

# Meccanismi molecolari dell’infiammazione di tipo 2 nell’asma grave

**OLIVIERO ROSSI**

*SOD Immunoallergologia, Dipartimento Medico-Geriatrico  
AOU Careggi, Firenze*

**L**’asma bronchiale è una patologia infiammatoria cronica complessa, che presenta una marcata eterogeneità eziologica, fisiopatologica e clinica (Fig. 1).

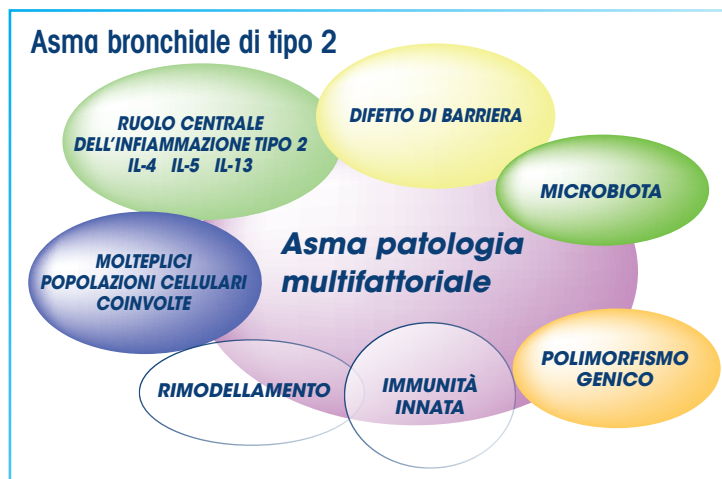


Figura 1. Asma bronchiale con infiammazione di tipo 2: complessità delle interazioni cellulari e molecolari

Nel corso degli anni, la progressiva evidenza di diversi meccanismi immunologici alla base della patologia ha permesso una sua migliore caratterizzazione, con importanti implicazioni cliniche e terapeutiche.

## **Classificazione storica dell’asma bronchiale**

Storicamente, l’asma bronchiale è stata divisa in estrinseca o intrinseca, in funzione della presenza di atopia. Successivamente, invece, è stata posta particolare importanza ai tipi cellulari coinvolti nella patogenesi della malattia. A seguito dell’identificazione di diversi cloni di

# Meccanismi molecolari dell'infiammazione di tipo 2 nell'asma grave

linfociti T CD4+, in grado di secernere citochine specifiche, l'infiammazione di tipo T helper 2 (Th2) ha assunto un ruolo centrale nella patogenesi in una porzione importante di pazienti, con conseguente distinzione di asma bronchiale di tipo "Th2-high" o "Th2-low" (Fig. 2).

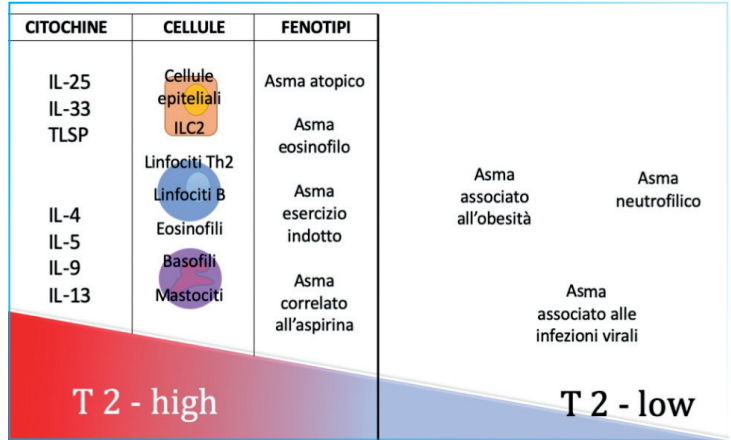


Figura 2. Fenotipi di asma bronchiale

La scoperta di cellule linfoidi dell'immunità innata di tipo 2 (ILC2), in grado di secernere citochine classicamente associate a linfociti Th2, ci ha permesso di parlare oggi di asma bronchiale associata a una infiammazione di tipo 2. Le citochine che guidano questo tipo di infiammazione sono l'interleuchina (IL)-4, IL-13 e IL-5, la cui secrezione avviene da parte di cellule del sistema immunitario sia innato (ILC2) sia adattativo (Th2) (Tabb. 1 e 2).<sup>1</sup>

