

Arfgengur skortur í ræsisameindum lektínferils komplimentvirkjunar

Ágrip

Helga Bjarnadóttir¹
sameindalíffræðingur

Björn Rúnar Lúðvíksson^{1,2}
lyflæknir og ónæmisfræðingur

Lykilorð: ósértæka ónæmiskerfið, mannan-bindilektín, fíkolín, lektínferill (LF), komplimentvirkjun.

Komplimentkerfið er mikilvæg ónæmisvörn. Virkjun þess leiðir til áthúðunar og himnurofs sýkla. Þrír ferlar virkja komplimentkerfið, klassíski, styttri og lektín. Lektínferillinn er ýmist ræstur af lektínunum mannanbindilektín (MBL), fíkolín-1, fíkolín-2 eða fíkolín-3 gegnum sérínpróteasa (MASP-2). Lektínin hafa svipaða byggingu og bindast sykrumynstrum á yfirborði sýkla. Erfðabreytileiki í *MBL2* geninu sem veldur skorti er frekar algengur. Fjöldi rannsókna hefur sýnt að skortur er áhættuþáttur fyrir ífarandi og endurteknar sýkingar, sérstaklega þar sem aðrar ónæmisvarnir eru óþroskaðar, bældar eða gallaðar. Rannsóknir á fíkolínunum eru á styttra veg komnar, en á síðasta ári var fíkolín-3-skorti lýst. Í þessu yfirliti verður fjallað um þessa ónæmisgalla sem WHO hefur nýlega skilgreint.

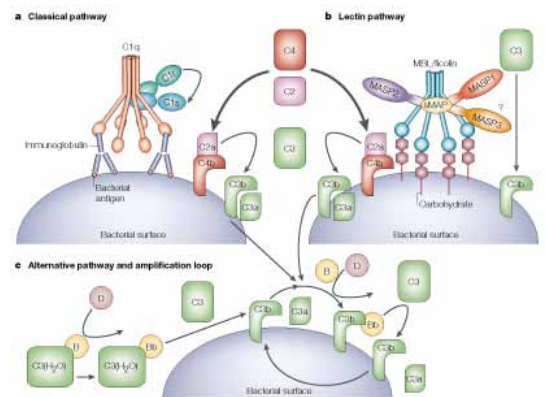
Inngangur

Það eru 20 ár síðan skortur á mannanbindilektíni (MBL) var fyrst tengdur við þekktan galla sermis til að miðla áthúðunarmiðluðu drápi örvera.¹ Fyrstu vísbendingar um að slíkur galli væri til staðar í mannasermi komu fram árið 1968 í vísindagrein sem lýsti stúlku sem hafði þjáðst af endurteknum alvarlegum sýkingum í efri öndunarvegi fyrstu tvö ár æviskeiðs síns.² Sjúklingurinn virtist ekki hafa neina aðra ónæmisgalla, en sermi hans var ófært um að áthúða *Saccharomyces cerevisiae* (bakarager). Gallinn í serminu var viðsnúanlegur þegar sermi úr öðrum einstaklingum var bætt út í. Eitthvað skorti því í sermi sjúklingsins sem aðrir virtust hafa. Tíðni áthúðunargallans meðal hvítra einstaklinga reyndist há, eða um 5-8%.³ MBL-próteinið var fyrst einangrað úr mannasermi og því lýst árið 1983⁴ og síðar var hlutverki þess í ræsingu lektínferils komplimentkerfisins lýst.⁵ Framfarir á sviði erfðatekninnar hafa nú leitt í ljós að MBL-skortur er arfgengur og auðvelt er að greina þá sem eru arfhreindir um genasamsætur sem leiða til skorts. Í dag hefur fjöldi rannsókna sýnt að arfgengur MBL-skortur er algengur og áhættuþáttur fyrir ýmsar sýkingar og sjálfsöfnæmi. En meirihluti fólks með MBL-skort er hins vegar heilbrigður. Það er því ekki óhugsandi að

mismunandi erfðabreytileikar stjórni mikilvægi og þar af leiðandi sjúkdómsmynd MBL-skorts. Á allra síðustu árum hefur verið sýnt fram á að fíkolínfjölskyldan notast við sama sérínpróteasa og MBL til að ræsa komplimentkerfið. Í þessu yfirliti verður leitast við að kynna nýjustu niðurstöður í rannsóknum á þessari mikilvægu fyrstu stigs vörn mannsins gegn sýklum.

Hlutverk MBL-próteinsins

MBL þekkir og binst ákveðnum mynstrum af sykrum á yfirborði baktería, sveppa, veira og snikjulífisfrumdýra.⁷ Í fyrstu var talið að hlutverk MBL væri einungis til að eyða utanaðkomandi sýklum með ræsingu komplimentkerfisins (mynd 1) en á undanförunum árum hefur komið í ljós að hlutverk MBL er mun viðameira, sérstaklega með tilliti til eyðingar á eigin frumum. MBL



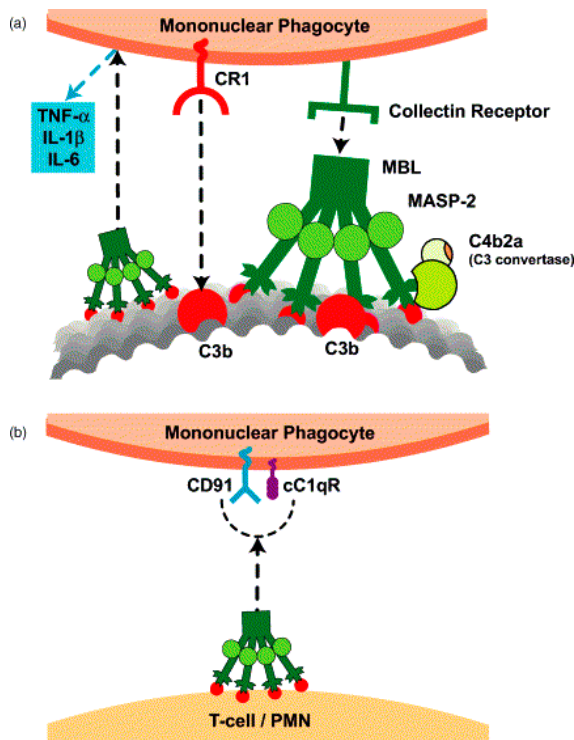
Mynd 1. Þrjár ferlar komplimentvirkjunar út frá snertingu við bakteríur. a. Klassíski ferillinn er ræstur af C1 flóknum sem samanstendur af C1q (sama byggingarform og MBL og fíkolín) og ensímunum C1r og C1s. C1q binst Fc-hluta mótéfnis sem er bundið mótéfnisvaka á yfirborði sýkils. Það leiðir til virkunar sérínpróteasans C1r sem klýfur og virkjar C1s sem klýfur svo C4 og C2 til að mynda C4bC2a ensimflókann sem er konvertasi og klýfur C3. Við það myndast C3b afurðir (opsónín) sem merkja örveru til eyðingar af átfrumu. Lokaafurðin er MAC (membrane attack complex) (ekki sýndur á myndinni) sem rýfur frumuhimnu örveru. b. Lektínferillinn er óháður myndun mótéfnis. MBL eða fíkolín (1-3) bindast sykrumynstri á yfirborði örveru og við það virkjar MASP-2 ensímið sem klýfur C4 og C2 og sem leiðir til myndunar C3 konvertasa eins og hjá klassíska ferlinum. c. Styttri ferillinn felur í sér sjálfkrafa vatnsrof á C3.

