

# DEFICIËNTIE VAN MANNOSEBINDEND LECTINE – RISICOFACITOR VOOR INFECTIES?

**Auteur** N. Brouwer

**Trefwoorden** aangeboren afweer, complement, mannosebindend lectine, neonatologie, oncologie

## Samenvatting

Op 26 juni 2008 promoveerde mw. drs. N. Brouwer aan de Universiteit van Amsterdam op het proefschrift 'The role of mannose-binding lectin in vitro and in vivo'. Dit onderzoek werd uitgevoerd op het Sanquin Research instituut en het Landsteiner Laboratorium in nauwe samenwerking met het Emma

Kinderziekenhuis en het Academisch Medisch Centrum Amsterdam. Zij werd begeleid door de promotors dhr. prof. dr. T.W. Kuijpers en dhr. prof. dr. D. Roos, en co-promotor dhr. dr. K.M. Dolman. In dit artikel worden de belangrijkste bevindingen van het promotieonderzoek weergegeven.

(Ned Tijdschr Allergie 2009;9:74-6)

## Inleiding

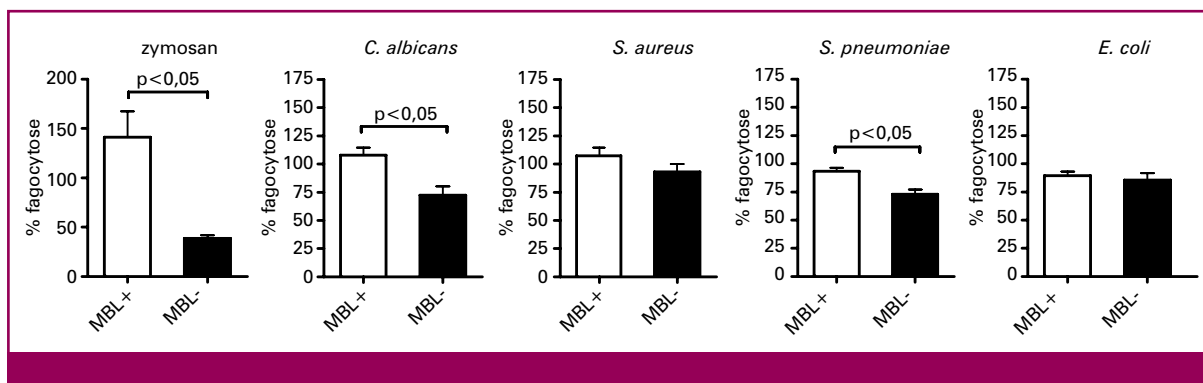
Mannosebindend lectine (MBL) is een bloedeiwit dat kan binden aan repeterende suikerstructuren op het oppervlak van micro-organismen. Eénmaal gebonden aan een micro-organisme activeert MBL de lectineroute van het complementsysteem, hetgeen resulteert in opsonisatie en fagocytose van het micro-organisme door neutrofiële granulocyten.

MBL-deficiëntie die wordt veroorzaakt door puntmutaties in exon 1 van het *MBL2*-gen, is de meest voorkomende complementdeficiëntie in de blanke bevolking (30% heeft een MBL-deficiëntie met lage tot zeer lage concentraties MBL). De concentratie MBL in het serum van verschillende mensen varieert met een factor 1.000, van 5 ng/ml tot meer dan 5 µg/ml, met een mediane concentratie rond 1,5 µg/ml.<sup>1</sup>

MBL-deficiëntie leidt niet tot een verhoogd risico op infecties, ziekte of overlijden bij kinderen of volwassenen. Maar MBL-deficiëntie in combinatie met een andere immuundeficiëntie is wel een risicofactor voor infecties, of een slechtere prognose van een ziekte. Dit onderzoek beschrijft de rol van MBL bij opsonisatie en fagocytose in vitro; daarnaast is de in-vivorol van MBL in verschillende patiëntengroepen onderzocht.

## MBL in vitro: MBL-gemedieerde opsonisatie en fagocytose

Om complementactiviteit in vitro te meten werden verschillende fluorescerend gemaakte micro-organismen (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* en zymosan (*Saccharomyces cerevisiae* extract) geopsoniseerd met serum van gezonde, MBL-sufficiënte en MBL-deficiënte donoren. Fagocytose van de micro-organismen (zie *Figuur 1* op pagina 76) en complementfactor-C3-depositie werden gemeten als maat voor opsonisatie van de micro-organismen. Met MBL-deficiënte sera werd een verlaagde C3-depositie op zowel zymosan als *Candida albicans* gevonden. Tevens werd een gereduceerde fagocytose van deze gisten door neutrofiële granulocyten waargenomen, die kon worden hersteld door MBL-toevoeging.<sup>2</sup> In tegenstelling tot de resultaten met de gisten, verliep de opsonisatie en fagocytose van de bacteriën voornamelijk op een C1q-afhankelijke wijze, en werd er geen effect van MBL-deficiëntie waargenomen (het verschil bij *Streptococcus pneumonia* (zie *Figuur 1* op pagina 76) werd opgeheven na het blokkeren van de klassieke route). De efficiëntie van de lectineroute-opsonisatie werd verhoogd door de amplificatielus van de alternatieve route.<sup>3</sup>



**Figuur 1.** Fagocytose van (van links naar rechts): zymosan, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* en *Escherichia coli* na opsonisatie met mannosebindend lectine (MBL)-sufficiënte (MBL+, □) of MBL-deficiënte (MBL-, ■) sera (n=10 in iedere groep).

