



UPPSALA
UNIVERSITET

Nervtransmittordrivna Immunceller

Hur Gammaaminosmörtsyra, Glutamat och Acetylkolin påverkar T-celler

Einar Birnir Ólafsson

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2012
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Sammandrag

Gamma-aminosmörtsyra (GABA), glutamat och acetylkolin (ACh) har traditionellt sett betraktats som nervtransmittorer som inverkar på inhibitionen och excitationen av nervceller. Dock har det uppdagats att alla tre är vitala komponenter av leukocyters signaleringssystem. Härefter fokuserar jag på hur GABA, glutamat och ACh påverkar T-celler samt vilka relevanta receptorer, transportörer och enzymer som uttrycks av T-celler. Idén att nervtransmittorer och leukocyter interagerar är relativt ny men den forskning som gjorts visar enhälligt att gammaaminosmörtsyra, glutamat samt acetylkolin har alla en betydande effekt på T-celler i många olika vävnader däribland hjärnan, blodomloppet och bukspottskörteln. Detta medför att den relativt nyupptäckta relationen har stora implikationer för många sjukdomar såsom multipel skleros (MS), typ-1-diabetes och inflammation allmänt. Vidare forskning om detta samband, nevroimmunologi, kan ligga till grund för framtida farmakologiska behandlingar som kan lindra eller bota symptom för många av dagens autoimmuna och neurologiska sjukdomar.

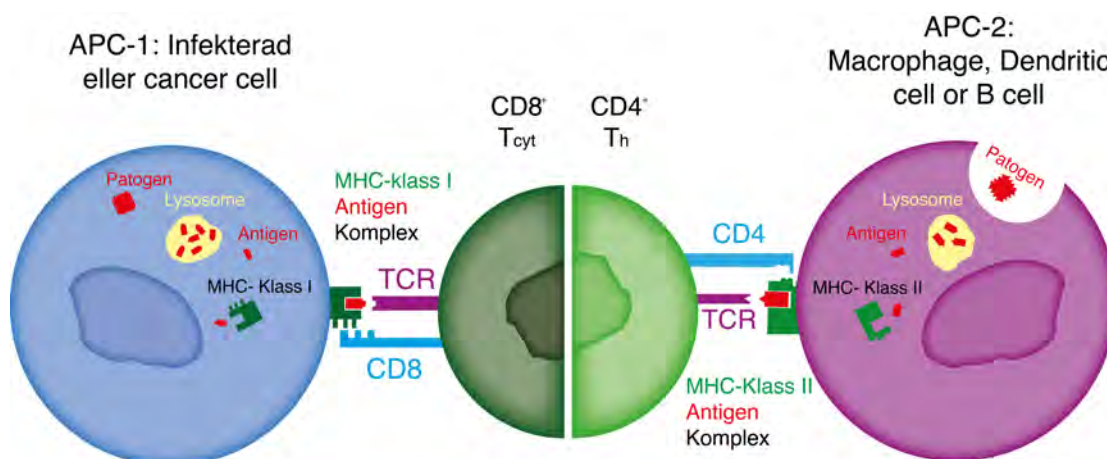
Inledning

Immunförsvaret: Överblick

Immunförsvaret delas in i två delar. Det medfödda immunförsvaret är kroppens första försvarslinje och utgörs av epitelceller, slemhinnor, magsaften, komplementsystemet samt alla leukocyter utom lymfocyterna. Det adaptiva immunförsvaret utgörs av B och T lymfocyterna som även kallas för B- och T-celler. Det som medfödda och adaptiva leukocyter reagerar på kallas för antigen, vilket kan vara allt från virus till eukaryota patogener. De medfödda leukocyterna känner igen antigen som är generella för många patogener. De använder receptorer som Toll-Liknande-Receptorer (TLR) för att identifiera antigen. TLR3 är en sådan som reagerar på dubbelsträngat RNA, en mycket vanlig patogen markör för virus (Muzio *et al.* 2000). Lymfocyterna är kroppens andra försvarslinje och erhåller enorm mångfald i sina B-cellreceptorer och T-cellreceptorer (TCR) (Davis & Bjorkman 1988, Gathings *et al.* 1977). Detta är möjligt på grund av somatisk rekombination (Chien *et al.* 1984) som slumpmässigt beviljar uttrycket av receptorsubenhets gener. B-celler genomgår mognad i benmärgen medan T-cellerna mognar i brässen (tymus) (Tyan 1964). Brässen utsöndrar även essentiella hormoner för B-cellers mognad. Somatisk rekombination medför hög antigenspecificitet och diversitet men också autoimmunitet (immuncellers reagens på kroppsegna antigen). Under sin mognad genomgår både B och T-celler rigorösa kontroller för att försäkra att de inte är defekta. Först genomgår de positiv kontroll, vilket innebär att deras förmåga att binda till MHC klass 1 (MHC-1) och klass 2 (MHC-2) testas. MHC är molekyler som binder till antigen i cellers protoplasma och sedan för dem till plasmamembranet för att presenteras för immunceller. Autoimmunitet testas sedan genom negativ kontroll. I detta arbete kommer jag att fokusera på T-celler.

T-celler

T-cellens öde avgörs under positiv kontroll. Om cellen saknar förmågan att ansluta till MHC-1 eller -2 får de en signal att genomgå apoptos, om de ansluter starkare till MHC-1 utvecklas de till en cluster of differentiation 8⁺ (CD8⁺) T-cell. Om de ansluter starkare till MHC-2 utvecklas de till en cluster of differentiation 4⁺ (CD4⁺) T-cell (von Boehmer *et al.* 2003). CD4⁺ och CD8⁺ är co-receptorer som är mycket viktiga för bildning av immunologiska synapser, Figur 1. Det finns många andra CD molekyler, exempelvis CD3 som är en viktig co-receptor för TCR. Majoriteten av CD8⁺ T-celler är cytotoxiska T-celler (T_{cyt}) och flertalet CD4⁺ celler är regulatoriska (T_r) eller hjälpar (T_h) T-celler. T-cellernas negativa kontroll involverar antigenpresenterande celler (APC) som presenterar kroppsegna antigen. Om en T-cell binder för starkt till ett sådant antigen innebär det att T-cellen är autoimmun och den mottar en apoptisk signal. Om de ansluter svagt utvecklas de till T_{cyt} eller T_h och om de ansluter ”medel” starkt till antigen utvecklas de till T_{reg} (Hori *et al.* 2003). Efter att T-cellerna har kontrollerats förs de ut från brässen som naiva T-celler i det kardiovaskulära systemet. T-celler spenderar större delen av sin existens i lymfsystemet, främst i mjälten och i lymfknutarna (Goodnow & Cyster 1997). De passerar in i lymfsystemet från det kardiovaskulära systemet genom hög endotelvenoler som har bredare endotelceller än vanliga venoler (Stamper & Woodruff 1976). APC delas in i två kategorier. Nästan alla celler i kroppen uttrycker MHC-1, sådana celler kan stimulera T_{cyt}. Makrofager, dendritceller och B-celler uttrycker MHC-2 och är APC för T_h och T_r. I anslutningen mellan APC och lymfocyt bildas det en immunologisk synaps där information mellan de två cellerna överförs. Immunologiska synapser består av MHC-1/-2 T-cellreceptor (TCR) inneslutna av integrin adhesions molekyler. Klassiskt sett är det cytokinerna som är immunsystemets kommunikationsmolekyler. De inverkar bland annat i inflammation, proliferation, aktivering samt kemotaxi. Dock finns det många andra molekyler som påverkar leukocyterna.



Figur 1: En schematisk bild på interaktionen mellan CD4⁺/ CD8⁺ T-celler och APC. CD4⁺ T-celler interagerar med APC som presenterar antigen med MHC-1 molekyler medan CD8⁺ T-celler ansluter med APC som använder MHC-2 molekyler.

Gamma-aminosmörtsyra (GABA)

GABA är den vanligaste inhibitoriska signalsubstansen i det centrala nervsystemet (CNS) och finns även i det perifera nervsystemet (PNS) (Jin *et al.* 2011, Olsen & Sieghart 2009).

Mekanismerna för metabolismen samt transporten av GABA i CNS är välkända. Enzymet glutaminsyra-dekarboxylas (GAD) använder glutamat som substrat till syntesen av GABA. GAD förekommer i två isoformer hos däggdjur, som GAD₆₅ och GAD₆₇, döpta efter sina respektive molmassor (65 respektive 67 kDa). De två isoformerna av GAD hittas i olika delar av nervcellen: GAD₆₅ finns koncentrerat i synaptiska vesiklar i synapsen medan GAD₆₇ finns jämt fördelat i nervcytosolen. Både GAD₆₅ och GAD₆₇ hittas i perifer vävnad såsom i bukspottkörtelns Langerhanska öar, binjurarna och testiklarna (Jin *et al.* 2011). Efter syntes i presynaptiska terminalen så transporteras GABA in i presynaptiska vesiklar av en vesicular inhibitory amino acid transporter (VIAAT) SLC 32A1 (Wilmers & Getz 2005, Dumoulin *et al.* 1999). Efter sekretion till den synaptiska klyftan upphör GABAs effekt genom att det fångas upp av högaffinitets transportörer (Bhat *et al.* 2010, Christiansen *et al.* 2007). Det finns fyra GABA transportörer i människokroppen: GABA-transportör 1, 2, 3 (GAT1-3) samt betain GABA-transporter (BGT-1) (Christiansen *et al.* 2007). GABA-transaminas är enzymet som bryter ner GABA till succinatsemialdehyd (SSA) (Shelp *et al.* 1999). SSA i sin tur är substrat till många enzym (Cash *et al.* 1979). Det finns två typer av GABA receptorer: GABA_A och GABA_B. GABA_A-receptorerna är ligandstyrda jonkanaler (Olsen & Sieghart 2009) medan GABA_B är en metabotropiska, G-protein kopplad receptor (Karbon & Enna 1985).

