

5. Tarte K, de Vos J, Thykjaer T et al. Generation of polyclonal plasmablasts from peripheral blood B cells: a normal counterpart of malignant plasmablasts. *Blood* 2002;100:1113-22.
6. Cardozo AK, Heimberg H, Heremans Y et al. A comprehensive analysis of cytokine-induced and nuclear factor-kappa B-dependent genes in primary rat pancreatic beta-cells. *J Biol Chem* 2001;276:48879-86.
7. Cardozo AK, Kruhoffer M, Leeman R et al. Identification of novel cytokine-induced genes in pancreatic beta-cells by high-density oligonucleotide arrays. *Diabetes*. 2001;50:909-20.
8. Flamez D, Berger V, Kruhoffer M et al. Critical role for cataplerosis via citrate in glucose-regulated insulin release. *Diabetes* 2002;51:2018-24.
9. Van't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002;415:530-6.
10. Zembutsu H, Ohnishi Y, Tsunoda T et al. Genome-wide cDNA Micro-array screening to correlate gene expression profiles with sensitivity of 85 human cancer xenografts to anticancer drugs. *Cancer Res* 2002;62:518-27.
11. Kennan A, Aherne A, Palfi A et al. Identification of an IMPDH1 mutation in autosomal dominant retinitis pigmentosa (RP10) revealed following comparative micro-array analysis of transcripts derived from retinas of wild-type and Rho(-/-) mice. *Hum Mol Genet* 2002;11:547-57.
12. Wyttenbach A, Swartz J, Kita H et al. Polyglutamine expansions cause decreased CRE-mediated transcription and early gene expression changes prior to cell death in an inducible cell model of Huntington's disease. *Hum Mol Genet* 2001;10:1829-45.
13. Celis JE, Kruhoffer M, Gromova I et al. Gene expression profiling: monitoring transcription and translation products using DNA micro-arrays and proteomics. *FEBS Lett* 2000;480:2-16.
14. Wang DG, Fan JB, Siao CJ et al. Large-scale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome. *Science* 1998;280:1077-82.
15. Sekine A, Saito S, Iida A et al. Identification of single-nucleotide polymorphisms (SNPs) of human N-acetyltransferase genes NAT1, NAT2, AANAT, ARD1 and L1CAM in the Japanese population. *J Hum Genet* 2001; 46:314-9.
16. Primdahl H, Wikman FP, von der Maase H et al. Allelic imbalances in human bladder cancer: genome-wide detection with high-density single-nucleotide polymorphism arrays. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:216-23.
17. Wikman FP, Lu ML, Thykjaer T et al. Evaluation of the performance of a p53 sequencing micro-array chip using 140 previously sequenced bladder tumor. *Clin Chem* 2000;46:1555-61.

Apoptose ved kronisk inflammatorisk tarmsygdom

Betydning for patogenese og behandling

STATUSARTIKEL

Jakob Benedict Seidelin & Ole Haagen Nielsen

De kroniske inflammatoriske tarmsygdomme (KIT), der omfatter colitis ulcerosa (UC) og Crohns sygdom (CD), har en ukendt patogenese. Infiltration i tarmslimhinden af inflammatoriske celler og en heraf afledt produktion af inflammatoriske mediatorer (bl.a. cytokiner) spiller en væsentlig rolle for udviklingen og kroniciteten af KIT (1). Den inflammatoriske reaktion i tarmvævet har en lang række indvirkninger på de celler, der findes i slimhinden. Eksempelvis påvirkes reguleringen af celledeling og -død i høj grad af cytokiner. Ændringer i celleomsætningen af tarmmucosas forskellige celletyper har stor betydning for tarmfunktionen og kan forklare en række af de kliniske manifestationer, der ses ved KIT (2). Ved KIT er der således en øget celledød i tarmepitelet, som medfører øget tarmpermeabilitet for luminal immunogener, hvilket yderligere kan inducere celleaktivering og inflammation (3, 4). Samtidig findes der nedsat celledød blandt lymfocytter, der derved undgår den nedregulering, som normalt kendetegner inflammatoriske reaktioner (5). Begge disse forhold forklarer væsentlige sygdomsmekanismer ved KIT-patofysiologien og vil blive beskrevet i detaljer efter en forudgående kort gennemgang af de overordnede molekylærbiologiske celledøds mekanismer. De seneste års fokusering på disse mekanismer har inden for gastroenterologien været fulgt med interesse, fordi en øget forståelse af den molekylærbiologiske baggrund for cellers regulering af liv og død sandsynligvis vil vise sig at være anvendelig ved frembringelse af nye behandlingsstrategier bl.a. over for KIT.

