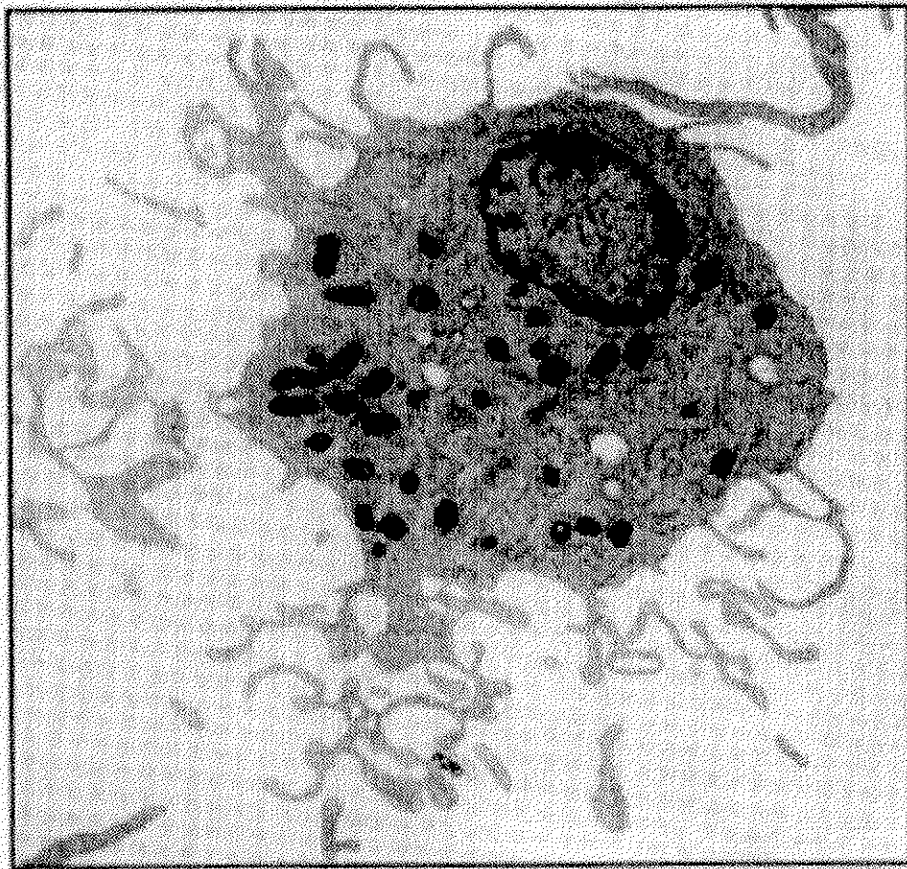


**OM  
ANTIGEN PRESENTERENDE  
DENDRITISKE CELLER**



5. årsoppgave i Stadium IV - medisinstudiet ved Universitetet i Tromsø.

Av Kjetil Lorentsen, stud. med. Kull-97.

Veileder: Kristian Hannestad, prof., IMB, Universitetet i Tromsø.

Tromsø, januar 2003.

Innledning.....	2
Generelt om DC og deres subtyper.....	3
Pre-DC.....	4
ImDC.....	6
Den dendritiske celledens ”klassiske” oppgaver.....	7
Strategier som patogener bruker for å ”motarbeide” DC.....	10
DC ’s rolle i tolerance mot ”selv” – viktig mot autoimmune sykdommer?.....	12
DC som vektor i terapi, inkludert cancer.....	15
Avslutning.....	18
Litteraturliste.....	18

## Innledning

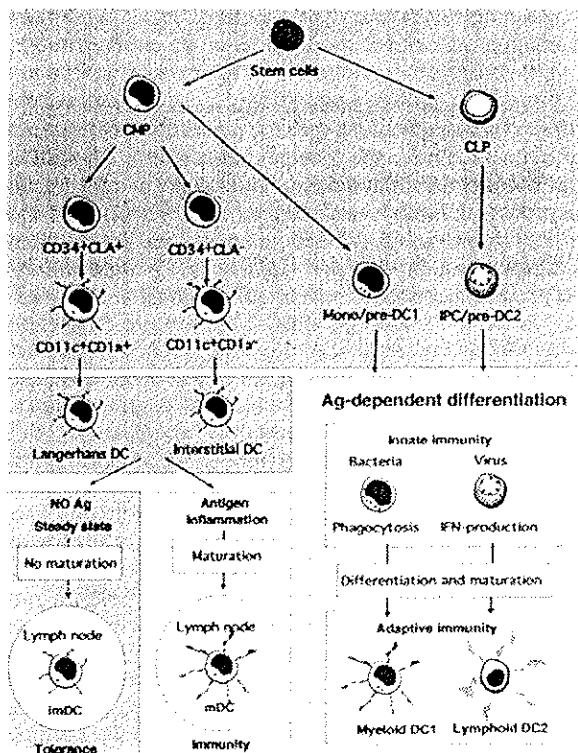
Da valget om hva jeg skulle skrive min 5. års oppgave skulle gjøres, var min motivasjon å finne et felt jeg ikke følte meg tilstrekkelig sterk på, som jeg syntes var interessant og som ville ha en viss klinisk relevans i mitt senere arbeid som lege. Valget falt på en immunologisk oppgave. Det er et felt som kanskje ikke direkte har så stor klinisk relevans, men som i mine øyne gir en bedre patofysiologisk forståelse, da de aller fleste sykdommer er tilstander som immunforsvaret skal rydde opp i.

