

# Mikrober, gener og astma

## SAMMENDRAG:

Astma er en tilstand som påvirkes av både genetisk disposisjon og risikofaktorer i miljøet. Jo mer det forskes jo klarere blir det at astma er en sekkebetegnelse for ulike sykdomstyper. Forskjellige mekanismer kan føre til sykdommen. Denne oversiktsartikkelen fokuserer på mikrobiell eksponering og infeksjoner ved begynnende astma. Videre diskuteres det hvordan individuell genetisk disposisjon påvirker immunsystemets tolkning og behandling av signaler fra mikrober, og hvordan dette kan føre til resistens eller sykdommer som astma.

Videre studier av interaksjoner mellom gener og miljø vi kunne gi fremtidige svar på hvordan astma kan forebygges.

MICHAEL KABESCH, *University Children's Hospital, München*

Astma er en sykdom der genetisk disposisjon spiller en stor rolle. Ca. 70% av astmarisikoen er genetisk betinget. Dette betyr at en stor del av befolkningen har arvet risikoen for å utvikle astma under uheldige omstendigheter, og en tilsvarende lik tilbøyelighet til å utvikle atopisk eksem og allergisk rhinitt. I motsetning til dette, får en del av befolkningen omtrent aldri atopisk sykdom, uansett hva de måtte bli utsatt for. Mens europeeres genetiske sammensetning (genom) ikke har endret seg vesentlig de siste 100 år, har prevalensen av astma økt dramatisk i mange deler av Europa de siste tiår. Mange land har nå en høy prevalens av astma (1). Årsaken til denne økningen kan være en livsstil som har endret seg fra beskyttelse til økt risiko for eksponering til miljøgifter. Den nye situasjonen sammenfaller med den høye prevalensen av populasjonens genetiske disposisjon for utvikling av astma og atopi, som kan betraktes som overaktivitet i immunsystemet.

Genetisk utvikling av et høyst effektivt og eksepsjonelt sensitivt immunsystem kan ha vært en forutsetning for menneskehetens overlevelse fram til nå. Med økende endringer i menneskeskapte omgivelser i den postindustrielle æra, kan det samme immunsystemet være genetisk designet til å overtolke det moderne livets utfordringer (FIG 1).

## Preventive - versus risikofaktorer

Mens disposisjon for astma og atopi er genetisk betinget, bidrar miljøfaktorer signifikant til hvorvidt den multifaktorielle tilstanden astma oppstår og utvikler seg. Disse miljøfaktorene kan øke risikoen for astma - for eksempel eksponering for tobakksrøyk prenatalt eller i løpet av

barndommen, eller redusere risikoen slik det er observert i utallige studier av barn som har vokst opp i tradisjonelle gårdsmiljøer. Det å bo på en gård er forbundet med en tradisjonell livsstil, nær og tidlig kontakt med dyr, eksponering for mye bakterier og inntak av mat som ikke er bearbeidet. Det ser ut til at eksponering for mikrober som senker risikoen for atopi og atopisk eksem beskytter mot astma på en doseavhengig måte, men eksakte mekanismer for hvordan gårdsliv beskytter mot astma er ikke påvist. På den annen side øker prevalensen av ikke-atopisk piping i brystet med økt eksponering til mikrober i den samme populasjonen (2). Som forventet finnes det ikke en type miljø som passer for alle. Beskyttelse fra en sykdom medfører den ulempe at risikoen øker for en annen.

## Infeksjon i ung alder, piping i brystet og astma

Luftveisinfeksjoner har med god grunn vært sentralt i astmaforskning i mange år. Det har lenge vært observert at det er en sammenheng mellom visse respiratoriske infeksjoner og akutte, samt forlengede pipeepisoder i brystet hos små barn (mulig også hos større barn). Noen forskere har postulert at det kan være en årsakssammenheng mellom infeksjon med agens som respiratorisk syncytialvirus (RSV) eller rhinovirus i ung alder, og utvikling av astma senere i livet. Andre har pekt på at tilbøyeligheten til å utvikle alvorlige symptomer, som forlenget piping i brystet, i forbindelse med RSV- eller rhinovirusinfeksjon, heller er tidlige tegn på disposisjon for astma og et svekket immunsystem (før møtet med disse infeksiøse agens) enn årsak til sykdom (3).

