

Temanummer: Lungmedicinsk Forskning vid Karolinska Institutet

Detta temanumret ingår i en serie i Lung & Allergiforum där universitetet presenterar sin forskningsverksamhet, och turen har nu kommit till Stockholm och Karolinska Institutet. Det är en stor glädje och ära för mig att kunna presentera en del av den aktuella lungforskning som pågår. Bidragen speglar både experimentella, translationella och kliniska projekt, med det gemensamt att den beskrivna forskningen drivs av kliniska frågeställningar där resultaten förhoppningsvis i framtiden kan bli till nytta för våra lungsjuka patienter. Min förhopp-

ning är att bidragen skall tjäna som inspirationskälla för alla som på något sätt är involverade i vården av våra patienter eller är engagerade i olika projekt, både inom akademien och industrin. Temanumret kan också stimulera kontakter mellan forskare vid våra universitet och stimulera samarbete. För er som är yngre och tycker lungmedicin verkar spännande: läs, fundera och återkom gärna till någon av forskarna. Vi är beroende av er om den lungmedicinska verksamheten skall kunna utvecklas i framtiden.

Jag vill tacka alla författare som, trots alltför stor arbetsbörda, med stor entusiasm levererat sina artiklar och gjort det i tid. Jag vill också tacka Svensk Lungmedicinsk Förening och redaktionen som givit oss möjlighet att bidra med detta temanummer. Till sist: trevlig läsning – lungforskning är både roligt och har stor potential!

MAGNUS SKÖLD
Gästredaktör



Aula Medica, oktober 2012. Copyright: Ulf Sirborn.

Identifiering av mekanismer som orsakar luftvägshyperreaktivitet vid astma

Personer med astma lider av upprepade episoder av förträngningar av luftvägarna. Detta orsakar stort lidande med oro, ångest och nedsatt funktion i det dagliga livet. Det som trigger astmaattackerna är ofta allergiska reaktioner, virusinfektioner eller luftföroreningar. Att astmatiker reagerar så starkt på dessa reaktioner beror på att de har överkänsliga luftvägar. Orsaken till denna luftvägshyperreaktivitet är hittills okända interaktioner mellan miljö och arv.

Fokus för vår grupp är att definiera de mekanismer och molekyler som orsakar sammandragningarna och överkänsligheten i luftvägarna. Det initiala målet är att dessa undersökningar ska leda till att med speciella interventioner kunna hjälpa astmatikerna med dessa problem. Med hjälp av den förvärvade kunskapen om mekanismerna som orsakar sammandragningarna och överkänsligheten i luftvägarna är nästkommande mål att följa signalvägarna uppströms för att finna de grundläggande orsakerna till varför detta uppkommer.

För att kunna genomföra forskningsplanen använder vi oss av en translationell forskningsstrategi. Den inbegriper ett utbyte av resultat från experiment på olika nivåer såsom funktionella luftvägsundersökningar *in vivo* och *in vitro*, studerande av vävnadsstrukturer, utsöndringsmönster, immunologiska och inflammatoriska processer samt uttryck av gener och proteiner. För detta används human vävnad, djurförsök och isolerade celler från både djur och människa.

Här har vår grupp utvecklat flera egna experimentella modeller för att genomföra forskningsplanen. För att studera hur olika inflammatoriska stimuli påverkar kontraktionen, används en speciell metod för odling av isolerade luftvägar [1]. Med denna metod kan luftvägarnas egenskaper undersökas efter exponering för olika tidsintervall, sekvenser och kombinationer av stimuli. Med detta system har vi kunnat visa att interleukinerna 4 och 13 orsakar en ökad känslighet för kontraktila

substanser och att denna effekt är medierad av en gemensam cytokinreceptor [2]. Detta kan vara en viktig komponent för luftvägshyperreaktiviteten hos astmatiker och dess signalvägar, kinetik och betydelse kommer att definieras i kommande studier med hjälp av odlade glatta muskelceller och marsvinsmodellen som beskrivs nedan. Vi har också utvecklat en unik modell för att studera ansträngningsutlöst astma *in vitro* [3]. Denna studie, tillsammans med ytterligare en studie av isolerade humana luftvägar visade att kontraktionen och mastcellsaktivering hämmas genom en frisättning av prostaglandin E₂ och I₂ (prostacyclin). Dessa fynd kan ha en viktig betydelse för en speciell fenotyp av astma som definierats aspirin-känslig. Metoden är användbar för att studera mekanismerna bakom detta fenomen.

För att kunna gå vidare med att studera mastcellens påverkan på astma har vi utvecklat en ny marsvinsmodell för astma.

Vi har tidigare visat att luftvägshyperreaktivitet vid allergisk luftvägsinflammation både är beroende och oberoende av mastceller [4]. För att kunna gå vidare med att studera mastcellens påverkan på astma har vi utvecklat en ny marsvinsmodell för astma. Orsaken till användandet av marsvin är att dessa, till skillnad från möss, har naturlig förekomst av mastceller i lungorna. Dessutom är marsvinens anatomiska, fysiologiska och farmakologiska egenskaper mycket mer lika människa jämfört med musen. Detta är av särskild vikt för studerandet av luftvägsfunktionen. I den nya modellen för astma exponeras marsvinen med kvalster- eller kattallergen, vilka är vanliga orsaker till allergiska astmabesvär. Med denna modell uppvisar vi likartade egenskaper som hos astmatiker; allergeninducerad bronkontraktion, infiltration av leukocyter i

lungan, utsöndring av inflammatoriska cytokiner och kemokiner, fibrosbildning i luftvägarna, förhöjd slemproduktion, ökat glattmuskelcellslager, rekrytering av mastceller till lungan och luftvägshyperreaktivitet. Med samma tillvägagångssätt som den nya terapin mot astma, dvs användandet av antikroppar mot specifika molekyler som man vet utsöndras vid astma, kan vi med denna modell undersöka vilka olika patologiska processer var och en av dem påverkar. Denna kunskap kan ge vägledning för framtida behandling av astmatiker.

Sammanfattningsvis fokuserar vår grupp på att studera mekanismerna bakom luftvägshyperreaktiviteten som astmatikerna lider av. För att kunna göra detta har vi utvecklat egna metoder som inbegriper både att studera isolerade luftvägar och att använda astmamodeller. Genom att integrera resultat från dessa metoder skapar vi härigenom möjligheter för att komma fram till nya terapeutiska idéer som handlar om att hindra både akut förträngning av luftvägarna och dess bakomliggande orsaker.

MIKAEL ADNER

PhD, docent och forskargruppleddare,
Institutet för miljömedicin, Karolinska Institutet,
mikael.adner@ki.se

Referenser

1. Adner *et al.* An assay to evaluate the long-term effects of inflammatory mediators on murine airway smooth muscle: evidence that TNF- α up-regulates 5-HT(2A)-mediated contraction. *Br J Pharmacol.* 2002;137:971-82.
2. Manson *et al.* IL-13 and IL-4, but not IL-5 nor IL-17A, induce hyperreactivity in isolated human small airways. *J Allergy Clin Immunol.* 2019;In press.
3. Saffholm *et al.* A novel mannitol challenge protocol triggers mast cell-dependent contractions of explanted human bronchi and reveals bronchoprotection by endogenous prostacyclin. *J Allergy Clin Immunol.* 2019;144:984-992.
4. Fuchs *et al.* Mast cell engraftment of the peripheral lung enhances airway hyperresponsiveness in a mouse asthma model. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2012;303:L1027-36.

Klinisk patientnära forskning om allergisk och icke-allergisk astma

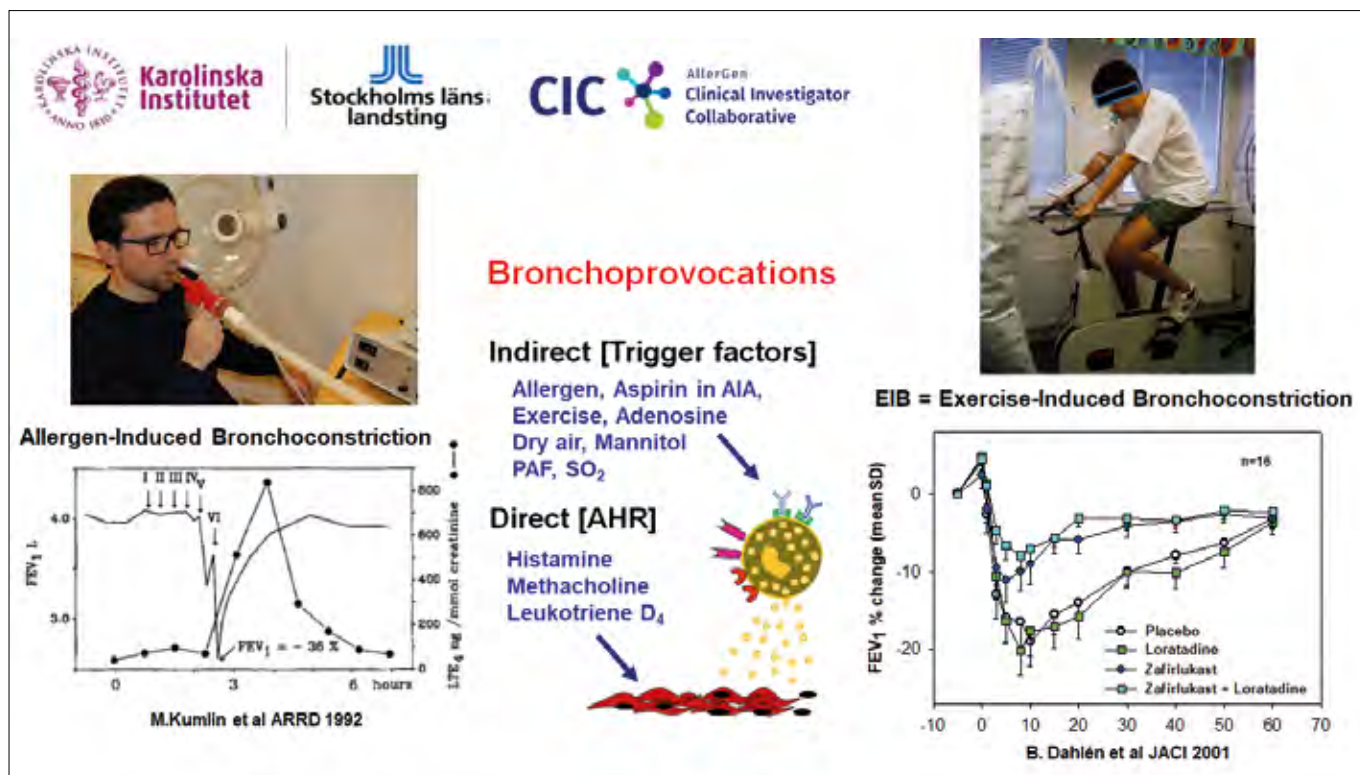
Verksamheten bedrivs vid ett humanlaboratorium för klinisk luftvägsforskning som driver två typer av studier. Dels utlöser vi kontrollerade astmatiska reaktioner genom bronkialprovokationer och dels undersöker vi patienter och friska kontroller i observationsstudier och efter olika typer av interventioner för att förstå mekanismer och pröva läkemedelskandidater. Vid bägge typerna av försök samlas prover av olika slag (blod, saliv, sputum, urin, utandad luft) och vid upprepade tidpunkter för att klarlägga kinetik och samband med samtidigt registrerade kliniska och fysiologiska mätvariabler. Proverna analyseras sedan i samarbeten med de forskargrupper inom KI eller internationellt vilka är experter på specifika celler eller molekyler. Enheten har specialistsköterska och BMA med långvarig specialkunskap av metodik och utrustning som inkluderar kroppspletysmograf med impulsoscilometri, spirometrar, nebulisatorer, löpmatta med ergometer, EucapSys för torr

luftspovokation, utrustning för provinsamling av exhalerade partiklar (PeXA), volatila gaser (eNOSE) och sputum, samt våtlab för uppärbetning av prover. Doktorander och post doc forskare är alla specialistläkare.

Forskningsprogrammet har utvecklats från ursprungliga studier av mekanismerna för aspirin/NSAID intolerant astma (AIA). Patienterna kännetecknas av kronisk icke-allergisk astma som ofta är svårbehandlad, svår näs-sinussjukdom och risk för letal överkänslighetsreaktion vid intag av NSAID preparat som hämmar den COX (cyclo-oxygenas) reaktion som startar syntesen av prostaglandiner (PG). Syndromet beror inte på IgE allergi och det finns inget *in vitro* test. Jag har utvecklat ett provokationstest som nu är Europastandard vid diagnostik och forskning (ref 1). Bland de publicerade resultaten kan nämnas att dessa patienter tål COX-2 hämmare (ref 2), vilket är av praktisk betydelse och givit nya hypoteser för framtida studier.

Patienter med AIA har ofta en svår astma vilket, tillsammans med det stora kliniska behovet att utveckla bättre behandling och omhändertagande av svår astma, medfört att en central del av verksamheten inneburit deltagande i EU nätverk (ENFUMOSA, BIOAIR, U-BIOPRED) för att karakterisera mekanismer och fenotyper vid svår astma (t.ex ref 3). U-BIOPRED har för vår del givit upphov till omkring 25 publikationer där ett exempel är världens största bronkoskopistudie av astma (ref 4) vilken förändrat synen på relationen mellan konventionella cellulära markörer för luftvägsinflammation och kliniskt förlopp. Nyligen har IMI-projektet 3TR (<https://cordis.europa.eu/project/rcn/224791/factsheet/en>) inletts där kliniska och molekylära markörer för terapivar och terapisvikt ska jämföras mellan svår astma och sex andra immunologiska sjukdomar (RA, MS, SLE, Ulcerös kolit, Mb Crohn, och KOL).

Pga den pågående introduktionen av nya biologiska preparat för behandling



Figur 1: Schematisk illustration av hur bronkialprovokationer kan utlösa luftvägs-obstruktion antingen genom att direkt kontrahera bronkialmuskulaturen eller indirekt genom att aktivera frisättning av mastcellsmediatorer.

av svår astma är nu en huvudlinje inom verksamheten att i samverkan med det kliniska specialistcentrat för svår astma vid Karolinska Universitetssjukhuset, följa upp kliniskt förlopp och biomarkörsvär. Detta sker fra inom doktorandprojektet BIO CROSS (Valentyna Yasinska), som sker i samarbete med Uppsala (Christer Janson och Andrei Malinowski) och Göteborg (Anna-Carin Olin och Teet Puljerits). En annan aktivitet är att i samverkan med luftvägsregistret och det ERS- (European Respiratory Society) stödda konsortiet SHARP bidra till att skapa ett Europeiskt forskningsregister för svår astma.

För fördjupad mekanismförståelse utgör bronkialprovokationsstudier en hörnpelare vid forskningsenheten (Figur 1). Genom provokationer kan vi utlösa en kortvarig och övergående sjukdomsför-sämring. Denna för astmaforskningen speciella metodik gör det möjligt att dy-

namiskt följa förändringar av luftvägs-fysiologi, cellulära reaktioner, mediatorfrisättning och möjliga biomarkörer. Med farmakologisk intervention kan dessutom orsakssamband fastställas. Enheten ingår som enda icke-Kanadensiskt centrum i nätverket CIC (Clinical Investigator Collaborative; <https://cictrials.ca/people/>) vilket genom standardiserade allergenprovokationer genomfört omkring 30 proof-of-concept studier under de senaste femton åren. Bland studier från den egna enheten kan nämnas den nyligen publicerade av Lazarinis et al, där vi upptäckte att inhalation av leukotrien E₄ (LTE₄) förutom bronkkonstriktion via CysLT₁ receptorn, också aktiverade mastceller att frisätta PGD₂ (ref 5). Detta öppnar för en tidigare okänd förstärkningsmekanism.

BARBRO DAHLÉN

Patientområde Lung- och Allergisjukdomar,
Karolinska Universitetssjukhuset Huddinge,
och Institutionen för medicin Huddinge

Referenser

1. Nizankowska-Mogilnicka *et al.* EAACI/GA-2LEN guideline: aspirin provocation tests for diagnosis of aspirin hypersensitivity. *Allergy*. 2007;62:1111-18.
2. Gyllfors P *et al.* Biochemical and clinical evidence that aspirin-intolerant asthmatics tolerate the cyclooxygenase-2 (COX-2) selective analgesic drug celecoxib. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2003; 111:1116-21.
3. Abraham *et al.* The ENFUMOSA cross-sectional European multicentre study of the clinical phenotype of chronic severe asthma. *Eur Respir J* 2003;22:470-77.
4. Wilson *et al.* Severe asthma exists despite suppressed tissue inflammation: findings of the U-BIOPRED study. *Eur Respir J*. 2016;48:1307-1319.
5. Lazarinis *et al.* The CysLT₁ receptor mediates bronchoconstriction and mast cell activation induced by inhalation of leukotriene E₄ in subjects with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2018; 142:1080-1089.

Integrering av metabolom och exposom för molekylär fenotypning av obstruktiv lungsjukdom

IMP-laboratoriet för integrerad molekylär fenotypning (Karolinska Institutet) grundades 2009 med stöd från Hjärt-Lungfonden, för att undersöka molekylära profiler av lungsjukdom.

