

Johan Grunewald, docent, innehavare av forskartjänst finansierad av Hjärt–Lungfonden

Anders Eklund, professor; båda vid institutionen för medicin, enheten för lungmedicin, lungkliniken, Karolinska institutet/Karolinska sjukhuset, Stockholm

Studier av T-lymfocyter i jakten på sarkoidosantigener

■ Sarkoidos är en inflammatorisk sjukdom som främst drabbar lungorna men som även kan engagera ett flertal andra organ som hud, lymfvävnad, hjärta, ögon, centrala nervsystemet m m.

Etiologin till sarkoidos är okänd, men ett flertal pionjärer inom forskningsområdet ansåg att sjukdomen orsakas av ett infektiöst agens. Redan 1905 beskrev exempelvis Caesar Boeck sarkoidos som »a bacillary infectious disease«, medan Sven Löfgren på 1950-talet hävdade att sarkoidos kunde vara orsakat av virus. Idag anses såväl arv som miljö vara av betydelse för utvecklandet av sarkoidos, men exakt vilka gener respektive omgivningsfaktorer som är avgörande vet man inte.

I den följande artikeln beskrivs hur studier av immunförsvarets T-lymfocyter har ökat våra kunskaper om sjukdomen och hur de skulle kunna leda till identifiering av det eller de antigener som orsakar sarkoidos.

T-lymfocyters roll

T-lymfocyten är essentiell för de immunsvår som utmärks av specifik igenkänning av antigener och av immunologiskt minne. Genom T-lymfocyten har immunförsvaret förmågan att känna igen och aktiveras mot i princip alla tänkbara angripare men undviker samtidigt att reagera mot den egna kroppen, »själv«.

Mycket strikta selektionsprocesser i tymus syftar till att eliminera de T-lymfocyter som löper en potentiell risk att aktiveras mot »själv«. Endast omkring 5 procent av de blivande T-lymfocyterna (tymocyter) släpps ut i periferin som mogna T-lymfocyter, och väl där finns ytterligare mekanismer för att inaktivera de potentiellt farliga T-lymfocyter som ändå lyckats slinka igenom den hårda tymusselektionen. Exempelvis har s k regulatoriska T-lymfocyter identifierats och kommit att diskuteras alltmer under senare år. När skyddsmekanismerna fallerar utvecklas autoimmuna reaktioner med destruktion och i förlängningen autoimmun sjukdom.

T-lymfocyten använder den s k T-cellsreceptorn för att känna igen antigener. Dessa presenteras i form av peptider av HLA-molekyler, vilka uttrycks på ytan av antigenpresenterande celler som exempelvis dendritiska celler (Figur 1). Den vanligaste formen av T-cellsreceptor består av två polypeptidkedjor, α och β , var och en med en konstant och en variabel del. De variabla delarna, som kodas av slumpvis kombinerade gensegment – V (variable), D (diversity; endast på β -

SAMMANFATTAT

Sarkoidos är en Th1-medierad inflammatorisk sjukdom av okänd genes som främst drabbar lungorna. Individer med genetisk »beredskap« och som exponeras för ett eller flera okända ämnen riskerar att utveckla sarkoidos.

T-celler är av central betydelse vid specifika immunreaktioner.

T-celler med uttryck av ett specifikt T-cellsreceptor-V-gensegment (AV2S3) ansamlas i lungorna hos sarkoidospatienter som är HLA-DR17-positiva.

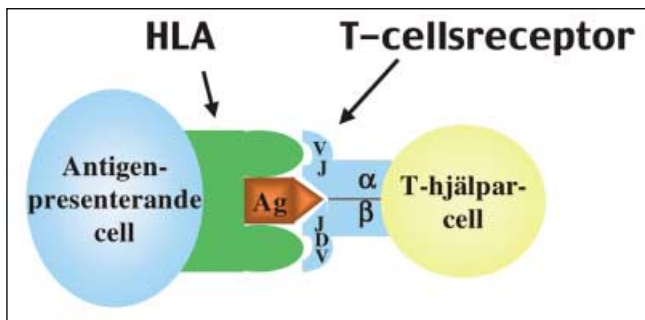
De lungansamlade T-celler som uttrycker T-cellsreceptor AV2S3 har känt igen och reagerat mot ett specifikt antigen.

Studier av T-celler som uttrycker T-cellsreceptor AV2S3 kan stärka hypoteser om olika tänkbara antigeners roll i patogenesen vid sarkoidos.

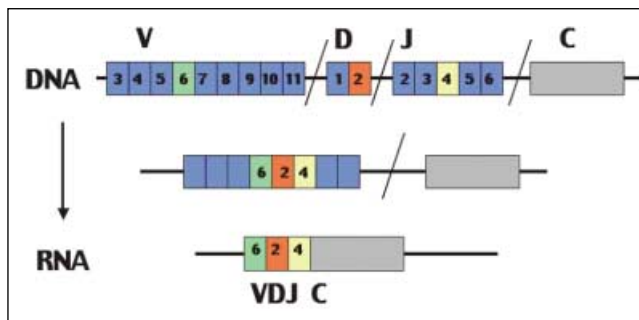
kedjan) och J (joining) (Figur 2) – interagerar tillsammans med såväl antigenpeptid som HLA-molekyl.

Den slumpvisa rearrangeringen på DNA-nivå, i kombination med såväl tillfogande som excision av olika många och slumpvis utvalda nukleotider, leder till en enorm variation av T-cellsreceptorn (Figur 3). Variabiliteten är också som mest uttalad i den motsvarande regionen på proteinnivå, som anses interagera direkt med antigenpeptiden. I princip uttrycker varje enskild T-lymfocyt en unik T-cellsreceptor och har därmed också en mer eller mindre unik specificitet.