GABA_A-receptorer är transmembrana pentameriska glykoprotein uppbyggda av en sammansättning av fem subenheter av 19 möjliga; α 1-6, β 1-3, γ 1-3, δ , ϵ , π , θ och ρ 1-3. Alla varianter är permeabla för kloridjoner (Cl⁻) och innehåller oftast två α , två β plus en femte ubenhet (Olsen & Tobin 1990, Olsen & Sieghart 2009). GABA_A-receptorerna associerar med många intracellulära proteiner till exempel GABA receptor associerat protein (GABARap) som transporterar subenheterna strax efter syntes i cellers endoplasmatiska retikulum till plasmamembranet (Chen *et al.* 2007). GABA_B-receptorn är en heteromer och består av två subenheter GABA_{B1} och GABA_{B2} (Marshall *et al.* 1999). Receptorn är antingen kopplad till kalium (K⁺) eller kalcium (Ca²⁺) jonkanaler. Presynaptiska GABA_B-receptorer stänger ofta kalciumjonkanaler medan postsynaptiska GABA_B-receptorer oftast öppnar kaliumjonkanaler (Wojcik & Neff 1984, Karbon & Enna 1985).

Receptoraktiveringen av både GABA_A och GABA_B resulterar vanligtvis i en hyperpolarisering i CNS nerver. Hyperpolarisering innebär att membranpotentialen blir mer negativ och nervaktivitet dämpas. Perifer vävnad har också visats uttrycka GABA såsom testiklarna, äggstockarna, placentan, livmodern, gastrovaskulärtrakten, hypofysen och bukspottkörtelns Langerhans öar (Gladkevich *et al.* 2006). GABA finns även i blodet i mycket låga koncentrationer, cirka 100 nM. Man har även visat att GABA är en viktig del i signaltransduktionsvägar i endokrinvävnad (Kataoka *et al.* 1984). GABA signaleringskomponenter har också upptäckts uttryckas av leukocyter (Ratnikov *et al.* 1982). Funktionen av GABA som en immunomodulatorisk molekyl är idag ett växande forskningsfält.

GABA-signalsystemskomponenter i T-celler

GABA samt GABA_A signaleringskomponenter har visats uttryckas av många immunceller däribland T-celler (Jin *et al.* 2011). Man har visat att immunceller uttrycker många av de enzym och protein som är inblandade i GABA-metabolismen. I försök på möss uppdagades det att, bland andra immunceller, CD4⁺ T-celler uttrycker GAT-2, GABA-T samt att de utsöndrar GABA (Bhat *et al.* 2010). Wang (2009) upptäckte genom att jämföra möss med/utan GAT-1 att GAT-1 uttryck leder till minskad T-cells proliferation. Försök på humana lymfocyter har visat att GAD₆₇, VIAAT, GABA-T samt GAT (1 och 2) uttrycks av både aktiverade och naiva T-celler (Dionisio *et al.* 2011). De olika subenheterna som bygger GABA_A-receptorerna har visats uttryckas av både CD4⁺ och CD8⁺ samt APC hos råttor, möss och människor (Jin *et al.* 2011). Dock har analoga försök på möss, där endast stam varierat, visat inkonsekventa data gällande de olika subenheternas uttryck. CD4⁺ från NOD (non-obese diabetic, en modell för typ-1-diabetes) möss uttryckte $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 3$ och δ (Tian *et al.* 2004), medan EAE (experimental autoimmune encephalomyelitis, en modell för MS) CD4⁺ möss uttryckte inga av de ovanstående GABA_A-subenheterna (Bhat *et al.* 2010). Endast ett fåtal försök har utförts på lymfocyter där man undersökt uttrycket av alla 19 subenheter. Även här erhöles varierande resultat: I EAE cellinjen uttrycktes $\alpha 1$, $\alpha 4$, $\beta 2$, $\beta 3$, $\gamma 1$ och δ (Bjurstom *et al.* 2008) och i T-celler från råttor uttrycktes $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 4$, $\alpha 6$, $\beta 3$, $\gamma 1$, δ , $\rho 1$ och $\rho 2$ (Mendu *et al.* 2011). Slutsatserna man kan dra ifrån de ovanstående resultaten är att GABA_A-receptorer uttrycks av T-celler och att variabler som T-cellsgrupp och tillstånd kan spela en roll för vilka subenheter som uttrycks. Fler försök måste genomföras för att fastställa detta. I försök på möss (NOD, Balb/c och AKR) upptäcktes det att GABA har en inhibitorisk effekt på T-cellers proliferation (Tian *et al.* 2004). Man testade anti-CD3 (en CD3 antikropp) inducerad T-cell proliferation i närvaro av 300 μM GABA och erhöles att T-cellerna prolifererade 60 % mindre i närvaro av GABA. Man testade även TCR-aktiverade lymfocyter med kroppsegna (GAD₆₅) och främmande (hönsägglysozym) antigenen, även här utövade GABA en inhibitorisk effekt. De visade även att det var GABA_A-receptorn som medierade inhibitionen genom att visa att muscamol, en GABA_A-receptoragonist, uppvisade liknande resultat (40 % lägre proliferation med muscamol). Under fysiologiska förhållanden finns GABA i höga koncentrationer (300 μM – några mM) endast i synapser, därför var det av stor betydelse när fysiologiska koncentrationer av GABA som finns i extracellulär vätska (100 nM) visades minska T-cellers proliferation (Bjurstrom *et al.* 2008, Mendu *et al.* 2011). Baclofon, en GABA_B agonist, visades inte ha någon inverkan på T-cellers proliferation. T-cellers uttryck av GABA_B är i dagsläget knappt utforskat.

De biokemiska mekanismerna som GABA utövar på T-celler är i dagsläget endast delvis beskrivna och man har inte fastställt hur olika sammansättningar av underenheter av GABA_A-receptorn skiljer sig i effekt. När T-celler aktiveras via TCR/ CD3 – MHC/ antigenbindning sätts en kaskad av reaktioner igång som resulterar i Ca²⁺ inflöde samt ökat genuttryck av cytokinen interleukin 2 (IL-2) (Alberola-Ila *et al.* 1997). IL 2 påverkar T-cell proliferation. Tian (1999) testade om GABA även inhiberade T-cell proliferation i närvaro av jonomycin (en Ca²⁺ jonofor) och forbolacetater (PMA, aktiverar proteinkinas C). De visade att GABA inte har någon inverkan i närvaro av dessa, möjligtvis på grund av att de främjar inflöde av Ca²⁺. Ca²⁺ är en mycket viktig sekundär budbärare hos T-celler som inducerar cytokinsyntes

och utsöndring samt proliferation (Beeton & Chandy 2005, Chandy *et al.* 2004, Bjurston *et al.* 2008, Tian *et al.* 1999). Ca^{2+} flödar in i T-celler via Ca^{2+} frisläppningsaktiverade kanaler (CRAC). Den intracellulära Ca^{2+} -koncentrationen i T-cellen är beroende av de elektriska och kemiska gradienterna över membranet (Bjurston *et al.* 2008). Ca^{2+} inflöde amplificeras av Ca^{2+} känsliga K^+ kanaler (Bjurston *et al.* 2008). T-celler har en membranpotential på -50 till -70 mV och en Cl^- jämviktspotential på -35 mV (Felber & Brand 1982, Lewis & Cahalan 1995, Lewis *et al.* 1993, Tian *et al.* 2004). GABA_A -receptorstimulering har en motsatt effekt till Ca^{2+} känsliga K^+ -jonkanaler då det orsakar att Cl^- strömmar ut ur cellen mot den elektriska och kemiska gradienten och därmed depolariserar cellen. I CNS flödar Cl^- in i nervceller genom GABA_A -receptorn vilket leder till en hyperpolarisering. Ca^{2+} inflöde hämmas av GABA eftersom GABA_A -receptorer har en depolariserande effekt vilket förminskar drivkraften som drar in katjoner i cellen, däribland Ca^{2+} (Tian *et al.* 2004, Bjurston *et al.* 2008). Tabell 1 och Figur 3 sammanfattar uttrycket samt funktionen av GABA signaleringskomponenter hos T-celler.

Tabell 1: Uttryck och funktion av GABA signalsystemskomponenter hos T-celler.

Art (cell linje)	GABA signalsystemskomponent	Funktion nedreglerad
<i>Mus</i>	GAT-1 ^A	Proliferation
<i>Mus</i>	GAT-2 ^B	Cytokinproduktion
<i>Mus</i>	GABAT ^B	Cytokinproduktion
<i>Mus</i>	GABA_B	Cytokinproduktion
<i>Mus (NOD)</i>	$\text{GABA}_A \alpha 1, \alpha 2, \beta 1, \beta 2, \beta 3, \delta$ mRNA (naiv) ^C	Proliferation
<i>Mus (NOD)</i>	$\text{GABA}_A \alpha 1, \alpha 2, \beta 1, \beta 2, \gamma 3, \delta$ mRNA (aktiverad) ^C	Proliferation
<i>Mus (EAV)</i>	$\text{GABA}_A \alpha 1, \alpha 4, \beta 2, \beta 3, \gamma 1, \delta$ mRNA ^D	Proliferation (vid 100 nM [GABA])
<i>Rattus (Wistar)</i>	$\text{GABA}_A \alpha 1, \alpha 2, \alpha 3, \alpha 4, \alpha 6, \beta 3, \delta, \rho 1, 2$ mRNA ^E	Proliferation (vid 100 nM [GABA])
<i>Homo sapiens</i>	GAT 1 & 2 ^F	Proliferation
<i>Homo sapiens</i>	GABAT ^F	Proliferation
<i>Homo sapiens</i>	VIAAT ^F	Proliferation
<i>Homo sapiens</i>	GAD67 ^F	Proliferation
<i>Homo sapiens</i>	$\text{GABA}_A \alpha 1, \alpha 3, \alpha 6, \beta 3, \gamma 2, \delta, \rho 2$ mRNA (aktiverad) ^F	Proliferation
<i>Homo sapiens</i>	$\text{GABA}_A \alpha 1, \alpha 6, \delta, \rho 2$ mRNA (naiv) ^F	Proliferation
<i>Homo sapiens (H9)</i>	$\text{GABA}_A \alpha 1, \alpha 4, \beta 1$ mRNA ^G	Cytotoxitet
<i>Homo sapiens (Jurkat J6)</i>	$\text{GABA}_A \alpha 1, \alpha 3, \alpha 4, \alpha 6, \beta 1, \beta 2, \beta 3, \gamma 2, \delta, \epsilon, \theta$ mRNA ^H , $\text{GABA}_A \alpha 1$ protein ^H	$[\text{Ca}^{2+}]_i$
<i>Homo sapiens (HL60)</i>	$\text{GABA}_A \alpha 1$ protein ^H	$[\text{Ca}^{2+}]_i$

Referenser: A, Wang *et al.* 2009; B, Bhat *et al.* 2010; C, Tian *et al.* 2004; D, Bjurston *et al.* 2008; E, Mendu *et al.* 2011; F, Dionisio *et al.* 2011; G, Bergeret *et al.* 1998; H, Alam *et al.* 2006.

