

# Mucosal Dendritic Cells in Inflammatory Bowel Disease



**Sa'ad Y. Salim**

**Handledare:** Johan D. Söderholm

**Opponent:** Mary Jo Wick

**Offentligt försvar:** 2009-05-19

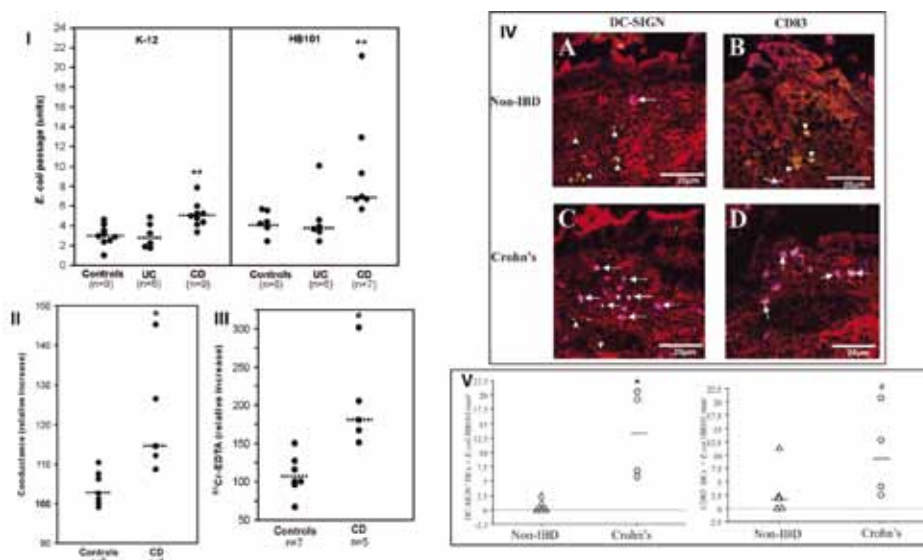
**C**rohns sjukdom (CD) är en inflammatorisk tarmsjukdom (IBD), där immunsystemet börjar angripa mag-tarmkanalen hos genetiskt predisponerade individer, troligen utlöst av en ännu okänd miljöfaktor (Podolsky 2002, Shanahan 2002, Xavier och Podolsky 2007). CD är en kronisk sjukdom som kan ge stor påverkan på livskvaliteten och vi har ännu inget botemedel.

Kliniska och endoskopiska fynd pekar på att recidiverande sjukdom initialt uppkommer som erosioner över de lymfocytansamlingar som kallas Peyerska plack (Rickert och Carter 1980; Fujimura, Kamo et al. 1996). I distala ileum finns rikligt med Peyerska plack och en ökad bakteriekolonisation jämfört med mer proximal tunntarm (Rickert och Carter 1980; Van Kruiningen, Ganley et al. 1997). Detta skulle kunna vara en förklaring till varför ileum ofta är mest påverkad vid CD. Vår hypotes var att en epitel-dysfunktion och/eller dysfunktion av dendritiska celler (DC) i Peyerska placken spelar en viktig roll för att initiera och underhålla kronisk inflammation.

Follikelassocierat epitel (FAE) är specialiserade epitelceller som täcker kupolområdet i Peyerska plack. Den huvudsakliga funktionen för FAE är att ta upp lumenantigen och transportera dem till underliggande immunceller (Gullberg och Söderholm 2006). Vi fann en ökad transmucosal permeabilitet av icke-patogena *E. coli* i ileal FAE från patienter med CD, jämfört med ulcerös kolit och kontroller (Keita, Salim et al. 2008). Ileumslemhinna från CD-patienter var också känslig för exponering för *E. coli*, vilket visades genom ökad paracellular permeabilitet (elektrisk konduktans och <sup>51</sup>Cr-EDTA-transport; se figur 1). Denna barriärdefekt i FAE gör att slemhinnans immunsystem utsätts för en större mängd antigen, vilket kan medföra initiering av en proinflammatorisk immunrespons och/eller att en redan etablerad inflammation underhålls.

**Dendritiska celler (DC)** är professionella antigen-presenterande celler som tjänar som perifera vaktposter mot antigenexponeringen från lumen. I djurförsök har DC visat sig känna av lumen genom att föra upp sina dendriter mellan epitelcellerna (Niess, Brand et al. 2005; Niess och Reinecker 2006). Efter att ha stött på ett antigen genomgår DC en mognadsprocess och vandrar ut till T-cells-rika områden, exempelvis lymfkörtlar (Caux, Ait-Yahia et al. 2000). Under mognadsprocessen genomgår DC en omorganisation av cytoskelettet, med nedsatt fagocytoskapacitet och börjar uttrycka receptorn CCR7 som gör att de vandrar till rätt omgivning (Adams, O'Neill et al. 2005; Jang, Sougawa et al. 2006). Det är i de T-cells-rika områdena som mogna DC presenterar sina bearbetade antigen för T-cellerna. Detta medför T-cells-prolifera-

tion och differentiering till T-hjälparceller eller T-cytotoxiska celler. Vi studerade DCs roll i den förändrade funktionen i Peyerska plack vid Crohn. Våra resultat visade att vävnader från patienter med CD hade en anhopning av både omogna (DC-SIGN+) och mogna (CD83+) DC inom subepiteliala domäner i FAE jämfört med kontroller och pat med ulcerös kolit (Salim, Silva et al. 2009). I FAE-domen var 45 [20–67]% av *E. coli* kolokaliserade med DC hos CD-pat, mot 14 [0–33]% hos kontroller (Keita, Salim et al. 2008). Detta tyder på att DC vid Crohn är mer benägna att ta upp *E. coli*. Ytterligare karakterisering av DC i subepiteliala domäner visade att 71 [66–92]% av mogna DC vid Crohn var CCR7+ jämfört med 8 [0–26]% hos kontroller (se tabell 1). Dessa resultat tyder på en viktig dysreglering där mindre än en tredjedel av mogna DC