Jeg ønsket i utgangspunktet å skrive en mer generell oppgave, men etter samtaler med min veileder professor Kristian Hannestad falt valget på et litteraturstudium på dendritiske celler (DC). Denne er kanskje den del av immunsystemet som det i dag forskes mest intensivt på, man har funnet en del ting ut, men mye gjenstår. Det jeg synes er mest spennende med DC, er potensialet denne cellen kan ha i sin rolle i toleranse dannelse mot "selv" og den rollen den kan ha som vektor i behandling av vanskelig behandlede sykdommer som kreft.

Jeg vil her benytte anledningen til å takke min veileder Kristian Hannestad for hjelpen han har bidratt med, spesielt med hensyn til å skaffe artikler, og hans kritiske blikk som til sist gjorde oppgaven bedre.

## Generelt om DC og deres subtyper

Dendritiske celler (DC) blir produsert i benmargen, som en del av hematopoiesen. Dette vil si at produksjonen er antigen-uavhengig, og rimelig konstant. Alle kommer derav ifra den pluripotente stamcellen. Dette gir opphav til 4 distinkt forskjellige umodne typer DC, som differensierer til 4 forskjellige endeprodukter, med rimelig forskjellig funksjon. De fire umodne (immature – im) typene er (i) langerhans celler, (ii) interstitielle imDC, (iii) monocytter/pre-DC1, disse tre fra common myeloide progenitor (CMP) cellen, og (iv) IPC(Interferon- $\alpha$  Producing Cell)/pre-DC2, som kommer fra common lymfoide progenitor (CLP) cellen. Som vi forstår, kommer de forskjellige DC fra både den lymfoide og den myeloide rekken (1). Vi har altså to subsett imDC og to subsett pre-DC.



Figuren er hentet fra (1), side 260.

ImDC og pre-DC subsettene har følgende forskjeller:

1. ImDC har dendritter, det har ikke pre-DC.

2. ImDC uttrykker moderate mengder ko-stimulerende molekyler (CD80 og CD86) på celleoverflaten og induserer moderat T-celleaktivering *in vitro*, men aktiveringen er svært hurtig. Pre-CD uttrykker svært lave mengder ko-stimulerende molekyler og kan ikke indusere signifikant naiv T-celle aktivering verken *in vivo* eller *in vitro*.
3. ImDC har høy motilitet og koloniserer lymfoid vev uten stimulering. Dette gjør ikke pre-CD.
4. Pre-DC er mer direkte involvert i inert immunitet mot mikrober sammenlignet med imDC (1).

Dette er noen av de fundamentale forskjellene mellom pre-DC og imDC, som er de to hovedklassene av umodne DC. Vi skal nå se på forskjellene mellom cellene i hver hovedgruppe.

## Pre-DC

Pre-DC1 (monocytt) og pre-DC2 har innbyrdes mange forskjellige egenskaper og markører.

Disse er gjengitt i tabellen under.

	Pre-DC1	Pre-DC2/IPC
<b>Phenotype</b>		
<b>Myeloid marker</b>		
CD11b	+	-
CD11c	+	-
CD13	+	-
CD14	+	-
CD33	+	-
<b>Lymphoid marker</b>		
Pro-T $\alpha$	-	+
Ig $\lambda$ -like 14.1	-	+
Spi-B	-	+
<b>Pattern recognition receptors</b>		
→Mannose R	+/-	-
CD1a, b, c, d	+/-	-
<b>Other differentially expressed antigens</b>		
GD4	+	++
CD45RA	-	+
CD45RO	+	-
IL3R	+	+++
GM-CSFR	++	+
<b>Function</b>		
phagocytosis & kill bacteria	++	-
IFN- $\alpha$ / $\beta$ production	+	++++

Tabellen er hentet fra (1) side 260.

1. De uttrykker forskjellige antigener. Pre-DC1 uttrykker de myelogene antigenene CD11b, CD11c, CD13, CD14 og CD33. Pre-DC2 uttrykker mRNA spesifikt for lymfocytter. Nevner pre-T $\alpha$ , I $\kappa$ -liknende 14.1 og Spi-B som eksempler.
2. De uttrykker forskjellige sett av pattern-recognition reseptorer, det vil si reseptorer som gjenkjenner spesifikke aminosyrer i spesifikke posisjoner i peptidet. Pre-DC1 uttrykker mannose-reseptor og CD1a, b, c og d, pre-DC2 uttrykker ingen av disse.
3. Stimulering til differensiering er via forskjellige stimuli. Pre-DC1 differensierer til umodne myeloide DC (im-DC1) via GM-CSF og IL-4, eller etter fagocytose av bakterier. Pre-DC2 differensierer til imDC2 etter IL-3 stimuli, eller som følge av en inert immunrespons som følge av en viral stimulering.
4. Hvis de i tillegg til stimuli i punkt 3 får aktivering fra CD40L, differensierer de ytterligere. DC1 produserer store mengder IL-12 og induserer sterke Th1-responser samt cytotoxisk T-lymfocyt (CTL) respons. DC2 produserer ikke store mengder IL-12, og induserer Th2-respons eller stimulerer til IL-10 produserende CD8+ T supressor celler.
5. Viral-induserte DC2 stimulerer Th til å produsere både IFN- $\gamma$  og IL-10 (i motsetning til IL-3 og CD40 ligand induserte DC2). Dette er ikke en egenskap pre-DC1 har (1).

