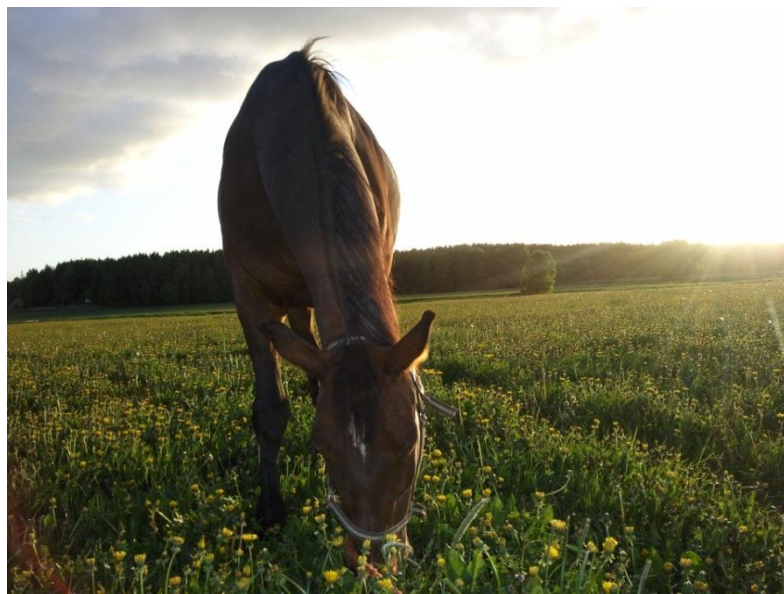




Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

# IL-17 och dess eventuella roll i patogenesen vid ekvin osteoartrit

*Emma Persson Sjödin*



---

Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2012: 62

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2012

---





Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

## **IL-17 och dess eventuella roll i patogenesen vid ekvin osteoartrit**

IL-17 and its possible role in the pathogenesis of equine osteoarthritis

*Emma Persson Sjödin*

**Handledare:**

Magnus Åbrink, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap  
Caroline Fossum, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Examinator:**

Mona Fredriksson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Omfattning:** 15hp

**Kurstitel:** Självständigt arbete i veterinärmedicin

**Kurskod:** EX0700

**Program:** Veterinärprogrammet

**Nivå:** Grund, G2E

**Utgivningsort:** SLU Uppsala

**Utgivningsår:** 2012

**Omslagsbild:** Sofie Ericzén

**Serienamn, del nr:** Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2012: 62  
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

**On-line publicering:** <http://epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** IL-17, interleukin-17, osteoartrit, häst, ekvin

**Key words:** IL-17, interleukin-17, osteoarthritis, horse, equine



## INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING .....	1
SUMMARY .....	2
INLEDNING .....	3
Begreppsförklaringar .....	3
MATERIAL OCH METODER .....	4
LITTERATURÖVERSIKT .....	4
IL-17:s upptäckt och roll vid patologiska tillstånd i kroppen. ....	4
Källor, receptorer och signalvägar .....	4
Roll vid osteoartrit: effekt på ledbrosk och andra ledkomponenter .....	5
Förekomst av IL-17 i leder med OA .....	6
IL-17:s förmåga att påverka den sjukliga förändringen i leden .....	6
Synergi med andra cytokiner.....	8
IL-17 som mål för behandling/diagnostik av OA .....	8
DISKUSSION .....	8
REFERENSER.....	10



## **SAMMANFATTNING**

Osteoartrit (OA) är en vanlig sjukdom både hos människor och hos hästar. Studier tyder på att olika cytokiner, där IL-1 $\beta$  och TNF $\alpha$  tros vara de viktigaste, bidrar till att driva de katabola processer i ledbrösk som man ser vid OA. Syftet med det här arbetet var att undersöka om IL-17 skulle kunna vara ytterligare ett sådan betydelsefull cytokin. IL-17 kan inducera produktion av både NO och PGE<sub>2</sub> i ledbrösk, öka produktionen av andra proinflammatoriska cytokiner som IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 och TNF $\alpha$ , samt uppvisar potent synergi med IL-1 $\beta$  och TNF $\alpha$ . Detta cytokin har också visat sig kunna öka nedbrytningen av- och minska syntesen av extracellulärmatris i brosket samt öka produktionen av proangiogena faktorer i synovialmembranet. I de fåtal studier som gjorts på människa har man funnit signifikant höjda nivåer av IL-17 i ledvätska hos personer med OA jämfört med de hos friska. I den enda studie på häst som hittats, kunde emellertid inte detta cytokin påvisas i led. IL-17 har förutsättningarna för att kunna vara ett viktig cytokin vid OA men det finns också saker som talar emot. Det skulle också kunna fungera som en bidragande faktor av mindre betydelse. Mer forskning behövs på området innan man kan dra några säkra slutsatser om IL-17:s betydelse för utvecklingen av OA.