Glutamat (Glu)

I CNS alstras glutamat av glutamin och α -ketoglutarat (Tapiero *et al.* 2002). Glutamin eller α -ketoglutarat transporteras in i pre-synaptiska terminalen och sedan vidare till en mitokondrie där fosforylerad glutamins ombildar det till glutamat och ammoniak (Daikhin & Yudkoff 2000). Glutamatet förvaras sedan i synaptiska vesiklar för senare användning. Spänningskänsliga Ca^{2+} jonkanaler styr frisläppningen av glutamat in i presynaptiska terminalen (Anderson & Swanson 2000, Meldrum 2000). Frigörelsen av glutamat till synaptiska klyftan påverkas av en mängd olika receptorer däribland $GABA_B$, mGluR och AChR (Anderson & Swanson 2000, Meldrum 2000). Så lite som en vesikel (100 mmol/L Glu) kan inducera en excitatorisk postsynaptisk potential (EPSP) (Meldrum 2000). Efter sekretion ut i synaptiska klyftan finns glutamat antingen bundet till en glutamatreceptor (GluR), bundet till en transportör, diffunderat ur klyftan eller absorberat av gliaceller. I gliacellerna metaboliseras glutamat antingen till glutamin, via glutaminsyntas, eller till α -ketoglutarat, via glutamat-oxaloacetat-transaminas (GOT) eller glutamat dehydrogenas (Eglen *et al.* 1999). Glutamatttransportörer är essentiella för att extracellulära koncentrationer av glutamat inte ska nå toxiska nivåer. De viktigaste glutamatttransportörerna är hög affinitets glutamat- Na^+ beroende transportörer (EAAT). Det finns fem sådana, EAAT-1 till 5 (Nedergaard *et al.* 2002, Schwartz *et al.* 2003). Det finns även en cystin/ glutamat antiport (Bannai & Kitamura 1980, Bannai & Kitamura 1981). Glutamat har både ligandstyrda jonkanalreceptorer (iGluR) och metabotropiska, G-protein-kopplade receptorer (mGluR). iGluR är indelade i tre grupper, namngivna efter respektive specifik agonist (Watkins & Olverman 1987) α -amino-3-hydroxy- 5-metyl- 4-isoxazolpropionat (AMPA), N-metyl -D-aspartat (NMDA) och kinat (KA). AMPA-receptorn är konstruerad av en kombination av fyra subenheter: iGluR1, iGluR2, iGluR3 och iGluR4, KA-receptorn av fem subenheter: iGluR5, iGluR6, iGluR7, KA_1 och KA_2 och NMDA-receptorn av sju subenheter: NR1, NR2, NR3, NR4, NR5, NR3A och NR3B. Man gör ofta en distinktion mellan NMDA-receptorn och AMPA/ KA-receptorerna eftersom AMPA och KA är mycket lika, då benämner man AMPA/ KA som icke-NMDA-receptorer och NMDA som NMDA-receptorn. Alla iGluR är permeabla för katjoner, främst Na^+ och K^+ men skiljer sig åt i relativ permeabilitet beroende på receptorgrupp och dess subenhetskomposition (Attwell 2000, Meldrum 2000). Endast NMDA-receptorn är i vanliga fall permeabel för Ca^{2+} . NMDA-receptorn kräver även en elektrisk impuls samtidigt som den binder glutamat för att aktiveras då den binder Mg^{2+} internt vilket blockerar jonkanalen (Fonnum 1984). mGluR är uppdelade i tre subgrupper som är ytterligare klassificerade i åtta subtyper utefter funktion och agonister. Subgrupp ett (mGluIR: R1 och R5), subgrupp två (mGluIIR: R2 och R3) samt subgrupp tre (mGluIIIR: R4, R6, R7 och R8) (Nakanishi 1992). mGluR stimulering resulterar i förändrade koncentrationer av intracellulära sekundära budbärare, olika sekundära budbärare aktiveras beroende på subgrupp och subtyp (Kunishima *et al.* 2000). Aktivering av både iGluR och mGluR resulterar i en depolarisering i vertebrat CNS vilket innebär att membranpotentialen blir mer positiv i den postsynaptiska cellen och nervaktiviteten ökar. De flesta excitatoriska CNS nerver i vertebrater innehåller glutamat. Glutamat uppfyller många funktioner utöver sin signaleringsroll i CNS och har många metaboliska vägar utanför CNS (Erecinska & Silver 1990). Såsom GABA har glutamat även visats påverka leukocyter (Kostanyan *et al.* 1997).

Glutamat-signalsystemskomponenter i T-celler

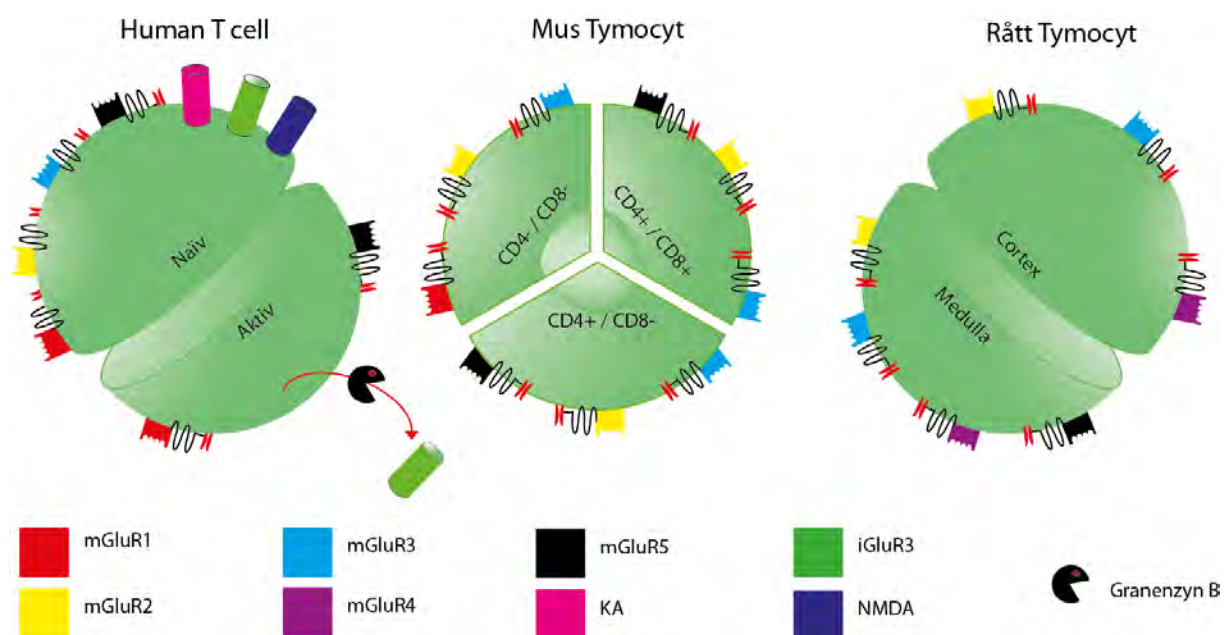
Glutamatreceptorers uttryck av humana leukocyter uppdagades genom att undersöka radioaktivt märkt glutamats bindning till leukocyter (Kostanyan *et al.* 1997). Forskning på omogna T-celler i brässen (tymocyter) hos möss har visat att tymocyter uttrycker olika subtyper av mGluR beroende på utvecklingsskede (Storto *et al.* 2000a). De visade att CD4⁺/CD8⁺ och CD4⁺/CD8⁻ tymocyter uttryckte subgrupp mGluIIR (R2/R3) och mGluIR subtyp mGluR5 samt att CD4⁻/CD8⁻ tymocyter uttryckte mGluIIR och mGluIR subtypen mGluR1. Aktivering av mGluIR ökade cytosoliskt IP3 och mGluIIR aktivering ökade cytosoliskt cAMP i CD4⁺/CD8⁺ och CD4⁺/CD8⁻ tymocyter. CD4⁻/CD8⁻ mGluIIR och mGluIR fungerade likadant. Skillnaden i mGluR uttryck i olika stadier i T-cellmognaden tyder på att glutamat påverkar T-cellsutvecklingen (Storto *et al.* 2000b). Försök på råttor har visat att tymocyter även uttrycker mGluR4 och att dess funktion är kopplad till förändringar i intracellulär Ca²⁺-koncentrationer samt hämning av cAMP signalvägar och därmed ackumulation av intracellulärt cAMP (Rezzani *et al.* 2003). Efter mognad uttrycker naiva T-celler mGluR5, R1, R2, R3 och R8 samt alla iGluR (NMDA, AMPA och KA) (Pacheco *et al.* 2007). Man har även visat att blodlymfocyter uttrycker mGluR4, R6 och R7 och att dessa ökar intracellulära reaktiva syrearter (ROS) i försök på *rodentia* (råtta och mus) och *lagomorpha* (kanin), dock gjordes ingen distinktion mellan B- och T-celler (Boldyrev *et al.* 2004). ROS är signaleringsmolekyler som föranleder proliferation, cellmognad eller apoptos. Hos naiva T-celler orsakar mGluR5 en biokemisk kaskad där enzymet adenylcyklas aktiveras först. Sedan omvandlar adenylcyklas ATP till cAMP (Pacheco *et al.* 2004). cAMP aktiverar vidare proteinkinase A (PKA). Både cAMP och PKA inaktiverar c-jun n-terminal kinaser (JNK) (Harada *et al.* 1999), extracellulär signalreglerande kinas (Kostanyan *et al.* 1997, Ramstad *et al.* 2000), aktiverar c-src kinas (CSK) (Vang *et al.* 2001) och NF- κ B (Hershfield 2005, Jimenez *et al.* 2001). Alla dessa skeenden gör att T-celler inte kan proliferera eller producera cytokiner (Aandahl *et al.* 2002). mGluR5 stimulering hos aktiverade T-celler har visats öka ERK-aktivering en motsatt effekt till naiva T-celler (Pacheco *et al.* 2004). mGluR5 har även visats öka intracellulärt Ca²⁺ (Kawabata *et al.* 1996) samt aktivera spänningssänsliga kaliumjonkanaler (K_v 1.3), någonting som mGluR1, R2 och R3 också gör hos naiva T-celler (Poulopoulou *et al.* 2005b). K_v 1.3 kanaler möjliggör att T-celler depolariseras vid lägre membranpotentialer. Depolarisering leder till inhibering av T-cells aktivering, cytokinsyntes och proliferation (Cahalan & Lewis 1994, Lewis & Cahalan 1995). Detta medför att T-celler erhåller lägre immunreaktans (Poulopoulou *et al.* 2005a). Alla tre iGluR subgrupper (AMPA, NMDA och KA-receptorer) uttrycks av naiva T-celler (Lombardi *et al.* 2001). Alla iGluR subgrupper kan in vitro vid fysiologiska koncentrationer av blodplasma Glu (10 nM) modulera effekterna av molekyler som inducerar T-cell proliferation och Ca²⁺ inströmning (Lombardi *et al.* 2001). Detta påvisades genom att använda phytohaemagglutinin (PHA) och anti-CD3. PHA är en mitogen (en mitosinducerande molekyl) och aktiverar T-celler genom att ansluta till TCR/CD3 komplexet. Detta leder till aktivering av fosfolipas C sedan IP3-systemet som vidare aktiverar proteinkinase C och till slut mitogen aktiverad proteinkinase (MAPK) som influerar proliferation, differentieringen, apoptos och genuttryck. anti-CD3 är en antikropp som stimulerar CD3 och därmed TCR vilket leder till proliferation. Glutamat kunde dock inte inducera proliferation eller Ca²⁺ inströmning av sig självt vid koncentrationer i intervallet 10 nM – 1 mM (Lombardi *et al.* 2001). NMDA-receptor

