



UPPSALA  
UNIVERSITET

# Hur kan Epstein-Barr-virus leda till MS?

Jennifer Jagdmann

---

Independent Project in Biology  
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2014  
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

## Sammandrag

Sjukdomen multipel skleros (MS) leder till nedbrytningen av myelin i det centrala nervsystemet, vilket leder till en rad olika symtom, till exempel försämrad balans- och rörelseförmåga och synfel. Sjukdomen tros vara en autoimmun respons. Faktorerna som kan orsaka MS inkluderar faktorer i omgivningen, genetiska förutsättningar och tidigare infektioner. En infektion som verkar ha en stor inverkan på förekomsten av MS är Epstein-Barr-virus (EBV), då nästan alla MS-patienter tidigare har blivit infekterad av EBV och har EBV-infekterade B-celler som lever latent i kroppen. EBV är vanligt förekommande bland alla individer (90 % av världens befolkning är infekterad) så förekomsten av körtelfeber, vilket orsakas av en försenad infektion av EBV, undersöks som en möjlig föregångare för MS. Då MS-patienter oftare har varit sjuk med körtelfeber tidigare kan den försenade infektionen med EBV vara en orsak till MS.

Några möjliga mekanismer som skulle kunna förklara hur EBV orsakar MS har föreslagits, och inkluderar EBV-korsreaktivitet-hypotesen, EBV ”bystander damage” hypotesen,  $\alpha$ B-kristallin (”mistaken self”)-hypotesen och EBV-infekterad autoreaktiv B-cell-hypotesen. Andra faktorer som tros påverka MS inkluderar breddgrad, exponering till solljus under barndomen, vitamin D-halter och även rökning. Med att det finns så många olika faktorer som kan tänkas orsaka MS, forskarna är dock inte överens om vilka möjliga av dessa som kan ha större vikt än de andra.

## Inledning

Multipel skleros (MS) är en allvarlig sjukdom som angriper det centrala nervsystemet (CNS) som troligen leder till den autoimmuna nedbrytningen av nervcellernas myelinlager (Keegan 2002). Denna nedbrytning leder till symtom som komplikationer med syn, försämring av rörelse- och balansförmågan samt förlorad känsel eller domningar (Fredrikson 2011). Det finns även en mängd andra symtom som kan uppstå beroende på var i CNS som nedbrytningen sker (Fredrikson 2011).

Etiologin bakom MS har undersökts över flera decennier, men forskare har ännu inte kommit fram till en konkret förklaring. De flesta är överens om att MS orsakas av flera olika faktorer så som genetiska förutsättningar, faktorer i omgivningen och tidigare infektioner. Det finns studier som visar att omgivningen har en effekt men det finns även starka belägg för en genetisk påverkan som tyder på att det är mer än omgivningen som påverkar (Sadovnick *et al.* 1996, Dymont *et al.* 2004). Allmänt så är det en ökad förekomst av MS desto längre man kommer från ekvatorn, men vissa etniska grupper följer inte detta mönster (Pugliatti *et al.* 2002).

Epstein-Barr-virus (EBV, humant herpesvirus 4) är en globalt utspridd form av humant herpesvirus. 90 % av världens befolkning tros ha EBV i vuxen ålder, och de flesta får viruset i tidiga ungdomen (Longnecker *et al.* 2013). Om man infekteras av EBV senare i livet kan man utveckla körtelfeber (Enander 2012). EBV är ett virus som stannar i kroppen hela livet och lever dold i B-lymfocyter, en form av vita blodkroppar som bland annat tillverkar antikroppar mot olika antigener (Pender 2011). Antikroppar är proteiner som immunsystemet använder för att känna igen och attackera främmande ämnen som kännetecknas av antigener. Antigener kan även förekomma för kroppens egen vävnad. En annan form av vita blodkroppar, T-celler, har flera olika typer med varierande funktioner, såsom att attackera främmande celler samt minnas främmande ämnen och assistera med andra delar av immunsystemet.

Även om EBV är ett vanligt förekommande virus bland världsbefolkningen finns det en signifikant skillnad mellan förekomsten av EBV hos MS-patienter och befolkningen i allmänhet. Meta-analyser har visat att det finns en ökad förekomst av EBV i patienter med MS genom Mantel-Haenszel oddskvot (Ascherio & Munch 2000). Efter att uppdaterade meta-analyser gjordes, kunde man komma fram till att 99,5 % av alla MS-patienter är infekterade med EBV medan 94,0 % av försökspersoner i kontrollgrupper är infekterade (Acherio & Munger 2007a).

Hur kan en EBV-infektion leda till MS? Själva mekanismen bakom uppkomsten av MS, precis som andra autoimmuna sjukdomar, är ännu oklar. Forskare har länge studerat kopplingen mellan EBV och MS och har kommit fram till flera olika teorier om mekanismen bakom den, bland annat EBV-korsreaktivitet-hypotesen, EBV "bystander damage" hypotesen,  $\alpha$ B-kristallin ("mistaken self")-hypotesen och EBV-infekterad autoreaktiv B-cell-hypotesen. Dessa hypoteser har alla undersökts med resultat som både kan stödja och motsäga dem. De, samt kopplingen mellan MS och körtelfeber, vilket kan orsakas av EBV, ska undersökas vidare här.

## MS och körtelfeber

Även om praktiskt tagit 100 % av alla MS-patienter är smittade av EBV så kan det vara svårt att se vikten av det, eftersom 90 % av hela världsbefolkningen är smittad. Ett argument mot EBV som en kausativ faktor för MS är att barn med MS till en högre grad är smittade av EBV än friska barn, men skillnaden är inte lika betydelsefull som hos vuxna patienter. I Lünemann *et al.* 2008 visade det sig att 91 % av barnen med MS och 64 % av barnen utan MS reagerade mot EBV-VCA (EBV- viral kapsidantigen), som kan användas som ett seropositivitetstest, det vill säga ett test för att se om antikroppar kan hittas i blodplasman. Pender (2011) föreslår att detta kan bero på svårigheten med diagnostiseringen av MS hos barn. I dessa fall föreslår han att man kan ha feldiagnostiserat barnen med MS när de egentligen hade återkommande akut-disseminerad encefalomyelit, eller att testerna var felaktiga och visade negativa svar på barn som egentligen hade EBV. Hur som helst så finns det en signifikant skillnad mellan förekomsten av EBV i MS-patienter och kontrollgrupper även bland unga.

Eftersom det finns en skillnad i andelen smittade av EBV bland vuxna jämfört med unga patienter med MS, tittar man på åldern då patienten kan ha smittats av EBV, samt vilka andra virala infektioner som skulle kunna orsaka MS (Wucherpfenning & Strominger 1995, Milo & Kahana 2010). Eftersom körtelfeber uppstår när man smittas av EBV vid en senare ålder så kan man använda körtelfeber som mått på infektionsramen av EBV, men man borde också tänka på att en liten del av alla körtelfebersfall orsakas av andra virus (Enander 2012). Detta är däremot inte ett helt tydligt mått på infektionstiden då inte alla de som smittas senare i livet får symtom och utvecklar körtelfeber. I utvecklade länder blir runt 25 % av de som smittas senare i livet sjuka i körtelfeber (Longnecker *et al.* 2013). Flera studier har utförts då forskare har gjort enkätundersökningar och kommit fram till en oddskvot (OK), en statistisk metod som enligt Ribe (1999) vid statistiska centralbyrån visar hur starkt risken för något beror på någonting annat, i det här fallet risken att orsaka MS efter en infektion av körtelfeber. En oddskvot lägre än 1 visar en minskad risk och en oddskvot över 1 visar en ökad risk (Ribe 1999). Dessa OK i de olika studierna varierar från 0,80 till 17,00 ( $n = 18$ ) i en omfattande meta-analys av tidigare undersökningar med ett meta-värde av 2,17 och ett 95 % konfidensintervall av (1,97-2,39) (Handel *et al.* 2010)(tabell 1). Detta innebär att det finns en signifikant riskökning för MS om man tidigare har haft körtelfeber.

Tabell 1. Samlade oddskvoter för risken av MS efter en körtelfebersinfektion från ett mängd olika analysstudier. Data från de olika studierna slogs samman och en sammanställd oddskvot beräknades. Av 18 studier visade 3 ingen ökad risk för MS, en visade extremt ökad risk och en visade minskad risk. Alla av de avvikande studierna observerade relativt få individer, vilket man ser med procenten av totala summan av data. Modifierat från Handel *et al.* (2010) där även originalreferenser finns.