## **SUMMARY**

Osteoarthritis (OA) is a common disease among both humans and horses. Current research indicates that different cytokines, where IL-1 $\beta$  and TNF $\alpha$  are believed to be the most important ones, drive the catabolic processes seen in the joint cartilage. The aim of this essay was to investigate whether IL-17 is another important cytokine in these processes. IL-17 can induce the production of both NO and PGE<sub>2</sub> in joint cartilage, it increases the production of other proinflammatory cytokines such as IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 and TNF $\alpha$  and it shows potent synergy with both with IL-1 $\beta$  and TNF $\alpha$ . This cytokine has also been shown to increase the degradation of- and decrease the synthesis of the extracellular matrix in the joint cartilage and increase the production of proangiogenic factors in the synovial membrane. In the few studies conducted on humans suffering from OA, the levels of IL-17 have been shown to be significantly increased. However, in the only study that was found, carried out on horses, they saw no expression of IL-17 in OA joints. Although IL-17 has the potential to be an important factor in OA there is also evidence to the contrary. It might also work only as a minor contributing factor. Thus, further research in this area is needed, before any conclusions on the importance of IL-17 in the development of OA can be drawn.



## INLEDNING

Osteoartrit (OA) är en degenerativ ledsjukdom som involverar ledbrosket, synovialmembranet och det subkondrala benet (Ekman, 2010). Det är en mycket vanlig sjukdom både hos häst och hos människa. Genom en långvarig felaktig eller för hög belastning uppkommer en obalans mellan de anabola och de katabola faktorerna i leden. Detta leder till en gradvis nedbrytning av ledbrosket, en inflammatorisk process i leden och en sklerotisering av det underliggande benet (Ekman, 2010). Studier tyder på att vissa cytokiner, där de viktigaste tros vara interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) och *tumor necrosis factor alfa* (TNF $\alpha$ ), medverkar till att driva de katabola processerna i ledbrosket (Hussein *et al.*, 2008; Pantsulaia *et al.*, 2010). På senare tid har forskare även börjat studera andra cytokiner som kan spela en roll i sjukdomsförloppet vid OA. Ett av dem är interleukin 17 (IL-17).

Det här arbetet är inriktat på betydelsen av IL-17, även kallad IL-17A, för utvecklingen av osteoartrit hos människa och häst. Följande frågeställningar har använts som utgångspunkt:

- Vilken roll spelar IL-17 för utveckling av OA och då specifikt för ekvin OA?
  - Vad är IL-17?
  - Via vilka receptorer/signalvägar verkar IL-17?
  - Vilka celler i leden producerar IL-17?
  - Vilken möjlighet har IL-17 att påverka de katabola processerna i leden vid OA?
  - Finns det några möjligheter att utnyttja IL-17 för diagnostik/behandling av OA?

## Begreppsförklaringar

OA	-osteoartrit
IL	-interleukin
IL-17	-interleukin 17
IL-17RA	-interleukin 17 receptor A
IL-17RC	-interleukin 17 receptor C
TNF $\alpha$	- <i>tumor necrosis factor alfa</i>
TGF- $\beta$	- <i>transforming growth factor beta</i>
SEFIR	- <i>similar expression to fibroblast growth factor genes and IL-17Rs</i>
Act1	-ä.k.s. <i>CIKS (connection to I<math>\kappa</math>B kinase and stress-activated protein kinases)</i>
TRAF6	- <i>TNF receptor-associated factor 6</i>
NF- $\kappa$ $\beta$	- <i>nuclear factor kappa B</i>
NO	-kväveoxid
PGE <sub>2</sub>	-prostaglandin E <sub>2</sub>
qRT-PCR	- <i>quantitative real-time polymerase chain reaction.</i>
ELISA	- <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>

## MATERIAL OCH METODER

Vid informationssökningen till denna litteraturstudie har olika kombinationer av sökorden IL-17, interleukin 17, OA och osteoarthritis använts samt kombinationer av ”cytokine expression”, cytokine och osteoarthritis. Sökningar med ovan nämnda kombinationer har också gjorts med tillägget horse, horses eller equine. De databaser som använts är PubMed, Web of Knowledge och Scopus. Vidare har referenslistor från lästa artiklar gått igenom för att hitta ytterligare artiklar av intresse.

## LITTERATURÖVERSIKT

### IL-17:s upptäckt och roll vid patologiska tillstånd i kroppen.

IL-17 klonades första gången 1993 och karakteriseras idag som ett cytokin med proinflammatoriska egenskaper (Gaffen, 2011). IL-17, även kallad IL-17A, är den första medlemmen av en hel familj av nyligen upptäckta cytokiner. Hittills innefattar den IL-17A till IL-17F (Pappu *et al.*, 2011). IL-17 är fysiologiskt viktig vid antimikrobiella svar mot vissa extracellulära patogener (Gaffen, 2011). IL-17 har också visat sig vara involverad vid många olika patologiska tillstånd i kroppen. Exempel på dessa är autoimmuna sjukdomar som reumatoid artrit, psoriasis, inflammatorisk tarmsjukdom, luftvägsjukdomar som astma och flera olika typer av cancer (Ho & Gaffen, 2009).

