

Kua, gutten og lymfeknuten – immunologiske prinsipper for vaksinasjon

Sammendrag

Vaksiner stimulerer immunsystemet ved å aktivere profesjonelle antigenpresenterende celler, deriblant dendritiske celler. Dendritiske celler uttrykker en rekke mønstergjenkjenneresreseptorer (MGR) på overflaten, reseptorer som gjenkjenner strukturer på virus og bakterier. Disse reseptorene stimulerer til modning av dendritiske celler, som deretter migrerer til lymfeknuter og presenterer vaksineantigen til T-celler. Vaksinens MGR-ligander er bestemmende for om man får en hensiktsmessig immunrespons, og effektiv langvarig immunitet.

I denne artikkelen gjennomgås cellulære prinsipper og mekanismer for vaksineresponser, inkludert antigennedbrytning, antigenpresentasjon, T-celleresirkulering, Th1-, Th2- og CTL-T-celleresponser og T-B-cellesamarbeid, samt primære og sekundære B-celleresponser.

Engelsk sammendrag finnes i artikkelen på www.tidsskriftet.no

Oppgitte interessekonflikter: Ingen

> Se også side 2504

Ludvig André Munthe

l.a.munthe@medisin.uio.no
Immunologisk institutt
Fakultetsdivisjon Rikshospitalet
Universitetet i Oslo
og
Rikshospitalet-Radiumhospitalet
0027 Oslo

Edward Jenner (1749–1823) beskrev vaksineringsprinsippet i 1796 (1). Koppeepidemier var et stort problem i Jenners samtid, kopper var en infeksjon som forårsaket stor barnedødelighet og i tillegg vansiret en betydelig del av verdens befolkning. Letaliteten var over 30 % (2). Ved sitt forsøk der han vaksinerte gutten James Phipps (fig 1), viste Jenner at kroppen kunne utvikle en motstand mot koppeinfeksjon dersom man tidligere

hadde gjennomgått en immunrespons mot det nær beslektede kukoppeviruset. Uten å vite det, hadde Jenner oppdaget ervervet immunitet og immunologisk hukommelse, og tatt det første skrittet mot utryddelsen av kopper. Koppeviruset var også det første viruset som ble erklært utryddet av WHO i 1980.

I det følgende omtales immunologiske prinsipper for vaksinasjon, først ved gjennomgang av celler og ervervet immunitet, deretter beskrives igangsettelsen av immunresponser med utgangspunkt i antigenpresenterende celler, og det trekkes linjer til vaksinasjonsstrategier.

Medfødt og ervervet immunitet

Kroppens hud og slimhinner danner barrierer som utgjør første forsvarsverk i medfødt (non-adaptiv) immunitet. I tillegg har vi proteiner i sekreter og i plasma som beskytter oss mot bakterier og virus. En rekke plasma-proteiner inngår i komplementsystemet, en kaskade som er spesielt viktig i den tidlige fasen av infeksjoner. Bakterier aktiverer komplementfaktorer, og det dannes komplementfaktorfragmenter: Opsoniner (C3b) binder reseptorer på fagocytter, anafylatoksiner (C5a, C3a) aktiverer mastceller, kje-motaksiner (C5a) rekrutterer leukocytter til inflammasjonen. Det dannes også terminalt komplementkompleks (C5b-C9) som lase-rer bakterier (3).

Leukocytter inndeles i lymfocytter (T-celler, B-celler, NK-celler (naturlige drepeceller)), monocytter, dendritiske celler og granulocytter (e-fig 2). Ervervet (adaptiv) infeksjonsforsvar, som utvikles som en følge av kontakt med mikroorganismer, er avhengig av lymfocyttesponser og har tre kjennetegn: spesifisitet, hukommelse og toleranse (3). En spesifikk reaksjon betegnes ved at lymfocytter reagerer med ett antigen (og ikke et annet ubeslektet antigen). Immunologisk hukommelse innebærer at lymfocytter som er spesifikke for et antigen, gjennomgår celledeling for å bli langlivede hukommelsesceller. Toleranse omtales ikke nærmere her, men krever at lymfocytter ikke reagerer på kroppens egne celler og proteiner.

Opplasting av antigenpresenterende celler

La oss se på hvordan et moderne immunologisk perspektiv ville forklare funnene til Jenner. Gutten James Phipps (fig 1) ble immunisert subkutant med et inokulat av ku-

koppevirus. I huden og i subkutant vev finnes spesialiserte antigenpresenterende celler kalt dendritiske celler. Disse er oftest hvilende og kalles da umodne. I hvilefasen tar dendritiske celler opp ekstracellulærvæske tilsvarende flere ganger deres eget volum hvert døgn. Denne prosessen, makropinocytose, gjør at dendritiske celler lastes opp med de antigenene som til enhver tid finnes i det aktuelle vevet (3), for eksempel kukoppeantigener etter vaksineringsen. Proteinantigener brytes ned til peptider, som så binder groppen til MHC-klasse II-molekyler (ramme 1), for videre transport ut til cellens overflate (fig 3) (3, 4).

Mønstergjenkjenneresreseptorer

Dendritiske celler har en lang rekke reseptorer som aktiverer cellen ved kontakt med bakterie- og virusprodukter. Slike mønstergjenkjenneresreseptorer (MGR) (5) er helt nødvendig for det medfødte immunforsvarets gjenkjenning av patogener. Den største gruppen av mønstergjenkjenneresreseptorer er Toll-liknende reseptorer (TLR, en gruppe som har fått navnet sitt etter toll-reseptor oppdaget i bananflue) (5). Mønstergjenkjenneresreseptorer aktiverer og modner monocytter, makrofager og dendritiske celler. Tabell 1 inneholder en liste av bakterieantigener og deres MGR-ligander, med sentrale referanser (6–21).

Ved infeksjoner, eller som i gutten James Phipps' tilfelle, etter subkutan vaksinerings med virus, vil dendritiske celler meget effektivt modnes ved hjelp av mønstergjenkjenneresreseptorer. De vil deretter vandre til lymfeknutens paracortex, hvor de presenterer et antigen «øyeblikksbilde» til T-celler (fig 4).