Det er interessant at en genetisk dis-

Michael Kabesch  
M.D.

KONTAKTADRESSE:  
Michael Kabesch, M.D.  
University Children's Hospital  
Ludwig Maximilians University Munich  
Lindwurmstrasse 4  
D- 80337 München  
Michael.Kabesch@med.uni-muenchen.de



Det er foreslått at eksponering for bakterienes giftstoffer (endotoksiner) bidrar til å redusere risikoen for utvikling av atopiske sykdommer på en doseavhengig måte, og at det er endotoksinnivået i miljøet som bidrar til en beskyttende effekt av det å vokse opp på gård. Men de eksakte mekanismer for hvordan gårdsliv beskytter mot utvikling av astma, er langt fra klarlagt. FOTO: DAVID TROOD/SCANPIX

posisjon for mer alvorlig utvikling etter RSV-infeksjon også er en medspiller ved astma. Dette er vist for genetiske endringer i visse deler av det medfødte immunsystemet.

### **Det adaptive og medfødte immunsystemet**

Det adaptive immunsystemet, representert ved T- og B-celler, påvirker allergi på en direkte måte. Under ledelse og kon-

troll av T-celler, produserer B-celler immunoglobulin E (IgE), som er en forutsetning for allergisk immunrespons. Mens disse mekanismene og deres rolle ved allergi har vært kjent lenge, er det ►

økende tvil om det adaptive immunsystemet er ansvarlig for trigging av immunavvik som fører til utvikling av astma (4) (FIG 2). Det adaptive immunsystemet kan faktisk påvirkes slik at det heller forsterker immun signaler mot allergisk respons. Nye forskningsfunn indikerer at de første triggerne av immunavvik, kan komme fra det medfødte immunsystemet (5).

Det medfødte immunsystemet er evolusjonsmessig et gammelt, svært vellykket og genetisk godt bevart forsvarssystem som tar i bruk et begrenset antall reseptorer for mønstergjenkjenning (PRR). Disse reseptorene gjenkjenner grunnleggende mikrobestrukturer som sannsynligvis er patogener mot høyere organismer (patogenforbundet molekyl-

lært mønster eller PAMP). Systemet er enkelt, robust og tillater rask forsvarsreaksjon. Til tross for at det er enkelt, er det svært vellykket. Reseptorer for mønstergjenkjenning finnes i en rekke cellyper og vev, i epitel og immunceller på celleoverflater samt inni celler.

Toll-lignende reseptorer (TLR), først identifisert hos bananfluens *Drosophila* og deretter hos alle høyere organismer, er de best studerte reseptorer for mønstergjenkjenning. Hos mennesker finnes det 10 TLR. Dette synes å være et ekstremt lite repertoar av gjenkjenningsreseptorer for førstelinjeforsvar i det medfødte immunsystemet. Spesifisitet og omfanget av den patologiske gjenkjenningen oppnås riktignok ved å kombinere TLF-reseptor-

komponentene (for eksempel TLR2 som interagerer med TLF1 og TLF6) og gjennom forskjellige nedstrøms signalveier. Andre viktige grupper reseptorer er også nylig identifisert, for eksempel NACHT-domenerreseptorer, som utvider det medfødte immunsystemets repertoar av patologiske reseptorer. Mens det medfødte immunsystemet har spesifikke effekter, påvirker signaler fra dette systemet også det adaptive immunsystemet og kan trigge respons fra det.

På den måten er et kompetent medfødt immunsystem en forutsetning for immunologisk integritet på overflatemiljøet hos høyere organismer, et kompetent og interaktivt adaptivt immunsystem er det andre. Bare da har overflatebarrieren en effektiv funksjon. Nylig fremsatte hypoteser foreslår at barrieren mellom organismen og omgivelsene kan være forstyrret hos allergikere: enten ved endrede utfordringer fra miljøet eller ved genetiske endringer av barrieren i seg selv, dvs. ved mutasjoner av reseptorer for patogen gjenkjenning, CO-molekyler eller nedstrøms signalkomponenter i dette avanserte immunnettverket.