### Källor, receptorer och signalvägar

IL-17 produceras generellt i kroppen främst av CD4<sup>+</sup> T-hjälpar typ 17 celler (Th17). Utdifferentiering av dessa celler är beroende av signaler från IL-6 och TGF- $\beta$ . IL-23 och IL-21 behövs sedan för att Th17 linjen ska upprätthållas. IL-17 kan dock också produceras av många andra celler som *lymphoid tissue inducer-like cells*,  $\gamma\delta$ + T-celler, NK celler, *invariant natural killer T cells*, mastceller och neutrofiler (Pappu *et al.*, 2011). Enligt en nyligen producerad studie verkar det som om mastceller är de celler som främst uttrycker IL-17 i led vid OA hos människa (Suurmond *et al.*, 2011). I linje med detta verkar det endast finnas ett fåtal Th17 celler i leder med OA (Yamada *et al.*, 2011).

IL-17 utsöndras som en homodimer och signalerar via ett receptorkomplex bestående av två olika receptorer, IL-17RA och IL-17RC. IL-17RA uttrycks på de flesta av kroppens celler emedan IL-17RC framförallt har hittats på adipocyter, kondrocyter, fibroblaster och epiteliala celler (Pappu *et al.*, 2011). De olika receptorerna har olika affinitet för cytokinerna inom IL-17 familjen. Affiniteten hos receptorerna för de olika cytokinerna har också visat sig skilja sig åt mellan människa och mus (Ho & Gaffen, 2009). Den intracellulära signalvägen som uppkommer när IL-17 binder till receptorkomplexet är fortfarande långt ifrån utredd. Både IL-17RA och IL-17RC har en så kallad intracellulär SEFIR domän som behövs för vidare signalering (Søren *et al.*, 2011). Till SEFIR domänen på IL-17RA binder ett adaptorprotein kallat Act1 som i sin tur binder in intermediären TRAF6 vilken aktiverar olika faktorer nedströms (Fig1). Det är oklart om detta sker på samma sätt på IL-17RC (Ho & Gaffen, 2009). Søren *et al.* (2011) visade att Act1 är helt nödvändig för uttryck av alla IL-17 inducerade gener under de två första timmarna i embryonala fibroblaster från möss. Enligt Gaffen (2010) induceras dock vissa extracellulära signalreglerande kinaser av IL-17 i avsaknad av Act1 vilket tyder på att signalvägar oberoende av Act1 kan finnas.

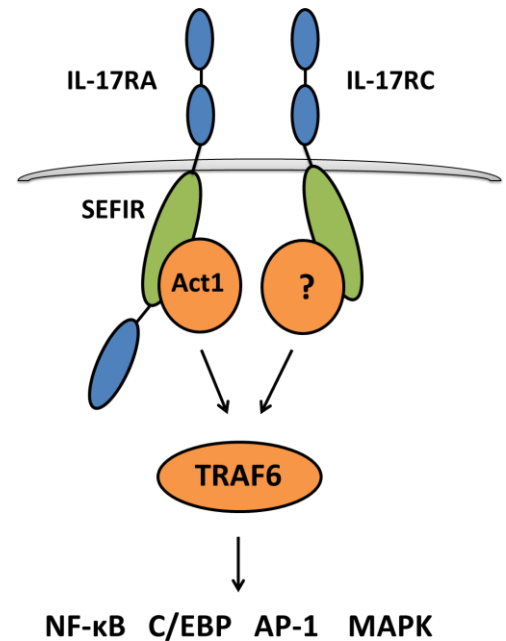


Fig1. IL-17RA och IL-17RC

De effekter som aktiveras av IL-17 via de ovan beskrivna signalvägarna inkluderar NF-κB, C/EBP, AP-1 och MAP kinaser. IL-17 kan också stabilisera vissa mRNA:n men mekanismerna för detta är ännu inte kända (Sønder *et al.*, 2011). Sønder *et al.* (2011) hävdar att eftersom IL-17 aktiverar NF-κB relativt svagt i jämförelse med exempelvis TNFα, kan dess förmåga att stabilisera mRNA:n inducerade av andra cytokiner komma att visa sig vara en av dess viktigaste effekter. Den sekretion som induceras av IL-17 inkluderar cytokiner som IL-1, IL-6 och TNFα, samt NO, matrix metalloproteinaser, prostaglandiner, CXC kemokiner och komplementfaktorer från fibroblaster, kondrocyter, osteoblaster, synovicyter, keratinocyter, endoteliala och epiteliala celler och makrofager (Miljkovic & Trajkovic).