Hovedbudskap

- Vaksiner setter i gang immunresponser som beskytter organismen mot infeksjoner
- Vaksiner aktiverer antigenproduserende celler, som gjennom reseptorer på overflaten er i stand til å gjenkjenne strukturer på virus og bakterier
- De antigenproduserende cellene migrerer til lymfeknuter og presenterer vaksineantigen overfor T-celler, en immunrespons settes i gang og langvarig immunitet etableres

For optimalisering av vaksiner er det nødvendig å simulere den aktivering som antigenpresenterende celler får fra mikroorganismer (22). Kunnskap om mønstergjenkjennelsesreseptorer og om hvordan man kan få den ønskede aktiveringen av dendritiske celler, står derfor sentralt. Tradisjonelle vaksiner benytter gjerne svekkede eller drepte mikroorganismer og drar nytte av patogenets egne ligander for mønstergjenkjennelsesreseptorer. Eksempelvis aktiverer den levende attenuerte gulfbevirusvaksinen (YF-17D) en rekke toll-liknende reseptorer (TLR2, 7, 8 og 9) (21). En utfordring for moderne vaksineutvikling er å skreddersy vaksiner til å optimalisere igangsettingen av immunresponsen og å fremprovosere den ønskede typen av immunrespons som initieres av dendritiske celler, jf. omtale av TLR og Th1/Th2-balansen nedenfor.

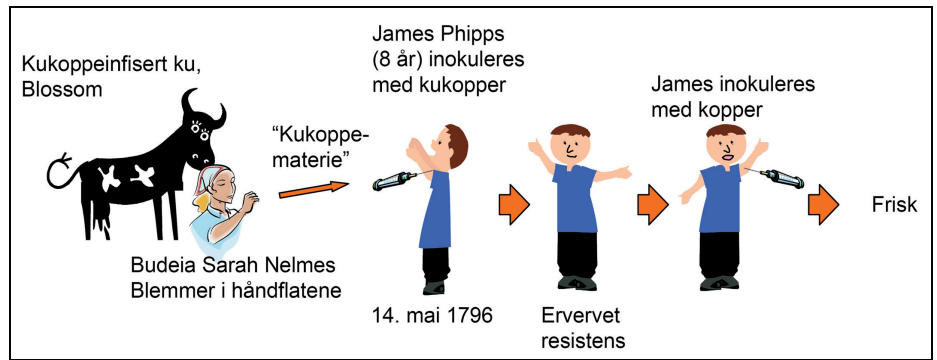
T-cellereseptor og B-cellereseptor

T-cellereseptor og B-cellereseptor er grunnlaget for immunologisk hukommelse og ervervet immunitet. En reseptor på én dendritisk celle er lik den som finnes på nabocellen. Dette er ikke tilfellet for lymfocytter, hvor T-cellereseptor (TCR) eller B-cellereseptor (BCR, membranbundet antistoff) kan være helt unike for den aktuelle cellen. For å forstå hvordan immunsystemet klarer å gjenkjenne et bredt repertoar av antigene determinanter, kreves det en kort gjennomgang av mekanismen for mangfold av T- og B-lymfocyttenes reseptorer.

Prinsipielt er mekanismen for danningen av lymfocyttereseptormangfold lik for B- og T-celler. B-celler gjennomgår en såkalt rearrangering av BCR-gener i utviklingen i beinmargen (23). Ett V-gensegment, ett D-gensegment (for tungkjeder) og ett J-gensegment settes tilfeldig sammen, og mellomliggende gensegmenter klippes bort (e-fig 5). Det samme skjer for T-lymfocytter og T-cellereseptor (TCR), men da i thymus. T-cellereseptor har to kjeder, rearrangeringen av TCR- α -kjedegensegmentene tilsvarer lett kjedegensegmentene, mens TCR- β -locus tilsvarer tungkjedelocus. Denne tilfeldige rearrangeringen resulterer i cirka 10^9 – 10^{12} potensielt unike reseptorer for T- og B-celler, noe som forklarer hvordan det er mulig å danne reseptorer som kan binde nesten alle tenkelige antigener (3). Merk at det ikke ligger noen antigenseleksjon i lymfocytmodningen. B-celler som kommer fra beinmargen er altså ikke selektert for å kunne binde et antigen, og cellene har ingen viten om eksistensen av antigen (de kalles derfor naive lymfocytter). Bare tilfeldigheter avgjør om deres B-cellereseptor kan binde mikroorganismer i kroppen (3).

Seleksjon, emigrasjon og resirkulering

I beinmargen fjernes B-celler som reagerer på kroppens egne antigener (selvantigener). Det samme skjer for T-celler i thymus. Denne prosessen kalles negativ seleksjon (3). De



Figur 1 Det første vaksinasjonsforsøket i 1796. Budeia Sarah Nelves hadde utviklet blommer i håndflatene etter å ha melket kua Blossom (ordet vaksine er avledet fra vacca, latin, ku). Edward Jenner tok eksudat fra blommene, et inokulat som han ga åtteåringen James Phipps. Seks uker senere fikk James ekstrakt fra en koppeinfisert pasient, en behandling som normalt ville resultere i koppesykdom, en livstruende sykdom, men han forble frisk. Forsøket demonstrerte at resistens kan erverves ved vaksiner, men kan trygt sies ikke å tilfredsstille dagens forskningsetiske krav

gjenværende lymfocytene har reseptorer som ikke reagerer på kroppsegne proteiner.

Godkjente B-celler og T-celler emigrerer deretter ut i blodbanen som naive lymfocytter og vandrer til lymfeknuter og annet sekundært lymfoid vev. I lymfeknuter ekstraheres både T- og B-lymfocytene gjennom spesialiserte høyendotelvenyler i paracortex (fig 6A).

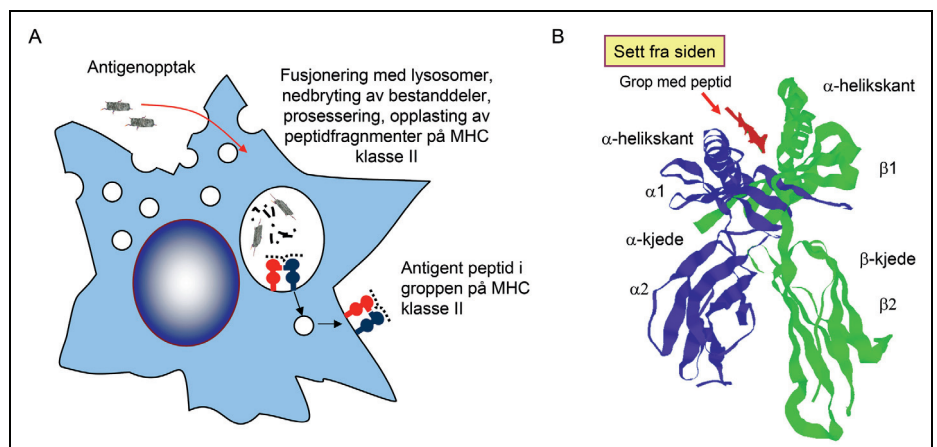
Presentasjon til hjelpeceller og cytotoxiske celler

T-celler inndeles i to hovedgrupper, etter trykk av enten CD4-koreseptor eller CD8-koreseptor (3). CD4-positive ($CD4^+$) T-celler kalles hjelpeceller, mens CD8-positive ($CD8^+$) T-celler kalles cytotoxiske T-lymfocytter (CTL). I motsetning til B-celler, som med sine B-cellereseptorer kan binde konformasjonsdeterminanter på hele proteiner, gjenkjenner T-cellereseptor antigen peptid som ligger i gropen på MHC-klasse I- eller II-molekyler.