Studie	Procent av totala summan av data	Oddskvoter
Ahlgren 2009	10,9	2,03(1,51-2,72)
Casetta 1994	0,7	1,00(0,32-3,14)
Goldacre 2004	1,2	2,17(0,88-5,33)
Gusev 1996	0,1	3,03(0,12-78,36)
Haahr 1995	3,4	2,80(1,65-4,75)
Haahr 2004	0,5	3,58(0,88-14,64)
Hernan 2001	9,5	2,20(1,61-3,01)
Hopkins 1991	0,2	1,00(0,13-7,85)
Lindberg 1991	0,4	3,70(0,79-17,35)
Marrie 2000	0,6	5,50(1,52-19,93)
Martyn 1993	1,1	2,90(1,13-7,42)
Nielsen 2007	25,2	2,27(1,87-2,75)
Operskalski 1989	0,3	17,00(2,66-108,72)
Ponsonby 2005	2,7	2,01(1,11-3,63)
Ramagopalan 2009	27,2	2,06(1,71-2,48)
Souberbielle 1990	0,3	1,00(0,19-5,32)
Zaadstra 2008	14,9	2,22(1,73-2,85)
Zorzon 2003	0,9	0,80(0,30-2,17)
Total	100	2,17(1,97-2,39)

Forskare har även undrat om andra infektionssjukdomar kan associeras med MS, och om den ökade risken inte är enbart EBV och körtelfeber utan även andra vanliga smittor. I en enkätundersökning från Zaadstra *et al.* (2008) observerades det att körtelfeber leder till en högre OK för MS än andra vanliga sjukdomar och besvär som bruten arm som är relativt vanliga bland yngre (tabell 2). Besvären inkluderades för att undvika partiskhet i responsen. Från enkätundersökningen kan man dra slutsatsen att körtelfeber, mer än andra sjukdomar, leder till en ökad risk för MS.

Tabell 2. Oddskvot som beräknades utifrån en enkätundersökning som utfördes i Nederländerna. Procenten av förekomsten av diverse smittsamma sjukdomar och besvär från tidigare i livet inom varje grupp visas för en grupp med MS-patienter (n = 2821) och en kontrollgrupp (n = 2550) och oddskvoten visas med en 95 % konfidensintervall. Flera sjukdomar visade signifikanta oddskvot men oddskvoten för MS visade den högsta oddskvoten och därmed den mest ökade risken. Modifierad från Zaadstra *et al.* (2008).

	MS-patienter	Kontroll	OK (95 % KI)	P-värde
Bruten arm	14,5	13,5	1,10 (0,93–1,30)	0,271
Påssjukan	51,3	49,0	1,14 (1,01–1,30)	0,023
Bronkit	16,3	14,4	1,17 (1,00–1,37)	0,051
Körtelfeber	8,0	4,1	2,22 (1,73–2,86)	<0,001
Syskon med körtelfeber	8,4	6,3	1,41 (1,13–1,75)	0,002
Hjärnskakning	23,7	20,0	1,23 (1,07–1,41)	< 0,001
Röda hund	32,6	26,1	1,31 (1,14–1,49)	< 0,001
Hösnuva	8,1	7,1	1,28 (1,03–1,58)	0,014
Tonsillektomi	49,7	42,2	1,25 (1,11–1,40)	< 0,001
Kikhosta	12,8	10,4	1,22 (1,02–1,47)	0,016
Mässling	77,2	73,8	1,42 (1,17–1,72)	< 0,001
Munsår	28,4	27,1	1,09 (0,95–1,26)	0,214
Lunginflammation	8,9	9,6	0,92 (0,76–1,11)	0,491
Vattkoppor	66,3	62,3	1,22 (1,04–1,43)	0,033

## Mekanismer

Det bedrivs väldigt lite forskning inom hur patologin bakom just körtelfeber kan leda till en ökad risk för MS, medan en hel del forskning undersöker hur EBV-virusets möjliga mekanismer kan leda till MS. Många av förslagen till möjliga mekanismer fokuserar på CD4+ T-celler (det vill säga "T-hjälpar-celler") eftersom det är relativt accepterat att de kontrollerar aktiviteten av de makrofager som till slut förstör själva myelinlagren i MS, vilket CD4+ cellerna styr genom utsöndringen av interferon (IFN)- $\gamma$  (van Noort *et al.* 2000). Det finns ingen hypotes som är allmänt accepterad och det finns mycket debatt om huruvida EBV kan vara en kausativ faktor för MS, men här är några etablerade teorier.

### EBV-korsreaktivitetshypotesen

En teori som forskare har förslagit är EBV-korsreaktivitetshypotesen. I grunden till denna är idén om molekylär mimikry, då T-celler från MS-patienter responderade till både myelin-baserade peptider och peptider från bland annat EBV (Wucherpfennig & Strominger 1995). En särskild human T-cell från en MS-patient kände igen en EBV-peptid och en myelin-baserad peptid (MBP) som båda förhindras av två DR2 molekyler, en sorts receptor på cell ytan, från olika DR-alleler i histokompatibilitetskomplex, där många gener som kodar för immunsystemets komponenter finns (Wucherpfennig & Strominger 1995, Lang *et al.* 2002). Peptidkomplexen från *DRB5\*0101-EBV* och *DRB1\*1501-MBP* kristalliserades för att studera strukturen och visade att T-cellsreceptorernas kontaktytor på båda komplexen liknar varandra. Vidare studier visade att 3 – 4 % av Epstein-Barr nukleära antigen 1 (EBNA1)-specifika CD4+ T-celler i både friska personer och MS-patienter reagerade på myelin-baserade peptider (Lünemann *et al.* 2008). T-cellerna producerar även IFN- $\gamma$  och interleukin-2, en cytokin som är en viktig signalsubstans i immunsystemet (Lünemann *et al.* 2008).

Samtidigt kan de flesta smittämnen leda till korsreaktivitet, till exempel humant herpesvirus 6 (Wucherpfennig & Strominger 1995, Pender 2003). Hypotesen förklarar inte heller varför infekterade B-celler kan hittas i hjärnan, då korsreaktivitet börjar med T-cellers kontakt med EBV utanför CNS (Pender 2011).

### EBV "bystander damage" hypotesen

En hypotes som har stöd från ett antal forskare, bland annat Serafini *et al.* (2007), är EBV "bystander damage" hypotesen, det vill säga oavsiktlig skada till närliggande vävnad. En förenklad förklaring till denna hypotes är att immunsystemets attack på CNS som sker i samband med MS egentligen är inriktad mot EBV-infektionen och att CNS bara skadas under processen (Pender 2011). Enligt den här teorin är MS inte en autoimmun sjukdom, vilket det finns svaga bevis för (Sospedra and Roland 2005). Det är också ovanligt att en sådan attack mot EBV-infektionen lämnar överlevande EBV-infekterade B-celler i CNS (Pender 2011).

### $\alpha$ B-kristallin "mistaken self"-hypotesen

$\alpha$ B-kristallin är en klass av små värme-chock-proteiner, det vill säga proteiner som bildas i cellerna när de exponeras till en högre en vanlig temperatur (Klemenz *et al.* 1991). Till skillnad från andra värme-chock-proteiner så visar sig inte  $\alpha$ B-kristallin i alla kroppsceller, bara i delar av ögonen, i hjärt- och skelettmuskulaturen och i CNS, bland annat i oligodendrocyter som tillverkar myelinskidorna som omringar axoner (van Noort *et al.* 2000).  $\alpha$ B-kristallin saknas även från vanliga lymfceller och organ (van Noort *et al.* 2000). Sedan van Noort *et al.* (2000) publicerade sina resultat har mer forskning gjorts bakom funktionen av  $\alpha$ B-kristallin. Nu vet man att  $\alpha$ B-kristallin har antiinflammatoriska effekter, samt

förhindrar celldöd och skyddar neuroner (Ousman *et al.* 2007, Steinman 2009) och denna forskning fortsätter att ge intressanta resultat.

I och med att  $\alpha$ B-kristallin är associerat med myelin i CNS undersöktes den molekylerna och många andra myelin-associerade proteiner som hittas i hjärnor från MS-patienter, för att hitta de möjliga myelinantigener som aktiverar den starkaste T-cellresponsen bakom myelin-nedbrytningen (van Noort *et al.* 1995). Genom att testa responsen *in vitro* var det tydligt att  $\alpha$ B-kristallin utlöste den starkaste reaktionen bland T-cellerna (van Noort *et al.* 1995).