Programmeret celledød – også kaldet apoptose (fra græsk: løvfældning) – er en form for altruistisk og ordnet celleeksekvering. Apoptose kendetegnes ved, at cellen skrumper og fragmenteres til vesikler, der fagocyteres uden at intracellulære komponenter bliver frigjort. Bortskaffelse af celler ved apoptose udløser derfor ingen immunreaktion. Apoptose står i modsætning til necrosis, som sædvanligvis skyldes en kraftig ydre påvirkning, der resulterer i cellelysering og udsivning af intracellulære bestanddele. Frigørelsen af disse intracellulære bestanddele resulterer derimod i et immunologisk respons.

Den menneskelige organisme omsætter hele tiden celler (6×10^{10} celler pr. døgn – primært i tarm, hud, knoglemarv og kønsorganer), og denne fysiologiske celledød sker ved apoptose (6). Ved en række forsøg med nematoden *C. elegans* fra begyndelsen af 1980'erne og frem, som i øvrigt blev belønnet med Nobelprisen i medicin i 2002, blev der kortlagt vigtige signalveje for programmeret celledød, som siden har vist sig at eksistere i alle multicellulære organismer, også hos mennesket (7).

Signalvejene ved apoptose kan opdeles i to: en ydre eller receptormedieret signalvej og en indre eller mitokondriemedieret signalvej (**Fig. 1**). Den ydre signalvej aktiveres ved ligandbinding til de såkaldte dødsreceptorer på cellemembranen. Eksempler på dødsreceptorer er CD95, *tumor necrosis factor receptor 1* (TNF-RI) og *TNF-related apoptosis inducing ligand-receptor* (TRAIL)-receptor og deres ligander: hhv. CD95L, TNF- α og TRAIL. Binding af liganderne fører til rekruttering af en række adaptorproteiner, hvilket resulterer i binding og aktivering af caspaser (cysteinaspartidylproteaser). Caspaser er cytosolære proteaser med høj specificitet, som selv indeholder et caspaseproteasemotiv og der-

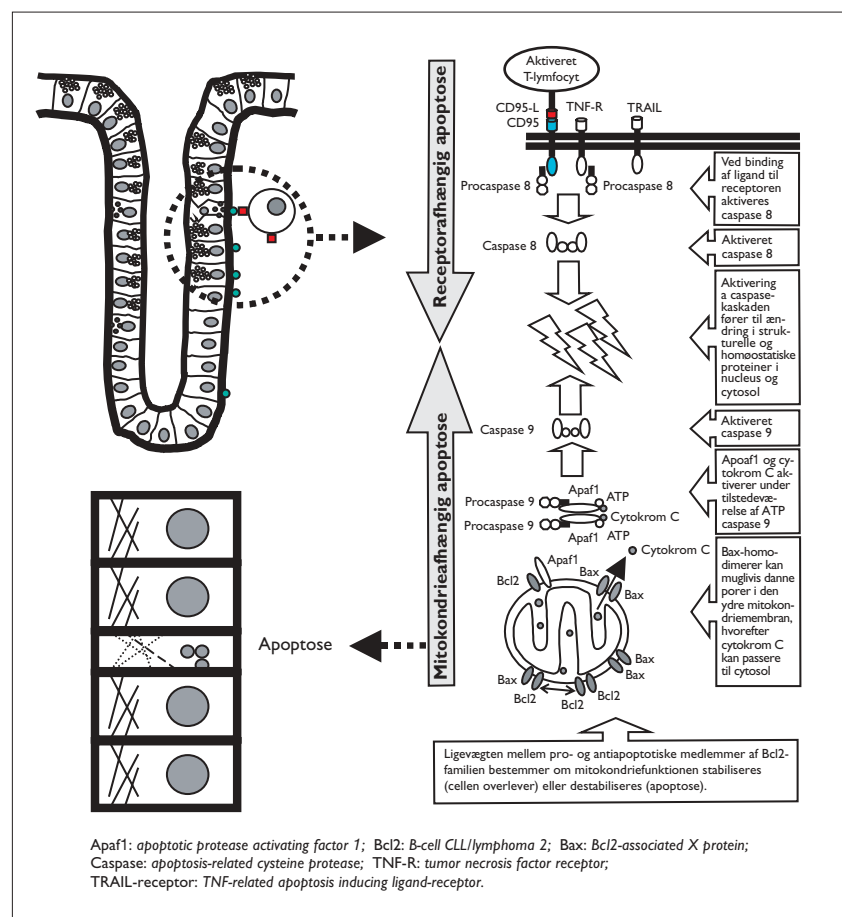
for, når de er aktiveret, er i stand til at aktivere andre caspaser i en klassisk kaskadereaktion. Caspaserne er hierarkisk ordnede, og de først aktiverede caspaser kaldes initiatorcaspaser, mens de sidst aktiverede caspaser kaldes effektorcaspaser. Effektorcaspaserne aktiverer bl.a. DNaser og nedbryder cytoskelettet, hvorved cellen irreversibelt dræbes. Caspaser er således helt centrale i den apoptotiske proces. Den receptormedierede signalvej har meget til fælles med den mitokondriemedierede, idet de begge styres af caspaser og ender med aktivering af de samme effektorcaspaser. Mitokondriet er, som navnet antyder, centralt i den mitokondriemedierede signalvej, idet der herfra frigives en række proteiner til cytosolen, og disse aktiverer caspasekaskaden ved apoptose, f.eks. *apoptotic protease activating factor 1* (Apaf1) og cytokrom C. Frigørelsen af Apaf1 og cytokrom C styres af proteiner i den ydre mitokondriemembran, som tilhører *B-cell CLL/lymphoma 2 protein* (Bcl-2)-familien. De apoptoseinducerende medlemmer af Bcl-2-familien muliggør udsivningen af Apaf1 og andre substanser formentlig ved poredannelse i mitokondriemembranen, mens de apoptosehæmmende medlemmer blokerer poredannelsen og dermed apoptoseprocessen. Apoptosisinducerende medlemmer af Bcl-2-familien er bl.a. *Bcl-2 associated X protein* (Bax) og *Bcl-2-antagonist/killer* (Bak), mens Bcl-2 selv hører til de apoptosehæmmende medlemmer af familien.

