ỨNG DỤNG SINH HỌC PHÂN TỬ TRONG DỊ ỨNG – MIỄN DỊCH

TS.BS.Trịnh Hoàng Kim Tú

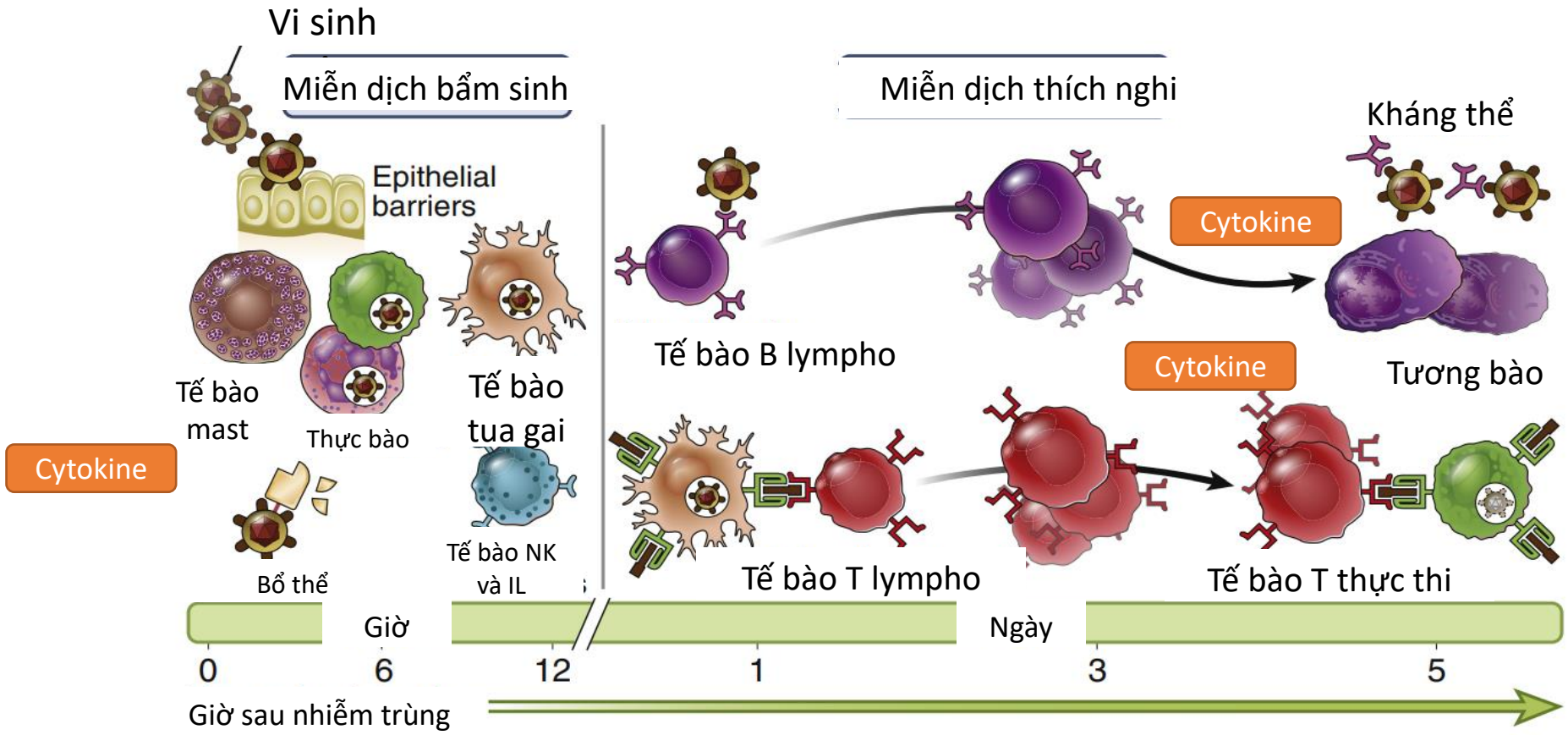
Nhóm nghiên cứu Dị ứng – Miễn dịch lâm sàng
Trung tâm Y Sinh học phân tử
Đại học Y Dược TPHCM