Endurprentun með leyfi © Nature Publishing Group 2002.⁵⁶

¹Rannsóknarsviði ónæmisfræðideildar Landspítala Hringbraut, 101 Reykjavík, ²læknadeild Háskóla Íslands. Fyrirspurnir og bréfaskipti: Björn Rúnar Lúðvíksson bjornlud@landspitali

Mynd 2. Hlutverk MBL.
a. MBL-miðluð áthúðun gerist með tvennum hætti. Annars vegar með bindingu C3b búta við CR1 viðtaka einkjarna átfrumu og hins vegar er talið að MBL sjálf virki sem átmerking og bindist kollektínviðtaka á einkjarna átfrumu. Það er ekki búið að einangra og lýsa þessum líklega kollektínviðtaka. MBL er enn fremur talið ýta undir bólgusvörun með skammtaháðri seytingu eitilfrumuboddefna frá einkjarna átfrumu. b. MBL binst T-frumum í stýrðum frumudauða og fjölkjarna neutrófilum. cC1qR og CD91 sameindir á einkjarna átfrumu bindast kollagenhluta MBL.

Endurprentun með leyfi © Elsevier 2006.⁵⁷



binst frumum í stýrðum frumudauða, frumum í vefjaskemmd (myocardial/renal/gastrointestinal ischemia reperfusion injury), mótefnasameindum, frumuleifum, frumum í æxlisvexti (ristilkrabbamein), sink-málmpróteösom, þekjufrumum í súrefnisþurrð (anoxic endothelia cells), kjarnsýrum og fósfolípíðum.⁸ Hlutverki MBL má því skipta í eftirfarandi tvo meginþætti: Í fyrsta lagi eru það sýklavarnir. MBL ræsir lektínferil

komplimentkerfisins sem stuðlar að áthúðun sýkla sem eykur hæfni átfrumna til sýkladráps og leiðir einnig til myndunar próteinflóka (membrane-attack complex, MAC) sem rýfur bakteríuhimnur (mynd 1 og mynd 2a). Annað meginhlutverk MBL felst í stjórnun bólgusvars og viðhaldi vefja. MBL-próteinið kemur að þessum mikilvæga þætti ónæmissvars með því að stilla bólgusvörun beint (mynd 2a), stuðla að eyðingu frumna í stýrðum frumudauða (apoptosis) (mynd 2b) og stuðla að eyðingu mótefnafléttna. Því er ekki að undra að gallar í þessu mikilvæga ferli geti leitt til sjúkdóma sem einkennast af endurteknum sýkingum og/eða sjálfsofnæmistilhneigingu.

Sameindalíffræði MBL

MBL-próteinið finnst í sermi og er gen þess *MBL2* tjáð af lifrarfrumum, en tjáning hefur einnig mælst í smágörn og eistum.⁹ Þrjár nákvæmlega eins fjölpeptíðkeðjur, 228 amínósýrur að lengd, eru tengdar saman og mynda undireiningu MBL-sameindarinnar⁷ (mynd 3). Hver keðja, sem er skráð af mismunandi útröðum *MBL-2* gensins, inniheldur fjögur svæði (domain): 1) 20 amínósýra cysteinríkt N-enda svæði (krosstengslasvæði) sem tekur þátt í myndun disúlfíðtengja innan keðja og milli undireininga, 2) kollagenríkt svæði sem inniheldur 18-20 endurtekningarráðir af Gly-Xaa-Yaa (tandem repeats), 3) vatnsfælið hálssvæði með gormlaga “coiled-coil” snúningi, og 4) lektínsvæði (eða kolvetnis-þekkjandi svæði). Undireiningarnar fjöllíðast með disúlfíðtengjum gegnum kollagensvæðið og mynda vöndullaga byggingu sem er líffræðilega virka formið af MBL. Algengasta form MBL í sermi eru þrí- og fjórliður. Einungis fjöllíðað MBL getur ræst komplimentkerfið.

MBL2 genið er staðsett á litningi 10 (q11.2-q21) og samanstendur af fjórum útröðum (mynd 3). Erfðabreytileika eða SNP (single nucleotide polymorphism) hefur verið lýst í geninu. Í útröð eitt finnast þrjár algengar punktstökkbreytingar staðsettar í tákna 54, 57 og 52, einnig þekktar sem B, C og D stökkbrigði (variant alleles) (mynd 3)¹⁰. Stökkbreyting B er G→A breyting sem veldur Gly→Asp breytingu í fimmtu endurtekningarröðinni Gly-Xaa-Yaa.¹¹ Stökkbreyting C er G→A breyting sem veldur Gly→Asp breytingu í sjöttu endurtekningarröðinni Gly-Xaa-Yaa.¹² Stökkbreyting D er C→T breyting sem veldur Cys→Arg breytingu.¹³ B, C og D stökkbrigðin sýna álíka svipgerð og því eru þau ekki aðgreind og kölluð O. Arfhreinir eða arfblendnir einstaklingar um útraðastökkbrigðin eru því með arfgerð O/O (B/B, B/D, D/D og svo framvegis). Villigerðarsamsæta í útröð kallast A til