**Figure 1: Transmucosal Uptake of *E. coli*, Its Effects on Paracellular Permeability, and Uptake by Sub-Epithelial Dendritic cells.**

There is greater flux of both dead *E. coli* K12 and live *E. coli* HB101 in CD tissue compared to controls and ulcerative colitis (I). Bacterial exposure resulted in increased paracellular permeability via increased conductance (II) and <sup>51</sup>Cr-EDTA (III). Stained sections of non-IBD controls showed fewer co-localisation of DC-SIGN+DCs (IV,A) and CD83+DCs (IV,B) than in Crohn's disease (DC-SIGN+DCs IV,C and CD83+DCs IV,D). V, the quantification of co-localised DCs with *E. coli*.

uttryckte receptorn CCR7, som styr vandring mot T-cellsområden, och de DC som stannade vid FAE hade större benägenhet att ta upp E. coli.

**Huvudresultatet i denna avhandling** var alltså att FAE vid Crohns sjukdom har en inneboende permeabilitetsdefekt och att DC samlas perifert under epitelet snarare än att vandra till T-cells-rika områden. Det skulle vara intressant att fastställa hur DC kan förändra inflammatoriska svaret under olika stadier av inflammationsutvecklingen. Preliminära opublicerade data visar att DC som isolerats från patienter med långvarig remission har en minskad kapacitet att inducera T-cellsproliferation jämfört med friska kontroller. Dessutom frisatte T-celler som stimulerats med DC från Crohn en ökad mängd av denna antiinflammatoriska cytokinen IL-10. Sammanfattningsvis är det frestande att spekulera i att DC kan spela olika roller i olika stadier av Crohns sjukdom. Att förstå dessa olika roller skulle kunna ge oss verktyg för att aktivt modulera slemhinnans immunsystem och därigenom utveckling av nya terapeutiska strategier.

DC fenotyp	Crohns sjukdom	Kontroller
CD83 <sup>+</sup> CCR6 <sup>+</sup>	71 [66–92]%	8 [0–26]% *
CD83 <sup>+</sup> CCR7 <sup>+</sup>	28 [27–42]%	92 [68–99]% *

**Tabell 1:** Kvantifiering av procentuell fördelning av mogna dendritiska celler (CD83<sup>+</sup>) avseende uttryck av ytreceptorerna CCR6<sup>+</sup> respektive CCR7<sup>+</sup> i subepiteliala domen av FAE hos patienter med Crohns sjukdom och kontrollpatienter.

#### References:

- Adams, S., D. W. O'Neill, et al. (2005). "Recent advances in dendritic cell biology" *J Clin Immunol* 25 (2): 87-98.
- Caux, C., S. Ait-Yahia, et al. (2000). "Dendritic cell biology and regulation of dendritic cell trafficking by chemokines." *Springer Semin Immunopathol* 22 (4): 345-369.
- Fujimura, Y., R. Kamoi, et al. (1996). "Pathogenesis of aphthoid ulcers in Crohn's disease: correlative findings by magnifying colonoscopy, electron microscopy, and immunohistochemistry." *Gut* 38 (5): 724-732.
- Gullberg, E. and J. D. Soderholm (2006). "Peyer's patches and M cells as potential sites of the inflammatory onset in Crohn's disease." *Ann N Y Acad Sci* 1072: 218-232.
- Jang, M. H., N. Sougawa, et al. (2006). "CCR7 is critically important for migration of dendritic cells in intestinal lamina propria to mesenteric lymph nodes." *J Immunol* 176 (2): 803-810.
- Keita, A. V., S. Y. Salim, et al. (2008). "Increased uptake of non-pathogenic E. coli via the follicle-associated epithelium in longstanding ileal Crohn's disease." *J Pathol* 215 (2): 135-144.
- Niess, J. H., S. Brand, et al. (2005). "CX3CR1-mediated dendritic cell access to the intestinal lumen and bacterial clearance." *Science* 307 (5707): 254-258.
- Niess, J. H. and H. C. Reinecker (2006). "Dendritic cells: the commanders-in-chief of mucosal immune defenses." *Curr Opin Gastroenterol* 22 (4): 354-360.
- Podolsky, D. K. (2002). "Inflammatory bowel disease." *N Engl J Med* 347 (6): 417-429.
- Rickert, R. R. and H. W. Carter (1980). "The "early" ulcerative lesion of Crohn's disease: correlative light- and scanning electron-microscopic studies." *J Clin Gastroenterol* 2(1): 11-19.
- Salim, S. Y., M. A. Silva, et al. (2009). "CD83+CCR7- dendritic cells accumulate in the subepithelial dome and internalize translocated Escherichia coli HB101 in the Peyer's patches of ileal Crohn's disease." *Am J Pathol* 174 (1): 82-90.
- Shanahan, F. (2002). "Crohn's disease." *Lancet* 359 (9300): 62-69.
- Van Kruiningen, H. J., L. M. Ganley, et al. (1997). "The role of Peyer's patches in the age-related incidence of Crohn's disease." *J Clin Gastroenterol* 25 (2): 470-475.
- Xavier, R. J. and D. K. Podolsky (2007). "Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease." *Nature* 448(7152): 427-434.