



Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

# **Ekvin inflammatorisk tarmsjukdom - orsakad av bristande tolerans mot den kommensala tarmfloran?**

*Hanna Simonsson*



---

Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2012: 43

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2012

---





Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

## Arbetets titel på svenska

Equine inflammatory bowel disease (IBD) - caused by insufficient tolerance against the commensal intestinal flora?

*Hanna Simonsson*

**Handledare:**

Caroline Fossum, Magnus Åbrink, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinärfolkhälsovetenskap, sektionen för immunologi

**Examinator:**

Mona Fredriksson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Omfattning:** 15 hp

**Kurstitel:** Självständigt arbete i veterinärmedicin

**Kurskod:** EX0700

**Program:** Veterinärprogrammet

**Nivå:** Grund, G2E

**Utgivningsort:** SLU Uppsala

**Utgivningsår:** 2012

**Omslagsbild:** Hanna Simonsson

**Serienamn, delnr:** Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2012: 43  
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

**On-line publicering:** <http://epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** immunologi, inflammation, tarmsjukdom, regulatoriska T-celler, tolerans, häst

**Key words:** immunology, inflammation, bowel, regulatory T-cells, tolerance, equine



## **INNEHÅLLSFÖRTECKNING**

SAMMANFATTNING .....	1
SUMMARY .....	2
INLEDNING .....	3
Begreppsförklaring .....	3
MATERIAL OCH METODER .....	4
LITTERATURGENOMGÅNG .....	4
Inflammatory bowel disease, generellt och hos häst .....	4
Gastorintestinkanalen ur ett immunologiskt perspektiv .....	5
Tolerans, allmänt och i tarmen .....	5
Regulatoriska T-celler .....	6
Bakterier och utvecklingen av regulatoriska T-celler.....	7
DISKUSSION .....	8
REFERENSLISTA.....	11

## **SAMMANFATTNING**

Inflammatory Bowel Disease hos häst är ett allvarligt tillstånd som kan ta olika uttryck, gemensamt är dock en inflammation i tarmen med svåra skador som följd. Olika etiologier har föreslagits, men det är troligt att immunsystemet har en avgörande roll i sjukdomsutvecklingen. I den normala tarmen utvecklar immunförsvaret tolerans mot kommensal mikroflora. En viktig pusselbit i den utvecklingen är aktiveringen av naiva T-celler till regulatoriska T-celler som dämpar immunförsvaret. De regulatoriska T-cellerna verkar suppressivt på T-hjälparceller via cytokiner och cellcellkontakt samt kan aktiveras centralt i thymus eller perifert, exempelvis i tarmen. Utvecklingen av de regulatoriska T-cellernas styrs bland annat av signaler i form av cytokiner och av antigenets dos. När toleransutvecklingen inte sker som den ska uppstår inflammation. En oförmåga att bilda tolerans mot den kommensala mikrofloran är således en tänkbar etiologi till IBD.

## **SUMMARY**

Equine Inflammatory Bowel Disease is a severe condition in which the lesions can differ somewhat, although common for all diseased animals is an inflammation in the bowel resulting in serious damage to the mucosa. Although many different etiologies have been discussed it seems likely that the immune system is a part of the explanation. In a healthy intestine tolerance to commensal microbiota is developed. Important for this development is the activation of naïve T-cells to regulatory T-cells. These cells suppress T helper cells through direct cell to cell contact and via cytokine production. Regulatory T-cells can be activated in the thymus or in the periphery, for example in various parts of the intestine. The differentiation of naïve T-cells to regulatory T-cells is dependent on correct signals from certain cytokines and also on the dose of antigen. In cases where tolerance fails to develop an inflammation might occur. An inability to induce tolerance to commensal microbiota is therefore a possible etiology to IBD.

