



Mikrobien merkitys allergioissa ja autoimmuunisairauksissa

- johdatus MAARS EU-hankkeeseen

Harri Alenius, coordinator of MAARS
Research Professor
Finnish Institute of Occupational Health

Mikrobiomi

- Mikrobiomi on mikrobiston geenien (genomien) sekä ympäristön vuorovaikutussuhde tietyssä ympäristössä
- Tietty ympäristö voi olla esimerkiksi ihmisen suolisto tai vaikka maaperänäyte

Iho ja sen mikrobisto

- Iho on laajin elimemme, jota ilman emme voi elää. Se estää veden karkaamisen kehosta ja toisaalta puolustaa meitä infektioilta ja toksisten aineiden haitallisilta vaikutuksilta.
- Ihossa elää myös rikas mikrobisto, joista valtaosa on kommensaaleja tai symbiontteja.
- On ehdotettu että ihon normaali lajisto/kirjo (microbiota) estää patogeenisten mikrobilajien kasvua iholla.
- Ihossa on useita ekologisia lokeroita – mm. merkittäviä eroja pH:ssa, lämpötilassa, kosteudessa sekä rasvaisuudessa.

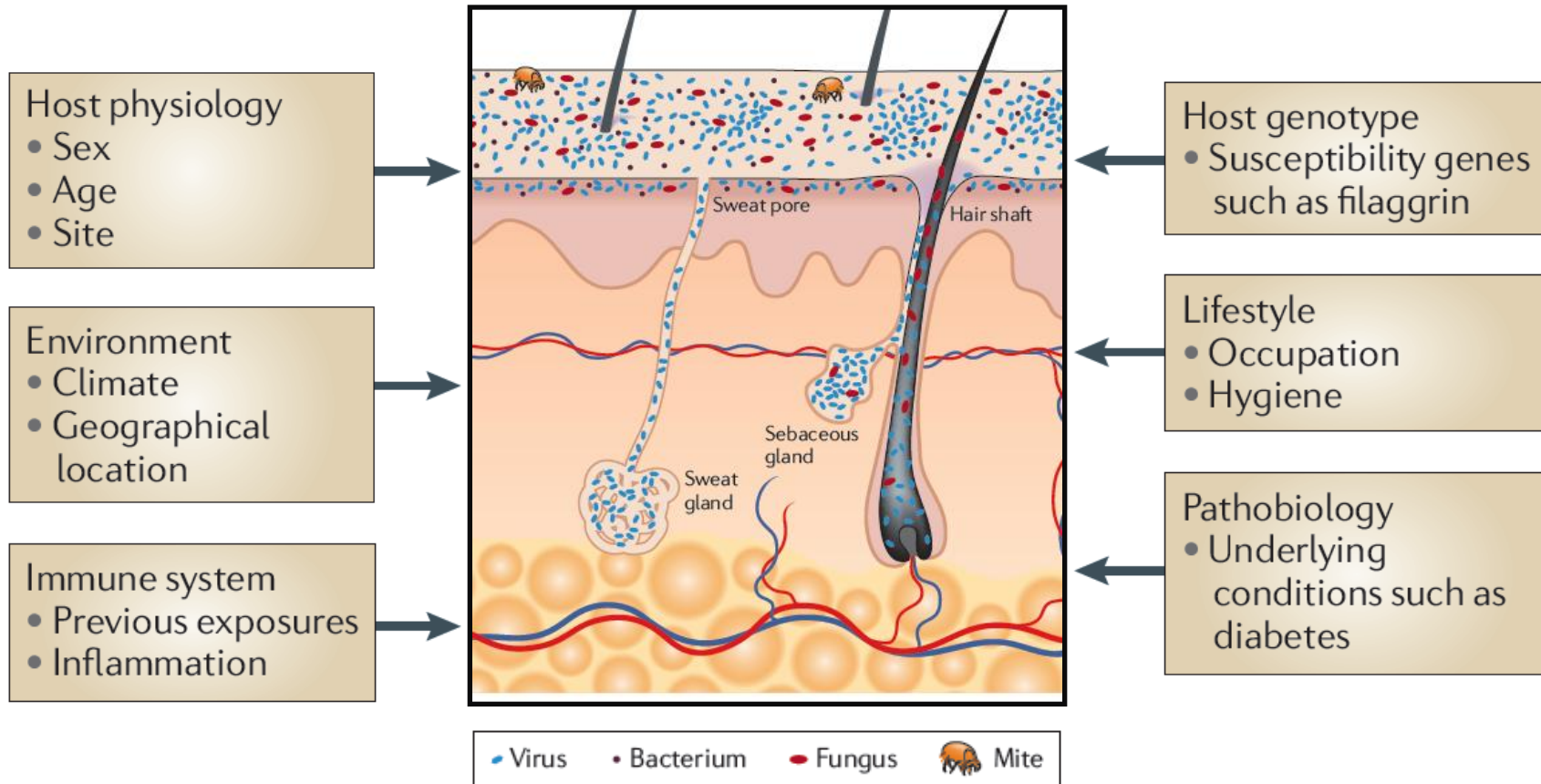


Iho ja sen mikrobisto



- Isännän ja mikro-organismien herkän tasapainon häiriintyminen kummalla puolella tahansa saattaa aiheuttaa iho-oireita tai infektioita

Ihon mikrobiomin koostumukseen vaikuttavia tekijöitä



Ihon mikrobiston määrittäminen

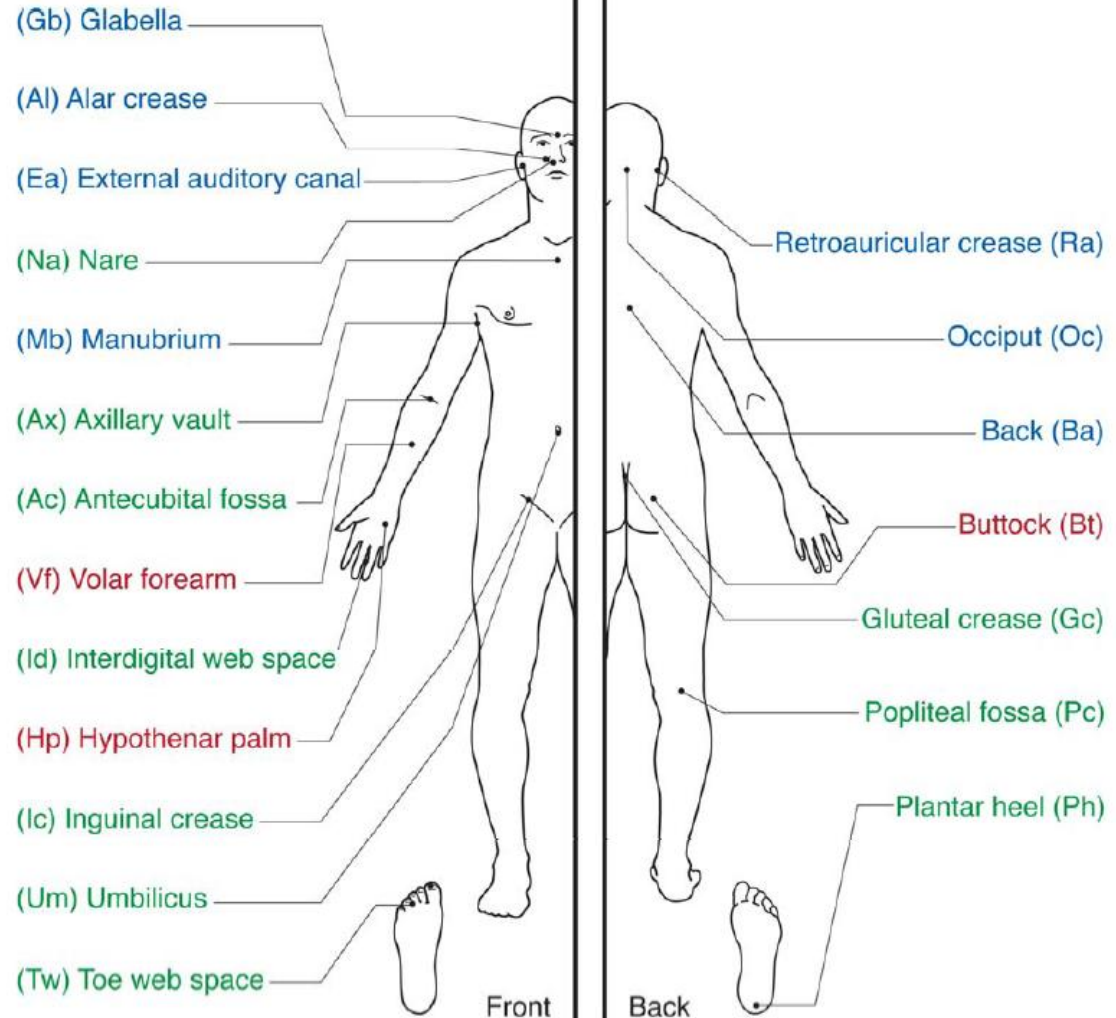
- Aivan viimeaikoihin asti ihon mikrobiston määrittäminen on rajoittunut **viljelytekniikoihin**.
- On kuitenkin arvioitu, että ainoastaan **alle 1% ihon mikrobilajeista voidaan viljellä**.
- Prokaryooteissa universaalisti olevan **ribosomaalisen 16S RNA** geenien hyödyntäminen mikrobiston määrittämisessä on avannut aivan uusia näkymiä