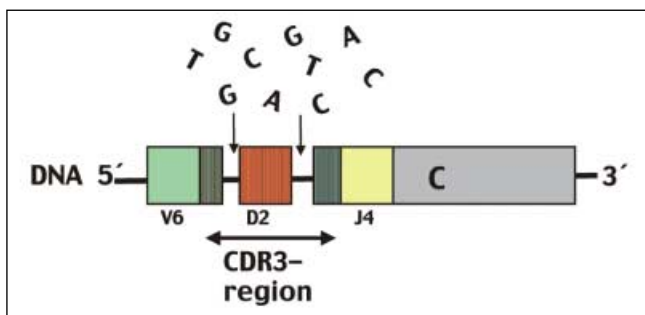
När en T-lymfocyt aktiveras till proliferation genereras stora mängder identiska »dotterceller«, alla med samma T-cellsreceptor (Figur 4). Genom denna klonala selektionsmekanism kan immunförsvaret upprätthålla en oerhörd bredd med förmåga att reagera mot i stort sett vilket antigen som helst och samtidigt snabbt förstärka sitt försvar mot ett specifikt antigen när detta behövs. När T-lymfocyten aktiverats stimulerar den andra celler i immunförsvaret (t ex B-lymfocyter



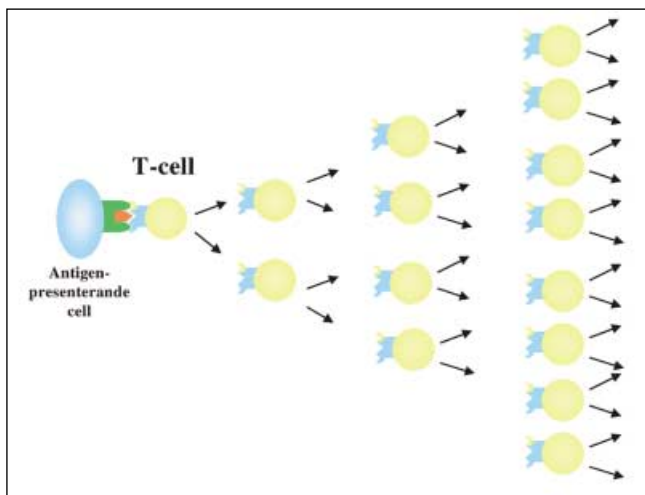
Figur 1. Interaktionen mellan en antigenpresenterande cell och en T-hjälparcell visas, med fokus på HLA-molekylen som presenterar en antigenpeptid för T-cellsreceptorn. De olika segmenten som tillsammans utgör T-cellsreceptorns variabla delar är indikerade (V, D, J)



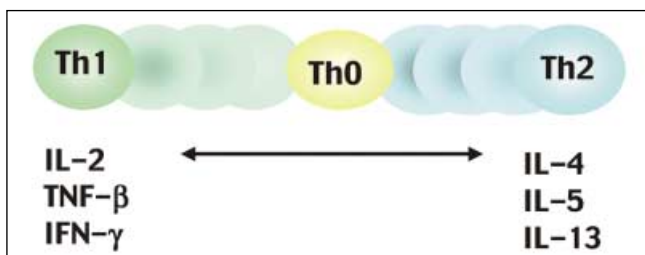
Figur 2. En slumpvis rearrangering på DNA-nivå av T-cellsreceptorns β -kedja leder till olika kombinationer av V(variable)-, D(diversity)- och J(joining)-gensegmenten, som tillsammans utgör β -kedjans variabla del. Här visas ett urval av gensegmenten. C anger konstant gensegment.



Figur 3. Den s k CDR3-regionen på T-cellsreceptorn har mest uttalad variabilitet genom att nukleotider under rearrangering på DNA-nivå kan både excideras och tillfogas här. Motsvarande region på proteinnivå av T-cellsreceptorn anses interagera direkt med antigenpeptiden.



Figur 4. En viss kombination av en HLA-molekyl och antigenpeptid selekterar den T-cell som uttrycker en T-cellsreceptor med bäst passform och som då får signaler att proliferera och generera en s k T-cellsexpansion där alla T-celler är identiska.



Figur 5. Indelning av T-hjälparceller i Th1- och Th2-celler med produktion av olika cytokiner och därmed med olika funktioner.

till att producera antikroppar), dels genom produktion av exempelvis cytokiner, dels genom direkta cell-cellkontakter.

T-lymfocyter är i huvudsak CD4-positiva T-hjälparceller eller CD8-positiva (suppressor/cytotoxiska) T-celler. CD4-positiva T-lymfocyter känner igen antigenpeptider som härstammar från exogena källor och som presenteras av HLA-klass-II-molekyler (HLA-DR, -DP, -DQ). CD8-positiva T-lymfocyter känner i stället igen endogena antigenpeptider som t ex kan härstamma från virusinfekterade celler och som presenteras av HLA-klass-I-molekyler (HLA-A, -B, -C).

