

Det vi spiser påvirker vores immunforsvar – men hvordan?

På BioCentrum-DTU under LMC undersøger man vha. cellulære teknikker og dyremodeller, med hvilke mekanismer enkelte molekyler eller mikroorganismer påvirker immunforsvarets celler. Jo mere viden vi får, des bedre kan vi forebygge og helbrede sygdomme

Af Hanne Risager Christensen, Tanja Kjær, Susanne Brix og Hanne Frøkiær, BioCentrum-DTU, LMC

Flere faktorer i kosten påvirker vores immunsystem og er med til at bestemme, hvordan immunforsvaret reagerer i forhold til omgivelserne. Om vi får et effektivt og balanceret immunforsvar, allergi eller autoimmune sygdomme afhænger af, hvilke signaler det medfødte immunforsvar får fra omgivelserne, og af hvor følsomt det er over for omgivelserne. Trods den stigende erkendelse af at kostkomponenter medvirker til at dirigere immunforsvaret i en bestemt retning, altså at polarisere immunforsvaret, er mekanismerne bag disse effekter stort set ukendte.

Polyumættet fedt, bioaktive peptider og mikroorganismer er eksempler på kostkomponenter, der kan påvirke polariseringen af vores immunforsvar.

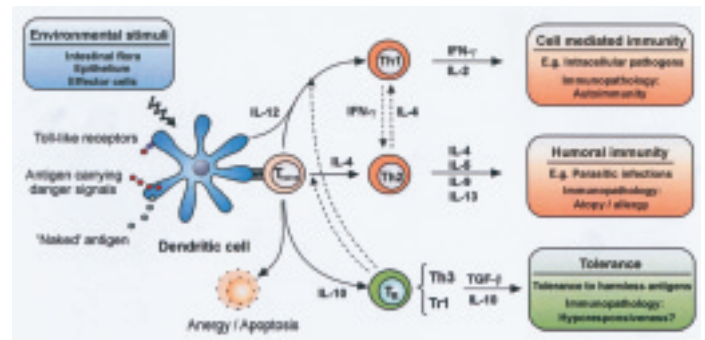
I en række projekter på BioCentrum-DTU under Levnedsmiddelcentret (LMC) undersøges de underliggende mekanismer, hvormed enkelte molekyler eller mikroorganismer påvirker immunforsvarets celler. Det undersøges vha. cellulære teknikker og dyremodeller. Jo mere viden og forståelse vi har om kostens og miljøets påvirkning af immunforsvaret, des bedre er mulighederne for at forebygge og helbrede sygdomme. Der kan f.eks. skabes basis for at udvikle screeningsmetoder til at identificere potentielle probiotiske (sundhedsfremmende) mikroorganismer, eller vi kan opnå forståelse for, hvorfor fiskeolie har en positiv effekt i forebyggelse af allergi.

Cellebaseret model til undersøgelse af effekter på immunforsvaret

Der bruges dendritiske celler til at undersøge kostkomponenters indflydelse på immunforsvaret. Dendritiske celler er en gruppe immunceller, der findes i de fleste vævstyper. De fungerer som en slags »dørvogtere« i immunsystemet: For at kroppen reagerer hensigtsmæssigt på alle de fremmede stoffer, vi hver dag er i kontakt med, kan dendritiske celler genkende forskellige molekyltyper, som enten potentielt farlige eller uskadelige for kroppen. Også andre af immunforsvarets celler, bl.a. makrofager, har denne evne, der er medfødt og langsomt udviklet til at opfange faresignaler, typisk i form af patogene mikroorganismer. Det unikke ved dendritiske celler er, at de, alt

efter de signaler de modtager, enerådigt styrer, hvilken type respons immunforsvaret skal reagere med, dvs. hvordan immunforsvaret f.eks. polariseres mod allergi.

Dendritiske celler uddifferentieres fra knoglemarvens stamceller og vandrer som umodne dendritiske celler ud i vævet, hvor de yderligere



Figur 1. Figuren illustrerer, hvordan omgivelserne påvirker dendritiske celler, og hvordan denne påvirkning resulterer i effekter på immunforsvaret. Det specifikke immunsvaret bestemmes af antigener og andre komponenter i den dendritiske celledens omgivelser. Antigen fagocytteres af den dendritiske celle. På samme tid påvirkes cellen af, at tilstedeværende komponenter (f.eks. cytokiner, mikroorganismer, fedtsyreafledte hormoner) bindes specifikt til receptorer på cellens overflade. Afhængig af hvordan receptorer og cytokinproduktion opreguleres, resulterer det i forskellige polariserede T-celle-subtyper, der styrer typen af det endelige immunrespons.

differentieres afhængigt af, hvilket væv de befinder sig i - de lokale omgivelser påvirker cellen med forskellige faktorer. Sådanne faktorer i vævet er stort set ukendte, men formodes bl.a. at udgøres af vævets fedtsyresammensætning, cytokiner (cellesignaleringsstoffer) og andre bioaktive molekyler, der kan stamme direkte fra vævsceller eller fra omgivelserne, herunder kosten samt tarmens og andre slimhindes mikroflora. Her fokuseres på mikroorganismers indflydelse på dendritiske celler. Det demonstreres, hvordan studier med disse celler kan medvirke til at karakterisere og dermed identificere mikroorganismer med potentielt sundhedsfremmende effekter på immunforsvaret.

