

STOR BETYDELSE FÖR KLINISK MEDICIN

Peter Dohertys och Rolf Zinkernagels upptäckt av hur T-lymfocyter känner igen virusinfekterade celler lade en avgörande grund för förståelsen av de generella mekanismer som bestämmer det cellulära immunsystemets förmåga att känna igen såväl främmande mikroorganismer som kroppsegna molekyler.

Därmed får upptäckten stor betydelse också för den kliniska medicinen, både när det gäller ansträngningar att stärka immunsystemets förmåga till försvar mot infektioner och vissa cancerformer, och när det gäller att minska effekterna av immunsystemets angrepp mot egen vävnad vid kroniska inflammationssjukdomar.

Peter Doherty och Rolf Zinkernagel genomförde sin nu prisbelönade forskning under åren 1973–1975 vid John Curtin School of Medical Research i Canberra, Australien, där Peter Doherty då var verksam och dit schweizaren Rolf Zinkernagel kom som gästforskare. Under sina studier av hur möss försvarar sig mot virusangrepp fann de att T-lymfocyter måste känna igen både virus och vissa kroppsegna molekyler – så kallade transplantationsantigener – för att kunna döda de virusinfekterade cel-

lerna. Den princip för samtidig igenkänning av det främmande och det kroppsegna som då formulerades har därefter utgjort ett fundament för förståelsen av den cellbundna immunitetens specificitet.

Båda forskarna har därefter, var för sig, fortsatt en aktiv forskarbana. De har varit trogna det fält inom vilket de gjorde sin centrala upptäckt, immunbiologin vid en virusinfektion, och även lämnat viktiga bidrag inom den grundläggande immunologin. Peter Doherty, 55 år, är professor i immunologi och pediatrik vid St. Jude's Children's Research Hospital, Memphis, Tennessee, USA. Rolf Zinkernagel, 52 år, är verksam som professor vid avdelningen för experimentell immunologi vid universitetet i Zürich, Schweiz.

Bakgrunden

Immunsystemet består av olika typer av vita blodkroppar som tillsammans har till uppgift att skydda individen mot infektioner genom att döda invaderande mikroorganismer och virusinfekterade celler, samtidigt som de skall undvika att skada organen i den egna kroppen. För att fullgöra denna uppgift krävs väl utvecklade igenkänningssystem. Dessa skall göra det möjligt att skilja mellan olika typer av mikroorganismer och egen vävnad samt att avgöra när vita blodkroppar med dödande förmåga skall aktiveras. Ett särskilt svårt problem utgör de kroppsegna celler där mikroorganismer, t ex virus, förökar sig; det gäller ju att kunna döda också dessa celler utan att skada motsvarande icke-infekterade celler.

I början av 1970-talet, när Peter Doherty och Rolf Zinkernagel inledde sitt samarbete, kunde man sedan några år tillbaka skilja mellan lymfocyter med huvudansvar för den antikroppsförmedlade respektive den cellförmedlade immuniteten. Man visste att antikroppar som producerades av B-lymfocyter kunde känna igen och oskadliggöra vissa mikroorganismer, framför allt bakterier. Långt mindre var dock känt om igenkänningsmekanismerna (specificiteten) inom det cellförmedlade immunförsvaret, t ex i samband med att virusinfekterade celler dödas av T-lym-

focyter. Ett område där den cellulära immuniteten dock hade kunnat studeras i viss detalj var avstöttningsreaktionen vid organtransplantation.

Man visste att T-lymfocyter kunde döda celler från en främmande individ efter att ha känt igen en viss typ av molekyler, de så kallade starka transplantationsantigenerna, i transplantatet. Dessa antigener kodades i ett särskilt genkomplex kallat MHC (HLA hos människor).