Tafla 1. MBL-arfgerðir og -svipgerðir hjá Evrópubúum

Arfgerð	Tíðni (%)	Meðalstyrkur (ug/ml)
HYP A/HYP A	12	2,5
HYP A/LXP A	8	1,4
HYP A/LYQ A	8	2,4
LXP A/LXP A (X A/X A)	7	0,2
LYQ A/LXP A	6	1,0
LYQ A/LYQ A	6	1,9
HYP A/LYP B (Y A/O)	5	0,4
LXP A/LYP B (X A/O)	4	0,03
LYQ A/LYP B (Y A/O)	3	0,3
HYP A/HYP D	3	0,7
LXP A/HYP D (X A/O)	2	0,02
LYQ A/HYP D	2	0,8
LYP B/LYP B (O/O)	2	0,02
HYP A/LYP A	2	1,9
LYP A/LYP B (Y A/O)	1	0,3
LYP A/HYP D	1	0,6

Það sem er merkt með rauðu eru arfgerðir með MBL-styrk lægri en 500 ng/ml. H, Y, P, L og X standa fyrir erfðabreytileika í stýrisvæði *MBL2*-gensins (sjá mynd 3). A er villigerðar (eðlileg) samsæta í útröð 1 og B, C eða D standa fyrir erfðabreytileika í útröð 1 (sjá mynd 3). Útraðærðabreytileiki er táknaður með feitlettri. Einfaldað heiti á arfgerð er sett í sviga. Heimilda er getið í rafrænni útgáfu greinarinnar á heimasíðu Læknablaðsins.

aðgreiningar frá útraðastökkbrigðunum. Að auki er til staðar erfðabreytileiki í stýrisvæði *MBL2* í stöðu -550 (H/L), -221 (Y/X) og +4 (P/Q) (mynd 3).¹⁴

Áhrif erfðabreytileika í *MBL-2* geninu á styrk *MBL* í sermi

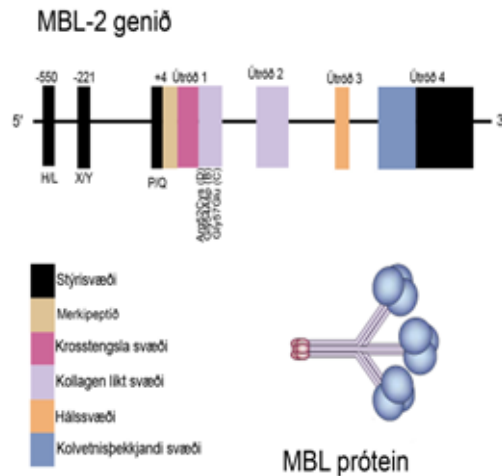
Einstaklingar með arfhreina villigerð eða *A/A* eru almennt með *MBL*-styrk hærrí en 1000 ng/ml (mynd 4).¹⁵ Útraðastökkbrigðin (*O*) valda röskun í fjölliðun *MBL* sem leiðir af sér óstöðugt og óvirkt prótein.¹⁶⁻¹⁸ Stökkbreytt *MBL* hefur skertan eiginleika til að bindast bindlum sínum og þar af leiðandi er lektínferilmiðluð ræsing komplimentkerfisins óskilvirk eða löskuð. Einstaklingar sem eru arfblendnir (*A/O*) hafa marktækt lægri *MBL*-styrk, sé miðað við meðalstyrk arfhreinnar villigerðar, og eru yfirleitt á bilinu 500-1000 ng/ml (mynd 4).¹⁹ *O/O* einstaklingar eru með *MBL*-styrk í sermi minni en 50 ng/ml sem eru neðstu mælingarmörk (detection limit) flestra styrksprófa (mynd 4).

Erfðabreytileiki í stýrisvæði hefur áhrif á tjáningu *MBL2* gensins og ákvarðar styrk *MBL* í sermi einstaklings.²⁰ Einstaklingar með *HY*, *LY* eða *LX* erfðabreytileika eru með háan, meðal eða lágan *MBL*-styrk.¹⁴ Erfðabreytileikarnir í útröð og stýrisvæði eru í tengslaójafnvægi og hefur aðeins sjö algengum haplótýpum verið lýst, *HYPA*, *LYPA*, *LYQA*, *LXPA*, *LYQC*, *LYPB* og *HYPD*.²¹

Skilgreining á *MBL*-skorti

Styrkur *MBL* í sermi er mjög misjafn milli einstaklinga en hins vegar stöðugur hjá hverjum og einum ævilangt. Styrksbilið nær frá 5 ng til meira en 10 µg á millilítra.¹⁵ Það verður þreföld aukning í *MBL*-styrk í bráðafasa bólguviðbrögðum.²² Mismunandi *MBL*-styrkur er þó fyrst og fremst tilkominn vegna erfðabreytileika og í því tilfelli getur munurinn verið allt að þúsundfaldur.

Skilgreiningin á *MBL*-skorti og viðmiðunarmörk hafa verið misjafnlega útfærð í rannsóknum og því hefur reynst erfitt að bera niðurstöður milli rannsókna saman. Í nýlegri „meta-analysu“ grein eru viðmiðunarmörkin á kerfisbundinn hátt skilgreind sem 500 ng/ml út frá 1642 heilbrigðum einstaklingum úr fjórum mismunandi þýðum, þar með talið íslensku þýði.²³ Einnig var sýnt fram á að einstaklingar með *XA/O* og *O/O* arfgerðir hefðu lægsta *MBL*-styrk í sermi, eða minna en 50 ng/ml. *X* er erfðabreytileiki í stýrisvæði *MBL2* gensins sem veldur lágri tjáningu á *MBL2* geninu (sjá kaflann hér á undan).



Mynd 3. Bygging *MBL-2*-gensins í mönnum og próteinafurðar þess. Staðsetning og heiti erfðabreytileika eru tilgreind undir boxum. Próteinið er hér sýnt á formi þriggja undireininga eða sem þríliða.