## INLEDNING

Kroniska inflammationer i mag-tarmkanalen är vanligt förekommande på många olika djurslag inklusive häst. Många olika etiologier har förts på tal, bland annat toxiner och infektioner med mykobakterier och parasiter (Schumacher et al., 2000). En intressant teori som har förslagits är att dessa tillstånd kan orsakas av att immunförsvaret inte förmår bilda tolerans mot den kommensala mikrofloran som finns i tarmen, vilket då skulle leda till en ständigt pågående inflammation (Fava & Danese, 2011). Teorin är framförallt diskuterad inom humanmedicin och möss har använts som modelldjur vid olika försök. Forskning på området tolerans i mag-tarmkanalen på häst är än så länge bristfällig. Jag anser dock att det är rimligt att undersöka om samma etiologi skulle kunna ligga bakom sjukdomen även hos häst. Därför har jag försökt göra en översikt på den forskning som finns inom ämnet och funderat på rimlighet i relation till häst. Jag har utgått från några centrala frågeställningar under min litteraturstudie.

- Hur kan immunförsvaret lära sig att känna igen den kommensala floran som ”icke farlig”?
- Vad är det som går fel när toleransen inte uppstår?
- Påverkar dosen av antigen huruvida man utvecklar en inflammation eller tolerans?
- Vad är det som styr utvecklingen av regulatoriska T-celler och vilken effekt utövar de i tarmen?

## Begreppsförklaring

**Inflammatory Bowel Disease (IBD)** är en kronisk inflammation i mag-tarmkanalen.

**Th-17 celler** är en typ av T hjälpar cell som medierar inflammation. De har satts i samband med flera autoimmuna och kroniska inflammatoriska sjukdomar. Th-17 utsöndrar bland annat IL-17a som är ett proinflammatorisk cytokin.

**Effektorceller** används i den här texten som ett samlingsnamn för olika typer av T-hjälparceller.

**Regulatoriska T-celler** är en celltyp som har förmågan att nedreglera immunsvaret och definieras genom sitt uttryck av CD4, CD25 samt FoxP3.

**Forkhead box p3 (Foxp3)** är en transkriptionsfaktor som är avgörande för de regulatoriska T-cellernas funktion och som används som markör för att känna igen dem.

**TGF- $\beta$**  är ett cytokin med antiinflammatoriska egenskaper som både påverkar regulatoriska T-celler samt utsöndras av dem.

**IL-10** är ett antiinflammatoriskt cytokin som utsöndras av regulatoriska T-celler.

**IL-2** är ett cytokin som utsöndras av T-celler och som ger en autokrin signal som stimulerar till mitos.



## MATERIAL OCH METODER

Under min litteratursökning har jag använt mig av databaserna Web of Knowledge och PubMed. Jag började med att göra sökningar där jag kombinerade "horse" eller "equine" med "IBD" och "tolerans". De sökningarna gav inga träffar, varför jag fick dela upp min litteratursökning och söka efter artiklar om IBD hos häst separat från artiklar om IBD och tolerans. Efter att ha läst ett par artiklar stod det klart att regulatoriska T-celler var av stor betydelse och jag gjorde då specifika sökningar efter artiklar om dem. Jag har också letat upp referenser som verkade viktiga från artiklar jag redan läst.

## LITTERATURGENOMGÅNG

### Inflammatory bowel disease, generellt och hos häst

Kronisk inflammatorisk tarmsjukdom hos häst är ett allvarligt tillstånd som innebär att inflammatoriska celler på ett onormalt sätt infiltrerar tarmens mukosa och submukosa, vanligen i tunntarmen. Inflammationen ger upphov till allvarliga skador i tarmen med svåra komplikationer som följd. Absorptionen i affekterade tarmavsnitt blir kraftigt nedsatt liksom digestionen i hela tarmen och de flesta hästar blir så kraftigt avmagrade att de inte klarar sig med livet i behåll (Kalck, 2009; Schumacher et al., 2000). Man delar upp sjukdomen beroende på var i tarmen den utvecklas och vilka typer av inflammatoriska celler som är främst förekommande. Hos en del individer vid vissa tillstånd uppstår även extraintestinala skador.

Hos hästar med **granulomatös enterit (GE)** återfinns man makrofager och lymfoida celler, liksom varierande antal jätteceller och plasmaceller i tarmens mukosa. Ofta är skadorna allvarligast i ileum där man också ser villusatrofi. GE liknar på många sätt Crohn's disease som är en av sjukdomarna bakom diagnosen IBD på människa (Kalck, 2009).