T-lymfocyter kan också indelas i s k Th1- och Th2-celler, med produktion av varsin typ av cytokiner (Figur 5). Th1-lymfocyter är särskilt viktiga för det cellulära och cytotoxiska försvaret genom produktion av cytokiner som IL-2, IFN- γ och TNF- β . Th2-lymfocyter däremot producerar bl a IL-4 och IL-5 och är viktiga för det humoral försvaret (antikropsproduktion), för försvar mot parasiter och för utvecklandet av allergiska reaktioner. Vid vissa sjukdomar som Mycobacterium leprae-infektion tycks balansen av Th1/Th2-immunsvar ha betydelse för vilken typ av sjukdom som utvecklas; ett Th1-immunsvar associerar med den tuberkuloida formen av sjukdomen, Th2 med den lepromatösa formen [1].

T-cellsreceptorns uttryck hos frisk och sjuk

Vid analyser av antigenspecifika T-lymfocyter har man funnit att dessa i vissa situationer har ett preferentiellt uttryck av en eller ett fåtal varianter av T-cellsreceptor. Eftersom man vid många autoimmuna sjukdomar postulerar förekomsten av ett sjukdomsutlösande antigen, har detta lett till förhoppningen att genom analyser av T-cellsreceptor-V-gensegment kunna identifiera patogena T-lymfocyter som specifikt känner igen dylika antigener [2].

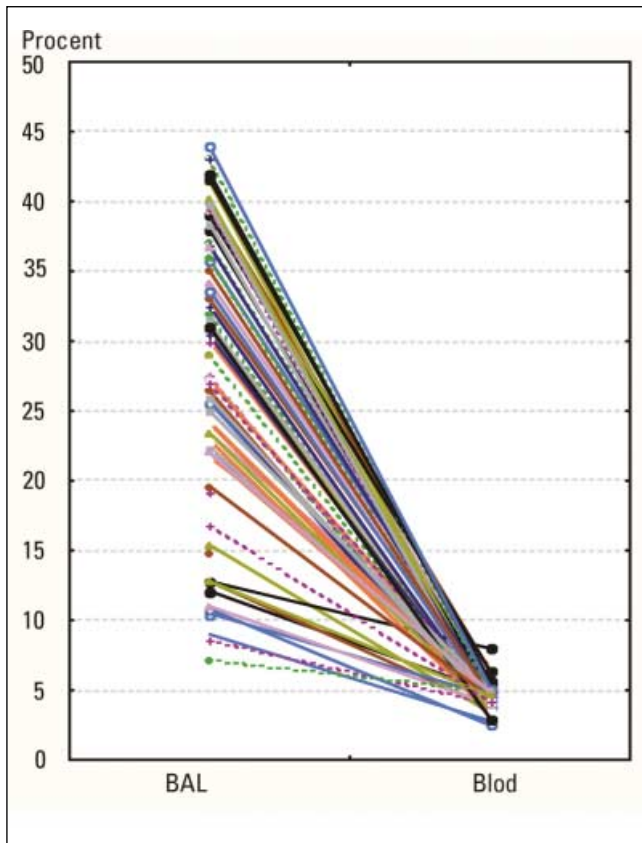
Dessa patogena T-lymfocyter skulle kunna manipuleras via T-cellsreceptorn i terapeutiskt syfte [3]. En fördel skulle vara den mycket selektiva intervention man åstadkommer genom att påverka endast en bråkdel av T-lymfocyterna, till skillnad från mer traditionell immunterapi som ofta påverkar hela eller stora delar av immunförsvaret.

Det normala uttrycket av T-cellsreceptor-V-gener hos friska individer visar ett återkommande mönster där vissa V-gener är mer, andra mindre, vanligt förekommande. Till skillnad från möss, som kan ha total avsaknad av flera olika V-gener, tycks alla funktionella V-gener uttryckas i alla individer, dvs man finner inga »hål« i repertoaren. Den genetiska bakgrunden tycks påverka T-cellsreceptor-V-genuttrycket endast måttligt, även om HLA-identiska individer har generellt något större likheter i sin T-cellsreperatoar än icke-HLA-matched individer.

I sällsynta fall tycks också en viss HLA-typ korrelera med ökat uttryck av ett visst T-cellsreceptor-V-gensegment hos

ANNONS

ANNONS



Figur 6. Andel T-hjälparceller i lungor (BAL, bronkoalveolärt lavage) och blod som uttrycker T-cellsreceptor AV2S3 (procent CD4-positiva T-celler som uttrycker AV2S3 anges på y-axeln). Data från HLA-DR17-positiva sarkoidospatienter (n=69) [29].

friska [4]. Vissa T-cellsreceptor-V-gener existerar också i olika varianter (alleler), som uttrycks olika mycket [5].

Stora T-cellspopulationer med uttryck av ett gemensamt T-cellsreceptor-V-gensegment kallas för T-cellsexpansioner. Dessa förekommer bland CD8-positiva T-lymfocyter hos till synes friska äldre individer, möjligen till följd av kronisk virusexponering [6].

Vid vissa autoimmuna sjukdomar finner man ofta en ökad frekvens av T-cellsexpansioner också bland CD4-positiva T-lymfocyter. Exempelvis vid vaskuliter som Wegeners granulomatos finns T-cellsexpansioner som kan utgöra så mycket som hälften av alla perifert cirkulerande CD4-positiva T-lymfocyter.

Vissa CD4-positiva T-cellsexpansioner vid Wegeners granulomatos har även ett återkommande uttryck av ett visst T-cellsreceptor-V-gensegment, inklusive gemensamma aminosyrasekvenser på hela T-cellsreceptor- β -kedjan. Eftersom dessa fynd dessutom korrelerar strikt med en viss HLA-typ, talar detta för att T-lymfocyterna stimulerats av ett specifikt antigen [7]. Denna information skulle möjligen kunna användas för identifiering av ett antigen som kan vara av patogenetisk betydelse.