Näyteenottokohtat mikrobiston määrittämiseen terveistä vapaaehtoisista

 Rasvainen

 Kostea

 Kuiva



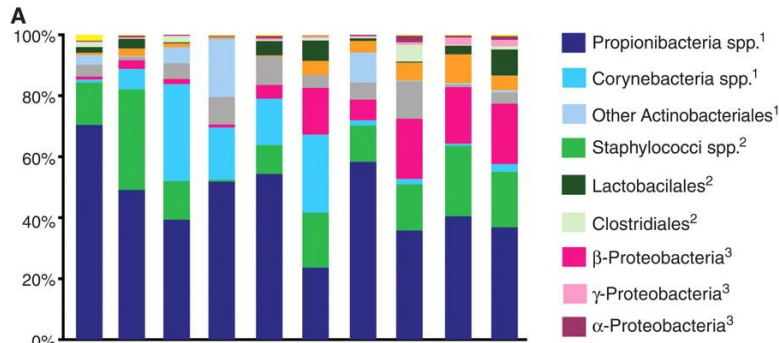
Grice E,....., Serge J
Science **324**, 1190 (2009);



Finnish Institute of
Occupational Health

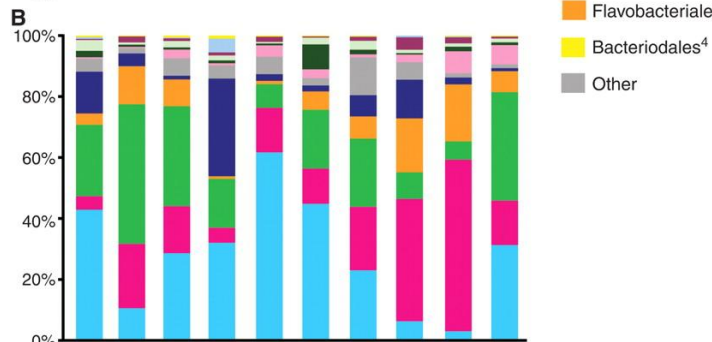
Kolmeen mikroympäristöön (yhteensä 20 näytteenottokohtaa) liittyvät mikrobistot

Rasvainen



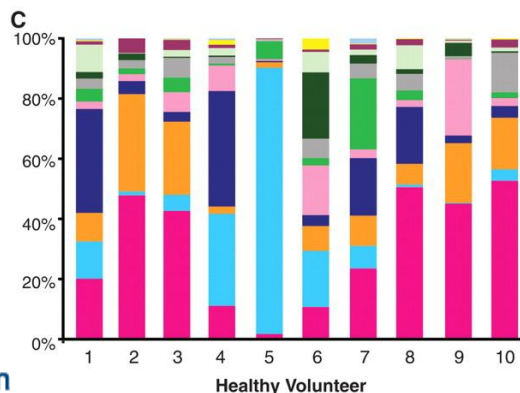
A) **Propionibacteria species and Staphylococci species** predominated in sebaceous sites

Kosteaa



B) **Corynebacteria species** predominated in moist sites, although Staphylococci species were also represented