Nukleære og cytosolære proteiner brytes

konstitutivt ned, og peptider fraktes over den endoplasmatiske retikulummembranen for å havne i gropen på MHC-klasse I-molekyler (3). Nedbrutte virusproteinfragmenter som uttrykkes av infiserte celler, havner altså som peptider på MHC-klasse I-molekyler. MHC klasse I/peptidkomplekset kan gjenkjennes av T-cellereseptor på cytotoxiske T-lymfocytter. CD8-koreseptoren benyttes av T-cellen til å stabilisere bindingen til MHC-klasse I-molekyler. MHC-klasse I-molekyler finnes på nesten alle kjerneholdige celler, som dermed kan presentere viruspeptidantigen til CD8-positive T-celler (3).

MHC klasse II uttrykkes bare av såkalte profesjonelle antigenpresenterende celler (dendritiske celler, makrofager, B-celler). Proteinfragmenter derivert fra ekstracellulærvæsken, eller fra det sekretoriske apparatet, havner som peptider i gropen på MHC-klasse II-molekyler. Dermed vil de aller fleste vaksineantigener presenteres på MHC-klasse II-molekyler, via endocytose



Figur 3 Opplasting av peptider i gropen på MHC-molekyler. A. Profesjonelle antigenpresenterende celler (APC) endocytterer antigener, endosomer fusjonerer med MHC klasse II inneholdende vesikler, pH reduseres, og enzymer bryter ned proteiner til peptidfragmenter som lastes opp i gropen av MHC klasse II. MHC klasse II/peptidkomplekset fraktes deretter til overflaten av cellen, og kan gjenkjennes av T-cellereseptor (TCR) på overflaten av T-lymfocytter. B. Krystallstrukturen til MHC-klasse II-molekylet (3, 4). MHC klasse II består av en α - og en β -kjede. Den peptidbindende gropen ligger mellom to såkalte α -helikser fra α_1 og β_1 domene. Figuren er modifisert fra (3)

Ramme 1*Antigenpresenterende celle (APC)*

- Slike celler kan være profesjonelle APC, da uttrykker cellene både MHC klasse I og klasse II i tillegg til kostimulerende molekyler.

B-cellereseptor (BCR)

- Membranbundet antistoff (kalles også membranbundet immunoglobulin). I utskilt form: Immunoglobulin, antistoff.

CD-antigener

- Fra «cluster of differentiation», markerer som benyttes til å karakterisere celler og vev.

CD4-koreseptor

- Markør for T-hjelpeceller, CD4-positive T-celler er spesialisert til å samarbeide med monocytter/makrofager/dendritiske celler eller B-celler.

CD8-koreseptor

- Markør for cytotoksiske T-celler. CD8-positive T-celler dreper virusinfiserte celler.

Dendritisk celle (DC)

- Den mest effektive profesjonelle antigenpresenterende cellen.

*MHC-komplekset**(major histocompatibility complex)*

- Vevsforlikelighetsantigener. Disse benyttes av antigenpresenterende celler til å presentere antigene peptider til T-celler. MHC klasse I bindes av CD8, som finnes på cytotoksiske T-celler. MHC klasse II på overflaten av antigenpresenterende celler bindes av CD4 på T-hjelpeceller.

HLA (human leukocyte antigen)

- MHC hos mennesket.

Mønsterkjennelsesreseptorer (MGR)

- Samlebetegnelse på reseptorer, for eksempel TLR, som har som funksjon å binde patogene agenser, bakterier, virus og sopp. Kalles på engelsk pattern recognition receptors (PRR).

Toll-liknende reseptorer (TLR)

- Mønsterkjennelsesreseptorer som finnes på antigenpresenterende celler hos pattedyr. Toll-reseptorer ble først oppdaget hos bananfluor, og liknende reseptorer ble siden funnet hos en rekke arter, deriblant hos mennesket.

og endosomal prosessering av proteinantigener (fig 3). CD4⁺-koreseptoren binder MHC klasse II, og øker dermed aviditeten.

Attenuerte virale vaksiner vil ved transkripsjon og translasjon uttrykke cytosolære eller nukleære proteinantigener som havner i gropen på MHC klasse I. Derimot vil dreppe vaksiner endocytteres og presenteres på MHC klasse II. Hvordan får man da aktive-

Tabell 1 Antigenbinding til mønsterkjennelsesreseptorer (MGR)

	Mikroorganisme	Binding til MGR
<i>Bakterieantigen</i>		
LPS	Gramnegative bakterier	LPS binder plasmaproteinet LPS-bindende protein (LBP) og deretter TLR4 ¹ (6)
LTA, lipoproteiner Peptidoglykan	Grampositive bakterier Gruppe B-streptokokker, Staphylococcus aureus	TLR2 (7), TLR6/TLR2/TLR1 (8, 9)
CpG-DNA ²	Bakterier og mykobakterier	TLR9 (10)
Flagellin	Flagellate bakterier	TLR5 (11)
Lipoarabinomannan	Mykobakterier	TLR2, Dectin-1, (TLR4) (12)
Triacylerte lipoproteiner	Mycobacterium leprae	TLR1/TLR2 (13)
Mannose	Bakterier	Mannosereseptor
<i>Virusantigen</i>		
CpG-DNA	Virus, f.eks. HSV-1, HSV-2, og musecytomegalovirus (MCMV)	TLR9 (14, 15)
Dobbelttrådet (ds)RNA	Virus	TLR3 (16), retinoic-acid-inducible protein I (RIG-I) (17)
Enkelttrådet (ss)RNA	RNA-virus	TLR7, TLR8 (18)
F(fusjons)-protein	RSV	TLR4 (19)
Hemagglutininprotein	Meslingvirus	TLR2 (20)
YF-17D-vaksine	Gulfeber	TLR2, 7, 8 og 9 (21)

¹ Følgende toll-liknende reseptorer (TLR) uttrykkes på celleoverflaten: TLR1, 2, 4, 5, 6. TLR danner ofte heterodimerer, f.eks. TLR2/TLR6. TLR3, 7, 8, 9 uttrykkes nesten bare intracellulært, og patogene antigener må derfor endocytteres. TLR benytter felles signaleringsvei, som deles med IL-1-reseptoren

² Bakteriell DNA inneholder ofte sekvenser med kombinasjoner av C- og G-nukleotidene, som i motsetning til hos pattedyr ikke er metylert. Pattedyrceller har TLR9 som har affinitet for bestemte sekvenser av slike CpG-motiver. TLR9 uttrykkes i endosomer, og bakteriell DNA må derfor endocytteres, eller hele bakterien fagocytteres

ring av CD8-positive T-celler ved vaksiner som inneholder ikke-viable virus? Ved kraftig aktivering av antigenpresenterende celler skjer krysspresentasjon (cross priming) av ekstracellulære proteiner på MHC klasse I. Den nøyaktige mekanismen for dette er fortsatt uklart, men TLR3 ser ut til å spille en rolle (24).