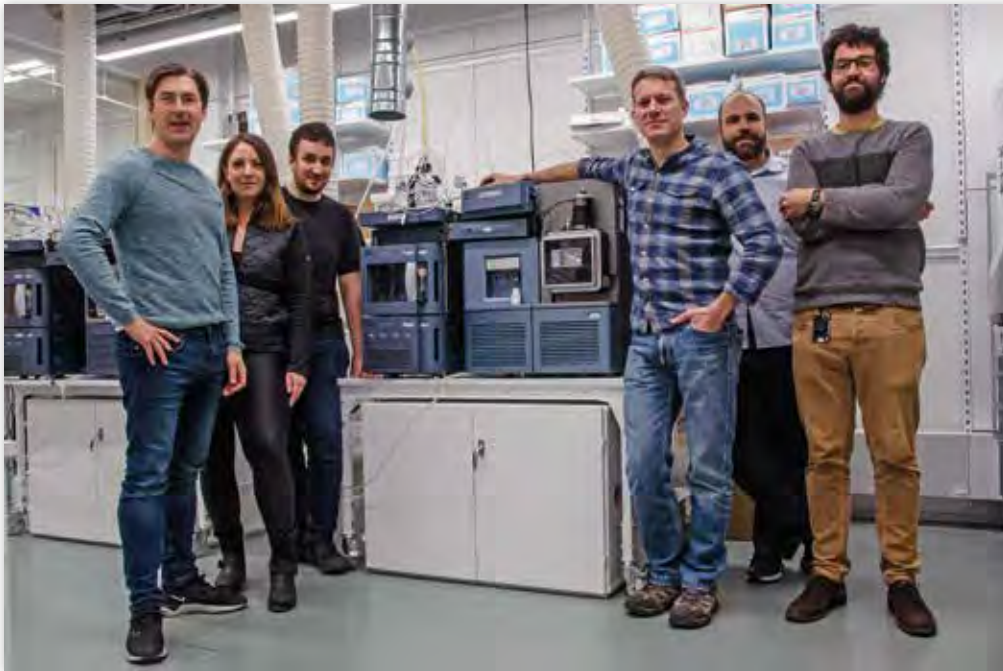
En fenotyp utgör den observerbara uppsättningen av egenskaper hos en individ baserat på deras genetiska bakgrund kombinerat med respons till miljöpåverkan. Fokus för vår forskning är att identifiera små molekyler (t.ex. metaboliter) som kan användas för att beskriva olika fenotyper av luftvägssjukdomar, samt öka vår förståelse för mekanismer som är involverade i utvecklingen av lungsjukdom. IMP-laboratoriet är en modern analytisk anläggning bestående av ett flertal masspektrometrar – en teknik som används i analytisk kemi för att mäta molekyler. Vår anläggning är den största i Sverige avsedd för studier av

lungsjukdom. Laboratoriet består utöver undertecknad av en biträdande professor (Dr. Antonio Checa) och ett team av postdoktorer som utvecklar nödvändiga metoder för att undersöka olika lungsjukdomar inklusive astma, KOL och cystisk fibros.

Sjukdomar som astma och KOL anses ofta vara en enda sjukdom men, utgör egentligen paraplydiagnoser. Dessa diagnoser är baserade på kliniska observationer och saknar ofta ett molekylärt underlag. Vår forskning syftar till att identifiera molekylprofiler för att beskriva de olika typerna av sjukdomar. Detta kallas ofta molekylär fenotypning och utgör en viktig komponent inom området personaliserad medicin. Detta arbete representerar ett viktigt paradigmskifte inom biomedicin. Istället för att använda *one-size-fits-all*-metoder för att diagnostisera och behandla patienter, är syftet istället

att förstå sjukdomen på individnivå med basis att varje person är unik och därför kräver individanpassad behandling – dvs *personaliserad medicin*. För att identifiera dessa molekylprofiler använder vi en avancerad masspektrometri-metod som kallas metabolomik, som samtidigt kan mäta tusentals metaboliter från ett och samma prov. Vi har hittills använt detta tillvägagångssätt för att identifiera molekylprofiler av svårighetsgraden av astma (1), såväl som könsskillnader i KOL (2).

Den exakta orsaken till många lungsjukdomar är oklar, men miljöexponering tros spela en viktig roll. Sekvenseringen av det mänskliga genomet fick oss initialt att tro att vi därmed kunde kartlägga ursprunget till människans alla sjukdomar via dess genetiska faktorer. Det står nu klart att det genetiska arvet endast beskriver en liten del av sjukdomsförekomsten, och även



Medarbetare vid det Integrerade Molekylär Fenotypning-laboratoriet (från vänster Johan Kolmert, Evangelia Daskalakis, Alessandro Quaranta, Craig Wheelock, Antonio Checa och Javier Zurita).

inverkan av miljöfaktorer måste undersökas för att kunna kartlägga sjukdomsutveckling. Som erkännande av detta behov introducerades *exposomet* som koncept, vilket syftar till att undersöka den roll den kompletta miljöexponering en individ utsätts för (t.ex. föroreningar, kost, livsstil) under sin livstid spelar för sjukdomsutveckling. Med avsikt på miljöfaktorernas betydelse i sjukdomsförloppet har vi utvecklat metoder för att inkludera även *exposomet* i vår metabolomik-baserade molekylära fenotypning.

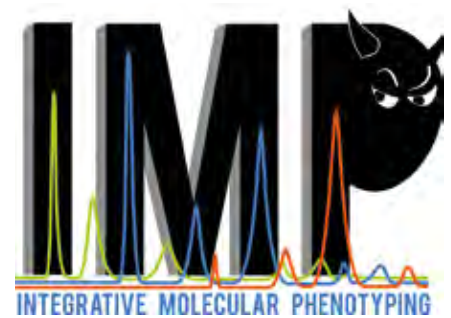
Utöver föroreningar utgör vår kost en viktig del av vår exponering vi utsätts för. I vår forskning undersöker vi därför även sambandet mellan kostfaktorer, specifikt olika typer av fettsyror, och utvecklingen av lungsjukdom. Det har ofta påvisats att den typ av fett som vi konsumerar är relaterad till hälsan, vilket till exempel påvisats genom de hälsomässiga fördelarna med Medelhavsdieten, som är rik på omega-3-fettsyror. Vi tar detta koncept vidare för att undersöka vilken roll sammansättning av fetter i kosten kan spela vid sjukdomar. Till exempel har vi utvecklat omfattande analysmetoder för att kvantifiera potenta biologiska mediatorer producerade av omega-6-fettsyror. Dessa föreningar kallas kollektivt eikosanoider och upptäcktes ursprungligen vid Karolinska Institutet, för vilket Nobelpriset i medicin eller fysiologi tilldelades 1982. Vi har funnit att molekylprofilen för dessa eikosanoider i urin kan användas

för att identifiera specifika undergrupper av astmatiker (3, 4). Medan fortfarande i forskningsfas är det dock möjligt att dessa molekylprofiler kan vidareutvecklas till kliniska applikationer för att upptäcka sjukdomsdebut, såväl som för att identifiera undertyper av sjukdomen. Detta har tillämpningar för att hjälpa kliniker att bestämma lämplig behandlingsplan för astmatiker. Dessa preliminära resultat har redan lett till en klinisk prövning för att testa lämpligheten av eikosanoida profiler i urin för stratifiering av individer för behandling av svår astma. Vårt arbete med dessa fettsyrametaboliter har också identifierat att metaboliter av den huvudsakliga fettsyran i dieten (linolsyra) ökas i lungorna hos kvinnor med KOL (5).

Vår forskning kombinerar metabolomik med *exposom*-baserade ansträngningar för att bestämma förhållandena mellan diet, ämnesomsättning och miljöexponering med utveckling av luftvägssjukdom och allergi. Denna information kommer att kombineras för att utveckla metabolitpaneler för molekylär fenotyp av lungsjukdom, vilket kan hjälpa kliniker att förstå den exakta sjukdomstypen på en individuell bas, öka precision i diagnostisering och behandling – vilket är grundvalarna för personaliserad medicin.

CRAIG E. WHELOCK

Institutionen för Medicinsk Biokemi och Biofysik
Karolinska Institutet
craig.wheelock@ki.se



Referenser

1. Reinke SN, Gallart-Ayala H, Gomez C, Checa A, Fauland A, Naz S, *et al.* Metabolomics analysis identifies different metabolotypes of asthma severity. *Eur Respir J.* 2017;49(3).
2. Naz S, Kolmert J, Yang M, Reinke SN, Kamleh MA, Snowden S, *et al.* Metabolomics analysis identifies sex-associated metabolotypes of oxidative stress and the autotaxin-lysoPA axis in COPD. *Eur Respir J.* 2017;49(6).
3. Gomez C, Gonzalez-Riano C, Barbas C, Kolmert J, Hyung Ryu M, Carlsten C, *et al.* Quantitative metabolic profiling of urinary eicosanoids for clinical phenotyping. *J Lipid Res.* 2019;60(6):1164-73.
4. Dahlen S-E, Kolmert J, Gomez C, Djukanovic R, Dahlen B, Sterk P, *et al.* Lipid Mediator-Based Molecular Profiling Identified 5 Distinct Asthma Sub-Phenotypes in the U-BIOPRED Study. D101 CLINICAL AND TRANSLATIONAL STUDIES IN ASTHMA AND COPD: *American Thoracic Society*; 2019. p. A7090-A.
5. Balgoma D, Yang M, Sjödin M, Snowden S, Karimi R, Levanen B, *et al.* Linoleic acid-derived lipid mediators increase in a female-dominated subphenotype of COPD. *Eur Respir J.* 2016;47(6):1645-56.

Mekanismer och biomarkörer vid svår astma

Utgående från grundvetenskaplig forskning om mekanismer för bildning och verkan av olika arakidonsyraföreningar (prostaglandiner (PG), leukotriener (LT), lipoxiner (LX); ref 1) drivs en rad studier som syftar till att fördjupa kunskapen om hur dessa mediatorer och andra sjukdomsdrivande processer bidrar till patofysiologin vid astma. Under de senaste femton åren har en betydande del av arbetet kommit att handla om hur såväl lipidmediatorer som andra molekylära markörer kan användas för mekanismförståelse och fenotypning vid kliniska studier av astma, och i synnerhet svårbehandlad astma. Verksamheten bedrivs i samverkan med andra forskargrupper lokalt (fra. Barbro Dahlén, Mikael Adner, Craig E. Wheelock, Gunnar P. Nilsson, och Jenny Mjösberg), nationellt (Uppsala, Göteborg, Umeå), och inom flera EU nätverk (ENFUMOSA, BIOAIR, GA²LEN, U-BIOPRED, EARIP, och 3TR).

Så har BIOAIR studien som koordineras från enheten skapat en klinisk kohort av omkring 250 väl karakteriserade patienter med kontrollerad astma, svår astma och KOL vilken utmärks av att kliniska och fysiologiska data samt prover för biomarkörer samlats vid upprepade tillfällen under ett års tid. Dessutom ingår en placebokontrollerad två veckors intervention med peroralt prednison, vilket gör att biobanken tillför en förhållandevis unik resurs för att värdera inflytandet av steroidbehandling på kliniska utfallsvariabler och molekylära mekanismer.

Den longitudinella uppföljningen av symptom och dagliga variationer i lungfysiologi har identifierat faktorer som förutsäger astmaförsämringar (ref 2). Genom att biomarkörer mäts vid de upprepade provtagningarna inom BIOAIR har det bl.a. visats att klassificering av astma-undergrupp i enlighet med internationellt accepterade riktlinjer för sputumceller leder till att omkring hälften av de omkring 150 astmatikerna bytte grupp under ett års tid (ref 3). Detta pekar på betydelsen av att mätning av biomarkörer för att klassificera fenotyp inte bör baseras på enskild tvärsnittundersökning.

BIOAIR studien har bl.a. visat att chitinaserna YKL-40 och chitotriosidas är förhöjda i serum vid svår astma och ännu mer vid KOL (ref 4). Nivåerna av denna evolutionärt gamla grupp av proteoglykaner påverkades ej av steroidbehandling eller akut luftvägsobstruktion och utgör sammanfattningsvis en lovande ny markör för icke-typ2 inflammation och strukturella omvandling ("remodelling") av luftvägarna.

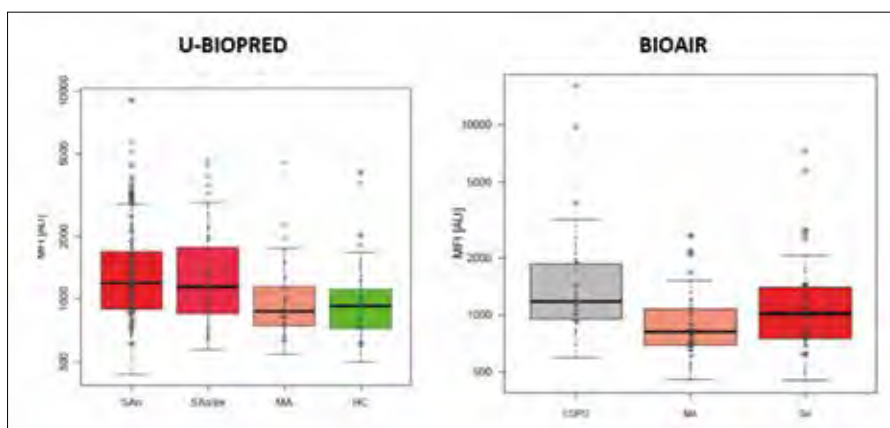
I samverkan med SciLifeLab och med användande av den unika HPA (Human Protein Atlas) resursen har en multiplexpanel för att mäta 177 proteiner i plasma applicerats på den stora U-BIOPRED studien (omkring 600 deltagare) för molekylär fenotypning. Det visade sig att mer än hundra proteiner var ökade vid svår astma (~ 400 patienter), medan de patienter som hade lindrig kontrollerad astma (~ 100

patienter) hade inga väsentliga avvikelser från mönstret hos friska kontroller (~ 100 personer). Därefter kunde fynden i U-BIOPRED replikeras i den mindre BIOAIR studien, samt utvidgas genom att tillföra jämförelse med KOL samt värdera effekten av den orala steroidbehandlingen. Som ett exempel visas i figur 1 hur YKL-40 nivåerna i bägge studierna ger snarlika resultat. Denna HPA panel kommer att ingå i de nya studier som planeras för det nyligen startade IMI projektet 3TR där biomarkörer för "precision medicine" ska sökas för sju olika immunologiska sjukdomar (RA, SLE, MS, Ulcerös kolit, Mb Crohn, astma, och KOL).

Som ett exempel på fortsatt humanexperimentell grundforskning om lipidmediatorer det slutligen nämns att vi i samarbete med Jenny Mjösbergs grupp upptäckt att endogen syntes av PGD₂ är ett nödvändigt steg för att ILC₂ celler ska kunna verkställa sin funktion att initiera eosinofil inflammation genom frisättning av cytokinerna IL-5 och IL-13 (ref 5). ILC₂ har kommit att uppmärksammas som en möjlig nyckelcell för att driva icke-IgE beroende eosinofil inflammation.

SVEN-ERIK DAHLÉN

Institutet för Miljömedicin, Karolinska Institutet, och Patientområde Lung-och allergisjukdomar, Karolinska Universitetssjukhuset Huddinge. sven-erik.dahlen@ki.se



Figur 1: Nivåer av det chitinas-lik proteinet YKL-40 i U-BIOPRED (vänster panel) och BIOAIR (höger panel). SAN eller SA = Svår astma; SAs/ex = Svår astma rökare; MA = Lindrig astma; HC = Friska kontroller; COPD = KOL. Maria Mikus *et al*, manuskript.

Referenser

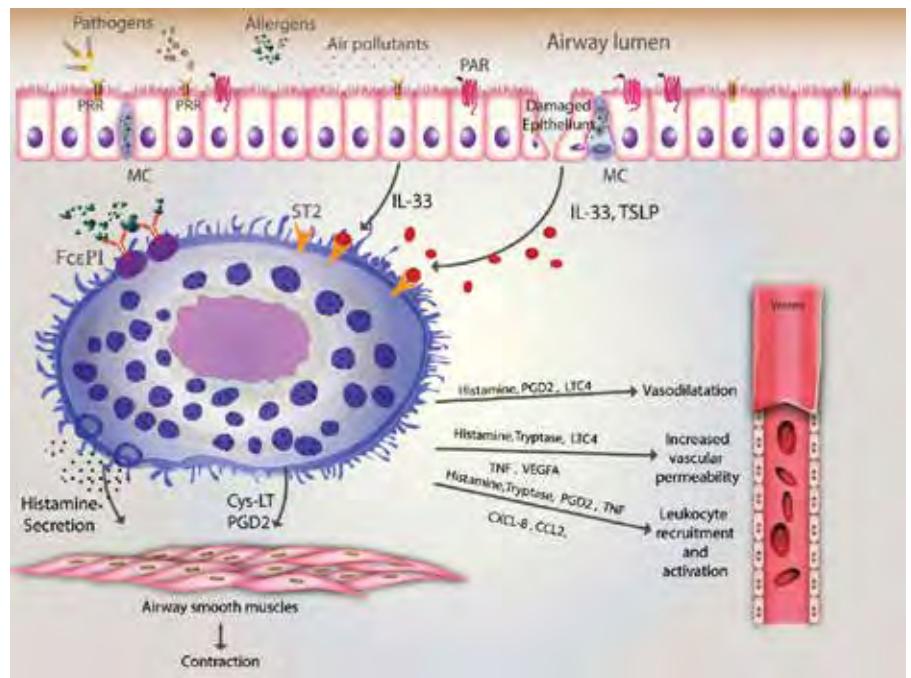
- Dahlén *et al*. Leukotrienes are potent constrictors of human bronchi. *Nature* 1980; 288:484-486.
- Kupczyk *et al*. Detection of exacerbations in asthma based on electronic diary data - results from a one year prospective study. *Thorax* 2013; 68:611-8.
- Kupczyk *et al*. Stability of phenotypes defined by physiological variables and biomarkers in adults with asthma. *Allergy* 2014; 69:1198-204.
- James *et al*. The Chitinase Proteins YKL-40 and Chitotriosidase are Increased in Both Asthma and COPD. *Amer J Res Crit Care Med* 2016;193:131-42.
- Maric *et al*. Cytokine-induced endogenous production of PGD₂ is essential for human ILC₂ activation. *J Allergy Clin Immunol.* 2018; 143:2202-2214.

Vilka funktioner har mastceller i lungan?

Om man funderar på vilken funktion mastceller har i lungan är det vanligt att det första som man tänker på är att de orsakar bronkkontraktion vid allergisk astma. Exponering för allergen leder till korsbindning av IgE-receptorer på mastcellens yta, vilket ger upphov till degranulering och frisättning av bl.a. histamin samt nysyntes av leukotriener, två mediatorer som orsakar bronkkontraktion. Att mastcellen är involverad i allergisk astma är uppenbart, men det är mindre känt vilken funktion den har vid andra typer av lungsjukdomar, t.ex. andra former av astma, kronisk obstruktiv lungsjukdom, idiopatisk lungfibros, lungcancer. Inte minst är vår kunskap begränsad när det gäller den normala funktionen av mastceller i lungan (1). För att förstå humana lungmastcellers funktion vid hälsa och sjukdom bedriver min forskargrupp omfattande studier av denna mångfacetterade cells biologi.