**Eosinofil enterokolit (EC)** manifesteras av att eosinofiler och lymfocyter infiltrerar tunntarmens mukosa. Flera andra organ såsom hud, lever, pancreas m fl. kan också vara involverade och sjukdomen kallas då för **Multisystemisk eosinofil epiteliotropisk sjukdom (MEED)** (Kalck, 2009; Schumacher et al., 2000).

**Lymfatisk-plasmacytisk enterokolit (LPE)** ger en kraftig ansamling av lymfocyter och plasmaceller i mag-tarmkanalens lamina propria, men inga granulombildningar kan ses. LPE är den vanligaste formen av IBD hos hund. Hos hund tror man också att sjukdomen kan vara ett förstadium till lymfosarkom och det är svårt att skilja de två tillstånden från varandra (Kalck, 2009).

Hos människa delar man upp sjukdomen i två diagnoser, ulcerativ kolit (UC) och Crohn's sjukdom efter anatomisk spridning och morfologiskt utseende.

Trots att orsakerna till IBD ännu är oklara pekar fler och fler studier på att interaktioner mellan immunförsvaret och intestinal mikroflora spelar en viktig roll i utveckling av sjukdomen samt avgör graden av denna. Många försök har också gjorts för att utreda möjligheten att sjukdomen skulle orsakas av en bakterieinfektion, men eftersom IBD kan ta sig så olika uttryck hos olika individer och eftersom man ännu inte lyckats isolera en enskild

patogen från sjuka individer på ett rutinmässigt sätt är bevisen för denna teori än så länge inte så starka (Fava & Danese, 2011). Mycket tyder däremot på att mikrofloran i tarmen har en viktig betydelse för etiologin, det tror man eftersom lesionerna ofta uppstår i de tarmavsnitt där det finns mest bakterier. Vidare kan symptomen dämpas av antibiotika och dessutom verkar det som att sterilt uppfödda djur inte utvecklar sjukdomen (Fava & Danese, 2011).

I en inflammerad tarm finns det ett mindre antal arter av bakterier än i en frisk, det är dock oklart om det kan vara en del av etiologin, eller om det snarare är orsakat av inflammationen (Atarashi & Honda, 2011).

### **Gastorintestinalkanalerna ur ett immunologiskt perspektiv**

Gastrointestinalkanalen måste ses som ett specialfall inom immunologi eftersom det naturligt förekommer en enorm mängd antigen där. Slemhinnan är i ständig kontakt med inte bara en mängd olika näringsämnen utan även bakterier av både de patogena och apatogena slaget. Tarmen är dessutom utsatt för ständig förändring eftersom mikrofloran kan förändras med diet, sjukdom och antibiotikabehandling. Den kommensala mikrofloran i tarmen är helt nödvändig och har såväl metaboliska funktioner som en skyddande effekt genom att bilda en barriär och hindra invasion av patogener. Dessutom har floran en viktig immunomodulerande funktion (Fava & Danese, 2011). Med andra ord är tarmen en svår utmaning för immunförsvaret. Kroppen måste kunna skydda sig mot patogener men får samtidigt inte reagera mot den kommensala floran, eftersom det skulle ge upphov till ett ständigt pågående immunsvår. Ett väl avvägt skydd krävs och fungerar hos friska individer med en fysisk barriär i form av epitel samt ett noggrant reglerat immunförsvår, där tolerans är en viktig faktor (Zenewicz et al., 2009).

### **Tolerans, allmänt och i tarmen**

Tolerans brukar delas upp i två kategorier, central och perifer. Central tolerans uppkommer i tymus när T-cellerna genomgår positiv och negativ selektion. Där det förstnämnda innebär att T-celler som binder kroppens egna MHC molekyler överlever. Negativ selektionen innebär att T-celler som bär icke funktionella receptorer undergår apoptos, liksom T-celler vars receptorer binder kroppsegna antigen för starkt. T-celler som binder kroppsegna antigen kan också differentieras ut till regulatoriska T-celler som har en suppressiv verkan på effektorceller och på det sättet medierar tolerans (Lathrop et al., 2011).