För att testa om den höga nivån av  $\alpha$ B-kristallin endast är något som sker parallellt med myelinnedbrytning undersöktes MS-lesioner vid olika grader i utvecklingen (Bajramovic *et al.* 1997). Även vid tidiga stadier av lesionens utveckling kunde man finna höga halter av  $\alpha$ B-kristallin i oligodendrocyter och myelin, men inte i frisk vit hjärnsubstans (Bajramovic *et al.* 1997). Vidare tester visade att makrofager snabbt fick undan  $\alpha$ B-kristallin från myelin i MS-lesioner, så att det bara är en markör vid de tidigaste stadierna innan  $\alpha$ B-kristallin introduceras till T-celler av makrofager (Bajramovic *et al.* 2000). För att vidare styrka sina fynd undersökte Bajramovic *et al.* (2000) T-cellers respons mot makrofager som hade blivit matade med  $\alpha$ B-kristallin, myelin-grundande protein (MBP, ett protein som man tror är viktigt för myelineringen av nervceller) eller myelinmembran från MS-patienters hjärnor. De makrofager som hade matats med myelinmembran eller  $\alpha$ B-kristallin fick liknande reaktioner, medan de makrofager som matades med MBP inte gav någon respons. Allt detta stärker att den höga halten av  $\alpha$ B-kristallin inte är en sekundär reaktion utan att det sker vid den tidigaste utvecklingen i MS-lesionerna (Bajramovic *et al.* 2000).

Van Noort *et al.* (2000) önskade att styrka att den intracellulära T-cell-responsen till  $\alpha$ B-kristallin är pro-inflammatorisk i människor genom så kallad intracellulär cytokinfärgning. Deras studier har lett till observationen att anti- $\alpha$ B-kristallinresponsen involverar CD4+ CD45R0+ minnes-T-celler och huvudsakligen leder till inflammation. Samtidigt så noterade de att humana T-celler svarar starkt på eget  $\alpha$ B-kristallin men relativt svagt till icke-eget  $\alpha$ B-kristallin, vilket är anledningen till namnet ”mistaken self” (van Noort *et al.* 2000). Detta tyder på att  $\alpha$ B-kristallin introduceras till T-celler genom själva kroppen och inte bakterie- eller virushomologer (van Noort *et al.* 2000). Van Sechel *et al.* (1999) observerade i de flesta fall att EBV-infekterade B-celler producerade  $\alpha$ B-kristallin endogent, men att det saknas  $\alpha$ B-kristallin från vissa delar av kroppen. Andra virus så som humant herpesvirus 6 och mässling kunde också leda till expressionen av  $\alpha$ B-kristallin i vissa celler. Man kan därför inte påstå att enbart EBV leder till  $\alpha$ B-kristallin-produktionen, men eftersom att EBV är vanligt, spritt och har relativt stark effekt på  $\alpha$ B-kristallin-produktionen, är EBV naturligtvis misstänkt (van Noort *et al.* 2000).

Då  $\alpha$ B-kristallin finns i andra delar av kroppen än bara hjärnan uppstår frågan om varför sjukliga förändringar enbart kommer till på vit hjärnsubstans (van Sechel *et al.* 1999). En förklaring är att en antigen måste ha vissa sam-stimulatoriska ämnen på ytan för att kännas igen av det cellulära immunsystemet, och dessa ämnen kan hittas i skadad vävnad hos MS-patienters hjärnor (Matzinger 1994, Windhagen *et al.* 1995). Det är också värt att nämna att på grund av att  $\alpha$ B-kristallin ska kännas igen av immunsystemet som visar den till CD4+ T-cellerna så måste  $\alpha$ B-kristallin uttryckas på utsidan av cellen (van Noort *et al.* 2000). Då  $\alpha$ B-kristallin uttrycks i myelinlagret på nervceller blir den således uttryckt externt och kan där kännas igen av T-cellerna, men annars är  $\alpha$ B-kristallin enbart intracellulärt lokaliserat (van Noort *et al.* 2000).

Van Noort *et al.* (2000) föreslår då att höga halter av  $\alpha$ B-kristallin i oligodendrocyter är ett av många samstimulatoriska ämnen som är nödvändiga för MS, och att  $\alpha$ B-kristallin introduceras av en infektion i kroppen (som t.ex. EBV) till kroppens immunförsvar som då missuppfattar den som ett främmande antigen. Vissa forskare tycker däremot att denna teori inte förklarar den primära utvecklingen av CNS-inflammationen, men kan däremot förklara hur demyelineringsprocessen fortsätter efter att någon annan faktor har startat den (Pender 2011). Denna teori är även ospecifik för EBV, men flera studier påpekar att EBV är en giltig kandidat (van Noort *et al.* 2000, Pender 2011).

Sammanfattningsvis ger  $\alpha$ B-kristallin en stark reaktion av T-celler och finns i höga halter i MS-lesionerna vid den tidigaste utvecklingen (van Noort *et al.* 1995, Bajramovic *et al.* 2000). Dessutom reagerar T-celler starkt emot eget  $\alpha$ B-kristallin men mindre emot främmande  $\alpha$ B-kristallin ("mistaken-self") och att oftast producerar EBV-infekterade B-celler  $\alpha$ B-kristallin internt (van Sechel *et al.* 1999, van Noort *et al.* 2000).  $\alpha$ B-kristallin uttrycks externt i myelinlagret på nervceller och kan kännas igen av T-cellerna, och då kan attacken emot ämnet leda till lesionerna på CNS som uppstår med MS (van Noort *et al.* 2000).

### **EBV-infekterad autoreaktiv-B-cell-hypotesen**

EBV-infekterad autoreaktiv-B-cell-hypotesen är en generell hypotes som förklarar många autoimmunsjukdomar. Autoreaktivitet innebär en reaktion eller attack emot egna celler. Pender (2003) föreslår att vissa individer har en genetiskt betingad generell autoimmunitet, delvis med histokompatibilitetskomplex (HLA) klass II gener. I individer med denna genetiskt betingade autoimmunitet leder EBV-infektion till att de infekterade B-cellerna som replikerar sig producerar autoantikroppar som attackerar kroppens egna proteiner i olika organ i kroppen, i MS fall i hjärnan (Garzelli *et al.* 1984). Dessa B-celler bryts ner av EBV-specifika CD8+ T-celler, men de som är latenta klarar sig (Thorley-Lawson 2001). MS-patienter har även en genetiskt bristande produktion av EBV-specifika CD8+ T-celler som leder till en försämrad utslagning av infekterade B-celler.

Pender (2003) förklarar sin hypotes vidare med påståendet att EBV-infekterade autoreaktiva-B-celler cirkulerar i blodet hos patienter med lämpliga genetiska förutsättningar och samlas upp i hjärnan. Eftersom latent infekterade B-celler bär på membranproteiner som skyddar dem från apoptos klarar cellerna sig från utslagning (Thorley-Lawson 2001). Patienten får då en ökning av autoreaktiva T-celler som överlever med hjälp av sam-stimulerande signaler från B-cellerna och kan producera cytokiner som då aktiverar bland annat de makrofager som leder till skada på hjärnan (Pender 2003)

Sedan Pender postulerade sin hypotes har han delvis fått stöd för några av sina antaganden; EBV-infekterade B-celler har i vissa fall hittats i CNS och det finns stöd för en minskad CD8+ T-cellrespons för EBV-infekterade B-celler (Serafini *et al.* 2007, Pender *et al.* 2009).

### *Penders omgjorda hypotes*

I en uppdaterad artikel föreslår Pender en omformulerad hypotes baserad på EBV-infekterad autoreaktiv-B-cell-hypotesen (2011)(figur 1). När individer som har de genetiska förutsättningarna för autoimmunitet blir infekterade med EBV leder det till att en hög frekvens av EBV-infekterade minnes-B-celler hamnar i CNS (Pender 2011). Vanliga infektioner i dessa individer leder till aktivering av CD4+ T-celler som då tar sig in till och reagerar på antigener i CNS. Där blir T-cellerna omaktiverade av CNS-antigen-bärande EBV-infekterade B-celler. Som i Penders tidigare hypotes ger B-cellerna av samstimulerande signaler till T-cellerna som skyddar dem mot apoptos (Pender 2003). T-cellerna börjar då

attackera CNS med hjälp av makrofager och B-celler, och antigener mot CNS utsöndras och sprider attacken vidare (Pender 2011). Efter flera attacker av T-celler och infekterade B-celler på CNS utvecklas B-cells-folliklar i hjärnhinnan. Dessa folliklar producerar B-celler som genererar autoantikroppar som reagerar på CNS och leder till förstörelsen av myelinlagren runt nervceller (Pender 2011).

