende risicofactor voor het ontwikkelen van astma is de Th2-gedreven sensitisatie voor onschadelijke allergenen. Dendritische cellen (DC's) zijn essentieel voor de inductie van de Th2-respons bij astmapatiënten op geïnhalerde allergenen. De belangrijke invloed die DC's hebben op beslissing tussen tolerantie of Th1/Th2 adaptieve immuniteit zou uitgebuit kunnen worden om de Th2-gedreven allergische sensitisatie te voorkomen. Een manier om in te grijpen op de pathogenese van astma is door te vaccineren voor de blootstelling aan allergenen en dus voor Th2-gedreven sensitisatie optreedt. Bij dit astmavaccin wordt een adjuvans toegediend samen met een allergeen. Het adjuvans zorgt er voor dat de juiste immuunrespons wordt geïnduceerd. Voor dit vaccin is een Th1- of regulatoire T-cel (Treg) inductie wenselijk om de Th2-gedreven sensitisatie voor de allergenen te kunnen voorkomen. Hier worden vijf adjuvantia besproken die in aanmerking zouden kunnen komen voor een astmavaccin. De eerste drie adjuvantia zorgen ervoor dat het fenotype van DC's verandert en de laatste twee grijpen in op de interactie tussen de DC en de T-cel. Veel van de besproken experimenten hebben laten zien dat er bij behandeling in astma diermodellen zowel tijdens als na de sensitisatie bescherming tegen de allergeenspecifieke Th2-respons kan worden verkregen door toediening van de verschillende adjuvantia. Er kan nog niet worden vastgesteld welk adjuvans klinisch ontwikkeld zou kunnen worden, omdat aan alle vijf adjuvantia nog teveel onzekerheden kleven. Het effect van alle adjuvantia moet voornamelijk nog worden getest in naïeve diermodellen in een echt vaccinatie protocol.

Inhoud

1. Introductie.....	2
1.1 Astma.....	2
1.2 Huidige behandeling.....	2
1.3 Th1/Th2-cel balans.....	2
1.4 Rol van dendritische cellen.....	4
1.5 Nieuwe behandeling: DC als target voor vaccin.....	5
2. Adjuvans kandidaten.....	6
2.1 TLR-agonisten.....	6
2.1.1 LPS.....	6
2.1.2 CpG oligonucleotiden.....	7
2.1.3 Pam3CSK4.....	8
2.2 Sphingosine 1-fosfaat receptor agonist.....	8
2.3 D prostanoïde-1 receptor agonist.....	9
3. Discussie.....	9
Referenties.....	13

Afkortingen APC, antigeen presenterende cel; CpG-ODN, CpG oligodeoxynucleotiden; DAMP, schadegeassocieerd moleculair patroon; DC, dendritische cel; DP1, D prostanoïde-1; IFN- γ , interferon- γ ; IL, interleukine; mDC, myeloïde DC; MPL, monofosforyl lipide A; OVA, ovalbumine; PAMP, pathogeen-geassocieerd moleculair patroon; pDC, plasmacytoïde DC; PRR, patroonherkende receptor; SP1, sphingosine 1-fosfaat; TCR, T-cel receptor; Th1, T-helper type 1; Th2, T-helper type 2; TLR, 'toll-like' receptor; Treg, regulatoire T-cel.

1. Introductie

1.1 Astma

De incidentie van astma is de laatste 50 jaar sterk toegenomen in ontwikkelde landen. Daarnaast neemt de ernst van de ziekte ook toe. Naar schatting lijden wereldwijd 300 miljoen mensen aan astma, een chronische ontsteking van de luchtwegen. Astma wordt gekarakteriseerd door steeds terugkerende perioden van kortademigheid, hoesten en 'piepend' ademen. Dit is een gevolg van bronchoconstrictie, mucussecretie, hyperplasie van het luchtwegepitheel en hyperreactiviteit van de longen op niet-specifieke stimuli, zoals kou en lichamelijke inspanning. Er zijn klinisch twee vormen van astma te onderscheiden: atopisch en niet-atopisch astma, die verschillen in het type immuunrespons. Mensen met atopie zijn geneigd om allergische aandoeningen te ontwikkelen, zoals astma, atopisch eczeem, voedselallergie of hooikoorts. Bij allergisch astma wordt de ontsteking van de luchtwegen veroorzaakt door overgevoeligheid voor allergenen (inademen van bijvoorbeeld huisstofmijt of pollen) of niet-allergische prikkels (zoals vervuilde lucht of een virale infectie). Atopie is gedefinieerd als het hebben van verhoogde allergeenspecifieke IgE antilichamen in het serum en een positieve reactie tijdens de huidpriktest op de een of enkele allergenen. Sensitisatie, het hebben van IgE antilichamen tegen een of meer allergenen, kan al op zeer jonge leeftijd optreden. Niet-atopisch astma begint op latere leeftijd en het houdt langer aan dan atopisch astma. Mensen met niet-atopisch astma vertonen een negatieve reactie tijdens de huidpriktest en er is geen bewijs voor een toename van allergeenspecifieke of totale serum IgE. Bij niet-atopisch astma zijn de aantallen neutrofielen, macrofagen en mestcellen verhoogd, terwijl bij atopisch astma eosinofielen en mestcellen overheersen. Ondanks deze verschillen lijkt de pathogenese van niet-atopisch en atopisch astma veel op elkaar [1, 2].