### Roll vid osteoartrit: effekt på ledbrosk och andra ledkomponenter

Vid osteoartrit uppkommer som tidigare nämnts en obalans mellan anabola och katabola faktorer i leden. Den extracellulära matrixen i ledbrosk består till största delen av stora proteoglykaner (aggrekan) och kollagen typ II fibriller. Nedbrytningen av dessa två matrixkomponenter är en viktig del i patogenesen vid OA. Cytokiner, där IL-1β och TNFα tros vara de viktigaste, bidrar till att driva den katabola processen genom att öka produktionen av matrixnedbrytande enzymer som aggrecanaser och kollagenaser (Ekman, 2010). Cytokinerna orsakar också en uppreglering av andra inflammatoriska mediatorer som NO och prostaglandin, vilka i sin tur bidrar till en ökad produktion av matrixnedbrytande enzymer (Abramson, 2008; Ekman 2010). IL-1β och TNFα inducerar även en minskad anabol aktivitet hos kondrocyterna med minskad proteoglykan- och kollagensyntes. Om inflammationen i

leden är sekundär eller primär till skadan är något som fortfarande diskuteras (Ekman, 2010). Vid human reumatoid artrit verkar IL-17 spela viktig roll (Ho & Gaffen, 2009) varför det är av intresse att även undersöka dess betydelse för uppkomsten av OA.

### **Förekomst av IL-17 i leder med OA**

Studier på människa har visat signifikant högre nivåer av IL-17 i synovialvätska från patienter med osteoartrit jämfört med de hos friska kontroller. I en av dessa studier mättes nivån i ledvätska med ELISA (Hussein *et al.*, 2008) och i en annan mättes uttrycket hos celler i ledvätskan med qRT-PCR (Vernal *et al.*, 2008). Signifikant högre nivåer av IL-17 har också påvisats i serum från patienter med osteoartrit jämfört med kontroller (Hussein *et al.*, 2008). I ytterligare en studie påvisade man IL-17 i synovialvätska från patienter med OA men tyvärr omfattade studien inga friska kontrollpersoner (Suurmond *et al.*, 2011).

I ett försök på råttor skapades en modell av osteoartrit genom att skära av det främre korsbandet (*anterior cruciate ligament transection*, ACLT). Råttor som genomgår detta ingrepp utvecklar många av de karakteristiska dragen av OA som ses på människa, däribland nedbrytning av ledbrösket och förändringar i det subkondrala benet. Kontrolldjuren genomgick samma procedur bortsett från att man inte skar av korsbandet utan endast lade ett snitt in i knäet och sedan sydde igen det. Hos de djur som genomgått ACLT hittade man signifikant högre nivåer av IL-17 i homogenat från knäleden jämfört med kontrollerna. Man mätte även nivåerna av både IL-1 och TNF $\alpha$  men ingen skillnad i nivåerna av dessa observerades mellan grupperna. Av detta drar författarna slutsatsen att IL-17 är det främsta proinflammatoriska cytokinet vid ACLT modellen på råttor. IL-17 gick dock inte att detektera i serum från någon av de båda grupperna i denna studie (Braza-Boïls *et al.*, 2011).

I den enda studie utförd på hästar med OA som hittats var dock resultatet det motsatta jämfört med hos människa och råttor. I studien mätte man, med qRT-PCR, uttryck av mRNA för IL-17 vid naturligt förekommande ekvin OA. Varken hos hästar med OA eller hos kontroller kunde de detektera några mätbara nivåer av IL-17 vare sig i synovialmembran eller i ledbrösk. Däremot var TNF $\alpha$  uttrycket signifikant förhöjt i alla stadier av OA i studien både i synovialmembran och i ledbrösk och dessutom var uttrycket av IL-1 $\beta$  signifikant höjt i ledbrösk (Kamm *et al.*, 2009).

### **IL-17:s förmåga att påverka den sjukliga förändringen i leden**

Kvävemonoxid (NO) har flera fysiologiska funktioner i kroppen. Bland annat fungerar det som en proinflammatorisk mediator. I leden ökar NO produktionen av- och aktiviteten hos metalloproteinaser, minskar kollagen- och proteoglykansyntes samt inducerar apoptos hos kondrocyter och ökar deras inflammatoriska svar (Abramson, 2008). Enligt Miljkovic och Trajkovic (2004) beror den proinflammatoriska förmågan hos IL-17 till stor del beror på dess förmåga att öka uttrycket av genen för inducerbart kväveoxidsyntetas och därmed öka produktionen av NO i den inflammerade vävnaden. I ledbrösk från människor med OA ökade IL-17 i linje med detta signifikant produktionen av NO hos kondrocyterna jämfört med den hos kontrollerna (LeGrand *et al.*, 2001) TNF $\alpha$  och IL-17 har visats ha en additiv effekt på NO-produktionen (LeGrand *et al.*, 2001) medan andra studier har visat på en synergieffekt

(Miljkovic & Trajkovic, 2004). Både IL-1 $\beta$  och TNF $\alpha$  inducerade dock en signifikant högre produktion av NO jämfört med IL-17 (LeGrand *et al.*, 2001).

