



L'angolo dell'immunologo

Induzione orale di tolleranza immunologica: più teoria che pratica

TARCISIO NOT, EMANUELE BURATTI, IRENE BERTI, CHIARA TREVISIOL, ALBERTO TOMMASINI
 Laboratorio Immunologico, Istituto di Clinica Pediatrica, IRCCS "Burlo Garofolo", Trieste

Prinzipale compito del sistema immune è quello di riconoscere ed eliminare i microrganismi patogeni. Attraverso fenomeni di ricombinazione genica casuale il sistema è in grado di generare un repertorio pressoché illimitato di specificità (anticorpali o di recettore del linfocito T), distribuito in altrettanti cloni di linfociti. Alcuni di questi vengono selezionati perché utili, mentre gli altri sono eliminati perché inutili o dannosi. Un primo filtro in questo processo è il timo, dove viene operata la discriminazione tra molecole proprie dell'organismo (che non devono essere attaccate) e molecole estranee (contro le quali è opportuno mantenere la capacità di risposta). Tra le molecole estranee sarà necessaria una seconda discriminazione che consenta di tollerare la flora saprofitica (con cui convivere pacificamente) e le sostanze alimentari (necessarie alla vita) senza perdere la capacità di reagire a microrganismi e sostanze patogene. Questa discriminazione avviene in gran parte sulla mucosa intestinale, luogo privilegiato dove il mondo esterno si confronta con il sistema immune. In tale sede una molecola presentata in tempi e modi diversi può indurre tolleranza o reattività.

Induzione di tolleranza immunologica per mezzo della somministrazione orale di antigeni

Le prime prove sulla possibilità di indurre tolleranza immunologica nei riguardi di un determinato antigene attraverso la sua somministrazione per via orale provengono da una serie di esperimenti condotti in animali di laboratorio. In topi immunizzati con un determinato antigene, una seconda somministra-

zione parenterale dello stesso è in grado di indurre una reazione anafilattica. Tale risposta può essere inibita se tra le due somministrazioni parenterali l'antigene viene assunto per via orale¹. Il grado e la durata della condizione di tolleranza così instaurata dipendono da vari fattori, tra cui la dose di antigene, l'età dell'animale, la contemporanea presenza di altri antigeni e il tipo di flora intestinale. Sempre nel topo si è dimostrato che non tutti gli antigeni sono in grado di indurre allo stesso modo tolleranza intestinale. Per esempio, il sistema immune conserva la capacità di rispondere a sostanze tossiche come la tossina colerica. Inoltre la somministrazione orale di tossina colerica simultaneamente ad altri antigeni è in grado di annullare la capacità di questi ultimi di indurre tolleranza². Questa modulazione della risposta immune agli alimenti potrebbe derivare da un aumento della permeabilità mucosale alle proteine o in alternativa da una reazione di "allerta" nel sistema immune intestinale indotta dalla tossina.

La tolleranza orale nella patologia e nella terapia

Esistono evidenze che alterazioni dei meccanismi di tolleranza immunologica possano essere implicate nella patogenesi di diverse malattie, dalle allergie (mancata tolleranza verso alimenti) alle malattie autoimmuni (rottura della tolleranza verso antigeni self) e forse alla malattia di Crohn (perdita della tolleranza nei confronti di componenti della flora intestinale saprofitica³).

Se l'intestino gioca un ruolo nella tolleranza, è possibile che

processi di tolleranza possano subire alterazioni nell'intestino stesso o che viceversa possano essere influenzati terapeuticamente a partire dall'intestino. In tal senso è nota da molti anni la possibilità di guarire (encefalite autoimmune, artrite reumatoide) o di prevenire (diabete insulino-dipendente nei topi NOD) malattie autoimmuni dell'animale di laboratorio, somministrando per via orale gli antigeni coinvolti nell'autoaggressione (mielina, collagene, insulina)⁴.

In realtà non è importante che l'antigene somministrato sia realmente quello contro cui si sviluppa la risposta immune, ma è sufficiente che questo si trovi in prossimità dei bersagli dell'autoaggressione. Si assiste a un effetto di vicinanza (bystander suppression⁵) per mezzo del quale la tolleranza indotta verso un singolo antigene viene estesa anche ad altri antigeni anatomicamente vicini (vedi figura). Per esempio, nell'encefalo di topi con encefalite autoimmune sperimentale si documenta una reazione citotossica diretta non solo contro la mielina ma anche contro la PLP (proteina proteolipidica). La somministrazione orale di mielina in questi animali determina a livello intestinale la genesi di linfociti tollerigeni specifici. Queste cellule migrano fino all'encefalo dove riconoscono la mielina e secernono citochine in grado di sopprimere l'attività citotossica di linfociti presenti nel microambiente, indipendentemente dalla loro specificità (e quindi anche quelli che reagiscono contro la PLP).

Le cellule della tolleranza

Recentemente sono state caratterizzate le cellule che svolgono il ruolo centrale nei processi di tolleranza. Si tratta di una particolare popolazione di linfociti T CD4, successivamente denominati Th3⁶. Tali cellule, stimulate dall'IL-10, sono caratterizzate da un basso potenziale riproduttivo e dalla capacità di produrre a loro volta grandi quantità di TGF-beta e di IL-10⁷. Recenti dati dimostrano la tendenza dei linfociti T della lamina propria intestinale a rispondere agli stimoli con la produzione di IL-10⁸.