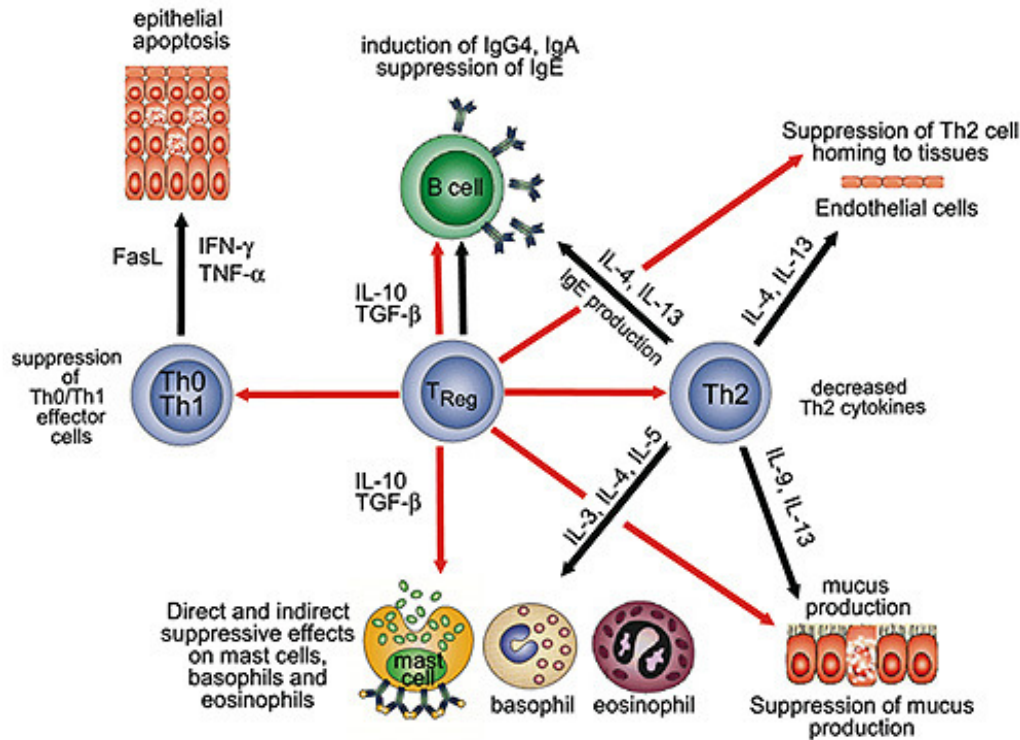
1.2 Huidige behandeling

De huidige behandeling van astma is voornamelijk gebaseerd op het gebruik van farmacologische medicaties. Deze medicaties kunnen zowel oraal als parenteraal worden toegediend, of direct in de longen via een inhalator. Deze geïnhaleerde toediening van een drug in de vorm van aerosol heeft vaak de voorkeur boven de andere routes van toediening, vanwege de directe toediening in de longen en de minimalisatie van systemische effecten. Hierdoor kan de dosis vaak ook veel lager worden gehouden in vergelijking tot de systemische medicatie. In het geval van β -2 agonisten, een bronchodilaterende medicatie, werkt toediening via inhalatie ook veel sneller. Deze medicatie is kortwerkend en is bedoeld om een aanval van benauwdheid te verhelpen. Voor de lange termijn controle van astma worden vooral geïnhaleerde corticosteroïden gebruikt. Deze medicatie onderdrukt de ontsteking in de luchtweg en zorgt voor de verdwijning van de symptomen. Wanneer de behandeling met corticosteroïden wordt stopgezet, dan treden de symptomen weer op. Dit geeft aan dat deze medicatie niet de pathogenese van astma verandert. Een behandeling die hier wel op aangrijpt is de allergeenspecifieke immunotherapie. De pathogenese van allergisch astma begint met een T-helper type 2 (Th2) cel immuunrespons gericht tegen de niet-gevaarlijke, eerder genoemde allergenen. Bij gezonde personen treedt tolerantie op, dit wordt gekarakteriseerd door het niet reageren van T-cellen op een antigeen. Er zijn verschillende strategieën van immunotherapie, bij sommige worden subcutane injecties gegeven met de extracten van allergenen of recombinante allergenen. Een andere manier is het sublinguaal toedienen van de allergenen. Op deze manier wordt er geprobeerd om bij een gesensitiseerd persoon de allergeenspecifieke Th2-respons voor een lange periode te onderdrukken [3,4]. In klinische onderzoeken wordt de strategie van het geven van subcutane injecties getest bij astmapatiënten. Dit is momenteel de enige behandeling die de potentie heeft om astma voor een lange periode te onderdrukken [5].

1.3 Th1/Th2-cel balans

De Th2-cel speelt een belangrijke rol in de pathogenese van allergisch astma. De meest bekende risicofactor voor het ontwikkelen van astma is de Th2-gedreven sensitisatie voor onschadelijke

allergenen [2,3]. Verschillende regulatoire en effector functies van Th2-cellen worden gemedieerd door de productie van interleukine-4 (IL-4), IL-5, IL-13 en andere cytokinen. Deze functies omvatten onder andere het stimuleren van B-cellen om IgE te produceren en de toename van eosinofielen, basofielen en mestcellen stimuleren [6]. T-helper type 1 (Th1) cellen zijn essentieel voor de cellulaire verdedigingsmechanismen, door de productie van IL-2 en interferon- γ (IFN- γ). Door de apoptose van epitheelcellen zorgen de Th1-cellen voor de inductie van de ontstekingsreactie, die helpt het cellulaire verdedigingsmechanisme te stimuleren. Th1- en de Th-2 cel werken elkaar tegen. De andere T-cel, de regulatoire T-cel (Treg-cel), remt zowel de effector functies van de Th1- als de Th-2 cel (Fig. 1) [7].



Figuur 1: De regulatoire en effector functies van Th2-, Th1- en Treg-cellen in astma. De Treg-cel maakt gebruik van meerdere factoren om de activiteit van Th1- en Th2-cellen te onderdrukken. De Th1- en de Th2-cel beïnvloeden elkaar ook (niet weergegeven). De effector functies van Th2-cellen worden gemedieerd door de productie van cytokinen. Deze functies zijn onder andere het stimuleren van B-cellen om IgE te produceren en de toename van eosinofielen, basofielen en mestcellen stimuleren. Door de productie van onder andere IFN- γ zorgen de Th1-cellen voor de apoptose van epitheelcellen (Rode lijn: onderdrukking, zwarte lijn: stimulatie) [6, fig. 1].

Wanneer een persoon voor de eerste keer een astma-aanval krijgt, komt dit doordat het geïnhaleerde allergeen zorgt voor een acute vernauwing. De IgE antilichamen geproduceerd door B-cellen binden aan receptoren van onder andere de mestcellen. Het geïnhaleerde allergeen bindt dan aan deze IgE antilichamen wat afgifte van histamine en leukotrienen van de mestcellen tot gevolg heeft.

Het inademen van een allergeen zorgt bij een persoon met allergisch astma voor acute bronchoconstrictie. Deze acute reactie verdwijnt vaak binnen een uur, maar na vier tot zes uur treedt de late reactie op die onder meer zorgt voor de ontsteking aan de luchtwegen, doordat ontstekingscellen (zoals eosinofielen) cytokinen en chemokinen afgeven die het longweefsel beschadigen [7].

De toename van de prevalentie van astma sinds de jaren '50 tegelijkertijd met de afname van de incidentie van infectieziekten heeft geleid tot de 'hygiëne hypothese'. Deze afname van infectieziekten was het gevolg van toegenomen hygiëne, vaccinaties en gebruik van antibiotica. Deze hypothese stelt dat de verminderde aanwezigheid van infectieuze stimuli waarschijnlijk

leidt tot een Th2-immuunrespons, vanwege het gebrek aan beschermende Th1-responsen of ontstekingsremmende Treg-cellen [3].

1.4 Rol van dendritische cellen

Dendritische cellen (DC's) zijn essentieel voor de inductie van de Th2-respons bij astmapatiënten op geïnhaleerde allergenen [1]. Deze cellen worden beschouwd als de belangrijkste antigeen presenterende cellen (APC's), want ze spelen een centrale rol in de aangeboren en de adaptieve immuniteit. DC's zijn namelijk de enige APC's die een naïeve T-cel kunnen activeren en op deze manier een adaptieve immuunrespons in gang kunnen zetten [3]. DC's presenteren alle allergenen die ze hebben gevangen aan de T-cellen. Het vangen van allergenen kan via fagocytose of via een receptor plaatsvinden. Doordat DC's veel verschillende patroonherkende receptoren (PRR's) tot expressie brengen, binden de meeste ongevaarlijke antigenen, maar ook de gevaarlijke pathogenen aan deze receptoren. Na binding aan de PRR worden ze via endocytose opgenomen in de DC. De antigenen worden dan verwerkt en gepresenteerd aan T-cellen. Een T-cel receptor (TCR) herkent dan specifiek de fragmenten van een antigeen gepresenteerd in het 'major histability complex' (MHC). Iedere T-cel brengt een unieke TCR tot expressie. Tevens activeren de DC's T-cellen niet alleen, maar beïnvloeden ze ook de differentiatie van de T-helper cel. Het type differentiatie hangt af van de activatie staat van de DC [8]. De vier signalen die nodig zijn voor naïeve T-cel activatie worden hieronder besproken. DC's bevinden zich onder basale condities in de longen net onder de epitheellaag. De geïnhaleerde allergenen worden opgenomen door de DC's door middel van endocytose en de DC's worden geactiveerd (signaal 0). Deze allergenen worden dan verwerkt tot kleinere peptiden en gepresenteerd door MHC klasse 2 moleculen aan de Th-cellen. Zowel myeloïde DC's (mDC's) als plasmacytoïde DC's (pDC's) nemen antigenen op. mDC's lijken dit te doen in de periferie, terwijl pDC's dit alleen maar doen in de mediastinale lymfeknopen. DC's die een antigeen hebben gevangen, migreren naar de mediastinale lymfeknopen en presenteren het antigeen daar aan de circulerende T-cellen (signaal 1). Tijdens dit proces moeten DC's volledig gematureerd zijn. Dit betekent dat ze de costimulatoire moleculen CD80 en CD86 moeten opreguleren voor de activatie van de naïeve T-cel, om de effector respons in de delende T-cellen te kunnen stimuleren (signaal 2) [1,9]. Daarna zorgt de afgifte van cytokinen door de DC voor de differentiatie van de T-cel (signaal 3) [10]. De mDC's die komen uit perifeer weefsel zonder infectie of weefselschade zijn niet geheel gematureerd wanneer ze de lymfeknopen bereiken. Dit komt door gebrek aan signalen van PRR's en dus brengen de mDC's geen costimulatoire moleculen tot expressie. Activatie in afwezigheid van signaal 2 leidt tot T-cel anergie en de inductie van Treg-cellen. De T-cel activatie van de mDC's om wordt onderdrukt door de pDC's. Opvallend is dat de depletie van pDC's in de longen leidt tot Th2-cel sensitisatie en de kenmerken van astma na blootstelling aan een onschadelijk allergeen [9].