Vid studier av sjukdomar i lungorna erbjuds, genom utnyttjande av fiberbronkoskopiteknik, tillgång till ett specifikt »compartment«, lungan. Tekniken medger, förutom endobronkiell visuell inspektion, också möjligheter att ta biopsier från såväl bronkslemhinna som parenkym samt att samla in material från de mest perifert belägna luftvägarna och alveolerna genom att steril, kroppsvarm NaCl portionsvis sköljs ner via skopets arbetskanal för att sedan till största delen sugas upp igen, s k bronkoalveolärt lavage (BAL). De celler och lösliga produkter som på detta vis samlas in kan ha såväl dia-

| V-segment | CDR3-region | | | | J-segment |
|-----------|-------------|-----|-----|-----|-----------|
| | V | V | R | H | |
| 5'- | gtg | gtg | aga | cac | -3' |
| 5'- | gtg | gtg | agg | cac | -3' |
| 5'- | gtg | gtt | cgc | cac | -3' |
| 5'- | gtg | gtc | cgc | cac | -3' |

Figur 7. Fyra olika nukleotidsekvenser som alla kodar för en identisk aminosyrasekvens (VVRH). Här återges sekvenser från CDR3-regionen av T-cellsreceptor-AV2S3-positiva α -kedjor från T-lymfocyter utvunna ur bronkoalveolärt lavage från DR17-positiva sarkoidospatienter. Fyndet indikerar att cellerna stimulerats till proliferation av ett och samma antigen [24]. (CDR3-regionen är den region av T-cellsreceptorn som interagerar direkt med antigenpeptiden, och det är den del av T-cellsreceptorn där den mest uttalade variabiliteten återfinns.)

gnostiskt värde, exempelvis genom differentialräkning av cellerna och mikrobiologisk analys, som ett unikt vetenskapligt värde för studier av patogenetiska mekanismer.

Sarkoidos – en sjukdom med okänd etiologi

Sarkoidos är en granulomatös sjukdom som företrädesvis drabbar lungorna hos relativt unga individer. Den exakta incidensen är inte känd, eftersom man räknar med att enbart en del av fallen diagnostiseras [8], men i Sverige drabbas sannolikt omkring 2 000 individer årligen. Livstidsrisken är något högre för kvinnor än för män [9].

Sarkoidos anses drabba individer med en predisponerande genetisk bakgrund och som exponeras för någon typ av okänd faktor, eller kombination av faktorer, i omgivningen. Stöd för att genetisk bakgrund är betydelsefull är att man till exempel finner en flerfaldigt högre incidens hos färgade i USA än hos vita [10].

Även sjukdomsbilden skiljer sig mellan olika raser. Skandinaverna får ofta Löfgrens syndrom med knölros (kvinnor)/fotledsartit (män), hiluslymfom och feber, medan det är vanligt att afroamerikaner drabbas av en mer aggressiv form av lung-sarkoidos liksom av sarkoidos i hud, CNS och andra organ. Orientaler däremot får betydligt oftare ögonsymtom [11].

De gener som är viktigast för uppkomst av sarkoidos har lokaliserats till den region som innehåller bl a HLA-generna [12]. Vid studier av dessa har man funnit att vissa HLA-alleler är klart överrepresenterade hos sarkoidosdrabbade patienter, några är också kopplade till sjukdomsförlopp [13].

Epidemiologiska studier har visat att risk för insjuknande korrelerar med avstånd från ett primärfall [14, 15]. Fallrapporter visar även att sarkoidos kan överföras med transplanterade organ [16].

Immunologiska analyser av biologiskt material från patienter talar för att sjukdomen orsakas av eller utlöser immunreaktioner mot ett specifikt agens. Vid analys av BAL-celler finner man ansamlingar av T-lymfocyter som uttrycker T-cellsreceptorer på ett sätt som man också finner vid stimulering med specifika antigener [17-24]. Ett sådant skulle kunna härstamma från den yttre miljön, till exempel ett infektiöst agens, eller vara ett antigen som uttrycks på kroppens vävnad (»själv«).

Specifika T-lymfocyter ansamlas i lungorna

Genom analys av BAL-vätska och -celler har man under de senaste 20 åren bl a konstaterat att CD4-positiva T-lymfocyter (hjälp-cell) ansamlas i lungorna vid aktiv sarkoidos och att dessa är aktiverade. Den ökade CD4/CD8-kvoten i BAL-vätska associerar starkt med sarkoidos, och om den överstiger

3,5–4,0 är sannolikheten för att patienten har sarkoidos mer än 90 procent [25, 26].

Vi har kunnat visa att hos en del patienter med skandinaviskt ursprung ackumuleras företrädesvis CD4-positiva T-lymfocyter som uttrycker ett speciellt V-gensegment av T-cellsreceptorns α -kedja (AV2S3) [18, 19].

Dessa patienter har en gemensam HLA-typ, HLA-DR17, och de visar också vanligen en mycket speciell klinisk bild, ofta med akut insjuknande och Löfgrens syndrom. De uppvisar oftare än övriga patienter röntgenstadium I vid insjuknandet, dvs enbart bilaterala hiluslymfom utan interstitiella infiltrat, och de tillfrisknar i över 90 procent av fallen inom två år.

Denna mycket goda prognos tycks intressant nog även gälla de HLA-DR17-positiva patienter som inte insjuknar i Löfgrens syndrom [27].