Pre-DC1 (monocytter) representerer antibakterielle effektor-celler, og pre-DC2 (plasmacytoide celler) representerer antivirale effektorceller. Begge har evnen til å differensiere til distinkte typer DC etter aktivering etter immunrespons (1).

Pre-DC1 og pre-DC2 fungerer både i inert og adaptiv immunitet, og danner et fysisk link mellom de to grenene. Dette via direkte fagocytose, eller for pre-DC2 direkte respons mot virus, og deres stimulering av T-celler etter modning (1). Jeg har ovenfor nevnt noen av de måter dette kan skje på.

## ImDC

ImDC har som oppgave å prosessere og presentere antigen til T-celler. I likhet med pre-DC er imDC fundamentalt forskjellige. Forskjellene går frem av tabellen under:

Table 1. Subsets of Human DC from CD34<sup>+</sup> HPC

	Langerhans cells	Interstitial DCs
<b>Phenotype</b>		
CD1a	+	-
CD2	-	+
CD9	-	+
CD68	-	+
Factor XIIIa	-	+
E-cadherin	+	-
Birbeck Granule/	+	-
Lag-antigen	-	-
<b>Function</b>		
Macropinocytosis	-	+
IL-10-production	-	+
B cell activation	+/-	+
CD8 T cell-priming	+++	+
<i>Mannose A<sub>2</sub> uptake</i>	-	+

Tabellen er hentet fra (1) side 260.

Interstitielle DC har evnen til å ta opp store mengder antigen gjennom sin mannose-reseptor, dette har ikke den langerhanske celle. I tillegg produserer interstitielle DC IL-10, som med tilstedeværelse av CD40L og IL-2 kan aktivere naive B-celler og føre til IgM produksjon. Nylig produserte imDC migrerer via følgende rute: benmarg, ikke-lymfoid vev, drenerende lymfeårer og til sist lymfeknuter (1, 2). Et interessant poeng er at der er funnet imDC i føtale lymfeknuter, noe som tyder på at imDC kan migrere fysiologisk til lymfeknuter, uten forutgående aktivering (1, 2). Dette kan bety at de har en funksjon i immunologisk toleranse, som jeg skal komme tilbake til senere i oppgaven.

For å sammenfatte, har alle subtypene stor plastisitet. Der er da reist spørsmål hvorfor vi da trenger også en lymfoid progenitor. En mulighet er at det er en utvikling som har skjedd for å respondere på flere antigener, da den funksjonelle plastisiteten til en gitt DC subsett kan være

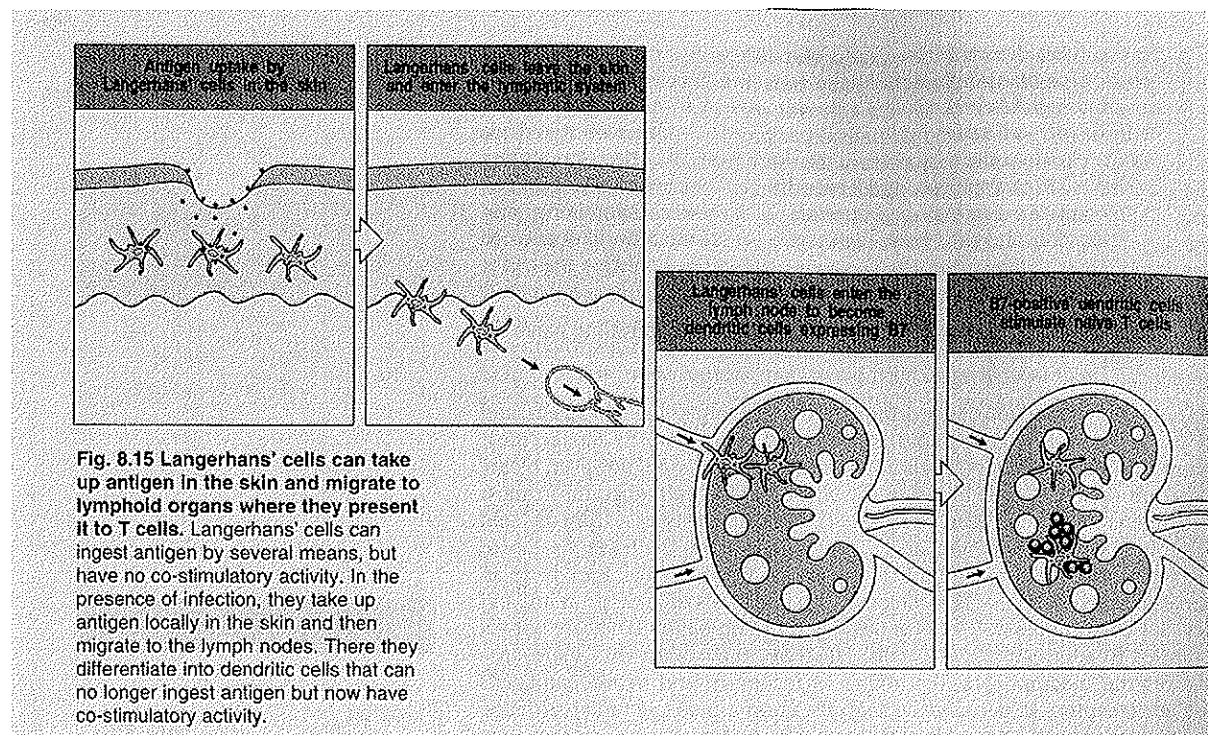
begrenset av dens pattern recognition reseptor, som igjen er bestemt av dens myeloide progenitor-celle. En lymfoid progenitor vil gi et ekstra register av funksjoner (1)

## Den dendritiske celledes "klassiske" oppgaver

I de aller fleste vev ligger der umodne dendritiske celler. I dette stadiet er deres rolle som makrofagene, de leter etter og fagocytterer de antigene deres reseptorer kan fange opp. Dette skjer gjennom bl.a. DEC 205, som binder lipopolysakkarider på bakteriecelleveggen (3).