Aktivering av T-celler

Dersom en naiv CD4-positiv T-celle tilfeldigvis har en T-cellereseptor (TCR) som kan binde et peptid presentert i gropen på MHC-klasse II-molekyler (for eksempel et peptid fra kopperpeviruset), mottar den både stimulering via T-cellereseptor og kostimulering via overflateproteiner som CD28 (som ligger av CD80, CD86; fig 4B). Det dannes da en tett synapse mellom cellene og signaleringsapparatet polariseres inn mot synapsen (3). Etter flere timer har den naive T-cellen fått tilstrekkelig stimulering for å lage både vekstfaktoren IL-2 og IL-2-reseptorer. T-cellen gjennomgår så en kraftig celledeling som i løpet av noen uker kan resultere i titusenvis av datterceller, alle med samme spesifisitet, nå kalt effektorceller eller hukommelsesceller.

Det er to viktige forskjeller mellom den naive T-cellen og effektorcellen. For det første har effektorceller et annet sett med

kjemokinreseptorer (fig 6B) som lokker cellen ut i betent vev – og ikke bare til lymfeknuter. Effekten av en vaksine er dermed å mangfoldiggjøre spesifikke hukommelsesceller, som umiddelbart kan dra til det infiserte stedet ved en infeksjon (fig 6B). Effektorceller utskiller dessuten inflammatoriske cytokiner som aktiverer en rekke celler, slik som monocytter, makrofager og dendritiske celler (fig 6B, e-tab 2). Effektorcellen kan drepe virusinfiserte celler (og for eksempel kreftceller) ved å indusere aktivert celledød (apoptose) i målcellene. Alternativt kan effektorceller gi hjelp til B-celler og aktivere dem til å utskille antistoff.

Polarisering av effektorfunksjon

CD4-positiv T-hjelpeceller kan inndeles i to grupper med vidt forskjellige effektorfunksjoner, Th1- og Th2-celler. CD4-positive Th1-celler, som ofte kalles inflammatoriske hjelpeceller, utskiller interferon- γ (IFN- γ , i tillegg til for eksempel IL-2 og TNF) (e-tab 2). Th1-celler er meget potente til å aktivere monocytter, makrofager og dendritiske celler. Th1-celler er også helt nødvendige for eliminering av intracellulære bakterier som Mycobacterium leprae og Mycobacterium tuberculosis. I tillegg er Th1-celler spesielt effektive i kampen mot virusinfeksjoner. Videre er det vist at Th1-

celler effektivt kan eliminere kreftceller (25, 26). Th1-celler kan også indukere apoptose i målceller ved at Fas-ligand (FasL) på Th1-cellens overflate binder Fas (CD95) på målcellen (26). For de fleste formål er det derfor ønskelig å indukere Th1-responser ved vaksiner.

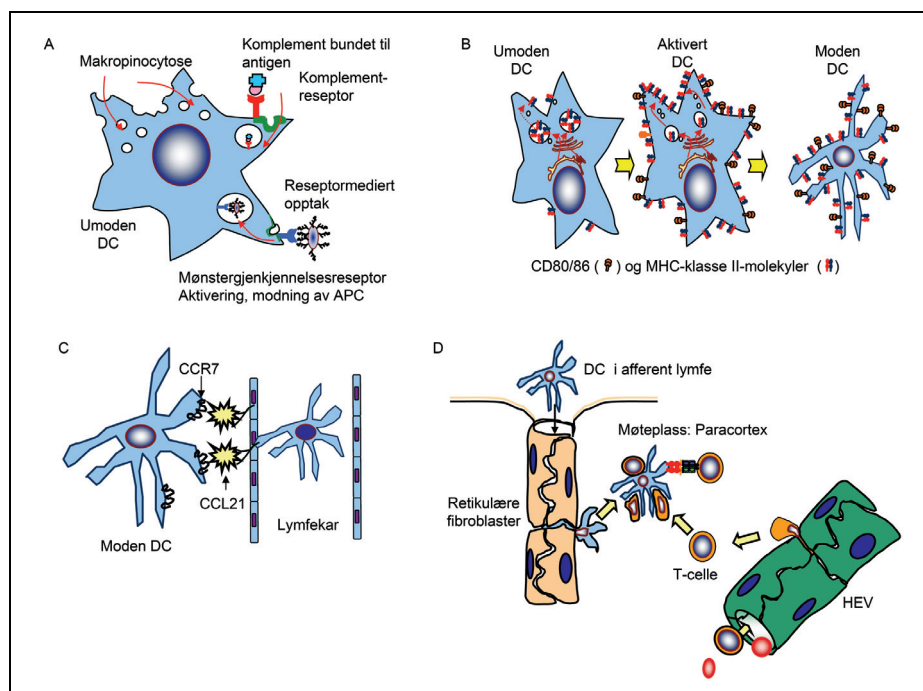
CD4-positive Th2-celler er dårlige hjelpere av dendritiske celler og makrofager, men er meget gode hjelpere av B-celler, utskiller IL-4 og IL-13 og er nødvendig for bekjempelse av helmintinfeksjoner. Et viktig poeng er at Th1- og Th2-celler gjensidig hemmer hverandre (tab 2). Dessuten kan dendritiske celler aktiveres av patogener til å favorisere den ene eller andre responstypen. Lipopolysakkarid (LPS) fra patogener og mindre patogener bakterier inducerer henholdsvis Th1- og Th2-responser, sannsynligvis grunnet forskjellig TLR4-signalering (27).