## Asma grave: ruolo delle allarmine

L'infiammazione di tipo 2 è il meccanismo maggiormente implicato nella patogenesi dell'asma bronchiale ed è particolarmente importante nell'asma grave. Il rilascio delle cosiddette allarmine, come IL-25, IL-33 e la linfopoietina timica stromale (*thymic stromal lymphopoietin*, TLSP), da parte delle cellule dell'epitelio bronchiale a seguito del contatto con stimoli irritanti di varia natura (per esempio, virus, allergeni o sostanze chimiche) porta all'attivazione del sistema immunitario sia innato sia adattativo. Le allarmine, infatti, promuovono la migrazione delle cellule presentanti l'antigene (APC) dalla periferia alle stazioni linfonodali secondarie, dove entrano in contatto con i linfociti T helper naïve (Th0) e, principalmente attraverso la secrezione

Citochina/ cellula	Funzione
<b>Allarmine (TLSP, IL-33, IL-25)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Promuovono la migrazione delle APC con fenotipo di tipo 2</li> <li>- Attivano le ILC2 e ne promuovono la sopravvivenza</li> <li>- Stimolazione diretta dei mastociti</li> <li>- Favoriscono la produzione di IL-4, IL-5 e IL-13</li> </ul>
<b>IL-4, IL-13</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Differenziazione dei linfociti T in senso Th2</li> <li>- Sviluppo dei linfociti B, produzione di IgE</li> <li>- Produzione e secrezione di muco da parte delle cellule mucipare</li> <li>- Attivazione dei fibroblasti e rimodellamento bronchiale</li> <li>- Reclutamento degli eosinofili a livello dei tessuti</li> </ul>
<b>IL-5</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Crescita, differenziazione, mobilitazione e sopravvivenza degli eosinofili</li> </ul>
<b>IL-9</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Differenziazione dei linfociti T in senso Th2</li> <li>- Modula la funzione di mastociti e basofili</li> <li>- Aumento della produzione delle IgE</li> </ul>

**Tabella 1. Ruolo delle principali citochine coinvolte nell'infiammazione di tipo 2**

APC: cellule presentanti l'antigene; ILC2: cellule linfoidi innate di tipo 2

Cellula	Funzione
<b>Epitelio bronchiale</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Barriera contro insulti esterni (allergeni, virus, sostanze chimiche)</li> <li>- Produzione di allarmine (TLSP, IL-33, IL-25)</li> </ul>
<b>ILC2</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Produzione di IL-4, IL-13, IL-5 e amfipregulina</li> <li>- Rimodellamento delle vie aeree</li> <li>- Stimolazione della produzione di IgE</li> <li>- Attivazione diretta dei linfociti T in senso Th2</li> <li>- Possibile resistenza agli steroidi</li> </ul>
<b>Linfociti Th2</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Produzione di IL-4, IL-13, IL-5, IL-9</li> <li>- Rimodellamento delle vie aeree</li> <li>- Favoriscono lo switch isotipico con produzione di IgE</li> <li>- Contribuiscono al reclutamento delle cellule effettrici e al danno epiteliale</li> </ul>
<b>Linfociti B</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Produzione di IgE</li> </ul>
<b>Eosinofili</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Interferenza con i recettori muscarinici</li> <li>- Danno a carico delle cellule endoteliali</li> <li>- Iper-reattività bronchiale</li> <li>- Rimodellamento bronchiale</li> </ul>
<b>Basofili</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Differenziazione dei linfociti T in senso Th2</li> <li>- Secrezione di IL-4 e IL-13</li> <li>- Secrezione di istamina</li> <li>- Secrezione di leucotrieni e prostaglandine</li> </ul>
<b>Mastociti</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Secrezione di IL-4, IL-5, IL-13, IL-6</li> <li>- Secrezione di istamina</li> <li>- Secrezione di leucotrieni e prostaglandine</li> <li>- Contrazione delle cellule muscolari lisce</li> <li>- Reclutamento degli eosinofili</li> </ul>