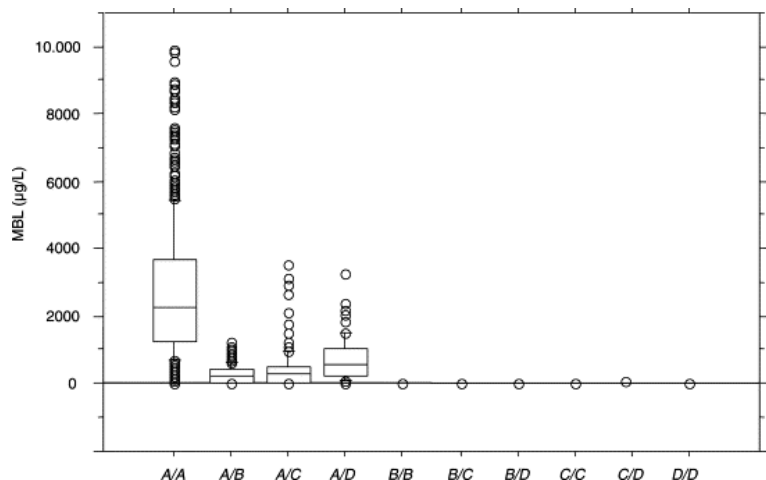
Endurprentun að hluta með leyfi © Nature Publishing Group 2002.56

Algengi *MBL*-skorts

Í töflu I má sjá algengi mismunandi arfgerða hjá Evrópubúum sem hafa *MBL*-styrk lægri en 500 ng/ml (litað með rauðu). Um 24% Evrópubúa eru með *MBL*-styrk neðan við 500 ng/ml. Þar af eru 8% einstaklinga með *MBL*-styrk lægri en 50 ng/ml. Innan þessa hóps eru einungis arfgerðirnar *XA/O* og *O/O* sem í dag eru nefndar lágstyrks- eða skortsarfgerðir *MBL* (sjá líka kafla hér á undan).

Erfðabreytileiki í *MASP-2* geninu og *MASP2*-skortur

MBL myndar flóka við þrjá mismunandi serínpróteasa, (*MASP*: *MBL*-associated serine proteases) *MASP-1*, *MASP-2* og *MASP-3* (mynd 5).²⁴ Að auki inniheldur virkur *MBL*-*MASP* flókin lítið *MASP*-prótein (*sMAP* eða *MAP19*) sem hefur enga serínpróteasa virkni.^{26,27} *MASP-2* er samsvarandi við *C1s* ensím klassíska ferilsins vegna þess



Mynd 4. Sambandið á milli *MBL*-styrks í sermi einstaklinga og arfgerða. *A* er villigerðasamsæta í útröð eitt og *B*, *C* eða *D* (*O*) eru erfðabreytileikar í útröð eitt (sjá mynd 3). Stærð úrtaks: 1183. Á myndinni sjást meðaltal, miðgildi og 90% öryggismörk.

Endurprentun með leyfi © Elsevier 2003.19

að það klýfur C4 og C2 (mynd 1).⁵ Þegar MBL binst yfirborðssykrum virkjust MASP-2 sem klýfur C4 og C2 til myndunar á C3 konvertasa (C4b2a) (mynd 1). MASP-2 binst einnig sameindunum fíkolín-1, fíkolín-2 og fíkolín-3, sem líkt og MBL þekkja ýmis sykurmynstur á örverum og ræsa lektínferilinn (sjá síðar).

Nýlega var þremur erfðabreytileikum (R99Q, D120G og V377A) lýst í MASP-2 geninu sem er staðsett á litningi 1p36.2-3.²⁸⁻³¹ Tíðni stökkbreytinganna í úrtaki hvíttra Dana er 0,14% fyrir R99Q, 3,9 % fyrir D120G og 1% fyrir V377A.³¹ Fleiri erfðabreytileikum hefur verið lýst, sem finnst ekki hjá hvítum kynþætti. Sýnt hefur verið fram á *in vitro* að raðbrigði (recombinant) af D120G MASP-2 getur ekki bundist MBL og ekki klofið C4 og þar af leiðandi ekki virkjað komplimentkerfið.^{28, 32} Raðbrigði af R99Q og V377A MASP-2 voru hins vegar ekki frábrugðin raðbrigðavilligerð með tilliti til virkunar komplimentkerfisins. Athyglisvert er að árið 2003 var 36 ára gömlum einstaklingi lýst, sem var með óútskýrðar endurteknar sýkingar og krónískar bólgur og kom í ljós að hann var arfhreinn fyrir D120G stökkbrigðið og ekkert MASP-2 prótein mældist í sermi hans.²⁸ Þessi einstaklingur var hins vegar með háan MBL-styrk í blóði en samt gat sermi hans ekki virkjað lektínferilinn, sem líklega má rekja til MASP-2-skortsins. Það mætti því ef til vill halda því fram að MASP-2 skortur geti haft víðtækari áhrif en MBL-skortur einn og sér, því að MASP-2 er ekki bara ábyrgt fyrir líffræðilegri virkni MBL heldur einnig virkni fíkolína (mynd 1).

Hér var því talið líklegt að um áður óþekktan ónæmisgalla væri að ræða. Síðan árið 2003 hefur verið skimað fyrir þessum erfðabreytileika í mismunandi sjúklingahóprannsóknum. Sex arfhreinir (D120G/D120G) einstaklingar hafa verið greindir. Fjórir af þeim voru börn sem komu úr mismunandi sjúklingahópum. Eitt barn kom úr barnahópi sem var með endurteknar öndunarfærasýkingar,³³ eitt barn úr psoriasishópi,³⁴ eitt úr hópi með slímseigjusjúkdóm (cystic fibrosis) (barn með mjög alvarlegan lungnasjúkdóm)³⁵ og eitt barn úr barnahópi með endurteknar sýkingar.³⁶ Tveir af þessum sex einstaklingum sem hafa verið greindir arfhreinir, voru fullorðnir og komu úr hópi heilbrigðs viðmiðunarþýðis (tvær heilbrigðar konur um fertugt).³⁷ Sermi arfhreinna einstaklinga getur ekki virkjað komplimentkerfið gegnum lektínferilinn (mælt með virkniprófi, sjá hér að neðan) og samkvæmt niðurstöðum þessara rannsókna geta fullorðnir verið fullkomlega heilbrigðir án starfhæfs lektínferils. Áframhaldandi skimanir á mismunandi sjúklingahópum mun líklega gefa meiri upplýsingar og skilning á mikil-

vægi lektínferilsins. Einnig er mögulegt að eitt-hvað annað þekkt eða óþekkt ónæmiskerfi komi í stað lektínferilsins hjá þeim sem eru með á skort- MBL eða MASP2. Tíðni arfhreinna D120G einstaklinga hefur verið áætluð sem 1/1000.³⁸