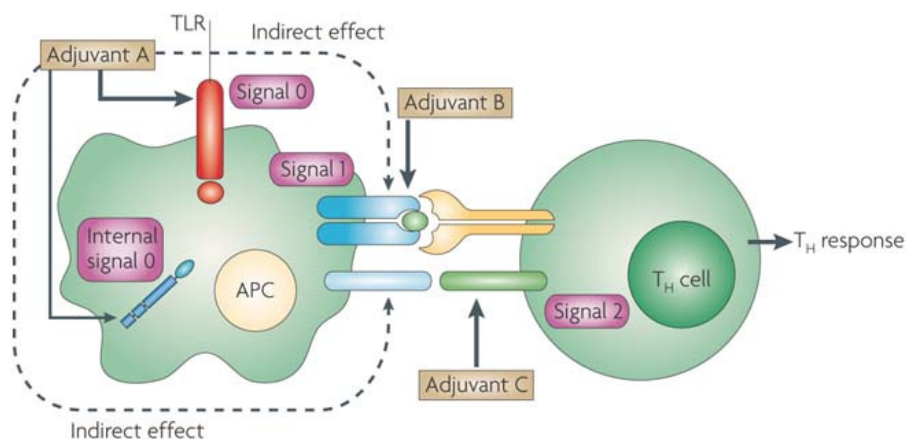
Pathogenen kunnen op verschillende manieren zorgen voor de activatie van DC's. Dit gebeurt door de herkenning van een gevaarsignaal. Dit signaal kan ook worden gevonden in het allergeen zelf, zoals bij huisstofmijt die daardoor een Th2-gedreven sensitisatie bevordert [1]. Ook zorgen bij allergenen extra signalen van ongerelateerde moleculen (zoals producten van een longvirus) of blootstelling aan stoffen in een omgeving (zoals sigarettenrook) die toevallig op hetzelfde moment aanwezig zijn in de long voor de activatie van DC's. De producten afgeleid van micro-organismen worden pathogeen-geassocieerde moleculaire patronen (PAMP's) genoemd. PAMP's worden herkend door membraangebonden, cytoplasmatische of endosomale PRR's, waaronder 'toll-like' receptoren (TLR's), op DC's.

DC's kunnen ook indirect worden geactiveerd. Weefselschade of celstress kunnen ook voor een ontsteking zorgen in de afwezigheid van pathogenen. Immuuncellen reageren op de moleculen die worden afgegeven door cellen tijdens weefselschade en celstress. Deze moleculen die zich normaal in de cel bevinden, worden de schadegeassocieerde moleculaire patronen (DAMP's) genoemd. Deze DAMP's dragen bij aan de inductie van een ontsteking door het aantrekken van ontstekingscellen en de interactie met PRR's.

Veel van de receptoren op DC's worden gedeeld door PAMP's en DAMP's. Dit geeft aan dat er overeenkomsten zijn tussen pathogeen-geïnduceerde en niet-infectieuze ontstekingsreacties. Er zijn goede bewijzen die suggereren dat er een nauwe samenwerking nodig is tussen PAMP's en DAMP's om een immuunrespons op allergenen te initiëren [1].

1.5 Nieuwe behandeling: DC als target voor vaccin

De belangrijke invloed die DC's hebben op beslissing tussen tolerantie of Th1/Th2 adaptieve immuniteit zou uitgebuit kunnen worden om de Th2-gedreven allergische sensitisatie te voorkomen [3]. Een manier die bij infectieziekten veel wordt gebruikt is vaccinatie. Het doel van vaccineren is om op lange termijn bescherming te induceren tegen pathogenen en om klinisch relevante infectieziekten te voorkomen. Het meest ideaal zou zijn dat vaccinatie kan worden geïnduceerd door het toedienen van het pathogeen dat deze natuurlijke, beschermende en langdurige respons induceert, zonder het veroorzaken van de ziekte. Dit wordt gedaan door de verzwakte variant van het pathogeen te gebruiken als vaccin. Echter in de meeste gevallen is het niet mogelijk om de pathogeniciteit en de immuniteit van deze levende pathogenen te scheiden en daarom worden dode organismen of delen van de pathogene organismen toegediend samen met een adjuvans. Het doel van adjuvantia is om de efficiëntie van vaccins te verhogen, zodat de immunogeniciteit van de micro-organismen of onschadelijke eiwitten wordt verhoogd. Een voordeel hiervan is dat er minder antigenen en minder toedieningen nodig zijn. Bovendien is de ontwikkeling van nieuwe vaccins veel doelgerichter omdat er inductie van een sterke cellulaire respons nodig is, bijvoorbeeld van Th1 cellen. Veel verschillende componenten worden gebruikt als adjuvantia, zoals microbiële producten, mineraalzouten, emulsies, micropartikels en liposomen. Veel adjuvantia helpen de immunogeniciteit van vaccins te verhogen door op de drie verschillende signalen van de Th-cel respons aan te grijpen. De DC herkent een antigeen en het wordt geactiveerd (signaal 0), daarna wordt het antigeen gepresenteerd (signaal 1) en worden costimulatoire moleculen opgereguleerd (signaal 2). In figuur 1 zijn deze drie signalen weergegeven [11,12].



Nature Reviews | Microbiology

Figuur 2: De drie signalen waar adjuvantia op aangrijpen. De initiatie van de Th-cel respons heeft drie signalen nodig: signaal 0, 1 en 2. Adjuvantia kunnen op elk van deze drie signalen aangrijpen. Type A adjuvantia werken op signaal 0 en indirect ook op signaal 1 en 2. Type B adjuvantia werken op signaal 1 en type C adjuvantia werken op signaal 2 [12, fig. 1].

Het is een uitdaging om het perfecte adjuvans te vinden. Een adjuvans moet natuurlijk veilig zijn en de gewenste immuunrespons induceren. Om verder te komen dan preklinische onderzoeken, moet het adjuvans stabiel zijn zodat het een veilige en consistente respons geeft in de gevaccineerde. Ook moeten de bijwerkingen op korte en op lange termijn bekend zijn. Het adjuvans moet in combinatie met het antigeen een sterkere beschermende immuniteit

induceren, dan het antigeen alleen. In het lichaam moet het adjuvans op zichzelf niet immunogeen zijn en het moet biologisch afbreekbaar zijn [12].

Een manier om in te grijpen op de pathogenese van astma is door te vaccineren voor de blootstelling aan allergenen en dus voor Th2-gedreven sensitisatie optreedt [3]. Bij dit astmavaccin wordt dan een adjuvans toegediend samen met een allergeen, zoals huisstofmijt. Het adjuvans zorgt er dan voor dat de juiste immuunrespons wordt geïnduceerd. Voor dit vaccin is een Th1- of Treg-inductie wenselijk. Op deze manier kan de Th2-gedreven sensitisatie voor het allergeen worden onderdrukt. Deze nieuwe behandeling van astma is bedoeld voor zeer jonge kinderen, omdat het vaccineren moet gebeuren voor de Th2-gedreven sensitisatie optreedt. Een zeer belangrijk element van deze behandeling is om te voorspellen welke kinderen de meeste kans hebben om op latere leeftijd astma te ontwikkelen [1]. De ernstige schade aan de longen veroorzaakt door astma, waardoor de longfunctie aanzienlijk vermindert, kan worden voorkomen met behulp van dit vaccin.

Hier wordt een overzicht gegeven van de adjuvantia die in aanmerking komen voor het astmavaccin, omdat ze een Th1- of Treg-respons induceren. Welk adjuvans voldoet het beste aan de eisen en zou klinisch ontwikkeld kunnen worden?

1. Adjuvans kandidaten

2.1 TLR-agonisten

Nadat een micro-organisme de gastheer is binnengedrongen, worden de PAMP's die tot expressie worden gebracht door het micro-organisme herkend door de PRR's op de cellen van het aangeboren immuunsysteem. De al eerder genoemde TLR's zijn een voorbeeld van PRR's en ze spelen een cruciale rol bij de eerste stappen van een immuunrespons op een infectie. TLR's worden tot expressie gebracht aan de oppervlakte van de cel of in de endosomen van verschillende typen APC en ze reageren op specifieke chemische structuren van bacteriën, zoals celwandcomponenten en DNA. Signalen die werken op de TLR worden TLR-agonisten genoemd. DC's worden hierdoor geactiveerd en de adaptieve immuunrespons wordt geïnduceerd door de activatie van naïeve T-cellen. Tijdens deze inductie van de adaptieve immuunrespons wordt bijvoorbeeld de balans verschoven naar Th1- of Th2-cellen en worden Treg-cellen geactiveerd of gehinderd. Belangrijk is dat TLR's niet alleen zorgen voor de activatie van DC's (Fig. 1, signaal 0 en 2), maar ze spelen ook een rol in de antigeenpresentatie (signaal 1) [12]. Dit vergroot de immunogeniciteit van de peptiden. Door dit controlemechanisme van TLR's wordt voorkomen dat de immunogeniciteit van de gelijktijdig gepresenteerde autoantigenen wordt verhoogd. Bij de fagocytose van apoptotische cellen van de gastheer door de DC's is er namelijk een gebrek aan TLR-agonisten [13]. Hierdoor treedt er bij T-cel herkenning van een autoantigeen in principe Treg inductie op. Om deze reden is het belangrijk voor een toekomstig astmavaccin dat het allergeen en de TLR-agonist tegelijk of zelfs covalent gekoppeld worden toegediend, zodat ze in hetzelfde fagosoom terechtkomen, er een optimale antigeenpresentatie wordt geïnduceerd en de allergeenspecifieke T-cellen voldoende worden geremd door de inductie van een Th1- of een Treg-respons [12]. Hieronder worden drie belangrijke TLR-agonisten besproken.