Andre reseptorer er reseptorer for komplement, samt fagocytotiske reseptorer som mannose-reseptoren. Disse reseptorene interagerer med Toll-Like signaling Reseptor TLR-4 (3).

Denne igjen aktiverer transkripsjonsfaktor NF $\kappa$ B og Mitogen-Aktivert Protein kinase (MAP kinase). Dette induserer uttrykk av B7, samt sekresjon av cytokiner som TNF- $\alpha$ . Dette stimulerer DC til å migrere til lymfeknute (3).



Figuren over er hentet fra (3) side 308, og illustrerer Langerhanske cellers vandring etter aktivering.



I tillegg induseres produksjon av cytokiner som interleukin (IL)-6, IL-12, IL-18 og interferon (INF)- $\alpha$  og INF- $\gamma$ . Disse igjen induserer og forsterker uttrykking av ko-stimulerende molekyler på DC's overflate (3). Et eksempel er kjemokin-reseptor CCR7, som via kobling til CCR7L 6Ckine og fører den inn i lymfeåren (4). Så via MIP-3 $\beta$ , en annen CCR7L, kommer den inn i en drenerende lymfeåre (1,4). Det er også lagt frem en tese der det ikke er cellen fra perifert vev som presenterer Ag i lymfeknute, men at den avgir såkalte eksosomer som blir tatt opp av DC i lymfeknuten (5).

Når det gjelder enkelte virus, blir disse gjenkjent i deres replikasjonsfase via ds-RNA. I tillegg vil alle virus-infiserte celler sekreere INF- $\alpha$ , som er et av molekylene som kan aktivere DC til å uttrykke ko-stimulerende molekyler (3).

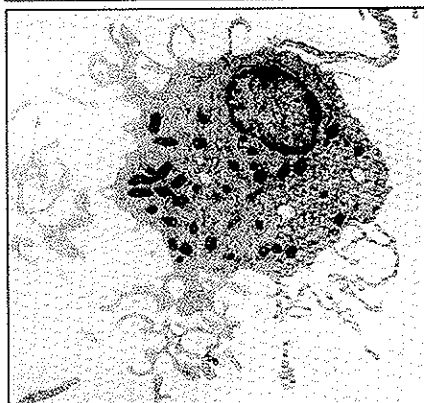
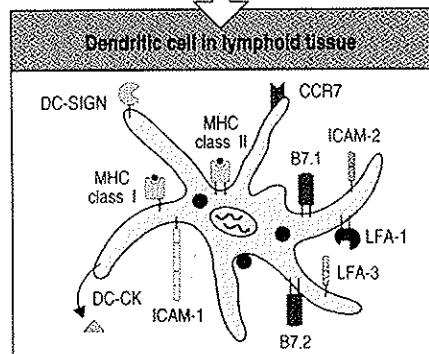
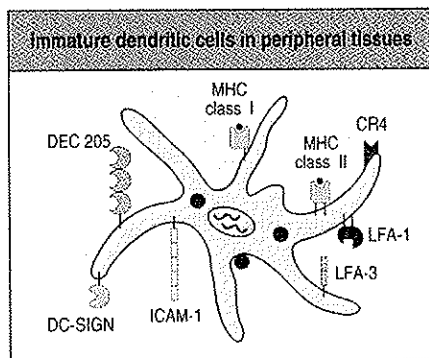
I tillegg utfører de makropinocytose, der de ukritisk sluker store mengder ekstracellulær væske og bryter ned dens innhold av proteiner og partikler i lysosomer (3). På denne måten fanger de også opp virus samt andre potensielle patogener som de ikke spesifikt ville fagocytet gjennom reseptorindusert fagocytose. Makropinocytosen kan også føre til DC's modning. Bakterielt DNA som inneholder umethylert CpG dinukleotid motiver induserer en hurtig modning av DC. Dette skjer sannsynligvis via den intracellulære reseptoren TLR-9 og NF $\kappa$ B (3).