Det er vist at selekterte TLR-ligander kan polarisere responsen mot Th1-celler ved stimulering av humane dendritiske celler (28, 29). Legering av TLR2 kan indukere Th2-responser (30–32). En effektiv virusvaksine mot gulfeber (YF-17D) resulterer i både Th1- og Th2-responser (med Th1-overvekt) (21). Dersom YF-17D-vaksinerte mus mangler TLR2, utvikles en kraftig Th1-respons (21). I lys av slike resultater, pågår en aktiv forskning for å utvikle vaksiner som favoriserer Th1-responser. Eksempelvis inducerer Hiv-Gag-protein koblet til TLR7/9-agonister en kraftig og vedvarende Th1-respons i tillegg til CD8-positiv T-cellerespons hos aper (33).

Lisensiering av dendritiske celler

CD4-positive T-celler potenserer antigenpresentasjonsfunksjonen av dendritiske celler ved hjelp av membranbundet CD40-ligand (CD40L), som binder CD40 på de dendritiske cellene. Dermed bedres cellens evne til å presentere til naive CD8-positiv T-celler, en mekanisme som kalles lisensiering av dendritiske celler (34). I tillegg utskiller CD4-positive T-celler cytokiner, for eksempel IL-2 og IL-15, som parakrint tilfører vekstfaktorer for CD8-positiv T-celler (e-tab 2). CD8-positiv cytotoxiske T-lymfocytter (CTL) har som hovedfunksjon å drepe virusinfiserte celler. Det er altså en stor fordel for virale vaksineantigener at det finnes epitoper som aktiverer både CD4-positive (med lisensiering av dendritiske celler) og CD8-positiv celler.

Etter aktivering vil virusspesifikke CD4-positive T-celler og CD8-positiv T-celler endre sine kjemokinreseptorer på overflaten og erverve evnen til å vandre til betent vev (fig 6B). Når gutten James Phipps igjen fikk en inokulering, denne gangen med koppevirus, hadde han T-celler som kunne dra direkte til det aktuelle virusinfiserte vevet. Koppevirusinfiserte celler ble dermed angrepet av kopespesifikke CD8-positiv T-celler, som induerte apoptose i målcellene. Som støtte til CD8-positiv T-celleresponser vil



Figur 4 Vaksiner, aktivering og migrering av dendritiske celler. A. Dendritiske celler, eksempelvis langerhansceller i huden og subkutane umodne dendritiske celler, tar opp ekstracellulær væsken ved makropinocytose. Proteiner som tas opp, brytes ned til peptidfragmenter, og peptidene binder seg til gropen av MHC-molekyler (HLA-molekyler). Dendritiske celler har en lang rekke med mønstergjenkjenneresreseptorer (MGR). Når MGR binder bakterie eller virus, aktiveres cellen. MGR kan også føre til reseptormediert opptak av det bundne antigenet. På tilsvarende måte, kan antigener som påheftes komplementfaktorer (for eksempel C3b), aktivere og modne dendritiske celler via komplementreseptorer (CR1, CD35) og føre til fagocytose. Dette kalles opsonisering. B. På umodne dendritiske celler er det få MHC-molekyler på overflaten, da MHC-molekyler i løpet av mindre enn en time resirkuleres inn i cellen. Ved modning fraktes MHC-molekyler med peptid i gropen til overflaten og forblir der. Modningen medfører også at cellen begynner å uttrykke såkalte kostimulerende molekyler (CD80, CD86), som er viktig for effektiv aktivering av T-celler. C. I løpet av modningen uttrykker cellen kjemokinreseptorer som CCR7. CCR7 gjør at cellen kan binde kjemokinet CCL21 (tidligere kalt SLC). Dette gjør den dendritiske cellen følsom for CCL21-kjemokingradienten slik at den kan vandre inn i vevsdrenerende lymfekar. D. Dendritiske celler vandrer med lymfekaret ned til første drenerende lymfeknute. Her tar den seg ned gjennom lymfeknutens trabekelverk av retikulære fibroblaster, hvor den ekstraherer og vandrer til lymfeknutens T-celleområde, paracortex. På denne måten frakter dendritiske celler et antigen «øyeblikksbilde», tatt under en infeksjon eller ved en vaksiner, til en av immunsystemets kontrollstasjoner. Her møter den dendritiske cellen T-celler. T-celler ankommer paracortex ved å ekstrahere gjennom spesialisert endotel, på såkalt høyendotelvenyler (HEV) i lymfeknutens paracortex. Dersom T-cellen gjenkjenner viruspeptider i gropen på MHC-klasse II-molekyler på overflaten til dendritiske celler, vil T-cellen aktiveres, utskille cytokiner og gjennomgå celledeling. Figuren er modifisert fra (3)

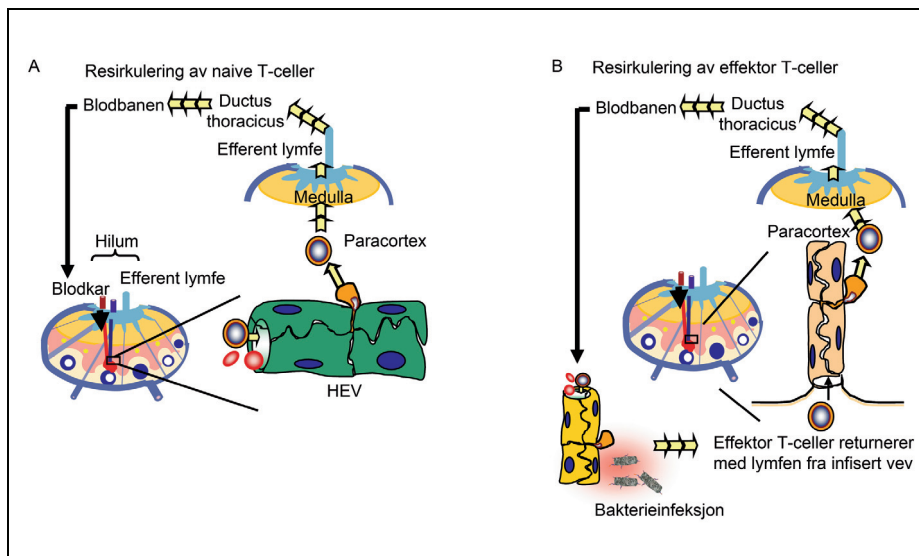
Th1-celler utskille cytokiner, som så aktiverer makrofager og bidrar til drap av virusinfiserte celler. Når virusinfiserte celler drepes, hindres videre mangfoldiggjøring av viruset.