### Endringer i miljøet

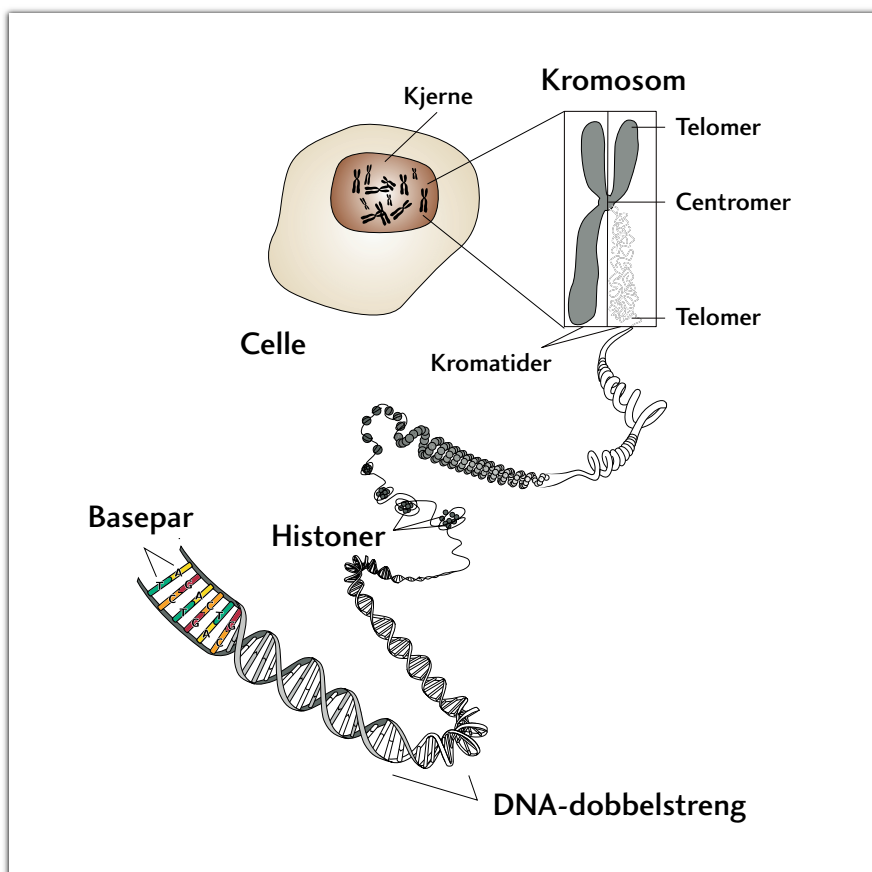
Miljøet som de fleste mennesker lever i har uten tvil endret seg dramatisk i løpet av de siste 100 årene (6). Det å vokse opp i dag er ikke sammenlignbart med å vokse opp for 100 år siden, i hvert fall når det gjelder immunologiske utfordringer og forurensning. I noen områder i verden begynte disse endringene tidlig i forrige århundre og i noen pågår de fortsatt. Moderne medisin, hygiene og teknologisk utvikling har redusert risikoen for sykdom og økt overlevelsesraten for nyfødte og små barn dramatisk, og dermed økt forventningen om gjenstående leveår og livskvalitet for mange. Det er imidlertid oppdaget at immunsystemet formes av interaksjon med omgivelsene og at visse miljøsignaler, eller fravær, av disse, kan ha dyptgående effekter på immunsystemets modning og kapasitet. Hos mange kan utvikling av allergier være prisen for denne utviklingen.