I motsats till den proinflammatoriska och brosknedbrytande effekten av NO i led finns det dock också studier som tyder på att IL-17 inducerad NO produktion kan ha en skyddande effekt mot broskdegeneration (Miljkovic & Trajkovic, 2004). Det finns också senare bevis för att ett NO redox-derivat skulle ha en skyddande effekt på brosket i leden. NO kan alltså tänkas ha en mer komplex roll än man tidigare trott (Abramson, 2008).

PGE<sub>2</sub> är en annan proinflammatorisk mediator vars nivå är förhöjd i ledbrosk, synovialmembran och synovialvätska i leder med OA. En mycket vanlig behandlingsform mot OA hos människa är därför att inhibera PGE<sub>2</sub> syntes genom COX-2 hämmare. I ledbrosk från menisken hos människor med OA ledde IL-1 $\beta$  men inte TNF $\alpha$  eller IL-17 till en signifikant ökning av PGE<sub>2</sub>. IL-17 tillsammans med IL-1 $\beta$  eller TNF $\alpha$  gav en signifikant ökning jämfört med båda cytokinerna utan IL-17 vilket pekar på en synergieffekt (LeGrand *et al.*, 2001). I en annan studie som pekar åt samma håll uppreglerade dock IL-17 ensamt uttrycket av mikrosomalt prostaglandin E-syntetas 1 i kondrocyter. Dock gav både IL-17 och TNF $\alpha$  en mindre potent uppreglering jämfört med IL-1 $\beta$ . Även här sågs en synergieffekt tillsammans med IL-1 $\beta$  och TNF $\alpha$  och dessutom testades alla tre cytokinerna tillsammans och då sågs en ännu starkare uppreglering av mikrosomalt prostaglandin E syntetase 1 (Li *et al.*, 2004).

Matrixnedbrytande enzymer är som tidigare nämnts viktiga för sjukdomsförloppet vid OA. I en *in vitro* studie på porcint ledbrosk ledde exponering för IL-17 till ökad nedbrytning av- och minskad syntes av extracellulärmatris i brosket. Den nedbrytande effekten verkade bero på aggreganase-aktivitet och inte på matrixdegraderande proteinaser (MMPs). Effekten var inte beroende av samtidig exponering för andra cytokiner men tillsammans med IL-1 uppvisades en additiv effekt på de katabola processerna i brosket (Cai *et al.*, 2001). En annan studie visade dock att IL-17 kan inducera MMP-13 (kollagenas 3) i kondrocyter från OA patienter. IL-17 var mindre potent än IL-1 $\beta$  vilket enligt studien beror på att de signalerade via olika signalvägar (Benderdour *et al.*, 2002). Denna skillnad kan dock ha berott på att man i det första försöket använde hela broskbitar emedan man i det senare använde sig av kondrocyter odlade i ett enkelt lager *in vitro*. Odlingsförhållanden verkar alltså kunna påverka resultaten av liknande studier skriver Cai *et al.* (2001).

OA är ofta associerat med en inflammerad, förtjockad ledkapsel med proliferation av synoviocyter, infiltration av monocyter och mononukleära celler samt en ökad vaskularisering. (Honorati *et al.*, 2006) Det kan vara så att denna inflammation initieras av nedbrytningsprodukter från ledbrosket. En förtjockad inflammerad ledkapsel har dock också påvisats tidigt i förloppet vid OA. Det är alltså oklart om inflammationen är primär eller sekundär till förändringarna i ledbrosket (Ekman, 2010). Proliferationen av synoviocyter kan drivas av IL-8, ett cytokin som IL-17 uppreglerar uttrycket av. Den ökade vaskulariseringen beror på ett ökat uttryck av proangiogena faktorer. IL-17 har visat sig kunna uppreglera flera

sådana faktorer, däribland *vascular endothelial growth factor* som räknas som den viktigaste (Honorati *et al.*, 2006).

Vid OA sker förändringar i det subkondrala benet som leder till en sklerotiserad benvävnad med mikrofrakturer, bencystor, vaskularisering samt osteofyter (Ekman 2010). IL-17 inducerar osteoklastogenes och verkar genom detta nedbrytande på benvävnaden. Mekanismerna för detta är ännu inte helt kända men in vitro har IL-17 visats uppreglera receptor aktivator av NF- $\kappa$ B ligand (Braun & Zwerina, 2011).

Produktionen av andra proinflammatoriska cytokiner som IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 och TNF $\alpha$  kan också stimuleras av IL-17 (Benderdour *et al.*, 2002).