Email: kim.tu.vn@ump.edu.vn

Nội dung

1. Nhắc lại về đáp ứng miễn dịch
2. Phản ứng quá mẫn khởi phát sớm
3. Phản ứng quá mẫn khởi phát muộn

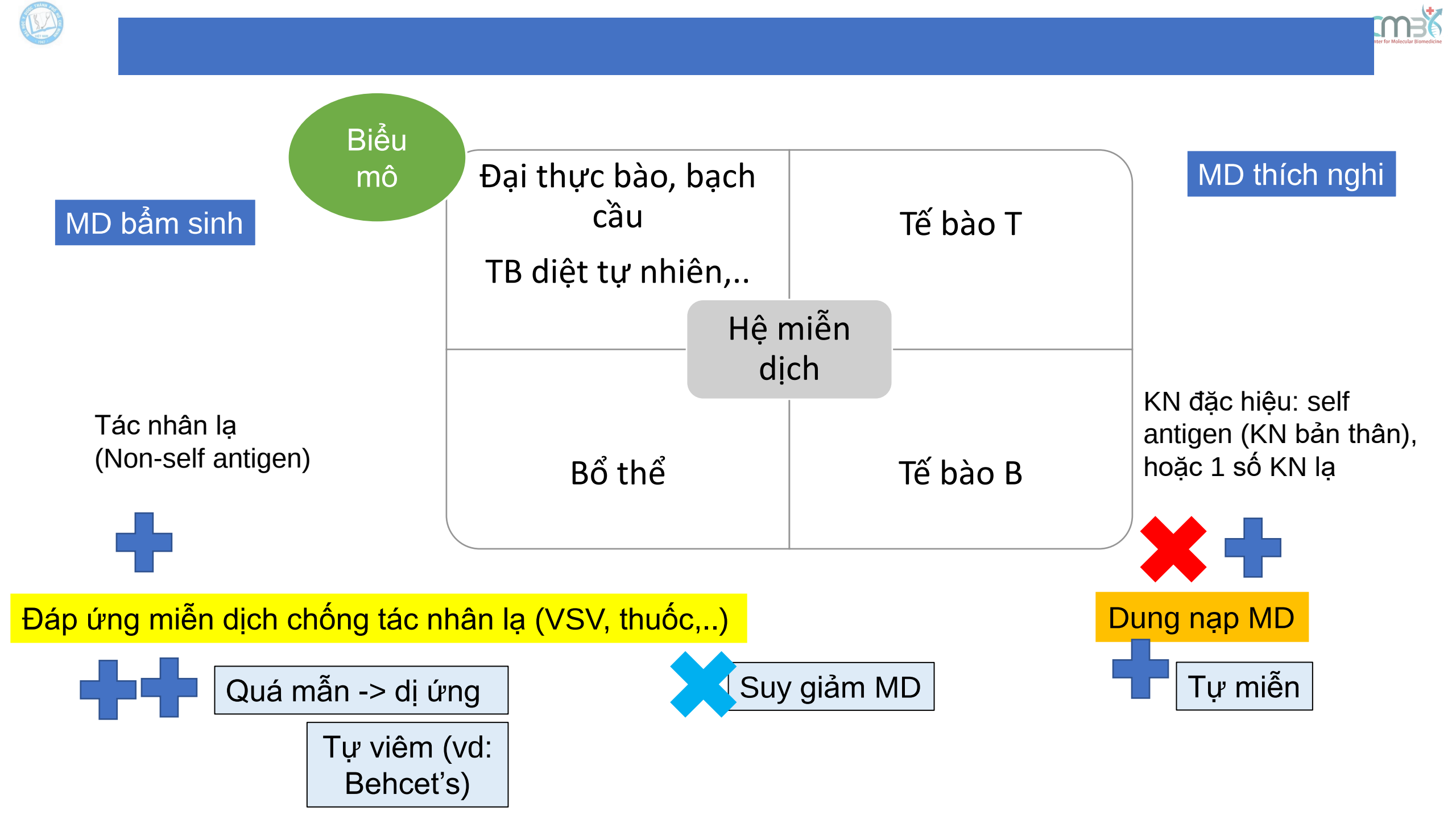
Hoạt động của hệ MD



Basic Immunology

Dấu ấn của phản ứng miễn dịch:

1. Kháng thể
2. Số lượng/tình trạng hoạt hóa tế bào
- Tế bào T thực thi (effector T cells): tế bào T giúp đỡ/gây độc/nhớ.
- Tế bào B thực thi (effector B cells): tế bào B nhớ/tiền tế bào lympho B
3. Cytokine: đo bằng ELISA, flow cytometry,…
4. Gene liên quan đến con đường miễn dịch


Biểu mô
MD bẩm sinh
MD thích nghi
Đại thực bào, bạch cầu
TB diệt tự nhiên,..
Tế bào T
Hệ miễn dịch
Bổ thể
Tế bào B
Tác nhân lạ
(Non-self antigen)
KN đặc hiệu: self antigen (KN bản thân), hoặc 1 số KN lạ
Đáp ứng miễn dịch chống tác nhân lạ (VSV, thuốc,..)
Dung nạp MD
Quá mẫn -> dị ứng
Suy giảm MD
Tự miễn
Tự viêm (vd: Behcet's)

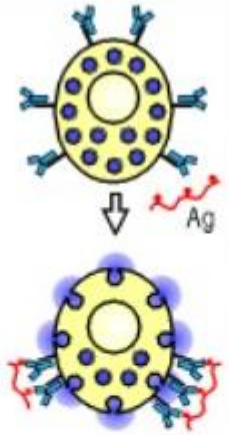
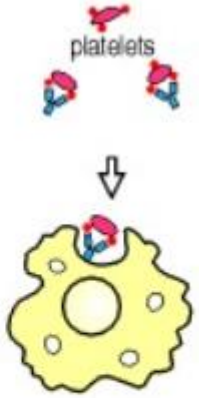
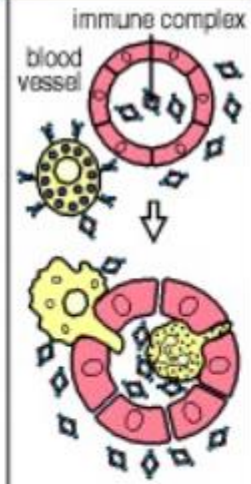
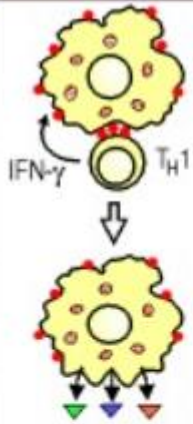
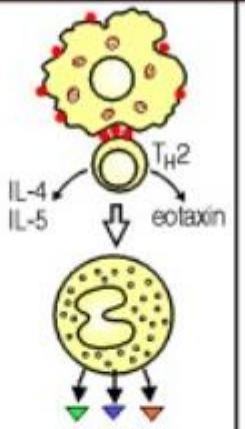
PHẢN ỨNG QUÁ MẪN – DỊ ỨNG

- **Phản ứng quá mẫn**
  - Triệu chứng, dấu hiệu khách quan, lập lại của cơ thể
  - Do tiếp xúc với một loại kích thích có thể được dung nạp ở người bình thường
  - Có 4 loại phản ứng quá mẫn (Coombs and Gell)
- **Dị ứng:**
  - Phản ứng quá mẫn được gây ra do đáp ứng miễn dịch
    - qua trung gian kháng thể (thường giới hạn do IgE gây ra)
    - qua trung gian tế bào
- **Mẫn cảm:**
  - Hệ miễn dịch phản ứng với dị nguyên gây đáp ứng miễn dịch
  - Tạo kháng thể, phát triển dòng tế bào nhớ
  - Không triệu chứng

