

# Hur undviker *Borrelia burgdorferi* immunförsvaret?

PERNILLA SVIBERG OCH SEPPA MERI

*Den fästingöverförda spiroketen Borrelia burgdorferi utnyttjar flera olika strategier för att undvika människokroppens immunförsvaret. Men vad beror det på att man inte blir immun mot borrelia fastän man tidigare har haft en infektion och har antikroppar? Borrelia burgdorferi som orsakar Lyme-borrelios inkluderar underarterna Borrelia burgdorferi sensu stricto, Borrelia afzelii och Borrelia garinii. De tre underarterna undgår till olika grad både det medfödda och det inlärd immunförsvaret, samt orsakar något divergerande sjukdomsbilder. De komplementresistenta underarterna B. burgdorferi sensu stricto och B. afzelii skyddar sig genom att binda komplementinhibitorerna FH och FHL-1 till proteiner på sin yta. Borrelia försvagar även immunförsvaret genom att med hjälp av cytokiner och lipoproteiner dämpa immunreaktionen samt genom att variera sina ytproteiner förhindra bildningen av antikroppar.*

*Borrelia burgdorferi (Bb) är en gramnegativ spiralformad ytterst rörlig bakterie som räknas till spiroketerna. Den är ca 10-30 nm lång och 0,2-0,5 µm bred. Spiroketen är uppkallad efter sin upptäckare Willy Burgdorfer. Bb orsakar sjukdomen Lyme-borrelios (LB), uppkallad efter staden Old Lyme i Connecticut, USA. I Lyme identifierades sjukdomen 1976 i och med en epidemi av artrit hos unga som hade haft fästingbett (1).*

## FÖRFATTAREN

*MK Pernilla Sviberg gjorde denna studie som fördjupande forskningsprojekt vid Helsingfors universitets medicinska fakultet. Professor Seppo Meri, Avdelningen för bakteriologi och immunologi vid Haartman institutet var handledare för projektet*

LB är den vanligaste fästingburna sjukdomen i Europa, Nordamerika och Asien. Sjukdomen indelas i tre olika stadier; tidig lokal borrelios, disseminerad borrelios och sen borrelios. Den tidiga borreliosen kännetecknas oftast av det typiska ringformade hudutslaget *erythema migrans* som kan uppstå runt fästingbettet några dagar till ett par veckor efter fästingbettet. Man har visat att de erytem som *Borrelia garinii* förorsakar är homogent rödfärgade medan *Borrelia afzelii* oftare ger ringformade erytem. Garinii-erytemen utvecklas även snabbare och blir större (2). Den disseminerade formen av LB kan orsaka sjukdom i centrala/perifera nervsystemet, hjärtat, lederna, levern, mjälten eller ögonen. Sen borrelios yttrar sig till exempel i form av artrit, neuroborrelios eller acrodermatitis chronica atrophicans (ACA), ett kroniskt hudutslag. De olika kliniska formerna av LB finns i Tabell I. Underarten Bb sensu stricto har uppgetts ofta ge upphov till artrit och B. garinii ofta till neuroborrelios, medan bland annat ACA är orsakad av B. afzelii (3). Se Tabell I.

---

Tabell I. Olika former av klinisk borrelios.

---

#### PRIMÄR/ TIDIG LOKAL BORRELIOS

Erythema migrans  
Allmänna symptom  
    lätt feber, trötthet, illamående, huvudvärk, muskelvärk  
Lokal lymfadenos i huden

#### DISSEMINERAD BORRELIOS

Perifera neurologiska symptom  
    Pareser: Kranialnervspareser (ofta facialis), andra pareser  
Lymfocytär meningit, encefalit  
Artrit, speciellt i stora leder  
Myocardit, retledningsstörningar  
Acrodermatitis chronica atrophicans  
Ögonsymtom

#### SEN BORRELIOS

Varierande symptom, speciellt från centrala och perifera nervsystemet och stödorganen

---

Fästingarna som sprider LB finns i Europa, USA och Asien. I Europa är det huvudsakligen fästingen *Ixodes ricinus* som sprider borreliosa. LB är endemisk bland annat på Åland och i Åbo skärgård. I hela Finland har under 2000-talet rapporterats ca 800 nya fall per år av LB.