CD4-positive T-celler hjelper B-celler

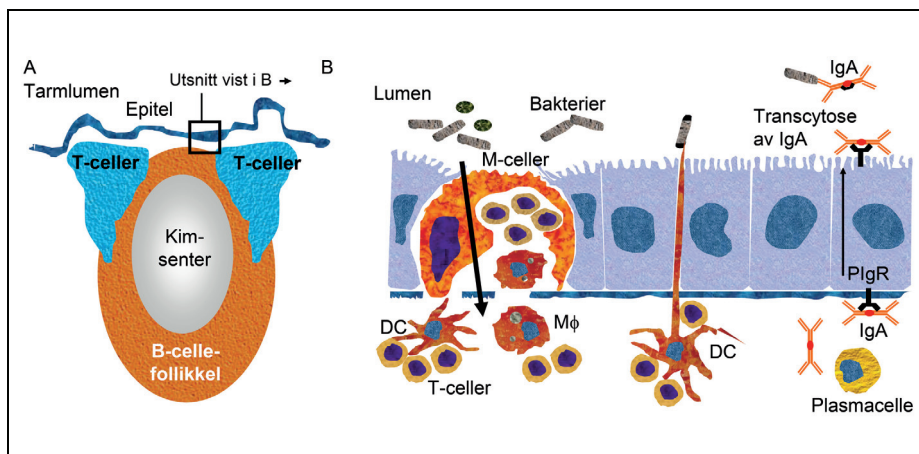
T- og B-celler samarbeider ved å gjensidig stimulere hverandre. T-cellen hjelper B-cellen til å differensiere til hukommelsesceller eller plasmaceller. Ved en infeksjon eller ved vaksinasjon vil antigener dreneres fra vevet til lymfeknuter med den efferente lymfen. B-celler, som hovedsakelig befinner seg i lymfeknutens kortikale follikler, har derfor mulighet til å binde antigener fra et infeksjonsfokus. Dersom en B-celle har en egnet B-cellereseptor med spesifisitet for antigen, binder denne reseptoren antigenet, komplekset internaliseres og antigenet brytes

ned til peptidfragmenter. Peptidene lastes deretter opp i gropen på MHC-klasse II-molekyler og fraktes til overflaten av B-cellen.

En slik BCR-ligering aktiverer B-cellen til å dra dypere inn i lymfeknuten, hvor den vil kunne treffe CD4-positive T-celler i randsonen rundt follikkelen (3). Dersom B-cellen i utkanten av folliklene finner en CD4-positiv T-celle som gjenkjenner det samme antigenet (nå presentert i form av peptid/MHC klasse II kompleks), aktiveres T-cellen. T-cellen stimulerer B-cellen både med cytokiner (for eksempel IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, eller IFN- γ (tab 2), og ved CD40L-ligering av B-cellens CD40 (3). Avhengig av kvaliteten og kvantiteten av de mottatte signalene, vil B-cellen enten dele seg utenfor follikkelen og så differensiere til kortlivede IgM-utskillende plasmaceller (primærrespons), eller vende tilbake til follikkelen for å danne et kimsenter og gjennomgå såkalt



Figur 6 Resirkulering av naive T-celler og effektor-T-celler. A. Naive T-celler sirkulerer i blodbanen og passerer ut i lymfeknuters paracortex gjennom spesialiserte venyler kalt høyendotelvenyler (HEV). T-cellene fester seg til HEV-endotelet med selektiner, kjemokinreseptorer (for eksempel CCR7, som binder CCL21), integriner, og ekstravaserer gjennom endotelet ved diapedese. Dermed kommer T-cellene inn i det ekstravaskulære paracortexvevet og kan reagere på dendrittske celler lastet opp med antigener fra kroppens mange vev. T-cellene migrerer deretter innover i lymfeknuten til margsinuser som samles til efferente lymfekar. Lymfekarene samles i ductus thoracicus, som tømmer seg i v. subclavia. B. Effektor-T-celler erverver et annet sett med kjemokinreseptorer på overflaten. I infisert vev aktiveres makrofager til å utskille kjemokiner (som for eksempel CCL2, tidligere kalt MIP-1 α , CCL2, tidligere MCP-1). T-celler som har kjemokinreseptorer som kan binde disse kjemokinene (henholdsvis CCR1, 4, 5; CCR2, 4, 9), vil stanse opp ved infeksjonsfokus og ekstravasere. I vevet kan T-cellene aktiveres og utøve sin effektorfunksjon, interagere med DC og makrofager (CD40L-CD40, m.fl.), utskille inflammatoriske cytokiner, som IFN- γ , TNF, og drepe målceller (via FasL-Fas-interaksjon). Etter at infeksjonen er bekjempet, kan T-celler migrere tilbake via lymfekar, til blodbanen. Figuren er modifisert fra (3)



Figur 7 Peyerske plakk og mucosaassosiert lymfoid vev (MALV). A. I tynntarm finnes peyerske plakk, strukturer som konseptuelt likner lymfeknuter ved å ha B-cellefollikler, T-celleområder og høyendotelvenyler (3). B. Det er imidlertid ingen efferent lymfe, men spesialiserte epitelceller (M-celler) som frakter antigener over epitelet til T-cellene, B-cellene og dendrittske celler i submucosa (3). Det finnes også spredte dendrittske celler, både her og i andre slimhinner, som har lange utløpere som strekker seg ut i lumen. Dersom slike dendrittske celler treffer på patogener som binder MGR, vil den dendrittske cellen fagocyttere patogenet, aktiveres og dra til drenerende lymfeknuter hvor antigen presenteres. Flesteparten av B-celler, og en stor andel av T-celler i kroppen finnes i mucosaassosiert lymfoid vev (MALV), både i fokale områder, som peyerske plakk eller tonsiller, eller diffus i submucosa. Plasmaceller utskiller IgA-dimerer med J-kjede, som binder poly-Ig-reseptor PlgR på overflaten av epitelceller (37). Komplekset transcytteres og PlgR kuttes av proteolytiske enzymer. Den delen av PlgR som er bundet til IgA etter proteolyse, kalles sekretorisk komponent og beskytter mot proteolyse. Luminalt IgA vil kunne binde bakterier og forhindre at bakterier kan binde seg til epitelceller. Ved tilstedeværelse av patogener i tarmen ligger MGR på epitelceller, uttrykket av PlgR oppreguleres, og uttransportering av IgA effektiviseres (38). Vaksiner som får tilgang til MALV gjennom M-celler, eller via aktiverte dendrittske celler, vil kunne aktivere T- og B-celler. Som for andre vaksiner spiller sannsynligvis MGR en stor rolle for kvaliteten av immunresponsen. Figuren er modifisert fra (3)

somatisk hypermutasjon (sekundærrespons) (3).