I tillegg er det høyst sannsynlig at DC spiller en viktig rolle i kroppens forsvar mot virus. Virus infiserer celler og bruker cellens syntesemaskineri for å produsere mer virus. Da vil cellens normale system via nedbrytning av vilkårlige protein i cytosol presentere MHCI pluss peptid for CD8+ T-celler, og dermed gi en spesifikk respons mot virusinfeksjonen. Grunnen til at proteiner brutt ned i cytosol presenteres via MHCI, er kort forklart at alle APC (Antigen Presenterende Celler) skiller kritisk mellom proteiner brutt ned i cytosol, det vil si egenproduserte proteiner, og proteiner den har tatt opp fra omgivelsene, altså "fremmed" protein. Grunnen til at cytotoksiske T-celler binder MHCI mens CD4+ T-celler ikke gjør det, er at

binding til MHCI er avhengig av CD8. På samme måte er binding til MHCII avhengig av CD4, og dermed kan ikke CD8+ T-celler binde seg til komplekset (3). I tillegg kan DC fagocyttere virus gjennom vanlig reseptormediert fagocytose, og presentere for CD4+ T-celler. Gjennom makropinocytose kan det samme skje. Det som har kommet frem i det siste, er at DC har evnen til noe som kalles krysspresentasjon. Kort sagt gjør dette cellen i stand til å presentere "eget" og "fremmed" via både MHCI og MHCII, og får dermed en mer "bredspektret" respons, både via CD4+ og CD8+ T-celler. Dette gjør også en uinfisert DC i stand til å iverksette en immunrespons mot virus (3,5).

Man tror at DC er i stand til å presentere antigen fra virale, bakterielle samt fungale patogener, og å initiere en immunrespons mot et vidt spekter av patogener. Man tror faktisk at DC er i stand til å skille mellom forskjellige klasser av patogener, noe som reflekteres i syntesen av forskjellige effektormolekyler av de aktiverte DC som igjen induserer differensiering av de responderende T-celler til forskjellige subklasser, som igjen betyr differensiert respons (3).

Via sin makropinocytose, tar DC opp proteiner fra sine omgivelser. Man kan da for eksempel tenke seg at både når det gjelder kreftceller og luftallergener, der det i begge tilfeller kan være en immunologisk reaksjon i gang, kan DC ta opp i seg antigener, aktiveres og dra til nærmeste lymfeknute. Presentasjon av luftallergener via en aktivert DC kan føre til en ytterligere reaksjon mot et i utgangspunktet harmløst antigen (1,3). Men med kreft vil det selvfølgelig ha en gunstig effekt, som jeg skal skrive om senere i oppgaven.



Umodne DC har relativt lang levetid, mens modne bare lever 2-3 dager (3). I umoden tilstand har de relativt lite MHC, og de uttrykker lite ko-stimulerende B7 og CD40 molekyler (3).

Figuren til venstre, hentet fra (3) side 307, viser overflatemolekyler typisk for henholdsvis umoden og moden DC. Nederst er en dendritisk celle sett gjennom et elektronmikroskop.

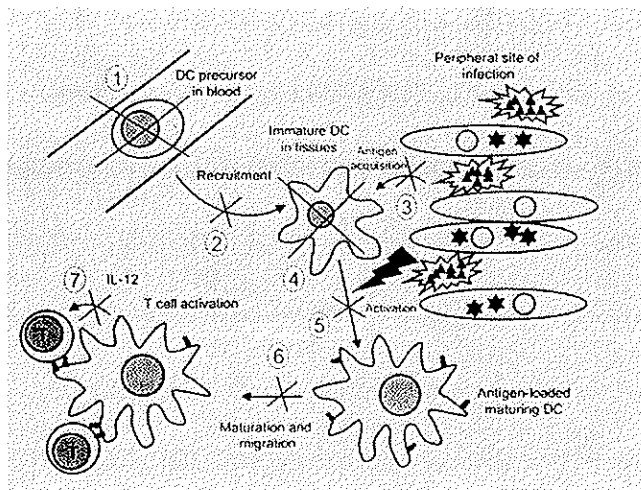
I denne tilstanden er de derfor ikke i utgangspunktet i stand til å stimulere naive T-celler (3). Nyere forskning har imidlertid vist at dette sannsynligvis er feil, som jeg skal komme tilbake til i kapittelet om toleranseutvikling.

## Strategier som patogener bruker for å "motarbeide" DC.

Begrepet er på engelsk "immune evasion", som er et selvforklarende begrep. Jeg skal ta for meg noen av de strategiene patogener tar i bruk for å unngå at de potente DC får fritt spillerom.

1. De kan redusere antallet umodne DC. Dette via å redusere antallet precursorer, eller via inhibering i precursorers differensiering til DC. For eksempel infiserer HTLV-1 monocyttene, og reduserer dens evne til å differensiere til imDC.

2. De kan redusere rekruttering av DC fra blod til infeksjonsfokus. For eksempel har en del meslinge- og herpes-virus evnen til å skille ut kjemokin-reseptor analoger som effektivt og irreversibelt binder kjemokiner skilt ut av lokale immunceller i respons på infeksjon.
3. Patogener kan destruere DC i infeksjonsfokus. For eksempel har en del virus evnen til å infisere DC og påvirke dem i så stor grad at de går i apoptose. Eksempel på et slikt virus er kanari-meslinge virus som hurtig fører til apoptose i umodne DC. Også bakterier har denne evnen, eksempler er *Shigella* og *Salmonella* spp. som bruker type III protein sekresjonsapparatet som igjen aktiverer proapoptotiske proteiner som caspase 1 i cytoplasma til DC, som igjen induserer apoptose.
4. De kan påvirke DC's evne til opptak og prosessering av patogener. Dette virker imidlertid ikke å være et så stort problem, da DC har krysspresentasjonsruten.
5. De kan hindre umodne DC å modnes. HSV-1 hemmer modning direkte, mens parasitten *Leishmania mexicana* kan gå i sin amastigote form, som DC ignorerer og derfor ikke responderer på. Et annet eksempel er erythrocytter infisert med *Plasmodium falciparum*, den vanligste malaria parasitten, som modulerer modningen av DC og deres evne til å aktivere T-celler.
6. De kan forhindre at DC vandrer til lymfen. Eksempel er HSV-1 som blokkerer oppreguleringen av CCR7.
7. De kan påvirke DC's interaksjon med T-celler. Meslingevirus fører til modning av DC, men DC hjelper ikke til T-celle stimulering. Dette via CD40L-defekt og manglende IL-12-sekresjon samt andre mekanismer. I tillegg induseres DC til å uttrykke TNF-Related Apoptose-Induserende Ligand (TRAIL) som da blir cytotoxisk for de T-celler den interagerer med (6).