- Ví dụ: Phản ứng quá mẫn với thuốc/dị ứng thuốc, dị ứng thức ăn/mẫn cảm thức ăn

Janeway CA Jr, Travers P, Walport M, et al. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10756/
Igea JM, Allergy. 2013;68:966-73
WAO white book on Allergy (2013)

4 loại phản ứng quá mẫn theo Gell & Coombs

	Type I	Type II	Type III	Type IV		
Immune reactant	IgE	IgG	IgG	T_H1 cells	T_H2 cells	CTL
Antigen	Soluble antigen	Cell- or matrix-associated antigen	Soluble antigen	Soluble antigen	Soluble antigen	Cell-associated antigen
Effector mechanism	Mast-cell activation	FcR^+ cells (phagocytes, NK cells)	FcR^+ cells Complement	Macrophage activation	Eosinophil activation	Cytotoxicity
						
Example of hypersensitivity reaction	Allergic rhinitis, asthma, systemic anaphylaxis	Some drug allergies (e.g., penicillin)	Serum sickness, Arthus reaction	Contact dermatitis, tuberculin reaction	Chronic asthma, chronic allergic rhinitis	Contact dermatitis

CTL: cytotoxic T cell

Djogbe, Anayce et al. (2016). International Journal of Multidisciplinary and Current Research. 4. 713-723.

DỊ NGUYÊN

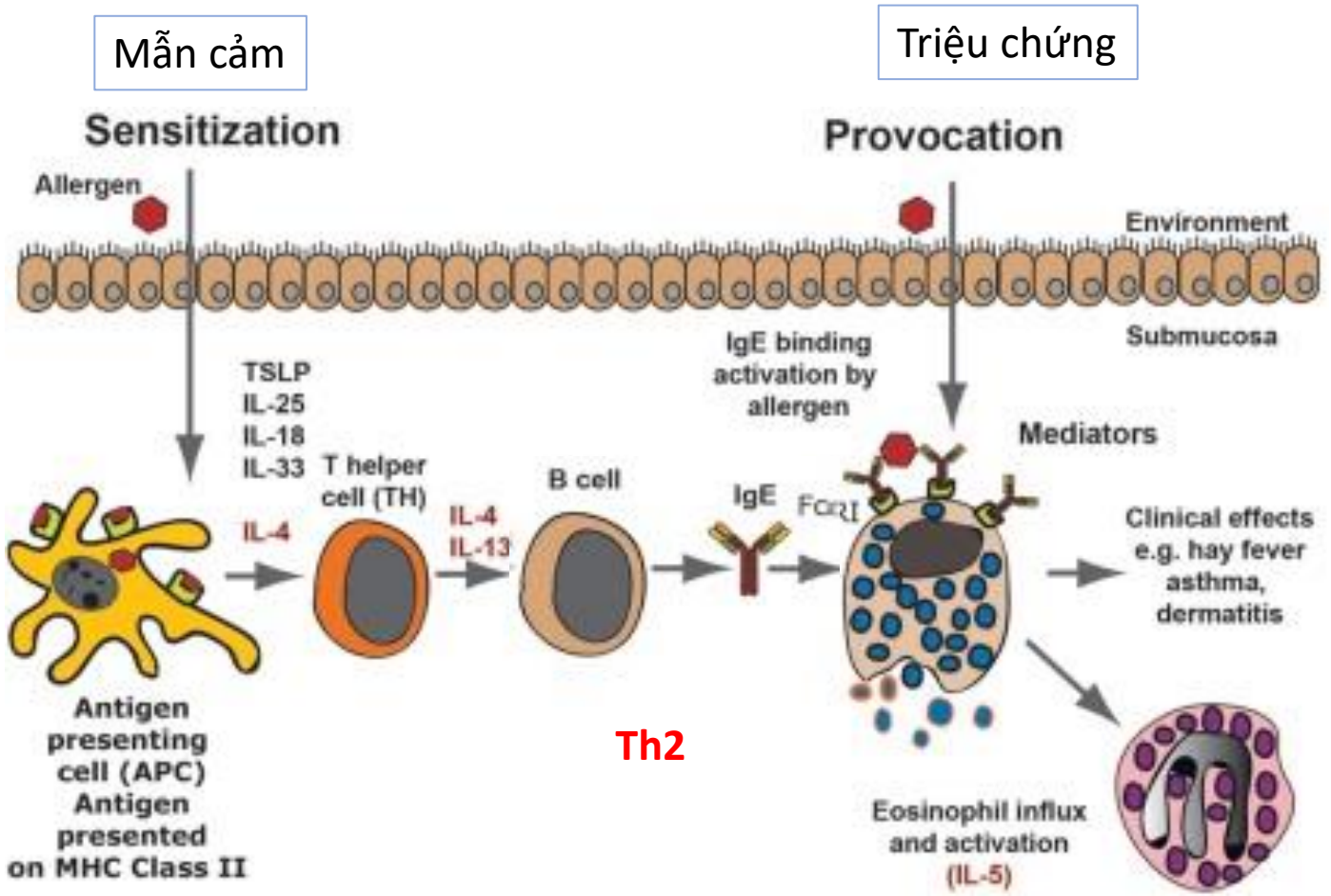
- 30-40% dân số thế giới bị ảnh hưởng bởi 1 hoặc nhiều bệnh dị ứng.

