

XII. ÉVFOLYAM 3. SZÁM 2020. OKTÓBER

IMMUNOLÓGIAI SZEMLE

NEGYEDÉVENTE MEGJELENŐ
ORVOSTUDOMÁNYI FOLYÓIRAT

IMMUNOLOGY QUARTERLY

ALAPÍTVÁ 2009-BEN

MEDICINA KÖNYVKIADÓ

WWW.MEDICINA-KIADO.HU

A Magyar Immunológiai Társaság
49. Vándorgyűlésének összefoglalói

Adenozin-deamináz-2-deficiencia

Osteoarthritis kezelése nem denaturált
II-es típusú kollagénnel

Mesenchymalis őssejtek
immunológiai tulajdonságai

Metabolomikai vizsgálatok gyulladásos
reumatológiai kórképekben

A nyirokcsomóstroma immunológiai szerepe

Immunchekpointgátlók
autoimmun-reumatológiai mellékhatásai

A fibrotizáló interstitialis
tüdőbetegség progressziója

Kultúrkör



ISSN 2061-0203

Az ízületek megérzik...

Húszon túliak társasága: 20+!

Túlsúlyos: +20?



A korai arthrosis tünetei:

- indítási fájdalom
- terhelésre jelentkező fájdalom

Leggyakrabban érintett ízületek¹:

**Térd
Csípő
Kéz**

- **Akut szakaszban** a Flector® csillapítja a fájdalmat²
- **Hosszú távon** a Condrosulf® lassítja az arthrosis progresszióját³

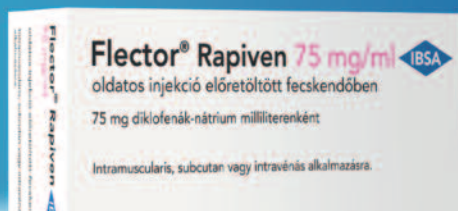
Mozogjon fájdalom nélkül!

Flector® Rapid
granulátum

Flector® Rapiven
oldatos injekció

Flector® Extra
gél

Condrosulf®
tabletta



1. NATURE REVIEWS RHEUMATOLOGY, published online 14 June 2019. Establishing outcome measures in early knee osteoarthritis. Carolyn A. Emery
2. Flector® Rapid 50 mg granulátum Alkalmazási előirat száma: OGYE/47251/2019; Flector® Rapiven 75mg/ml Alkalmazási előirat száma: OGYE/55173/2019;
Flector® Extra 10mg/g gél Alkalmazási előirat száma: OGYE/46944/2019
3. Condrosulf® 800 mg tabletták Alkalmazási előirat száma: OGYE/39643/2016

IMMUNOLÓGIAI SZEMLE

NEGyedÉVENTE MEGJelenő
ORVOSTUDOMÁNYI FOLYÓIRAT

IMMUNOLOGY QUARTERLY

ALAPÍTVÁ 2009-BEN • KIADJA A MEDICINA KÖNYVKIADÓ ZRT. • WWW.MEDICINAKIADO.HU

Főszerkesztő

SZEKANECZ ZOLTÁN

Főszerkesztő-helyettesek

BÁCSI ATTILA • BUZÁS EDIT • CZIRJÁK LÁSZLÓ • SZÉLL MÁRTA

Kiadói szerkesztő

CORNIDES ÁGNES

Szerkesztőbizottság

**BÁLINT GÉZA • BALOGH PÉTER • BERKI TIMEA • BODOLAY EDIT • CONSTANTIN TAMÁS • CSABA BÉLA • CSIKI ZOLTÁN • DOBOZY ATTILA • ERDEI ANNA
FALUS ANDRÁS • GÉHER PÁL • GERGELY PÉTER • GÖMÖR BÉLA • HELYES ZSUZSANNA • HODINKA LÁSZLÓ • HUDECZ FERENC • HUNYADI JÁNOS
JÁNOSY TAMÁS • KACSKOVICS IMRE • KEMÉNY LAJOS • KISS EMESE • KOTLÁN BEATRIX • KOVÁCS ATTILA • KOVÁCS LÁSZLÓ • MÓCSAI ATTILA
NAGY GYÖRGY • NAGY LÁSZLÓ • NÉKÁM KRISTÓF • NÉMETH PÉTER • PÉNTÉK MÁRTA • POÓR GYULA • PROHÁSZKA ZOLTÁN • RAJNAVÖLGYI ÉVA
REMEYIK ÉVA • SÁRMAI GABRIELLA • SIPKA SÁNDOR • SURÁNYI PÉTER • SZAMOSI SZILVIA • SZÁNTÓ SÁNDOR • SZEGEDI ANDREA • SZEKERES JÚLIA
SZÜCS GABRIELLA • TAMÁSI LÁSZLÓ • UHER FERENC**

International editors / Nemzetközi szerkesztőbizottság

YEHUDA SHOENFELD (Tel-Hashomer, president)

**ANN AGER (Cardiff) • GERGELY PÉTER JR (Basel) • GLANT TIBOR (Chicago) • ALISA E. KOCH (Ann Arbor) • LAKOS GABRIELLA (Chicago)
MIKECZ KATALIN (Chicago) • THOMAS PAP (Münster) • PERL ANDRÁS (Syracuse) • SZODORAY PÉTER (Oslo)
PAUL-PETER TAK (Amsterdam) • JOHN VARGA (Chicago)**

A Magyar Immunológiai Társaság hivatalos lapja

Szerkesztőség/kiadó: Medicina Könyvkiadó Zrt.

1072 Budapest, Rákóczi út 16.

Postacím: 1245 Budapest 5, Pf. 1012

Telefon: (1) 331 0781, (1) 312 2650; fax: (1) 312 2450;

e-mail: medkiad@euroweb.hu

ISSN 2061-0203

Egyéni előfizetési díj egy évre bruttó 2800 Ft.

Előfizetéssel kapcsolatos információt kereskedelmi osztályunk

munkatársa ad: **LENGYELNÉ BARTA ANETTA**

e-mail: kerosztaly@medicinazrt.hu

A kiadásért felel: **FARKASVÖLGYI FRIGYESNÉ** vezérigazgató

Borítótér, tipográfia: **BEDE TAMÁSNÉ**

Nyomdai előkészítés: **GAR-WIND Bt.**

Minden jog fenntartva. A folyóiratban megjelent valamennyi eredeti írásos és képi anyag közlési joga a szerkesztőséget illeti. A megjelent anyagnak – vagy egy részének – bármely formában való másolásához, felhasználásához, ismételt megjelentetéséhez a szerkesztőség írásbeli hozzájárulása szükséges.

Nyomdai munkálatok: **Pauker Nyomdaipari Kft., Budapest**

Felelős vezető: **VÉRTESS GÁBOR** ügyvezető igazgató

Tartalom

KÖSZÖNTŐ / INTRODUCTION 3

Széll Márta, Bácsi Attila, Szekanecz Zoltán

KONGRESSZUSI ÖSSZEFOGLALÓK / CONGRESS ABSTRACTS

A Magyar Immunológiai Társaság 49. Vándorgyűlésének összefoglalói / Abstracts of the 49th Annual Meeting of the Hungarian Society for Immunology 4

ÖSSZEFOGLALÓ REFERÁTUMOK / REVIEW ARTICLES

Egy sokarcú monogén autoinflammatorikus kórkép, az adenzin-deamináz-2-deficiencia / Deficiency of adenosine deaminase 2, a monogenic systemic inflammatory disease 39

Majai Gyöngyike Emese dr., Nagy Nikolett dr.

Osteoarthritis kezelése nem denaturált II-es típusú kollagénnel – a gyulladásos alapoktól a klinikai eredményekig / Treatment of osteoarthritis with undenatured type II collagen – from the underlying inflammatory processes to clinical results 45

Szűcs Gabriella, Szekanecz Zoltán, Szamosi Szilvia

Mesenchymalis őssejtek immunológiai tulajdonságai / Immunological properties of mesenchymal stem cells 51

Kun-Varga Anikó, Kemény Lajos, Végh Edit, Szamosi Szilvia, Csomor Péter, Szekanecz Zoltán, Veréb Zoltán

Metabolomikai vizsgálatok gyulladásos reumatológiai kórképekben / Metabolomics in inflammatory rheumatic diseases 73

Tóth Lilla, Nagy György

A nyirokcsomóstroma immunológiai szerepe – többen, többet / Immunological role of the lymph node stroma – being more, doing more 81

Gábris Fanni, Xinkai Jia, Gajdócsi Erzsébet Emília, Kellermayer Zoltán, Balogh Péter

Immunchekpointgátlók és autoimmun-reumatológiai mellékhatásaik / Immune-checkpoint inhibitors and their autoimmune-rheumatic complications 91

Szekanecz Zoltán, Szekanecz Éva

SZEMLE / FROM THE LITERATURE

A fibrotizáló interstitialis tüdőbetegség progressziója / Progression of fibrosing interstitial lung disease 107

Balikó Zoltán

KULTÚRKÖR / CULTURAL CORNER

Marienbad (ahogy emléktét a régi képes levelezőlapok őrzik) / Marienbad (as preserved in old postcards) 111

Jakó János

ÚTMUTATÓ SZERZŐINKNEK / INSTRUCTIONS TO AUTHORS 120

IMMUNOLÓGIAI SZÓTÁR / IMMUNOLOGICAL DICTIONARY 43, 50, 71, 90, 105

Kedves Kollégák!

Az epidemiológiai adatok alapján a koronavírus-járvány második hulláma elindult. A kialakult helyzet miatt a MIT Vezetősége azt a döntést hozta, hogy a Vándorgyűlést idén online formában fogjuk lebonyolítani.

Az elmúlt hónapok alaposan felforgatták az életünket. A meghívott külföldi előadók – a járványügyi helyzet miatt – sajnos lemondták részvételüket, ezért a rendezvény hivatalos nyelve magyar lesz. Az első nap programja, melynek fő témája a bőr immunológiája, egyben pontszerző továbbképzés is lesz a klinikus kollégák részére. Idén nehezen képzelhető el olyan immunológiai rendezvény, ahol nem esik szó a SARS-CoV-2 vírusról, ezért a második nap kiemelt témája a vírus által okozott fertőzés, és az ellene kialakuló immunválasz lesz.

A felkért előadások mellett – természetesen – lehetőség nyílik majd a hazai immunológiai kutatások legújabb eredményeinek bemutatására is előadások és poszterek formájában. A szakmai programnak idén is szerves részét képezi az immunológus közösség érdeklődésére számot tartó új termékek és berendezések bemutatása a hazai forgalmazók által.

Mindenkit szeretettel várunk online Vándorgyűlésünkön!

Baráti üdvözléssel:

Széll Márta
a MIT elnöke

és

Bácsi Attila
a MIT főtitkára

Tisztelt Kolléganők és Kollégák!



Nem szeretném ragozni, mennyi nehézséget jelent ma is a Covid-19-járvány. Másrészt többen vannak „home office”-ban, és talán ez az egyik oka, hogy örömdetesen megnőtt szerzőink írási kedve, és nagyszámú kézirat vár közlésre.

Ez a lapszám, szokás szerint, a MIT vándorgyűlés absztraktjait tartalmazza. A MIT elnöke és főtitkára a fentiekben köszöntötte Önöket az online kongresszus alkalmából. De számos igen színvonalas közlemény is belefért ebbe a terjedelmes lapszámba. Az összefoglaló referátumokat Majai Gyöngyike és munkatársai (Debrecen) közleménye nyitja. Ebben az adenozin-deamináz-2-deficienciáról (DADA2) írnak. Szűcs Gabriella és kollégái (Debrecen) az orális kollagénkezelés lehetőségeiről számolnak be mozgásszervi kórképekben. Veréb Zoltán munkacsoportja, jelesül Kun-Varga Anikó (Szeged), együtt

a debreceni munkacsoporttal, a mesenchymalis őssejtek immunológiai aspektusait foglalják össze. Tóth Lilla és Nagy György (Budapest) egy szintén új, népszerű területről, a metabolikáról értekeznek. Az immunometabolomika az arthritisekkel is összefüggésbe hozható. Gábris Fanni, a Balogh Péter által vezetett pécsi munkacsoport képviselője, a nyirokcsomóstroma immunológiai jellegzetességeit tárja elénk. Szekanecz Éva és jómagam (Debrecen) pedig az immuncheckpointgátlásról és ezen gyógyszerek autoimmun mellékhatásairól írtunk. Ez a terület összekapcsolja az onkológiát és az immunológiát. Balikó Zoltán (Pécs) az interstitialis tüdőbetegségekről szemlél egy cikket. Végül, a Kultúrkör rovatban Jakó János (Nyíregyháza), állandó szerzőnk, egy újabb nevezetes fürdőhelyet, Marienbadot mutatja be.

Ezek után, járvány idején is, jó egészséget, sok türelmet, kitartást kívánok magam és a szerkesztőség nevében!

Dr. Szekanecz Zoltán
főszerkesztő

A MAGYAR IMMUNOLÓGIAI TÁRSASÁG 49. VÁNDORGYŰLÉSÉNEK ÖSSZEFOGLALÓI

Az összefoglalók a bemutató szerző neve szerint ábécérendben követik egymást.
Ha a bemutató szerző nem az első szerző, aláhúzással jelöltük.

ELŐADÁSOK

A MENINGEALIS NYIROKEREK FEJLŐDÉSI PROGRAMJÁT ÉS FUNKCIÓJÁT SZABÁLYOZÓ MECHANIZMUSOK VIZSGÁLATA

BÁLINT LÁSZLÓ¹, OCSKAY ZSOMBOR^{1, 2}, DEÁK BÁLINT ANDRÁS^{1, 2},
ARADI PETRA^{1, 2}, JAKUS ZOLTÁN^{1, 2}

¹MTA-SE „Lendület” Nyirokélettani Kutatócsoport

²Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet

A közelmúltig általánosan elfogadott nézet szerint a központi idegrendszerre nem jellemző a nyirokerek jelenléte, az utóbbi időben azonban több közleményben is nyirokereket írtak le a keményagyhártyában. Egyelőre nem tisztázott azonban ezen meningealis nyirokerek fejlődési programja, valamint élettani és kórélettani folyamatokban betöltött szerepe.

Kísérleteink során célul tűztük ki a meningealis nyirokerek funkcionális jellemzését, valamint a nyirokerek fejlődését irányító mechanizmusok szervspecifikus szerepének vizsgálatát a keményagyhártyában.

Kísérleti eredményeink alapján a keményagyhártya nyirokerei részt vesznek a központi idegrendszerbe injektált makromolekulák felvételében és elszállításában. Megfigyeltük, hogy a meningealis nyirokérhálózat érési folyamaton megy keresztül a születést követő időszakban, ami egybeesik a makromolekulák központi idegrendszerből való elszállításának megindulásával. Azt találtuk továbbá, hogy PLC γ 2-hiányos egerekben károsodik a nyirokáramlás és sérül a makromolekulák központi idegrendszerből való felvétele és elszállítása. Megfigyeléseink szerint ezen túlmenően a károsodott nyirokáramlású egérmódelben sérül a meningealis nyirokerek fejlődési programja.

Megfigyeléseink alapján az áramlás fontos szerepet tölt be a keményagyhártya nyirokereinek postnatalis fejlődési és érési folyamataiban. Az áramlás meningealis nyirokerek fejlődési programjában betöltött szerepének megértésével közelebb kerülhetünk számos, a központi idegrendszert érintő megbetegedés, mint például az Alzheimer-kór vagy a sclerosis multiplex kialakulásának és kórfolyamatának megértéséhez, valamint potenciális terápiás célpontok azonosításához.

A PIKKELYSÖMÖR IMMUNOLÓGIÁJA

BATA-CSÖRGŐ ZSUZSANNA

SZTE ÁOK Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika, Szeged;
HCEMM-SZTE Bőrgyógyászati Kutatócsoport, Szeged;
MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoport, Szeged

A pikkelysömör az egyik leggyakoribb gyulladásos bőrbetegség, amelyben a domináló bőrtünetek mellett az ízületek érintettsége játszik kulcsszerepet. A gyulladás kialakításában szerepet játszó immunológiai történések megismerése korábban elsődlegesen a gyulladt szövet eltéréseire fókuszált, melynek eredményeképpen az utóbbi évtizedben új és sok esetben sikeres terápiák alkalmazására nyílt lehetőség. Az új kezelési lehetőségek bár a betegség tüneteit szüntetik, hosszabb távú gyógyulást nem eredményeznek. Az utóbbi években a betegek tünetmentes szövetének vizsgálatára fókuszálva számos új eredmény született, mely a betegség hátterében a tünetek kialakításáért felelős hajlamosító tényezőkre világít rá, megteremtve annak lehetőségét, hogy a tünetek kialakítását megakadályozó terápiás célpontokat találjunk. Az előadásban a tünetmentes bőrterületek szöveti és immunológiai eltéréseit foglaljuk össze.

SZÉRUMBÓL ISOLÁLT EXTRACELLULÁRIS VEZIKULÁK MINT A KÖZPONTI IDEGRENDSZERI TUMOROK ÍGÉRETES DIAGNOSZTIKAI ESZKÖZEI

BUKVA MÁTYÁS^{1, 2}, DOBRA GABIRELLA^{1, 2}, SZABÓ ZOLTÁN³, BRUSZEL BELLA³,
HARMATI MÁRIA¹, GYUKITY-SEBESTYÉN EDINA¹, JENEI ADRIENN⁴, SZÜCS MÓNKA⁵,
HORVÁTH PÉTER¹, BÍRÓ TAMÁ⁶, KLEKNER ÁLMOS⁴, BUZÁS KRISZTINA^{1, 7}

¹Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biokémia Intézet, Szeged

²Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Genetika Intézet, Interdiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola, Szeged

³Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Vegytani Intézet, Szeged

⁴Debreceni Egyetem, Idegsebészeti Tanszék, Debrecen

⁵Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Fizikai és Informatikai Intézet, Szeged

⁶Debreceni Egyetem, Immunológia Intézet, Debrecen

⁷Szegedi Tudományegyetem, Immunológia Tanszék, Szeged

Napjainkban a testfolyadékokból izolált extracelluláris vezikulákra a tumorbiomarkerek ígéretes forrásaiként tekinte-

nek. Biológiai tulajdonságaiknál fogva a daganatos betegségekre jellemző molekulákat koncentráltabban tartalmazhatják, mint a forrásként szolgáló testfolyadékok. Jelenleg azonban kevés irodalomban olvashatunk a szérumból és a belőle izolált vezikulák proteomikai és diagnosztikai hatékonyságukban mutatott különbségeiről, ezért célunk ezen képességek összehasonlítása volt.

Munkánk során megvizsgáltuk 96 szérumminta és az ezekből differenciálcentrifugálással izolált 96 sEV-minta proteomáját. Mintáink 4 betegcsoportból (glioblastoma multiforme, nem kissejtes tüdőrák agyi áttéte, meningeoma és egészséges kontrollként lumbális porckorongsér) származtak. A tömegspektrometriai méréseket megelőzően a vezikulaizolatokat atomerő-mikroszkópia, nanoparticle tracking analysis, valamint Western blot segítségével karakterizáltuk. A betegcsoportok, illetve a két különböző mintatípus (szérumból és sEV) közötti proteomikai különbségeket statisztikai és bioinformatikai módszerekkel (Cohen-féle hatásmeghatározás, receiver operating characteristic analysis, Welch-próba, ingenuity pathway analysis) azonosítottuk. A szérumból és sEV-fehérjék betegcsoport-megkülönböztetési hatékonyságát főkomponens-analízissel (PCA) határoztuk meg.

A mintákban összesen azonosított 311 fehérje közül a szérummintákban 10, a sEV-mintákban 17 mutatott jelentős különbséget a betegcsoportok között. A szérummintákhoz képest az sEV-izolálás 65 fehérje szignifikáns feldúsulását és 129 fehérje szignifikáns csökkenését (pl. lipoproteinek) eredményezte. PCA-vizsgálatok során az sEV-minták a szérummintákkal ellentétben képesek voltak az egyes betegminták hibátlan csoportosítására.

Tudomásunk szerint ez az első olyan tanulmány, amely összehasonlítja szérumminták és a belőlük izolált sEV-k proteomáját. Eredményeink szerint a szérumból helyett az abból izolált sEV-minták fehérjetartalmának vizsgálatával a diagnosztikai hatékonyság növelhető.

KLASSZIKUS IMMUNOLÓGIAI MÓDSZEREK ÉS A MESTERSÉGES INTELLIGENCIA ÖTVÖZÉSE A SARS-COV-2-DIAGNOSZTIKÁBAN

BUZÁS KRISZTINA^{1,2}, GYUKITY-SEBESTYÉN EDINA¹, HARMATI MÁRIA¹, MIGH EDE¹, DIÓSDI ÁKOS¹, FODOR ESZTER³, LACZA ZSOMBOR³, JUSSI HEOPJOKI⁴, VIILJA PIETIAINEN⁵, KEMÉNY LAJOS⁶, HORVÁTH PÉTER¹

¹Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biokémiai Intézet, Szeged

²Szegedi Tudományegyetem, Immunológiai Tanszék, Szeged

³Testnevelési Egyetem, Sportélettani Kutató Központ, Budapest

⁴University of Helsinki, Department of Virology, Haartman Institute, Finland

⁵University of Helsinki, Institute for Molecular Medicine, Finland

⁶Szegedi Tudományegyetem, Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika, Szeged

Bevezetés: 2019 végén COVID-19-fertőzéseket detektáltak a

kínai Vuhanban, mely világméretű pandémiává fejlődött. A tömeges megbetegedések és a diagnosztikai anyagok hiánya, nehézséges beszerezhetősége, illetve a gyors tesztek csekély megbízhatósága nyomán felmerült az igény olyan betegségedetektálási módszerekre, amelyek eltérnek az eddigi gyakorlattól.

Anyag-módszer: Munkacsoportunk a klasszikus immunológiai módszereket ötvözte a mesterséges intelligencia lehetőségeivel annak érdekében, hogy nagy specificitással, gyorsan és költséghatékonyan lehessen a COVID-19-fertőzést azonosítani. Epithelsejteket transzfektáltunk négy különböző, a COVID-19-vírus immunogén fehérjéit tartalmazó plazmiddal. A páciensek hőinaktivált széruma a transzfektált sejtekre került, majd a vírusfehérjék és a betegek szérumban potenciálisan jelen levő SARS-CoV-2-specifikus antitestjeinek kötődéseit láthatóvá tettük. Ehhez fluorokrómmal jelölt humán IgM, IgA és IgG elleni ellenanyagokat használtunk. Mindezek után automata üzemmódban nagy áteresztőképességű mikroszkóppal a fluoreszcens festődések leolvasására kerültek, amely eredményeket mélytanuló algoritmus segítségével (MaskRCNN és UNET) egysejt-szinten analizáltuk.

Eredmények és diszkusszió: Az antigén-antitest detektálásán alapuló módszer a mesterséges intelligencia lehetőségeit kihasználva közel 100%-os specificitással képes azonosítani a COVID-19-fertőzést. Mivel automatizált mikroszkópos képfeldolgozást használunk a pozitívan festődő sejtek azonosítására, az emberi szem érzékenysége kiküszöbölhető, a módszer jelentősen csökkenti az alsó detekciós határt. A különböző ellenanyagok jelenlétének egyedi azonosítása segíti a klinikusokat a fertőzés pillanatnyi fázisának, illetve dinamikájának meghatározásában. Mivel a technológia alacsony költséggel, rövid idő alatt igen nagyszámú páciens tesztelésére alkalmas, emiatt a kontaktkutatásban megfelelően használható, így a járványgörbe befolyásolásában jelentős szerephez juthat. A módszer a transzfektált vírusfehérjék kicserélésével bármilyen vírus diagnosztikájára alkalmas.

A SOKMAGVÚ ÓRIÁS VÉRSEJTEK ULTRASZERKEZETÉNEK VIZSGÁLATA ÉS TRANZKRIPTOMANALÍZISE

CINEGE GYÖNGYI¹, MAGYAR LILLA BRIGITTA¹, KOVÁCS ATTILA LAJOS², LERNER ZITA¹, JUHÁSZ GÁBOR², LUKACSOVICH TAMÁS³, LUKACSOVICH DAVID³, WINTERER JOCHEN³, FÖLDY CSABA³, HEGEDŰS ZOLTÁN⁴, KURUCZ ÉVA¹, ANDÓ ISTVÁN¹

¹Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Genetikai Intézet, Immunológiai Témacsoport

²Eötvös Loránd Tudományegyetem, Anatómiai, Sejt- és Fejlődésbíológiai Tanszék, Budapest

³Laboratory of Neural Connectivity, Brain Research Institute, University of Zürich, Switzerland

⁴Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Központi Laboratóriumok, Bioinformatikai Csoport

Előző adataink alapján (Márkus és mtsai, 2015; Cinege és

mtsai, 2019) ismeretes, hogy egyes *Drosophila* fajokban a sejtközvetített immunválasz során sokmagvú óriás vérsejtek differenciálódnak, amelyek részt vesznek a nagyméretű idegen anyagok ellen kialakuló immunválaszban. Ezek a fajok (pl. *D. ananassae* és *Zaprionus indianus*) hatékonyabban védekeznek a parazitoid darazsakkal szemben, mint a *D. melanogaster*, mely lamellociták segítségével határolja el a test idegen anyagokat. Megvizsgáltuk ezen két faj vérsejtjeinek ultraszerkezetét, valamint elvégeztük a vérsejtek összehasonlító egysejtes transzkriptom analízisét.

A vérsejtek ultraszerkezetét immuno-elektronmikroszkópos módszerrel vizsgáltuk. Egysejtes transzkriptom analízist végeztünk *Drosophila* plazmatocitákon és sokmagvú óriás vérsejteken, majd az izolált sejtekben átíródott géneket bioinformatikai módszerekkel (Gene Ontology Enrichment Analysis, Cytoscape software-interakciós hálózat vizsgálatok) analizáltuk.

Eredményeink során megfigyeltük, hogy a sokmagvú óriás vérsejtek sajátos, vezikulákban gazdag ultraszerkezettel rendelkeznek. A vezikulák a sejtek parazitához viszonyított polarizációjára jellemzően helyezkednek el. Alapvetően két-fajta vezikulát, egy apikálisan elhelyezkedő kevésbé elektrondenz és egy bazálisan lokalizált, erősen elektrondenz vezikulatípust észleltünk. A kevésbé elektrondenz vezikulák a differenciálódás során megnövekednek, és tartalmukat a környezetükbe ürítik. A sokmagvú óriás vérsejtek felszínén nagymennyiségű mikorvezikula lefűződését tapasztaltuk. A bazálisan elhelyezkedő elektrondenz vezikulák a parazitoid darázs felszínén vékony elektrondenz réteget alkotnak. A transzkriptomanalízis során 740 olyan gént azonosítottunk, mely expressziója szignifikánsan magasabb a sokmagvú óriás vérsejtekben, mint az aktivált plazmatocitákban. Ezek között számos olyan gén található, melyeknek aktív állapota az óriás-sejtek egyedi morfológiai és funkcionális tulajdonságait eredményezheti.

Támogatás: NKFI K128762 (GC), NKFI NN118207 (IA), NKFI K120142 (IA), GINOP-2.3.2-15-2016-00035 (KÉ), BO/00552/20/8 Bolyai János Kutatási Ösztöndíj (GC), valamint a Biológiai Doktori Iskola, Természettudományi és Informatikai Kar, Szegedi Tudományegyetem (MLB).



AZ M2 MAKROFÁGOK EPIGENOMIKAI PROGRAMJÁNAK, VALAMINT KÖRNYEZETI SZIGNÁLOKRA ADOTT VÁLASZÁNAK EGR2 TRANZKRIPCIÓS FAKTOR FÜGGŐ SZABÁLYOZÁSA

CZIMMERER ZSOLT^{1*}, DÁNIEL BENCE^{2*}, HALÁSZ LÁSZLÓ^{2*}, BOTÓ PÁL¹, KOLOSTYÁK ZSUZSANNA¹, PÓLISKA SZILÁRD¹, KRISTIAN W. BERGER², PETROS TZERPOS¹, NAGY GERGELY¹, HORVÁTH ATTILA¹, HAJAS GYÖRGY³, CSEH TÍMEA¹, NAGY ANIKÓ¹, SACHA SAUER^{4, 5, 6}, JEAN FRANCOIS-DELEUZE⁷, SZATMÁRI ISTVÁN¹, BÁCSI ATTILA³, NAGY LÁSZLÓ^{1, 2#}

¹Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Debrecen, Magyarország

²Departments of Medicine and Biological Chemistry, Johns Hopkins University School of Medicine, Institute for Fundamental Biomedical Research, Johns Hopkins All Children's Hospital, St. Petersburg, FL, USA

³Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Immunológiai Intézet, Debrecen, Magyarország

⁴Otto Warburg Laboratory, Max Planck Institute for Molecular Genetics, Berlin, Germany

⁵CU Systems Medicine, University of Würzburg, Würzburg, Germany

⁶Max-Delbrück-Center for Molecular Medicine (BISMB and BIH), Berlin, Germany

⁷Centre National de Génotypage, Institut de Génomique, CEA, Evry, France

*Megosztott első szerzők

#Kapcsolattartó szerző: lnagy@jhmi.edu

A makrofágok a veleszületett immunrendszer heterogén és plasztikus sejtjei, amelyek funkcionális polarizációját molekuláris mikrokörnyezetük jelentősen befolyásolja. A makrofág-polarizáció két végpontja a Th1-típusú citokoin IFN γ -indukált klasszikus (M1) és a Th2-típusú IL-4 citokin által kiváltott alternatív (M2) makrofágpolarizáció. az Élő szervezetben azonban a molekuláris mikrokörnyezettől függően a két végpont közt számos átmenti makrofágpolarizációs állapot jöhet létre. Az egyes polarizációs állapotok létrejöttében az egyes környezeti szignálok által aktivált transzkripciós programok és azok kölcsönhatásai jelentős szereppel bírnak.

Munkánk során az alternatíván polarizált makrofágok epigenetikai és transzkripciós programját, valamint a különféle mikrokörnyezeti szignálokra adott válaszána molekuláris alapjait kívántuk felderíteni egér csontvelői eredetű makrofágokban új generációs szekvenálás alapú technológiák kombinált alkalmazásával.

Az aktív transzkripcióra specifikus markerek ChIP szekvenálás alapú vizsgálatával feltérképeztük az alternatív makrofágpolarizáció során végbemenő korai és késői epigenomikai változásokat. Ennek során azonosítottuk az IL-4 által indukált EGR2 transzkripciós faktort, amely genomi szabályozó elemekhez kötődve részt vesz a kromatinnyitásban, valamint

koaktivátor fehérjék és az RNS-polimeráz II rekrutálásában hidat képezve a STAT6 transzkripció faktor függő korai és a késői IL-4-aktivált transzkripció program közt. Megállapítottuk továbbá, hogy az EGR2 hozzájárul az alternatívan polárizált makrofágok lipid- és gyulladásos szignálokra adott egyedi válaszához kialakulásához a lipidérzékelő PPAR γ transzkripció faktor kifejeződésének szabályozásán, valamint a gyulladásos szignálok által aktivált NF κ B-P65 transzkripció faktor genomi szabályozó régiókhoz történő kötődésének elősegítésén keresztül.

Összességében tehát elmondható, hogy az EGR2 transzkripció faktor egyaránt kulcsszerepet játszik az alternatív makrofágpolarizáció transzkripció programjának kialakításában, valamint ezen makrofágok molekuláris mikrokörnyezeti szignálokra adott egyedi válaszához létrejöttében.

IMMUNOLÓGIAI VÁLTOZÁSOK ÉS IMPLANTÁCIÓS ZAVAR PIBF-DEFICIENS EGÉRMODELLBEN

CSABAI TÍMEA^{1, 4, 5}, PÁLLINGER ÉVA³, KOVÁCS ÁRPÁD³, MIKÓ ÉVA^{2, 4, 5},
BOGNÁR ZOLTÁN^{1, 4, 5}, SEKERES- BARTHÓ JÚLIA^{1, 4, 5}

¹Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Biológia Intézet és Központi Elektronmikroszkópos Laboratórium, Pécs

²Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ, Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézet, Pécs

³Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest

⁴Magyar Tudományos Akadémia, Humán Reprodukciós Kutatócsoport, Pécs

⁵Szentágotthai János Kutatóközpont, Pécs

Előzmények: Korábbi eredményeink arra utalnak, hogy a PIBF szerepet játszik az implantáció folyamatában. Ezért célunk az volt, hogy megvizsgáljuk, milyen következményei vannak a peri implantációs időszakban előidézett PIBF-hiányos állapotoknak.

Módszer: CD1 nőstény egereket kezeltünk 2 μ g anti-PIBF ellenanyaggal a terhesség 1,5. és 4,5. napján. Az implantációs helyeket és a reszorpció arányát a terhesség 10,5. napján vizsgáltuk. A PIBF+ decidualis NK-sejteket és a B-sejteket immunohisztokémiával és immunofluoreszcenciával vizsgáltuk. Decidualis és perifériás NK-sejtek citotoxicitását áramláscitometriával mutattuk ki. CD4+ és CD8+ sejteket izoláltunk a kezelt és kontroll állatok lépéből, majd prime-PCR-módszerrel vizsgáltuk azon gének expresszióját, amelyek szerepet játszanak a limfocitaaktiváció folyamatában, valamint a TH1/TH2 differenciálódásban.

Eredmények: A periimplantációs időszakban PIBF-deficiens vemhes egerekben csökkent az implantációk száma és megnövekedett reszorpció arány a kontrollhoz képest. A PIBF+ NK-sejtek száma csökkent a deciduában, és fokozódott

a decidualis és a perifériás NK-sejtek citotoxikus aktivitása. A reszorbeált embriók deciduájából depletálódtak a B-sejtek. Az antitesttel kezelt állatok CD4+ sejtjeiben csökkent a T-sejt-aktivációban részt vevő gének expressziója. A PIBF-hiányos állatok CD4+ sejtjeiben csökkent az IL-4 expressziója, míg a CD8+ sejtekben fokozódott az IL-12A expressziója.

Összefoglalás: Az eredmények az mutatják, hogy a PIBF biológiai hatásának semlegesítése gátolja a T-sejt-aktivációt, valamint TH1 irányba tolja el a T-sejt a differenciálódást, növeli az NK-sejtek citotoxicitását, ezzel implantációs zavart okozva.

IMMUNFOLYAMATOK SZABÁLYOZÁSÁBAN SZEREPET JÁTSZÓ GÉNEK SPLICING IZOFORMÁINAK VIZSGÁLATA HUMÁN KERATINOCYTÁKBAN

DANIS JUDIT^{1, 2}, KELEMEN EVELYN^{1, 2}, ÁDÁM ÉVA³, GÖBLÖS ANIKÓ¹,
BATA-CSÖRGŐ ZSUZSANNA^{1, 2}, KEMÉNY LAJOS^{1, 2}, SZÉLL MÁRTA^{1, 3}

¹MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoport

²SZTE ÁOK Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika

³SZTE ÁOK Orvosi Genetikai Intézet

A pikkelysömör multifaktoriális, krónikus gyulladásos bőrbetegség, melynek kiváltó oka a veleszületett és adaptív immunrendszer sejt homeosztázisának megbomlása, ami gyulladásos közeg kialakításával a keratinocyták hiperproliferációjához vezet. Kutatócsoportunk régóta vizsgálja a pikkelysömör molekuláris hátterét, mely során összehasonlítottuk az egészséges és pikkelysömörös epidermisben található molekuláris eltéréseket. Eredményeink rávilágítottak a gyulladásos és mRNS-érési folyamatok fontosságára a betegségben. A keratinocyták immunfolyamataiban azonban az mRNS-splice-variánsok megjelenését és szerepét korábban nem vizsgálták. Munkánk során célunk volt azon molekulák azonosítása, melyek esetleges splice-variánsai megjelennek a pikkelysömörrel kapcsolatba hozható keratinocytá gyulladásos folyamatokban.

Kísérleteink során humán keratinocytá sejtvonalakban a nukleinsav-indukált immunfolyamatokat modelleztük a szintetikus DNS-analóg poly(dA:dT), ill. a szintetikus RNS-analóg poly(I:C) transzfekciójával, mivel a szabad nukleinsavak a pikkelysömörös epidermisben nagy mennyiségben megtalálhatóak, és elsődleges patogén faktornak tekinthetők. Emellett az immunfolyamatok indukálásához kísérleteinkben a pikkelysömör patogenezisében szerepet játszó gyulladásos citokineket [tumornekrózis-faktor- α (TNF α), interleukin- (IL-) 12, IL-23, IL-17) is alkalmaztunk. Egy qPCR-array segítségével vizsgáltuk a génexpressziót, majd a splice-variánsokat qPCR- és hagymányos PCR-módszerrel mutattuk ki.

A qPCR-array során azonosított, legerősebben indukálódott gének között több olyan is található, melyek splice-variánsait már leírták a professzionális immunsejtekben, köztük

a fraktalkin (CX3CL1) és Z-DNS-kötő fehérje (ZBP1-) molekulák. A ZBP1-mRNS esetén négy, a CX3CL1-mRNS esetén pedig két splice-variánst azonosítottunk, melyek eltérő mértékben fejeződtek ki poly(dA:dT), illetve poly(I:C) hatására, ugyanakkor a citokinkezelések nem befolyásolták expressziójukat.

Feltételezzük, hogy a vizsgált gének különböző izoformái megjelennek a pikkelysömörös epidermisben. A továbbiakban ezen splice-variánsok funkcionális vizsgálatát fogjuk elvégezni a keratinocytákban és azonosítani szerepüket a pikkelysömör patogenezisében.

Támogatás: NKFIH FK-134355, K-128736, Bolyai János Kutatási Ösztöndíj, UNKP-20-5-SZTE-160

Kulcsszavak: pikkelysömör, alternatív splicing, nukleinsav-indukált immunválasz

HUMÁN MELANOMAASSZOCIÁLT FIBROBLASTOK IMMUNSUPPRESSZÍV FENOTÍPUSÁNAK VIZSGÁLATA

ÉRSEK BARBARA¹, SILLÓ PÁLMA², CAKIR UGUR², MOLNÁR VIKTOR³, BENCsik ANDRÁS¹, MAYER BALÁZS², MEZEY EVA⁴, KÁRPÁTI SAROLTA², PÓS ZOLTÁN¹, NÉMETH KRISZTIÁN²

¹Semmelweis Egyetem, Genetikai, Sejt- és Immunobiológiai Intézet, Budapest

²Semmelweis Egyetem, Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinika, Budapest

³Semmelweis Egyetem, Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézete, Budapest

⁴National Institute of Dental and Craniofacial Research, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20815, USA

A melanomaasszociált fibroblastok (MAF-ok) a tumorstromában található immunsuppresszív, fibroblastszerű sejtek nagyon heterogén populációját képviselik. Korábban kimutatták, hogy a MAF-ok gátolják az NK-sejtek aktivitását, így jelen kutatásunk fő célja, hogy tisztázzuk, ugyanez érvényes-e a CD8+ T-sejtekre is.

Áramláscitometriát, foszfoproteinmeghatározást, kis molekuláris enzim inhibitorokat és tranziens transzfekciót alkalmaztunk, hogy betekintést nyerjünk a MAF-oknak kitett CD8+ T-sejtek funkcionális tulajdonságaiba, normál fibroblastokat (NF) használva kontrollként.

Eredményeink szerint a MAF-eredetű kondicionált médiumnak (CM) kitett CD8+ T-sejtek egyes effektorfunkciói szelektív gátlás alá kerültek, amennyiben mérséklődött felszíni CD69-expressziójuk és a granzim-B-termelésük, módosult citotoxikus aktivitásuk, azonban az IFN γ -termelésük nem változott a kezelés hatására. A MAF-ok által közvetített anergia mechanizmusának tisztázása érdekében a TCR-szignalizáció korai és késői eseményeit elemeztük anti-CD3/28-cal kezelt CD8+ T-sejtekben. Megállapítottuk, hogy a MAF-CM kezelés a sejtben végbemenő jelátvitelben inkább ERK1/2 dominanciát váltott ki az NF- κ B szignalizációval szemben, jelezve, hogy

a CD28 kostimuláció zavarával lehet összefüggésben a MAF-közvetített T-sejt-anergia. Megállapítottuk továbbá, hogy a TIGIT és a BTLA immuncheckpoint-inhibitorok expresszióját fokozta a MAF-CM-kezelés, amely összefüggésben áll az argináz által közvetített argininkimerüléssel, mivel a MAF-sejtek arginázaktivitása fokozódott, míg NO-szintézisük jelentősen csökkent, továbbá a MAF-sejtekben az argináz szelektív blokkolása helyreállította, míg transzgenikus overexpressziója súlyosbította az immuncheckpointreceptor-expresszió csökkenést a CD8+ T-sejtekben.

Adataink arra utalnak, hogy a MAF-ok részt vesznek a tumorellenes immunválasz szabályozásában a tumor mikrokörnyezetében.

VÉRSEJTEK TRANSDIFFERENCIÁLÓDÁSÁNAK VIZSGÁLATA A MÉLYTANULÁS MÓDSZERÉVEL DROSOPHILA MELANOGASTER-BEN

GÁBOR ERIKA¹, VARGA GERGELY ISTVÁN¹, GÉCZI ALIZ¹, BAYAN KHARAT¹, MIGH EDE², BELEON ATTILA², HORVÁTH PÉTER², SZÉPLAKI BENCE³, ENYEDI MÁRTON³, PINTÉR LAJOS³, HARACSKA LAJOS⁴, HONTI VIKTOR¹

¹Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Genetikai Intézet, Drosophila Vérsajt Differenciálódás Csoport, Szeged

²Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biokémiai Intézet, Mikroszkópos Képfeldolgozó és Gépi Tanulási Csoport, Szeged

³Delta Bio 2000 Ltd., Szeged

⁴Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Genetikai Intézet, Mutagenézis és Karcinogenezis Csoport, Szeged

A különböző kórokozók és károsító tényezőkkel szembeni túlélést – mind a gerinces, mind a gerinctelen szervezetekben – az immunrendszer biztosítja. A veleszületett immunitás vizsgálatára az ecetmuslica (*Drosophila melanogaster*) kiváló modellszervezet: nem rendelkezik adaptív immunitással; a jelátviteli utak, a vérsjtek képződését szabályozó transzkripciós és epigenetikai faktorok evolúciósan konzerváltak; immunsejtjei, a vérsjtek, a gerincesek mielőid sejtjeihez hasonló funkciót töltenek be; és azokhoz hasonlóan több hullámban, egymástól elkülönült vérsjtképző kompartmentekben differenciálódnak.

A közelmúltban felfedezték, hogy vérsjtek – gerinces és gerinctelen szervezetekben egyaránt – nemcsak őssejtekből képesek differenciálódni, hanem bizonyos vérsjttípusok képesek más vérsjttípusokká átalakulni. Például az ecetmuslica fagocitáló sejtjei – a plazmatociták – immunindukció (pl. parazitoid darázsfertőzés vagy sebzés), illetve tumorok hatására képesek tokképző sejtekké – lamellocitákká – átalakulni. Ezt a folyamatot transzifferenciálódásnak nevezzük.

A plazmatocita-lamellocita átalakulás folyamatának vizsgálatához kidolgoztunk egy módszert, amely lehetővé teszi az ecetmuslica lárvájából izolált vérsjtek *ex vivo* fenntartását és differenciálódásuk időbeni vizsgálatát. A differenciá-

lódás során az egyes vérsejteket sejttípus-specifikus kifejeződésű transzgenikus konstrukciók segítségével azonosítjuk. A differenciálódás folyamatáról videómikroszkópos felvételeket készítünk, az így nyert képeket gépi tanulás módszerével vizsgáljuk, majd a különböző fejlődési állapotban levő vérsejteken egysejttranszkriptom-analízist végzünk. A módszer lehetővé teszi a vérsejtek differenciálódása során bekövetkező morfológiai és génexpressziós változások nagyfelbontású követését a prekurzoroktól az átmeneti sejteken át a terminálisan differenciálódott vérsejtekig.

Kutatásainkat az OTKA K-131484 (VH), valamint a GINOP-2.3.2-15-2016-00001 és GINOP-2.3.2-15-2016-00035 pályázatok támogatásával valósítjuk meg.

A NEUTROFIL GRANULOCYTÁK SZEREPE A VÁZIZOM GYULLADÁSÁBAN ÉS REGENERÁCIÓJÁBAN

HALÁSZ HAJNALKA EMESE^{1, 2}, VARGA TAMÁS³, GOGOLÁK PÉTER¹

¹Debreceni Egyetem, Immunológiai Intézet, Debrecen

²Debreceni Egyetem, Molekuláris Sejt- és Immunbiológiai Doktori Iskola, Debrecen

³Debreceni Egyetem, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Debrecen

Bevezetés: Az Mcl-1 antiapoptotikus fehérje nélkülözhetetlen a neutrofil granulocyták fejlődésében, a gén kiütése egerekben drasztikus neutropeniához vezet. A vázizom kiváló szöveti helyreállító képességgel rendelkezik, mégis az Mcl-1-hiányos egerekben lényegesen lassabb vázizom-regeneráció figyelhető meg a kontroll állatokhoz képest.

Célkitűzés: Kutatásunk célja a neutrofil granulocyták szerepének vizsgálata a szöveti regenerációban.

Módszerek: Az izomsérülést kardiotoxinkezeléssel indukáljuk. A steril gyulladásba került izmokat a kezelés után eltérő időpontokban izoláljuk és feldolgozzuk. Az így kinyert sejteket áramláscitometriás módszerrel analizáljuk.

Eredmények: Kétféle izomsérülés-modellt összehasonlítva azt tapasztaljuk, hogy a kardiotoxin hatására nagyobb mértékű gyulladás jön létre, mely eozinofil granulocyták infiltrációjával társul. A kardiotoxinindukált izomsérülést több napon keresztül vizsgáljuk. Az Mcl-1-hiányos egerekben elmarad a neutrofil granulocytás infiltráció, viszont megfigyelhető egy elhúzódozó eozinofil granulocytá migráció. A szövetben megjelenő makrofágok száma alacsonyabb, mint a kontroll állatokban, illetve a gyulladásos Ly6C⁺F4/80⁺ és antiinflammatorikus Ly6C⁺F4/80⁺ makrofágok aránya is eltérő. A szatellita és fibroadipogen progenitor sejtek aktivációja és osztódása mindkét egértípusban bekövetkezik, viszont a kontroll állatokban a sejtek száma a hetedik napra lecsökken. Az Mcl-1-hiányos egerekben a sejtszám-csökkenés hiánya késleltetett regenerációra utal. A hiányzó neutrofil granulocytákat 10 millió szövetkompatibilis sejt adoptív transzferével pótoljuk.

A sejtranszfert követő 24 órán belül a donor neutrofil granulocyták megjelennek az Mcl-1-hiányos egerek sérült izmában.

Következtetések: Előzetes eredményeink arra utalnak, hogy a neutrofil granulocyták a gyulladás és a regenerálódás fázisaiban is szerepet játszanak. Neutrofil granulocytá sejtranszferrel szeretnénk jobban megismerni pontosabb feladatukat a folyamatokban.

SELECTIVE PERITONEAL DRAINAGE OF DLBCL CELLS IN MESENTERIC LYMPH NODES: KINETICS AND CYTOKINE PATTERN ALTERATIONS

XINKAI JIA, PÉTER BALOGH

Department of Immunology and Biotechnology,
University of Pécs Clinical Center, Pécs

In our previous work using a spontaneous high-grade B-cell lymphoma (Bc.DLFL1) we have identified various peritoneal lymphoid aggregates as docking sites for both DLBCL and normal B cells, including omental milky spots (MSs), mesenteric fat-associated lymphoid clusters (FALCs) and a novel variant denoted as foliate lymphoid aggregates (FLAGs). The lymphoma cells preferentially expand in the mesenteric lymph nodes (mLN), mesenteric fat streaks and spleen.

In this study we investigated the early binding preferences of Bc.DLFL1 cells to separate mLN. To identify the lymphoma cells a new rat monoclonal antibody was developed (#IBL-33). Using this mAb we found that in the mLN chain the distal (colonic) mLN are colonized later by IBL-33-positive lymphoma cells, whereas the mLN draining the small intestine collect the intraperitoneal Bc.DLFL1 cells earlier. Similar early preferential accumulation of normal B cells within the small intestinal mLN was observed using adoptive transfer of lymphocytes from eGFP-expressing donors.

Following their initial binding, the Bc.DLFL1 cells infiltrate the mesenteric fat streaks, indicating the presence of tumor-supporting microenvironment. By using Mouse XL Cytokine Array Kit, we investigated the effect of lymphoma expansion on the local cytokine profile in the mLN, mesentery and omentum. Our data indicate a consistent increase of CCL12 and matrix metalloprotease 3 (MMP3) in all lymphoma-laden tissue samples compared to disease-free controls. In this condition, CCL12 may attract macrophages as part of the tumor-supporting microenvironment, whereas increased production of MMP3 may facilitate the expansion of lymphoma.

Supported by OTKA #128322 (PB)

AZ IL-23A GÉNEXPRESSZIÓJÁNAK VIZSGÁLATA KERATINOCYTÁKBAN

KELEMEN EVELYN¹, DANIS JUDIT^{1, 2}, GÖBLÖS ANIKÓ², ÁDÁM ÉVA³,
SÁGI STELLA MÁRTA¹, BATA-CSÖRGŐ ZSUZSANNA^{1, 2}, KEMÉNY LAJOS^{1, 2},
SZÉLL MÁRTA^{2, 3}

¹Szegedi Tudományegyetem, Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika

²MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoport

³Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Genetikai Intézet

A pikkelysömör a lakosság kb. 2%-át érintő multifaktoriális, gyulladásos bőrbetegség. Az IL-23 egy heterodimer struktúrájú citokin, mely emelkedett expressziót mutat pikkelysömörben, valamint jelenléte tovább erősíti a betegségben kialakuló gyulladást. Munkacsoportunk az elmúlt években bizonyította, hogy a PRINS hosszú nem kódoló RNS, szerepet tölt be a keratinocyták gyulladásos folyamatainak szabályozásában, amely során képes csökkenteni a gyulladásos mediátorok kifejeződését.

Munkánk célja a keratinocyták IL-23A-expresszióját befolyásoló szabályozó folyamatok vizsgálata. A gyulladásos folyamatok indukálásához normál humán keratinocytákat (NHEK) transzfektáltunk szintetikus dsDNS-analóg poly(dA:dT)-vel és dsRNS-analóg poly(I:C)-vel, a PRINS túlexpresszálása mellett. További kezeléseket végeztünk pikkelysömör-specifikus citokinekkal (TNF α , IL-17A, IL-12), valamint csendesítettük a nukleinsavreceptorokat (TLR3, RIG-I, IFIH1, cGAS) és gátoltuk a jelátviteli útvonalakat (MAP-kináz, STAT és NF- κ B). Ezt követően qPCR-módszerrel vizsgáltuk az IL-23A-mRNS expressziójának változásait.

Eredményeink szerint önmagában a nukleinsav-analógok és citokinkezelések emelkedett IL-23A-mRNS-expressziót okoztak, amit a vizsgált nukleinsav-receptorok csendesítése nem, de a MAP-kinázok és az NF- κ B-molekula gátlása befolyásolt. Ezzel szemben a PRINS-overexpresszió hatására kisebb mértékű IL-23A-indukciót tapasztaltunk a nukleinsav-transzfekciót követően, mint a kontroll plazmáddal transzfektált sejtekben. A PRINS-overexpresszió révén kialakult IL-23A-mRNS-csökkenés mértéke nagy egyéni különbségeket mutatott az egyes hámsejtizolátumok között. Mivel az IL-23A gén rendkívül polimorf, feltételeztük olyan egyéni genetikai variánsok jelenlétét, amelyek hatással lehetnek a PRINS IL-23A-mRNS-hez való kötődésére, azonban vizsgálataink nem igazoltak ilyen asszociációt.

Eredményeink alapján az IL-23 kifejezésére a keratinocyták is képesek, ami tovább erősítheti a pikkelysömörben létrejövő gyulladásos folyamatokat, valamint ezen folyamatok finomhangolásában a PRINS-molekula is részt vehet.

Támogatás: UNKP-20-3-SZTE-115, NKFIH-K128736

EVOLUTIONARY CONSERVED UPTAKE PATHWAYS ARE INVOLVED IN BACTERIAL ENGULFMENT MEDIATED BY INVERTEBRATE AND VERTEBRATE IMMUNOCYTES

BOHDANA KOKHANYUK¹, KORNÉLIA BODÓ¹, GYÖRGY SÉTÁLO JR.²,
PÉTER NÉMETH¹, PÉTER ENGELMANN¹

¹University of Pécs, Medical School, Department of Immunology and Biotechnology, Clinical Center, Pécs

²University of Pécs, Medical School, Department of Medical Biology and Central Electron Microscope Laboratory, Pécs

Due to the lack of an adaptive immune system, invertebrates are regularly used as a model to study innate immune functions without the interference of adaptive immunity. In particular, we hypothesize that earthworm immunocytes are functionally similar to human macrophages. In our experiments, applying various endocytosis inhibitors, we aimed to identify and compare the uptake processes of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* by THP-1 human monocytic cells, macrophages differentiated from THP-1 cells, and *Eisenia andrei* coelomocytes.

Prior to incubation with FITC-conjugated *E. coli* and *S. aureus*, samples were pretreated with uptake inhibitors (colchicine, cytochalasin B, cytochalasin D, amantadine, 5-(N-ethyl-N-isopropyl) amiloride, methyl- β -cyclodextrin, and nystatin). Furthermore, we monitored the phagocytosis kinetics and incubated the cells at 4°C to access the energy-dependency of bacterial uptake. Cell viability was inspected using 7-AAD staining. Samples were analyzed with confocal microscopy and flow cytometry.

Both cytochalasin B and cytochalasin D caused strong inhibition for phagocytosis at a different rate for monocytes, macrophages, and coelomocytes, suggesting the role of actin-dependent phagocytosis. However, incubation of cells at 4°C resulted in only partial inhibition of bacterial internalization, which might indicate that other uptake mechanisms are also involved. This observation might explain the inhibitory effects of amantadine on THP-1 cells, that targets clathrin-dependent endocytosis.

Our comparative approach revealed the highly conserved nature of bacterial engulfment by earthworm and human phagocytes applying selective uptake inhibitors.

FOLLICULARIS HELPER INNATE LYMPHOID SEJTEK

KOMLÓSI ZSOLT ISTVÁN¹, KOVÁCS NÓRA^{1, 2}, PENG YAQI³, VAN DE VEEN WILLEM³, TAN GE^{3, 4}, YÁNGÜEZ EMILIO⁴, BUZÁS EDIT¹, AKDIS CEZMI³

¹Semmelweis Egyetem, Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest

²Tüdőgyógyintézet Törökbálint, Törökbálint

³Swiss Institute of Allergy and Asthma Research, University of Zürich, Zürich

⁴Functional Genomics Center Zürich, Swiss Federal Institute of Technology (ETH) / University of Zürich, Zürich

Számos kutatási eredmény bizonyítja, hogy az innate lymphoid sejtek (ILC-k) és a B-sejtek kölcsönösen előnyös kapcsolatban vannak egymással. Az ILC2-k az IgE-termelést, míg az ILC3-ak a természetes IgM termelést és a regulációs B-sejtek fejlődését segítik. Az ILC-k B-sejt-stimulációban be-töltött, a T-sejtektől eltérő szerepe, és ennek jelentősége azonban továbbra sem minden részletében ismert. Nyitott kérdés továbbá, hogy az ILC-knek van-e a follicularis T-sejtekhez hasonló, a B-sejtek érését támogató szerepe.

Ennek feltárása érdekében összehasonlítottuk két, általunk azonosított follicularis ILC kandidáns sejtpopulációt, keringő lymphoid tissue-inducer (LTi) sejtek, ismert ILC populációk (1-3) és follicularis T-sejtek génexpressziós profilját egysejtes RNS-szekvenálással. Hat egészséges önkéntes perifériás vérből szortoltuk a sejteket (FACS Aria III, BD), melyeket Chromium (10X Genomics) platformon választottunk szét és NovaSeq 6000 (Illumina) készülékkel szekvenáltunk. Minden donorból összesen 10 000 sejtet vizsgáltunk meg. A különböző sejt típusokat hashtag vonalkód antitestekkel jelöltük (TotalSeq, Biolegend).

Kimutattuk, hogy az ILC-knek megfelelő immunfenotípusú sejtek egy része olyan T-, illetve B-sejt, amely downregulálta jellegzetes sejt felszíni markereit, vélhetően antigénfelismerést követően. A perifériás vérben kis számban megtalálható LTi-sejtek génexpressziós mintázata jelentős mértékben hasonlít az ILC3-sejtekére. Az IL-21, a B-sejt-fejlődés kulcsfontosságú induktora, legnagyobb mennyiségben a follicularis T-sejtekben termelődik. In vitro eredményeink azt mutatják, hogy bizonyos körülmények között az ILC-k (különösen az ILC1-ek és ILC3-ak) is képesek IL-21 termelésére.

Eredményeink arra utalnak, hogy ILC-k B-sejt-támogató szerepe jelentősebb lehet annál, mint eddig gondoltuk. A szöveti mikrokörnyezet hatására az ILC-k is IL-21-forrássá válhatnak, ami hozzájárulhat a lokális immunglobulin-termelés és tercier nyirokcsomók kialakulásához.

A HUMÁN PEPTIDEK ÁLTAL KÖZVETÍTETT T-SEJT POZITÍV SZELEKCIÓ AKADÁLYOZZA A NEM SAJÁT PEPTIDEK FELISMERÉSÉT

Koncz Balázs¹, Balogh G.¹, Papp BT.^{1, 2}, Asztalos L.^{1, 2}, Kemény Lajos^{1, 3}, Manczinger M.^{1, 3, 4}

¹SZTE ÁOK Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ

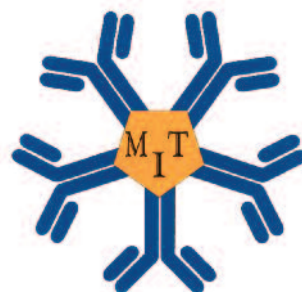
Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika

²Szegedi Tudós Akadémia

³MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoport

⁴Szintetikus és Rendszerbiológiai Egység, Biokémiai Intézet, Szegedi Biológiai Kutatóközpont

Az adaptív immunfelismerést a T-sejtek által megkötött peptid-HLA komplexek közvetítik. A T-sejtek thymusban lejátszó-dó pozitív szelekciója kulcsfontosságú lépés a megfelelően funkcionáló T-sejt-repertoár kialakulásában: csak azok a T-sejtek maradnak életben, amelyek képesek felismerni a corticalis thymusepithelsejtek felszínén bemutatott humán peptideket. Bár a T-sejtek pozitív szelekciója elengedhetetlen az immunrendszer optimális működéséhez, elméletünk szerint ez a folyamat az immunválasz hiányát eredményezi a nem humán peptidek egy jelentős részével szemben, mivel a folyamatot a humán peptidek mediálják. Hipotézisünk tesztelése során a peptideknek azokra az aminosav-motívumaira fókuszáltunk, amelyek kapcsolatba kerülnek a T-sejt receptorral. A humán proteomban ritkán vagy egyáltalán nem előforduló motívumokat kevésbé ismeri fel az immunrendszer, hasonlóan azokhoz, amelyek nem jelennek meg a corticalis thymusepithelsejtek felszínén. Legfőbb eredményeinket két független T-sejt-aktivációs adatsoron is megmutattuk. Emellett az említett peptidekre specifikus T-sejtek kisebb valószínűséggel voltak jelen egészséges egyének naiv T-sejt-repertoárjában. Továbbá azt találtuk, hogy ezen peptidek HLA-be-mutatása növeli a hajlamot fertőző betegségek kialakulásá-ra. Összegezve, a felvázolt mechanizmus megmagyarázhatja, hogy miért nem képes az adaptív immunrendszer felismerni számos nem humán peptidet. Eredményeink hozzájárulhatnak az adaptív immunfelismerés mélyebb megértéséhez.



A RENDSZERES TESTMOZGÁS KÖZVETLENÜL BEFOLYÁSOLJA A THYMUS ÉS AZ ANYAGCSERE MŰKÖDÉSÉT EMBERBEN

KVELL KRISZTIÁN^{1, 2}, GARAI KITTI^{1, 2, 3}, ÁDÁM ZOLTÁN^{1, 2, 3},
HERCEG RÓBERT⁴, KÁTAI EMESE⁵, NAGY TAMÁS⁵, PÁL SZILÁRD⁶,
GYENESEI ATTILA⁴, PONGRÁCZ JUDIT^{1, 2}, WILHELM MÁRTA³

¹Pécsi Tudományegyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszerészi Biotechnológia Intézet

²Pécsi Tudományegyetem, Szentágotthai János Kutatóközpont, Wnt Jelátviteli Kutatócsoport

³Pécsi Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Sporttudományi és Sportélettani Intézet

⁴Pécsi Tudományegyetem, Szentágotthai János Kutatóközpont, Bioinformatikai Kutatócsoport

⁵Pécsi Tudományegyetem, Laboratóriumi Medicina Intézet

⁶Pécsi Tudományegyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszertechnológiai és Biofarmáciai Intézet

Vizsgálatok alapján a rendszeres fizikai aktivitás lassítja az élettani és molekuláris paraméterek öregedéssel kapcsolatos hanyatlását időskorban. Mi a spektrum ellenkező végét kutattuk: egészséges és fiatal, inaktív fiatalok vettek részt egy hat hónapos, személyi edző által felügyelt életmódváltó programban. Élettani és molekuláris paramétereket vizsgáltunk (megkülönböztetve erősen és gyengén reagáló egyéneket), valamint azok korrelációját a fizikai aktivitással. Klaszter-analízis révén szétválasztottuk a magas és alacsony fizikai aktivitást mutató, illetve az erősen és gyengén reagáló egyéneket, minden paraméter esetében. A vizsgált szív- és érrendszeri paraméterek (szívritmus, vérnyomás, hatperces gyalogtávteszt, relatív V_{O2max}), testösszetéti paraméterek (testzsír és izomtömeg százaléká), anyagcsere-paraméterek (vércukor, inzulin, HDL, LDL) és immunológiai paraméterek (szteroidszint, CRP, lymphocytaszám, hTREC) mind javulást mutattak. Mesterséges neuronhálózatos adatelemzés (ANN) révén kiszámoltuk az élettani és molekuláris paraméterek előítéletmentes korrelációs együtthatóit. Az ANN-kiértékelés szerint a molekuláris változások fő okozója a rendszeres fizikai aktivitás volt. Az aktivitás mértéke mellett az inzulin- és hTREC-értékek is jelentős szegregációt mutattak a résztvevők tekintetében. Biostatistikai kiértékelés is alátámasztotta a résztvevők csoportjának hasadását az aktivitás mértéke, az inzulin-koncentráció és a hTREC-kópiaszám tekintetében. A jövőben az ANN és a biostatistika képes lehet a rendszeres fizikai aktivitásra adott egyéni válaszkészség jóslására. Programunk megmutatta, hogy az egyes paraméterekben erősen reagáló egyének lehetnek gyengén reagáló egyének más paraméterekben. Adataink alapján a rendszeres testmozgás elengedhetetlen az öregedés hatásainak molekuláris szintű megelőzésére fiatal és egészséges egyénekben, az eltérő válaszkészség ellenére is. Bár a rendszeres testmozgás talán nem tűnik fontosnak a fiatal és egészséges felnőttek min-

dennapi életében, mégis az egészséges öregedés alapját biztosíthatják.

MYELOMA MULTIPLEX LIQUIDBIOPSIÁK MRD-MONITOROZÁSÁNAK LEHETŐSÉGE AZ ÁTRENDZŐDÖTT V(D)J GÉNEK ÚJ GENERÁCIÓS SZEKVENÁLÁSÁVAL

MARX ANITA¹, SZIKORA BENCE¹, PIPEK ORSOLYA², CSABAI ISTVÁN²,
MATULA ZSOLT³, UHER FERENC³, MIKALA GÁBOR³, VÁLYI-NAGY ISTVÁN³,
KACSKOVICS IMRE¹

¹ELTE TTK Immunológiai Tanszék, Budapest

²ELTE TTK Komplex Rendszerek Fizikája Tanszék, Budapest

³Dél-pesti Centrumkórház, Országos Hematológiai és Infektológiai Intézet, Budapest

Bevezetés: A csontvelőben kialakuló rosszindulatú klonális plazmasejt-felszaporodással jellemezhető myeloma multiplex terápiájának következtében egyre inkább előtérbe kerül az ún. minimális/mérhető reziduális betegség (MRD) állapotának meghatározása. A mind nagyobb érzékenységgű vizsgálati módszerek lehetővé teszik az MRD minél korábbi kimutatását, melynek jelentősége a páciens kezelésének további tervezésében és életminőségének javításában rejlik. Ilyen potenciálisan nagy érzékenységgű módszer a multiparaméteres áramláscitometria mellett a mi kutatásunk során is alkalmazott molekuláris módszerek közé tartozó új generációs szekvenálás (NGS). Célunk ezen nagy érzékenységgű módszerekkel a myeloma-MRD monitorozása a csontvelőhöz képest kevésbé invazív vérmintából.

Alkalmazott módszerek: A betegektől vett csontvelői és vérmintákból izolált DNS-t templátként alkalmaztuk egy ellenanyag variábilis génekre specifikus multiplex PCR-ben. Ezeket az ampikonokat NGS-sel elemeztük, a szekvenciaadatokat pedig bioinformatikai módszerekkel értékeltük ki.

Eredmények és következtetés: Kutatásunk első szakaszában beállítottunk egy NGS munkafolyamatot myelomás betegek mintáinak vizsgálatára. Sikeresen azonosítottuk páciensként a myelomás klónt jellemző CDR3-szekvenciát („target”) diagnosztikai csontvelőmintából, valamint ki tudtuk mutatni ezek jelenlétét vérmintákból (keringő tumorsejtek, illetve keringő szabad DNS) is. A terápiát követő minták elemzése során összefüggést találtunk a betegség állapota és a „target”-szekvencia kimutathatósága között. A továbbiakban kiválasztottunk néhány magasabb kockázati csoportba tartozó beteget, akik sorozatmintáival megkezdtek egy összehasonlító módszertani elemzés elvégzését. Ennek során molekuláris MRD kimutatási módszereket (NGS, digitális droplet PCR) hasonlítottuk össze rutin áramláscitometriás adatokkal.

A kutatás az ELTE Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Program (NFKFIH-1157-8/2019-DT), valamint a Dél-pesti Centrumkórház NVKP_16-1-2016-0005 számú pályázatának kere-

tében valósult meg a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal támogatásával.

AZ NLRP3 ÉS I-ES TÍPUSÚ INTERFERON ÚTVONALAK INTERAKCIÓJÁNAK VIZSGÁLATA HUMÁN PLAZMACITOID DENDRITIKUS SEJTEKBEN

BENCZE DÓRA^{1,2}, FEKETE TÜNDE¹, PÁZMÁNDI KITTI¹

¹Debreceni Egyetem, Immunológiai Intézet, Debrecen

²Debreceni Egyetem, Molekuláris Sejt- és Immunbiológia Doktori Iskola, Debrecen

Bevezetés: Az antivirális I-es típusú interferon (IFN) és antibakteriális IL-1 β útvonalak között főként kölcsönös antagonistikus jellegű hatások figyelhetők meg, amik nemcsak az infekciók, hanem autoimmun kórképek immunreakcióit is befolyásolják. A plazmacitoid dendritikus sejtek (pDS) az antivirális válasz legfőbb képviselőiként professzionális I-es típusú IFN termelők, ugyanakkor az NLRP3-függő IL-1 β szekréciós útvonal pDS-ekben még feltáratlan. Így célunk az volt, hogy megvizsgáljuk az IL-1 β szekréciós útvonal funkcionális aktivitását humán pDS-ekben, illetve feltárjuk az I-es típusú IFN és IL-1 β útvonalak közötti lehetséges interakciókat.

Módszerek: A humán pDS-eket különböző erősségű I-es típusú IFN választ kiváltó TLR-agonistákkal kezeltük IFN- α citokin jelenlétében vagy a nélkül, majd Q-PCR, western blot, ELISA és áramláscitometria segítségével vizsgáltuk az NLRP3 útvonal aktivitását.

Eredmények: Kimutattuk, hogy az erős I-es típusú IFN választ indukáló TLR9 ligand, a CpG-A kisebb mértékben indukálja a pro-IL-1 β termelődést pDS-ekben, mint a kismértékű IFN- α -felszabadulást eredményező TLR9-agonista CpG-B, ami viszont erősebb NF-kappaB-aktivátor. A pDS-ek nigericinindukált érett, aktív IL-1 β -szekrécióját kizárólag CpG-B-előkezelést követően tudtuk detektálni. Ugyanakkor IFN- β jelenlétében a CpG-B-kezelés is kisebb mértékű IL-1 β -termelődést eredményezett pDS-ekben, amely arra utal, hogy az I-es típusú IFN-ek gátolhatják az NLRP3 inflammaszóma aktivitást a STAT1 jelátviteli útvonalon keresztül.

Konklúzió: Eredményeink szerint az NLRP3-függő IL-1 β szekréciós útvonal indukálható humán pDS-ekben, ugyanakkor a pDS-ek IL-1 β -mediált gyulladásos válasza az I-es típusú IFN útvonal aktivációjával gátolható.

Támogatás: A kutatás az NKFIH FK 128294 és GINOP-2.3.2-15-2016-00050 projektek, az MTA Bolyai János kutatási ösztöndíj és az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-20-5 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság programjának keretein belül valósult meg.