**Tabella 2. Ruolo delle principali cellule coinvolte nell'infiammazione di tipo 2**

TLSP: linfopoietina timica stromale

*I linfociti Th2 inducono i linfociti B a produrre IgE*

di IL-4, ne promuovono la differenziazione verso il fenotipo Th2. I linfociti Th2, quindi, migrano verso le vie aeree dove secernono IL-4, IL-13, IL-5 e IL-9, orchestrando e amplificando la risposta infiammatoria attraverso il reclutamento delle cellule effettrici (eosinofili, basofili e mastociti). I linfociti Th2 promuovono lo "switch isotipico" delle immunoglobuline (Ig), con successiva produzione di IgE da parte dei linfociti B specifici. Le IgE legano i recettori ad alta affinità Fc di tipo 1 (FcεR1) sulla superficie dei mastociti e dei basofili, favorendo la loro degranolazione al contatto con l'allergene specifico.

Per quanto concerne l'immunità innata, invece, le allarmine sono in grado di attivare le ILC2, con conseguente sintesi di grandi quantità di IL-5 e IL-13, con ulteriore amplificazione della risposta immunitaria.

Molteplici studi hanno dimostrato una maggiore espressione della TSLP a livello delle vie aeree dei soggetti asmatici, specialmente in quelli con asma severo, rispetto a controlli sani. Essa agisce attraverso un recettore eterodimerico composto dalle catene TSLPR e IL-7Ra espresso da diversi tipi cellulari. Nelle APC, ad esempio, la TSLP induce una maggiore espressione di OX40L con conseguente polarizzazione Th2, proliferazione dei T CD4+ e aumento della sintesi di IL-4. È inoltre in grado di indurre corticoresistenza nelle ILC2 attraverso l'attivazione della via di STAT5, che porta all'espressione del gene anti-apoptotico Bcl-xL.

L'IL-33 svolge un ruolo fondamentale nelle fasi iniziali dell'infiammazione di tipo 2, non solo agendo sulle ILC2, ma anche stimolando direttamente i mastociti che esprimono il suo recettore ST2. È stato inoltre dimostrato che l'IL-25 agisce in modo sinergico all'IL-33 per promuovere la produzione di grandi quantità di IL-5 e IL-13 da parte delle ILC2. In generale, mentre la TSLP promuove la sopravvivenza delle ILC2, l'IL-33 ne stimola la proliferazione e la secrezione di citochine di tipo 2.<sup>2,3</sup>

*Un difetto di barriera contribuisce alla genesi dell'asma*

## **Ruolo dell'epitelio bronchiale**

L'epitelio delle vie aeree non è solo la sede finale del danno prodotto dall'infiammazione, ma svolge anche un ruolo attivo nel suo inizio e mantenimento. Come in altre patologie sostenute da un processo infiammatorio di tipo 2, quali la dermatite atopica, difetti di barriera sembrano essere coinvolti anche nella genesi dell'asma. Dal punto di vista anatomico, infatti, i pazienti asmatici presentano dei difetti

dei complessi apicali giunzionali. Ciò si traduce in una minor difesa contro agenti ambientali esterni e la compromissione del processo di guarigione. L'epitelio delle vie aeree, come già segnalato, a seguito dell'esposizione allergenica e ad altre sostanze nocive è in grado di rilasciare le allarmine, che danno inizio alla risposta infiammatoria.<sup>2</sup>

## **Ruolo delle cellule linfoidi innate di tipo 2**

Le ILC2 fanno parte di una famiglia più ampia di cellule linfoidi innate, alla quale appartengono anche le NK, ILC1 e ILC3. È importante sottolineare che le ILC2, non facendo parte delle cellule del sistema adattativo, non presentano recettori che vanno incontro a riarrangiamento. Inoltre, a differenza dei linfociti Th2 che si localizzano prevalentemente a livello degli organi linfoidi secondari o nel torrente circolatorio, le ILC2 sono presenti nei siti di interfaccia con l'ambiente esterno, come la sottomucosa polmonare o il derma.