*Respons till Penders hypotes: finns EBV-infekterade B-celler i MS-patienters hjärnor?*

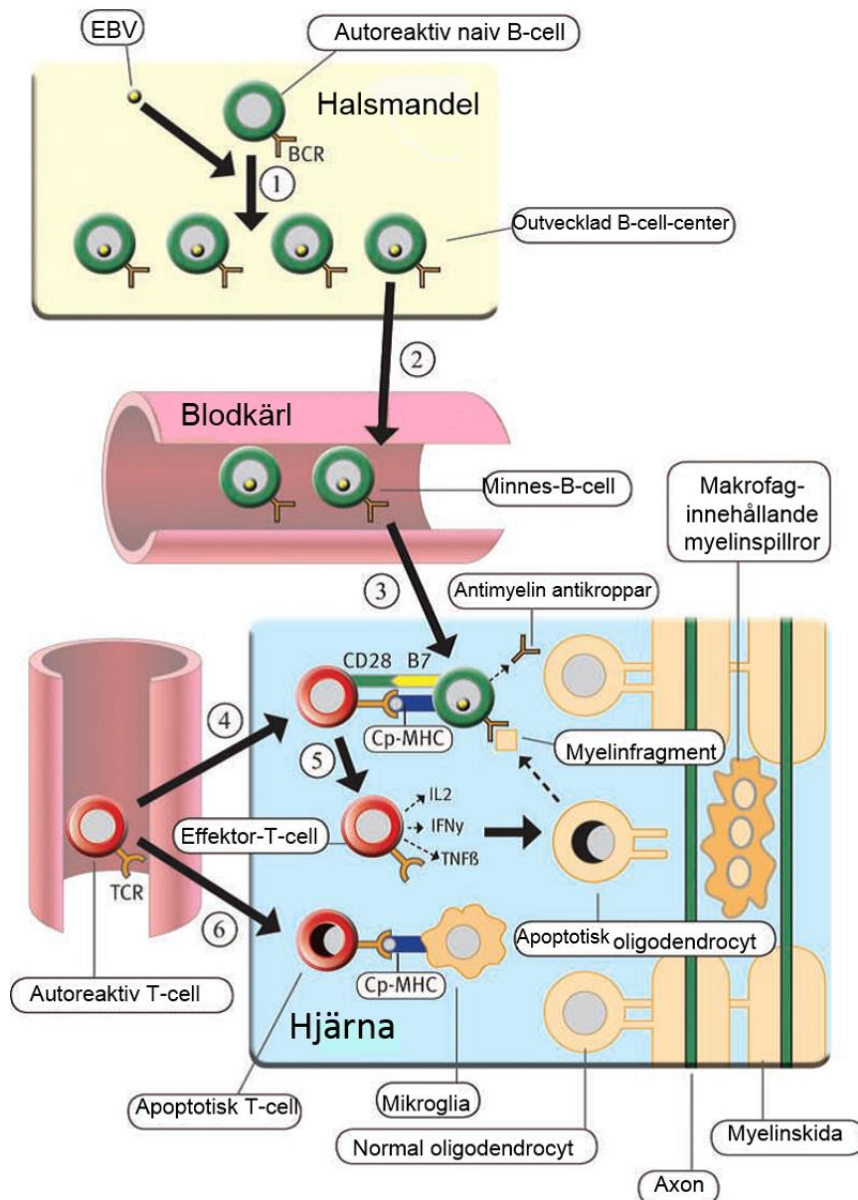
Efter Pender (2003, 2011) postulerade sin hypotes började andra forskargrupper leta efter tecken på EBV-infektion i hjärnor på MS-patienter. Som det nämndes tidigare hittade Serafini *et al.* (2007) tecken på EBV-infektioner i form av EBV-infekterade celler bland B-cellerna i patienternas hjärnlesioner i 21 av 22 vävnadsprover med hjälp av polymeraskedjereaktions-teknologi (PCR-teknologi, från engelskans polymerase chain reaction). Flera andra grupper fick däremot annorlunda resultat med liknande metoder, möjligtvis eftersom små skillnader i PCR-metodiken kan leda till en varierande känslighet av prövningen (Lassmann *et al.* 2011). Willis *et al.* (2009) hittade inte den EBV-infektionen i patienternas hjärnor som skulle känneteckna MS, och de fick stöd från andra forskargrupper vilka inte heller hittade några eller hittade väldigt få tecken på EBV-infektioner i hjärnan (Peferoen *et al.* 2010, Sargsyan *et al.* 2010, Magliozzi *et al.* 2013). Detta leder till en påtaglig tveksamhet mot Penders teorier, då de flesta gruppers resultat motsäger honom (Lassmann *et al.* 2011).

För att vidare undersöka anledningarna till dessa motsägande resultat sponsrade europeiska unionen (EU) ett seminarium 2010 i Österrike med många av grupperna (Lassmann *et al.* 2011). De flesta kom överens om att PCR-teknologin kan upptäcka EBV-infektioner i vissa vävnader men oftast inte i hjärnvävnad (Peferoen *et al.* 2010, Sargsyan *et al.* 2010). EBV-infektionen hittades bara när för-amplifikationsmetoder användes (Serafini *et al.* 2010). Serafini *et al.* (2010) respons till detta är att bara en väldigt liten del av alla CNS celler är infekterade B-celler, samt att dessa celler är samlade i små, specifika områden och kan därför vara väldigt svåra att lokalisera.

Serafini *et al.* (2007, 2010) fann även att många B-celler i CNS har EBV-kodande små-RNA (EBER) med hjälp av *in situ*-hybridisering, vilket Willis *et al.* (2009) och andra grupper inte fann. Däremot hittade några forskargrupper EBER-uttryckande celler i aktiva MS-lesioner, men även i lesioner från hjärnblödningar, med en väldigt känslig *in situ*-hybridiseringsmetod (Lassmann *et al.* 2011). Forskare kom även överens om att antikroppar som används för att upptäcka EBV-antigener är lämpliga och användbara i kontrollvävnad, men att resultaten i MS-patienters hjärnvävnad varierar väldigt mycket (Lassmann *et al.* 2011). De flesta på EU-seminariet 2010 kom överens om att det vid den tiden inte fanns tillräckligt med bevis för EBV-infektioner i MS-patienters hjärnor men att undersökningar borde fortsätta, samt att problemen med resultaten antagligen har mer med de teknologiska metoderna att göra än med selektionen av MS-patienter för provtagning (Lassmann *et al.* 2011).

Sedan seminariet i Österrike har vissa forskare återigen hittat att EBV-infekterade celler kan lokaliseras i lesionerna på MS-patienters hjärnor, men resultaten anses inte vara bekräftelse nog för att övertyga de andra grupperna (Lassmann *et al.* 2011, Serafini *et al.* 2013).





Figur 1. Modell av Penders EBV-infekterad autoreaktiv-B-cell hypotes. Steg 1: infekterade autoreaktiva B-celler förökar sig hastigt och differentierar till infekterade autoreaktiva minnes-B-celler som är latenta. Steg 2: de infekterade B-cellerna tar sig till blodsystemet. Steg 3: En del av minnes-B-cellerna överlever attacker från T-celler och tar sig till CNS där de börjar producera autoantikroppar som attackerar bland annat myelin. Steg 4: Autoreaktiva T-celler från blodsystemet tar sig till CNS och reaktiveras av B-cellerna som visar CNS peptider. Steg 5: B-cellerna ger sam-stimulation som hindrar att T-cellerna genomgår apoptos som de brukar när de aktiveras. Steg 6: T-cellerna börjar producera cytokiner som startar en autoimmunattack mot oligodendrocyter och myelin. Modifierad från Pender (2011).

### Varför leder EBV till MS bara i vissa fall?

Det finns observationer som tyder på att EBV kan vara en orsak till MS, men i och med att EBV är så spritt, hur kommer det sig att bara en liten del av de som är smittade får MS (Longnecker *et al.* 2013)? Det kan inte enbart bero på EBV-smittan, och även om det finns belägg för genetiska förutsättningar, så får inte heller alla de som uttrycker de misstänkta generna MS (Sadovnick *et al.* 1996, Pender 2003). Vad mer kan orsaka MS? Pender (2011) postulerar att även EBV kan variera och då ha olika inverkan, att B-celler kan ha en defekt

som leder till att de tar upp EBV i en högre rad, att infekterade B-celler kan vara resistent mot CD8+ T-cell-attacken, att CD8+ T-celler är defekta och inte kan utföra destruktions av B-cellerna och att man kan ha en brist av CD8+ T-celler. Här är återigen flera olika teorier, men ingen som har tillräcklig konkret bevisning.