### MBL in vivo: MBL-deficiëntie in immuun-gecompromitteerde patiënten

#### Neonaten

Neonaten zijn volledig afhankelijk van hun aangeboren immuunsysteem en van moederlijke antistoffen, en zijn daardoor vatbaar voor infecties, vooral op de neonatale intensive-care-unit (NICU). De klinische associatie tussen MBL-deficiëntie en het risico op infecties en dus complicaties tijdens de eerste weken na de geboorte is onderzocht. Vergeleken met volwassen controlepersonen waren de MBL-concentraties verlaagd bij alle neonaten, ook als ze een wildtype *MBL2*-gen hadden. Dit komt waarschijnlijk doordat de onvolgroeide lever onvoldoende MBL produceert. De MBL-concentratie was geassocieerd met de zwangerschapsduur. In neonaten met het wildtype *MBL2*-gen was een stijging in de MBL-concentratie te zien in de eerste weken na de geboorte.<sup>4</sup> Bij neonaten opgenomen op de NICU en met een MBL-deficiëntie bij de geboorte werd een verhoogd risico gevonden op sepsis in de eerst 72 uur na de geboorte, en op pneumonie (zie *Figuur 2*).<sup>5</sup>

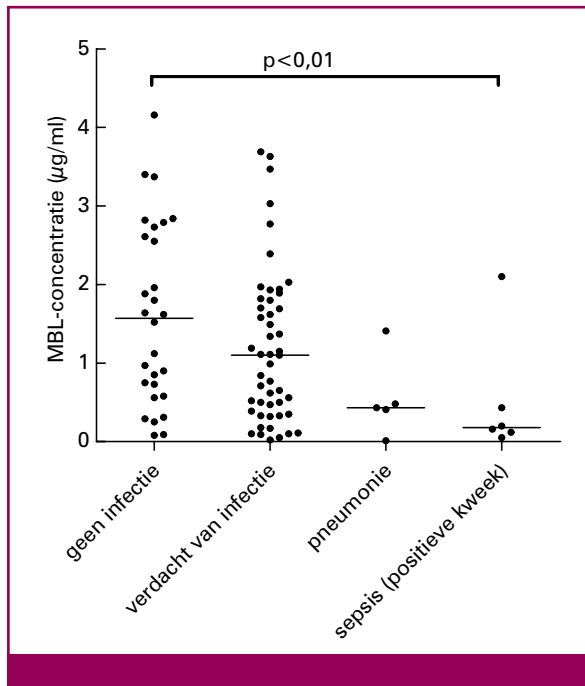
#### Oncologiepatiënten met een door chemotherapie geïnduceerde neutropenie

Pediatrie oncologiepatiënten met een door chemotherapie geïnduceerde neutropenie zijn ook tijdelijk immuundeficiënt door het gebrek aan leukocyten. Deze patiënten lijden vaak tijdens de neutropene periodes aan koorts, en soms ontwikkelen zich ernstige infectieuze complicaties, waarvoor MBL-deficiëntie een risicofactor kan zijn. Toch werd er geen associatie gevonden tussen MBL-deficiëntie en de ernst of het voorkomen van infecties tijdens een neutropene periode. De meeste kinderen hadden een ernstige neutropenie (<100 cellen/ $\mu$ l), waardoor de fagocy-

tose dusdanig verstoord was dat MBL-deficiëntie niet leidde tot een verdere verslechtering van die functie.<sup>4</sup>

#### MBL-substitutie

MBL-substitutie bij MBL-deficiënte gezonde vrijwilligers, met plasmagezuiverd MBL (Statens Serum Institut, Kopenhagen; MBL-SSI), is een veilige procedure en herstelt de MBL-concentratie.<sup>6,7</sup> In het proefschrift van mw. dr. N. Brouwer wordt een fase-II klinische studie beschreven waarin onderzoek is gedaan naar de farmacokinetiek en veiligheid van MBL-SSI bij 12 kinderen met een neutropenie door een chemotherapiebehandeling. Met de 2-wekelijkse toediening van MBL-SSI werden MBL-sufficiënte waarden bereikt (mediaan 1,06  $\mu$ g/ml) en was de halfwaardetijd 36 uur. Er traden geen MBL-gerelateerde bijwerkingen op.<sup>8</sup> Daarnaast is onderzoek gedaan naar herstel van in-vitro complementactiviteit, opsonisatie en fagocytose na MBL-infusie, als biologische surrogaatmeting. Toediening van MBL-SSI leidde tot een stijging in complementactiviteit (gemeten als C3- en C4-binding) en opsonisatie van zymosandeeltjes (van 24% voor tot 75% na infusie). Hoewel de gewenste dalwaarde van 1,00  $\mu$ g/ml wel bereikt werd, bleek dit onvoldoende voor een optimale biologische effectiviteit bij kinderen met kanker en chemotherapie. Dit kwam enerzijds door het verlies van 40% van de biologische functie van MBL tijdens het zuiveringsproces, anderzijds door de neutropenie bij de kinderen. Die veroorzaakte een verlaagde alternatieve routeactiviteit en een verminderde MBL-geassocieerde serineprotease-2(MASP-2)-activiteit, bij normale MASP-2-concentratie en -binding. Beide zijn van belang voor een optimale complementactiviteit van de lectineroute.<sup>8</sup>