### Gårdsliv, astma og allergi

Nyere studier som sammenligner astmarisiko hos barn som vokser opp på gård med den hos de som ikke bor på gård, men bor på landet, har gitt overraskende og konsistente resultater: Barn på gård har signifikant lavere risiko for å utvikle

FIGUR 1 **Genomet og polymorfismene**

Det humane genomet består av 46 kromosomer, to av dem er X og Y kjønnskromosomer. Den genetiske informasjonen i genomet er bevart i den genetiske koden i dobbelheliksen i DNA trådene. Den genetiske informasjonen er organisert som informasjonsenheter, som i en bok. Gener er den delen av genomets informasjon som oversettes til mRNA og proteiner, men mange andre deler av genomet er like viktige, fordi de kan organisere bruk og transkripsjon av disse genene til proteiner. Det finnes ca. 4 millioner steder på DNA-trådene (som utgjør det humane genomet) der genetisk variasjon er vanlig. Disse stedene, såkalte polymorfismer, kommer opprinnelig fra mutasjoner og er arvelige. Mange polymorfismer er ikke uttrykt, men kan like fullt påvirke genomet eller sammensetningen av gener. Disse polymorfismene kan føre til synlige variasjoner i fenotype, for eksempel en endring i hårfarge, neseform eller kapasitet til å fordøye visse typer mat. Genetisk variasjon innen en rase eller populasjon av individer er en evolusjonær fordel, fordi den øker tilpasningsdyktigheten til miljøet og endringer i dette miljøet. Men i noen tilfeller kan polymorfisme også påvirke tilbøyeligheten til å få en sykdom. (FRA WIKIPEDIA.ORG)