Queste cellule vengono attivate da diversi tipi di molecole, quali citochine prodotte dai linfociti T (IL-2, IL-4, IL-7 e IL-9), mediatori lipidici ma soprattutto dalle allarmine. Una volta attivate, le ILC2 producono IL-4, IL-13, grosse quantità di IL5 e una molecola simile al fattore di crescita epidermico, l'amfiregulina, che sembra essere implicata nel processo di rimodellamento delle vie aeree.<sup>4</sup>

Il ruolo centrale delle ILC2 nell'asma è stato dimostrato in topi che ne erano privi. A seguito di stimolazione con allergeni, infatti, essi mostravano una minore produzione di IL-13, ridotta migrazione degli eosinofili e infiammazione polmonare più attenuata rispetto ai topi *wild-type*. Recentemente, alcuni autori hanno riscontrato un maggior numero di ILC2 (totali e secernenti citochine di tipo 2) a livello dell'espettorato e del sangue periferico di pazienti affetti da asma grave, rispetto a pazienti con asma moderato. Inoltre, è stata dimostrata una stretta correlazione tra il numero di ILC2 attivate in periferia e il controllo dell'asma.<sup>4</sup>

È stato dimostrato che le ILC2 possono stimolare la produzione di IgE da parte dei linfociti B indipendentemente dai linfociti T helper, attraverso l'espressione del CD154. Inoltre, si ipotizza che possano attivare direttamente i linfociti T CD4+ a seguito dell'espressione dell'MHC di classe II, CD80, CD86 e OX40L.

Un aspetto ancora controverso e con interessanti risvolti terapeutici è la possibile resistenza di queste cellule ai corticosteroidi. Se esposti

*Le allarmine  
giocano un  
ruolo chiave  
nell'attivazione  
delle ILC2*

a desametasone, le ILC2 e i linfociti CD4+ di pazienti con asma moderata producono un minor quantitativo di citochine di tipo 2 quando stimolate con IL-33. Tuttavia, come descritto in precedenza, è stata dimostrata una **steroidoresistenza** da parte di ILC2 dopo attivazione da parte di TSLP.<sup>3,4</sup>

### **IL-4 e IL-13: ruolo dei recettori**

IL-4 e IL-13 sono dei potenti mediatori dell'infiammazione di tipo 2 che svolgono delle funzioni analoghe ma anche specifiche, caratteristica da ricondurre alla struttura e all'espressione dei loro recettori. Essi sono degli eterodimeri composti da una catena comune presente su cellule ematopoietiche e non ematopoietiche, IL-4R $\alpha$ , associata a una catena accessoria distinta. Il complesso recettoriale di tipo 1 è formato dalla catena IL-4R $\alpha$  accoppiata a una catena  $\gamma$ , che si trova esclusivamente sulle cellule ematopoietiche (linfociti B e T, eosinofili, monociti e fibroblasti). Il complesso recettoriale di tipo 2, invece, è composto dalle catene IL-4R $\alpha$  e IL-13R $\alpha$ 1 ed è espresso da cellule non-ematopoietiche quali cellule epiteliali, fibroblasti, fibre muscolari lisce, monociti e linfociti B attivati. Mentre l'IL-4 lega la catena IL-4R $\alpha$ , e può quindi agire su entrambi i complessi recettoriali, l'IL-13 interagisce con la catena IL-13R $\alpha$ 1 e attiva esclusivamente il segnale del complesso di tipo 2 espresso dalle cellule non-emopoietiche.

Ciò significa che l'IL-4 è il mediatore principale della differenziazione dei linfociti Th2 e dello sviluppo dei linfociti B, mentre l'IL-13 è prevalentemente responsabile della secrezione di muco, dell'iper-reattività delle vie aeree e del rimodellamento tessutale caratteristici dell'asma.

MUC5AC e MUC5B sono i principali componenti del muco delle vie aeree e la loro sintesi risulta alterata in pazienti affetti da asma. Diversi studi hanno dimostrato che l'esposizione di cellule epiteliali respiratorie all'IL-13 comporta un significativo aumento dell'espressione di MUC5AC.<sup>5</sup>

Questo è inoltre accompagnato da iperplasia e metaplasia delle cellule mucipare, che l'IL-13 è in grado di stimolare attraverso molteplici vie del segnale, quali Notch2 e SPDEF. Tutto ciò comporta un'**alterata produzione di muco**, con conseguente ostruzione delle vie aeree.