Perifer T-cells tolerans uppstår när T-celler ute i kroppen binder ett antigen men inte får rätt co-stimulatoriska signaler för att kunna aktiveras. Bindningen av antigenen utan co-stimulatoriska signaler leder till att nuclear factor kappa-B inhiberas och att cellen slås av.

Generellt gäller att T-cellerna kommer i kontakt med olika antigen via antigenpresenterande celler, som tar in antigen och presenterar på sina MHC klass II molekyler. De mest utpräglade antigenpresenterade cellerna är de dendritiska cellerna (DCs). De är inblandade i toleransutvecklingen eftersom de när de presenterar antigen för T-celler också kan ge signaler som styr T-cellen till apoptos eller till att differentiera till en regulatorisk T-cell.

På senare tid har man förstått att även ”icke kroppsegna” antigen kan inducera tolerans genom aktivering av regulatoriska T-celler. Den typen av mekanism sker i tarmen där naiva T-celler som stöter på kommensala bakterier utvecklas till regulatoriska T-celler istället för effektor celler. Lathrop et al. (2011) visade att tarmens specifika miljö är viktig för T-cellers differentiering. Det gjordes genom en studie på möss där man hittade regulatoriska T-celler i colon vars T-cells receptorer (TCRs) skiljde sig kraftigt från de i sekundära lymfoida organ. Man tolkade resultaten som att de här regulatoriska T-cellerna inducerats av bakterier i tarmen snarare än av kroppsegna antigen. I samma studie undersökte man huruvida regulatoriska T-celler med ursprung i tarmen påverkade utvecklingen av regulatoriska T-celler i tymus, men kunde inte se några tecken på det. Istället verkar det som att de regulatoriska T-celler som finns i tarmen också har aktiverats där. I studien tittade man också på hur en felaktig differentiering av T-celler kan påverka tolerans. Hos möss som saknade IL-2, IL-10 eller TGF- $\beta$  återfann man då TCRs på effektorceller och minnesceller som i vanliga fall finns på regulatoriska T-celler. Man visade också att möss vars T-celler känner igen kommensal flora men inte får de rätta signalerna för att differentiera till regulatoriska T-celler utvecklar kolit.

Yurchenko et al. (2011) visade på samma fenomen i en studie där man inducerat kolit hos T-cells defekta möss genom att introducera effektorceller i tarmen. När de i försöket samtidigt introducerade regulatoriska T-celler förhindrades sjukdomsutvecklingen. De regulatoriska T-cellerna verkade alltså ha en skyddande effekt.

Vilken typ av dendritisk cell som visar antigenet för T-cellen verkar ha betydelse för dess utveckling. Coombes et al., (2007) visar en studie att de dendritiska cellerna i de mesenteriska lymfknutorna kan delas upp i två subpopulationer. Den ena gruppen av DCs har hand om patogena organismer och producerar proinflammatoriska cytokiner. Den andra gruppen påverkar tolerans mot icke patogena antigen genom att inducera regulatoriska T-celler.

## **Regulatoriska T-celler**

Som tidigare nämnts anses regulatoriska T-celler vara viktiga nyckelspelare i regleringen av immunförsvaret genom sin förmåga att minska effektorcellers aktivitet och proliferation (Zenewicz, et al 2009). Regulatoriska T-celler förekommer i högre utsträckning i tarmens lymfknutor än på andra platser i kroppen vilket tyder på att de har en stor betydelse där (Atarashi & Honda, 2011). I försök där man med hjälp av T-celler inducerat colit hos möss visar Yurchenko et al. (2011) att regulatoriska T-celler kontrollerar inflammationen genom att verka suppressivt på Th-1 och Th-17 celler både i tarmens lymfknutor men också direkt i tarmen. Det sker både genom att cellerna utsöndrar cytokinerna IL-10 och TGF $\beta$  och via cell till cell kontakt (Garden et al., 2011; Fava & Danese, 2011). Dessutom är det troligt att de regulatoriska T-cellerna eventuellt även kan påverka andra immunologiska celler så som APCs, makrofager och B-celler (Garden et al., 2011).