A HAZAI SZERZETT C1-INHIBITOR-HIÁNYOS BETEGEK KLINIKUMÁNAK ÉS KEZELÉSÉNEK FELMÉRÉSE

PÓLAI ZSÓFIA¹, BALLA ZSUZSANNA¹, KÖHALMI KINGA VIKTÓRIA^{1,2}, TEMESSZENTANDRÁSI GYÖRGY³, BENEDEK SZABOLCS³, VARGA LILIAN¹, FARKAS HENRIETTE¹

¹Országos Angioödéma Referencia Központ, Semmelweis Egyetem, Belgyógyászati és Hematológiai Klinika

²Budai Irgalmasrendi Kórház, Reumatológia Centrum

³Semmelweis Egyetem, Belgyógyászati és Hematológiai Klinika

Bevezetés: A bradikininmediált angioödémák csoportjába tartozó szerzett C1-inhibitor- (C1-INH-) hiány következtében kialakuló angioödéma (C1-INH-AAE) ritka betegség. Munkánk célja a C1-INH-AAE betegek nyomon követésével szerzett tapasztalataink összefoglalása.

Irodalmi elhelyezés: A C1-INH-AAE oka lehet a C1-INH fokozott konszumpciója, vagy a C1-INH elleni autoantitestek termelődése vezethetnek a fehérje funkciójának csökkenéséhez. Hátterében leggyakrabban lymphoproliferatív kórképek állnak. C1-INH-AAE életveszélyes állapot kialakulásához vezethet, amennyiben az angioödéma a felső légutak nyálkahártyáját érinti.

Módszerek: Az Országos Angioödéma Referencia Központban adottak a lehetőségek a szerzett C1-INH-AAE betegek diagnosztizálására komplementvizsgálattal, továbbá biztosított a betegek ellátása, nyomon követése. A kontroll megjelenések során a klinikai és laboratóriumi paraméterek értékelését követően kerül sor a terápiás stratégia kialakítására. Elemeztük a betegek demográfiai adatait, az angioödémás rohamok gyakoriságát, lokalizációját, terápiára adott válaszát, illetve az alapbetegség lefolyását.

Eredmények: 1991 és 2020 között 17 C1-INH-AAE beteget követtünk nyomon. A komplementvizsgálat során minden beteg esetében csökkent C4, C1-INH antigenikus szintet és C1-INH funkcionális aktivitást találtunk. 11/17 beteg esetében detektáltunk C1-INH elleni antitestet. A 17 beteg közül 5 esetben lymphomára, 4 esetben MGUS-ra, illetve 2 esetben egyéb hematoonkológiai kórképre derült fény. 6 beteg kapott gyógyszeres hematoonkológiai kezelést. Két betegnek a hematológiai kezelést követően nem volt angioödémás tünete, egy beteg esetében az angioödémás rohamok ritkábban jelentkeztek, egy beteg tüneteiben változás nem történt, egy páciens az alapbetegség következtében elhunyt, egy pedig még jelenleg is kezelés alatt áll.

Következtetések: A komplementvizsgálat elvégzése alapvető a C1-INH-AAE diagnosztizálásában. Az angioödémás rohamok megjelenése gyakran megelőzi az alapbetegség klinikai manifestációját, így a diagnosztizált C1-INH-AAE betegek esetében egy lymphoproliferatív betegség korábbi stádiumban felfedezhető.

TUMORASSZOCIÁLT FIBROBLASTOK HUMÁN MELANOMÁBAN ÉS AZON TÚL: BEVEZETÉS AZ ALAPOKBA

PÓS ZOLTÁN, ÉRSEK BARBARA

Semmelweis Egyetem, Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest

A tumorasszociált fibroblastok (cancer-associated fibroblasts, CAFs) a legkülönbözőbb szolid tumorok, többek között a melanoma stromájában is jelen lévő, eredetüket és abundanciájukat tekintve meglepően heterogén, funkcionálisan és fenotípusosan is rendkívül változatos sejtcsoport.

A CAF-okkal kapcsolatban korábban uralkodó szemlélet, miszerint ezek a sejtek elsősorban architektúrális feladatokat töltenek be, az utóbbi években jelentős átalakuláson ment keresztül, és alapos revízióra szorult.

Az modern daganatimmunológiai kutatások és a kutatástechnológia fejlődése, elsősorban a fate mapping megjelenése, a CAF-ok in situ, célzott eliminációját lehetővé tevő megoldások, illetve az egysejtes szekvenálás lehetővé tették, hogy mélyebb betekintést nyerjünk e sejtek létrejöttének, a tumor általi átprogramozásának folyamatába, illetve meglepően stabil, jórészt önállóan fenntartott fenotípusuk kialakulásának hátterébe. Világosabb képünk van a CAF-ok alcsoportjainak sokféleségéről, az általuk kifejtett, a tumorprogressziót, a lokális immunsuppressziót és a terápiarezisztenciát támogató hatásai mechanizmusait illetően. Végül egyre jobban belelátunk abba a szoros, még a sejtes metabolizmus kölcsönös átszervezését is magába foglaló szimbiózisba, ami a daganatsejtek és a stromális fibroblastok között idővel létrejön.

Az előadás célja a CAF-ok klinikai, daganatbiológiai, immunológiai jelentőségének, pro- és antitumorális aktivitásának esetleges kiaknázhatóságának áttekintése.

A KOMPLEMENTPROFIL VÁLTOZÁSA SARS-COV-2-FERTŐZÉS MIATT KÓRHÁZBAN KEZELT BETEGEKBEN

MEZŐ BLANKA^{1, 2}, SINKOVITS GYÖRGY¹, RÉTI MARIENN³, SZATHMÁRY BEÁTA⁴, LAKATOS BOTOND⁴, SZLÁVIK JÁNOS⁴, GOPCSA LÁSZLÓ³, REMÉNYI PÉTER³, BOBEK ILONA⁵, MÜLLER VERONIKA⁶, IVÁNYI ZSOLT⁷, GÁL JÁNOS⁷, MASSZI TAMÁS¹, PROHÁSZKA Z. ZITA¹, FÖRHÉCZ ZSOLT¹, CSUKA DOROTTYA¹, KAJDÁCSI ERIKA¹, CERVENAK LÁSZLÓ¹, KISZEL PETRA², VÁLYI-NAGY ISTVÁN³, PROHÁSZKA ZOLTÁN¹

¹Belgyógyászati és Hematológiai Klinika, ⁶Pulmonológiai Klinika és ⁷Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Klinika, Semmelweis Egyetem, Budapest

²Semmelweis Egyetem – Eötvös Loránd Kutatási Hálózat Támogatott Kutatócsoportok Irodája, Immunológiai és Hematológiai Kutatócsoport, Budapest

³Hematológiai és Óssejt-transzplantációs Osztály,

⁴Infektológiai Osztály, ⁵Intenzív Terápiás Osztály, Dél-pesti Centrumkórház, Országos Hematológiai és Infektológiai Intézet, Budapest

A COVID-19-pandémia jelentős morbiditási és mortalitási mutatókkal zajlik, a SARS-CoV-2 vírus fertőzés patogenezise azonban csak részlegesen ismert. Munkánk célja az volt, hogy megfigyeléses klinikai vizsgálattal jellemezzük a fertőzés során kialakuló gyulladásos válaszreakciót, fő hangsúllyal a komplementprofil markereinek leírására.

2020. április 20. és július 2. között 145 (83 férfi, 59 ± 16 évesek), aktuálisan vagy korábban PCR-teszttel igazolt SARS-CoV-2 vírussal fertőzött beteg került bevonásra vizsgálatunkba, közülük 98 beteg (54 férfi, 65 ± 13 évesek) szorult kórházi kezelésre COVID betegség miatt. A betegeket a kórházi adatok összegyűjtésével és elemzésével súlyosság szerinti csoportokba soroltuk: ambuláns kezelés (n = 28), kórházi kezelés infektológián, oxigénsupporthoz nélkül (n = 29) vagy oxigénsupporthoz (n = 34) vagy intenzív osztályon (n = 35) és a legsúlyosabb klinikai állapotban levett mintákat értékeltük a továbbiakban. Statisztikai analízishez nemparaméteres teszteket alkalmaztunk.

A komplementprofil mutatói közül a COVID-19 betegség súlyosságával egyértelmű kapcsolatot (ANOVA) mutatott az alternatív út aktivitása (p = 0,014), a C3 (p = 0,048), a B faktor (p = 0,008) és a C4 szintje (p = 0,007), emelkedett szintek voltak jellemzők a kórházi kezelést igénylő betegekre az ambuláns betegekhez képest, és csökkent szinteket észleltünk az intenzív osztályos kezelést igénylő betegekben a kórházi kezelést igénylő betegekhez képest. A faktorszintek növekedését majd konzumpcióját a komplementaktiváció mértékének növekedése kísérte, amit a C3a és az sC5b9 aktivációs markerek szintjének erős emelkedése jelzett minden súlyossági csoportban. A komplementaktiváció és a gyulladásos válaszreakció, illetve a véralvadás egyes markerei között szoros korreláció volt kimutatható.

Adataink arra utalnak, hogy SARS-CoV-2 vírusherfertőzés során jelentős hypercomplementaemia alakul ki a gyulladásos válaszreakció részeként, azonban a COVID-19 betegség súlyos formájára a komplementaktiváció és -konzumpció jellemző. Tekintettel a szoros kapcsolatra a gyulladás-, koaguláció- és komplementaktiváció között, adataink segíthetnek terápiás célpontok azonosítására alkalmas vizsgálatok tervezéséhez.

AZ ADAMTS13-AKTIVITÁS MINT A COVID BETEGSÉG SÚLYOSSÁGÁT JELZŐ GLOBÁLIS MARKER SARS-COV2-FERTŐZÉS MIATT KÓRHÁZBAN KEZELT BETEGEKBEN

SINKOVITS GYÖRGY¹, MEZŐ BLANKA^{1, 2}, RÉTI MARIENN³, SZATHMÁRY BEÁTA⁴, LAKATOS BOTOND⁴, SZLÁVIK JÁNOS⁴, GOPCSA LÁSZLÓ³, REMÉNYI PÉTER³, BOBEK ILONA⁵, MÜLLER VERONIKA⁶, IVÁNYI ZSOLT⁷, GÁL JÁNOS⁷, MASSZI TAMÁS¹, PROHÁSZKA Z. ZITA¹, FÖRHÉCZ ZSOLT¹, CSUKA DOROTTYA¹, KAJDÁCSI ERIKA¹, Cervenak László¹, KISZEL PETRA², VÁLYI-NAGY ISTVÁN³, PROHÁSZKA ZOLTÁN¹

¹Belgyógyászati és Hematológiai Klinika, ⁶Pulmonológiai Klinika és ⁷Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Klinika, Semmelweis Egyetem, Budapest

²Semmelweis Egyetem – Eötvös Loránd Kutatási Hálózat Támogatott Kutatócsoportok Irodája, Immunológiai és Hematológiai Kutatócsoport, Budapest

³Hematológiai és Össejt-transzplantációs Osztály,

⁴Infektológiai Osztály és ⁵Intenzív Terápiás Osztály, Dél-pesti Centrumkórház, Országos Hematológiai és Infektológiai Intézet, Budapest

Jelenlegi ismereteink alapján a SARS-CoV-2 koronavírus által okozott betegség súlyossága kapcsolatban áll a szisztémás gyulladásos reakció mértékével, illetve a koaguláció és komplementrendszer bizonyos eltéréseivel.

Jelen célkitűzésünk az volt, hogy egy megfigyeléses klinikai vizsgálat adatai alapján azonosítsunk egy olyan biomarkert, amely a fenti folyamatokat integrálva jól tükrözi a COVID betegség súlyosságát.

2020. április 20. és július 2. között 145 (83 férfi, kor: 59 ± 16 év), aktuálisan vagy korábban PCR-tesztel igazoltnak SARS-CoV-2 vírussal fertőzött beteg került bevonásra vizsgálatunkba, közülük 98 beteg (54 férfi, 65 ± 13 év) szorult kórházi kezelésre a SARS-CoV-2-fertőzés miatt a bevonás idején. A betegeket a kórházi adatok alapján súlyosság szerinti csoportokba soroltuk a legsúlyosabb mintavételkor állapot szerint: ambuláns (28 fő), kórházi kezelés infektológián oxigénterápia nélkül (29 fő) vagy oxigénpótlással (34 fő), illetve intenzív osztályon (35 fő). Statisztikai analízishez nemparaméteres teszteket alkalmaztunk.

Az ADAMTS13-aktivitás jól jellemzi a betegség súlyosságát: az oxigénterápiát nem igénylő hospitalizált betegek aktivitása nem különbözött az ambuláns betegektől, azonban az oxigénterápiát, valamint intenzív osztályos kezelést igénylő betegeké szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult az enyhébb súlyossági csoportokéhoz képest (Kruskal-Wallis-teszt, $p < 0,0001$).

Az ADAMTS13-aktivitás csökkenése korrelált a gyulladást jelző markerek (CRP, PCT), illetve gyulladásos mediátorok (IL-6) szintjének emelkedésével, valamint a komplement alternatív út aktivitásának és komponensei szintjének (C3, H-faktor) csökkenésével. Kapcsolatot találtunk az ADAMTS13-akti-

vitás csökkenése és a vérképzőrendszer, illetve a koaguláció bizonyos paramétereinek változásai (neutrofil granulocytá/-lymphocytá arány és RDW emelkedése, hemoglobinszint csökkenése, D-dimer emelkedése) között is ($p < 0,002$ minden esetben).

Adataink arra utalnak, hogy az ADAMTS13-aktivitás változása szorosan összefügg a gyulladás, koaguláció és komplementaktiváció folyamatával. Úgy gondoljuk, hogy az alacsony ADAMTS13-aktivitás hátterében többek között – a csökkent termelés és a von Willebrand-faktor-expresszió fokozódása miatti konzumpció révén – az endothelsejtek károsodása és diszfunkciója áll. Tekintettel arra, hogy ARDS kialakulásában az endothelsejtek szerepe jól ismert, az ADAMTS13-aktivitás csökkenése alkalmas markere lehet a COVID betegségben kialakuló tüdőkárosodás súlyosságának, amint ezt eredményeink alátámasztják.

IMMUNBARRIER VIZSGÁLATA EGY NEDVES BŐRRE LOKALIZÁLÓDÓ BŐRBETEGSÉGBEN, HIDRADENITIS SUPPURATIVÁBAN

SOMOGYI ORSOLYA^{1, 2}, KAPITÁNY ANIKÓ^{1, 2}, MEDGYESI BARBARA^{1, 2}, SZABÓ LILLA^{1, 2}, GÁSPÁR KRISZTIÁN^{1, 2}, HENDRIK ZOLTÁN³, DINYA TAMÁS⁴, SZEGEDI ANDREA^{1, 2}, DAJNOKI ZSOLT^{1, 2}

¹Bőrgyógyászati Allergológiai Tanszék, ²Bőrgyógyászati Tanszék, ³Patológiai Intézet, ⁴Sebészeti Intézet, Debreceni Egyetem ÁOK, Debrecen

A hidradenitis suppurativa (HS) egy nedves bőrrégióra lokalizálódó immunmediált gyulladásos bőrbetegség, melynek patomechanizmusában a Th1/17 citokínkörnyezet már jól karakterizált; a betegségre jellemző immunmilió kialakulásának stádiumai, időbeli lefolyása azonban nem ismert. Célunk a HS első stádiumában kialakuló, klinikai tünetet nem mutató, nonlaesionalis bőr (HS NL) immunkarakterisztikájának részletes feltárása, és egészséges nedves, illetve laesionalis HS-sel (HS L) való összehasonlítása azon molekulákra, illetve sejtekre fókuszálva, melyek kifejeződése, illetve száma szignifikáns eltérést mutatott a korábbi vizsgálatunkban a nedves és HS laesionalis minták összehasonlítása során. Kutatásunkban az említett három mintacsoportot génszinten RT-qPCR-rel és fehérjeszinten immunhisztokémiai módszerrel vizsgáltuk: összehasonlítottuk a Th1/Th17 környezethez kapcsolódó különböző citokinek (Th1: IL-12B, IFN γ , TNF α ; Th17: IL-17, IL-1 β , IL-10, IL-6, IL-23A, TGF β 1), illetve Th17 kemokinek (CCL2, CCL20), AMP-k (S100A8, LCN2, LL37) expresszióját, illetve a CD4+ T-sejtek, a CD11c+ myeloid dendritikus sejtek (DC-k) és a CD163+ makrofágok jelenlétét. Eredményeink szerint egyes keratinocytaeredetű citokinek (IL-23, TNF α , IL-1 β), kemokinek (CCL2) és antimikrobiális peptidek (LCN2, S100A8) kifejeződése, DC-eredetű citokinek (Th1-polarizáló IL-12 és Th17-polarizáló IL-23 citokinek), valamint a dermalis

makrofágok, T-sejtek és DC-k száma szignifikánsan nagyobb a HS NL bőrben a nedves bőrhöz képest. Ezzel szemben a dermisben található IL-17+, CCL20+ és TGFβ+ sejtek száma nem mutatott szignifikáns eltérést az egészséges nedves és HS NL bőrminták között. A HS L bőrmintákban az összes vizsgált paraméter esetében jelentősen és szignifikánsan nagyobb mennyiségeket detektáltunk az egészséges nedves és HS NL mintákhoz képest. Összefoglalva, a HS kialakulásának stádiumairól fontos információkat nyertünk, hiszen, eredményeink szerint, a HS NL bőrben már detektálhatóak a szubklinikus gyulladás jelei.

EPIMMUNOM MOLEKULÁK VIZSGÁLATA TOPOGRÁFIAILAG ELTÉRŐ EGÉSZSÉGES BŐRTERÜLETEKEN

SZABÓ LILLA^{1, 2}, KAPITÁNY ANIKÓ^{1, 2}, SOMOGYI ORSOLYA^{1, 2},
MEDGYESI BARBARA^{1, 2}, GÁSPÁR KRISZTIÁN^{1, 2}, HENDRIK ZOLTÁN³,
DINYA TAMÁS⁴, DAJNOKI ZSOLT^{1, 2}, SZEGEDI ANDREA^{1, 2}

¹Bőrgyógyászati Allergológiai Tanszék, ²Bőrgyógyászati Tanszék, ³Patológiai Intézet, ⁴Sebészeti Intézet, Debreceni Egyetem ÁOK, Debrecen

Kutatócsoportunk korábbi vizsgálatai kimutatták, hogy a bőr különböző régióra jellemző immuntuning jelentős eltérést mutat. Ehhez jelentősen hozzájárulnak a keratinocyták (KC), amelyek epimimmunomolekulák termelése révén képesek alapvetően befolyásolni a bőr professzionális immunsejtjeinek működését. Célul tűztük ki az egészséges bőr topográfiailag eltérő területeire jellemző epimimmunomolekulák (IL-25, IL-23, IL-33, IL-8, IL-18, IL-6, IL-24, IL-17C, IL-1α, IL-1β, TGFβ) jelenlétének feltérképezését zsíros (faggyúmirigyben gazdag), száraz (faggyúmirigyben szegény) és nedves (hajlati, apokrin mirigyekben gazdag) egészséges bőrterületeken. A molekulák fehérjeszintű kifejeződését immunhisztokémiai festéssel, a génszintű eltéréseket qRT-PCR-módszerrel vizsgáltuk. Eredményeink alapján az IL-25-, IL-33- és IL-8-molekulák szignifikánsan alacsonyabb szintet mutattak zsíros bőrrégióban a száraz területekhez képest, míg nedves és zsíros bőrben az IL-17C-molekula megnövekedett expresszióját detektáltuk. Összességében elmondható, hogy az egészséges száraz bőrt egy nem gyulladásos Th2-jellegű immunmiliő, míg korábbi kutatásunk alapján a zsíros és nedves régiókat egy nem gyulladásos Th17-környezet jellemzi. Jelen és korábbi eredményeink magyarázatot adhatnak egyes outside-in bőrbetegségek régióspecifikus tulajdonságára. Véleményünk szerint az általunk detektált száraz bőrre jellemző nem gyulladásos Th2-jellegű immunkörnyezet predisponálja ezt a régiót Th2-típusú immunmediált bőrgyulladás kialakítására, melynek modellbetegsége az atópiás dermatitis. Ennek analógiáján a zsíros és nedves régiók magas antimikrobiális peptid, homeosztikus thymic stromal lymphopoietin (TSLP) (korábbi eredményeink) és IL-17C-kifejeződése haj-

lamosíthatja ezeket a régiókat Th1/Th17 típusú gyulladás kialakítására, mint a nedves bőrre lokalizálódó hidradenitis suppurativa és a kizárólag zsíros bőrön előforduló rosacea esetén. Vizsgálatunk alapján javasoljuk az egészséges bőrrégiók eltérő jellegzetességeinek figyelembevételét a régióspecifikus outside-in betegségeket célzó lokális preventív terápiák kifejlesztése során.

ELLENANYAGVÁLASZ VIZSGÁLATA COVID-19 BETEGEKEN ÉS GYÓGYULT SZEMÉLYEKEN

SZABÓ ZSÓFIA¹, SZABÓ TAMÁS¹, BODÓ KORNÉLIA², KEMENESI GÁBOR⁴,
FÖLDES FANNI⁴, KRISTÓF KATALIN¹, BARABÁS ESZTER¹, VÁSÁRHELYI BARNA¹,
PROHÁSZKA ZOLTÁN³, FODOR ESZTER⁵, JAKAB FERENC⁴, BERKI TÍMEA²,
LACZA ZSOMBOR⁵

¹Semmelweis Egyetem, Laboratóriumi Medicina Intézet, Budapest

²Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet

³Semmelweis Egyetem, Belgyógyászati és Hematológiai Klinika, Kutatólaboratórium

⁴Pécsi Tudományegyetem, Szentágotthai János

Kutatóközpont, Virologiai Kutatócsoport

⁵Testnevelési Egyetem, Sportélettani Kutatóközpont

A SARS-CoV2 koronavírus szembeni védekezés megítélésére és a plazmaterápiára szánt készítmények jellemzésére a szerológiai tesztek lehetnek alkalmasak, amennyiben a vírusneutralizációs tesztekkel elfogadható egyezőséget mutatnak.

Munkánk célja, hogy SARS-CoV2-fertőzött betegek és betegségben átesettek specifikus antitestprofilját tanulmányozzuk az elérhető szerológiai tesztek diagnosztikus értékét összehasonlítva. Ennek érdekében összesen 143 COVID-19 beteg és betegségből felgyógyult személy (5-7 héttel a negatív PCR/tünetek megszűnte után) szérum- vagy plazmamintáját analizáltuk. Különböző SARS-CoV2 antigénre specifikus ELISA-tesztel mértük a Spike1 és -2 fehérje (S1, S2), illetve nucleocapsid antigén elleni immunválaszt: Generic Assay (GA) S1/S2/nucleocapsid IgG, Microgen nucleocapsid IgG, Euroimmun S1 IgG/IgA, Diapro S1/nucleocapsid IgG/IgA/IgM, Vircell (S/nucleocapsid) IgG/IgA+IgM). 106 minta esetében vírusneutralizációs teszt (VeroE6 cell) is történt a legnagyobb hígítási titerrel jellemezve a neutralizációs aktivitást (50%-os védelem). Az eredményeket Prism GraphPad 7 szoftverrel elemeztük.

Az ELISA-tesztek és a vírusneutralizációs assay közötti Spearman-korrelációs együtthatók értéke 0,55–0,79 között mozgott, ami mérsékelt-erős korrelációt jelez. Nem volt jelentős különbség a korrelációkban a nucleocapsid, illetve S1 antigénben, kivéve az S2-ben. A különféle ELISA-tesztekkel nyert pozitív esetek aránya 14–91% között volt, ami nagyban függött a mért minták csoportjától. A 143 vizsgált minta

25%-ában találtunk kimutatható neutralizációt. A vizsgált ELISA-tesztek többsége (pl. Generic Assay, Microgen, Euro-immun) alkalmas lehet epidemiológiai felmérések végzésére és annak becslésére, hogy egy adott személy a közelmúltban áteshetett-e a fertőzésen. Az antigének kombinációja jobb közelítést adhat (pl. S1 és nucleocapsid).

További vizsgálatok szükségesek ahhoz, hogy a neutralizációs aktivitást jobban jellemző tesztet megtaláljuk, illetve hogy a tünetszegény/-mentes fertőzésen átesettek esetében érzékeny paramétert azonosítsunk.

ANTI-TNF-KEZELÉS VASCULARIS ÉS CSONTHATÁSAI ARTHRITISEKBEN

PUSZTAI ANITA¹, HAMAR ATTILA¹, CZÓKOLYOVÁ MONIKA¹, GULYÁS KATALIN¹, HORVÁTH ÁGNES¹, VÉGH EDIT¹, PETHŐ ZSÓFIA¹, SZAMOSI SZILVIA¹, BALOGH EMESE^{1, 6}, BODNÁR NÓRA¹, BODOKI LEVENTE¹, SZENTPÉTERY ÁGNES^{1, 7}, HARJIT PAL BHATTOA², KERÉKES GYÖRGY³, JUHÁSZ BALÁZS⁵, SZÉKANECZ ÉVA⁵, HODOSI KATALIN¹, DOMJÁN ANDREA¹, SZÁNTÓ SÁNDOR^{1, 4}, HENNIE G. RATERMAN⁸, WILLEM F. LEMS⁹, SZÜCS GABRIELLA¹, SZÉKANECZ ZOLTÁN¹

Debreceni Egyetem ÁOK, ¹Reumatológiai Tanszék,

²Laboratóriumi Medicina Intézet, ³Belgyógyászati Intézet,

⁴Sportorvosi Tanszék, ⁵Onkológiai Klinika, Debrecen

⁶Centre for Arthritis and Rheumatic Diseases, St. Vincent's University Hospital, Dublin, Ireland

⁷Department of Rheumatology, Uppsala University Hospital, Uppsala, Sweden

⁸Department of Rheumatology, Northwest Clinics, Alkmaar, The Netherlands

⁹Amsterdam Rheumatology and Immunology Centre, Amsterdam, The Netherlands

Bevezetés: Rheumatoid arthritisben (RA) és spondylitis ankylopeticában (SPA) megnövekedett cardiovascularis (CV) rizikó és az osteoporosis (OP) kockázatának fokozódása figyelhető meg. Ebben a tanulmányban ugyanazon betegkohorszban egyéves anti-TNF biológiai terápia hatásait vizsgálatuk CV és csontbiomarkerekre, a vascularis patofiziológiai eltérésekre és a csontanyagcserére.

Módszerek: Összesen 36 etanercept- (ETN-) vagy certolizumab pegol (CZP-) kezelésben részesülő RA-s és 17 ETN-nel kezelt SPA-s beteget vontunk be egy 12 hónapos vizsgálatba. A csont- és CV biomarkereket ELISA-val mértük. A csontsűrűséget DEXA-val és kvantitatív CT-vel (QCT), az áramlásmédiált vasodilatációt (FMD), a carotis intima-media vastagságot (IMT) és a pulzushullám-sebességet (PWV) ultrahanggal detektáltuk.

Eredmények: Az oszteoprotegerin (OPG) pozitívan korrelált az FMD-vel, a parathormon (PTH) a PWV-vel és a sclerosin (SOST) az IMT-vel. A QCT-vel mért össz- és trabecularis BMD fordítottan korrelált az IMT-vel. A kiindulási D3-vitamin-

(VITD3-) szint fordítottan korrelált a PWV-vel. Az egyéves biológiai kezelés a különböző csontbiomarkerek kiindulási szintjeivel kombináltan jelezheti az IMT változását a terápia során. A szisztémás gyulladás (CRP) vagy a betegség aktivitása jelentősen befolyásolhatja egyes csont- és CV biomarkerek közötti kapcsolatot.

Következtetések: Anti-TNF-kezelést kapó RA- és AS-betegek vizsgálata során a CV és csontparaméterek több összefüggést mutattak egymással. Egyes csontmarkerek egyéves kezelés után jelezhetik az érrendszer állapotát és fordítva. A szisztémás gyulladás és az ízületi betegség aktivitása befolyásolhatja a csont- és CV biomarkerek közötti összefüggéseket.

NUKLEOZIDMÓDOSÍTOTT VEGFC-mRNS-LNP SZERVESPECIFIKUS NYIROKÉR-NÖVEKEDÉST ÉS KÍSÉRLETES NYIROKÖDÉMA GYÓGYULÁSÁT IDÉZI ELŐ

SZÓKE DÁNIEL IMRE^{1, 2}, KOVÁCS GÁBOR^{1, 2}, KEMECSEI ÉVA^{1, 2}, BÁLINT LÁSZLÓ^{1, 2}, SZOTÁK-AJTAY KITTI^{1, 2}, ARADI PETRA^{1, 2}, STYEVKÓÉ DINNYÉS ANDREA^{1, 2}, BARBARA L. MUI³, YING K. TAM³, THOMAS D. MADDEN³, KARIKÓ KATALIN⁴, RAGHU P. KATARU⁵, MICHAEL J. HOPE³, DREW WEISSMAN⁶, BABAK J. MEHRARA⁵, PARDI NORBERT⁶, JAKUS ZOLTÁN^{1, 2}

¹Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet, Budapest, Magyarország

²MTA-SE „Lendület” Nyirokélettani Kutatócsoport, Budapest, Magyarország

³Acuitas Therapeutics, Vancouver, BC, Kanada

⁴BioNTech RNA Pharmaceuticals, Mainz, Németország

⁵Department of Surgery, Division of Plastic and Reconstructive Surgery, Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, NY, USA

⁶University of Pennsylvania, Perelman School of Medicine, Philadelphia, PA, USA

Bevezetés: A nyirokódéma prevalenciáját világszinten százmillió nagyságrendűre becsülik. Ezen betegség hatására nem csak a betegek életminősége romlik, de hosszú távon számos súlyos szövődményt okoz. Nem áll rendelkezésre definitív gyógymód a betegség kezelésére. Számos kísérlet történt az elmúlt évtizedekben VEGFC-alapú terápiás módszerek kidolgozására. Példaként említhetők a rekombináns fehérje és az adenovírusalapú rendszerek, melyeknek azonban számos korlátja van. A lipidnanopartikulába (LNP) csomagolt mRNS-ek új fejezetet nyithatnak a fehérjealapú terápiás eszközök fejlesztésében.

Célunk: A VEGFC-mRNS-LNP eszköz vizsgálata élő szervezetben és kísérletes tesztelése genetikai nyirokódéma modellben.

Módszerek: Különböző genetikai háttérű egerek szerveit kontroll és VEGFC-mRNS-LNP-vel injektáltuk. A nyirokérrispor-

ter egerek mintáit közvetlenül, és paraffinalapú szövettani metszetek immunfestését követően fluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltuk. Továbbá a VEGFC-mRNS-LNP-vel kezelt mintákon áramláscitometriát végeztünk. A nyirokerek funkcióját nagy molsúlyú Rhodamin-Dextrán segítségével teszteltük. Illetve nyirokódéma egérmódelben vizsgáltuk a VEGFC-mRNS-LNP betegségre gyakorolt hatását.

Eredmények: A VEGFC mRNS-LNP hatékonyan idézett elő szervspecifikus nyirokér-növekedést. Lehetséges mellékhatások vizsgálata során arra jutottunk, hogy vérrővekedést és jelentős mértékű immunsejt-infiltrációt nem okoz. A kialakult nyirokerek képesek voltak nagy molsúlyú molekulák felvételére és elszállítására. Nyirokódéma állatmodellben azt tapasztaltuk, hogy a kialakított nyirokódéma VEGFC-mRNS-LNP segítségével összességében gyorsabban gyógyult, és az újonnan kialakult nyirokerek egészen 75 nappal az injekciót követően is csökkentették a másodlagos szöveti károsodást, és hatásosabban tudták elszállítani a nagy molsúlyú molekulákat.

Következtetések: Összességében elmondhatjuk, hogy az általunk kifejlesztett rendszer nemcsak kiváló eszköz a nyirokerek szerepének különböző laboratóriumi kísérletekben való vizsgálatára, de a jövőben új terápiás módszerré válhat egy számos ember életét megnehezítő betegség gyógyítására.

RÁZVA VAGY KEVERVE? – HER2-CAR T-SEJTEK PREKLINIKAI OPTIMALIZÁLÁSA A MAXIMÁLIS ÉS HOSSZÚ TÁVÚ EFFEKTORHATÁS ELÉRÉSÉÉRT

SZŐÖR ÁRPÁD¹, CSAPLÁR MARIANNA¹, TÓTH CSABA TAMÁS¹, VEREB GYÖRGY^{1, 2}

Debreceni Egyetem, ÁOK ¹Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, ²MTA-DE Sejtbiológiai és Jelátviteli Kutatócsoport, Debrecen

A CAR T-sejtek leukémiákban tapasztalt sikere utat nyitott a szolid tumorokon történő alkalmazás felé, ahol a tumorelles hatás átmeneti volt, és néhány betegben súlyos mellékhatásként „citokinvihar” alakult ki. Célunk az volt, hogy egy szisztematikusan felépített kísérleti rendszerrel kiválasszuk a különböző generációkba tartozó HER2-specifikus CAR T-sejtek azon kompozícióját, amelyben a lymphocyták ölképessége, expanziója és perzisztenciája optimális egyensúlyban van.

Először retrovirális transzdukción rendszerben előállított CD28, illetve 41BB kostimulációs alegységet kifejező második generációs HER2-specifikus CAR T-sejteket (aHER2.CD28.z, aHER2.41bb.z) hasonlítottunk össze kokultúra- és in vivo rechallenge kísérletekben. Megállapítottuk, hogy a CD28.z CAR gyorsabb és robosztusabb effektorválaszt indukál, amit jelentős citokinfelszabadulás, nagyfokú proliferációs aktivitás

és a gyorsabban felépülő in vivo citolitikus hatás jelez. Ugyanakkor, a gyógyult egerek újbóli xenotranszplantációját követően, a 41BB.z CAR T-sejtek hosszabb ideig tartanak fenn tumormentességet. Ezután megvizsgáltuk, hogy a két endodómén együttes jelenléte, egyfelől egy harmadik generációs CAR-ban (aHER2.CD28.41BB.z), másfelől a második generációs CAR T-sejt-készítmények 1 : 1 arányú szuszpenziójában (aHER2.CD28.z + a.HER2.41BB.z MIX) hogyan befolyásolja a citotoxicitást, illetve a CAR T-sejtek perzisztenciáját. A 41BB kostimulációs endodómén CD28.z CAR-ba illesztése nem fokozta annak tumorelles hatékonyságát, ráadásul a preklinikai rechallenge kísérletekben tovább rontotta a túlélést. Ugyanakkor a CD28.z és 41BB.z CAR T-sejt-készítmények 1 : 1 arányú keveréke megnövekedett proliferációs aktivitást mutatott, ami nemcsak gyorsabb citotoxikus hatást, hanem az újraoltást követően is hosszan fennmaradó tumormentességet eredményezett.

Eredményeinkből kiolvasható, hogy nem a különféle kostimulátor domének sejtben belüli, hanem sokkal inkább az azokat kifejező CAR T-sejtek együttműködése vezethet olyan sejterapeutikumokhoz, amelyek hatékonyan bevetethetők szolid tumorok ellen.

AZ ORÁLIS CANDIDIASIS SZÁJÜREGI LAPHÁMSEJTES KARCINÓMA PROGRESSZIÓJÁRA GYAKOROLT HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA

VADOVICS MÁTÉ¹, IGÁZ NÓRA², VERES ÉVA¹, SZÜCS BALÁZS¹, ALFÖLDI RÓBERT³, NAGY LAJOS³, PUSKÁS LÁSZLÓ³, KIRICSI MÓNKA², GÁCSE ATTILA^{1, 4}

¹Szegedi Tudományegyetem, Mikrobiológiai Tanszék

²Szegedi Tudományegyetem, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Tanszék

³Avidin Kutató, Fejlesztő és Kereskedelmi Kft.

⁴MTA Lendület „Mycobiome” Kutatócsoport, Szegedi Tudományegyetem

A szájüregi daganatok komoly egészségügyi kihívásokat okoznak világszerte. A WHO adatai szerint 2018-ban 350 000 új esetet regisztráltak, illetve hozzávetőleg 170 000 haláleset köthető valamilyen szájüreget érintő daganatos betegséghez. Az összes szájüregi daganat közül a szájüregi laphámsejtes karcinóma (OSCC) a leggyakoribb (90%). Az OSCC esetén gyakran orális candidiasis alakul ki a megváltozott immunológiai mikrokörnyezet és a tumorterápia következtében. Laboratóriumunk egy előzetes kutatása alapján megállapítható, hogy OSCC-vel diagnosztizált betegek szájüregében megnő a kolonizáló élesztőgombák száma és fajdiverzitása, dysbiosis állapota lép fel.

Kutatásunk során azt vizsgáljuk, hogy a szájban kialakuló dysbiosis, illetve az orális candidiasis hogyan befolyásolja a szájüregi laphámsejtes karcinóma progresszióját.

Vizsgálatainkhoz egy metasztatikus és egy nem metasztatikus OSCC sejtvonalat használtunk. Kísérleteink során vizsgáltuk a hőinaktivált és élő *Candida albicans*, illetve *Candida parapsilosis* hatását in vitro és in vivo modellrendszerekben.

Eredményeink alapján elmondható, hogy élő *Candida albicans* kezelés hatására szignifikánsan megnőtt a teljes mátrix metalloproteináz aktivitás, amely a tumorinvaszió egyik fő indikátora. *C. albicans* kezelés hatására szignifikánsan megemelkedett két onkogenetikus (aszpartát, szukcinát) mennyisége, amelyeknek bizonyítottan szerepük van az epithelialis-mesenchymalis tranzícióban. Transzkriptomikai vizsgálatok alapján OSCC-invaszióban szerepet játszó jelátviteli útvonalak aktiválódását detektáltuk, illetve olyan markergének expressziója emelkedett meg, amelyeknek fontos szerepük van az OSCC progressziójában. Munkánk során sikerült létrehozni egy in vivo egérmodellt, amely alkalmas az orális candidiasis OSCC-re gyakorolt hatásainak vizsgálatára. Ezt a modellt felhasználva kimutattuk, hogy orális candidiasis esetén megemelkedik a p63 sejtmagi fehérje expressziója, amely az OSCC-progresszió egy diagnosztikában használt markere.

Eddigi in vitro és in vivo eredményeink alapján elmondható, hogy a *C. albicans* jelenléte elősegíti az OSCC progresszióját.

KINURÉNSAV-ANALÓG IN VITRO IMMUNOLÓGIAI HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA RHEUMATOID ARTHRITISBEN

VARGA BORISZ¹, FÜLÖP FERENC², VÉCSEI LÁSZLÓ³, MÁNDI YVETTE⁴, BALOG ATTILA¹

¹Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Reumatológiai és Immunológiai Klinika

²Szegedi Tudományegyetem Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszerkémiai Intézet

³Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Neurológiai Klinika

⁴Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Mikrobiológiai és Immunbiológiai Intézet

Előzmények, hipotézis: A triptofánmetabolizmus során keletkező vegyületek szerepe már számos kórkép kapcsán felmerült. Ezek közül a kinureninek fontos szerepet játszanak az immunrendszer kommunikációjában. A kinurénsav (KYNA) gyulladásgátló hatású, ön maga és egyes analógjai is gátolják bizonyos gyulladásgátló mediátorok termelődését. Célkitűzés volt újabb potenciális terápiás hatású kinurénsav-analógok immunológiai szerepének és a gyulladásban szerepet játszó mediátorok felszabadulására gyakorolt hatásának vizsgálata RA-ban in vitro körülmények között, melyek közül a TNF α , TSG6 (TNF α -stimulated gene 6 protein), S100A12-es és S100A8/9 (kalprotektin) alarminok és humán neutrofil peptid 1-3 (HNP 1-3, α -defenzin) szinteket határoztak meg.

Alkalmazott módszerek: KYNA-analóg (SZR 72) hatását vizsgálták a TNF α , TSG6, α -defenzin és az S100A12 valamint a S100A8/9 alarminok termelésére in vitro RA-ban és egészséges kontrollokból. A perifériás vérmintákat hőkezelt *Staphylococcus aureus* (SA1) indukálták SZR 72 KYNA-analóg jelenlétében vagy a nélkül. A vizsgált mediátorok szintjét ELISA-módszerrel mérték és az eredményeket kétféleképpen T-próbával hasonlították össze.

Eredmények: A KYNA-analóg alkalmazása szignifikánsan csökkenti az SA1-indukált TNF α -termelést, ugyanakkor szignifikánsan növeli a TSG6-termelést RA-ban in vitro. A S100A12 és S100A8/9 alarminok és α -defenzin termelődése szintén szignifikánsan csökken SZR-72 KYNA-analóg jelenlétében RA-ban in vitro.

Következtetések: A KYNA-analóg a TNF α termelését és a TSG6 antiinflammatorikus kompenzáló mechanizmust egyaránt kedvezően befolyásolja, hatása terápiás potenciált jelenthet RA-ban. A TSG6 stimulálása fontos tényező lehet az aktivált IDO, illetve a KYNA antiinflammatorikus hatásában. Az alkalmazott KYNA-analóg szintén csökkenti az S100A12, S100A8/9 és α -defenzin termelését RA-ban, mely a KYNA-analóg kedvező hatását igazolja az RA patomechanizmusában több támadásponton is.

Pályázati támogatás: GINPO 2.3.2-2015-16-00034

EGÉSZSÉGES, FELNŐTT BŐRBŐL SZÁRMAZÓ MELANOCYTÁK DIFFERENCIÁCIÓS POTENCIÁLJÁNAK VIZSGÁLATA

VIDÁCS DÁNIEL LÁSZLÓ¹, VERÉB ZOLTÁN¹, BATA-CSÖRGŐ ZSUZSANNA^{1, 2, 3}

¹SZTE ÁOK Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika, Szeged

²HCEMM-SZTE Bőrgyógyászati Kutatócsoport, Szeged

³MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoport, Szeged

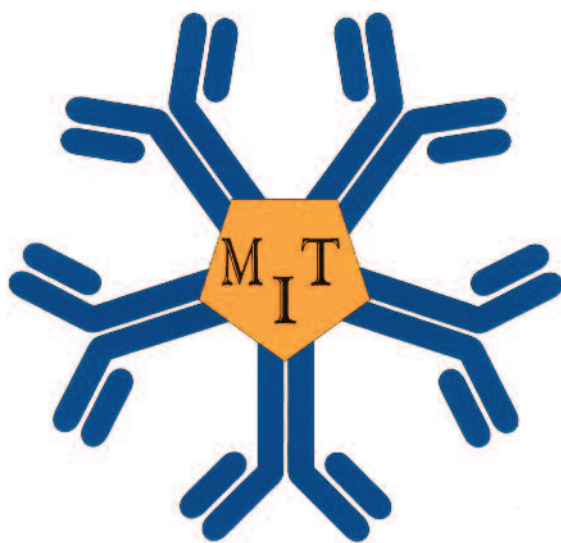
Előző munkánk során megfigyeltük, hogy felnőtt bőrből származó melanocyták koleratoxin és PMA-mentes tápban (Melmix) tenyésztve dedifferenciálódnak. A sejtek bipolárisá válnak, elvesztik pigmentációjukat és magas osztódási rátával szaporodnak. A sejtek TRP-1- és c-kit-kifejeződése megszűnik, egyúttal EGFR-t és nestint fejnek ki.

Jelen munkánkban áramláscitometria segítségével a dedifferenciált melanocyták 25 sejtfelszíni molekula kifejeződését és csont-, zsír- és porcszövet irányú differenciációs képességét vizsgáltuk, hogy tovább definiáljuk a sejtek összejtszerű tulajdonságait. Immunhisztokémiai módszerrel határoztuk meg az MITF és Sox-10 transzkripciós faktorok kifejeződését, valamint Western blot segítségével vizsgáltuk az EDA+/onkótális-fibronektin, illetve a fibronektin termelődését.

Azok a markerek, amelyek az összejtséket is jellemzik, magasabb arányban fejeződtek ki a dedifferenciáltatott melanocytákban (CD90 82,59% $\pm$ 6,62%, CD73 99,47% $\pm$ 0,20%, CD29 99,39% $\pm$ 0,17%, CD166 77,48% $\pm$ 6,50%, CD47 95,78% $\pm$ 1,86%), összehasonlítva az érett, pigmentet ter-

melő sejtekkel (CD90 $2,42\% \pm 0,64\%$, CD73 $63,87\% \pm 35,61\%$, CD29 $85,38\% \pm 17,06\%$, CD166 $54,46\% \pm 25,41\%$, CD47 $76,04\% \pm 30,02\%$). A melanocytákat sikeresen differenciáltattuk mindhárom szöveti irányba, Nile Red O festéssel erősítettünk meg az adipogenezist, Alizarin Red S festéssel az osteogenezist és Alcian kék-van Gieson festéssel a chondrogenezist. Ezek a sejtek nem fejezik ki az MITF és Sox-10 transzkripciós faktorokat. A Mel-mix-ben tenyésztett sejtek nagyobb mértékben termelték mind az EDA+/onkofötális-fibronectin-t, mind a fibronectint.

Eredményeink azt mutatják, hogy a melanocyták az általunk alkalmazott in vitro tenyésztés hatására pluripotens őssejteké dedifferenciálódnak. Ez a dedifferenciáció nagyon hasonlít a melanomasejtek esetén leírt dedifferenciációhoz, mely azt sugallja, hogy a folyamatot a melanocytákra jellemző környezeti hatások vezérlik, és feltehetően független a malignus transzformációtól.



POSZTEREK

AZ MTOR SZABÁLYOZÓ SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA HUMÁN PLAZMACITOID DENDRITIKUS SEJTEK RLR-MEDIÁLT ANTIVIRÁLIS IMMUNVÁLASZÁBAN

ÁGICS BEATRIX^{1,2}, FEKETE TÜNDE¹, PÁZMÁNDI KITTI¹

¹Debreceni Egyetem, Immunológiai Intézet, Debrecen

²Debreceni Egyetem, Molekuláris Sejt- és Immunbiológiai Doktori Iskola, Debrecen

Bevezetés: Vírusfertőzések során a plazmacitoid dendritikus sejtek (pDS) citoszolikus retinsav-indukálható gén I (RIG-I)-szerű receptoraik (RLR) révén érzékelik a replikálódó vírusokat, amelyek aktiválódása a pDS-ek késői antivirális választ indukálja. Munkánk során a mammalian target of rapamycin (mTOR) szabályozó szerepét tártuk fel a pDS-ek RLR-mediált antivirális immunválaszában.

Módszerek: A pDS-eket specifikus RLR-ligandokkal aktiváltuk különböző mTOR-inhibitorok jelenlétében, majd a szignalizációs útvonalak aktivitását western blottal, míg a pDS-ek által termelt citokineket ELISA-val vizsgáltuk. Az mTOR-gátolt pDS-ek T-sejt-aktiváló képességét CFSE-esszét és intracelluláris citokinfestést alkalmazva áramlási citometriával detektáltuk.

Eredmények: Az RLR-stimuláció fokozta a p70S6-kináz, illetve az Akt foszforilációját, mely az mTOR komplex (mTORC) 1 és mTORC2 aktiválódására utal. Ezen aktivitás az mTORC1-inhibitor rapamicin, valamint a duál mTORC1/C2-kináz inhibitor AZD8055 jelenlétében felfüggeszthető volt. Mindkét mTOR-inhibitor csökkentette az RLR-stimulált pDS-ek I-es típusú interferon és proinflammatorikus citokin termelését, mely a TBK1 foszforilációjának gátlásán keresztül valósult meg. Megállapítottuk továbbá, hogy míg a rapamicin képes gátolni az RLR-aktivált pDS-ek naiv T-sejt aktiváló képességét, addig a duál inhibitor, az AZD8055, nem.

Konklúzió: Elsőként igazoltuk az mTOR pozitív szabályozó szerepét a pDS-ek RLR-mediált antivirális válaszában. Kimutattuk továbbá, hogy csak az mTORC1 szelektív gátlása képes hatékonyan gátolni a pDS-ek T-sejt-aktiváló képességét, melynek fontos szerepe lehet az új generációs mTOR-inhibitorok DS terápiákban történő felhasználása terén.

Támogatás: A kutatás az NKFIH FK 128294 és GINOP-2.3.2-15-2016-00050 projektek, az MTA Bolyai János kutatási ösztöndíj és az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-20-5 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság programjának keretein belül valósult meg.

A REGULATÓRIKUS T-SEJTEK KEVÉSBÉ ÉRZÉKENYEK GLÜKOKORTIKOIDHORMON-INDUKÁLT APOPTÓZISRA, MINT A CD4+ T-SEJTEK

BALÁZS NOÉMI, LITVAI TÍMEA, NÉMETH PÉTER, BOLDIZSÁR FERENC, BERKI TÍMEA

Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet, Pécs

Korábbi vizsgálataink szerint a thymus regulatórikus T-sejtjei (tTreg) rezisztensek az *in vivo* glükokortikoidhormon-indukált apoptózisra, míg a DP timociták elpusztulnak a mitokondriális apoptotikus útvonal aktivációjával. Célunk a nagy dózisu dexametazon (DX) kezelés apoptózisindukáló hatásának összehasonlító vizsgálata volt egerthymus és -lép Treg- és CD4+ T-sejteken.

4-6 hetes Balb/c egerek thymusában és lépében CD4/CD8/CD25/Foxp3 jelölés után vizsgáltuk az apoptózis korai jeleit Annexin-V jelöléssel, valamint a kaszpáz-8, -9 és -3 aktivációját 0-6 órás, *in vitro* 10⁻⁶ M DX-kezelést követően. 21 apoptózisasszociált molekula expresszióját protein-array segítségével vizsgáltuk 4 órás DX- és CD3/CD28 kezelés után szeparált CD4+ és Treg-sejteken. A DX hatását a sejtek aktivációjára a Ca²⁺-szignál követésével végeztük Fluo-3AM jelöléssel.

Az apoptózis extrinszik és intrinszik útvonalának aktiválódása a DX-kezelés után 2 órával kezdődött, és háromszor nagyobb volt a CD4 SP timocitákban, mint CD4+ splenocitákban, míg Treg-sejteken csak az extrinszik útvonal enyhe aktivációja volt megfigyelhető. A Treg-sejteken a pro- és antiapoptotikus fehérjék magasabb expresszióját figyeltük meg, mint a CD4+ T-sejteken. DX-kezelés a legtöbb apoptotikus fehérje upregulációját indukálta mind Treg-, mind CD4+ T-sejteken, kivéve a Bcl-2 downregulációja a CD4+ T-sejteken. Treg-sejteken magas volt az alap citoszolikus Ca²⁺-szint, ami tovább fokozódott a DX-kezelés hatására. A TCR által indukált Ca²⁺-jel alacsonyabb volt a Treg-ekben, mint a CD4+ T-sejteken.

Eredményeink alapján a Treg-ek DX-indukált apoptózis-rezisztenciájának hátterében a magas alap Ca²⁺-szint és a Bcl-2 fehérje fokozott expressziója áll, míg a CD4+ T-sejtek apoptózisérzékenységét a Bcl-2-expresszió downregulációja okozhatja.

A VELESZÜLETETT IMMUNMEMÓRIA-FOLYAMATOK VIZSGÁLATA KERATINOCYTÁKBAN

BALOGH FANNI¹, ERDEI LILLA^{1, 2}, BOLLA BEÁTA SZILVIA^{1, 2},
BURIÁN KATALIN³, KEMÉNY LAJOS^{1, 2, 4}, SZABÓ KORNÉLIA^{1, 2, 4}

¹Szegedi Tudományegyetem, Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika, Szeged

²HCEMM-SZTE Skin Research Group, Szeged

³Szegedi Tudományegyetem, Klinikai Mikrobiológiai Intézet, Szeged

⁴MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoport, Szeged

A magasabb rendű szervezetek immunhomeosztázisának fenntartása a veleszületett és az adaptív immunrendszer összehangolt működésén alapszik. Korábbi ismereteink szerint csak az adaptív immunrendszer rendelkezik memóriával. Napjaink legújabb eredményei alapján azonban a veleszületett immunrendszernek is van memóriája, immunaktivációt követően a sejtek emlékeznek a korábbi immunaktivációt eredményező ágensekkel történő találkozásra. Immuntréning esetén az ismételt aktiváció fokozott immunválaszt, míg tolerancia kialakulása csökkent választ eredményez.

Munkánk célja annak vizsgálata, hogy veleszületett immunmemória- (VIM-) folyamatok kiválthatók-e immunkompetens epidermalis keratinocytákban. Emellett az egészséges bőrmikroflóra tagja, a *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) baktérium képes-e ilyen folyamatok indítására bőrsejtekben.

Kísérleteink során HaCaT és HPV-KER immortalizált, valamint normál humán epidermalis keratinocytákat (NHEK) kezeltünk *C. acnes* baktériummal (tréning), majd 5 napos pihentetés után ismételt aktiváció történt különféle immunaktiváló Toll-like receptor (TLR) ligandokkal (Pam3Csk4, Poly I:C és PGN, indukció). A veleszületett immunfolyamatok vizsgálata különféle gyulladásos target gének mRNS szintű detekciójával történt.

HPV-KER sejtekben mindhárom mikrobiális ligand esetében csökkent mértékű TNF α -mRNS-szinteket detektáltunk a mock indukált sejtekkel összehasonlítva, ami tolerancia jellegű folyamatok indulására utal. HaCaT és NHEK sejtekben azonban a Pam3Csk4-indukció emelkedett TNF α -mRNS-szintet eredményezett, ami immuntréning-folyamatok következménye lehet. További eredményeink alapján az indukált VIM-folyamatok mértéke függ a tréningfolyamatok idejétől és az aktiváló ágens dózisától.

Eredményeink alapján az immunkompetens epidermalis keratinocytákban is indulhatnak VIM-jellegű folyamatok, melynek kiváltására a bőrmikrobióta fontos tagja, a *C. acnes* baktérium is képes. A továbbiakban elemezzük, hogy ezek a folyamatok milyen szerepet játszanak a bőr mikrobiális flóra toleranciájában, és a cutan immunrendszer működésében, illetve végső soron a szervezet homeosztázisának fenntartásában.

A MARGINÁLIS ZÓNA B-SEJTEK CXCR3-EXPRESSZIÓJÁNAK VIZSGÁLATA

BARÁTKI BALÁZS¹, KÖVESDI DOROTTYA^{1, 2}

¹Eötvös Loránd Tudományegyetem, Immunológiai Tanszék, Budapest

²MTA-ELTE Komplement Kutatócsoport, Eötvös Loránd Tudományegyetem, Immunológiai Tanszék, Budapest

A marginális zóna (MZ) B-sejtek egerekben a lép marginális zónájában találhatóak, fő feladatuk a vérben keringő antigének felismerése. Klasszikus funkcióik mellett azonban egyre több irodalmi adat bizonyítja rendkívül fontos szerepüket az immunválasz szabályozásában, amelyben regulátor hatású citokinek, főként az IL-10 termelése révén vesznek részt. Korábbi vizsgálataink során megfigyeltük, hogy gyulladásos stimulus hatására az MZ B-sejtek intenzív IL-10-szekréciót mutatnak, ami együtt járt a CXCR3 kemokinreceptor megjelenésével. Megállapítottuk továbbá, hogy az MZ B-sejtek képesek CXCR3-függő módon vándorolni, ezért feltételezzük, hogy a gyulladt területekre migrálva fontos szerepük lehet az ízületekben zajló gyulladásos folyamatok IL-10-közvetített gátlásában.

Kísérleteink során célunk volt jellemezni az MZ B-sejtek gyulladásos stimulációt követő CXCR3-expressziójának szabályozását, valamint a receptor által indukált jelátviteli folyamatok hatását a sejtek IL-10-termelésére. Emellett arthritises (CIA) állatokból származó lépmetszeteken vizsgálni szeretnénk az MZ B-limfociták lépbeli lokalizációját, valamint CXCR3-expresszióját.

Kísérleteinkben az MZ B-sejteket, valamint a vizsgált szövetmetszeteket DBA/1 egértörzs egyedekének lépéből izoláltuk. Az *in vitro* gyulladásos mikrokörnyezet modellezésére a sejteket BCR, TLR9 és IFN- γ receptoraikon keresztül stimuláltuk. A limfociták aktivációját, IL-10-termelését, valamint CXCR3-expresszióját IL-10-specifikus ELISA, FACS, RT-qPCR, a lépmetszeteket pedig konfokális mikroszkóp segítségével vizsgáltuk.

Eredményeink azt mutatják, hogy az MZ B-sejtek gyulladásos stimulus hatására fokozzák a CXCR3 sejtfelszíni expresszióját és az IL-10 termelését. Ezekben a folyamatokban fontos szabályozó szerepe van a GSK3-molekulának és a CREB transzkripciósfaktornak. Az akut és remisszió fázisában lévő CIA állatok lépében kimutathatóak az aktivált állapotú MZ B-sejtek, amelyek sejtfelszíni sajátosságait még vizsgáljuk.

FUNCTION AND INTERACTING PARTNERS OF HEADCASE IN DROSOPHILA MELANOGASTER

BAYAN KHARRAT¹, ERIKA GÁBOR¹, RITA SINK², VIKTOR HONTI¹

¹Drosophila Blood Cell Differentiation Group, Institute of Genetics, Biological Research Centre, Szeged, Hungary

²Department of Genetics, Faculty of Science and Informatics, University of Szeged, Hungary

Headcase (Hdc) is a protein expressed in the lymph gland, a major hematopoietic organ in the *Drosophila melanogaster* larva. When *hdc* is silenced, special encapsulating blood cells, lamellocytes, appear in the circulation without immune induction, indicating that Hdc exerts an inhibitory role in the regulation of blood cell fate, possibly maintaining the progenitor state of HSCs. Although our previous data suggest that Hdc regulates the Hedgehog and the Decapentaplegic pathways, the functional domains of the protein are unknown. Since the human orthologue of Hdc, HECA, acts as a tumor suppressor in humans, describing the molecular function of Hdc may contribute to a better understanding of carcinogenesis. For this purpose, transgenic lines encoding different isoforms of Hdc were generated. We found that the short isoform rescues the lethality caused by the *hdc* mutation, however the rescued flies showed thorax closure deficiency. Silencing of *decapentaplegic* also results in a thorax closure phenotype, which suggests that Hdc interacts with DPP not only in the lymph gland, but also in the imaginal discs. Genetic and proteomic analysis of truncated forms of Hdc will help identify the functional domains and interacting partners of the protein.

Funding: this work was supported by the OTKA K-131484 (VH), GINOP-2.3.2-15-2016-00001 and GINOP-2.3.2-15-2016-00035 grants.

AZ NLRP3 INFLAMMASZÓMA SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA HUMÁN PLAZMACITOID DENDRITIKUS SEJTEK ANTIMIKROBIÁLIS AKTIVITÁSÁBAN

Bencze Dóra^{1, 2}, Fekete Tünde¹, Pázmándi Kitti¹

¹Debreceni Egyetem, Immunológiai Intézet, Debrecen

²Debreceni Egyetem, Molekuláris Sejt- és Immunbiológia Doktori Iskola, Debrecen

Bevezetés: A plazmacitoid dendritikus sejtek (pDS) professzionális I-es típusú interferontermelő sejtekként az antivirális immunválasz legfőbb koordinátorai. Ugyanakkor az antibakteriális immunitásban játszott szerepük még kevésbé feltárt, habár ismert, hogy a szepszis késői fázisában kialakuló immunszuppresszió alatt a pDS-eknek protektív szerepük lehet a másodlagos fertőzésekkel szemben. Mivel nincs adat

arról, hogy az antibakteriális immunitásban fontos szerepet játszó NLRP3 inflammaszóma szerepet játszhat-e a pDS-ek antimikrobiális válaszában, célunk az volt, hogy megvizsgáljuk az NLRP3 funkcionális aktivitását, illetve az általa közvetített antibakteriális válaszokat humán pDS-ekben.

Módszerek: Kísérleteink során a pDS-eket különböző baktériumokkal és vírusokkal kezeltük, majd vizsgáltuk az NLRP3 inflammaszóma komponenseinek expresszióját mRNS és protein szinten Q-PCR, illetve western blot módszerrel. A sejtek aktív IL-1 β szekrécióját specifikus NLRP3-aktivátorok és -inhibitorok jelenlétében is vizsgáltuk ELISA-módszerrel.

Eredmények: Kimutattuk, hogy a humán pDS-ek is kifejezik az NLRP3 inflammaszóma komponenseit, viszont a pro-IL-1 β termelődése nagymértékben függ a mikrobiális stimulus fajtájától. Megfigyeltük, hogy a patogén baktériumok nagyobb mértékben képesek kiváltani az NLRP3-aktivációt, ellentétben a kommenzális fajokkal. Patogén baktériumokkal történő kezelést követően nigericin hatására a sejtek érett, aktív IL-1 β -szekrécióra is képesek voltak, mely IL-1 β -szekréció az NLRP3 specifikus inhibitorának jelenlétében felfüggeszthető volt.

Konklúzió: Eredményeink rávilágítanak arra, hogy a pDS-ekben is funkcionál az NLRP3 útvonal, így erős antivirális aktivitásuk mellett a pDS-ek az NLRP3 inflammaszómafüggő, IL-1 β -mediált gyulladásos válaszok résztvevői is lehetnek.

Támogatás: A kutatás az NKFIH FK 128294 és GINOP-2.3.2-15-2016-00050 projektek, az MTA Bolyai János kutatási ösztöndíj és az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-20-5 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság programjának keretein belül valósult meg.

A CUTIBACTERIUM ACNES HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA A SEBGYÓGYULÁSI FOLYAMATOKRA IN VITRO TENYÉSZTETT KERATINOCYTÁKBAN

BOLLA BEÁTA SZILVIA^{1, 2}, ERDEI LILLA^{1, 2}, BALOGH FANNI¹, BURIÁN KATALIN³, KEMÉNY LAJOS^{1, 2, 4}, SZABÓ KORNÉLIA^{1, 2, 4}

¹Szegedi Tudományegyetem, Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika, Szeged

²HCEMM-SZTE Skin Research Group, Szeged

³Szegedi Tudományegyetem, Klinikai Mikrobiológiai Intézet, Szeged

⁴MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoport, Szeged

A szervezetünkkel szoros kapcsolatban élő mikrobák fontos szerepet játszanak szerveink és szervrendszereink egészséges szerkezetének és funkciójának kialakításában, fenntartásában. Jól ismert ez a tápcsatorna esetében, ahol a bél-mikrobióta szöveti sérülést követően aktívan hozzájárul az érintett területek regenerációjához. A bőr esetében is vannak arra utaló adatok, hogy a cutan mikrobióta tagjai is rendelkezhetnek hasonló sajátosságokkal, de erről még kevés adat áll a rendelkezésünkre.

Munkánk során ezért célul tűztük ki a bőrmikroflóra egy fontos tagjának, a *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) baktérium hatásának vizsgálatát a sebgyógyulás folyamataira in vitro modellrendszerek alkalmazásával.

Vizsgálataink során humán immortalizált keratinocita-sejtvonalat (HPV-KER) alkalmaztunk. Az elkészített konfluens kultúrákat magas, illetve alacsony [Ca^{2+}] tápoldatban tenyésztettünk, majd sebést követően különböző élő és hővel elölt (889 – IA, 6609 – IB) *C. acnes* baktériummal kezeltük eltérő keratinocita : baktérium arányokat alkalmazva (multiplicity of infection, MOI = 50, 100, 300). Vizsgáltuk még a *C. acnes* anyagcseretermékének, a propionsavnak a hatását is különböző dózisu (1; 5; 7,5; 10 mM) kezelést követően.

A magas [Ca^{2+}] tápoldatban növesztett kultúráknál a sebzárodás sebessége hasonló volt a kezeletlen kontroll és a *C. acnes* kezelt mintákban. Ezzel szemben, az alacsony [Ca^{2+}] tápoldatban tenyésztett kultúráknál a mesterséges sebek gyorsabban zárultak mind az élő, mind pedig hővel elölt baktérium jelenlétében. A sebzárodás sebessége függetlennek bizonyult az alkalmazott *C. acnes* dózistól, míg propionsav-kezelésre a sebek záródása dóziszfüggő módon csökkent a kezeletlen kontrollhoz viszonyítva.

Összegezve, a mesterségesen ejtett sebek gyorsabban záródnak a *C. acnes* baktérium jelenlétében az alacsony [Ca^{2+}] kultúrákban, így a baktérium szerepet játszhat a strukturálisan és funkcionálisan egészséges bőrszövet helyreállításában sérülést követően.

STRESSZFEHÉRJÉK A PIKKELYSÖMÖRÖS TÜNETMENTES BŐRSEJTEKBEN

BOZÓ RENÁTA^{1, 2}, DANIS JUDIT^{1, 3}, KEMÉNY LAJOS^{1, 2, 3},
BATA-CSÖRGŐ ZSUZSANNA^{1, 2, 3}

¹SZTE ÁOK Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika, Szeged

²HCEMM-SZTE Bőrgyógyászati Kutatócsoport, Szeged

³MTA-SZTE Dermatológiai Kutatócsoport, Szeged

Pikkelysömörben jól elkülönülnek a betegek tünetes és tünetmentes bőrtünetei. A betegek egészségesnek kinéző, tünetmentes bőre ugyan nem mutat makroszkóposan eltéréseket az egészséges bőrhoz viszonyítva, de a tünetmentes keratinocyták stresszhatásokkal és proliferatív szignálokkal szemben érzékenyebbek és magasabb szinten fejezik ki a stresszindukált PRINS (Psoriasis associated non-protein coding RNA induced by stress) nem kódoló RNS-t. Ezen irodalmi adatok alapján célul tűztük ki a sejtszorongófehérjék részletesebb vizsgálatát pikkelysömörös tünetmentes bőrben.

Teljes bőrbioptizákban sejtszorongófehérjék array technika alkalmazásával összehasonlítottuk az egészséges és a pikkelysömörös tünetmentes bőrben kifejeződő annotált sejtszorongófehérjék kifejeződését, majd elvégeztük a kapott eredmények bioinformatikai analízisét.

A vizsgált 26 sejtszorongófehérje közül 8 fehérje [(ciklo-oxygenáz-2 (COX-2), indolamin-2,3-dioxigenáz-1 (IDO), szuperoxid-dizmutáz-2 (SOD2), szérumbaoxonáz/arilészteráz-1 (PON1), szérumbaoxonáz/arilészteráz-3 (PON3), foszfo(Ser46)-p53 (p-p53), citokró-m-c (CYCS), ciklindependens kináz inhibitor 1B (p27/Kip1)] mutatott legalább kétszeres változást a tünetmentes bőrben az egészségeshez viszonyítva. Ezek közül a CYCS és a p27/Kip1 fehérjék szintje legalább kétszeresére emelkedett, a COX-2, IDO, SOD2, PON1, PON3 és p-p53 fehérjék szintje pedig legalább a felére csökkent a tünetmentes bőrben. A Reactome adatbázis segítségével végzett overrepresentációs analízis alapján az emelkedést mutató fehérjék csoportjában a Forkhead-box protein (FOXO) mediált sejtciklus gének transzkripciója, a csökkenést mutató fehérjék csoportjában pedig az interleukin-jelátvitel bizonyult a leginkább érintett útvonalnak.

A pikkelysömörös tünetmentes bőrben változást mutató sejtszorongófehérjék a FOXO-mediált sejtciklus gének transzkripciójának emelkedésére, így a sejtciklus blokkolására, valamint az interleukin-jelátvitel csökkenésére utalnak. Ezek az adatok arra engednek következtetni, hogy a tünetmentes bőrben a tünetmentes állapotot fenntartó, az egészségestől eltérő kompenzációs folyamat zajlik.

A KOSTIMULÁCIÓS DOMÉNEK MEGVÁLTOZTATJÁK A KIMÉRA ANTIGÉNRECEPTOROK SEJTFELSZÍNI SZERVEZŐDÉSÉT ÉS A RECEPTOROKAT KIFEJEZŐ T-SEJTEK AKTIVÁCIÓJÁT

CSAPLÁR MARIANNA¹, UJLAKY-NAGY LÁSZLÓ^{1, 2}, TÓTH CSABA TAMÁS¹,
SZŐÖR ÁRPÁD¹, VEREB GYÖRGY¹

Debreceni Egyetem, ÁOK ¹Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet,
²MTA-DE Sejtbiológiai és Jelátviteli Kutatócsoport, Debrecen

A kiméra antigénreceptorral (CAR) módosított T-sejtek forradalmasították a B-sejtes leukémiák terápiáját, ugyanakkor szolid szervi tumorok kezelésében az áttörés elmaradt. Az alap kutatás kiemelt feladata, hogy feltárja a klinikai vizsgálatokba bevonható CAR-konstruktok működésének molekuláris hátterét. Kísérleteinkben első (kostimulációs alegységet nem kifejező, NCS) és harmadik generációs (CD28 és 41BB kostimulációs alegységeket kifejező, Double) CAR T-sejteket vizsgáltuk a kostimulációs endodomének szerepét a CAR-ok szerveződésére és ennek összefüggését a citolitikus jelátvitel hatékonyságával.

A HER2-specifikus CAR T-sejteket retrovirális transzdukciós rendszerrel állítottuk elő. A receptorok oligomerizációját Western blot, membrándiffúzióját fluoreszcencia korrelációs spektroszkópia (FCS) segítségével vizsgáltuk. HER2-pozitív tumorsejteken az immunszinapszisok kialakulását és korai aktiválódást konfokális mikroszkópiával és digitális képanalízissel, a citotoxikus hatást impedanciáméréssel követtük.