Mastceller finns i alla delar av lungan; i epitelet, kring glattmuskel, runt blodkärl, nära nervändar och i parenkymet. Tidigare studier har visat att både antal och fenotyp varierar mellan olika delar av lungan, där man generellt kan säga att antalet mastceller ökar från de centrala delarna mot de perifera, små luftvägarna. Antalet mastceller i lungan ökar vid lungsjukdom men det är oklart vad som reglerar denna ökning, om det är proliferation av mastceller, nyrekrytering av mastcellsprogenitorer från benmärg, eller en omlokalisering av mogna mastceller. Den inflammatoriska miljön som uppstår påverkar också med största sannolikhet mastcellernas fenotyp, reaktivitet och utsöndring av mediatorer. En av våra hypoteser är att det finns en heterogenitet bland mastceller i olika delar av lungan. Att förstå denna heterogenitet kan vara av stor betydelse för att förstå mastcellens funktion vid olika patologiska tillstånd.

Mastcellen känner av sin omgivning via ett stort antal olika receptorer på sin yta. Den mest kända och studerade är den hög-affina IgE-receptorn, men det finns många fler som känner igen endogena och exogena ämnen och reagerar på dessa



Figur 1: Mastceller i lungan kan aktiveras på flera olika sätt, till exempel via den hög-affina IgE-receptorn, FcεRI, eller av faktorer som frisätts av epitelceller, IL-33 och TSLP. Aktivering kan leda till degranulering (frisättning av bland annat histamin och tryptase) och/eller frisättning av nysyntetiserade mediatorer (leukotriener, prostaglandiner och proteiner). Dessa mediatorer orsakar bronkkontraktion, vasodilatation, ökad kärlpermeabilitet, nervstimulering, och rekrytering och aktivering av olika immunceller.

genom att frisätta mediatorer som agerar på olika celler (fig 1). IL-33 och TSLP är två cytokiner som frisätts av bland annat epitelceller och muskelceller och som har fått stor uppmärksamhet under senaste åren. IL-33 är det huvudsakliga proteinet som mastceller reagerar på vid akut cellskada. IL-33 inducerar frisättning av olika lipidmediatorer och cytokiner, men inte degranulering. Denna differentierade frisättning av mediatorer orsakar en mer specifik cellrespons som huvudsakligen består av rekrytering och aktivering av andra immunceller. Vad som är intressant med IL-33 är att den verkar ha många olika effekter på mastceller. Den ovan nämnda akuta effekten som inducerar frisättning av cytokiner, medan en mer långvarig exponering av mastceller i en miljö med ökad koncentration av IL-33 har en inhiberande/reglerande effekt på mastcellers reaktivitet, bland annat hämning av den IgE-medierade aktiveringen (2). Detta är ett exempel på den kompli-

cerade biologin hos mastceller och hur de kan reagera på ett och samma stimuli beroende på hur länge det har exponerats för det. En konsekvens är att mastcellen vid lungsjukdom kanske inte enbart är en del av patologin, utan att en del av dess funktion är skyddande.

För att få en djupare förståelse av mastceller i lungan fokuserar vi idag vår forskning på humana lungmastceller. Vi har utvecklat ett protokoll för att optimera framtagandet av lungmastceller som kan användas för fenotypiska och funktionella studier (3). Vi använder avancerade singel-cellsanalyser, både för uttryck av proteiner och mRNA, och olika analysmetoder för att identifiera mediatorer som frisätts vid aktivering via olika receptorer. Dessa studier görs i samarbete med andra grupper vid Karolinska Institutet och SciLifeLab. Arbetet är långsiktigt men ett exempel på vad det har resulterat i är identifieringen av frizzled-receptorer på

humana lungmastceller. Dessa receptorer binder Wnt och har tidigare inte påvisats på mastceller. Uttryck av Wnt och frizzled verkar korrelera med en Th2-signatur vid astma och våra fynd kan vara en bit i pusslet att förstå denna typ av astma (4).

Målet med vår forskning är att få en bättre förståelse för mastcellers funktion vid hälsa och vid olika typer av lungsjukdom. Vi utför systematiska studier för att få en djupare kunskap om mastcellsbiologin, för att i nästa steg studera cellerna vid olika sjukdomar och hur cellernas funktion kan förändras i olika patologiska

miljöer. En del av forskningen är också att analysera hur mastcellens överlevnad eller reaktivitet kan påverkas med olika typer av läkemedel (5). Vår förhoppning är att kunna använda denna kunskap till att förbättra behandling av patienter med astma, eller andra typer av lungsjukdomar, där mastcellen är en del i patologin.

GUNNAR NILSSON

professor i experimentell allergiforskning
Enheten för immunologi och allergi,
institutionen för medicin Solna,
Karolinska Institutet, Stockholm.
gunnar.p.nilsson@ki.se

Referenser

1. Erjefalt JS. Mast cells in human airways: the culprit? *European respiratory review: an official journal of the European Respiratory Society*. 2014;23(133):299-307.
2. Ronnberg E, Ghaib A, Ceriol C, Enoksson M, Arock M, Saffholm J, *et al*. Divergent Effects of Acute and Prolonged Interleukin 33 Exposure on Mast Cell IgE-Mediated Functions. *Front Immunol*. 2019;10:1361.
3. Ravindran A, Ronnberg E, Dahlin JS, Mazzurana L, Saffholm J, Orre AC, *et al*. An Optimized Protocol for the Isolation and Functional Analysis of Human Lung Mast Cells. *Front Immunol*. 2018;9:2193.
4. Tebroke J, Lieverse JE, Saffholm J, Schulte G, Nilsson G, and Ronnberg E. Wnt-3a induces cytokine release in human mast cells. *Cells*. 2019;8(11), 1372.
5. Harvima IT, Levi-Schaffer F, Draber P, Friedman S, Polakovicova I, Gibbs BF, *et al*. Molecular targets on mast cells and basophils for novel therapies. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134(3):530-44.

Det antibakteriella värdförsvaret vid obstruktiv lungsjukdom

Exponering för inhalerade substanser utgör en viktig orsak för utvecklingen av kroniskt obstruktiv lungsjukdom (KOL), vilken enligt världshälsoorganisationen (WHO) kommer att vara den tredje vanligaste sjukdomsrelaterade dödsorsaken i redan 2020. I industrialiserade länder är långvarig exponering för tobaksrök den viktigaste riskfaktorn, medan exponering för rök från eldning av ved och biobränsle anses vara viktiga riskfaktorer i utvecklingsländer. På senare år har dock även andra orsaker än exponering för rök från biomassa uppmärksamats, däribland yrkesrelaterad exponering för partiklar och damm men också tidiga händelser i livet, såsom prematur födsel och allvarliga lunginfektioner i barndomen. I Sverige beräknas 8–9 procent av befolkningen lida av KOL; i många andra länder en betydligt större andel. Vid KOL utgör upprepade infektioner en viktig faktor i det kliniska förloppet hos många patienter, i synnerhet de som även har kronisk bronkit.

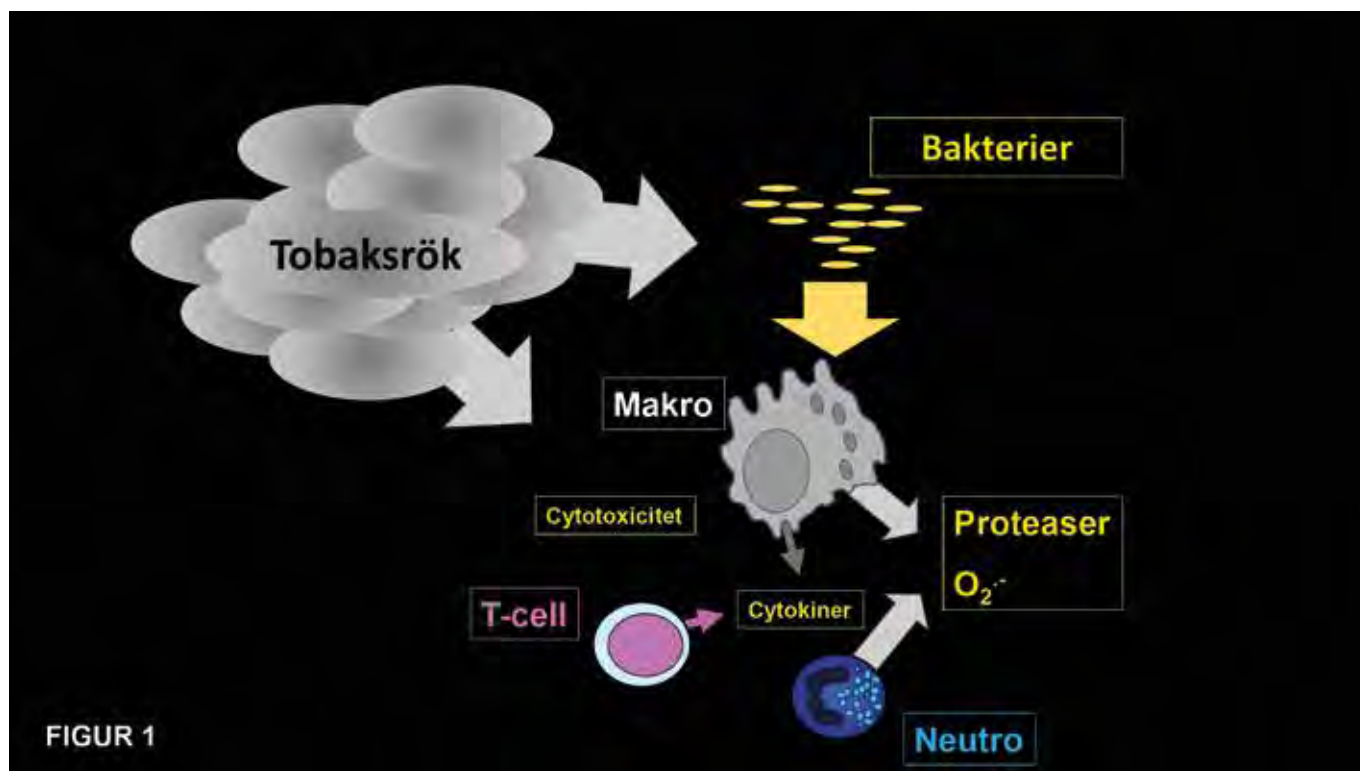
Exponering för inhalerade substanser utgör också en riskfaktor för vissa former av astma, en sjukdom som uppvisar en betydande grad av ärftlighet och associering med allergi samt virusinfektioner i unga år. Till skillnad från KOL så är dödligheten i astma mycket låg i industrialiserade länder medan dödligheten är betydande i en del utvecklingsländer. I Sverige beräknas cirka 10 procent av befolkningen lida av astma och hos äldre patienter förekommer inte sällan blandformer av KOL och astma. Det finns även likheter mellan astma och KOL vad gäller ökad förekomst av kronisk bronkit och luftvägsinfektioner.

Vid enheten för lung- och luftvägsforskning vid Institutet för Miljömedicin, Karolinska Institutet, bedrivs forskning som syftar till att kartlägga grundläggande mekanismer i luftvägarnas immunförsvar, i första hand vid KOL och astma. Målet är att förbättra förståelsen för vilka förändringar som ligger bakom den ökade benägenheten för f.f.a. bakteriella infektioner vid obstruktiv lungsjukdom, eftersom det

saknas effektiv behandling mot densamma. När sådana förändringar identifieras på cellulär eller molekylär nivå så kan de värderas vad gäller potential för diagnostik, monitorering och behandling. Inte minst viktig är möjligheten att särskilja de undergrupper bland patienter som har ökad risk för sjukdomsprogress över tid, sk endotypning.

Det är väl känt att det både vid KOL och vissa former av astma föreligger en mer eller mindre kronisk ansamling av makrofager och neutrofiler, dvs antibakteriella immunceller. Tidigare studier indikerar att detta är fallet även när det saknas tecken på infektion. Att det föreligger en ökad benägenhet för bakteriella infektioner kan betraktas som en immunologisk paradox.

En tänkbar förklaring till ovan nämnda paradox är att det vid både KOL och astma är koordinationen av antibakteriell aktivitet som fattas, snarare än effektorcellerna i sig. Om så är fallet så kan förvärvade förändringar i lymfocytpo-



FIGUR 1 Översikt över principiella cellulära sjukdomsmekanismer vid kroniskt obstruktiv lungsjukdom (KOL). Med tillstånd från förlaget för LoA-forum.

pulationer vara av betydelse. En annan förklaring kan vara att det trots avsaknad av tecken på klinisk infektion föreligger en kolonisering med patogener som rubbar den mikrobiella ekologin, dvs en dysbios. Om så är fallet så kan koloniseringen driva kronisk inflammation.

Vår forskningslinje bygger på idén att långvarig exponering för miljöfaktorer, såsom rök från biomassa inklusive tobak, biobränsle, organiskt damm, små partiklar, avgaser från förbränningsmotorer samt vissa metaller, bidrar till en förändrad immunsignalering vid både vid KOL och astma. I enlighet med detta så karakteriserar vi effekterna av exponering för miljöfaktorer på immunsignaleringen i värdförsvaret mot infektioner. Vi gör detta i första hand genom att jämföra immunsignaleringen hos patienter med KOL och astma med den hos friska kontroller, ofta i tvärsnittsstudier där vi samarbetar med forskare från andra grupper. Till ex-

empel så har vi hos nämnda patienter påvisat förändringar i immunsignalering via cytokinerna IL-16, IL-17 och IL-26 (1-5), där de två senare förefaller kopplade till förekomst av bakterier i luftvägarna. Våra studier omfattar som regel lokala prover från bronkoskopi samt systemiska prover från blod. Vi kartlägger de underliggande cellulära och molekylära mekanismerna i vävnad, i primära eller genetiskt förändrade celler från människor, samt när så krävs i djurmodeller in vivo. Genom att kombinera dessa studier så hoppas vi identifiera nya cellulära och molekylära mål för diagnos inklusive endotypning, samt i ett längre tidsperspektiv, för monitorering, behandling och prevention.

ANDERS LINDÉN

Professor i lung- och luftvägsforskning,
avdelningschef
Institutet för Miljömedicin (IMM),
Karolinska institutet
Överläkare, PO Lung- Allergisjukdomar
Karolinska Universitetssjukhuset Solna
anders.linden@ki.se

Referenser

1. Andersson A, Bossios A, Malmhäll C, Sjöstrand M, Eldh M, Eldh BM, Glader P, Andersson B, Qvarfordt I, Riise GC, Lindén A. Effects of tobacco smoke on IL-16 in CD8+ cells from Human Airways and Blood: a key role for oxygen free radicals? *American Journal of Physiology; Lung Cell and Molecular Physiology* 2011; 300(1): L43-55
2. Andelid K, Tengvall S, Andersson A, Levänen B, Christenson K, Jirholt P, Åhrén C, Qvarfordt I, Ekberg-Jansson A, Lindén A. Systemic Cytokine Signaling via IL-17 in Smokers with Obstructive Pulmonary Disease: A Link to Bacterial Colonization? *International Journal of COPD* 2015; 10: 689-702
3. Konradsen J, Nordlund B, Levänen B, Hedlin G, Lindén A. The cytokine interleukin-26 as a biomarker in pediatric asthma. *Respiratory Research* 2016; 17: 32
4. Che KF, Tufvesson E, Tengvall S, Lappi-Blanco E, Kaarteenaho R, Levänen B, Ekberg M, Brauner A, Wheelock ÅM, Bjermer L, Sköld CM, Lindén A. The neutrophil-mobilizing cytokine interleukin-26 in the airways of long-term tobacco smokers. *Clinical Science* 2018; 132(9): 959-983
5. Tufvesson E, Jogdand P, Che KF, Levänen B, Erjefält J, Bjermer L, Lindén A. Enhanced local production of interleukin-26 in uncontrolled compared with controlled adult asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2019; 144(4): 1134-1136

Translationella forskningslinjer för att utröna bakomliggande mekanismer för kronisk bronkit och kroniskt obstruktiv lungsjukdom, KOL

Vid enheten för Integrativ Toxikologi, Institutet för Miljömedicin, Karolinska Institutet och dess lunggrupp bedrivs forskning för att kartlägga bakomliggande mekanismer vid utveckling av kronisk bronkit och kroniskt obstruktiv lungsjukdom, KOL. Genom bättre förståelse av mekanismerna vill vi lägga grunden för effektiva framtida behandlingar. Vår forskning bidrar med ny kunskap om hur miljöfaktorer som luftföroreningar, biomassrök, djurhållning och rökning orsakar dessa sjukdomar. Ett högaktuellt område för oss är e-cigaretter – där behovet av forskning om hälsorisker är mycket stort.

Biomassrök

Exponering för biomassrök (BMR), dvs den rök som bildas vid förbränning av biomassa såsom ved, kol eller kodynga är en global riskfaktor för utveckling av KOL av samma storleksordning som tobaksrökning. Eldning med biomassa är förknippad med fattigdom och kvinnoarbete. Daglig matlagning (4–6 timmar) i dåligt ventilerade bostäder samvarierar starkt med KOL bland icke-rökande kvinnor i Asien och Afrika. Mekanismerna för BMR-inducerad KOL är inte kartlagda.

Enheten driver ett projekt där samband mellan exponering för BMR, specifika utfall och kliniska fenotyper bland kvinnor i södra Indien (Mysuru) undersöks i samarbete med professor PA Mahesh vid JSS Medical College. Identifiering av tidiga biomarkörer ökar förståelsen för molekylära mekanismer. Inflammation, oxidativ stress och balans mellan cytokiner och kemokiner i blod och inducerat sputum relateras till lungfysiologiska parametrar.

