

Innføring i molekylær allergologi

DEN KJEMISKE karakteriseringen av allergifremkallende molekyler startet allerede på 1960-tallet. Likevel er det først de to siste tiårene det har vært mulig å kartlegge molekylene som utløser allergisymptomene til den enkelte pasient. Denne artikkelen beskriver testene man har til rådighet – og terminologien.

Av **IVO NENTWICH**, overlege, og **VIDAR BOSNES**, seksjonsoverlege, Seksjon for medisinsk immunologi, Avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin, Oslo Universitetssykehus HF

Allergi er en symptomgivende overfølsomhetsreaksjon mot et stoff som flertallet av befolkningen tåler. Betegnelsen brukes bare om overfølsomhetsreaksjoner hvor immunsystemet er involvert. Stoffet man reagerer på, kalles et allergen (1). Symptomene ved eksponering kan spenne fra beskjedne plager til livstruende reaksjoner.

Det finnes beskrivelser av allergi allerede fra middelalderen (2), men mest kjent fra nyere tid er kanskje John Bostocks beskrivelse av høysnue fra 1819 (3). Coca og Cooke introduserte begrepet «atopi» i 1920-årene, og studerte stoffene som utløste slike reaksjoner gjennom hudtesting (pricktesting) (4). Den såkalte «atopiske triaden» omfattet eksem, astma og høysnue. Det var imidlertid kjent at mange reaksjoner på matvarer korrelerte med pricktesting på matvaren man reagerte på (5). Stoffene som utløste allergiske symptomer ble kalt reaginer. Man visste at reaginer kunne overføre hypersensitivitetsreaksjoner fra et individ til et annet ved overføring av serum,

Noen begreper

Allergen (allergenkomponent, allergenmolekyl). Et molekyl som kan fremkalle en allergisk reaksjon. Renfremstilte allergener brukt som reagenser kan være naturlige eller fremstilt med rekombinant DNA-teknologi. For å få best mulig diagnostisk ytelse, bør det renfremstilte allergenet være tilstrekkelig standardisert med hensyn til renhet, fysikalske og kjemiske egenskaper.

Allergenfamilie. En gruppe av allergener med liknende struktur og biologisk funksjon. Allergener innenfor samme familie vil ofte ha liknende allergologisk betydning.

Allergenkilde. Vev, partikkel, matvare eller organisme som brukes til fremstilling av et allergenekstrakt (for eksempel katteepitel, bjørkepollen, peanøttfrø, husstøvmidd).

Allergenekstrakt. Blanding av allergifremkallende molekyler (allergener) og ikke-allergifremkallende molekyler. Et ekstrakt er alltid fremstilt fra et naturlig forekommende råmateriale. For å få en best mulig diagnostisk ytelse med tanke på IgE-binding, bør ekstraktet ha tilstrekkelig standardisert sammensetning.

og at man kunne behandle pasienter ved å gi lave, men gradvis økende doser av materialet som utløste hypersensitivitetsreaksjonen. Dette er i dag kjent som hyposensibilisering eller spesifikk immunterapi (SIT). Man antok at reaginer var en form for antistoffer, men kunne ikke påvise dem direkte (6).

På midten av 1960-tallet ble det bekreftet at reaginer utgjorde en egen immunglobulinklasse som fikk navnet IgE, og som finnes i svært små mengder i kroppen (7, 8). IgE-antistoffer er fra naturens side en del av forsvaret mot blant annet tarmparasitter. Allergi hvor IgE-antistoffer har en sentral rolle i sykdomsprosessen, kalles IgE-mediert allergi. Det finnes også allergisykdommer som ikke er IgE-medierte, for eksempel kontakt-eksem og lungesykdommen allergisk alveolitt. Betegnelsen «allergen» brukes ved begge formene for allergi.

Denne artikkelen handler om laboratoriediagnostikk av IgE-mediert allergi.

