

Komplementin aktivaatio ja säätely limakalvoinfektioissa

Helsingin yliopiston lääketieteellisen tiedekunnan luvalla HLL Riina Rautemaan väitöskirjatyö "Complement activation and regulation in mucosal infections" tarkastettiin Haartman Instituutin pienessä luentosalissa Helsingissä keskiviikkona 5. joulukuuta 2001. Työn on ohjannut dosentti Seppo Meri Helsingin yliopistosta, ja sen esitarkastivat dosentti Olli Vainio Turun yliopistosta ja dosentti Timo Sorsa Helsingin yliopistosta. Vastaväittäjänä väitöstilaisuudessa toimi professori, kliinisen mikrobiologian ja immunologian erikoislääkäri Reinhard Würzner Innsbruckin yliopistosta Itävallasta. Kustoksena toimi professori Risto Renkonen Helsingin yliopistosta. Tutkimus kuuluu kliinisen mikrobiologian ja immunologian sekä hammaslääketieteen alaan.

Taudinaiheuttajan tavoitteena on lisääntyä isäntänsä kustannuksella aiheuttamatta kuitenkaan sen liian nopeaa tuhoa. Isännän puolustusmekanismit ovat suuri haaste kaikille taudinaiheuttajille. Kudoksen infektoituminen aktivoi isännän immuunijärjestelmän. Tulehduksen välittäjäaineiden tuotanto infektoituneella alueella lisääntyy, alueen verisuonet laajenevat ja verenkierto kiihtyy. Puolustusmekanismit pääsevät nopeasti in-

fektiopaikalle tuhoamaan taudinaiheuttajan. Tulehdusreaktiolla on kuitenkin lukuisia haitallisia sivuvaikutuksia, joiden aiheuttamat vauriot saattavat olla jopa mikrobin aiheuttamia suuremmat.

Komplementti on elimistön puolustusjärjestelmä, jonka tehtävä on tuhota veren tai kudosten kanssa kosketuksiin joutuvia vieraita tai muuntuneita soluja ja eliminoida niiden hajoamistuotteita. Komplementin ensisijainen tarkoitus on toimia mikrobinvastaisena puolustusjärjestelmänä, mutta se osallistuu monin tavoin myös haitallisiin tulehdusreaktioihin aiheuttaen välitöntä ja välillistä kudostuhoa. Eräät komplementin aktivaatiotuotteet houkuttelevat ja aktivoivat valkosoluja, jotka puolestaan vapauttavat tulehduspaikalle muita tulehduksen välittäjäaineita. Nämä aktivaatiotuotteet ovat vastuussa suuresta osasta kudostuhoa monissa tulehduksellisissa sairauksissa. Solukalvoilla ja veriherassa on komplementin estäjiä, jotka suojaavat elimistön omia soluja ja hillitsevät liiallista tulehdusreaktiota.

Tässä väitöskirjatutkimuksessa on osoitettu, että komplementtijärjestelmä on aktiivinen sekä terveessä että tulehtuneessa ikenen ja mahalaukun limakalvossa. Terve limakalvo on tehokkaasti suojattu komplementin aktivaatiolta, ja komplementin solutuhokompleksien aiheuttamat solukalvovauriot isäntäsolujen pinnalla ovat harvinaisia. Epiteelin tyvikalvo ja sen alaiset kudokset ovat puolestaan huonosti suojattuja komplementin aktivaatiolta. Komplementin aktivaatiotuotteita onkin usein todettavissa tyvikalvolla. Infektio lisää komplementin aktivoitumista limakalvoilla, tyvikalvo vaurioituu ja sen läpäisevyys lisääntyy. Samalla komplementin lipidiankkuroitujen estäjien DAF:in ja CD59:n irtoaminen epiteelisolujen pinnalta lisääntyy. Lipidiankkuri vaikuttaa merkittä-



västi näiden estäjien ominaisuuksiin, etenkin niiden kykyyn irrota solun pinnalta pienissä solukalvorakkuloissa, tarttua plasman lipoproteiinipartikkeleihin ja kiinnittyä toisille solukalvoille. Tulehtuneen ikenen ja mahalaukun epiteelille olikin tyypillistä CD59:n rakeinen värjäytyminen. *Helicobacter pylori* -bakteerin infektoimilla potilailla irronnutta komplementin estäjää kertyi mahalaukun limakerrokseen. Estäjän irtoamisesta huolimatta komplementin solutuhokompleksien muodostus epiteelisolujen pinnalla oli harvinaista. Tyvikalvo ja sen alainen sidekudos olivat altteimpia komplementin aiheuttamille vaurioille.