Den tvärsnittsbaserade fältstudien inkluderar exponeringsmätningar, frågeformulär, lungfunktion, utandad kolmonoxid och kväveoxid (FeNO) samt syremättnad i blod bland BMR-exponerade och oexponerade icke-rökande kvinnor. I en subgrupp sker en fördjupad analys av



Figur 1: Indisk kvinna som lagar mat över öppen eld. På armen har hon provtagare för senare analys av exponeringsnivåer (1, 2).

insamlade blod- och upphostningsprover. BMR-exponering av luftvägsslemhinna beskriver molekylära mekanismer på cellnivå (se nedan).

Studierna kan förhoppningsvis leda till värdefulla strategier för screening, prevention och identifiering av åtgärder för att stoppa denna fattigdomsdrivna sjukdomsutveckling.

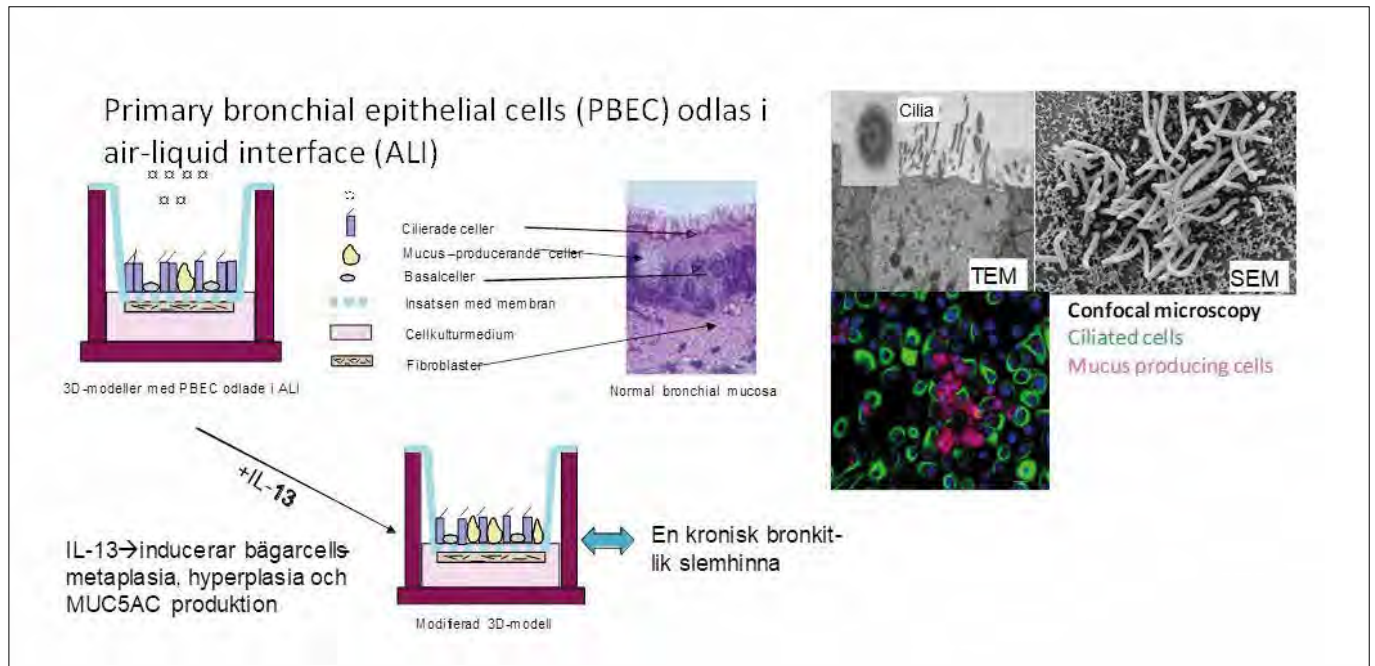
E-cigarett

Sedan millennieskiftet har marknaden för e-cigarett ökat kraftigt och idag finns det hundratals modeller och fler än sju tusen smaktillsatser. E-cigarett-rök innehåller skadliga ämnen, som nikotin, aldehyder, diacetyl och metaller. Kunskap saknas gällande förekomst av E-cigarett-användning i Sverige hos unga personer liksom kunskapen om dess hälsoeffekter. Rökning av E-cigarett misstänks kunna utgöra en inkörsport till nikotinberoende för personer som inte är rökare.

Det övergripande målet med detta pågående tvärvetenskapliga projekt är att kartlägga E-cigarettanvändningen hos yngre personer i en etablerad kohort och att studera dess hälsoeffekter generellt och i luftvägarna. Vidare studeras effekter av upprepade exponering (3 olika aromer) med och utan nikotin med hjälp av avancerade lungmodeller med celler från humana luftvägar. Slutligen analyseras innehållet i röken avseende sammansättning och hur detta varierar mellan olika produkter.

Enhetens E-cigarett-studier består av 4 delprojekt

1. E-cigarettanvändning bland 24-åringar kartläggs i en väletablerad kohort (BAMSE, doc Anna Bergström). Prevalens av bruk av olika nikotinprodukter inklusive E-cigarettbruk i relation till lungfunktionsmätningar och systemiska markörer undersöks.



Figur 2: Schematisk bild över normal och kronisk bronkit-lik lungmukosamodell (IL-13-stimulerad). Olika celltyper som cilierade och mucus-producerande celler identifierade med transmissionselektronmikroskopi (TEM), svepelektronmikroskopi (SEM) och konfokalmikroskopi (3,4,5).

2. I en pågående kohortstudie jämförs lungfunktion och inflammatoriska markörer i blod, sputum, saliv och utandningsluft (FeNO och PExA i samarbete med Prof A-C Olin, Göteborg) hos icke-brukare, E-cigarettbrukare och rökare av traditionella cigaretter.
3. I avancerade lungmodeller (se nedan) jämförs inflammatoriskt svar efter upprepad exponering för E-cigarett från olika produkter (3 aromer +/- nikotin).
4. Detaljerade analyser av E-cigarett-rökens sammansättning och partikelstorlek utförs.

Lungmodeller med primära lungepitelceller

Vi har de senaste åren utvecklat avancerade modeller bestående av primära humana lungepitelceller. Genom att odla cellerna på en semi-permeabel yta, kan de exponeras för luft från ovansidan och får kontakt med näringslösning från undersidan, vilket efterliknar förhållandena i luftvägarna. Genom detta odlingsförfarande utvecklas cilieförsedda celler, sekretbildande bägarceller, basalceller och klubbceller som alla finns i human luftvägsslemhinna. Genom att stimulera modellerna med IL-13 ökas antalet bägarceller vilket efterliknar situationen vid kronisk bronkit. Vidare adderas immunkompetenta celler (makrofager) till epitelcellsytan.

Vid partikelexponering använder vi oss av PreciseInhale™ som genererar en aerosol samt exponeringsmodulen Xpose-ALI som deponerar partiklarna jämnt över cellytan. Exponeringen för gaser sker i en glaskammare, där exponeringshalter registreras fortlöpande. Vår lungmodell är unik genom att den kombinerar användning av primära humana celler och högkvalitativa exponeringsmetoder för aerosoler (partiklar) och gaser. Modellen liknar exponering av luftvägsslemhinnan hos människa *in vivo*. Dessa modeller används som komplement till pågående kliniska studier beskrivna ovan och möjliggör studium av mekanismer i detalj.

Lungforskningsgruppen inom Integrativ toxicologi, Institutet för miljömedicin, Karolinska institutet

LENA PALMBERG

(Lena.Palmberg@ki.se), professor och enhetschef, PI för E-cigarettprojektet

Koustav Ganguly

(koustav.ganguly@ki.se), forskare, PI för biomassprojektet

Swapna Upadhyay

(swapna.upadhyay@ki.se), fo ass

Mizanur Rahman

(mizanur.rahman@ki.se), post doc

Yanshu Li

(yanshu.li@ki.se), post doc

Kjell Larsson

(kjell.larsson@ki.se), professor emeritus

Peter Moldeus

(peter.moldeus@ki.se), professor emeritus

Gunnar Johansson

(Gunnar.Johansson@ki.se), senior professor

Lena Ernstgård

(Lena.Ernstgard@ki.se), docent

Bengt Sjögren

(bengt.sjogren@ki.se), leg läk, forskare

Referenser

1. Vishweswaraiah S, Thimraj TA, George L, Krishnarao CS, Lokesh KS, Siddaiah JB, Larsson K, Upadhyay S, Palmberg L, Anand MP, Ganguly K. Putative Systemic Biomarkers of Biomass Smoke-Induced Chronic Obstructive Pulmonary Disease among Women in a Rural South Indian Population. *Dis Markers*. 2018; 2018:4949175
2. https://medicine.yale.edu/profile/krystal_pollitt/?tab=research
3. Jie Ji, Anna Hedelin, Maria Malmlof, Vadim Kessler, Gulaim Seisenbaeva, Per Gerde, Lena Palmberg. Development of combining of human bronchial mucosa models with Xpose-ALI® for exposure of air pollution nanoparticles *PLoS One* 2017 12(1): e0170428.
4. Ji J#, Upadhyay S#, Xiong X, Malmlof M, Gerde P, Palmberg L #equally contributed. Multi-cellular Human Bronchial Models Exposed to Diesel Exhaust Particles Induce Inflammation, Oxidative Stress and Macrophage Polarization. *Part Fibre Toxicol*. 2018 May 2;15(1):19.
5. Ji J, Ganguly K, Mihai X, Sun J, Malmlof M, Gerde P, Upadhyay S, Palmberg L. Exposure of normal and chronic bronchitis-like mucosa models to aerosolized carbon nanoparticles: comparison of pro-inflammatory oxidative stress and tissue injury/repair responses. *Nanotoxicology*. 2019 Aug 29:1–18

Kronisk obstruktiv lungsjukdom hos aldrigrökare

Bakgrund

Forskningen bygger på det faktum att en stor del av KOL-patienterna, uppskattningsvis 20–25 %, aldrig har rökt. Prevalensen dagligrökare i Sverige är nu under 10 % och kommer sannolikt fortsätta att minska. Detta innebär att andelen KOL-patienter med annan genes än tobaksrökning kommer att öka i framtiden. Flera riskfaktorer har föreslagits som illustreras i Figur 1. Luftföroreningar, händelser under uppväxten, astma och luftvägsinfektioner är några som beskrivits. Studier på stora patientkohorter har visat att orsaken till luftvägsobstruktionen hos cirka hälften av alla vuxna KOL-patienter går att finna i händelser före 20-årsåldern. Konsekvensen av detta är att KOL inte kan betraktas som en sjukdom som enbart drabbar eller har sitt ursprung hos vuxna utan kan ha sin debut mycket tidigt, ibland redan innan partus.

Målsättning

Målsättningen med forskningslinjen är att studera förekomst, klinik, mekanismer och prognos hos patienter med kro-

nisk luftvägsobstruktion som aldrig rökt. Detta görs främst genom studier av två kohorter: "Studier av lungförändringar i vuxen ålder hos för tidigt födda barn" (LUNAPRE) och "Studier av kronisk luftvägsobstruktion hos aldrigrökare" (BRONCHO-SCAPIS).

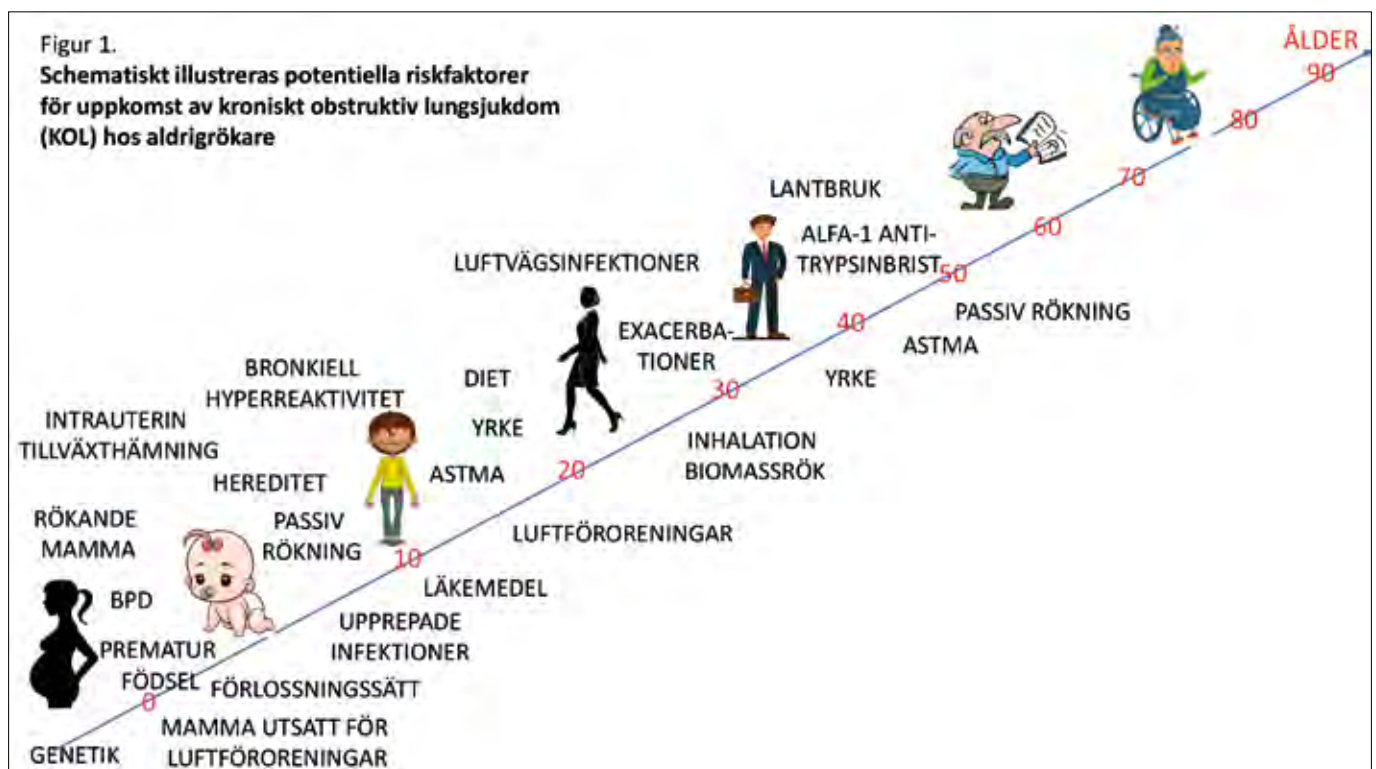
Studier av lungförändringar i vuxen ålder hos för tidigt födda barn

Eftersom lungan utvecklas och mognar under den senare delen av fosterlivet har barn som fötts prematurt lungor som inte är helt färdigutvecklade. En kohort av för tidigt födda (< vecka 32) barn både med och utan diagnosticerad bronkopulmonell dysplasi (BPD), har undersökts i 20-årsåldern. Vuxna med tidigare BPD hade en obstruktiv ventilationsinskränkning och 27 % av individerna hade FEV1/FVC < LLN, dvs spirometriska tecken på KOL som involverade de små luftvägarna. I motsats till förhållandet vid astma, fann vi inga tecken till eosinofil luftvägsinflammation. I bronkoalveolär sköljvätska (BAL) hade individer med tidigare BPD en högre andel cytotoxiska (CD8+)

T-celler och en lägre andel CD4+ celler, ett fynd som påminner om det som beskrivits vid KOL. Dessutom förelåg en ökad andel lymfocyter i bronksköljvätska ("bronchial wash") hos BPD-gruppen.

Studier av kronisk luftvägsobstruktion hos aldrigrökare (BRONCHO-SCAPIS)

Denna multicenterstudie involverar universitetssjukhusen i Umeå, Uppsala, Stockholm, Linköping, Göteborg och Lund och projektet erhöLL Hjärt-Lungfondens Stora Forskningsanslag 2016. Vi utnyttjar en nationell befolkningsstudie, Swedish CardioPulmonary bioImage Study (SCAPIS), som inkluderar individer i åldern 50–65 år ur ett svenskt befolkningsregister. Ur SCAPIS-kohorten inbjudes samtliga individer med KOL, definierat som postbronkodilatorisk FEV1/FVC kvot < 0,7 och som aldrig har rökt till ett screeningbesök vid något av de deltagande universitetssjukhusen. En noggrann karakterisering görs av bakomliggande orsaker inkluderande samsjuklighet, differentialräkning av vita blodkroppar, eventuell alfa-1 antitrypsinbrist,



exponering, medicinering och händelser i unga år. Spirometri med reversibilitetstest genomförs och blod- och urinprover säkras för biobank.

Ett antal individer genomgår också bronkoskopi med provtagning både från de stora och små luftvägarna. Fyra matchade kontrollgrupper rekryteras från SCAPIS: rökare med normal lungfunktion, rökare med KOL, exrökare med KOL samt aldrigrökare med normal lungfunktion.

De första patienterna i BRONCHO-SCAPIS inkluderades september 2017 och per oktober 2019 har drygt 600 individer screenats och ett 20 tal genomgått bronkoskopi. Att få med sig samtliga sex universitet och universitetssjukhus på denna resa har varit en spännande utmaning, inte minst därför att man har olika erfarenheter och policy på de olika studieorterna. Det har också inneburit att vi alla fått ett omfattande kontaktnät vilket underlättar framtida multicenterstudier.

Betydelse

Tidigare forskningsprojekt i gruppen har fokuserats på effekter av rökning och mekanismer bakom rökassocierad KOL (se referenser nedan). Föreliggande projekt innebär en koordinerad kraftsamling för att finna orsaker och mekanismer hos pa-

tienter med kronisk luftvägsobstruktion som aldrig rökt. Evidensbaserad terapi saknas helt för denna stora patientgrupp. De är exempelvis konsekvent exkluderade i alla kliniska prövningar på KOL-patienter. I LUNAPRE studeras en patientgrupp som i framtiden kommer att bli allt vanligare på våra vuxen lung- och allergimottagningar: de prematurfödda. BRONCHO-SCAPIS projektet ger en möjlighet att bygga upp en nationell infrastruktur, inkluderande våra universitetssjukhus, för att i framtiden göra koordinerade studier på angelägna patientgrupper, där bronkoskopi ingår som en undersökningsmetod.