Figuren er hentet fra (6) side 269. Som vi ser kan DC påvirkes i en rekke ledd i dens funksjon og modning.

## DC 's rolle i tolerance mot "selv" – viktig mot autoimmune sykdommer?

Vi har en rekke kroniske sykdommer som antas å ha en autoimmun årsak. Eksempler er Diabetes mellitus type I, Grave's sykdom, multippel sklerose, reumatoid artritt, primær biliær chirroose og en rekke andre. Man har for noen sykdommer teorier om initieringen av den autoimmune responsen, men resultatet på dem alle er at det fører til en kryssallergen-reaksjon. Det vil si at immunforsvaret reagerer på og angriper fremmed antigen, samtidig som selv-antigen som presenterer identisk eller svært nær identisk peptid-motifs får samme behandling (antigen etterligning). Resultatet er at immunforsvaret angriper kroppens eget vev.

Vi har lenge visst at DC har en rolle i det vi kaller sentral toleranse, der utviklende T-celler i thymus som reagerer på selv-antigener presentert av DC går i apoptose og dermed ikke kan komme ut i perifert vev. Denne mekanismen kalles negativ seleksjon av T-celler (7). Den virker i stor grad å være avhengig av et protein kalt AIRE, da mus med mangel på dette proteinet utviklet autoimmune sykdommer i langt større grad enn kontrollgruppen (8). Allikevel er det noen celler som unnslipper denne filtreringen for senere å bli potensielle autotoksiske celler. Der er lagt frem teser for hvordan dette kan skje:

1. Autoreaktive celler unngår rett og slett negativ seleksjon. Dette fordi prosessen ikke er 100% effektiv.
2. Visse selv-antigener har ikke tilstrekkelig tilgang til thymiske APC, som gjør at negativ seleksjon for de T-celler som er autoreaktive mot disse ikke blir plukket bort..
3. Mange selv-antigener blir ikke uttrykt før T-celle repertoaret er blitt formet, med samme resultat som i punkt 2..
4. Lymfocytt reseptorene for fremmed antigen kan kryssreagere med "selv" (9). Dette via sin pattern recognition reseptor, som gjenkjenner Pathogen Associated molecular patterns, altså ikke via sin T celle resptor (TCR) (10).

Det er tilsynelatende mange celler som havner i situasjonen over. Det er derfor et behov for utvikling av perifer toleranse, for å redusere risikoen for "horror autotoxicity", et begrep lagt frem av Paul Ehrlich allerede rundt forrige århundreskifte. Ny forskning tyder på at DC har en viktig rolle i utviklingen av perifer toleranse.

Generelt i immunforsvaret presenteres peptid+MHC som følger:

1. Peptid med opphav utenfor APC presenteres via MHCII, og kan generere et humoralt immunsvaer så vel som Th type 1 (INF- $\gamma$ ) T celledsvaer.
2. Peptid med opphav fra cellen selv presenteres via MHCI, og kan generere et cellulært immunsvaer i form av cytotoksiske CD8+ T celler (3).

DC, derimot, har evnen til krysspresentasjon, der peptid, uansett opprinnelse, presenteres både via MHCI og -II (9). Dette synes å være avhengig av aktivering av DC's Fc $\gamma$  reseptor i hvert

fall hos enkelte subset av DC i mus (11), mens andre klarer dette uten denne stimuleringen (9,11). Jeg har tidligere vært inne på at DC utfører makropinocytose kontinuerlig, og lagrer peptider fra denne i flere dager. I tillegg ved en virusinfeksjon vil DC ikke bare få tatt opp virus, men også debris fra døde celler. DC vil modnes fordi den reagerer på viruset som forklart tidligere, og presenterer det den har av peptid fra opptil dager i forveien. Så hvorfor vil ikke man da få en massiv reaksjon mot eget vev? Steinman og Nuzenzweig foreslår at denne muligheten er blitt drastisk redusert i forkant, ved at umodne DC som har presentert disse selv-antigenene tidligere har definert "selv" slik at tidligere nevnte autotoksitet ikke finner sted. Resultatet blir derfor at immunreaksjonen blir primært rettet mot proteiner som ikke blir presentert i "steady state" (9).