### **Synergi med andra cytokiner**

IL-17 visar potent synergi med framförallt TNF $\alpha$  men även IL-1 $\beta$ , LT $\alpha$  och IFN $\gamma$ . (Gaffen, 2011). Som beskrivits ovan ser man, i studier gällande induceringen av proinflammatoriska mediatorer som NO och PGE<sub>2</sub>, en synergistisk effekt mellan IL-17 och både IL-1 $\beta$  och TNF $\alpha$  (Miljkovic & Trajkovic, 2004; Li *et al.*, 2004). Vid induktion av matrixdegraderande enzymer och proangiogena faktorer visar andra studier dock bara på en additiv effekt (Cai *et al.*, 2001; Honorati *et al.*, 2005). Mekanismerna som ligger bakom synergin är inte helt klarlagda. Sønderet *et al.* (2011) skriver som tidigare nämnts att mRNA som inducerats av TNF- $\alpha$  kan stabiliseras av IL-17.

### **IL-17 som mål för behandling/diagnostik av OA**

I en stor studie på människa (n=1452), kartlades sambandet mellan radiologiska förändringar i leden hos patienter med OA och uttrycket av olika inflammatoriska faktorer i serum. I studien hittade inget samband mellan graden av osteoartrit och mängden IL-17 (Pantsulaia *et al.*, 2010). I en annan studie på möss skapade man en modell av OA genom att operera bort den mediala menisken. Sedan användes *high affinity DNA ligands (aptamers)* riktade mot IL-17RA för att blockera IL-17:s verkan i knälederna. Detta visade sig leda till minskad produktion av IL-6 och en minskad inflammation i synovialmembranet. Man kunde dock inte se någon skillnad på skador i ledbrusket mellan gruppen som behandlats med aptamers och en kontrollgrupp sprutad med fostfatbuffrad koksaltlösning (PBS) (Chen *et al.*, 2011).

Enligt Pappu *et al.* (2011) pågår lovande kliniska försök med olika molekyler vars syfte är att bromsa olika delar av IL-17s signalväg hos patienter med reumatoid artrit, psoriasis eller autoimmun uveit men de behöver dock utvärderas ytterligare.

## **DISKUSSION**

Osteoartrit är en mycket vanlig och viktig sjukdom hos både människor och hos hästar. Behovet av nya och bättre behandlingsmetoder är stort. Terapier som inte bara minskar symtomen utan också samtidigt förändrar sjukdomens förlopp genom att bromsa, stoppa eller till och med läka de degenerativa förändringarna i leden är drömmen för framtiden inom detta område. Här kan mer kunskap om de inflammatoriska signalvägar som är aktiva vid OA vara

en väg framåt. Genom kunskap om vilka cytokiner som är involverade och hur dessa påverkar sjukdomsförloppet kan man kanske hitta sätt att bromsa det katabola förloppet i leden. Kanske kan man till och med inducera reparation av skadade strukturer i leden. Frågan som ställts i det här arbetet är om IL-17 skulle kunna vara ett av dessa viktiga cytokiner.

Exakt vilken roll IL-17 spelar, eller om det är speciellt viktig alls i det patologiska förloppet vid osteoartrit, är långt ifrån utrett. Enligt den sammanställning av litteraturen som redovisas i det här arbetet, verkar IL-17 dock ha förutsättningarna för att kunna vara det. Cytokinet kan påverka flera av de processer som har visat sig vara viktiga för sjukdomsförloppet vid OA. Det har visat sig inducera både NO (LeGrand *et al.*, 2001) och PGE<sub>2</sub> (LeGrand *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2004) produktion i ledbrosk. I porcint ledbrosk ledde exponering för IL-17 både till ökad nedbrytning och minskad syntes av extracellulärt matrix (Cai *et al.*, 2001). IL-17 kan öka produktionen av andra proinflammatoriska cytokiner som IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 och TNF $\alpha$  (Benderdour *et al.*, 2002) samt proangiogena faktorer (Honorati *et al.*, 2006). Dessutom uppvisar IL-17 potent synergi framförallt med TNF $\alpha$  men även med IL-1 $\beta$ , LT $\alpha$  och IFN $\gamma$  (Graffen, 2011).

IL-17 kan påverka det subkondrala benet genom att inducera osteoclastogenes som leder till en ökad nedbrytning av benvävnaden (Braun & Zwerina, 2011). Vid OA sker en sklerotisering, det vill säga en förtätning, snarare än en generell nedbrytning av benet (Ekman, 2010) vilket talar emot IL-17:s roll i processen. Det finns dock indikationer på att en ökad nedbrytning av benet ses tidigt i sjukdomsförloppet (Tat *et al.*, 2008).

Endast ett fåtal Th17 celler verkar finnas i leden vid human OA (Yamada *et al.*, 2011). Detta motsäger också IL-17:s roll i utvecklingen av OA då Th17 räknas som den främsta producenten av IL-17 i kroppen (Pappu *et al.*, 2011). Det kan dock vara så att det i stället är mastceller som är den främsta IL-17 producerande cellen vid OA hos människa (Suurmond *et al.*, 2011).