Under dessa år var en stor del av de aktiva forskarna inom den cellulära immunologin engagerade i att försöka förstå hur T-lymfocyter känner igen främmande antigen, bl a virus. Från början antog man att T-lymfocyter kände igen främmande antigen på ungefär samma sätt som B-cellernas antikroppar. Allt fler studier tydde dock på att T- och B-celler reagerar mot olika delar av ett antigen, men man lyckades inte visa någon specifik bindning mellan antigen och T-lymfocyt, trots att man visste att T-cellerna hade en mycket god förmåga att särskilja olika antigener – en god »antigen-specificitet». Man hade också börjat förstå att gener i MHC-komplexet på något sätt var involverade i den normala immunsystemets funktion, men man förstod inte hur. De experimentella systemen var komplicerade och svåra att tolka.

Det var många av dessa problem som fann en omedelbar lösning då Zinkernagel och Doherty publicerade sina resultat.

Upptäckten

Rolf Zinkernagel och Peter Doherty studerade på möss hur immunsystemet, och särskilt T-lymfocyterna, förmådde skydda olika djur mot infektion av ett virus som kunde ge upphov till hjärnhinneinflammation (lymphocytic choriomeningitis virus, LCMV). Infekterade möss utvecklade T-dödarlymfocyter, som i ett provrör kunde döda virusinfekterade celler. Det oväntade fyndet var att dödarlymfocyterna, trots att de var reaktiva mot detta virus, inte kunde döda virusinfekterade celler från en annan musstam. Det avgörande för att celler skulle dödas av dessa dödarlymfocyter var inte bara att de var virusinfekte-

Författare

LARS KLARESKOG
professor i reumatologi

KLAS KÄRRE
professor i molekylär immunologi

ERNA MÖLLER
professor i klinisk immunologi

HANS WIGZELL
professor i immunologi; samtliga vid Karolinska institutet och medlemmar i Nobelförsamlingen vid Karolinska institutet, Stockholm.

Nobelpristagarna i fysiologi eller medicin 1996

Rolf M Zinkernagel
född 6 januari 1944 i Schweiz.

Nu verksam som professor vid avdelningen för experimentell immunologi vid universitetet i Zürich, Schweiz.

Akademisk bakgrund:
1962–68 University of Basel, Faculty of Medicine, Schweiz
1968 National Board Examination, University of Basel, Faculty of Medicine
1970 MD Thesis, University of Basel, Faculty of Medicine
1975 PhD Thesis, Australian National University, Canberra, Australien

Tjänster och uppdrag:
1969–70 Postdoctoral Fellow, Laboratory for Electron Microscopy, Institute of Anatomy, University of Basel, Schweiz
1971–73 Postdoctoral Fellow, Institute of Biochemistry, University of Lausanne
1973–75 Visiting Fellow, Department of Microbiology, The John Curtin School of Medical Research, Australian National University, Canberra, Australien
1976–79 Associate (Assistant Professor), Department of Immunopathology, Research

Institute of Scripps Clinic, La Jolla, Kalifornien, USA
1977–79 Adjunct Associate Professor, Department of Pathology, UCSD, USA
1979 Member (Full Professor), Department of Immunopathology, Scripps Clinic and Research Foundation, La Jolla
1979–88 Associate Professor, Department of Pathology, University of Zürich, University Hospital, Zürich, Schweiz
1988–92 Full Professor, Department of Pathology, University of Zürich, University Hospital, Zürich
1992– Head, Institute of Experimental Immunology, Zürich

Utmärkelser:
1981 Cloetta Stiftung, Zürich
1982 Jung Stiftung, Hamburg
1983 Paul Ehrlich Prize, Frankfurt
1985 Mack-Forster Prize, Europ Ass Clin Inv
1986 Gairdner Foundation International Award, Kanada
1987 Institute for Cancer Research, N Y
1988 Louis Jeantet Foundation, Genève
1988 Naegeli Stiftung, Zürich
1992 Christoforo Colombo Award, Genua
1995 The Albert Lasker Medical Research Award

Peter C Doherty
född 15 oktober 1940 i Australien.

Verksam som professor i immunologi och pediatrik vid St. Jude's Children's Research Hospital, Memphis, USA.