Eredményeink szerint az NCS CAR-ok a membránban első-

sorban dimereket, míg a Double CAR-ok jellemzően magasabbrendű oligomereket képeznek. FCS-sel azonosítható egy gyorsan diffundáló membránkomponens, melynek időállandója a 10–25 ms tartományba esik, és valószínűleg megfelelhet a dimereknek. Mellette feloldható egy egész nagyságrenddel lassabb komponens is, mely valószínűleg különféle magasabb oligomereket takar. Ezek átlagos mobilitása nem különbözik lényegesen a két konstrukció esetén, viszont a gyors komponens mobilitása az NCS CAR esetén eddigi kísérleteink alapján gyorsabbnak tűnik, mint a Double CAR-é. Elképzelhető, hogy ez hozzájárul az NCS CAR gyorsabb és hatékonyabb korai immunszinapszis-képzéséhez, valamint ezekben a szinapszisokban a CD3 ζ fokozott foszforilációjához. Mind ezen eltérések a citotoxicitásban is megmutatkoztak, az NCS CAR T-sejtek gyorsabban és hatékonyabban ölték a HER2-pozitív célsejteket.

A továbbiakban az egyes domének önálló szerepét, valamint a megfigyelések hátterében álló molekuláris interakciókat kívánjuk megvizsgálni.

A TLR-ANALÓG (CD180) MEGVÁLTOZTATJA A B-SEJTEK AKTIVÁCIÓJÁT ÉS ELOSZLÁSÁT SZISZTÉMÁS SCLEROSISBAN

ERDŐ-BONYÁR SZABINA¹, RAPP JUDIT¹, GABRIELLA NAGY²,
TÜNDE MINIER², LÁSZLÓ CZIRJÁK², BERKI TÍMEA¹, SIMON DIÁNA¹

¹Pécsi Tudományegyetem, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet, Pécs

²Pécsi Tudományegyetem, Reumatológiai és Immunológiai Klinika, Pécs

A CD180 egy TLR-homológ membránprotein, mely elsősorban a B-sejteken és makrofágokon fejeződik ki, de természetes ligandja nem ismert. Megváltozott expressziója és funkciója kapcsolatba hozható számos autoimmun kórkép kialakulásával. Korábban kimutattuk, hogy szisztémás sclerosisos (SSc) betegekben csökkent a memória-B-sejtek [elsősorban a non-switched (NS) memória] aránya, ami a B-sejtek szerepet jelzi az SSc kialakulásában.

Célkitűzésünk volt a B-sejtek és memória-B-sejt alcsoportok CD180-expressziójának meghatározása SSc-s betegekben, továbbá annak vizsgálata, hogy a CD180-on keresztüli stimulációnak milyen hatása van a memória-B-sejt-alcsoportok megoszlására és aktivációjára.

SSc-s betegek és egészséges kontrollok perifériás B-sejteit mágneses gyöngy alapú negatív szelekcióval tisztítottuk, majd anti-CD180 antitesttel stimuláltuk. A CD180 expresszióját fehérje és mRNS szinten vizsgáltuk áramlási citometriával, illetve qPCR-rel. A CD27/IgD jelölés alapján azonosított memória-B-sejt-alcsoportok megoszlását és aktivációját (CD69, CD86) áramlási citométerrel vizsgáltuk.

SSc-s betegek perifériás vér B-sejtjein a CD180 csökkent expresszióját figyeltük meg fehérje és mRNS szinten is az

egészséges kontrollokhoz viszonyítva. Az SSc-s betegekben csökkent számban jelen levő NS memória-B-sejtek száma anti-CD180 antitest kezelés hatására további csökkenést mutatott. Anti-CD180-stimuláció hatására a switched (S) memória-B-sejteken megnövekedett az aktivációt jelző CD69- és CD86-pozitív sejtek aránya, míg NS B-sejtek esetében csak a CD69+ sejtek százaléka emelkedett, de az is kevésbé, mint az S B-sejteken.

Eredményeink szerint a CD180-on keresztüli stimuláció a memória-B-sejteken belül az S B-sejtek megemelkedett arányához és fokozott aktivációjához vezet SSc-ben, melynek szerepe lehet a B-sejtek diszfunkciójában és autoantitest-termelésben. A B-sejtek CD180-on keresztüli aktivációjának feltérképezése segítheti az SSc patogenezisének jobb megismerését és új terápiás célpontok kijelölését.

ECTOPIÁS NYIROKKAPILLÁRISOK MEGJELENÉSÉNEK SZERKEZETI ÉS CITOMETRIÁS VIZSGÁLATA NKX2-3-HIÁNYOS EGÉR LÉPBN

GÁBRIS FANNI¹, BERTA GERGELY², JAKUS ZOLTÁN PÉTER³,
BALOGH PÉTER¹

¹Pécsi Tudományegyetem, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet, Pécs

²Pécsi Tudományegyetem, Orvosi Biológiai Intézet és Központi Elektronmikroszkópos Laboratórium, Pécs

³Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet, Budapest

Bevezetés: Az Nkx 2-3 transzkripciós faktor fontos szerepet tölt be a lép fejlődésében. Hiányában lépatrófia figyelhető meg elsősorban a vörös pulpa érszerkezetét érintő eltérésekkel, valamint a nyirokendothelsejtekre jellemző LYVE-1-molekulát hordozó érkepletek megjelenésével. Korábbi eredményeink szerint ezek a képletek nem nyirokendothelsejteket (LEC) tartalmaznak. A jelen munka célja ezen sejtek eredetének tisztázása a LEC-specifikus prospero homeobox protein 1 (Prox1) transzkripciós faktor kifejeződésén keresztül.

Anyag és módszer: 2 hetes Prox1^{eGFP} Nkx2-3 KO és Prox1^{eGFP} Nkx2-3 heterozigóta (kontroll) egerek nyirokcsomóiból és lépéből liberáz/DNáz emésztéssel sejtszuspenziót készítettünk, amit gp38/CD31 elleni antitestekkel jelöltük. Anti-CD45 antitesttel és 7-AAD-val azonosítottuk a fehérvérsejteket és az elpusztult sejteket, majd áramlási citométerrel elemeztük. A lépéből 20 μ m vastag metszeteket készítettünk, melyeket konfokális mikroszkóppal elemeztünk.

Eredmények: Prox1^{eGFP} Nkx2-3 KO egér lépmetasztében az eGFP-pozitív sejtek kapillárisálózatok rajzolódott ki, ami a kontroll állatok lépében nem volt detektálható. Áramlási citometriával az Prox1^{eGFP} Nkx2-3 KO egér lépében a Prox1⁺sejtek CD31⁺/gp38⁺ pozitívak, ami a LEC-re jellemző fenotípus. A kontroll heterozigóta állatok lépében Prox1⁺ sejtek nem voltak jelen. A Prox1^{eGFP} Nkx2-3 KO és kontroll állatok nyirokcsomóiban a CD45⁺/Prox1⁺/CD31⁺/gp38⁺ fenotípu-

sú nyirokendothelsejtek áramlási citometriával kimutathatóak, gyakoriságuk jóval meghaladja az Nkx2-3 KO lépben kimutatható LEC-gyakoriságot.

Következtetés: Az Nkx2-3 transzkripciós faktor hiányában a lép szerkezetében az eddig ismert elváltozások mellett konfluáló kapillárhálózatot sikerült azonosítanunk, mely a Prox1-pozitivitás alapján nyirokérhálózatnak tudható be. Ezen nyirokerek funkcionalitásának vizsgálata további kutatások tárgyát képezi.

ANTI-CITRULLINÁLT PEPTID ANTITESTEK TNF α -SZEKRECIÓT KIVÁLTÓ HATÁSÁNAK ÉS GLIKÁNPROFILJÁNAK ÖSSZEHASONLÍTÁSA

Gyebrovski Balázs¹, Auer Felicia¹, Novozánszki Soma¹, Ács András², Rojkovich Bernadette³, Magyar Anna⁴, Hudecz Ferenc⁴, Vékey Károly², Sármay Gabriella¹

¹ELTE Immunológiai Tanszék, ²Természettudományi Kutatóközpont, Budapest

³Budai Irgalmasrendi Kórház, Reumatológiai osztály, Budapest

⁴MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport, Budapest

A szialsavkötő immunglobulin-szerű lektin (Siglec) molekula család legismertebb funkciója az immunsejtek jelátviteli folyamataira kifejtett szabályozó hatás, ami az immunreceptor tirozinalapú inhibíciós motívumukon (ITIM) keresztül valósul meg. A család egyik tagja, a Siglec-9 elsősorban monocytákon, neutrofil granulocytákon és dendritikus sejteken jelenik meg, jelentőségét kimutatták rheumatoid arthritisben (RA).

Az RA-ban szenvedő betegek 60–70%-ára jellemző a citrullinált fehérjéket/peptideket felismerő autoantitestek (ACPA) megjelenése, amelyek részt vesznek a gyulladásos folyamatok kiváltásában, ennek mechanizmusa azonban nem pontosan tisztázott. Ismert, hogy az ACPA és az egészségesekből való IgG glikoformái eltérnek, ami befolyásolhatja a molekula által kiváltott funkciókat.

Célunk az volt, hogy citrullintartalmú peptidek segítségével tisztított ACPA és egészségesekből izolált IgG-minták gyulladásos citokin szekréciót kiváltó hatását összehasonlítsuk a molekula glikozilációs profiljával.

Vizsgálatainkat U937 sejteken végeztük, az ACPA-t, illetve IgG-t tartalmazó immunkomplexeket fluoreszcensen jelölt anti-humán IgG F(ab)2 fragmentuma segítségével hoztuk létre, ezek kötődését áramlási citometriával vizsgáltuk, az immunkomplexek által kiváltott TNF α -szekréciót ELISA-val határoztuk meg.

Eredményeink azt mutatják, hogy az ACPA mintákban a szialsav- és galaktóztartalom szignifikánsan alacsonyabb az egészségesek IgG-mintáival összehasonlítva, míg a fukóz mennyiségében nem találtunk eltérést. Mind az ACPA, mind az IgG-komplexek hasonlóan kötődtek az U937 sejtek I. tí-

pusú aktiváló Fc γ receptoraihoz (Fc γ R I), ugyanakkor az RA-s betegek ACPA-komplexei szignifikánsan magasabb TNF α -szekréciót váltottak ki az IgG-komplexekkel összehasonlítva, ami az előbbieket jelentősebb gyulladásokká alakítja. Feltételezésünk szerint ennek hátterében a Siglec-9-cel való csökkent kölcsönhatás állhat.

Támogató: NKFIH (NK 104846 and K 119459 pályázatok).

A TKS4 SZEREPE A TUMORPROGRESSZIÓBAN

GYÖNGYÖSI ADRIENN¹, BOLDIZSÁR ESZTER¹, ÁGICS BEATRIX¹, KÁLLAI JUDIT², TÓTH GÁBOR³, VEREB GÖRGY³, LÁNYI ÁRPÁD¹

¹Debreceni Egyetem, Immunológiai Intézet, Debrecen

²MTA-DE Sejtbiológiai és Jelátvitel Kutatócsoport, Debrecen

³Debreceni Egyetem, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen

A Tks4-fehérje esszenciális a funkcionális podoszómák/lamellipódiumok kialakulásához, így a sejtek migrációjának szabályozásán keresztül fontos szerepet játszik a kései tumorprogresszióban. Kevés ismerettel rendelkezünk ugyanakkor a fehérje korai tumorigenezisben betöltött szerepére vonatkozóan. Munkánk során primer tumorokban vizsgáljuk a Tks4-fehérje funkcióit és célkitűzéseink között szerepel a protein működési mechanizmusainak molekuláris szintű megértése.

A fehérje primer tumorok növekedésére gyakorolt hatásának vizsgálatára első lépésként Tks4-hiányos A2058 melanomavonalakat hoztunk létre és a primer tumorok növekedését SCID-modellben vizsgáltuk. Eredményeink szerint a Tks4-hiányos melanomasejtekből a vad típusú sejtekkel összehasonlítva kisebb méretű tumorok fejlődnek. Feltételezésünk szerint a Tks4 hiányában tapasztalható csökkent tumornövekedésért a sejtek csökkent proliferációs képessége tehető felelőssé, amit in vitro proliferációs assay segítségével igazoltunk. Eredményeink azt mutatják, hogy ennek hátterében – legalább részben – a PDK-1/Akt/mTOR jelátviteli út állhat. Tks4-hiányos sejtvonalakban az Akt/mTOR szignalizációs kaskád csökkent aktivitást mutat, mellyel összhangban a sejtek mitokondriális aktivitása fokozódik és a metabolikus egyensúly az aerob respiráció felé tolódik el.

A tumorprogresszió során a tumor és a tumorasszociált stroma (TAS) funkcionális egységet alkot. A növekvő tumor által termelt faktorok elősegítik egy, a tumor növekedését elősegítő mikrokörnyezet kialakulását. A progresszió egy fontos mérföldköve a tumor tápanyagellátását biztosító erek kialakulása, így a tumorok és a TAS sejtei angiogenezist serkentő faktorokat bocsátanak a környezetbe. Eredményeink szerint a Tks4 hiányában fejlődő tumorok csökkent vaszkularizációt mutatnak.

Eredményeink arra engednek következtetni, hogy a Tks4 mind a tumorsejtek metabolizmusának szabályozása, mind az angiogenezis serkentése révén segíti a tumorok fejlődését.

A PARLAGFŰPOLLEN FOKOZZA AZ INTRACELLULÁRIS KALCIUMSZINTET ÉS ROS-FÜGGETLEN MÓDON INDUKÁL IL-8-TERMELÉST BRONCHIALIS HÁMSEJTEKBE

HAJAS GYÖRGY, BÁCSI ATTILA

Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Immunológiai Intézet, Debrecen

Bevezetés: Egyes becslések szerint a parlagfű- (*Ambrosia artemisiifolia*) pollenre érzékeny egyének száma Európában több mint duplájára (33 millióról 77 millióra) fog emelkedni a következő 30-40 évben. Annak ellenére, hogy az allergiás tünetek kialakulásának mechanizmusa viszonylag jól ismert, nagyon keveset tudunk arról, hogy mi történik a hámsejtekben a pollenexpozíciót követően. Korábbi kísérleteinkben kimutattuk, hogy a hidratálódott parlagfűpollenszemek NAD(P)H-oxidázuk révén reaktív oxigénradikálok termelésére képesek, ezért oxidatív stresszt indukálnak a légutak vagy a kötőhártya sejtjeiben. Más munkacsoportok eredményei szerint állateredetű allergénnel történő kezelés hatására megemelkedik az intracelluláris Ca^{2+} -szint a légúti hámsejtekben.

Célkitűzés: Jelen kísérleteinkben arra voltunk kíváncsiak, hogy az intakt pollenszemeknek milyen hatása van a Ca^{2+} -jelátvitelre humán bronchialis hámsejtekben (BEAS-2B), valamint hogy a pollenkezelés kiváltja-e IL-8 termelődését ezekben a sejtekben. Azt is megvizsgáltuk, hogy a reaktív oxigén-származékoknak (ROS) van-e szerepe a pollen által kiváltott kemokintermelésben.

Módszerek: Az intracelluláris Ca^{2+} -szintek megváltozását Fluo4-AM festék felhasználásával, fluoreszcens mikroszkóp segítségével detektáltuk. A hámsejtek által termelt IL-8 mennyiségét ELISA módszerrel határoztuk meg.

Eredmények: Megfigyeléseink szerint a közvetlen kapcsolat a pollenszemekkel gyors Ca^{2+} -szint-növekedést indukált a BEAS-2B sejtekben. A pollenkezelés szignifikánsan fokozta a BEAS-2B sejtek IL-8-termelését. Az IL-8-termelés független volt a reaktív oxigénradikáloktól, ugyanis a hőkezelt pollenszemek (NAD(P)H-oxidázuk inaktivált állapotban van) is kiváltották az IL-8-termelődést, és a kemokin koncentrációjának megemelkedése kimutatható volt antioxidáns (N-acetil-cisztein) kezelt sejtekben is.

Következtetés: Eredményeink szerint a parlagfűpollenszemek komplex mechanizmus révén képesek megváltoztatni a hámsejtek működését, és indukálni a gyulladásos sejtek toborzását.

Támogatók: NKFIH K 125337 és GINOP-2.3.2-15-2016-00050 számú projektek.

AUTOIMMUN ENCEPHALITIS ÉS PARANEOPLASIAS NEUROLÓGIAI SZINDRÓMA PATOMECHANIZMUSÁNAK ÉS LABORATÓRIUMI DIAGNOSZTIKÁJÁNAK ÖSSZEHASONLÍTÓ ELEMZÉSE

HAYDEN ZSÓFIA BÖRÖCZ KATALIN, CSIZMADIA ZSUZSANNA, KELLERMAYER ZOLTÁN, BALOGH PÉTER, BERKI TÍMEA

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Klinikai Központ, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet, Pécs

Bevezetés: Az autoimmun encephalitisek (AE) esetén az autoantitestek sejt felszíni és szinaptikus proteinek (NMDAR, LGI1, Caspr2, GABABR, AMPAR1, AMPAR2) ellen képződnek. Ezzel szemben, a paraneoplasias neurológiai szindrómák (PNS) hátterében az intracelluláris antigénnel (Ma2, Yo, CV2, Hu, amfifizin, Ri, Tr, GAD65, Zic4, titin, SOX1, recoverin) keresztreagáló autoantitestek állnak, amelyek változatos neurológiai tünetek kialakulásához vezetnek. A hasonló tünettan ellenére a különböző patomechanizmusból adódóan az érintett betegek prognózisa és kezelése eltér.

Anyag és módszer: Jelenlegi egycentrumos, 8 évre kiterjedő retrospektív statisztikai vizsgálatunk során 1034 AE- és 2362 PNS-gyanús beteg szérum- és liquor mintáinak laboratóriumi teszt eredményeit értékeltük. Az autoantitestek kimutatása céljából AE esetén sejtalapú indirekt immunfluoreszcens assay-t, PNS esetén line-immunoblot assay-t alkalmaztunk.

Eredmények: Vizsgálatunk során az AE-gyanús betegek 5,8%-ában találtunk autoantitestet az alábbi megoszlással: anti-NMDAR > anti-LGI1 > anti-GABABR > anti-Caspr2. Az anti-NMDAR ellenanyagokat elsősorban fiatal nőkben, az anti-LGI1 antitesteket középkorú férfiakban, az anti-GABABR autoantitestet idősebb férfiakban és az anti-Caspr2 ellenanyagokat felnőtt férfiakban mutattuk ki. A PNS-gyanús betegek 10,4%-ában találtunk autoantitestet az alábbi megoszlással: anti-Yo > anti-Hu > anti-Ma2 > anti-CV2 > anti-titin > anti-Zic4 > anti-amfifizin > anti-Ri > anti-GAD65 > anti-Sox1 > anti-recoverin. Leggyakrabban idősebb nőkben találtunk pozitívítást az ellenanyagokra.

Következtetések: Az általunk kapott eredmények nagyfokú hasonlóságot mutattak a szakirodalmi adatokkal az autoantitestek előfordulási gyakoriságát, illetve nem és életkor szerinti megoszlását illetően egyaránt. AE és PNS esetén az autoantitestek kimutatása elengedhetetlen részét képezi a diagnózis felállításának. A laboratóriumunkban alkalmazott modern diagnosztikai módszerek lehetővé teszik a kezelés korai bevezetését az érintett betegek esetén.

A LANGERHANS-SEJTEK SZEREPE A NEUROIMMUN KOMMUNIKÁCIÓBAN

HORVÁTH DOROTTYA^{1, 2}, PÉNZES ZSÓFIA^{1, 2}, SHAHRZAD ALIMOHAMMADI^{1, 2}, SZÖLLŐSI ATTILA GÁBOR¹¹Debreceni Egyetem, Immunológiai Intézet, Debrecen²Debreceni Egyetem, Molekuláris Orvostudomány Doktori Iskola, Debrecen

Az immunrendszer és az idegrendszer közötti kommunikáció elengedhetetlen a szervezetben lévő homeosztázis fenntartásához. Ez a szoros kapcsolat megfigyelhető az olyan gyulladásos bőrbetegségeknél mint az atópiás dermatitis és a psoriasis. E betegségek lefolyására jelentős hatásuk van az érzőneuronok által termelt faktoroknak, pl. neuropeptideknek. Ezt igazolja a megfigyelés, amely során gyulladásos bőrbetegségeknél neurológiai deficit következtében az érzéki eséses területeknél a betegség laesioi visszahúzódtak. A neuropeptidek kulcsszerepet játszanak a bőr immunitásának fenntartásában, a gyulladásos folyamatokban. A gyulladásos dermatitis kialakulása sok esetben függ a bőrben található antigénprezentáló sejtektől, amelyek elsősorban az immunválasz elindításáért felelnek, de szerepük van a tolerancia kialakításában is. Ezek közé a sejtek közé tartoznak a Langerhans-sejtek, amelyek anatómiailag közel helyezkednek el a bőr immunitásában részt vevő CGRP-t termelő neuronokhoz.

Az eddigi közlemények azt mutatják, hogy CGRP-kezelés hatására a LC-k által aktivált egér-T-helper-sejtek Th2 fenotípus irányába mozdultak el, az IL-4 citokin termelése megnövekedett, miközben a Th1 típusú citokin, az IFN γ koncentrációja lecsökkent. Ezek az eredmények egérmodellekben figyelhetők meg, ezért elhatároztuk a humán monocytaredetű LC-ken való tesztelését.

A fentiek alapján munkacsoportunk célja a bőrben lévő neuronok és LC-k közötti kommunikáció feltárása.

Első lépésként az öt donorból származó RNS szekvenálási adatainkat használtuk fel, melyek monocytaredetű Lck-ből származtak és a következő neuropeptidreceptor gének expresszióját detektáltuk: CGRP-receptor (CALCRL) és -koreceptor (RAMP1), neurotensinreceptor (SORT1) és a BNP-receptor (NPR1). Ezeket az eredményeket q-PCR-rel és Western blotlalt tervezzük ellenőrizni, majd a neuropeptidek az LC-k differenciációjára, illetve maturációjára történő hatását vizsgáltuk áramlási citometriával.

A CR2 (CD21) EMBERI B-SEJTEK BCR-INDUKÁLT FUNKCIÓINAK SZABÁLYOZÁSÁBAN BETÖLTÖTT SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA

KOVÁCS KRISTÓF GYÖRGY¹, MÁCSIK-VALENT BERNADETT², BAJTAY ZSUZSA^{1, 2}, ERDEI ANNA^{1, 2}¹Eötvös Loránd Tudományegyetem, Immunológiai Tanszék, Budapest²Eötvös Loránd Tudományegyetem, MTA-ELTE Immunológiai Kutatócsoport, Budapest

Bevezetés: Általánosan elfogadott, hogy a 2-es típusú komplementreceptor (CR2, CD21) a B-lymphocyták aktiváló koreceptora, annak ellenére, hogy kizárólag egérrendszerben bizonyították az antitesttermelés fokozódását a CR2 B-sejt recepttorral (BCR) történő keresztkötését követően (Dempsey, 1996.), emberben nem. Továbbá, míg az egér CR1 (CD35) C-terminális szakasza teljesen és ezáltal a koreceptor szerepe is nagyban megegyezik a CR2-vel, az emberi CR1-ről bebizonyosodott, hogy a B-sejtek számos funkcióját – többek között a proliferációt és az antitesttermelést is – gátolja (Józsi, 2002.; Kremlitzka, 2012.; Kremlitzka, 2016.; Mácsik-Valent, 2019). Ezért a „tankönyvi dogma”, mely szerint az antigénkötött C3-fragmentumok – a CR1 és CR2 ligandumai – molekuláris adjuvánsként viselkednek, nem általánosítható egérről emberre.

Módszerek: Funkcionális vizsgálataink során gyermekmandulákból izolált, nyugvó B-sejtek membránjában lévő BCR-t és CR2-t keresztkötöttük streptavidinnel összekapcsolt, növekvő koncentrációkban alkalmazott, biotinilált anti-humán IgG/A/M F(ab')₂ és biotinilált C3d molekulák révén (Buhlmann, 2016). Tanulmányoztuk a BCR-CR2 keresztkötés Fluo-4 AM-mel töltött B-sejtek Ca²⁺-válaszára, illetve a B-sejtek egy korai aktivációs markerének (CD69) expressziójára gyakorolt hatását.

Eredmények és következtetés: Az önmagában Ca²⁺-választ be nem indító, szuboptimális anti-IgG/A/M stimulus C3d-vel keresztkötve fokozott Ca²⁺-választ eredményez, viszont optimális stimulus esetén a BCR-CR2 keresztkötés nincs további hatással a Ca²⁺-válaszra. A szakirodalommal összhangban ez igazolja, hogy szuboptimális BCR-stimulus esetén a BCR-CR2 keresztkötés a B-sejt-funkciók megváltozásához vezető jelátviteli útvonalak beindulását eredményezi.

A C3d szignifikáns és dóziszfüggő gátló hatást gyakorol a BCR-indukált CD69-expresszióra. A CR2 által közvetített gátló hatás mértéke alacsony BCR-stimulus esetén a legerőteljesebb, a BCR-dózis nagyságával reverz összefüggést mutat. Tervezzük a BCR-CR2 keresztkötés további B-sejt-funkciókra gyakorolt hatásának tanulmányozását.

A CR3 ÉS CR4 KOMPLEMENTRECEPTOROK SZEREPE MYELOID SEJTEK MIGRÁCIÓJÁBAN

LUKÁCSI SZILVIA¹, BALAZSIN VIKT², ERDEI ANNA^{1, 2}, BAJTAY ZSUZSA^{1, 2}

¹ELTE, MTA-ELTE Immunológiai Kutatócsoport, Budapest

²ELTE, Immunológiai Tanszék, Budapest

A leukocytaspecifikus β_2 -integrinek családjába tartozó CR3 (CD11b/CD18) és CR4 (CD11c/CD18) fontos szerepet tölt be az immunsejtek adherenciájában, migrációjában és az opsonizált részecskék fagocitózisában. Nagyfokú szerkezeti hasonlóságuk és átfedő ligandumspecifitásuk miatt a két receptornak sokáig azonos szerepet tulajdonítottak, kutatócsoportunk azonban funkcionális különbségeket mutatott ki közöttük humán monocytáeredetű makrofágokon (MDM) és dendritikus sejteken (MDDC). Míg az iC3b-vel opsonizált *Staphylococcus* fagocitózisában a CR3 játssza a domináns szerepet, addig a fibrinogénhez való adherenciában a CR4 bizonyult fontosabbnak.

Jelenlegi kutatásunk célja a CR3 és CR4 migrációban betöltött szerepének felderítése és a sejtmotilitáshoz elengedhetetlen receptorátrendeződés vizsgálata. Az integrinekről ugyanis leírták, hogy gyors reciklizációra képesek, ennek útvonala azonban a β_2 -család esetében még nem ismert. A receptorok mozgását áramlási citometria segítségével, először a monoklonális mAb24 ellenanyaggal követtük nyomon, mely egy aktivációs epitópot ismer fel a magas affinitású β_2 -lánc feji régiójában. Mivel a β_2 -lánc az LFA-1 (CD11a/CD18) molekulában is megtalálható, ezért a későbbiekben a CR3 és CR4 mellett ennek a receptornak az internalizációját is vizsgáltuk. Eredményeink bizonyítják, hogy a CR3 és a CR4 receptorokra is jellemző a gyors aktiváció és a folyamatos reciklizáció, melyet a bakteriális lipopoliszacharid (LPS) stimulus szignifikánsan fokoz. Ezzel ellentétben az LFA-1-molekula sejtfelszíni mennyisége változatlan maradt, melyet az LPS jelenléte sem befolyásol. A migráció vizsgálatára transwell esszét használtunk, mellyel kimutattuk, hogy a CR3 és a CR4 is fontos ehhez a funkcióhoz.

A transzmigrációban való részvétel és a gyors reciklizáció alátámasztja a receptorok jelentőségét a leukocyták mozgásában. Ezért fontosnak tartjuk továbbvizsgálni az internalizáció vezikuláris útvonalaival és az intracelluláris receptorok újbóli kikerülésének, valamint lehetséges lebontásának mechanizmusát.

KONVERGENS EVOLÚCIÓ A VELESZÜLETETT IMMUNITÁSBAN; A SOKMAGVÚ ÓRIÁSSZÉJTEK

MAGYAR LILLA BRIGITTA¹, CINEGE GYÖNGYI¹, KOVÁCS ATTILA LAJOS², LERNER ZITA¹, JUHÁSZ GÁBOR², LUKACSOVICH TAMÁS³, LUKACSOVICH DAVID³, WINTERER JOCHEN³, FÖLDY CSABA³, HEGEDŰS ZOLTÁN⁴, KURUCZ ÉVA¹, ANDÓ ISTVÁN¹

¹Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Genetikai Intézet, Immunológiai Témacsoport

²Eötvös Loránd Tudományegyetem, Anatómiai, Sejt- és Fejlődésbíológiai Tanszék, Budapest

³Laboratory of Neural Connectivity, Brain Research Institute, University of Zürich, Switzerland

⁴Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Központi Laboratóriumok, Bioinformatikai Csoport

Laboratóriumunkban egy új véresejtípust, gerinces szervezetek makrofágokból differenciálódó óriássejtjeihez hasonló immunsejtet, a fagocitasejtekből differenciálódó sokmagvú óriás véresejtet azonosítottunk olyan *Drosophila* fajokban, amelyek sokkal hatékonyabban képesek védekezni a parazitoidokkal szemben, mint a legtöbb *Drosophila* faj, beleértve a lamellocitákkal védekező, általános modellszervezetként alkalmazott *D. melanogaster*-t. Az óriás véresejt morfológiai jellemzői a rendkívül gyors sejttömegnövekedés és alakváltoztatás, valamint a kiemelkedően aktív sejtmozgás, melyek kapcsolatban lehetnek a hatékony védekezéssel. Ezeknek a folyamatoknak a biológiai hátterét egysejtes összehasonlító transzkriptomanalízissel és ezzel párhuzamosan, immunoelektronmikroszkópos módszerrel vizsgáltuk.

Transzkriptomadatainkból kiderült, hogy a fagocitózisért felelős plazmatocitákkal szemben az óriás véresejtben nagyobb számban íródnak át inzulinreceptorok, melyek a meg-növekedett mennyiségű tápanyagszükségletet biztosíthatják. Elektronmikroszkópos vizsgálataink során viszonylag kevés mitokondrium jelenlétét tapasztaltuk a sejtek citoplazmájában, így energiaszükségletük valószínűleg az oxidatív foszforiláció helyett, a rákos sejtekhez hasonlóan, aerob glikolízissel biztosított.

A sokmagvú óriás véresejt struktúrája egyedi, szivacsos szerkezetet mutat, komplex membránrendszerrel és nagy mennyiségű vezikulával. A transzkriptomelemzés során kapott nagyszámú vezikulatranszporttal kapcsolatos gén azt sugallja, hogy a vezikuláknak fontos szerepük lehet a sejt működésében. Lysotrackerrel végzett vizsgálataink során azt tapasztaltuk, hogy a vezikulák savas természetűek és a reakció idődinamikája alapvetően különbözik a plazmatociták vezikulái által adott reakciótól. Továbbá az óriás véresejt plazmamembránjának felületéről nagyszámú mikrovezikula válik le, melyeknek fontos szerepe lehet a parazitoid darazsak elleni védekezésben.

A munka az NKFI K128762 (GC), NKFI NN118207 (IA),

NKFI K120142 (IA), GINOP-2.3.2-15-2016-00035 (KÉ) kutatási pályázatok, a BO/00552/20/8 Bolyai János Kutatási Ösztöndíj (GC), valamint a Biológiai Doktori Iskola, Természettudományi és Informatikai Kar, Szegedi Tudományegyetem (MLB) támogatásával készült.

B-FAKTOR- ÉS H-FAKTOR-ELLENES AUTOANTITESTEK MEMBRANOPROLIFERATIV GLOMERULONEPHRITISBEN

MATOLA ALEXANDRA TÜNDE¹, CSUKA DOROTTYA³, JÓZSI MIHÁLY^{1,2}, SZILÁGYI ÁGNES³, PROHÁSZKA ZOLTÁN³, UZONYI BARBARA^{1,2}

¹Eötvös Loránd Tudományegyetem, Immunológiai Tanszék, Budapest

²MTA-ELTE Komplement Kutatócsoport, Eötvös Loránd Tudományegyetem Immunológiai Tanszék, Budapest

³Semmelweis Egyetem, III. Sz. Belgyógyászati Klinika, Budapest

A membranoproliferatív glomerulonefritis (MPGN) krónikus vesebetegség, ami elsősorban a glomerulusokat érinti. Legtöbbször az immunrendszer hibás működése okozza a patológias folyamatokat, melyek következtében veseelégtelenség is kialakulhat. Az immunkomplexek által okozott MPGN (IC-MPGN) esetében megfigyelhetők a glomerulusok mesangialis és subepithelialis részében megjelenő C3-IgG-depozitok, melyek a komplementrendszert aktiválva gyulladást és szöveti károsodást okoznak a betegekben. Számos esetben kimutatták, hogy a fokozott komplementaktivációban szerepet játszanak a komplementkomponensek, komplementszabályozó fehérjék ellen képződő autoantitestek is (pl. nefritikus faktorok, H-faktor-ellenes antitestek). Kísérleteinkben egy IC-MPGN-es betegben vizsgáltuk autoantitestek jelenlétét és szerepét, akinél csökkent C3-, megnövekedett sC5b-9-szint és az alternatív (AP%), valamint a klasszikus út (CH50) aktivitásának csökkenése volt kimutatható.

Az autoantitesteket, azok kötőhelyét, izotípusát és titerét ELISA-esszéekben határoztuk meg. Az antitest-antigén komplexeket a beteg szérumból Western blot módszerrel mutattuk ki. IgG-izolálást követően szilárd fázisú C3-konvertáz esszéiben, valamint hemolízis esszéiben vizsgáltuk az auto-antitesteket.

A vizsgált betegben H-faktor- és B-faktor-ellenes autoantitesteket detektáltunk. A H-faktor-ellenes antitestek izotípusa IgG2, IgG3, IgG4 és IgGκ, IgGλ. Az antitestek a H-faktor N- és C-terminálisához is kötődnek, valamint keresztreakálnak a H-faktor molekulacsalád egy másik tagjával, az FHR1-gyel. A B-faktor-ellenes antitestek IgG2, IgG3 és IgGκ, IgGλ izotípusúak, a kötőhely a B-faktor Ba részén található.

Az izolált IgG funkcionális vizsgálatokban az alternatív út C3-konvertázának felépülését gátolta, a konvertáz lebomlását gyorsította, nyúlóvörösvértestek hemolízisét dóziszfüggően gátolta. Mindkét autoantitest esetében kimutatható a ligandumával képzett komplex a szérumban.

Az azonosított H- és B-faktor-ellenes autoantitestek pontos funkciójának, valamint az MPGN patológiás folyamataiban betöltött szerepének tisztázásához további vizsgálatok szükségesek.

INVESTIGATION OF PD-1 AND PD-L1 IMMUNE-CHECKPOINT MOLECULES THROUGHOUT HEALTHY HUMAN PREGNANCY AND IN NON-PREGNANT WOMEN

MATYAS MEGGYES^{1,2}, DAVID U. NAGY³, BRIGITTA SZIGETI¹, LASZLO SZEREDAY^{1,2}

¹University of Pécs, Medical School, Department of Medical Microbiology and Immunology

²University of Pécs Szentágotthai Research Centre

³University of Pécs, Medical Centre, Cochrane Hungary

Numerous studies investigated the importance of the PD-1 and PD-L1 immune checkpoint molecules related to healthy- or pathological pregnancies, at the same time limited information is available about the expression pattern of these molecules in the periphery during human pregnancy. 13 healthy women were involved from the 1st, 10 from the 2nd, and 12 from the 3rd trimester of pregnancy. As a control group 10 healthy, age-matched non-pregnant women were enrolled in our study. Mononuclear cells were separated from peripheral blood and stored at -80°C. Surface and intracellular staining were performed from freshly thawed samples using flow cytometry. CD107a degranulation assay was used to evaluate the cytotoxic activity. Significant differences were observed in PD-1 expression by CD8+T cells and in PD-L1 expression by CD8+T, CD4+T, and Treg cells. In 2nd trimester of pregnancy, we revealed an interesting relationship between the PD-1 and PD-L1 expression by the investigated immune cell subsets. Different expression pattern of an activation receptor NKG2D by the PD-1+ CD8+T cells was observed during pregnancy. Further relationship was determined in cytotoxic activity between the PD-1+ and NKG2D+ CD8+T cell populations in investigated subpopulations. The different expression levels of the PD-1 receptor and the relationship with NKG2D expression may contribute to the dynamic changes of the Th1 and Th2 predominance throughout the three trimesters of a healthy pregnancy.

This work was supported by grants from the National Research, Development and Innovation Office (NKFIH K119529), the János Bolyai Research Scholarship of the Hungarian Academy of Sciences, and PTE ÁOK-KA-2018/07.

AZ AKTIVÁLT EMBERI MEMÓRIA-B-SEJTEKEN MEGJELENŐ CR4 RÉSZT VESZ A SEJTEK ADHÉZIÓJÁBAN, MIGRÁCIÓJÁBAN ÉS PROLIFERÁCIÓJÁBAN

NAGY-BALÓ ZSUZSA^{1, 3}, KISS RICHÁRD², MENGE ALINA¹, BÖDÖR CSABA², BAJTAY ZSUZSA^{1, 3}, ERDEI ANNA^{1, 3}

¹Eötvös Loránd Tudományegyetem, Immunológiai Tanszék, Budapest

²Semmelweis Egyetem, I. Sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, MTA-SE Momentum Molekuláris Onkohematológia Kutatócsoport, Budapest

³Eötvös Loránd Tudományegyetem, MTA-ELTE Immunológiai Kutatócsoport, Budapest

Régóta ismert, hogy a myeloid sejteken kifejeződő CR3 (CD11b/CD18) és CR4 (CD11c/CD18) komplementreceptorok részt vesznek a sejtek fagocitózisában, adhézijában és migrációjában. Emberi B-sejteken betöltött szerepükről mégis keveset tudunk annak ellenére, hogy a CD11c jelenlétét nemrég kimutatták memóriasejteken is. Jelen kutatás keretében mandulából és perifériás vérből izolált B-sejteken vizsgáltuk ezen receptorok megjelenését és szerepét. Azt találtuk, hogy míg a mandulából izolált nyugvó B-sejteknek mindössze 5%-a CD11c+, ezen sejtek aránya 26%-ra is megemelkedhet 3 napon át tartó B-sejt receptoron (BCR) keresztüli aktivációt követően. CR4 esetében kisebb mértékű az expresszió TLR9-közvetített aktivációt követően, illetve TLR9 és BCR kettős stimulus hatására is. Ezzel szemben CD11b-kifejeződést nem detektáltunk sem a nyugvó, sem az aktivált B-sejteken. Igazoltuk, hogy a stimuláció hatására megjelenő CD11c-molekulák újonnan szintetizálódnak, és az egyes sejtek felszínén átlagosan 9500 molekula jelenik meg. Kimutattuk továbbá, hogy a CR4-et főként olyan memória-B-sejtek fejezik ki, melyek a CD11c megjelenésével párhuzamosan izotípusváltáson estek át.

Bizonyítottuk, hogy az aktiváció hatására megjelenő CR4 részt vesz a B-sejtek adhézijában és migrációjában, továbbá, hogy a CR4 által közvetített adhézió hozzájárul a BCR-aktivált sejtek proliferációjához is. Eredményeinkkel elsőként igazoltuk, hogy a BCR általi aktiváció hatására megjelenő CD11c nem csupán passzív markere, hanem aktív résztvevője a B-sejtek által közvetített immunválasznak.

EXTRACELLULÁRIS VEZIKULÁK DINAMIKÁJA KUPFFER-SEJTEKBEN, HEPATOCYTÁKBAN ÉS LSEC-SEJTEKBEN HYPERLIPIDAEMIÁS KÖRÜLMÉNYEK KÖZÖTT

NÉMETH KRISZTINA, LENZINGER DORINA, VISNOVITZ TAMÁS, KITTEL ÁGNES, BUZÁS EDIT, TAMÁSI VIOLA

Semmelweis Egyetem, Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest

A máj központi szerepet tölt be az idegen molekulák és nagyobb képletek, pl. az extracelluláris vezikulák (EV) eltávolításában. Hyperlipidaemia során a májsejtek zsírfelvétele megnő, a bekerülő zsírsavak hatására zsírmáj jöhet létre. Ilyenkor, egyéb paraméterek mellett, megváltozhat a hepatocyták (HEP), Kupffer- (KC) és a máj sinusoidalis endothelsejtek (LSEC) mikropartikulum-felvétele és -leadása. Kísérleteink során az említett folyamatok dinamikáját vizsgáltuk lipotoxikus körülmények között.

A hyperlipidaemia plazma EV-tartalmára kifejtett hatását 20 és 30 hétig 45%-os zsírtartalmú tápon tartott C57BL/6 egereken vizsgáltuk. Kontroll egerek májából perfúzióval májsejteket izoláltunk. A hepatocyták EV-termelését *in vitro* jellemeztük. A hyperlipidaemiás körülményeket olajsav-palmitinsav eleggyel (400 μ M, 200 μ M) történő kezeléssel modelleztük. Az EV-ket partikulumszám, fehérjetartalom és EV-marker- (CD63, CD81, annexinV, apoB) expresszió alapján karakterizáltuk. A HEK293T-palmGFP eredetű közepes (mEV) és kisméretű EV-k (sEV) felvételét HEP monokultúrában és HEP-KC-LSEC kokultúrában vizsgáltuk áramlási citométerrel.

A CD63-, CD81-pozitív plazmaeredetű sEV-k száma szignifikánsan megnövekedett a 30 hetes csoportnál. A CD81-et tekintve a HEP-eredetű EV-knél is hasonló tendenciát láttunk. Vizsgálataink alapján a HEP-ek képesek az EV-k felvételére, azonban szerepük KC- és LSEC-sejtek jelenlétében lecsökken. Kokultúráinkban mEV-knél a KC-k bizonyultak kulcsszereplőnek, míg sEV-k esetében az LSEC-k szerepe a meghatározó. Hyperlipidaemiás körülmények között a sejtek EV-felvétele lecsökkent.

Összefoglalva elmondhatjuk, hogy mind a három vizsgált sejtípus képes az EV-k felvételére: mEV-knél a KC-k, sEV-knél az LSEC-k szerepe emelhető ki. A hyperlipidaemiás körülmények jelentősen befolyásolják az EV-k felvételét, leadását. A plazma EV-tartalma és a hepatocyták EV-termelése nőtt, míg a májsejtek EV-felvételi kapacitása döntően csökkent.

Támogatóink: ÚNKP-19-4-SE-09, Bolyai János Kutatási Ösztöndíj, NVKP-16_1-2016-0017

IN VIVO FUNCTIONS OF MOUSE NEUTROPHILS GENERATED FROM HOXB8-TRANSDUCED CONDITIONALLY IMMORTALIZED MYELOID PROGENITORS

ANITA OROSZ, ATTILA MÓCSAI

Semmelweis University, Department of Physiology, Budapest

While neutrophils play important roles in immunity and inflammation, their analysis is hindered by their short-lived and terminally differentiated nature. The HoxB8-driven, immortalized myeloid progenitor cell line might help overcoming this obstacle. This approach allowed the long-term culture of mouse myeloid progenitors (so-called HoxB8 progenitors) in estrogen-containing media, followed by differentiation towards neutrophils upon estrogen withdrawal. So far little is known about the functional effectiveness of HoxB8 neutrophils in vivo. So our goal was to generate HoxB8 chimeras and to characterize the HoxB8 neutrophils differentiated in vivo.

HoxB8 chimeras were generated with intravenous injection of HoxB8 progenitors into lethally irradiated recipients. Migration and phagocytosis assays were performed in vivo. Reverse Passive Arthus reaction was performed via intradermal OVA- α -OVA immunocomplex formation. K/BxN serum transfer arthritis model was used to monitor HoxB8 neutrophils' role in chronic inflammation.

Intravenous injection of HoxB8 progenitors into lethally irradiated recipients resulted in the appearance of circulating HoxB8 neutrophils. In vivo differentiated HoxB8 neutrophils were able to migrate to the inflamed peritoneum and to phagocytose Candida particles. The Reverse Passive Arthus reaction could be induced in mice transplanted with HoxB8 progenitors. Repeated injection of HoxB8 progenitors allowed us to maintain stable circulating HoxB8 neutrophil counts for several days and to perform longer-term experiments. Injection of arthritogenic K/BxN serum triggered robust arthritis in HoxB8 chimeras but not in irradiated non-transplanted control mice.

Altogether our results indicate that HoxB8 progenitor-derived neutrophils are capable of performing various in vivo neutrophil-specific functions both related to acute and chronic inflammatory processes.

A NÖVÉNYI KANNABINOIDOK HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA ANTIGÉNPREZENTÁLÓ SEJTEK DIFFERENCIÁCIÓJÁRA ÉS ÉRÉSÉRE

PÉNZES ZSÓFIA¹, ALIMOHAMMADI SHAHRZAD^{1, 2}, HORVÁTH DOROTTYA^{1, 2}, SZÖLLŐSI ATTILA GÁBOR¹¹Debreceni Egyetem, Immunológiai Intézet, Debrecen²Debreceni Egyetem, Molekuláris Orvostudományi Doktori Iskola, Debrecen

A dendritikus sejtek (DC-k) fontos szerepet játszanak a veleszületett és adaptív immunitásban. Fő feladatuk az antigének felvétele és bemutatása a T-sejteknek, ezáltal a veleszületett és az adaptív immunrendszer közötti fő hírvivőként funkcionálnak.

A közelmúltban a Cannabis sativa gyógyászati termékeinek gyártásában és felhasználásában is exponenciális növekedés mutatkozott. Megfigyelték, hogy a fitokannabinoidoknak (a kannabisz növényből származó kannabinoidoknak) jótékony hatása van több gyulladásos betegséggel szemben, azonban többnyire egérmodelleken vizsgálták hatásait.

Így jelenlegi kutatásunkban a nem pszichoaktív fitokannabinoidok (kannabidiol (CBD), kannabinol (CBN), kannabigerol (CBG), tetrahidrokannabivarin (THCV)) szerepének vizsgálatát tűztük ki célul monocytáeredetű dendritikus sejteken (moDC-k).

Annak érdekében, hogy kizárjuk a korai apoptotikus vagy nekrotikus folyamatok lehetőségét, presto blue és glükóz-6-foszfát-dehidrogenáz vizsgálatot végeztünk, amely bebizonyította, hogy az alkalmazott fitokannabinoidok nem okoztak sejthalált moDC-ken.

A fitokannabinoidok magas dózisban való alkalmazásának következtében érettebb fenotípussal rendelkező moDC-eket detektáltunk, és a lipopoliszacharid (LPS) által indukált érést egyik növényi kannabinoid sem befolyásolta. Továbbá sikerült bizonyítanunk a kannabinoid-1-receptor fehérjeszinten való kifejeződését is.

Az éretlen DC-k (iDC) krónikus vagy akut fitokannabinoidokkal való kezelés hatására csökkent endocitotikus aktivitást mutattak (CBD, CBG, THCV), míg a CBN fokozta a sejtek endocitotikus aktivitását. Ezen felül megvizsgáltuk a fitokannabinoidok által aktivált másodlagos hírvivő útvonalakat is, mind monocyta, mind iDC formában. A THCV mindkét sejt-típusnál, egymással összhangban fokozta az ERK, p38, EGF R, STAT5b foszforilációját, míg a CBD iDC formában volt kifejezettebb serkentő hatással a p38, ERK foszforilációs szintjére.

Összeségében eredményeink arra engednek következtetni, hogy a fitokannabinoidok befolyásolhatják az moDC-k immunológiai funkcióit, mely a jövőbeli kutatások során kulcsfontosságú célpontja lehet a gyulladásos bőrbetegségek kezelésének.

A H-FAKTOR MOLEKULACSA LÁD TAGJAINAK HATÁSA HUMÁN MONOCYTÁKRA ÉS NEUTROFIL GRANULOCYTÁKRA

SÁNDOR NOÉMI^{1, 2}, KÁRPÁTI ÉVA¹, KREMLITZKA MARIANN¹, HAJNAL DÁVID¹, E. SCHNEIDER ANDREA¹, JÓZSI MIHÁLY^{1, 2}

¹Eötvös Loránd Tudományegyetem, Immunológiai Tanszék, Budapest

²MTA-ELTE Komplement Kutatócsoport, Eötvös Loránd Tudományegyetem, Immunológiai Tanszék, Budapest

A komplementrendszerbe sorolt fehérjék egy része nemcsak a rendszer aktivációjában vagy annak szabályozásában vesz részt, hanem számos ún. nonkanonikus szereppel is bír. Így például a komplementrendszer alternatív útjának egyik fő szabályozó fehérjéje, a H-faktor kötődik egyes immunsejtekhez és befolyásolja azok különböző funkcióit. Emberben a H-faktoron kívül annak splicing variánsa, az FHL-1-molekula és öt H-faktorral rokon fehérje (FHR) alkotja a H-faktor molekulacsaládot. Vizsgálataink célja ezen molekulacsalád egyes tagjainak, valamint a mesterségesen előállított mini-H-faktor molekulának monocyták és neutrofil granulocyták aktivációjára gyakorolt hatásának vizsgálata volt.

A fehérjék kötődését Western blot és áramlási citometria módszerrel vizsgáltuk. A sejtek kiterülését és neutrofil extracelluláris csapdák képződését konfokális mikroszkóppal tanulmányoztuk. A sejtek citokintermelését ELISA-val mértük.

Eredményeink szerint a H-faktoron kívül az FHL-1, az FHR-1, az FHR-5 és a mini-H-faktor is kötődik a vizsgált sejtekhez. Az immobilizált H-faktor és FHR-1 gátolta neutrofil extracelluláris csapdák képződését, ugyanakkor fokozták a neutrofil granulocyták IL-8-termelését és kiterülését. Az FHR-5-nek nem volt hatása a sejtek vizsgált funkcióira. Az immobilizált H-faktor, FHL-1 és mini-H-faktor fokozta a monocyták adhézióját; a H-faktor és a mini-H-faktor a sejtek IL-1 β - és TNF α -termelését is növelte.

A H-faktor molekulacsalád egyes tagjai tehát – a komplementrendszerben betöltött szerepükön túlmenően – különbözőképpen befolyásolhatják a veleszületett immunitás gyulladásos folyamatokban, patogén mikrobák elleni védekezésben fontos sejtjeinek aktivációját.

A TRPV4 SZABÁLYOZÓ SZEREPE A DERMALIS FIBROBLASTOK IMMUNMODULÁLÓ FUNKCIÓIBAN

SHAHRAZAD ALIMOHAMMADI¹, LISZTES ERIK², KELEMEN BALÁZS², KUNKA ÁRPÁD², HANYICSKA MARTIN², SZÖLLŐSI ATTILA GÁBOR¹, BALÁZS ISTVÁN TÓTH²

¹Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Immunológiai Intézet, Debrecen

²Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet, Debrecen

A Tranziens ReceptorPotenciál (TRP) ioncsatorna család számos tagja megtalálható a bőrben, ahol fontos szereppel bírnak a sejtek környezetében bekövetkező fizikokémiai változások érzékelésében és feldolgozásában. A TRP-csatornák egyes tagjai ozmotikus, mechanikai, termális és változatos kémiai ingerekkel egyaránt aktiválhatóak, így a környezeti hatások fontos integrátor molekuláinak tekinthetők. A család egyik kiemelkedő tagja a TRPV4, mely kifejeződik humán epidermalis keratinocytákon, ahol aktivációja központi szereppel bír a sejtek gyulladásos mediátor termelésének szabályozásában és a barrierfunkció fenntartásában. A TRPV4 funkciója a bőr mélyebb rétegében, a dermisben ugyanakkor kevésbé ismert, ezért munkánk során humán dermalis fibroblastokon (HDF) vizsgáltuk a TRPV4-csatorna kifejeződését és funkcióját.

Korábbi kísérleteink során kimutattuk, hogy a TRPV4 HDF-eken funkcionálisan expresszálódik, és az ioncsatorna agonistája (GSK1016790A) különböző gyulladásos mediátorok és növekedési faktorok mRNS-szintű kifejeződését indukálja.

Ezen eredményeinket protein szinten is validáltuk, citokin array és ELISA technikák segítségével. A GSK1016790A kezelés hatására a proinflammatorikus IL-8 és IL-33 citokinek szintje növekedést mutatott, míg az IL-6 szintje csökkenést. A HDF-ek immunmoduláló hatását indirekt kokultúrák használatának segítségével is megerősítettük. A HDF-ekről származó felülűzők a monocyták makrofág irányú differenciálódását M2 irányba befolyásolták, melyre a TRPV4-aktiváció nem volt jelentős hatással. Ezenfelül a TRPV4-csatorna a HDF-ek aktinfilament-organizációját is megváltoztatta, mivel az agonista GSK1016790A a filamentumok rövidülését és vas-tagodását okozta. Ez alapján felmerül a dermalis fibroblastokon kifejeződő TRPV4 lehetséges szerepe az extracelluláris mátrix dinamikus átépülésének szabályozásában és a sebgyógyulás regulációjában, valamint egyes gyulladásos bőrbetegségek és fibrotikus elváltozások kialakulásában is.

A TRPA1 RECEPTOR SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA IMMUNSEJTEKBEN, EGÉRMODELLRENDSZERBEN

SZABÓ KATALIN¹, KEMÉNY ÁGNES², PINTÉR ERIKA², BERKI TÍMEA¹

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
¹Immunológiai és Biotechnológiai Intézet, ²Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Pécs

A tranziens receptor-potenciál (TRP) nem szelektív kationcsatornák közé tartozó, exogén/endogén irritáló hatásokkal aktivált TRPA1 szerepet játszik krónikus fájdalommal, gyulladással járó folyamatokban. Az idegrendszeri elsődleges érzőneuronokon kívül a TRPA1 számos sejttípusban expresszálódik, köztük a bőr, vékony- és vastagbél extraneuronális sejteiben és az immunrendszer sejteiben is. A nem neuronális TRPA1 receptorok funkciója, élettani, illetve kórélettani jelentősége azonban tisztázatlan. A közelmúltban közölt eredmények arra utalnak, hogy más Ca^{2+} -csatornák mellett a TRPA1 kationcsatorna szerepet játszhat egyes T-lymphocytapopulációk aktivitásának szabályozásában.

Kísérleteink célja, hogy megvizsgáljuk a TRPA1 ioncsatorna feltételezett szerepét elsősorban a T-lymphocyták aktivációjában, továbbá annak megállapítása, hogy a működőképes TRPA1 receptor jelenléte befolyásolja-e a lymphocytaszubpopulációk megoszlását. Modellrendszerként a homotetramerként működő csatorna Ca^{2+} -ot áteresztő pórusrészében génhányos funkcionális KO egérből és a vad típusú (WT) TRPA1-et kifejező egérből származó immunsejtek CD-markerekkel jellemzett fenotípusának és intracelluláris Ca^{2+} -szintjének összehasonlítását használtuk.

A lépéből, csecsemőmirigyből és perifériás vérből izolált sejtekben a monocyta/makrofág és lymphocyta vérsejttípusokban tapasztaltuk a legmagasabb szintű TRPA1-mRNS-expressziót kvantitatív RT-PCR-módszerrel. A KO egérben termelődő csonka TRPA1-fehérje kimutatására is alkalmas antitest használatával megállapítottuk, hogy a TRPA1 csatorna N-terminális régiójának fehérjeszintű expressziója nemcsak a vad típusú, hanem a funkcionális KO egérben is kimutatható. A vizsgált CD-markerekkel fenotipizált leukocytapopulációk arányában nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget a KO és a WT között. A KO egér perifériás vér és lép lymphocytáiban alacsonyabb szintű korai aktivációs marker CD69 jelölődést és csökkent anti-CD3 antitesttel aktivált intracelluláris Ca^{2+} -szignált tapasztaltunk.

Ez alapján feltételezzük, hogy a TRPA1 receptornak a lymphocyták aktivációjában van szerepe.

MUCUSAASSZOCIÁLT INVARIÁNS T-SEJTEK (MAIT) TIGIT/CD226 IMMUNCHECKPOINT-ÚTVONALÁNAK VIZSGÁLATA EARLY-ONSET PRAECLAMPSIA PATOGENEZISÉBEN

SZIGETI BRIGITTA¹, NAGY U. DÁVID³, SZEREDAY LÁSZLÓ^{1, 2},
MEGGYES MÁTYÁS^{1, 2}

¹Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ,
Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézet, Pécs

²Pécsi Tudományegyetem Szentágotthai János Kutatóközpont,
Pécs

³Magyar Cochrane Tagozat, Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ Gyermekgyógyászati Klinika

A praeclampsia egy, a terhességek 3-8%-át érintő humán terhességspecifikus megbetegedés, melynek tünetei jellemzően a 20. gesztációs hét után jelentkeznek. Az aktiváló, illetve gátló szignált közvetítő immuncheckpoint-molekulák szerepe az early-onset praeclampsia jellemző Th1-mediált immunológiai környezetben jelenleg még nem tisztázott. Munkánk során a MAIT-sejtek, illetve a sejteken expresszálódó TIGIT és CD226 immuncheckpoint-molekulák útvonalának lehetséges szerepét vizsgáltuk early-onset praeclampsia patogenezisében.

Kísérletünkbe 37 early-onset praeclampsiaával diagnosztizált és 36 gesztációs korban megegyező egészséges várandós nőt vontunk be. A perifériás vérből sűrűséggradienssel mononukleáris sejtfagmentet izoláltunk és $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk. A fagyasztott mintából fluorokrómmal konjugáltatott monoklonális antitestek segítségével karakterizáltuk a MAIT, MAIT-like és atipikus MAIT sejteket. Áramlási citometriás analízissel mértük a sejtek TIGIT-, CD226-, intracelluláris perforin, illetve granzim-B-expresszióját.

CD161-receptor-pozitivitása alapján azonosítottuk a MAIT (CD3+ CD8+ Va7.2+ CD161+), a MAIT-like (CD3+ CD8+ Va7.2+ CD161+), illetve az atipikus MAIT (CD3+ CD8+ Va7.2+ CD161-) sejtpopulációkat.

A MAIT-sejtek arányában, illetve TIGIT-expressziójában, a granzim-B és perforin kifejeződésében a MAIT-like és az atipikus MAIT sejtekhez képest szignifikáns különbséget mérünk. További jelentős különbségeket detektáltunk az atipikus MAIT-sejtek TIGIT-expressziójában a praeclampsias és az egészséges terhes csoport összehasonlításában, illetve a CD8- és CD226-receptor-expresszió kapcsolatában.

Tekintettel arra, hogy nem detektáltunk jelentős különbségeket vizsgálatunk során az early-onset praeclampsia és egészséges terhesség között, feltételezzük, hogy a TIGIT és CD226 immuncheckpoint-molekulákat expresszáló perifériás MAIT-sejtek szerepe marginális az early-onset praeclampsia patogenezisét tekintve.

Jelen kutatás a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj, illetve a NKFIH (NKFIH K119529) és a Pécsi Tudományegyetem (PTE ÁOK-KA-2018/07) támogatásával készült.

A PLC γ 2 SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA AUTOANTITEST-INDUKÁLT BŐRGYULLADÁSBAN

SZILVESZTER KATA PETRA, NÉMETH TAMÁS, MÓCSAI ATTILA

Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet, Budapest

A foszfolipáz C γ 2 (PLC γ 2) enzim főként haemopoeticus eredetű sejtekben fejeződik ki, működése elengedhetetlen többek között a természetes immunitás sejtjeinek immunreceptoron keresztüli aktivációjához. Az epidermolysis bullosa acquisita (EBA) egy humán autoimmun bullózus bőrbetegség, mely során autoantitestek keletkeznek a dermo-epidermalis junction egyik kulcsfontosságú fehérjéje, a VII-es típusú kollagén ellen. Célunk a PLC γ 2 szerepének vizsgálata volt az EBA antitestek (anti-C7) passzív transzferén alapuló állatmodelljében.

Az EBA-szerű bőrgyulladást poliklonális anti-C7 antitestek subcutan injekciójával váltottuk ki vad típusú és PLC γ 2-hiányos csontvelői kimerákban. A kialakuló tüneteket 2 héten keresztül értékeltük kiterjedés és súlyosság szempontjából, majd szövettani metszeteket készítettünk. A bőrben létrejövő gyulladásos sejtes infiltrációt áramlási citometriával, a proinflammatorikus mikrokörnyezet kialakulását ELISA segítségével vizsgáltuk. A vad típusú és PLC γ 2-hiányos immunsejtek *in vivo* migrációs képességét egy kompetitív migrációs esszében vizsgáltuk kevert csontvelői kimerákban.

Anti-C7-kezelés hatására a vad típussal ellentétben a PLC γ 2-hiányos állatok védettnek bizonyultak a bőrgyulladás kialakulásával szemben mind makroszkópos, mind mikroszkópos vizsgálatok alapján. A vad típusú egerek bőrében maszárv, főleg neutrofil granulocytákat tartalmazó immunsejtes infiltráció jött létre, mely elmaradt a PLC γ 2^{-/-} állatokban. Ezzel ellentétben kompetitív migrációs esszében a PLC γ 2^{-/-} immunsejtek vad típusúakkal lényegében megegyező mértékben voltak képesek bejutni a gyulladás helyére. A proinflammatorikus citokin IL-1 β , kemokin MIP-2, illetve lipidmediátor LTB4 szintjének vad típusban tapasztalt emelkedése nem jött létre PLC γ 2 hiányában.

Összefoglalva elmondhatjuk, hogy a haemopoeticus eredetű sejtekben expresszáldó PLC γ 2 nélkülözhetetlen az EBA-szerű autoantitest-indukált bőrgyulladás kialakulása során. PLC γ 2 hiányában elmarad a bőrben a gyulladásos infiltráció, valamint a proinflammatorikus mikrokörnyezet kialakulása annak ellenére, hogy az immunsejtek *in vivo* endogén migrációs képessége megtartott marad.

TEJSÁVBÁKTÉRIUMOK MÓDOSÍTÁSÁNAK HATÁSAI A HUMÁN DENDRITIKUS SEJTEK FUNKCIÓIRA

TÓTH MÁRTA^{1,2}, GOGOLÁK PÉTER¹, KRZYSZTOF REGULSKI³, RAJNAVÖLGYI ÉVA¹, MARIE-PIERRE CHAPOT-CHARTIER³, BÁCSI ATTILA¹

¹Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Immunológiai Intézet

²Debreceni Egyetem Molekuláris Sejt- és Immunbiológiai Doktori Iskola

³Micalis Institute, INRA, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, Jouy-en-Josas, France

A Gram+, probiotikus hatású *Lactobacillus*ok természetes összetevői a bélmikrobiótának, és sokrétű, pozitív hatásait az emberi szervezetre elsősorban immunmoduláló tulajdonságaikkal érik el. Ehhez a *Lactobacillus*oknak, vagy az általuk termelt anyagoknak kapcsolatba kell kerülniük a lamina propria-ban található immunsejtekkel, például a dendritikus sejtekkel (DS-ekkel). A DS-ek receptoraik segítségével felismerik a mikrobákkal asszociált molekuláris mintázatokat, mint például a *Lactobacillus*okból származó peptidoglikánt és komponenseit. A felismerést követően a DS-ekkel kölcsönható T-sejtekben immunogén vagy tolerogén válasz alakul ki. Kísérleteink során megvizsgáltuk a vad típusú, illetve a peptidoglikán rétegben módosított *Lactobacillus casei* (L. casei) BL23 hatásait a humán monocytából differenciáltatott DS-ek (moDS-ek) funkcióira.

In vitro rendszerünkben 5 napos moDS-eket vad típusú és mutáns L. casei BL23 baktériummal aktiváltunk 1 : 4 arányban. Három óra elteltével vizsgáltuk az moDS-ek fagocitáló képességét, 24 órás aktivációt követően pedig a sejtfelszíni markerek kifejeződését áramlási citometriával. ELISA módszerrel határoztuk meg a moDS-ek által termelt citokinek és kemokinek mennyiségét. A baktériumokkal stimulált moDS-ek általi T-sejt-polarizációt ELISPOT módszerrel vizsgáltuk, amellyel az IFN γ - és IL-17-termelő T-sejtek számát határoztuk meg.

Eredményeink azt mutatják, hogy a vad típusú baktériumok fagocitózisa és az általuk kiváltott citokin- és kemokin-termelés szignifikánsan nagyobb mértékű volt a sejtfalában módosított baktériumokhoz viszonyítva. Ezzel szemben nem volt szignifikáns különbség a vad típusú és genetikailag módosított sejtfalú baktériumokkal aktivált moDS-ek fenotípusos változásaiban. A vad típusú baktériumokkal stimulált DS-ek által aktivált T-sejtek jelentősen több IFN γ -t és IL-17-et termeltek, szemben a mutáns baktériummal kezelt moDS-ekkel.

Összefoglalásként elmondható, hogy a módosított bakteriális peptidoglikán réteg az moDS-ek funkcionális megváltozását okozza, amely hatással van a T-sejtes válasz kimenetelére is.

Támogatók: NKFIH K 125337 és GINOP-2.3.2-15-2016-00050 számú projektek.

TUMORSEJTVONALAK ÁLTAL TERMELT OLDOTT FAKTOROK DENDRITIKUS SEJTEK DIFFERENCIÁCIÓJÁRA GYAKOROLT HATÁSÁNAK ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATA

TÜRK-MÁZLÓ ANETT^{1, 2}, BIRÓ-KOVÁCS RAMÓNA^{1, 2}, SHLOMIE BRISCOE¹, BÁCSI ATTILA¹, KONCZ GÁBOR¹

¹Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Immunológiai Intézet, Debrecen

²Debreceni Egyetem, Molekuláris Sejt- és Immunbiológiai Doktori Iskola,

A dendritikus sejtek (DS) kiemelt szerepet töltenek be az immunhomeosztázis fenntartásában és a hatékony immunválasz levezénylésében. Monocytákból történő differenciációjuk érzékenyen szabályozott folyamat, mely számos ponton befolyásolható. A tumorok többek között a DS-differenciáció szabályozásával képesek lehetnek elkerülni a tumorelles immunválaszt. Jelenleg nem ismert olyan összehasonlító analízis, mely különböző tumorsejtvonalak DS-ek fenotípusára és funkcióira gyakorolt hatására fókuszálva támaszpontként szolgálhat a különböző tumorpromótáló DS-ek *in vitro* vizsgálatára.

A tumorok immunmoduláló képessége részben oldott faktorok révén valósul meg, ezért áramlási citometriával vizsgáltuk, hogy különböző tumorsejtvonalakról gyűjtött kondicionált médiumok milyen hatással vannak a CD14+ monocyták DS-ekké történő differenciációjára, azok funkcióira, autológ T-sejt-polarizáló képességére.

Eredményeink alapján általánosságban megállapítható, hogy a tumorsejtek felülűzői csökkentették a DS-ek felszínén megjelenő HLA-DR-, DC-SIGN-, CD11b-, CD1a- és CD1d-molekulák kifejeződését, míg fokozták a CD14-molekula expresszióját. A hasonló mintázatok ellenére az egyes tumorsejtvonalak által indukált változásokban jelentős eltéréseket is tapasztaltunk. A melanoma-sejtvonalak többsége, a WM1617 kivételével, gátolta a DS-ek felszíni MHCI-expresszióját. A DS-ek felszínén kifejeződő CTLA-4- és PD-L1-molekulák megjelenése hasonló mintázatot mutatott: a WM983A-, WM35-, valamint a WM983B-sejtvonalak csökkentették a negatív kostimulációs molekulák expresszióját. A vizsgált sejtvonalak egy része (WM278, WM1617 és WM983b) az IL-10, míg az MDA-, HT29- és WM1617-sejtvonalak a DS-ek TNF α -szekrécióját növelték. Kimutattuk, hogy az MDA-, HT-29-, HeLa-, melanomasejtvonalak közül pedig a WM1617 serkentette a DS-ek regulátor-T-sejt-aktiváló képességét.

Eredményeink hangsúlyozzák, hogy az egyes tumorok különböző immunválaszt elkerülő stratégiákat használhatnak, többek közt a DS-ek differenciálódását és érését is sokszínűen szabályozva.

A projekt az NKFIH-K-125224 és a GINOP-2.3.2-15-2016-00050 támogatásával valósult meg.

AZ ACE-GÁTLÓ LIZINOPRIL FOKOZZA A MAKROFÁGOK POLY(I:C)-INDUKÁLTA PROINFLAMMATORIKUS CITOKIN TERMELÉSÉT

VARGA ALIZ¹, BÁNHÉGYI VIKTOR², TÓTH ATTILA², BÁCSI ATTILA¹

¹Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Immunológiai Intézet, Debrecen

²Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Klinikai Fiziológiai Tanszék, Debrecen

Bevezetés: Az ACE1 (angiotenzinkonvertáló enzim 1) a renin-angiotenzin rendszer egyik központi komponenseként fontos szerepet játszik a vérnyomás szabályozásában. Ismert, hogy a magas vérnyomás a napjainkban világméretű jelentőségű COVID-19 egyik rizikófaktor. A vérnyomás csökkentése céljából alkalmazott ACE-gátlók, pl. a lizinopril szerepe máig nem tisztázott a vírusfertőzések, pl. a COVID-19 elleni immunválaszban. A makrofágok első védelmi vonalként fontos szerepet játszanak a vírusok elleni immunválaszban, azonban az ACE-gátló lizinopril hatása a makrofágok antivirális válaszára nem ismert. A vírusok – beleértve a SARS-CoV-2-t is – replikációjának gyakori köztes terméke a dsRNS, melynek szintetikus analógja a poly(I:C). Munkánk során azt vizsgáltuk, hogy a lizinopril hogyan befolyásolja a makrofágok poly(I:C)-indukálta gyulladásos citokin választ.