- **Dị nguyên:**
  - là 1 chất thường không nguy hiểm (thường là protein)
  - có thể kích hoạt đáp ứng miễn dịch, tạo phản ứng dị ứng

- **Phân loại:** 880 loại dị nguyên
  - *Tiếp xúc ngoài da:* độc tố từ cây, vết cào động vật, phấn hoa, thức ăn, latex,…
  - *Tiêm:* vết đốt từ côn trùng, thuốc
  - *Ăn/uống:* thức ăn, thuốc
  - *Không khí:* mạt bụi nhà, phấn hoa, nấm mốc, lông thú,…
- Tỉ lệ bệnh dị ứng tăng trong thập kỷ qua, lý do chưa rõ, có thể do tương tác:
  - Yếu tố di truyền
  - Yếu tố môi trường
  - Yếu tố xã hội

Igea JM, Allergy. 2013;68:966-73
WAO white book on Allergy (2013)

IgE – Th2 trong thể dị ứng khởi phát sớm

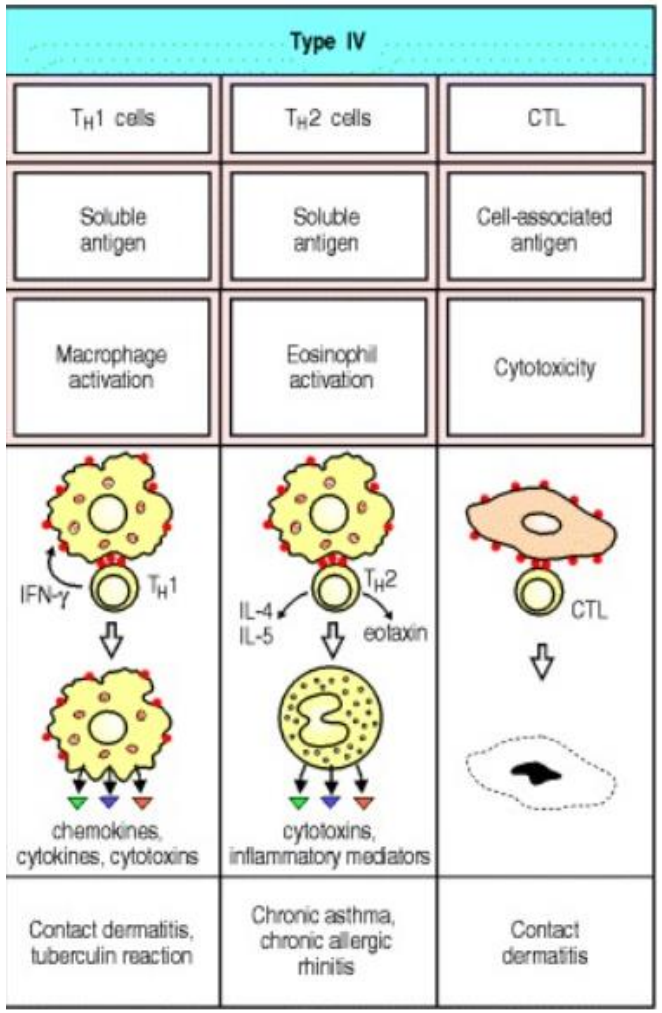


- Trục: IgE – tế bào mast/basophil – Th2 – Th2 cytokine (IL4, IL5, IL13)
- Mẫn cảm (sensitization)
  - Mẫn cảm thông qua lớp niêm mạc bị tổn thương (da, tiêu hóa)
  - Không triệu chứng
- Triệu chứng (provocation):
  - Từ những lần tiếp xúc sau với dị nguyên
- Dị ứng ít khi xảy ra trong lần tiếp xúc đầu tiên, ngoại trừ mẫn cảm chéo.

Hình. 2 giai đoạn trong quá trình gây đáp ứng miễn dịch qua trung gian IgE

HELLMAN, Lars Torkel, et al. *Frontiers in immunology*, 2017, 8: 1749.

Th1 trong phản ứng quá mẫn loại 4



- Hoạt hóa Th1, đại thực bào, tế bào lympho
- Thời gian kéo dài sau tiếp xúc dị nguyên
- Thường xảy ra với thuốc
- Liên quan đột biến HLA

PHÂN LOẠI LÂM SÀNG

Bệnh sử & thăm khám

IgE/IgG

Hoạt hóa tế bào

Khởi phát sớm: <2 giờ	Kết hợp (IgE/không do IgE)	**Khởi phát muộn:**
• Quá mẫn loại I • Mày đay, phù mạch, viêm kết mạc mũi,co thắt phế quản, tiêu hóa • Phản vệ - sốc phản vệ	• Viêm da cơ địa (chàm) • Viêm thực quản/viêm dạ dày/viêm ruột tăng eosinophil	• Thường quá mẫn loại IV • **6-10 ngày sau liều 1 hoặc 3 ngày sau liều 2:** Mày đay, ban đỏ, hồng ban cố định do thuốc • **2-6 tuần sau liều đầu hoặc 3 ngày sau liều 2:** viêm mạch máu, ly giải thượng bì hoại tử nhiễm độc, SJS/DRESS, AGEP, hồng ban vùng gấp và kẽ đối xứng 2 bên do thuốc,.. • Biểu hiện da đặc trưng

XÉT NGHIỆM ĐÁNH GIÁ CÁC DẤU ẤN MIỄN DỊCH

Khởi phát sớm: <2 giờ

- IgE (test lẩy da, đo IgE toàn phần/IgE đặc hiệu)
- Eosinophil máu
- Đánh giá mức độ hoạt hóa tế bào mast/basophil (Mast cell activation test/Basophil activation test)
- Th2 & cytokine (IL4, 5, 13)
- Gene: 1 số hội chứng hiếm gặp

Kết hợp (IgE/không do IgE)

- Đánh giá IgE đặc hiệu
- Đánh giá mức độ hoạt hóa tế bào
- Cytokine (ít)
- Gene: 1 số hội chứng hiếm gặp