2.1.1 LPS

De eerder genoemde "hygiëne hypothese" stelt dat de toegenomen hygiëne en het minder voorkomen van infectieziekten door vaccinatie ervoor verantwoordelijk zijn dat atopisch astma is toegenomen [14]. Eén van de voorspellingen die uit deze hypothese voortkomen is: door minder blootstelling aan endotoxinen op jonge leeftijd wordt de incidentie van astma op latere leeftijd beïnvloed. Er is dan ook onderzocht of de directe blootstelling aan microbiële componenten de inductie van Th2-cellen door DC veranderen [3]. Hierbij gaat specifiek de interesse uit naar lipopolysaccharide (LPS), een celwandcomponent van gram-negatieve bacteriën die veel voorkomen in de omgeving, zoals ook bij huisstofmijt, een allergeen waar veel atopische patiënten op reageren. LPS wordt herkend door DC's via TLR-4 signalering [15].

Een onderzoek onder schoolgaande kinderen heeft laten zien dat de aanwezigheid van weinig endotoxinen in de omgeving is geassocieerd met een Th2-respons op veel voorkomende allergenen. De blootstelling aan een hoge dosis LPS zorgt echter voor tolerantie [16].

Voor onderzoek naar de pathogenese en de behandeling van astma wordt veel gebruikgemaakt van astma diermodellen. De muis wordt het meest gebruikt voor dit model, voornamelijk omdat er *in vivo* veel verschillende immunologische technieken kunnen worden toegepast, zoals gendeletie. Muizen ontwikkelen astma echter niet spontaan, dus dit moet worden geïnduceerd. In de meeste modellen wordt astma geïnduceerd door sensitisatie voor ovalbumine (OVA), dat intra peritoneaal wordt toegediend vaak samen met een Th2-cel inducerend adjuvans, zoals alum. Hierdoor wordt de productie van OVA-specifieke IgE antilichamen geïnduceerd. Vervolgens worden de dieren blootgesteld aan OVA, dat via inhalatie in de longen terechtkomt. De gesensitiseerde dieren ontwikkelen dan hyperreactiviteit en luchtwegontsteking [17].

Meerdere studies in diermodellen voor astma hebben bevestigd dat blootstelling aan LPS tijdens de sensitisatie voor een allergeen de ernst van de luchtwegontsteking vermindert [3,14,15]. De Th-cel respons was daarbij veranderd van een Th2- naar een Th1-respons. Wanneer de muizen daarna weer in aanraking kwamen met het allergeen werden de luchtwegen niet meer geïnfiltreerd door eosinofielen [14].

De onderdrukking van astma door LPS kan worden verklaard met de bevinding dat de verminderde luchtwegontsteking sterk afhangt van de aanwezigheid van TLR-4 en activatie van MyD88 signalering in DC's [15]. Veel microbiële componenten induceren de secretie van IL-12 (induceert Th1-respons) door de signalering via TLR's en MyD88 en zorgen daarmee voor een Th1-respons. Echter voor LPS is aangetoond dat de Th1-respons onafhankelijk is van de IL-12 productie [14]. In muizen met MyD88-deficiënte DC's werd een inductie van Th2 cellen geobserveerd. Onder normale omstandigheden geeft LPS dus een Th1-respons die afhankelijk is van de MyD88 signalering, maar onafhankelijk is van IL-12 [15].

Het is zeer waarschijnlijk dat bij blootstelling aan LPS serieuze bijwerkingen zullen optreden, waaronder vooral toxische shock. Dit kan gemakkelijk worden voorkomen door de modificatie van LPS om de pathogeniciteit te verminderen, terwijl de immunogeniciteit wordt behouden. In een studie bij muizen werd gebruikgemaakt van een gedetoxificeerde variant van LPS, monofosforyl lipide A (MPL). De muizen werden geïmmuniseerd met een allergeen in combinatie met MPL, dit resulteerde in een allergeenspecifieke Th1-respons en de onderdrukking van de Th2-respons [18,19].

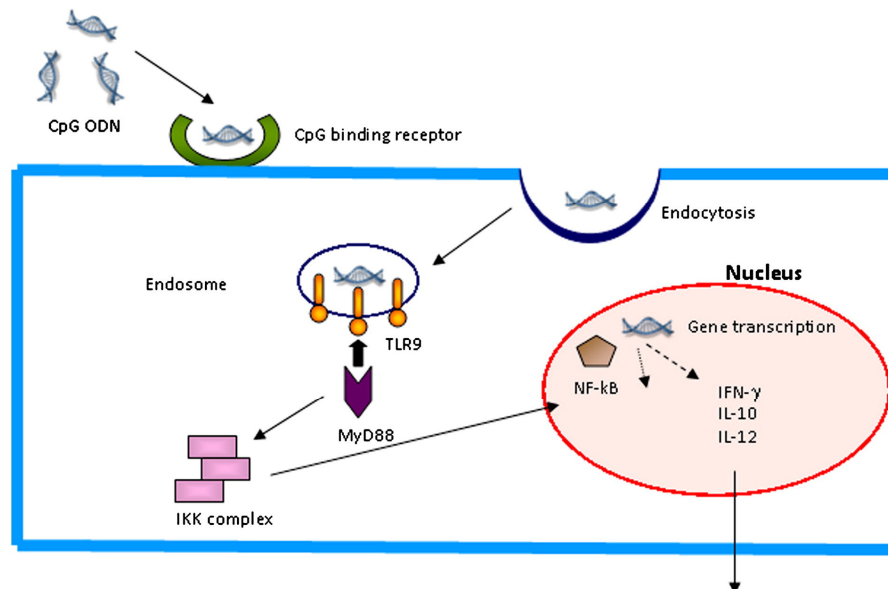
2.1.2 CpG oligonucleotiden

Een andere microbiële component die de aandacht heeft getrokken vanwege de relatie tussen de op jonge leeftijd blootstelling aan microben en atopisch astma, is bacterieel DNA. De chemische structuur van dit DNA wordt herkend, en wekt een immuunrespons op. Voornamelijk de ongemethyleerde cytosine-guanine dinucleotiden (CpG), die wel in prokaryoot, maar niet in eukaryoot DNA veel voorkomen worden herkend. Synthetische oligodeoxynucleotiden (ODN) bevatten ook CpG motieven en induceren dus ook een immuunrespons. CpG-ODN wordt herkend door de TLR-9, een intracellulair tot expressie gebrachte PRR (Fig. 2). Na de endocytose bindt CpG-ODN aan de TLR-9 en wordt het getransporteerd naar de celkern. De activatie van de nucleaire factor κ B zorgt voor de inductie van onder andere de cytokine IL-12, die op zijn beurt weer de secretie van IFN- γ stimuleert door NK-cellen en T-cellen. Dit resulteert in een Th-1 en een Treg-respons. Dit was de observatie die tot de suggestie leidde dat CpG-ODN mogelijk effectief zou zijn om atopisch astma te behandelen. Echter CpG-ODN zorgt via verschillende paden voor de beschermende effecten, maar dat voert te ver voor deze discussie [20].