TNF- α og interferon- γ (IFN- γ) er vigtige proinflammatoriske cytokiner, som er opreguleret ved KIT. Enterocytter dør ved apoptose in vitro, hvis de stimuleres med TNF- α .

Denne apoptoseeffekt øges, hvis der samtidig stimuleres med IFN- γ . Stimulationen medfører en nedsat transepitelial modstand, og i høje koncentrationer ses endvidere epitelfekter. TNF- α inducerer receptormedieret apoptose ved binding til TNF-RI og gør enterocytter mere følsomme over for andre former for receptormedieret apoptose ved at opregulere CD95 på deres celleoverflade. IFN- γ øger en række proapoptotiske mediatorer i enterocytter bl.a. Bax, CD95, CD95L og caspaser og øger derfor deres følsomhed for både receptormedieret og mitokondriemedieret apoptose (8). Navnlig er CD95 interessant, fordi infiltrerende T-celler ved UC udtrykker høje mængder af receptorliganden CD95L på deres celleoverflade, og fordi enterocytter undergår apoptose ved CD95-stimulation (9). CD95/CD95L-signalering mellem infiltrerende aktiverede T-celler og enterocytter har derfor været fremhævet som en primær årsag til udvikling af ulcerationer og intestinal inflammation ved KIT.

Mens enterocytter, som ovenfor nævnt, reagerer med apoptose ved cytokinstimulation, er effekten tilsyneladende omvendt på leukocytter, der infiltrerer tarmmucosa ved KIT, idet de har et nedsat apoptoserespons. T-celler fra CD-patienter har en øget ekspression af det antiapoptotiske Bcl-2, som gør dem resistente over for en række apoptoseinducerende stoffer, herunder CD95L (5). T-cellerne nedreguleres derfor ikke ved de kontrollerende feedbackmekanismer, som kendes fra den normale inflammatoriske reaktion. De infiltrerende T-celler bliver derimod ved med at frigøre proinflammatoriske cytokiner (bl.a. TNF- α og IFN- γ) og udøver

Fig. 1. Skematisk fremstilling af apoptose ved de kroniske inflammatoriske tarmsygdomme. I øverste venstre hjørne ses T-celle-medieret apoptose i epitelet i en colonkrypt. Den molekylærbiologiske baggrund for receptormedieret og mitokondriemedieret apoptose er skitseret til højre i figuren. Resultatet er celledød, som det er vist i nederste venstre hjørne, hvor cytoskelettet (aktinfilamenter) er nedbrudt, kernen fragmenteret og enterocytten skrumpet som led i apoptose.



De kroniske inflammatoriske tarmsygdomme (KIT), dvs. Crohns sygdom og ulcerøs colit er kendetegnet ved øget epitelial celledød og øget overlevelse blandt infiltrerende T-celler i den inflammerede tarm. Den dysregulerede celledød forklarer en række af de kliniske manifestationer ved KIT og åbner mulighed for udviklingen af nye, mere specifikke behandlingsstrategier.

tillige andre vævsskadelige effekter såsom at inducere apoptose i colonepitelceller. Kombinationen af en øget apoptosesensitivitet blandt enterocytter og en nedsat apoptosesensitivitet blandt T-celler i det inflammerede tarmvæv kan tilsammen bidrage til den kroniske inflammation og slimhindebeskadigelse, som kendetegner aktiv KIT.