Khởi phát muộn:

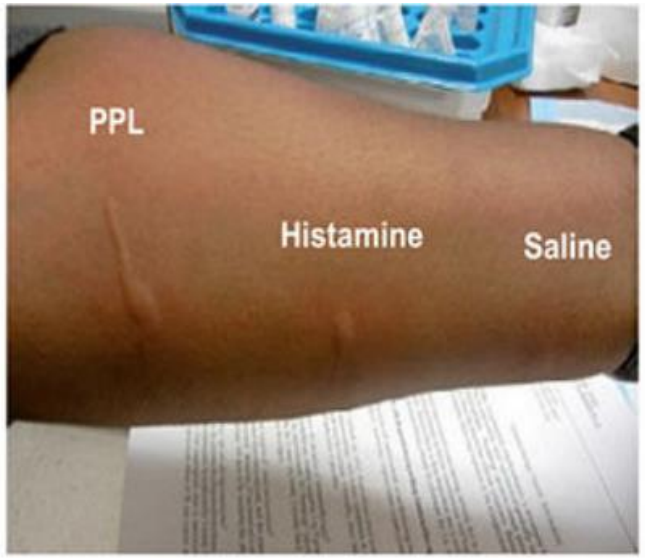
- Cơ chế: Th1, đại thực bào, tế bào lympho
- Test dán da
- Test chuyển dạng tế bào lympho (lymphocyte transformation test)/ELISpot)
- Cytokine liên quan Th1
- Gene: HLA

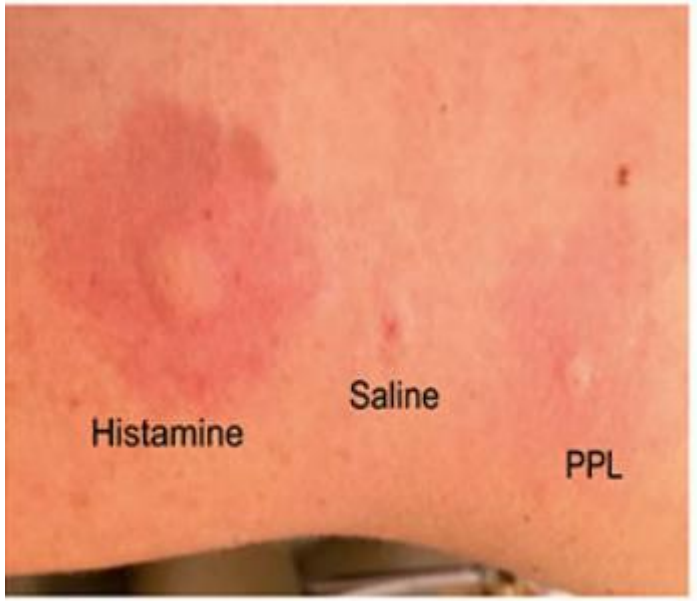
Kháng thể IgE (in vivo)

Khởi phát sớm: <1-2 giờ

Test lẩy da
Test trong da

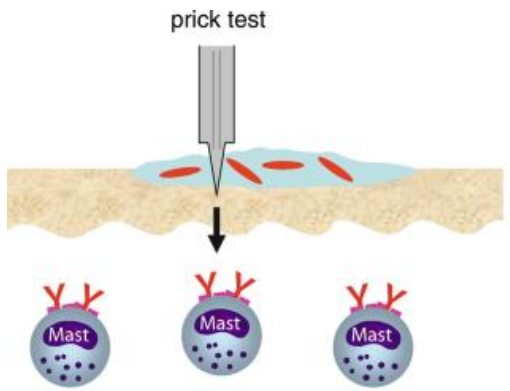
Test thử thách
Basophil activation test
IgE đặc hiệu

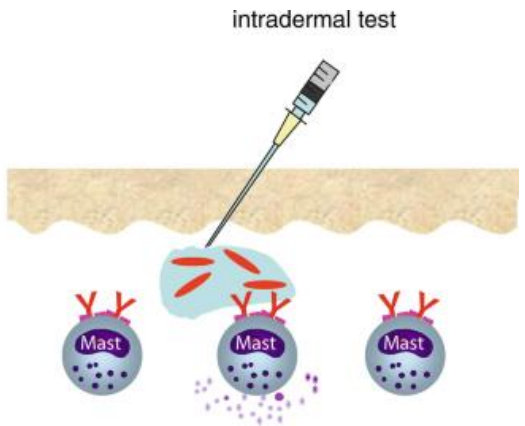




Test lẩy da

15 min

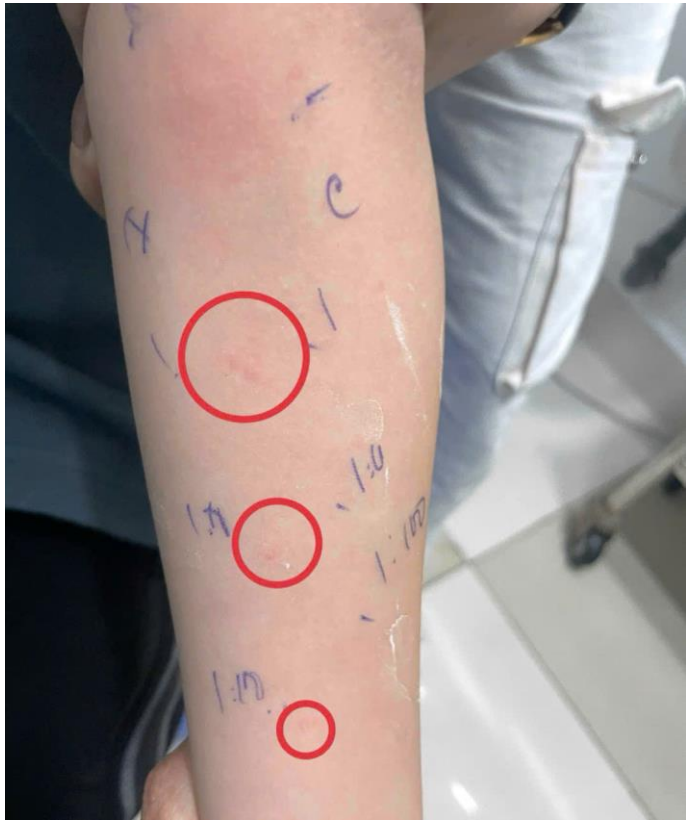




Blumenthai KG et al, Lancet. 2019 January 12; 393(10167): 183–198
Dona I et al, Clin Transl Allergy 2018, 8:16