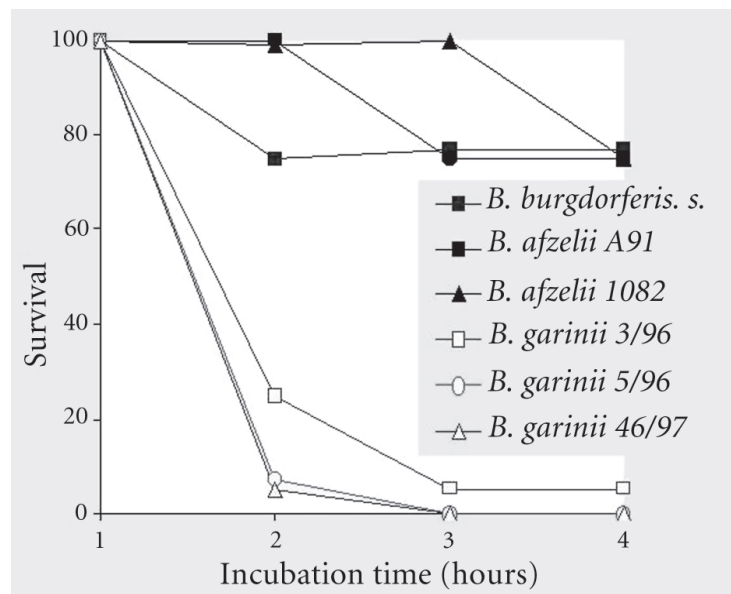
År 1997 hade Fraser et al. kodat Bb B31:s fullständiga genomsekvens. Den omfattar en lineär kromosom och åtminstone 17 lineära och cirkulära plasmider (4). Utläsningen av hela genomet har varit av stor betydelse för forskningen.

#### BORRELIA UNDVIKER KOMPLEMENTSYSTEMET

En speciell egenskap hos Bb är dess förmåga att överleva långa tider i människokroppen

trots att den framkallar en stark reaktion hos immunförsvaret inklusive höga nivåer av antikroppar mot borreliosa. En av orsakerna är att Bb kan undgå att förstöras av komplementsystemet, som är en viktig del av det medfödda immunförsvaret. Det medfödda immunförsvaret omfattar bland annat huden, slemhinnor, lågt pH, komplementsystemet och fagocyterande celler. Antikropparna däremot hör till det inlärdas immunförsvaret.

Komplementsystemet består av ca 30 membranbundna och lösliga proteiner som skyddar kroppen mot mikrober och deltar i renhållningen. Komplementkaskaden aktiveras antingen med hjälp av antikroppar (den klassiska vägen) eller direkt via lektinvägen eller den alternativa vägen. Det avgörande steget i komplementkaskaden är förstärkningen som sker på C3-nivån och leder till opsonisering



Figur 1. Komplementsensitiva bakterier förstörs på grund av att komplementsystemet aktiveras på deras yta och slutligen lyseras cellen på grund av MAC:s aktivitet. Komplementresistent *Borrelia* skyddar sig genom att membranproteinerna OspE eller Bba68 på tre olika sätt stör komplementaktiveringen på C3-nivån.