De kortlivede plasmacellene står for den såkalte primærresponsen, hvor lavaffinitets IgM-antistoffer utskilles. IgM består av fem (eller seks) antistoffmonomerer ($(H_2L_2)_{5/6}$) (35) og er en meget effektiv komplementaktivator. På tross av en lav affinitet finnes ti (eller 12) antigenbindingssteder. Man sier derfor at IgM har høy bindingsaviditet.

Kimsenterreaksjonen er grunnlaget for den såkalte sekundærresponsen. I B-cellefollikler finnes en spesialisert celle kalt follikulærdendrittske celler (FDC). Denne cellypen har et annet opphav enn dendrittske celler og mangler MHC-klasse II-molekyler, men har rikelig med komplementreseptorer og Fc-reseptorer (3). Antigener som aktiverer komplement eller som binder IgG, dekker derfor follikulærdendrittske celler. B-celler som aktiveres, gjennomgår en meget kraftig celledeling hvor deres antistoffreseptorer muteres i en aktiv prosess der AID-proteinet (activation-induced deaminase) er sentralt (36). B-celler med hensiktsmessige mutasjoner binder bedre antigen på overflaten av follikulærdendrittske celler. De klarer derfor mer effektivt å ta opp antigenet og presentere til CD4-positive T-celler og selekteres dermed for videre overlevelse. T-celle CD40L ligerer CD40 på B-cellens overflate og induserer isotypeskifte, for eksempel fra IgM til IgG. Det er deretter to differensieringsmuligheter: B-cellen kan enten vandre til beinmargen og bli langlivede plasmaceller, eller bli hukommelsesceller klare til å reagere på en reinfeksjon (3).

Plasmaceller utskiller 100 millioner antistoffmolekyler per sekund og overlever flere år i beinmargen. På denne måten får man en langvarig humoral immunitet der høyaffinitets isotypeskiftede antistoffer er ferdig fremstilt til neste smitteeksponering (3). Den vaksinerte James hadde altså sannsynligvis høyaffinitets IgG-antistoffer med spesifisitet for kukoppvirus i plasma og ekstracellulærvæsken. Når han så ble eksponert for koppevirus, kunne slike antistoffer kryssreagere med viruset og hindre videre spredning.

I forhold til moderne vaksinestrategier er det mulig at B-celler er sekundære i forhold til hensynet til optimal DC-aktivering. Det er likevel vist at B-celler reagerer meget godt på MGR-ligander som CpG og LPS, og at B-celler uttrykker en rekke TLR. Antigener som aktiverer komplement er også 1 000 ganger mer effektive til å fremkalle antistoffer i sekundærresponsen enn antigen som ikke er bundet til komplementfaktorer. Denne kraftige effekten forklares ved at B-celler har reseptor for komplementfaktor C3d og interaksjon med antigen-C3d komplekser på follikulærdendrittske celler (3). Altså er det slik at B-celleresponser optimaliseres i nærvær av patogener eller deres produkter (CpG, o.l.), et fenomen som det er mulig å simulere ved vaksinering.

Antistoffeffektorfunksjoner

Antistoffisotyper varierer i evne til å igangsette biologiske effektorfunksjoner. Dette gjelder komplementaktivering, opsonisering (via Fc-reseptorer) og antistoffavhengig cellulær cytotoxicitet. Som en grov hovedregel kan man si at CD4-positive Th1-celler hjelper B-celler til å gjennomgå isotypeskifte til isotyper som er mer effektive ved disse tre prosessene. CD4-positive Th2-celler inducerer IgE, som er nødvendig for immunresponser mot helminter. I tillegg induseres andre isotyper og subklasser av IgG. Også for B-celleresponser er det altså hensiktsmessig at dendritiske celler igangsetter Th1-responser.

Virusmidte celler vil også kunne uttrykke enkelte virusproteiner på sin overflate som antistoffer kan binde. Antistoffbinding til celleoverflater resulterer både i komplementaktivering og i antistoffavhengig cellulær cytotoxicitet. I dette siste angripes antistoffmerkede celler av Fc-reseptorbærende celler som NK-celler (3).

MHC-peptidbindingslommer

MHC-molekyler har meget stor interindividuell variasjon (3). Dette har konsekvenser for vaksinasjonsstrategier da MHC-molekyler varierer sterkt i evnen til å binde definerte peptider.

I den peptidbindende groppen finnes lommer hvor bestemte aminosyrer eller sidekjeder kan feste seg. Slike lommer varierer i stor grad mellom personers HLA-molekyler. Det er derfor også oftest forskjellige peptider som presenteres fra et antigen protein hos forskjellige personer. På befolkningsnivå er det dermed som regel mer effektivt å vaksinere med preparater som inneholder hele proteiner, for å sikre at hver enkelt vaksinerte person blir immunisert med et protein som inneholder peptider det er mulig å binde og presentere.

Immunitet i slimhinner

Slimhinner og mucosaassosiert lymfoid vev (MALV) er meget viktig i vårt forsvar mot patogener (fig 7) (3, 37, 38). Det er ikke hensiktsmessig å reagere immunologisk mot matantigener, kroppen må altså klare å skille bakterier/virus fra for eksempel hveteproteiner (39). Dette kalles oral toleranse. Vakser som leveres gjennom slimhinner må altså fremstå som patagent. Mye tyder på at mønstergjenkjennelsesreseptorer har stor betydning for effektiviteten av slike vakser.

Terapeutiske vakser og kreft

Kreftceller kan overuttrykke proteiner, uttrykke muterte eller posttranslasjonelt modifiserte proteiner eller uttrykke helt unike tumor spesifikke proteiner, for eksempel hos kreftceller i B-cellerekken, som kan presentere BCR V-region-peptidsekvenser på MHC klasse II. Det er vist at både CD4-positive T-celler og CD8-positive T-celler kan

spesifikt angripe kreftceller, et konsept som kalles immunovervåking (25, 26). På samme måte som for mikroorganismer, er optimal immunaktivering nødvendig for adekvate immunresponser mot kreftcellen. Resultater fra vaksineringsforsøk og immunterapi er noe blandet, men lovende. Det pågår en utstrakt internasjonal forskning for å utvikle og optimalisere effektive terapeutiske vakser.