Erfðabreytileiki í genum fíkolína

Bygging fíkolína er mjög lík byggingu MBL. Í stað kolvetnisþekkjandi svæða hafa þau fibrínógen-lík svæði.³⁹ Þau starfa líkt og MBL, það er þau ræsa lektínferilinn gegnum MASP-2 ensímið (mynd 1). Af hinum fjórum ræsisameindum er fíkolín-3-styrkur í sermi langhæstur, eða 25 µg/ml, síðan kemur fíkolín-2 styrkur (5 µg/ml), þá MBL (1 µg/ml) og síðast fíkolín-1 (<0,1µg/ml).⁴⁰ Í mönnum er fíkolín-3 mRNA aðallega tjáð í lungum og talsvert í lifur.⁴⁰ Fíkolín-2 mRNA er tjáð aðallega í lifur en lítillega í beinmerg, hálskirtlum og görn.⁴⁰ Á hinn bóginn finnst fíkolín-1 mRNA ekki í lifur heldur aðallega í hvítum blóðfrumum (leukocytes) og beinmerg en lítillega í milta og lungum.⁴⁰

Á síðasta ári birtist grein sem lýsir í fyrsta sinn einstaklingi með fíkolín-3-skort.⁴¹ Hann hafði verið með endurteknar sýkingar frá unga aldri, þar á meðal alvarlegar sýkingar í neðri öndunarvegi, sýkingu í heila (bilateral frontal cereberal abscesses) af völdum óhemólýtískra streptókokka og vörtur á fingrum. Aðrir ferlar ónæmiskerfis störfuðu innan eðlilegra marka samkvæmt mælingum, en hins vegar var fíkolín-3 í blóði ekki mælanlegt. Fíkolín-3 er tjáð af FCN3 geninu og er tjáð í lungum og lifur. Þegar viðkomandi var arfgerðargreindur kom fram hugsanleg skýring á sjúkleika hans. Hann var arfhreinn um stökkbreytingu (1637C) sem veldur breytingu í lesamma FCN3 gensins og gefur af sér óstarfhæft og gallað fíkolín-3. Ekki var lýst sjúkrasögu arfblendinna einstaklinga en styrkur fíkolín-3 í blóði þeirra var um 50% af villigerð. Tíðni arfblendinna meðal hvíttra einstaklinga er 1,8%.^{41, 42}

Það er mjög sennilegt að vitneskja okkar um hlutverk og mikilvægi fíkolína í ræsingu lektínferilsins fari stigvaxandi á næstu árum. Því telja greinarhöfundar mikilvægt að lækna geri sér grein fyrir tilurð þessara nýskilgreindu ónæmisgalla meðal einstaklinga með endurteknar sýkingar eins og að ofan greinir.

MBL-skortur metinn út frá virkni lektínferilsins

Á ónæmisfræðideild Landspítala er í dag boðið upp á að mæla MBL-styrk í sermi einstaklinga. Prófið var þróað af deildinni út frá aðferð Claus Kock við Statens Serum Institut í Danmörku og

byggist á samloku-ELISA-aðferð (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) þar sem húðað er með mótefni gegn MBL.⁴³ Neðstu greiningarmörk mælingarinnar eru 20 ng/ml.

Eftir því sem meira er vitað um MBL og samverkandi sameindir þess virðist MBL-styrksmæling ekki gefa fullnægjandi svör um starfsemi lektínferilsins hjá sjúklingum. MBL-styrksmæling mælir ekki MASP-2-skort (sjá kafla um MASP-2-skort hér að ofan). Áætlað er að ónæmisfræðideildin bjóði framvegis upp á próf sem mælir skilvirkni lektínferilsins. Prófið er vottuð ELISA-aðferð þar sem plötur eru húðaðar með sykranni mannan og því er MBL-miðluð ræsing sérhæft mæld.⁴⁴ Þar sem fíkolín bindast ekki mannan er ekki verið að mæla ræingu af þeirra völdum. Í mælingunni er komið í veg fyrir ræingu klassíska ferilsins með því að bæta út í C1q-hindra. Prófið mælir lokaafurð komplimentræsingar eða MAC (membrane attack complex) (C5b-9). Niðurstöður eru gefnar upp sem prósentur af viðmiði. Viðmiðunargildi fyrir virkniskort eru <10% virkni samkvæmt mælingunni. Áætlað er að nota virkniprófið sem skimpróf og ef einstaklingur mælist undir viðmiðunarmörkum er hægt að staðfesta með styrk og/eða arfgerð. Stöðluð virknipróf sem mæla fíkolínmiðlaða ræingu eru enn ekki fáanleg en væntanlega munu þau koma fljótlega á markað og líklegt er að ónæmisfræðideild taki þau í notkun fyrir rútnumælingar og vísindarannsóknir.

Við gæðaprófun á ofangreindu virkniprófi hjá ónæmisfræðideild voru 130 manns með þekktan MBL-styrk mældir. Það var línulegt samband milli styrks og virkni en þó voru undantekningar. Sex manns sem áður höfðu mælst með MBL-styrk <500 ng/ml, mældust með yfir 50% virkni, þar af einn með 100% virkni. Það er mjög sennilegt að þessir einstaklingar hafi XA/XA arfgerð (lágur styrkur en virkt prótein). Ætlunin er að nota virkniprófið til að bera virkni lektínferilsins hjá XA/XA einstaklingum saman við virknina hjá O/O einstaklingum (lágur styrkur og gallað prótein).