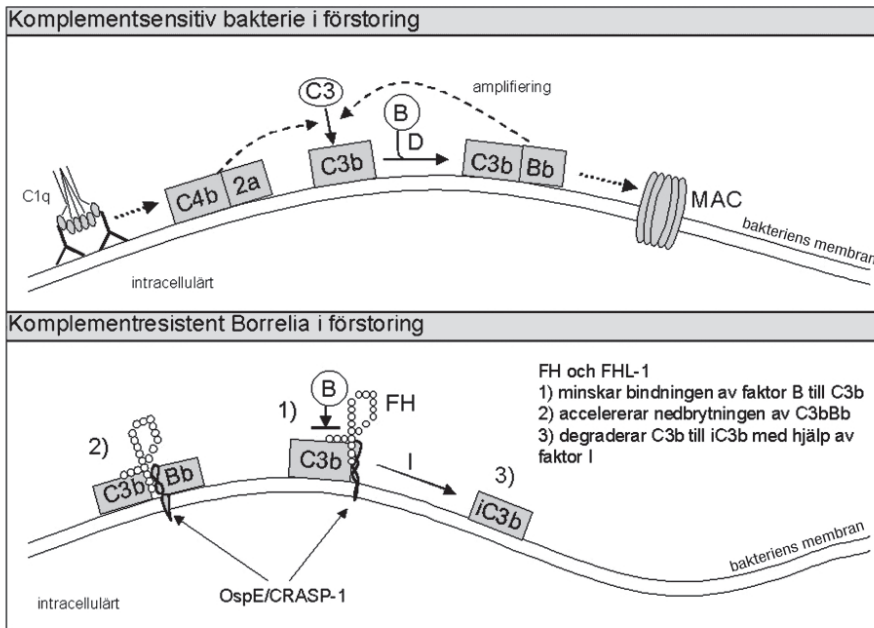
B = factor B, D = factor D, FH = faktor H, I = factor I, MAC = membrane attack complex

av mikrober samt till att komponenterna C5-C9 ansamlas och bildar membranattackkomplex (MAC) som perforerar den främmande gramnegativa bakteriens cellmembran och på så vis dödar cellen. Kroppens egna celler skyddar sig mot komplementsystemet med hjälp av skyddsmolekylerna CD46, CD55 och CD59 (5) samt genom att binda komplementinhiberande faktor H (FH) och faktor H-liknande protein 1 (FHL-1) till sin yta. FH och FHL-1 inhiberar förstärkningen av komplementreaktionen på tre sätt; dels genom att med hjälp av faktor I degradera C3b, dels genom att accelerera nedbrytningen av C3bBb, konverteraset som aktiverar C3 till C3b, dels genom att minska bildningen av C3bBb genom att tävla med faktor B om bindningen till C3b. Den inhiberade förstärkningen av komplement-kaskaden på C3-nivå beskrivs i Figur 1.

Man har påvisat att de olika underarterna av *Borrelia* klarar sig olika länge i normalt humant serum innan komplementsystemet förstör dem (se Figur 2). Längst klarar sig *B. afzelii* som anses vara komplementresistent, och kortast klarar sig *B. garinii* som anses vara komplementsensitiv. *Bb sensu stricto* anses

vara intermediärt komplementsensitiv (se Figur 2).

Komplementresistensen beror på att *Bb sensu stricto* och *B. afzelii* har ytproteiner som binder komplementinhibitorerna FH och/eller FHL-1 till sin yta (6). *B. garinii* som har odlats i laboratorium uttrycker inte FH-bindande proteiner, men stammar som har blivit isolerade direkt från patienter med neuroborrelios har FH-bindande proteiner på sina ytor (Alitalo et al., opublicerad). Ytproteinet OspE (outer surface protein E, 19,2 kDa) binder FH (7). Därtill har man hittat en annan familj av FH/FHL-1-bindande proteiner som har kallats CRASP-1 (complement regulator-acquiring surface protein-1, 27,5 kDa). Efter kloning av genen visade det sig att CRASP-1 tillhör Bba68-proteinfamiljen vars gener finns i den lineära plasmiden lp54 (8). OspE-proteinet kodas av gener i den cirkulära plasmiden cp32. *Borrelia*bakterierna kan bära på många liknande plasmider med varierande former av OspE. På så vis kan *Borrelia* variera vilka OspE-proteiner som den uttrycker på sin yta samt byta plasmider med andra *Borrelia*bakterier. Detta kan bidra till ökat skydd mot komplementsystemet (9).



Figur 2. Analys av serumresistens hos *B. afzelii*, *B. garinii* och *B. burgdorferi* sensu stricto. Bakterierna inkuberades i normalt (icke-immunt) humant serum i 37°C i 16 timmar. Bakteriernas överlevnad beräknades utgående från procenten rörliga, levande bakterier.