Módszerek: Kísérleteinket primer humán monocitákból differenciáltatott M1-szerű makrofágokon végeztük. Az ACE1 enzim aktivitását fluorogén szubsztát segítségével mértük, az ACE1 expresszióját, valamint a gyulladásos citokinek szekrécióját ELISA módszerrel detektáltuk.

Eredmények: Kimutattuk, hogy a makrofágok differenciációja során az ACE1 expressziója és aktivitása folyamatosan nő. A lizinopril az érett makrofágok ACE1-expresszióját nem befolyásolja, azonban az enzim aktivitását képes teljesen gátolni. Eredményeink szerint a lizinoprilkezelés szignifikánsan fokozza a poly(I:C)-indukálta IL-6, illetve TNF α gyulladásos citokinek szekrécióját. A lizinopril ezen hatásának ACE1-függő voltát támasztja alá, hogy a makrofágokkal el-lentétben a humán monocytákban – amelyekben ACE1-aktivitást nem tudunk kimutatni – a lizinoprilkezelés nincs hatással a poly(I:C)-indukálta gyulladásos citokin termelésre.

Következtetés: Megfigyeléseink szerint az ACE-gátló lizinopril alkalmazása vírusfertőzés során erősítheti az antivirális immunválaszt az M1-szerű makrofágok fokozott citokintermelése révén.

Támogatók: NKFIH K 125337, GINOP-2.3.2-15-2016-00050 és a FIKP Debreceni Egyetem (Biotechnológia) 20428-3/2018/FEKUSTRAT azonosítójú projektek.

SZÁJÜREGI LAPHÁMSEJTES KARCINÓMA SEJTVONALAK ÉS CANDIDA ALBICANS KÖLCSONHATÁSÁNAK VIZSGÁLATA AZ EXTRACELLULÁRIS VEZIKULUMOK SZINTJÉN

VERES ÉVA¹, VADOVICS MÁTÉ¹, ADAMECZ DÓRA², SZILOVICS ZÓRA¹,
BUZÁS KRISZTINA^{3, 4}, KIRICSI MÓNKA², GÁCSEK ATTILA^{1, 5}

¹Szegedi Tudományegyetem, Mikrobiológiai tanszék, Szeged

²Szegedi Tudományegyetem, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Tanszék, Szeged

³Magyar Tudományos Akadémia Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Biokémiai Intézet, Szeged

⁴Szegedi Tudományegyetem Fogorvostudományi Kar, Szeged

⁵MTA-SZTE Lendület Mikrobiom Kutatócsoport, Szegedi Tudományegyetem, Szeged

A szájüregi daganatok különösen komoly egészségügyi problémát jelentenek Magyarországon és világszerte. A szájüregi daganatok közül a leggyakrabban (90%) előforduló daganattípus a szájüregi laphámsejtes karcinóma (OSCC). OSCC esetén a tumorterápia és a megváltozott immunológiai mikro-környezet miatt gyakran alakul ki orális candidiasis. Laboratóriumunk egy korábbi tanulmánya szerint OSCC esetén szignifikánsan megnő a kolonizáló élesztőgombák száma és diverzitása az egészséges kontrollhoz képest.

A gombák és a tumorsejtek közötti kapcsolat megvalósulhat közvetlenül, különböző receptorok segítségével, vagy közvetetten, az általuk szekretált extracelluláris vezikulumo-

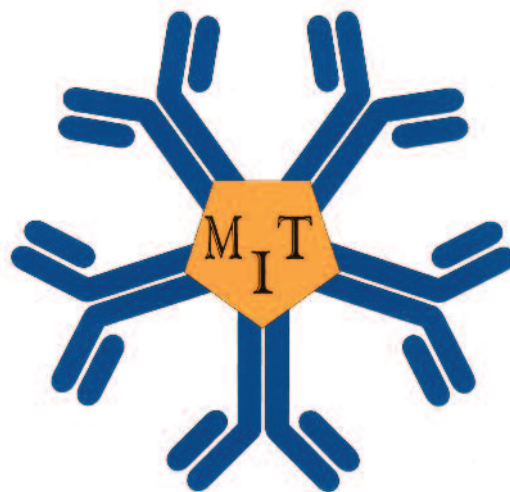
kon (EV) keresztül. Munkánk során célul tűztük ki az extracelluláris vezikulumokon keresztül megvalósuló interakció vizsgálatát, mivel ezen folyamatok még részleteiben nem ismertek.

Kísérleteink során vizsgáltuk a *Candida albicans* által szekretált extracelluláris vezikulumok humán OSCC sejtek által történő felvételét. Ehhez a gombatörzs tenyészetéből izolált extracelluláris vezikulumokat izoláltuk, karakterizáltuk, majd képkalkáló áramlási citometriával vizsgáltuk, hogy a tumorsejtek képesek-e a gombaeredetű EV-k felvételére. Az OSCC sejtvonalak által kibocsátott exoszómák hatásának tanulmányozására a *Candida albicans* kolóniaformáló képességét (CFU) vizsgáltuk. Az interakciós partnerek közötti kölcsönhatás felderítésének érdekében fluoreszcens mikroszkópos vizsgálatokat végeztünk.

Kísérleteink során sikeresen izoláltunk 100–500 nm méret-tartományba eső extracelluláris vezikulákat *C. albicans* szilárd táptalajon növesztett tenyészetéből. Az áramlási citometriai, valamint a fluoreszcens mikroszkópos vizsgálatok segítségével megállapítottuk, hogy az OSCC sejtek képesek a gombaeredetű EV-k felvételére. A tumorsejtek által termelt exoszómák gombákkal történő koinkubációja során a *C. albicans* kolóniaformáló képessége szignifikánsan csökkent a kezeletlen mintákhoz viszonyítva.

Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy interakció figyelhető meg a tumorsejtek és a *C. albicans* között az extracelluláris vezikulumok szintjén.

Projektet támogatta: NTP-NFTÖ-19-B-0174





A psoriasis okozta gyulladás folytatódhat a bőrfelszín alatt, különösen, ha a beteg nem érte el a tünetmentességet.¹
Az időben megkezdett Cosentyx terápia segítségével az Ön kezében van a lehetőség a psoriasis okozta **szisztémás gyulladás** kontrollálására.²



Szinte **tünetmentes bőr**

Gyors és hosszú távú hatásosság a makacs bőrtünetek esetében is³⁻⁷



Szabadabb **mozgás**

Segít megelőzni a későbbi visszafordíthatatlan ízületi károsodást^{8,9}



Teljesebb **élet**

Gyors és tartós életminőségbeli javulás^{4,9}

Válassza minél korábbi vonalban a Cosentyxet a betegek számára a komplex terápiás hatás* biztosításáért!

A komplex Cosentyx hatás™ meghatározása: A Cosentyx egyaránt hatásos a bőrtünetek, és a psoriasis olyan makacs manifesztációinak a kezelésében, mint amilyen a köröm, hajas fejbőr, tenyér-talpi psoriasis, valamint hatékonyan kontrollálja az irreverzibilis strukturális károsodást és javítja az életminőséget arthritis psoriatica (PsA) esetén.²

COSENTYX[®] 150 mg oldatos injekciói előretöltött injekciós tollban. **Hatóanyag:** szekukinumab. **Kiadhatóság:** Korlátozott érvényű orvosi rendelvényhez kötött gyógyszer. Osztyázási kategória SZ.

A forgalomba hozatali engedély jogosultja: Novartis Europharm Limited Vista Building Elm Park, Merrion Road Dublin 4, Írország. Helyi képviselő: Novartis Hungária Kft. 1114 Budapest, Bartók Béla út 43-47. Tel: 06-1-457-6500, e-mail: infoph.hungary@novartis.com

Bővebb információért olvassa el a gyógyszer alkalmazási előírását!

A hatályos alkalmazási előírás teljes szövegét megtalálja az Országos Gyógyszerészeti és Élelmezés-egészségügyi Intézet (www.ogyei.gov.hu/gyogyszeradatbazis/) vagy az Európai Gyógyszerügynökség (www.ema.europa.eu) honlapokon. Elérési útvonal: www.ogyei.gov.hu; Adatbázisok, nyilvántartások; Gyógyszer-adatbázis; Gyógyszer neve: Cosentyx

Irodalom:

1. Mrowietz és mtsai. Experimental Dermatology. 2014; 23, 705-709
2. Cosentyx alkalmazási előírás
3. Langley RG et al. N Engl J Med. 2014;371(4):326-338.
4. Bissonnette R et al. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2018;32(9):1507-1514.
5. Reich K et al. Br J Dermatol. 2018. doi: 10.1111/bjd.17351.
6. Gottlieb A et al. J Am Acad Dermatol. 2017 Jan;76(1):70-80.
7. Bagel J et al. J Am Acad Dermatol. 2017 Oct;77(4):667-674.
8. Kavanaugh A et al. Arthritis Care & Research. 2017 March;69(3):347-355.
9. Strober B et al. J Am Acad Dermatol. 2017;76(4):655-661.



Forgalomba hozatali engedély szám	Készítmény megnevezése	Kiszerezés	Termelői ár (Ft)	Bruttó fogyasztói ár (Ft)
EU/1/14/980/004	COSENTYX [®] 150 mg oldatos injekció előretöltött injekciós tollban	1x előretöltött injekciós tollban	158 210	174 469
EU/1/14/980/005	COSENTYX [®] 150 mg oldatos injekció előretöltött injekciós tollban	2x előretöltött injekciós tollban	316 419	347 898

A Cosentyx gyógyszer a 9/1993 NM rendelet 1/A számú mellékletének 5. pontja szerint finanszírozott.

Az aktuális árak tekintetében kérjük, ellenőrizze a www.neak.gov.hu honlapon található információkat.

Elérési útvonal: http://neak.gov.hu/felso_menu/szakmai_oldalok/gyogyszer_segedeszkoz_gyogyfurd_o_tamogatas/egeszsegugyi_vallalkozasoknak/pupha/Vegleges_PUPHA.html

Egy sokarcú monogénis autoinflammatorikus kórkép, az adenozin-deamináz-2-deficiencia

MAJAI GYÖNGYIKE EMESE, NAGY NIKOLETT

Debreceni Egyetem Klinikai Központ, Belgyógyászati Intézet, Klinikai Immunológiai Tanszék

Az adenozin-deamináz-2-deficienciát legelőször 2014-ben írták le mint monogénis szisztémás gyulladásos kórképet, melyet az adenozin-deamináz-2 biallel mutációja okoz a 22q11 kromoszómán. Ma már több mint 200 eset ismert világszerte, melyet a gén különböző mutációival hoztak összefüggésbe. Ezen mutációk az enzim katalitikus aktivitását, a fehérje-dimerizációt és -szekréciónál egyaránt érinthetik. A betegséget jelentős fenotípusvariabilitás jellemzi, a livedo reticularistól a polyarteritis nodosán át az ischaemiás vagy vérzéses stroke-ig, mely csontvelő-elégtelenséggel, immunhiánnyal társulhat. A vasculitis minden szervet érinthet, melynek következménye a máj-, vese-, gastrointestinalis tünetek megjelenése. A hematológiai tünetek közül lymphopenia, immunthrombocytopenia, neutropenia, vörösvértest-aplasia, de akár pancytopenia is előfordulhat. Egyes egyének felnőttkorig tünetmentesek lehetnek, vagy bizonyos esetekben soha nem mutatkoznak náluk a betegség klinikai tünetei. Mindez arra utal, hogy az adenozin-deamináz-2-deficiencia lehetősége fel kell, hogy merüljön a kezelőorvosban, ha a betegnél visszatérő láz, bőrtünetek, neurológiai vagy hematológiai eltérések vannak, még akkor is, ha a családi anamnézis negatív. A betegségben jelenleg sem diagnosztikai kritérium, sem standard kezelési stratégia nem áll rendelkezésre. Az adenozin-deamináz-2-deficienciát az M1-M2 makrofág differenciálódás egyensúlyának zavara jellemzi, melynek következménye az M1 proinflammatorikus makrofágok irányába való eltolódás. A proinflammatorikus M1 makrofágok által termelt TNF- α feltehetően jelentős szerepet tölt be a betegségben, a vasculatura integritásának a megőrzésében ugyanis az anti-TNF- α -kezelés kiválóan alkalmazható olyan esetekben, ahol a vasculitis a vezető tünet. Legújabb adatok alapján a neutrofil extracelluláris csapda az, ami a makrofágokkal való kapcsolat következtében NF- κ B aktivációjához, következményes TNF- α -termeléshez vezet, mely képes tovább fokozni a neutrofil extracelluláris csapda képződését, ezáltal felfokozva a gyulladásos immunválaszt.

Kulcsszavak: adenozin, autoinflammatorikus, DADA2, vasculitis, immunhiány

DEFICIENCY OF ADENOSINE DEAMINASE 2, A MONOGENIC SYSTEMIC INFLAMMATORY DISEASE

The deficiency of adenosine deaminase 2 was first described in 2014 as a monogenic systemic inflammatory disease, which is caused by the biallelic mutation of adenosine deaminase 2 on chromosome 22q11. There are more than 200 adenosine deaminase 2 deficient cases reported worldwide, which are associated with different mutations of this gene. These mutations can affect the enzyme catalytic function, the protein dimerization and secretion as well. The disease has significant phenotype variability, from livedo reticularis to polyarteritis nodosa and ischaemic or haemorrhagic stroke, which can be associated with bone marrow failure or immune deficiency. The vasculitis can affect every organ resulting liver, kidney, gastrointestinal symptoms. Haematological manifestations include lymphopenia, immune thrombocytopenia, neutropenia, red blood cell aplasia, even pancytopenia. Some patients are asymptomatic until adulthood, moreover in some cases the clinical manifestations never appear. Therefore the therapist has to think about adenosine deaminase 2 deficiency, if the patient has recurrent fever, skin symptoms, neurological or haematological aberrations, even when the family history is negative. There is neither diagnostic criteria nor standard treatment strategy for the disease. Disturbance of M1-M2 macrophage differentiation balance is typical for adenosine deaminase 2 deficiency, which causes a shift towards M1 pro-inflammatory macrophages. TNF- α produced by pro-inflammatory M1 macrophages probably plays a remarkable role in the disease, in the maintenance of integrity of vasculature since TNF- α therapy is exceedingly usable in those cases where vasculitis is the major symptom. Based on the recent results the communication between the neutrophil extracellular trap and macrophage leads to NF- κ B activation and consecutive TNF- α production, resulting in further neutrophil extracellular trap production, leading to an inflammatory immune response.

Keywords: adenosin, autoinflammatory, DADA2, vasculitis, immunodeficiency

Bevezetés

Az adenzin-deamináz-2-deficiencia (DADA2) egy autoszomális recesszív módon öröklődő, komplex szisztémás auto-inflammatorikus kórkép, amelyre az ADA2 [adenozin-deamináz-2, korábban CECR1 (cat eye syndrome chromosome region, candidate 1)] gén biallél mutációja és következményes nagyon alacsony szintű ADA2 enzimatisz aktivitás jellemző [1, 2]. Az adenzin-deamináz fehérjék a purinmetabolizmust szabályozzák, az adenzin és 2'-deoxiadenozin lebontását elősegítve a sejtben. Amennyiben az ADA1 (adenozin-deamináz-1) hiányzik, a toxikus deoxiadenozin felhalmozódik a lymphocytákban, T-B-NK SCID-hez vezetve. Kezelés nélkül az ADA1-deficiencia fatális [3]. Az ADA1-hiányban a haemopoeticus őssejt transzplantáció jelenti a major kezelést, de ezenkívül az enzimotplás, illetve a génterápia is jelentős szerepet kap.

Az ADA2 extracelluláris enzim, amelyet monocyták, makrofágok, dendritikus sejtek szekretálnak. Az ADA2 nemcsak a lokalizáció tekintetében, de strukturálisan is különbözik az ADA1-től. Az ADA1 41 kDa-os monomer protein, mely gyakorlatilag minden humán szövetben jelen van, a legmarkánsabban viszont a T- és B-lymphocytákban expresszálódik. Az ADA2 59 kDa tömegű fehérje, mely homodimert képez és az extracelluláris térben szekretálódik. Hiányában nem halmozódik fel deoxiadenozin nukleotid a sejtekben és élettani ADA1 enzim aktivitás van jelen. [4]. Az ADA2 sokkal stabilabb magas hőmérsékleten és savas környezetben érvényesül az enzimatisz aktivitása, ami arra utal, hogy szerepe megnő hypoxiában, gyulladásban, az onkogenezisben [5]. Az ADA2-szekvencia hasonlóságokat mutat az adenzin-deamináz növekedési faktoral. Állatkísérletek bizonyítják, hogy az ADA2 igen fontos szabályzó szerepet tölt be a sejtproliferációban és -differentiációban, mely független az enzim katalitikus aktivitásától [4]. Az ADA2 proteo-glikánokhoz és adenzinreceptorokhoz kapcsolódva a sejt szignálútvonalaiban is jelentős szerepet tölt be.

A DADA2 genetikai háttere

A DADA2-asszociált mutációk gyakorlatilag a teljes ADA2 kódoló régió előfordulhatnak. A missense mutációk a leggyakoribbak, de nonsense mutációk, inzerciók, deléción, splice site mutációk is leírásra kerültek a betegségben [4, 6]. Mivel a betegséget autoszomális recesszív öröklődésment jellemzi, azaz a heterozigóta szülők gyermekei 50%-os valószínűséggel lesznek a szülőkhez hasonlóan szintén hordozók, míg a vad genotípus és a homozigóta (vagy összetett heterozigóta) mutáns genotípus kialakulásának valószínűsége 25-25%, a DADA2-ben szenvedő szülők gyermekeinél javasolt a genetikai vizsgálat elvégzése.

A DADA2 patogenezise

Az ADA2-deficiencia a makrofágok M1 típusú polarizációját okozza, melynek következménye a gyulladásos folyamat kialakulása. Bár az ADA2 nem expresszálódik endothelsejteken, zebrahallal végzett kísérletek arra utalnak, hogy az ADA2 hiánya jelentős szöveti és érkárosodással jár [1]. A makrofágok M1 típusú polarizációja és a vasculopathia mint egy circulus vitiosus vezet az endothel integritásának megromlásához [1]. Másfelől, az ADA2-deficienciában észlelt vasculitis a neutrofil granulocyták krónikus aktiválásának következményeként is felfogható [7]. Ennek alapján a neutrofil granulocytákban lévő MPO (mieloperoxidáz) transzfere az endothelialis sejtekben indítja be a gyulladásos folyamatot, tehát az ADA2 szabályzó szerepet tölthet be a neutrofil granulocyták aktivációjában, megakadályozva az MPO-expressziót és endothelkárosodást [8].

Az érfal integritásának megőrzése mellett az ADA2 jelentős szerepet tölt be a neoangiogenesisben is, ugyanis M2-szerű glioblastomaasszociált makrofágok thrombocytá növekedési faktor dependens útvonalon keresztül pericytákkal kommunikálnak, melynek következménye a pericyták vándorlása és új erek képződése. A géndefektus következtében ez az útvonal nagy valószínűséggel károsodik, mely klinikailag az ismert PAN-szerű vasculitis megjelenéséhez fog vezetni [9]. Az ADA2 neoangiogenesisben betöltött szerepe miatt jogosan vetődik fel a kérdés, hogy a DADA2-ben szenvedő betegnél gyakoribb-e a tumorok előfordulása, de erre egyelőre még nincsenek adatok.

A legújabb adatok szerint vasculitises DADA2 betegekben fokozott a NET- (neutrophil extracellular trap) képződés, amely annak tudható be, hogy a magasabb adenzinszint mellett igen magas az úgynevezett LDG- (low density granulocyte) sejtek száma, amely az enzim hiányában igen jelentős NET-képződésre hajlamos. A kialakult NET az M1 típusú makrofágokban NF-κB transzlokációhoz és következményes TNF-α-termeléshez vezet, mely képes tovább fokozni a NET képződését, ezáltal felfokozva a gyulladásos immunválaszt [10]. Az, hogy a NET, illetve a TNF-α milyen szerepet tölt be a döntően hematológiai érintettséggel jelentkező betegeknél, még tisztázásra vár [6]. A DADA2 betegek igen változatos fenotípusa arra utal, hogy neutrofil independens útvonalak is szerepet játszhatnak a betegség patogenezisében. Ez utóbbi mellett szólnak az IFN-szignatura-vizsgálatok is, ugyanis úgy tűnik, hogy az I. típusú IFN-útvonal aktivációjának mértéke korrelál a betegség aktivitásával, lefutásával, valamint a klinikai képpel [11, 12]. Annak tisztázására, hogy DADA2-ben milyen kapcsolat áll fenn a TNF-α és interferonszignatura között, további vizsgálatok szükségesek.

Genotípus és fenotípus korrelációja

Az eddigi irodalmi adatok alapján a DADA2 betegek fenotípusa igen változó. Ugyanazon homológ pontmutációkban szenvedő betegek esetében is a betegség megjelenésének az ideje, frekvenciája, klinikai tünetei lényegesen különböznek [13]. Mindez arra utal, hogy más genetikai, epigenetikai és környezeti tényezők is szerepet játszanak a betegség kialakulásában, de akár bakteriális infekció is [14]. A homozigóta p.Gly47Arg mutációját 19 zsidó és 15 török páciensnél igazolták, és gyerekkorban jelentkező, bőrre lokalizálódó PAN-nal hozták összefüggésbe [15]. A p.Arg169Gln mutáció esetében a betegség kezdetében, lefolyásában jelentős variabilitást észleltek (13). A p.Pro251Leu mutáció esetében jelentős ADA2-aktivitás-csökkenés volt észlelhető igen változó klinikai kép mellett [16]. A vasculitisszel vagy csontvelő-érintettséggel rendelkező DADA2 pácienseket összehasonlítva azt találták, hogy a szubtotális funkcióvesztéssel járók esetében döntően vasculitis a vezető tünet, mely jól reagál anti-TNF- α -kezelésre, míg a kifejezettebb funkcióvesztéssel járók esetében a hematológiai kórkép volt a vezető tünet, amely refrakter lehet az anti-TNF- α -terápiára [6]. A c.973-2A>G homozigóta splice site mutációját Behçet-szerű tünetekkel hozták összefüggésbe [17].

Klinikai manifesztációk

Az irodalmi adatok alapján nem sokkal több mint 200 DADA2-ben szenvedő beteg ismert világszerte [18]. A betegség a két nemet körülbelül azonos gyakorisággal érinti. Általában gyermekkorban, döntően 10 éves kor előtt jelentkeznek az első tünetek, de felnőttkori betegségkezdetet is leírtak már. A halálozás tekintetében elmondható, hogy 30 éves kor előtt akár 8%-os is lehet a mortalitás, melynek fő okai az ismétlődő stroke, illetve a különböző fertőzések [4].

A betegség alapja az adenozin-deamináz-2 enzim funkciójának károsodása, mely a katalitikus diszfunkció, az immun-diszfunkció és a növekedési faktor diszfunkció révén a proinflammatorikus sejtek felszaporodásához, gyulladásához, szövetkárosodáshoz és fibrosishoz, immundeficienciához, valamint vasculopathiához vezet [19]. Mindezek ismeretében nem meglepő, hogy a DADA2 igen változatos tünetek formájában manifesztálódhat, mely miatt felismerése nehéz. A betegség három fő klinikai megjelenési formája a vasculitis, az immun-funkciók zavara, valamint a hematológiai manifesztációk.

Vasculitis

A DADA2 leggyakoribb tünete a vasculitis, mely a kis és közepes ereket érinti, főként bőr- és központi idegrendszeri manifesztációkkal jár. A bőrtünetek közül a livedo reticularis a leggyakoribb, de előfordulhatnak nem specifikus bőrtünetek, subcutan csomók, erythema nodosumhoz hasonlító laesiók,

valamint a Raynaud-jelenség, bőrfekélyek, sőt akár ujjnekrozis is. A fentiek mellett a vasculitis érintheti a veséket (veseartéria aneurysma/szűkület, glomerulonephritis glomerularis hegesedéssel), a gastrointestinalis traktust (hasi fájdalom, krónikus gastritis, intestinalis éraneurysma, bélnekrozis, illetve -perforáció, májérintettség következményes transzaminázszint-emelkedéssel) [20], de olyan ritka formát is leírtak, mint a testicularis vasculitis következményes ischaemiával [21].

A neurológiai manifesztációk közül lacunaris ischaemiás stroke és vérzéses stroke egyaránt kialakulhat, de ezen túlmenően számos egyéb idegrendszeri érintő tünet jelentkezhet, mint az agyidegbénulás, di-, illetve paraplegia, ataxia, szenzineurális hallásvesztés, látásvesztés, kettős látás, nystagmus, perifériás polyneuropathia, mononeuritis multiplex, neuromyelitis, encephalopathia, cerebralis atrophia, tranzitorikus ischaemias attack [20].

Immundiszreguláció

A betegségben eddig leírt immundiszregulációhoz tartozik az immundeficiencia, lymphoproliferatív betegség és az autoimmun manifesztációk. A betegségben kialakuló immundeficiencia pontos patomechanizmusa még nem teljesen ismert, de a betegek legalább 25%-ában hypogammaglobulinaemia, 10%-ában lymphopenia, szintén 10%-ában alacsony memória-B-sejt-szám figyelhető meg. Az autoimmun jelenség kevésbé gyakori, de korábban szisztémás lupus erythematosusban, illetve autoimmun cytopeniában szenvedő betegnél megfigyeltek adenozin-deamináz-2-deficienciát [20].

Hematológiai manifesztációk

A hematológiai manifesztációk közül a legfontosabb és gyakran kezdeti eltérés a cytopenia. A DADA2 esetek több mint felében megfigyelhető az anaemia, melynek hátterében a krónikus gyulladás vagy a tiszta vörösvérsejt-aplasia állhat. Az esetek körülbelül 60%-ában leukopenia észlelhető, mely egyaránt érintheti a lymphoid és myeloid sejteket [22]. A thrombocytopenia kevésbé gyakori, az esetek körülbelül egyharmadában fordul elő. Ezen hematológiai eltérések gyakran nem önállóan, hanem pancytopenia formájában jelentkeznek. A DADA2-ben szenvedő betegeket a kialakuló immundeficiencia és a csontvelő-elégtelenség fogékonytá teszi mind a bakteriális, mind a virális infekciókra, melyek további szövdményekhez vezethetnek.

Egyéb tünetek

Az adenozin-deamináz-2-deficiencia klinikai manifesztációi közé tartozik a fentiekén kívül a visszatérő láz, fogyás, gyengeség, valamint a musculoskeletalis és cardiopulmonalis érintettség (myalgia, myositis, arthralgia, arthritis, hypertensio, pleuritis, pericarditis, myocarditis).

Diagnózis

A betegség igen változatos megjelenési formái miatt sok esetben nem egyszerű a diagnózis felállítása. Jelenleg nem áll rendelkezésre diagnosztikai kritérium. A pontos diagnózishoz nélkülözhetetlen az alapos fizikális vizsgálat, szemészeti vizsgálat, EKG készítése. Mindezek mellett elengedhetetlen néhány laboratóriumi vizsgálat elvégzése (vérkép, vörösvérsejt-süllyedés, CRP, máj- és vesefunkció, immunglobulinszintek, autoantitestek, lymphocytafenotipizálás). A képzővizsgálatok közül alapvető a hasi ultrahang elvégzése, az idegrendszeri eltérések miatt koponya-MR, illetve MR-angiográfia válhat szükségessé. A vasculitis igazolásához bőrbíopszia elvégzése javasolt, a hepaticus manifesztációk esetén pedig májbíopszia jöhet szóba.

Amennyiben a tünetek, illetve laboreltérések alapján alapos gyanú merül fel DADA2-re, a diagnózishoz az ADA2 funkcionális teszt szükséges. A funkcionális teszt során az ADA2 enzimaktivitását ELISA-, illetve HPLC-módszerrel mérik. DADA2 esetén hiányzó vagy alacsony (kevesebb mint a normál 5%-a) ADA2 enzimaktivitás figyelhető meg a szérumban vagy a plazmában. Fontos kiemelni, hogy közepesen csökkent ADA2-aktivitást mérhetünk úgynevezett mutációhordozó tünetmentes egyéneknél (carrier státusz) [20].

Amennyiben a funkcionális teszt DADA2 mellett szól, genetikai teszt elvégzése lehetséges a genetikai mutációk azonosítására. A DADA2 molekuláris genetikai teszt során lehetőség van egyetlen gén vizsgálatára, vagy használhatunk multigén panelt is. Széles körű genomikai tesztelésre leggyakrabban az exomszekvenálást alkalmazzák, de a genomszekvenálás is elérhető [23].

Differenciáldiagnózis

Differenciáldiagnosztikai szempontból nehézséget jelenthet a Diamond-Blackfan-anaemia, valamint az adenosin-deamináz-deficiencia által okozott súlyos kombinált immundeficiencia, mely utóbbi alacsony adenosin-deamináz-szinttel, T-, B- és NK-sejt-deplációval jár, ugyanakkor nincsenek jelen cerebrovasculáris és bőrtünetek. A DADA2-t el kell különíteni a GATA2-deficienciától, melyben az infekciók általában súlyosabbak, a vasculitises szövődmények viszont ritkábbak. A DADA2-höz szintén hasonló megjelenésű az autoimmun lymphoproliferatív szindróma, de sokkal több autoimmun jelenség figyelhető meg ezekben a betegekben. Ismert néhány olyan betegség, amelyben normál ADA2-szint mérhető, mégis DADA2-höz hasonló tünetekkel járnak, megnehezítve ezzel a diagnózis felállítását. Ezek közé tartozik a Behçet-kór [17], a polyarteritis nodosa, a Sneddon-szindróma, a CVID, a myalgia, myositis, fibromyalgia, arthralgia, arthritis, valamint az autoimmun neutropenia [23].

Terápia

Az adenosin-deamináz-2-deficiencia kezelését illetően még nincs egységes protokoll. Fontos kiemelni, hogy a stroke prevenciójában alkalmazott acetilsalicilsav, illetve antikoaguláns terápia a DADA2 betegeknek ellenjavallt, hiszen jelentősen megnövelik a vérzéses stroke kockázatát [1, 4]. A friss fagyasztott plazma alkalmazása az ADA2 fehérje pótlását szolgálja, de a rövid féléletidő miatt ez csak átmeneti terápiaként jön szóba. Intravénás immunglobulin azon betegeknek alkalmazandó, akiknél az antitestdeficiencia dominál, és visszatérő fertőzésektől szenvednek. A szteroid és egyéb immunosuppresszív szerek (azathioprin, metothrexat, ciclosporin, cyclophosphamid) hatékonysága DADA2-ben igen változó. A rituximab hasznos lehet az autoantitestek által indukált cytopenia kezelésében, bár ezzel változó sikereket értek el akár ITP-ről (idiopathiás thrombocytopeniás purpura), akár neutropeniáról volt szó [4, 20]). Anti-IL-6-tal egyelőre egy esetben értek el sikert [16, 24]. Jelenleg a TNF- α -gátlók az elsőként választandó szerek, melyek nemcsak gyulladásgátló hatásúak, hanem csökkentik az ischaemiás stroke rizikóját is, emellett enyhíthetik az immundeficienciát, a neutropeniát és a hepatosplenomegáliát. A thalidomid potenciális TNF-gátló abban az esetben, ha biológiai terápiára nincs lehetőség. A döntően hematológiai manifesztációkkal rendelkező betegek esetében az anti-TNF- α -terápia kevésbé hatékony, mindemellett a csontvelő-elégtelenség miatt bekövetkezett infekciókra való hajlamot tovább fokozhatja [6].

A végső kezelési mód haematopoeticus őssejtek transzplantációja, mely képes remissziót előidézni az immunológiai, hematológiai és vasculáris manifesztációk vonatkozásában egyaránt. Hashem és munkatársai által vizsgált, őssejttranszplantáción átesett DADA2 betegeknek nem jelent meg új vasculáris esemény, valamint 18 hónapos követés során 100%-os volt a túlélés. Mindezek alapján megállapították, hogy az őssejt-transzplantáció a DADA2 kezelésében hatékony és definitív terápia lehet [25]. Fontos kiemelni, hogy a donorválasztásnál minden olyan lehetséges donort ki kell zárni, akinél az ADA2 enzim aktivitása az úgynevezett hordozói intervallumban van [20].

Az őssejt-transzplantáció indikációját a betegség súlyossága határozza meg, viszont csak akkor jöhet szóba, ha a TNF-gátló kezelésre nem alakult ki megfelelő terápiás válasz [4]. A betegség kezelésében a jövőt a rekombináns PEG-ADA2-vel való szubsztitúció, illetve génterápia jelentheti [20].

IRODALOM

- [1] Zhou Q, Yang D, Ombrello AK, et al: Early-onset stroke and vasculopathy associated with mutations in ADA2. *N Engl J Med* 2014; 370(10): 911-920.
- [2] Navon Elkan P, Pierce SB, Segel R, et al: Mutant adenosine

- deaminase 2 in a polyarteritis nodosa vasculopathy. *N Engl J Med* 2014; 370(10): 921-931.
- [3] Simmonds HA, Webster DR, Perrett D, et al: Formation and degradation of deoxyadenosine nucleotides in inherited adenosine deaminase deficiency. *Biosci Rep* 1982; 2(5): 303-314.
- [4] Meyts I, Aksentijevich I: Deficiency of Adenosine Deaminase 2 (DADA2): Updates on the Phenotype, Genetics, Pathogenesis, and Treatment. *J Clin Immunol* 2018; 38(5): 569-578.
- [5] Zavialov AV, Engström A: Human ADA2 belongs to a new family of growth factors with adenosine deaminase activity. *Biochem J* 2005; 391(Pt1): 51-57.
- [6] Lee PY, Kellner ES, Huang Y, et al: Genotype and functional correlates of disease phenotype in deficiency of adenosine deaminase 2 (DADA2). *J Allergy Clin Immunol* 2020; 145(6): 1664-1672.e10.
- [7] Belot A, Wassmer E, Twilt M, et al: Mutations in CECR1 associated with a neutrophil signature in peripheral blood. *Pediatr Rheumatol Online J* 2014; 24(12): 44.
- [8] Jerke U, Rolle S, Purfürst B, et al: $\beta 2$ integrin-mediated cell-cell contact transfers active myeloperoxidase from neutrophils to endothelial cells. *J Biol Chem* 2013; 288(18): 12910-12919.
- [9] Zhu C, Chrifi I, Mustafa D, et al: CECR1-mediated cross talk between macrophages and vascular mural cells promotes neovascularization in malignant glioma. *Oncogene* 2017; 36(38): 5356-5368.
- [10] Carmona-Rivera C, Khaznadar SS, Shwin KW, et al: Deficiency of adenosine deaminase 2 triggers adenosine-mediated NETosis and TNF production in patients with DADA2. *Blood* 2019; 134(4): 395-406.
- [11] Skrabl-Baumgartner A, Plecko B, Schmidt WM, et al: Auto-immune phenotype with type I interferon signature in two brothers with ADA2 deficiency carrying a novel CECR1 mutation. *Pediatr Rheumatol Online J* 2017; 15(1): 67.
- [12] Insalaco A, Moneta GM, Pardeo M, et al: Variable Clinical Phenotypes and Relation of Interferon Signature with Disease Activity in ADA2 Deficiency. *J Rheumatol* 2019; 46(5): 523-526.
- [13] Van Montfrans JM, Hartman EAR, Braun KPJ, et al: Phenotypic variability in patients with ADA2 deficiency due to identical homozygous R169Q mutations. *Rheumatology (Oxford)* 2016; 55(5): 902-910.
- [14] Trotta L, Martelius T, Siitonen T, et al: ADA2 deficiency: Clonal lymphoproliferation in a subset of patients. *J Allergy Clin Immunol* 2018; 141(4): 1534-1537.e8.
- [15] Hashem H, Kelly SJ, Ganson NJ, Hershfield MS: Deficiency of Adenosine Deaminase 2 (DADA2), an Inherited Cause of Polyarteritis Nodosa and a Mimic of Other Systemic Rheumatologic Disorders. *Curr Rheumatol Rep* 2017; 19(11): 70.
- [16] Nanthapisal S, Murphy C, Omoyinmi E, et al: Deficiency of Adenosine Deaminase Type 2: A Description of Phenotype and Genotype in Fifteen Cases. *Arthritis Rheumatol* 2016; 68(9): 2314-2322.
- [17] van Well GTJ, Kant B, van Nistelrooij A, et al: Phenotypic variability including Behçet's disease-like manifestations in DADA2 patients due to a homozygous c.973-2A>G splice site mutation. *Clin Exp Rheumatol* 2019; 37 Suppl 121(6): 142-146.
- [18] Sag E, Demir S, Ozen S: Clusters in Pediatric Rheumatic Diseases. *Current Rheumatology Reports* 2020; 22(7): 28.
- [19] Human A, Pagnoux C: Diagnosis and management of ADA2 deficient polyarteritis nodosa. *Int J Rheum Dis* 2019; 22 Suppl 1: 69-77.
- [20] Moens L, Hershfield M, Arts K, et al: Human Adenosine Deaminase 2 Deficiency: A Multi-Faceted Inborn Error of Immunity. *Immunol Rev* 2019; 287(1): 62-72.
- [21] Clarke K, Campbell C, Omoyinmi E, et al: Testicular ischemia in deficiency of adenosine deaminase 2 (DADA2). *Pediatr Rheumatol Online J* 2019; 17: 39.
- [22] Lee PY: Vasculopathy, Immunodeficiency, and Bone Marrow Failure: The Intriguing Syndrome Caused by Deficiency of Adenosine Deaminase 2. *Front Pediatr* 2018; 6: 282.
- [23] Aksentijevich I, Moura NS, Barron K: Adenosine Deaminase 2 Deficiency. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2020. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544951/>
- [24] Van Nieuwenhove E, Humblet-Baron S, Van Eyck L, et al: ADA2 Deficiency Mimicking Idiopathic Multicentric Castleman Disease. *Pediatrics* 2018; 142(3): e20172266.
- [25] Hashem H, Kumar AR, Müller I, et al: Hematopoietic Stem Cell Transplantation Rescues the Hematological, Immunological, and Vascular Phenotype in DADA2. *Blood* 2017; 130(24): 2682-2688.

Dr. Majai Gyöngyike Emese, Debreceni Egyetem Klinikai Központ, Belgyógyászati Intézet, Klinikai Immunológiai Tanszék, 4032, Debrecen, Móricz Zsigmond körút 22., Telefonszám: +3652255480, e-mail: mgyongyi@med.unideb.hu)

Immunológiai szótár

hidegagtitest Mindazok az antitestek, amelyek 37 °C alatti hőmérsékleten szerológiailag nagyobb titerben detektálhatók mint 37 °C felett.

hígítási sor Valamely anyag fokozatos hígítása egy sor kémcsőben, amelyek közül az első kémcsőben van a legnagyobb és az utolsóban a legkisebb mennyiségű anyag.

himlő elleni védőoltás A Jenner által bevezetett klasszikus immunizálási eljárás, amelyben himlővírussal keresztreagáló antigént tartalmazó, emberben nem patogén tehénhimlőt használt. A hasonló vakcinavírust évekig sikeresen használták, a védőoltást azonban a himlő világméretű eradikálásának köszönhetően néhány éve beszüntették.

Arthrevin®

NAPI 1x

Egyedülálló összetétel természetes kollagén tartalommal

Arthrevin UC-II® porckészítményt és tömjénfa (Boswellia) kivonatot tartalmazó étrend-kiegészítő kapszula mangánnal és C-vitaminnal

- UC-II®: nem denaturált (natív) II. típusú kollagént tartalmazó szabadalmazott standardizált porított porckészítmény étrend-kiegészítési célokra.
- A tömjénfa (Boswellia) gyanta kivonat hozzájárul az ízületek normál állapotának fenntartásához.
- A C-vitamin hozzájárul a normál kollagén-képződéshez és ezen keresztül a porcok normál állapotának és működésének fenntartásához.
- A mangán hozzájárul a normál kötőszövet-képződéshez.



5 doboz megvásárolt Arthrevin
vonalkódjának beküldése után

1 dobozt ajándékba
küldünk postán

Ajánlott fogyasztói ár: 5990 Ft
Hűségprogramban elérhető ár: 4990 FT

A Sager Hűségprogrammal kapcsolatos további információkért látogasson el honlapunkra:

www.arthrevin.hu

Az étrend-kiegészítő nem helyettesíti a kiegyensúlyozott, vegyes étrendet és az egészséges életmódot.

A UC-II® és emblémája a Lanza és társvállalatainak védjegyei.

Osteoarthritis kezelése nem denaturált II-es típusú kollagénnel – a gyulladásos alapoktól a klinikai eredményekig

SZÜCS GABRIELLA, SZEKANECZ ZOLTÁN, SZAMOSI SZILVIA

Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Belgyógyászati Intézet, Reumatológiai Tanszék, Debrecen

Az osteoarthritis (OA) a mozgásszervi fogyatékoság egyik leggyakoribb oka, az OA miatti következményes betegségteher jelentős, ami az öregedő társadalmakkal egyre nagyobb problémát jelent. Az OA patogenezisének alapját az ízületi porc degradációja mellett alapvető gyulladásos folyamatok jellemzik, aminek végső következményeként az ízület valamennyi alkotórésze károsodik. Kezelésére vonatkozóan a változó nemzetközi ajánlások a nem farmakológiai és farmakológiai eljárásokat tartalmazzák, aminek része a porcvédelem. Közleményünkben a chondroprotectiv lehetőségek közül a nem denaturált II-es típusú kollagén kezeléssel kapcsolatos kísérleti és klinikai vizsgálatok eredményeit tekintjük át.

Kulcsszavak: osteoarthritis, porcvédelem, nem denaturált II-es típusú kollagén

TREATMENT OF OSTEOARTHRITIS WITH UNDENATURED TYPE II COLLAGEN – FROM THE UNDERLYING INFLAMMATORY PROCESSES TO CLINICAL RESULTS

Osteoarthritis (OA) is one of the most common causes of musculoskeletal disability, with a significant disease burden and a growing problem with aging societies. In addition to the degradation of articular cartilage, the pathogenesis of OA is characterized by underlying inflammatory processes that result in significant damage in all components of the joint. For the treatment of OA different international recommendations involve non-pharmacological and pharmacological procedures, which include cartilage protection. Among the chondroprotective options, we review the results of experimental and clinical studies on the treatment of undenatured type II collagen.

Keywords: osteoarthritis, chondroprotection, undenatured type II collagene

Bevezetés

Az osteoarthritis (OA) felnőtteknél a krónikus mozgásszervi fogyatékoság egyik leggyakoribb oka, ahol a fájdalom és a megváltozott ízületi funkciók miatt alapvetően romlik a betegek életminősége, ami negatív pszichoszociális változásokat is eredményez.

Az OA patogenezisének ismerete jelentősen bővült az elmúlt években a kutatásoknak köszönhetően, egyben arra is rávilágítva, hogy igen komplex mechanizmusról van szó, aminek több lépése adhat lehetőséget a patogenezis terápiás befolyásolására. A kórfolyamat kialakulásában az ismert biomechanikai tényezőkön túl alapvető szerepe van a gyulladásos folyamatoknak, a porcdegradációnak, az extracelluláris mátrix megváltozásának. Ezekbe a folyamatokba történő beavatkozással cél lehet az OA előrehaladásának lelassítása vagy megállítása. Bár számos tanulmányt végeztek az OA patogenezisééről és kezeléséről, nincsenek megfelelően hatékony stratégiák a porc és a periarticularis csont progresszív pusztulásának megfordítására vagy blokkolására.

Az eddigi eredmények alapján az OA patológiájának egyik alapja a chondrocytaapoptosis és az extracelluláris mátrix (ECM) degenerációja, amit indukálhatnak a subchondralis csont kóros változásai is. Az ízületi porc 1%-a chondrocyta és 99%-a extracelluláris mátrix, amire a mindennapi életben kompressziós, nyírási és egyéb összetett mechanikai ingerek hatnak. A chondrocyták a porcállományt alkotó proteoglikánokat, kollagént, ezek lebontását-építését biztosító enzimeket (pl. mátrix metalloproteinázokat [MMP]) és más komponenseket termelnek, ahol az ECM lebontása és szintézise közötti dinamikus egyensúly döntő a porc homeosztázisának fenntartásában. Az ízületi porcot alkotó kollagén elsődlegesen II-es típusú kollagén (C-II, 60%), kisebb mennyiségű IX- és XI-es típusú kollagén mellett. Az OA folyamata során a chondrocyták hipertrófiája és proliferációja következik be, fokozódik a különböző MMP-k, aggregázok, proteoglikánok és C-X szintézise, ami a chondrocyták anyagcseréjének rendellenességeit és az ECM lebontás-szintézis egyensúlyának felborulását eredményezi [1].

A kalcifikált porc erősen mineralizált közbülső réteg az

ízületi porc és a csont között, 20%-ban C-II-ből áll, ami speciális barrierként működik az ízületi porc és a subchondralis csont között, biztosítva a porcszövet hypoxiás mikrokörnyezetét is, miközben megtartott féligáteresztő membrán hatása fenntartja a homeosztázist a kis molekulák számára biztosított csatornákkal. Az OA előrehaladtával azonban ez a barrierfunkció is sérül, elősegítve ezzel a mikrotöréseket és az angiogenezist. A porc-subchondralis csont kapcsolatban a mikrokörnyezeti tényezőktől függően több molekularendszer játszik szerepet, így a bone morphogenetic protein (BMP), a fibroblast növekedési faktorok (FGF), illetve a Wnt rendszer [2–5].

Az utóbbi évek képkötő, patológiai és klinikai vizsgálatai igazolták, hogy a kóros porcremodellings mellett OA-ban a synoviumban gyulladásos folyamatok is jellemzőek, amik feltételezhetően még korábban fordulnak elő, mint a porc molekuláris változásai [6–8]. Számos artroszkópos, MRI- és ultrahangvizsgálati eredmény megerősítette a synovialis morfológiai változások (megvastagodás, oedema) fennállását az OA korai szakaszában, kiegészítve a patológiai vizsgálatok eredményeivel, amik synovialis vascularizációt és hiperpláziát is igazoltak [9–12]. Az OA-s synovialis gyulladásban a makrofágok és a CD4+ T-sejtek az elsődleges gyulladásos sejtek, amelyek felelnek a proinflammatorikus mediátorok, citokinek, kemokinek termelődéséért. Ezek a molekulák tovább fokozzák a proteolitikus enzimek termelését, ezáltal a porcmátrix degradációját. A főbb proinflammatorikus citokinek az interleukin-1 β (IL-1 β), a tumornekrozis-faktor- α (TNF- α), melyek serkentik az MMP-k, elsősorban az MMP-1, -3, -13, valamint az ADAMTS enzimek (aggrekázok), a prosztoglandin E2, a ciklooxygenáz és a foszfolipáz A2 termelődését, felgyorsítva ezzel a gyulladásos folyamatokat. Párhuzamosan az IL-1 és TNF- α gátolják a normál porcállományhoz szükséges fehérjék (aggrekán, C-II) termelődését. Az OA gyulladásos folyamatában ugyancsak szerepet játszanak egyéb gyulladásos citokinek, mint az IL-6, IL-17 és IL-8, valamint a makrofág kemotaktikus fehérje- (MCP-) 1, az interferon által indukált fehérje- (IP-) 10 és az interferon által indukált monokin (MIG) szerepe is feltételezhető. A mechanikai tényezők nemcsak fizikai szempontból vesznek részt a patológiás folyamat kialakulásában, hanem azzal is, hogy az ízületi terhelés önmagában is fokozza a proinflammatorikus molekulák és proteázok termelődését, ami szöveti károsodáshoz vezet [13–15].

A humán rheumatoid arthritis (RA) és az arthritises állatmodellek eredményei – mi hasznosítható az OA kezelésében?

Annak fényében, hogy az OA valódi synovialis gyulladásos jelenségeket mutat, adekvátan következik a felvetés, hogy a gyulladásos folyamat befolyásolásával eredményeket érhe-

tünk el OA-ban is. Ehhez szükséges az RA patogenezisének rövid áttekintése.

Az RA a krónikus gyulladásos ízületi betegségek prototípusa, sokízületi gyulladás, az ízületi porc és csont destrukciója jellemzi. A genetikai hajlamosító tényezők mellett környezeti tényezők is szerepet játszanak a folyamat elindításában, ahol a citrullinált proteinekből származó, MHC II. által bemutatott peptidok ún. arthritogen peptidként szerepelnek. A patogenezis további folyamatában egyaránt rész vesznek az adaptív és az innate immunrendszer sejtjei (Th1-, Th17-, B-sejtek, makrofágok, dendritikus sejtek stb.), és igazolt a proinflammatorikus citokinek és MMP-k fokozott szintézise. A vezérlő proinflammatorikus citokinek az IL-6 és a TNF- α , amelyek semlegesítése jó terápiás eredményeket hozott, és amik fokozatosan kiegészültek egyéb terápiás célpontok alkalmazásának sikereivel (anti-CD20, kostimulációgátlás stb.). Annak ellenére, hogy az elérhető kezelések egyre több beteg számára biztosítják a remissziót vagy alacsony betegségaktivitást, a refrakter esetek ellátásához újabb és újabb terápiás fejlesztések szükségesek. Ezek megcélózhatják a gyulladásos vonal különböző molekuláit vagy sejtjeit, de szóba jöhet a kóros gyulladásos reakciót és immunválaszt ellensúlyozó molekulák és sejtek szerepének fokozása is. Ez utóbbi szereplők egyike a regulatorikus T-sejt (Treg), amik antigénspecifikus módon gátolhatják a fokozott, kóros immunválaszt transforming growth factor β (TGF- β) és IL-10 termelésén keresztül [16], amire az RA kezelésével kapcsolatosan [17, 18], valamint refrakter Crohn-betegségben [19] is vannak eredmények.

Ismert, hogy arthritis-állatmodellekben RA-nak megfelelő ízületi gyulladás provokálható. Ilyen például a kollagénindukált arthritis (CIA) egérmodell, ahol parenteralisan bejuttatott C-II hatására alakul ki sokízületi gyulladás. A gyulladásos folyamat hasonló a humán RA-hoz, illetve van adat terápiás célból beadott kollagénspecifikus Treg-sejtek ízületi gyulladást csökkentő hatásáról CIA-modellben [20].

A gyulladásos folyamatok hasonlóságát figyelembe véve várakozással tekinthetünk az RA kezelésében alkalmazott célzott terápiák hatékonyságára OA-ban is. Sajnos ezek nem váltották be a hozzájuk fűzött reményeket, az anti-IL-1-, anti-IL-6- és az anti-TNF- α -kezelés nem hozott eredményeket OA-ban [21]. Kérdés, hogy a gyulladást ellensúlyozó regulatorikus folyamatok serkentésén keresztül érhető-e el eredmény az OA kezelésében.

Kollagénindukált arthritis... helyett tolerancia

Mint láttuk, bizonyos állatmodellekben kollagén intraperitonealis bevitelle mellett arthritis alakul ki. Ugyanakkor, a perifériás immuntolerancia szabályozásának ismeretében, ugyanez az antigén más, orális beviteli móddal toleranciát válthat ki. A választott antigén többszöri kis dózísú orális bevitelével az antigénmolekulák a bélasszociált nyirokszövetben (gut-

associated lymphoid tissue [GALT]) váltanak ki antiinflammatorikus választ a következő mechanizmussal: a Peyer-plakkokban a dendritikus sejtek felveszik és bemutatják az antigént, aminek következményeként fokozódik az antigénspecifikus Treg-sejtek aktivitása és IL-10-, valamint TGF- β -termelése. Ezek az aktív Treg-sejtek kilépve a mesenterialis nyirokcsomókba, a lépbe és a szisztémás keringésbe, általános gyulladásgátló hatással bírnak. Ez a mechanizmus eredményezi az orális C-II-kezelés igazolt gyulladásgátló hatását CIA-ban, csökkentve a synovitis tüneteit [22]. A hatékonyság a kollagénmolekula beviteli módjától is függ, a kollagén II poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticulumokba csomagolva hatékonyabbnak bizonyult, mivel lassú felszabadulása miatt tartósan befolyásolja a Peyer-plakkok sejtjeinek működését [23]. Más vizsgálatok során az is igazolódott, hogy a hatás szempontjából fontos a kollagénmolekulák megtartott harmadlagos és negyedleges szerkezete. Gyulladásgátló hatást ugyanis csak a nem denaturált, harmadlagos helikális szerkezetét megtartott II-es típusú kollagén (UC-II) eredményezett, ami a gyomornedvben 90 perc múlva is 50%-ban oldatlan állapotban volt stabil glikozilált építőjaival, a denaturált formával szemben [24].

Patkány-CIA állatmodellben orálisan bevitt csirke-C-II hatására szignifikánsan javultak a klinikai ízületi gyulladás tünetei, szövettani vizsgálatban csökkent a synovialis hiperplázia, a mononukleáris sejt infiltráció, a pannus és a porc destrukciója. Molekuláris szinten pedig szignifikánsan csökkent a mesenterialis nyirokcsomókban a proinflammatorikus IL-2 és IL-17, míg fokozódott az antiinflammatorikus IL-4 és TGF- β termelődése. Párhuzamosan emelkedett a Treg-sejtek aránya a Th17-sejtek arányának csökkenése mellett. Ezek az eredmények arra utaltak, hogy az orálisan adagolt C-II fontos szerepet játszik az immunrendszer szabályozásában, a Th1/Th2 és a Th17/Treg egyensúly helyreállításának irányában CIA patkánymodellben [25, 26].

Orális kollagénkezelés, toleranciaindukció humán rheumatoid arthritisben

Az eddig említett eredmények állatmodellekben igazolódtak. Emellett történtek humán vizsgálatok is, ahol RA-ban és juvenilis idiopathiás arthritisben (JIA) szenvedő betegeket kezeltek C-II-vel, és a klinikai tünetek szignifikáns javulását észlelték általában 12 hét kezelést követően. Egyik vizsgálatban sem jelentkeztek olyan jelentős mellékhatások, amelyek a kollagénkezelésnek tulajdoníthatók. A vizsgálatok egy része nagyobb számú beteg bevonásával történő randomizált, placebo-kontrollált vizsgálat volt [27–31]. Tekintettel arra, hogy az RA és JIA esetében több megfelelő, hatékonyabb célzott kezelés érhető el, az említett toleranciaindukció nem került be ezen betegségek terápiás ajánlásaiba.

Orális kollagénkezelés osteoarthritisben

Mint láttuk, az orális kollagénbevitel toleranciaindukció révén csökkentheti a gyulladásos ízületi betegségek aktivitását mind állatmodellekben, mind humán betegségben. Ugyanakkor felmerül a kérdés, hogy van-e egyáltalán hasonló hatása OA-ban (figyelembe véve, hogy OA-ban is lényeges gyulladásos patogenezis van, bár nem primeren immunológiai eredetű), vagy maga a kollagénbevitel más módon hatásos-e OA-ban, ahol a porc alapvető fehérjemolekulája, a C-II károsodik a betegség kialakulása és progressziója során.

Ismételten az állatkísérletek eredményeivel kezdve, több állatfaj esetén jelentek meg pozitív eredmények elsősorban nem denaturált II-es típusú kollagén (UC-II) kezeléssel kapcsolatban, figyelembe véve a korábban említett molekuláris szerkezettől függő hatékonyságot. A kísérleti kutyákkal, lovakkal, macskákkal végzett tanulmányok [32–35] eredményei azt mutatták, hogy az UC-II önmagában javította az állatok ízületi állapotát, összehasonlítva a placebóval vagy a glükózamin + kondroitin kiegészítéssel 3–5 hónapos kezelés során. A legújabb, ugyancsak kutyákon végzett vizsgálat nem szteroid gyulladásgátlóval összehasonlítva, azzal egyenértékű hatékonyságúnak bizonyult az UC-II-kezelés randomizált kontrollált vizsgálatban [36]. Az OA patkánymodelljében [37] az UC-II szignifikánsan javította a műtét utáni térdszerkezetet és -funkciókat, és kivédte a porckárosodást szövettani vizsgálatokkal is igazolva.

A biztató állatkísérletek eredményei után humán vizsgálatok is történtek. Lugo és mtsai [38] randomizált, kettős vak, placebo-kontrollált vizsgálatban egészséges önkénteseknél (55 fő, akiknek korábban nem volt ízületi panaszuk vagy ismert betegségük) mérték a térdextenziót (nyújtást) meghatározott gyakorlat végzése során, ahol a kezelés 120 napig napi 40 mg UC-II volt. Az UC-II szedése mellett szignifikánsan hosszabb volt a fájdalom jelentkezésének ideje a placebohoz képest lépcsőző gyakorlat végzése közben. Egy későbbi vizsgálatban ugyancsak Lugo és mtsai (39) már nagyobb számú betegen végeztek multicentrikus randomizált kettős vak placebo-kontrollált vizsgálatot 191 közepesen súlyos/súlyos térd-OA-ban szenvedő beteg bevonásával. Az UC-II- és placebokezelés mellett a harmadik karon a betegek glükózamin + kondroitint (G + C; 1500 + 1200 mg/nap dózis) kaptak 180 napon keresztül. A WOMAC (Western Ontario McMaster Universities Osteoarthritis Index), a fájdalom VAS (Visual Analogue Scale) és az LFI (Lequesne Algoritmikus Index) alapján az UC-II-kezelés szignifikánsan hatékonyabb volt nemcsak a placebohoz, hanem a G + C kezeléshez képest is. Emellett az UC-II szedése csökkentette az OA miatt alkalmazott fájdalomcsillapítók mennyiségét is. A porcdegradációt jelző biomarker, az oligomer mátrixfehérje (COMP) elemzése azt mutatta, hogy magasabb kiindulási szintű UC-II-kezeltek értéke csökkent szignifikánsan a vizsgálatban. Egy 52 térd-OA-ban szenvedő beteget bevonó pilot vizsgálatban [40] ugyan-

csak G + C-kezeléssel hasonlították össze az UC-II-terápia hatékonyságát. A 90 napos kezelés során a UC-II-terápia szignifikánsan jobbnak bizonyult a G + C kezeléshez képest mind a WOMAC, mind a fájdalom VAS, mind pedig az LFI mérésével. Valamennyi vizsgálatban jól tolerálható volt az UC-II-kezelés, nem volt szignifikáns mellékhatás, illetve a farmakológiai-toxikológiai vizsgálatok is az UC-II biztonságosságát igazolták [41, 42].

Chondroprotectiv szerek az OA kezelésében

Az OA kezelése a már kialakult tünetek melletti eljárásokat jelenti, de még ez előtt elsődleges szempont a primer prevenció az optimális testsúly megtartásával, megfelelő fizikai aktivitással. A tünetek kialakulásakor a terápiás ajánlások alapja ugyancsak az életmódbeli változtatások elindítása, a szekunder okok kiküszöbölése és a betegségre adaptált megfelelő fizikai aktivitás mellett a speciális fizioterápia végzése. Ezek mellett súlyosabb tünetek esetén választható a mechanikai terhelés csökkentését segítő eszközök használata, illetve a fájdalomcsillapítók, nem szteroid gyulladásgátlók (helyi és orális) szedése, intraarticularis injekciók (hialuronán, szteroidok) alkalmazása. Ezen kezelések kiegészíthetők chondroprotectiv szerekkel. A chondroprotectiv szerek alkalmazásának elsődleges célja OA-ban a porcdegradáció gátlása, lehetőség szerint a porc helyreállításának serkentésével, ezzel lassítva az OA progresszióját, késleltetve a funkcióvesztést. A porcvédelem célpontjai lehetnek az előzőekben említett gyulladásos folyamat egyes elemei, amiknek egy részére célzottan történt kontrollált vizsgálatok, és amiknek jelentős része nem hozott megfelelő klinikai eredményt, míg más vizsgálatok (pl. MMP enzimek gátlását célzó terápiák) még folyamatban vannak [21]. A napi gyakorlatban széles körben alkalmazott az elsősorban táplálékkiegészítőként forgalmazott kondroitin-szulfát és a glükózamin-szulfát azok, amik a vizsgálatok alapján fokozzák a porcsejtek proteoglikán- és kollagénszintézisét, illetve valamennyire részt vesznek az MMP aktivitásának gátlásában is. Fájdalomcsillapító hatásukra vonatkozóan ellentmondók az eredmények, így a kezelési ajánlások is különböző módon említik ezeket a szereket [44-46].

Az előző részekben említett UC-II szintén táplálékkiegészítőként érhető el különböző kiegészítésekben. Az UC-II-vel végzett klinikai, szövettani és molekuláris vizsgálat eredményei alapján a porcvédő hatás elsősorban a molekula gyulladásgátló aktivitása, a proinflammatorikus-antiinflammatorikus egyensúly utóbbi irányába való elmozdítása, a regulatorikus folyamatok fokozása révén érvényesül, aminek eredménye a porcdegradáció csökkenése. A natúr UC-II készítményeken kívül bizonyos készítmények egyéb kiegészítőket is tartalmaznak. Így például van olyan készítmény Magyarországon, amelyben a UC-II mellett található boswellinsav, a

humán leukocytaelasztáz gátlásával csökkenti az ízület struktúrális fehérjéinek lebontását az enzim, segítve ezzel az eredeti UC-II hatását.

Összefoglaló megjegyzések

Az OA okozta betegségteher tartósan jelentős a társadalmakban, és az előregedő társadalmi tendenciát figyelembe véve, egyre nagyobb kihívást jelent. Ennek kezeléséhez jelenleg olyan valódi betegségmódosító terápia, ami ezt a patológias folyamatot érdemben visszafordítja, nem áll rendelkezésünkre. Ezért minden olyan nem farmakológiai és farmakológiai lehetőséget ki kell használnunk, ami lassíthatja a betegség romlását és javíthatja az életminőséget, figyelembe véve a beteg és a betegség sajátosságait, egyénre szabott terápia választásával.

IRODALOM

- [1] Loeser RF, Goldring SR, Scanzello CR, et al: Osteoarthritis: a disease of the joint as an organ. *Arthritis Rheum* 2012; 64: 1697.
- [2] Hochberg MC, Guermazi A, Guehring H, et al: Effect of Intra-Articular Sprifermin vs Placebo on Femorotibial Joint Cartilage Thickness in Patients With Osteoarthritis: The FORWARD Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2019; 322: 1360.
- [3] Luyten FP, Tylzanowski P, Lories RJ: Wnt signaling and osteoarthritis. *Bone* 2009; 44: 522.
- [4] van der Kraan PM, van den Berg WB: Osteophytes: relevance and biology. *Osteoarthritis Cartilage* 2007; 15: 237.
- [5] Blaney Davidson EN, Vitters EL, Bennink MB, et al: Inducible chondrocyte-specific overexpression of BMP2 in young mice results in severe aggravation of osteophyte formation in experimental OA without altering cartilage damage. *Ann Rheum Dis* 2015; 74: 1257.
- [6] Zhen G, Wen C, Jia X, et al: Inhibition of TGF- β signaling in mesenchymal stem cells of subchondral bone attenuates osteoarthritis. *Nat Med* 2013; 19: 704.
- [7] Berenbaum F: Osteoarthritis as an inflammatory disease (osteoarthritis is not osteoarthrosis!). *Osteoarthritis Cartilage* 2013; 21(1): 16-21.
- [8] Benito MJ, Veale DJ, FitzGerald O, et al: Synovial inflammation in early and late osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64(9): 1263-7.
- [9] Sharma L, Chmiel JS, Almagor O, et al: Significance of preradiographic magnetic resonance imaging lesions in persons at increased risk of knee osteoarthritis. *Arthritis Rheumatol* 2014; 66: 1811.
- [10] Heinemeier KM, Schjerling P, Heinemeier J, et al: Radiocarbon dating reveals minimal collagen turnover in both healthy and osteoarthritic human cartilage. *Sci Transl Med* 2016; 8: 346ra90.
- [11] Taljanovic MS, Graham AR, Benjamin JB, et al: Bone marrow edema pattern in advanced hip osteoarthritis: quantitative assessment with magnetic resonance imaging and correlation with clinical examination, radiographic findings, and histopathology. *Skeletal Radiol* 2008; 37: 423.

- [12] Loeuille D, Chary-Valckenaere I, Champigneulle J, et al: Macroscopic and microscopic features of synovial membrane inflammation in the osteoarthritic knee: correlating magnetic resonance imaging findings with disease severity. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 3492.
- [13] Wang X, Hunter DJ, Jin X, et al: The importance of synovial inflammation in osteoarthritis: current evidence from imaging assessments and clinical trials. *Osteoarthritis Cartilage* 2018; 26: 165.
- [14] Struglics A, Larsson S, Kumahashi N, et al: Changes in Cytokines and Aggrecan ARGS Neopeptide in Synovial Fluid and Serum and in C-Terminal Crosslinking Telopeptide of Type II Collagen and N-Terminal Crosslinking Telopeptide of Type I Collagen in Urine Over Five Years After Anterior Cruciate Ligament Rupture: An Exploratory Analysis in the Knee Anterior Cruciate Ligament, Nonsurgical Versus Surgical Treatment Trial. *Arthritis Rheumatol* 2015; 67: 1816.
- [15] Sohn DH, Sokolove J, Sharpe O, et al: Plasma proteins present in osteoarthritic synovial fluid can stimulate cytokine production via Toll-like receptor 4. *Arthritis Res Ther* 2012; 14: R7.
- [16] Li TF, O'Keefe RJ, Chen D: TGF-beta signaling in chondrocytes. *Front Biosci* 2005; 10: 681-8.
- [17] Nadkarni S, Mauri C, Ehrenstein MR: Anti-TNF- α therapy induces a distinct regulatory T cell population in patients with rheumatoid arthritis via TGF- β . *J Exp Med* 2007; 204: 33-39.
- [18] Nie H, Zheng Y, Li R, et al: Phosphorylation of FOXP3 controls regulatory T cell function and is inhibited by TNF- α in rheumatoid arthritis. *Nat Med* 2013; 19: 322-328.
- [19] Desreumaux P, Foussat A, Allez M, et al: Safety and efficacy of antigen-specific regulatory T-cell therapy for patients with refractory Crohn's disease. *Gastroenterology* 2012; 143: 1207-1217.
- [20] Asnagli H, Martire D, Belmonte N, et al: Type 1 regulatory T cells specific for collagen type II as an efficient cell-based therapy in arthritis. *Arthritis Res Ther* 2014; 16(3): R115
- [21] Mimpfen JY, Snelling SJB: Chondroprotective Factors in Osteoarthritis: a Joint Affair. *Current Rheumatology Reports* 2019; 21: 41.
- [22] Kyung-Su Park, Min-Jung Park, Mi-La Cho, et al: Type II collagen oral tolerance; mechanism and role in collagen-induced arthritis and rheumatoid arthritis, *Modern Rheumatology* 2009; 19(6): 6:581-589.
- [23] Kim WU, Lee WK, Ryoo JW, et al: Suppression of collagen-induced arthritis by single administration of poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles entrapping type II collagen: a novel treatment strategy for induction of oral tolerance. *Arthritis Rheum* 2002; 46(4): 1109-20.
- [24] Bagchi, D, Misner, B, Bagchi, M, et al: Effects of orally administered undenatured type II chicken collagen against arthritic inflammatory pathologies: a mechanistic exploration. *Int J Clin Pharmacol Res* 2002; 22: 101-110.
- [25] Tong Tong, Wei Zhao, Ying-Qi Wu: Chicken type II collagen induced immune balance of main subtype of helper T cells in mesenteric lymph node lymphocytes in rats with collagen-induced arthritis. *Inflamm Res* 2010; 59: 369-377.
- [26] Broere F, Wieten L, Klein Koerkamp EI, et al: Oral or nasal antigen induces regulatory T cells that suppress arthritis and proliferation of arthritogenic T cells in joint draining lymph nodes. *J Immunol* 2008; 15: 899e906.
- [27] Barnett ML, Kremer JM, Trentham DE: Treatment of rheumatoid arthritis with oral type II collagen. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 290-297.
- [28] Felson DT, Anderson JJ, Boers M, et al: American College of Rheumatology preliminary definition of improvement in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 727-735.
- [29] Corrigan VM, Panayi GS: Autoantigens and immune pathways in rheumatoid arthritis. *Crit Rev Immunol* 2002; 22: 281-293.
- [30] Sieper J, Kary S, Sörensen H, et al: Oral type II collagen treatment in early rheumatoid arthritis. A double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 41-51.
- [31] Wei Wei, Ling Ling Zang, Jian-Hua Xu: A multicenter, double-blind, randomized, controlled phase III clinical trial of chicken type II collagen in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2009; 11(6): R180.
- [32] Gupta RC, Canerdy TD, Lindley J, et al: Comparative therapeutic efficacy and safety of type-II collagen (UC-II), glucosamine and chondroitin in arthritic dogs: pain evaluation by ground force plate. *J Anim Physiol Anim* 2012; 96(5): 770-7.
- [33] D'Altilio M, Peal A, Alvey M, et al: Therapeutic efficacy and safety of undenatured type II collagen singly or in combination with glucosamine and chondroitin in arthritic dogs. *Toxicol Mech Methods* 2007; 17(4): 189-96.
- [34] Gupta RC, Canerdy TD, Skaggs P, et al: Therapeutic efficacy of undenatured type-II collagen (UC-II) in comparison to glucosamine and chondroitin in arthritic horses. *J Vet Pharmacol Ther* 2009; 32(6): 577-84.
- [35] Gencoglu H, Orhan C, Sahin E, et al: Undenatured Type II Collagen (UC-II) in Joint Health and Disease: A Review on the Current Knowledge of Companion Animals. *Animals* 2020; 10: 697. doi: 10.3390/ani10040697.
- [36] Stabile M, Samarelli R, Trerotoli P: Evaluation of the Effects of Undenatured Type II Collagen (UC-II) as Compared to Robenacoxib on the Mobility Impairment Induced by Osteoarthritis in Dogs. *Vet Sci* 2019; 6: 72. doi: 10.3390/vetsci6030072.
- [37] Bagi CM, Berryman ER, Teo S, et al: Oral administration of undenatured native chicken type II collagen (UC-II) diminished deterioration of articular cartilage in a rat model of osteoarthritis (OA). *Osteoarthritis Cartilage*. 2017; 25(12): 2080-90.
- [38] Lugo JP, Saiyed ZM, Lau FC, et al: Undenatured type II collagen (UC-II®) for joint support: a randomized, double-blind, placebo-controlled study in healthy volunteers. *J Int Soc Sports Nutr* 2013; 10(1): 48.
- [39] Lugo JP, Saiyed ZM, Lane NE: Efficacy and tolerability of an undenatured type II collagen supplement in modulating knee osteoarthritis symptoms: a multicenter randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Nutr J* 2016; 15: 14.
- [40] Crowley DC, Lau FC, Sharma P, et al: Safety and efficacy of undenatured type II collagen in the treatment of osteoarthritis of the knee: a clinical trial. *Int J Med Sci* 2009; 6(6): 312-21.
- [41] Marone PA, Lau FC, Gupta RC, et al: Safety and toxicological evaluation of undenatured type II collagen. *Toxicol Mech Methods* 2010; 20(4): 175-89. a) Burdock Group. Dossier in

Support of the Generally Recognized As Safe (GRAS) Status of UC-II® as a Food Ingredient. Internal data, 2009.