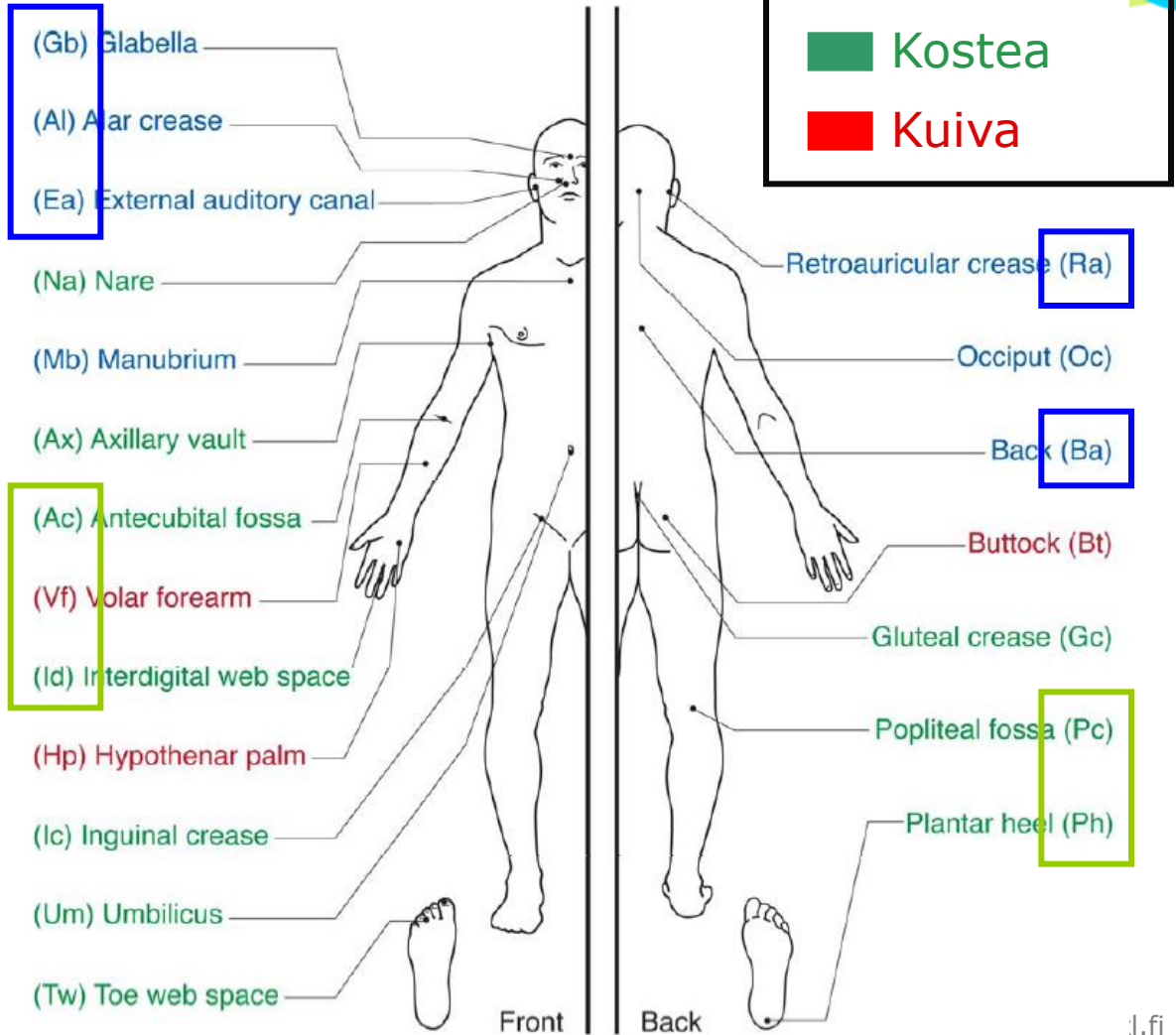
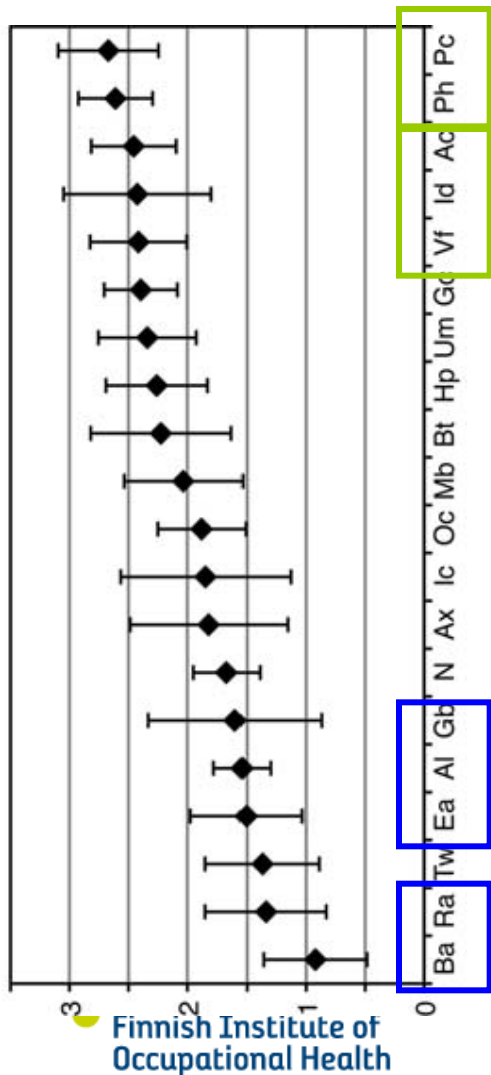
Kuiva