TEST LẨY DA (+) THỨC ĂN, THUỐC

Hình. Ca lâm sàng (+) tôm, cua
TS: tôm sú, TC: tôm càng, CĐ: cua đồng

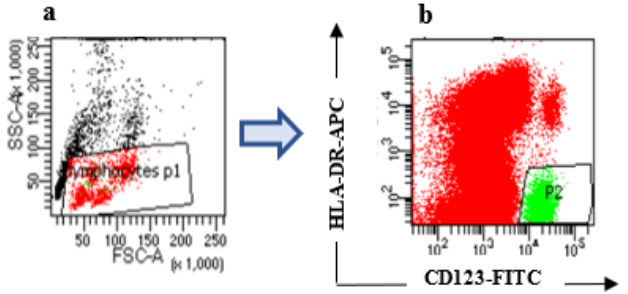


Hình. Ca lâm sàng (+) Cefixim

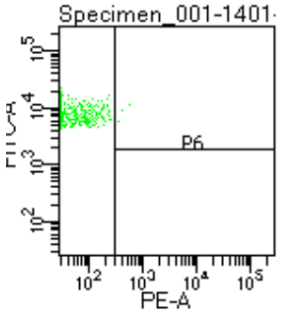
Basophil activation test

- Mỗi tế bào có dấu ấn miễn dịch đặc hiệu, xác định bằng kỹ thuật flow cytometry
- Minh họa: kỹ thuật basophil activation test trong dị ứng hải sản
  - Nhận dạng basophil trong tế bào máu: CD123 (+) / HLA-DR (-)
  - Biểu hiện CD63 trên bề mặt
  - Tăng biểu hiện CD203c, CD63 $\Rightarrow$ đánh giá mức độ hoạt hóa basophil

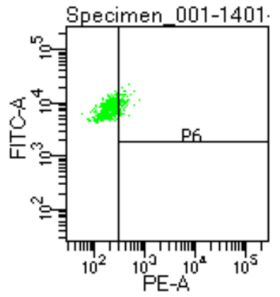
Nhận diện basophil



BN tiền căn dị ứng tép



Sau khi ủ với dị nguyên tép



Krajcar V et al. American Journal of Hemtaology (2012), DOI:10.1002/ajh.23329
Steiner M et al, Frontiers in Pharmacology (2016), DOI: 10.3389/fphar.2016.00171

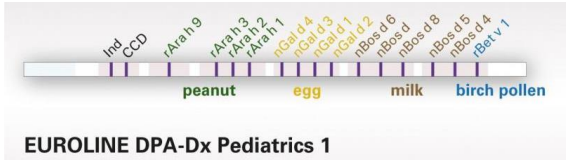
ĐO LƯỜNG KHÁNG THỂ IgE

- IgE toàn phần
- IgE đặc hiệu dị nguyên

Tầm soát: Immunoblot: sử dụng panel
  - Bán định lượng hoặc định tính
  - Thường cung cấp dạng panel 30 – 53 dị nguyên
  - Độ nhạy cao, chất lượng tùy kỹ thuật viên cần cân nhắc phản ứng chéo

Xác định: định lượng IgE với từng dị nguyên một
  - ImmunoCAP
  - ELISA
    - Giúp định lượng chính xác nồng độ IgE đặc hiệu với dị nguyên
    - Giá thành cao

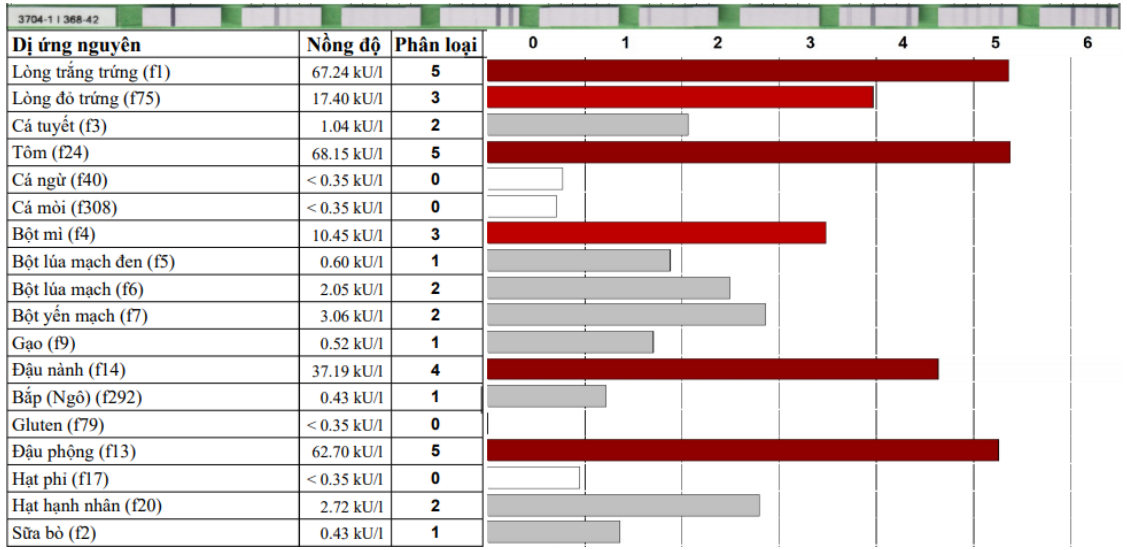
- *Không có giá trị tầm soát nếu không có triệu chứng lâm sàng*
- XN kháng thể IgG: ít giá trị (Mỹ: chống chỉ định)