Farmakologisk modificering og kontrol af apoptosemekanismen ved KIT vil måske kunne blive en ny behandlingsstrategi i fremtiden. Der er ud over den nævnte apoptoseresistens også anden evidens for, at T-celle-responset hos KIT-patienter er dysreguleret og central for de to tarmsygdommes patogenese. Elimination af T-celler ved induktion af apoptose vil muligvis vise sig at kunne inducere remission hos KIT-patienter. Det skal i denne forbindelse nævnes, at den traditionelle antiinflammatoriske behandling med kortikosteroider netop inducerer apoptose blandt immunkompetente celler. Problemet med anvendelsen af denne behandling ved en række kroniske inflammatoriske tilstande er imidlertid bivirkningsprofilen, som bl.a. KIT-patienter gerne vil slippe for i fremtiden. Farmakologiske principper, der specifikt hæmmer T-celler, er derfor at foretrække. Det er i øvrigt interessant, at det nye og effektive kimere TNF- α -antistof, infliximab, netop besidder en sådan effekt. I døgnene efter intravenøs infusion af infliximab ses en selektiv apoptosemedieret fjernelse af T-celler fra CD-patienters tarmmucosa (10). Ved in vitro-forsøg har man desuden vist, at aktiverede T-celler dør ved apoptose under eksponering for infliximab. Mekanismen er ukendt, men T-celler udtrykker membranbunden TNF- α , og signaleringsvejen formodes at foregå gennem denne ved antistoffets bindingsproces. Fjernelse af frit TNF- α ved binding til infliximab kunne endvidere hæmme enterocytters cytokinpåvirkning og dermed reducere epitelialcelledød, hvilket ville forbedre barrierefunktionen og dermed begrænse aktiveringskaskaden i tarmvævet.

Der er således grund til fremover at fokusere på apoptosemekanismer i bestræbelserne på at få udviklet mere specifikke behandlingsstrategier på det molekylære niveau, så behandlingseffekten kan forbedres, og bivirkningsprofilen samtidig reduceres. En lang række stoffer med disse virkninger er for tiden under klinisk afprøvning eller i *pipeline* (6).

Summary

Jakob Benedict Seidelin & Ole Haagen Nielsen: Apoptosis by inflammatory bowel disease.

Ugeskr Læger 2003;165:790-2.

Inflammatory bowel disease (IBD) is characterized by the increased survival of lamina propria leucocytes and ulcerations and an increased epithelial leakiness that compromise the barrier function of the epithelial lining. Deregulated apoptosis seems to be a major cause of the impaired barrier function and of leucocyte survival. This review focuses on the regulation of epithelial and leucocyte apoptosis in the IBD colon. Furthermore, the implications for present and future therapeutic strategies are discussed.

Reprints: Jakob B. Seidelin, Medicinsk-Gastroenterologisk Afdeling C, Amtssygehuset i Herlev, Herlev Ringvej, DK-2730 Herlev.

E-mail: jakse@herlevhosp.kbhamt.dk

Antaget den 9. januar 2003.

Amtssygehuset i Herlev, Medicinsk-Gastroenterologisk Afdeling C.

Litteratur

1. Monteleone I, Vavassori P, Biancone L et al. Immunoregulation in the gut: success and failures in human disease. *Gut* 2002;50(suppl. 3):iii60-4.
2. Levine AD. Apoptosis: implications for inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2000;6:191-205.
3. Iwamoto M, Koji T, Makiyama K et al. Apoptosis of crypt epithelial cells in ulcerative colitis. *J Pathol* 1996;180:152-9.
4. Gitter AH, Wullstein F, Fromm M et al. Epithelial barrier defects in ulcerative colitis: characterization and quantification by electrophysiological imaging. *Gastroenterology* 2001;121:1320-8.
5. Ina K, Itoh J, Fukushima K et al. Resistance of Crohn's disease T cells to multiple apoptotic signals is associated with a Bcl-2/Bax mucosal imbalance. *J Immunol* 1999;163:1081-90.
6. Reed JC. Apoptosis-based therapies. *Nat Rev Drug Discov* 2002;1:111-21.
7. Green DR. Apoptotic pathways: the roads to ruin. *Cell* 1998;94:695-8.
8. O'Connell J, Bennett MW, Nally K et al. Interferon-gamma sensitizes colonic epithelial cell lines to physiological and therapeutic inducers of colonocyte apoptosis. *J Cell Physiol* 2000;185:331-8.
9. Strater J, Wellisch I, Riedl S et al. CD95 (APO-1/Fas)-mediated apoptosis in colon epithelial cells: a possible role in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1997;113:160-7.
10. Ten Hove T, van Montfrans C, Peppelenbosch MP et al. Infliximab treatment induces apoptosis of lamina propria T lymphocytes in Crohn's disease 2. *Gut* 2002;50:206-11.