Vi ved, at mikroorganismer genkendes af en bestemt type receptorer på overfladen af umodne dendritiske celler. Receptorerne kaldes for mønstergenkendelsesreceptorer (»pattern recognition receptors«, PRR), og de genkender specifikke mønstre på mikroorganismen, f.eks. lipopolysaccharid, cellevægskulhydrater, flageller eller særlige DNA-sekvenser. Afhængig af sammensætningen af de komponenter, der bindes til de forskellige receptorer på den dendritiske celledens overflade, modnes cellen og begynder at producere forskellige cytokiner i koncentrationer, der afhænger af stimuleringen. Det resulterer i en dendritisk celle med specifik kapacitet til at polarisere det specifikke immunforsvar. Det skyldes, at de T-celler, der efterfølgende interagerer med den modne dendritiske celle, differentierer til forskellige subklasser, der bestemmer, hvilken type immunrespons der dannes, f.eks. tolerance eller et allergisk respons mod et givent antigen (figur 1).

4916 3388
CLAUS DAMM
 Udstyr til:
 * steril produktion
 * bioteknologi
 * forskning
 www.clausdamm.dk

Screening af bakterier med særlige egenskaber

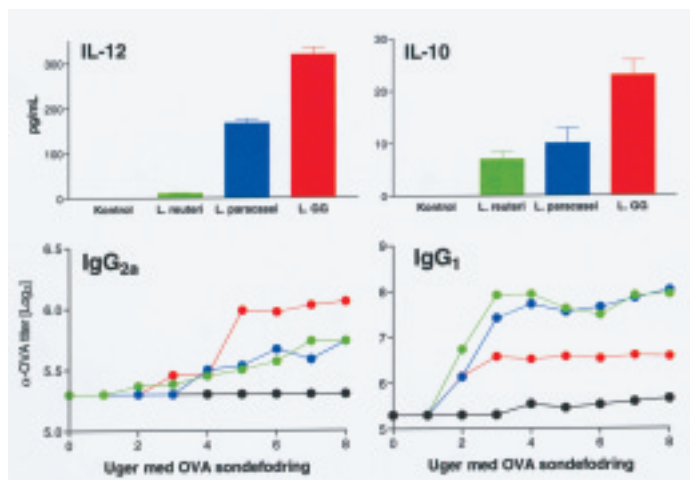
Mælkesyrebakterier er en vigtig del af tarmfloraen og har dermed potentiel betydning for tarmens immunforsvar.

Vi har benyttet dendritiske celler til at undersøge en række mælkesyrebakterier for deres polariserende effekt på immunforsvaret. Undersøgelsen viste bl.a., at de forskellige bakterier påvirker de dendritiske celler til forskellig cytokinproduktion, og at nogle bakterier er mere effektive end andre til at inducere cytokinproduktionen. Metoden er egnet som screeningsmetode, og den bruges nu i et samarbejde med Mejeri og Levnedsmiddelinstituttet (MLI), Institut for Human Ernæring (IHE) på KVL og Mejeriforeningen, hvor der screenes et stort panel af mælkesyrebakterier for særlige immunpolariserende effekter.

Ny viden om molekulære og cellulære interaktioner

De dendritiske celler, der bruges i cellemodellen, opnås ved at udtage stamceller fra knoglemarven fra mus. Ved dyrkning i kultur under veldefinerede betingelser differentierer de til umodne dendritiske celler. De cellekulturer, der opnås, består næsten udelukkende af umodne dendritiske celler. Disse umodne celler anvendes til undersøgelse af, hvordan forskellige kostkomponenter, inkl. mikroorganismer, påvirker cellernes *in vitro*-kapacitet til at modne og inducere produktion af forskellige cytokiner.

For at opnå en bedre forståelse for de videre effekter af de polariserende dendritiske celler kan cellemodellen udvides ved at blande cellerne med f.eks. T-celler eller tarmceller. Det giver mulighed for at studere interaktionen mellem celler (cellular cross-talk), f.eks. efter stimulering med en bakterie.