Forskargrupp

I BRONCHO-SCAPIS Stockholmsdel ingår Helene Blomqvist (forskningssköterska), Benita Engvall (biomedicinsk analytiker) och Maria Ahlsén (PhD, nationell koordinator). Övriga ingående i forskargruppen är Margitha Dahl (forskningssköterska), Sussie Schedin, (forskningssköterska), Ioanna Kotortsi (ST-läkare, doktorand), Reza Karimi (PhD, överläkare), Petra Um-Bergström (bitr överläkare, doktorand), Melvin Pourbazargan (ST-läkare, doktorand), Jing Gao, PhD, post-doc.

MAGNUS SKÖLD

Professor i lungmedicin
Avdelningen för lungmedicin,
Institutionen för Medicin Solna
Karolinska institutet
Överläkare
PO Lung-Allergisjukdomar,
Tema Inflammation och infektion
Karolinska Universitetssjukhuset Solna

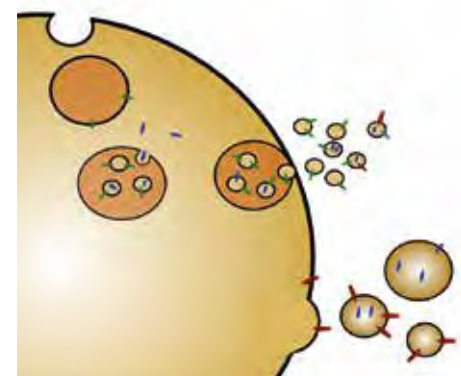
Referenser

- Sköld CM, Hed J, Eklund A. Smoking cessation rapidly reduces cell recovery in bronchoalveolar lavage fluid, while alveolar macrophage fluorescence remains high. *CHEST* 1992; 101: 989-995.
- Löfdahl M, Cederlund K, Nathell L, Eklund A, Sköld CM. Bronchoalveolar lavage in COPD: Fluid recovery correlates with the degree of emphysema. *Eur Respir J* 2005; 25(2): 275-281.
- Forsslund H, Mikko M, Karimi R, Grunewald J, Wheelock ÅM, Wahlström J, Sköld CM. Distribution of T cell subsets in bronchoalveolar lavage fluid of patients with mild to moderate COPD is dependent on current smoking status and not airway obstruction. *CHEST* 2014; 145(4):711-722.
- Karimi R, Forsslund H, Wheelock, ÅM, Mikko M, Tornling G, Nyrén S, Sköld, CM. Differences in regional air trapping in current smokers with normal spirometry. *Eur Respir J* 2017; 49(1). Also editorial in *Eur Respir J* 2017; 49: 1601791.
- Um-Bergström P, Hallberg J, Pourbazargan M, Berggren-Broström E, Ferrara G, Eriksson MJ, Nyrén S, Gao J, Lilja G, Lindén A, Wheelock ÅM, Melén E, Sköld CM. Pulmonary outcomes in adults with a history of Bronchopulmonary Dysplasia differ from patients with asthma. *Respir Res.* 2019 May 24;20(1):102. doi: 10.1186/s12931-019-1075-1.

Exosomers roll i lungsjukdomar

Exosomer är små membranbubblor som alla celler kan släppa ut. De kan skicka information mellan celler, och kan fungera immunstimulerande eller -inhiberande, beroende på vilken cell de kommer ifrån. Vid lungsjukdomar tror vi att de kan bidra till inflammation och patologi i lungan. Exosomer är bara ca 100 nm i diameter, och produceras från membranet i endosomer inuti cellen. De tar sig ur cellen och kommer ut i omgivningen när endosomen tömmer ut sitt innehåll (Fig. 1). I kontrast till detta bildas däremot mikrovasklar genom att knoppas av från cellmembranet (Fig. 1). Vi och andra har visat att dessa två olika extracellulära vesiklar har olika funktion, där ofta exosomerna mer effektivt aktiverar olika celler (1). Vår forskning koncentreras främst

till exosomers funktion i lungan. Exosomer är anrikade för HLA-antigen (MHC) klass I och II jämfört med cellens membran, samt co-stimulatoriska molekyler, och därför kan de stimulera olika immunceller som B- och T-celler, monocyter och NK celler. Exosomer producerade *in vitro* laddade med cancerantigen testas därför t.ex. i immunterapi mot cancer. Exosomer från stamceller lugnar däremot inflammation och testas som behandling bl.a i neurogenerativa och inflammatoriska sjukdomar. Vi har upptäckt att det finns exosomer i bronkoalveolär lavagevätska (BALF) (2), sputum (3) och bröstmjölk (4), och nu vet man att de finns i alla kroppsvätskor. Vi har visat att patienter med sarkoidos och astma har proinflammatoriska exosomer i lungan



Figur 1. (Övre del) Exosomer är 30-150 nm stora extracellulära vesiklar som produceras från endosomens membran inuti cellen för att sedan frisättas, medan (Nedre del) mikrovasklar är något större och knoppas av från cellens yta. De har därför olika komposition och funktion.

(5). Vi har även upptäckt leukotrienförmande enzymer i exosomer, och där har vi visat att dessa enzymer kan inducera pro-inflammatoriska cytokiner som IL-8 och interferon-gamma, så därför tror vi att de bidrar till inflammationen på detta sätt.

Vi studerar mekanismerna bakom hur exosomer bidrar till patogenesen i sarkoidos, astma och KOL. Om vi förstår vilka molekyler i exosomerna som bidrar med olika typer immunsvär, skulle vi kunna blockera molekyler på eller i exosomer, alternativt blockera exosomproduktion från vissa celler, för att minska inflammationen och därmed bota dessa sjukdomar. Vi hoppas dessutom kunna använda exosomer som både diagnostiska och prognostiska sjukdomsmarkörer. Exosomer kallas ibland "liquid biopsies", just för att de tar sig ut ur vävnaden och kan spridas i t.ex. blodet. Dessa små paket innehåller flera olika typer av information och innehåller

lipider, proteiner och nukleinsyror, inklusive mRNA och mikro-RNA. Genom att analysera flera molekyler på eller i samma exosom, hoppas vi kunna bestämma både cellursprung, funktion och vilken adress de har, därmed skulle man kunna uppnå hög känslighet och specificitet.

Vi samarbetar med flera lungforskare på KI/KS; Johan Grunewald, Anders Eklund, Susanna Kullberg, Anders Lindén, Magnus Sköld, Marianne van Hage, Anna Smed-Sörensen, Åsa Wheelock och Olof Rådmark. Dessutom har vi samarbeten med Philip Hansbro, Australien, samt Samir el Andaloussi, KI och Masood Kamali-Moghaddam på Uppsala Universitet för utveckling av molekylärbioologiska metoder för detektion och behandling.

SUSANNE GABRIELSSON

professor i immunologi
Institutionen för Medicin Solna,
Karolinska Universitetssjukhuset
och Karolinska Institutet.
Susanne.Gabrielsson@ki.se

Referenser

1. Wahlund, C.J.E., Güclüler, G., Hiltbrunner, S., Veerman, R.E., Näslund, T.I., and Gabrielson, S. 2017. Exosomes from antigen-pulsed dendritic cells induce stronger antigen-specific immune responses than microvesicles in vivo. *Scientific Reports* 7:17095.
2. Admyre, C., Grunewald, J., Thyberg, J., Gripenback, S., Tornling, G., Eklund, A., Scheynius, A., and Gabrielson, S. 2003. Exosomes with major histocompatibility complex class II and co-stimulatory molecules are present in human BAL fluid. *Eur Respir J* 22:578-583.
3. Sánchez-Vidaurre, S., Eldh, M., Larssen, P., Daham, K., Martinez-Bravo, M.-J., Dahlén, S.-E., Dahlén, B., van Hage, M., and Gabrielson, S. 2017. RNA-containing exosomes in induced sputum of asthmatic patients. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 140:1459-1461.e1452.
4. Admyre, C., Johansson, S.M., Qazi, K.R., Filen, J.J., Lahesmaa, R., Norman, M., Neve, E.P., Scheynius, A., and Gabrielson, S. 2007. Exosomes with immune modulatory features are present in human breast milk. *J Immunol* 179:1969-1978.
5. Qazi, K.R., Torregrosa Paredes, P., Dahlberg, B., Grunewald, J., Eklund, A., and Gabrielson, S. 2010. Proinflammatory exosomes in bronchoalveolar lavage fluid of patients with sarcoidosis. *Thorax* 65:1016-1024.

Molekylär sub-gruppering av obstruktiv lungsjukdom

Kroniskt obstruktiv lungsjukdom (KOL) är en inflammatorisk lungsjukdom som utgör ett växande hälsoproblem världen över, och dödligheten beräknas uppgå till en miljard människor år 2020. Rökning är den mest kända- och välstuderade riskfaktorn för KOL, men även icke-rökare drabbas av KOL, med rapporter om att upp emot 20% av KOL-patienterna aldrig har rökt. I realiteten utgör KOL en så kallad paraplydiagnos, som egentligen omfattas av ett stort spektrum av olika undergrupper. De kliniska data som används idag för att diagnostisera och gradera svårighetsgraden av KOL utgör relativt trubbiga verktyg, och ger väldigt lite information om de molekylära mekanismer som ligger till grund för sjukdomen hos respektive individ. Molekylära definitioner av specifika patientpopulationer efterfrågas

därför starkt, vilket skulle kunna leda till mer relevant diagnos och behandling av KOL-patienter.

Under det senaste årtiondet har vårt forskningsteam därför fokuserat på att utveckla ett tvärvetenskapligt ramverk för molekylär karakterisering av obstruktiv lungsjukdom, där vi mäter förändringar av förekomsten av en rad olika inflammationsreglerande ämnen i lungan. Genom att integrera mätningar från flera molekylära nivåer (såsom mRNA, mikroRNA, proteiner, metaboliter och lipidmediatorer) från flertalet anatomiska platser relevanta för sjukdomen både i lungan (såsom luftvägens slemhinna och residenta immunceller) samt perifert från blod och urin skapar vi en detaljerad bild av vad som försiggår i lungorna hos olika grupper av KOL-patienter. Dessa omfattande

screening ger överblick av helheten av de inflammatoriska processer som pågår parallellt i lungan, ett s.k. system-medicinskt perspektiv.

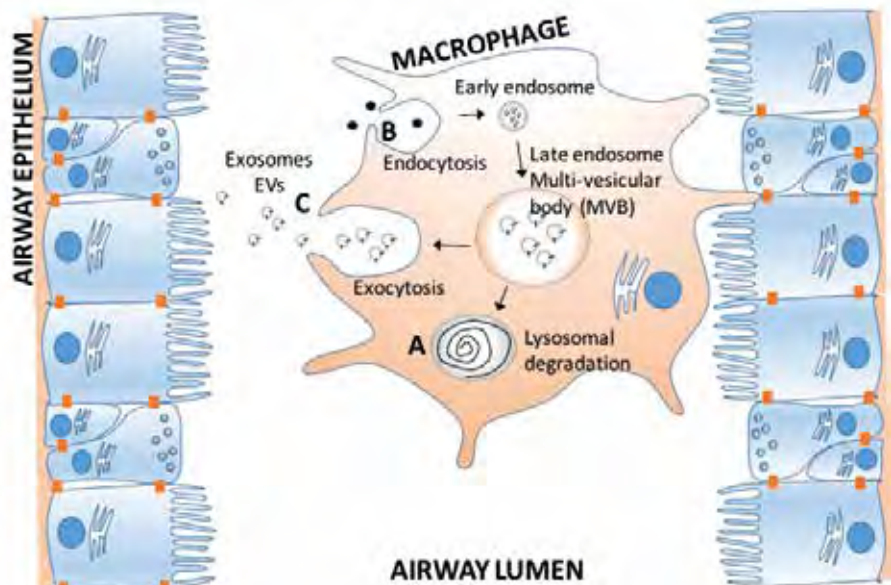
Utöver det helhetsperspektiv som vårt arbetssätt ger har det också visat sig bidra till en oerhörd förbättring rent statistiskt, med möjlighet att identifiera molekylärt unika undergrupper av KOL i så lite som en handfull individer (1). Detta är av stor vikt i komplexa sjukdomar såsom KOL, där den heterogena sjukdomsgruppen hämmar vår förmåga att diagnosticera relevanta patientgrupper enbart baserat på mer traditionella endimensionella molekylära undersökningsmetoder. System-medicinen medför därmed en revolutionerande möjlighet både till att undergruppera patienter i mer relevanta grupper, och till att få inblick i hur olika biologiska delsystem bidrar till att orsaka

sjukdom. Detta är ett nödvändigt första steg för att kunna utveckla metoder för säkrare diagnos av KOL med olika bakgrund och sjukdomsförlopp (såsom KOL associerad med förtidig födsel, rökning, miljöexponering m.fl.), och associerade behandlingsformer.

I Karolinska COSMIC studien (www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02627872), som representerar vår första ansträngning med detta arbetsflöde, har vi kunnat identifiera tydliga molekylära könsskillnader i rökinducerad KOL (Figur 1). I denna kohort observerade vi från lunga relaterade till fagocytos och lysosomala mekanismer (2-4) hos kvinnor med KOL, medan män med KOL i samma kohort f.f.a. påvisar förändringar i miRNA-kompositionen av extracellulära vesiklar. I våra pågående kohorter studerar vi nu de molekylära mekanismerna i undergrupper av KOL-patienter som aldrig har rök i två kohorter. I BRONCHO-SCAPIS (www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03049202) fokuserar vi på aldrig-rökare med KOL från den nationella SCAPIS studien, och i LUNAPRE-kohorten (www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02923648) utreder vi den molekylära bakgrunden till KOL relaterat till förtidig födsel hos unga vuxna.

ÅSA M. WHEELOCK

Docent i experimentell lungmedicin
Avdelningen för lungmedicin,
Inst för Medicin Solna, Karolinska Institutet
asa.wheelock@ki.se



Figur 1: Våra sammantagna fynd från våra tidigare studier av rök-inducerad KOL tyder på tydliga molekylära känsskillnader där de lysosomala (A) och fagocytotiska (B) mekanismerna är nedreglerade hos kvinnor med KOL (2-4), medan innehållet av miRNA i extracellulära vesiklar (C) är förändrat hos män.

Referenser

- Li C, Wheelock CE, Skold CM, Wheelock AM. Integration of multi-omics datasets enables classification of COPD in small female cohorts. *Eur Respir J* 2018; In press.
- Kohler M, Sandberg A, Kjellqvist S, Thomas A, Karimi R, Nyren S, Eklund A, Thevis M, Skold CM, Wheelock AM. Gender differences in the bronchoalveolar lavage cell proteome of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *The Journal of allergy and clinical immunology* 2013; 131: 743-751 e749.
- Yang M, Kohler M, Heyder T, Forsslund H, Garberg HK, Karimi R, Grunewald J, Berven FS, Nyren S, Skold CM, Wheelock AM. Proteomic profiling of lung immune cells reveals dysregulation of phagocytotic pathways in female-dominated molecular COPD phenotype. *Respiratory Research* 2018; In press.
- Yang M, Kohler M, Heyder T, Forsslund H, Garberg HK, Karimi R, Grunewald J, Berven FS, Skold CM, Wheelock AM. Long-term smoking alters abundance of over half of the proteome in bronchoalveolar lavage cell in smokers with normal spirometry, with effects on molecular pathways associated with COPD. *Respiratory Research* 2018; In press.

Lunghälsa genom hela livet

S om barnallergolog träffar jag barn med svår allergi, astma eller återkommande lungproblem. Min forskning syftar till att förstå varför vissa barn drabbas av dessa sjukdomar och att identifiera vilka faktorer som avgör hur deras hälsa utvecklas på lång sikt; om problemen leder vidare till en kronisk sjukdom, som KOL, i vuxen ålder. Astma och allergi är folksjukdomar som drabbar en stor andel av både barn och vuxna – ca 10% har astma och 25% någon form av allergi - och som i svåra fall påverkar livskvaliteten avsevärt. Vi vet idag att både ärftliga och miljörelaterade fakto-

rer påverkar risken att insjukna, men vi vet egentligen ganska lite om hur vi kan förebygga att man överhuvudtaget insjuknar eller hur vi kan förhindra sjukdomsprogress eller komplikationer. Men utifrån dagens kunskapsläge kan vi ändå ge några råd till astma-/lungpatienter (från referens 5):

- Undvik rökning
- Hälsosam kost och livsstil rekommenderas
- Eftersträva god astmakontroll (vid astma)
- Gör regelbundna lungfunktionsmätningar

Mycket av forskningen i min grupp utgår från BAMSE-studien, som är en födelsekohort i Stockholm på 4000 individer. Tillsammans med BAMSE-teamet på Centrum för Arbets- och Miljömedicin (Region Stockholm) och de två andra projektledarna doc. Inger Kull (KI SÖS) och doc. Anna Bergström (IMM, KI) har vi precis avslutat 24-årsuppföljningen av studien. Vi är fantastiskt nöjda med att nå hela 75% svarsfrekvens och nästan 2300 deltagare på den kliniska undersökningen med avancerad lungfunktionsmätning och provtagning som genomfördes på Forskningscentrum Södersjukhuset. Nu

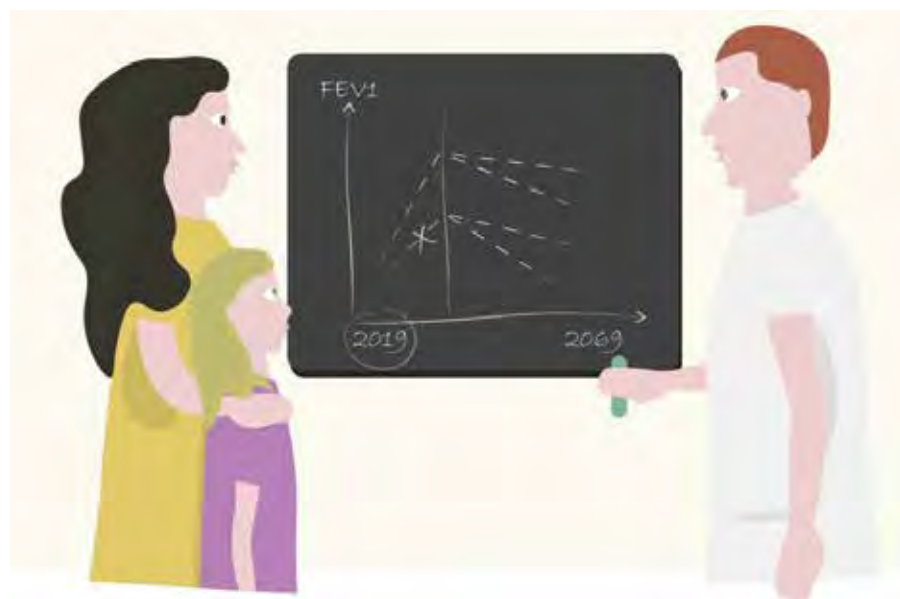
vidtar genomgång av alla data, färdigställande av databaserna och statistiska analyser utifrån våra frågeställningar:

- Vilka individer har kvar sin astma eller allergi i vuxen ålder?
- Hur påverkar livsstil och miljö under uppväxten risken för kronisk sjukdom?
- Arv eller miljö – vilka faktorer påverkar lungornas utveckling?
- Hur vanligt är det med förstadier till KOL i 20-årsåldern?
- Kan man identifiera biomarkörer som kan ge vägledning för skraddarsydd behandling (s.k. personalized medicine)?