Akademisk bakgrund:
1962 BVSc, University of Queensland, Australien
1966 MVSc, University of Queensland, Australien
1970 PhD, University of Edinburgh, Skottland

Tjänster och uppdrag:
1963–67 Veterinary Officer, Animal Research Institute, Brisbane, Australien
1967–71 Scientific Officer, Senior Scientific Officer, Department of Experimental Pathology, Moredun Research Institute, Edinburgh, Skottland
1972–75 Research Fellow, Department of Microbiology, The John Curtin School of Medical Research, Australian National University, Canberra, Australien

1975–82 Associate Professor/Professor, The Wistar Institute, Philadelphia, PA
1982–88 Professor and Head, Department of Experimental Pathology, The John Curtin School of Medical Research, Australian National University, Canberra
1988– Chairman, Department of Immunology, St. Jude's Children's Research Hospital, Memphis, TN
1992– Adjunct Professor, Departments of Pathology and Pediatrics, University of Tennessee, College of Medicine, Memphis, TN

Utmärkelser:
1983 Fellowship of the Australian Academy of Science (FAA)
1983 Paul Ehrlich Prize, Frankfurt
1986 Gairdner Foundation International Award, Kanada
1987 Fellow of the Royal Society of London (FRS)
1993 Alumnus of the Year, University of Queensland
1995 The Albert Lasker Medical Research Award

rade, utan också att de uttryckte ursprungsmusens variant av transplantationsantigener på cellytan (Figur 1).

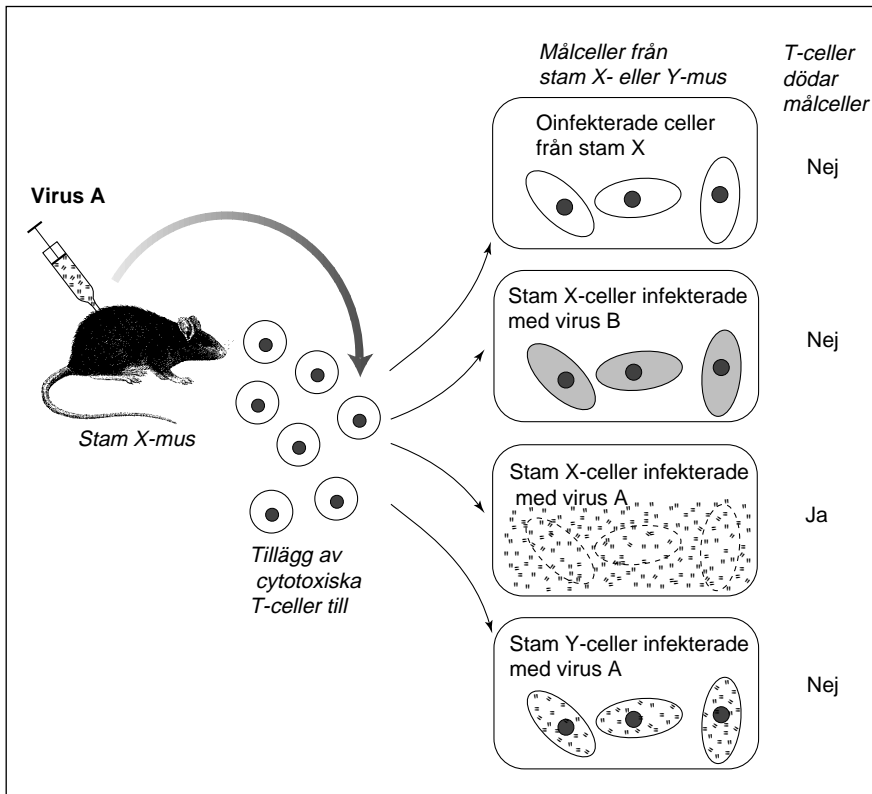
Fynden som först publicerades i Nature under 1974 [1, 2] påvisade konklusivt behovet hos det cellulära immunförsvaret av samtidig igenkänning både av »främmande» molekyler (just i detta fall från virus) och av kroppsegna molekyler (transplantationsantigen). Det blev därmed också uppenbart vilken viktig funktion de starka transplantationsantigenerna har i det normala immunförsvaret och inte bara vid transplantation [3, 4].