Hierbij is het relevant of CpG-ODN de eigenschappen van astma *in vivo* kan voorkomen. Dit werd voor het eerst aangetoond in een diermodel voor astma. Muizen werden hierbij gesensitiseerd voor een allergeen in de aan- of afwezigheid van CpG-ODN. Daarna werden de muizen weer blootgesteld aan het allergeen en de muizen die in de aanwezigheid van CpG-ODN waren gesensitiseerd, ontwikkelden minder eosinofielen en een verminderde ontstekingsrespons. Hiermee is aangetoond dat toediening van CpG-ODN tijdens de sensitisatie de Th2-respons kan

onderdrukken [20, 21]. Muismodellen voor astma geven veel inzicht in de immunologische mechanismen van allergisch astma, maar door het verschil in de anatomie van de longen van knaagdieren en primaten maakt het de extrapolatie naar mensen moeilijk.

Recentelijk is aangetoond dat CpG-ODN de luchtweg-remodellering kan voorkomen in een primate model voor astma. Resusapen die eerst werden behandeld met CpG-ODN voordat ze meerdere malen werden blootgesteld aan het allergeen lieten een verminderde ontsteking en verminderde hyperreactiviteit en remodellering van de luchtweg zien. Het primate model voor astma komt erg overeen met de pathofysiologie van astma in mensen [20, 22].



Figuur 3: De signaaltransductie van CpG-ODN. CpG-ODN bindt aan een receptor aan het celoppervlak en vervolgens wordt het door de cel opgenomen via endocytose. In het endosoom bindt de oligonucleotide aan de TLR-9. Daarna gaat het TLR-9 een interactie aan met MyD88 en het IKK complex en het wordt verplaatst naar de nucleus. Wanneer CpG-ODN in de nucleus is, activeert het nucleaire factor κ B die zorgt voor de inductie van cytokinen en chemokinen [20, fig. 1].

2.1.3 Pam3CSK4

De laatste TLR-agonist die hier wordt besproken, is een component dat bindt aan de TLR-2 receptor. Deze receptor herkent gram-positieve bacteriën en gisten door een heterodimeer te vormen met de TLR-1 of TLR-6 receptor [23, 24]. Pam3CSK4 is een synthetisch, bacterieel lipopeptide. Het effect van deze TLR-2 agonist heeft tegenstrijdige resultaten opgeleverd in muizenmodellen voor astma. Er is namelijk zowel een Th1- als een Th2-differentiatie aangetoond. Er is aangegeven dat behandeling met een TLR-2 agonist tijdens de sensitisatieperiode astma verergert [25]. Het tegenovergestelde is bewezen in een studie waarbij de TLR-agonist werd toegediend vlak voor de muizen intranasaal werden blootgesteld aan het antigeen [26].

In een andere studie is het therapeutische effect van Pam3CSK4 onderzocht. Er is aangetoond dat Pam3CSK4 de luchtwegontsteking in een muizenmodel voor astma aanzienlijk vermindert. Dit bevorderlijke effect treedt meteen op en wordt ook behouden. De werking van Pam3CSK4 lijkt gedeeltelijk gebaseerd te zijn op de inductie van de IL-12 synthese door DC's. Deze verhoogde afgifte van IL-12 zorgt voor de specifieke IFN- γ -producerende Th1-repons en vermindert de activiteit van Th2-cellen. Het ontstekingsremmende effect van Pam3CSK4 is onafhankelijk van IL-10 en TGF- β en dus is het onwaarschijnlijk dat Treg-cellen hierbij een belangrijke rol spelen [23].

2.3 Sphingosine 1-fosfaat receptor agonist

De lysofosfolipide groeifactor sphingosine 1-fosfaat (S1P) wordt voornamelijk geproduceerd door trombocyten en leukocyten en het is aanwezig in het serum en extracellulaire vloeistof. In immuuncellen kan S1P verschillende functies reguleren, waaronder de migratie en de cytokine- en chemokine-afgifte. FTY720 is een structurele homoloog van S1P en wordt oraal toegediend bij onder andere transplantaties gebruikt, omdat het ervoor zorgt dat lymfocyten in de lymfeknopen en de milt blijven. Het voorkomt dus de migratie van lymfocyten naar de plek van ontsteking. Door dit werkingsmechanisme wordt een complete daling van T- en B-lymfocyten (lymfopenie) veroorzaakt. Door deze werking zou FTY720 als anti-astma medicijn worden uitgesloten. Echter DC's brengen ook S1P-receptoren tot expressie. Wanneer FTY720 lokaal werd toegediend via inhalatie bij muizen vlak voor of tijdens de blootstelling aan het allergeen werd de luchtwegontsteking en de hyperreactiviteit onderdrukt, zonder het veroorzaken van lymfopenie. Het effect van deze lokale behandeling werd bereikt doordat de migratie van de DC's naar de mediastinale lymfeknopen werd geremd en dus ook de inductie van allergeenspecifieke Th2-cellen. Ook waren DC's die waren behandeld met FTY720 veel slechter in staat om naïeve en effector Th2-cellen te activeren, doordat ze geen stabiele interacties kunnen aangaan met de T-cellen [27].

2.4 D prostanoïde-1 receptor agonist

Prostaglandinen (PG's) kunnen de luchtwegontsteking verhogen of onderdrukken door de werking op verschillende receptoren die tot expressie worden gebracht door immuuncellen. Prostaglandine D₂ (PGD₂) is van mestcellen afkomstig en bindt aan de D prostanoïde (DP) 1 en DP2 receptor. PGD₂ speelt een belangrijke rol bij astma, omdat het zorgt voor vasodilatatie, bronchoconstrictie en het aantrekken van ontstekingscellen. Inhalatie van de selectieve DP1 agonist BW245C door muizen onderdrukt juist de voornaamste eigenschappen van astma door de functie van DC's in de longen te veranderen. Dit suggereert dat de pro-inflammatoire effecten veroorzaakt door DP1 niet sterk genoeg zijn om de beschermende effecten van BW245C te overwinnen.

De toediening van BW245C via de longen onderdrukt astma tijdens de blootstelling van het allergeen in al gesensitiseerde muizen. De onderdrukking van astma door BW245C wordt veroorzaakt door de remming van de migratie van DC's naar de mediastinale lymfeknopen. Nog belangrijker is de bevinding dat BW245C de luchtwegontsteking en de hyperreactiviteit vermindert, wanneer toegediend bij allergische muizen, door remming van de DC maturatie. Dit zou een van de redenen kunnen zijn voor de Treg-cel inductie [28].

2. Discussie

Voordat het astmavaccin voor klinisch gebruik kan worden ontwikkeld, moet het adjuvans zorgvuldig gekozen zijn omdat het aan veel eisen moet voldoen. Ten eerste moet het adjuvans veilig zijn en moet het niet de ongewenste Th2-respons induceren. Dit kan worden bereikt door de inductie van een Th1- of een Treg-respons door de DC, waardoor de Th2-respons wordt onderdrukt. Het adjuvans moet ook stabiel zijn, zodat het een consistente respons geeft in de gevaccineerde. In het lichaam mag het adjuvans op zichzelf niet immunogeen zijn. Als laatste moeten de bijwerkingen op korte en lange termijn bekend zijn, zodat er een afweging kan worden gemaakt tussen het voordeel en het risico van het adjuvans. In tabel 1 is een samenvatting gegeven van de belangrijke eigenschappen van elke adjuvans.

Het is tevens belangrijk dat het effect van het adjuvans op de juiste manier is onderzocht in het diermodel. Voor de vaccinatie moet het allergeen tegelijk met het adjuvans worden toegediend vóór de sensitisatie. Dit is nog erg weinig in diermodellen onderzocht, maar als de toediening van het adjuvans tijdens de sensitisatie in een Th1- of Treg-respons inductie resulteert, is dit veelbelovend voor de werking als vaccin. Hieronder volgt de bespreking van de resultaten van de onderzoeken voor elk adjuvans.

Tabel 1: Overzicht van de belangrijke eigenschappen voor elk van de vijf adjuvantia.

	LPS	CpG-ODN	Pam3CSK4	S1P-receptor agonist	DP1-receptor agonist
Receptor	TLR-4	TLR-9	TLR-2	S1P-receptor	DP1-receptor
Respons	Th1-cel	Th1/Treg-cel	Th1/(Th2)-cel	Complete daling van T- en B-cellen	Treg-cel
Effect in diermodellen	Vermindert: luchtweg-ontsteking	Vermindert: ontsteking, hyperreactiviteit en remodelering van de luchtweg	Vermindert: Luchtweg-ontsteking	Vermindert: luchtweg-ontsteking en hyperreactiviteit	Vermindert; luchtweg-ontsteking en hyperreactiviteit
Gerapporteerde bijwerkingen	Gedetoxificeerde variant (MPL): geen	Geen	Geen	Lymfopenie, maar dit treedt niet op wanneer toegediend via luchtwegen	Geen

Onderzoeken in diermodellen hebben laten zien dat toediening van LPS tijdens de sensitisatie voor een allergeen de luchtwegontsteking vermindert. De T-cel balans was hierbij verschoven richting de Th1-cel [19].