Slutligen är det självklart relevant om man kunnat påvisa IL-17 i leder med OA. Det finns ännu inte någon uppsjö av studier gjorda på detta område. På människa har man påvisat nivåer/uttryck av IL-17 signifikant högre än i kontroll i både ledvätska och serum från patienter med OA (Hussein *et al.*, 2008; Vernal *et al.*, 2008). IL-17 har dessutom påvisats i synovialvätska hos människor med OA i ytterligare en studie (Suurmond *et al.*, 2011). Även i en modell av OA på råttor hittade man signifikant högre nivåer av IL-17 jämfört med kontroll (Braza-Boïls *et al.*, 2011).

I den enda studie som hittats där man mätt uttrycket av IL-17 hos häst observerades dock inget mätbart uttryck vare sig i synovialmembranet eller i ledbrosket (Kamm *et al.*, 2009). I den här studien använde man sig av qRT-PCR för att mäta uttrycket av mRNA för IL-17 i cellerna. Författarna redovisar inte exakt vad de har använt som underlag för sina primers och prober och resultatet kan därför ifrågasättas. Å andra sidan har de testat sin qRT-PCR på *E. coli* och lipopolysaccaridstimulerade monocyter och sett ett högt uttryck av mRNA för IL-17 i

dessa. Det anges dock inte om de kontrollsekvenserat sina PCR-produkter så man kan inte vara helt säker på vad de hittat i monocytterna.

Det kan också spekuleras i om cytokinuttrycket verkligen är detsamma vid olika stadier av sjukdomsförloppet vid OA. Kanske kan man bara påvisa uttryck av IL-17 mRNA vid vissa stadier? Då skulle det också kunna vara så att IL-17 kan påvisas i ledvätska under ett större tidsspänn än den produceras, alltså att påvisbara nivåer av IL-17 kan finnas även efter att cellerna slutat uttrycka den. Då kanske den är lättare att påvisa med ELISA, vilket är den metod som företrädesvis använts i de studier där de hittats på människa och råtta. Självklart kan det också finnas djurslagsskillnader i uttryck av olika cytokiner.

För att kunna säga om IL-17 är relevant eller inte vid OA och specifikt vid ekvin OA behövs det helt klart mer forskning på området. I nuläget finns det både faktorer som pekar på att IL-17 är viktig för utveckling av OA, som dess förmåga att inducera viktiga mediatorer i sjukdomsförloppet och att den påvisats i studier på människa och råtta, samt faktorer som pekar emot, som att IL-17 i flera studier är mindre potent än IL-1 $\beta$  och att den inte kunde påvisas hos häst i studien av Kamm *et al* (2009).

IL-17 skulle ju också kunna fungera som en bidragande faktor av mindre betydelse i processen. Som de viktigaste cytokinerna vid OA i dagsläget räknas IL-1 $\beta$  och TNF $\alpha$ . IL-17 har många liknande egenskaper som dessa två när det gäller förmågan att inducera mediatorer viktiga vid OA men är många gånger mindre kraftfull. Dock uppvisar IL-17 en potent synergi med de båda andra cytokinerna vilket kan bero på dess förmåga att stabilisera mRNA som inducerats av de andra cytokinerna. Kanske kan det finnas en nytta av att i nuvarande eller framtida behandlingar där man blockerar verkan av antingen IL-1 $\beta$  eller TNF $\alpha$  även blockera IL-17s verkan.

Om det finns någon framtid i att blockera IL-17 ensamt som terapi mot OA hos människa eller häst är det alldeles för tidigt att säga något om. Det behövs mer forskning för att reda ut hur relevant IL-17 är vid OA och vilka funktioner det har. Det som går att säga i dagsläget är dock att man heller inte kan avskriva IL-17 helt.

## REFERENSER

- Abramson, S. B. (2008). Osteoarthritis and nitric oxide. *Osteoarthritis and Cartilage*, 16, 15–20.
- Benderdour, M., Tardif, G., Pelletier, J-P., Di Battista, J A., Reboul, P., Ranger, P., Martel-Pelletier, J. (2002). Interleukin 17 (IL-17) induces collagenase-3 production in human osteoarthritic chondrocytes via AP-1 dependent activation: differential activation of AP-1 members by IL-17 and IL-1beta. *The Journal of Rheumatology*, 29, 1262–1272.
- Braza-Boïls, A., Alcaraz, M. J., Ferrándiz, M. L. (2011). Regulation of the inflammatory response by tin protoporphyrin IX in the rat anterior cruciate ligament transection model of osteoarthritis. *Journal of Orthopaedic Research: Official Publication of the Orthopaedic Research Society*, 29, 1375–1382.