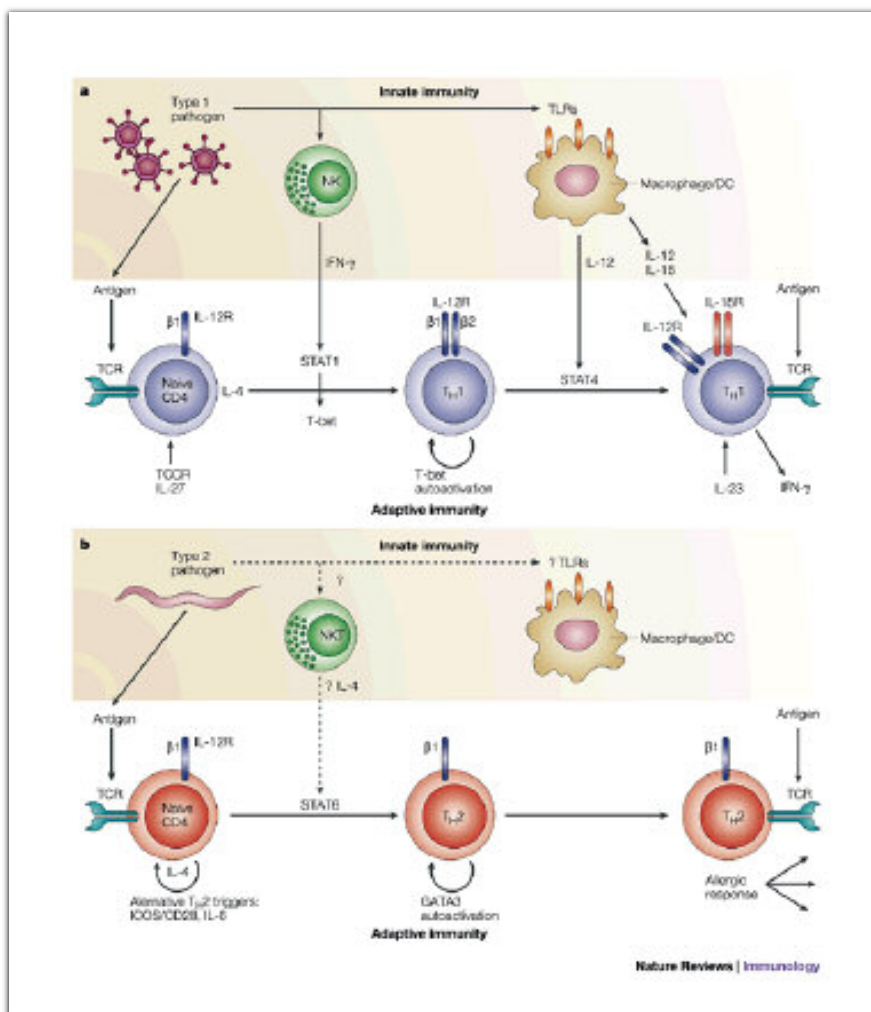


astma enn sine jevnaldrende (2). Den nøyaktige mekanismen bak denne beskyttelsen er fortsatt ikke helt klarlagt. Det kan skyldes livsstilsfaktorer, diett eller spesifikke eksponeringer p.g.a. gårdsdriften. Disse faktorene virker tidlig i livet og noen helt nye studier indikerer at miljøpåvirkning også prenatalt kan bidra til gårdseffekten og avgjøre astma-risikoen.

Det er foreslått at eksponering for mikrober kan bidra til gårdseffekten. Et dose-respons-forhold er rapportert (2). I og med at det ikke er publisert prospektive gårdsstudier, kan individuell eksponering for mikrober bare estimeres ut i fra punktmålinger ved tidspunktet for undersøkelsen. For å gjøre dette, målte man endotoksin (eller lipopolysakkarid, LPS), en komponent i bakterievegger, i madrasser hos alle barna. Jo mer endotoksin i madrassen, jo lavere risiko for atopisk astma hos disse barna (risikoen for ikke-atopisk piping i brystet økte med endotoksineksponeringen). Forfatterne av denne studien presiserer at endotoksin ble brukt som en markør for total mikrobiell eksponering og at disse dataene ikke beviser at endotoksin har en kausal rolle i astmabeskyttelse, eller at infeksjonen kan beskytte mot astma (bare eksponering og ikke infeksjon ble målt).

### Genetiske studier av medfødte immunkomponenter

Ytterligere bevis for at mikrobiell eksponering spiller en rolle i astmautvikling kom fra den andre siden av barrieren: Genetiske studier identifiserte genetiske endringer i det medfødte immunpatogens gjenkjennerreseptorer med evne til å modifisere risikoen for astma. Det første beviset kom fra CD14, et reseptormolekyl involvert i gjenkjenning av bakterieveggkomponenter (som endotoksiner). En promoter-polymorfisme var forbundet med løselig CD14-protein i serum i mange studier, og fenotyper av allergi i noen andre studier. CD14-polymorfisme, som var identifisert i promoterregionen av genet, endrer CD14-proteinet i serum i mange studier og fenotyper av allergi i andre. CD14-polymorfisme som var identifisert i promoterregionen av genet, endrer også CD14-proteinet in vitro. Det er interessant at effekten synes å være avhengig av nivået av mikrobiell eksponering. Dette var først foreslått av Donata Vercelli i hennes «En-



FIGUR 2. Det medfødte og adaptive immunsystemet

a)

Utviklingen av T-hjelpeselle 1 (TH1) er fremskyndet av signaler fra det medfødte immunsystemet. Første trinn i utviklingen er at interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) virker (gjennom en signaltransmittor og aktivator av transkriptor 1 [STAT1]) sammen med (signaler fra) T-cellereseptoren (TCR) for å øke uttrykket av T-bet (betydelig) ved hjelp av naive T-celler. Dette resulterer i remodellering av genet som koder for omforming av IFN- $\gamma$  til aktiv status og induserer uttrykket av interleukin 12 reseptor 2-subenheten (IL-12R2). Deretter kan signaler fra IL-12 forsterke TH1-responsen på to måter. IL-12 kan øke produksjon av IFN- $\gamma$  direkte, og kan fremme uttrykket av IL-18 reseptoren (IL-18R) ved å åpne opp en alternativ vei for IFN- $\gamma$ -produksjon, som kan virke så lenge inflammatoriske cytokininer produseres. DC, dendrittceller; NKT-celle, naturlig drepecelle.

b)