#### *EBV stammar och avvikande EBV-upptagande av B-celler*

Olika EBV-stammar kan ha annorlunda smittsamhet eller starkare aktivering av B-celler, vilket ändrar EBVs utveckling, och hur allvarlig infektionen är (Pender 2011). Variationer i EBV kan även leda till ändringar i T-cell-immunreaktionen och möjligtvis även minskat skydd (Pender 2011). Empiriska belägg för denna idé inkluderar den så kallade MS-epidemin i Färöarna efter invasionen av brittiska soldater i 1940, och en grupp av MS-patienter från en liten dansk kommun som alla hade en viss variant av EBV (Munch *et al.* 1998, Kurtzke & Heltberg 2001). Det finns även små skillnader mellan frekvenserna av olika polymorf-former inom *EBNA1*-genen i MS-patienter motsvarande kontrollgrupper (Brennan *et al.* 2010).

B-celler kan även ha varierande intag av EBV eller förbättrad förmåga att föröka sig, men det finns inte mycket bevis för detta eftersom relativt lite forskning har gjorts inom området (Pender 2011).

#### *CD8+ T-cells-resistans i infekterade B-celler och defekta T-celler*

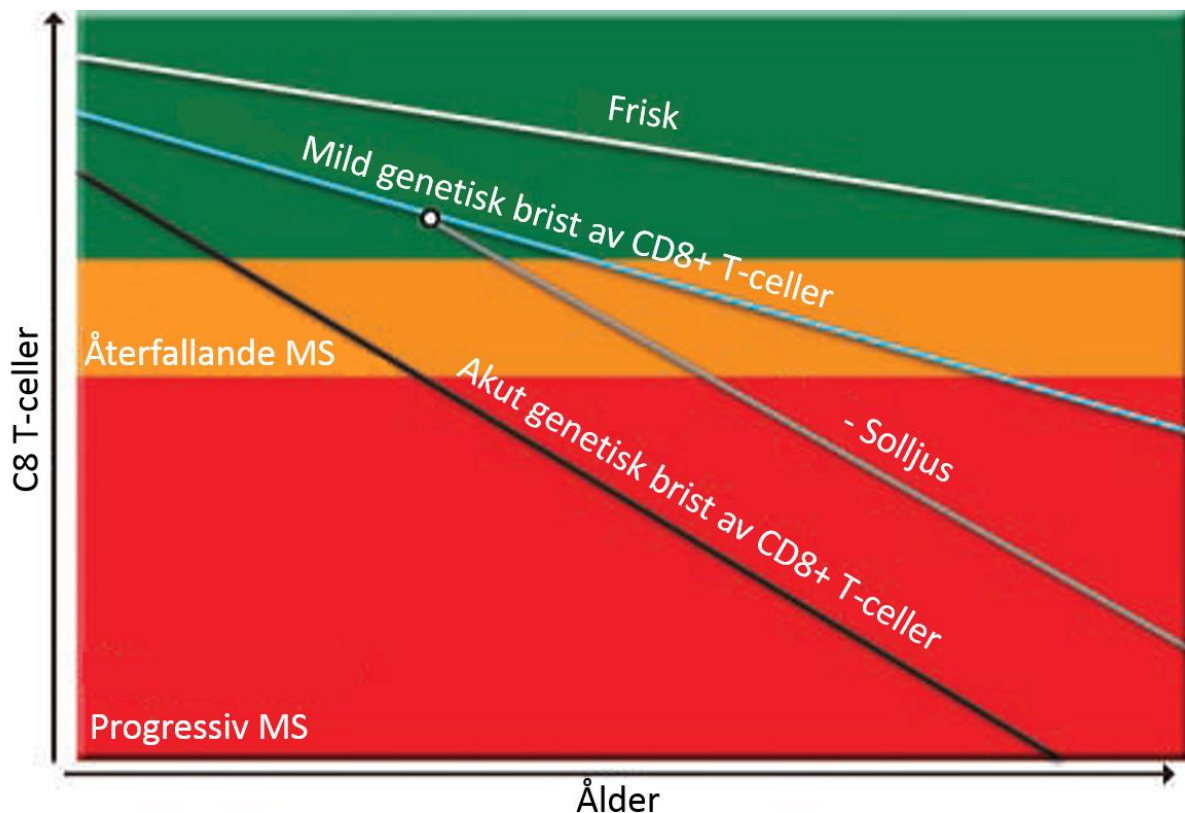
Resistans av infekterade B-celler emot CD8+ T-celler skulle kunna förklara hur EBV-infekterade B-celler klarar av immunattacken mot dem. Å andra sidan kunde genetiskt matchande EBV-specifika CD8+ T-celler från friska effektivt ta död på EBV-infekterade B-celler från MS-patienter, så denna teori är inte vidare rimlig (Pender *et al.* 2009). Det finns samma problem med teorin om defekta T-celler då T-celler från MS-patienter kan ta död på infekterade B-celler från samma patient *in vitro* (Pender *et al.* 2009).

#### *CD8+ T-cell-brist*

Pender *et al.* (2009) påvisar att MS-patienters CD8+ T-celler har en minskad reaktivitet mot EBV-infekterade celler med en metod som använde patienternas egna naturliga antigen-behandlingsmekanismer och visar den totala T-cellresponsen till alla EBV-antigener som visas av immunsystemet. Flera andra studier har utförts som båda styrker och motsäger detta fenomen men resultaten från experimenten är svåra att tolka och mycket av dem kan orsakas av skillnader mellan *in vitro* och *in vivo* reaktioner (Jilek *et al.* 2008, Pender *et al.* 2009, Pender 2011).

Det finns således belägg som stödjer att det kan finnas en lägre frekvens av specifika CD8+ T-celler i blodet av MS-patienter, frågan är då om det orsakar uppsamlandet av EBV-infekterade B-celler eller om det är en effekt av att B-cellerna uppsamlas i CNS (Serafini *et al.* 2007, Pender 2011). Pender (2011) spekulerar att eftersom antalet CD8+ T-celler i CNS är proportionerligt mot antalet EBV-infekterade B-celler, så kan andelen av EBV-specifika T-celler i blodet minskas (Serafini *et al.* 2007). Däremot, om minskningen av specifika B-celler i blodet skedde enbart för att en del av T-cellerna blev omdirigerade till CNS så borde T-cellerna egentligen lyckats med att hålla EBV-infektionen under kontroll och eliminera de infekterade B-cellerna, då MS-patienters T-celler kan ta död på EBV-infekterade B-celler *in vitro* (Pender *et al.* 2009, Pender 2011). Som stödjande bevis ändras andelen EBV-specifika T-celler i patienter med IM med antalet EBV-infekterade B-celler, vilket tyder på att antalet specifika T-celler borde öka med en ökning av infekterade B-celler i MS och bli lika ansträngt (Hoshino *et al.* 1999, Pender 2011). Därför tror Pender (2011) att bristen på T-celler är orsaken till samlingen av B-celler i CNS, vilket leder till att fler specifika CD8+ T-celler leds

bort från blodet och försämrar situationen, då T-cellerna blir ”utmattade” av överansträngning. En mer akut brist av T-celler kan även leda till en snabbare insjuknad i MS, då patienter som får MS vid en yngre ålder oftare har ett lägre antal EBV-specifika CD8+ T-celler (Pender *et al.* 2009)(figur 2).



Figur 2. Sambandet mellan antal CD8+ T-celler och graden av MS-symtom över tid. Olika genetiska nivåer av bristen visas, och effekten av brist på solljus visar en ökad brist av CD8+ T-celler. Modifierat från Pender (2011).

En annan hypotes är att bristen av CD8+ T-celler är genetisk och leder till en minskad respons mot EBV-infekterade celler och med det uppsamlingen av EBV-infekterade B-celler i CNS. CD4/CD8 kvoten bestäms genetiskt, delvis av HLA-gener vilket leder till en minskad effekt av T-celler emot EBV-infekterade B-celler vid primära infektionen och kan leda till en ökad risk för IM (Amadori *et al.* 1995, Pender 2011). Om dessa genetiska förutsättningar blir kombinerade med de tidigare nämnda förutsättningarna för HLA-klass II gener som leder till autoimmunitet, kan det leda till ackumuleringen av EBV-infekterade celler i CNS, och till slut intagandet av CD4 T-celler till CNS som leder till MS (Pender 2003, Pender 2011). Resultatet blir att EBV-infekterade autoreaktiva-B-celler leder till autoimmunitet, vilket leder till en ökning av EBV-infektionen (Pender 2011).