Jeg takker Hilde Omholt, Gro Tunheim og Hege Bunkholt Elstrand for kommentarer til manuskriptet.

e-tab 2, e-fig 2 og e-fig 5 finnes i artikkelen på www.tidsskriftet.no

Litteratur

- Jenner E. An inquiry into the causes and effects of the variolae vaccinae. London, 1798.
- Stewart AJ, Devlin PM. The history of the small-pox vaccine. *J Infect* 2005; 52: 329–34.
- Bogen B, Munthe LA. Immunologi. Oslo: Universitetsforlaget, 2002.
- Brown JH, Jardetzky TS, Gorga JC et al. Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1. *Nature* 1993; 364: 33–9.
- Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006; 124: 783–801.
- Poltorak A, He X, Smirnova I et al. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science* 1998; 282: 2085–8.
- Ozinsky A, Underhill DM, Fontenot JD et al. The repertoire for pattern recognition of pathogens by the innate immune system is defined by cooperation between toll-like receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 13766–71.
- Takeuchi O, Hoshino K, Akira S. Cutting edge: TLR2-deficient and MyD88-deficient mice are highly susceptible to *Staphylococcus aureus* infection. *J Immunol* 2000; 165: 5392–6.
- Takeuchi O, Kawai T, Muhlradt PF et al. Discrimination of bacterial lipoproteins by Toll-like receptor 6. *Int Immunol* 2001; 13: 933–40.
- Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T et al. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature* 2000; 408: 740–5.
- Alexopoulou L, Holt AC, Medzhitov R et al. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF- κ B by Toll-like receptor 3. *Nature* 2001; 413: 732–8.
- Hayashi F, Smith KD, Ozinsky A et al. The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature* 2001 410: 1099–103.
- Gantner BN, Simmons RM, Canavera SJ et al. Collaborative induction of inflammatory responses by dectin-1 and Toll-like receptor 2. *J Exp Med* 2003; 197: 1107–17.
- Krutzik SR, Ochoa MT, Sieling PA et al. Activation and regulation of Toll-like receptors 2 and 1 in human leprosy. *Nat Med* 2003; 9: 525–32.
- Hochrein H, Schlatter B, O'Keefe M et al. Herpes simplex virus type-1 induces IFN- α production via Toll-like receptor 9-dependent and -independent pathways. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 11416–21.
- Krug A, French AR, Barchet W et al. TLR9-dependent recognition of MCMV by IPC and DC generates coordinated cytokine responses that activate antiviral NK cell function. *Immunity* 2004; 21: 107–19.
- Yoneyama M, Kikuchi M, Matsumoto K et al. Shared and unique functions of the DExD/H-box helicases RIG-I, MDA5, and LGP2 in antiviral innate immunity. *J Immunol* 2005; 175: 2851–8.
- Heil F, Hemmi H, Hochrein H et al. Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. *Science* 2004; 303: 1526–9.
- Kurt-Jones EA, Popova L, Kwinn L et al. Pattern recognition receptors TLR4 and CD14 mediate response to respiratory syncytial virus. *Nat Immunol* 2000; 1: 398–401.
- Bieback K, Lien E, Klagge IM et al. Hemagglutinin protein of wild-type measles virus activates toll-like receptor 2 signaling. *J Virol* 2002; 76: 8729–36.
- Querec T, Bannoun S, Alkan S et al. Yellow fever vaccine YF-17D activates multiple dendritic cell subsets via TLR2, 7, 8, and 9 to stimulate polyvalent immunity. *J Exp Med* 2006; 203: 413–24.
- Pulendran B, Ahmed R. Translating innate immunity into immunological memory: implications for vaccine development. *Cell* 2006; 124: 849–63.
- Tonegawa S. Somatic generation of antibody diversity. *Nature* 1983; 302: 575–81.
- Schulz O, Diebold SS, Chen M et al. Toll-like receptor 3 promotes cross-priming to virus-infected cells. *Nature* 2005; 433: 887–92.
- Corthay A, Skovseth DK, Lundin KU et al. Primary antitumor immune response mediated by CD4+ T cells. *Immunity* 2005; 22: 371–83.
- Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The three Es of cancer immunotherapy. *Annu Rev Immunol* 2004; 22: 329–60.
- Pulendran B, Kumar P, Cutler CW et al. Lipopolysaccharides from distinct pathogens induce different classes of immune responses in vivo. *J Immunol* 2001; 167: 5067–76.
- Napolitani G, Rinaldi A, Berton F et al. Selected Toll-like receptor agonist combinations synergistically trigger a T helper type 1-polarizing program in dendritic cells. *Nat Immunol* 2005; 6: 769–76.
- Roelofs MF, Joosten LA, Bollen Roodhooz S et al. The expression of toll-like receptors 3 and 7 in rheumatoid arthritis synovium is increased and costimulation of toll-like receptors 3, 4, and 7/8 results in synergistic cytokine production by dendritic cells. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 2313–22.
- Pulendran B, Kumar P, Cutler CW et al. Lipopolysaccharides from distinct pathogens induce different classes of immune responses in vivo. *J Immunol* 2001; 167: 5067–76.
- Dillon S, Agrawal A, Van Dyke T et al. A Toll-like receptor 2 ligand stimulates Th2 responses in vivo, via induction of extracellular signal-regulated kinase mitogen-activated protein kinase and c-Fos in dendritic cells. *J Immunol* 2004; 172: 4733–43.
- Netea MG, Sutmoller R, Hermann C et al. Toll-like receptor 2 suppresses immunity against *Candida albicans* through induction of IL-10 and regulatory T cells. *J Immunol* 2004; 172: 3712–8.
- Wille-Reece U, Flynn BJ, Lore K et al. HIV Gag protein conjugated to a Toll-like receptor 7/8 agonist improves the magnitude and quality of Th1 and CD8+ T cell responses in nonhuman primates. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 15190–4.
- Ridge JP, Di RF, Matzinger P. A conditioned dendritic cell can be a temporal bridge between a CD4+ T-helper and a T-killer cell. *Nature* 1998; 393: 474–8.
- Sorensen V, Rasmussen IB, Sundvold V et al. Structural requirements for incorporation of J chain into human IgM and IgA. *Int Immunol* 2000; 12: 19–27.
- Honjo T, Nagaoka H, Shinkura R et al. AID to overcome the limitations of genomic information. *Nat Immunol* 2005; 6: 655–61.
- Brandtzaeg P, Johansen FE. Mucosal B cells: phenotypic characteristics, transcriptional regulation, and homing properties. *Immunol Rev* 2005; 206: 32–63.
- Schneeman TA, Bruno ME, Schjerve H et al. Regulation of the polymeric Ig receptor by signaling through TLRs 3 and 4: linking innate and adaptive immune responses. *J Immunol* 2005; 175: 376–84.
- Sollid LM, Jabri B. Is celiac disease an autoimmune disorder? *Curr Opin Immunol* 2005; 17: 595–600.

Manuskriptet ble mottatt 26.4. 2006 og godkjent 25.8. 2006. Medisinsk redaktør Petter Gjersvik.