Längst klarar sig *B. afzelii* som anses vara komplementresistent, och kortast klarar sig *B. garinii* som anses vara komplementsensitiv. *B. burgdorferi* sensu stricto anses vara intermediärt komplementsensitiv. Figuren är lånat ur källartikel nr 6 (Alitalo et al. 2001)

Denna form av komplementresistens har även påvisats hos andra mikrober. FH och FHL-1 binder till Fba och M-protein hos *Streptococcus pyogenes* (GAS), till PspC (till exempel Hic-protein) hos *Streptococcus pneumoniae*, till Por1A-protein hos icke-sialyrad *N. gonorrhoeae* och till beta-protein (Bac) hos *Streptococcus agalactiae* (GBS) (10).

#### YTPROTEINER OCH ANTIKROPPAR

För att skydda sig mot kroppens immunförsvaret kan borrelia maskera sig eller dölja sig. Den maskerar sig antingen genom att variera sina egna ytproteiner eller genom att binda kroppens egna immunförsvarens reglerande faktorer till vissa ytproteiner. De flesta ytproteinernas uppgifter är okända, men vissa är till för att skydda bakterien inne i fästingen, att hjälpa bakterien att flytta sig från fästingens tarm via dess spottkörtlar till värden och att skydda bakterien mot immunförsvaret. *Borrelia* varierar sina ytproteiner beroende på värd, temperatur, odlingsförhållanden m.m. (11).

OspA (outer surface protein A, 31 kDa) uttrycks i fästingen och börjar nedregleras när fästingen suger blod, samtidigt uppreglas OspC (outer surface protein C). Man tror att denna funktion är viktig för överföringen av borrelia från fästingen till människan. Även expressionen av ytproteinerna OspE och OspF uppreglas när spiroketbakterierna

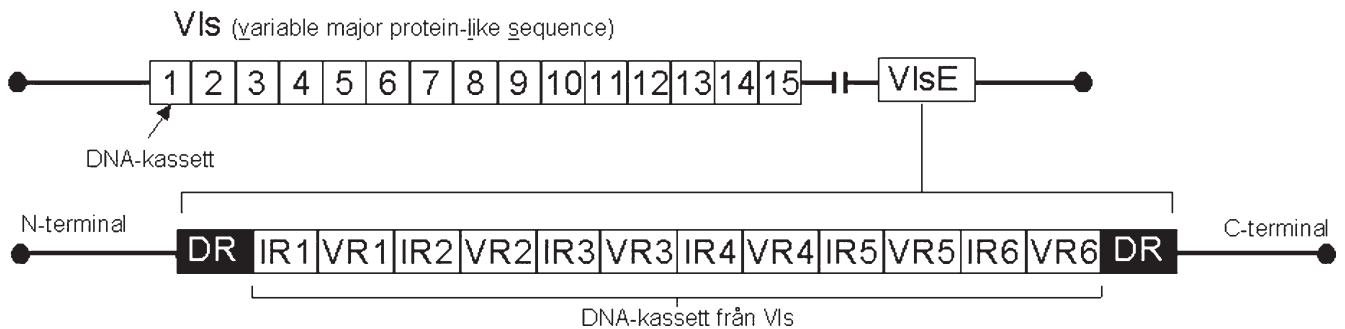
överförs från fästingen till människan.

Lipoproteinet VlsE är ett variabelt ytprotein hos *Bb*. VlsE-systemet påminner om vmp (variable major protein) -systemet som man tidigare har hittat hos *B. hermsii* som orsakar återfallsfeber. Rekombination sker i Vls- (variable major protein-like sequence) lokus och genexpressionen sker i VlsE. Vls-lokus innehåller 15 DNA-kassetter. VlsE-proteinet (34 kDa) består av sex invariabla regioner (IR) och sex variabla regioner (VR). De variabla regionerna varierar genom att material från de 15 tysta DNA-kassetter kopieras och används på dessa ställen (12). VlsE beskrivs i Figur 3.