Har sarkoidospatienter däremot vissa andra HLA-typer som DR14 eller 15 riskerar de ett mer utdraget sjukdomsförlopp, även om de haft ett akut insjuknande [27]. HLA-klass-II-typning ger således den behandlande läkaren värdefull information om patientens prognos och därmed om behovet av uppföljning, behandling och kontroll.

HLA-DR17-positiva patienter får ett karakteristiskt distinkt lokalt immunsvår i lungan genom ansamling av T-cellsreceptor-AV2S3-uttryckande T-hjälparceller (Figur 6). Denna ackumulering är sannolikt inte en slump, utan tvärtom beroende på att ett specifikt agens får just dessa T-lymfocyter att ansamlas och proliferera. Hypotesen är således att de av oss identifierade AV2S3-positiva T-lymfocyterna reagerat specifikt mot ett sarkoidosassocierat antigen, vilket troligen förekommer lokalt i lungorna.

Nära hälften av de lungansamlade T-hjälparlymfocyterna kan uttrycka detta T-cellsreceptor-V-gensegment, och fyndet är mer uttalat ju närmare insjuknandet som bronkoalveolärt lavage görs [28].

Stark koppling till sjukdomsaktivitet

En nyligen sammanställd rapport av 121 HLA-typade sarkoidospatienter visade att i princip varenda DR17-positiv patient hade distinkt ansamling till lungorna av AV2S3-positiva T-lymfocyter [29].

De få patienter som inte hade uttalad ansamling av dessa T-celler hade en klinisk sjukdomsbild med låg aktivitetsgrad. Kopplingen mellan DR17 och lungansamlade AV2S3-positiva T-lymfocyter är så stark att avvikelser från mönstret har lett till omprövning av diagnosen, i åtminstone ett fall har annan diagnos ställts (beryllios) [30].

De AV2S3-positiva T-lymfocyterna uttrycker en rad olika aktivitetsmarkörer i signifikant högre grad än övriga lungansamlade CD4-positiva T-lymfocyter, vilket också talar för att de aktiverats av ett specifikt antigen [31]. Sekvensering av de lungansamlade AV2S3-positiva T-lymfocyternas T-cellsreceptor- α -kedja visar i flera fall förekomst av nukleotidsekvenser som skiljer sig något åt men som ändå kodar för samma aminosyrasekvens (Figur 7).

Även detta fynd stödjer starkt hypotesen att dessa lymfocyter stimulerats av ett specifikt konventionellt antigen, dvs ett antigen som presenteras av en HLA-molekyl [24]. Den starka korrelationen mellan lungansamlade AV2S3-positiva T-lymfocyter och HLA-DR17 vid sarkoidos ses i regel inte vid andra inflammatoriska lungsjukdomar, som allergisk alveolit eller astma, och inte heller hos friska individer.

I en pågående studie har andelen AV2S3-positiva T-lymfocyter i lungorna analyserats hos en grupp DR17-positiva sarkoidospatienter, dels vid sjukdomsdebut, dels mer än två år efter det att patienterna tillfrisknat kliniskt, dvs har normal lungröntgen och -funktion samt frånvaro av symtom.

Andelen lungansamlade AV2S3-positiva T-lymfocyter,

som var förhöjd hos samtliga patienter vid den akuta sjukdomsdebuten, hade efter kliniskt tillfrisknande helt normaliserats, vilket belyser denna cellpopulations starka koppling till sjukdomsaktivitet [opubl data].

Likheter mellan HLA-DR17 och -DR52a

HLA-DR17-positiva sarkoidospatienter med utomeuropeisk bakgrund kan ha samma lokala immunsvår som de skandinaviska patienterna, dvs lungansamlade AV2S3-positiva T-lymfocyter. Vi identifierade nyligen en patient med Löfgrens syndrom som var DR17-positiv och som förväntat hade lungansamlade AV2S3-positiva T-lymfocyter.

Denna patient var intressant nog färgad, född i Afrika och kom till Sverige vid sex månaders ålder som adoptivbarn till svenskfödda föräldrar. Fyndet belyser betydelsen av HLA-molekylen DR17 för att kunna generera ett immunsvår med ansamling av AV2S3-positiva T-lymfocyter i lungorna om man drabbas av sarkoidos [32].

Betydelsen av exponering för någon okänd faktor i omgivningen har nyligen belysts i en fallrapport med ett par monozygota tvillingar, där vi fann en helt normal andel AV2S3-positiva T-lymfocyter i lungorna hos den friska tvillingen men en distinkt ansamling till lungorna hos den sarkoidosdrabbade tvillingen. Efter kliniskt tillfrisknande normaliserades andelen AV2S3-positiva T-lymfocyter (Figur 8) [33].

Vilken roll kan de lungansamlade T-cellsreceptor-AV2S3-positiva T-lymfocyterna ha? HLA-DR17-positiva sarkoidospatienter har generellt en mycket god prognos. Andelen lungansamlade AV2S3-positiva T-lymfocyter vid insjuknandet korrelerar med sjukdomens förlopp, så att en större andel lymfocyter är kopplad till en kortare sjukdomsduration [28], vilket indikerar att lymfocyterna kan ha en skyddande roll. Kanske är det till och med så att orsaken till den mycket goda prognos som DR17-positiva patienter överlag har är just en skyddande effekt av de lungansamlade AV2S3-positiva T-lymfocyterna?