Komplementti on erittäin tehokas puolustusmekanismi, ja useimmilta tutkituilta taudinaiheuttajilta on löytynyt jokin keino välttää komplementtitapolta. Gramnegatiiviset bakteerit ovat yleensä herkkiä seerumin komplementille, mutta vastustuskykyisemmät ovat kyvykkäämpiä aiheuttamaan tautteja. Osa bakteereista pystyy käyttämään isännän komplementin estäjä-molekyylejä hyväkseen välttääkseen komplementtitapon. Tässä väitöstutkimuksessa on kuvattu uusi mekanis-

mi, jonka avulla bakteerit voivat välttyä komplementtivälitteiseltä solutapolta. *Escherichia coli* and *H. pylori* -bakteereiden osoitettiin voivan sitoa solukalvolla irronnutta lipidiankkuroitua CD59-proteiinia omalle ulkokalvolleen ja siten estämään komplementtireiän synnyn. On todennäköistä, että bakteerit ja aitotumalliset solut sitovat CD59:ää pinnalleen samalla mekanismilla, koska molemmilla vain lipidiankkuroitu proteiini pystyi sitoutumaan ja koska sitoutuminen oli hyvin kestävä. Kuvattu mekanismi osaltaan selittää *H. pylori* -bakteerin kykyä vastustaa aktiivista komplementtijärjestelmää mahan limakalvolla ja kykyä aiheuttaa elinikäisen infektion. Se on toistaiseksi ainoa selitys sille, kuinka muutoin hyvin komplementtiherkkä *H. pylori* voi välttyä komplementtitapolta *in vivo*. *H. pylori* aiheuttaa mahakattarin ja on suurin yksittäinen mahasyövän riskitekijä.

Väitöskirjassa selvitettiin myös virusinfektion vaikutusta ihon fibroblastien ja hermosolujen komplementtiherkkyyteen *in vitro*. *Herpes simplex* -virustyyppi 1:n (HSV-1) aiheuttaman primaaritartunnan jälkeen seuraa latenttivaihe, ja viruksen kantajuus on elinikäinen. Osalla kantajista latentti virus aiheuttaa ajoittain uusiutuvan paikallisen rakkulaisen ihottuman. Tutkimuksessa sekä iho- että hermosolut alkoivat aktivoitua komplementtia pian HSV-1-infektioinnin jälkeen. Infektoimattomat solut olivat hyvin suojattuja aktiiviselta komplementtijärjestelmästä, mutta ihosolut menettivät kykynsä estää komplementin aktivaatiota virusinfektioinnin jälkeen. Hermosoluissa infektio muuttui latentiksi, eikä tutkittujen komplementin estäjien määrä vähentynyt. Hermosolut pystyivät ihosoluja paremmin suojautumaan komplementin aktivaatiolta HSV-1-infektion aikana.

Väitöskirjan osatutkimuksista voi yleisesti päätellä, että kehoon pitkäaikaisesti pesiytyvät mikrobit suojautuvat immuunipuolustukselta käyttämällä hyväkseen kehon omia suojausmekanismeja.

Complement activation and regulation in mucosal infections

The human complement (C) system has strong cytolytic potential and a central role in inflammatory and immune responses. This powerful defense system is kept under control by numerous inhibitors. The aim of the present study was to analyze how host cells at the sites of inflammation and bacteria causing infections protect themselves against C attack.

The present study showed that the C system is active in gingival and gastric mucosa. Healthy mucosa is well protected against C activation and deposition of the terminal complexes is rare. Infection induces C activation and C activation products deposit in the connective tissue. Infection also upregulates the production of glycolipid-anchored membrane inhibitors, CD55 and CD59, while it also increases their instability. Granular staining for CD59 was typical for infected gingival and gastric mucosa and shedding of this protective protein into the gastric mucus was detected. Despite shedding, C membrane attack complex (MAC) deposits were rare in the areas of CD59 expression. Basement membranes and underlying connective tissue were most susceptible to C damage.

Microbes have many mechanisms to evade complement-mediated killing. This study demonstrated a new mechanism whereby microbes can resist C-mediated lysis. It was found that *E. coli* and *H. pylori* bacteria bind the glycolipid-anchored CD59 released from host cell surfaces to their outer cell membranes. Binding of CD59 inhibits MAC assembly on the bacteria and contributes to their survival. This mechanism may partly explain the resistance of *H. pylori* against an active C system and the persist-

ence of chronic infection in the stomach.

The effect of a *Herpes simplex* virus type 1 infection on the activation and regulation of C in neuronal and embryonal skin cells was studied *in vitro*. It was observed that both cell types began to activate C after infecting with the virus. Intact cells were well protected against C activation but the infection caused the skin cells to lose their protection. In the neuronal cells, however, the infection became latent and the expression of the membrane regulators of C persisted. Neuronal cells can thus host latent virus infection as they are relatively well protected against C attack.

Riina Rautemaa,
HLL
Bakteriologian ja immunologian osasto
Haartman Instituutti
Helsingin yliopisto
riina.rautemaa@helsinki.fi