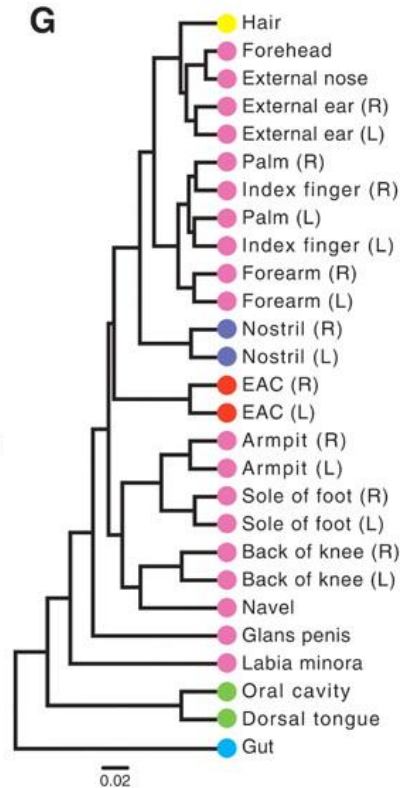
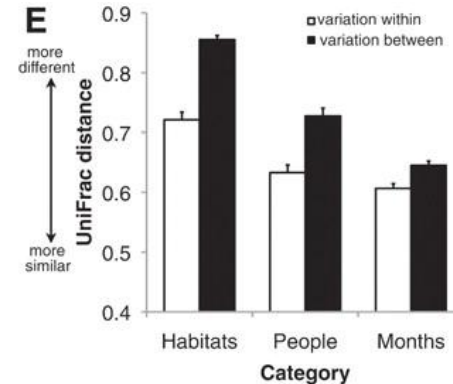
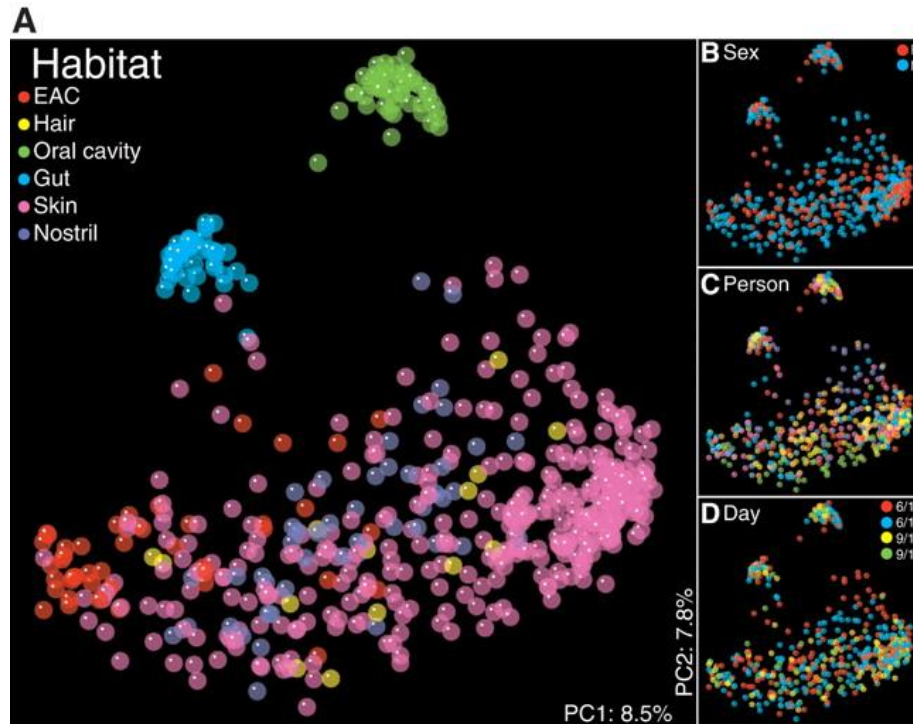
C) **A mixed population of bacteria** resided in dry sites, with a greater prevalence of b-Proteobacteria and Flavobacteriales

Science **324**, 1190 (2009);