BAMSE-projektet har hittills bidragit till mycket ny kunskap, bland annat om hur stor betydelse faktorer under det första levnadsåret har för utveckling av lungfunktionen. Det gäller inte minst exponering för luftföroreningar, tobaksrök och för tidig födsel. Stort fokus ligger idag på att identifiera riskfaktorer för låg lungfunktion hos barn och unga vuxna, eftersom man vet att detta klart ökar risken att utveckla KOL på sikt (Figur 1). Ett annat viktigt bidrag från BAMSE är att vi visat på värdet av molekylärdiagnostik vid allergi, vilket gör att vi idag kan särskilja 'äkta' jordnötsallergi från korsallergi med björkpollenallergi." Vår forskning i BAMSE spänner från genetiska/epigenetiska faktorer och molekylära mekanismer till miljöfaktorer och livsstil. Samarbete med ett stort antal kollegor nationellt och internationellt har etablerats.



Förutom BAMSE-studien så är forskargruppen engagerad i flera andra projekt som rör kronisk lungsjukdom och allergirelaterade tillstånd. I *LUNAPRE* samarbetar vi med prof. Magnus Sköld och andra kring långtidsuppföljning av individer som är födda prematura; i *PERMEABLE* syftar analyserna till att identifiera biomarkörer som kan ge vägledning vid behandling med biologiska läkemedel; i *FASTX* samarbetar vi med doc. Caroline Nilsson kring mekanismer vid svår jordnötsallergi och i det nystartade EU-projektet *EXPANSE* kommer vi att kartlägga miljöfaktorer och biomarkörer (metabolics) med koppling till KOL, diabetes, stroke och hjärt-kärlsjukdom. Förhoppningsvis kommer vi också att kunna påbörja interventionsstudier under 2020 för att kunna förhindra att barn utvecklar astma och allergi. "Lunghälsa genom hela livet" börjar i barndomen!



Figur 1. Samband mellan lungfunktion uttryckt som FEV1 under barndomen och senare i vuxen ålder. Även om dessa samband ses på populationsnivå så är individuella variationer stora och ytterligare forskning behövs för att kunna göra korrekta bedömningar för varje patient. Figuren är tagen från Melén et al, *Pediatr Allergy Immunol.* 2019;30:589–597 och publicerad med tillstånd av John Wiley and Sons Ltd.

Forskargrupp

Natalia Ballardini, MD, PhD, forskare
 Olena Gruziova, MD, PhD, forskare
 Jenny Hallberg, PhD, forskare
 Simon Kebede Merid, Bioinformatiker, doktorand
 Maura Kere, läkarstudent
 Susanna Klevebro, MD, PhD, postdoc
 Björn Lundberg, MD, doktorand
 Petra Um-Bergström, MD, doktorand
 Gang Wang, MD, gästdoktorand

Finansiärer

ALF medicin, European Research Council, ERC (EU), Hjärt-Lungfonden, VR m.fl.

ERIK MELÉN

Barnallergolog och överläkare,
 Sachsska barnsjukhuset, Södersjukhuset
 Professor i pediatrik,
 Institutionen för Klinisk forskning och utbildning,
 Södersjukhuset, Karolinska Institutet, Stockholm
<https://staff.ki.se/people/erimel>
<https://ki.se/imm/bamse-projektet>

Referenser

1. Gref A, Merid SK, Gruziova O, Ballereau S, Becker A, Bellander T, Bergström A, // Kere J, Koppelman GH, Postma D, Carlsten C, Pershagen G, Melén E. Genome-Wide Interaction Analysis of Air Pollution Exposure and Childhood Asthma with Functional Follow-up. *Am J Respir Crit Care Med* 2017;195:10 1373-1383.
2. Um-Bergström P, Hallberg J, Thunqvist P, Berggren-Broström E, Anderson M, Adenfelt G, Lilja G, Ferrara G, Sköld CM, Melén E. Lung function development after preterm birth in relation to severity of Bronchopulmonary dysplasia. *BMC Pulm Med.* 2017 Jun 30;17(1):97.
3. Xu CJ, Söderhäll C, Bustamante M, Baiz N, Gruieva G, Gehring U, // I, Sunyer J, Melén E* and Koppelman GH*. Epigenome-wide meta-analysis identifies reduced DNA methylation reflecting eosinophil and T cell gene expression signatures in childhood asthma. *The Lancet Respiratory Medicine* 2018;6:379-388.
4. Hallberg J, Ballardini N, Almqvist C, Westman M, van Hage M, Lilja G, Bergström A, Kull I, Melén E. Impact of IgE sensitization and rhinitis on inflammatory biomarkers and lung function in adolescents with and without asthma. *Pediatr Allergy Immunol.* 2019 Feb;30(1):74-80.
5. Melén E, Guerra S, Hallberg J, Jarvis D, Stanojevic S. Linking COPD epidemiology with pediatric asthma care: Implications for the patient and the physician. *Pediatr Allergy Immunol.* 2019 Sep;30(6):589-597.

Bronkiektasiforskning

Bronkiektasier är en kronisk andningssjukdom som karakteriseras av permanenta bronkiala dilatationer och återkommande symtom som hosta, slem och återkommande luftvägsinfektioner. Vanliga symtom inkluderar också trötthet, hemoptys, andfäddhet och bröstsmärta som leder till försämrad livskvalitet.

När det gäller patofysiologi, leder bronkiell dilatation till ökad slem- och sekretstagnation, som ökar risken för långvarig infektion, ofta med *Haemophilus influenzae* och *Pseudomonas Aeruginosa*, följt av *Staphylococcus Aureus*. Inflammationen leder sedan till ytterligare luftvägsskador. Progressiv luftvägsskada kan sedan leda till nedsatt lungfunktion, försämrade symtom och eventuell till respiratorisk insufficiens och död. Åldersjusterad mortalitet för patienter med bronkiektasier är mer än dubbel så stor som för den allmänna befolkningen, vilket gör bronkiektasier till en börda för samhället.

Bronkiektasier, har beskrivits sedan 1819, och har framställts som en försummad sjukdom efter upptäckningen av antibiotika. Dock, utbredd användning av datortomografi har visat att sjukdomen finns och även visat på ökad prevalens senaste åren. Exakt prevalens är oklart men siffror 67–362/100 000 rapporteras i Europa [1].

Europeiska Respiratoriska Sällskapet (ERS) anser att problemet finns och har skapat ett Europeiskt Register: "European Multicentre Bronchiectasis Audit and Research Collaboration – EMBARC" för att kartlägga dessa patienter. Det har hittills registrerats över 12 000 europeiska vuxna patienter.

Baserat på rapporterad europeisk prevalens skulle 670–3620 personer i Stockholm och 6700–36 200 i Sverige ha bronkiektasier. På Lung- och allergimottagning på Karolinska Universitetssjukhuset hade vi fler 600 besök av patienter med bronkiektasier under 2017. Då vaknade vårt intresse och vi ansökte och blev del av EMBARC (i nuläget den första svensk sjukhuset) med undertecknad som PI.

En forskningsgrupp bildades med stöd från kliniken (tidigare chef Olov Andersson, nuvarande chef Cecilia Bredin och Prof. Barbro Dahlén), KI och ekonomiskt stöd från hjärtlungfonden. Bronkiektasier Intresserade Grupp (BIG) är Apostolos Bossios (PI), ssk Ingrid Gerhardson, Bitr. Överläkare Pia Ghosh och ST-Läkare Sara Barsch Cornacchini. BIC gruppen tillhör och är en del av Lung-allergiforskning i Huddinge under Prof. Barbro Dahlén.

EMBARC studien

Detta är basen som ger oss flera möjligheter till forskning. Först gavs möjligheter att använda det enda sjukdomspecifika livskvalitetsformulär som finns för bronkiektasier QoL-B (Quality of Life-Bronkiektasier), framtaget för denna patientgrupp och som har översatts och validerats till svenska. Validering gjordes som ett magisterarbete av sjuksköterskan Ingrid Gerhardson med stöd av medarbetare på Lung- och allergiforskningen på Karolinska i Huddinge och Solna samt IMM, KI. Fyrtionio EMBARC patienter deltog i studien och fyllde i formuläret QoL-B samt SGRQ (ST Georges Respiratory Questionnaire). Efter 10–14 dagar fyllde deltagarna åter i QoL-B. Analys visade att den svenska översättningen uppfyller vetenskapliga kriterier och är validerat. Patientens upplevda livskvalitet kan nu mätas på ett strukturerat sätt och ger möjlighet att utvärdera behandlingar och egenvård som andningsgymnastik och slemmobilisering. Publikation är på gång som ska ge tillgång till QoL-B för alla kollegor i Sverige.

Sedan har data från de egna patienterna har använts för ett preliminärt arbete att studera systemisk inflammation (IgG3 roll) hos patienter med aktiv bronkiektasier. Detta arbete har presenterats på senaste Europeiska Lungkongressen (ERS 2019) i Madrid av kollegan Pia Ghosh och detta arbete är under utveckling. Det skall bland annat vara basen för hennes doktorandregistrering.

The BeLIVE studie: Bronchiectasis Exacerbations i LIVE

En unik sjuksköteskedriven mottagning för patienter med lunginfektioner drivs på vår mottagning (Lungmottagningens enhet för Intra Venös Egenvård, LIVE). Dit remitteras patienter med lunginfektioner som behöver behandling med intravenösa antibiotika som de sedan sköter själva i hemmet med stöd av sjuksköterskorna på mottagningen. En stor del av patienterna har bronkiektasier. Behandlingen pågår i 14 dagar och patienter följas i strukturerat sätt före och efter. Denna data är basen för en ny studie; BeLIVE-studien. Inom det har ST-läkare Sara Barch Cornacchini gjort sitt ST-projekt. Flera studier planeras.

The LuMABro studien (Lung Macrophages in Bronchiectasis)

Målet med denna studie är att studera underliggande immunopatologiska mekanismer hos patienter med bronkiektasier med fokus på makrofagernas roll. Vid bronkoskopi tas BAL makrofager från patienter med bronkiektasier och studerar deras fenotyp och funktion i samarbete med Dr Tim Willinger i Centrum för Infektions Medicin, KI, och ekonomiskt stöd från Centrum för Innovativ Medicin. Etikansökan för denna studie är godkänd och patientrekrytering börja.

APOSTOLOS BOSSIOS

MD, PhD, Docent, Bitr. Överläkare
Patient Område Lung- och Allergisjukdomar,
Tema Inflammation och Infektion,
Karolinska Universitetssjukhuset,
och Institutionen för medicin,
Huddinge, Karolinska Institutet, Stockholm

Referenser

1. Chalmers, J.D., et al., Bronchiectasis. Nat Rev Dis Primers, 2018. 4(1): p. 45.

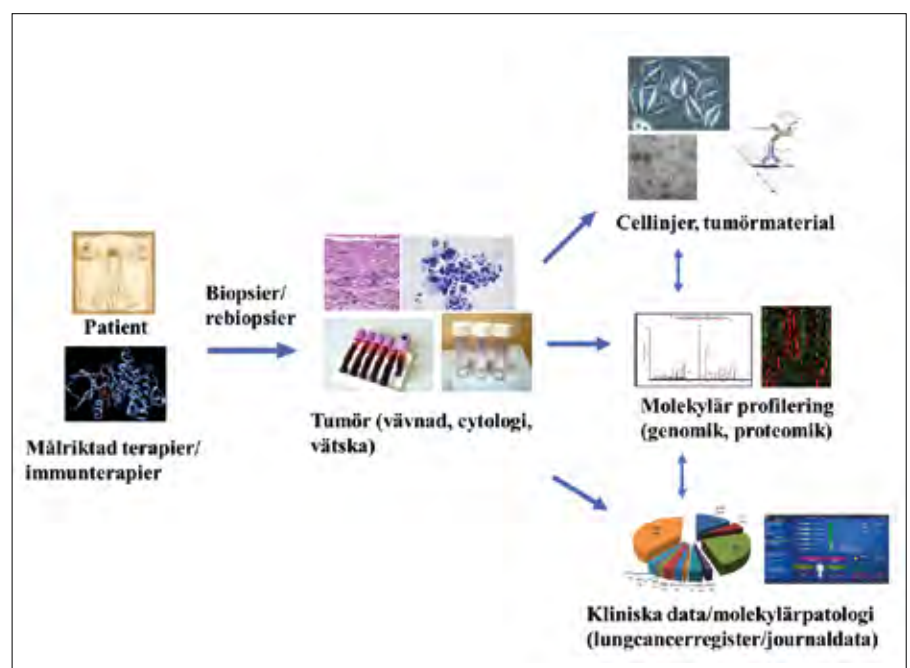
Studier av resistensutveckling vid behandling av lungcancer

Lungcancer utgör den mest dödliga cancersjukdomen i Sverige och världen och behovet av nya terapier är stort. I Sverige diagnostiseras cirka 4000 personer varje år med lungcancer och närmare 3700 personer avlider årligen i sjukdomen [1]. Det har skett en snabb utveckling av precisionscancermedicin, inte minst för lungcancer, där nya målriktade behandlingar mot bl.a. EGFR och ALK samt immunterapi, fr.a. "checkpoint-hämmare" av PD-1/PD-L1, blivit en del av den kliniska vardagen och resulterat i förlängd överlevnad och förbättrad livskvalitet för många patienter. Trots dessa framgångar så är resistensutveckling mot dessa terapier ett stort problem i kliniken och gör att sjukdomen förr eller senare progredierar. Vår forskargrupp studerar resistensmekanismer mot både målriktade behandlingar och immunterapi hos lungcancerpatienter med ett brett angreppssätt genom analyser av kliniska data i lungcancerregistret och journaler i kombination med molekylära analyser av tumörmaterial. Även studier av olika tumörbiologiska mekanismer sker i cellinjer etablerade från lungcancerpatienter och odlade i laboratoriet (Figur 1). På så sätt sker en omfattande molekylär profilering av både material direkt från tumörerna liksom från olika vätskor såsom blod, pleuravätska och cerebrospinalvätska, så kallade "liquid biopsies". I dessa molekylära analyser kartläggs förekomst av resistensmutationer i själva målgenen för behandlingen (t.ex. EGFR eller ALK) liksom aktivering av andra signalvägar (t.ex. MET och HER2), så kallade "bypass" signalvägar, som kan förklara resistensutvecklingen.

Ett särskilt fokus finns på mikroRNAs (miRNAs) som är små molekyler med förmåga att reglera uttrycket av ett stort antal gener inklusive cancerrelaterade gener varför de kan vara särskilt effektiva att utnyttja för cancerterapi [2]. Vi använder miRNA som molekylära verktyg för att visa hur resistens mot målriktade behandlingar uppkommer i lungcancer och de miRNA som är mest kopplade till

terapieresistens undersöks vidare i terapeutiskt syfte med hjälp av syntetiska miRNA-hämmare, så kallade "locked nucleic acids" (LNAs). De miRNA-inhibitorer som kan blockera tillväxt i cancerceller i laboratoriet ämnar vi utveckla vidare mot kliniska prövningar. Vi har redan visat på principen för denna behandlingsmetod genom att identifiera flera onkogene miRNA som ger resistens mot målriktade behandlingar med tyrosinkinasinhibitorer (TKIs), inklusive mot EGFR och ALK. Vi har genom detta lyckats övervinna läkemedelsresistens med olika miRNA-baserade behandlingar i modellsystem av lungcancer i laboratoriet. Vi har bland annat använt LNAs för att återställa känsligheten mot TKIs i lungcancerceller mätt genom cellöverlevnad. Vid resistens mot ALK-hämmare kunde hämning av ett specifikt miRNA återställa känsligheten för ALK-hämmare i ett flertal resistent cellinjer där behandling med enbart TKIs inte haft någon hämmande effekt på cellöverlevnad[3].

Ett särskilt forskningsfokus ägnas hjärnmetastaser som är vanligt förekommande vid lungcancer och återfinns hos upp till 40–50% av patienter med avancerad icke-småcellig lungcancer. Hjärnmetastaser är förknippat med en dålig prognos där blod-hjärnbarriären är ett fysiologiskt hinder för leverans av systemisk behandling till det centrala nervsystemet vilket kan bidra till behandlingsresistens. Nuvarande behandlingsregimer för hjärnmetastaser, inklusive strålbehandling, kirurgi och kemoterapi, har begränsad effektivitet och ofta betydande biverkningar. Behandlingen av patienter med hjärnmetastaserad lungcancer är därför ett stort kliniskt problem och det finns ett behov av nya behandlingar av hjärnmetastaser, liksom nya metoder för diagnostik av hjärnmetastaser. I vårt forskningsprojekt identifierar vi riskfaktorer för utveckling av hjärnmetastaser och även genetiska förändringar som kan utgöra mål för nya behandlingar. Vi bedriver bland annat en studie av en EGFR-TKI, osimertinib, där



Figur 1. Arbetsflöde för studier av biomarkörer för målriktad terapi/immunterapi i lungcancer. Tumörmaterial från patienter genomgår omfattande molekylär profilering och etablerande av experimentella tumörmodeller. Kliniska patientdata korreleras med molekylära analyser för att identifiera biomarkörer för behandlingsresistens.

vi för första gången någonsin i lungcancerpatienter med hjärnmetaser undersöker upptag och effekt av radioaktivt inmärkt läkemedel i hjärnan genom positron emissionstomografi (PET)[4]. I ett annat projekt har vi jämfört de molekylära profilerna mellan primärtumörer och hjärnmetastaser och kunnat identifiera en genprofil som kan förklara den generellt sämre effekten av immunterapi vid behandling av hjärnmetastaser jämfört med extrakraniell sjukdom [5], denna genprofil ämnar vi använda i försöken att utveckla effektivare diagnostik och behandling av hjärnmetastaser.