Hoewel de meeste studies in diermodellen voor astma een beschermende rol hebben toegewezen aan LPS, zijn er ook onderzoeken die het tegenovergestelde hebben aangetoond. Een mogelijke verklaring hiervoor is het verschil in toediening en het moment van toediening van LPS en het antigeen bij deze studies [14]. In de meeste studies wordt LPS intranasaal toegediend aan de muizen. Deze lokale toediening verdient de voorkeur bij het toedienen van het astmavaccin bij mensen. Een nadeel is dat het niet consistent een Th1-respons induceert. In een onderzoek werd aangetoond dat inhalatie van LPS tegelijk met het antigeen in al gesensitiseerde dieren zorgde voor een Th2-respons [29]. Een verklaring hiervoor wordt gegeven in onderzoek waarbij de muizen op verschillende tijdstippen zijn blootgesteld aan LPS. Hieruit blijkt dat inhalatie van LPS na blootstelling aan het allergeen (18 uren tot 5 dagen na allergeenblootstelling) in gesensitiseerde muizen de luchtwegontsteking remt. Echter, inhalatie van LPS een dag voor de blootstelling aan het allergeen in gesensitiseerde muizen zorgde voor de verergering van de luchtwegontsteking. De blootstelling van LPS aan de luchtwegen voor en tijdens de sensitisatie remt de Th2-respons [30]. Dit laat duidelijk zien dat het tijdstip van inhalatie met LPS erg belangrijk is voor het effect.

De systemische toediening van LPS geeft dezelfde resultaten als de toediening via de luchtwegen. Wanneer LPS intra peritoneaal wordt geïnjecteerd vlak voor de sensitisatie voor het allergeen resulteert dit een remming van de Th2-respons. Echter verergerd de toediening van LPS na de sensitisatie, maar vlak voor de blootstelling aan het allergeen de symptomen van astma [35,36].

Een andere verklaring voor de tegenstrijdige resultaten is dat het effect van LPS op de sensitisatie voor een allergeen afhankelijk is van de dosis van LPS. In een onderzoek werd aangetoond dat inhalatie van een hoge dosis LPS samen met het antigeen zorgt voor een Th1-repons en een lage dosering LPS voor een Th2-respons [15].

Deze resultaten suggereren dat het toedienen van LPS bij mensen niet voor de behandeling van allergisch astma kan worden gebruikt, maar wel de ontwikkeling van astma kan voorkomen.

Ondersteunend bewijs hiervoor komt voort uit epidemiologische onderzoeken die laten zien dat kinderen opgegroeid op boerderijen minder allergieën ontwikkelen, omdat ze continu zijn blootgesteld aan LPS [19].

Voor het astmavaccin is het belangrijk dat het allergeen en het adjuvans tegelijkertijd worden toegediend. Het is onduidelijk of deze gelijktijdige toediening bij mensen voor een Th1- of een Th2-respons zorgt. In astma diermodellen worden namelijk beide responsen aangetoond, door verschillen in de dosis van LPS en het tijdstip van de blootstelling aan LPS.

Een ander nadeel van LPS is dat het in het lichaam sterk immunogeen is. Een oplossing hiervoor zou zijn om MPL, de gedetoxificeerde variant van LPS, te gaan gebruiken. In een onderzoek bij muizen werd MPL subcutaan toegediend in combinatie met het allergeen. Dit zorgde voor de inductie van de Th1-respons en de onderdrukking van de Th2-respons [18]. Er zou nog onderzocht kunnen worden wat het effect is van MPL wanneer het via de luchtwegen wordt toegediend bij muizen.

Vanwege de nadelen komt LPS niet in aanmerking om als adjuvans klinisch ontwikkeld te worden. MPL heeft echter meer potentie om de efficiëntie van het astmavaccin te verhogen. Er moet echter nog meer onderzoek worden gedaan naar het effect van MPL in astma en naïeve diermodellen.

Vooraf het effect van MPL, maar ook van de andere besproken adjuvantia, in naïeve diermodellen voor de ontwikkeling van een astmavaccin is belangrijk. Om dit te onderzoeken moeten de dieren eerst worden gevaccineerd, dus toediening van het allergeen samen met adjuvans. Vervolgens moet OVA samen met alum intra peritoneaal worden toegediend, om te testen of er nog sensitisatie kan optreden. Daarna worden de dieren blootgesteld aan het allergeen om te testen of de symptomen van astma, zoals luchtwegontsteking, nog kunnen optreden.

Diermodellen hebben laten zien dat toediening van CpG-ODN tijdens de sensitisatie voor een allergeen zorgt voor verminderde ontsteking, hyperreactiviteit en remodelering van luchtweg. CpG-ODN zorgt namelijk voor de onderdrukking van de Th2-respons door de inductie van Th1- en Treg-cellen. In de studies waar werd onderzocht of CpG-ODN astma kan voorkomen in astma diermodellen werden verschillende toedieningsmogelijkheden gebruikt. In het eerder genoemde onderzoek in muizen werd CpG-ODN tijdens de sensitisatie intra peritoneaal toegediend [21]. Er is ook onderzocht wat het effect is van de systemische toediening van CpG-ODN in muizen met astma. Deze toedieningen op verschillende momenten resulteren beide in een onderdrukking van de Th2-respons.

In een onderzoek in een astma muizenmodel werd er als reactie op inhalatie of transnasale toediening van CpG-ODN in de afwezigheid van een allergeen minimale ontsteking gevonden in de longen [32]. Dit duidt erop dat CpG-ODN op zichzelf niet immunogeen is in het lichaam.

In onderzoek bij resusapen werden de dieren eerst blootgesteld via inhalatie aan CpG-ODN en 24 uur later werden de apen blootgesteld aan het huisstofmijt allergeen. Deze apen waren overigens al gesensitiseerd voor huisstofmijt [22].

De positieve bevindingen van het effect van CpG-ODN in diermodellen voor astma heeft geleid tot de voortzetting van het onderzoek in mensen. In mensen wordt er vooral onderzoek gedaan naar het gebruik van CpG-ODN's als behandeling voor astma in de patiënt, en minder naar het gebruik van CpG-ODN's om de ziekte te voorkomen [20]. Voor het astmavaccin is het laatste relevanter, maar de onderzoeken waarbij CpG-ODN wordt gebruikt voor allergeenspecifieke immunotherapie kunnen wel wat zeggen over de veiligheid, effectiviteit en de verschillende toedieningsmogelijkheden.

De beschikbare data van het onderzoek bij mensen suggereert dat CpG-ODN zeer waarschijnlijk veilig is voor de behandeling van astma. Wanneer CpG-ODN wordt toegediend samen met het allergeen is de effectiviteit het hoogst [20, 31].

De studies naar het effect van de intra peritoneale toediening van CpG-ODN in astma diermodellen gaf zowel tijdens als na de sensitisatie een onderdrukking van de Th2-respons. Deze systemische toediening is niet erg ideaal voor mensen, omdat het misschien voor

bijwerkingen kan zorgen. In onderzoek bij resusapen met astma zorgde de inhalatie aan CpG-ODN voor de blootstelling aan het allergeen ook voor de onderdrukking van de Th2-respons. Voor het astmavaccin is het relevant om te weten wat toediening van CpG-ODN zou doen in naïeve diermodellen. Ook is het apart toedienen van het allergeen en het adjuvans niet handig voor de behandeling van mensen. De toediening van het vaccin via de luchtwegen is echter wel ideaal.

Vanwege de veiligheid en de effectiviteit is de potentie van CpG-ODN als adjuvans hoog, maar er moet eerst meer onderzoek worden gedaan in naïeve diermodellen, voordat het klinisch ontwikkeld kan worden. De resultaten van het primaatmodel zijn veelbelovend, dus er zou nog onderzocht kunnen worden wat het effect is van CpG-ODN wanneer het wordt toegediend via de luchtwegen tegelijkertijd met het allergeen in naïeve diermodellen.