TH2-celler kan utvikles som respons på en utenforliggende IL-4 kilde, eller som en fast syntesevei i fravær av inhibering fra medfødte immunsignaler. I naive T-celler er GATA3 lite uttrykt, men det kan være tilstrekkelig til at noen naive T-celler produserer litt IL4, som igjen fører til en utviklingskaskade av TH2-celler i fravær av inhibering. Videre kan uttrykk av GATA3 reguleres positivt av CD28 og ICOS (induserbar kostimulator), og undertrykkes via innflytelse av leukocyt-funksjonsforbundet antigen 1 (LFA1). Den primære dendrittcellen (DC) kan altså påvirke TH2-celleengasjement via uttrykk av CD80/CD86, PD1 og intercellulær adhesjonsmolekyl 1 (ICAM1), NKT-celle, naturlig drepecelle (T-celle). TLF (Toll-lignende reseptor). (ref Murphy K. 2002 (4))

doctrine Switch Theory» (7) og senere vist ved assosiasjonsstudier (8, 9). Disse resultatene indikerte at en polymorfisme i CD14-promotere modifiserte IgE-nivåene avhengig av endotoksinnivåer (målt i barns madrasser) som en indikator på

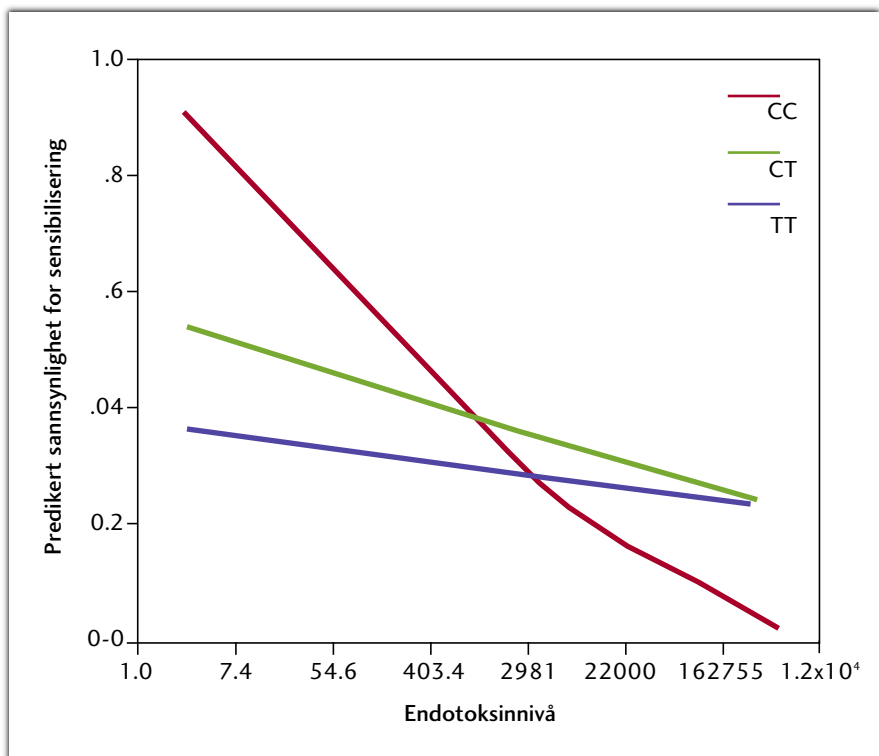
mikrobiell eksponering. Både hos populasjoner med bønder (8) og uten bønder (9), er den polymorfe C-allelen forbundet med mindre IgE (8) og mindre allergi (9) hos barn eksponert for høye nivåer av endotoksin, og motsatt hos barn ut-

satt for lave endotoksinnivåer (FIG 3).