**Figuur 2.** Infectieuze uitkomst in de eerste levensmaand. Mannosebindend lectine (MBL)-concentratie in neonaten zonder infectie (n=28) die verdacht werden van infectie (n=49), met pneumonie (n=5) of met bewezen sepsis (positieve kweek n=6).

## Conclusie

Het in-vitro-onderzoek toont aan dat voornamelijk gisten een MBL-afhankelijke opsonisatie en fagocytose laten zien, terwijl verschillende bacteriestammen MBL-onafhankelijk geopsoniseerd worden. Voor een optimale functie van de complementlectineroute is een intacte alternatieve route noodzakelijk. De in vivo neonatale MBL-associatiestudies tonen aan dat neonaten een verlaagde concentratie MBL hebben, ongeacht het *MBL2*-genotype. Lage MBL-concentraties in neonaten zijn gecorreleerd met een verhoogd risico op infectie, pneumonie en sepsis tijdens NICU-opname. MBL-SSI-infusie is veilig en zorgt voor voldoende MBL-waarden. Ondanks de voldoende MBL-waarden was er onvoldoende herstel van in-vitro-gemeten biologische surrogatemarkers. Bij een vervolgstudie (fase III) naar de klinische voordelen van MBL-infusie zou daarom voor een hogere dosering MBL gekozen moeten worden. Gezien de bijkomende complementproblemen bij neutropenie zou een andere patiëntengroep gekozen moeten worden. MBL-deficiënte neonaten zouden een goede doelgroep zijn voor een placebo-gecontroleerde fase-III klinische studie met MBL-substitutie.

## Referenties

1. Turner MW, Hamvas RM. Mannose-binding lectin: structure, function, genetics and disease associations. *Rev Immunogenet* 2000;2:305-22.
2. Brouwer N, Dolman KM, Van Houdt M, Sta M, Roos D, Kuijpers TW. Mannose-binding lectin (MBL) facilitates opsonophagocytosis of yeasts but not of bacteria despite MBL binding. *J Immunol* 2008;180:4124-32.
3. Brouwer N, Dolman KM, Van Zwieten R, Nieuwenhuys E, Hart M, Aarden LA, et al. Mannose-binding lectin (MBL)-mediated opsonization is enhanced by the alternative pathway amplification loop. *Mol Immunol* 2006;43:2051-60.
4. Frakking FN, Brouwer N, Zweers D, Merkus MP, Kuijpers TW, Offringa M, et al. High prevalence of mannose-binding lectin (MBL) deficiency in premature neonates. *Clin Exp Immunol* 2006;145:5-12.
5. Frakking FN, Brouwer N, Van Eijkelenburg NK, Merkus MP, Kuijpers TW, Offringa M, et al. Low mannose-binding lectin (MBL) levels in neonates with pneumonia and sepsis. *Clin Exp Immunol* 2007;150:255-62.
6. Laursen I, Houen G, Hojrup P, Brouwer N, Krosgoe LB, Blou L, et al. Second-generation nanofiltered plasma-derived mannose-binding lectin product: process and characteristics. *Vox Sang* 2007;92:338-50.
7. Valdimarsson H, Vikingsdottir T, Bang P, Saevarsdottir S, Gudjonsson JE, Oskarsson O, et al. Human plasma-derived mannose-binding lectin: a phase I safety and pharmacokinetic study. *Scand J Immunol* 2004;59:97-102.
8. Frakking FN, Brouwer N, Van de Wetering MD, Budde IK, Strengers PF, Huitema AD, et al. Safety and pharmacokinetics of plasma-derived mannose-binding lectin (MBL) substitution in children with chemotherapy-induced neutropenia. *Eur J Cancer* 2009;45:505-12.

Ontvangen 10 oktober 2008, geaccepteerd 21 oktober 2008.

## Correspondentieadres

**Mw. dr. N. Brouwer, klinisch chemicus in opleiding**

Medisch Centrum Alkmaar  
 Klinisch Chemisch Laboratorium  
 Postbus 501  
 1800 AM Alkmaar  
 Tel.: 072 548 44 44  
 E-mailadres: n.brouwer@mca.nl

Belangenconflict: geen gemeld.  
 Financiële ondersteuning: dit onderzoek werd ondersteund door de Landsteiner Stichting voor Bloedtransfusie Research (LSBR no. 0207).