subenheterna NR1 och NR2 uttrycks av T-celler från humant blod och uttrycket av mRNA för dessa subenheter förändras vid TCR aktivering (Miglio *et al.* 2005). NMDA-receptorn har visats påverka T-cellers proliferation (Miglio *et al.* 2005). mRNA för NMDA-subenheten NR3 har även visats uttryckas av humana blodleukocyter, dock gjordes ingen distinktion mellan B- och T-celler (Roozafzoon *et al.* 2010). KA-receptorer reglerar K_v1.3 jonkanaler i T-celler såsom mGluR2 och mGluR3 (Poulopoulou *et al.* 2005b). AMAP subtypen R3 (iGluR3) uttrycks hos naiva T-celler och reglerar två egenskaper hos T-celler; T-cellers adhesion till ECM glykoproteinen laminin (ett protein i det basala laminat) och fibronectin (ett protein i extracellulära matrixen) samt T-cellers migration mot kemokinen CXCL12/SDF-1 (Ganor *et al.* 2003, Sarchielli *et al.* 2007). Proteaset granzym B klyver iGluR3 vid TCR-aktivering och receptorn återfinns inte på membranet förrän ca 48 timmar senare (Ganor *et al.* 2007). Försök på *rodentia* (råtta och mus) och *lagomorpha* (kanin) har visat att NMDA medierar intracellulära reaktiva syreföreningar (ROS), dock gjordes ingen distinktion mellan B- och T-celler (Boldyrev *et al.* 2004). De kända uttrycken och funktionerna av iGluR och mGluR visas i Tabell 2 och Figur 2 och 3.

Tabell 2: Uttryck och funktion av glutamats signalsystemkomponenter hos T-celler.

Art (Cell typ)	Glutamatreceptor	Funktion
<i>Mus</i> (<i>Tymocyt</i>)	mGluR (R1/ R5) ^B	↑[IP3] _i
(<i>Tymocyt</i>)	mGluR (R2/ R3) ^B	↓cAMP
<i>Råtta</i> (<i>Tymocyt</i>)	mGluR4 ^C	↓↑[Ca ²⁺] _i & ↓↑cAMP
<i>Homo sapiens</i>	mGluR5 ^{D,E,F}	↑AC→↓Cytokiner & ↓Proliferation ^D , ↑[Ca ²⁺] & ↑K _v 1.3 ^E
<i>Homo sapiens</i>	mGluR1, R2, R3 ^F	↑K _v 1.3
<i>Homo sapiens</i>	mGluR1 ^I	↑[Ca ²⁺] _i
<i>Homo sapiens</i>	mGluR1, R2, R3 & R8 ^K	ND
<i>Homo sapiens</i>	KA ^{A,F}	↑K _v 1.3
<i>Homo sapiens</i>	NMDA ^A	↓↑[Ca ²⁺] _i & ↓↑Proliferation
<i>Homo sapiens</i>	NMDA: NR1 ^I & NR2 ^I , NR3 ^J	↓↑Aktivering
<i>Homo sapiens</i>	AMPA ^A	↓↑[Ca ²⁺] _i & ↓↑Proliferation
<i>Homo sapiens</i>	iGluR3 ^G	↓↑T-cell adhesion & ↓↑Kemotaxi
Råtta/ Mus/ Kanin	mGluR4, R6, R7 & R8 ^H	↑[ROS] _i
Råtta/ Mus/ Kanin	NMDA ^H	↑[ROS] _i

Referenser: A, Lombardi *et al.* 2001; B, Storto *et al.* 2000a; C, Rezzani *et al.* 2003; D, Pacheco *et al.* 2004; E, Kawabata *et al.* 1996; F, Poulopoulou *et al.* 2005b; G, Ganor *et al.* 2003; H, Boldyrev *et al.* 2004; I, Miglio *et al.* 2005; J, Roozafzoon *et al.* 2010; K, Poulopoulou *et al.* 2005a.



Figur 2: En schematisk bild på glutamatreceptorers uttryck i olika stadier. Humana T-celler uttrycker AMPA, KA, NMDA (Lombardi *et al.* 2001), mGluR1, mGluR2, mGluR3 samt mGluR5 (Pacheco *et al.* 2007). $CD4^- / CD8^-$ mös uttrycker mGluR2, mGluR3 och mGluR5; $CD4^+ / CD8^+$ mGluR2, mGluR3 och $CD4^+ / CD8^-$ möss mGluR5 och mGluR2, mGluR3 och mGluR5 (Storto *et al.* 2000a). Tymocyter från råttor i cortexen av brässen uttrycker mGluR2, mGluR3 och mGluR4; Tymocyter i brässens medulla uttrycker mGluR2, mGluR3, mGluR4 samt mGluR5 (Boldyrev *et al.* 2004).

Acetylkolin (ACh)

ACh spelar en central roll i både PNS och CNS. I PNS motorplattor (neuromuskulära synapser) är det ACh som är den viktigaste nervtransmittorn i både glatt- och skelettmuskulatur. ACh har även en vital roll i CNS där det bland annat inverkar i minne, humör, belöningssystemet, kognition, inläring samt sinnesbearbetning. ACh syntetiseras från substraten acetyl-koenzym A och kolin av enzymet kolin-acetyltransferas (Bergeret *et al.* 1998, Greenspan 1980). ChAT syntetiseras i nervcellers soma (cellkropp) (Ichikawa & Shimizu 1998). Efter syntes transporteras ACh via vesikulär ACh transporter (VAChT) in i synaptiska vesiklar där koncentration av ACh är 100 gånger högre än i cytoplasman (Usdin *et al.* 1995). Nedbrytningen av ACh görs av kolinesteras (ChE). Det finns två former av enzymet; acetylkinesteras (AChE) och butyrylkolinsteras (BuChE), döpta efter sina föredragna substrat. Butyrylkolin förekommer inte naturligt utan administreras endast för att urskilja enzymen. Både enzymen hydrolyserar ACh till produkterna kolin och etansyra och finns både i och utanför synapser men har skilda funktioner beroende på deras olika affinitet för ACh. AChE hydrolyserar ACh mycket fortare än BuChE. ACh styr två typer av receptorer; muskarinreceptorer (mAChR) samt nikotinreceptorer (nAChR), döpta efter sina specifika agonister (Hall *et al.* 1993).

nAChR är transmembrana pentameriska glykoprotein som är permeabla för Na^+ och K^+ . Det finns sexton subenheter som bygger *nAChR* hos däggdjur; $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 4$, $\alpha 5$, $\alpha 6$, $\alpha 7$, $\alpha 9$, $\alpha 10$, $\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 3$, $\beta 4$, δ , γ och ϵ . *nAChR* i neuromuskulära synapser är uppbyggda utslutande av $\alpha 1$, $\beta 1$, δ , γ och ϵ i två möjliga kombinationer; $\alpha 1$, $\beta 1$, δ , γ samt $\alpha 1$, $\beta 1$, δ och ϵ båda i förhållandet 2:1:1:1. I CNS består *nAChR* av en kombination av $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 4$, $\alpha 5$, $\alpha 6$, $\alpha 7$, $\alpha 9$, $\alpha 10$, $\beta 2$, $\beta 3$, $\beta 4$. Några exempel på vanligt förekommande kombinationer i CNS är $3\alpha 4 2\beta 2$, $2\alpha 4 3\beta 2$ och $5\alpha 7$. Man gör ytterligare en distinktion mellan *nAChR* beroende på deras känslighet för α -BTX: $\alpha 1$, $\alpha 7$, $\alpha 8$, och $\alpha 9$ är α -BTX känsliga medan $\alpha 2$ och $\alpha 6$ är α -BTX okänslig (Kawashima & Fujii 2000). Beroende på subenhetskombinationen är dessa jonkanaler främst permeabla för Na^+ , K^+ och vissa för Ca^{2+} (främst $\alpha 7$ -receptorn) (Miwa *et al.* 2011).

mAChR är metabotropsika G-protein kopplade receptorer och finns i fem subtyper; M_1 , M_2 , M_3 , M_4 och M_5 (Eglen *et al.* 1999). M_1 , M_3 och M_5 är G_q -metabotropsika receptorer som via fosfolipas C styr intracellulärt Ca^{2+} -koncentrationen medan M_2 och M_4 är G_i -metabotropsika receptorer som via adenylcyklas reducerar intracellulära cAMP-koncentrationer (Hulme *et al.* 1990). Aktivering av båda *mAChR* och *nAChR* resulterar vanligtvis i en depolarisering av postsynaptiska nerven. Båda receptorgrupper uttrycks i andra vävnader däribland immunceller (Kawashima & Fujii 2000).