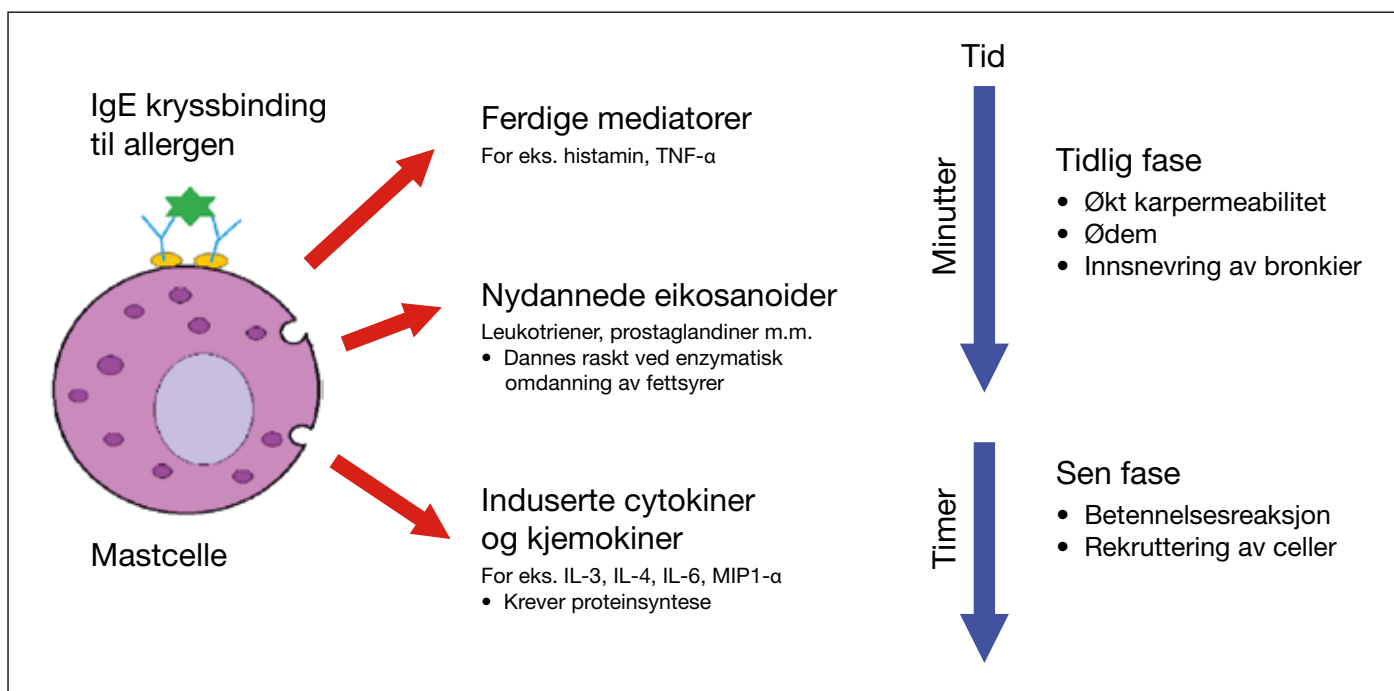
Utredning av allergi

En utredning av allergi hos en spesialist, starter ofte på legekantoret med pricktesting. Dette er i prinsippet samme undersøkelse som ble introdusert for snart 100 år siden, men ekstraktene som benyttes i

dag er av langt høyere kvalitet. Et ekstrakt fra et mulig allergifremkallende materiale prikket inn i huden med en lansett. Graden av sensibilisering vurderes ut fra størrelsen på hudreaksjonen som oppstår. Undersøkelsen suppleres som regel med laboratorietester. Pricktesten er en *in vivo* test som tester reaktiviteten til hud-mastceller som har bundet IgE til sin overflate. Det testes altså for bundet, funksjonelt IgE. Et immunoassay, derimot, måler tilstedeværelse av sirkulerende IgE i plasma. Det er som regel god korrelasjon mellom reaksjoner ved pricktesting og laboratoriets påvisning av spesifikt IgE mot stoffer man reagerer på.