Tengsl MBL-skorts við sjúkdóma

Fjöldi rannsókna hefur verið gerður til að finna möguleg tengsl MBL-skorts við sjúkdóma. Helstu rannsóknir þar sem tengsl hafa fundist eru teknar saman í töflu II. Til að gæta samræmis eru hér aðeins teknar saman rannsóknir þar sem miðað er við tengsl sjúkdóma við skortsarfgerðirnar XA/O og O/O. Einstaklingar með þessar arfgerðir geta verið heilbrigðir og almennt er talið að aðrir meðfæddir ónæmisgallar eða ónæmisbæling þurfi að vera til staðar til að MBL-skortur hafi einhverja

Tafla II. Sjúklingahóprannsóknir. Tengsl MBL-skortsarfgerða (XA/O eða O/O) við sjúkdóma.

Sjúkdómur/ástand	Marktæk fylgni
Neisseria meningitidis sýkingar	Aukin hætta á ífarandi sýkingu (heilahimnubólgu)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> sýkingar	Aukin hætta á ífarandi sýkingu (eyrnabólgu og lungnabólgu) og aukin dánartíðni
Lifrabólguveiru B og C sýkingar	Aukin hætta á skorpulifur og lífhimnubólgu af völdum bakteríusýkinga Verri svörun við interferonmeðferð
Mycoplasma sýkingar	Minna viðnám
HIV-1 sýkingar	Aukin hætta á fyrstu HIV-1 sýkingu og styttri líftími eftir greiningu Aukin hætta á öðrum sýkingum (cryptosporidiosis) Áhrif á framvindu yfir í alnæmi hjá útsettum ungbörnum
Sýkingar í börnum Sýkingar í ónæmisbældum börnum	Aukin hætta á endurteknum og alvarlegum sýkingum "Febrile neutropenia" varir lengur
Sýkingar í fullorðnum sem ekki eru með aðra þekktu meðfædda ónæmisgalla	Aukin hætta á sjaldgæfum, alvarlegum og endurteknum sýkingum
Sýkingar í ónæmisbældum fullorðnum	Aukin hætta á alvarlegum sýkingum
Severe acute respiratory syndrome coronavirus infection (SARS-CoV)	Minna viðnám gegn coronavirus sýkingum en hækkar ekki dánartíðni
Systemic inflammatory response syndrome (SIRS) og sepsis	Stóraukin hætta að fá SIRS og sepsis og hærri dánartíðni
Sjálfsónæmissjúkdómar	Aukin hætta á rauðum úlfum (Systemic Lupus Erythematosus (SLE)) Aukin hætta á slagæðasega í SLE sjúklingum
Ígræðsla á blóðmyndandi stofnfrumum	Aukin tíðni á alvarlegum ífarandi sýkingum
Slímseigjusjúkdómur (cystic fibrosis)	Skert lungnastarfsemi og minni lifur
Kawasaki sjúkdómur	Aukin hætta á kransæðarskemmd

Heimilda er getið í rafrænni útgáfu greinarinnar á heimasíðu Lækna blaðsins.

klíniska þýðingu.⁴⁵ Þó hafa nýlegar rannsóknir sýnt fram á hærri tíðni MBL-skortsarfgerða hjá fullorðnum með alvarlegar, sjaldgæfar og endurteknar sýkingar, óháð því hvort þeir eru með meðfædda ónæmisgalla.⁴⁶ Sjá nánar í töflu II. Á undanförunum árum hafa tengsl MASP2-skorts við sjúkdóma/sjúklingahópa einnig verið rannsökuð

en ekki verður fjallað um þær niðurstöður í þessu yfirliti. Þess ber að geta að MBL-skortur og MASP-2-skortur hafa nýlega verið flokkaðir sem ónæmisgallar (primary immunodeficiencies (PID)).⁴⁷

Dýralíkön af MBL-skorti

Mýs eru með tvö gen (MBL-A og -C) sem skrá fyrir öðruvísi MBL-sameindum en manna. Í „sepsis“ músarlíkani, þar sem *Staphylococcus aureus* var sprautað í mýs með úrfelld MBL-gen, var sýnt fram á mikilvægi MBL gegn bakteríunni, því að allar erfðabreyttu mýsnar dóu samanborið við 55% lifun villigerðarmúsa.⁴⁸ Hægt var að bjarga stökkbreyttu músunum með því gefa þeim raðbrigða-MBL-prótein í æð. Í sama líkani hefur verið sýnt fram á marktækt minna viðnám gegn herpes simplex veiru 2.⁴⁹ Engin einkenni sjálfsöfnæmissjúkdóma fundust í músunum en hins vegar var skertur eiginleiki til að hreinsa upp frumur í stýrðum frumudauða.⁵⁰ *In vivo* genalækning með MBLA-kjarnsýrum verndaði ónæmisbeldar mýs sem í var grætt ristilkrabbameinsfrumulína sem sýnir að músa-MBL getur hamlað æxlisvexti.⁵¹ MBL-skortur er hins vegar verndandi í músunum með blóðþurrð (ischaemia/reperfusion injury) í hjarta, lifur og meltingarvegi.⁵² Þessar niðurstöður eru í samræmi við nýlega klíniska rannsókn í mönnum þar sem haplótýpan LYQA (hár MBL-styrkur í blóði) var metin sem áhættuþáttur fyrir drep í hjartavöðva hjá sjúklingum sem hafa gengist undir kransæðaaðgerð.⁵³

Lokaorð

Nú eru liðin 20 ár síðan því var fyrst lýst að skert geta sermis til áthúðunar væri tengd sameindinni MBL eða réttara sagt skorti á henni.¹ MBL er þróunarfræðilega varðveitt sameind og hlýtur því að gegna mikilvægu hlutverki. Ofangreindar rannsóknaniðurstöður sýna ótvírætt fram á að ræsing lektínferilsins gegnir lykilhlutverki í ósértæku ónæmissvari og viðheldur heilbrigði. Margt bendir eindregið til þess að meðfæddir gallar í ferlinu séu algengari og klínískt mikilvægi þeirra meira en talið hefur verið. Lítið hefur verið rannsakað hvernig og hvort MBL-skortur sé bættur upp, til dæmis af fíkólínunum, en greinarhöfundar hyggjast rannsaka það nánar.

Mikil þróunarvinna hefur verið unnin á undanfórnum árum á notkun MBL-próteinsins hjá einstaklingum með skort og var ein slík rannsókn framkvæmd á ónæmisfræðideild Landspítala.⁵⁴ Þó enn sé langt í land með að skilgreina með-

ferðarleiðir er þó hugsanlegt að bráðum muni ákveðnum áhættuhópum standa slík meðferð til boða.

