

# De Transformatiehypothese

## Een nieuw concept voor de rol van darmbacteriën bij reactieve artritis, ankyloserende spondylitis en andere inflammatoire (auto-)immuunziekten

Eric van Kregten

### De Transformatiehypothese in een notendop

Over de mogelijke rol van micro-organismen bij de pathogenese van reactieve artritis, ankyloserende spondylitis en andere auto-immuunachtige ziektebeelden is in de jaren 80 van de vorige eeuw veel onderzoek verricht. Verschillende hypothesen, waaronder de hier voorgestelde transformatiehypothese, zagen het licht maar konden niet worden bevestigd.

In deze transformatiehypothese wordt het klassieke concept – dat een pathogeen micro-organisme bij binnenkomst in de darm de pathogene eigenschap reeds bij zich draagt – verlaten en stellen we een model voor waarbij een bacterie een potentieel pathogene eigenschap 'verkrijgt' in de darm door incidentele opname van humaan DNA. Indien de bacterie vervolgens in staat is om hiermee een humaan antigeen te produceren en tot expressie te brengen, kan dit het immuunapparaat in de darmwand aanzetten tot een humorale en/of cellulaire reactie tegen het aldus gepresenteerde humane antigeen. Deze auto-immunreactie zou het begin kunnen zijn van een auto-immuunziekte, zoals bijvoorbeeld ankyloserende spondylitis.

Omdat de DNA-technologie indertijd nog in de kinderschoenen stond, kon de hypothese niet worden getoetst. Door voortschrijdende ontwikkeling van de moleculaire biologie is het nu wellicht mogelijk om het onderzoek een nieuwe wending te geven. Indien deze hypothese juist blijkt te zijn, zou dat ook gevolgen kunnen hebben voor ons inzicht in het ontstaan van andere auto-immuunziekten.

### The Transformation hypothesis in a nutshell

About the possible role of microorganisms in the pathogenesis of reactive arthritis, ankylosing spondylitis and other autoimmune-like diseases much research has been done in the 80s of last century. Several hypotheses, among which the here described Transformation hypothesis, were proposed, but could not be confirmed.

In this hypothesis, the classical concept – a pathogenic microorganism is always carrying the pathogenic property upon entering the intestine – is abandoned and we propose a model in which a bacterium 'acquires' a potentially pathogenic feature in the gut by incidental incorporation of human DNA through transformation. If that bacterium consequently will be able to produce a human antigen it may, upon contact with the intestinal wall, evoke a humoral and/or cellular immune response against the thus presented human antigen. This autoimmune reaction could be the beginning of an autoimmune disease, like for example ankylosing spondylitis.

Because the DNA technology at the time was still in its infancy, the hypothesis could not be tested. However, with modern sophisticated molecular biology, it may be possible to give this research a new direction. If this hypothesis proves to be correct, it may also have implications for our understanding of the emergence of some other autoimmune diseases.

### Reactieve artritiden en relatie met darminfecties

Drs. E. van Kregten, arts-microbioloog, Leusden.  
Correspondentieadres: drs. E. van Kregten  
(ericvankregten4@gmail.com).\*

Bij het ontstaan van reactieve artritiden spelen micro-organismen in de darm een onmiskenbare rol.<sup>1</sup> Bekend zijn de gewrichtsontstekingen die kunnen optreden korte tijd na een darminfectie met bekende darm-pathogenen, zoals *Yersinia* sp., *Shigella* sp., *Salmonella* sp. en *Campylobacter* sp. Maar ook andere micro-organismen, zoals *Chlamydia* sp., *Neisseria gonorrhoeae* en mycobacteriën kunnen hierbij een rol spelen. Lang niet alle stammen van de genoemde pathogene micro-organismen bezitten echter die artritogene eigenschap en de eigenschap is ook niet gebonden aan één soort micro-organisme. Daarnaast ontwikkelt slechts een beperkt aantal mensen, na contact met een artritogeen micro-organisme, reactieve artritis, waarbij het MHC klasse I-eiwit HLA-B27 een belangrijke predisponerende genetische factor is.<sup>1</sup> Ook een aantal andere aan reactieve artritis verwante ziektebeelden vertoont een sterke relatie met de aanwezigheid van het HLA-B27-antigeen, zoals ankyloserende spondylitis (AS, de ziekte van Bechterew), de ziekte van Crohn, colitis ulcerosa, psoriasis en acute anterieure uveïtis (AAU).<sup>2</sup> AS spant de kroon; 90% van de patiënten bezit het HLA-B27-antigeen.<sup>1</sup> Niet zelden treden de ziektebeelden in combinatie op.<sup>3</sup>