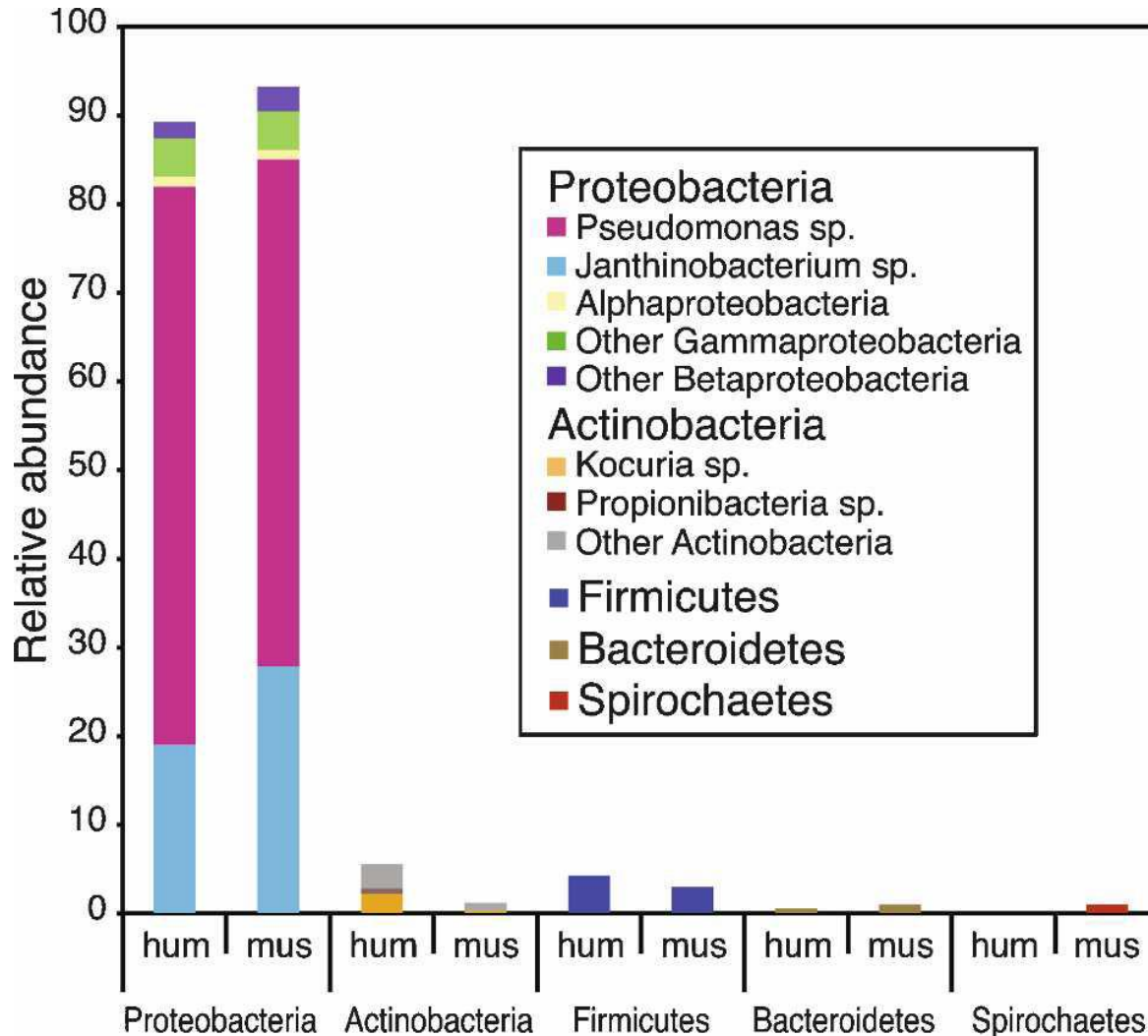
Mikrobiston monimuotoisuus/runsaus eri ihohabitaateissa



Ihmisen mikrobisto määrytyy pääasiassa mikrohabitaattien mukaan



Hiiren ja ihmisen korvabiopsian mikrobiston vertailu



**Genome Research
18:1043–1050 ©2008**



EU Fp7 MAARS project

Microbes in Allergy and Autoimmunity Related to the Skin

The start date **01.04.2011**

The duration is **48 months**

Financial contribution of the Union is
5,978,541.30 EUR

Taustaa

- Iho muodostaa ensimmäisen puolustuslinjan taudinaiheuttajia vastaan
- Allergiat ja autoimmuunisairaudet ilmentyvät usein iholla
- Koska iho on helposti lähestyttävissä tutkimuksen keinoin, se on ideaalinen elin tutkia mikrobi-isäntä vuorovaikutuksen merkitystä allergioiden ja autoimmuunitautien kehittymisessä, kestossa ja pahenemisessa

Taustaa

- **Atooppisen ekseeman (AD)** (esimerkki ihoallergiasta) sekä **psoriaasin (PSO)** (esimerkki ihoon liittyvästä autoimmuunitaudista) kliininen kuva ja taudinkulku tunnetaan erittäin hyvin
- Merkittäviä edistysaskeleita on myös saatu atooppisen ekseeman ja psoriaasin geneettisessä etiologiassa
 - **Filaggriinimutaatio ADssa**
 - **PSORS1 mutaatio Psoriaasissa**
- Tilanne antaa erinomaiset mahdollisuudet tutkia **geneettisten tekijöiden ja mikrobiympäristön vuorovaiktusta** allergisten ja autoimmuuniihotautien synnyssä ja kehittämisessä