Vi har nyligen identifierat ytterligare en grupp av sarkoidospatienter med en bestämd HLA-typ som också har lungansamlade AV2S3-positiva T-lymfocyter. Dessa patienter är DR17-negativa och de har en för denna grupp ovanlig HLA-typ, DRB3*0101 (också benämnd DR52a). Vi har hittills identifierat sju DR17-negativa sarkoidospatienter med HLA DR52a, och samtliga har haft lungansamlade AV2S3-positiva T-lymfocyter under akut sjukdom (Figur 9) [29]. Däremot har ingen av de cirka 50 övriga DR17-negativa patienterna uppvisat samma fenomen.

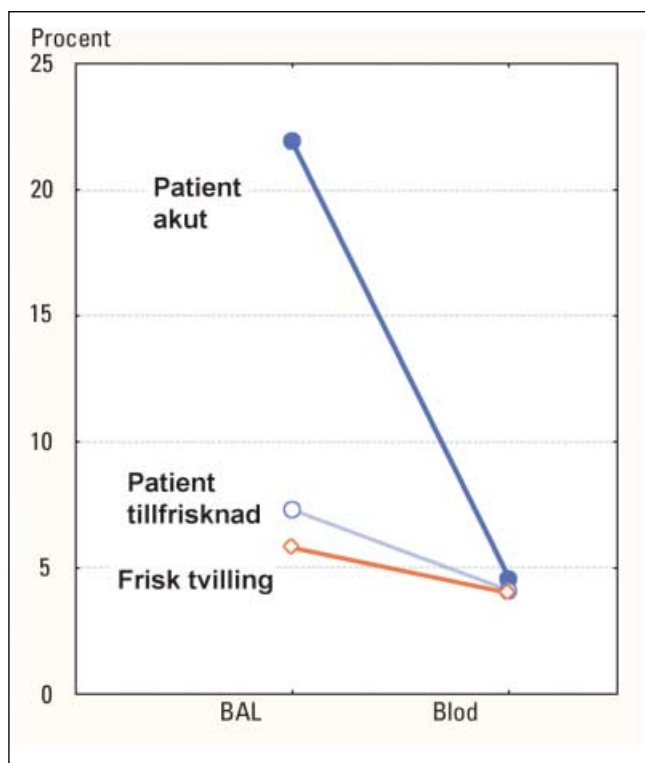
Det finns strukturella likheter mellan DR17- och DR52a-molekylerna, särskilt i de regioner som är viktiga för bindning och presentation av antigenpeptider, och man har dessutom experimentellt visat att DR17- och DR52a-molekyler kan presentera identiska antigenpeptider [34]. Dessa fynd indikerar att sarkoidospatienter som är antingen DR17- eller DR52a-positiva kan presentera samma sarkoidosspecifika antigen så att detta leder till en preferentiell stimulering och proliferation av AV2S3-positiva T-lymfocyter.

Bland ovannämnda sju sarkoidospatienter debuterade fyra med Löfgrens syndrom, vilket ger en andel som är lik den man finner bland DR17-positiva patienter men som är väsentligt större än hos dem med andra HLA-typer.

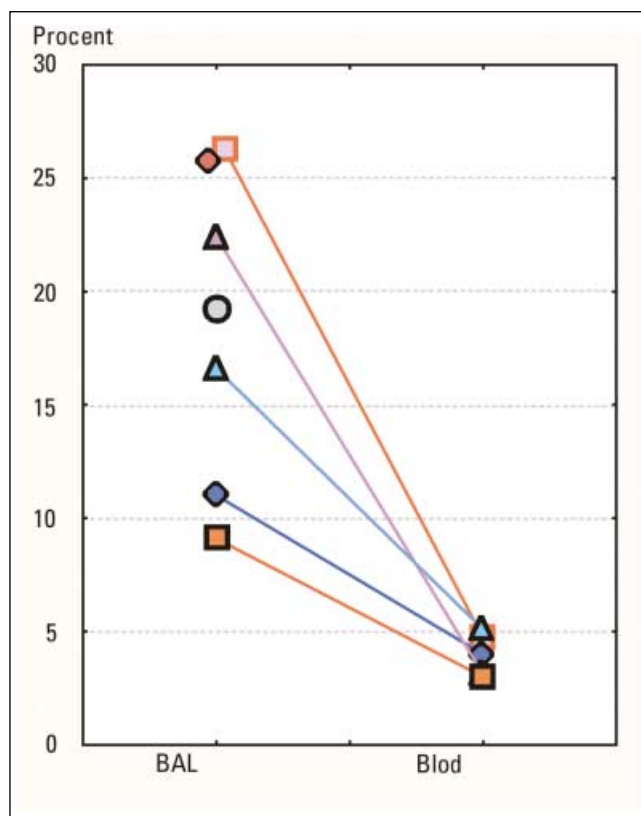
Identifiering av ett sarkoidosspecifikt antigen?

De beskrivna fynden är intressanta ur rent patogenetisk synvinkel eftersom de ger oss möjlighet att identifiera det (eller de) antigen som stimulerar AV2S3-positiva T-lymfocyter och som kan utgöra det (de) agens som initierar och driver inflammationen vid sarkoidos.

Kloning av AV2S3-positiva T-lymfocyter erbjuder en



Figur 8. Andel T-hjälparceller i lungor (BAL, bronkoalveolärt lavage) och blod som uttrycker T-cellsreceptor AV2S3 (procent CD4-positiva T-celler som uttrycker AV2S3 anges på y-axeln). Data från ett par monozygota HLA-DR17-positiva tvillingar. Den ena tvillingen hade sarkoidos och undersöktes dels vid akut sjukdom, dels efter tillfrisknande [33].