IR<sub>6</sub> är en bevarad immunodominant region i VlsE som uttrycks i form av C6-peptid. Antikroppar mot C6-peptid (VlsE IR<sub>6</sub> peptid) bildas hos ca 75 procent av patienterna med tidig borrelios (13). Mängden C6-antikroppar i blodet sjunker efter lyckad antibiotikabehandling till mindre än en fjärdedel av maximivärdet. Vid misslyckad behandling sjunker mängden C6-antikroppar inte under en fjärdedel av maximivärdet (14). Därför är IR<sub>6</sub>-serologin ofta ett bra sätt att diagnostisera borrelios med.

#### ÖVRIGA MEKANISMER

En ovanligt liten mängd leukocyter kan ses i infektionsområdet vid borreliainfektion som tecken på försvagad inflammationsreaktion.



Figur 3. VlsE lipoproteinet är ett variabelt ytprotein hos *B.burgdorferi* sensu lato. Rekombination sker i Vls (variable major protein-like sequence) lokus och genexpressionen sker i VlsE. Vls lokus innehåller 15 DNA-kassetter. VlsE proteinet (34 kDa) består av sex IR (invariable regions) och sex VR (variable regions). De variabla regionerna varieras genom att material från de 15 tysta DNA-kassetterna kopieras och används på dessa ställen.

Detta förklaras delvis av att aktiveringen av komplementsystemet har inhiberats av OspE och Bba68. Man har även påvisat att Bb inducerar produktionen av IL-10 i icke-infekterade perifera mononukleära blodceller (PBMC). IL-10 är ett anti-inflammatoriskt, immunosuppressivt cytokin. Den ökade produktionen av IL-10 kan ha betydelse för dämpningen av inflammationsreaktionen som gör att kroppen inte kan döda Bb. Samtidigt har man funnit att Bb minskar produktionen av IL-2. IL-10 minskar nybildningen av T-hjälparceller genom att minska produktionen av bland annat IL-2 och IFN- $\gamma$  som annars stimulerar bildningen av T-hjälparceller (15). IL-10 utgör också en viktig faktor vid desensivering av monocyter med hjälp av borrelia. Receptorn TLR2 är nödvändig för att monocytorna skall utveckla tolerans mot borrelia (16).

Man har identifierat ett antikomplementprotein i saliven hos fästingarten *Ixodes scapularis*. Liksom FH och FHL-1 inhiberar proteinet förstärkningen av komplementkaskaden på C3b-nivån (17).

Fagocytos av de långa och ytterst rörliga borreliaspiroketerna är försvårad och sker genom så kallad "rörfagocytos". Rörfagocytosen upptäcktes i Åbo i Viljanens grupp av Suhonen et al. som studerade borreliafagocyterande neutrofiler med hjälp av mörkerfältsmikroskop och videoteknologi. Neutrofilerna bildar långsamt ett tunt rörlignande utskott som omsluter spiroketen och drar sedan in utskottet i cellen (18).

Den mest komplementsensitiva underarten *B. garinii* har en tendens att orsaka neuroborrelios. Orsaken till detta kan vara att *B.*

*garii* försöker dölja sig för komplementsystemet. I cerebrospinalvätskan finns nämligen en mindre mängd komplementproteiner än i till exempel serum. Å andra sidan, har man nyligen hittat FH-bindande molekyler även på *B. garinii*, när bakterierna har blivit odlade direkt från cerebrospinalvätskan (Alitalo et al., opublicerad).

#### MISSLYCKAD BEHANDLING

Tidig och adekvat antibiotikabehandling mot LB är oftast effektiv. I vissa fall har immunologiska mekanismer rapporterats kunna bidra till att en Lyme-artrit uppstår eller kvarstår. Detta förekommer främst hos patienter med HLA-DR4. Graden och durationen av artrit korrelerade med immunförsvarets gensvar på ytproteinets OspA. Förklaringen tros vara korsreaktion hos OspA-antikropparna mot en molekyl i kroppens egen vävnad, lymfocyt-funktions-antigen 1 (LFA-1), som har en DNA-sekvenslikhet med OspA (19).