De resultaten van het effect van de TLR-2 agonist Pam3CSK4 in astma muizenmodellen en tijdens sensitisatie voor een antigeen hebben tot nu toe tegenstrijdigheden opgeleverd. Er is voor de activatie van de TLR-2 receptor zowel een Th1- als een Th2- respons aangetoond. Deze verschillende uitkomsten zijn waarschijnlijk afhankelijk van dosering, moment van toediening (met betrekking tot toediening van het antigeen) en het type TLR-2 agonist [23].

In het eerder genoemde onderzoek werd astma verergerd in muizen wanneer de TLR-2 agonist tijdens de sensitisatie voor het allergeen werd toegediend [25]. De TLR-2 agonist, Pam3CSK4, werd tegelijk met het allergeen subcutaan geïnjecteerd. Hierbij werd een verhoogde Th2-respons aangetoond.

In overeenstemming met deze studie is het resultaat van een onderzoek waarin werd aangetoond dat diverse TLR-agonisten verschillende Th-cel responsen induceren in DC's van mensen, waarbij Pam3CSK4 een Th2-inductie gaf [33]. Tegenovergestelde resultaten kwamen uit een onderzoek waarbij de TLR-2 agonist intra-tracheaal werd toegediend tijdens de sensitisatie fase en tijdens de blootstelling aan het allergeen in astma muizenmodellen [5]. Hierbij werd aangetoond dat TLR-activatie kan leiden tot een afname in de Th2-respons met een lichte stijging in de Th1-respons.

Het werkingsmechanisme van Pam3CSK4 lijkt erg op die van CpG-ODN. De activatie van de TLR-9 receptor leidt ook tot een toename van IL-12 productie door DC's en een verhoogde IFN- γ synthese door T-cellen, met als resultaat een verminderde Th2-differentiatie en verminderde luchtwegontsteking [23].

Ondanks deze overeenkomstige en veelbelovende werking van Pam3CSK4 heeft het, vanwege de tegenstrijdige resultaten tot nu toe, weinig potentie om als adjuvans in het astmavaccin te dienen. Er zou echter nog onderzocht kunnen worden wat het effect is Pam3CSK4 als het via de luchtwegen wordt toegediend zowel voor de sensitisatie als tijdens de sensitisatie.

De drie adjuvantia, LPS, CpG-ODN en PAM3CSK4, zijn TLR-agonisten. Door de werking op de TLR op de DC kunnen deze adjuvantia het fenotype van de DC veranderen. Hierdoor wordt dan de gewenste T-cel respons geïnduceerd. De andere twee besproken adjuvantia, FTY720 en BW245C, grijpen aan op de interactie tussen de DC en de T-cel. Hierdoor kan de DC geen stabiele interactie aangaan met de T-cel en worden er geen Th2-cellen geïnduceerd.

In een muizenmodel voor astma heeft de S1P-receptor agonist FTY720 laten zien dat het de inductie van allergeen specifieke Th2-cellen kan remmen. De inhalatie van FTY720 vlak voor of tijdens de blootstelling aan het allergeen zorgt voor de onderdrukking van de luchtwegontsteking en de hyperreactiviteit. Dit komt doordat de DC's behandeld met FTY720 slecht in staat waren om naïeve en effector Th2-cellen te activeren, doordat ze geen stabiele interacties kunnen aangaan met de T-cellen.

Ook werd er na de toediening van FTY720 via de luchtwegen een verminderd aantal mDC's gevonden in de mediastinale lymfeknopen. Waarschijnlijk komt dit door de verminderde ontsteking in de longen. Dit was echter in muizen die al waren gesensitiseerd [27].

Ook de toediening van BW245C via de longen tijdens de blootstelling aan het allergeen onderdrukt de voornaamste eigenschappen van astma onderdrukt in al gesensitiseerde muizen.

Deze onderdrukking van astma door BW245C wordt veroorzaakt door de remming van de migratie van DC's naar de mediastinale lymfeknopen en door remming van de DC maturatie. In de muizen behandeld met BW245C of muizen die DC's ontvingen behandeld met de DP1-agonist was er een toename van Treg-cellen, die de ontsteking onderdrukten [28].

De onderdrukking van astma door de inductie van Treg-cellen is een goed uitgangspunt voor de ontwikkeling van een adjuvans voor een astmavaccin. Ook de werking van deze twee adjuvantia in al gesensitiseerde muizen is veelbelovend. Daarom zou er nog onderzocht kunnen worden wat het effect is van FTY720 en BW245C tijdens de sensitisatie aan een allergeen en of ze het ontstaan van astma kunnen onderdrukken, wanneer het wordt toegediend samen met een allergeen in naïeve diermodellen.

Veel van de besproken experimenten hebben laten zien dat er bij behandeling in astma diermodellen zowel tijdens als na de sensitisatie bescherming tegen de allergeenspecifieke Th2-respons kan worden verkregen door toediening van de verschillende adjuvantia. Het zou nu dus ook mogelijk zijn om een astmavaccin voor mensen te gaan ontwikkelen [19]. Hierbij is het belangrijk om te bedenken wie er gevaccineerd moet worden en voor welke allergenen. Dit zijn jonge kinderen die nog niet in aanraking zijn gekomen met de allergenen, maar wel het risico lopen om atopisch te reageren op bepaalde allergenen. De kinderen zouden dan gescreend moeten worden om vast te kunnen stellen voor welke allergenen er gevaccineerd moet worden. Bij deze screening zou gekeken kunnen worden of de ouders van de kinderen een atopie hebben en voor welke allergenen ze dan een positieve reactie hebben tijdens de huidpriktest. Een andere mogelijkheid is om deze kinderen, van wie tenminste een van de ouders atopisch reageert op een of meer allergenen, te vaccineren voor de meest voorkomende luchtwegallergenen. Vaccineren voor alle allergenen is namelijk niet mogelijk, omdat dit de effectiviteit van het astmavaccin vermindert.

De twee meest belovende strategieën voor de ontwikkeling van het vaccin zijn de inductie van de Th1-en de Treg-respons [19]. Hoewel de Th1-respons erg efficiënt is in het onderdrukken van de Th2-respons, zouden allergeenspecifieke Th1-cellen voor chronische ontstekingsreacties kunnen zorgen [36]. Op dit moment is het nog onduidelijk of allergeenspecifieke Th1-responsen kunnen leiden tot chronische ontsteking na herhaaldelijke blootstelling aan de allergenen. Het zou nu dus een te groot risico zijn om gezonde kinderen te vaccineren, waar bij het adjuvans alleen voor een Th1-cel inductie zorgt. Een vaccin dat gebaseerd is op de inductie van Treg-cellen zou misschien beter zijn, omdat Treg-cellen de Th2-respons onderdrukken zonder dat het ontsteking veroorzaakt. Verhoogde onderdrukking van het immuunsysteem moet dan wel uitgesloten zijn, zodat het zeker is dat er nog wel een immuunrespons wordt opgewekt tegen andere antigenen dan het allergeen. Bovendien kunnen Th1-cellen gemakkelijker worden geïnduceerd en onder controle worden gehouden, dan Treg-cellen. Momenteel lijkt de beste keuze voor het astmavaccin een adjuvans te zijn die zowel een Th1- als een Treg-respons induceert. De Th1-cel onderdrukt de Th2-respons en de allergeenspecifieke Treg-cellen onderdrukken op hun beurt weer de Th1-respons, zodat er geen chronische ontsteking wordt veroorzaakt [19].

Er kan nog niet worden vastgesteld welk adjuvans klinisch ontwikkeld kan worden, omdat aan alle vijf adjuvantia nog teveel onzekerheden kleven. Het effect van alle adjuvantia moet nog worden onderzocht in naïeve diermodellen. Voor LPS is het wel onderzocht en dit resulteert in de gewenste onderdrukking van de Th2-respons. Dit is veelbelovend voor de gedetoxifocierde variant van LPS, MPL, waarvan het effect dus nog moet worden onderzocht in nog niet gesensitiseerde dieren. Het toedienen van het vaccin via de luchtwegen zou het meest ideaal zijn voor mensen, omdat waarschijnlijk voor de minste bijwerkingen zal zorgen. De resultaten van de toediening van LPS en CpG-ODN via de luchtwegen tijdens de sensitisatie zijn veelbelovend. Ook de resultaten van de toediening via inhalatie van FTY720 en BW245C in astma diermodellen zijn gunstig. De resultaten van Pam3CSK4 zijn tegenstrijdig, maar er zou onderzocht kunnen worden of de Th2-respons wordt onderdrukt wanneer Pam3CSK4 toegediend wordt via de longen in naïeve diermodellen en tijdens de sensitisatie.