Figur 9. Andel T-hjälparceller i lungor (BAL, bronkoalveolärt lavage) och blod som uttrycker T-cellsreceptor AV2S3 (procent CD4-positiva T-celler som uttrycker AV2S3 anges på y-axeln). Data från HLA-DR17-negativa och DRB3*0101-positiva sarkoidospatienter (n=7) [29].

unik möjlighet att i laboratoriet testa kandidatantigener såsom exempelvis extrakt av *Mycobacterium tuberculosis* och *Propionibacterium acnes*, liksom olika preparationer av Kveims suspension, vilket vid positiv reaktion tidigare användes i kliniken som stöd för diagnos.

En selektiv stimulering av AV2S3-positiva T-lymfocyter skulle kunna leda till identifieringen av ett sarkoidosassocierat antigen. Det är bestickande att det i perifert blod hos friska HLA-DR17-positiva studenter nyligen rapporterades en tydlig ökning av den procentuella andelen AV2S3-positiva och CD4-positiva T-lymfocyter efter stimulering med extrakt från *Mycobacterium tuberculosis* [35].

Det är också intressant att HLA-DR17-molekylen tycks ha en speciell förmåga att effektivt presentera vissa immunogena peptider från *Mycobacterium tuberculosis* [36, 37]. Med hjälp av PCR-teknik har dessutom DNA från tuberkelbaciller påvisats i vävnadsmaterial från patienter med sarkoidos på ett sätt som inte är fallet hos kontroller, även om resultaten inte är entydiga [38-40].

I Japan har man med likartad teknik studerat förekomst av mykobakteriellt och propionibakteriederiverat DNA i bl a sarkoidosdrabbade lymfkörtlar och funnit det sannolikt att *Propionibacterium acnes* (men inte mykobakterier) har samband med sjukdomen [41].

Också den fästingburna spiroketen *Borrelia burgdorferi* har i ett antal rapporter associerats med sarkoidos, vilket innebär att sjukdomen skulle kunna vara en fästingburna infektion.

Liknande tankegångar föreslogs helt nyligen av en svensk forskargrupp, som tidigare påvisat *Rickettsia helvetica* i fästingar och som nu visade förekomst av *Rickettsia helvetica* i vävnadsmaterial från patienter med sarkoidos [42].

Alla dessa potentiella antigener kan användas i stimule-

ringsförsök med våra AV2S3-positiva T-cellskloner för att koppla ihop förekomst av ett agens med den inflammatoriska processen vid sarkoidos. Studier av T-cellsreceptor AV2S3-positiva T-celler kan därmed användas för att stärka hypoteser om olika tänkbara antigeners roll i patogenesen vid sarkoidos.

Terapeutiska möjligheter nu och i framtiden

Sarkoidos kan sägas representera en typisk Th1-medierad inflammatorisk sjukdom. Th1-associerade cytokiner som IL-2, IL-12 och IFN- γ är förhöjda i lungorna vid sarkoidos. Vi har visat att såväl CD4-positiva som CD8-positiva BAL-T-lymfocyter producerar signifikanta mängder av både IFN- γ och TNF- α [43]. Vi har också noterat att DR17-positiva patienter tycks ha en lägre produktion av dessa Th1-relaterade cytokiner än DR17-negativa, och det vore intressant om man kunde relatera ett mindre uttalat Th1-svar till den bättre prognos den förstnämnda gruppen har.

Vid sarkoidos har kortikosteroider per os länge varit basen för behandling; vid progressiv sjukdom är långvarig peroral kortisonbehandling alltså den gängse terapin. Inhalationssteroider används ibland vid ökad bronkiell reaktivitet, men effekterna på parenkymsjukdom är ännu omdebatterade. Som alternativ eller kompletterande behandling föreslås i ett internationellt konsensusuttalande [13] metotrexat och azatioprin, även hydroxiklorokinofosfat samt cyklofosamid omnämns.

Kunskaper om de immunologiska mekanismerna vid sarkoidos har gett upphov till nya behandlingsmodaliteter och kan även ge förklaringar till effekter av olika behandlingar. Talidomid, som börjat användas för behandling vid särskilt svåra fall av framför allt hudsarkoidos i USA, har exempelvis en uttalad anti-Th1-effekt genom IL-12-blockad. Blockering

ANNONS

ANNONS

av andra cytokiner skulle också kunna vara av terapeutiskt värde. Anti-TNF- α -behandling, som visat god effekt vid andra Th1-medierade och/eller granulomatösa inflammatoriska sjukdomar (reumatoid artrit, Crohns sjukdom), har även prövats i begränsad skala vid särskilt svåra fall av hudsarkoidos och då med god effekt [44].

En än mer experimentell behandling skulle vara att eliminera T-lymfocyter specifika för ett postulerat sarkoidosantigen. Där har vår grupp teoretiskt haft mycket goda förutsättningar genom kopplingen av de ovan nämnda T-cellsreceptor-AV2S3-positiva T-lymfocyterna till sjukdomsaktivitet.

Vi har avstått från denna behandlingsstrategi, eftersom vi inte säkert kunnat avgöra om de AV2S3-positiva T-lymfocyterna är »patogena« eller om de tvärtom skyddar mot sjukdom. Dessutom har DR17-positiva patienter generellt en mycket god prognos. Målsättningen är nu att söka identifiera de AV2S3-positiva T-lymfocyternas specificitet för att på så sätt jaga ett »sarkoidosantigen«, vilket skulle kunna användas för utvecklandet av nya terapier, t ex vaccination.