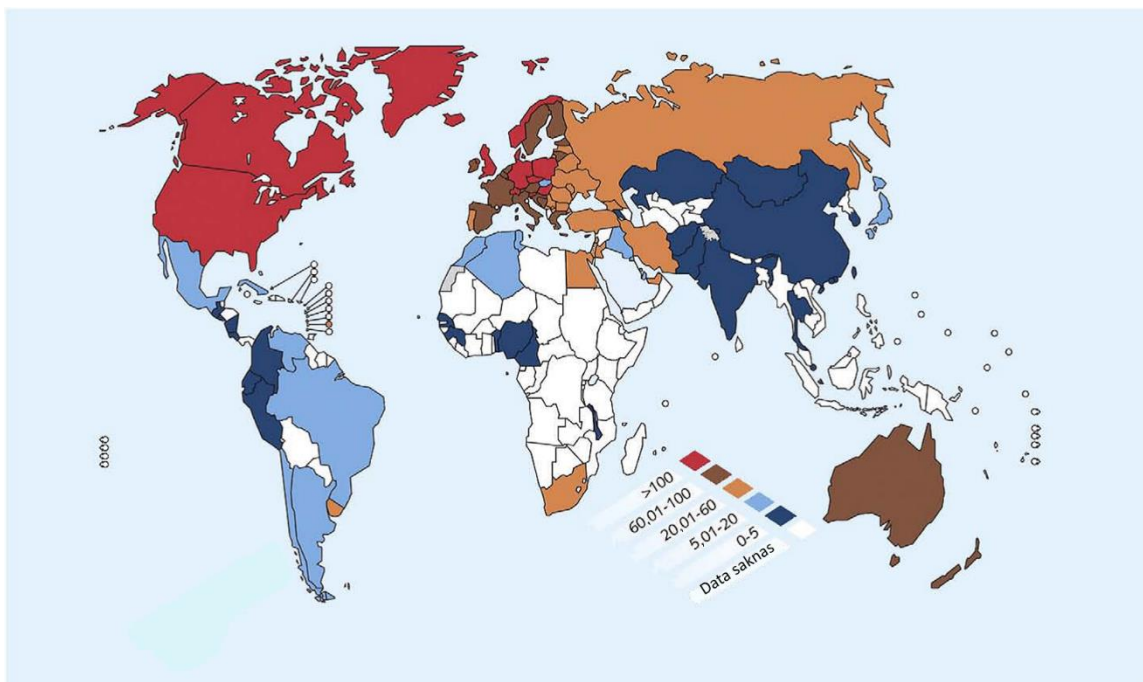
## Diskussion

Som det nämndes tidigare finns det ett stort antal faktorer som påverkar förekomsten av MS, och infektioner är bara en faktor som studeras. Samtidigt som några forskargrupper tycker att EBV är en kausal faktor för MS, så finns det en mängd andra forskare som tror att det antingen är en av flera infektioner som leder till MS, eller så har EBV liten påverkan överhuvudtaget (Pender 2011, Salzer & Myrr 2013, Pakpoor & Ramagopalan 2013). Det främsta argument för EBV som den orsakande faktorn är att EBV-infektioner kommer innan

MS-insjuknandet. EBV lever i patientens kropp hela dennes liv. EBV hittas i nästan alla MS-patienter och EBV påverkar B-cellerna som är inblandade i MS-insjuknandet (Pender 2011). Även bland dem som tror att EBV är en kausativ faktor till MS finns det skillnader mellan de mekanismer som tros orsaka sjukdomen (van Noort *et al.* 2000, Serafini *et al.* 2007, Pender 2011). Några andra hypoteser som lades fram är inte specifika för EBV men kan passa som mekanismer för andra infektioner som orsakar MS (Wucherpfenning & Strominger 1995, Lang *et al.* 2002).

Om man tittar på andra vanliga infektioner som kan leda till MS (tabell 2) kan man möjligen se en lite högre oddskvot, men man kan även se en liknande ökad oddskvot efter besvär som man vet inte leder till en ökad MS-risk, som en bruten arm t.ex. (Zaadstra *et al.* 2008). Däremot i Zaadstra *et al.* (2008) studien kan man se att en tidigare insjuknad i körtelfeber, som är en effekt av försenad EBV-infektion, leder till en högre risk av MS. Ett viktigt element är att körtelfeber är mer vanligt i världsdelar med en generellt bättre hygien, och att detta kan vara en faktor (Pakpoor & Ramagopalan 2013) Det är även intressant att körtelfeber samtidigt kan vara kopplat till andra autoimmuna sjukdomar (Zaadstra *et al.* 2008).

En av de andra intressanta faktorerna som kan påverka förekomsten av MS är breddgrad; generellt sett så ökar MS med breddgrad (Milo & Kahana 2010, figur 3). Däremot så finns det några folkgrupper som bor i hög-risk områden med en lägre risk, till exempel samer, kanadensiska hutteriter, och Nya Zeelands maorier (Marrie 2004). Genetiken kan då även ha en inverkan här, men eftersom risken för att få MS är runt 30 % om man har en monozygot tvilling med MS, så vet man att andra faktorer måste påverka också, såsom omgivningen (Dyment *et al.* 2004). Det är även av intresse att 20 % av MS-patienter har en släkting som också är sjuk i MS (Milo & Kahana 2010).



Figur 3. MS-prevalensen per 100 000 invånare, modifierat från Milo & Kahana (2010).

Vidare studier gjordes för att undersöka effekten av migration på MS-risken. Ett exempel är migranter från Västafrika, där MS-risken är låg, som immigrerar till Storbritannien och då får den ökade MS-risken från den nya omgivningen (Elian & Dean 1987). Gale och Martyn

(1995) hittade fann däremot att de som flyttar från ett hög-risk område till ett låg-risk område själva får minskad risk, medan de som flyttar från ett låg-risk område till ett hög-risk område behåller risken från sitt hemland. En annan studie tog även hänsyn till ålder vid flytt; de som migrerade till ett län i Kalifornien hade en lägre risk för MS än de som flyttade till ett län i Washington-delstaten, och skillnaden var större för de som flyttade innan de fyllde 10 än de som flyttade senare, mellan 15 och 19 år gammal (Milo & Kahana 2010).

Det finns en hel del faktorer i omgivningen som kan påverka MS, exempelvis solljus (Ascherio & Munger 2007b). En studie från Tasmanien visade att en ökad exponering för solljus mellan 6 och 15 års ålder ledde till en minskad risk för MS (van der Mei *et al.* 2003). Goldacre *et al.* (2004) fann att patienter med MS var mindre ofta sjuka i sol-relaterad hudcancer än kontrollgrupper vilket tyder på skydd från ökad exponering för solljus. Det kan även påpekas att det inte fanns någon skillnad i förekomsten av andra cancerformer mellan MS-patienter och kontrollgrupper (Milo & Kahana 2010). Däremot har i Israel olika folkgrupper födda i samma omgivning med liknande nivåer av solljus en varierande grad av MS-risk, vilket går emot de tidigare studierna, till exempel studien i Tasmanien (van der Mei *et al.* 2003, Kahana *et al.* 2008).

I och med att solljus bidrar starkt till vitamin D-halten i kroppen, undersöktes vitamin Ds påverkan på MS. Munger *et al.* (2004) visade att ett ökat vitamin D-intag kan kopplas till en minskad risk för MS, vilket passar med den geografiska spridningen av MS. Pender (2011) postulerade även att CD8+ T-celler ökar i antal med solljus och assisterar med att kontrollera EBV-infektionen (figur 2). Antalet CD8+ T-celler i blodet ökar med exponering till solljus, antingen naturligt eller från solarium (Hersey *et al.* 1983a, 1983b).