### Transformatiehypothese en ankyloserende spondylitis

Afgelopen decennia zijn verschillende hypothesen beschreven over de relatie tussen HLA-B27, bovenstaande ziektebeelden en artritogene micro-organismen. Ebringer *et al.* kwamen met de 'cross-tolerance hypothese', waarbij immunologische kruisreacties tussen antigenen afkomstig van HLA-B27 en bacteriële antigenen afkomstig van *Klebsiella*-stammen verantwoordelijk zouden zijn voor het ontstaan en ziektebeloop bij AS.<sup>4</sup>

Geczy *et al.* breidden de hypothese verder uit door te stellen dat het HLA-B27 eiwit zelf niet het kruisreagerende peptide leverde, maar dat HLA-B27 het kruisreagerende antigeen als receptor presenteerde ('receptor-hypothese'). Naast sommige *Klebsiella*-stammen bleken ook andere bacteriesoorten, waaronder *Salmonella*, *Shigella* en *Escherichia* sp. soms de kruisreagerende eigenschap te bezitten.<sup>5</sup> Ondanks verwoede pogingen zijn de data omtrent het kruisreagerende,

vermoedelijk artritogene peptide, gepresenteerd door HLA-B27, nooit gereproduceerd.<sup>6</sup>

Conjugatieproeven lieten indertijd zien dat de genetische basis voor dit kruisreagerende antigeen middels horizontale genoverdracht overdraagbaar was van een *Klebsiella*-stam op een *E. coli*-stam, wellicht via een plasmide of transposon,<sup>7</sup> een mechanisme dat vergelijkbaar is met de overdracht van antibioticumresistentiegenen. Daarnaast waren er sterke aanwijzingen dat zowel cellen van de patiënt als de kruisreagerende bacterie een identiek stukje DNA-genoom bezaten, coderend voor het kruisreagerende antigeen.<sup>8</sup> Bekend is dat bacteriën in staat zijn om DNA uit het medium op te nemen (transformatie). In het lumen van de darm komen dagelijks fragmenten van DNA-genoom terecht afkomstig van afgestorven darmepitheelcellen. Wellicht zijn sommige micro-organismen in staat deze humane DNA-genoomfragmenten te incorporeren in het genoom. Deze vorm van interspecies horizontale (of laterale) genoverdracht vormde het fundament van de 'transformatiehypothese' voor het ontstaan van reactieve artritiden.

### De transformatiehypothese

De transformatiehypothese veronderstelt dat in het geval van bovengenoemde reactieve aandoeningen de ziekmakende factor, hier de artritogene eigenschap, door de bacterie pas in de darm van de patiënt wordt verworven door incidentele opname van humaan genoom-DNA. Indien vervolgens een humaan antigeen, waarvoor dit DNA-fragment codeert, door de bacterie kan worden geproduceerd, dan zou dit, na contact van de bacterie met het immuunsysteem van de darm, via presentatie door HLA-B27 kunnen resulteren in een humorale en/of cellulaire auto-immunrespons.

In de jaren 80 van de vorige eeuw bleek het niet mogelijk de transformatiehypothese te toetsen, met name omdat de DNA-technologie nog in de kinderschoenen stond. In de huidige tijd, nu het DNA-onderzoek veel meer mogelijkheden biedt, lijkt de tijd rijp om deze indertijd gepostuleerde hypothese te toetsen.<sup>9</sup> Een bevestigende bevinding is dat recent bij sommige *N. gonorrhoeae*-stammen een genoom-DNA-fragment afkomstig van de mens in het bacteriële genoom is

aangetoond.<sup>10</sup> Dit is een voorbeeld van horizontale genoverdracht, waarvan het mechanisme nog niet is opgehelderd en wellicht ook beschikbaar is voor andere prokaryoten die een nauwe relatie hebben met de mens, zoals de micro-organismen geassocieerd met AS.