IgE-sensibilisering

En forutsetning for utvikling av IgE-medierte allergi er at man danner IgE mot stoffer, allergener, som ikke i seg selv er skadelige. Slike IgE-antistoffer kalles for allergen-spesifikke IgE-antistoffer. Prosessen som fører til at man begynner å produsere allergenspesifikt IgE, kalles IgE-sensibilisering. Sensibilisering medfører ikke nødvendigvis symptomer. Det er først når tilstedeværelsen av spesifikt IgE fører til symptomer, at man har en allergi. Symptomene ved en IgE-medierte allergi opptrer som regel kort tid etter at man utsettes for



FIGUR 1. Sensibilisert effektorcelle (mastcelle) ved IgE-mediert allergi. Noen mediatorer er syntetisert før det er behov for dem, og finnes i korn i cytoplasma til hvilende mastceller. Andre mediatorer syntetiseres etter stimulering, noen raskt, andre senere i den allergiske reaksjonen. Figuren er tilpasset fra referanse (9).

allergen, fra noen få minutter inntil en time. Dette kalles en allergisk straksreaksjon. Symptomene utløses av mediatorer fra effektorceller (mastceller og basofile granulocytter) som har IgE bundet til reseptorer på sin overflate. Når allergenspesifikt IgE på effektorcellene binder seg til et allergen, vil effektorcellene straks frigjøre betennelsesfremmende signalstoffer, såkalte bioaktive mediatorer, blant annet histamin (9) (figur 1).

Hos en sensibilisert person vil en del av de spesifikke IgE-antistoffene være bundet til effektorcellene, mens noe vil sirkulere fritt i plasma.

Laboratorietesting

I laboratoriet tester man for tilstedeværelse av spesifikt IgE i prøvemateriale fra pasienten, som regel i serum. Pasientens serum inkuberes med allergener som det er mistanke om at pasienten kan ha spesifikt IgE mot. Binding av IgE til allergenet påvises i et immunoassay (enzymimmunoassay, fluoroenzymimmunoassay eller radioimmunoassay).

Allergenkilde, allergenekstrakt, allergenkomponent

Betegnelsen allergener brukes om veldefinerte molekyler, vanligvis proteiner,

som pasienten reagerer på. I naturen forekommer ikke allergenene som isolerte molekyler. De finnes sammen med mange forskjellige ikke-allergifremkallende stoffer i den aktuelle allergenkilden når de møter pasientens immunsystem. Eksempler på allergenkilder er bjørkepollen, peanøtter og muggsopp-sporer fra *Aspergillus fumigatus*.

En allergenkilde inneholder som regel flere ulike molekyler som kan føre til sensibilisering. Hos en sensibilisert pasient vil det derfor kunne finnes spesifikt IgE mot flere allergener fra samme allergenkilde. For å sikre at analysen skal påvise IgE-sensibilisering mot en bestemt allergenkilde, må man teste serumet mot et reagens som inneholder alle allergener fra allergenkilden. En slik blanding fremstilles i praksis ved å ekstrahere løselige molekyler fra allergenkilden (for eksempel peanøtter) gjennom inkubering i en buffer, og deretter fjerning av lavmolekylære stoffer. Sluttproduktet kalles et diagnostisk ekstrakt, og bør være så standardisert at det inneholder alle klinisk viktige allergener. Allergenene kalles ofte allergenkomponenter, fordi de er komponenter av et ekstrakt. Allergenkomponenter og allergener er altså synonymt.

Dersom vi tester pasientens serum mot et allergenekstrakt og får positiv reaksjon, betyr det at pasienten har spesifikt IgE mot én eller flere allergenkomponenter i ekstraktet. Noen ganger kan det ha praktisk betydning å vite hvilke allergenkomponenter pasienten er sensibilisert mot. Det krever påvisning av spesifikt IgE mot de enkelte allergenkomponentene, noe som kan utføres som separate enkelttester eller i en multipleksanalyse. Dette er mulig for flere viktige allergener.

Det finnes screeningtester som består av en blanding av flere ekstrakter, for eksempel ekstrakter fra ulike allergenkilder som kan utløse luftveisallergi. Ved utslag på en slik test, må man gå videre med testing mot enkelttekstraktene som inngår i testen. Vi kommer ikke til å drøfte denne typen screeningtester nærmere.