- [42] Kolasinski SL, Neogi T, Hochberg MC, et al: 2019 American College of Rheumatology/Arthritis Foundation Guideline for the Management of Osteoarthritis of the Hand, Hip, and Knee, *Arthritis & Rheumatology* 2020; 72(2): 220–233.
- [43] Kroon FPB, Carmona L, Schoones JW, et al: Efficacy and safety of non-pharmacological, pharmacological and surgical treatment for hand osteoarthritis: a systematic literature review informing the 2018 update of the EULAR recommendations for the management of hand osteoarthritis. *RMD Open*. 2018; 4(2): e000734. doi: 10.1136/rmdopen-2018-000734. eCollection 2018.

- [44] McAlindon TE, Bannuru RR, Sullivan MC: OARSI guidelines for the non-surgical management of knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2014; 22(3): 363–88.
- [45] Huang Z, Ding C, Li T, et al: Current status and future prospects for disease modification in osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2018; 57(suppl_4): iv108.

(Dr. Szűcs Gabriella, Debreceni Egyetem Belgyógyászati Intézet, Reumatológiai Tanszék, 4032 Debrecen, Nagyterdei krt. 98., e-mail: szucs.gabriella@med.unideb.hu)

Immunológiai szótár

hiper-IgE-szindróma A tünetegyüttesre visszatérő, staphylococcusos hideg tályog, perzisztens ekcémával járó egyéb fertőzések, magas szérumban IgE-szint és a neutrofil leukocyták kemotaxisának zavara jellemző.

hypergammaglobulinaemia A szérumban gamma-globulin emelkedett szintje. Diffúz (vagyis nem csak egyetlen immunoglobulin-osztályra jellemző) emelkedés a szérumban gamma-globulin-szintjében minden olyan állapottal kapcsolatosan előfordul, amelyben folyamatos antigénstimuláció eredményeként nagy mennyiségű antitest termelődik, pl. krónikus fertőzésben, autoimmun betegségekben és esetenként különféle ismeretlen eredetű krónikus betegségekben. Paraproteinaemiában éles, magas elektroforetikus csúcs látható, amely monoklonális eredetű.

hiperimmun állapot Egy bizonyos antigénnel való ismételt találkozást követő állapot, amelyre nagy mennyiségű, specifikus antitest termelése vagy a sejtközvetített immunitás nagyon magas szintje jellemző.

hiperimmunizáció Az immunizálásnak valamennyi fajtája, amelynek célja nagy mennyiségű antitest termelése vagy a sejtközvetített immunitás magas szintjének elérése.

hiperszenzitivitás Korábban már immunizált szervezetben lejátszódó reakció, amelyben további antigén adásakor a kiváltott immunológiai reakció szövetsérülést okoz. A hiperszenzitivitás lehet antitestközvetített, mint pl. az azonnali típusú túlérzékenység vagy az Arthus-reakció, vagy sejtközvetített, mint pl. késői típusú túlérzékenységben. A hiperszenzitivitás vagy túlérzékenység kifejezés az antigénre adott fokozott válasza utal, bár nehéz ezzel a meghatározással il-

letni minden hiperszenzitivitási reakciót, különösen a sejtközvetített típusút.

hiperszenzitivitási reakció, I. típusú A hiperszenzitivitási reakciók Gell és Coombs által bevezetett osztályozásában használt kifejezés. Az I. típusú reakcióban az antigén antitesthez kötődik, amely utóbbi passzívan sejtek – főleg hízósejtek – felszínéhez kötődik, és vazoaktív anyagok felszabadulását okozza. E hatása szinonim az azonnali típusú túlérzékenységgel vagy az anafilaxiával. A szóban forgó sejthez kötött antitest általában IgE; az antigént gyakran allergénnek nevezik. Típusbetegségek a szénanátha és az asthma.

hiperszenzitivitási reakció, II. típusú A hiperszenzitivitási reakciók Gell és Coombs által bevezetett osztályozásában használt kifejezés. A II. típusú reakcióban az antitest valamilyen sejtfelszíni antigénhez kapcsolódik, vagy olyan antigénhez vagy hapténhez, amely a sejtfelszínhez kötődött. A típusbetegségek közé tartozik a Goodpasture-szindróma és a transfúziós reakciók. Ha az antitest komplementkötő típusú, sejtlyízis játszódik (immuncitolízis).

hiperszenzitivitási reakció, III. típusú A hiperszenzitivitási reakciók Gell és Coombs által bevezetett osztályozásában használt kifejezés. Ebben a reakcióban a szöveti sérülés immunkomplexek hatására következik be, különösen enyhe antigénfeleslegben keletkezett szolubilis komplexek hatására. Típusbetegségek: szérumbetegség, extrinsic allergiás alveolitis és szisztémás lupus erythematosus (SLE). Ezekben a betegségekben a komplexek az érfalon rakódnak le, és ezeket az akut fázisban gyulladásos sejtek, különösen neutrofil leukocyták veszik körül. Később ezeket mononukleáris sejtekből álló infiltrátum helyettesíti (Arthus-reakció és glomerulonephritis).

Mesenchymalis őssejtek immunológiai tulajdonságai

KUN-VARGA ANIKÓ¹, KEMÉNY LAJOS^{1, 2}, VÉGH EDIT³, SZAMOSI SZILVIA³, CSOMOR PÉTER³, SZEKANECZ ZOLTÁN³, VERÉB ZOLTÁN^{1, 2}

¹Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika, Regeneratív Medicina és Celluláris Farmakológiai Kutató Laboratórium, Szeged

²Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika, Transzlációs Biomedicina Kutató Intézet, Szeged

³Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Belgyógyászati Intézet, Reumatológiai Tanszék, Debrecen

A mesenchymalis őssejtek kulcsszerepet játszanak a homeosztázis és a szövetek integritásának fenntartásában más sejt-típusok és szövetek irányába lévő jelentős differenciálódási képességüknek köszönhetően. A mesenchymalis őssejtek immunmoduláló funkciója szintén jól ismert, az immunszuppresszió kialakítását a gyulladást elősegítő citokinek gátló szabályozásával és a gyulladásgátló folyamatok serkentő szabályozásával érik el. A patogén molekuláris szignálok, például a Toll-szerű receptorok ligandumai hatására és a gyulladást elősegítő citokinek által kiváltott mesenchymalis őssejt immunválasza részleteiben nem ismert és igen ellentmondásos terület is. A mesenchymalis őssejt által közvetített immunmoduláció eredménye nagyban függ az immunsejtekkel való közvetlen és közvetett kölcsönhatásoktól. Az elhúzódó gyulladás gátolja a mesenchymalis őssejt szöveti regenerációs képességét és elégtelen immunszabályozó aktivitáshoz vezet.

Kulcsszavak: mesenchymalis őssejt, gyulladás, immunszuppresszió, regeneratív medicina

IMMUNOLOGICAL PROPERTIES OF MESENCHYMAL STEM CELLS

Mesenchymal stem cells play a key role in the maintenance of homeostasis and tissue integrity due their significant differentiation potential into another cell types and tissues. Mesenchymal stem cells are also well known for their immunomodulatory function, characterized by the initiation of immunosuppression by down-regulating of pro-inflammatory cytokines and up-regulating of anti-inflammatory processes as well. However, immune responses to pathogenic molecular signals, such as Toll- like receptor ligands, and the effects of the exposure to pro-inflammatory cytokines in mesenchymal stem cells are a controversial topic which details are yet to be elucidated. The outcome of mesenchymal stem cell-mediated immunomodulation depends deeply on the direct and indirect interactions with immune cells. Prolonged inflammation inhibits the tissue regeneration potential of mesenchymal stem cells and leads to insufficient immunoregulatory activity.

Keywords: mesenchymal stem cell, inflammation, immunosuppression, regenerative medicine

Bevezetés: őssejtek

A stabil, diploid kromoszómakészlettel rendelkező őssejtek differenciálatlan sejtek, amelyek képesek létrehozni egy vagy több differenciálódott sejtípust, ugyanakkor rendelkeznek az önmegújulás képességével is. Az őssejtek osztódása során két őssejt vagy egy őssejt és egy valamilyen differenciációs útvonal felé elkötelezett sejt keletkezik, az utóbbi fokozatosan elveszti pluripotenciáját. Az egyedfejlődés korai szakaszában már megfigyelhetők, de a felnőtt szervezetben is megtalálhatóak differenciálatlan állapotban maradó őssejtek. A felnőtt szervezetben nagyon kevés szöveti őssejt található, ugyanakkor bizonyos szövetekben és szervekben igen aktív, különösen olyan nagy igénybevételnek kitett terü-

teken, ahol a sejtek, sejtrétegek folyamatos pótlása elengedhetetlen az adott szövet vagy szerv működéséhez (pl. a Lieberkühn-cryptákban vagy a bőr legalsó rétegében megtalálható őssejtek).

Szinte minden szövetünkben és szervünkben megtalálhatóak, ugyanakkor fontos hangsúlyozni, habár nagy proliferációs potenciállal bírnak, mégsem halhatatlanok, gyulladásos folyamatok és oxidatív stressz hatására ugyanis „öregszenek”, mutációk halmozódhatnak fel bennük és számos esetben a sejthalál különböző útvonalai is aktiválódnak (apoptózis, nekrozis stb.). A felnőtt szervezetben jelen lévő őssejteknek kiemelt szerepük van a szervezet homeosztázisában, a szövetek és a szervek regenerációjában [1]. Bizonyos betegségek vizsgálata során bebizonyosodott, hogy az emberi

szervezetben az őssejtek számának csökkenése, vagy valamilyen funkciójuk elvesztése, megváltozása fontos szerepet játszik a betegség kialakulásában [2–5].

Őssejtek típusai

Az őssejtek egyik osztályozásának alapja differenciációs potenciáljuk típusa. Differenciációs potenciáljuk alapján megkülönböztetünk totipotens, pluripotens, multipotens, valamint unipotens őssejteket. Fogantatáskor a magkezdemény sejtjei totipotensek. A totipotens sejtekből bármilyen típusú sejtek kialakulhatnak, képesek embrionális és extraembrionális szövetek, szervek létrehozására. Elkötelezettségük kicsi, de differenciációs potenciáljuk a legnagyobb. Emberben totipotens sejtnek tekinthető a megtermékenyített petesejt. Pluripotens sejteknek nevezzük azokat az őssejteket, amelyek nem képesek extraembrionális szövet létrehozására, de mindhárom csíralemez és ivarsejtek képzésére egyaránt alkalmasak. Ilyen sejteket találunk a hólyagcsíra belső sejtjöttömegében. Potenciáljuk kisebb fokú, mint a totipotens őssejteké, már nem képesek trofoblastsejteket képezni, amelyek az embrió táplálásában szerepet játszó szövetek kialakításáért felelősek. Még kevesebb differenciációs potenciállal rendelkeznek a multipotens sejtek. A felnőtt őssejtek csak bizonyos sejtekké képesek differenciálódni, például a haematopoeticus őssejtek esetében csak vérsejtekké. Az unipotens sejtek csak önmagukkal megegyező sejtekké alakulnak, osztódásuk száma genetikai program által meghatározott és önmegújító képességgel rendelkeznek.

Az őssejteket előfordulásuk alapján három csoportba sorolhatjuk: pluripotens embrionális őssejtek, szöveti őssejtek vagy progenitor sejtek és indukált pluripotens őssejtek.

Embrionális őssejt

Az első humán embrionális őssejteket (embryonic stem cell, ESC) 1998-ban James Thomson és munkatársai állították elő emberi petesejtek mesterséges megtermékenyítése során nyert blasztociszták felhasználásával [6]. A fejlődő embrió (blasztociszta) belső sejtjöttömegéből izolálható, és sejt kultúrában való tenyésztéssel ESC-kolóniák nyerhetők. Ezek a sejtek pluripotensek, és nem tudnak extraembrionális szöveteket kialakítani. Testünk bármely sejt típusa létrehozható ESC-kból és *in vitro* körülmények között korlátlan számú osztódásra képesek [7]. Számos etikai probléma merül fel felhasználásukkal kapcsolatban [8].

Szöveti őssejt vagy progenitor sejt

A szöveti őssejtek (somatic stem cell / adult stem cell / tissue stem cell, SSC) önmegújulásra képesek, multi- vagy unipotensek és differenciálatlan állapotban az adott szerv vagy szövet speciális területein halmozódnak fel. A humán szer-

vezetben számos helyen találhatóak progenitor sejtek (PC-k), ilyenek például az agy, a bőr, a szem és a béltraktus. A szöveti őssejtek osztódását és differenciálódását az úgynevezett őssejtniche-ből (őssejtkörnyezet) érkező jelek (pl. kemokinek, citokinek, integrinek) kontrollálják. Ezen környezeti tényezők hatására a PC-k sokféle genetikai programot képesek véghezvinni, plaszticitásukat igen komplex és adaptív szabályozórendszer biztosítja. A szöveti őssejtek *in vitro* körülmények között többnyire nehezen szaporíthatók a programozott élettartam és speciális mikrokörnyezeti igényeik miatt.

A vérképző rendszerben a haematopoeticus őssejtek (HSC) tartják fent az egyensúlyt az érett, pusztuló sejtek és az újonnan keletkezett sejtek között, melyek a CD34+ HSC-kból képződnek. Az embriogenezis korai szakaszában a HSC-k az extraembrionális szizacszkóban alakulnak ki, később az extraembrionális artériákban és az embrionális aorta falában is megtalálhatóak. Ugyanakkor ma a leginkább elfogadott elmélet szerint a HSC-k előalakjai nem az extraembrionális szizacszkóban, hanem az embrióban fejlődő aorta falában jönnek létre [9]. HSC-ket a legnagyobb mennyiségben a felnőtt csontvelőben, különösen a pelvis, a femur és a sternum területén találhatunk. Kis mennyiségben a perifériás vérben is fellelhetőek és természetes forrásuk még a köldökzsinórvér is.

Indukált pluripotens őssejt

2006-ban Yamanaka és munkatársai először egér, majd humán fibroblastsejtekből ESC-khez hasonló tulajdonságokkal rendelkező sejteket állítottak elő négy kulcsfontosságú transzkripciós faktor segítségével (Oct4, SOX2, Klf4 és c-Myc). Ezeket a sejteket indukált pluripotens őssejteknek (induced pluripotent stem cell, iPSC) nevezzük [10]. Az ESC-k felhasználása során felmerülő etikai és jogi akadályok kikerülhetők iPSC-k használatával. iPSC-k mRNS [11], vírusok (Loh et al 2007), fehérjék [12] és kémiai anyagok indukciója által hozhatóak létre.

Mesenchymalis őssejtek

A mesenchymalis őssejteket (MSC) elsőként Friedenstein és munkatársai azonosították 1970-ben mint a csontvelő stromaállományának fibroblastoid morfológiát mutató progenitor sejtjeit [13]. A mesenchymalis őssejtek főként a csontvelőből (bone marrow, BM) származnak, de megtalálhatóak szinte minden más szövetben és szervben is, mint például a zsírszövetben, a perifériás vérben, májban, tüdőben és a szívben is. A csontvelőben elsődleges funkciójuk a stromaállomány kialakítása, speciális mikrokörnyezet biztosítása a HSC-k részére, így aktív szereplők a haematopoeticus sejtek túlélésének szabályozásában és érett sejtekké való differenciációjában [14]. Ahhoz, hogy egy sejtet MSC-ként definiáljunk, meg kell felelnie a Mesenchymal and Tissue Stem Cell Committee of the ISCT által megfogalmazott kritériumoknak [15, 16].

Ezek alapján a sejteknek adhaerensnek kell lenniük a sejtenyészti felületekhez, *in vitro* képesnek kell lenniük csont-, zsír- és porcszövet létrehozására, továbbá sejtfelszínükön expresszálniuk kell a CD73, CD90 és CD105 molekulákat a CD11b, CD14, CD19, CD34, CD45 és HLA-DR haematopoieticus sejtekre jellemző sejtfelszíni fehérjék hiánya mellett [14, 15].

A MSC-k ectodermális és endodermális sejtekké képesek differenciálódni, ezáltal magas plaszticitást mutatnak, meghatározó szerepük van fiziológiai és kóros folyamatok szabályozásában. A MSC-k migrációs mintázatát és funkcionális diverzifikációját különböző szabályozó szignálok irányítják, mint például a citokinek, amelyek a veleszületett immunitás és a gyulladás kulcsfontosságú szabályozói.

Az MSC-k immunológiai tulajdonságai

Az MSC-k immunomodulációs képessége

Az MSC immunomoduláló tulajdonságait elsőként Di Nicola és munkatársai bizonyították be, miszerint a csontvelői MSC-k (BM-MSC-k) gátolták a T-sejt-proliferációt kevert limfocita reakcióban (mixed lymphocyte reaction, MLR) [17]. Az immunológiai folyamatokban a MSC-k többféle módon vesznek részt. Ismert, hogy az általuk termelt citokinek és növekedési faktorok segítségével szabályozzák mikrokörnyezetüket, más sejtek – köztük az immunsejtek – differenciációját és állapotban antiangiogenikusak. Az MSC immunomoduláló képessége azonban függ a kapott gyulladásos jelek típusától és erősségétől [18, 19]. Gyulladásos stimulusokra [pl. interferon- γ (IFN- γ), tumornekrozis-faktor- α (TNF- α), Toll-szerű receptor (TLR-) mediált aktiváció] az MSC-k antiapoptotikussá, proangiogenikussá és immunosuppresszívává válnak [20–22], illetve képesek a gyulladást csökkenteni az általuk termelt faktorok, mint pl. az interleukin-6 (IL-6), indolamin-2,3-dioxigenáz (IDO), HLA G5 (humán leukocytaantigén G5), interleukin-10 (IL-10), transzformáló növekedési faktor béta-1 (TGF- β 1), hepatocytanövekedési faktor (HGF), HOX-1, IL-1Ra (IL-1-receptor-antagonista), prosztaglandin E2 (PGE2), és sejt-sejt kontaktus segítségével [22–24]. Az IDO a triptofán kinureninné való átalakításával gátolhatja az immunsejtek, különösen a T-sejtek és a természetes ölősejtek proliferációját [21, 25, 26]. Az IDO-t szekretáló MSC-k képesek elnyomni az allogén T-sejtek reaktivitását és elősegítik a veseallograft toleranciáját [26]. Az IDO és a PGE2 szintézisének és aktivitásának blokkolása fordított szuppresszív hatást eredményez. Ebben a folyamatban két faktor szinergikusan hat [25, 27]. Az IL-6 pleiotróp citokin, amelynek kiemelt szerepe van az immunválasz fenntartásában, a gyulladás kialakításában, ugyanakkor elengedhetetlen eleme a vérképzésnek is [28]. A sejtek többsége nem termel konstitutívan IL-6-ot, azonban expressziója számos citokinnel vagy TLR-liganddal előidézhető, például LPS-sel vagy TNF α -val [29, 30]. A TNF-stimulált 6. gén (TSG6) multifunkcionális fehérje, amelynek gyulladásgátló

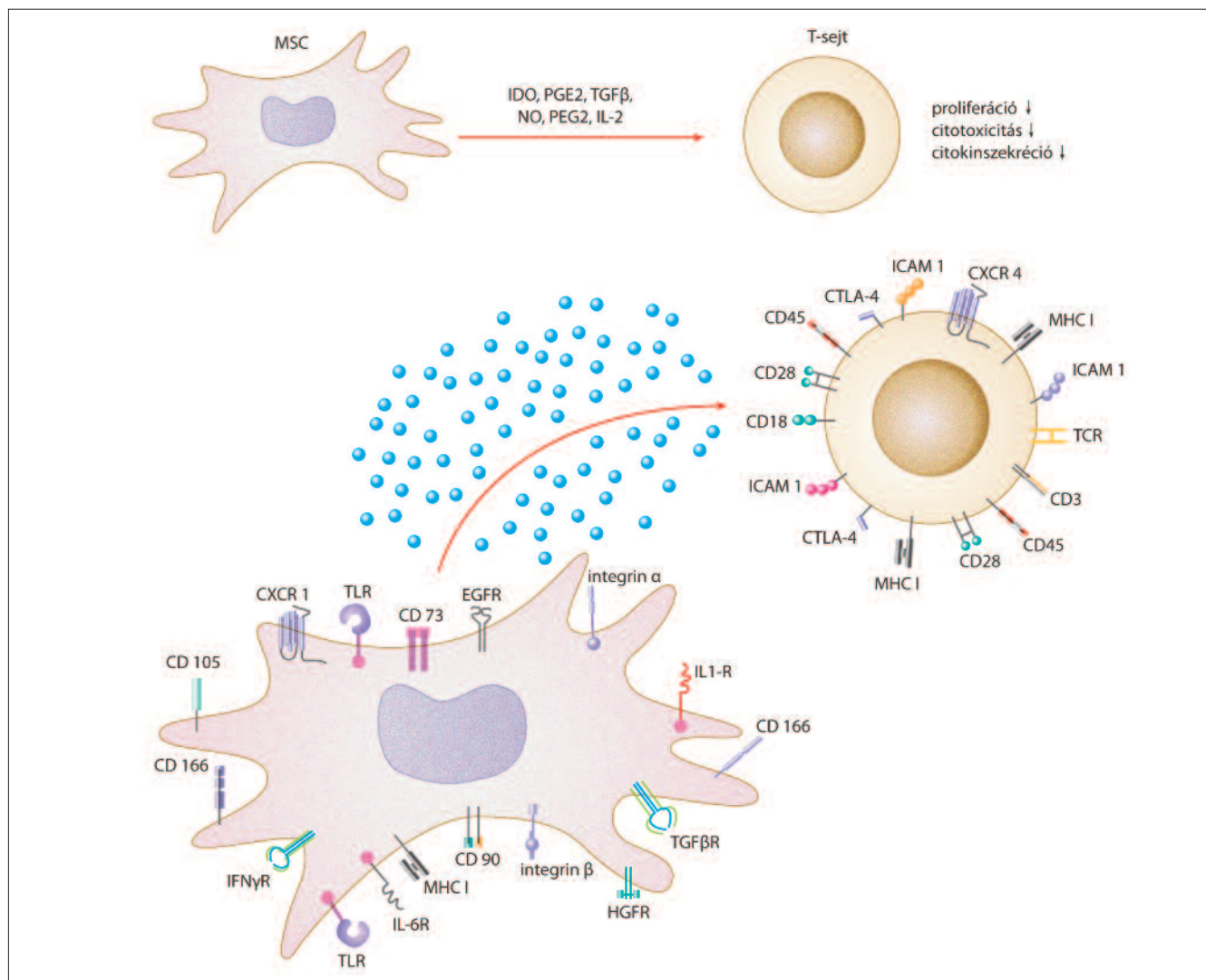
hatása van. A gyulladásgátló mediátorok, mint például a TNF- α és az IL-1, stimulálhatják a TSG6 szekrécióját [31]. A TSG6 jelentős szerepet játszik a gyulladás és az infarktus mértékének csökkentésében, valamint a szív működés javításában [32]. Az MSC-k által szekretált, immunosuppresszióban fontos HGF-et vagy TSG6-ot hatékonyan alkalmazták immunrendszeri betegségek kezelésére kísérletes modellekben [33]. Az MSC-k immunmoduláló képessége és annak kimenetele nagyban függ a szöveti eredettől (zsír, csontvelő stb.), az adott mikrokörnyezettől és az interakciós partnerektől is.

T-lymphocyták

Az MSC-k és T-sejtek közötti kapcsolat intenzíven tanulmányozott terület, azonban teljes részleteiben még nem ismert. A MSC-k több ponton és számos mechanizmus révén megváltoztathatják a T-sejtek differenciációs és aktivációs folyamatait (1. ábra). Az MSC-k nagy mennyiségű immunosuppresszív faktort és kemokint szekretálnak, valamint adhéziós molekulát expresszálnak. Ezek a komponensek az effektor-T-sejtek szuppressziójáért felelősek, és részt vesznek a T-sejt-proliferációban, -apoptózisban, valamint a -differenciációban is [34, 35].

Az adaptív immunrendszer kulcskomponense a T-sejt-mediált immunválasz [36]. Funkciójuk széles spektrumú lehet, attól függően, hogy az immunválasz során milyen effektor-sejtekké differenciálódnak [37]. A csecsemőmirigyben a haematopoieticus őssejt eredetű T-lymphocytá-előalakok különböző fejlődési stádiumokon keresztül speciális T-sejtekké fejlődnek [38]. A CD4+ T-sejtek T-helper 1 (Th1), Th2, Th9, Th17 vagy szabályozó T-sejt- (Treg-) alpopulációvá differenciálódhatnak [39, 40], ami függ a stimuláció erősségétől és a citokinmiliótól [40–43]. Különböző fertőzések aktiválják és elősegítik a CD8+ T-sejtek citotoxikus T-lymphocytákká való differenciálódását, ezek a sejtek granzimeket, perforineket és különböző citokineket szekretálnak a fertőzött sejtek eliminálására [44].

Az MSC-k erősen gátolják a T-sejtek proliferációját mind *in vitro*, mind *in vivo*. *In vitro* a T-lymphocyták anti-CD3- és anti-CD28-specifikus antitestekre adott válaszként vagy alloantigének hatására proliferálódnak [45]. A T-sejt-proliferáció nem igényel MHC- (major histocompatibility complex) korlátozást, az MSC-k hasonló hatást fejtenek ki naiv és memória CD4+ és CD8+ T-sejtekre egyaránt. A MSC-proliferáció gátló hatása T-sejteken a TGF- β és HGF felszabadulásával közvetített folyamat, amely a ciklin D2 csökkenéséhez és a p27kip1-expresszió növekedéséhez vezet T-sejteken, ami végül a proliferáció megállítását eredményezi a G0/G1 fázisban. A ciklin D2 alulszabályozódása és kostimuláló molekulák expressziójának hiánya T-sejt-anergiát eredményez apoptózis indukálódása nélkül. Ugyanakkor a triptofán kinureninné történő átalakításával [46] és a Fas/Fas-ligand függő sejthalálút vonalak beindításával az MSC-k képesek az aktivált T-sejtek apoptózisát is indukálni [47].



1. ábra

Mesenchymalis őssejt (MSC) és T-sejt interakció az MSC-mediált immunszuppresszió során. További magyarázat a szövegben

Az MSC immunszuppresszív funkcióit biztosító kulcsfontosságú molekulák fajtárgyok, emberekben az MSC-k által termelt IDO, egerekben az iNOS (indukálható nitrogén-oxid-szintáz) által termelt nitrogén-monoxid (NO) és kemokinek játszanak kulcsszerepet az MSC-k által közvetített immunmodulációban [48–50]. Az iNOS katalizálja az NO termelését in vivo, amely nagy koncentrációban erősen immunszuppresszív [51]. A GVHD (graft versus host disease) egérmodelljeiben és kísérleti arthritisben iNOS^{-/-} vagy iNOS-inhibitorokkal kezelt MSC-k nem voltak képesek elnyomni a T-sejtek aktivációját [34, 52], ezáltal kiemelve a NO fontosságát az MSC-mediált immunszuppresszióban. Az IDO erősen gátolja a T-sejtek proliferációját a triptofán lebontásával és triptofán-metabolitok felhalmozódásával [22, 53].

Mindazonáltal az egér- és az emberi MSC T-sejt-gátlásban számos közös molekula vesz részt. Az egyik, talán a legfontosabb molekula a PGE2. Az egércsontvelő-MSC nagy mennyiségű PGE2-t szekretál, ez a molekula elősegíti az EAE

(kísérletes encephalomyelitis) gátlását, a kollagén által kiváltott arthritis mérséklését és kevert lymphocita reakció elnyomását [54–56].

Az MSC-k számos kemokint és adhézións molekulát termelnek, mint például CXC kemokinreceptor 3 (CXCR3) ligandokat, 5-ös típusú C-C kemokinreceptor (CCR5) ligandokat, intercelluláris adhézións molekula 1-et (ICAM-1/CD54) és a vaszkuláris sejt adhézións molekula 1-et (VCAM-1). Az effektor- és memória-T-sejtek jelentős CXCR3-expressziót mutatnak, így a gyulladásos környezetben lévő sejtek – köztük az MSC-k által termelt CXCL9 (kemokin ligand 9), CXCL10 (kemokin ligand 10) és CXCL11 (kemokin ligand 11) kemokinek – kiemelten fontosak a sérülés helyére történő lymphocytaborzáshoz, így biztosítva az optimális immunszuppresszív funkciót is [34, 35, 57, 58].

MSC-k és a perifériás vér mononukleáris sejteinek (PBMCs) együtt tenyésztése során CCL1 (kemokin ligand 1) indukálódik, ami a Th2 citokinprofil szekréciójához és allogén sejtek

citotoxikus T-sejt mediált lízis gátlásához vezet [59]. Továbbá az MSC-k által szekretált más gátlófaktorok, mint például PGE-2, IDO és TGF- β , kölcsönhatása az immuneffektorsejtekkel negatívan befolyásolja a T-sejtek aktivációját és funkcióit [60].

A HLA-G (humán leukocitaantigén G) konstitutív exprezióját és a B7-H4 koinhibítormolekula funkcionális szerepét már korábban leírták, miszerint konstitutív kifejeződésük immunosuppresszív hatást gyakorol a T-sejtek aktivációjára, proliferációjára és a T-sejt-mediált citotoxicitásra is. A HLA-G vagy B7-H4 gátlása blokkoló antitestekkel szignifikánsan nö-

velte a lymphocytaproliferációt, ezzel azt sugallva, hogy mindkét molekula az MSC-k immunosuppresszív tulajdonságainak közvetítésében vesz részt [59, 61, 62].

Nemcsak a T-sejtek proliferációjának gátlásával, hanem bizonyos T-sejt-alpopulációk *de novo* indukciójával is modulálják az immunválaszt, CD4+CD25+FoxP3+-expanzióval és CD8+ szabályozó T-sejtekkel (Treg) [63], amelyek az allogén lymphocytaproliferáció gátlásáért felelősek [59].

A fentieket összegezve ki kell emelni, hogy a szolúbilis immun szabályozó molekulák és az adhéziós molekulák indu-

1. táblázat. Szolúbilis és sejtfelszíni molekulák szerepe a mesenchymalis őssejt (MSC) általi immunmodulációban

MSC interakciós partner	Szolúbilis molekula	Sejtes molekula	Hatás
B-sejt	IDO, PGE-2, G-CSF	ICAM-1, LFA-1, VLA-4, integrin- β 1, IL-1Ra, sejt-sejt kontaktus: PD-1/PD-L1, CCL2, IL-1Ra, VEGF	Gátolja a proliferációt, az aktivációt, a kemotaxist és a plazmasejtté való differenciációt B-sejtek differenciációjának, proliferációjának és aktivációjának elősegítése
T-sejt	PGE-2, IDO, NO, TGF- β , iNOS, PEG2, IL-10, IL-2, HGF, HO-1, HLA-G5, B7-H4, EV-k, metabolitok, kemokinek	CTLA-4, ICAM-1, CXCR4, TSG-6, Notch1, CCL2, TRAIL, CXCL9, CXCL10, sejt-sejt kontaktus: Fas/FasL szignalizáció CXCR3 és CCR5 ligandumok, ICAM-1, VCAM-1	A proliferáció, a differenciáció, az aktiváció, a citokinszekréció, citotoxicitás, a túlélés és a citotoxicitás gátlása T-sejtek toborzása
Makrofág	HGF, EGF, KGF, VEGF- α , TGF, MIP, IDO, PGE-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, GM-CSF, TGF- β , IL-1Ra, NO,	LFA-1, integrin β 1, CCL2, CCL3, CCL-7 CCL-12, CD86, CD206, TSG-6, exoszómák	Gátolja az antigénprezentációt és az M1 átalakulást, valamint elősegíti az M2 makrofágokká való differenciációt
Természetes ölősejt	IDO, PGE-2, TGF- β , IL-2, IL-3, IL-15, metabolitok	ICAM-1, HLA-5G, integrin β 1, integrin β 2, FLT-3L, EV-k, sejt-sejt kontaktus: CD73, TLR4 CCL2	Gátolja a proliferációt, a migrációt, a differenciációt, az érést, az aktivációt és az IFN γ -termelést Progenitor NK-sejtek proliferációjának és aktivációjának elősegítése.
Dendritikus sejt	PGE-2, BMP-4, TNF- α , IL-6, IL-10, IL-12, NO, TSG-6, M-CSF, Jagged2	CD80, CD83, CD86, EV-k, sejt-sejt kontaktus: Notch útvonal aktiváció	Gátolja az érést, az aktivációt, a migrációt, az endocitózist és az antigénprezentációt, valamint a differenciációt, az IL-12-szekretáló képességet és a sejtciklust

Az MSC általi immunomoduláció direkt és indirekt kapcsolatokat és kommunikációs utakat igényel, mely nagymértékben függ a mikrokörnyezettől és az interakciós partnerektől is.

IDO: indolamin-2,3-dioxigenáz, PGE-2: proszttaglandin E2, G-CSF: granulocytakolónia-stimuláló faktor, NO: nitrogén-monoxid, TGF- β : transzformáló növekedési faktor β , iNOS: indukálható nitrogén-oxid-szintáz, IL: interleukin, HGF: hepatocytá növekedési faktor, HO-1: hemoxigenáz-1, HLA-G5: humán leukocita-antigén-G5, B7-H4, EV-k: extracelluláris vezikula, EGF: epidermalis növekedési faktor, KGF: keratinocytá növekedési faktor, VEGF- α : vaszkuláris endothelialis növekedési faktor- α , TGF: transzformáló növekedési faktor, MIP: makrofág gyulladásos protein, GM-CSF: granulocytá-makrofág kolóniasztimuláló faktor, IL-1Ra: interleukin-1-receptor-antagonista, BMP-4: csont morfogenetikus protein-4, TNF- α : tumornekrózis-faktor- α , TSG-6: TNF-stimulált gén-6-fehérje, M-CSF: makrofágkolónia-stimuláló faktor, ICAM-1: intracelluláris adhéziós molekula 1, LFA-1: lymphocytafunkció-asszociált antigén 1, VLA-4: very late antigen-4, CCL2: kemokin (C-C motívum) L2-es ligandum, CXCR4: 4-es típusú C-X-C kemokinreceptor, TSG-6: tumornekrózis-faktor stimulálható gén-6, CXCL9: kemokin ligand, CXCR3: 3-as típusú C-X-C kemokinreceptor, CCR5: 5-ös típusú C-C kemokinreceptor, VCAM-1: vaszkuláris sejtadhéziós fehérje 1, CCL3: kemokin (C-C motívum) L3-as ligandum, CCL-7: kemokin (C-C motívum) L7-es ligandum, CCL12: kemokin (C-C motívum) L12-es ligandum, CD206: mannózureceptor, FLT-3L: FMS-szerű tirozinkináz-3-ligand, CD73: ekto-5'-nukleotidáz, TLR4: Toll-szerű receptor 4

kálható együttes expressziója elengedhetetlen a hatékony T-sejt-gátláshoz (1. táblázat) [34, 35].

B-lymphocyták

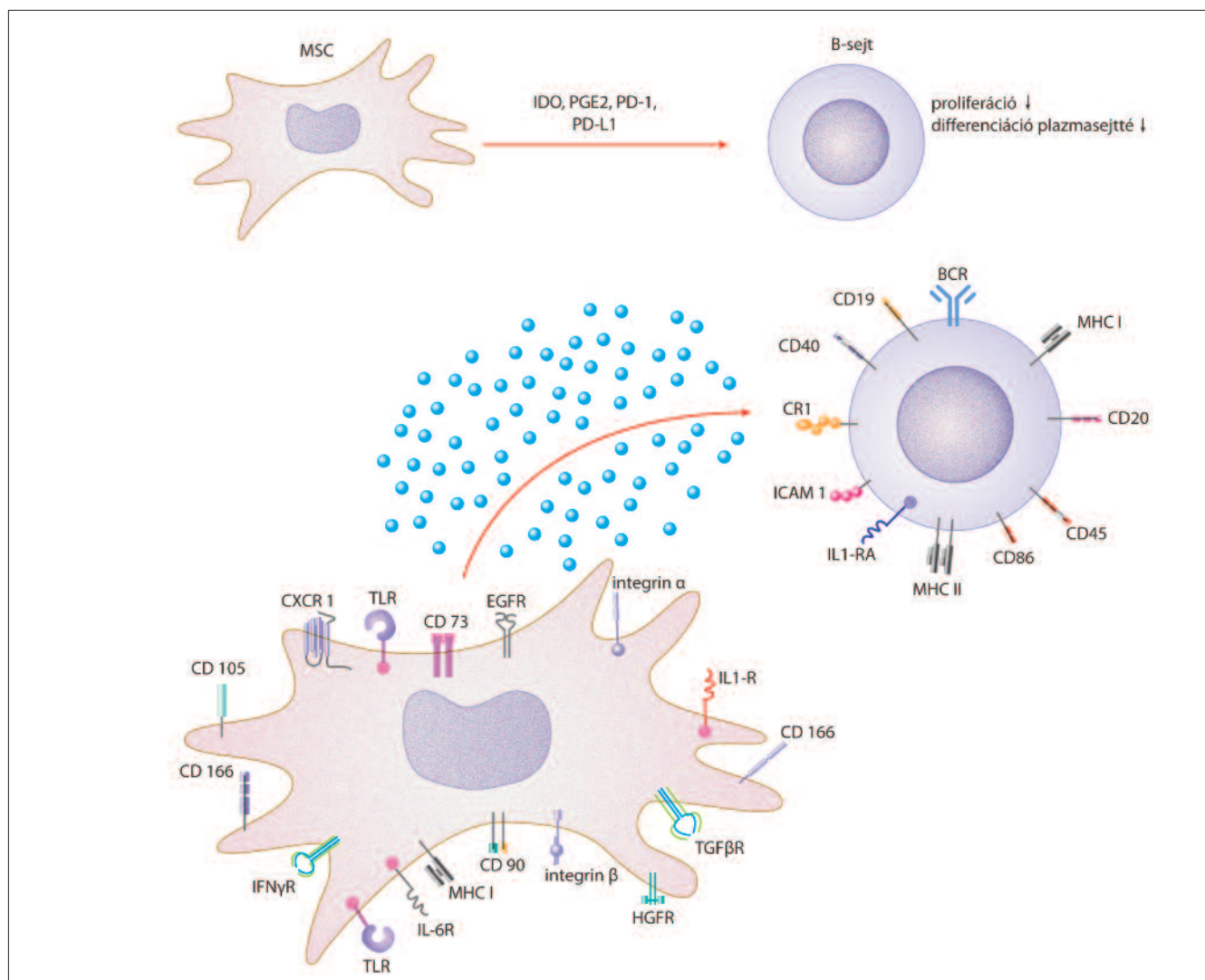
A B-sejtek az adaptív immunrendszer sejtjeiként fontos szerepet játszanak a humorális immunválaszban [64]. A B-sejtekben belül megkülönböztetünk B1 és B2 alpopulációkat, follicularis B-sejteket, antitesttermelő plazmasejteket, memória- és regulátor B-sejteket (Breg) [65, 66]. A regulátor B-sejtek IL-10-et termelnek, melynek immunmoduláló funkcióját számos állatmodellben kimutatták [67].

Mind az egér-, mind a humán MSC-k képesek gátolni a B-sejtek aktivációját, proliferációját és differenciációját [68]. Számos kísérletben bizonyították, miszerint a MSC-t B-sejtekkel együtt tenyésztjük, akkor a B-sejtek sejtciklusa leáll, gátlódik a plazmasejttirányú differenciáció és csökken a kemotaktikus aktivitásuk is. A gátlómechanizmus hátterében elsősorban szo-

lúbilis faktorok állnak [69–74], ugyanakkor a B-sejtek differenciációjának, valamint kemokinreceptoraik expressziójának modulálásában a sejt-sejt kapcsolatok is részt vesznek (2. ábra) [75].

Az MSC-k által szekretált CCL2- (CC-kemokin ligand 2) molekula gátolja a szignáltranszducer és STAT3 (transzkripció aktivátor 3) aktivációját, a plazmasejtekben megnő a PAX5 (Paired Box 5) expressziója, ezáltal az immunglobulinok szintézisének gátlása és csökkenése következik be [71, 73]. Számos más érintett jelátviteli út, mint például a p38, extracellular response kinase 1/2 (ERK 1/2), B-lymphocyta-indukált érési fehérje 1 (Blimp1) és az Akt szignalizáció is szabályozza a B-sejt-aktivációt [76]. Az MSC-k által szekretált IL-1Ra szintén regulálja a B-sejtek proliferációját és az arthritis progresszióját is [74].

Dózisfüggően az MSC-eredetű extracelluláris vezikulák is immunszuppresszívnek bizonyultak a B-sejt-proliferáció, -differenciáció és antigénprezentáció modulálásában [72, 77].



2. ábra

Mesenchymalis őssejt (MSC) és B-sejt interakció az MSC-mediált immunszuppresszió során. További magyarázat a szövegben

Hasonlóan a T-sejtekre irányuló immunszuppresszív folyamatokhoz, számos esetben bebizonyosodott, hogy a B-sejt által mediált immunfolyamatokat a Breg-ek indukcióján keresztül is képesek az MSC-k befolyásolni. Ezek a sejtek jelentős mennyiségű antiinflammatorikus citokint, pl. IL-10-et szekretálnak, ezáltal elnyomva a gyulladásos immunválaszt [78]. A Breg-ek MSC általi indukciója valóban hatékonyan bizonyult egérmodellekben számos betegség, mint a GVHD, SLE (szisztémás lupus erythematosus) és az EAE kezelésében is [79–81].

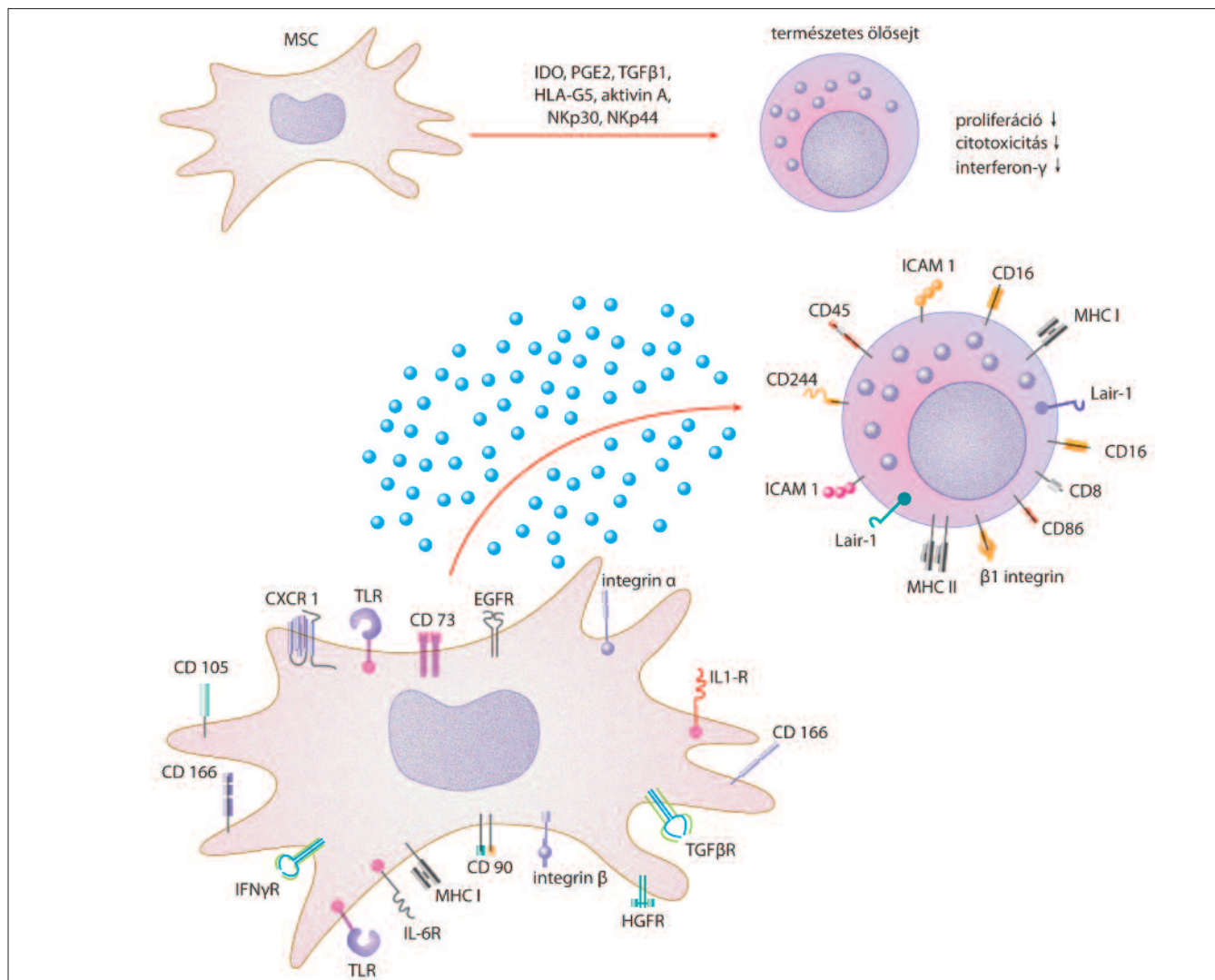
Elégtelen gyulladásos jellel stimulált MSC, például SLE-betegekben, elősegíti a B-sejt-proliferációt és -differenciációt, és növeli az antitestszekretáló B-sejtek mennyiségét [82, 83].

NK-sejtek

A természetes ölősejteknek (natural killer cells, NK-sejtek) a veleszületett immunitás fontos elemeiként kiemelt szerepük

van a fertőzött sejtek és a tumorok eliminációjában [84]. Az NK-sejtek aktivitását a gátló receptorok [NKG2A (C-típusú lektinreceptor) és a Killer Ig-szerű receptorok (KIR)] és az MHC I. osztály kölcsönhatása szabályozza, így elsődleges célsejtjeik a csökkent HLA-I-expresszióval rendelkező tumorsejtek és a vírusokkal fertőzött sejtek. Aktiválódásukhoz az IL-2 és IL-15 citokinek is szükségesek, melyek perforinok, granzimek és Fas-ligandumok által végzett citolízist eredményeznek a célsejtben [85], illetve proinflammatorikus citokineket (TNF α , IFN γ és IL-10) termelnek [86]. Az MSC-NK kölcsönhatások nagyon összetettek, néhol ellentmondásosak és nagymértékben függenek az NK-sejtek mikrokozonyezetétől és aktivációs állapotától, valamint a sejtek mennyiségétől is.

Számos tanulmányban kimutatták, hogy az MSC-k az NK-sejtek potenciális inhibitorai, mivel képesek a proliferáció, citokintermelés és speciális körülmények között az NK-sejtek citotoxicitásának gátlására (3. ábra) [25, 27, 87–90]. A BM- MSC-k közvetlenül befolyásolják az NK-sejtek szaporodását,



3. ábra

Mesenchymalis őssejt (MSC) és NK-sejt (természetes ölősejt) interakció az MSC-mediált immunszuppresszió során. További magyarázat a szövegben

citokintermelését és egyes esetekben citotoxicitását is többféle interakción keresztül. *In vitro* elnyomják az IL-2 és IL-15 által indukált proliferációt és IFN- γ -termelést, de a frissen izolált NK-sejtek citotoxicitását nem [25, 88]. A humán BM-*MSC* sejtfelszínén lévő ULBP-3 (UL16-kötv fehérje), valamint a nektin-2, CD54 és CD155 fehérjék számos NK-sejt-receptor ligandumai, melyek aktiválása által szintén szabályozásra kerülnek az NK-sejt-funkciók [88, 91–93].

Az *MSC*-k befolyásolják az NK-sejtek felületén lévő aktíváló receptorok expresszióját [ideértve az NKp30 (CD337), NKp44 (CD336) és NKG2D-t] és a granzim B felszabadulását is. Ebben elsősorban a direkt sejt-sejt kapcsolatok és az IDO, PGE2, TGF- β 1, HLA-G5 és az A-aktivin szekréciója játszik fontos szerepet [25, 27, 85, 91, 94]. A CD73 (5'-nukleotidáz) sejtfelszíni molekula nemcsak a *MSC*-ken expresszálódik, de az *MSC*-NK-sejt interakció során az NK-sejtek felszínén is nő a mennyisége, mely szintén azok gátlásához vezet [95, 96]. Az *MSC*-k hatékonyan emelik az NK-sejtek által szekretált IFN- γ mennyiségét interleukin-12 (IL-12) / interleukin-18 (IL-18) -cal kezelt sejtek esetében [97]. Az NK-sejtekből származó IFN- γ stimulálja az *MSC*-k CC-kemokinreceptor 2 (CCL2) szintézisét, mely folyamat által az NK-sejtek és az *MSC*-k pozitív visszacsatolással is kölcsönhatásba léphetnek egymással [98]. A CCL2 egy CC-kemokinreceptor-2- (CCR2-) antagonistája, a CCL2 kötődése a CCR2-höz az *MSC*-k immunszuppresszióját közvetíti a Th17-sejtek aktivációs és migrációs hatásainak gátlásával kísérletes modellekben [99]. Fontos megjegyezni, hogy IL-15-aktivált NK-sejtek *in vitro* hatékonyan pusztítják a *MSC*-ket, nemcsak az eltérő HLA-B és -C allogén donorok, hanem autológ rendszerek esetén is. Összességében elmondható, hogy az *MSC*-k és NK-sejtek közötti kapcsolat nagymértékben függ mindkét sejt stimulációjától, a mikrokörnyezettől és a sejtek arányától.

Dendritikus sejtek

Az immunrendszer karmestereinek is nevezett dendritikus sejtek (DC-k) fontos szerepet játszanak az antigének feldolgozásában, szállításában, érésében és bemutatásában, továbbá a leghatékonyabb antigénprezentáló sejteknek tekinthetők (APC) [100]. Mindemellett rendkívül sokrétűen szabályozzák az immunválaszt, mivel közvetlenül kölcsönhatásba lépnek a T-, B- [101] és NK-sejtekkel [102]. Ezek a sejtek antigénprezentációra specializálódtak, ezért kulcsfontosságúak az adaptív immunrendszer válaszfolyamatainak irányításában [85].

Az *MSC*-k több ponton is modulálják a DC-k működését: megakadályozzák differenciálódásukat, aktiválódásukat, és csökkentik a CD1- α , CD40, CD80, CD83, CD86 és MHC II. sejtfelszíni molekulák expresszióját (4. ábra). Az *MSC*-DC (sejt-sejt) interakciót főként az IFN- γ -függő Notch-útvonallal közvetíti [103, 104], valamint a DC érésének gátlását valószínűleg a PGE2 szabályozza. Az *MSC*-eredetű PGE2 és EP4 (prosztaglandin E2 receptor 4) receptorok fontos szerepet játszanak

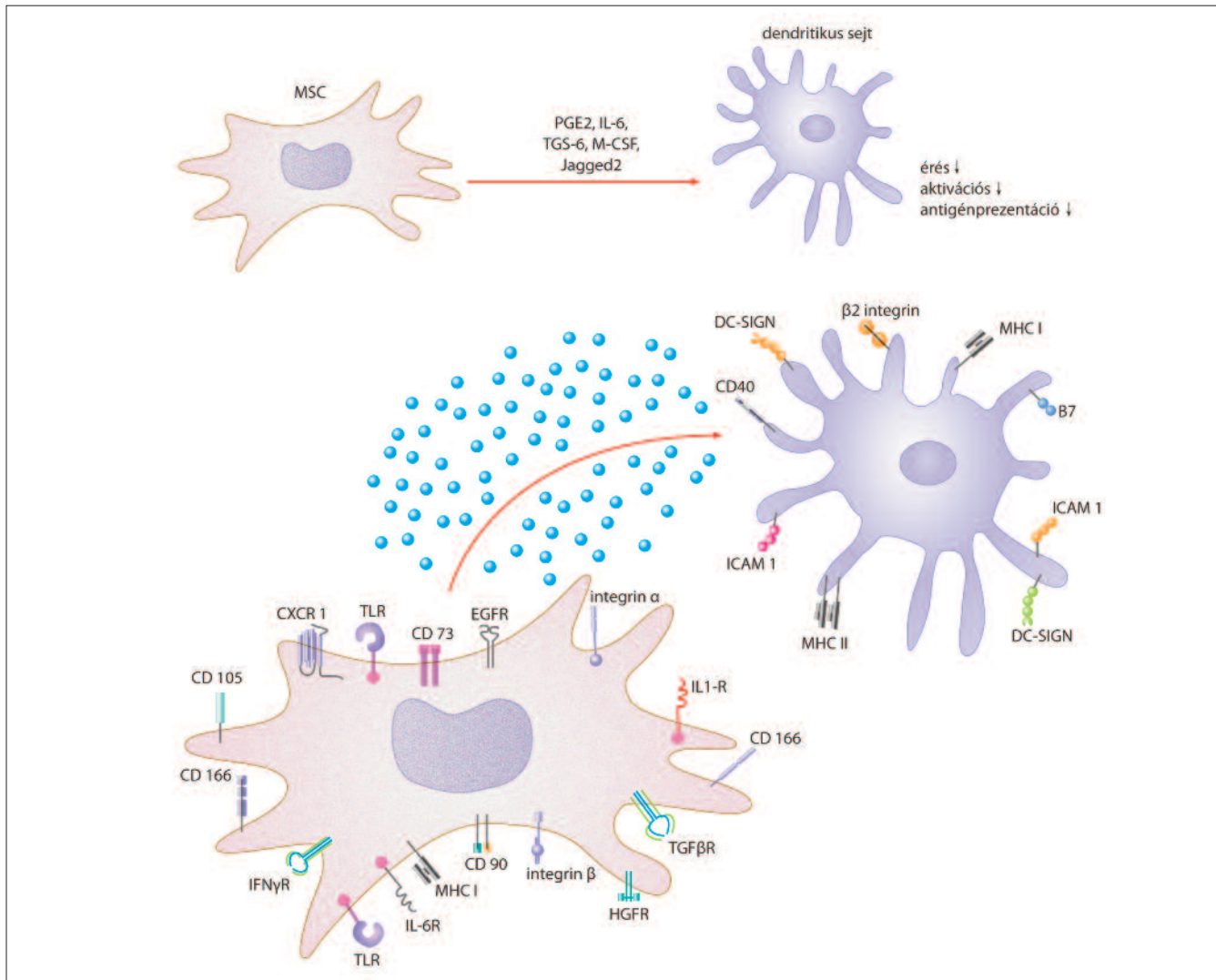
az *MSC*-mediált DC-gátlásban [105]. A PGE2-szint az *MSC*-monocyta kokultúrában kimutathatóan megnő, kísérletes rendszerekben a PGE2-inhibitor, az NS-398 (COX-2-inhibitor) pedig visszaállítja a DC funkcióját és differenciációját [106].

Az *MSC*-k erősen gátolják mind a CD14+ monocyták, mind a CD34+ haematopoieticus progenitor sejtéből származó DC differenciációját [107–109], magát a DC sejtciklusát is képesek blokkolni [110]. A már aktiválódott érett DC funkciójának szabályozása is része az *MSC*-DC interakciónak. Az MHC-II-, CD1-a-, CD80- és CD86-expresszió gátlásával a DC-k éretlen állapotba kerülnek [111], nem képesek tovább antigénprezentáló funkciójukat ellátni.

Az érett, aktivált DC-k a nyirokcsomókba vándorolva nagyon hatékony antigénprezentációt végeznek, mely kulcsfontosságú az adaptív immunitás kialakításában [112]. A dendritikus sejtek érése és aktiválódása többek között kemokinreceptorok és más felületi markerek expressziójának megváltozásával jár, mindez elengedhetetlen az érett dendritikus sejtek nyirokcsomóba történő vándorlásához. Három fontos változást lehet megemlíteni; az első az érett dendritikus sejtek sejtfelszíni CCR7 (7-es típusú C-C kemokinreceptor) expressziója [113] és a CCL19-hez (kemokinligand-19) kapcsolható migrációs képesség, amelyet még éretlen dendritikus sejtekben nem detektáltak [114], valamint az epithelialis fehérje, az E-kadherin expressziója. Az *MSC*-k mindhárom fontos útvonal szabályozására képesek. *In vitro* rendszerekben a kemotaktikus válasz vizsgálata során bizonyítást nyert, hogy az *MSC*-kkel együtt tenyésztett DC-k CCL19-re történő migrációja szignifikánsan csökken. Hasonló kokultúrák esetében a TNF- α -val stimulált DC-k csökkent CCR7-mRNS-szintet és csökkent felületi fehérje expressziót mutattak *MSC*-k jelenlétében, mely esetében hasonló DC-migráció-gátlás volt tapasztalható, mint az E-kadherin szabályozásával [115–117]. Egy másik vizsgálat során a migrációgátlásban főként a CCR7 és a CD49d β 1 markerek expressziójának csökkenése tűnt kulcsfontosságúnak [118]. Az *MSC*-k a TNF- α képződésének gátlásával is csökkenthetik az aktivált DC-k proinflammatorikus képességét [87].

In vitro kísérletek során megállapították, hogy mind maguk az *MSC*-k (direkt interakció), mind az *MSC* sejt-kultúrák felülűzője (indirekt interakció) gátolták a DC-k aktivációját, az endocitózist és az IL-12-szekretáló képességét, megakadályozták az érésüket és mindezek mellett csökkentették DC általi alloreaktív T-sejtek aktiválásának képességét is [119] a dendritikus sejtek felszínén lévő CD40, CD80, CD83 és CD86 kostimuláló molekulák expressziójának csökkentésével [107]. Az *MSC*-mediált DC-szuppresszió során csökken az antigénprezentáció, a gyulladásos citokinek szekréciója, ezáltal azok kevésbé képesek aktiválni a T-sejteket [84, 120–122].

Az *MSC*-k a gátló hatásaik segítségével jelentős szerepet töltenek be bizonyos immunrendszeri betegségek, mint például az allograftkilökődés, az 1-es típusú diabetes és az akut GVHD enyhítésében [84, 123, 124].



4. ábra

Mesenchymalis őssejt (MSC) és DC (dendritikus sejt) interakció az MSC-mediált immunszuppresszió során. További magyarázat a szövegben

Monocyta-makrofág

A monocyták és a belőlük terminálisan differenciálódott makrofágok fontos elemei a természetes immunitásnak. A makrofágok két fontosabb alpopulációja közül az M1 makrofágok fagocitózisra specializálódtak, bekebelezik és megemésztik az elhalt sejteket, és a mikrobák eliminálásban is fontos szerepet töltenek be. Az M1 makrofágok proinflammatorikus citokineket, antimikrobiális molekulákat, kemokineket termelnek, mint például NO, az IFN- γ -ra adott válaszként [125, 126]. IL-4 és IL-13 jelenlétében a makrofágok egy alternatív, immunszuppresszív M2 alcsaláddá differenciálódnak, melyeket nagyfokú IL-10-termelés, az IL-12 és a TNF- α csökkent expressziója jellemez [126, 127]. Az alternatív módon aktivált makrofágokról ismert, hogy elősegítik a Th2 típusú válaszokat és kevesebb proinflammatorikus citokint szekretálnak [128].

Az utóbbi években egyre világosabbá vált, hogy az MSC-k a makrofágok működésére is hatással vannak (5. ábra). In vitro kísérletek eredményei szerint a humán MSC-k antagonizálják az M1 fenotípust és elősegítik az M2 polarizációt, amelyet a megnövekedett CD206-expresszió, ugyanakkor alacsony kostimuláló – mint például a CD86 és a HLA II – molekula szint jellemez [129]. MSC-makrofág kokultúrákban megnövekedett IL-10- és NO-termelés, csökkent TNF- α és IL-12-szint mutatható ki, miközben erőteljesebb fagocitotikus aktivitás figyelhető meg [129, 130]. Nemcsak a makrofág-alpopulációk és ezzel együtt az immunválasz típusa változik meg MSC hatására, hanem maga a makrofágokra irányuló MSC-mediált immunszuppresszió, ami fontos eleme az adaptív immunválasz szabályozásának. Az MSC-k csökkentik a makrofágok CD86- és MHC-I- expresszióját, ezáltal akadályozva az antigénprezentációt és stimuláló képességüket [130].

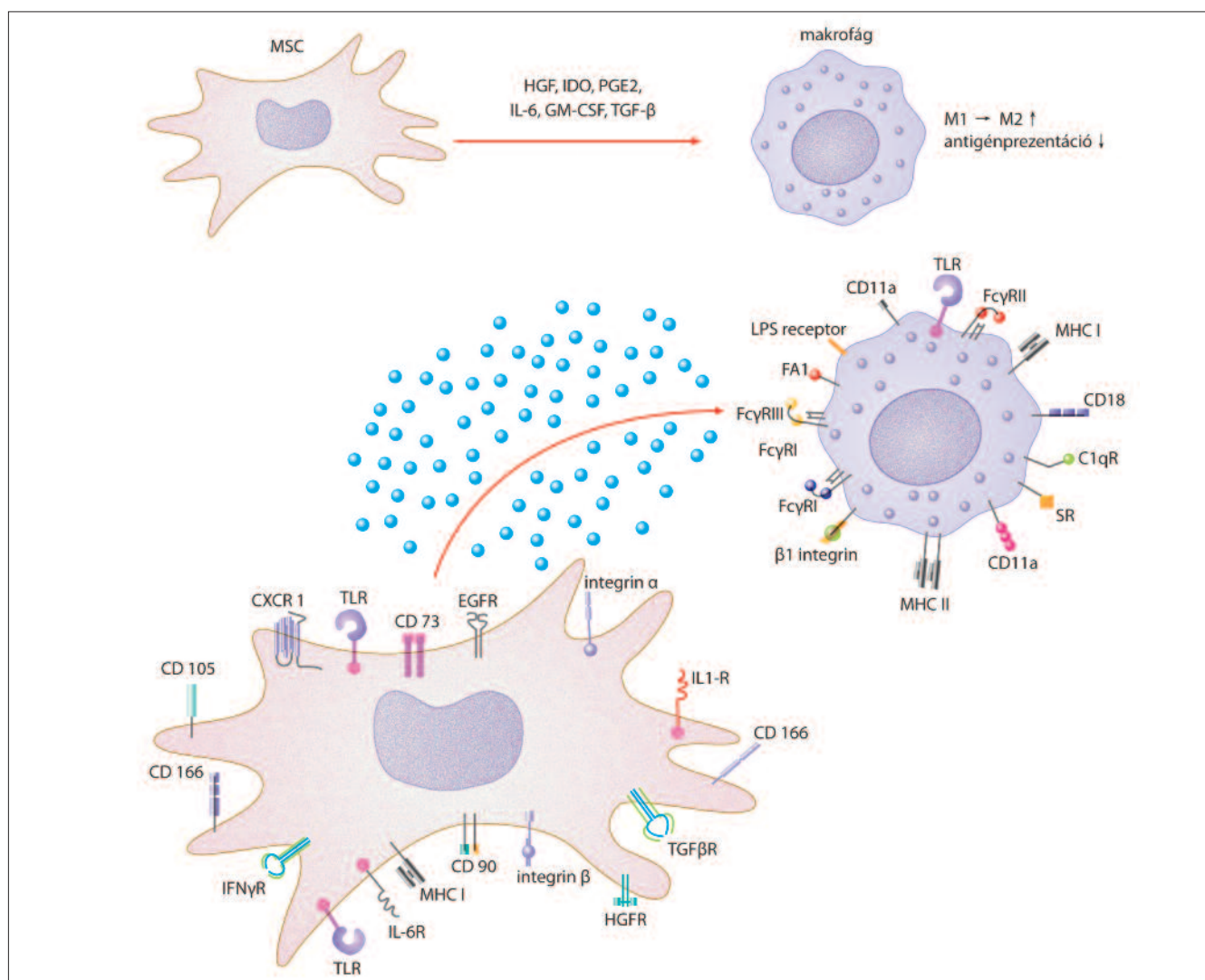
Az MSC-k makrofágokra gyakorolt hatását számos külön-

böző mechanizmus vezérli, melyeket főként a PGE2 közvetít. A PGE2 mellett másik kiemelt szolúbilis faktor a HGF. Mind humán, mind egér kísérletes rendszerben bizonyított, hogy a makrofágoknak az MSC-k által termelt HGF-re van szükségük a T-lymphocyták szuppressziójához. Emberben a CD14+ monocyták c-Met-et és HGF-receptort expresszálnak, MSC-kkel együtt tenyésztett vagy önmagában HGF-fel kezelt monocyták nem differenciálódnak, nagy mennyiségű IL-10-et termelnek és megváltoztathatják az aktivált T-sejtek citokin-expresszióját Th1-ről Th2-profilra. Mivel az átmenetileg jelen lévő MSC önmagában nem képes elegendő makrofágokat szabályozó, indukáló faktort szekretálni, így bizonyos kiegészítő mechanizmusok fontosak lehetnek ebben a folyamatban. A MSC-k elősegíthetik a monocyták kemotaktikus protein-1 (MCP1) szekrécióját, elősegítve a monocytamigrációt szolúbilis TLR4 ligandumok általi aktiváció esetén [131]. Az egér-MSK-k által kiválasztott CCL2 felgyorsítja a monocyták migrációját a csontvelőből a véráramba, ezáltal igazol-

va azt a felvetést, hogy az MSC-k kölcsönhatása a veleszületett immunválaszokkal, befolyásolja az immunrendszert [132]. Kimutatták, hogy a makrofágok az elhalt MSC-k fagocitózisára képesek, melynek hatására inkább immunmoduláló funkciót látnak el [133]. In vivo a bejuttatott MSC-k szabályozhatják a makrofágok működését a fagocitózis megindításával, míg a rezidens MSC-k modulálhatják a makrofágokat immunmoduláló faktorok szekrécióján és a sejtfelszíni molekulák expresszióján keresztül.

Mesenchymalis őssejtek aktivációja

A patogénasszociált molekuláris mintázatok (PAMP) felismerése a természetes immunitás egyik legfontosabb eleme, melyben a TLR-eknek kiemelt szerep jut [134]. A TLR-ek I-es típusú transzmembrán glikoproteinek, amelyek számos, leucinban gazdag ismétlődésekből álló extracelluláris domént és terminális inverted repeat (TIR) homológ doméneket tartal-



5. ábra

Mesenchymalis őssejt (MSC) és makrofág interakció az MSC-mediált immunszuppresszió során. További magyarázat a szövegben

maznak az intracelluláris régióban [135, 136]. A TIR domének számos TIR domént tartalmazó adapter molekulával állnak kapcsolatban [MyD88, TIRAP (TIR Domain Containing Adaptor Protein), TRIF (TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- β), és TRAM], amelyek különböző jelátviteli útvonalakat aktiválnak a sejtekben [137]. A TLR-ek egyik csoportja a sejtek felszínén expresszálódik és mikrobiális membránkomponenseket, mint például lipoproteineket és lipideket (TLR1, TLR2, és TLR6), lipopoliszacharidot (LPS) (TLR4) és flagellint (TLR5) ismernek fel. Másik csoportjuk intracelluláris lokalizációjú, ahol kettős szálú RNS-eket (dsRNA, TLR3), egyszálú vírus-RNS-eket (TLR7 és TLR8), baktérium- és vírusmetilátlan CpG DNS-eket (TLR9) ismernek fel [138]. Néhány receptor ezek közül az MSC-kben is expresszálódik, ezek a receptorok szabályozhatják az MSC-k proliferációját, differenciációját, és befolyásolhatják az MSC-k multipotenciáljának fenntartását [139–141].