Zinkernagels och Dohertys fynd fick omedelbar effekt på en stor del av den immunologiska forskningen. Allmängiltigheten hos observationerna kring T-lymfocytens specificitet visades i många sammanhang, både när det gällde immunsystemets förmåga att reagera mot andra mikroorganismer än virus, och när det gällde förmågan att trots allt reagera mot vissa egna vävnader och cancerceller.

Många forskare kunde omtolka sina tidigare fynd, många märkliga fenomen fick rimliga förklaringar – och kapitlen om cellulär immunologi i läroböckerna

fick skrivas om. I ett sentida perspektiv är det också intressant att se att den inriktning som den fortsatta forskningen fick i och med Zinkernagels och Dohertys fynd inte alls var självklar.

Visserligen visste man att skillnader mellan individer vad gäller transplantationsantigen gav upphov till starka T-cellsreaktioner. Men man hade inte förstått varför T-celler föreföll att vara besatta av att känna igen just transplantationsantigen; det kunde knappast vara för att hålla hög beredskap mot transplantation, en högst ofysiologisk händelse som inte kan ha bidragit till något



Figur 1. Nyckelexperimentet, som finns återgivet i så gott som varje lärobok i immunologi. T-lymfocyterna från den med virus immuniserade musen kunde döda målcellen bara om denna: 1. var infekterad med samma virus som musen var immun emot, 2. kom från en stam med samma transplantationsantigener som den immuna musen.

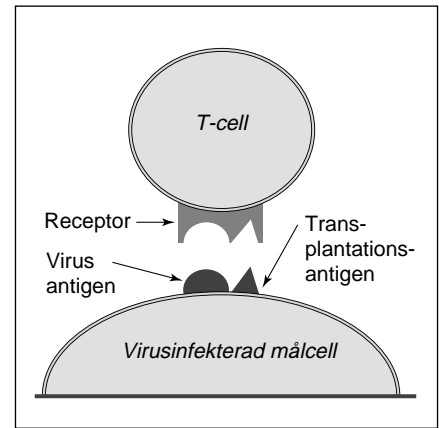
selektionstryck under immunsystemets evolution.

En del forskare inom fältet kunde till och med uttrycka tvivel kring transplantationsantigenernas biologiska signifikans. Det är i detta perspektiv man skall se hur det enkla experimentet med de virusinfekterade cellerna i ett slag klargjorde just den fysiologiska betydelsen av transplantationsantigenerna.

Fortsatt forskning utifrån upptäckten

Två teoretiska huvudmodeller utvecklades av Doherty och Zinkernagel som möjliga förklaringar till deras experimentella fynd (Figur 2). Den ena modellen byggde på hypotesen att det egna transplantationsantigenet direkt binder ett främmande (eller annat eget) antigen, och att det nya molekyllkomplexet utgör ett »förändrat eget antigen» (altered self på engelska). Den andra modellen byggde på möjligheten att T-cellen skulle ha en igenkänningsmolekyl för eget transplantationsantigen och en annan igenkänningsmolekyl för det »främmande antigenet» (dual recognition).

Också modellbygget [2-4] fick stor betydelse för den fortsatta molekylära immunologiforskningen. Förklaringen till Zinkernagels och Dohertys fynd visade sig till sist vara att en liten del (en peptid) från ett virus måste binda sig till en bestämd variabel del av en kroppsegen transplantationsantigenmolekyl, och att detta komplex är vad som känns igen av T-lymfocyternas



Figur 2. En del av figuren i den uppsats [2] där tolkningar av nyckelexperimentet började utvecklas. T-lymfocyten måste samtidigt känna igen en komponent av virus som »främmande antigen» och kroppsegna transplantationsantigener som »själv». Senare vidareutvecklades detta till två huvudmodeller: den ena antog att en receptor på T-lymfocyten kände igen ett komplex där transplantationsantigen bundit och förändrats av en viruskomponent (benämnd »altered self»); den andra antog att två receptorer på T-cellen kände igen dels viruskomponent, dels transplantationsantigen (benämnd »dual recognition»). Upptäckter under senare år har klarlagt hur viruskomponenten presenteras på cellytan av transplantationsantigenet (se text).

specifika igenkänningsmolekyler (T-cellsreceptorerna) [5]. Det är slående hur nära denna förklaring Doherty och Zinkernagel var när de i en variant av »altered self»-modellen formulerade att det som igenkändes kunde vara »a little of virus, a little of H-2» (beteckningen på transplantationsantigenet hos mus) [4].