Hvordan betegner vi allergenkomponenter?

Nomenklaturen for allergenkomponenter er utarbeidet av International Union of Immunological Societies (IUIS) og World Health Organization (WHO). Norge er representert gjennom Scandinavian Society for Immunology og Norsk selskap for immunologi. Nomenklaturen

er beskrevet i (10) og (11), og på nettsiden www.allergen.org.

Man tar utgangspunkt i det vitenskapelige navnet på allergenkilden. Dette består av to ledd, slektsnavn og artsnavn. For eksempel heter bjørk *Betula verrucosa*. I allergennavnet brukes som regel de tre første bokstavene fra slektsnavnet, i dette tilfellet **Bet** og den første bokstaven fra artsnavnet, altså **v**. Det legges til et nummer som ofte betegner tilhørighet til en allergenfamilie, men det finnes mange unntak hvor samme nummer brukes om allergener fra forskjellige familier. For et konkret renfremstilt allergen settes det et prefiks foran navnet for å angi opphavet. Bokstaven **n** (for nativt eller naturlig) brukes hvis komponenten er fremstilt gjennom rensing fra ekstraktet. Bokstaven **r** (for rekombinant) brukes hvis komponenten er fremstilt gjennom rekombinant DNA-teknologi. Noen eksempler på allergennavn er presentert i tabell 1.

Allergenfamilier – funksjon og egenskaper

Hvert allergen er et molekyl som blant annet kjennetegnes ved sin molekylvekt, proteinkjedens lengde, proteinets primær-, sekundær- og tertiærstruktur, antall bindingssteder for antistoff

TABELL 1. Eksempler på allergennavn.

Allergenkilde	Vitenskapelig navn	Fremstillingsmåte	Allergennavn
Bjørkepollen	<i>Betula verrucosa</i>	rekombinant	rBet v 1
Katteepitel	<i>Felis domesticus</i>	naturlig	nFel d 1
Torsk	<i>Gadus morhua</i>	rekombinant	rGad m 1

(epitoper) og grad av post-translasjonelle modifikasjoner, for eksempel glykosylering. Disse egenskapene kan påvirke hvor sterke allergifremkallende egenskaper allergenet har (allergenisiteten).

Allergener deles inn i allergenfamilier. Allergenkomponenter fra ulike allergenkilder (arter) som inngår i en familie har liknende egenskaper, liknende biologiske funksjoner og ofte liknende struktur (tabell 2). En detaljert oversikt over allergenfamilier og tilhørende allergener (komponenter) finnes på <http://www.meduniwien.ac.at/allergens/allfam/>

Homologi og kryssreaktivitet

Proteinallgener i én og samme familie har en viss sekvenshomologi med hverandre. Denne sier noe om hvor like proteinkjedene til de ulike allergenkomponentene er – hvor mange sekvensmotiver de har felles. Sekvenshomologien mellom allergener er som regel høyere desto høyere grad av biologisk slektskap det er

mellom allergenkildene.

Kryssreaktivitet er derimot et funksjonelt begrep som sier noe om bindingsevnen av spesifikt IgE rettet mot et primært sensibiliserende allergen, såkalt primærsensibilisator (for eksempel Bet v 1 fra bjørkepollen), til et homologt allergen fra en annen kilde (for eksempel Ara h 8 fra peanøtt). Kryssreaktivitet *in vitro* kan i noen tilfeller gjenspeile symptomgivende kryssreaktivitet *in vivo*. I andre tilfeller kan kryssreaktiviteten være uten klinisk betydning.

Molekylær allergologi

Godt balanserte og standardiserte diagnostiske allergenekstrakter som inneholder alle relevante allergener er helt sentrale for å påvise IgE-sensibilisering.

Allergenekstrakter av ønsket kvalitet kan i noen tilfeller være vanskelige å fremstille, på grunn av tekniske vansker i ekstraksjonsprosessen og standardiseringen. Selv om leverandører av

TABELL 2. Oversikt over noen diagnostisk viktige allergenfamilier og enkelte allergenkomponenter.