Heimildir

1. Super M, Thiel S, Lu J, et al. Association of low levels of mannan-binding protein with a common defect of opsonisation. *Lancet* 1989; 2: 1236-9.
2. Miller ME. A familial, plasma-associated defect of phagocytosis. *Lancet* 1968 (ii): 60-3.
3. Soothill JF, Harvey BA. Defective opsonization. A common immunity deficiency. *Arch Dis Child* 1976; 51: 91-9.
4. Kawasaki N, Kawasaki T, Yamashina I. Isolation and characterization of a mannan-binding protein from human serum. *J Biochem* 1983; 94: 937-47.
5. Thiel S, Vorup-Jensen T, Stover CM, et al. A second serine protease associated with mannan-binding lectin that activates complement. *Nature* 1997; 386: 506-10.
6. Ikeda K, Sannoh T, Kawasaki N, et al. Serum lectin with known structure activates complement through the classical pathway. *J Biol Chem* 1987; 262: 7451-4.
7. Dommett RM, Klein N, Turner MW. Mannose-binding lectin in innate immunity: past, present and future. *Tissue Antigens* 2006; 68: 193-209.
8. Takahashi K, Ip WE, Michelow IC, et al. The mannose-binding lectin: a prototypic pattern recognition molecule. *Curr Opin Immunol* 2006; 18: 16-23.
9. Seyfarth J, Garred P, Madsen HO. Extra-hepatic transcription of the human mannose-binding lectin gene (mbl2) and the MBL-associated serine protease 1-3 genes. *Mol Immunol* 2006; 43: 962-71.
10. Sumiya M, Super M, Tabona P, et al. Molecular basis of opsonic defect in immunodeficient children. *Lancet* 1991; 337: 1569-70.
11. Heise CT, Nicholls JR, Leamy CE, et al. Impaired secretion of rat mannose-binding protein resulting from mutations in the collagen-like domain. *J Immunol* 2000; 165: 1403-9.
12. Lipscombe RJ, Sumiya M, Hill AV, et al. High frequencies in African and non-African populations of independent mutations in the mannose binding protein gene. *Hum Mol Genet* 1992; 1: 709-15.
13. Madsen HO, Garred P, Kurtzhals JA, et al. A new frequent allele is the missing link in the structural polymorphism of the human mannan-binding protein. *Immunogenetics* 1994; 40: 37-44.
14. Madsen HO, Garred P, Thiel S, et al. Interplay between promoter and structural gene variants control basal serum level of mannan-binding protein. *J Immunol* 1995; 155: 3013-20.
15. Thiel S, Frederiksen PD, Jensenius JC. Clinical manifestations of mannan-binding lectin deficiency. *Mol Immunol* 2006; 43: 86-96.
16. Larsen F, Madsen HO, Sim RB, et al. Disease-associated mutations in human mannose-binding lectin compromise oligomerization and activity of the final protein. *J Biol Chem* 2004; 279: 21302-11.
17. Wallis R, Cheng JY. Molecular defects in variant forms of mannose-binding protein associated with immunodeficiency. *J Immunol* 1999; 163: 4953-9.
18. Wallis R. Dominant effects of mutations in the collagenous domain of mannose-binding protein. *J Immunol* 2002; 168: 4553-8.
19. Garred P, Larsen F, Madsen HO, et al. Mannose-binding lectin deficiency--revisited. *Mol Immunol* 2003; 40: 73-84.
20. Naito H, Ikeda A, Hasegawa K, et al. Characterization of human serum mannan-binding protein promoter. *J Biochem* 1999; 126: 1004-12.
21. Garred P, Larsen F, Seyfarth J, et al. Mannose-binding lectin and its genetic variants. *Genes Immun* 2006; 7: 85-94.
22. Thiel S, Holmskov U, Hviid L, et al. The concentration of the C-type lectin, mannan-binding protein, in human plasma increases during an acute phase response. *Clin Exp Immunol* 1992; 90: 31-5.
23. Eisen DP, Dean MM, Boermeester MA, et al. Low serum mannose-binding lectin level increases the risk of death due to pneumococcal infection. *Clin Infect Dis* 2008; 47: 510-6.
24. Dahl MR, Thiel S, Matsushita M, et al. MASP-3 and its association with distinct complexes of the mannan-binding lectin complement activation pathway. *Immunity* 2001; 15: 127-35.