Hur interaktionerna i detalj sker mellan en peptid från ett antigen, det egna transplantationsantigenet och T-cellsreceptormolekylen (ett trimolekylärt komplex) har under det senaste decenniet studerats alltmer intensivt – i synnerhet efter det att den första tredimensionella karakteriseringen av interaktionen mellan peptid och s k klass I-transplantationsantigen publicerades 1987 [6]. I och med detta, och den helt nyligen fullbordade första tredimensionella karakteriseringen av hela det trimolekylära komplexet, har möjligheter öppnats att i detalj förstå och experimentellt modifiera T-cellers reaktivitet i en lång rad sammanhang.

Inom några få år efter den ursprungliga upptäckten av Doherty och Zinkernagel visades också – tack vare insatser framför allt från Rolf Zinkernagel och hans medarbetare vid den tiden – att ur-

valet av de T-celler som tillåts att överleva hos en individ (via mognad i tymus) bestäms av deras förmåga att känna igen just de egna transplantationsantigenerna. Principen för samtidig igenkänning är därmed avgörande för immunsystemets förmåga att skilja mellan »eget» och »främmande» [7].

Relevans för den kliniska medicinen

Många vanliga och svåra sjukdomar beror på funktionen hos det cellförmiddade immunsystemet och därmed på dess igenkänningsmekanismer. Det gäller självklart infektionssjukdomarna, men också en rad kroniska inflammationssjukdomar som reumatiska sjukdomar, multipel skleros och diabetes typ 1.

Vad gäller infektioner ger kunskaperna om T-lymfocyternas sätt att känna igen infekterade celler bättre möjligheter att på ett riktigt sätt konstruera nya vacciner. Genom den senaste utvecklingen inom detta forskningsfält kan man bli ta reda på exakt vilka delar av en mikroorganism som det cellulära immunsystemet kan känna igen, och selektivt rikta in vaccintillverkning på dessa delar.

Även i försök med vaccination mot uppkomst av dottertumörer vid vissa cancerformer tas hänsyn till de grundprinciper också Doherty och Zinkernagel

formulerade. Praktiska exempel på detta är att antigena komponenter i sk subkomponentvacciner ibland måste skraddarsys efter den vaccinerade individens HLA-typ. I de kliniska fas I- och fas II-prövningar som genomförs med peptidvacciner mot recidiv eller metastasering av bl a melanom, livmoderhalscancer och kolorektalcancer måste man således selektera patienterna genom HLA-typning. Om dessa försök utfaller väl blir nästa steg sannolikt att utveckla sk cocktail-vacciner, där olika peptider blandas för att säkerställa att åtminstone en av dem kan binda till HLA-molekyler hos varje vaccinerad individ utan att man behöver typbestämma var och en.

HLA och autoimmuna inflammationssjukdomar

Särskilt stor klinisk betydelse har Zinkernagels och Dohertys upptäckt haft för forskningen kring de många sjukdomar med autoimmuna inslag, där risken att insjukna beror på vilka transplantationsantigener som individen har.

Ett av de första fynden av samband mellan transplantationsantigentyp och sjukdomsrisk gjordes faktiskt strax före Zinkernagels och Dohertys prisbelönade upptäckt. Det gällde det faktum att Bechterews sjukdom praktiskt taget uteslutande förekommer hos individer som bär på transplantationsantigenet HLA-B27 [8]. Därefter har en lång rad associationer – både positiva och negativa – påvisats mellan olika typer av HLA-antigener och olika inflammationssjukdomar med autoimmuna inslag: reumatiska, endokrinologiska, neuroimmunologiska m fl [9].

Associationerna är dock olika för olika sjukdomar. Det är inte heller så att alla som bär på den sjukdomsassocierade varianten av transplantationsantigen blir sjuka. I stället är risken som följer av den sjukdomsassocierade genen ofta ganska liten – t ex drabbas högst 10 procent av individerna med HLA-B27 av Bechterews sjukdom. HLA-B27-gens penetrans är alltså ofullständig.