L'alterata architettura delle vie aeree è anche conseguenza dell'attivazione dei fibroblasti da parte dell'IL-13 e, in misura ridotta, dell'IL-4. È inoltre importante evidenziare che queste citochine agiscono diret-

*L'IL-4 induce  
la differenziazione  
dei linfociti Th2.  
L'IL-13 è  
responsabile  
dell'iper-reattività  
delle vie aeree*

tamente a livello della barriera epiteliale, diminuendo l'integrità delle giunzioni intercellulari. Ciò favorisce il passaggio degli allergeni negli strati più profondi della mucosa, dove entrano in contatto con le APC, e vi è dunque una continua attivazione della risposta immunitaria.

Inoltre, come è stato dimostrato dallo studio di topi *knock-out* per IL-4 e/o IL-13, entrambe queste citochine partecipano alla produzione di IgE. L'IL-4 promuove lo sviluppo dei linfociti B e il loro switch isotipico, mentre l'IL-13 interviene più tardivamente e contribuisce al mantenimento della loro produzione.

L'IL-4 e, in minor misura, l'IL-13 sono ulteriormente coinvolte nel reclutamento degli eosinofili dal torrente circolatorio ai tessuti. Queste citochine, infatti, aumentano l'espressione sia di VCAM-1, che favorisce l'adesione degli eosinofili all'endotelio, sia di chemochine quali l'eotassina-1 e l'eotassina-3, che promuovono la migrazione delle cellule dal vaso al tessuto infiammato. IL-4R $\alpha$  è anche espresso dagli eosinofili e la sua stimolazione potrebbe contribuire all'ipereosinofilia.

È quindi evidente come l'IL-4 e l'IL-13 contribuiscono in maniera sinergica al mantenimento e all'amplificazione del processo infiammatorio di tipo 2. Ciò che le differenzia maggiormente è l'impossibilità dell'IL-13 di legare i linfociti T e quindi l'IL-4 è l'unica in grado di promuovere la differenziazione e lo sviluppo dei Th2.<sup>5-7</sup>

## **IL-5 e il ruolo degli eosinofili**

L'IL-5 è la citochina responsabile della crescita e della differenziazione degli eosinofili nel midollo osseo, ma anche della loro mobilitazione e sopravvivenza a livello del circolo ematico. La totale assenza di questa citochina, simulata attraverso l'utilizzo di topi *knock-out* o la somministrazione di anticorpi anti-IL-5 specifici, porta a una mancata risposta eosinofila in seguito a uno stimolo allergenico. Il suo recettore è formato dalla subunità IL-5R $\alpha$  e da una catena  $\beta$ ; quest'ultima è implicata anche nella via del segnale dell'IL-3 e del fattore stimolante dei macrofagi e dei granulociti. Il recettore, oltre ad essere presente sulla superficie degli eosinofili e dei loro precursori, è espresso anche dai basofili. L'IL-5 è infatti coinvolta anche nello sviluppo e nella modulazione della funzione dei basofili e dei mastociti.<sup>6</sup>

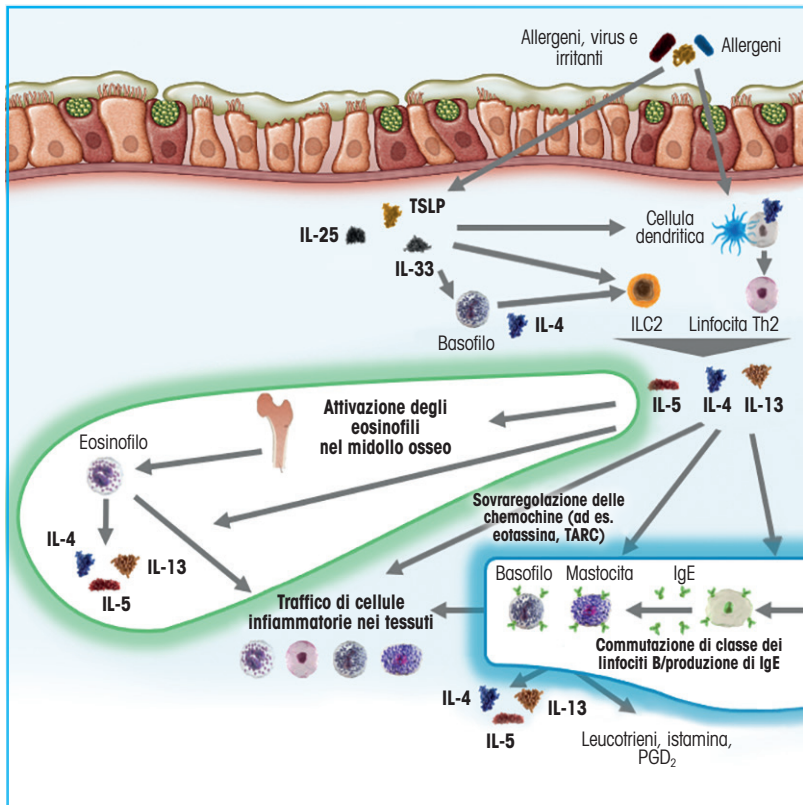
Tutte le interleuchine sopracitate (IL-4, IL-5 e IL-13) influenzano, in modo diretto o indiretto, maturazione, funzione e sopravvivenza degli eosinofili. Queste cellule effettrici dell'infiammazione di tipo 2, infatti,