Tavoitteet

- Hankkeen tavoitteena on tunnistaa keskeisiä isäntä-patogeeni yhdysvaikutuksia, jotka saattavat laukaista allergisen tulehduksen tai autoimmuunitaudin
- **AD** surrogaatti allergisesta taudista ja **PSO** on surrogaatti autoimmuunitaudista
- Pyrimme tunnistamaan **avain mikrobit** ja toisaalta **avain biomolekyylit**

Osallistuvat tutkimusryhmät



No.	Participant	Participant organisation name	Country
1	H. Alenius, N. Fyhrquist	Finnish Institute of Occupational Health	Finland
2	J. Kere, B. Andersson	Karolinska Institutet	Sweden
3	F. Levi-Schaffer	The Hebrew University of Jerusalem	Israel
5	B. Homey	Heinrich-Heine-University	Germany
6	V. Soumelis, P. Hupe	Institut Curie	France
7	J.-M. Schröder	Christian-Albrechts-University Kiel	Germany
8	J. Barker, F. Nestle, S. Tsoka	King's College, London	United Kingdom
9	M. Ustav	Icosagen AS	Estonia
10	A. Ivens	Fios Genomics Ltd	United Kingdom
11	A. Ranki, A. Lauerma	University of Helsinki	Finland

Specific objectives

- **In clinical studies** highly standardized and genetically stratified clinical sample material will be generated to explore the role of microbiomes in the pathogenesis of AD and PSO.
- Samples from **three European countries (Finland, Germany, United Kingdom)** will be studied to reduce the possibility of population-based systematic errors in results.
- Study material include: **120 AD patients, 120 PSO patients** and **120 healthy controls**
- **(WP1)**

Specific objectives

- We will characterize the **skin microbiome** from patients and healthy subjects using state-of-the-art **high-throughput sequencing techniques**. **(WP2)**
- We will perform **gene expression profiling** in skin biopsies using **DNA microarrays** and **high-throughput DNA sequencing** to investigate microbe-regulated pathways in AD and PSO. **(WP3)**

Specific objectives

- We will use **advanced bioinformatics tools** and **systems biology** methods to connect the different datasets from different WPs to identify key disease associated microbe as well as key gene targets.
(WP4)

Specific objectives

- Identified molecular and microbial targets will be validated *in vitro* in cellular models relevant for AD and PSO. We will investigate **cellular interactions** and the activation and regulation of **antimicrobial defence molecules** and **cytokine networks** in the pathophysiology AD and PSO. **(WP5)**
- We will utilize established **animal models** of AD and PSO to examine and validate molecular mechanisms *in vivo* and to test therapeutic targets to interfere with diseases processes of AD and PSO. **Gene-targeted as well as transgenic mice, xenotransplant models** and neutralizing antibodies will be used. **(WP6)**