Risiko for astma er ikke bare påvirket av genetiske endringer i CD14; polymorfismer og mutasjoner i andre patogenreseptorer er også påvist å virke inn på astma og allergi. Et spesielt program fra American National Institute of Health (NIH) ble utviklet for å identifisere genetisk variasjon i komponenter i det medfødte immunsystemet, med spesiell fokus på TLR-gener (innateimmunity.net). Flere av disse TLR-genene viste genetisk variasjon, og opphopningen der mange TLR-gener viste seg å være blant en av områdene i det humane genomet som utviste størst variasjon (10). En forklaring på denne variasjonen kan være at disse reseptorene bidrar til å øke potensialet for tilpasning og kan muliggjøre gjenkjenning av et større utvalg patogener i den polymorfe populasjonen. Bedre tilpasning til endringer i (det mikrobielle miljøet) kan øke sjansene for at arten overlever.

Noen av de genetiske variasjonene i TLR introdusert ved mutasjon, kan riktignok også disponere for utvikling av immunavvik som fører til allergier og astma. De første resultatene for dette kom også fra genetisk analyse av TLRs effekt hos bønder barn (11). Hos bønder barn – men ikke hos barn som vokser opp i landlig miljø uten eksponering for gårdsmiljø – var det slik at eksponering for en polymorfisme i TLR2-promotoren førte til signifikant modifisering av risikoen for å utvikle allergisk sensibilisering, høysneue og astma. I denne studien var det imidlertid subgrupper av fenotyper som ble analysert; i og med at prevalensen av astma og andre atopiske sykdommer er ekstremt lav hos bønder barn, må disse dataene betraktes som prelimnære inntil de bekreftes hos en uavhengig populasjon. Denne studien er foreløpig ikke konklusiv for barn som lever i urbane miljøer.

Vi har nylig screenet genetiske varianter av alle de ti humane TLR-genene på en systematisk måte hos store urbane befolkningsgrupper; TLR-polymorfismer viste seg å ha sammenheng med astmautvikling hos barn (12). Særlig TLR-reseptorene 1 og 6, som danner komplekser med TLR2, viste seg å være sterkt (og repliserbart) forbundet med atopisk astma hos store populasjoner av europeiske barn. Alle polymorfismene som var signifikant forbundet med atopisk astma, ble funnet i TLR som hovedsakelig gjenkjen-



FIGUR 3. Sannsynlighet for atopisk sensibilisering, basert på CD14-genotyper og endotoksinnivåer i en urban britisk populasjon. Sannsynlighetskurver (utledet fra logistisk regresjonsanalyse) for allergisk sensibilisering i femårsalderen, hos barn med genotyper CC, CT og TT i promotorregionen av CD14-genet (CD14/\_159 C til T) versus endotoksinmengde i miljøet. (REF SIMPSON A 2006 (9)).

ner ligander som stammer fra bakterier. Når man tar i betraktning det brede spekteret av signaler som gjenkjennes av TLR-systemet, er dette fascinerende. Begge heterodimerene TLR2/1 og TLR2/6 (som medierer respons til visse lipopeptider) stammer fra mikrober. TLR2/1 aktiveres av triacylerte lipoproteiner fra flere bakterietyper, lipoarabinomannan av *Mykobakterier*, mens TLR2/6 spesifikt gjenkjenner diacyl lipopeptider fra *Mycoplasma*, zymosan fra fungi og lipoteichoisk syre fra gruppe B *Streptococcus* og *Staphylococcus*. Alle disse mikroorganismene har kapasitet til å indusere alvorlige pulmonalinfeksjoner, men er også hyppig funnet i øvre respirasjonsveier i fravær av infeksjon. Disse polymorfismene synes ikke å føre til tap av TLR-funksjon (dvs. ingen alvorlig effekt på infeksjonstendens er sannsynlig), men til en modifisering av effekter som er forbundet med TLR2-heterodimere nettverk.