De begrunner det med at umodne DC generelt vandrer til lymfeknuter med proteiner og partikler som de har tatt opp fra sine omgivelser, og presenterer disse i lymfeknutene i form av peptid-MHC komplekser. Umodne DC har ikke det som skal til for å stimulere T-celler, som jeg har tatt opp tidligere. Resultatet er at de T-celler som binder MHCII+selv-peptid blir anergiske eller går i apoptose. På den måten blir de spesifikke T-cellene fjernet (delesjon) eller gjort funksjonsudyktige (anergi). I tillegg kan regulatoriske og suppressor T-celler ( $T_{reg}$ ) bli induert av umodne DC, uten at mekanismene er klare.  $T_{reg}$  cellene kan hemme en kraftig T-celle respons mot det de er spesifikke mot (5). For eksempel har nye studier antydnet at imDC har evnen til å indusere perifer toleranse ved å stimulere CD4+ og CD8+ T-celler til å differensiere til IL-10 produserende T regulatoriske/suppressor celler (1). Noen kaller dette immun deviasjon – det vil si et differensieringsavvik som leder til ufarlige T celler. På denne måten får vi en funksjonell toleranse utvikling, det vil si toleranse som ikke er betinget av at T cellene dør.

For å sammenfatte:

1. DC induserer sentral toleranse i thymus via negativ seleksjon.
2. Umodne DC definerer immunologisk selv via induksjon av anergi eller apoptose mot spesifikke T-celler, en perifer toleranse utvikling.
3. Umodne DC induserer suppressor og regulatoriske T-celler for å hemme en autoimmun reaksjon, en form for funksjonell perifer toleranse utvikling (9).

## DC som vektor i terapi, inkludert cancer.

Vi har en rekke behandlingsmetoder for forskjellige sykdommer, som slett ikke skal tas opp i denne oppgaven. Vaksine, derimot, er en metode brukt både profylaktisk og i behandlingsøyemed, og som jeg skal si noen ord om. Vaksine har vært brukt nå i over et århundre, og har hjulpet oss å bekjempe sykdommer som tetanus, meslinger, rubella, polio og hepatitt. En klassisk vaksine er bygd opp av antigen og en eller flere adjuvant.

Vaksinemolekylet tas opp av APC, antigenet blir presentert og den adjuvante delen forsterker immunsvaret både kvalitativt og kvantitativt.. Eksempler på adjuvanter er aluminiumhydroksid (AlOH), ISCOMs (12), GM-CSF og polynukleotider som inneholder umetylerte CpG motiver (13). AlOH induserer en Th2 respons, mens de to sistnevnte har i noen tilfeller induisert en spesifikk CD8+ T celle respons, men bare i *in vitro* forsøk (13,14). Grunnen til at jeg tar opp vaksine her, er at DC kan kalles kroppens naturlige adjuvanter, og en essensiell komponent i enhver vaksinasjons strategi. Der forskes nå derfor intenst på mer direkte bruk av DC i vaksinasjon.

Der har blant annet vært forsøkt med DC tatt ut, *ex vivo* tilført antigen og ført tilbake til vert s.c. i en engangsbolus. Det var Inaba og kolleger som gjorde dette i 1991, og det var monocytt-deriverte DC de brukte. De fant en markant økt CD4+ og CD8+ T celle immunitet.



En boost flere måneder senere økte affiniteten til viruspeptidet ytterligere (13). Dette var det første forsøket på å vaksinere med DC direkte som hadde suksess. Senere er det gjort en rekke forsøk med samme teknikk der man har tilført Tumor Associated Antigen (TAA). Dette har ført til antitumor responser uten signifikant toksisitet. De initielle forsøkene var selvfølgelig dyreforsøk, men i senere tid har det også vært gjort forsøk på mennesker med moderat suksess (13), se neste avsnitt. Men det har vært verifisert at DC er immunogene, og at immunsvaret gir en kompetent respons.

Erlangen gruppen gjorde et forsøk der de tilførte modne monocytter deriverede DC med et malignt melanom peptid, og som kontroll hadde de DC lastet med både virale og bakterielle peptid. Begge gruppene viste at en induert T celledannelse, selv i en gruppe med stadium IV malignt melanom. Når de i tillegg lastet DC med malignt melanom peptider som kunne binde til MHCII, fikk de en sterk tumor spesifikk Th1 respons (13). Det kan også virke som om binding til Fc $\gamma$ -reseptoren kreves for DC aktivering som igjen kan føre til priming av CD8+ T-celler (14).

Man har altså klart å bruke DC som vaksiner, og det kanskje mest spennende er i cancer behandling. Men selv om resultatene er svært lovende, er det langt igjen til en vaksine som kan brukes kommersielt. Jeg skal kort ta for meg grunnene til dette:

1. Hvilke(n) subset av DC skal brukes i vaksinen. Man vet enda alt for lite om de forskjellige jeg har skrevet om tidligere.
2. Hvilke typer modningssignaler skal DC ha. Dette har forskjell i responsen den inducerer kvalitativt. Umodne DC kan inducere toleranse som beskrevet tidligere, mens modne DC for eksempel inducerer spesifikke cytotoksiske T celler og påvirker CD4+ T celler til å produsere INF- $\gamma$ .
3. Hvor mange injeksjoner og hvor ofte. Det synes å være en balanse mellom for svak immunrespons og toleranseutvikling. Man har nemlig funnet at over-stimulering

kan føre til aktiverings-indusert død hos T celler. I tillegg kan cytotoksiske T celler drepe booster DC og dermed redusere effektiviteten av injeksjonene. I motsatt fall, hvis der gis for lite eller for sjelden injeksjoner, blir effekten redusert.