ACh-signalsystemskomponenter i T-celler

Lymfocyter har visats uttrycka samtliga komponenter i ACh metabolismen, d.v.s. AChE, ChAT samt ACh självt (Kawashima & Fujii 2000). Man har även funnit att T-celler producerar större delen av blodets ACh (Fujii *et al.* 1996, Kawashima *et al.* 1998). Försök där man administrerat mitogener eller andra T-cells aktiverade substanser till T-celldkulturer samtidigt som man mätt uttrycket av ACh, ChAT, AChE samt AChR har visat att ACh påverkar T-cells aktivering. Genom att stimulera humana T-celler med PHA visade man att ACh samt ChAT uttryck höjdes (Fujii *et al.* 1996). Försök där man inkuberat T-celler i närvaro av PHA visade att genuttrycket av *mAChRM5* samt AChE höjdes (Fujii *et al.* 2003, Paldi-Haris *et al.* 1990). Vid tillsatts av MEK1-antagonisten PD98059 hämmades MARK kaskaden och därmed också ökningen vilket förstärker teorin att PHA ökar uttrycket av *mAChRM5* och AChE via MARK kaskaden. Liknande försök har visat att andra mekanismer också reglerar ACh metabola komponenter hos T-celler som adenylcyklas (Fujii *et al.* 2007). ACh syntesen via ChAT i leukocyter ökar vid T-cellsaktivering (Fujii *et al.* 1996). För att försöka belysa var ACh förvaras i T-celler har försök gjorts för att visa om VACHT mRNA uttrycks. Man har dock inte funnit att VIAAT mRNA uttryckts vilket tyder på att ACh inte förvaras i synapsliknande vesiklar utan skapas vid behov och finns fritt i cytosolen. Alternativt, förvarar T-celler ACh med andra förvaringssystem (Kawashima *et al.* 1998). Faktumet att T-cellers utsöndring av ACh och AChE bestämmer den extracellulära ACh-koncentrationen samt att T-cellers intracellulära ChAT-koncentration ökar som påföljd av T-cell aktivering indikerar att ACh spelar en vital roll i T-cellers interaktioner med APC och immunomodulering.

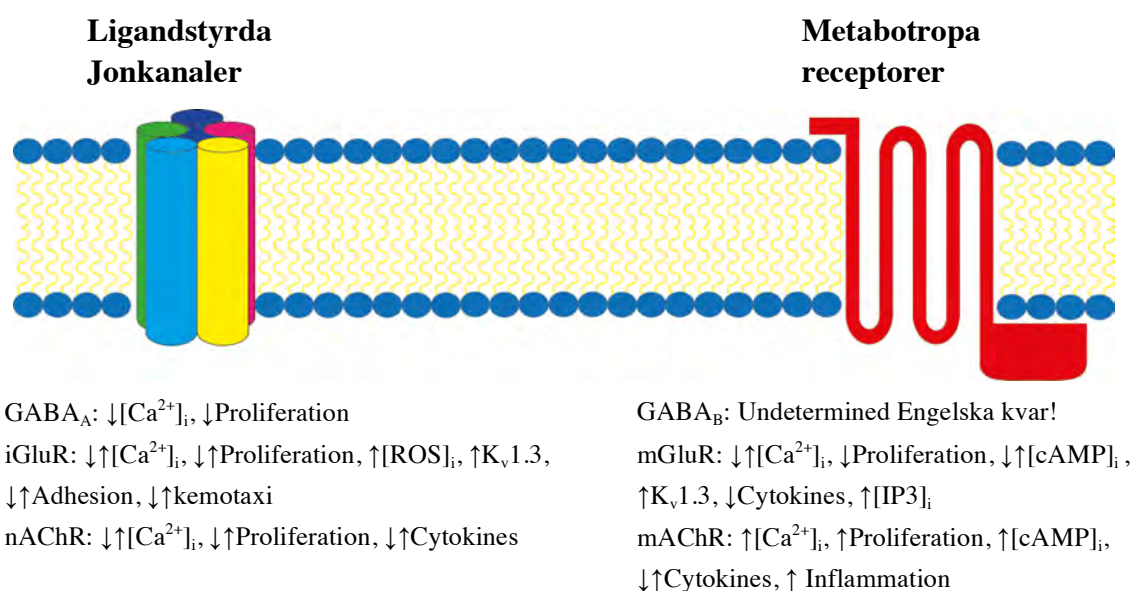
nAChR aktivering har visats inducera olika respons hos T-celler beroende på jonkanalens subenhetskomposition. nAChR har visats öka intracellulär Ca^{2+} -koncentrationen i T-celler genom att främja inflöde av extracellulärt Ca^{2+} . Detta inhiberades av α -BTX vilket tyder på att nAChR som styr detta inkluderar någon av $\alpha 1$, $\alpha 7$, $\alpha 8$, $\alpha 9$ subenheterna (Sato *et al.* 1999, Fujii & Kawashima 1999). Studier på humana T-celler har demonstrerat att aktivering av $\alpha 7$ nAChR förminskar utsöndring av cytokiner ifrån $T_h 1$ (TNF-a, IFN-c, IL-2) och $T_h 17$ (IL-17, IL-21 and IL-22) T_h -celler samt ökar utsöndring av $T_h 2$ cytokiner (Nizri *et al.* 2008, Nizri *et al.* 2009, Nizri & Brenner 2011). Försök på T_h , T_{cyt} samt T_r har visat att $\alpha 7$ nAChR påverkar alla subtyper av T-celler och modulerar deras proliferation, aktivering, cytokinutsöndring och funktion (Nizri & Brenner 2011). Försök på humana tymocyter visade att nAChR subenheterna $\alpha 1$, $\alpha 3$, $\alpha 5$ och $\beta 4$ uttrycktes (Mihovilovic & Roses 1991, Mihovilovic & Roses 1993, Wakkach *et al.* 1996). Studier på T-celler i humant blod indikerade att subenheterna $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, $\alpha 6$, $\alpha 7$ och $\beta 4$ uttrycks samt att $\alpha 1$, $\alpha 4$, $\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 3$ och ϵ inte uttrycks av T-celler (Sato *et al.* 1999). Skillnaden mellan försöken på tymocyter och blod T-celler tyder på en regulatorisk roll för nAChR i T-cellutvecklingen. Försök visar att inga aktiverade T-celler uttryckte $\alpha 1$, $\beta 1$ eller ϵ samt att aktiverade $CD4^+$ celler uttrycker $\alpha 4$, $\alpha 5$, $\alpha 10$ och $\beta 4$ (Gladkevich *et al.* 2006).

mAChR har visats spela en roll i $CD8^+$ cellers aktivering genom att öka intracellulärt cGMP (Katz *et al.* 1982). Detta visades farmakologiskt genom att först modulera $CD8^+$ cellernas aktivitet med den icke specifika nAChR/ mAChR agonisten karbakol (CarCh) och sedan blockera dess effekt med atropin, en mAChR specifik antagonist (Katz *et al.* 1982). Det har även visats att mAChR-aktivering ökar transkriptionen av gener för de inflammationsbefrämjande proteinen c-fos och iNOS (Kawashima & Fujii 2000). Humana T-celler uttrycker mAChR-subtyperna M3, M4, och M5 (Hellstrom-Lindahl & Nordberg 1996). Senare visades det att alla subgrupper uttrycks av humana T-celler men med viss variation. Alla celler uttryckte M4 och M5 men uttrycket av M1, M2 och M3 varierade (Sato *et al.* 1999). Aktivering av Gq-mAChR (subtyperna M1, M3 och M5) ökar den intracellulära Ca^{2+} -koncentrationen via IP3 styrda cellulära Ca^{2+} förvar. Detta kan leda till både hyperpolarisering och depolarisering av T-cellerna (Fujii *et al.* 2008). G_i -mAChR M1 och/ eller M5 har i jämförande studier på muterade samt vildtypsmöss visats reglera T-cellers uttryck av cytokiner (Fujii *et al.* 2007, Kaneda *et al.* 1993). Flera försök krävs för att belysa alla mAChR-funktioner. Tabell 3 visar uttrycket av olika komponenter i T-cellers ACh-system och Figur 3 visar skillnaderna mellan mAChR och nAChR.

Tabell 3: Uttryck och funktion av ACh signalsystem komponenter hos T-celler.

Art (Cell typ)	ACh komponent	Funktion
<i>Homo sapiens</i>	ACh ^A	↑Proliferation
<i>Homo sapiens</i>	AChE ^A	↑Proliferation
<i>Homo sapiens</i>	ChAT ^A	↑Proliferation
<i>Homo sapiens</i>	mAChR ^{B,C}	↑cGMP ^B , ↑c-fos & ↑iNOS →inflammation ^C
<i>Homo sapiens</i>	mAChR: M1 ^{E,F} , M3 ^{D,E,F} , M5 ^{D,E,F}	↑[IP3] _i →↑[Ca ²⁺] _i ^F
<i>Homo sapiens</i>	mAChR: M4, M5 ^E	ND
<i>Mus</i>	mAChR: M1 & eller M5 ^{G,H}	↓↑Cytokiner
<i>Homo sapiens</i>	nAChR: α7 ^{N,O,P}	↓Th1, ↓Th17 och ↑Th2 ^{N,O,P} , ↓↑Proliferation, ↓↑ Aktivering, ↓↑ Cytokin utsöndring och ↓↑ Funktion ^P
<i>Homo sapiens</i> (Tymocyt)	nAChR: α1, α3, α5, β4 mRNA ^{J,K,L}	ND
<i>Homo sapiens</i>	nAChR: α2, α3, α5, α6, α7, β4 ^I mRNA ^E	ND
<i>Homo sapiens</i> (Aktiverade)	nAChR: α4, α5, α10, β4 mRNA ^M	ND

Referenser: A, Kawashima & Fujii 2000; B, Katz *et al.* 1982; C, Kawashima & Fujii 2000; D, Hellstrom-Lindahl & Nordberg 1996; E, Sato *et al.* 1999; F, Fujii *et al.* 2008; G, Fujii *et al.* 2007; H, Kaneda *et al.* 1993; I, Fujii & Kawashima 1999; J, Mihovilovic & Roses 1991; K, Mihovilovic & Roses 1993; L, Wakkach *et al.* 1996; M, Gladkevich *et al.* 2006; N, Nizri *et al.* 2008; O, Nizri *et al.* 2009; P, Nizri & Brenner 2011.