Referenser

2. Moss PA, Bell JI. T cell receptor usage in autoimmune disease. Springer Semin Immunopathol 1999;21:5-17.
6. Grunewald J, Wigzell H. T cell expansions in healthy individuals. Immunologist 1996;4:99-103.
7. Grunewald J, Halapi E, Wahlstrom J, Giscombe R, Nityanand S, Sanjeevi C, et al. T-cell expansions with conserved T-cell receptor beta chain motifs in the peripheral blood of HLA-DRB1*0401 positive patients with necrotizing vasculitis. Blood 1998;92:3737-44.
9. Hillerdal G, Nou E, Osterman K, Schmekel B. Sarcoidosis: epidemiology and prognosis. A 15-year European study. Am Rev Respir Dis 1984;130:29-32.
10. Newman L, Rose C, Maier L. Sarcoidosis. N Engl J Med 1997;336:1224-34.
12. Schurmann M, Lympany PA, Reichel P, Müller-Myhsok B, Wurm K, Schlaak M, et al. Familial sarcoidosis is linked to the major histocompatibility complex region. Am J Respir Crit Care Med 2000;162:861-4.
13. Statement on sarcoidosis. Am J Respir Crit Care Med 1999;160:736-55.
19. Grunewald J, Olerup O, Persson U, Ohn MB, Wigzell H, Eklund A. T-cell receptor variable region gene usage by CD4+ and CD8+ T cells in bronchoalveolar lavage fluid and peripheral blood of sarcoidosis patients. Proc Natl Acad Sci U S A 1994;91:4965-9.
24. Grunewald J, Hultman T, Bucht A, Eklund A, Wigzell H. Restricted usage of T cell receptor V alpha/J alpha gene segments with different nucleotide but identical amino acid sequences in HLA-DR3+ sarcoidosis patients. Mol Med 1995;1:287-96.
25. Costabel U. CD4/CD8 ratios in bronchoalveolar lavage fluid: of value for diagnosing sarcoidosis? Eur Respir J 1997;10:2699-700.
27. Berlin M, Fogdell-Hahn A, Olerup O, Eklund A, Grunewald J. HLA-DR predicts the prognosis in Scandinavian patients with pulmonary sarcoidosis. Am J Respir Crit Care Med 1997;156:1601-5.
29. Grunewald J, Wahlstrom J, Berlin M, Wigzell H, Eklund A, Olerup O. Lung restricted T cell receptor AV2S3+ CD4+ T cell expansions in sarcoidosis patients with a shared HLA-DRb chain conformation. Thorax 2002;57:348-52.
32. Grunewald J, Eklund A. HLA genes may outweigh racial background when generating a specific immune response in sarcoidosis. Eur Respir J 2001;17:1046-8.
33. Grunewald J, Eklund A. Specific bronchoalveolar lavage fluid T cells associate with disease in a pair of monozygotic twins discordant for sarcoidosis. J Intern Med 2001;250:535-9.
34. Nagvekar N, Corlett L, Jacobson LW, Matsuo H, Chalkley R, Driscoll P, et al. Scanning a DRB3*0101 (DR52a)-restricted epitope cross-presented by DR3: overlapping natural and artificial determinants in the human acetylcholine receptor. J Immunol 1999;162:4079-87.
39. Mangiapan G, Hance A. Mycobacteria and sarcoidosis: an overview and summary of recent molecular biological data. Sarcoidosis 1995;12:20-37.
40. Popper H, Klemen H, Hoefler G, Winter E. Presence of mycobacte-

rial DNA in sarcoidosis. Hum Pathol 1997;28:796-800.

41. Ishige I, Usui Y, Takemura T, Eishi Y. Quantitative PCR of mycobacterial and propionibacterial DNA in lymph nodes of Japanese patients with sarcoidosis. Lancet 1999;354:120-3.
42. Nilsson K, Pålsson C, Lukinius A, Eriksson L, Nilsson L, Lindquist O. Presence of Rickettsia helvetica in granulomatous tissue from patients with sarcoidosis. J Infect Dis 2002;185:1128-38.
44. Baughman RP, Lower EE. Infliximab for refractory sarcoidosis. Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis 2001;18:70-4.

I Läkartidningens elektroniska arkiv
<http://ltarkiv.lakartidningen.se>
 är artikeln kompletterad med fullständig referenslista.

SUMMARY

Studies of T-lymphocytes in pursuit of sarcoidosis antigens

Johan Grunewald, Anders Eklund
Läkartidningen 2002;99:3508-15

Sarcoidosis is characterised by lung accumulated activated T helper cells that are believed to be of central importance for the inflammatory reaction, which results in granuloma formation and in some patients in the development of fibrosis. It is generally considered that sarcoidosis is initiated and triggered by unknown antigen(s), resulting in disease in genetically predisposed individuals. Although a number of different micro-organisms as well as inorganic antigens have been suggested to cause the disease over the years, the exact aetiology of sarcoidosis is still unknown. In this article we describe how studies on T lymphocytes in sarcoidosis have gained insight into the pathogenesis of the disease. A remarkably strict correlation between lung accumulated T helper cells expressing a specific T cell receptor (AV2S3+) and HLA-DR17 was observed, indicating an immune attack against a specific target in the lungs. Future studies in this field may reveal how candidate antigens, identified by other techniques, play a role in the sarcoid inflammation.

Correspondence: Johan Grunewald, Dept of Medicine, Division of Respiratory Medicine, Karolinska institutet, SE-171 76 Stockholm, Sweden