Regulatoriska T-celler kan aktiveras i tymus under T-cells utveckling och kallas då för naturliga regulatoriska T-celler. De kan också aktiveras perifert efter T-cells utveckling och kallas då för inducerade regulatoriska T-celler. Perifer aktivering sker när cellerna stöter på antigen under samtidig påverkan av rätt cytokinprofil, eller efter kontakt med naturliga regulatoriska T-celler (Garden et al., 2011).

Studier har visat att differentieringen till Th-17 celler och regulatoriska T-celler är sammankopplad där utvecklingen är styrd åt ena eller andra hållet beroende på cytokinprofil. Cellernas uttryck av olika molekyler avgör deras funktion, och i förlängningen också huruvida en inflammation uppstår eller inte. TGF- $\beta$  är ett viktig cytokin där höga koncentrationer styr mot ett uttryck av Foxp3, dvs regulatoriska T-celler, medan lägre doser leder till ett uttryck av IL-23 och därmed en utveckling av Th-17 celler. Andra signaler har också stor betydelse, bland annat retinoidsyra som ökar differentieringen mot regulatoriska T-celler och samtidigt förhindrar utveckling av Th-17 celler. Cytokinerna IL-6, IL-21 och IL-23 styr differentiering mot Th-17 celler. Generellt verkar det som att situationer som gynnar utvecklingen av regulatoriska T-celler samtidigt hämmar utveckling av Th-17 celler och vice versa (Zenewicz et al., 2009).

Förutom att cytokinprofilen påverkar utvecklingen av regulatoriska T-celler spelar även antigenet en betydande roll, och eftersom exponering både kan leda till aktivering av effektorceller och till utveckling av regulatoriska celler är det viktigt att försöka förstå vad det är som avgör cellsvaret. Long et al. (2011) undersökte vilken betydelse dosen av antigen har. I sin studie visade de att både låga och höga antigen doser stimulerade regulatoriska T-celler till proliferation perifert. Vid höga doser av antigen prolifererade dock de andra T-cellerna mycket kraftigare, vilket ledde till att frekvensen av regulatoriska T-celler relativt sett blev lägre. Resultatet från studien visar alltså att lägre doser antigen styr en utveckling mot regulatoriska T-celler, medan högre doser ger en starkare utveckling av effektorceller som övertrumfar det regulatoriska svaret.

Plasticiteten hos de regulatoriska T-cellerna har diskuterats och rapporter visar att vid rätt proinflammatorisk omgivning kan uttrycket av Foxp3 hos de regulatoriska T-cellerna nedregleras. Cellerna kan då differentieras vidare till olika effektorceller (Garden et al., 2011).

Jag har haft mycket svårt att hitta vetenskapliga artiklar som behandlar ämnet regulatoriska T-celler hos häst, men Hamza et al. (2011) har påvisat ekvina regulatoriska T-celler. Dessa uttrycker CD4, CD25 och FoxP3 samt minskar T hjälpar cellers proliferation in vitro. I den studien sågs också att cellerna verkade via cell till cell kontakt och via cytokinerna TGF- $\beta$  och IL-10, i linje med vad studier på andra djurslag också visat (Garden et al., 2011; Fava & Danese, 2011). Detta undersökte Hamza et al. (2011) genom att in vitro blanda regulatoriska T-celler med effektorceller samt antikroppar riktade mot TGF- $\beta$  och IL-10. De regulatoriska T-cellerna hämmade T hjälpar cellerna trots antikropparna, om än inte till samma grad som utan. De provade också att separera de två celltyperna med hjälp av transwellbrunnar och hindrade på så vis cell till cellkontakt. Effektorcellernas proliferation hämmades då också, men inte lika kraftigt som när de inte var åtskilda. I försöket visades även att ekvina regulatoriska T-celler kan induceras in vitro från naiva T-celler, samt att antalet regulatoriska T-celler under stimulering kan uppförökas.