Ca 1: Nữ, 4 tuổi

- Viêm da cơ địa
- Total IgE: 625 IU/mL

Dị ứng nguyên	Nồng độ	Phân loại
Lòng trắng trứng (f1)	67.24 kU/l	5
Lòng đỏ trứng (f75)	17.40 kU/l	3
Cá tuyết (f3)	1.04 kU/l	2
Tôm (f24)	68.15 kU/l	5
Cá ngừ (f40)	< 0.35 kU/l	0
Cá mòi (f308)	< 0.35 kU/l	0
Bột mì (f4)	10.45 kU/l	3
Bột lúa mạch đen (f5)	0.60 kU/l	1
Bột lúa mạch (f6)	2.05 kU/l	2
Bột yến mạch (f7)	3.06 kU/l	2
Gạo (f9)	0.52 kU/l	1
Đậu nành (f14)	37.19 kU/l	4
Bắp (Ngô) (f292)	0.43 kU/l	1
Gluten (f79)	< 0.35 kU/l	0
Đậu phộng (f13)	62.70 kU/l	5
Hạt phỉ (f17)	< 0.35 kU/l	0
Hạt hạnh nhân (f20)	2.72 kU/l	2
Sữa bò (f2)	0.43 kU/l	1



DIỄN GIẢI KẾT QUẢ (Explanation)

Phân loại (Class)	Nồng độ (Concentration) kU/L	Kết quả (Results)
Class 0	0 ≤ sIgE < 0.35	Âm tính (Negative)
Class 1	0.35 ≤ sIgE < 0.7	Dương tính rất thấp (Very Low Positive)
Class 2	0.7 ≤ sIgE < 3.5	Dương tính thấp (Low Positive)
Class 3	3.5 ≤ sIgE < 17.5	Dương tính (Positive)
Class 4	17.5 ≤ sIgE < 50	Dương tính mạnh (High Positive)
Class 5	50 ≤ sIgE < 100	Dương tính rất mạnh (Very High Positive)
Class 6	sIgE ≥ 100	Dương tính rất mạnh (Very High Positive)

DỊ NGUYÊN PHÂN TỬ GIÚP TĂNG GIÁ TRỊ CHẨN ĐOÁN

- Casein → >85% phản ứng chéo với casein sữa dê và cừu
- α-lactalbumin
- β-lactoglobulin
- Bovine serum albumin → 80% phản ứng thịt bò (test) 15-20% phản ứng ứng thịt bò sống

- Giúp tăng độ nhạy, độ đặc hiệu, PPV, NPV
- Giảm thực hiện test thử thách thức ăn
- Xác định mẫn cảm nguyên phát/thứ phát (phản ứng chéo)
- Tiên lượng

Rối loạn gene trong bệnh lý dị ứng

- Phù mạch di truyền: thường liên quan rối loạn gene *SERPING1 (*loại 1), hiếm hơn với yếu tố XII (*F12*), plasminogen (*PLG*), angiopoietin 1 (*ANGPT1*), kininogen 1 gene (*KNG1*): c.1136T>A (p.Met379Lys), myoferlin gene (*MYOF*), Heparan sulfate 3-O-sulfotransferase 6 gene *HS3ST6*
- Mastocytosis: rối loạn gene *KIT D816V*
- Hội chứng tăng IgE (tái phát nhiễm trùng hô hấp trên, ban da, IgE tăng cao): *STAT3, ZNF341*
- Hội chứng thiếu hụt *DOCK8:* tăng IgE, nhiễm trùng tái phát, chàm da, dị ứng thức ăn, hen suyễn

Đối với phản ứng quá mẫn muộn

Khởi phát muộn:

- Test dán da (patch test)
- Test trong da muộn

Test thử thách thuốc

In vitro test: LTT, ELISpot

HLA phenotyping

LTT: Đánh giá chuyển dạng tế bào lympho (lymphocyte transformation test)