Referenties

1. Willart M.A, Lambrecht B.N. The danger within: endogenous danger signals, atopy and asthma. *Clin Exp Allergy*. 2009 Jan; 39(1):12-9.
2. Hammad H., Lambrecht B.N. Dendritic cells and epithelial cells: linking innate and adaptive immunity in asthma. *Nat Rev Immunol*. 2008 Mar; 8(3):193-204.
3. Kuipers H., Lambrecht B.N. Modification of dendritic cell function as a tool to prevent and treat allergic asthma. *Vaccine*. 2005 Aug; 23(37): 4577-88.
4. StoLoff S.W. Asthma management and prevention: current perspectives. *Clin Cornerstone*. 2008;8(4):26-43.
5. Zeldin Y, Weiler Z, Magen E, Tiosano L, Kidon MI. Safety and efficacy of allergen immunotherapy in the treatment of allergic rhinitis and asthma in real life. *Isr Med Assoc J*. 2008 Dec; 10(12):869-72.
6. Taylor A, Verhagen J., Akdis C.A., Akdis M. T Regulatory Cells in Allergy and Health: A Question of Allergen Specificity and Balance. 2004 Sep; 135(1): 73-82.
7. Busse W.W., Lemanske R.F. Jr. Asthma. *N Engl J Med*. 2001 Feb 1; 344(5): 350-62.
8. Banchereau J., Steinman R.M., Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998; 392(6673): 245-52.
9. Kool M., Lambrecht B.N. Dendritic cells in asthma and COPD: opportunities for drug development. *Curr Opin Immunol*. 2007 Dec;19(6):701-10.
10. Kapsenberg M.L. Dendritic-cell control of pathogen-driven T-cell polarization. *Nat Rev Immunol*. 2003 Dec; 3(12): 984-93.
11. Lambrecht B.N., Kool M., Willart M.A., Hammad H. Mechanism of action of clinically approved adjuvants. *Curr Opin Immunol*. 2009 Feb; 21:1-7.
12. Guy B. The perfect mix: recent progress in adjuvant research. *Nat Rev Microbiol*. 2007 Jul; 5 (7): 505-17.
13. Blander, J. M., Medzhitov, R. Toll-dependent selection of microbial antigens for presentation by dendritic cells. *Nature*. Apr 6;440(7085):808-12.
14. Kuipers H., Hijdra D., De Vries V.C., Hammad H., Prins J.B., Coyle A.J., et al. Lipopolysaccharide-Induced Suppression of Airway Th2 Responses Does Not Require IL-12 Production by Dendritic Cells. *J Immunol*. 2003 Oct 1; 171(7): 3645-54.
15. Eisenbarth S.C., Pigott 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(12): 1645-51.
16. Braun-Fahrlander C, Riedler J, Herz U., Eder W., Waser M., Grize L., et al. Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N Engl J Med* 2002; 347:869-77.
17. J.C. Kips, G.P. Anderson, J.J. Fredberg, U. Herz, M.D. Inman, M. Jordana, et al. Murine models of asthma. *Eur respir J*. 2003 Aug; 22(2): 374-82.
18. Wheeler A.W., Marshall D.S., Ulrich J.T. A Th1-Inducing Adjuvant, MPL®, Enhances Antibody Profiles in Experimental Animals Suggesting It Has the Potential to Improve the Efficacy of Allergy Vaccines. *Int Arch Allergy Immunol*. 2001 Oct; 126(2): 125-9.
19. Wohlleben G., Erb K.J. Inflammation versus immunoregulation: what is the key to the development of an effective antiallergy vaccine? *Pathobiology*. 2002-2003;70(5):270-6.
20. Fonseca D.E., Kline J.N. Use of CpG oligonucleotides in treatment of asthma and allergic disease. *Adv Drug Deliv Rev*. 2009 Mar 28; 61(3):256-62. Epub 2009 Jan 9.
21. J.N. Kline, T.J. Waldschmidt, T.R. Businga, J.E. Lemish, J.V. Weinstock, P.S. Thorne, A.M. Krieg. Modulation of airway inflammation by CpG oligodeoxynucleotides in a murine model of asthma. *J. Immunol*. 160 (1998) 2555.
22. M.V. Fanucchi, E.S. Schelegle, G.L. Baker, M.J. Evans, R.J. McDonald, L.J. Gershwin, E. Raz, D.M. Hyde, C.G. Plopper, L.A. Miller, Immunostimulatory oligonucleotides attenuate airways remodeling in allergic monkeys, *Am. J. Respir. Crit. Care. Med*. 170 (2004) 1153.
23. Patel M., Xu D., Kewin P., Choo-Kang B., McSharry C., Thomson N.C., et al. TLR2 agonist ameliorates established allergic airway inflammation by promoting Th1 response and not via regulatory T cells. *J Immunol* 2005; 174:7558-63.

24. Velaco G., Campo M, Manrique OJ, Bellou A, He H, Arestides RS, et al. Toll-like receptor 4 or 2 agonists decrease allergic inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2005 Mar;32(3):218-24.
25. Redecke, V., H. Hacker, S. K. Datta, A. Fermin, P. M. Pitha, D. H. Broide, and E. Raz. 2004. Cutting edge: activation of Toll-like receptor 2 induces a Th2 immune response and promotes experimental asthma. *J. Immunol.* 172: 2739–2743.
26. Akdis, C. A., F. Kussebi, B. Pulendran, M. Akdis, R. P. Lauener, C. B. Schmidt-Weber, S. Klunker, G. Isitmangil, N. Hansjee, T. A. Wynn, et al. 2003. Inhibition of T helper 2-type responses, IgE production and eosinophilia by synthetic lipopeptides. *Eur. J. Immunol.* 33: 2717–2726.
27. Idzko M, Hammad H, van Nimwegen M, Kool M, Müller T, Soullié T, et al. Local application of FTY720 to the lung abrogates experimental asthma by altering dendritic cell function. *J Clin Invest.* 2006 Nov;116(11):2935-44.
28. Hammad H., Kool M., Soullié T., Narumiya S., Trottein F., Hoogsteden H.C., Lambrecht B.N. Activation of the D prostanoid 1 receptor suppresses asthma by modulation of lung dendritic cell function and induction of regulatory T cells. *J Exp Med.* 2007 Feb 19;204(2):357-67.
29. Murakami D., Yamada H., Yajima T., Masuda A., Komune S., Yoshikai Y. Lipopolysaccharide inhalation exacerbates allergic airway inflammation by activating mast cells and promoting Th2 responses. *Clin Exp Allergy.* 2007 Mar; 37(3): 339-47.
30. Tulic MK, Wale JL, Holt PG, Sly PD. Modification of the inflammatory response to allergen challenge after exposure to bacterial lipopolysaccharide. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 22:604–12.
31. F.E. Simons, Y. Shikishima, G. Van Nest, J.J. Eiden, K.T. HayGlass, Selective immune redirection in humans with ragweed allergy by injecting Amb a 1 linked to immunostimulatory DNA, *J. Allergy. Clin. Immunol.* 113 (2004) 1144.
32. V.V. Jain, T.R. Businga, K. Kitagaki, C.L. George, P.T. O'Shaughnessy, J.N. Kline. Mucosal immunotherapy with CpG oligodeoxynucleotides reverses a murine model of chronic asthma induced by repeated antigen exposure. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 285 (2003) L1137.
33. Agrawal, S., A. Agrawal, B. Doughty, A. Gerwitz, J. Blenis, T. Van Dyke, B. Pulendran. 2003. Cutting edge: different Toll-like receptor agonists instruct dendritic cells to induce distinct Th responses via differential modulation of extracellular signal-regulated kinase-mitogen-activated protein kinase and c-Fos. *J. Immunol.* 171:4984.
34. Hansen G, Berry G, DeKruyff RH, Umetsu DT: Allergen-specific Th1 cells fail to counterbalance Th2 cell-induced airway hyperreactivity but cause severe airway inflammation. *J Clin Invest* 1999;103:175–183.
35. Gerhold K, Blümchen K, Bock A, Franke A, Avagian A, Hamelmann E. Endotoxins and allergy: lessons from the murine model. *Pathobiology.* 2002-2003;70(5):255-9.
36. Gerhold K, Blümchen K, Bock A, Seib C, Stock P, Kallinich T, Lohning M, Wahn U, Hamelmann E: Endotoxins prevent murine IgE production, T(H)2 immune responses, and development of airway eosinophilia but not airway hyperreactivity. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110:110–116.