Allergen-familie	Undergruppe	Funksjon i planten	MW kDa	Bjørk	Hassel-nøtt	Valnøtt	Cashew-nøtt	Peanøtt	Soya
Bet v 1-relaterte proteiner	PR-10 proteiner	Forsvar mot patogener (12)	17-18	Bet v 1	Cor a 1	§	§	Ara h 8	Gly m 4
Profiliner		Regulerer polymerisering av aktin (cellebevegelse) (13)	14	Bet v 2	Cor a 2	Jug r 5	§	Ara h 5	Gly m 3
Prolaminer	2S-albuminer	Lagringsproteiner i plantefrøet. Kilde til proteiner når frøet skal spire (14)	12-17	*	Cor a 14	Jug r 1	Ana o 3	Ara h 2 Ara h 6 Ara h 7	Gly m 8
	nsLTP non-spesifikke lipid transferproteiner	Overføring av fosfolipider mellom vesikler og membraner. Forsvar mot patogener (14)	9-10		Cor a 8	Jug r 3	§	Ara h 9	§
Kupiner	7S-globuliner (viciliner)	Lagringsproteiner i plantefrøet. Hovedkilde til proteiner når frøet skal spire (15)	44-48	*	Cor a 11	Jug r 2	Ana o 1	Ara h 1	Gly m 5
	11S-globuliner (leguminer)		40-58		Cor a 9	Jug r 4	Ana o 2	Ara h 3	Gly m 6

§) per dags dato ikke karakterisert. *) finnes trolig ikke i bjørkepollen

TABELL 3. Fordeler (grønn) og ulemper (rød) ved bruk av allergenekstrakter og allergenkomponenter i diagnostikken; tilpasset fra referanse (16).

	Naturlig ekstrakt fra allergenkilde	Natvitt (naturlig rensset) allergen	Rekombinant allergen
Fremstilling og kostnader	Enkelt å fremstille. Billig.	Arbeidskrevende fremstilling. Dyrt.	Arbeidskrevende fremstilling. Dyrt.
Standardisering av sammensetning	Sammensetningen av kildematerialet kan variere naturlig. Noen allergener kan mangle eller være denaturert i ekstraktet.	Alle naturlige varianter av molekylet er tilstede.	Ett velkarakterisert molekyl er tilstede.
Standardisering av allergenisitet Er allergenstrukturer bevart?	Ingen ideell standardisering på grunn av variasjon i kildematerialet. De fleste proteinallergener har sin naturlige struktur godt bevart, og binder IgE på samme måte som de gjør i kroppen.	Naturlige proteinstrukturer er godt bevart, og binder IgE på samme måte som de gjør i kroppen.	Proteiner kan ha en annen 3D-struktur enn de har i kroppen. Post-translasjonelle modifikasjoner kan mangle. Begge forhold kan føre til at noen bindingssteder for IgE mangler.
Diagnostisk ytelse	Velegnet til screening. Høy negativ prediktiv verdi dersom alle potensielt allergifremkallende molekyler er tilstede.	Ikke egnet til screening på grunn av lav prediktiv verdi ved isolert testing for én eller noen få komponenter.	
	Muliggjør ikke identifisering av hvilke molekyler pasienten er sensibilisert mot.	Kan identifisere hvilke molekyler pasienten er sensibilisert mot. For noen allergener er det påvist høy prediktiv verdi for positiv provokasjonstest.	

diagnostiske ekstrakter gjør sitt ytterste for å levere gode ekstrakter, vil noen kunne inneholde for lite av relevante allergenkomponenter, eller inneholde komponenter som har blitt denaturert ved ekstraheringen, slik at de ikke lenger binder IgE. I begge tilfeller er allergenkomponentene dårlig representert i ekstraktet som følge av vansker i ekstraksjonsprosessen. I slike tilfeller må vi teste både mot ekstraktet og mot komponenten som det er for lite av i ekstraktet, dersom en slik test finnes.