Vår forskargrupp bedriver omfattande studier inom lungcancer som spänner från prekliniska studier i laboratoriet till kliniska studier med patienter och med translationellt fokus, där molekylära studier appliceras på viktiga kliniska frågeställningar med patienterna i centrum. Genom detta hoppas vi kunna förbättra diagnostik och behandling av lungcancerpatienter och bidra till ökad överlevnad och livskvalitet.

SIMON EKMAN

Överläkare, Docent,
Tema Cancer, Karolinska Universitetssjukhuset/
Institutionen för Onkologi-Patologi,
Karolinska Institutet, Stockholm
simon.ekman@ki.se

Referenser

1. Cancerfundsrapporten 2018.
2. Hydbring, P., *et al.*, Cell-Cycle-Targeting MicroRNAs as Therapeutic Tools against Refractory Cancers. *Cancer Cell*. 31(4): p. 576-590.e8.
3. Lai, Y., *et al.*, miR-100-5p confers resistance to ALK tyrosine kinase inhibitors Crizotinib and Lorlatinib in EML4-ALK positive NSCLC. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019. 511(2): p. 260-265.
4. Ekman, S., *et al.*, P2.14-33 An Open-Label PET-MRI Study to Determine Brain Exposure of Osimertinib in Patients with EGFR Mutant NSCLC and CNS Metastases. *Journal of Thoracic Oncology*, 2019. 14(10): p. S842.
5. Tsakonas, G., P. Hydbring, and S. Ekman, P2.01-38 Gene Expression Profiling of CNS Metastases in Non-Small Cell Lung Cancer – Matched Analyses with Primary Tumors. *Journal of Thoracic Oncology*, 2019. 14(10): p. S654.

Idiopatisk lungfibros (IPF) – registerbaserad forskning

Det finns stora kunskapsluckor vad gäller etiologi, epidemiologi mekanismer och kliniskt omhändertagande av patienter med idiopatisk lungfibros (IPF). Lungfibrosregistret etablerades 2014 för att främja vård- och kunskapsutveckling genom att samla data i en webb-baserad plattform. Patienter med IPF, som erhåller vård vid registeransluten lungmedicinsk enhet i Sverige och som lämnar ett skriftligt samtycke kan inkluderas (figur 1). Information som samlas i registret rör framförallt diagnostisering, lungfunktion, radiologisk progress, livskvalitet och behandling. Till registret hör en provsamlings med venöst blod i Stockholms Medicinska Biobank. Demografiskt stämmer de inkluderade patienterna väl överens med vad andra internationella studier visar (tabell 1).

Två registrerade doktorander vid Karolinska Institutet (Ida Belo och Dimitrios Kalafatis) studerar registerdata varav Belo genomgick halvtidskontroll 2019. Bland de projekt som pågår kan nämnas studier kring kliniskt omhändertagande, prognostiska faktorer och livskvalitet. I ett arbete beskrevs skillnader i patientdemografi, kliniskt omhändertagande och behandling mellan Finland och Sverige. I studien inkluderades 152 finska och 160 svenska IPF-patienter från respektive

lungfibrosregister mellan 2014 och 2016. Vi kunde visa att en större andel svenska IPF-patienter behandlades med antifibrotiska läkemedel jämfört med finska patienter (69.4% resp 29.6%, $p < 0.001$). Yngre patienter med sämre lungfunktion hade större sannolikhet att få behandling. I doktorandprojekten fokuseras också på vilka interventioner som är livskvalitetshöjande för IPF-patienterna och vilka fysiska variabler som bäst kan förutse prognos. Dessutom samlas data in för att studera långtidseffekter av antifibrotiska läkemedel. Som en del av det stora populationsbaserade Swedish CardioPulmonary bioImge Study (SCAPIS) projektet, som innefattar 30 000 individer, kommer vi även att evaluera förekomsten av interstitiella lungabnormaliteter, det vill säga lungförändringar som kan vara förstadiet till lungfibros.

Att skilja IPF från andra idiopatiska interstitiella pneumonier (IIP) kan vara diagnostiskt utmanande. Ofta kräver diagnosen en kombination av kliniskt- radiologiska och kemiska tester, och ibland även kirurgiska interventioner i fall där den kliniska bilden och anamnesen är tvetydig. Då sjukdomen drabbar äldre med en redan nedsatt funktionell kapacitet, samt har en hög grad av samsjuklighet, inne-

bär ett invasivt ingrepp såsom lungbiopsi en större risk. Förutom den diagnostiska utmaningen, är sjukdomsutvecklingen mycket heterogen i patientgruppen då vissa har en långsamt progressiv sjukdom, medan andra lider av en mer fortlöpande sjukdom. I ett av projekten ska biobanksprover från patienter registrerade i lungfibrosregistret analyseras för att utforska kandidatbiomarkörer som visat sig vara viktiga i fibrosprocessen. Resultaten kommer sedan att kopplas till demografiska och kliniska data från registret i syfte att få fram för kliniskt bruk användbara biomarkörer.

Fram tills för ett par år sedan, existerade ingen evidensbaserad farmakologisk behandling. Idag finns två läkemedel godkända, pirfenidon och nintedanib som bägge har visats bromsa förlusten av lungfunktion över tid. De kliniska prövningarnas strikta inklusions- och exklusionskriterier leder många gånger till en studiepopulation som inte speglar det breda spektrum av patienter som ses i den kliniska vardagen. Få studier existerar som visar på den långsiktiga effekten och säkerheten av dessa läkemedel. I ett behandlingsrelaterat projekt ämnar vi studera den långsiktiga användningen samt effekt och säkerhet på en kohort av IPF-patienter från lungfibrosregistret.

En viktig del i diagnostiken av IPF är uteslutandet av autoimmuna och sekundära former av lungfibros exempelvis som led i en inflammatorisk systemsjukdom. Rutinmässig provtagning av en panel av autoantikroppar såsom reumatoid faktor (RF), antikroppar mot citrullinerad peptid (CCP), antinukleära antikroppar (ANA) och antikroppar mot cytoplasma i neutrofila granulocyter (ANCA) görs i utredningsskedet. Det är okänt om patienter med förekomst av autoantikroppar har ett annorlunda sjukdomsförlopp jämfört med patienter utan autoantikroppar. Ett projekt syftar till att undersöka förekomsten av specifika markörer relaterade till autoimmunitet i prover från IPF-patienter och koppla ihop dem med registerdata för att utröna huruvida sjukdomsförloppen skiljer sig åt.

Vi deltar också i kliniska prövningar då nya läkemedelskandidater testas på patientpopulationen. En internationell dubbel-blind placebokontrollerad multicenterstudie som avser utröna om ambulera syrgas har effekt på patienter med lungfibros som desaturerar vid gångtest är nyligen startad, där vårt patientområde är en av två deltagande centra i Sverige. Vi planerar också medverka i en studie tillsammans med Bild- och funktion där IPF-patienter genomgår magnetkameraundersökning av lungan.

IPF-forskargruppen vid PO Lung-Allergisjukdomar, Karolinska Universitetssjukhuset och Institutionen för Medicin Solna, Karolinska institutet

LISA CARLSON

leg sjuksköterska, registerkoordinator
(lisa.carlson@sl.se)

IDA BELO

ST-läkare, doktorand (ida.belo@sl.se)

DIMITRIOS KALAFATIS

apotekare, doktorand (dimitrios.kalafatis@ki.se)

MARIA DIAKOPOULOU

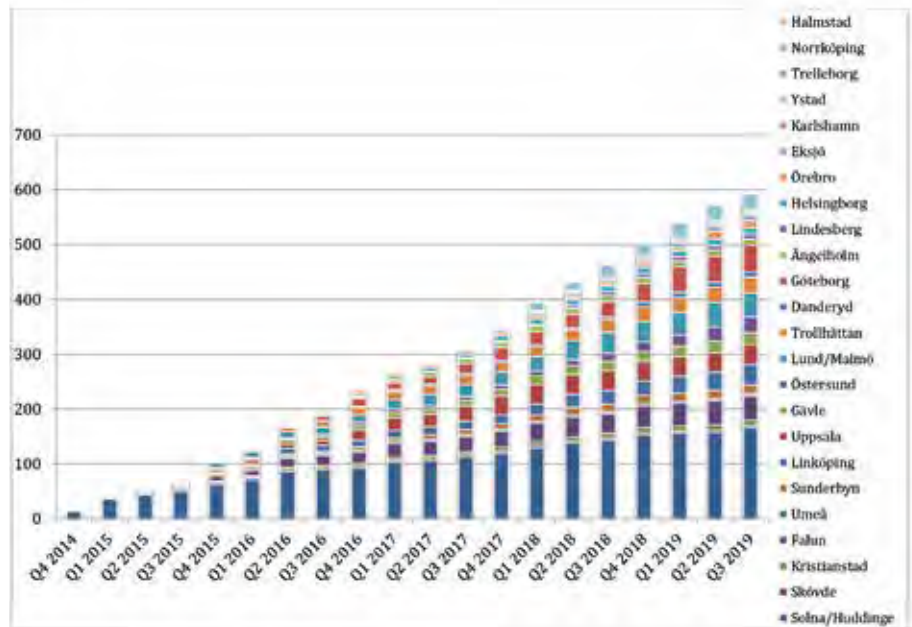
bitr överläkare (maria.diakopoulou@sl.se)

GIOVANNI FERRARA

docent, anknuten (giovanni.ferrara@ki.se)

MAGNUS SKÖLD

professor, överläkare (magnus.skold@ki.se)



Figur 1: Antal patienter inkluderade i lungfibrosregistret sedan start, uppdelade på sjukhus.

TABELL 1. DEMOGRAFI OCH BASLINJEDATA

	Män	Kvinnor	Totalt
Antal patienter (%)	382 (73)	140 (27)	522 (100)
Ålder (median, spridning)	73 (46-91)	73 (56-85)	73 (46-91)
Aldrig rökare (N, %):	93 (24)	52 (37)	145 (28)
Fd rökare (N, %):	262 (69) †	73 (52)	335 (64)
Rökare (N, %):	10 (2,6)	8 (6,0)	18 (3,4)
Saknad info (N, %):	17 (4,4)	7 (0,05)	24 (4,6)
Rokhistoria (paketår) (M±SD)	24,0±15,3 †	19,0±14,2	22,8±15,2
FVC% (M±SD) (N=417)	70,2±15,9 (N= 293)	73,4±18,1 (N= 124)	71,1±16,6
TLC% (M±SD) (N=290)	63,0±12,2 * (N=210)	68,7±12,5 (N=80)	64,6±12,6
DICO% (M±SD) (N=326)	46,5±13,5 (N=235)	49,6±15,8 (N= 91)	47,4±14,2

N=antal patienter; M: medelvärde; SD: standard deviation; FVC%: forcerad vitalkapacitet, % av förväntad; TLC%: total lungkapacitet, % av förväntad; DICO%: % diffusionskapacitet kolmonoxid.

†: p<0,05; *: p<0,001 (män vs. kvinnor)

Referenser

Lungfibrosregistrets årsrapporter <http://slmf.se/kvalitetsregister/lungfibrosregistret/>

Ferrara G, Carlson L, Palm A, Einarsson J, Olivesten C, Sköld M. Idiopathic pulmonary fibrosis in Sweden: report from the first year of activity of the Swedish IPF-Registry. *Eur Clin Respir J*. 2016;3:31090

Sköld CM, Bendstrup E, Myllärniemi M, Gudmundsson G, Sjäheim T, Hilberg O, Altraja A, Kaarteenaho G, Ferrara G. Treatment of idiopathic pulmonary fibrosis: A position paper from a Nordic expert group. *J Intern Med*. 2017 Feb;281(2):149-166.

Pesonen I, Carlson L, Murgia N, Kaarteenaho R, Sköld M, Myllärniemi M, Ferrara G. Delay and inequalities in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis: the case of two Nordic countries. *Multidisc Respir Med* 05/2018; 13(14). DOI:10.1186/s40248-018-0126-7

Sköld CM, Arnheim-Dahlström L, Bartley K, Janson C, Kirchgaessler K-U, Levine A, Ferrara G. Patient journey and treatment patterns in adults with IPF based on health care data in Sweden from 2001-2015. *Respir Med* 2019 Aug;155:72-78. doi: 10.1016/j.rmed.2019.06.001. Epub 2019 Jun 5.

Sarkoidos epidemiologi

Vår forskningsgrupp inom sarkoidos-epidemiologi jobbar med att leverera evidensbaserade svar på etiologiska och kliniska frågor med hjälp av epidemiologiska metoder [1]. Vår målsättning är att identifiera och värdera olika riskfaktorer för sarkoidos och komorbiditeter som drabbar sarkoidospatienter. Vi hoppas att vår forskning ska hjälpa till att minska tiden från symptomdebut till bedömning, förbättra behandlingsstrategier, och minimera de långsiktiga konsekvenserna av sarkoidos.

Med det svenska patientregister studerade vi utbredningen av sarkoidos i populationen [2]. Det fanns över 12 000 individer med minst två besök för sarkoidos under 2013 eller tidigare. Prevalensen var 160 per 100 000, som pekar på att sarkoidos inte är en sällsynt sjukdom i Sverige. Den högsta prevalensen var i nordvästra delarna av landet, den lägsta var i sydöstra delarna av landet. Incidensen var 12, och det var lite högre i män jämfört med kvinnor (tabell 1). Män får diagnosen ti-

digare i livet än kvinnor, runt 45 års ålder, medan kvinnor får diagnosen närmare 55 års ålder (figur 1).

Vi ville även mäta hur sarkoidos påverkar livet och samhället. Vi tittade på sjukskrivning och sjukskrivningar före och efter sarkoidos-diagnosen och jämförde med den allmänna populationen [3]. Vid diagnosen tog folk med sarkoidos mycket mer dagar (57 mot 31). Efteråt gick de inte tillbaka till samma nivå som före diagnosen. De som var mest drabbade var kvinnor, äldre människor och de som fick behandling vid sarkoidosdiagnosen (som hade en allvarligare sjukdom från början).

Sarkoidos är inte en sjukdom utan allvarliga konsekvenser för en del av populationen. I en undersökning av mortalitet, såg vi att individer med sarkoidos hade en 60 procent högre risk att dö jämfört med den allmänna befolkningen [4]. Överlevnads-sannolikhet är ganska bra, den 1-åriga sannolikheten är 99% och den 5-åriga är 95%. Men det beror på typen av sarkoi-

dos, de som var sjukast (fick behandlingen vid diagnosen) hade över två gånger högre risk att dö än den allmänna befolkningen.

Därefter undersökte vi ärftlighet av sarkoidos. För personer med minst 1 förstegradssläkting med sarkoidos var riskökningen att insjukna 3,7 gånger, och för dem med minst 2 förstegradssläktingar ökade den till 4,7 [5]. Ärftlighet är den största riskfaktorn för sarkoidos. Ärftlighetens betydelse för att insjukna beräknades till 39% – det betyder att det finns mycket mer att upptäcka när det gäller miljöfaktorer, som förklarar den resterande risken på 61%. Det är förmodligen både ärftlighet och miljöfaktorer som orsakar sjukdomen.

Vi jobbar just nu på att förstå risken av kardiovaskulära sjukdomar och samla mer data på miljöfaktorer från andra register. Vi fortsätter med att bygga forskningen inom sarkoidos, genom att komplettera data från labbet och kliniken.

ELIZABETH ARKEMA

ScD, ScM

Docent i epidemiologi

Karolinska Institutet

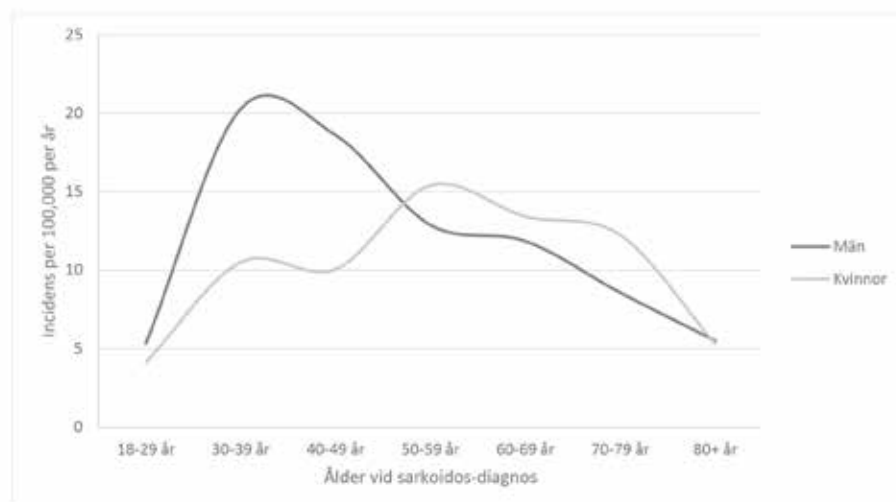
Institutionen för medicin Solna

Avdelningen för klinisk epidemiologi

TABELL 1

	Män	Kvinnor
Incidens	13 per 100,000 per år	10 per 100,000 per år
Ålder vid diagnos	45 år	55 år
Prevalens	179 per 100,000	141 per 100,000
Dödlighet, åldersjusterad	15.2 per 1 000 personår	11.5 per 1 000 personår
5-åriga överlevnadssannolikhet	92%	90%
10-åriga överlevnadssannolikhet	90%	87%
Sjukskrivningsdagar under diagnosåret	40 dagar	82 dagar

FIGUR 1



Referenser

- <https://ki.se/meds/forskargrupp-inom-sarkoidos-epidemiologi>
- Arkema EV, Grunewald J, Kullberg S, Eklund A, Askling J. Sarcoidosis incidence and prevalence: a nationwide register-based assessment in Sweden. *European Respiratory Journal* 2016; 48(6): 1690-1699.
- Arkema EV, Eklund A, Grunewald J, Bruze G. Work ability before and after sarcoidosis diagnosis in Sweden. *Respir Med* 2018.
- Rossides M, Kullberg S, Askling J, Eklund A, Grunewald J, Arkema EV. Sarcoidosis mortality in Sweden: a population-based cohort study. *European Respiratory Journal* 2018; 51(2).
- Rossides M, Grunewald J, Eklund A, Kullberg S, Di Giuseppe D, Askling J, Arkema EV. Familial aggregation and heritability of sarcoidosis: a Swedish nested case-control study. *Eur Respir J* 2018; 52(2).