4. Hvor skal vaksinen settes. Der tyder på at i.v. injeksjon generelt gir en TH2 respons, mens intralymfatisk administrasjon gir en Th1 respons. Man forsker derfor på spesifikke kjemokiner som skal bedre migreringen til lymfen.
5. Hvordan vi skal få klargjort DC før den kan administreres som vaksine. Spørsmålet er om det kan gjøres *in vivo*, eller om det må gjøres *ex vivo*.
6. Metoder å måle den kvantitative og kvalitative effekten av vaksinen i utviklingsøyemed (13). For eksempel for cancer er den beste metoden i dag å måle om gjennomsnittlig levetid går opp, og det sier seg selv at dette tar tid.

I tillegg er *ex vivo* genererte DC lite egnet til vaksinerings i noen stor skala. Der forskes derfor også på *in vivo* manipulering av DC. Et av feltene er forskning på DC-poitinene, det vil si cytokinene som mobiliserer DC *in vivo*. De kan øke antallet via G-CSF, GM-CSF og FLT3 ligand, eller aktivere dem, som INF- $\alpha$  gjør. Disse cytokinene mobiliserer også andre immun celler, som neutrofile, makrofager og NK celler (13). De booster derfor både det medfødte og det adaptive immunforsvaret.

Det andre feltet er bruk av "intelligent missiles", som har DC som mål. Det er en generisk vaksine med:

1. immunogenene, optimalisert for den MHC klasse man ønsker.
2. molekyler som aktiverer DC.
3. ligander som gjør en i stand å aktivere den subtypen av DC man ønsker.
4. molekyler som bestemmer typen og kvaliteten på responsen (13).

For å sammenfatte, er DC en utrolig spennende vektor i behandlingsøyemed, der kreft, malaria og HIV er sykdommer i fokus. Og dette er sykdommer store ressurser er investert i. Det er mye forskning som gjenstår, men foreløpig ser resultatene lovende ut.

## Avslutning

Immunologi er et felt som man har funnet ut utrolig mye om de siste årene. En eldre foreleser tidlig i studiet mitt fortalte at da han studerte, var immunologi-pensum "ei blekke på 15 sider". Man kan trygt si at dette ikke gjelder i dag.

Når det gjelder den dendritiske celle, er fremtidsutsiktene spennende. Man har i gjentatte forsøk vist at den spiller en nøkkelrolle i utvikling av perifer toleranse. Man kan da tenke seg at ved manipulasjon kan DC brukes profylaktisk mot autoimmune sykdommer. I tillegg forskes der på å bruke DC som vektor i behandling av etablerte sykdommer, som HIV og kreft, med lovende resultater. Blant annet er der påvist en viss regress i pasienter med malignt melanom stadium 4. Når man så vet hvor mye det fremdeles er å vite om denne cellen, kan man tenke seg det potensialet denne cellen kan ha i terapeutisk øyemed.

## Litteraturliste

1. Liu, Y. *Dendritic cell subsets and lineages, and their functions in innate and adaptive immunity*. Cell, 2001, 106, 259-262.
2. Janeway, C.A., Travers, P., Walport, M. and Shlomchik, M. *Immunobiology- The immune system in health and disease*. 5<sup>th</sup> ed. Garland Publishing, 2001. 13-14.
3. Janeway, C.A., Travers, P., Walport, M. and Shlomchik, M. *Immunobiology- The immune system in health and disease*. 5<sup>th</sup> ed. Garland Publishing, 2001. 307-310.

4. Lanzavecchia, A. and Sallusto, S. *Regulation of T cell immunity by dendritic cells.* Cell, 2001, 106, 263-266.
5. Mellman, I. and Steinman, R.M. *Dendritic cells: Specialized and regulated antigen processing machines.* Cell, 2001, 106, 255-258.
6. Rescigno, M. and Borrow, P. *The host-pathogen interaction: New themes from dendritic cell biology.* Cell, 2001, 106, 267-270.
7. Janeway, C.A., Travers, P., Walport, M. and Shlomchik, M. *Immunobiology- The immune system in health and disease.* 5<sup>th</sup> ed. Garland Publishing, 2001. 268.
8. Heath, W.R. and Scott, H.S. *Education and promiscuity.* Nature, 2002, 420, 468-469.
9. Steinman, R.M. and Nussenzweig, M.C. *Avoiding horror autotoxicus: the importance of dendritic cells in peripheral T cell tolerance.* Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 2002, 99, 351-358.
10. Janeway, C.A., Travers, P., Walport, M. and Shlomchik, M. *Immunobiology- The immune system in health and disease.* 5<sup>th</sup> ed. Garland Publishing, 2001. 600.
11. den Haan, J.M.M. and Bevan, M.J. *Constitutive versus activation-dependent cross-presentation of immune complexes by CD8<sup>+</sup> and CD8<sup>-</sup> dendritic cells in vivo.* J. Exp. Med., 2002, 196, 817-827.
12. Janeway, C.A., Travers, P., Walport, M. and Shlomchik, M. *Immunobiology- The immune system in health and disease.* 5<sup>th</sup> ed. Garland Publishing, 2001. Appendix 1, 4A.
13. Banchereau, J., Schuler-Thurner, B., Palucka, A.K. and Schuler, G. *Dendritic cells as vectors for therapy.* Cell, 2001, 106, 271-274.
14. Kalergis, A.M. and Ravetch, J.V. *Inducing tumor immunity through the selective engagement of activating Fcγ receptors on dendritic cells.* J. Exp. Med., 2002, 195, 1653-1659.