A TLR3- és TLR4-aktivált MSC-knek fontos szerepük van a triptofán lebontásában és a kinurenin termelésében. A TLR-ek által szabályozott triptofánlebontást más sejtekben, mint például dendritikus és epithelsejtekben is leírták [142–144]. Egerekben a TLR-ligáció által közvetített adaptív T-sejtes válaszok immunszuppresszióját a triptofándegradáció indukciójának tulajdonítják [143]. Egér és humán BM-MSK-k a mikrobiális patogének érzékelése után elősegítik a monocyták migrációját a csontvelőből, növelik a monocyták és makrofágok mennyiségét a gyulladt szövetekben, ezáltal elősegítve a sebgyógyulást kemokin- (CC motívum) ligandumok szekrécióján keresztül (CCL2, CCL3 és CCL12) [145]. A gyulladáshoz környezetbe belépő monocyták különböző kémiai jelekre reagálva TNF- α -t és IFN- γ -t termelő M1 makrofágokká differenciálódnak, melyek fokozzák a gyulladást vagy sebgyógyulást elősegítő és IL-10-et, TGF- β 1-et szekretáló M2 makrofágokká történő átalakulást. Egerek esetében az MSC-k által szekretált CCL2 felgyorsítja a monocyták migrációját a csontvelőből a véráramba, ezáltal megerősítve azt a hipotézist, hogy az MSC kölcsönhatása a veleszületett immunválaszokkal befolyásolja az immunrendszert [132].

Mesenchymalis őssejtek mint immunszuppresszív gyógyszerek

A csontvelőből származó MSC-t először a regeneratív gyógyásban használták őssejtjellegű tulajdonságai miatt. Számos jelentős tanulmány született az MSC-k multipotenciális kapacitásának alkalmazására a transzplantált HSC-beültetés előmozdításában és a sérült szövetek regenerációjának elősegítésében [146]. Az MSC-k esetén nemcsak a szövetregenerációs és -differenciációs potenciált kell kiemelnünk, hanem azt, hogy az emberi szervezetben egyedülálló módon immunszuppressziót képesek kiváltani. Ezen fontos tulajdonságuk miatt a regeneratív medicina leginkább kutatott objek-

tumai közé tartoznak, számos I., II. és III. fázisú klinikai vizsgálatban is alkalmazzák ezeket az MSC-ket mint sejterápiás készítményeket [147–155]. Autoimmun betegség modellekben hatékonyak és biztonságosnak mutatkoztak, például a kísérleti autoimmun encephalomyelitis (EAE) [156], arthritis [157, 158], kísérleti autoimmun uveitis [158], akut hepatitis [159], SLE [160], GVHD és I-es típusú diabetesz esetében [84, 124, 151, 161].

Graft versus host disease

Az MSC-k klinikai felhasználásának egyik első és talán legsikeresebb területe a graft versus host disease (GVHD) kezelése [162]. Az MSC-kkel sikeresen kezelt súlyos szteroidrezisztens GVHD első esetét 2004-ben írták le. Igazán áttörést Le Blanc kutatócsoportja ért el egy későbbi, 6 évig tartó II. fázisú klinikai vizsgálatban. A terápia során 55 szteroidrezisztens (25 gyermek és 30 felnőtt), súlyos, akut betegségben szenvedő beteget kezeltek csontvelői MSC-kkel. A vizsgálat során a beadott MSC-k mennyiségét, eredetét és a terápiák számát is követték. A betegek egy része HLA-identikus testvérétől vagy haploidentikus donortól kapott sejteket, másik részük harmadik féltől (nem családtag) származó, nem HLA-egyező donoroktól kapott csontvelői MSC-ket terápiás szerként. Egy beteg esetében sem volt tapasztalható mellékhatás a MSC-infúzió alatt, a betegek 70%-a teljesen meggyógyult, és az 1 és 2 éves túlélésük is szignifikánsan jobb volt a nem kezelt, vagy a terápiára nem reagáló betegekhez képest. A kezelés hatékonysága nem függött össze sem az életkorral, sem a HLA-egyezéssel [163].

Számos egér-GVHD-modellben – ideértve a humanizált egérmodelleket is – az egér és a humán BM-MSK-k infúziója általában gátolta a betegség kialakulását és progresszióját a donor leukocytá gyulladáshoz válaszok elnyomásával [84, 164, 165]. Az állatmodell-vizsgálatok azt is kimutatták, hogy a BM-MSK-től eltérő MSC-források szintén enyhíthetik a GVHD-t [166–169]. Humán *in vitro* rendszerek esetében az allogén BM-MSK-k elnyomták a lymphocytaproliferációt és az effektorfunkciókat is [170, 171].

Klinikai alkalmazása során egy 9 éves fiú akut lymphoblastos leukaemiáját kezelték allogén HSC transzplantációval. Infliximab-, daclizumab- és ciclosporinkezelés ellenére is súlyos akut GVHD alakult ki az átültetés utáni 24. napon, súlyos intestinalis manifesztációval. Ezt követően édesanyjától származó csontvelői MSC-t juttattak a fiú szervezetébe, mely hatására az MSC infúziójától számított egy héten belül a GVHD tüneteinek drasztikus csökkenését lehetett észlelni. Még egy alkalommal adott MSC biztosította a beteg életben maradását [163, 172]. Annak ellenére, hogy a GVHD kezelése MSC-kkel több klinikai terápia esetén ígéretes eredményeket adott, ezt a tendenciát nem figyelték meg következetesen minden vizsgálatban [173]. Egy közelmúltbeli metaanalízis sok heterogenitást tárt fel az elvégzett vizsgálatokban mind

a betegek, mind az alkalmazott MSC-k terén [174]. Probléma, hogy mind a MSC-t tartalmazó terápiás készítmények előállítás, a sejtek eredete, a dózis, a bevitel módja igen eltérő, nem standardizált.

Sclerosis multiplex (multiple sclerosis – MS)

A sclerosis multiplex (multiple sclerosis, MS) a központ idegrendszert érintő, CD4+ T-sejtek által közvetített autoimmun betegség, a myelinalapú fehérjét (MBP) célozza meg, amely kifejezetten a myelinhüvelyekben található [175]. Az ebből következő demyelinisatio neuronkárosodáshoz és vezetőképesség-károsodáshoz vezet. A tünetek igen sokfélék lehetnek: progresszív és gyengítő jellegűek, úgymint homályos látás, vakság, részleges vagy teljes bénulás, memória- és kognitív képesség hiányok [176]. A jelenleg még nem gyógyítható betegség közel 2,3 millió embert érint világszerte [177]. Korábbi vizsgálatok alapján kimutatták, hogy mind a Th1, mind az interleukin-17A- (IL-17A-) szekretáló CD4+ (Th17) lymphocyták részt vesznek ennek az autoimmun betegségnek a patogenezisében [178, 179]. Egér- vagy humán MSC intravénás beadása után is kimutatták az őssejteket az EAE egérmodellben, az egerek lymphoid szerveiben és demyelinizáló régiókban, valamint a gyulladás és a tünetek enyhülését lehetett megfigyelni a kezelést követően [180, 181]. Az MSC-kezelés gátolta az autoreaktív Th1/Th17 proliferációt és infiltrációt mind in vivo, mind in vitro [180, 182, 183]. Egyes publikációk alapján az MSC-kezelés növeli a Th2-citokinek – IL-4 és IL-5 – felhalmozódását és a Treg-képződést in vivo, mindezek hozzájárulnak EAE egerekben a tünetek csökkentéséhez [156, 181]. A CD4+ T-sejtek funkciójának modulálásában többek között az IDO és a monocyta kemoattraktáns protein-1 / CC kemokinligandum 2 (MCP-1/CCL2) játszanak szerepet [99].

Humán preklinikai in vitro tesztek esetén az MSC-k hatékonyan gátolják az MS-betegekből izolált T-sejtek proliferációját és IL-2-termelését, normál kontroll T-sejtekhez vagy nem kezelt MS-beteg sejtjeihez képest [184]. Az első klinikai tanulmány során 10, konvencionális kezelésre nem reagáló beteg kezeltek autológ MSC-vel. Az őssejteket a gerinccsatornába injektálták, semmilyen nemkívánatos esemény nem történt a terápia alatt. Ugyanakkor nem lehetett egyértelmű hatékonyságot kimutatni, az eredmények ellentmondásosak voltak, egyeseknél javulás, másoknál a betegség progressziója volt megfigyelhető [185]. További I/II. fázisú tanulmányokban 10 és 15 betegnél [186, 187] sem fordultak elő a követés során (6–28 hónap) káros hatások. Connick 2012-es vizsgálatában 10 MS-es beteg vett részt, akiket autológ MSC-k intravénás infúziójával kezeltek [188]. A kezelés után a betegek látási funkciói javultak és a fogyatékoság progressziója szintén csökkent. A különböző vizsgálatok eredményeit figyelembe véve a Nemzetközi MSC Transplant Study Group (MSCT) irányelveket készített az MSC-k MS-ben történő

felhasználásáról, valamint a sejtek tenyésztésére és a betegek kezelésére szolgáló protokollokat dolgoztak ki [189].

Osteoarthritis és rheumatoid arthritis

Az MSC-k porcirányú differenciációs képessége alapján potenciális terápiás ágensek lehetnek különböző ízületi betegségekben, mivel a porc nem regenerálódik, és az őssejtek endogén progenitorai ennek a szövetnek. Az osteoarthritis (OA) a leggyakoribb ízületi rendellenesség, az ízületi porc fokozatos romlása figyelhető meg ezeknél a betegeknél, ami immunválaszt vált ki [190]. Az OA progresszív és visszafordíthatatlan állapotot idéz elő. Előfordulási gyakorisága növekszik az életkorral és a testsúllyal. Az MSC-k különösen alkalmasak lehetnek az OA kezelésére, mivel a porc regenerációt és az immunsuppressziót egyszerre képesek megvalósítani [191]. Preklinikai vizsgálatokban OA állatmodellekben az MSC-k hatékonyan csökkentették a gyulladást, és lehetővé tették a porc regenerálódását is [192–194]. Transzlációs és klinikai adatok alapján az MSC-kkel való kezelés sikeresnek bizonyult OA-ban szenvedő páciensek esetén, sajnos ugyanaz nem mondható el a rheumatoid arthritises (RA) betegeknél [195, 196].

Gyulladásos bélbetegségek

A Crohn-betegség (CD) és a colitis ucerosa (UC) a legismertebb gyulladásos bélbetegségek (IBD). IBD-re számos kísérleti állatmodell létezik, a leggyakrabban használt kémiai-lag indukált akut colitismodellekben tesztelték az MSC-k terápiás hatásait [197, 198]. A MSC-k intraperitonealis vagy intravénás beadása megakadályozza a belek DSS által kiváltott sérüléseit. A MSC-k alkalmazása kifejezetten csökkenti a Th1- és Th17-válaszokat, valamint a proinflammatorikus IL-1 β -, IL-6-, IL-17-, TNF- α -, IFN- γ -szérumszinteket, miközben növekszik a Treg-ek és a lép myeloid-derived suppressor sejtek (MDSC-k) száma [199, 200]. A CD tünetegyütteséhez tartozik a teljes gyomor-bél traktus folyamatos transmuralis gyulladása és fisztulák képződése is. I. fázisú vizsgálatok kimutatták, hogy az allogén vagy autológ MSC-k hatékonyan alkalmazhatóak luminalis fisztulák kezelésében [201]. Számos MSC-vel kezelt beteg esetén a 24. héten a fisztula teljes bezáródása volt megfigyelhető [202]. A zsírból származó autológ MSC-kkel végzett I. fázisú sejterápiás klinikai vizsgálat első jelentését 2005-ben tették közzé. A lokális injekciók a fisztulák gyógyulásához (6/8) vezettek [203]. Ezeket az eredményeket ugyanaz a kutatócsoport 2009-ben megerősítette 49 perianalis fisztulás beteg bevonásával [204]. Onken és munkatársai 9-ből 3 betegnél (33,3%) tapasztaltak klinikai választ, míg Duijvestein és munkatársai nem figyeltek meg változást csontvelőből származó allogén BM-MSC-vel kezelt betegeknél [205, 206].

Psoriasis

A psoriasis gyakori krónikus automimmun betegség, ami elsősorban a bőrön és az ízületekben, vagy mindkettőben jelentkezik, és amely a világ népességének körülbelül 2–4%-át érinti [207]. A betegség jellemzője a bazális keratinocyták hiperproliferációja, megvastagodott és pikkelyes epidermis és gyulladásos sejtek megjelenése a bőrben. A psoriasisban szenvedő betegeknél nagyobb az esély társbetegségek, például metabolikus szindróma, arthritis psoriatica és lymphomák kialakulására [208]. A psoriasis patogenezisében DC-k és T-sejt által közvetített immunfolyamatok vesznek részt, melyben érintettek a makrofágok, keratinocyták és neutrofil granulocyták is. Különösen a Th1- és Th17-alcsoportokat tekintik a psoriasis elsődleges effektorsejtjeinek [209]. Psoriasisban az aktivált Th1-, Th17- és Th22-sejtek proliferációja, valamint megnövekedett citokinszekréció (IFN- γ , TNF- α , IL-17 és IL-22) játszanak központi szerepet. In vitro kísérletes rendszerekben psoriasisban szenvedő betegekből nyert MSC-k különböző Th-sejt-alcsaládok gyulladásgátló funkciója csökkent [210, 211]. Állatmodellek esetében a humán köldökzsinór-eredetű MSC-k subcutan infúziója hatékonyan enyhítette az imiquimod (IMQ) által kiváltott psoriasisszerű bőrgyulladást egerekben a Th1-, Th2- és Th17-differenciáció elnyomásával és a Treg-populáció serkentésével [212, 213]. Állatkísérletes modellben a magasabb szuperoxid-dizmutáz-3-termelő MSC-k terápiás hatása szintén kimutatható volt [214].

2016-ban Hu Chen és munkatársai egy 12 éve psoriasisal küzdő férfi betegen végeztek el autológ haematopoieticus őssejt kezelést. Eleinte a plakkok mennyisége csökkent, később viszont újabbak jelentkeztek. Ezt követően 1 dózis köldökzsinór-eredetű MSC-t (UC-MSCs) adtak a betegnek, akinek bőre 12 hónapon belül normalizálódott. A beteget közel 5 évig monitorozták, állapota stabil maradt. Másik páciensük egy 26 éves nő volt, aki 8 éves kora óta időszakosan psoriasisra jellemző tünetekkel küzdött. Kezelésként három egymást követő héten UC-MSCs infúziót kapott, ami után bőre egyre simább lett. Ezt követően még két megerősítő UC-MSCs kezelést kapott. A beteg a terápiát követően tünetmentes maradt [215].

A korlátozott esetszámok miatt nem jelenthetjük ki kellő biztonsággal azt, hogy az MSC-k hatékonyan és biztonságosan használhatóak a psoriasis tüneteinek enyhítésére.

Összefoglaló megjegyzések

Az önmegújító, multipotens MSC-k megfelelő körülmények között osteoblastok, zsírsejtek, chondrocyták, myoblastok, fibroblastok, epithelium és más szövetek irányába is tudnak differenciálódni, képesek a humorális és a celluláris immunválasz szabályozására, gyulladások, szövet- és szervkilökődések megakadályozására [151, 216]. A felnőtt szervezetben található MSC-k gyűjtésével és felhasználásával kapcsolatban ke-

vesebb probléma adódik, mint az embrionális őssejteké [2, 217]. Ezen fontos tulajdonságuk miatt a regeneratív medicina leginkább kutatott objektumai közé tartoznak, számos I., II. és III. fázisú klinikai vizsgálatban is alkalmazzák mint sejtterápiás készítményeket. Az ellentmondó eredmények ugyanakkor inkább az eltérő izolálási, felhasználási módszereknek, a nem standardizált dózisoknak és a bejuttatás eltérő módjainak köszönhetőek.

Köszönetnyilvánítás: A tudományos munka az EFOP-3.6.1-16-2016-00008 azonosító számú „Intelligens élettudományi technológiák, módszertanok, alkalmazások fejlesztése és innovatív folyamatok, szolgáltatások kialakítása a szegedi tudásbázisra építve” című, EU társfinanszírozású projekt és a PD 132570 azonosító számú (V. Z.), a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból biztosított, a PD19 pályázati program finanszírozásában megvalósuló projekt támogatásával valósult meg.

IRODALOM

- [1] Serafini M, Verfaillie CM: Pluripotency in adult stem cells: state of the art. *Seminars in Reproductive Medicine* 2006; 24(5): 379-88. doi: 10.1055/s-2006-952153
- [2] Verfaillie CM: Adult stem cells: assessing the case for pluripotency. *Trends Cell Biol* 2002; 12(11): 502-8. doi: 10.1016/S0962-8924(02)02386-3
- [3] Wong RS: Mesenchymal stem cells: angels or demons? *Journal of Biomedicine & Biotechnology* 2011; 2011: 459510. doi: 10.1155/2011/459510
- [4] Tyndall A: Mesenchymal stromal cells and rheumatic disorders. *Immunology Letters* 2015; 168(2): 201-7. doi: 10.1016/j.imlet.2015.05.017
- [5] Roobrouck VD, Ulloa-Montoya F, Verfaillie CM: Self-renewal and differentiation capacity of young and aged stem cells. *Experimental Cell Research* 2008; 314(9): 1937-44. doi: 10.1016/j.yexcr.2008.03.006
- [6] Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al: Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282(5391): 1145-7. doi: 10.1126/science.282.5391.1145
- [7] Gerecht-Nir SI-E, Itskovitz-Eldor J: The promise of human embryonic stem cells. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004; 18(6): 843-52. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2004.07.004
- [8] Fischbach, GDF, Fischbach RL: Stem cells: science, policy, and ethics. *J Clin Invest* 2004; 114(10): 1364-70. doi: 10.1172/JCI23549
- [9] Orkin SH, Zon LI: Hematopoiesis: an evolving paradigm for stem cell biology. *Cell* 2008; 132(4): 631-44. doi:10.1016/j.cell.2008.01.025
- [10] Takahashi K, Yamanaka S: Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006; 126(4): 663-76. doi: 10.1016/j.cell.2006.07.024
- [11] Warren L, Manos PD, Ahfeldt T, et al: Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA. *Cell Stem Cell* 2010; 7(5): 618-30. doi: 10.1016/j.stem.2010.08.012

- [12] Kim D, Kim CH, Moon JI, et al: Generation of human induced pluripotent stem cells by direct delivery of reprogramming proteins. *Cell Stem Cell* 2009; 4(6): 472-6. doi: 10.1016/j.stem.2009.05.005
- [13] Friedenstein AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN: Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Exp Hematol* 1976; 4(5): 267-74. doi: 10.3410/f.13409130.14780158
- [14] Frenette PS, Pinho S, Lucas D, et al: Mesenchymal Stem Cell: Keystone of the Hematopoietic Stem Cell Niche and a Stepping-Stone for Regenerative Medicine. *Annu Rev Immunol* 2013; 31: 285-316. doi: 10.1146/annurev-immunol-032712-095919
- [15] Dominici MLB, Mueller K, Slaper-Cortenbach I, et al: Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006; 8(4): 315-7. doi: 10.1080/14653240600855905
- [16] Le Blanc K, Ringden O: Immunomodulation by mesenchymal stem cells and clinical experience. *J Intern Med* 2007; 262(5): 509-25. doi: 10.1111/j.1365-2796.2007.01844.x
- [17] Di Nicola M, Carlo-Stella C, Magni M, et al: Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. *Blood* 2002; 99(10): 3838-3843. doi: 10.1182/blood.V99.10.3838
- [18] Renner P, Eggenhofer E, Rosenauer A, et al: Mesenchymal stem cells require a sufficient, ongoing immune response to exert their immunosuppressive function. *Transplantation proceedings* 2009; 41(6): 2607-11. doi: 10.1016/j.transproceed.2009.06.119
- [19] Li W, Ren G, Huang Y, et al: Mesenchymal stem cells: a double-edged sword in regulating immune responses. *Cell Death and Differentiation* 2012; 19(9): doi: 1505-13. 10.1038/cdd.2012.26
- [20] Ghannam S, Bouffi C, Djouad F, et al: Immunosuppression by mesenchymal stem cells: mechanisms and clinical applications. *Stem Cell Res Ther* 2010; 1(1): doi: 2. 10.1186/scrt2
- [21] Krampera ML, Cosmi R, Angeli A, et al: Role for interferon-gamma in the immunomodulatory activity of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2006; 24(2): 386-98. doi: 10.1634/stemcells.2005-0008.
- [22] Meisel RA, Zibert M, Laryea U, et al: Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated tryptophan degradation. *Blood* 2004; 103(12): 4619-21. doi: 10.1182/blood-2003-11-3909.
- [23] Aggarwal SP, Pittenger MF: Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood* 2005; 105(4): 1815-1822. doi: 10.1182/blood-2004-04-1559
- [24] Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M, et al: Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. *Exp Hematol* 2002; 30(1): 42-8. S0301472X0100769X [pii]
- [25] Spaggiari GM, Capobianco A, Abdelrazik H, et al: Mesenchymal stem cells inhibit natural killer-cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production: role of indoleamine 2,3-dioxygenase and prostaglandin E2. *Blood* 2008; 111(3): 1327-33. doi: 10.1182/blood-2007-02-074997
- [26] Jarvinen L, Badri L, Wettlaufer S et al: Lung resident mesenchymal stem cells isolated from human lung allografts inhibit T cell proliferation via a soluble mediator. *J Immunol* 2008; 181(6): 4389-4396. doi: 10.4049/jimmunol.181.6.4389
- [27] Sotiropoulou PA, Perez SA, Gritzapis AD, et al: Papamichail, Interactions between human mesenchymal stem cells and natural killer cells. *Stem Cells* 2006; 24(1): 74-85. doi: 10.1634/stemcells.2004-0359
- [28] Kopf M, Baumann H, Freer G, et al: Impaired Immune and Acute-Phase Responses in Interleukin-6-Deficient Mice. *Nature* 1994; 368(6469): 339-342. doi: 10.1038/368339a0
- [29] Sehgal PB, Helfgott DC, Santhanam U, et al: Regulation of the Acute Phase and Immune-Responses in Viral Disease – Enhanced Expression of the Beta-2-Interferon Hepatocyte-Stimulating Factor Interleukin-6 Gene in Virus-Infected Human-Fibroblasts. *J Exp Med* 1988; 167(6): 1951-1956. doi: 10.1084/jem.167.6.1951
- [30] Jirík FR, Podor TJ, Hirano T, et al: Bacterial Lipopolysaccharide and Inflammatory Mediators Augment IL-6 Secretion by Human-Endothelial Cells. *J Immunol* 1989; 142(1): 144-147.
- [31] Choi EWS, Park IS, Park SY, et al: Reversal of serologic, immunologic, and histologic dysfunction in mice with systemic lupus erythematosus by long-term serial adipose tissue-derived mesenchymal stem cell transplantation. *Arthritis Rheum-U S* 2012; 64(1): 243-253. doi: 10.1002/art.33313
- [32] Lee RH, Pulin AA, Seo MJ, et al: Intravenous hMSCs Improve Myocardial Infarction in Mice because Cells Embolized in Lung Are Activated to Secrete the Anti-inflammatory Protein TSG-6. *Cell Stem Cell* 2009; 5(1): 54-63. doi: 10.1016/j.stem.2009.05.003
- [33] Bai LL, Caplan DP, DeChant AI, et al: Hepatocyte growth factor mediates mesenchymal stem cell-induced recovery in multiple sclerosis models. *Nat Neurosci* 2012; 15(6): 862-U86. doi: 10.1038/nn.3109
- [34] Ren G, Zhang L, Zhao X, et al: Mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression occurs via concerted action of chemokines and nitric oxide. *Cell Stem Cell* 2008; 2(2): 141-50. doi: 10.1016/j.stem.2007.11.014
- [35] Ren G, Zhao X, Zhang L, et al: Inflammatory cytokine-induced intercellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in mesenchymal stem cells are critical for immunosuppression. *J Immunol* 2010; 184(5): 2321-8. doi: 10.4049/jimmunol.0902023.
- [36] Dimeloe S, Burgener AV, Grahler J, et al: T-cell metabolism governing activation, proliferation and differentiation; a modular view. *Immunology* 2017; 150(1): 35-44. doi: 10.1111/imm.12655
- [37] Dimeloe S, Burgener AV, Grahler J, et al: T-cell metabolism governing activation, proliferation and differentiation; a modular view. *Immunology*, 2017; 150(1): 35-44. doi: 10.1111/imm.12655
- [38] Koch U, Radtke F: Mechanisms of T cell development and transformation. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2011; 27: 539-62. doi: 10.1146/annurev-cellbio-092910-154008
- [39] Kaech SM, Cui WG: Transcriptional control of effector and memory CD8(+) T cell differentiation. *Nat Rev Immunol* 2012; 12(11): 749-doi: 761. 10.1038/nri3307
- [40] Soroosh P, Doherty TA: Th9 and allergic disease. *Immunology* 2009; 127(4): 450-458. doi: 10.1111/j.1365-2567.2009.03114.x

- [41] O'Garra A: Cytokines induce the development of functionally heterogeneous T helper cell subsets. *Immunity* 1998; 8(3): 275-83. doi: 10.1016/s1074-7613(00)80533-6.
- [42] Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM et al: IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *J Exp Med* 2005; 201(2): 233-40. doi: 10.1084/jem.20041257
- [43] Hori S, Nomura T, Sakaguchi S: Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science*, 2003; 299(5609): 1057-61. doi: 10.1126/science.1079490
- [44] Kaech SM, Cui W: Transcriptional control of effector and memory CD8+ T cell differentiation. *Nat Rev Immunol* 2012; 12(11): 749-61. doi: 10.1038/nri3307
- [45] Devine SMC, Jennings C, Bartholomew M, et al: Mesenchymal stem cells distribute to a wide range of tissues following systemic infusion into nonhuman primates. *Blood* 2003; 101(8): 2999-3001. doi: 10.1182/blood-2002-06-1830
- [46] Plumas J, Chaperot L, Richard MJ, et al: Mesenchymal stem cells induce apoptosis of activated T cells. *Leukemia* 2005; 19(9): 1597-604. doi: 10.1038/sj.leu.2403871.
- [47] Akiyama K, Chen C, Wang D, et al: Mesenchymal-stem-cell-induced immunoregulation involves FAS-ligand-/FAS-mediated T cell apoptosis. *Cell Stem Cell* 2012; 10(5): 544-55. doi: 10.1016/j.stem.2012.03.007
- [48] Su J, Chen X, Huang Y, et al: Phylogenetic distinction of iNOS and IDO function in mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression in mammalian species. *Cell Death and Differentiation*, 2014; 21(3): 388-396. doi: 10.1038/cdd.2013.149
- [49] Su J, Chen X, Huang Y, et al: Phylogenetic distinction of iNOS and IDO function in mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression in mammalian species. *Cell death and differentiation* 2014; 21(3): 388-96. doi: 10.1038/cdd.2013.149
- [50] Ren G, Su J, Zhang L, et al: Species variation in the mechanisms of mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression. *Stem Cells* 2009; 27(8): 1954-62. doi: 10.1002/stem.118
- [51] Bogdan C: Nitric oxide and the immune response. *Nature immunology* 2001; 2(10): 907-16. doi: 10.1038/ni1001-907
- [52] Bouffi CB, Courties C, Jorgensen G: IL-6-dependent PGE2 secretion by mesenchymal stem cells inhibits local inflammation in experimental arthritis. *PLoS One* 2010; 5(12): e14247. doi: 10.1371/journal.pone.0014247
- [53] Munn DH: Blocking IDO activity to enhance anti-tumor immunity. *Frontiers in bioscience* 2012; 4: 734-45. doi: 10.2741/414.
- [54] Hsu WT, Lin CH, Chiang BL, et al: Prostaglandin E2 potentiates mesenchymal stem cell-induced IL-10+IFN-gamma+CD4+ regulatory T cells to control transplant arteriosclerosis. *J Immunol* 2013; 190(5): 2372-80. doi: 10.4049/jimmunol.1202996
- [55] Bouffi C, Bony C, Courties G, et al: IL-6-dependent PGE2 secretion by mesenchymal stem cells inhibits local inflammation in experimental arthritis. *PLoS One* 2010; 5(12): e14247. doi: 10.1371/journal.pone.0014247
- [56] Matysiak M, Orlowski W, Fortak-Michalska M, et al: Immunoregulatory function of bone marrow mesenchymal stem cells in EAE depends on their differentiation state and secretion of PGE2. *Journal of Neuroimmunology* 2011; 233(1-2): 106-11. doi: 10.1016/j.jneuroim.2010.12.004
- [57] Wang Y, Chen X, Cao W, et al: Plasticity of mesenchymal stem cells in immunomodulation: pathological and therapeutic implications. *Nature Immunology* 2014; 15(11): 1009-16. doi: 10.1038/ni.3002
- [58] Crop MJB, Korevaar CC, Ijzermans SS, et al: Inflammatory conditions affect gene expression and function of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *Clinical and Experimental Immunology* 2010; 162(3): 474-86. doi: 10.1111/j.1365-2249.2010.04256.x
- [59] Shi M, Liu ZW, et al: Immunomodulatory properties and therapeutic application of mesenchymal stem cells. *Clinical and Experimental Immunology* 2011; 164(1): 1-8. doi: 10.1111/j.1365-2249.2011.04327.x
- [60] Meirelles LS, Fontes AM, Covas DT, et al: Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 2009; 20(5-6): 419-27. doi: 10.1016/j.cytogfr.2009.10.002
- [61] Le Blanc K, Tammik C, Rosendahl K, et al: HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells. *Exp Hematol* 2003; 31(10): 890-6. doi: 10.1016/s0301-472x(03)00110-3.
- [62] Nasef A, Mathieu N, Chapel A, et al: Immunosuppressive effects of mesenchymal stem cells: involvement of HLA-G. *Transplantation* 2007; 84(2): 231-7. doi: 10.1097/01.tp.0000267918.07906.08
- [63] Maccario R, Podesta M, Moretta A, et al: Interaction of human mesenchymal stem cells with cells involved in alloantigen-specific immune response favors the differentiation of CD4+ T-cell subsets expressing a regulatory/suppressive phenotype. *Haematologica* 2005; 90(4): 516-25. doi: 10.1111.2123.2123
- [64] Pieper K, Grimbacher B, Eibel H: B-cell biology and development. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 131(4): 959-71. doi: 10.1016/j.jaci.2013.01.046
- [65] O'Connor BP, Vogel LA, Zhang WJ, et al: Imprinting the fate of antigen-reactive B cells through the affinity of the B cell receptor. *J Immunol* 2006; 177(11): 7723-7732. doi: 10.4049/jimmunol.177.11.7723
- [66] Depoil DW, Treanor M, Fleire B, et al: Early Events of B Cell Activation by Antigen. *Sci Signal* 2009; 2(63): 1. doi: 10.1126/scisignal.263pt1
- [67] Yang M, Sun LY, Wang SJ, et al: Cutting Edge: Novel Function of B Cell-Activating Factor in the Induction of IL-10-Producing Regulatory B Cells. *J Immunol* 2010; 184(7): 3321-3325. doi: 10.4049/jimmunol.0902551
- [68] O'Connor BP, Vogel LA, Zhang W, et al: Imprinting the fate of antigen-reactive B cells through the affinity of the B cell receptor. *J Immunol* 2006; 177(11): 7723-32. doi: 10.4049/jimmunol.177.11.7723
- [69] Corcione AB, Ferretti F, Giunti E, et al: Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. *Blood* 2006; 107(1): 367-372. doi: 10.1182/blood-2005-07-2657
- [70] Tabera S, Perez-Simon JA, Diez-Campelo M, et al: The effect of mesenchymal stem cells on the viability, proliferation and differentiation of B-lymphocytes. *Haematol-Hematol J* 2008; 93(9): 1301-1309. doi: 10.3324/haematol.12857
- [71] Che N, Li X, Zhou SL, Liu R, et al: Umbilical cord mesenchymal stem cells suppress B-cell proliferation and differentiation. *Cell Immunol* 2012; 274(1-2): 46-53. doi: 10.1016/j.cellimm.2012.02.004

- [72] Asari S, Itakura S, Ferreri K, et al: Mesenchymal stem cells suppress B-cell terminal differentiation. *Experimental Hematology* 2009; 37(5): 604-615. doi: 10.1016/j.exphem.2009.01.005
- [73] Rafei M, Hsieh J, Fortier S, et al: Mesenchymal stromal cell-derived CCL2 suppresses plasma cell immunoglobulin production via STAT3 inactivation and PAX5 induction. *Blood* 2008; 112(13): 4991-4998. doi: 10.1182/blood-2008-07-166892
- [74] Luz-Crawford P, Djouad F, Toupet K, et al: Mesenchymal Stem Cell-Derived Interleukin 1 Receptor Antagonist Promotes Macrophage Polarization and Inhibits B Cell Differentiation. *Stem Cells* 2016; 34(2): 483-492. doi: 10.1002/stem.2254
- [75] Augello AT, Negrini R, Amateis SM, et al: Bone marrow mesenchymal progenitor cells inhibit lymphocyte proliferation by activation of the programmed death 1 pathway. *European Journal of Immunology* 2005; 35(5): 1482-90. doi: 10.1002/eji.200425405
- [76] Fan LXH, Chen CX, Cen JJ, et al: Interaction between Mesenchymal Stem Cells and B-Cells. *Int J Mol Sci* 2016; 17(5): 650. doi: 10.3390/ijms17050650
- [77] Di Trapani MB, Midolo G, Gatti M, et al: Differential and Transferable Modulatory Effects of Mesenchymal Stromal Cell-Derived Extracellular Vesicles on T, B and Nk Cell Functions. *Haematologica* 2016; 101: S37-S37. doi: 10.1038/srep24120
- [78] Franquesa MM, Huizinga FK, Strini R, et al: Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Abrogate Plasmablast Formation and Induce Regulatory B Cells Independently of T Helper Cells. *Stem Cells* 2015; 33(3): 880-891. doi:10.1002/stem.1881
- [79] Franquesa M, Mensah FK, Huizinga R, et al: Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Abrogate Plasmablast Formation and Induce Regulatory B Cells Independently of T Helper Cells. *Stem Cells* 2015; 33(3): 880-891. doi: 10.1002/stem.1881
- [80] Peng Y, Chen X, Liu Q, et al: Mesenchymal stromal cells infusions improve refractory chronic graft versus host disease through an increase of CD5+regulatory B cells producing interleukin 10. *Leukemia* 2015; 29(3): 636-646. doi: 10.1038/leu.2014.225
- [81] Guo YW, Chan KH, Lai WH, et al: Human Mesenchymal Stem Cells Upregulate CD1d(high)CD5(+) Regulatory B Cells in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Neuroimmunomodulation* 2013; 20(5): 294-303. doi: 10.1159/000351450
- [82] Che N, Li X, Zhang L, et al: Impaired B Cell Inhibition by Lupus Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Is Caused by Reduced CCL2 Expression. *J Immunol* 2014; 193(10): 5306-5314. doi: 10.4049/jimmunol.1400036
- [83] Rasmusson I, Le Blanc K, et al: Mesenchymal stem cells stimulate antibody secretion in human B cells. *Scand J Immunol* 2007; 65(4): 336-343. doi:10.1111/j.1365-3083.2007.01905.x
- [84] Li H, Guo ZK, Jiang XX, et al: Mesenchymal Stem Cells Alter Migratory Property of T and Dendritic Cells to Delay the Development of Murine Lethal Acute Graft-Versus-Host Disease. *Stem Cells* 2008; 26(10): 2531-2541. doi: 10.1634/stemcells.2008-0146
- [85] Le Blanc K, Mougiakakos D: Multipotent mesenchymal stromal cells and the innate immune system. *Nat Rev Immunol* 2012; 12(5): 383-396. doi: 10.1038/nri3209
- [86] Moretta A: Natural killer cells and dendritic cells: Rendezvous in abused tissues. *Nat Rev Immunol* 2002; 2(12): 957-964. doi: 10.1038/Nri956
- [87] Aggarwal S, Pittenger MF: Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood* 2005; 105(4): 1815-1822. doi: 10.1182/blood-2004-04-1559
- [88] Spaggiari GM, Capobianco A, Becchetti S, et al: Mesenchymal stem cell-natural killer cell interactions: evidence that activated NK cells are capable of killing MSCs, whereas MSCs can inhibit IL-2-induced NK-cell proliferation. *Blood* 2006; 107(4): 1484-1490. doi: 10.1182/blood-2005-07-2775
- [89] Qu MM, Cui J, Zhu J, et al: Bone marrow-derived mesenchymal stem cells suppress NK cell recruitment and activation in PolyI:C-induced liver injury. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 466(2): 173-179. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.08.125
- [90] Michelo CM, Fasse E, Van Cranenbroek B, et al: Added effects of dexamethasone and mesenchymal stem cells on early Natural Killer cell activation. *Transpl Immunol* 2016; 37: 1-9. doi: 10.1016/j.trim.2016.04.008
- [91] Chatterjee D, Marquardt N, Tufa DM, et al: Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells utilize activin-A to suppress interferon-gamma production by natural killer cells. *Front Immunol* 2014; 5: 662. doi: 10.3389/fimmu.2014.00662
- [92] Noone C, Kihm A, English K, et al: IFN-gamma Stimulated Human Umbilical-Tissue-Derived Cells Potently Suppress NK Activation and Resist NK-Mediated Cytotoxicity In Vitro. *Stem Cells Dev* 2013; 22(22): 3003-3014. doi: 10.1089/scd.2013.0028
- [93] Gotherstrom C, Lundqvist A, Duprez IR, et al: Fetal and adult multipotent mesenchymal stromal cells are killed by different pathways. *Cytotherapy* 2011; 13(3): 269-278. doi: 10.3109/14653249.2010.523077
- [94] Cui RTR, Hepner-Schefczyk H, Fessmann M, et al: Human mesenchymal stromal/stem cells acquire immunostimulatory capacity upon cross-talk with natural killer cells and might improve the NK cell function of immunocompromised patients. *Stem Cell Research & Therapy* 2016; 7(1): 88. doi: 10.1186/s13287-016-0353-9
- [95] Chatterjee D, Tufa DM, Baehre H, et al: Natural killer cells acquire CD73 expression upon exposure to mesenchymal stem cells. *Blood* 2014; 123(4): 594-5. doi: 10.1182/blood-2013-09-524827
- [96] El Omar RX, Dostert Y, Louis G, et al: Immunomodulation of endothelial differentiated mesenchymal stromal cells: impact on T and NK cells. *Immunology and Cell Biology*, 2016; 94(4): 342-56. doi: 10.1038/icb.2015.94
- [97] Thomas H, Jager M, Mauel M, et al: Interaction with mesenchymal stem cells provokes natural killer cells for enhanced IL-12/IL-18-induced interferon-gamma secretion. *Mediators of Inflammation* 2014; 2014: 143463. doi: 10.1155/2014/143463
- [98] Cui R, Rekasi H, Hepner-Schefczyk M, et al: Human mesenchymal stromal/stem cells acquire immunostimulatory capacity upon cross-talk with natural killer cells and might improve the NK cell function of immunocompromised patients. *Stem Cell Res Ther* 2016; 7(1): 88. doi: 10.1186/s13287-016-0353-9

- [99] Rafei M, Campeau PA, Aguilar-Mahecha A, et al: Mesenchymal Stromal Cells Ameliorate Experimental Autoimmune Encephalomyelitis by Inhibiting CD4 Th17 T Cells in a CC Chemokine Ligand 2-Dependent Manner. *J Immunol* 2009; 182(10): 5994-6002. doi: 10.4049/jimmunol.0803962
- [100] Mildner A, Jung S: Development and Function of Dendritic Cell Subsets. *Immunity* 2014; 40(5): 642-656. doi: 10.1016/j.immuni.2014.04.016
- [101] Dubois BB, Fayette JM, Barthelemy J, et al: Dendritic cells directly modulate B cell growth and differentiation. *J Leukocyte Biol* 1999; 66(2): 224-230. doi: 10.1002/jlb.66.2.224
- [102] Gerosa F, Baldani-Guerra B, Nisii C, et al: Reciprocal activating interaction between natural killer cells and dendritic cells. *J Exp Med* 2002; 195(3): 327-333. doi: 10.1084/Jem.20010938
- [103] Xu LL, Fu HX, Zhang JM, et al: Impaired Function of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells from Immune Thrombocytopenia Patients in Inducing Regulatory Dendritic Cell Differentiation Through the Notch-1/Jagged-1 Signaling Pathway. *Stem Cells Dev* 2017; 26(22): 1648-1661. doi: 10.1089/scd.2017.0078
- [104] Li YP, Paczesny S, Lauret E, et al: Human mesenchymal stem cells license adult CD34⁺ hemopoietic progenitor cells to differentiate into regulatory dendritic cells through activation of the Notch pathway. *J Immunol* 2008; 180(3): 1598-608. doi: 10.4049/jimmunol.180.3.1598
- [105] Zhang Y, Cai W, Huang Q, et al: Mesenchymal stem cells alleviate bacteria-induced liver injury in mice by inducing regulatory dendritic cells. *Hepatology* 2014; 59(2): 671-82. doi: 10.1002/hep.26670
- [106] Spaggiari GM, Abdelrazik H, Becchetti F et al: MSCs inhibit monocyte-derived DC maturation and function by selectively interfering with the generation of immature DCs: central role of MSC-derived prostaglandin E2. *Blood* 2009; 113(26): 6576-83. doi: 10.1182/blood-2009-02-203943
- [107] Nauta AJ, Kruisselbrink AB, Lurvink E, et al: Mesenchymal stem cells inhibit generation and function of both CD34⁺-derived and monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol* 2006; 177(4): 2080-7. doi: 10.4049/jimmunol.177.4.2080
- [108] Nauta AJ, Kruisselbrink AB, Lurvink E, et al: Mesenchymal stem cells inhibit generation and function of both CD34⁺-derived and monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol* 2006; 177(4): 2080-2087. doi: 10.4049/jimmunol.177.4.2080
- [109] Li YP, Paczesny S, Lauret E, et al: Human mesenchymal stem cells license adult CD34⁺ hemopoietic progenitor cells to differentiate into regulatory dendritic cells through activation of the notch pathway. *J Immunol* 2008; 180(3): 1598-1608. doi: 10.4049/jimmunol.180.3.1598
- [110] Ramasamy R, Fazekasova H, Lam EW, et al: Mesenchymal stem cells inhibit dendritic cell differentiation and function by preventing entry into the cell cycle. *Transplantation* 2007; 83(1): 71-6. doi: 10.1097/01.tp.0000244572.24780.54
- [111] Jiang XX, Zhang Y, Liu B, et al: Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells. *Blood* 2005; 105(10): 4120-6. doi: 10.1182/blood-2004-02-0586.
- [112] Del Prete AV, Dander W, Otero E, et al: Defective dendritic cell migration and activation of adaptive immunity in PI3K gamma-deficient mice. *Embo J* 2004; 23(17): 3505-3515. doi: 10.1038/sj.emboj.7600361
- [113] English KB, Barry FP, Mahon BP: Murine mesenchymal stem cells suppress dendritic cell migration, maturation and antigen presentation. *Immunology Letters* 2008; 115(1): 50-58. doi: 10.1016/j.imlet.2007.10.002
- [114] Sanchez-Sanchez N, Riol-Blanco L, de la Rosa G, et al: Chemokine receptor CCR7 induces intracellular signaling that inhibits apoptosis of mature dendritic cells. *Blood* 2004; 104(3): 619-625. doi: 10.1182/blood-2003-11-3943
- [115] Jakob T, Udey MC: Regulation of E-cadherin-mediated adhesion in Langerhans cell-like dendritic cells by inflammatory mediators that mobilize Langerhans cells in vivo. *J Immunol* 1998; 160(8): 4067-4073.
- [116] Tang AM, Amagai M, Granger LG: Adhesion of Epidermal Langerhans Cells to Keratinocytes Mediated by E-Cadherin. *Nature* 1993; 361(6407): 82-85. doi: 10.1038/361082a0
- [117] Lutz MB, Schuler G: Immature, semi-mature and fully mature dendritic cells: which signals induce tolerance or immunity? *Trends Immunol* 2002; 23(9): 445-449. doi: 10.1016/S1471-4906(02)02281-0
- [118] Consentius CA, Schmidt-Lucke L, Tschöpe JA, et al: Mesenchymal Stromal Cells Prevent Allostimulation In Vivo and Control Checkpoints of Th1 Priming: Migration of Human DC to Lymph Nodes and NK Cell Activation. *Stem Cells* 2015; 33(10): 3087-3099. doi: 10.1002/stem.2104
- [119] Zhang W, Ge W, Li CH, et al: Effects of mesenchymal stem cells on differentiation, maturation, and function of human monocyte-derived dendritic cells. *Stem Cells Dev* 2004; 13(3): 263-271. doi: 10.1089/154732804323099190
- [120] Consentius C, Akyuz L, Schmidt-Lucke JA, et al: Mesenchymal Stromal Cells Prevent Allostimulation In Vivo and Control Checkpoints of Th1 Priming: Migration of Human DC to Lymph Nodes and NK Cell Activation. *Stem Cells* 2015; 33(10): 3087-3099. doi: 10.1002/stem.2104
- [121] English K, Barry FP, Mahon BP: Murine mesenchymal stem cells suppress dendritic cell migration, maturation and antigen presentation. *Immunology Letters* 2008; 115(1): 50-58. doi: 10.1016/j.imlet.2007.10.002
- [122] Chiesa SM, Morando S, Massollo S, et al: Mesenchymal stem cells impair in vivo T-cell priming by dendritic cells. *P Natl Acad Sci USA* 2011; 108(42): 17384-17389. doi: 10.1073/pnas.1103650108
- [123] Favaro EC, Caorsi A, Giovarelli C, et al: Human mesenchymal stem cells and derived extracellular vesicles induce regulatory dendritic cells in type 1 diabetic patients. *Diabetologia* 2016; 59(2): 325-333. doi: 10.1007/s00125-015-3808-0
- [124] Huang YF, Chen P, Zhang CB, et al: Kidney-Derived Mesenchymal Stromal Cells Modulate Dendritic Cell Function to Suppress Alloimmune Responses and Delay Allograft Rejection. *Transplantation* 2010; 90(12): 1307-1311. doi: 10.1097/TP.0b013e3181fdd9eb
- [125] Cho DI, Kim MR, Jeong HY, et al: Mesenchymal stem cells reciprocally regulate the M1/M2 balance in mouse bone marrow-derived macrophages. *Exp Mol Med* 2014; 46(1): e70. doi: 10.1038/emm.2013.135
- [126] Spaggiari GM, Moretta L: Cellular and molecular interactions of mesenchymal stem cells in innate immunity. *Immunology and Cell Biology* 2013; 91(1): 27-31. doi: 10.1038/icb.2012.62
- [127] Cho DI, Kim MR, Jeong HY, et al: Mesenchymal stem cells

reciprocally regulate the M1/M2 balance in mouse bone marrow-derived macrophages. *Exp Mol Med*, 2014. 46. ARTN e70 10.1038/emm.2013.135

- [128] Mosser DM, The many faces of macrophage activation. *J Leukocyte Biol* 2003; 73(2): 209-212. 10.1189/jlb.0602325
- [129] Kim J, Hematti P: Mesenchymal stem cell-educated macrophages: A novel type of alternatively activated macrophages. *Experimental Hematology* 2009; 37(12): 1445-1453. doi: 10.1016/j.exphem.2009.09.004
- [130] Maggini J, Mirkin G, Bognanni I, et al: Mouse Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stromal Cells Turn Activated Macrophages into a Regulatory-Like Profile. *Plos One* 2010; 5(2): doi: 10.1371/journal.pone.0009252
- [131] Shi C, Jia T, Mendez-Ferrer S, et al: Bone Marrow Mesenchymal Stem and Progenitor Cells Induce Monocyte Emigration in Response to Circulating Toll-like Receptor Ligands. *Immunity* 2011; 34(4): 590-601. doi: 10.1016/j.immuni.2011.02.016
- [132] Lotfinia M, Kadivar M, Piryaei A, et al: Effect of Secreted Molecules of Human Embryonic Stem Cell-Derived Mesenchymal Stem Cells on Acute Hepatic Failure Model. *Stem Cells Dev* 2016; 25(24): 1898-1908. doi: 10.1089/scd.2016.0244
- [133] Lu WB, Fu C, Song L, et al., Exposure to supernatants of macrophages that phagocytized dead mesenchymal stem cells improves hypoxic cardiomyocytes survival. *Int J Cardiol* 2013; 165(2): 333-340. doi: 10.1016/j.ijcard.2012.03.088
- [134] Kawai T, Akira S The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nature Immunology* 2010; 11(5): 373-384. doi: 10.1038/ni.1863
- [135] Ulevitch RJ: Therapeutics targeting the innate immune system. *Nat Rev Immunol* 2004; 4(7): 512-520. doi: 10.1038/nri1396
- [136] Bell JKM, Leifer GED, Mazzoni CA, et al: Leucine-rich repeats and pathogen recognition in Toll-like receptors. *Trends Immunol* 2003; 24(10): 528-533. doi: 10.1016/S1471-4906(03)00242-4
- [137] Fitzgerald KAR, Barnes DC, Caffrey BJ, et al: LPS-TLR4 signaling to IRF-3/7 and NF-kappa B involves the toll adapters TRAM and TRIF. *J Exp Med* 2003; 198(7): 1043-1055. doi: 10.1084/jem.20031023
- [138] Iwasaki A, Medzhitov R: Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nature Immunology* 2004; 5(10): 987-995. doi: 10.1038/ni1112
- [139] Cho HH, Bae YC Jung JS: Role of toll-like receptors on human adipose-derived stromal cells. *Stem Cells* 2006; 24(12): 2744-2752. doi: 10.1634/stemcells.2006-0189
- [140] Liotta F, Angeli R, Cosmi L, et al: Toll-like receptors 3 and 4 are expressed by human bone marrow-derived mesenchymal stem cells and can inhibit their T-cell modulatory activity by impairing notch signaling. *Stem Cells* 2008; 26(1): 279-289. doi: 10.1634/stemcells.2007-0454
- [141] van den Berk LCJ, Jansen BJH, Siebers-Vermeulen KGC, et al: Toll-like receptor triggering in cord blood mesenchymal stem cells. *J Cell Mol Med* 2009; 13(9B): 3415-3426. doi: 10.1111/j.1582-4934.2009.00653.x
- [142] Braun D, Longman RS Albert ML: A two-step induction of indoleamine 2,3 dioxygenase (IDO) activity during dendritic-cell maturation. *Blood* 2005; 106(7): 2375-2381. doi: 10.1182/blood-2005-03-0979
- [143] Hayashi T, Beck L, Rossetto C, et al: Inhibition of experimental asthma by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Journal of Clinical Investigation* 2004; 114(2): 270-279. doi: 10.1172/Jci200421275
- [144] Frumento GR, Tonetti R, Damonte M, et al: Tryptophan-derived catabolites are responsible for inhibition of T and natural killer cell proliferation induced by indoleamine 2,3-dioxygenase. *J Exp Med* 2002; 196(4): 459-468. doi: 10.1084/jem.20020121
- [145] Chen LW, Tredget EE, Wu PYG, et al: Paracrine Factors of Mesenchymal Stem Cells Recruit Macrophages and Endothelial Lineage Cells and Enhance Wound Healing. *Plos One* 2008; 3(4). doi: 10.1371/journal.pone.0001886
- [146] Li F, Zhao SZ: Control of Cross Talk between Angiogenesis and Inflammation by Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Ocular Surface Diseases. *Stem Cells Int* 2016; doi: 10.1155/2016/7961816
- [147] Tang Y, Yasuhara T, Hara K, et al: Transplantation of bone marrow-derived stem cells: a promising therapy for stroke. *Cell Transplant* 2007; 16(2): 159-69. 10.3727/000000007783464614
- [148] Aoi TS, Stacey G: Impact of National and International Stem Cell Banking Initiatives on progress in the field of cell therapy: IABS-JST Joint Workshop: Summary for Session 5. *Biologicals: Journal of the International Association of Biological Standardization* 2015; 43(5): 399-401. doi: 10.1016/j.biologicals.2015.07.007
- [149] Wu Y, Cao Y, Li X, et al: Cotransplantation of haploidentical hematopoietic and umbilical cord mesenchymal stem cells for severe aplastic anemia: successful engraftment and mild GVHD. *Stem Cell Res* 2014; 12(1): 132-8. doi: 10.1016/j.scr.2013.10.001
- [150] Xiao N, Zhao X, Luo P, et al: Co-transplantation of mesenchymal stromal cells and cord blood cells in treatment of diabetes. *Cytotherapy* 2013; 15(11): 1374-84. doi: 10.1016/j.jcyt.2013.06.013
- [151] Wu KH, Chan CK, Tsai C et al., Effective treatment of severe steroid-resistant acute graft-versus-host disease with umbilical cord-derived mesenchymal stem cells. *Transplantation* 2011; 91(12): 1412-6. doi: 10.1097/TP.0b013e31821aba18
- [152] Wang S, Cheng H, Dai G, et al: Umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation significantly improves neurological function in patients with sequelae of traumatic brain injury. *Brain Research* 2013; 1532: doi: 76-84. 10.1016/j.brainres.2013.08.001
- [153] Wang L, Li J, Liu H, et al : Pilot study of umbilical cord-derived mesenchymal stem cell transfusion in patients with primary biliary cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28 (Suppl 1): 85-92. doi:10.1111/jgh.12029
- [154] Galipeau J, Krampera M, Barrett J, et al: International Society for Cellular Therapy perspective on immune functional assays for mesenchymal stromal cells as potency release criterion for advanced phase clinical trials. *Cytotherapy* 2016; 18(2): 151-9. doi: 10.1016/j.jcyt.2015.11.008
- [155] von Bahr L, Batsis I, Moll G, et al: Analysis of Tissues Following Mesenchymal Stromal Cell Therapy in Humans Indicates Limited Long-Term Engraftment and No Ectopic Tissue Formation. *Stem Cells* 2012; 30(7): 1575-1578. doi: 10.1002/stem.1118

- [156] Luz-Crawford P, Kurte M, Bravo-Alegria J, et al: Mesenchymal stem cells generate a CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cell population during the differentiation process of Th1 and Th17 cells. *Stem Cell Res Ther* 2013; 4(3): 65. doi: 10.1186/scrt216
- [157] Lopez-Santalla M, Mancheno-Corvo P, Menta R, et al: Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells Modulate Experimental Autoimmune Arthritis by Modifying Early Adaptive T Cell Responses. *Stem Cells* 2015; 33(12): 3493-503. doi: 10.1002/stem.2113
- [158] Tasso R, Ilengo C, Quarto R, et al: Mesenchymal stem cells induce functionally active T-regulatory lymphocytes in a paracrine fashion and ameliorate experimental autoimmune uveitis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2012; 53(2): 786-93. doi: 10.1167/iov.11-8211
- [159] Ryu KH, Kim SY, Kim YR, et al: Tonsil-derived mesenchymal stem cells alleviate concanavalin A-induced acute liver injury. *Experimental Cell Research* 2014; 326(1): 143-54. doi: 10.1016/j.yexcr.2014.06.007
- [160] Sun L, Akiyama K, Zhang H, et al: Mesenchymal stem cell transplantation reverses multiorgan dysfunction in systemic lupus erythematosus mice and humans. *Stem Cells* 2009; 27(6): 1421-32. doi: 10.1002/stem.68
- [161] Favaro E, Carpanetto A, Caorsi C, et al: Human mesenchymal stem cells and derived extracellular vesicles induce regulatory dendritic cells in type 1 diabetic patients. *Diabetologia* 2016; 59(2): 325-333. doi: 10.1007/s00125-015-3808-0
- [162] Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, et al: Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Bone Marrow Transpl* 2004; 33: S185-S185. doi: 10.1016/S0140-6736(04)16104-7.
- [163] LeBlanc K, Frassonni F, Ball L, et al: Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. *Lancet* 2008; 371(9624): 1579-1586. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60690-X
- [164] Robles JD, Liu YP, Cao JM, et al: Immunosuppressive mechanisms of human bone marrow derived mesenchymal stromal cells in BALB/c host graft versus host disease murine models. *Exp Hematol Oncol* 2015; 4: 13. doi: 10.1186/s40164-015-0007-0
- [165] Tobin LM, Healy ME, English K, et al: Human mesenchymal stem cells suppress donor CD4+T cell proliferation and reduce pathology in a humanized mouse model of acute graft-versus-host disease. *Clinical and Experimental Immunology* 2013; 172(2): 333-348. doi: 10.1111/cei.12056
- [166] Gregoire-Gauthier J, Selleri S, Fontaine F, et al: Therapeutic Efficacy of Cord Blood-Derived Mesenchymal Stromal Cells for the Prevention of Acute Graft-Versus-Host Disease in a Xenogenic Mouse Model. *Stem Cells Dev* 2012; 21(10): 1616-1626. doi: 10.1089/scd.2011.0413
- [167] Jang MJ, Kim HS, Lee HG, et al: Placenta-Derived Mesenchymal Stem Cells Have an Immunomodulatory Effect That Can Control Acute Graft-Versus-Host Disease in Mice. *Acta Haematol-Basel* 2013; 129(4): 197-206. doi: 10.1159/000345267
- [168] Jang YK, Kim M, Lee YH, et al: Optimization of the therapeutic efficacy of human umbilical cord blood-mesenchymal stromal cells in an NSG mouse xenograft model of graft-versus-host disease. *Cytotherapy* 2014; 16(3): 298-308. doi: 10.1016/j.jcyt.2013.10.012
- [169] Luz-Crawford P, Torres MJ, Noel D, et al: The Immunosuppressive Signature of Menstrual Blood Mesenchymal Stem Cells Entails Opposite Effects on Experimental Arthritis and Graft Versus Host Diseases. *Stem Cells* 2016; 34(2): 456-469. doi: 10.1002/stem.2244
- [170] Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M, et al: Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. *Experimental Hematology* 2002; 30(1): 42-48. doi: 10.1016/S0301-472X(01)00769-X
- [171] Di Nicola M, Carlo-Stella C, Milanese M, et al: Human bone marrow stromal cells suppress T-cell proliferation induced by allogeneic lymphocytes or dendritic cells. *Bone Marrow Transpl* 2002; 29: S39-S40. doi: 10.1182/blood.v99.10.3838.
- [172] Kurtzberg J, Prockop S, Teira P, et al: Allogeneic Human Mesenchymal Stem Cell Therapy (Remestemcel-L, Prochymal) as a Rescue Agent for Severe Refractory Acute Graft-versus-Host Disease in Pediatric Patients. *Biol Blood Marrow Tr* 2014; 20(2): 229-235. doi: 10.1016/j.bbmt.2013.11.001
- [173] Baker M: Fast and Furious. *Nature* 2009; 458(7241): 962-965. doi: 10.1038/458962a
- [174] Rizk M, Monaghan M, Shorr R, et al: Heterogeneity in Studies of Mesenchymal Stromal Cells to Treat or Prevent Graft-versus-Host Disease: A Scoping Review of the Evidence. *Biol Blood Marrow Tr* 2016; 22(8): 1416-1423. doi: 10.1016/j.bbmt.2016.04.010
- [175] Carnegie PR: Evolution of Amino-Acid Sequence of Myelin Basic-Protein. *P Aust Biochem Soc* 1978; 11: 115-115. doi: 10.1515/bchm3.1991.372.2.865
- [176] Feinstein A, Freeman J, Lo AC: Progressive multiple sclerosis 2 Treatment of progressive multiple sclerosis: what works, what does not, and what is needed. *Lancet Neurol* 2015; 14(2): 194-207. doi: 10.1016/S1474-4422(14)70231-5
- [177] Vos T, Barber RM, Bell B, et al: Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* 2015; 386(9995): 743-800. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60692-4
- [178] Hedegaard CJ, Krakauer M, Bendtsen K, et al: T helper cell type 1 (Th1), Th2 and Th17 responses to myelin basic protein and disease activity in multiple sclerosis. *Immunology* 2008; 125(2): 161-169. doi: 10.1111/j.1365-2567.2008.02837.x
- [179] Kebir H, Kreyenborg K, Ifergan I, et al: Human T(H)17 lymphocytes promote blood-brain barrier disruption and central nervous system inflammation. *Nat Med* 2007; 13(10): 1173-1175. doi: 10.1038/nm1651
- [180] Zappia E, Casazza S, Pedemonte E, et al: Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy. *Blood* 2005; 106(5): 1755-1761. doi: 10.1182/blood-2005-04-1496
- [181] Bai LH, Lennon DP, Eaton V, et al: Human Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Induce Th2-Polarized Immune Response and Promote Endogenous Repair in Animal Models of Multiple Sclerosis. *Glia* 2009; 57(11): 1192-1203. doi: 10.1002/glia.20841
- [182] Lanz TV, Opitz CA, Ho PP, et al: Mouse Mesenchymal Stem Cells Suppress Antigen-Specific TH Cell Immunity Independent of Indoleamine 2,3-Dioxygenase 1 (IDO1). *Stem Cells Dev* 2010; 19(5): 657-668. doi: 10.1089/scd.2009.0385

- [183] Sajic M, Hunt DPJ, Lee W, et al: Mesenchymal Stem Cells Lack Efficacy in the Treatment of Experimental Autoimmune Neuritis despite In Vitro Inhibition of T-Cell Proliferation. *Plos One* 2012; 7(2): doi: 10.1371/journal.pone.0030708
- [184] Ben-Ami E, Miller A, Berrih-Aknin S: T cells from autoimmune patients display reduced sensitivity to immunoregulation by mesenchymal stem cells: Role of IL-2. *Autoimmun Rev* 2014; 13(2): 187-196. doi: 10.1016/j.autrev.2013.09.007
- [185] Mohyeddin Bonab M, Yazdanbakhsh S, Lotfi J, et al: Does mesenchymal stem cell therapy help multiple sclerosis patients? Report of a pilot study. *Iran J Immunol* 2007; 4(1): 50-7.
- [186] Yamout B, Hourani R, Salti H, et al: Bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis: A pilot study. *Journal of Neuroimmunology* 2010; 227(1-2): 185-189. doi: 10.1016/j.jneuroim.2010.07.013
- [187] Karussis D, Karageorgiou C, Vaknin-Dembinsky A, et al: Safety and Immunological Effects of Mesenchymal Stem Cell Transplantation in Patients With Multiple Sclerosis and Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Arch Neurol-Chicago* 2010; 67(10): 1187-1194. doi: 10.1001/archneurol.2010.248.
- [188] Connick PK, Crawley M, Webber C, et al: Autologous mesenchymal stem cells for the treatment of secondary progressive multiple sclerosis: an open-label phase 2a proof-of-concept study. *Lancet Neurol* 2012; 11(2): 150-156. doi: 10.1016/S1474-4422(11)70305-2
- [189] Freedman MSB-O, Atkins A, Karussis HL, et al: The therapeutic potential of mesenchymal stem cell transplantation as a treatment for multiple sclerosis: consensus report of the International MSCT Study Group. *Mult Scler J* 2010; 16(4): 503-510. doi: 10.1177/1352458509359727
- [190] Benito MJ, Veale DJ, Fitzgerald O, et al: Synovial tissue inflammation in early and late osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64(9): 1263-1267. doi: 10.1136/ard.2004.025270
- [191] Noth U, Steinert AF, Tuan RS: Technology Insight: adult mesenchymal stem cells for osteoarthritis therapy. *Nat Clin Pract Rheum* 2008; 4(7): 371-380. doi: 10.1038/ncprheum0816
- [192] Horie M, Choi H, Lee RH, et al: Intra-articular injection of human mesenchymal stem cells (MSCs) promote rat meniscal regeneration by being activated to express Indian hedgehog that enhances expression of type II collagen. *Osteoarthr Cartilage* 2012; 20(10): 1197-1207. doi: 10.1016/j.joca.2012.06.002
- [193] Sato M, Uchida K, Nakajima H, et al: Direct transplantation of mesenchymal stem cells into the knee joints of Hartley strain guinea pigs with spontaneous osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* 2012; 14(1): R31 doi: 10.1186/Ar3735
- [194] Toghraie F, Razmkhah M, Gholipour MA, et al: Scaffold-free Adipose-derived Stem Cells (ASCs) Improve Experimentally Induced Osteoarthritis in Rabbits. *Arch Iran Med* 2012; 15(8): 495-499.
- [195] Tyndall A: Mesenchymal stem cell treatments in rheumatology-a glass half full? *Nat Rev Rheumatol* 2014; 10(2): 117-124. doi: 10.1038/nrrheum.2013.166
- [196] Bouffi C, Djouad F, Mathieu M, Noel D, et al: Multipotent mesenchymal stromal cells and rheumatoid arthritis: risk or benefit? *Rheumatology* 2009; 48(10): 1185-1189. doi: 10.1093/rheumatology/kep162
- [197] Salam AGA, Ata HM, Salman TM, et al: Potential therapeutic utility of mesenchymal stem cells in inflammatory bowel disease in mice. *Int Immunopharmacol* 2014; 22(2): 515-521. doi: 10.1016/j.intimp.2014.07.030
- [198] He XW, He XS, Lian L, et al: Systemic Infusion of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells for Treatment of Experimental Colitis in Mice. *Digest Dis Sci* 2012; 57(12): 3136-3144. doi: 10.1007/s10620-012-2290-5
- [199] Forte DC, Valerii M, De Fazio MC, et al: Human cord blood-derived platelet lysate enhances the therapeutic activity of adipose-derived mesenchymal stromal cells isolated from Crohn's disease patients in a mouse model of colitis. *Stem Cell Research & Therapy* 2015; 6(1): 170. doi: 10.1186/S13287-015-0166-2
- [200] Sala E, Genua M, Petti L, et al: Mesenchymal Stem Cells Reduce Colitis in Mice via Release of TSG6, Independently of Their Localization to the Intestine. *Gastroenterology* 2015; 149(1): 163-176. doi: 10.1053/j.gastro.2015.03.013
- [201] Wang DD, Zhang HY, Liang J, et al: Allogeneic Mesenchymal Stem Cell Transplantation in Severe and Refractory Systemic Lupus Erythematosus: 4 Years of Experience. *Cell Transplantation* 2013; 22(12): 2267-2277. doi: 10.3727/096368911X582769c
- [202] Ibraheim H, Giacomini C, Kassam Z, et al: Advances in mesenchymal stromal cell therapy in the management of Crohn's disease. *Expert Rev Gastroent* 2018; 12(2): 141-153. doi: 10.1080/17474124.2018.1393332
- [203] Garcia-Olmo D, Garcia-Arranz M, Herreros D, et al: A phase I clinical trial of the treatment of Crohn's fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. *Dis Colon Rectum* 2005; 48(7): 1416-1423. doi: 10.1007/s10350-005-0052-6
- [204] Garcia-Olmo D, Herreros D, Pascual I, et al: Expanded Adipose-Derived Stem Cells for the Treatment of Complex Perianal Fistula: a Phase II Clinical Trial. *Dis Colon Rectum* 2009; 52(1): 79-86. doi: 10.1007/DCR.0b013e3181973487
- [205] Duijvestein MV, Roelofs ACW, Wildenberg H, et al: Autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cell treatment for refractory luminal Crohn's disease: results of a phase I study. *Gut* 2010; 59(12): 1662-1669. doi: 10.1136/gut.2010.215152
- [206] Catalan-Serra I, Brenna O: Immunotherapy in inflammatory bowel disease: Novel and emerging treatments. *Hum Vaccin Immunother* 2018; 14(11): 2597-2611. doi: 10.1080/21645515.2018.1461297
- [207] Parisi R, Symmons DPM, Griffiths CEM, et al: Global Epidemiology of Psoriasis: A Systematic Review of Incidence and Prevalence. *J Invest Dermatol* 2013; 133(2): 377-385. doi: 10.1038/jid.2012.339
- [208] Griffiths CEM, Barker JNWN: Psoriasis 1 - Pathogenesis and clinical features of psoriasis. *Lancet* 2007; 370(9583): 263-271. doi: 10.1016/S0140-6736(07)61128-3
- [209] Lowes MA, Kikuchi T, Fuentes-Duculan J, et al: Psoriasis vulgaris lesions contain discrete populations of Th1 and Th17 T cells. *J Invest Dermatol* 2008; 128(5): 1207-1211. doi: 10.1038/sj.jid.5701213
- [210] Liu RF, Wang Y, Zhao XC, et al: Lymphocyte inhibition is compromised in mesenchymal stem cells from psoriatic skin. *Eur J Dermatol* 2014; 24(5): 560-567. doi: 10.1684/ejd.2014.2394

- [211] Campanati A, Orciani M, Consales V, et al: Characterization and profiling of immunomodulatory genes in resident mesenchymal stem cells reflect the Th1-Th17/Th2 imbalance of psoriasis. *Arch Dermatol Res* 2014; 306(10): 915-920. doi: 10.1007/s00403-014-1493-3
- [212] Sah SK, Park KH, Yun CO, et al: Effects of Human Mesenchymal Stem Cells Transduced with Superoxide Dismutase on Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Skin Inflammation in Mice. *Antioxid Redox Sign* 2016; 24(5): 233-248. doi: 10.1089/ars.2015.6368
- [213] Shin TH, Kim HS, Choi SW, et al: Mesenchymal Stem Cell Therapy for Inflammatory Skin Diseases: Clinical Potential and Mode of Action. *Int J Mol Sci* 2017; 18(2): 244. doi: 10.3390/ijms18020244
- [214] Sah SK, Park KH, Yun CO, et al: Effects of Human Mesenchymal Stem Cells Transduced with Superoxide Dismutase on Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Skin Inflammation in Mice. *Antioxid Redox Signal* 2016; 24(5): 233-48. doi: 10.1089/ars.2015.6368
- [215] Chen HN, Ning JW, Pan HM, et al: Treatment of Psoriasis with Mesenchymal Stem Cells. *Am J Med* 2016; 129(3): e13-4. doi: 10.1016/j.amjmed.2015.11.001
- [216] Tyndall A, van Laar JM: Stem cell transplantation and mesenchymal cells to treat autoimmune diseases. *Presse Medicale* 2016; 45(6 Pt 2): e159-69. doi: 10.1016/j.lpm.2016.05.002
- [217] Zachar V, Rasmussen JGFink T: Isolation and growth of adipose tissue-derived stem cells. *Methods Mol Biol* 2011; 698: 37-49. doi: 10.1007/978-1-60761-999-4_4
- (Dr. Veréb Zoltán, Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika, Regeneratív Medicina és Celluláris Farmakológiai Kutató Laboratórium, 6720 Szeged, Korányi fasor 6., Tel.: +36-62-545-277; email: vereb.zoltan@med.u-szeged.hu)

(Dr. Veréb Zoltán, Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika, Regeneratív Medicina és Celluláris Farmakológiai Kutató Laboratórium, 6720 Szeged, Korányi fasor 6., Tel.: +36-62-545-277; email: vereb.zoltan@med.u-szeged.hu)

Immunológiai szótár

hiperszenzitivitási reakció, IV. típusú A hiperszenzitivitási reakciók Gell és Coombs által bevezetett osztályozásában használt kifejezés. A IV. típusú reakcióban aktivált lymphocyták az antigénnel annak lerakódási helyén reagálnak, és a reakció eredményeként lymphocytá-makrofág-granuloma képződik, pl. tüdőtuberkulózisban. Ebben a reakcióban a keringő antitest nem játszik szerepet (késői típusú hiperszenzitivitás, sejt-közvetített immunitás).

hipervariábilis régió (HVR; komplementaritást meghatározó régió; CDR) Az immunoglobulin-molekulák nehéz és könnyű láncának variábilis régióján belül, meghatározott pozícióban levő szekvenciák, amelyek sokkal nagyobb molekulák közötti variabilitást mutatnak, mint egyéb szekvenciák (vázszekvenciák). Ezek a hipervariábilis elemek a V-régió (variábilis régió) domén hurokrészének a hajlatában találhatók. A domén be-türemkedik az antigénköthő helybe, ahol a hipervariábilis ma-radékok számára lehetővé válik az epitóppal való kapcsolódás. Nem teljesen, de részben tehát felelősek az antigénköthő hely specificitásáért és a sejtek különböző klónjai által termelt immunoglobulinok közötti idiotípusvariációkért. A nehéz és a könnyű lánc variábilis régióján belül egyaránt három hipervariábilis szakasz található.

hypogammaglobulinaemia Alacsony szérum-immunglobulin- (gamma-globulin-) szint. Újszülöttekben fiziológiás lehet, vagy fokozott fehérjevesztést követhet, vagy csökkent immunglobulin-termelés okozhatja. Antitesthiányos állapotokra szintén jellemző, ezek lehetnek örökletesek, mint pl. az X-kromoszómához kötött gammaglobulinaemia, vagy okozhatja

a lymphoid szövet lymphomás, leukaemiás stb. szövettel való helyettesítése.

hiposzzenitizáció (az észak-amerikai irodalomban allergén-deszenzitizációként vagy Rush-deszenzitizációként is ismert) Egy bizonyos allergén folyamatosan növekvő dózisának adása az allergénre adott azonnali típusú túlérzékenységben szenvedő egyéneknek. A kezelés célja az allergénnel való későbbi, véletlen kontaktuskor létrejövő reakció valószínűségének csökkentése. Az elmélet az, hogy az allergén (antigén) nagy mennyiségű IgG (mint blokkoló antitest) kialakulását eredményezi. Ez az IgG vagy közvetlenül gátolja a további IgE-szintézist, vagy az allergénhez kötődve megakadályozza annak IgE-molekulákkal való kapcsolódását a hízósejteken. Ez a kezelés szigorúan meghatározott: Nagy-Britanniában a Committee on Safety of Medicines ellenőrzi, hogy főleg csak szénanátha, méh- és darázscsípésre való túlérzékenység eseteiben alkalmazzák, és sohasem asthmában. Újraélesztésben gyakorlott személyzet jelenléte kötelező.

hisztamin Vaszkuláris permeabilitási faktor, értágító és sima izom-összehúzó hatással. Az élő szövetekben széles körben elterjedt, és nagy koncentrációban található hízósejtekben. Hisztamin és hisztaminszerű vegyületek akkor szabadulnak fel, amikor a sejtmembránhoz kötött IgE antigénnel reagál. Hatására az azonnali típusú túlérzékenységi reakció klasszikus vaszkuláris laesioi jönnek létre (oedema, erythema). Az anafilatoxinok szintén hisztaminfelszabadulást okoznak.