**Figur 3:** En sammanfattning av de ligandstyrda jonkanal och metabotropa receptorernas funktion i T-celler.

GABA, Glutamat, ACh och sjukdomar

Eftersom T-celler uttrycker många av de ovannämnda nervtransmittorerernas signalsubstanser är det naturligt att undersöka om relationen medför implikationer för autoimmuna sjukdomar som multipel skleros (MS) och typ-1-diabetes där T-celler uppvisar autoimmunitet. MS är en autoimmunsjukdom där T-celler attackerar CNS myelinskidor (Hemmer *et al.* 2002, Merrill & Benveniste 1996, Smith *et al.* 2000, Pitt *et al.* 2000). Forskare har använt sig av EAE-cell linjen som en MS modell på försöksdjur för att analysera sjukdomen. Laminin spelar en vital roll i T-cellers anslutning till de drabbade myelin skidorna i MS (Sixt *et al.* 2001). Försök på EAE cell-linjer där det upptäcktes att iGluR3 medierar T-cellers anslutning till laminin och fibronectin samt dess inverkan på kemotaxi mot cytokinen CXCL12/SDF-1 indikerar att AMPA-receptorsubtypen medverkar i de förlopp som leder till MS (Ganor *et al.* 2003). Interaktionen mellan autoimmuna T-celler och glutamat kan leda till att T-celler binder till laminin och därefter demyelinerar axoner samt att de delar av CNS som uttrycker CXCL12/SDF-1 kan drabbas hårdast. Detta har även visats hos människor (Sarchielli *et al.* 2007). Försök på EAE cell-linjer (hos både möss och råttor) där man applicerat AMPA antagonisten NBQX har visat minskning av MS-symptom (Pitt *et al.* 2000, Smith *et al.* 2000). NBQX inhiberar nerver samt glia AMPA-receptorer och därmed förminskar nervaktivitet. Det förminskar dock även demyelinering av axoner vilket tyder på att NBQX hämmar T-celler från att ansluta till basalalaminat och därmed dämpar deras skadliga effekt (Ganor *et al.* 2003, Sarchielli *et al.* 2007). Sarchielli (2007) visade även att MS patienters T-celler migrerar i större mån än kontrollgruppen till kemokininerna CXCL12/SDF-1, RANTES och MIP-1 α . RANTES och MIP-1 α har visats vara mycket viktiga för T-cellers migration i MS (Boven *et al.* 2000, Jalonen *et al.* 2002, Zang *et al.* 2000). Till skillnad från glutamat, som av allt att döma har en accelererande effekt på MS, har GABA visats minska eller även förhindra utvecklingen av MS (Bhat *et al.* 2010). Försök har även indikerat att GABA hämmar utvecklingen av typ-1-diabetes genom att inhibera de autoimmuna T-cellerna i bukspottskörteln (Tian *et al.* 2004). Andra sjukdomar som reumatoid artrit och psoriasis ser ut att påverkas delvis till GABA (Kelley *et al.* 2008, Tian *et al.* 2011, Nigam *et al.* 2010), dock måste flera försök göras som belyser GABAs roll i dessa sjukdomar. Försök på amyotrofisk lateral skleros (ALS) patienter har visat att mGluR2 mRNA nedregleras i T-celler hos ALS patienter jämfört med kontrollgruppen. Detta kan användas som en markör för att upptäcka sjukdomen tidigt, man känner dock inte till de fysiologiska effekterna som detta medför (Poulopoulou *et al.* 2005a). Även ACh har visats inverka på sjukdomar däribland Alzheimers och MS. I försök där man undersökte AChE-inhibitorers effekt på Alzheimerspatienter avslöjades det att den ökade koncentrationen av ACh ökade T-cellers angripande av amyloid plackar, en av de fysiologiska faktorerna som leder till nervcellöd i Alzheimers (Nizri *et al.* 2006, Nizri *et al.* 2008, Nizri & Brenner 2011). Behandling med AChE-inhibitorer har även visats höja MS patienters kognitiva förmågor (Nizri & Brenner 2011). EAE möss som utsatts för nikotin har visat nedtonade symptom vilket tyder på att ACh har en antiinflammatorisk inverkan i MS (Nizri & Brenner 2011).

Slutsatser

Sammantaget är de mycket påtagligt att alla tre häri nämnda nervtransmittorer spelar en vital roll i regleringen av T-celler samt att nervtransmittoreernas och T-cellers relation har konsekvenser för många sjukdomar. De få försök som genomförts inom forskningsfältet neuroimmunologi har nästintill enhälligt talat för att GABA, glutamat och ACh påverkar proliferation, aktivering samt mognad av T-celler. Med framtidens ökade kunskapsbas är det rimligt att förmoda att agonister och antagonister för specifika receptorer och receptorsubtyper kommer att upptäckas. Detta kompletterat av farmakologiska framsteg som höjer vår förmåga att manipulera dessa nervtransmittorerers anabolism, katabolism och transport i såväl CNS som perifer vävnad kommer att ge oss nya revolutionerande verktyg för att lindra eller bota symptom från några av dagens mest utbredda sjukdomar.

Referenser

- Aandahl EM, Moretto WJ, Haslett PA, Vang T, Bryn T, Tasken K, Nixon DF. 2002. Inhibition of antigen-specific T cell proliferation and cytokine production by protein kinase a type i. *Journal of Immunology* **169**: 802-808.
- Alam S, Laughton DL, Walding A, Wolstenholme AJ. 2006. Human peripheral blood mononuclear cells express gabaa receptor subunits. *Molecular Immunology* **43**: 1432-1442.
- Alberola -Ila J, Takaki S, Kerner JD, Perlmutter RM. 1997. Differential signaling by lymphocyte antigen receptors. *Annual Review of Immunology* **15**: 125-154.
- Anderson CM, Swanson RA. 2000. Astrocyte glutamate transport: Review of properties, regulation, and physiological functions. *Glia* **32**: 1-14.
- Attwell D. 2000. Brain uptake of glutamate: Food for thought. *Journal of Nutrition* **130**: 1023-1025
- Bannai S, Kitamura E. 1980. Transport interaction of l-cystine and l-glutamate in human-diploid fibroblasts in culture. *Journal of Biological Chemistry* **255**: 2372-2376.
- Bannai S, Kitamura E. 1981. Role of proton dissociation in the transport of cystine and glutamate in human-diploid fibroblasts in culture. *Journal of Biological Chemistry* **256**: 5770-5772.
- Beeton C, Chandy KG. 2005. Potassium channels, memory T cells, and multiple sclerosis. *Neuroscientist* **11**: 550-562.
- Bergeret M, Khrestchatisky M, Tremblay E, Bernard A, Gregoire A, Chany C. 1998. Gaba modulates cytotoxicity of immunocompetent cells expressing gabaa receptor subunits. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **52**: 214-219.
- Bhat R, Axtell R, Mitra A, Miranda M, Lock C, Tsien RW, Steinman L. 2010. Inhibitory role for gaba in autoimmune inflammation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **107**: 2580-2585.
- Bjurstrom H, Wang J, Ericsson I, Bengtsson M, Liu Y, Kurnar-Mendu S, Issazadeh-Navikas S, Birnir B. 2008. Gaba, a natural immunomodulator of T lymphocytes. *Journal of Neuroimmunology* **205**: 44-50.

- Boldyrev AA, Kazey VI, Leinsoo TA, Mashkina AP, Tyulina OV, Johnson P, Tuneva JO, Chittur S, Carpenter DO. 2004. Rodent lymphocytes express functionally active glutamate receptors. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **324**: 133-139.
- Boven LA, Montagne L, Nottet HS, De Groot CJ. 2000. Macrophage inflammatory protein-1alpha (mip-1alpha), mip-1beta, and rantes mrna semiquantification and protein expression in active demyelinating multiple sclerosis (ms) lesions. *Clinical & Experimental Immunology* **122**: 257-263.
- Cahalan MD, Lewis RS. 1994. Regulation of chloride channels in lymphocytes. *Chloride Channels* **42**: 103-129.
- Cash CD, Maitre M, Mandel P. 1979. Purification from human brain and some properties of two nadph-linked aldehyde reductases which reduce succinic semialdehyde to 4-hydroxybutyrate. *Journal of Neurochemistry* **33**: 1169-1175.
- Chandy KG, Wulff H, Beeton C, Pennington M, Gutman GA, Cahalan MD. 2004. K⁺ channels as targets for specific immunomodulation. *Trends in Pharmacological Sciences* **25**: 280-289.
- Chen ZW, Chang CS, Leil TA, Olsen RW. 2007. C-terminal modification is required for gabarap-mediated gaba(a) receptor trafficking. *The Journal of Neuroscience* **27**: 6655-6663.
- Chien YH, Gascoigne NRJ, Kavalier J, Lee NE, Davis MM. 1984. Somatic recombination in a murine T-cell receptor gene. *Nature* **309**: 322-326.
- Christiansen B, Meinild AK, Jensen AA, Brauner-Osborne H. 2007. Cloning and characterization of a functional human gamma-aminobutyric acid (gaba) transporter, human gat-2. *The Journal of Biological Chemistry* **282**: 19331-19341.
- Daikhin Y, Yudkoff M. 2000. Compartmentation of brain glutamate metabolism in neurons and glia. *Journal of Nutrition* **130**: 1026-1031.
- Davis MM, Bjorkman PJ. 1988. T-cell antigen receptor genes and T-cell recognition. *Nature* **334**: 395-402.
- Dionisio L, Jose De Rosa M, Bouzat C, Esandi Mdel C. 2011. An intrinsic gabaergic system in human lymphocytes. *Neuropharmacology* **60**: 513-519.
- Dumoulin A, Rostaing P, Bedet C, Levi S, Isambert MF, Henry JP, Triller A, Gasnier B. 1999. Presence of the vesicular inhibitory amino acid transporter in gabaergic and glycinergic synaptic terminal boutons. *Journal of Cell Science* **112**: 811-823.
- Eglen RM, Choppin A, Dillon MP, Hegde S. 1999. Muscarinic receptor ligands and their therapeutic potential. *Current Opinion in Chemical Biology* **3**: 426-432.
- Erecinska M, Silver IA. 1990. Metabolism and role of glutamate in mammalian brain. *Progress in Neurobiology* **35**: 245-296.
- Felber SM, Brand MD. 1982. Factors determining the plasma-membrane potential of lymphocytes. *Biochemistry Journal* **204**: 577-585.
- Fonnum F. 1984. Glutamate: A neurotransmitter in mammalian brain. *Journal of Neurochemistry* **42**: 1-11.
- Fujii T, Kawashima K. 1999. Presence of two distinct intracellular calcium signaling pathways via muscarinic and nicotinic receptors in human T- and B-cell line. *Japanese Journal of Pharmacology* **79**: 287.