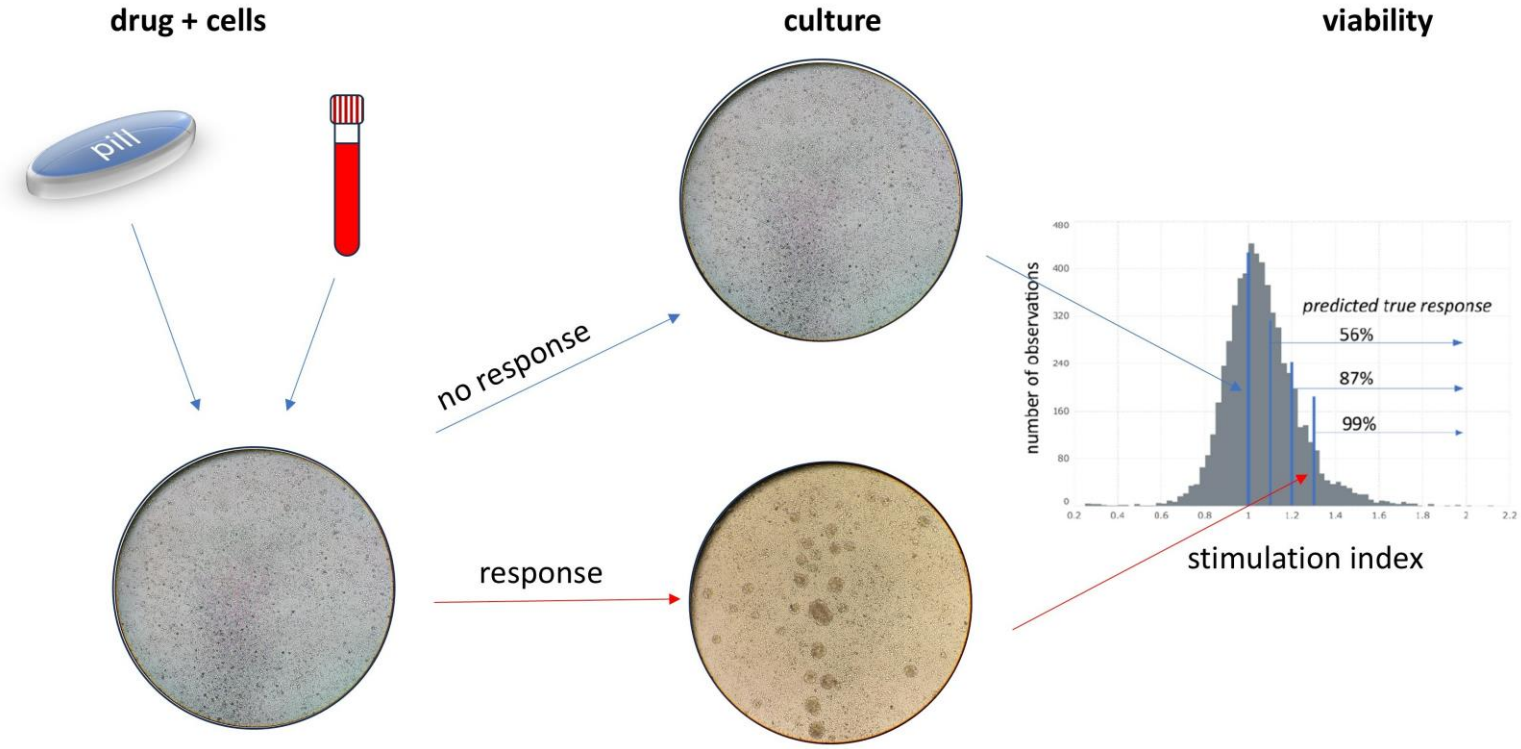
Test dán da **Test trong da (muộn)**

Theo dõi kết quả sau 48, 72 giờ, +/- 96 giờ

Blumenthai KG et al, Lancet. 2019 January 12; 393(10167): 183–198
Dona I et al, Clin Transl Allergy 2018, 8:16

LYMPHOCYTE TRANSFORMATION TEST

- Tế bào lympho được ủ với thuốc trong 6-7 ngày → đánh giá mức độ tăng sinh
- Sử dụng để chẩn đoán tất cả các phản ứng quá mẫn muộn, ví dụ:
  - thuốc (kháng sinh, kháng lao, thuốc cản quang, thuốc chống viêm không steroid, v.v.),
  - Vắc-xin
  - Dị ứng với kim loại (nickel, titan, coban, crom, v.v.)
- Phát hiện các khiếm khuyết và tổn thương chức năng của hệ thống miễn dịch: giảm đáp ứng hơn so với người thường



Gyovai, András, et al. *Allergies* 5.1 (2025): 1.

Các HLA liên quan quá mẫn nặng với thuốc

Drug	HLA Allele	Population	OR	NPV	PPV	NNT to prevent
Abacavir Hypersensitivity Syndrome (53, 54, 84, 85)	B *57:01	5–8% Caucasian <1% African/Asia 2.5% African American	960	100% for patch test confirmed	55%	13
Allopurinol SJS/TEN and DRESS/DIHS (55, 128)	B *58:01	9–11% Han Chinese 1–6% Caucasian	>800	100% in Han Chinese	3%	250
Carbamazepine SJS/TEN (56, 129)	B *15:02	10–15% Han Chinese <0.1% Caucasian	>1000	100% in Han Chinese (with other B75 serotype)	3%	1000
Carbamazepine DRESS (130, 131)	A *31:01	Chinese Europeans Japanese	9.5	99.97% 99.98%	0.59% 0.89%	5000 3334
Dapsone DRESS/DIHS (47)	B *13:01	2–20% Chinese 28% Papuans/Australian Aboriginals 0% European/African 1.5% Japanese	20	99.8%	7.8%	84
Flucloxacillin (drug-induced liver disease) (132)	B *57:01	5–8% Caucasian <1% African/Asia 2.5% African American	81	99.99	0.14%	13819
Nevirapine DRESS (94, 104, 133)	C *04:01	>10%	3–7	95–97	5–27%	Variable
Methimazole/carbimazole Anti-thyroid drugs (Agranulocytosis) (134–136)	B *38:02 B *27:05 (3 snps)	5–15% China, Taiwan 3–4% European HLA- B *27:05	266 753	99.9 >99%	7% 30%	211 238

* Negative predictive value (NPV), positive predictive value (PPV), number needed to test to prevent 1 case (NNT)

TÓM TẮT

- Dấu ấn đánh giá phản ứng miễn dịch
  - Số lượng/Tình trạng hoạt hóa tế bào: Tế bào T thực thi/Tế bào B thực thi
  - Kháng thể
  - Cytokine
  - Gene liên quan đến con đường miễn dịch
- Tùy cơ chế hoạt hóa hệ miễn dịch → thể lâm sàng đa dạng
- Phân biệt phản ứng quá mẫn – Dị ứng
  - Phản ứng quá mẫn khởi phát sớm: IgE – Th2 – tế bào mast/basophil/eosinophil
  - Phản ứng quá mẫn khởi phát muộn: đại thực bào – tế bào lympho – Th1
  - Kết hợp
  - Tùy theo lâm sàng gợi ý → chỉ định phù hợp

XIN CẢM ƠN

Email: kim.tu.vn@ump.edu.vn