## Onderzoek transformatiehypothese

Duidelijk is dat de specifieke oorzaak van AS en een aantal andere auto-immuunziekten, met name de specificiteit van de betrokken lymfocyten en geïnduceerde antistoffen, nog altijd niet bekend is. Indien de transformatiehypothese een rol speelt, zal uit 'whole genome sequencing' (WGS) van micro-organismen moeten blijken of horizontale genoverdracht een rol speelt en (fragmenten van) menselijke genen geïdentificeerd kunnen worden. Van essentieel belang hierbij is dat het onderzoek gebeurt tijdens een actieve fase van de ziekte en met 'verse' bacteriën uit de darm, want waarschijnlijk raakt de bacterie het gastheer-DNA weer snel kwijt. Bij AS is ziekteactiviteit vaak minder gemakkelijk definieerbaar. Misschien kan de aanwezigheid van *Ruminococcus gnavus*, een mucolytische bacterie geassocieerd met actieve ziekte bij AS en de ziekte van Crohn, helpen bij het bepalen van de ziektefase.<sup>11</sup> Ziekteactiviteit is wel duidelijk bij AAU en reactieve artritis. Bij die laatste aandoening verraadt bovendien de artritogene bacterie zich doordat het dikwijls tevens de gemakkelijk kweekbare oorzaak is van de eraan voorafgaande darm infectie. Datzelfde geldt voor reactieve artritis na infectie met *N. gonorrhoeae*.

Het doel van dit visiedocument is onderzoekers met belangstelling voor multidisciplinair onderzoek uit te dagen de transformatiehypothese te toetsen. Eerst zullen diverse stammen geïsoleerd en het DNA volledig uitgekamd moeten worden op zoek naar fragmenten van menselijke sequenties. Vervolgens moet worden uitgezocht welke eigenschap een met humaan DNA transformeerbare bacterie moet bezitten om het hier geschetste mechanisme mogelijk te maken en waaraan deze eventueel te herkennen is. Er is daarna nog een lange weg te gaan voordat het ontstaansmechanisme van deze ziekten is opgehelderd en de relatie met de verschillende uitingsvormen van de aandoeningen in kaart is gebracht. Misschien biedt de transformatiehypothese een nieuw perspectief voor diagnostiek en behandelmethoden

voor reactieve artritiden, en eventueel ook voor andere inflammatoire en degeneratieve (auto-)immuunziekten.

## Dankwoord

De auteur is dank verschuldigd aan dr. M.R. Visser, arts-microbioloog (niet praktiserend) en de redactie van het NTMM (in het bijzonder de heer B. Meek) voor het kritisch meedenken en de waardevolle adviezen.

*\*De auteur deed van 1982-1987 onderzoek naar de relatie tussen darmbacteriën en ankyloserende spondylitis en acute anterieure uveïtis, onder leiding van prof. dr. J.M.N. Willers† in het Laboratorium voor Microbiologie, Faculteit Geneeskunde, Rijksuniversiteit Utrecht (nu: Eijkman-Winkler Instituut, UMC Utrecht). Van 1985 tot*

## Naschrift van de redactie

### Transformatiehypothese in relatie tot HLA-B27 en andere factoren

Naast de transformatiehypothese circuleren nog enkele andere interessante, nog niet bewezen hypothesen voor het ontstaan van reactieve artritiden. Met name het MHC klasse I-eiwit HLA-B27 heeft een aantal bijzondere eigenschappen in vergelijking met soortgelijke eiwitten. Zo is de kans op aggregaatvorming verhoogd tijdens synthese door de cel en dit kan leiden tot autofagie en activatie van een ontstekingsreactie middels de interleukine 23 (IL-23) / IL-17 route.<sup>1</sup> Daarnaast kunnen homodimeren gevormd worden van HLA-B27-eiwitten die mogelijk een unieke set aan lymfocyten kunnen activeren.<sup>1,12</sup>