Den geografiska spridningen av MS kan då förklaras av flera olika faktorer som solljus och vitamin D, samt även andra faktorer som olika diagnosmetoder i mindre utvecklade länder (Marrie 2004). En annan förklaring till gradienten kan återigen vara EBV (Milo & Kahana 2010). Som tidigare nämnts finns det en koppling mellan körtelfeber och EBV, det vill säga mellan tidsintervallet där patienten infekterats med EBV (Handel *et al.* 2010). Där EBV är vanligt bland unga är MS mindre vanligt, oftast närmre ekvatorn (Milo & Kahana 2010). Vid högre breddgrad är det mer vanligt med en försenad primär infektion av EBV, samt en ökad risk för MS. (Milo & Kahana 2010). EBV-spridningen förklaras ofta av olika hygienvanor, och med utvecklade länders förbättrade vanor sprids EBV inte lika lätt bland barn (Milo & Kahana 2010).

Förutom infektioner, genetik och solljus kan även rökning vara en faktor som påverkar MS. En meta-analys av 10 studier kom fram till en oddskvot av 1,48 med en 95 % konfidensintervall från (1,35 - 1,63), vilket tyder på en liten riskökning för MS med rökning (Handel *et al.* 2011). Hedström *et al.* (2013) fick liknande resultat och såg även att åldern då patienten började röka inte gav någon skillnad. Däremot så hade de som aktivt rökte en högre risk för MS motsvarande de som hade slutat, vilket ändå kan tyda på en påverkan av hur mycket patienten hade rökt (Hedström *et al.* 2013). Det fanns även ett samband mellan intensiteten av rökningen, det vill säga hur många cigaretter per dag, och en ökad risk för MS men efter 10 år verkade effekten av tidigare rökning avta (Hedström *et al.* 2013). Intressant nog verkar den ökade risken för MS som kommer med rökning vara en effekt av själva rökningen, inte tobaken, eftersom snusanvändning inte hade samma ökning av MS-risk (Hedström *et al.* 2009). Detta är ändå möjligt eftersom autoimmuna minnes-celler kan finnas i lungorna och då utlösas och röra sig till CNS, vilket kan leda till korsreaktivitet (Hedström *et al.* 2011).

Det finns flera bakomliggande faktorer till MS, och forskning inom sjukdomen visar att det är en kombination av flera orsaker. De flesta forskare är överens om att genetik delvis ligger bakom förekomsten, men till vilken grad är oklart, och vilka andra bidragande faktorer som förekommer är omdebatterat. I framtiden kan möjligtvis vaccinationer mot EBV eller även avsiktlig infektion av EBV på småbarn vara ett möjligt sätt att minska risken för MS, eftersom att EBV-infektioner vid en ung ålder i de flesta fall inte orsakar symtom (Longnecker *et al.* 2013). Annan viktig MS-forskning i framtiden är att vidare undersöka effekten av solljus och vitamin D.

## Tack

Jag vill tacka Lage Cerenius för sin handledning och de som har gett hjälpsam återkoppling, Hanne Carlsson och Linnéa Widén. Jag vill även tacka Frida Niss och Hannes Boström som har läst genom uppsatsen och assisterat med språket.

## Referenser

- Amadori A, Zamarchi R, De Silvestro G, Forza G, Cavatton G, Danieli GA, Clementi M, Chieco-Bianchi L. 1995. Genetic control of the CD4/CD8 T-cell ratio in humans. *Nature Medicine* **1**: 1279–1283.
- Ascherio A, Munch M. 2000. Epstein - Barr virus and multiple sclerosis. *Epidemiology* **11**: 220-224.
- Ascherio A, Munger KL. 2007a. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I: the role of infection. *Annals of Neurology* **61**: 288-299.
- Ascherio A, Munger KL. 2007b. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part II: non-infectious factors. *Annals of Neurology* **61**: 504-513.
- Bajramovic J, Plomp A, van der Goes A, Koevoets C, Newcombe J, Cuzner ML, van Noort JM. 2000. Presentation of  $\alpha$ B-crystallin to T cells in active multiple sclerosis lesions: An early event following inflammatory demyelination. *Journal of Immunology* **164**: 4359-4366.
- Bajramovic JJ, Lassmann H, van Noort JM. 1997. Expression of alpha B-crystallin in glia cells during lesional development in multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology* **78**: 143–151.
- Brennan RM, Burrows JM, Bell MJ, Bromham L, Csurhes PA, Lenarczyk A, Sverndal J, Klintenstedt J, Pender MP, Burrows SR. 2010. Strains of Epstein-Barr virus infecting multiple sclerosis patients. *Multiple Sclerosis* **16**: 643–651.
- Dyment DA, Ebers GC, Sadovnick AD. 2004. Genetics of multiple sclerosis. *Lancet* **3**: 104-110.
- Elian M, Dean G. 1987. Multiple sclerosis among the United Kingdom-born children of immigrants from West Indies. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry* **50**: 327–332.
- Enander M. 2012. Körtelfeber. WWW-dokument 2012-12-14.  
<http://www.1177.se/Stockholm/Fakta-och-rad/Sjukdomar/Kortelfeber/> Hämtad 2014-02-07.
- Fredrikson S. 2011. Multipel skleros – MS. WWW-dokument 2011-11-10.  
<http://www.1177.se/Stockholm/Fakta-och-rad/Sjukdomar/Multipel-skleros--MS/> Hämtad 2014-02-07.
- Garzelli C, Taub FE, Scharff JE, Prabhakar BS, Ginsberg-Fellner F, Notkins AL. 1984.

- Epstein-Barr virus-transformed lymphocytes produce monoclonal autoantibodies that react with antigens in multiple organs. *Journal of Virology* **52**: 722–725.
- Goldacre MJ, Seagreat V, Yeates D, Acheson ED. 2004. Skin cancer in people with multiple sclerosis: a record linkage study. *Journal of Epidemiology & Community Health* **58**: 142–144.
- Handel AE, Williamson AJ, Disanto G, Dobson R, Giovannoni G, Ramagopalan SV. 2011. Smoking and multiple sclerosis: an updated meta-analysis. *PLoS ONE* DOI: 10.1371/journal.pone.0016149.
- Handel AE, Williamson AJ, Disanto G, Handunnetthi L, Giovannoni G, Ramagopalan SV. 2010. An updated meta-analysis of risk of multiple sclerosis following infectious mononucleosis. *PLoS ONE* doi:10.1371/journal.pone.0012496.
- Hedström AK, Bäärnhielm M, Olsson T, Alfredsson L. 2009. Tobacco smoking, but not Swedish snuff usage, increases the risk of multiple sclerosis. *Neurology* **73**: 696–701.
- Hedström AK, Hillert J, Olsson T, Alfredsson L. 2013. Smoking and multiple sclerosis susceptibility. *European Journal of Epidemiology* **28**: 867–874.
- Hersey P, Bradley M, Hasic E, Haran G, Edwards A, McCarthy WH. 1983a. Immunological effects of solarium exposure. *Lancet* **321**: 545–548.
- Hersey P, Haran G, Hasic E, Edwards A. 1983b. Alteration of T cell subsets and induction of suppressor T cell activity in normal subjects after exposure to sunlight. *Journal of Immunology* **31**: 171–174.
- Hoshino Y, Morishima T, Kimura H, Nishikawa K, Tsurumi T, Kuzushima K. 1999. Antigen-driven expansion and contraction of CD8<sup>+</sup>-activated T cells in primary EBV infection. *Journal of Immunology* **163**: 5735–5740.
- Jilek S, Schlupe M, Meylan P, Vingerhoets F, Guignard L, Monney A, Kleeberg J, Le Goff G, Pantaleo G, Du Pasquier RA. 2008. Strong EBV-specific CD8<sup>+</sup> T-cell response in patients with early multiple sclerosis. *Brain* **131**: 1712–1721.
- Kahana E, Alter M, Zilber N. 2008. The Israeli MS Study Group. Environmental factors determine multiple sclerosis risk in migrant to Israel. *Multiple Sclerosis* **14**: 69–70.
- Keegan MB, Noseworthy JH. 2002. Multiple sclerosis. *Annual Review of Medicine* **53**: 285–302.
- Klemenz R, Fröhli E, Steiger RH, Schäfer R, Aoyama A. 1991. Alpha B-crystallin is a small heat shock protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **88**: 3652–3656.
- Kurtzke JF, Heltberg A. 2001. Multiple sclerosis in the Faroe Islands: an epitome. *Journal of Clinical Epidemiology* **54**: 1–22.
- Lang HLE, Jacobsen H, Ikemizu S, Andersson C, Harlos K, Madsen L, Hjorth P, Sondergaard L, Svejgaard A, Wucherpfennig K, Stuart DI, Bell JI, Jones EY, Fugger L. 2002. A functional and structural basis for TCR cross-reactivity in multiple sclerosis. *Nature Immunology* **3**: 940–943.
- Lassmann H, Niedobitek G, Aloisi F, Middeldorp JM, NeuroproMiSe EBV Working Group. 2011. Epstein–Barr virus in the multiple sclerosis brain: a controversial issue—report on a focused workshop held in the Centre for Brain Research of the Medical University of Vienna, Austria. *Brain* **134**: 2772–2786.
- Longnecker RM, Kieff E, Cohen JI. 2013. Epstein-Barr virus. Fields BN, Knipe DM, Howley PM (red). *Fields virology*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Lünemann JD, Huppke, Roberts S, Brück W, Gärtner J, Münz C. 2008. Broadened and elevated humoral immune response to EBNA1 in pediatric multiple sclerosis. *Neurology* **71**: 1033 – 1035.
- Marrie, RA. 2004. Environmental risk factors in multiple sclerosis aetiology. *Lancet Neurology* **3**: 709–718.