- Braun, T., Zwerina, J. (2011). Positive regulators of osteoclastogenesis and bone resorption in rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy*, 13, doi: 10.1186/ar3380.
- Cai, L., Yin, J.P., Starovasnik, M. A., Hogue, D. A., Hillan, K. J., Mort, J. S., Filvarof, E. H. (2001) Pathways by which interleukin 17 induces articular cartilage breakdown in vitro and in vivo. *Cytokine*, 16, 10–21.
- Chen, L., Li, D.Q., Zhong, J., Wu, X.L., Chen, Q., Peng, H., Liu, S.Q. (2011). IL-17RA aptamer-mediated repression of IL-6 inhibits synovium inflammation in a murine model of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 19, 711–718.
- Ekman, S. (2010). Den aseptiska artritens patofysiologi. *Information från Läkemedelsverket*, 1, 14-17.
- Gaffen, S. L. Recent advances in the IL-17 cytokine family (2011). *Current Opinion in Immunology*, 23, 613–619.
- Ho, A. W., Gaffen, S. L. (2009). IL-17RC: a partner in IL-17 signaling and beyond. *Seminars in Immunopathology*, 32, 33–42.
- Honorati, M.C., Neri, S., Cattini, L., Facchini, A. (2006) Interleukin-17, a regulator of angiogenic factor release by synovial fibroblasts. *Osteoarthritis and Cartilage*, 14, 345–352.
- Hussein, M. R., Fathi, N. A., Ezz El-Din, A. M., Hassan, H. I., Abdullah, F., Al-Hakeem, E., Backer, E. A. (2008). Alterations of the CD4(+), CD8 (+) T cell subsets, interleukins-1beta, IL-10, IL-17, tumor necrosis factor-alpha and soluble intercellular adhesion molecule-1 in rheumatoid arthritis and osteoarthritis: preliminary observations. *Pathology Oncology Research*, 14, 321–328.
- Kamm, J. L., Nixon, A. J., Witte, T. H. (2010). Cytokine and Catabolic Enzyme Expression in Synovium, Synovial Fluid and Articular Cartilage of Naturally Osteoarthritic Ekvine Carpi. *Ekvine Veterinary Journal*, 42, 693–699.
- LeGrand, A., Fermor, B., Fink, C., Pisetsky, D. S., Weinberg, J. B., Vail, T. P., Guilak, F. (2001). Interleukin-1, Tumor Necrosis Factor A, and Interleukin-17 Synergistically Up-regulate Nitric Oxide and Prostaglandin E2 Production in Explants of Human Osteoarthritic Knee Menisci. *Arthritis & Rheumatism*, 44, 2078–2083.
- Li, X., Afif, H., Cheng, S., Martel-Pelletier, J., Pelletier, J-P., Ranger, P., Fahmi, H. (2005). Expression and regulation of microsomal prostaglandin E synthase-1 in human osteoarthritic cartilage and chondrocytes. *The Journal of Rheumatology*, 32, 887–895.
- Miljkovic, D., Trajkovic, V. (2004). Inducible nitric oxide synthase activation by interleukin-17. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 15, 21–32.
- Pantsulaia, I., Kalichman, L., Kobylansky, E. (2010). Association between radiographic hand osteoarthritis and RANKL, OPG and inflammatory markers. *Osteoarthritis and Cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society*, 18, 1448–1453.
- Pappu, R., Ramirez-Carrozzi, V., Sambandam, A. (2011). The Interleukin-17 Cytokine Family: Critical Players in Host Defence and Inflammatory Diseases. *Immunology*, 134, 8–16.
- Suurmond, J., Dorjée, A. L., Boon, M. R., Knol, E. F., Huizinga, T. W., Toes, R. M., Schuerwegh, A. J. (2011). Mast cells are the main interleukin 17-positive cells in anticitrullinated protein antibody-positive and -negative rheumatoid arthritis and osteoarthritis synovium. *Arthritis Research & Therapy*, 13, R150.

- Sønder, S. U., Saret, S., Tang, W., Sturdevant D. E., Porcella, S. F., Siebenlist, U. (2011). IL-17-induced NF-kappaB activation via CIKS/Act1: physiologic significance and signaling mechanisms. *Journal of biological chemistry*, 286, 12881-12890.
- Tat, S. K., Pelletier, J-P., Velasco, C.R., Padrines, M., Martel-Pelletier, J. (2009). New perspective in osteoarthritis: the OPG and RANKL system as a potential therapeutic target? *The Keio Journal of Medicine*, 58, 29–40.
- Vernal, R., Velásquez, E., Gamonal, J., Garcia-Sanz, J. A., Silva, A., Sanz, M. (2008). Expression of proinflammatory cytokines in osteoarthritis of the temporomandibular joint. *Archives of Oral Biology*, 53, 910–915.
- Yamada, H., Nakashima, Y., Okazaki, K., Mawatari, T., Fukushi, J., Oyamada, A., Fujimura, K., Iwamoto, Y., Yoshikai, Y. (2011). Preferential accumulation of activated Th1 cells not only in rheumatoid arthritis but also in osteoarthritis joints. *The Journal of Rheumatology*, 38, 1569–1575.