### **Bakterier och utvecklingen av regulatoriska T-celler**

Round & Mazmanian (2010) gjorde försök för att undersöka om och i så fall hur bakterier kan inducera utveckling av regulatoriska T-celler. Detta gjordes genom att kolonisera tarmen hos sterilt uppfödda djur med *Bacteroides fragilis* som är en känd human kommensal bakterie. I

försök visades sedan att bakterien kan inducera regulatoriska T-celler från naiva T-celler. När dessa regulatoriska T-celler presenterades för polysackarid A (PSA, en produkt av *B. fragilis*) svarade de med att utsöndra IL-10. Detta till skillnad från naturliga regulatoriska T-celler från tymus som inte reagerar på PSA. I samma artikel beskriver Round & Mazmanian (2010) hur de med hjälp av PSA lyckats vända inducerad kolit. De visar också att toll-like receptors (TLRs) är nödvändiga för att cellerna ska kunna känna igen bakterieantigenet. Tidigare har man trott att TLRs bara medierar inflammation, men nu visas alltså att de också kan leda till anti-inflammatoriska effekter. I studien menar de att PSAs effekt på immunförsvaret är strikt avgränsad till T-cells aktivering, då ingen skillnad i antal B-celler i de mesenteriska lymfknutorna kunde ses. Hos de regulatoriska T-cellerna fann de dessutom specifikt att Foxp3 uttrycket per cell ökade hos möss med *B. fragilis*. De regulatoriska T-cellerna hos dessa möss hade dessutom en betydligt kraftigare effekt på effektor T-cellerna än vad cellerna från möss som inte fått *B. fragilis* hade.

I artikeln pekar de också på att det verkar som att det är viktigt att skilja mellan naturliga och inducerade regulatoriska T-celler. När de i försök tittat på sterilt och konventionellt uppfödda möss kunde de inte se någon skillnad på antalet regulatoriska T-celler i tarmen, däremot hade de sterilt uppfödda mössen betydligt lägre halter av IL-10 i tarmen. De låga halterna kunde åtgärdas om de mössen koloniserades med *B. fragilis*. Detta tolkas som ett tecken på att de regulatoriska T-cellernas ursprung är avgörande för vilken effekt de utövar.

## DISKUSSION

Först vill jag klargöra att jag här undersökt en av flera möjliga etiologier som kan tänkas ligga bakom IBD. Min åsikt är dock att finns mycket som pekar på att en oförmåga hos immunförsvaret att bilda tolerans mot kommensal mikroflora skulle kunna vara förklaringen till sjukdomen. Det är dock möjligt att det finns andra tänkbara etiologier med starkt stöd i forskningen som jag inte undersökt. Det är också möjligt att det inte finns ett enskilt svar på frågan vad som orsakar IBD, utan att det varierar med olika fall. Det är ju trots allt så att man delar upp sjukdomen i flera olika diagnoser just beroende på att den kan se så olika ut. Vidare kan det vara så att många olika faktorer krävs för att utveckla sjukdomen.

När jag gjorde min litteraturundersökning hittade jag väldigt många artiklar om IBD hos häst. Jag fann även en hel uppsjö av artiklar om tolerans i mag-tarmkanalen och utveckling av regulatoriska T-celler, de handlade dock om forskning på försöksdjur och människor. Att hitta forskning som knöt ihop IBD hos häst med tolerans och regulatoriska T-celler var alltså svårt. Jag ansåg att det var ett stort problem. För att kunna extrapolera forskningen som finns kring tolerans och regulatoriska T-celler till häst krävs att deras toleransutveckling liknar den hos de arter där forskningen är gjord. Det är visserligen rimligt att anta att samma celler finns hos häst och har liknande funktion, men det skulle enbart vara ett löst antagande.