- Magliozzi R, Serafini B, Rosicarelli B, Chiappetta G, Veroni C, Reynolds R, Aloisi F. 2013. B-cell enrichment and Epstein-Barr virus infection in inflammatory cortical lesions in secondary progressive multiple sclerosis. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* **72**: 29-41.
- Matzinger P. 1994. Tolerance, danger and the extended family. *Annual Review of Immunology* **12**: 991-1045.
- Milo R, Kahana E. 2010. Multiple sclerosis: Geoeidemiology, genetics and the environment. *Autoimmunity Reviews* **9**: 387-394.
- Munch M, Hvas J, Christensen T, Moller-Larsen A, Haahr S. 1998. A single subtype of Epstein-Barr virus in members of multiple sclerosis clusters. *Acta Neurologica Scandinavica*. **98**: 395-399.
- Munger KL, Zhang SM, O'Reilly E, Hernán MA, Olek MJ, Willett WC, Ascherio A. 2004. Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis. *Neurology* **62**: 60-65.
- Ousman SS, Tomooka BH, van Noort JM, Wawrousek EF, O'Conner K, Hafler DA, Sobel RA, Robinson WH, Steinman L. 2007. Protective and therapeutic role for aB-crystallin in autoimmune demyelination. *Nature* **448**: 474-479.
- Pakpoor J, Ramagopalan SV. 2013. Epstein-Barr virus is a necessary causative agent in the pathogenesis of multiple sclerosis: Yes. *Multiple Sclerosis* **19**: 1690-1691.
- Peferoen LAN, Lamers F, Lenthe N, Lodder R, Gerritsen WH, Huitinga I, Melief J, Giovannoni G, Meier U, Hintzen RQ, Verjans GM, van Nierop GP, Vos W, Peferoen-Baert RMB, Middeldorp JM, van der Valk P, Amor S. 2010. Epstein Barr virus is not a characteristic feature in the central nervous system in established multiple sclerosis. *Brain* **133**: 1-4
- Pender MP. 2011. The essential role of Epstein-Barr virus in the pathogenesis of multiple sclerosis. *The Neuroscientist* **17**: 351 – 367.
- Pender MP, Csurhes PA, Lenarczyk A, Pfluger CMM, Burrows SR. 2009. Decreased T cell reactivity to Epstein-Barr virus infected lymphoblastoid cell lines in multiple sclerosis. *Journal of Neurologic Neurosurgery and Psychiatry* **80**: 498-505.
- Pohl D, Krone B, Rostasy K, Kahler E, Brunner E, Lehnert M, Wagner HJ, Gärtner J, Hanefeld F. 2006. High seroprevalence of Epstein-Barr virus in children with multiple sclerosis. *Neurology* **67**: 2063 – 2065.
- Pugliatti M, Sotgiu S, Rosati G. 2002. The worldwide prevalence of multiple sclerosis. *Clinical Neurology and Neurosurgery* **104**: 182 – 191.
- Ribe, M. 1999. Statistikskolan: Oddskvoter berättar. *Välfärds Bulletin* **4**: 14-15.
- Sadovnick AD, Ebers GC, Dymont DA, Risch NJ. 1996. Evidence for genetic basis of multiple sclerosis. *Lancet* **347**: 1728 – 1730.
- Salzer J, Myhr KM. 2013. Epstein-Barr virus is a necessary causative agent in the pathogenesis of multiple sclerosis: No. *Multiple Sclerosis* **19**: 1692-1693.
- Sargsyan SA, Shearer AJ, Ritchie AM, Burgoon MP, Anderson S, Hemmer B, Stadelmann C, Gattenlöhner S, Owens GP, Gilden D, Bennett JL. 2010. Absence of Epstein-Barr virus in the brain and CSF of patients with multiple sclerosis. *Neurology* **74**: 1127-1135.
- Serafini B, Muzio L, Rosicarelli B, Aloisi F. 2013. Radioactive in situ hybridization for Epstein-Barr virus-encoded small RNA supports presence of Epstein-Barr virus in the multiple sclerosis brain. *Brain* **136**: 1-6.
- Serafini B, Rosicarelli B, Franciotta D, Magliozzi R, Reynolds R, Cinque P, Andreoni L, Trivedi P, Salvetti M, Faggioni A, Aloisi F. 2007. Dysregulated Epstein-Barr virus infection in the multiple sclerosis brain. *Journal of Experimental Medicine* **204**: 2899-2912.
- Serafini B, Severa M, Columba-Cabezas S, Rosicarelli B, Veroni C, Chiappetta G, Magliozzi R, Reynolds R, Coccia EM, Aloisi F. 2010. Epstein - Barr virus latent infection and BAFF expression in B cells in the multiple sclerosis brain: Implications for viral persistence and



- intrathecal B-cell activation. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* **69**: 677–693.
- Soulillou JP. 2013. Missing links in multiple sclerosis etiology. A working connecting hypothesis. *Medical Hypotheses*. **80**: 509-516.
- Sospedra M, Roland M. 2005. Immunology of multiple sclerosis. *Annual Review of Immunology* **23**: 683 – 747.
- Steinman L. 2009. A molecular trio in relapse and remission in multiple sclerosis. *Nature Reviews Immunology* **9**: 440-447.
- Thorley-Lawson, DA. 2001. Epstein-Barr virus: exploiting the immune system. *National Review of Immunology* **1**:75 – 82.
- van der Mei IAF, Ponsonby AL, Dwyer T, Blizzard L, Simmons R, Taylor BV, Butzkueven H, Kilpatrick T. 2003. Past exposure to sun, skin phenotype and risk of multiple sclerosis: a case-control study. *BMJ* **327**: 316–321.
- van Noort JM, Bajramovic JJ, Plomp AC, van Stipdonk MJB. 2000. Mistaken self, a novel model that links microbial infections with myelin-directed autoimmunity in multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology* **105**: 46 – 57.
- van Noort JM, van Sechel AC, Bajramovic JJ, el Ouagmiri M, Polman CH, Lassmann H, Ravid R. 1995. The small heat-shock protein alpha B-crystallin as candidate autoantigen in multiple sclerosis. *Nature* **375**: 798 – 801.
- van Sechel AC, Bajramovic JJ, van Stipdonk MJB, Persoon-Deen C, Geutskens SB, van Noort JM. 1999. EBV-induced expression and HLA-DR-restricted presentation by human B cells of aB-Crystallin, a candidate autoantigen in multiple sclerosis. *Journal of Immunology* **162**: 129 – 135.
- Willis SN, Stadelmann C, Rodig SJ, Caron T, Gattenloehner S, Mallozzi SS, Roughan JE, Almendinger SE, Blewett MM, Brück W, Hafler DA, O'Connor KC. 2009. Epstein-Barr virus infection is not a characteristic feature of multiple sclerosis brain. *Brain* **132**: 3318-3328.
- Windhagen A, Newcombe J, Dangond F, Strand C, Woodroffe MN, Cuzner ML, Hafler DA. 1995. Expression of costimulatory molecules B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), and interleukin 12 cytokine in multiple sclerosis lesions. *Journal of Experimental Medicine* **182**: 1985 – 1996.
- Wucherpfennig KW, Strominger JL. 1995. Molecular mimicry in T cell-mediated autoimmunity: Viral peptides activate human T cell clones specific for myelin basic protein. *Cell* **80**: 695-700.
- Zaadstra BM, Chorus AMJ, van Buuren S, Kalsbeek H, van Noort JM. 2008. Selective association of multiple sclerosis with infectious mononucleosis. *Multiple Sclerosis* **14**: 307-313.