L'importanza di questi linfociti sembra essere indirettamente confermata da studi in cui la somministrazione sistemica di IL-10 si è dimostrata in grado di favorire i processi di tolleranza verso la flora intestinale nella colite sperimentale del topo⁹ e di migliorare il decorso della malattia di Crohn nell'uomo¹⁰.

Gli studi nell'uomo

La possibilità di indurre tolleranza verso più antigeni anatomicamente vicini è particolarmente interessante ove si consideri che nelle malattie autoimmuni organo-specifiche non è in genere identificabile un autoantigene scatenante, ma piuttosto ci si limita a descrivere una vasta costellazione di bersagli verso cui la risposta immune si rivolge. In base a questi presupposti teorici e all'esperienza nei modelli animali, sono stati avviati nell'uomo studi prospettici randomizzati sull'uso di mielina, collagene e insulina per via orale, rispettivamente nella sclerosi multipla, nell'artrite reumatoide e nel diabete insulino-dipendente. Per quanto i risultati di questi trial siano poco incoraggianti, alcuni elementi positivi meritano di essere segnalati. Infatti, nello studio riguardante la somministrazione di mielina bovina in soggetti con sclerosi multipla si è assistito alla comparsa di linfociti tollerigeni specifici per l'antigene nei soli soggetti trattati¹¹: la mancanza di un effetto clinico significativo potrebbe dipendere quindi più da fattori quantitativi che qualitativi e ciò anche in virtù del basso potenziale riproduttivo delle cellule tollerigene. È possibile che risultati migliori si possano ottenere intervenendo sulla concentrazione dell'antigene, sul suo modo di somministrazione, o sulla composizione della flora intestinale saprofitica.

Prospettive future

L'identificazione di una popolazione di linfociti tollerigeni antigene-specifici apre nuove strade nella terapia e nella prevenzione delle malattie autoimmuni.

Recenti esperimenti hanno dimostrato che l'assunzione dell'enzima pancreatico GAD in una verdura resa per esso transgenica, consente un'efficace prevenzione del diabete nel topo NOD (geneticamente predisposto a sviluppare questa malattia)¹². Esistono inoltre evidenze che una particolare flora intestinale sia in grado di modulare la risposta immune verso antigeni alimentari in senso tollerigeno o reattivo. Per esempio, mentre topi germ free (cresciuti in ambiente sterile) non sviluppano tolleranza verso l'ovalbumina, topi geneticamente identici il cui intestino viene colonizzato dal *Bifidobacterium infantis* diventano tolleranti¹³. E ancora, il *Lactobacillus GG* si è dimostrato efficace nell'accelerare il recupero della tolleranza alimentare in animali in cui questa era stata annullata per mezzo della somministrazione di tossina colerica¹⁴. Non è chiara però la sede in cui la flora intestinale modula la risposta verso l'antigene.

I meccanismi cellulari della tolleranza immunologica cominciano a chiarirsi, aprendo una nuova frontiera nella terapia delle malattie autoimmuni, in alternativa o in associazione con le terapie immunosoppressive attualmente disponibili.

Bibliografia

1. Hanson et al: Inhibition of specific immune responses by feeding protein antigens. II. Effects of prior passive and active immunization. *J Immunol* 122, 2261, 1977.
2. Elson CO, Ealding W: Cholera toxin feeding did not induce oral tolerance in mice and abrogated oral tolerance to unrelated protein antigen. *J Immunol* 133, 2892-2897, 1984.
3. MacPherson A et al: Mucosal antibodies in inflammatory bowel disease are directed against intestinal bacteria. *Gut* 38, 365-375, 1996.
4. Weiner HL: Oral tolerance: immune mechanisms and treatment of autoimmune diseases. *Immunol Today* 18, 335-343, 1997.
5. Weiner HL et al: Antigen-driven bystander suppression after oral administration of antigens. *J Exp Med* 74, 791-798, 1991.
6. Weiner et al: Regulatory T cell clones induced by oral tolerance: suppression of autoimmune encephalomyelitis. *Science* 265, 1237-1240, 1994.
7. Roncarolo MG et al: Interleukin-10 induces a long-term antigen-specific anergic state in human CD4+ T cells. *J Exp Med* 184, 19-29, 1996.
8. Meuer S et al: T cells of the human intestinal lamina propria are high producers of interleukin-10. *Gut* 41, 215-220, 1997.
9. Duchmann R et al: Tolerance towards resistant intestinal flora in mice is abrogated in experimental colitis and restored by treatment with interleukin-10 or antibodies to interleukin-12. *Eur J Immunol* 26, 934-938, 1996.
10. Van Deventer SJ et al: Multiple doses of interleukin 10 in steroid-refractory Crohn's disease. Crohn's Disease Study Group. *Gastroenterology* 113, 383-389, 1997.
11. Hafler DA et al: Induction of circulating myelin basic protein and proteolipid protein specific transforming growth factor- β 1-secreting Th3 T Cells by oral administration of myelin in multiple sclerosis patients. *J Clin Invest* 98, 70-77, 1996.
12. Ma SW et al: Transgenic plants expressing autoantigens fed to mice to induce oral immune tolerance. *Nat Med* 3, 793-796, 1997.
13. Koga Y et al: The requirement of intestinal bacterial flora for the development of an IgE production system fully susceptible to oral tolerance induction. *J Immunol* 159, 1739-1745, 1997.
14. Moreau MC, Gaboriau-Routhiau VG: Gut flora recovery of oral tolerance to ovalbumin in mice after transient breakdown mediated by Cholera toxin or *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin. *Pediatr Res* 39, 4, 1996.