Det er interessant å legge merke til at CD14 og TLR2 interagerer ved gjenkjenning av visse bakterielle komponenter. Observasjonene er ikke nødvendigvis tilfeldige, men synes å påvirke ulike komponenter i en felles reaksjonsvei. Hva som

er avgjørende for den beskyttende effekten det har å vokse opp på gård, er ikke klarlagt, men genetiske studier kan bidra til å snevre inn antall miljøfaktorer som er involvert i astmaforebygging. Det er på ingen måte gitt at TLR2-veien med komponentene TLR1, TLR6 og CD14, er de eneste faktorene i det medfødte immunsystemet som bidrar til astma og allergiutvikling. De data som hittil er innsamlet kan bidra til å forstå mekanismene for sykdomsutvikling og forebygging av astma. Signaler fra TLR2-nettverket, som modifiseres av TLR2-reseptorsystemets genetiske sammensetning og er avhengig av dosen for mikrobiell eksponering, synes å trigge effekter fra det adaptive immunsystemet – som igjen resulterer i forhøyede totale og spesifikke IgE-nivåer, astma og atopisk sykdom. Men det er stor avstand mellom patogengjenkjenning og astmautvikling og et stort antall intermedieære trinn i immunsystemet kan være involvert; for eksempel interferon og cytokinproduksjon, samt transkripsjonsfaktorer som styrer celleutvikling (for eksempel T-bet og GATA3 for T-celler). Endringer i disse intermedieære trinnene kan også påvirke risikoen for sykdom, ja til og med forhindre den. ▶

## Avslutning

Med nye gjennombrudd i teknologiutviklingen innen genetikk (10), er det nå mulig å studere genetisk variasjon på genomnivå, ikke bare ved å undersøke noen få polymorfismer om gangen, men mer enn en million per individ i ett eksperiment. Sekvensering av hele genomet hos tusenvis av pasienter og kontroller vil være mulig i nær fremtid. For å undersøke interaksjoner på gennivå med nye verktøyer hos pasienter med astma (og andre komplekse sykdommer), vil det trenge bedre studier for å undersøke miljøeksponering. Bare da kan vi forstå astma som en kompleks interaksjon mellom gener og miljø og skreddersy våre intervensjoner ved behandling og forebygging.

## Referanser

1. Eder W, Ege MJ, von Mutius E. The asthma epidemic. *N Engl Journal Med* 2006; 355: 2226–35.
2. Braun-Fahrlander C, Riedler R, Herz U,

- Eder W, Waser M, Grize L, Maisch S, Carr D, Gerlach F, Bufe A, Lauener R, Schierl R, Renz H, Nowak D, von Mutius E. 2002. Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N Engl Journal Med* 2002; 347: 869–77.
3. Stein R, Sherrill TD, Morgan WJ, Holberg CJ, Halonen M, Taussig LM, Wright AL, Martinez FD. Respiratory syncytial virus in early life and risk of wheeze and allergy by age 13 years. *Lancet* 1999; 354: 541–5.
4. Murphy KM, Reiner SL. The lineage decisions of helper T cells. *Nature reviews* 2002; 2: 933–44.
5. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006; 124: 783–801.
6. Kabesch M, Lauener RP. 2004. Why Old McDonald had a farm but no allergies: genes, environments, and the hygiene hypothesis. *Journal of leukocyte biology* 2004; 75: 383–7.
7. Vercelli D. Learning from discrepancies: CD14 polymorphisms, atopy and the endotoxin switch. *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 153–5.
8. Eder W, Klimecki W, Yu L, von Mutius E, Riedler J, Braun-Fahrlander C, Nowak D,

- Martinez. Opposite effects of CD 14/-260 on serum IgE levels in children raised in different environments. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116: 601–7.
9. Simpson A, John SL, Jury F, Niven R, Woodcock A, Ollier WE, Custovic A. Endotoxin exposure, CD14, and allergic disease: an interaction between genes and the environment. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174: 386–92.
10. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2007; 447: 661–78.
11. Eder W, Klimecki W, Yu L, von Mutius E, Riedler J, Braun-Fahrlander C, Nowak D, Martinez FD. Toll-like receptor 2 as a major gene for asthma in children of European farmers. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 482–8.
12. Kormann MS, Depner M, Hartl D, Klopp N, Illig T, Adamski J, Vogelberg C, Weiland SK, von Mutius E, Kabesch M. Toll-like receptor heterodimer variants protect from childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122: 86–92, 92 e81–88.