Därför ger studien som Hamza et al. (2011) gjort, där de visar att hästar har regulatoriska T-celler med samma suppressiva funktioner som hos människa och försöksdjur viktig nyckelinformation. Med den studien ges således möjlighet att knyta ihop tidigare nämnd forskning om tolerans med IBD problematiken hos häst. Även om det fortfarande är så att man bör vara försiktig med att extrapolera forskning från ett djurslag till ett annat, är det i alla

fall ett stöd att den perifera toleransutvecklingen verkar likna varandra så pass mycket på olika djurslag. Det gör det troligt att samma mekanismer kan förekomma och även orsaka sjukdomar hos dem på ett liknande sätt.

Själva nyckelsteget i toleransutveckling verkar vara när de naiva T-cellerna presenteras för ett bakterieantigen och då antingen kan utvecklas till effektorceller som medierar ett immunsvaret eller till regulatoriska T-celler som medierar tolerans. Detta stöds av Lathrop et al. (2011) som visar i sin studie på möss att när T-cellerna känner igen bakterieantigenet med sin TCR, men inte får korrekta signaler utifrån för att kunna differentieras till regulatoriska T-celler istället utvecklas till effektorceller. Här är det intressant att skilja på de olika typer av effektorceller som kan bildas. Beroende på vilka signaler cellerna får och hur de presenteras för antigenet kan de utvecklas till Th-1 celler, vilket leder till ett cellmedierat svar, Th-2 celler som ger ett antikroppsmedierat svar eller, det som kanske är mest relevant i detta fall, till Th-17 celler som har proinflammatorisk verkan. Förutom att Th-17celler inducerar inflammation, som ju är en stor del av problematiken i IBD, är dess utdifferentiering också nära knuten till den av regulatoriska T-celler (Zenewicz et al., 2009). Det är anmärkningsvärt med tanke på att de har mer eller mindre motsatt verkan och illustrerar också hur känslig tarmens immunologiska balans tycks vara, och att det troligen inte krävs mycket för att rubba den balansen.

Det verkar som att dosen av antigen egentligen inte påverkar regulatoriska T-cellers utveckling (Long, et al., 2011) utan att det snarare är graden av utveckling hos de andra T-cellerna som reglerar vilka celler som får genomslag. Vid en hög dos antigen utvecklas effektorceller så kraftigt att de regulatoriska T-cellerna som utvecklas samtidigt blir ”överkörda” av effektorcellernas signaler. Vidare är det intressant att de regulatoriska T-cellerna i rätt proinflammatorisk miljö kan differentiera vidare till effektorceller (Garden et al., 2011) och då själva kan bidra till inflammation.

Yurchenko et al. (2011) visar i sin studie att introduktion av effektorceller hos T-cellsdefekta möss inducerar kolit, och även att regulatoriska T-celler kan förhindra den utvecklingen. Det ger underlag för att dra slutsatsen att en förmåga att utveckla tolerans genom att aktivera regulatoriska T-celler kan orsaka inflammation i mag-tarmkanalen. Tesen stöds också av Lathrop et al. (2011) som visar att möss som saknar rätt cytokinprofil för att aktivera regulatoriska T-celler utvecklar kolit och Round & Mazmanian (2010) som visar att PSA från *B. fragilis* kan väda inducerad inflammation. Därmed inte sagt att det behöver vara så, men det är en möjlig mekanism.

Men vad är det då som gör att toleransutvecklingen inte fungerar hos vissa individer? Rätt cytokinprofil är viktig för att utvecklingen av regulatoriska T-celler ska kunna ske korrekt (Garden et al., 2011; Zenewicz et al., 2009). Kanske är det så att vissa individer har ett medfött defekt uttryck av nödvändiga cytokiner och att toleransen därför inte kan uppstå. Det borde också vara möjligt att någon form av infektion eller annat patologiskt tillstånd i tarmen skulle kunna påverka cytokinprofilen så pass mycket att utvecklingen av regulatoriska T-celler blir störd. Vidare menar Long et al. (2011) att dosen av antigen har betydelse för vilket cellsvaret som får genomslagskraft. Det borde kunna betyda att en obalanserad mikroflora