*IL-4 e IL-13  
contribuiscono  
sinergicamente  
all'amplificazione  
del processo  
infiammatorio  
di tipo 2*

*L'IL-5 modula  
anche la funzione  
di basofili e  
mastociti*

## Meccanismi molecolari dell'infiammazione di tipo 2 nell'asma grave

svolgono un ruolo centrale nel danno tissutale caratteristico dell'asma (Fig. 3). All'interno del loro citoplasma vi sono dei granuli contenenti diversi mediatori dell'infiammazione come citochine, mediatori lipidici e radicali dell'ossigeno, ma soprattutto 4 proteine specifiche con proprietà citotossiche. La proteina cationica degli eosinofili e la proteina X degli eosinofili presentano un'attività ribonucleosidica, mentre la perossidasi eosinofila è anche in grado di catalizzare le reazioni tra perossido di idrogeno e alogeni. La proteina basica maggiore, invece, si lega ai recettori muscarinici M2 a livello dei bronchi. L'attivazione degli eosinofili, quindi, porta a inibizione dei recettori muscarinici, danno a livello delle cellule endoteliali, alterazione dei meccanismi di riparazione tissutale e fibrosi. Dal punto di vista clinico, tutto ciò si traduce in iper-reattività bronchiale e rimodellamento della parete.<sup>6,7</sup>





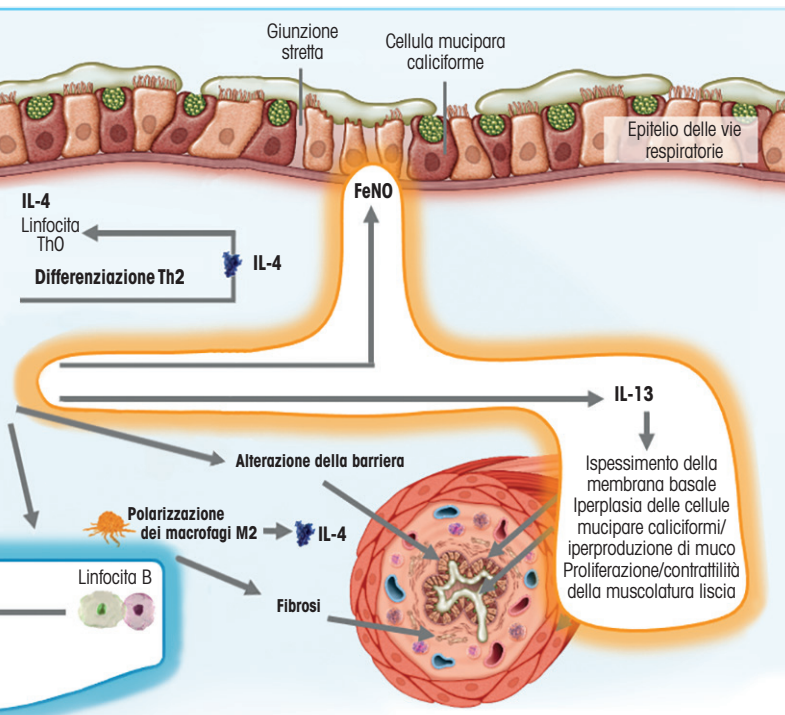
## Ruolo dell'IL-9

Un altro mediatore dell'infiammazione di tipo 2 è l'IL-9. Essa stimola la proliferazione dei linfociti T attivati e promuove la proliferazione e la differenziazione dei mastociti. È anche in grado di aumentare la produzione di IgE da parte dei linfociti B e di indurre l'espressione dei loro recettori sulla superficie dei mastociti, con conseguente aumento della risposta infiammatoria all'esposizione allergenica.<sup>1</sup>