Van HLA-B27 zijn diverse allelen beschreven, echter lang niet alle allelen zijn geassocieerd met AS en niet alle dragers van een HLA-B27-allel ontwikkelen AS.<sup>1,12</sup>

Uit grote genetische associatie- (GWAS-)experimenten zijn, naast HLA-B27, ook andere genetische risicofactoren voor AS geïdentificeerd. Deze zijn gerelateerd aan belangrijke ontstekingscytokines als IL-23, IL-22, IL-17 en tumornecrosefactor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ).<sup>1</sup> Andere risicofactoren betreffen genen coderend voor eiwitten die betrokken zijn bij het laden van peptiden op MHC klasse I-moleculen en bij activatie van CD4- en CD8 T-lymfocyten.<sup>1</sup> Belangrijk is ook dat veel van de genetische risicofactoren, geïdentificeerd bij AS-patiënten, worden gedeeld met Crohn-patiënten.<sup>13</sup> Mogelijk leiden bovengenoemde genetische factoren in combinatie met de bekende ziekteverwekkers als *Klebsiella* en horizontale genoverdracht (de transformatiehypothese) tot het ontstaan van reactieve artritiden.

2007 was hij werkzaam als arts-microbioloog in de Amersfoortse ziekenhuizen (nu: Meander Medisch Centrum).

## Referenties

1. Sieper J, Poddubny D. Axial spondyloarthritis. *Lancet*. 2017;390:73-84.
2. Wenker KJ, Quint JM. Ankylosing Spondylitis. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2017 Jun-2017 Dec 8.
3. Mielants H, Veys EM, Cuvelier C, et al. The evolution of spondyloarthropathies in relation to gut histology. II. Histological aspects. *J Rheumatol*. 1995;22:2273-8.
4. Ebringer A. The crosstolerance hypothesis in IR-gene systems, rheumatic fever and ankylosing spondylitis. *Riv Biol*. 1982;75-2:197-229.
5. Prendergast JK, Sullivan JS, Geczy AF, et al. Possible role of enteric organisms in the pathogenesis of ankylosing spondylitis and other seronegative arthropathies. *Infect Immun*. 1983;41:935-41.
6. Ringrose JH. HLA-B27 associated spondyloarthropathy, an autoimmune disease based on crossreactivity between bacteria and HLA-B27? *Ann Rheum Dis*. 1999;58:598-610.
7. Cameron FH, Russell PJ, Sullivan J, Geczy AF. Is a Klebsiella plasmid involved in the aetiology of ankylosing spondylitis in HLA-B27-positive individuals? *Mol Immunol*. 1983;20:563-6.
8. Orban P, Sullivan JS, Geczy AF, Upfold LI, Coulits N, Bashir HV. A factor shed by lymphoblastoid cell lines of HLA-B27-positive patients with ankylosing spondylitis, specifically modifies the cells of HLA-B27-positive normal individuals. *Clin Exp Immunol*. 1983;53:10-6.
9. Van Kregten E. Ankyloserende spondylitis en darmbacteriën. In: Boerhaave Commissie voor Postacademisch Onderwijs in de Geneeskunde: "Van rugpijn tot spondylarthropathie", 9 en 10 mei 1985, Faculteit Geneeskunde, Rijksuniversiteit Leiden (red. A. Cats), ISBN 90-6767-089-8;117-28.
10. Sieber KB, Bromley RE, Dunning Hotopp JC. Lateral gene transfer between prokaryotes and eukaryotes. *Exp Cell Res*. 2017;358:421-6.
11. Breban M, Tap J, Leboime A, et al. Faecal microbiota study reveals specific dysbiosis in spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2017;76:1614-22.
12. Bin Chen, Chongru He, Dahe Li, Wenwen Tong, Yuming Zou, Weidong Xu. Role of HLA-B27 in the pathogenesis of ankylosing Spondylitis (Review). *Mol Med Rep*. 2016;15:1943-51.
13. Danoy P, Pryce K, Hadler J, et al. Association of variants at 1q32 and STAT3 with ankylosing spondylitis suggests genetic overlap with Crohn's disease. *PLoS Genet*. 2010;6:e1001195.