A teljes remisszió lehetősége akár MTX nélkül is^{1,2}

Roche

MIKOR KEZDJÜK
EL A RoACTEMRA
KEZELÉST?*

MOST

10 év bizonyított hatékonyság és tapasztalat a rheumatoid arthritisben^{3,4,5}

RoACTEMRA®
tocilizumab

1. RoACTEMRA SmPC, www.ema.europa.eu

2. Gabay C, et al. Lancet 2013; 381: 1541-1550.

3. EMA. Doc Ref EMEA/CHMP/580914/2008. 2008. Available at http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Summary_of_opinion_-_Initial_authorisation/human/000955/WC500059466.pdf Last accessed October 2017.

4. Jones G et al. J Rheumatol 2017; 44(2): 142-146.

5. Dougados M et al. Ann Rheum Dis 2013; 72(1): 43-50.

RoActemra (tocilizumab) koncentrátum (20mg tocilizumab/ml) oldatos infúzió.

80 mg tocilizumab/4 ml; 200 mg tocilizumab/10 ml illetve 400 mg tocilizumab/20 ml injekciós üvegekben **RoActemra (tocilizumab) 162 mg oldatos injekció előretöltött fecskendő** (162 mg tocilizumab/0,9 ml oldatban). **RoActemra (tocilizumab) 162 mg oldatos injekció előretöltött injekciós toll** (162 mg tocilizumab/0,9 ml oldatban).

***Indikáció:** A RoActemra metotrexáttal (MTX) kombinálva javallott: súlyos, aktív és progresszív rheumatoid arthritis (RA) kezelésére olyan felnőtteknél, akiket korábban nem kezeltek metotrexáttal és közepesen súlyos vagy súlyos, aktív RA kezelésére olyan felnőtt betegek esetében, akik nem reagáltak megfelelő módon vagy intoleranciát mutattak más, előzőleg alkalmazott, egy vagy több betegségmódosító antireumatikus gyógyszerre (DMARD) vagy tumornekrózis faktor (TNF) antagonistá kezelésre. Ezeknél a betegeknél a RoActemra monoterápiaként is adható metotrexát intolerancia esetén vagy ha a metotrexáttal történő tartós kezelés nem alkalmazható.

Dokumentum zárásának időpontja: 2020.03.01.

Bővebb információért olvassa el a gyógyszer alkalmazási előírását: www.ogyei.gov.hu/gyogyszeradatbazis. Az aktuális árak tekintetében kérjük, ellenőrizze a www.neak.gov.hu honlapon a: Publikus gyógyszertervezs - lakossági tájékoztató alatt található információkat.

Roche

További információ:

Roche (Magyarország) Kft.
2040 Budaörs, Edison u. 1.

Tel: 06-23-446 800

Fax: 06-23-446 860

Email: hungary.medinfo@roche.com

Internet: www.roche.hu

HU/RA/0220/0004

Metabolomikai vizsgálatok gyulladásos reumatológiai kórképekben

TÓTH LILLA^{1, 2}, NAGY GYÖRGY^{2, 3}

¹ Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Budapest

² Budai Irgalmasrendi Kórház, I. Sz. Reumatológia Osztály, Budapest

³ Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, Budapest

A metabolomika az anyagcsere-folyamatokban keletkező, kis molekulatömegű vegyületek vizsgálatával foglalkozó tudományterület. A különböző betegségek befolyásolják a szervezet metabolikus profilját, így ennek elemzésével számos információt nyerhetünk a különféle kórképekkel kapcsolatban. Az utóbbi néhány évben az analitikai vizsgálómódszerek nagymértékű fejlődésen mentek keresztül, amelynek köszönhetően felhasználásuk egyre több orvostudományi területen népszerűvé vált, így számos reumatológiai betegség vizsgálatában is fontos szerepet játszik a metabolomika.

Kulcsszavak: metabolomika, biomarker, rheumatoid arthritis, szisztémás lupus erythematosus, spondylitis ankylopoetica, arthritis psoriatica, progresszív szisztémás sclerosis

METABOLOMICS IN INFLAMMATORY RHEUMATIC DISEASES

Metabolomics refers to the analysis of small organic compounds arising from metabolic processes. Pathological conditions can influence the metabolic profile of the human body, and its analysis can provide several pieces of information in connection with the different diseases. In the last few years, the analytical techniques went through a significant development, which led to its enhanced usage in various fields of medical sciences. Metabolomic studies also play an important role in the research of several rheumatic diseases.

Keywords: metabolomics, biomarker, rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, ankylosing spondylitis, psoriatic arthritis, progressive systemic sclerosis

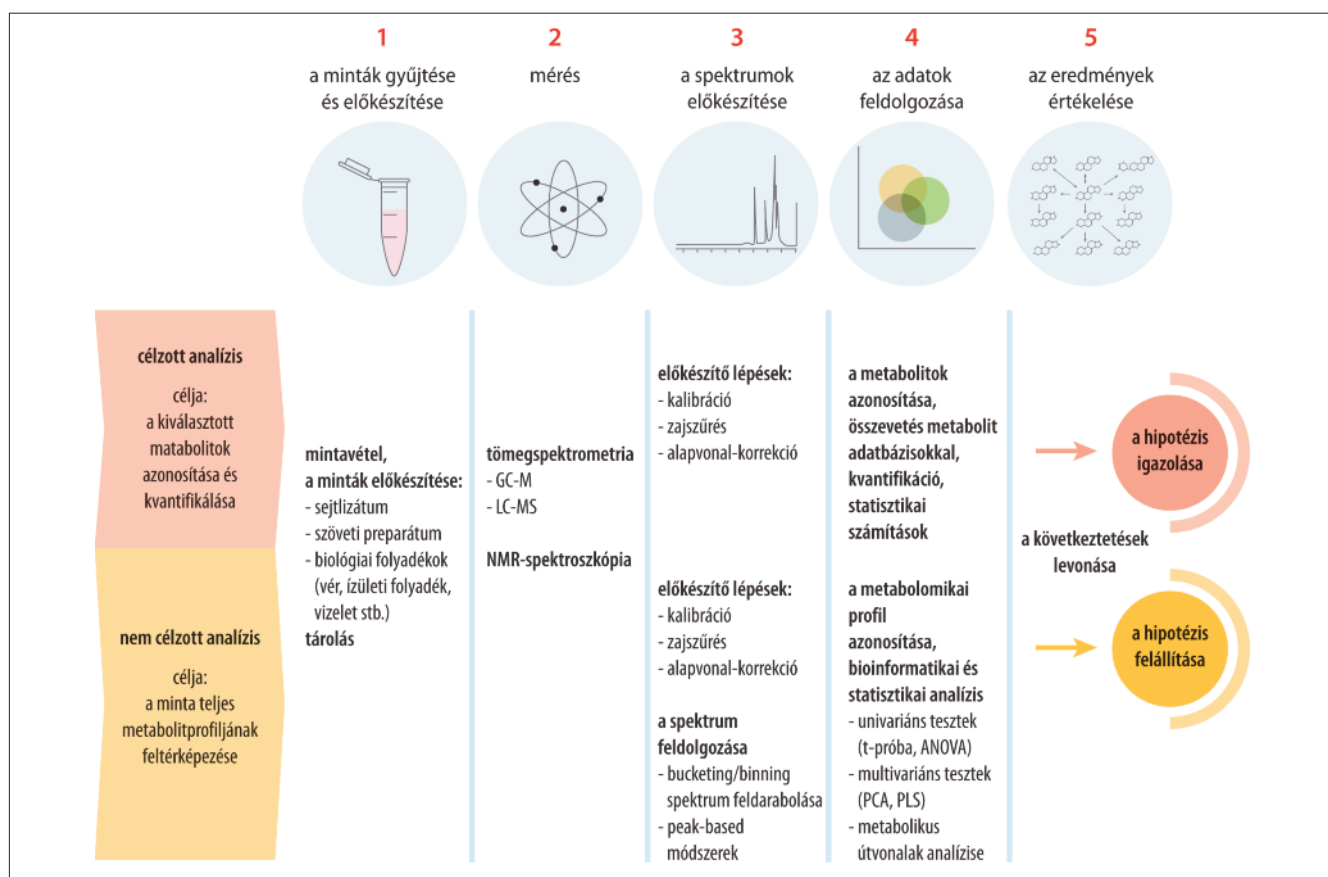
Bevezetés

A szervezetben végbemenő különböző anyagcsere-folyamatokban részt vevő kis molekulatömegű anyagokat metabolitoknak nevezzük. Ezek közé sorolhatók többek között az egyszerű szénhidrátok, aminosavak, lipidek és nukleotidok, amelyek a sejtekben, szövetekben és a biológiai folyadékokban dinamikusan változó rendszert alkotnak, amit összefoglalóan metabolomnak hívunk. Ezeket a vegyületeket együttesen vizsgáló komplex tudományos módszer a metabolomika. Mivel az anyagcsere-folyamatok szoros összefüggésben állnak mind a környezeti, mind a genetikai faktorokkal, az általuk okozott eltérések a metabolomban is változásokat okozhatnak. Az egyes betegségekben lejátszódó patofiziológiai folyamatok megváltoztatják a szervezet metabolikus profilját, amelynek vizsgálata így segítségünkre lehet a patomechanizmus pontosabb feltérképezésében. A különböző kórképekre jellemző eltérő koncentrációjú metabolitok emellett biomarkerként is használhatók, így hozzájárulhatnak a differenciál-

diagnosztikai döntéshozatalhoz. A gyógyszerkészítmények alkalmazása szintén befolyással van a vegyületek szintjére, így a terápiás hatás monitorozása is lehetővé válik. Az utóbbi években a metabolomikai analitikai és feldolgozó módszerek jelentős fejlődésen mentek keresztül és egyre szélesebb körben terjedtek el. Mindezeknek köszönhetően a metabolomikai kutatások számos tudományterületen, így a reumatológiában is egyre fontosabb szerepet játszanak [1, 2].

A metabolomikai analízisek felépítése

A metabolomikai vizsgálatoknak két fő megközelítési módja ismert: a célzott és a nem célzott metabolomikai analízis. A célzott metabolomikai kísérletek alapja általában egy előre felállított hipotézis bizonyítása. Ebben az esetben meghatározott számú, megalapozottan kiválasztott specifikus molekula kerül azonosításra a mintákból, majd ezen metabolitok kimutatása, illetve kvantifikálása segíti elő a feltevés igazolását. Ezzel szemben a nem célzott metabolomikai kísérletek



1. ábra

A metabolomikai vizsgálatok két fő megközelítési módja és szakasza

célja, hogy egy adott mintából szimultán minél több vegyület kerüljön meghatározásra, hogy a lehetőségekhez mérten minél pontosabban feltérképezhető legyen annak metabolikus profilja. Ezen kísérletek általában nagyméretű adathalmazokat generálnak, amelyek gondos bioinformatikai és statisztikai feldolgozást igényelnek. A folyamat végén a kapott eredmények alapján vonhatóak le a következtetések és állítható fel a hipotézis (1. ábra) [3].

Analitikai vizsgálatok esetén a kísérlet gondos megtervezése elengedhetetlen. Fontos szerepet játszik a vizsgálati körülmények standardizálása és a folyamatos minőség-ellenőrzés, ugyanis a metabolom heterogenitása és dinamikus változása növeli az adatok variabilitását, amely könnyen az eredmények torzulásához vezethet [4, 5]. A kísérletek első lépéseként történik a minták gyűjtése és előkészítése, illetve szükség esetén tárolása a választott analitikai módszer követelményei szerint. Manapság a leggyakrabban használt technológiák a gázkromatográfiával (gas chromatography, GC) vagy folyadékkromatográfiával (liquid chromatography, LC) kiegészített tömegspektrometria (mass spectrometry, MS) és a mágneses magrezonancia (nuclear magnetic resonance, NMR) spektroszkópia. Önmagában egyik módszer sem alkalmas a teljes metabolom feltérképezésre, mindegyiknek meg-

vannak az előnyei és hátrányai, így a maguk indikációs köre, ezek figyelembevételével választandó ki a megfelelő technológia vagy azok kombinációja [1, 2, 6]. A GC-MS megbízható eredményt nyújt az illékony anyagok vizsgálatára stabil, magas hőmérsékleten, illetve kevésbé befolyásolja az eredmény variabilitását az LC-MS-hez képest. Azonban az LC-MS nagyobb felbontásra képes, illetve egy mintából jóval több metabolit azonosítható, így ennek használata az utóbbi időben egyre inkább elterjedt [7, 8]. Az NMR-spektroszkópia előnye, hogy a minták minimális előkészítést igényelnek és mérés során a minta nem veszik el, mint a tömegspektrometriás módszerek esetén, így egy mintán számos, akár különböző mérést is végre lehet hajtani. A mérési idő rövid, emellett az eredmények jól reprodukálhatók. Hátránya, hogy szenzitivitása kisebb, legfeljebb a nanomoláris koncentrációjú anyagokat tudja detektálni, míg az MS akár a piko- és femtomoláris koncentrációjú metabolitok kimutatására is képes. Emellett az NMR berendezés beszerzési és fenntartási költsége magas és nagy helyigényű az MS-hez képest (2. ábra) [1, 8–10].

A megfelelő módszer kiválasztása után történik a minták mérése, amely során egy adott mintából egy, esetenként akár több spektrum is regisztrálható [11]. Ezek után következik a

	gázkromatográfia-tömegspektrometria	folyadékkromatográfia-tömegspektrometria	NMR-spektroszkópia
előnyök	- jó szenzitivitás (pikomoláris) - megfelelő kvantifikálási lehetőség - közepesen kis mennyiségű minta elegendő - számos feldolgozó szoftverrel és metabolit adatbázissal kompatibilis	- kiváló szenzitivitás (femtomoláris) - kis mennyiségű minta elegendő - lehetőség a metabolom legszélesebb spektrumának vizsgálatára - hőlabilis molekulák vizsgálata - viszonylag kis helyigény	- nondestruktív - kvantitatív - rövid mérési idő - minimális a minták előkészítése - az új metabolitok azonosítása könnyű - számos feldolgozó szoftverrel és metabolit adatbázissal kompatibilis - nincs szükség kromatográfiás elválasztásra - a sztereoizomerek felismerése
hátrányok	- mérés közben a minta elvész - viszonylag nehéz a minták előkészítése - közepesen hosszú mérési idő - az új metabolitok azonosítása nehéz - a sztereoizomerek elkülönítése nehéz	- mérés közben a minta elvész - nehéz a minták előkészítése - nem kvantitatív - az új metabolitok azonosítása nehéz - a sztereoizomerek elkülönítése nehéz	- kevésbé jó szenzitivitás (nanomoláris) - nagyobb mennyiségű minta szükséges - nagy beruházási és karbantartási költség - nagy helyigény

2. ábra

Az analitikai módszerek jellemzői

spektrumok feldolgozásra való előkészítése. Erre azért van szükség, hogy a jelek minősége javuljon, illetve, hogy a nyers adatokból eredő torzítás csökkenjen. Ezen folyamat legfontosabb lépései a kalibráció, az alapvonal korrekciója és a zajszűrés, de ezek mellett a mérőeszköz típusától és a feldolgozó szoftvertől függően szükség lehet egyéb műveletek elvégzésére is [9]. Az előkészített spektrumok feldolgozása is többféle módon történhet. Az egyik gyakran használt módszer az ún. bucketing vagy binning alapú feldolgozás, amely lényege a spektrum kisebb részekre darabolása. Ezután minden egység területének kalkulációját követően a megfelelő matematikai eljárások segítségével kijelölhetők a szignifikáns eltéréseket mutató spektrumterületek [12]. A módszer hátránya, hogy a spektrum darabolása nem veszi figyelembe a molekulákhoz tartozó csúcsokat a regisztrátumban, így nehézkes a metabolitok utólagos azonosítása. Más módszerek éppen ezért tekintettel vannak a különböző vegyületekhez tartozó jelekre (peak-based methods), lehetővé téve a komponensek egyszerű azonosítását, összevetését a különböző metabolit adatbázisokkal és szükség esetén a molekulák koncentrációjának meghatározását is [2, 13–15].

A spektrumok feldolgozását és a metabolitok azonosítását követően történik a kapott adatok elemzése általában komplex statisztikai módszerek segítségével. Ezek az eljárások is több csoportra bonthatók. Az univariáns statisztikai elemzések szélesebb körben ismertek, ezáltal mind kivitelezésük, mind interpretálásuk viszonylag egyszerű, így alkalmazásuk igen népszerű. Ilyen vizsgálat például a Student-féle t-próba, illetve a varianciaanalízis (ANOVA). A biológiai rendszerekre

jellemző komplexitás miatt azonban előfordul az egyes metabolitok és metabolikus útvonalak korrelációja. Mivel ezen eljárások minden metabolomikai komponens egyenként vizsgálnak, így nem veszik figyelembe a különböző változók közötti összefüggéseket, emellett mellőzik olyan külső befolyásoló tényezők szerepét, mint például az életkor és a nem, amely következményeként álpozitív és álnegatív eredmények születhetnek [9, 16]. Ezzel szemben a multivariáns statisztikai eljárások egyszerre vizsgálják a különböző változókat, így képesek felfedezni azok egymásra gyakorolt hatását és azonosítani a kapcsolati mintázatokat. Ilyen vizsgálatok például a főkomponens-analízis (PCA) és a parciális legkisebb négyzetek módszere (PLS). E módszerek hátránya, hogy kivitelezésük és értelmezésük is magas szaktudást igényel, amelynek hiánya könnyen hibás eredményekhez és következtetésekhez vezet. Éppen ezért e vizsgálatok általában megkövetelik bioinformatikában és statisztikában jártas szakemberek közreműködését [9, 17]. Végül az adatok elemzését követően a nem célzott analízis esetén történik a megfelelő következtetések levonása és a hipotézis felállítása, míg a célzott vizsgálatnál a kapott eredmények megerősíthetők vagy megcáfolhatók a kiinduló feltételezéseket.

Metabolomikai vizsgálatok gyulladásos reumatológiai kórképekben

A gyulladásos reumatológiai betegségekben a gyulladás hatással van a szervezet élettani működésére. Ennek követke-

tében a megváltozott anyagcsere-útvonalak aktiválódása miatt egyes sejtekben, szövetekben, illetve biológiai folyadékokban, mint például az ízületi folyadékban vagy vérben, a metabolitok koncentrációja módosul. A metabolom eltéréseinek tanulmányozása elősegítheti ezen kórképek mechanizmusainak pontosabb megértését, a genetikai és környezeti hatások összefüggéseinek kimutatását, segíthet új terápiás célpontok azonosításában és a kezelés hatásainak monitorozásában, illetve lehetővé teheti új biomarkerek azonosítását. Az utóbbi néhány évben dinamikus fejlődésen keresztülment metabolomika számos orvostudományi területen egyre népszerűbbé vált, így nem meglepő, hogy a reumatológia területén is egyre nagyobb számban jelennek meg ilyen típusú vizsgálatok [1, 18].

Rheumatoid arthritis

A rheumatoid arthritis (RA) az ízületek gyulladásával járó szisztémás autoimmun megbetegedés, amely a populáció kb. 0,5%-át érinti [19]. Az RA-t érintő első metabolomikai tanulmányok az ízületi folyadékban található molekulákat vizsgálták. Kimutatták, hogy egészségesekhez képest az RA-s synoviumra jellemző a hypoxiás környezet, az alacsony glükózsztint és az ezzel párhuzamosan magas laktátkoncentráció [20]. Emellett jellemző az egyes lipidfrakciók (VLDL, LDL) fokozott felhasználása, amely a ketontestek felszaporodásához vezethet [21]. Gyulladásos ízületi folyadékból eddig közel 70 lipidszármazékot sikerült kimutatni, köztük az emelkedett koncentrációban jelen lévő 5S,12S-diHETE-t, ami az RA-ban szerepet játszó gyulladásos mediátor, a leukotrién-B₄ (LTB₄) egyik izomerje [22]. A synovialis folyadék vizsgálatával monitorozni lehet, hogy a terápia milyen hatást gyakorol annak összetételére. Adalimumabterápia hatására az ízületi folyadék foszfatidil-kolin (PC) és a gyulladásos mechanizmusokban szerepet játszó származéka, a lizofoszfatidil-kolin (LPC) aránya (PC/LPC arány) normalizálódik. A PC/LPC arány ilyen irányú elváltozását lehetett kimutatni a szérumban végzett mérések során is, amelynek vizsgálata kevésbé invazív mintavétel révén lehetséges [23].

A szérummetabolom vizsgálata során az ízületi folyadékhoz hasonlóan magas laktátszint mutatható ki, ami feltehetően az anaerob katabolikus folyamatok felerősödésének következménye [24, 25]. Hypoxiás körülmények között a lipidek felhasználása alternatív energiaforrásként szolgálhat, ezt támaszthatja alá, hogy a synovialis folyadékhoz hasonlóan a vérben is bizonyos lipidek szintje alacsony, a ketontestek, különösen a 3-hidroxi-butirát szintje pedig emelkedett [26]. A plazmalipideket tovább vizsgálva kiderült, hogy egészséges kontrollokhoz képest a koleszterin koncentrációja magas, míg a HDL-frakció alacsony, amely esetleg hozzájárulhat az RA-ra jellemző emelkedett kardiovaszkuláris rizikóhoz [25]. Ezen eredmények azonban ellentmondásosnak bizonyultak, mert más tanulmányok alacsonyabb plazmakoleszterin-kon-

centrációt írtak le az egészségesekhez képest [27, 28]. Az RA-s szérum aminosav-összetételében is mutathatók ki eltérések, a hisztidin alacsony koncentrációja már a betegség kezdeti szakaszán felfedezhető [29]. Más aminosavak, mint például az aszparagin, metionin, treonin is alacsonyabb koncentrációban fordulnak elő a plazmában [27]. Születtek tanulmányok a gyógyszeres kezeléssel összefüggő metabolomváltozások vizsgálatára is. Korai RA-s páciensek szérummetabolom-profilját vizsgálva sikerült azonosítani 11 molekulát, amelyekkel a methotrexatra adott terápiás válasz mértéke előrejelezhetőnek bizonyult. Ezek közül legnagyobb jelentősége a nukleotid-anyagcserében szerepet játszó uracilnak és húgysavnak van [30]. Hasonló módon számos különbség fedezhető fel a rituximabra reagáló és nem reagáló betegek plazmájának metabolit- és lipidprofiljában is [31].

Szisztémás lupus erythematosus

A szisztémás lupus erythematosus (SLE) krónikus, szisztémás, autoimmun betegség, melynek tünetei igen változatosak és számos szervrendszert érinthetnek [32]. SLE-s betegek szérumának metabolitprofiljában eltéréseket lehet felfedezni mind RA-s páciensek, mind egészségesek szérumához képest. A piruvát és citrát koncentrációja alacsonyabb SLE-ben és RA-ban, amely megnőtt energiafogyasztásra enged következtetni, azonban emellett RA-ban a laktát szintje is emelkedett volt, amely a két betegségben eltérő katabolikus utak aktivációjára utal. Kimutatható a hangyasav csökkent szintje, ez valószínűleg a purinnukleotidok megnövekedett ütemű felépítésének köszönhető, amely más gyulladásos állapotokra is jellemző [33]. Bizonyos aminosavak, mint az alanin, fenil-alanin, glutamin, hisztidin, izoleucin, lizin, tirozin és a valin csökkent koncentrációban van jelen mind az SLE-s, mind az RA-s plazmában. Ennek oka egyelőre még nem teljesen tisztázott, azonban néhány aminosav részt vesz olyan biológiai folyamatok szabályozásában is, mint például a géntranszkripció, sejtciklus-szabályozás vagy a gyulladásos jelátviteli útvonalak regulációja, így ezek koncentrációjának változása szerepet játszhat a patológiás folyamatokban [34]. A lipideket tekintve az SLE-s betegek szérumára jellemző a magas LDL- és VLDL-, illetve az alacsony HDL-szint az egészséges kontrollokhoz képest. Az RA-s betegcsoportban szintén hasonló dyslipoproteinaemia volt kimutatható, azonban ez kevésbé volt szignifikáns, mint SLE-ben [35]. Szintén magas a gyulladásos lipidmediátorok, a LTB₄ és az 5-HETE szérumszintje. Az SLE-s szérumban magasabb koncentrációban vannak jelen a fokozott lipidperoxidációra utaló metabolitok (9-HODE, 13-HODE), amely változás az oxidatív stressz fokozódására utalhat. Ugyancsak ezt támasztja alá, hogy ezzel párhuzamosan a glutation szintje csökken, amely az egyik fontos antioxidáns a szervezetben. A glutation regenerálódásához szükség van metilcsoportdonorokra és kofaktorokra. Ezek közül a metilcsoportdonor cisztein, kolin és metionin, illetve

a B₆-vitamin-kofaktor szignifikánsan kisebb mennyiségben található a szérumban [36].

SLE-ben a vese érintettsége gyakori, a lupus nephritisek szövettanilag különböző kategóriákba sorolhatók, amelyek meghatározása fontos a terápia kiválasztása és a prognózis meghatározása szempontjából. Jelenleg ez a klasszifikáció vesebiopsziás minta feldolgozásán alapul [37]. A vesebetegségek befolyásolhatják a vizelet metabolomjának összetételét, így megfelelő biomarkerek azonosítása lehetséges alternatívaként szolgálhatna az invazív mintavételhez képest. Ezt igazolja, hogy különböző besorolású lupus nephritises betegek vizeletének metabolomikai vizsgálata során a citrát és taurin koncentrációjának eltéréseiből egyértelműen el lehetett különíteni a vizsgált populációkat [38]. Emellett bizonyos metabolitok jelenlétéből számos anyagcsere-útvonal zavarára lehet következtetni, amelyek közül a legjelentősebb a nikotinsav- és nikotinamidmetabolizmus [39].

Spondylitis ankylopoetica

A spondylitis ankylopoetica (SpA) krónikus, gyulladásos betegség, amely gyakran fiatalabb korban kezdődik, leginkább a törzset érinti és hosszú távon maradandó strukturális és funkcionális károsodásokat okoz [40]. Az SpA-s páciensek szérumának metabolomja szignifikáns különbségeket mutat az egészséges kontrollokéhoz képest. Többek között magasabb koncentrációban van jelen a prolin, mely összefüggésben állhat a fokozott kollagéndegradációval. Emellett a HLA B27, amely erős asszociációt mutat a kórképpel, szintén prolinban gazdag [41, 42]. Alacsonynak bizonyult a triptofán szintje, amely következhet az indolamin-2,3-dioxigenáz enzim fokozott aktivitásából. Ez az enzim a triptofánkatabolizmus első lépését katalizálja és működése fokozódik interferon- γ hatására, amelynek fokozott termelődése jellemző SpA-ban [42–44]. Valószínűleg a D₃-vitamin metabolizmusa is érintett a betegségben, ugyanis egyik metabolitjának, a (23S,25R)-25-hidroxi-D₃-vitamin-26,23-peroxilaktonnak a csökkent expressziója tapasztalható az SpA-s szérumban, amely befolyással lehet a csontátépülési és immunregulációs folyamatokra [45].

Arthritis psoriatica

Az arthritis psoriatica (PsA) krónikus, gyulladásos arthropathia, amely a psoriasisos betegek kb. 30%-ában fordul elő [46]. PsA-s betegek szérumában egészségesekhez képest magasabb koncentrációban van jelen a glükuronsav, amely a glükózaminoglikánok felépítésében vesz részt. A glükózaminoglikánok szerepet játszhatnak a sejtek differenciálódásában és proliferációjában, a szöveti remodellingben és az extracelluláris mátrix felépítésének szabályozásában [47]. PsA-s páciensek plazmametabolomját összevetve psoriasisos betegekével az α -ketoglutarát szintje szignifikánsan alacsonyabb volt PsA-ban. Az ízületekben lejátszódó gyulladásos folya-

matok által indukált károsodás fokozza az igényt a kollagén-szintézisre, amelyet az α -ketoglutarát stimulál. Így a folyamatos felhasználás miatt szintje csökken. A lipidek közül a psoriasisos szérumhoz képest emelkedett koncentrációban van jelen a lignocerin-sav, ami egy telített, hosszú szénláncú zsírsav, és feltehetően szerepet játszik a metabolikus szindrómához társuló érrelmeszesedésben [48]. Ez alátámasztja azon epidemiológiai adatokat, amelyek szerint PsA-ban a kardiovaszkuláris kockázat fokozott a psoriasisos populációhoz képest [47, 49]. A PsA-s metabolomot RA-s betegekéhez viszonyítva is jelentős eltéréseket lehet felfedezni. Számos aminosav, közöttük az aszparaginsav, glutaminsav és szerin szintje is magasabb az egészséges kontrollokénál, amely a PsA-ra jellemző fokozott fehérjemetabolizmus következménye lehet [27]. Ezt erősíti meg, hogy szeronegatív RA-s szérumhoz hasonlítva az alanin, leucin, fenil-alanin, treonin és valin aminosavak koncentrációja szintén magasabb volt [50].

Progresszív szisztémás sclerosis

A progresszív szisztémás sclerosis (PSS) krónikus, autoimmun, gyulladásos betegség, amelyet a bőr, illetve a belső szervek fokozott fibrosisa és az erek károsodása jellemez [51]. PSS-es betegek vizeletének metabolit-összetételét vizsgálva a kontrollokhoz képest számos molekulát találtak, amely a prolinanyagcsere megváltozására enged következtetni. A prolin fontos alkotóeleme a kollagének, amely hozzájárul a fibrosis kialakulásához. A vizelet magas D-szorbitol-szintjének oka pontosan nem tisztázott, lehetséges egyes metabolikus utak aktiválódása, illetve a betegséget kísérő szénhidrát-malabsorpció következménye, viszont potenciálisan biomarkerként hasznosítható [52]. A citrát koncentrációja a PSS-es szérumban szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult. A citrát a Szent-Györgyi-Krebs-ciklus egyik alkotóeleme, így csökkent koncentrációja a magas energiaigény miatti fokozott energiafelhasználás eredménye lehet. Emellett számos más metabolit utal még a glikolízis-glükoneogenezis útvonal zavarára, amely szintén az energia-háztartás regulációjának megváltozására utal. A szérum alacsony alanin- és lizinkoncentrációja a fokozott felhasználás eredményének tudható be, ugyanis ezen aminosavak másokkal egyetemben szerepet játszanak bizonyos gyulladásos és autoimmun folyamatok szabályozásában, mint például immunsejtek serkentése, gátlása és fehérjeszintézisük szabályozása [34, 53]. A betegség diffúz és limitált formáját összehasonlítva is eltéréseket lehet kimutatni mind a vizelet-, mind a plazmametabolomban, azonban ezek oka pontosan még nem tisztázott, és a metabolikus profil alapján a két csoportot egymástól szignifikánsan elkülöníteni nem lehet [52, 53].

Összegzés

A technológia fejlődése lehetővé tette a nagy mérési és feldolgozó kapacitást igénylő, robusztus metabolomikai analízisek végrehajtását, amelyek során egy biológiai mintából egy adott pillanatban párhuzamosan sok molekula azonosítása válik lehetővé. A metabolomikai vizsgálatok új megközelítési módra nyújtanak lehetőséget, hiszen a metabolom dinamikusan, akár percről percre is változhat, és számos külső tényező is befolyásolja, így segítséget nyújthat a környezeti és genetikai faktorok összefüggéseinek megismerésében. Emellett ez a módszer hozzájárul az eddigi genomikai, transzkriptomikai és proteomikai vizsgálatok által hozott eredmények szélesebb körű értékeléséhez is. Az utóbbi években a metabolomika felhasználási területe igencsak kiszélesedett, így az orvostudomány, azon belül a reumatológia területén is egyre nagyobb szerepet játszik. A reumatológiában az ilyen kutatások leggyakrabban biomarkerek azonosítására, terápiás válasz előrejelzésére és monitorozására, illetve a patomechanizmusban fontos szerepet játszó metabolikus pályák azonosítására irányulnak.

IRODALOM

- [1] Guma M, Tiziani S, Firestein GS: Metabolomics in rheumatic diseases: desperately seeking biomarkers. *Nat Rev Rheumatol* 2016; 12: 269-81.
- [2] Julià A, Alonso A, Marsal S: Metabolomics in rheumatic diseases. *International Journal of Clinical Rheumatology* 2014; 9: 353-69.
- [3] Patti GJ, Yanes O, Siuzdak G: Metabolomics: the apogee of the omics trilogy. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2012; 13: 263-69.
- [4] Winnike JH, Busby MG, Watkins PB, et al: Effects of a prolonged standardized diet on normalizing the human metabolome. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2009; 90: 1496-501.
- [5] Townsend MK, Clish CB, Kraft P, et al: Reproducibility of Metabolomic Profiles among Men and Women in 2 Large Cohort Studies. *Clinical Chemistry* 2013; 59: 1657-67.
- [6] Scrivo R, Casadei L, Valerio M, et al: Metabolomics approach in allergic and rheumatic diseases. *Curr Allergy Asthma Rep* 2014; 14: 445.
- [7] Kvitvang HFN, Andreassen T, Adam T, et al: Highly Sensitive GC/MS/MS Method for Quantitation of Amino and Nonamino Organic Acids. *Analytical Chemistry* 2011; 83: 2705-11.
- [8] Sas KM, Karnovsky A, Michailidis G, et al: Metabolomics and Diabetes: Analytical and Computational Approaches. *Diabetes* 2015; 64: 718-32.
- [9] Alonso A, Marsal S, Julià A: Analytical Methods in Untargeted Metabolomics: State of the Art in 2015. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 2015; 3.
- [10] Sweedler JV, Lutz NW, Wevers RA, eds: Basic Methodological Strategies in Metabolomic Research. In: *Methodologies for Metabolomics: Experimental Strategies and Techniques*. Cambridge: Cambridge University Press, 2013.
- [11] Emwas A-H, Roy R, McKay RT, et al: NMR Spectroscopy for Metabolomics Research *Metabolites*. 2019; 9: 123.
- [12] Helena UZ, Jochen H, Matthias SK, et al: Current Experimental, Bioinformatic and Statistical Methods used in NMR Based Metabolomics *Current Metabolomics*. 2013; 1: 253-68.
- [13] Zhang S, Nagana Gowda GA, Ye T, et al: Advances in NMR-based biofluid analysis and metabolite profiling. *The Analyst* 2010; 135: 1490-98.
- [14] Gürdeniz G, Kristensen M, Skov T, et al: The Effect of LC-MS Data Preprocessing Methods on the Selection of Plasma Biomarkers in Fed vs. Fasted Rats. *Metabolites* 2012; 2: 77-99.
- [15] Wishart DS, Feunang YD, Marcu A, et al: HMDB 4.0: the human metabolome database for 2018. *Nucleic Acids Research* 2018; 46: D608-D17.
- [16] Bartel J, Krumsiek J, Theis FJ: Statistical methods for the analysis of high-throughput metabolomics data. *Computational and Structural Biotechnology Journal* 2013; 4: e201301009.
- [17] Pröhle Tamás ZA: Többdimenziós statisztika. ELTE-TTK, 2013.
- [18] Priori R, Scrivo R, Brandt J, et al: Metabolomics in rheumatic diseases: the potential of an emerging methodology for improved patient diagnosis, prognosis, and treatment efficacy. *Autoimmun Rev* 2013; 12: 1022-30.
- [19] Smolen JS, Aletaha D, Barton A, et al: Rheumatoid arthritis. *Nat Rev Dis Primers*. 2018; 4.
- [20] Claxson A, Grootveld M, Chander C, et al.: Examination of the metabolic status of rat air pouch inflammatory exudate by high field proton NMR spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease* 1999; 1454: 57-70.
- [21] Naughton D, Whelan M, Smith EC, et al: An investigation of the abnormal metabolic status of synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis by high field proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *FEBS Letters* 1993; 317: 135-38.
- [22] Giera M, Ioan-Facsinay A, Toes R, et al: Lipid and lipid mediator profiling of human synovial fluid in rheumatoid arthritis patients by means of LC-MS/MS. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular and Cell Biology of Lipids* 2012; 1821: 1415-24.
- [23] Fuchs B, Schiller J, Wagner U, et al: The phosphatidylcholine/lysophosphatidylcholine ratio in human plasma is an indicator of the severity of rheumatoid arthritis: investigations by ³¹P NMR and MALDI-TOF MS. *Clin Biochem* 2005; 38: 925-33.
- [24] Yang XY, Zheng KD, Lin K, et al: Energy Metabolism Disorder as a Contributing Factor of Rheumatoid Arthritis: A Comparative Proteomic and Metabolomic Study 2015; 10: e0132695.
- [25] Lauridsen MB, Bliddal H, Christensen R, et al: ¹H NMR spectroscopy-based interventional metabolic phenotyping: a cohort study of rheumatoid arthritis patients. *J Proteome Res* 2010; 9: 4545-53.
- [26] Young SP, Kapoor SR, Viant MR, et al: The impact of inflammation on metabolomic profiles in patients with arthritis. *Arthritis Rheum* 2013; 65: 2015-23.
- [27] Madsen RK, Lundstedt T, Gabrielson J, et al: Diagnostic properties of metabolic perturbations in rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy* 2011; 13: R19.
- [28] Liao KP, Cai T, Gainer VS, et al: Lipid and Lipoprotein Levels and Trend in Rheumatoid Arthritis Compared to the General Population. *Arthritis Care & Research* 2013; 65: 2046-50.
- [29] Gerber DA: Low free serum histidine concentration in rheu-

- matoid arthritis. A measure of disease activity. *Journal of Clinical Investigation* 1975; 55: 1164-73.
- [30] Wang Z, Chen Z, Yang S, et al: (1)H NMR-based metabolomic analysis for identifying serum biomarkers to evaluate methotrexate treatment in patients with early rheumatoid arthritis. *Exp Ther Med* 2012; 4: 165-71.
- [31] Sweeney SR, Kavanaugh A, Lodi A, et al: Metabolomic profiling predicts outcome of rituximab therapy in rheumatoid arthritis. *RMD Open* 2016; 2: e000289.
- [32] McCowan CB, Schumann L: Systemic Lupus Erythematosus. *Journal of the American Academy of Nurse Practitioners* 1998; 10: 225-31.
- [33] Lin ZY, Xu PB, Yan SK, et al: A metabonomic approach to early prognostic evaluation of experimental sepsis by (1)H NMR and pattern recognition. *NMR Biomed* 2009; 22: 601-8.
- [34] Li P, Yin Y-L, Li D, et al: Amino acids and immune function. *British Journal of Nutrition* 2007; 98: 237-52.
- [35] Ouyang X, Dai Y, Wen J, et al: 1H NMR-based metabolomic study of metabolic profiling for systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2011; 20: 1411-20.
- [36] Wu T, Xie C, Han J, et al: Metabolic Disturbances Associated with Systemic Lupus Erythematosus. *PLoS ONE* 2012; 7: e37210.
- [37] Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, et al: The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 241-50.
- [38] Romick-Rosendale LE, Brunner HI, Bennett MR, et al: Identification of urinary metabolites that distinguish membranous lupus nephritis from proliferative lupus nephritis and focal segmental glomerulosclerosis. *Arthritis Research & Therapy* 2011; 13: R199.
- [39] Kalantari S, Chashmian S, Nafar M, et al: Metabolomics approach reveals urine biomarkers and pathways associated with the pathogenesis of lupus nephritis. *Iran J Basic Med Sci* 2019; 22: 1288-95.
- [40] Braun J, Sieper J: Ankylosing spondylitis. *The Lancet* 2007; 369: 1379-90.
- [41] Stodulkova E, Pohl J, Man P, et al: Comparison of amino acid compositions of peptides eluted from HLA-B27 molecules of healthy individuals and patients with ankylosing spondylitis. *Immunology Letters* 2006; 103: 135-41.
- [42] Gao P, Lu C, Zhang F, et al: Integrated GC-MS and LC-MS plasma metabonomics analysis of ankylosing spondylitis. *Analyst* 2008; 133: 1214-20.
- [43] Xu H, Li B: Effect of Interferon- γ Polymorphisms on Ankylosing Spondylitis: A Case-Control Study. *Med Sci Monit* 2017; 23: 4126-31.
- [44] Soliman H, Mediavilla-Varela M, Antonia S: Indoleamine 2,3-dioxygenase: is it an immune suppressor? *Cancer J* 2010; 16: 354-59.
- [45] Fischer R, Trudgian DC, Wright C, et al: Discovery of Candidate Serum Proteomic and Metabolomic Biomarkers in Ankylosing Spondylitis. *Molecular & Cellular Proteomics* 2012; 11: M111.013904.
- [46] Ritchlin CT, Colbert RA, Gladman DD: Psoriatic Arthritis. *N Engl J Med* 2017; 376: 957-70.
- [47] Armstrong AW, Wu J, Johnson MA, et al: Metabolomics in psoriatic disease: pilot study reveals metabolite differences in psoriasis and psoriatic arthritis. *F1000Research* 2014; 3: 248.
- [48] Matsumori R, Miyazaki T, Shimada K, et al: High levels of very long-chain saturated fatty acid in erythrocytes correlates with atherogenic lipoprotein profiles in subjects with metabolic syndrome. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2013; 99: 12-18.
- [49] Husted JA, Thavaneswaran A, Chandran V, et al: Cardiovascular and other comorbidities in patients with psoriatic arthritis: A comparison with patients with psoriasis. *Arthritis Care & Research* 2011; 63: 1729-35.
- [50] Souto-Carneiro M, Tóth L, Behnisch R, et al: Differences in the serum metabolome and lipidome identify potential biomarkers for seronegative rheumatoid arthritis versus psoriatic arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2020: annrheumdis-2019-216374.
- [51] Gabrielli A, Avvedimento EV, Krieg T: Scleroderma. *NEJM* 2009; 360: 1989-2003.
- [52] Fernández-Ochoa Á, Quirantes-Piné R, Borrás-Linares I, et al: Urinary and plasma metabolite differences detected by HPLC-ESI-QTOF-MS in systemic sclerosis patients. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2019; 162: 82-90.
- [53] Murgia F, Svegliati S, Poddighe S, et al: Metabolomic profile of systemic sclerosis patients. *Scientific Reports*. 2018; 8. doi: 10.1038/s41598-018-25992-7

(dr. Tóth Lilla, Budai Irgalmasrendi Kórház, Reumatológia I., 1023 Budapest, Árpád fejedelem útja 7.)

SZERETETTEL VÁRJUK A MEDICINA KÖNYVESBOLTJAIBAN
1091 BUDAPEST, ÜLLŐI ÚT 91/A
1088 BUDAPEST, BAROSS U. 21.



cimzia[®]
(certolizumab pegol)



Amikor axSpA-s és RA-s fogamzóképes korú nőbetegénél biológiai terápiát tervez, gondoljon a Cimziára.

Az életük megváltozik. A kezelés céljának nem szükséges.

axSpA

RA

Amennyiben klinikailag indokolt,
a CIMZIA[®] biztosítja
a kezelés folytonosságát.¹

Cimzia Alkalmazási Előírás.

Bővebb információért olvassa el a gyógyszer alkalmazási előírását! A hatályos "alkalmazási előírás" teljes szövegét megtalálja az Országos Gyógyszerészeti és Élelmezés-egészségügyi Intézet (www.ogyei.gov.hu/gyogyszeradatbazis/) vagy az Európai Gyógyszerügynökség (www.ema.europa.eu) honlapokon.

¹Cimzia Alkalmazási előírás 2020.04.17.:

<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/cimzia-0#product-information-section>

UCBCares[®]

Személyre szabott tájékoztatás

Kérdése van? Lépjen velünk kapcsolatba!

Telefon

Díjmentesen hívható telefonszám:
06 80 021 486
(Magyarország területéről
ingyenesen hívható)

Díjköteles telefonszám:
+36 1 472 5060

E-mail
UCBCares.HU@ucb.com

Engedélyszám:
HU-P-CZ-axSpA-2000004
Dátum: 2020. június 19.



A nyirokcsomóstroma immunológiai szerepe – többen, többet

GÁBRIS FANNI, XINKAI JIA, GAJDÓCSI ERZSÉBET EMÍLIA, KELLERMAYER ZOLTÁN, BALOGH PÉTER

Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet

A nyirokcsomók stromalis alapállománya alapvető szerepet tölt be a leukocyták számára megfelelő mikrokörnyezet kialakításában és fenntartásában. Ezek a nem haematopoeticus szövetalkotók alcsoport-specifikus sejtfelszíni adhézis molekulák, homeosztatikus kemokinek és citokinek részvételével a fehérvérsejtek recirkulációjának, szöveti elhelyezkedésének, túlélésének és sejtes interakcióinak közvetítésére specializálódtak. Bár a stromalis sejtek az érett nyirokszövetekben tipikusan helyhez kötöttek, mégis képesek a leukocytákból származó induktív szignálok felismerésére, és ezeknek megfelelően az egyes kompartmenteken belüli helyváltoztatás nélkül is elősegítve az adaptív immunválaszokhoz kapcsolódó nyirokszöveti reorganizációt. A stromalis sejtek fiziológiás szövetépítő, -fenntartó és -regeneráló szerepének részletesebb megismerése hozzájárulhat a krónikus gyulladások hatékonyabb kezeléséhez is. A mostani összefoglaló célja ezekre a stromalis szövetalkotókra vonatkozó újabb fejlődéstani és funkcionális ismeretek áttekintése.

Kulcsszavak: nyirokcsomó, fibroblast, nyiroktüsző, alapállomány, differenciálódás, funkció

IMMUNOLOGICAL ROLE OF THE LYMPH NODE STROMA – BEING MORE, DOING MORE

The stromal mesenchyme of the lymph nodes plays an indispensable role in the creation and maintenance of optimal microenvironment for the leukocytes. These non-hematopoietic tissue components are specialized to guide the recirculation, tissue positioning, survival and cellular interactions of leukocytes via subset-specific surface adhesion molecules, homeostatic chemokines and cytokines. Although the stromal cells are typically sessile, yet they can register inductive leukocyte-derived signals, and, according to these influences, can promote lymphoid tissue reorganization during adaptive immune responses. A more detailed understanding of the physiological tissue building, maintaining and regenerating functions of stromal cells may also promote a more effective treatment of chronic inflammatory diseases as well. The aim of this review is to present a developmental and functional update on these stromal tissue constituents.

Keywords: lymph node, fibroblast, follicle, mesenchyme, differentiation, function

Bevezetés: a nyirokszövetek stromalis sejtjeinek vizsgálati lehetőségei

Látni és láthatóvá tenni

A nyirokcsomók a szervezet szekunder nyirokszövelei közé tartoznak, melyek fejlődéstanilag meghatározott helyeken időzített sorrendben *in utero* alakulnak ki. Érett szerkezetükre egyszerre jellemző egyes nagyobb részleteiknek (kompartmentjeiknek) elkülönülése és a kompartmentek között zajló szabályozott sejtjárási folyamatok. A T- és B-sejtek irányított megtelepedésében, a lymphocyták túlélésében és az immunválaszok során bekövetkező mobilizációjukban a nyirokcsomó nem haematopoeticus összetevői kulcsszerepet játszanak [1].

Fontos szerepük ellenére ezeknek a stromalis sejteknek a mennyisége elenyésző az őket körülvevő fehérvérsejtekhez viszonyítva, ami az utóbbi időkig nagymértékben nehezítette

azonosításukat és részletes vizsgálatukat. Bár kísérleti állatokban – viszonylag bonyolult eljárásokkal – a nyirokcsomókat feltárva lehetőség nyílik a vizsgálatukra, a humán nyirokszöveti kutatásokhoz szükséges minták csak igen csekély számban állnak rendelkezésre, tovább nehezítve az ismeretek bővülését. Korábban különböző markerek immunhisztokémiai kimutatásával a főbb stromalis sejtcsoportok ugyan megkülönböztethetők voltak, de ezek eredete, fejlődéstani jellemzői és funkcionális specializációja tisztázatlan maradt. Az utóbbi időszakban célzott mutagenézissel kialakított szelektív stromaalcsoport-hiányos egerek nyirokszöveiteinek strukturális és immunológiai funkcionális vizsgálata, illetve markergének kimutatásán alapuló sejtes származástani (fate-mapping) és mRNS-szekvenálási eljárások lehetővé tették a nyirokszöveti stroma alaposabb megismerését [2–4].

Bár önmagában nem celluláris mikrokörnyezeti szerkezeti összetevő, de az egyes kötőszöveti sejtek szelektív termékeként képzett extracelluláris mátrix (ECM) is jellemző el-

rendeződést mutat a nyirokcsomóban (elsősorban a T-sejtrégióban), összekapcsolva a stabil szerkezetet és a dinamikus leukocytamozgást [5]. Az egyéb helyeken megfigyelhető kötőszöveti szerveződéstől eltérően a nyirokszöveti kb. 1 μ m vastagságú „conduit” csőhálózatban a bazálmembránalakra kötődött fibroblastok egy elsősorban I. és III. típusú kollagéneköteget tartalmazó ECM-tengelyből és azokat stabilizáló és összekapcsoló (fibromodulin, decorin) komponensekből álló hálózatot hoznak létre, ami a kemokinvezérelt leukocytamozgás fontos fizikai platformja lehet [5].

A funkcionálisan ép stromasejtek komplex 3D struktúrát alkotnak [6], aminek *in vitro* létrehozása csak részleges sikerhez vezetett [7]. Általánosan jellemző, hogy a különböző alapállományi sejtek sejt kultúrában gyorsan dedifferenciálódnak és elveszítik számos tulajdonságukat, így adhéziós molekulák kifejeződését és kemokinképzésüket is [8]. Ezért a stromasejtek dinamikája és viselkedése csak akkor érthető meg, ha azokat *in situ* tanulmányozzuk természetes mikrokörnyezetükben. E cél eléréséhez számos, riportert gént kifejező egértörzset alakítottak ki, mint például a Ccl19-Cre, Il7-Cre, Cr2-Cre, Lyve1-Cre, Prox1-Cre ERT2 modellek, amelyek LoxP-promóter gén konstrukciót hordozó egerekkel kombinálva sejt vonal-specifikus kimutatást tesznek lehetővé [9]. A legtöbb „stromasejt”-modell azonban nem specifikus, ezek a marker gének több stromalis sejtípust és/vagy haematopoieticus sejteket is jelölhetnek. Az egyes nyirokszöveti stromalis sejt típusok klasszikus Cre/Rosa26 diftériatoxin-receptor (DTR) egérmodellekben kiváltható deplécióját nagyban nehezíti, hogy a LoxP szekvenciákkal határolt célgén rekombinációs eltávolítása során a nem nyirokszöveti szervekben fontos stromalis sejtek is károsodhatnak [9].

A nyirokszöveti stromasejtek klonális származási jellemzőinek vizsgálatához a neuronális differenciálódás kutatására létrehozott „multicolor fate mapping” rendszereket fejlesztettek ki [2]. A Brainbow-stratégia lehetővé teszi három vagy négy fluoreszcens fehérje kombinatorikus expresszióját sztochasztikus módon, amelyben különböző fluoreszcens fehérjéket (FP) expresszálnak Cre által közvetített inverzió segítségével [10]. Mivel a Brainbow színei öröklhetők, a specifikus színekkel jelölt eredeti progenitor sejtek olyan FP-jelölt utódokat hoznak létre, amelyek tükrözik sejt vonalukat, így a származási kapcsolat feltérképezhető a különböző sejt típusok között [10]. Ez a módszer nagyon jól alkalmazható a stromalis sejtek dinamikájának vizsgálatához, mind a nyirokcsomók kialakulása, mind az immunválasz során kiváltott átalakulásuk során [11].

A stromaalcsoportok génexpressziós mintázati jellemzése

A stromalis sejtek azonosításával egyidejűleg azok eltérő génexpressziós profiljának meghatározása egy sejt mRNS szekvenálás eljárással nagymértékben bővítette ezen sejtekről

meglévő ismereteinket [12]. A módszer főbb lépései az egy sejt izolálás (kombinált sejt felszíni marker és riportergénhez kapcsolt fluoreszcens fehérje kifejeződése alapján), az mRNS-izolálás, a kettős láncú cDNS átírása, majd a cDNS-populációk klónozásával a cDNS-tárak létrehozása.

Az egy sejt izolálást leggyakrabban proteolitikus enzimatikus emésztés révén érik el, melyhez számos enzim használható. Amellett, hogy a módszer viszonylag sok időt igényel (így növelve a sejtek elpusztulásának esélyét), megkérdőjelezhető a sejt felszíni markerek érintetlensége is [13]. Ezeket a káros hatásokat kiküszöbölendő alkalmazzák a lézermikrodiszsekcziót (LCM) vagy a patch clamp módszert. Az enzimatikus feltárást követi a sejtek szétválogatása FACS segítségével, melynél szintén számításba kell vennünk az esetlegesen keletkező sejt duplexek jelenlétét, illetve a rendszerben lévő nyomás által okozott sejt torzulásokat. Ezen károsodások mértéke csökkenthető pl. mikrofluidikai eszközök használatával.

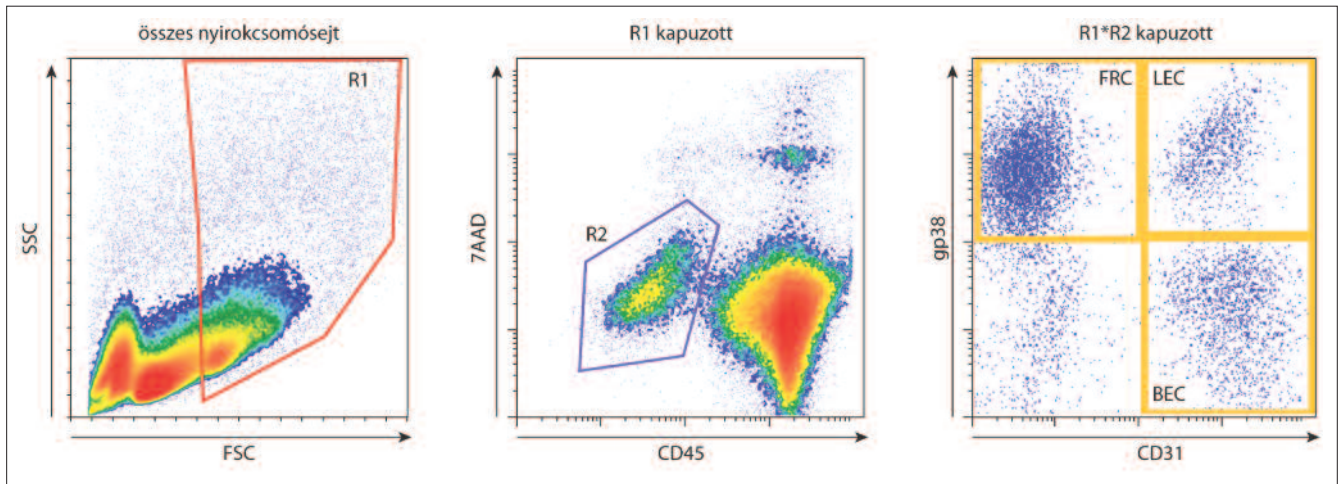
A nyirokcsomó klasszikus stromalis összetevői

A nyirokcsomók nem haematopoieticus (CD45-negatív) összetevőinek korábbi tanulmányozása során fontos előrelépés volt a T-sejtes és B-sejtes területek alapállományát megkülönböztető specifikus monoklonális antitestek előállítás. Egérben elsőként a nyiroktüszőkben elhelyezkedő follicularis dendritikus sejtek (FDC) kimutatása sikerült az azokon intenzíven kifejeződő CD21/35 (CR1/2) markerek révén, míg a T-sejtzóna fibroblastjainak jelölésére egy eredetileg thymusepithel-alcsoporttal reagáló anti-gp38 monoklonális antitest bizonyult megfelelőnek [14]. Ezek mellett a nyirokcsomók továbbbi stromalis összetevőinek tekintjük a nyirokér-endothel (LEC-) és vérerendothel- (BEC-) sejteket, ezek tárgyalására azonban a jelen összefoglalóban nem térünk ki (1. ábra).

Reticularis fibroblastok

A felnőtt perifériás nyirokcsomóban a legnagyobb alcsoportot (20–40%) a reticularis fibroblastok (fibroblastic reticular cells, FRC) alkotják. Ezek a T-sejtes zónában elhelyezkedve biztosítják a T-sejtek túlélését, és szabályozzák azok funkcióját számos immunológiai folyamat során. Hagyományos immunhisztológiai és áramlási citometriás módszerek segítségével gp38- (podoplanin-) expressziójuk révén azonosíthatók, amely a LEC-eken is megjelenik, de utóbbiaktól eltérően az FRC-k nem hordoznak a felszínükön CD31-molekulát (2. ábra).

Az FRC-k dominánsan mesenchymalis eredetű myofibroblastok. Felnőtt egérben az FRC-sejtek 60%-át prae adipocyták adják, melyek LT β R-függő módon bejuthatnak a környező zsírszövetből a nyirokcsomóba, és CXCL13 kemokint expresszáló nyirokszövet-organizáló sejtekké (lymphoid tissue



	# események	% összes sejt	% kapuzott sejt
Összes sejt	1 143 288	100,00	
Nem lymphoid sejtek (R1)	11 876	10,39	
Stromasejtek (R2)	9 404	0,82	7,92
FRC	4 987	0,44	53,03
LEC	1 069	0,09	11,37
BEC	1 909	0,17	20,30
Kettős negatív sejtek	1 439	0,13	15,30

1. ábra

Stromasejtek azonosítása áramlási citometriával

A kísérlet során fiatal felnőtt BALB/c eger perifériás nyirokcsomóját vizsgáltuk Liberase enzimmel végzett emésztést követően. Nagyságuk (FSC) és granularitásuk (SSC) alapján kiválasztottuk a lehetséges stromasejteket, majd 7AAD- és anti-CD45-jelölés alkalmazásával kizártuk az elpusztult sejteket és a lymphocytákat. Ezt követően anti-gp38- és anti-CD31-jelöléssel elkülönítettük az FRC- (gp38⁺/CD31⁺), LEC- (gp38⁺/CD31⁺) és BEC- (gp38⁺/CD31⁺) populációkat. A táblázat a fenti mérés eredményeit tartalmazza, melyből látható, hogy a perifériás nyirokcsomó sejtek megközelítőleg 1%-át teszik ki a stromasejtek

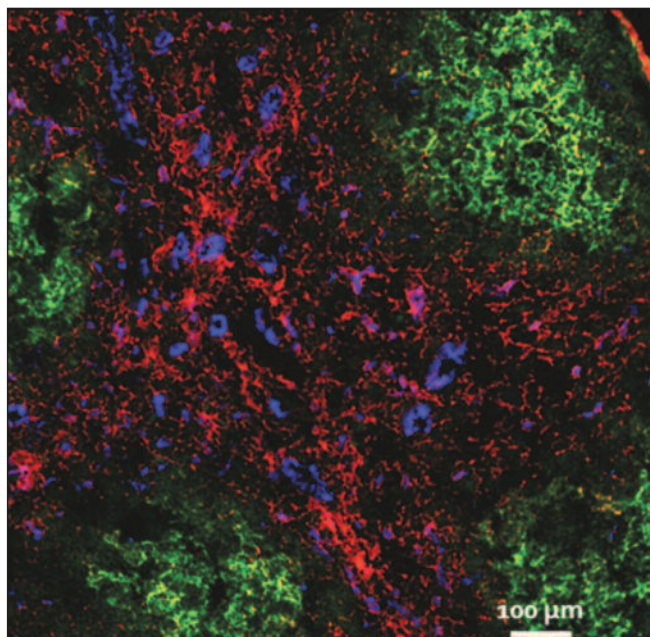
organiser, LTo) alakulnak [15]. Emellett a szakirodalomban azonban már leírtak mesothelialis-mesenchymalis, epithelialis-mesenchymalis és endothelialis-mesenchymalis átalakulás révén létrejövő fibroblastokat is [16–18].

A podoplanin mellett az FRC fontosabb sejtfelszíni markeri a PDGFR α , CD73, CD90 és CD105, intracellulárisan dezmin, vimentin és α -simaizomaktin mutatható ki [19]. Sejt-sejt kapcsolatok révén háromdimenziós hálózatot hoznak létre, amely elősegíti a lymphocyták vándorlását. A korábban említett conduitokon keresztül a 70 kDa méretűnél kisebb oldható fehérjék, citokinek és kemokinek transzportálódhatnak, így kisebb antigének akár közvetlenül is eljuthatnak a nyirokcsomók T- és B-sejtes zónáiba [20]. Ezzel szemben a nagyobb méretű antigéneket vagy immunkomplexeket a subcapsularis sinus mentén elhelyezkedő makrofágok veszik fel komplementreceptor-függő mechanizmus révén, és továbbítják azokat a B-sejtek számára a nyiroktüszőben [21].

A naiv T-sejtek és dendritikus sejtek (DC) a CCL19/CCL21 kemokinek irányításával folyamatosan migrálnak az FRC-hálózat mentén. A DC-k CCR7 receptoruknak köszönhető ke-

motaxis révén jutnak el a T-sejtes zónába, ahol megtörténhet a DC:T-sejt kapcsolódás [19, 22]. Az FRC-k egyes alcsoportjai (l. később) CXCL13- és CXCL12-termelésük révén elősegítik a B- és T-sejtek, valamint a DC-k megfelelő nyirokcsöveti helyre való irányítását [23]. Emellett az FRC-k az IL-7 és BAFF (B cell activating factor, BAFF) termelésével biztosítják a lymphocyták túlélését.

Az FRC-k és a nyirokcsomó T-sejtes zónájában elhelyezkedő magas endothelialis venulák (HEV) kapcsolatában fontos szerepe van a thrombocytáknak is. A thrombocyták felszínén kifejeződő C típusú lektinszerű receptor 2 (C-type lectin-like receptor 2-CLEC2) fontos szerepet tölt be a haemostasis fenntartásában és az angiogenezisben. A CLEC2 a podoplanin egyetlen eddig ismert receptora, ami ligandumához kapcsolódva elősegíti a szfingozin-1-foszfát (S1P) thrombocytákból való felszabadulását [24, 25]. A HEV-eken megjelenő S1P receptorának aktiválása a V-kadherin endothelsejteken történő fokozott expresszióját eredményezi, ezáltal növelve a HEV integritását [26]. A podoplanin:CLEC-2 interakció vizsgálata során bebizonyosodott, hogy ez a kapcsolat a nyirokcsomó-



2. ábra

A perifériás nyirokcsomó stromalis szerkezete

Fiatal felnőtt BALB/c egér perifériás nyirokcsomójának mikroszkópos képe látható immunfluoreszcens jelöléssel, melyben a nyiroktüsző-FDC (CR1/2, zöld), paracorticalis FRC (gp38, vörös) és endothel (CD31, kék) összetevők jellegzetes kompartmentalizációt mutatnak

stromasejtek fejlődésére is hatással van, amit a $Pdpr^{-/-}$, illetve a CLEC2-t kódoló $Clec1b^{-/-}$ egerekben a nyirokcsomó előtelepének megjelenése, majd annak gátolt fejlődése mutat [26, 27].

Follicularis dendritikus sejtek (FDC)

A T-sejtes zóna FRC-dominanciájával szemben a B-sejtes területeken a $CR1/2^{+}$ (CD21/35) és a CXCL13 kemokin termelő follicularis dendritikus sejtek (FDC) alkotják a legjelentősebb stromalis alcsoportot. Az FDC-k CXCL13 révén a B-sejtek bevándorlását irányítják a nyiroktüszőbe, BAFF-termelésükkel pedig ezen sejtek túlélését segítik elő [28]. A CXCL13 kemokint a B-sejteken és follicularis helper T- (T_{FH}) sejteken expresszáldó CXCR5 receptor köti meg. Az FDC-k elsődleges immunológiai szerepe az antigének immunkomplex formájában (iccosoma) történő tartós sejtfelszíni retenciója, ezzel hozzájárulva a csíracentrum-reakció létrejöttéhez, B-sejt receptor affinitáséréséhez és az immunológiai memória fenntartásához.

Az FDC-k eredetéről hosszú ideig vita folyt a csontvelői (de nem okvetlenül haematopoieticus, hanem egyéb származási út mentén) és a helyi mesenchymalis differenciálódás, mint két különböző fejlődéstani folyamat között. Az FDC-k csak a szekunder nyirokszövetek folliculusaiban fordulnak elő, és B-sejtek hiányában nem mutatható ki jelenlétük [29]. T-B-hiányos SCID (severe combined immunodeficiency) egerekben FDC-k sem voltak detektálhatók, de érett B-sejtek

átvitelével FDC-k jelentek meg [30, 31]. Jelen elképzelésünk szerint a radiorezisztens FDC-k [32] normál körülmények között a nyirokcsomó előtelepeiben helyi előalakokból alakulnak ki, amihez lymphoid kolonizációra van szükség [33]. Az FDC-k az érett szerkezetű nyirokszövetekben lezajló csíracentrum-reakcióval járó T-dependens humorális immunválaszok során újdonszerűsödhetnek, a nyirokcsomóban a marginális sinus mentén elhelyezkedő marginális reticularis sejtek (MRC) differenciálódása révén. Az elkülönült T- és B-sejtes kompartmenteket tartalmazó ectopiás strukturált nyirokszövetek (tercier nyirokszövetek, TLO) kialakulása krónikus gyulladásos szövetekben (synovia, endokrin mirigyek, nyálmirigyek, agyhártya stb.) ugyanakkor azt jelzi, hogy a szervezet számos szövete tartalmaz fenotípusos jellemzők alapján FDC-szerű sejtekké differenciálódni képes sejteket.