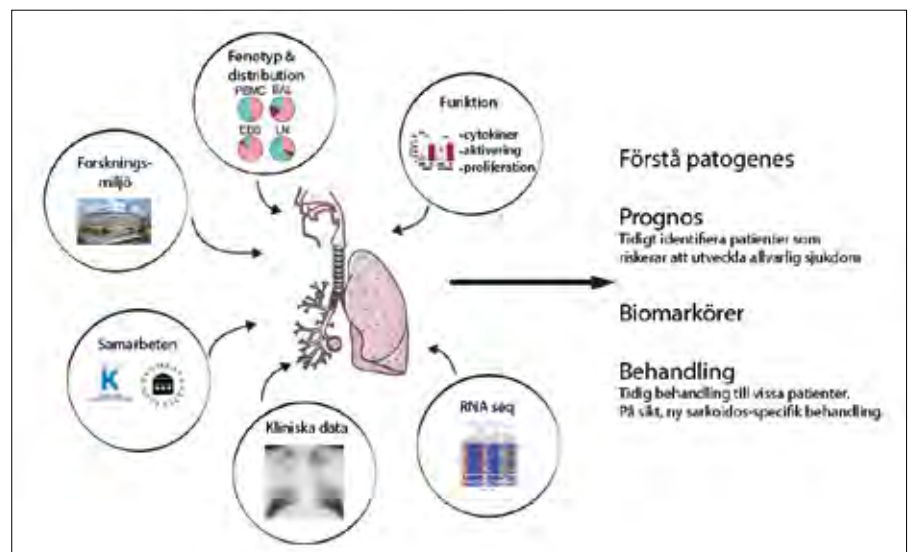
Immunologiska studier för att förstå sjukdomsmekanismer i sarkoidos

Sarkoidos är en inflammatorisk sjukdom som karaktäriseras av granulom, ansamlingar av immunceller, i olika vävnader (1). Det är inte känt vad som orsakar sarkoidos. Sjukdomen drabbar lungorna hos de flesta patienter men angriper också andra organ, som lymfkörtlar, hjärta, hud och det centrala nervsystemet. I Sverige diagnosticerades cirka 1200 personer årligen med sarkoidos och 16 000 personer beräknas leva med sarkoidos idag. I Sverige finns en mer akut form av sarkoidos, Löfgrens syndrom, med god prognos som innefattar cirka 30% av patienterna. Även bland de 70%, av sarkoidospatienterna som inte har Löfgrens syndrom tillfrisknar ungefär hälften spontant inom ett par år. Dock utvecklar den andra hälften av patienterna kronisk eller progressiv sjukdom med fibros. Idag är det svårt att tidigt skilja ut de patienter som kommer att utveckla allvarlig sjukdom från de som tillfrisknar spontant.

Jag leder en forskargrupp på Karolinska Institutet med expertis i experimentell och translationell immunologi. Det långsiktiga målet med vår sarkoidosforskning är att tidigt i sjukdomsförloppet kunna identifiera de patienter som riskerar att drabbas av allvarlig sjukdom och att kunna erbjuda dem mer riktad behandling. Vår hypotes är att immunreaktioner tidigt i sjukdomsutvecklingen bestämmer hur sjukdomen fortlöper. Genom att studera och beskriva patienternas tidiga immunsvår i detalj hoppas vi göra det möjligt att hitta dem som riskerar att bli allvarligt sjuka. Vi studerar immunceller från olika vävnader, blod, lunga och lymfkörtlar, som påverkas direkt eller indirekt av sjukdomen med mycket högupplösta metoder. Vi är särskilt inriktade på dendritiska celler, monocyter och makrofager; en familj av immunceller som är viktiga vid inflammation, som producerar cytokiner som bidrar till granulombildning och som instruerar de T-celler som ackumuleras i sarkoidospatienter (2).



Figur 1. Anna Smed-Sörensen tilldelades 2018 Prins Daniels forskningsanslag för yngre, lovande forskare. Vid prisceremonin deltog forskargruppen: (från vänster) Meng Yu, Klara Lenart, Rico Lepzien, Anna Smed-Sörensen, Sindhu Vangeti, Sang Liu och Sara Falck-Jones.



Figur 2. Translationell immunologi för att förstå sarkoidos. Starka samarbeten med lungkliniken, forskningsmiljö i världsklass, avancerade experimentella analyser på kliniska prover från olika vävnader från kliniskt väldefinierade patienter som följs över tid gör sammantaget att vi kan bättre förstå patogenes, men också hitta mönster som tillåter stratifiering av patienter och på sikt mer sarkoidos-specifik behandling.

Min forskargrupp är nyinflyttad i Bioclinicum, forskningshuset på Nya Karolinska som samlar 1000 translationella forskare. Där sitter vi nu nära lungforskningslab som vi samarbetar med och har även nära nära kliniken. Vår forskning finansieras framförallt via forskningsanslag från Vetenskapsrådet och Hjärt-Lungfonden (Figur 1). Vi forskar i nära samarbete med lungklinikerna på Karolinska Universitetssjukhuset i Stockholm och på Norrlands Universitetssjukhus i Umeå för att studera sarkoidospatienter med nyställd diagnos. Vi studerar immunceller i lunga, lymfkörtlar och blod från sarkoidospatienter med olika klinisk fenotyp jämfört med friska kontroller (3). Vi följer patienterna över tid för att hitta unika sjukdomsmönster som kan möjliggöra tidig och säker prognos. Sarkoidospatienterna

bronkoskoperas vanligtvis för att ställa diagnos och vi får då tillgång till både lungvävnad och blodprover. På kliniken följer man patienternas symtom över tid, och i forskningen kan vi på motsvarande sätt följa hur deras immunsvår förändras. Vi får på så vis möjlighet att korrelera patienternas immunologiska profil med deras kliniska bild. Vissa sarkoidospatienter får behandling med biologiska läkemedel, TNF-hämmare. Dessa patienter bronkoskoperas ofta både före och efter behandlingen. I en separat studie vill vi analysera deras immunologiska profiler och koppla dessa till hur de svarar på behandlingen. Vi hoppas på så sätt bidra med kunskap om vilka patienter som bör ha behandling och vilka som inte bör ha det. Målet är att hitta biomarkörer eller immunprofiler som visar vilka som riskerar att utveckla

allvarliga symtom långsiktigt. Det kan också leda till angreppspunkter för framtida läkemedelsbehandling.

ANNA SMED-SÖRENSEN

Docent, forskargrupsledare
Avdelningen för immunologi och allergi
Institutionen för medicin Solna
Karolinska Institutet
anna.smed.sorensen@ki.se

Referenser

1. Grunewald J, Grutters JC, Arkema EV, Sanketkoo LA, Moller DR, Müller-Quernheim J. Sarcoidosis. *Nat Rev Dis Primers* 2019; 5(1):45.
2. Baharom F, Rankin G, Blomberg A, Smed-Sörensen A. Human lung mononuclear phagocytes in health and disease. *Front Immunol.* 2017; 8:499.
3. Lepzien R, Rankin G, Pourazar J, Muala A, Eklund A, Grunewald J, Blomberg A, Smed-Sörensen A. *J Leukoc Biol* 2019; 105(4):797.

Studier av sarkoidos

Bakgrund och målsättningar

Sarkoidos är en inflammatorisk sjukdom som drabbar 1000–1500 svenskar årligen. Den vanligaste formen av sarkoidos drabbar lungorna, vilket ses hos >90–95% av patienterna, men i princip vilket organ som helst kan drabbas. Vissa patienter utvecklar ett kroniskt och ibland livslångt sjukdomsförlopp, med fibrosutveckling. Orsaken till sjukdomen är okänd, och specifika diagnostiska markörer saknas. Någon specificerad terapi finns inte heller (REF 1).

Målsättningen med det aktuella projektet är att

- 1) att kartlägga patogenesen och identifiera sjukdomsutlösande ämnen och
- 2) att påvisa markörer för sjukdomen som kan användas i kliniken för att förbättra diagnostik och prognos.

Forskargruppen

Bronkoskopi och bronkoalveolärt lavage (BAL) ingår i den rutinmässiga utredningen av patienter med misstänkt sarkoidos, och de lungceller som på så sätt erhålls analyseras i detalj vid vårt lungforskningslaboratorium. Vår verksamhet drivs gemensamt av kliniker vid Tema Inflammation och Infektion vid Nya Karolinska Sjukhuset (NKS) tillsammans med expe-

rimentella forskare vid vårt lungforskningslaboratorium. Vi har inrättat ett "SarkoidosCentrum", där vi tar emot och genom multidisciplinära ronder utreder patienter från såväl Stockholm som andra län (regioner). I vissa delar har vi gemensamma lokaler med andra translationella forskare och samarbetspartners, särskilt professor S Gabrielsson (exosomer), docent A Smed Sörensen (immunologi), och docent E Arkema (epidemiologi), och som alla beskriver sina forskningslinjer separat i detta temanummer. Undertecknads egen forskargrupp fokuserar på immunologi (post-doc A Ravindran), proteomik (PhD student E Wiklundh) och genetik (PhD N Rivera) i relation till klinisk bild av sjukdomen (med dr S Kullberg, seniorprofessor A Eklund).

Specifika antigen vid sarkoidos

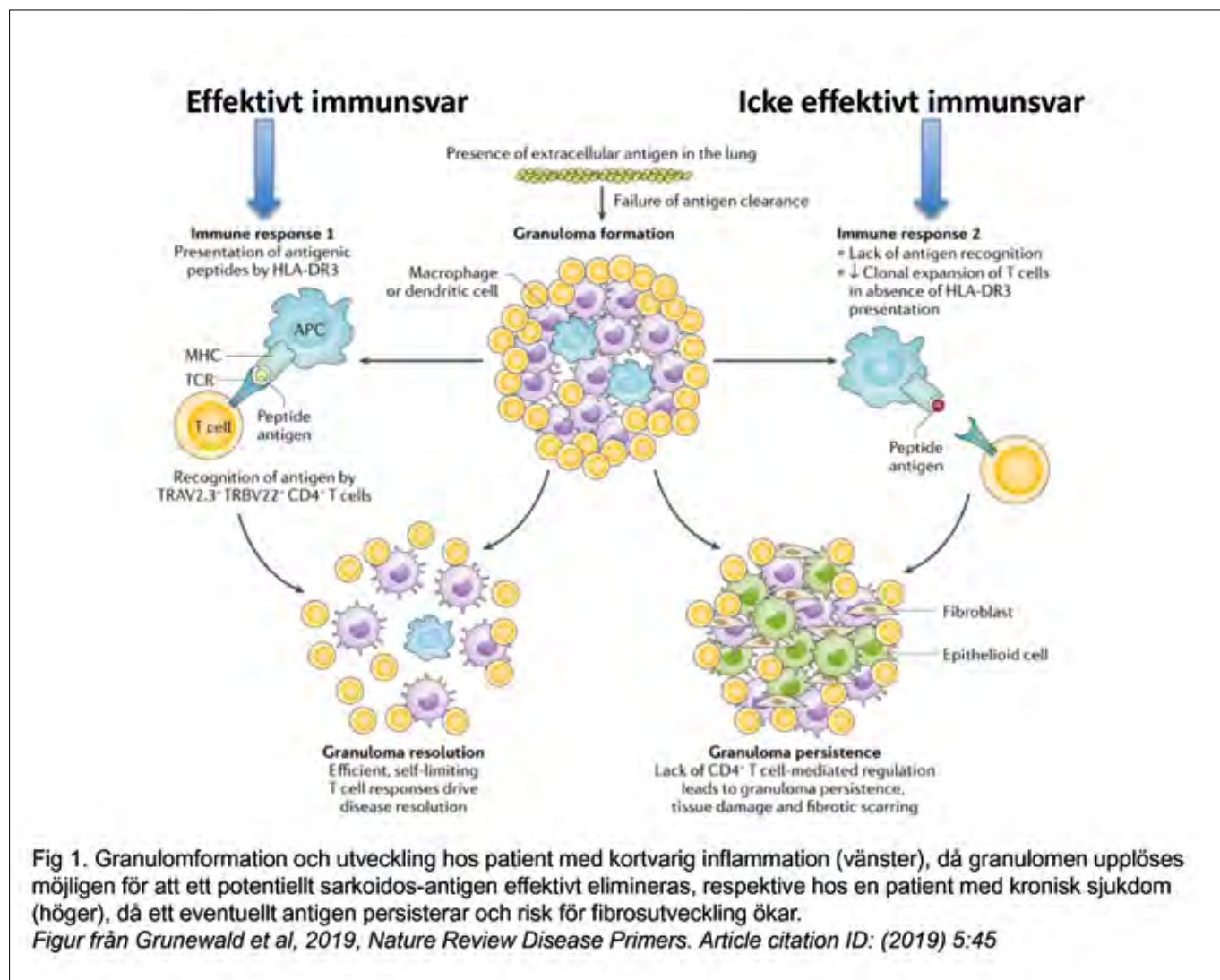
Vi studerar särskilt de T-hjälparceller (CD4+) som ansamlas i lungorna vid sarkoidos. Dessa är kraftigt aktiverade och anses av stor betydelse för det specifika immunsvaret vid sarkoidos. Hos vissa patienter är dessa lungansamlade T-hjälparceller klonala, och uttrycker därmed identiska T-cells receptorer (TCR), med en distinkt specificitet (REF 2). Fyndet är i linje med att de känt igen och reagerat mot ett och samma ämne,

alltså ett specifikt "sarkoidos-antigen". Vår primära målsättning är att identifiera detta ämne. Våra fynd har lett till anslag från NIH och samarbete med en välrenommerad forskargrupp vid University of Colorado, Denver, USA, ledd av professor A Fontenot. Här används ett peptidbibliotek innehållande många miljoners peptid-varianter, och som vi genom en automatiserad process hoppas ska leda till identifiering av de peptider som har förmågan att stimulera T-celler.

Parallellt har vi med hjälp av masspektrometri identifierat protein-bitar (peptider) bundna av HLA-molekyler från BAL celler och bland annat funnit peptider från det cytoskelettala proteinet vimentin (ett känt auto-antigen vid RA). Dessutom, i en modell av HLA och TCR fann vi att vimentin-peptiden passade perfekt in mellan dessa (REF 3). Vi har också visat att vimentin-peptider i vissa situationer kan stimulera T-celler, och därmed vara involverat i ett specifikt immunsvår vid sarkoidos, eventuellt som ett led i en autoimmun reaktion.

Biomarkörer vid sarkoidos

Vi jämför patienter med Löfgrens syndrom (LS), som har en god prognos, med icke-LS patienter, som har en ökad risk för fibrosutveckling, och söker biomarkö-



rer som associerar med någon av dessa processer. Vid LS anses specifika T-celler resultera i att ett potentiellt antigen mer effektivt elimineras, men vid non-LS bidrar fler faktorer till ett förlängt immunsvär där det utlösande antigenet inte kan elimineras (se Figur). Den kliniska karakteriseringen är viktig då vi (med dr S Kullberg, med dr P Darlington) analyserar effekter på det lokala immunförsvaret av fysisk träning, eller av behandling med anti-TNF. Vi har tidigare visat att vissa HLA-typer är starkt kopplade till sjukdomens prognos, vilket medfört att HLA-typning nu ingår som en del av den kliniska utredningen vid misstänkt sarkoidos. Andelen BAL T-celler (TCR AV2.3+) är kopplad till såväl god prognos (REF 4) som till säker diagnos, och kan utvecklas till en kliniskt användbar biomarkör.

Framåt

Vi fortsätter våra studier av specifika antigen som är involverade i immunsvaret vid sarkoidos, och deras funktionella

betydelse. Vår förhoppning är att identifiera sarkoidos-utlösande agens som skulle kunna fungera som mål för nya terapier, eller som nya sjukdomsmarkörer för diagnos eller prognos. Genom vårt stora biobanksmaterial inkluderande såväl BAL-celler och -vätska liksom serum från åtminstone 1500 patienter, och där vi följer patienterna kliniskt, ska vi studera tänkbara biomarkörer och analysera deras kopplingar till kliniken. Våra studier utförs med stöd av HLE, VR, NIH, ALF, Konung Gustav V:s och Drottning Victorias Frimurarestiftelse, och KI

JOHAN GRUNEWALD

professor i experimentell lungmedicin, avdelningschef
Avdelningen för lungmedicin,
Institutionen för Medicin Solna,
Karolinska Institutet,
PO Lung-Allergisjukdomar,
Karolinska Universitetssjukhuset Solna
johan.grunewald@ki.se

Referenser

1. Grunewald J, Grutters J, Arkema E, et al 2019. *Nature Reviews Disease Primers* | Sarcoidosis. Article citation ID: (2019) 5:45
2. Mitchell AM, Kaiser Y, Falta MT, et al. (2017) *J Immunol.* 2017;199(7):2279-90.
3. Grunewald J, Kaiser Y, Ostadkarampour M, et al. 2016. *Eur Respir J.* 2016;47(3):898-909.
4. Darlington P, Kullberg S, Eklund A, et al. (2019). Subpopulations of BAL-cells can predict prognosis in sarcoidosis. *Eur Respir J.* (in press)