Fortfarande är mycket okänt vad gäller den exakta molekylära förklaringen till dessa samband. Ändå har det sammantagna resultatet av kliniskt epidemiologiska studier av samband mellan HLA och sjukdom, och de molekylära studierna kring transplantationsantigenens funktion, lett fram till helt nya möjligheter att studera patogenesen vid de kroniska inflammationssjukdomarna. Man kan studera hur olika mål-molekyler, såväl från egen vävnad som från mikroorganismer, interagerar med de sjukdomsassocierade HLA-molekyler-na. Man kan studera hur små förändringar i antingen mål-molekyler eller transplantationsantigener kan leda till

Sjukdomar associerade med speciella HLA-alleler

B27	Ankyloserande spondylit (Mb Bechterew) Reiters syndrom
B8, DR3	Addisons sjukdom Tyreotoxikos Myasthenia gravis Celiaki
DR2, DR3, DR4	Insulinberoende diabetes mellitus (mottaglighet) Insulinberoende diabetes mellitus (motståndskraft)
DR2	Multipel skleros
DR4	Reumatoid artrit
C6	Psoriasis

skydd i stället för till uppkomst av en viss sjukdom.

Sammantaget tyder mycket på att dessa kunskaper inom överblickbar tid kommer att möjliggöra både specifik immunterapi och profylax mot autoimmuna sjukdomar hos genetiskt predisponerade personer.

Tydlig, avgränsbar och avgörande upptäckt

En huvudprincip vid utdelningen av Nobelpriset i fysiologi eller medicin är att det ges för en tydlig och avgränsbar avgörande »upptäckt», och att denna upptäckt har stora konsekvenser för vår syn på fysiologin – människans normala utveckling och funktion – eller på medicinen – möjligheterna att förstå och bota sjukdomar.

Rolf Zinkernagels och Peter Dohertys upptäckt av en avgörande del i det cellulära immunsystemets förmåga att känna igen både främmande mikroorganismer och egen vävnad uppfyller båda dessa krav. Lärorikt är att se med hur relativt enkla medel deras ursprungliga och konklusiva experiment utfördes och hur viktig den omedelbara intellektuella formuleringen av testbara modeller för tolkningen av fynden visade sig vara. Spännande är också att de själva fortfarande intensivt bidrar till det fortsatta utforskandet av hur deras ursprungliga fynd också kan komma till praktisk användning vid infektions- och inflammationssjukdomar.

Referenser

1. Zinkernagel RM, Doherty PC. Restriction of in vitro T cell-mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within a syngeneic and semiallogeneic system. *Nature* 1974; 248: 701-2.
2. Zinkernagel RM, Doherty PC. Immunological surveillance against altered self

components by sensitised T lymphocytes in lymphocytic choriomeningitis. *Nature* 1974; 251: 547-8.

3. Doherty PC, Zinkernagel RM. A biological role for the major histocompatibility antigen. *Lancet* 1975; 1406-9.
4. Zinkernagel RM, Doherty PC. MHC restricted cytotoxic T cells; studies on the biological role of polymorphic major histocompatibility antigens determining T cell restriction specificity. *Adv Immunol* 1979; 27: 51-177.
5. Townsend AR, Gotch FM, Davey J. Cytotoxic T cells recognize fragments of the influenza nucleoprotein. *Cell* 1985; 42: 457-67.
6. Björkman PJ, Saper MA, Samraoni B, Bennett WS, Strominger JL, Wiley DC. Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. *Nature* 1987; 329: 506-12.
7. Zinkernagel RM, Callahan GN, Klein J, Dennert G. Cytotoxic T cells learn specificity for self H-2 during differentiation in the thymus. *Nature* 1978; 271: 251-3.
8. Brewerton DA, Caffrey M, Hart FD, James DCO, Nicholls A, Sturrock RD. Ankylosing spondylitis and HL-A 27. *Lancet* 1973; L: 904-7.
9. Tiwari JL, Terasaki PI. HLA and disease associations. New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo: Springer Verlag, 1985.