Et eksempel på komponenter som ofte er dårlig representert i allergenekstrakter, er en gruppe nøtteallergener og fruktallergener som er i samme allergenfamilie som det viktigste allergenet i bjørkepollen.

Tabell 3 gir en oversikt over fordeler og ulemper ved bruk av naturlige ekstrakter fra allergenkilder, naturlige rensede allergenkomponenter og rekombinante allergenkomponenter til påvisning av IgE-sensibilisering (16).

Det utvikles stadig nye tester for identifisering av hvilke molekyler en pasient er sensibilisert mot, dette kalles molekylær allergologi, og betegnes på engelsk som Component Resolved Diagnostics (CRD). Det er en rivende utvikling innenfor feltet, med stadig nye tester på markedet. I artikkelen på side 23-28, beskriver vi nær-

mere hvordan slik kunnskap kan komme pasientene til gode.

Takk

Takk til bioingeniørene Anne Muggerud og Fride Erdal Julhamn ved Oslo universitetssykehus, Avdeling for immunologi og transfusjonsmedisin, for kritisk gjennomlesning av manuskriptet og nyttige kommentarer.

Forfatterne oppgir ingen interessekonflikter. ■

Referanser

- Johansson SG, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS, Lanier BQ, Lockey RF et al. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113(5):832-6.
- Bungy GA, Mossawi J, Nojoudi SA, Brostoff J. Razi's report about seasonal allergic rhinitis (hay fever) from the 10th century AD. *Int Arch Allergy Immunol.* 1996;110(3):219-24.
- Finn R. John Bostock, hay fever, and the mechanism of allergy. *Lancet.* 1992;340(8833):1453-5.
- Coca AF, Cooke RA. On the Classification of the Phenomena of Hypersensitiveness. *The Journal of Immunology.* 1923;8(3):163-82.
- Duke WW. Food allergy as a cause of abdominal pain. *Arch Intern Med.* 1921;28(2):151-65.
- Walzer M. Mechanism of Allergy. *Bull N Y Acad Med.* 1940;16(6):389-94.
- Ishizaka K, Ishizaka T, Hornbrook MM. Physico-chemical properties of human reaginic antibody.

IV. Presence of a unique immunoglobulin as a carrier of reaginic activity. *J Immunol.* 1966;97(1):75-85.

8. Stanworth DR, Humphrey JH, Bennich H, Johansson SG. Specific inhibition of the Prausnitz-Kustner reaction by an atypical human myeloma protein. *Lancet.* 1967;2(7511):330-2.

9. Adkinson NF, Middleton E. *Biology of Mast Cells and Their Mediators. Middleton's allergy: principles & practice.* 1. 7th ed. Philadelphia, PA: Mosby/Elsevier; 2009. s. 320.

10. King TP, Hoffman D, Lowenstein H, Marsh DG, Platts-Mills TA, Thomas W. Allergen nomenclature. *Allergy.* 1995;50(9):765-74.

11. Chapman MD, Pomes A, Breiteneder H, Ferreira F. Nomenclature and structural biology of allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119(2):414-20.

12. Radauer C. AF069: Bet v 1-related protein: http://www.meduniwien.ac.at/allergens/allfam/factsheet.php?allfam_id=AF069. (21.9.2015)

13. Radauer C. AF051: Profilin: http://www.meduniwien.ac.at/allergens/allfam/factsheet.php?allfam_id=AF051. (21.9.2015)

14. Radauer C. AF050: Prolamin superfamily: http://www.meduniwien.ac.at/allergens/allfam/factsheet.php?allfam_id=AF050. (21.9.2015)

15. Radauer C. AF045: Cupin superfamily: http://www.meduniwien.ac.at/allergens/allfam/factsheet.php?allfam_id=AF045. (21.9.2015)

16. Steckelbroeck S, Ballmer-Weber BK, Vieths S. Potential, pitfalls, and prospects of food allergy diagnostics with recombinant allergens or synthetic sequential epitopes. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;121(6):1323-30.