- Fujii T, Takada-Takatori Y, Kawashima K. 2008. Basic and clinical aspects of non-neuronal acetylcholine: Expression of an independent, non-neuronal cholinergic system in lymphocytes and its clinical significance in immunotherapy. *Journal of Pharmacological Sciences* **106**: 186-192.
- Fujii T, Tsuchiya T, Yamada S, Fujimoto K, Suzuki T, Kasahara T, Kawashima K. 1996. Localization and synthesis of acetylcholine in human leukemic T cell lines. *Journal of Neuroscience Research* **44**: 66-72.
- Fujii T, Watanabe Y, Inoue T, Kawashima K. 2003. Upregulation of mRNA encoding the m5 muscarinic acetylcholine receptor in human T- and B-lymphocytes during immunological responses. *Neurochemical Research* **28**: 423-429.
- Fujii YX, Tashiro A, Arimoto K, Fujigaya H, Moriwaki Y, Misawa H, Fujii T, Matsui M, Kasahara T, Kawashima K. 2007. Diminished antigen-specific IgG1 and interleukin-6 production and acetylcholinesterase expression in combined m1 and m5 muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. *Journal of Neuroimmunology* **188**: 80-85.
- Ganor Y, Besser M, Ben-Zakay N, Unger T, Levite M. 2003. Human T cells express a functional ionotropic glutamate receptor GluR3, and glutamate by itself triggers integrin-mediated adhesion to laminin and fibronectin and chemotactic migration. *Journal of Immunology* **170**: 4362-4372.
- Ganor Y, Teichberg VI, Levite M. 2007. TCR activation eliminates glutamate receptor GluR3 from the cell surface of normal human T cells, via an autocrine/paracrine granzyme B-mediated proteolytic cleavage. *Journal of Immunology* **178**: 683-692.
- Gathings WE, Lawton AR, Cooper MD. 1977. Immunofluorescent studies of development of pre-B cells, B-lymphocytes and immunoglobulin isotype diversity in humans. *European Journal of Immunology* **7**: 804-810.
- Gladkevich A, Korf J, Hakobyan VP, Melkonyan KV. 2006. The peripheral GABAergic system as a target in endocrine disorders. *Autonomic Neuroscience-Basic & Clinical* **124**: 1-8.
- Goodnow CC, Cyster JG. 1997. Lymphocyte homing: The scent of a follicle. *Current Biology* **7**: 219-222.
- Greenspan RJ. 1980. Mutations of choline acetyltransferase and associated neural defects. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology* **137**: 83-92.
- Hall JM, Caulfield MP, Watson SP, Guard S. 1993. Receptor subtypes or species homologs - relevance to drug discovery. *Trends in Pharmacological Sciences* **14**: 376-383.
- Harada Y, Miyatake S, Arai K, Watanabe S. 1999. Cyclic AMP inhibits the activity of c-Jun N-terminal kinase (JNK46) but not JNK55 and ERK2 in human helper T lymphocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **266**: 129-134.
- Hellstrom-Lindahl E, Nordberg A. 1996. Muscarinic receptor subtypes in subpopulations of human blood mononuclear cells as analyzed by RT-PCR technique. *Journal of Neuroimmunology* **68**: 139-144.
- Hemmer B, Cepok S, Nessler S, Sommer N. 2002. Pathogenesis of multiple sclerosis: An update on immunology. *Current Opinion in Neurology* **15**: 227-231.
- Hershfield MS. 2005. New insights into adenosine-receptor-mediated immunosuppression and the role of adenosine in causing the immunodeficiency associated with adenosine deaminase deficiency. *European Journal of Immunology* **35**: 25-30.

- Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. 2003. Control of regulatory T cell development by the transcription factor foxp3. *Science* **299**: 1057-1061.
- Hulme EC, Birdsall NJ, Buckley NJ. 1990. Muscarinic receptor subtypes. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **30**: 633-673.
- Ichikawa T, Shimizu T. 1998. Organization of choline acetyltransferase-containing structures in the cranial nerve motor nuclei and spinal cord of the monkey. *Brain Research* **779**: 96-103.
- Jalonon TO, Pulkkinen K, Ukkonen M, Saarela M, Elovaara I. 2002. Differential intracellular expression of ccr5 and chemokines in multiple sclerosis subtypes. *Journal of Neurology* **249**: 576-583.
- Jimenez JL, Punzon C, Navarro J, Munoz-Fernandez MA, Fresno M. 2001. Phosphodiesterase 4 inhibitors prevent cytokine secretion by T lymphocytes by inhibiting nuclear factor-kappa b and nuclear factor of activated t cells activation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **299**: 753-759.
- Jin Z, Mendu SK, Birnir B. 2011. Gaba is an effective immunomodulatory molecule. *Amino Acids*, doi 10.1007/s00726-011-1193-7.
- Kaneda T, Kitamura Y, Nomura Y. 1993. Presence of m3 subtype muscarinic acetylcholine receptors and receptor-mediated increases in the cytoplasmic concentration of Ca²⁺ in jurkat, a human leukemic helper T lymphocyte line. *Molecular Pharmacology* **43**: 356-364.
- Karbon EW, Enna SJ. 1985. Characterization of the relationship between gamma-aminobutyric acid-b agonists and transmitter-coupled cyclic nucleotide-generating systems in rat-brain. *Molecular Pharmacology* **27**: 53-59.
- Kataoka Y, Gutman Y, Guidotti A, Panula P, Wroblewski J, Cosenzamurphy D, Wu JY, Costa E. 1984. Intrinsic gabaergic system of adrenal chromaffin cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America-Biological Sciences* **81**: 3218-3222.
- Katz P, Zaytoun AM, Fauci AS. 1982. Mechanisms of human cell-mediated cytotoxicity. I. Modulation of natural killer cell activity by cyclic nucleotides. *Journal of Immunology* **129**: 287-296.
- Kawabata S, Tsutsumi R, Kohara A, Yamaguchi T, Nakanishi S, Okada M. 1996. Control of calcium oscillations by phosphorylation of metabotropic glutamate receptors. *Nature* **383**: 89-92.
- Kawashima K, Fujii T. 2000. Extraneuronal cholinergic system in lymphocytes. *Pharmacology & Therapeutics* **86**: 29-48.
- Kawashima K, Fujii T, Watanabe Y, Misawa H. 1998. Acetylcholine synthesis and muscarinic receptor subtype mRNA expression in T-lymphocytes. *Life Sciences* **62**: 1701-1705.
- Kelley JM, Hughes LB, Bridges SL, Jr. 2008. Does gamma-aminobutyric acid (gaba) influence the development of chronic inflammation in rheumatoid arthritis? *Journal of Neuroinflammation* **5**: 1.
- Kostanyan IA, Merkulova MI, Navolotskaya EV, Nurieva RI. 1997. Study of interaction between l-glutamate and human blood lymphocytes. *Immunology Letter* **58**: 177-180.
- Kunishima N, Shimada Y, Tsuji Y, Sato T, Yamamoto M, Kumasaka T, Nakanishi S, Jingami

- H, Morikawa K. 2000. Structural basis of glutamate recognition by a dimeric metabotropic glutamate receptor. *Nature* **407**: 971-977.
- Lewis RS, Cahalan MD. 1995. Potassium and calcium channels in lymphocytes. *Annual Review of Immunology* **13**: 623-653.
- Lewis RS, Ross PE, Cahalan MD. 1993. Chloride channels activated by osmotic stress in t lymphocytes. *Journal of General Physiology* **101**: 801-826.
- Lombardi G, Dianzani C, Miglio G, Canonico PL, Fantozzi R. 2001. Characterization of ionotropic glutamate receptors in human lymphocytes. *British Journal of Pharmacology* **133**: 936-944.
- Marshall FH, Jones KA, Kaupmann K, Bettler B. 1999. Gabab receptors - the first 7tm heterodimers. *Trends in Pharmacological Sciences* **20**: 396-399.
- Meldrum BS. 2000. Glutamate as a neurotransmitter in the brain: Review of physiology and pathology. *Journal of Nutrition* **130**: 1007-1015.
- Mendu SK, Akesson L, Jin Z, Edlund A, Cilio C, Lernmark A, Birnir B. 2011. Increased gaba(a) channel subunits expression in cd8(+) but not in cd4(+) t cells in bb rats developing diabetes compared to their congenic littermates. *Molecular Immunology* **48**: 399-407.
- Merrill JE, Benveniste EN. 1996. Cytokines in inflammatory brain lesions: Helpful and harmful. *Trends in Neurosciences* **19**: 331-338.
- Miglio G, Varsaldi F, Lombardi G. 2005. Human T lymphocytes express n-methyl-d-aspartate receptors functionally active in controlling T cell activation. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **338**: 1875-1883.
- Mihovilovic M, Roses AD. 1991. Expression of mRNAs in human thymus coding for the alpha 3 subunit of a neuronal acetylcholine receptor. *Experimental Neurology* **111**: 175-180.
- Mihovilovic M, Roses AD. 1993. Expression of alpha-3, alpha-5, and beta-4 neuronal acetylcholine receptor subunit transcripts in normal and myasthenia gravis thymus. Identification of thymocytes expressing the alpha-3 transcripts. *Journal of Immunology* **151**: 6517-6524.
- Miwa JM, Freedman R, Lester HA. 2011. Neural systems governed by nicotinic acetylcholine receptors: Emerging hypotheses. *Neuron* **70**: 20-33.
- Muzio M, Bosisio D, Polentarutti N, D'amico G, Stoppacciaro A, Mancinelli R, Van't Veer C, Penton-Rol G, Ruco LP, Allavena P, Mantovani A. 2000. Differential expression and regulation of toll-like receptors (tlr) in human leukocytes: Selective expression of tlr3 in dendritic cells. *Journal of Immunology* **164**: 5998-6004.
- Nakanishi S. 1992. Molecular diversity of glutamate receptors and implications for brain-function. *Science* **258**: 597-603.
- Nedergaard M, Takano T, Hansen AJ. 2002. Beyond the role of glutamate as a neurotransmitter. *Nature Reviews Neuroscience* **3**: 748-755.
- Nigam R, El-Nour H, Amatya B, Nordlind K. 2010. Gaba and gaba(a) receptor expression on immune cells in psoriasis: A pathophysiological role. *Archives of Dermatological Research* **302**: 507-515.
- Nizri E, Brenner T. 2011. Modulation of inflammatory pathways by the immune cholinergic system. *Amino Acids*, 10.1007/s00726-011-1192-8.