#### VACCIN

Ett vaccin mot Lyme-borrelios, LYMERIX®, kom ut på den amerikanska marknaden i januari 1999. Men i februari 2001 drog läkemedelsföretaget GlaxoSmithKline bort vaccinet från marknaden, enligt uppgift på grund av dålig försäljning. Vaccinet som var baserat på rekombinant OspA (rOspA) skulle ge upphov till produktion av antikroppar för att kunna döda spiroketerna redan i fästingen när den har börjat suga blod. Man misstänker att vaccinerade personer med genen HLA-DR4 kunde ha utvecklat autoimmun artrit på grund



av att rOspA-antikropparna korsreagerat mot LFA-1.

I dagsläget finns det inget vaccin mot LB. Ett effektivt vaccin med tillräckligt lång seropersistens vore självfallet till stor nytta i de borreliosendemiska områdena.

#### AKTUELL FORSKNING

Ännu kvarstår ett stort antal olösta frågor om hur Bb undviker immunförsvaret. Antagligen finns ännu okända FH/FHL-1-bindande proteiner samt andra mekanismer som Bb använder för att undgå att dödas av immunförsvaret. För tillfället forskar man mycket om *B. garinii*s komplement-undvikande egenskaper. Man undersöker även komplementresistens hos andra borreliarter.

Funktionerna hos många av Bb:s ytproteiner är ännu okända, liksom mekanismerna bakom borreliainducerad neuroborrelios och artrit. Det är också oklart vilka gener som styr den varierande expressionen av till exempel OspA och OspC. Även "rörfagocytosen" undersöks ännu.

För att kunna bota eller förebygga LB krävs ökad kännedom om hur borrelia undgår kroppens immunförvar. Ett sätt att hindra Bb:s skyddsmekanismer kunde kanske vara att skapa ett vaccin som ger upphov till antikroppar som hindrar att komplementinhiberande proteiner binds till Bb:s yta.

Målet är att utveckla ett fungerande vaccin som kan användas i de endemiska områdena.

Understöd för detta arbete har erhållits från Finska Läkarsällskapet, för vilket vi är tack samma. Särskilt tack även till Sten-Anders Carlsson, Peter Wahlberg och Heidi Sillanpää.

MK PERNILLA SVIBERG  
BJÖRNEBORGSVÄGEN I C 43  
00350 HELSINGFORS  
pernilla.sviberg@helsinki.fi

PROFESSOR SEPPO MERI  
AVDELNINGEN FÖR BAKTERIOLOGI OCH  
IMMUNOLOGI VID HAARTMAN INSTITUTET  
HAARTMANSGATAN 3  
PB 21  
00014 HELSINGFORS UNIVERSITET  
seppo.meri@helsinki.fi