också skulle kunna resultera i att ett immunsvaret uppstår istället för tolerans. Round & Mazmanian (2010) visar att ett visst bakterieantigen (PSA) kan inducera regulatoriska T-celler hos möss och att dessa regulatoriska T-celler dessutom hade en starkare påverkan på effektorceller än regulatoriska T-celler från andra möss. Det visar att antigenet i tarmen har en stor immunomodulerande betydelse och att en obalans i bakteriefloran kan påverka tarmens T-cellsstatus. I studien lyckades de även reversera kolit med hjälp av PSA. Det tycker jag motiverar att undersöka vidare hur bakterier kan påverka utvecklingen av regulatoriska T-celler och hur de kan användas för att påverka tarmens immunologi, kanske kan man någon gång i framtiden utveckla detta till en behandlingsterapi.

Slutligen tycker jag absolut att det är relevant att forska mer på området, både för människor och andra djur. Forskningsresultaten pekar på hur viktig toleransen och framför allt de regulatoriska T-cellerna är för mag-tarmkanalen, och hur det potentiellt skulle kunna förklara IBD, som orsakar ett så stort lidande hos människor och djur. I mina ögon verkar det vara helt klart att felaktig differentiering av naiva T-celler i tarmen kan leda till inflammation, medan utveckling av regulatoriska T-celler verkar skyddande. Av de studier jag tagit del av finns det egentligen ingenting som talar mot att oförmåga till tolerans skulle vara etiologin bakom IBD. Som jag nämnde tidigare är det dock viktigt att komma ihåg att andra förklaringar är möjliga, och att etiologin också kan vara multifaktoriell.

## REFERENSLISTA

- Atarashi K. & Honda K. (2011) Microbiota in autoimmunity and tolerance. *Current Opinion in Immunology*, 23, 761-768.
- Coomes J.L., Siddiqui K. R., Arancibia-Cárcamo C. V., Hall J., Sun C. M., Belkaid Y & Powrie F. (2007) A Functionally specialized population of mucosal CD103+ DCs induces Foxp3+ regulatory T-cells via a TGF-beta and retinoic acid-dependent mechanism. *The Journal of Experimental Medicine*, 204, 1757-1764.
- Fava F. & Danese S. (2011) Intestinal microbiota in inflammatory bowel disease: friend or foe? *World Journal of Gastroenterology*, 5, 557-566.
- Garden O. A., Pinheiro D. & Cunningham F.(2011) All creatures great and small: regulatory T cells in mice, humans, dogs and other domestic animal species. *International Immunopharmacology*, 11, 576-588.
- Hamza E., Gerber V., Steinbach F. & Marti E. (2011) Equine CD4+ CD25high T cells exhibit regulatory activity by close contact and cytokine-dependent mechanisms in vitro. *Immunology*, 134, 292-304.
- Kalck K. A. (2009) Inflammatory bowel disease in horses. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 25, 303-315.
- Lathrop S. K., Bloom S. M., Rao S. M., Nutsch K., Peterson D. A., Stappenbeck T. S. & Hsieh C. (2011) Peripheral education of the immune system by colonic commensal microbiota. *Nature*, 478, 250-254.
- Long A. S., Rieck M, Tatum M, Bollyky P. L., Wu R. P., Muller I., Ho J., Shilling H. G., & Buckner J. H. (2011) Low-dose antigen promotes induction of Foxp3 in human CD4+ T-cells. *The Journal of Immunology*, 187, 3511-3520.
- Round. J. L. & Mazmanian S. K. (2010) Inducible Foxp3+ regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota.. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107, 12204-2209.
- Schumacher J., Edwards J. F. & Cohen N. D. (2000) Chronic idiopathic inflammatory diseases of the horse. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14, 258-265.
- Yurchenko E., Levings M. K. & Piccirillo C. A. (2011) CD4+ Foxp3+ regulatory T-cells suppress  $\gamma\delta$  T-cell effector functions in a model of T-cell induced mucosal inflammation. *European Journal of Immunology*, 41, 3455-3466.
- Zenewicz L. A., Antov A. & Flavell R. A. (2009) CD4 T-cell differentiation and inflammatory bowel disease. *Trends in Molecular Medicine*, 15, 199-207.