25. Sato T, Endo Y, Matsushita M, et al. Molecular characterization of a novel serine protease involved in activation of the complement system by mannose-binding protein. *Int Immunol* 1994; 6: 665-9.
26. Stover CM, Thiel S, Thelen M, et al. Two constituents of the initiation complex of the mannan-binding lectin activation pathway of complement are encoded by a single structural gene. *J Immunol* 1999; 162: 3481-90.
27. Takahashi M, Endo Y, Fujita T, et al. A truncated form of mannose-binding lectin-associated serine protease (MASP)-2 expressed by alternative polyadenylation is a component of the lectin complement pathway. *Int Immunol* 1999; 11: 859-63.
28. Stengaard-Pedersen K, Thiel S, Gadjeva M, et al. Inherited deficiency of mannan-binding lectin-associated serine protease 2. *N Engl J Med* 2003; 349: 554-60.
29. Lozano F, Suarez B, Munoz A, et al. Novel MASP2 variants detected among North African and Sub-Saharan individuals. *Tissue Antigens* 2005; 66: 131-5.
30. Stover C, Endo Y, Takahashi M, et al. The human gene for mannan-binding lectin-associated serine protease-2 (MASP-2), the effector component of the lectin route of complement activation, is part of a tightly linked gene cluster on chromosome 1p36.2-3. *Genes Immun* 2001; 2: 119-27.
31. Thiel S, Steffensen R, Christensen IJ, et al. Deficiency of mannan-binding lectin associated serine protease-2 due to missense polymorphisms. *Genes Immun* 2007; 8: 154-63.
32. Thiel S, Kolev M, Degn S, et al. Polymorphisms in mannan-binding lectin (MBL)-associated serine protease 2 affect stability, binding to MBL, and enzymatic activity. *J Immunol* 2009; 182: 2939-47.
33. Cedzynski M, Szemraj J, Swierczko AS, et al. Mannan-binding lectin insufficiency in children with recurrent infections of the respiratory system. *Clin Exp Immunol* 2004; 136: 304-11.
34. Stover C, Barrett S, Lynch NJ, et al. Functional MASP2 single nucleotide polymorphism plays no role in psoriasis. *Br J Dermatol* 2005; 152: 1313-5.
35. Olesen HV, Jensenius JC, Steffensen R, et al. The mannan-binding lectin pathway and lung disease in cystic fibrosis - dysfunction of mannan-binding lectin-associated serine protease 2 (MASP-2) may be a major modifier. *Clin Immunol* 2006; 121: 324-31.
36. Cedzynski M, Atkinson AP, St Swierczko A, et al. L-ficolin (ficolin-2) insufficiency is associated with combined allergic and infectious respiratory disease in children. *Mol Immunol* 2009; 47: 415-9.
37. Garcia-Laorden MI, Sole-Violan J, Rodriguez de Castro F, et al. Mannose-binding lectin and mannose-binding lectin-associated serine protease 2 in susceptibility, severity, and outcome of pneumonia in adults. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122: 368-74, 374 e1-2.
38. Sorensen R, Thiel S, Jensenius JC. Mannan-binding-lectin-associated serine proteases, characteristics and disease associations. *Springer Semin Immunopathol* 2005; 27: 299-319.
39. Endo Y, Matsushita M, Fujita T. Role of ficolin in innate immunity and its molecular basis. *Immunobiology* 2007; 212: 371-9.
40. Garred P, Honore C, Ma YJ, et al. MBL2, FCN1, FCN2 and FCN3-The genes behind the initiation of the lectin pathway of complement. *Mol Immunol* 2009; 46: 2737-44.
41. Munthe-Fog L, Hummelshoj T, Honore C, et al. Immunodeficiency associated with FCN3 mutation and ficolin-3 deficiency. *N Engl J Med* 2009; 360: 2637-44.
42. Munthe-Fog L, Hummelshoj T, Ma YJ, et al. Characterization of a polymorphism in the coding sequence of FCN3 resulting in a Ficolin-3 (Hakata antigen) deficiency state. *Mol Immunol* 2008; 45: 2660-6.
43. Saevarsdottir S, Vikingsdottir T, Vikingsson A, et al. Low mannose binding lectin predicts poor prognosis in patients with early rheumatoid arthritis. A prospective study. *J Rheumatol* 2001; 28: 728-34.
44. Seelen MA, Roos A, Wieslander J, et al. Functional analysis of the classical, alternative, and MBL pathways of the complement system: standardization and validation of a simple ELISA. *J Immunol Methods* 2005; 296: 187-98.
45. Aittoniemi J, Baer M, Soppi E, et al. Mannan binding lectin deficiency and concomitant immunodefects. *Arch Dis Child* 1998; 78: 245-8.
46. Hoefflich C, Unterwalder N, Schuett S, et al. Clinical manifestation of mannose-binding lectin deficiency in adults independent of concomitant immunodeficiency. *Hum Immunol* 2009; 70: 809-12.
47. Notarangelo L, Casanova JL, Conley ME, et al. Primary immunodeficiency diseases: an update from the International Union of Immunological Societies Primary Immunodeficiency Diseases Classification Committee Meeting in Budapest, 2005. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 883-96.
48. Shi L, Takahashi K, Dundee J, et al. Mannose-binding lectin-deficient mice are susceptible to infection with *Staphylococcus aureus*. *J Exp Med* 2004; 199: 1379-90.
49. Gadjeva M, Paludan SR, Thiel S, et al. Mannan-binding lectin modulates the response to HSV-2 infection. *Clin Exp Immunol* 2004; 138: 304-11.
50. Stuart LM, Takahashi K, Shi L, et al. Mannose-binding lectin-deficient mice display defective apoptotic cell clearance but no autoimmune phenotype. *J Immunol* 2005; 174: 3220-6.
51. Ma Y, Uemura K, Oka S, et al. Antitumor activity of mannan-binding protein in vivo as revealed by a virus expression system: mannan-binding protein-independent cell-mediated cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 371-5.
52. Takahashi K. Lessons learned from murine models of mannose-binding lectin deficiency. *Biochem Soc Trans* 2008; 36: 1487-90.
53. Collard CD, Shernan SK, Fox AA, et al. The MBL2 'LYQA secretor' haplotype is an independent predictor of postoperative myocardial infarction in whites undergoing coronary artery bypass graft surgery. *Circulation* 2007; 116(11 Suppl): I106-12.
54. Valdimarsson H, Vikingsdottir T, Bang P, et al. Human plasma-derived mannose-binding lectin: a phase I safety and pharmacokinetic study. *Scand J Immunol* 2004; 59: 97-102.
55. Valdimarsson H. Infusion of plasma-derived mannan-binding lectin (MBL) into MBL-deficient humans. *Biochem Soc Trans* 2003; 31: 768-9.
56. Fujita T. Evolution of the lectin-complement pathway and its role in innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 346-53.
57. Turner MW. The role of mannose-binding lectin in health and disease. *Mol Immunol* 2003; 40: 423-9.

Inherited deficiency of the initiator molecules of the lectin-complement pathway

The complement system is an important immune system. Its activation results in membranolytic elimination of microbes and opsonization. The classical, alternative and lectin pathways (LP) activate complement. Either mannan-binding lectin (MBL), ficolin-1, ficolin-2 or ficolin-3 initiate the LP through associated serine protease (MASP-2) after binding to microorganisms' surface carbohydrate patterns. Genetic polymorphisms behind MBL deficiency

Bjarnadottir H, Ludviksson BR

Inherited deficiency of the initiator molecules of the lectin-complement pathway. *Icel Med J* 2010; 96: 611-7

Key words: innate immunity, mannan-binding lectin (MBL), ficolins, lectin pathway (LP), complement activation.

Correspondance: Björn Rúnar Lúðvíksson, bjornlud@landspitali.is

are rather common. Numerous studies indicate that MBL deficiency is a risk factor for invasive and recurrent infections, especially when other immune systems are immature, deficient or compromised. Research in ficolins is limited but last year ficolin-3 deficiency was described. This review focuses on these recently WHO defined immunodeficiencies.