#### REFERENSER

1. Steere AC, Malawista SE, Snyderman DR, Shope RE, Andiman WA, Ross MR, Steele FM. Lyme arthritis: an epidemic of oligoarticular arthritis in children and adults in three Connecticut communities. *Arthritis Rheum* 1977;20:7-17.
2. Carlsson SA, Granlund H, Jansson C, Nyman D, Wahlberg P. Characteristics of erythema migrans in *Borrelia afzelii* and *Borrelia garinii* infections. *Scand J Infect Dis* 2003;35:31-3.
3. Steere, A.C. Lyme disease. *N Engl J Med* 1989;321:586-596.
4. Fraser CM, Casjens S, Huang WM, Sutton GG, Clayton R, Lathigra R, White O, Ketchum KA, Dodson R, Hickey EK, Gwinn M, Dougherty B, Tomb JF, Fleischmann RD, Richardson D, Peterson J, Kerlavage AR, Quackenbush J, Salzberg S, Hanson M, van Vugt R, Palmer N, Adams MD, Gocayne J, Venter JC, et al. Genomic sequence of a Lyme disease spirochaete, *Borrelia burgdorferi*. *Nature* 1997;390:580-6.
5. Morgan BP, Meri S. Membrane proteins that protect against complement lysis. *Springer Semin Immunopathol* 1994;15:369-396.
6. Alitalo A, Meri T, Rämö L, Jokiranta TS, Heikkilä T, Seppälä IJ, Oksi J, Viljanen M, Meri S. Complement evasion by *Borrelia burgdorferi*: serum-resistant strains promote C3b inactivation. *Infect Immun* 2001;69:3685-91.
7. Hellwage J, Meri T, Heikkilä T, Alitalo A, Panelius J, Lahdenne P, Seppälä IJ, Meri S. The complement regulator factor H binds to the surface protein OspE of *Borrelia burgdorferi*. *J Biol Chem* 2001;276:8427-35.
8. Kraiczy P, Hellwage J, Skerka C, Becker H, Kirschfink M, Simon MM, Brade V, Zipfel PF, Wallich R. Complement resistance of *Borrelia burgdorferi* correlates with the expression of BbCRASP-1, a novel linear plasmid-encoded surface protein that interacts with human factor H and FHL-1 and is unrelated to Erp proteins. *J Biol Chem* 2004;279:2421-9.
9. Alitalo A, Meri T, Lankinen H, Seppälä I, Lahdenne P, Hefty PS, Akins D, Meri S. Complement inhibitor factor H binding to Lyme disease spirochetes is mediated by inducible expression of multiple plasmid-encoded outer surface protein E paralogs. *J Immunol* 2002;169:3847-53.
10. Jarva H, Jokiranta TS, Wurzner R, Meri S. Complement resistance mechanisms of streptococci. *Mol Immunol* 2005;40:95-107.
11. Hefty PS, Jolliff SE, Caimano MJ, Wikel SK, Radolf JD, Akins DR. Regulation of OspE-related, OspF-related, and Elp lipoproteins of *Borrelia burgdorferi* strain 297 by mammalian host-specific signals. *Infect Immun* 2001;69:3618.
12. Zhang JR, Hardham JM, Barbour AG, Norris SJ. Antigenic variation in Lyme disease borreliae by promiscuous recombination of VMP-like sequence cassettes. *Cell* 1997;89:275-285.
13. Liang FT, Steere AC, Marques AR, Johnson BJB, Miller JN, Philipp MT. Sensitive and specific serodiagnosis of Lyme disease by enzyme-linked immunosorbent assay with a peptide based on an immunodominant conserved region of *Borrelia burgdorferi* VlsE. *J Clin Microbiol* 1999;37:3990-3996.
14. Philipp MT, Bowers LC, Fawcett PT, Jacobs MB, Liang FT, Marques AR, Mitchell PD, Purcell JE, Ratterree MS, Straubinger RK. Antibody response to IR6, a conserved immunodominant region of the VlsE lipoprotein, wanes rapidly after antibiotic treatment of *Borrelia burgdorferi* infection in experimental animals and in humans. *J Infect Dis* 2001;184:870-8.
15. Giambartolomei GH, Dennis VA, Philipp MT. *Borrelia burgdorferi* stimulates the production of interleukin-10 in peripheral blood mononuclear cells from uninfected humans and rhesus monkeys. *Infect Immun* 1998;66:2691-7.
16. Diterich I, Rauter C, Kirschning CJ, Hartung T. *Borrelia burgdorferi*-induced tolerance as a model of persistence via immunosuppression. *Infect Immun* 2003;71:3979-3987.
17. Valenzuela JG, Charlab R, Mather TN, Ribeiro JMC. Purification, cloning, and expression of a novel salivary anticomplement protein from the tick, *Ixodes scapularis*. *J Biol Chem* 2000;275:18717-18723.
18. Suhonen J, Hartiala K, Viljanen MK. Tube phagocytosis, a novel way for neutrophils to phagocytize *Borrelia burgdorferi*. *Infect Immun* 1998;66:3433-5.
19. Steere AC, Gross D, Meyer AL, Huber BT. Autoimmune mechanisms in antibiotic treatment-resistant Lyme arthritis. *J Autoimm* 2001;16:263-268.