## Ruolo di altre cellule effettrici

I **mastociti** agiscono soprattutto nella fase iniziale della risposta immunitaria di tipo 2. Presentano dei granuli citoplasmatici che contengono citochine (IL-4, IL-5, IL-6 e IL-13), amine come istamina, proteoglicani, proteasi neutre (triptasi o chimasi) e mediatori lipidici

*I mastociti e i basofili sono direttamente responsabili del danno a livello delle vie aeree*



**Figura 3. IL-4, IL-13 e IL-5, fattori fondamentali della fisiopatologia dell'asma**  
(mod. da Gandhi NA *et al.* Nat Rev Drug Discov 2016; 15:35-50; Fahy JV. Nat Rev Immunol 2015; 15:57-65; Nonaka M *et al.* Int Arch Allergy Immunol 2010; 152:327-341; GINA. Diagnosis and management of difficult-to-treat and severe asthma in adolescent and adult patients. 2019)

IgE, immunoglobulina E; ILC2, cellule linfoidi innate di tipo 2; PGD<sub>2</sub>, prostaglandina E2; TARC, chemochina regolante timo e attivazione; TSLP, linfopoietina stromale timica; Th, linfocita T helper.

quali leucotrieni, prostaglandine e PAF. Il legame dell'allergene alle IgE, ancorate alla superficie cellulare tramite il FcεR1, porta alla fuoriuscita dei granuli nello spazio extracellulare. Ciò comporta la contrazione delle cellule muscolari lisce, l'aumento della permeabilità vasale e il reclutamento di altre cellule, soprattutto degli eosinofili.

I **basofili** sono dei granulociti che presentano diverse analogie strutturali e funzionali con i mastociti. A differenza di questi ultimi, essi non si trovano normalmente a livello tissutale bensì in circolo, e agiscono nella fase più tardiva della risposta infiammatoria. Inoltre, pur avendo dei granuli dal contenuto simile, i basofili sintetizzano un maggiore quantitativo di IL-4 e sono dunque coinvolti nella differenziazione dei linfociti T in senso Th2.<sup>7</sup>

### KEY POINTS

- L'infiammazione di tipo 2 è il meccanismo maggiormente implicato nella patogenesi dell'asma bronchiale, ed è particolarmente importante nell'asma grave.
- Le citochine che guidano questo tipo di infiammazione sono IL-4, IL-13 e IL-5, la cui secrezione avviene da parte di cellule del sistema immunitario sia innato sia adattativo.
- Gli eosinofili, i mastociti e i basofili, attraverso la produzione di mediatori, inducono la contrazione delle cellule muscolari lisce, l'aumento della permeabilità vasale e la differenziazione dei linfociti T in senso Th2.

### Bibliografia

1. Robinson D, Humbert M, Buhl R, et al. Revisiting Type 2-high and Type 2-low airway inflammation in asthma: current knowledge and therapeutic implications. *Clin Exp Allergy* 2017;47:161-75.
2. Gandhi N, Bennett B, Graham N, et al. Targeting key proximal drivers of type 2 inflammation in disease. *Nat Rev Drug Discov* 2016;15:35-50.
3. Nakajima S, Kabata S, Kabashima K, et al. Anti-TSLP antibodies: Targeting a master regulator of type 2 immune responses. *Allergology International* 2020. DOI: 10.1016/j.alit.2020.01.001.
4. Cosmi L, Liofta F, Maggi E, et al. Role of Type 2 innate lymphoid cells in allergic diseases. *Curr Allergy Asthma Rep* 2017;17:66.
5. Bonser L, Erle D. Airway mucus and asthma: The Role of MUC5AC and MUC5B. *J Clin Med* 2017;6:112.
6. Caminati M, Pham D, Bagnasco D, et al. Type 2 immunity in asthma. *World Allergy Organization Journal* 2018;11:13.
7. Peters M, Wenzel S. Intersection of biology and therapeutics: type 2 targeted therapeutics for adult asthma. *Lancet* 2020;395:371-83.