- Nizri E, Hamra-Amitay Y, Sicsic C, Lavon I, Brenner T. 2006. Anti-inflammatory properties of cholinergic up-regulation: A new role for acetylcholinesterase inhibitors. *Neuropharmacology* **50**: 540-547.
- Nizri E, Irony-Tur-Sinai M, Faranesh N, Lavon I, Lavi E, Weinstock M, Brenner T. 2008. Suppression of neuroinflammation and immunomodulation by the acetylcholinesterase inhibitor rivastigmine. *Journal of Neuroimmunology* **203**: 12-22.
- Nizri E, Irony-Tur-Sinai M, Lory O, Orr-Urtreger A, Lavi E, Brenner T. 2009. Activation of the cholinergic anti-inflammatory system by nicotine attenuates neuroinflammation via suppression of th1 and th17 responses. *Journal of Immunology* **183**: 6681-6688.
- Olsen RW, Sieghart W. 2009. Gaba a receptors: Subtypes provide diversity of function and pharmacology. *Neuropharmacology* **56**: 141-148.
- Olsen RW, Tobin AJ. 1990. Molecular biology of gabaa receptors. *The FASEB Journal* **4**: 1469-1480.
- Pacheco R, Ciruela F, Casado V, Mallol J, Gallart T, Lluís C, Franco R. 2004. Group i metabotropic glutamate receptors mediate a dual role of glutamate in T cell activation. *Journal of Biological Chemistry* **279**: 33352-33358.
- Pacheco R, Gallart T, Lluís C, Franco R. 2007. Role of glutamate on T-cell mediated immunity. *Journal of Neuroimmunology* **185**: 9-19.
- Paldi-Haris P, Szelenyi JG, Nguyen TH, Hollan SR. 1990. Changes in the expression of the cholinergic structures of human T lymphocytes due to maturation and stimulation. *Thymus* **16**: 119-122.
- Pitt D, Werner P, Raine CS. 2000. Glutamate excitotoxicity in a model of multiple sclerosis. *Nature Medicine* **6**: 67-70.
- Poulopoulou C, Davaki P, Koliaraki V, Kolovou D, Markakis I, Vassilopoulos D. 2005a. Reduced expression of metabotropic glutamate receptor 2mRNA in T cells of ALS patients. *Annals of Neurology* **58**: 946-949.
- Poulopoulou C, Markakis I, Davaki P, Nikolaou C, Poulopoulos A, Raptis E, Vassilopoulos D. 2005b. Modulation of voltage-gated potassium channels in human t lymphocytes by extracellular glutamate. *Molecular Pharmacology* **67**: 856-867.
- Ramstad C, Sundvold V, Johansen HK, Lea T. 2000. Camp-dependent protein kinase (PKA) inhibits T cell activation by phosphorylating ser-43 of raf-1 in the mapk/erk pathway. *Cellular Signalling* **12**: 557-563.
- Ratnikov VI, Riabinina NE, Ostrovskaia RU. 1982. [effect of gaba-ergic substances on humoral immunity]. *Biull Eksp Biol Med* **94**: 56-58.
- Rezzani R, Corsetti G, Rodella L, Angoscini P, Lonati C, Bianchi R. 2003. Cyclosporine-a treatment inhibits the expression of metabotropic glutamate receptors in rat thymus. *Acta Histochemica* **105**: 81-87.
- Roozafzoon R, Goodarzi A, Vousooghi N, Sedaghati M, Yaghmaei P, Zarrindast MR. 2010. Expression of NMDA receptor subunits in human peripheral blood lymphocytes in opioid addiction. *European Journal of Pharmacology* **638**: 29-32.
- Sarchielli P, Di Filippo M, Candelieri A, Chiasserini D, Mattioni A, Tenaglia S, Bonucci M, Calabresi P. 2007. Expression of ionotropic glutamate receptor glur3 and effects of glutamate on mbp- and mog-specific lymphocyte activation and chemotactic migration in multiple sclerosis patients. *Journal of Neuroimmunology* **188**: 146-158.

- Sato KZ, Fujii T, Watanabe Y, Yamada S, Ando T, Kazuko F, Kawashima K. 1999. Diversity of mRNA expression for muscarinic acetylcholine receptor subtypes and neuronal nicotinic acetylcholine receptor subunits in human mononuclear leukocytes and leukemic cell lines. *Neuroscience Letters* **266**: 17-20.
- Schwartz M, Shaked I, Fisher J, Mizrahi T, Schori H. 2003. Protective autoimmunity against the enemy within: Fighting glutamate toxicity. *Trends in Neurosciences* **26**: 297-302.
- Shelp BJ, Bown AW, Mclean MD. 1999. Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid. *Trends in Plant Science* **4**: 446-452.
- Sixt M, Engelhardt B, Pausch F, Hallmann R, Wendler O, Sorokin LM. 2001. Endothelial cell laminin isoforms, laminins 8 and 10, play decisive roles in T cell recruitment across the blood-brain barrier in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Cell Biology* **153**: 933-946.
- Smith T, Groom A, Zhu B, Turski L. 2000. Autoimmune encephalomyelitis ameliorated by ampa antagonists. *Nature Medicine* **6**: 62-66.
- Stamper HB, Woodruff JJ. 1976. Lymphocyte homing into lymph-nodes - invitro demonstration of selective affinity of recirculating lymphocytes for high-endothelial venules. *Journal of Experimental Medicine* **144**: 828-833.
- Storto M, De Grazia U, Battaglia G, Felli MP, Maroder M, Gulino A, Ragona G, Nicoletti F, Screpanti I, Frati L, Calogero A. 2000a. Expression of metabotropic glutamate receptors in murine thymocytes and thymic stromal cells. *Journal of Neuroimmunology* **109**: 112-120.
- Storto M, De Grazia U, Knopfel T, Canonico PL, Copani A, Richelmi P, Nicoletti F, Vairetti M. 2000b. Selective blockade of mglu5 metabotropic glutamate receptors protects rat hepatocytes against hypoxic damage. *Hepatology* **31**: 649-655.
- Tapiero H, Mathe G, Couvreur P, Tew KD. 2002. Ii. Glutamine and glutamate. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **56**: 446-457.
- Tian J, Chau C, Hales TG, Kaufman DL. 1999. Gaba(a) receptors mediate inhibition of T cell responses. *Journal of Neuroimmunology* **96**: 21-28.
- Tian J, Lu Y, Zhang H, Chau CH, Dang HN, Kaufman DL. 2004. Gamma-aminobutyric acid inhibits t cell autoimmunity and the development of inflammatory responses in a mouse type 1 diabetes model. *Journal of Immunology* **173**: 5298-5304.
- Tian J, Yong J, Dang H, Kaufman DL. 2011. Oral gaba treatment downregulates inflammatory responses in a mouse model of rheumatoid arthritis. *Autoimmunity* **44**: 465-470.
- Tyan ML. 1964. Thymus - role in maturation of fetal lymphoid precursors. *Science* **145**: 934
- Usdin TB, Eiden LE, Bonner TI, Erickson JD. 1995. Molecular biology of the vesicular ach transporter. *Trends in Neurosciences* **18**: 218-224.
- Vang T, Torgersen KM, Sundvold V, Saxena M, Levy FO, Skalhogg BS, Hansson V, Mustelin T, Tasken K. 2001. Activation of the COOH-terminal src kinase (csk) by cAMP-dependent protein kinase inhibits signaling through the T cell receptor. *Journal of Experimental Medicine* **193**: 497-507.
- Von Boehmer H, Aifantis I, Gounari F, Azogui O, Haughn L, Apostolou I, Jaeckel E, Grassi F, Klein L. 2003. Thymic selection revisited: How essential is it? *Immunological Reviews* **191**: 62-78.

- Wakkach A, Guyon T, Bruand C, Tzartos S, Cohen-Kaminsky S, Berrih-Aknin S. 1996. Expression of acetylcholine receptor genes in human thymic epithelial cells: Implications for myasthenia gravis. *Journal of Immunology* **157**: 3752-3760.
- Wang Y, Luo Q, Xu Y, Feng D, Fei J, Cheng Q, Xu L. 2009. Gamma-aminobutyric acid transporter 1 negatively regulates T cell activation and survival through protein kinase c-dependent signaling pathways. *Journal of Immunology* **183**: 3488-3495.
- Watkins JC, Olverman HJ. 1987. Agonists and antagonists for excitatory amino-acid receptors. *Trends in Neurosciences* **10**: 265-272.
- Wilmers CC, Getz WM. 2005. Gray wolves as climate change buffers in yellowstone. *Plos Biology* **3**: 571-576
- Wojcik WJ, Neff NH. 1984. Gamma-aminobutyric acid b receptors are negatively coupled to adenylate cyclase in brain, and in the cerebellum these receptors may be associated with granule cells. *Molecular Pharmacology* **25**: 24-28.
- Zang YC, Samanta AK, Halder JB, Hong J, Tejada-Simon MV, Rivera VM, Zhang JZ. 2000. Aberrant t cell migration toward rantes and mip-1 alpha in patients with multiple sclerosis. Overexpression of chemokine receptor ccr5. *Brain* **123**: 1874-1882.