MAARS-hankkeen lähestymistapa mikrobiomitutkimukseen

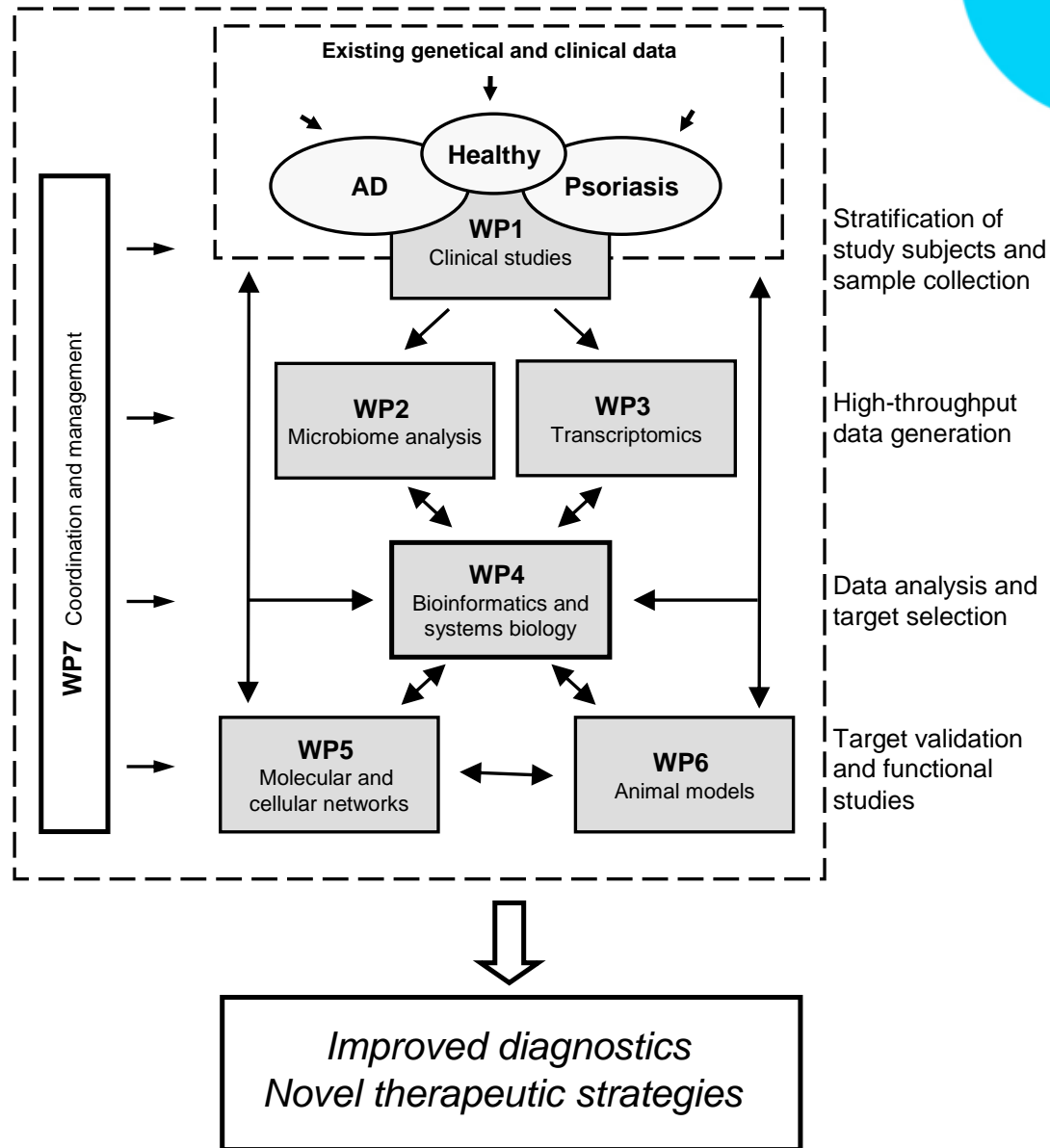


- Aiemmat DNA pohjaiset ihon mikrobisto tutkimukset **perustuvat lähinnä 16S rRNA metodologiaan**. Vaikka nämä tutkimukset ovat erittäin hyödyllisiä, niin niihin liittyy myös rajoituksia.
 - 16S rRNA fokusoituu ainoastaan bakteereihin eikä viruksiin
 - 16S rRNA antaa tietoa bakteereista ainoastaan tästä geenistä, mutta ei mahdollisista tautiin liittyvistä mikrobikomponenteista ja metboliiteista
- Tässä tutkimuksessa pyritään tutkimaan **terveen ja sairaan mikrobiston eroja ja yhdistämään tämä tieto samasta ihopalasta tehtyyn transkriptomiikkaan**.
- 16S rRNA metodiikan lisäksi hyödynnämme uusimpaa kokonaisvaltaista **tehoseulonta DNA-sekvensointia** (deep-sekvensointi) tekniikkaa mikrobi DNA:n tutkimisessa. Tämä antaa kokonaisvaltaisempaa tietoa ihon mikrobistosta sekä mikrobiston geenistöstä.
- **Samoista potilasta ja samoista ihokohdista** tehdään **sirupohjaista transkriptomiikkaa** sekä myös **deep-sekvensointi transkriptomiikkaa**.

Syväsekvensointi

- Uusi tehoseulonta DNA sekvensointi (syväsekvensointi, next-generation sequencing, deep sequencing) mahdollistaa gigamittakaavassa tapahtuvan DNA sekvensoinnin yhdessä ainoassa ajossa.
- Menetelmä on osoittautunut toistettavaksi ja erittäin herkäksi. Sillä voidaan tunnistaa jopa 30-50% enemmän geenejä konventionaaliseen sirupohjaiseen transkriptomiikkaan verrattuna.
- Uudet lähettiRNAt esiintyvät soluissa vähäisinä pitoisuuksina ja liittyvät yleensä transkription säätelyyn.
- Karolinska Genomics Core Facility ja Science for Life Laboratory at Karolinska Institutet

Pert Diagram



Kiitos