Figur 2. Produktionen af de to cytokiner Interleukin-12 og Interleukin-10, der er relateret til polariseringen af immunforsvaret, målt i kulturer af dendritiske celler efter stimulering med tre mælkesyrebakterier: kontrol (sort), Lactobacillus reuteri (grøn), L. paracasei (blå) og L. rhamnosus GG (rød), (øverste figur), og det ovalbuminspecifikke antistofrespons i blodet fra mus fodret med den indikerede bakterie (samme farvekode) og ovalbumin (nederste figur).

Det er også muligt under celledyrkningen at tilsætte specifikke næringsstoffer, f.eks. en polyumættet fedtsyre, og dermed undersøge fedtsyrens inkorporering i cellemembranen og effekten på celfunktionen. I et nystartet projekt skal den kombinerede indflydelse af forskellige lipider og probiotiske bakteriers effekt på immunforsvaret undersøges, bl.a. ved brug af dendritiske cellekulturer og blandinger af cellekulturer.

Fra cellulære modeller til humane interventionsstudier

Cellekulturer giver mulighed for at forudsige mulige effekter af f.eks. kostkomponenter og for at belyse de bagvedliggende mekanismer på et cellulært plan. Men hvorvidt effekter, der kan påvises i cellekulturer, rent faktisk afspejler fysiologiske

effekter, skal verificeres i *in vivo*-forsøg. Mus anvendes oftest til sådanne forsøg, idet deres immunsystem er velkarakteriseret, og der er på BioCentrum-DTU etableret et antal musemodeller til at teste kostens betydning for immunforsvaret. Museforsøg kan samtidig identificere relevante markører for tilstande eller ændringer i immunforsvaret, der kan analyseres i humane interventionsforsøg. Humane interventionsstudier af effekterne af probiotika og polyumættede fedtsyrer udføres af børnegruppen på IHE, hvor vi på BioCentrum-DTU analyserer markører for effekter på immunforsvaret på prøver fra sådanne studier.

Figur 2 illustrerer, hvordan resultater fra et forsøg med dendritiske celler sammenlignes med resultater fra et musefodningsforsøg. Figuren viser effekten af nogle mælkesyrebakterier på cytokinproduktionen i cellekulturen sammenholdt med effekten på antistofsvaret over for et æggehvideprotein, ovalbumin, som musene sondefodres med, mens de får mælkesyrebakterier i drikkevandet. Produktion af cytokinet interleukin-12 medfører Th1-celler, der hovedsageligt stimulerer et cellemedieret immunsvær, karakteriseret ved IgG2a-antistoffer. En høj koncentration af Interleukin-10 kan derimod, afhængigt af hvilke cytokiner der i øvrigt produceres, medføre et Th2-cellesvær, der hovedsageligt stimulerer et antistofbaseret immunsvær, herunder produktion af IgG1-antistoffer. Der ses således en overensstemmelse mellem effekten af den enkelte mælkesyrebakterie på de dendritiske cellers cytokinproduktion og musenes specifikke antistofrespons på ovalbumin.

E-mail-adresse:
Hanne Frøkiær: hf@biocentrum.dtu.dk

Kilder:

- Calder, P.C. (2001): Polyunsaturated fatty acids, Inflammation and immunity, *Lipids*, 136: 1007.
- Huby, R.D.J., Dearman, R.J. and Kimber, I. (2000): Why are some proteins allergens?, *Tox. Sci.*, 55: 235.
- Christensen, H.R. and Frøkiær, H. (2003): Immunomodulating effects of lactic acid bacteria. In: *Food biotechnology*, second edition, Revised and expanded, K. Shetty, A. Pometto and G. Paliyath, eds., Marcel and Dekker, New York, *in press*.
- Banchenreau, J. and Steinmann, R.M. (1998): Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 392: 245.
- Christensen, H.R., Frøkiær, H. and Pestka, J.J. (2002): Lactobacilli differentially modulate expression of cytokines and maturation surface markers in murine dendritic cells. *J. Immunol.* 168: 171.
- Christensen, Larsen, L.C. & H. Frøkiær (2003): The oral immunogenicity of bioProtein – a bacterial single-cell protein – is affected by the particulate nature. *Brit.J.Nutr.*, 90:169.
- Kjær T.M.R. and H.Frøkiær (2002): Modulation of ovomucoid-specific oral tolerance in mice fed plant extracts containing lectins, *Brit.J.Nutr.*, 88: 671.
- Christensen, H.R., Kroghsbo, S. and Frøkiær, H. (2003): Experimental parameters differentially affect the humoral response of the cholera toxin-based murine model of food allergy. *Int. Arch. Allergy Clin. Immunol.*, 131: 256.

SKANLAB
Retsch
Reproducerbar formaling og kornstørrelsesanalyse

Planetskuglemølle PM 100
Til formaling og homogenisering
Til mekanisk legering.

NYHED

Tlf. 47 38 10 14 www.skanlab.com