A marginális reticularis sejtek (MRC) mint a szekunder nyirokszöveti stroma újdonszerűsödésének közös forrásai

A marginalis reticularis sejteket (MRC) Katakai és munkatársai a szekunder nyirokszövetben megtalálható stromalis összetevőként azonosították 2008-ban. Jelenleg az embrionális nyirokszövet-organizáló mesenchymalis előalakok felnőtt lezármazottainak tekintjük őket [34]. A nyirokcsomóban a folliculusok peremén és a subcapsularis sinus mentén helyezkednek el. Már újszülött állatokban is azonosíthatók podoplanin/gp38, MAdCAM-1-, VCAM-1- és ICAM-1-expressziójuk alapján. Az MRC-k nagy mennyiségben termelnek RANKL-ot, továbbá BP-3-, NF- κ B/RelB és CXCL13-pozitívak [35]. A krónikus gyulladások során kialakuló TLO esetében egyelőre nem lehetett MRC-ket azonosítani, amiből arra következtethetünk, hogy az MRC-k kialakulása a perifériás nyirokszövetek fejlődése során egy meghatározott időszakban mehet végbe.

Új idők – új alcsoportok

A közelmúltban kombinált sejtfelszíni marker expresszió és kemokintermelési jellemzők alapján azonosított új stroma-sejtalcsoport közé tartozik a B-sejtes zóna közvetlen közelében elhelyezkedő B-sejt-zóna FRC (BRC). Nagy mennyiségben expresszálnak BP-3 markert és podoplanint, de az FDC-re jellemző CD21/35 receptorokkal nem rendelkeznek. Ugyanakkor jelentős mennyiségben termelnek oxysterol kemoattraktáns, BAFF-ot, CXCL13 kemokint és DL4 Notch ligandot [36]. Szintén az utóbbi időben írták le a CXCL12 kemokint expresszáló reticulumsejteket (CRC a szekunder nyiroktüszők sötét zónájában). Fate mapping módszerrel a nyugvó nyirokcsomóban a T-sejtes zónában elhelyezkedő CD21 $^{+}$ stroma-sejtalcsoportot azonosították a folliculusok pereménél, mely sejteket többféle lymphoid alcsoporttal való kontaktust lehetővé tevő plaszticitásuk alapján sokoldalú stromasejteknek (versatile stromal cell, VSC) nevezzük.

A nyirokcsomó praenatalis stromalis szerveződése, molekuláris szabályozói

Egerek perifériás nyirokcsomóinak fejlődése ez embrionális kor 11. napján kezdődik. A folyamat során a haematopoieticus és stromalis összetevők szoros kölcsönhatása koordinálja a nyirokszövet-specifikus mikrokörnyezeti alapállomány differenciálódását. Ennek pontos mechanizmusa még nem ismert, a kutatók körében a két- és a háromsejtes indukciós modellek a leginkább elfogadottak.

A kétsejtes modell szerint (1) a haematopoieticus eredetű nyirokszövet-indukáló sejtek (lymphoid tissue inducer, LTi) és (2) a mesenchymalis eredetű nyirokszövet-organizáló sejtek (LTo) közötti interakció indítja el a nyirokcsomó fejlődését. Az LTi sejtek a 3. típusú (ROR γ t-függő) veleszületett lymphoid sejtek (ILC3) csoportjába tartoznak. Az LTo sejteken expresszálódó LT β R és RANK (receptor activator of NF κ B) hiányában nem fejlődnek ki perifériás nyirokcsomók [37, 38]. Ugyanakkor ROR γ t-deficiens és IL-7R-deficiens egereken elvégzett kutatások arra engednek következtetni, hogy LTi sejtek jelenléte nélkül ugyancsak nem alakulnak ki nyirokcsomók [39, 40].

Az LTi sejtek a CXCL13 kemokin gradiens mentén jutnak be a fejlődő nyirokcsomó előtelepébe. Az LTi sejtek limfotxin α 1 β 2 (LT α 1 β 2) citokint termelnek, ami a CXCL13 mellett kulcsmolekulája a szekunder nyirokszövetek fejlődésének [41, 42]. Az LTo sejteken lévő LT β R aktivációja elindítja az NF- κ B klasszikus és alternatív jelátviteli útvonalát is. LT β R jelátvitel hiányában Lta $^{-/-}$, Ltbr $^{-/-}$ és Rorc $^{-/-}$ egerekben nem fejlődnek ki nyirokcsomók [38, 43]. A receptoraktiváció következtében a mesenchymalis eredetű éretlen stromasejtek LTo [35] sejtekké differenciálódnak, és CXCL13, CCL19, CCL21 homeosztatisz kemokineket, valamint adhézis molekulákat (VCAM-1, ICAM-1, MAdCAM-1) kezdenek termelni [44]. Ezáltal az LTo sejtek további LTi sejteket vonzanak a fejlődő nyirokcsomó-előtelepbe. Az LTo sejtek IL-7-et is termelnek, ami túlélési szignált biztosít az LTi, később pedig a B- és T-sejtek számára [45].

A kétsejtes modell alapját az LTi sejtek CXCL13-gradiens által irányított véráramból történő kilépése képezi, ugyanakkor ezt több kutatócsoport is megkérdőjelezte. Ugyanis a rágszálók nyirokcsomói fejlődésük ezen kezdeti időpontjában nem rendelkeznek fejlett érhálózattal, nem mutathatók ki aktivált vérerendothelsejtek a HEV-ekben [46, 47]. Az LT β R szelektív endothelialis ablációja nem gátolta meg a nyirokcsomók kialakulását, de csökkentette az előtelepbe lépő LTi sejtek számát [48], valamint a HEV érésének gátlása miatt károsodott nyirokcsomó-kompartimentalizációt okozott [49]. Jelen ismereteink szerint a mesenchymalis eredetű éretlen stromasejtek CXCL13-termelésének indukciójához a neuronok által termelt retinsav szükséges [50]. Ebben a modellben a neuronális hatás szerepelhet a nyirokszövet-fejlesztés elindítójaként és meghatározójaként. Jelenleg nem világos, hogy a

retinsav előállításához szükséges RALDH2 enzim, ami az egész neuronban termelődik, milyen módon képes fokálisan elindítani a nyirokcsomók fejlődését.

A háromsejtes modell Onder és munkatársai nevéhez fűződik, melyben a nyirokcsomók fejlődésében a két korábbi sejtcsoport mellett harmadikként kulcsszerepet játszanak az LTo-funkciót ellátó LEC-ek [46]. Kutatásukban a LT β R-t a CXCL13 kemokint expresszáló LTo sejteken deletálták, melynek eredményeként csökkent B-sejt, CD8 $^{+}$ T-sejt és FRC sejt-számot találtak, ami a sejtek megtartott szegregációja mellett a nyirokcsomó méretbeli csökkenéséhez vezetett [46]. Az általuk felállított nyirokcsomó-fejlesztési modellben az LTi sejtek a 14. embrionális napon a CCL21 kemokint termelő LEC-eken keresztül belépnek a nyirokcsomó előtelepét nyújtó zsírszövetbe, míg a CXCL13 $^{+}$ mesenchymalis sejtek (MC) perivascularisan helyezkednek el. Ebben a kezdeti szakaszban az LTi sejtek a RANK és az LT β R révén kölcsönhatásba lépnek az LTo-funkciót ellátó LEC-ekkel. Az LTi sejtek, a CXCL13-at expresszáló MC-k és a vérerendothelsejtek csoportosulása a 17. embrionális napon az ér- és fibroblasthálózat átalakulásához vezet. Ezeknek a sejteknek a kölcsönhatása pozitív visszacsatolási hurkot indukál a kemokin- és adhézis molekulák expressziójának fokozásával, valamint az LTo-funkciót ellátó vérerendothelsejtek és a különböző FRC alcsoportok LT β R-függő érésével. Ugyanakkor a LEC-függő nyirokcsomó-fejlesztési hipotézist cáfolják azok a megfigyelések, melyekben nyirokérhiányos Prox1 $^{-/-}$ egerekben sikerült LTi sejteket azonosítani nyirokcsomó lokalizációkban [51].

További kérdés az LT-szignalizáció és a CXCL13-kifejeződés kapcsolata. Ismert, hogy a CXCL13-expresszió LT β R-aktiváció-függő folyamat, ami feltételezi a CXCL13-expressziót megelőzően lezajlott LT β R-aktivációt, aminek pontos helye és résztvevői jelenleg ismeretlenek. Felmerül továbbá a kérdés, hogy a CXCL13 kemokin expressziója egységes-e az LTo sejteken belül, ugyanis előfordulhat, hogy CXCL13 kemokint nem expresszáló LTo sejtekben továbbra is végbemegy a LT β R-en keresztüli jelátvitel [52].

A felnőtt nyirokcsomó stromalis sejteinek immunológiai szabályzó szerepe

Az FRC-k képesek szövetspecifikus saját antigéneket natív formában bemutatni a CD8 $^{+}$ T-sejtek részére, ezáltal részt vesznek a T-sejtes tolerancia kialakításában [53]. Hasonló módon végbemenő antigénbemutatás révén a LEC-ek is fontos szereplők lehetnek a perifériás T-sejt tolerancia létrejöttében [54]. Emellett MHC-II-expressziójuk által szabályozzák a CD4 $^{+}$ T-sejtek túlélését, szaporodását és antigénfelismerés utáni toleranciáját is [55].

Az FRC-k vírusfertőzés során aktivált nyirokcsomóban IL-33-at termelnek, ami szükséges a megfelelő CD8 $^{+}$ T-sejt vá-

laszhoz és a fertőző ágens eliminálásához [56]. Aktiváció során a hasi nyirokcsomók (mLN) FRC-inek retinsavtermelését figyelték meg, ami a CD4⁺ és CD8⁺ T-sejtek α 4 β 7 integrin és CCR9 kifejeződésének fokozása révén a lymphocyták további megtelepedését biztosítja a bélben [57, 58].

A T-sejtek homeosztázisát szabályzó funkciók mellett az FRC-k képesek egyéb immunológiai folyamatok gátlására is. Így az aktivált T-sejtek által termelt IFN γ az FRC-k nitrogén-monoxid-termelését váltja ki, ami gátolja a T-sejt-proliferációt [59–61]. Egérmodellben végzett kísérletekkel igazolták ennek a szabályzó huroknak a szepszis kedvező kimenetelét elősegítő hatását [62]. Az FRC-k leukocytákkal folytatott dinamikus interakciói mellett önmaguk is jelentékeny változékonyságot mutatnak, jócskán cáfolva a csupán passzív strukturális szövetalkotóként való értékelésüket.

A stromasejtek biomechanikai jellemzői és újdonságok

Mindennapi tapasztalat szerint fertőzés vagy immunizáció során a reaktív nyirokcsomó meggúsz, ami a nyirokcsomó stromaszerkezetének és érhalózatának jelentékeny átalakulásával jár együtt. A gyulladás kezdeti szakaszában megnő a nyirokcsomón átáramló nyirok mennyisége, amire az FRC-k megnövekedett CCL21-kibocsátással reagálnak [63]. A rezidens és beáramló DC-k CLEC2-expressziója fokozódik, ami gátolja a podoplaninvezérelt aktomiozin-összehúzódást az FRC-ben, ezáltal lehetővé téve a nyirokcsomók gyors tágulását a stromasejtek proliferációja nélkül [15]. Ez a hatás hozzájárulhat a HEV-eket körülvevő FRC-hálózat fellazulásához és az érpermeabilitás növekedéséhez [64–66].

Megnyúlásukat követően az FRC-k az immunizációt követő 4–10 nap között proliferálni kezdenek, ami CD11c⁺ sejtek hiányában károsodik. A monocytáeredetű IL-1 β antitestkövetített vagy genomiális gátlása szintén csökkentette az FRC-k osztódását az aktivált nyirokcsomóban [67].

A lymphocytáknak a stromasejtek osztódására kifejtett hatását RAG-1- és RAG-2-hiányos egerekben vizsgálták, ahol az FRC-k proliferációjának drasztikus csökkenését észlelték. Ezt T- és B-sejtek bejuttatásával korrigálni lehetett, amiben valószínűleg az aktivált T- és B-sejtekből származó LT β tölt be nélkülözhetetlen szerepet [68].

Az FRC-k osztódását követően kezdetét veszi a nyugalmi időszak, amire az FRC-k relaxált állapota jellemző. B-sejt-hiányos egerekben az FRC-k idő előtti kontrakcióját figyelték meg, amit B-sejtek bejuttatása meggátolt. T-sejt-hiányos egerekben ez a jelenség nem volt megfigyelhető [69]. Különböző kimerámodellekben meggyőzően bizonyítható volt, hogy a nyugalmi fázisban a DC-k által expresszált LT β R két liganduma, az LT α 1 β 2 és a LIGHT, alapvető szerepet játszik az FRC-k fenntartásában [70]. A DC-k hiánya csökkentette az FRC-k túlélését, a podoplanin expresszióját, valamint az FDC-k túlélését a csíráközpontokban [70, 71].

A nyirokcsomó-aktiváció során nemcsak a T-sejt-zóna-FRC-k osztódnak, hanem a szekunder nyiroktüsző világos zónájában elhelyezkedő FDC-k is. Sokáig kérdéses volt, hogy a mesenchymalis eredetű FDC-k akkumulációja a jelen lévő érett FDC-k osztódásával, vagy a helyben lévő MRC prekursorsejtek differenciálódásával, esetlegesen a perifériáról történő bevándorlásával történik. Multicolor fate mapping módszer segítségével igazolták, hogy az MRC-k szaporodnak és lokálisan differenciálódnak FDC-kké, ugyanakkor egyéb nem haematopoetikus sejttypusok hozzájárulását formálisan nem lehet kizárni [2].

Új stromalis alcsoportok megjelenése immunválasz során: VSC és CRC sejtek

A follicularis stromát alkotó FDC mellett az utóbbi időben fate mapping módszer segítségével leírtak egy szintén CD21-expressziót mutató stromasejtcsoportot, mely a folliculusok pereménél a T-sejtes zónában helyezkedik el. Nyugvó nyirokcsomóban ezek a sejtek nem rendelkeznek más FDC-, MRC- és FRC-markerekkel, és CXCL13 kemokint sem termelnek. Aktivációt követő csíracentrum-reakció során viszont a nyirokcsomóban a szekunder folliculusokat körülvevő CD21⁺ sejtek a LT β jelátviteli úton keresztül CXCL13-termelő sejté alakulnak. Kemokintermelésük a szekunder folliculus felbomlásával megszűnik [11]. Ez volt az elsőként leírt olyan stromalis sejtcsoport, mely kemokintermelését képes a mikrokörnyezet változásához adaptálni. Ezeket a sejteket plaszticitásuk alapján sokoldalú stromasejteknek (versatile stromal cell, VSC) nevezzük.

A csíracentrumok széli részében megjelenő CXCL13-termelő VSC mellett szintén a csíracentrum-képződés során figyelhetők meg a szekunder folliculusok sötét zónájában a CXCL12-termelő reticularis sejtek (CRC), amelyek hatására a centroblastok a sötét zónában csoportosulnak. Morfológiai hasonlóságai, a CD21/35 markerek és Sox9 transzkripciós faktor kifejeződése miatt felvetődött, hogy az FDC-k és CRC-k közös eredetű, de eltérő érettségű sejtek [3]. Fate mapping vizsgálatok azonban igazolták, hogy az FDC-k és a CRC-k két teljesen különálló stromasejtcsoportot alkotnak [72]. Az FDC-k-től felszíni markereik alapján viszonylag egyszerűen elkülöníthetők, mivel a CRC alcsoport sejtjei a klasszikus FDC-markereként számon tartott CD21/35, VCAM-1, FDC-M1, FDC-M2 és Fc γ R2/III antigéneket nem expresszálják. CXCL12-termelésük az FDC-ktől eltérően független az LT és a TNF α jelenlététől. Ugyan képesek CCL21 és CCL19 képzésére [72, 73], de nem termelnek az FRC-kre jellemző laminint és IV. típusú kollagént.

Stromalis szerveződés ectopiás nyirokszövetekben

A szekunder nyirokszövetek fejlődése az organogenezis során meghatározott időben és helyen patogénmentes környezetben zajlik. A terciér nyirokszövetek kialakulása ezzel szemben postnatalisan megy végbe krónikus gyulladásos reakció következtében, melynek hátterében valamilyen kórokozóra adott elhúzódó válasz, tumoros elváltozás vagy autoimmun folyamat állhat, és számos szervet érinthet [74].

A kóros elváltozások celluláris és molekuláris vizsgálata, valamint számos állatmodellben végzett kísérletek eredményei szerint a szekunder nyirokszövetek kialakulásában megismert molekuláris mechanizmusok szerepet játszanak az ectopiás nyirokszövetek kialakulásában. Sclerosis multiplex (SM) modellben megfigyelték, hogy a CXCL13, CCL19 és CCL21 expressziója pozitívan korrelál a terciér nyirokszövetek megjelenésével, míg kísérletesen indukált autoimmun encephalitis (EAE) modellben csökkent ectopiás nyirokszövet képződést és a tünetek enyhülését tapasztalták az LT β R-Ig fúziós fehérjével történő kezelés hatására [75, 76]. SM és EAE esetén a helyi stromasejtek differenciációjában és a lymphoid neogenezisben a Th17-sejtek által termelt IL-17 szabályozó szerepére is fény derült [77], ugyanakkor a szintén IL-17-termelésre képes ILC3 alcsoport lehetséges szerepe is felmerül.

Diabetes mellitus során a hasnyálmirigyben megjelenő ectopiás nyirokszövetek organogenezisében is az IL-7 jelentős szerepet tölt be a lymphocyták túlélésében, amelyek kemotaxisában a CCL19 és CCL21 kemokinek vesznek részt, míg a CXCL13 a patológiás B-sejtes folliculusok kialakulásában tölt be irányító szerepet. Ebben a kórképben is az ectopiás nyirokszövetek kialakulásának szempontjából kulcsfontosságúak az LT és a TNF jelátviteli útvonalak a kemokinexpresszió fenntartásán és a stromasejtek differenciációján keresztül [78].

A nyálkahártya-asszociált nyirokszövet (MALT), például a vastagbélcryptoplakkok (CP), zsírszociált lymphocytacsoportosulások (FALC) és az indukált orr-garat asszociált nyirokszövetek (iNALT) mind anatómiai, mind fejlődési szempontból a szekunder és a terciér nyirokszövetek közé tehetők. Prae- és postnatalisan alakulnak ki előre meghatározott helyen, de szükség esetén képesek expandálni és alkalmazkodni a speciális immunválaszokhoz. Erre klasszikus példa a CP-k IgA antitestet termelő plazmasejtekben gazdag izolált lymphoid folliculusokká (ILF) történő átalakulása, melyek reverzibilis struktúrák [79]. Az ILF kialakulásában a túlzott CXCL13-expresszió szerepét írták le, mely az IL22-termelő ILC3 sejtek toborzásával járul hozzá ezen indukálható nyirokszövetek kialakulásához. Az IL-17 szintén részt vesz a folyamatban, mely a kommenzális organizmusokra adott Th17-es válasz előkészítő szerepére enged következtetni [80, 81].

A stromasejtekben rejlő terápiás lehetőségek

A stromasejtek az immunológiai folyamatok szabályozásában betöltött szerteágazó szerepük miatt méltán kerültek a kutatások előterébe. Szabályozó folyamataik tanulmányozásához azonban a hagyományos immunológiai módszerek nem bizonyultak elegendőnek, így egyre több olyan technikát és állattörzset hoztak létre, melyek segítségével *in vivo* vagy *in vitro* 3D szerkezetben lehet vizsgálni összeköttetéseiket. Az új módszerek lehetőséget adnak származástani vizsgálatok elvégzésére és új alcsoportok azonosítására is.

A krónikus gyulladással járó kórképekben kialakuló ectopiás nyirokszövetek problémát jelentenek az alkalmazott terápia hatékonyságának szempontjából is. A perifériás nyirokszövetek organogenezisének megismerése hozzásegíthet minket ezen ectopiás nyirokszövetek kialakulásának a meggátolásához. A nyirokszöveti stromasejtek szabályozó funkcióinak megértésével lehetőségünk nyílna új terápiás szemlélet kialakítására, valamint a feltérképezett szabályozó pontok gátlásával új gyógyszerek kifejlesztésére is. A krónikus gyulladással járó betegségek [82, 83] mellett a daganatos betegségek kezelése során tapasztalt terápiaerezisztencia hátterében is feltételezik a fibroblastok szerepét [84], melyek ebből a szempontból is fontos célponttá válhatnak.

A közlemény a „Peptiderg szignalizáció komplexitása és szerepe szisztémás betegségek kialakulásában”/GINOP 2.3.2-15-2016-00050 és „Átfogó fejlesztések a Pécsi Tudományegyetemen az intelligens szakosodás megvalósítása érdekében”/EFOP 3.6.1-16-2016-00004 projekt támogatásával készült.

IRODALOM

- [1] Roozendaal R, Mebius RE: Stromal cell-immune cell interactions. *Annu Rev Immunol* 2011; 29: 23-43.
- [2] Jarjour M, Jorquera A, Mondor I, et al: Fate mapping reveals origin and dynamics of lymph node follicular dendritic cells. *J Exp Med* 2014; 211(6): 1109-1122.
- [3] Rodda LB, Lu E, Bennett ML, et al: Single-Cell RNA Sequencing of Lymph Node Stromal Cells Reveals Niche-Associated Heterogeneity. *Immunity* 2018; 48(5): 1014-1028.e1016.
- [4] Ohl L, Henning G, Krautwald S, et al: Cooperating mechanisms of CXCR5 and CCR7 in development and organization of secondary lymphoid organs. *J Exp Med* 2003; 197(9): 1199-1204.
- [5] Morgado FN, da Silva AVA, Porrozzini R: Infectious Diseases and the Lymphoid Extracellular Matrix Remodeling: A Focus on Conduit System. *Cells* 2020; 9(3): 725.
- [6] Novkovic M, Onder L, Cupovic J, et al: Topological Small-World Organization of the Fibroblastic Reticular Cell Network Determines Lymph Node Functionality. *PLoS Biol* 2016; 14(7): e1002515.

- [7] Suematsu S, Watanabe T: Generation of a synthetic lymphoid tissue-like organoid in mice. *Nat Biotechnol* 2004; 22(12): 1539-1545.
- [8] Lacorre DA, Baekkevold ES, Garrido I, et al: Plasticity of endothelial cells: rapid dedifferentiation of freshly isolated high endothelial venule endothelial cells outside the lymphoid tissue microenvironment. *Blood* 2004; 103(11): 4164-4172.
- [9] Gentek R, Bajénoff M: Lymph Node Stroma Dynamics and Approaches for Their Visualization. *Trends Immunol* 2017; 38(4): 236-247.
- [10] Livet J, Weissman TA, Kang H, et al: Transgenic strategies for combinatorial expression of fluorescent proteins in the nervous system. *Nature* 2007; 450(7166): 56-62.
- [11] Mionnet C, Mondor I, Jorquera A, et al: Identification of a new stromal cell type involved in the regulation of inflamed B cell follicles. *PLoS Biol* 2013; 11(10): e1001672.
- [12] Hedlund E, Deng Q: Single-cell RNA sequencing: Technical advancements and biological applications. *Mol Aspects Med* 2018; 59: 36-46.
- [13] Fletcher AL, Malhotra D, Acton SE, et al: Reproducible isolation of lymph node stromal cells reveals site-dependent differences in fibroblastic reticular cells. *Front Immunol* 2011; 2: 35.
- [14] Farr AG, Berry ML, Kim A, et al: Characterization and cloning of a novel glycoprotein expressed by stromal cells in T-dependent areas of peripheral lymphoid tissues. *J Exp Med* 1992; 176(5): 1477-1482.
- [15] Fletcher AL, Acton SE, Knoblich K: Lymph node fibroblastic reticular cells in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2015; 15(6): 350-361.
- [16] Mutsaers SE, Birnie K, Lansley S, et al: Mesothelial cells in tissue repair and fibrosis. *Front Pharmacol* 2015; 6: 113.
- [17] Kalluri R, Weinberg RA: The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2009; 119(6): 1420-1428.
- [18] Zeisberg EM, Tarnavski O, Zeisberg M, et al: Endothelial-to-mesenchymal transition contributes to cardiac fibrosis. *Nat Med* 2007; 13(8): 952-961.
- [19] Link A, Vogt TK, Favre S, et al: Fibroblastic reticular cells in lymph nodes regulate the homeostasis of naive T cells. *Nat Immunol* 2007; 8(11): 1255-1265.
- [20] Sixt M, Kanazawa N, Selg M, et al: The conduit system transports soluble antigens from the afferent lymph to resident dendritic cells in the T cell area of the lymph node. *Immunity* 2005; 22(1): 19-29.
- [21] Phan TG, Grigorova I, Okada T, et al: Subcapsular encounter and complement-dependent transport of immune complexes by lymph node B cells. *Nat Immunol* 2007; 8(9): 992-1000.
- [22] Chai Q, Onder L, Scandella E, et al: Maturation of lymph node fibroblastic reticular cells from myofibroblastic precursors is critical for antiviral immunity. *Immunity* 2013; 38(5): 1013-1024.
- [23] Luther SA, Bidgol A, Hargreaves DC, et al: Differing activities of homeostatic chemokines CCL19, CCL21, and CXCL12 in lymphocyte and dendritic cell recruitment and lymphoid neogenesis. *J Immunol* 2002; 169(1): 424-433.
- [24] Ozaki Y, Suzuki-Inoue K, Inoue O: Novel interactions in platelet biology: CLEC-2/podoplanin and laminin/GPVI. *J Thromb Haemost* 2009; 7(Suppl 1): 191-194.
- [25] Suzuki-Inoue K, Inoue O, Ding G, et al: Essential in vivo roles of the C-type lectin receptor CLEC-2: embryonic/neonatal lethality of CLEC-2-deficient mice by blood/lymphatic misconnections and impaired thrombus formation of CLEC-2-deficient platelets. *J Biol Chem* 2010; 285(32): 24494-24507.
- [26] Herzog BH, Fu J, Wilson SJ, et al: Podoplanin maintains high endothelial venule integrity by interacting with platelet CLEC-2. *Nature* 2013; 502(7469): 105-109.
- [27] Bénézech C, Nayar S, Finney BA, et al: CLEC-2 is required for development and maintenance of lymph nodes. *Blood* 2014; 123(20): 3200-3207.
- [28] Usui K, Honda S, Yoshizawa Y, et al: Isolation and characterization of naïve follicular dendritic cells. *Mol Immunol* 2012; 50(3): 172-176.
- [29] Cerny A, Zinkernagel RM, Groscurth P: Development of follicular dendritic cells in lymph nodes of B-cell-depleted mice. *Cell Tissue Res* 1988; 254(2): 449-454.
- [30] Kapasi ZF, Burton GF, Shultz LD, et al: Induction of functional follicular dendritic cell development in severe combined immunodeficiency mice. Influence of B and T cells. *J Immunol* 1993; 150(7): 2648-2658.
- [31] Yoshida K, van den Berg TK, Dijkstra CD: The functional state of follicular dendritic cells in severe combined immunodeficient (SCID) mice: role of the lymphocytes. *Eur J Immunol* 1994; 24(2): 464-468.
- [32] Humphrey JH, Grennan D, Sundaram V: The origin of follicular dendritic cells in the mouse and the mechanism of trapping of immune complexes on them. *Eur J Immunol* 1984; 14(9): 859-864.
- [33] Krautler NJ, Kana V, Kranich J, et al: Follicular dendritic cells emerge from ubiquitous perivascular precursors. *Cell* 2012; 150(1): 194-206.
- [34] Katakai T: Marginal reticular cells: a stromal subset directly descended from the lymphoid tissue organizer. *Front Immunol* 2012; 3: 200.
- [35] Katakai T, Suto H, Sugai M, et al: Organizer-like reticular stromal cell layer common to adult secondary lymphoid organs. *J Immunol* 2008; 181(9): 6189-6200.
- [36] Fasnacht N, Huang HY, Koch U, et al: Specific fibroblastic niches in secondary lymphoid organs orchestrate distinct Notch-regulated immune responses. *J Exp Med* 2014; 211(11): 2265-2279.
- [37] Dougall WC, Glaccum M, Charrier K, et al: RANK is essential for osteoclast and lymph node development. *Genes Dev* 1999; 13(18): 2412-2424.
- [38] Fütterer A, Mink K, Luz A, et al: The lymphotoxin beta receptor controls organogenesis and affinity maturation in peripheral lymphoid tissues. *Immunity* 1998; 9(1): 59-70.
- [39] Eberl G, Marmon S, Sunshine MJ, et al: An essential function for the nuclear receptor RORgamma(t) in the generation of fetal lymphoid tissue inducer cells. *Nat Immunol* 2004; 5(1): 64-73.
- [40] Yoshida H, Honda K, Shinkura R, et al: IL-7 receptor alpha+CD3(-) cells in the embryonic intestine induces the organizing center of Peyer's patches. *Int Immunol* 1999; 11(5): 643-655.
- [41] Drayton DL, Ying X, Lee J, et al: Ectopic LT alpha beta directs lymphoid organ neogenesis with concomitant expression of peripheral node addressin and a HEV-restricted sulfotransferase. *J Exp Med* 2003; 197(9): 1153-1163.

- [42] Boulianne B, Porfilio EA, Pikor N, et al: Lymphotoxin-sensitive microenvironments in homeostasis and inflammation. *Front Immunol* 2012; 3: 243.
- [43] De Togni P, Goellner J, Ruddle NH, et al: Abnormal development of peripheral lymphoid organs in mice deficient in lymphotoxin. *Science* 1994; 264(5159): 703-707.
- [44] van de Pavert SA, Mebius RE: New insights into the development of lymphoid tissues. *Nat Rev Immunol* 2010; 10(9): 664-674.
- [45] Schmutz S, Bosco N, Chappaz S, et al: Cutting edge: IL-7 regulates the peripheral pool of adult ROR gamma+ lymphoid tissue inducer cells. *J Immunol* 2009; 183(4): 2217-2221.
- [46] Onder L, Mörbé U, Pikor N, et al: Lymphatic Endothelial Cells Control Initiation of Lymph Node Organogenesis. *Immunity* 2017; 47(1): 80-92.e84.
- [47] Ager A: High Endothelial Venules and Other Blood Vessels: Critical Regulators of Lymphoid Organ Development and Function. *Front Immunol* 2017; 8: 45.
- [48] Wang Z, Chai Q, Zhu M: Differential Roles of LTβR in Endothelial Cell Subsets for Lymph Node Organogenesis and Maturation. *J Immunol* 2018; 201(1): 69-76.
- [49] Onder L, Danuser R, Scandella E, et al: Endothelial cell-specific lymphotoxin-β receptor signaling is critical for lymph node and high endothelial venule formation. *J Exp Med* 2013; 210(3): 465-473.
- [50] van de Pavert SA, Olivier BJ, Goverse G, et al: Chemokine CXCL13 is essential for lymph node initiation and is induced by retinoic acid and neuronal stimulation. *Nat Immunol* 2009; 10(11): 1193-1199.
- [51] Vondenhoff MF, van de Pavert SA, Dillard ME, et al: Lymph sacs are not required for the initiation of lymph node formation. *Development* 2009; 136(1): 29-34.
- [52] Koning JJ, Mebius RE: Complexity of Lymphoid Tissue Organizers: A Response to Onder and Ludewig. *Trends Immunol* 2018; 39(12): 951-952.
- [53] Fletcher AL, Lukacs-Kornek V, Reynoso ED, et al: Lymph node fibroblastic reticular cells directly present peripheral tissue antigen under steady-state and inflammatory conditions. *J Exp Med* 2010; 207(4): 689-697.
- [54] Cohen JN, Guidi CJ, Tewalt EF, et al: Lymph node-resident lymphatic endothelial cells mediate peripheral tolerance via Aire-independent direct antigen presentation. *J Exp Med* 2010; 207(4): 681-688.
- [55] Dubrot J, Duraes FV, Potin L, et al: Lymph node stromal cells acquire peptide-MHCII complexes from dendritic cells and induce antigen-specific CD4⁺ T cell tolerance. *J Exp Med* 2014; 211(6): 1153-1166.
- [56] Bonilla WV, Fröhlich A, Senn K, et al: The alarmin interleukin-33 drives protective antiviral CD8⁺ T cell responses. *Science* 2012; 335(6071): 984-989.
- [57] Hammerschmidt SI, Ahrendt M, Bode U, et al: Stromal mesenteric lymph node cells are essential for the generation of gut-homing T cells in vivo. *J Exp Med* 2008; 205(11): 2483-2490.
- [58] Molenaar R, Knippenberg M, Goverse G, et al: Expression of retinaldehyde dehydrogenase enzymes in mucosal dendritic cells and gut-draining lymph node stromal cells is controlled by dietary vitamin A. *J Immunol* 2011; 186(4): 1934-1942.
- [59] Siegert S, Huang HY, Yang CY, et al: Fibroblastic reticular cells from lymph nodes attenuate T cell expansion by producing nitric oxide. *PLoS One* 2011; 6(11): e27618.
- [60] Lukacs-Kornek V, Malhotra D, Fletcher AL, et al: Regulated release of nitric oxide by nonhematopoietic stroma controls expansion of the activated T cell pool in lymph nodes. *Nat Immunol* 2011; 12(11): 1096-1104.
- [61] Khan O, Headley M, Gerard A, et al: Regulation of T cell priming by lymphoid stroma. *PLoS One* 2011; 6(11): e26138.
- [62] Fletcher AL, Elman JS, Astarita J, et al: Lymph node fibroblastic reticular cell transplants show robust therapeutic efficacy in high-mortality murine sepsis. *Sci Transl Med* 2014; 6(249): 249ra109.
- [63] Tomei AA, Siegert S, Britschgi MR, et al: Fluid flow regulates stromal cell organization and CCL21 expression in a tissue-engineered lymph node microenvironment. *J Immunol* 2009; 183(7): 4273-4283.
- [64] Anderson ND, Anderson AO, Wyllie RG: Microvascular changes in lymph nodes draining skin allografts. *Am J Pathol.* 1975; 81(1): 131-160.
- [65] Jain RK: Molecular regulation of vessel maturation. *Nat Med.* 2003;9(6):685-693.
- [66] Tzeng TC, Chyou S, Tian S, et al: CD11c(hi) dendritic cells regulate the re-establishment of vascular quiescence and stabilization after immune stimulation of lymph nodes. *J Immunol* 2010; 184(8): 4247-4257.
- [67] Benahmed F, Chyou S, Dasoveanu D, et al: Multiple CD11c+ cells collaboratively express IL-1β to modulate stromal vascular endothelial growth factor and lymph node vascular-stromal growth. *J Immunol* 2014; 192(9): 4153-4163.
- [68] Chyou S, Benahmed F, Chen J, et al: Coordinated regulation of lymph node vascular-stromal growth first by CD11c⁺ cells and then by T and B cells. *J Immunol* 2011; 187(11): 5558-5567.
- [69] Gregory JL, Walter A, Alexandre YO, et al: Infection Programs Sustained Lymphoid Stromal Cell Responses and Shapes Lymph Node Remodeling upon Secondary Challenge. *Cell Rep* 2017; 18(2): 406-418.
- [70] Kumar V, Dasoveanu DC, Chyou S, et al: A dendritic-cell-stromal axis maintains immune responses in lymph nodes. *Immunity* 2015; 42(4): 719-730.
- [71] Thierry GR, Gentek R, Bajenoff M: Remodeling of reactive lymph nodes: Dynamics of stromal cells and underlying chemokine signaling. *Immunol Rev* 2019; 289(1): 42-61.
- [72] Rodda LB, Bannard O, Ludewig B, et al: Phenotypic and Morphological Properties of Germinal Center Dark Zone Cxcl12-Expressing Reticular Cells. *J Immunol* 2015; 195(10): 4781-4791.
- [73] Bannard O, Horton RM, Allen CD, et al: Germinal center centroblasts transition to a centrocyte phenotype according to a timed program and depend on the dark zone for effective selection. *Immunity* 2013; 39(5): 912-924.
- [74] Hwang JY, Randall TD, Silva-Sanchez A: Inducible Bronchus-Associated Lymphoid Tissue: Taming Inflammation in the Lung. *Front Immunol* 2016; 7: 258.
- [75] Columba-Cabezas S, Griguoli M, Rosicarelli B, et al: Suppression of established experimental autoimmune encephalomyelitis and formation of meningeal lymphoid follicles by lymphotoxin beta receptor-Ig fusion protein. *J Neuroimmunol* 2006; 179(1-2): 76-86.

- [76] Aloisi F, Columba-Cabezas S, Franciotta D, et al: Lymphoid chemokines in chronic neuroinflammation. *J Neuroimmunol* 2008; 198(1-2): 106-112.
- [77] Pikor NB, Astarita JL, Summers-Deluca L, et al: Integration of Th17- and Lymphotoxin-Derived Signals Initiates Meningeal Resident Stromal Cell Remodeling to Propagate Neuroinflammation. *Immunity* 2015; 43(6): 1160-1173.
- [78] Picarella DE, Kratz A, Li CB, et al: Transgenic tumor necrosis factor (TNF)-alpha production in pancreatic islets leads to insulinitis, not diabetes. Distinct patterns of inflammation in TNF-alpha and TNF-beta transgenic mice. *J Immunol* 1993; 150(9): 4136-4150.
- [79] Barone F, Gardner DH, Nayar S, et al: Stromal Fibroblasts in Tertiary Lymphoid Structures: A Novel Target in Chronic Inflammation. *Front Immunol* 2016; 7: 477.
- [80] Marchesi F, Martin AP, Thirunarayanan N, et al: CXCL13 expression in the gut promotes accumulation of IL-22-producing lymphoid tissue-inducer cells, and formation of isolated lymphoid follicles. *Mucosal Immunol* 2009; 2(6): 486-494.
- [81] Pearson C, Uhlig HH, Powrie F: Lymphoid microenvironments and innate lymphoid cells in the gut. *Trends Immunol* 2012; 33(6): 289-296.
- [82] Pikor NB, Cupovic J, Onder L, et al: Stromal Cell Niches in the Inflamed Central Nervous System. *J Immunol* 2017; 198(5): 1775-1781.
- [83] Dakin SG, Coles M, Sherlock JP, et al: Pathogenic stromal cells as therapeutic targets in joint inflammation. *Nat Rev Rheumatol* 2018; 14(12): 714-726.
- [84] Plava J, Cihova M, Burikova M, et al: Recent advances in understanding tumor stroma-mediated chemoresistance in breast cancer. *Mol Cancer* 2019; 18(1): 67.

(Dr. Balogh Péter, Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet, 7624 Pécs, Szigeti út 12.; Fax: 72 536289, e-mail: balogh.peter@pte.hu)

Immunológiai szótár

histiocyta Patológiai meghatározás, amely a szövetekben található makrofágokra vonatkozik, szemben azokkal, amelyek a vérben (monocyták), illetve serosus üregekben stb. vannak. Bizonyos histiocyták hosszú ideig helyhez kötöttek maradhatnak, például azok, amelyek a bőrben tetoválást követően a festékrészecskéket sokáig megtartják. Erős affinitást mutatnak ezüsthöz és egyéb nehézfémfestékekhez.

hisztokompatibilitás meghatározása Az emberi HLA hisztokompatibilitási rendszerbe tartozó MHC-I és MHC-II osztályú antigének meghatározása az egyén sejtjein. Általában a donor és a recipiens közötti kompatibilitás meghatározására alkalmazzák szerv- vagy csontvelő-átültetés, vérlemezkek transzfúziója esetén, vagy bizonyos betegségekkel való összefüggés vizsgálatakor. A leggyakrabban szerológiai vizsgálatot végeznek, amely során ismert HLA-k elleni antiszérum-sorozattal szűrik a HLA-k jelenlétét a donor és a recipiens lymphocytáin. A széles körben használt citotoxicitási tesztet egyre inkább a restrikciós fragmens hosszpolimorfizmus (RFLP) és a polimeráz láncreakció (PCR) váltja fel. Kevert lymphocyta reakció, helper T-lymphocyta-prekurzor (HTLp) és citotoxikus T-lymphocyta-prekurzor (CTLp) teszt is használatos. HLA-antitest azonosítást és kereszttypizálást is végeznek.

hisztokompatibilitási antigén Genetikailag meghatározott izoantigén, amely különböző szövetekben a magvas sejtek felszínén található és könnyen detektálható a vérben levő leukocytákon. A hisztokompatibilitási antigéneket az MHC-gének kódolják (HLA, H-2). Az I-es és a II-es osztályú MHC-antigének meghatározó szerepet játszanak az antigénfelismerésében és az antigénre adott T-sejt-válaszban, mivel a T-sejt receptor (TCR) az antigének peptidjeit úgy ismeri fel, hogy azok nem kovalensen az MHC-molekulák barázdárához kötődnek. Továbbá, ugyanazon faj egyedei közötti szövet-transzplantáció során, ha a recipiens a donorétól eltérő MHC-antigént hordoz, immunválasz indulhat be, amelynek eredményeként a graft kilökődik. Részletesen az egér H-2 hisztokompatibilitási rendszerébe és az ember HLA hisztokompatibilitási rendszerébe tartozó hisztokompatibilitási antigéneket tanulmányozták.

hisztokompatibilitási gén Hisztokompatibilitási antigént kódoló gén.

hisztokompatibilitási lokusz Genetikai lokusz azon a kromoszómán, amelyen a hisztokompatibilitási antigéneket meghatározó gének találhatók. Lásd HLA és H-2 hisztokompatibilitási rendszer.

HIV (humán immundeficiencia-vírus) A lentivírusok családjába tartozó retrovírus. A HIV a helper T-lymphocytákon és monocytákon levő CD4-molekulákhoz kötődik. A kötődés lehetővé teszi a vírus számára a CD4+ sejtbe való belépést, és idővel a sejt pusztulását okozhatja, miáltal a CD4+ sejtek száma progresszíven csökken. A CD4+ sejtek hiánya az AIDS tüneteinek kialakulásához vezet. Két, rokon vírust különböztetünk meg, HIV-1-et és HIV-2-t, de valószínűleg több is van. A HIV-1 a gyakori forma Európában és Amerikában, a HIV-2 pedig Nyugat-Afrikában.

Immunchekpointgátlók és autoimmun-reumatológiai mellékhatásai

SZEKANECZ ZOLTÁN¹, SZEKANECZ ÉVA²

¹ Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Reumatológiai Tanszék, Debrecen

² Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Onkológiai Klinika, Debrecen

Az immunchekpointok (immunellenőrző pontok) a daganatellenes immunválasz sarokkövei. Az élettani immunválaszban is szerepet játszó koinhibíciós molekulák, így a citotoxikus T-lymphocytá antigén 4 (CTLA4) és a programmed death 1 (PD-1), valamint ligandjaik (B7, illetve PD-L1 és PD-L2), gátolják a T-sejtek aktivációját, ami hátrányos a daganatellenes immunvédekezésben. Az immunchekpointgátlók (ICI), elsősorban a CTLA4-, PD-1- és PD-L1-gátlók fejlesztése forradalmasította a daganatok immunterápiáját. Ezekkel a gyógyszerekkel egyes, még a legnehezebben uralható rosszindulatú betegségek is hosszú remisszióban tarthatók. Szinte természetes, hogy az ICI magában hordozza, hogy a tumorelles immunválasz erősödése mellett egyes autoimmun mellékhatások (immune-related adverse events; IRAE) is gyakoribbá válnak. A reumatológiai jellegű IRAE-k sok tekintetben eltérnek a megfelelő klasszikus kórképektől. Leggyakrabban arthritisek, polymyalgia rheumatica, sicca szindróma, myositisek, vasculitisek jelentkeznek. Ebben az összefoglalóban áttekintjük az immunchekpointgátlás alapjait, a főbb ICI-eket, azok autoimmun-reumatológiai mellékhatásait, és – számos nemzetközi ajánlás alapján – a kezelési és gondozási stratégiát.

Kulcsszavak: daganatok immunterápiája, immunchekpoint, immunchekpoint-inhibitorok, immunológiai mellékhatások

IMMUNE-CHECKPOINT INHIBITORS AND THEIR AUTOIMMUNE-RHEUMATIC COMPLICATIONS

Immune checkpoints exert the cornerstone of immune responses against cancer. Coinhibitory molecules, also involved in the physiological immune responses, such as cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 (CTLA4) and programmed death 1 (PD-1) and their ligands (B7 and PD-L1 and PD-L2), inhibit T cell activation, which is detrimental to antitumor immune defence. The development of immune checkpoint inhibitors (ICI), particularly CTLA4, PD-1 and PD-L1 inhibitors, has revolutionized tumour immunotherapy. By using these drugs, even the most complicated malignancies can be kept in long remission. Based on the mode of action of ICIs, it is almost evident that ICIs would increase the frequency of certain autoimmune-related adverse events (IRAEs), along with the anti-tumour immune response. Such IRAEs differ in many respects from the corresponding classical rheumatic disease. Arthritis, polymyalgia rheumatica, sicca syndrome, myositis, vasculitis are most common. In this summary, we review the basics of immune checkpoint inhibition, the major ICIs, their autoimmune rheumatic side effects, and, according to numerous international recommendations, the treatment and follow-up of patients with IRAE.

Keywords: cancer immunotherapy, immune checkpoint, immune checkpoint inhibitors, immunological side effects

Bevezetés

Az orvostudomány és az orvoslás egyre inkább multidiszciplináris. Az onkológusok és reumatológusok együttműködésének (onkoreumatológia, immunonkológia) egyik legjobb példája a daganatos betegek immunterápiája. Ennek kapcsán ugyanis, mint látni fogjuk, autoimmun mellékhatások jelentkeznek. Utóbbi jelenségek felismerésében és kezelésében mind az onkológusnak, mind a reumatológusnak részt kell vennie, és ebben, mint később tárgyaljuk, nem minden esetben értenek egyet.

Az alábbi összefoglalóban, elsősorban az elmúlt 5-6 év irodalmi adataira hagyatkozva, áttekintjük az immunchekpointokat (immunellenőrző pontok, IC) és azok gátlóit (immunchekpoint-inhibitorok, ICI). Az IC-kről, az ICI-kről és mellékhatásairól a közelmúltban az Immunológiai Szemle hasábjain [1-6] és más folyóiratokban [7-19] számos magyar összefoglaló is megjelent. Ezt követően összefoglaljuk az ICI-kezelés során jelentkező főbb autoimmun mellékhatásokat (immune-related adverse events, IRAE). Utóbbiak közül elsősorban a reumatológusokat érintő komplikációkat (pl. arthralgia, arthritis, myositis, Raynaud-szindróma stb.) tárgyaljuk

részletesebben. Az egyéb (endokrin, neurológiai, légzőszervi, gastrointestinalis) mellékhatásokat csak röviden említjük. Az IRAE-k kapcsán kitérünk a valószínűsíthető sejtes és molekuláris immunológiai mechanizmusokra, a preklinikai, állatmodellekben nyert eredményekre, az emberi kórállapotok klinikumára és a terápiás vonatkozásokra. Az egész téma kiemelt fontosságát az adja, hogy 2018-ban az orvosi Nobel-díjat a citotoxikus T-lymphocytá antigén 4 (CTLA4) és a programmed death 1 (PD-1) mediált IC útvonalak feltérképezéséért James P. Allison és Tasuku Honjo nyerték el [20].

Magukról az IC-kről három éve közzétettünk összefoglalót az Immunológiai Szemle hasábjain [1]. Azóta több új gátlószert törzskönyveztek, újabb ismeretek láttak napvilágot a hatásmechanizmusokról, klinikai hatékonyságról és mellékhatásokról, köztük az IRAE-kről. Ebben az összefoglalóban az elmúlt évek újabb információit is közöljük.

Alapismeretek az immuncheckpointokról

Az immunellenőrző pontok (immuncheckpointok) az immunrendszer aktivációjának szabályozói. A tumorellenes immunitás kezdeti lépése az, amikor az antigénprezentáló sejtek (APC; pl. dendritikus sejtek, DC; makrofágok) a (tumor)antigént bemutatják a T-sejtnek. Ezt követően a T-sejt felismeri és – optimális esetben – elpusztítja a daganatsejtet [1, 21]. Ismeretes, hogy az antigénfelismerés során a leírt elsődleges felismerési mechanizmus mellett egy második, ún. kostimulációs szignál is szükséges az aktivációs folyamathoz. Amennyiben az APC B7-1 (CD80) antigénje a T-sejt CD28 molekulájához kötődik, pozitív szignál (kostimuláció) jön létre és a T-sejt aktiválódik. Ha azonban az APC-n levő B7-2 (CD86) molekula a T-sejt CTLA4 molekulájával vagy az APC PD-L1 vagy PD-L2 molekulája a T-sejt PD-1 receptorával kapcsolódik, negatív, gátló szignál (koinhibíció) jön létre, és T-sejt-anergia alakul ki (1. ábra). E koinhibíció miatt a T-sejt nem képes tovább kontrollálni a tumorprogressziót [1, 21, 22]. A CTLA4 molekula fokozott expressziót mutat az immungátló regulatorikus T- T_{REG} -sejteken és a T_{REG} -sejteken keresztül is kifejti koinhibitor hatását. A CTLA4 nagyon hasonló a CD28-hoz, és nagyobb affinitással kötődik a CD80/CD86 molekulához, mint a CD28. A CTLA4 kötődése a CD80/86-hoz gátolja a T-sejt-mediált tumorellenes választ főleg az IL-2-termelés és az IL-2-receptor-expresszió gátlása révén [22]. A PD-1 a perifériás tolerancia fenntartását végzi azáltal, hogy a PD-L1 vagy PD-L2 ligandhoz kötődik. A PD-L1 a nyugvó B-sejteken, T-sejteken, dendritikus sejteken és makrofágokon expresszálódik. A PD-L2 nyugalomban alacsony expressziót mutat e sejteken, de citokinek hatására kifejeződése nő [22].

A tumor elleni sikeres védekezés érdekében tehát ezeket a koinhibíciós mechanizmusokat kell gátolnunk („a gátlás gátlása”), amely révén a T-sejt-felismerés felszabadul a gátlás alól és a tumorellenes immunitás helyreáll (2. ábra) [1, 21]. A koinhibíciót gátló, ezáltal a tumor elleni védekezést javító CTLA4, PD-1 vagy PD-L1 elleni monoklonális antitestek

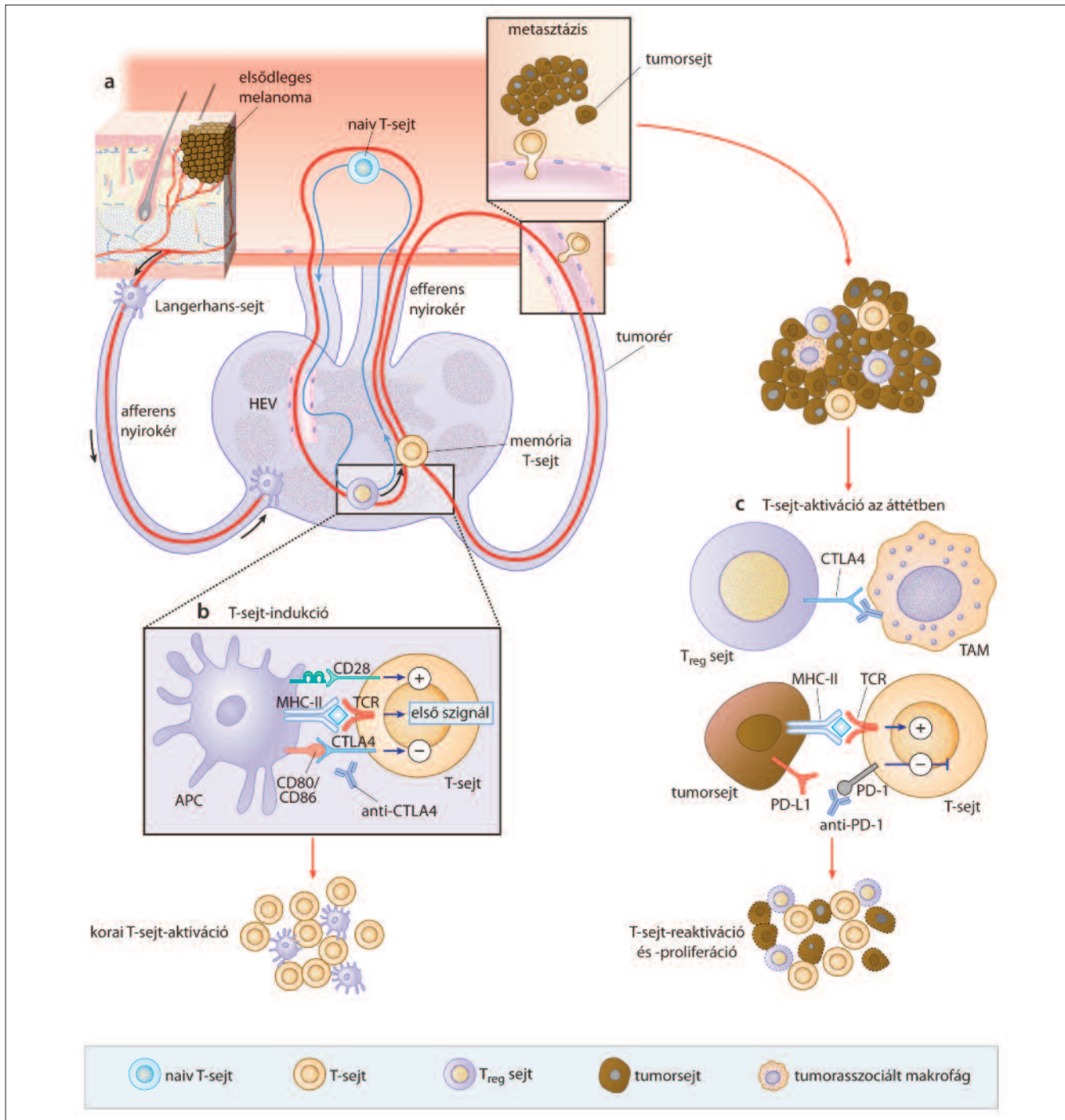
ket hívjuk ICI-knek (1. ábra) [1, 7]. Meg kell említeni, hogy a CTLA4-B7 és PD-1-PD-L1/L2 rendszer mellett újabb kostimulációs (pl. CD40-CD40L, OX40-OX40L, CD137-CD137L) és koinhibíciós (pl. TIM-3, LAG-3, TIGIT, BTLA, VISTA) molekulákat is azonosítottak, melyeket „Z generációnak” hívnak. E mechanizmusok megismerésén alapulva szintén fejlesztenek ICI-ket (3. ábra) [1, 23].

Az immuncheckpoint-stimuláció intracelluláris következményei

Ami a sejten belüli molekuláris mechanizmusokat illeti, az ICI-k számos intracelluláris szignálút vonalat befolyásolnak (4. ábra). A PD-1- és PD-L1-stimuláció keresztthatással bír a B7-CD28 kostimulációra, azt egyidejűleg gátolja. Ugyanígy, az elsődleges TCR-MHC kölcsönhatásból eredő Zap70-foszforilációt és a következményes T-sejt-aktivációs folyamatokat gátolja. A Bcl-xL és Ras gátlása révén csökken a sejtek túlélése és fokozódik a sejtapoptosis. A B7-CD28 kostimuláció aktiválja a PIP3/Akt komplexet. A PD-1 működése gátolja ezt a folyamatot is, és ezen keresztül serkenti a regulátor T-sejtek (T_{REG}) működését. A PIP3/Akt komplex serkenteni az mTOR-t is, amely a PD-1-aktiváció révén gátlás alá kerül. Következésképpen visszaszorul a T-sejtek növekedése és fehérjeszintézise is. Az Akt ugyancsak gátolja a FoxO1-t, így a PD-1 ezt felszabadítja. A folyamatos FoxO1-aktiváció a sejten tovább fokozza a PD-1-expressziót, circulus vitiosus jön létre, a sejtet „túlhajtja”, és ún. „kimerült” (exhausted) fenotípus jön létre. Emiatt a T-sejt „befagy” és az élettani működésre képtelen lesz. Mindamellet a PD-1 anyagcsere-változásokat is indukál: gátolja a normál glikolízist és serkenti a zsírsav-oxidációt (4. ábra). Mindezek következtében a T-sejtek diszfunkciója következik be, a T_{REG} -ellenreguláció erősödik, a sejtek „kimerülnek” és elpusztulnak. Emiatt a T-sejtes immunválasz károsodik, a daganatprogresszió fokozódik [1, 21, 24].

Immuncheckpointgátlók

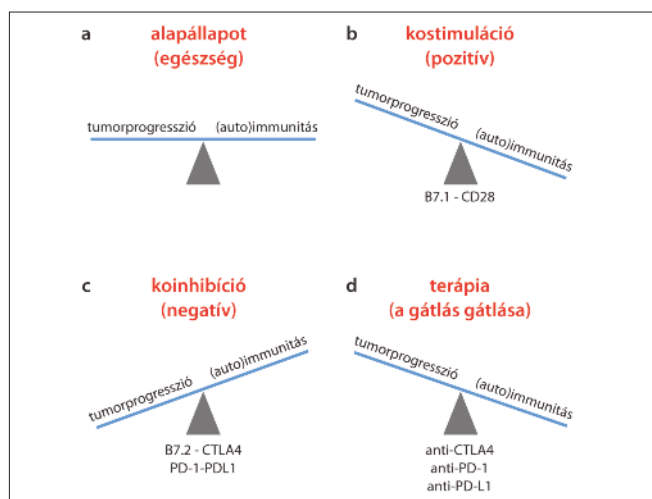
Az ICI-terápia mint daganat-immunterápia térhódítása fontos mérföldköve a daganatterápiának. A jelenleg Európában és/vagy az Egyesült Államokban törzskönyvezett ICI-k közé tartozik a CTLA4-gátló ipilimumab, a PD-1-gátló nivolumab, pembrolizumab és cemiplimab, valamint a PD-L1-gátló atezolizumab, avelumab és durvalumab (1. táblázat) [1, 7, 19, 21, 25, 26]. E gyógyszerek és más daganatellenes szerekek történő kombinációik indikációi közül kiemelendők a metasztatikus melanoma és a nem kisesejtes tüdőrákok (NSCLC), de fejnyaki laphámrákok, hepatocellularis, bőr-, urothelialis-, vese-, gyomor-, húgyhólyag-, colorectalis, emlő-, méhnyak-, Merkel-sejtes rák, illetve Hodgkin-kór kezelésében is egyre szélesebb körben alkalmazzuk őket, ma már hazánkban is [1, 2, 8–10, 12, 14–17, 19, 21, 27–30].



1. ábra

Az immuncheckpointok részvétele és az ICI-k mellékhatásainak kialakulása a daganatellenes immunitásban a melanoma példáján

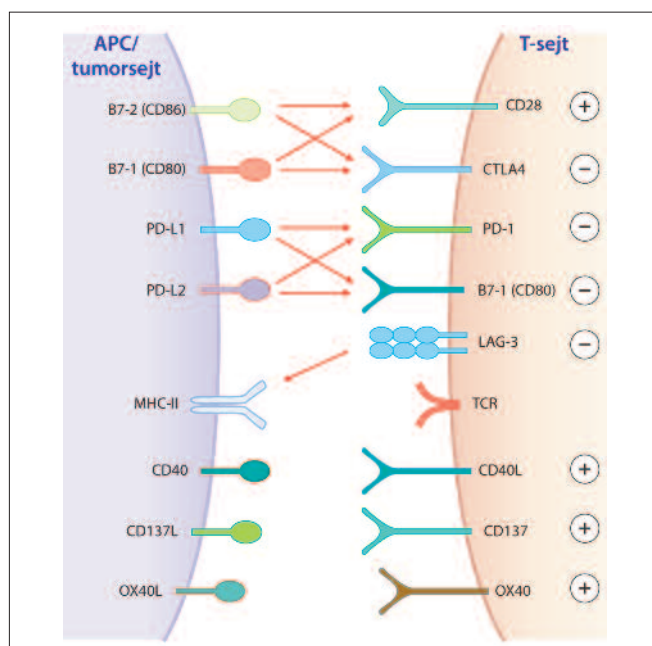
(A) A citotoxikus T-sejt-asszociált antigén 4 (CTLA4) és a programmed death 1 (PD-1) különböző szinten szabályozzák a T-sejtes immunválaszt. A naiv T-sejtek indukcióját az antigénprezentáló sejtek (APC) végzik. Ezek a sejtek gyűjtik össze a tumorasszociált antigéneket (TAA) a primer tumorból (melanoma) és az afferens nyirokereken keresztül a nyirokcsomókba vándorolnak. Itt az APC-k bemutatják a TAA-kat a naiv T-sejteknek, ezáltal utóbbiakat indukálják, éréstüket stimulálják, és ez beindítja a specifikus immunválaszt. A naiv T-sejtek állandóan recirkulálnak a vér és a nyirokszövetek között. Az érpályából a magas endothelű venulákon (HEV) keresztül lépnek ki a szövetek T-sejt-dependens területére, ahol az APC-k az antigént prezentálják. (B) Ahhoz, hogy a naiv T-sejtből memória T-sejt legyen, két szignál szükséges. Az első szignál az antigénfelismerés T-sejt receptor (TCR) révén, a második szignál a kostimuláció. (C) Metasztatikus melanomában a PD-1 kötődik a PD-1-ligandhoz (PD-L1) vagy PD-L2-höz, ami koinhibíciós szignált közvetít. Ez gátolja a T-sejt-aktivációt. A CTLA4 szintén gátolja a T-sejtek aktiválódását és serkenti a regulátor T-sejtek (T_{REG}) immunszuppresszív aktivitását. Ezek a sejtek fokozottan expresszálják a CTLA4-et. Immuncheckpointgátló (ICI) antitestekkel ezt a gátlást fel lehet oldani. Az anti-CTLA4 antitest fenntartja a T-sejt-aktivációt a T_{REG}-sejtek gátlása miatt. Ennek során az anti-CTLA4 antitestek mind a T_{REG}-sejtekhez, mind a CD16⁺ tumorasszociált makrofágok (TAM) FcγRIIIA molekulájához kötődnek. Az anti-PD-1 antitestek serkentik a T-sejt-reaktivációt, miután kivédik a PD-1-ligandhoz való kötődését a tumorok területén ([52] alapján)



2. ábra

Az immuncheckpoint működése és gátlása

(A) Alapállapotban a kostimulációs és koinhibíciós folyamatok egyensúlya áll fenn, sem daganatképződés/progresszió, sem autoimmunitás nincs. (B) A pozitív kostimulációs szignál hatására az immunrendszer aktiválódik, amely kedvez a tumorelles (és auto-)immunitásnak, és a tumorprogresszió ellen hat. (C) A negatív koinhibíciós szignál hatására az immunválasz gátlása és a tumor progressziója következhet be. (D) A koinhibíció gátlása („gátlás gátlása”) antitestek vagy szolubilis koinhibíciós molekulákkal a terápiában felhasználható tumorelles hatású, viszont az autoimmun jelenségek megszorodhatnak



3. ábra

A immuncheckpointok a CTLA4 és a PD-1 rendszereken túl: a Z generáció

A serkentő (kostimulációs), illetve gátló (koinhibíciós) molekulapárokat a megfelelő „KRESZ-táblákkal” szemléltetjük. Az immuncheckpoint-gátlás szempontjából alapvető folyamat a T-sejtek stimulációja („priming”), amikor APC-T-sejt kapcsolódás jön létre. Az ábra ugyancsak szemlélteti az ezt követő T-sejt-tumorsejt kapcsolatokat is. Az antigénfelismeréshez szükséges TCR-MHC kapcsolódás mellett nélkülözhetetlen egy második, kostimulációs kapcsolat jelenléte is. E pozitív szignálok mellett léteznek negatív (koinhibíciós) szignált közvetítő molekulapárok is

1. táblázat. Törzskönyvezett immuncheckpointgátlók (FDA, EMA, 2020) [1, 7, 25]

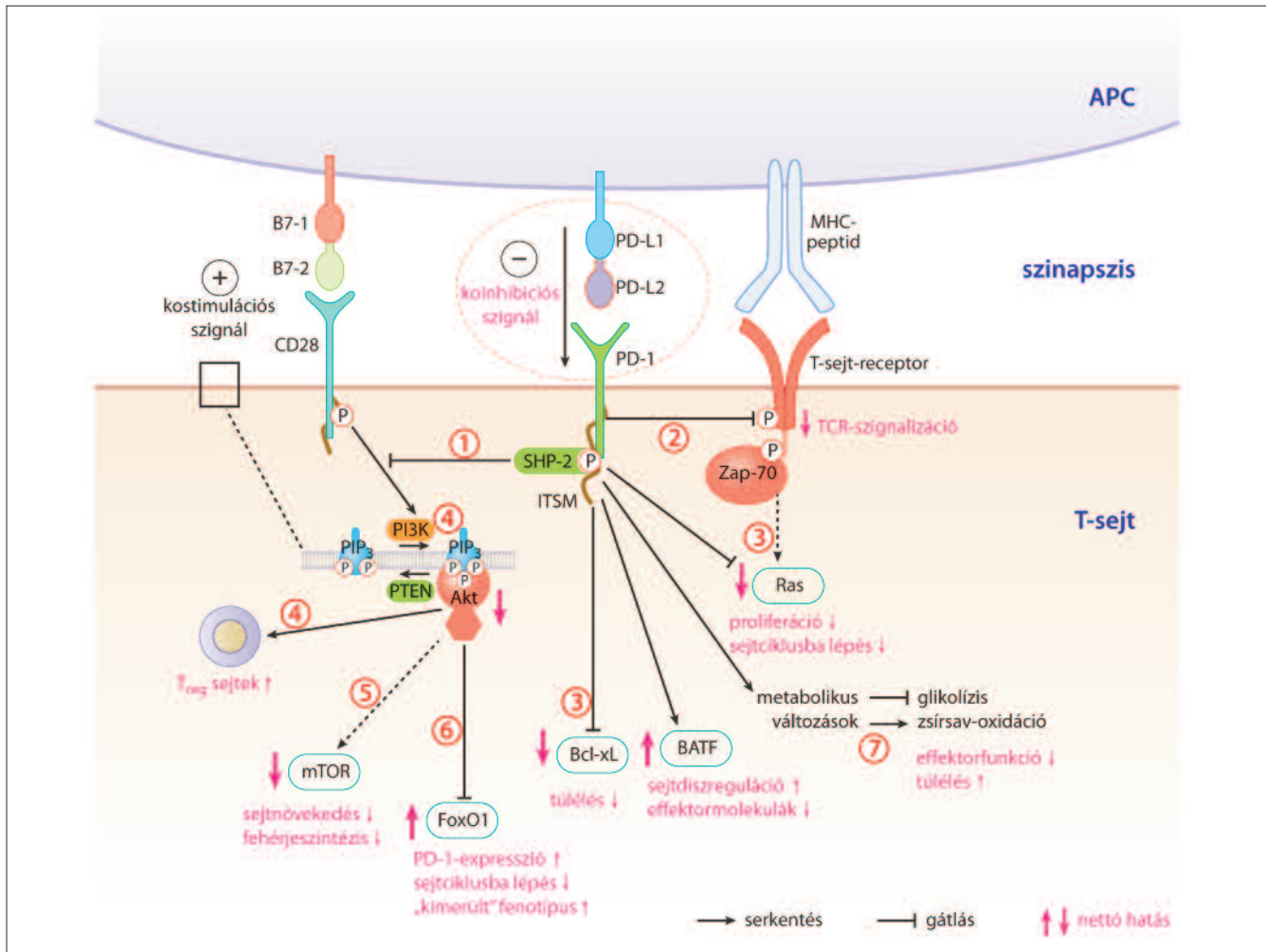
Molekula	Célpont	Indikáció*
Ipilimumab	CTLA4	Melanoma Veserák Colorectalis rák
Nivolumab	PD-1	Melanoma Nem kisgyes tüdőrák Kisgyes tüdőrák Veserák Hodgkin-kór Hepatocellularis rák Fej-nyaki laphámrák Urothelialis rák Colorectalis rák
Pembrolizumab	PD-1	Melanoma Nem kisgyes tüdőrák Hodgkin-kór Fej-nyaki laphámrák Urothelialis rák Gyomorrák Hepatocellularis rák Merkel-sejtes rák Colorectalis rák Méhnyakrák
Cemiplimab	PD-1	Bőr laphámrák
Atezolizumab	PD-L1	Nem kisgyes hörgőrák Urothelialis rák Emlőrák
Avelumab	PD-L1	Merkel-sejtes rák Urothelialis rák
Durvalumab	PD-L1	Urothelialis rák Nem kisgyes tüdőrák

*Minden daganattípus esetében egyéb feltételek is szerepelnek (például előrehaladott, metasztatikus, genetikai eltérés stb.)

CTLA4: citotoxikus T-lymphocita antigén 4; EMA: Európai Gyógyszerügynökség; FDA: Amerikai Élelmezési és Gyógyszerügynökség; PD: programmed death; PD-L: PD-ligand

Az immuncheckpointgátlás előnyös és hátrányos immunológiai következményei

Az IC-k T-sejtekre, illetve az intracelluláris folyamatokra gyakorolt hatásai végső soron a T-sejtek kimerüléséhez és a tumorelles védekezés károsodásához vezetnek [1, 21]. Nyilvánvalóan az ICI-k hatására ezek a folyamatok ellenkezőjére fordulnak: stimulálódik az mTOR (sejtnövekedés és fehérjeszintézis), a Bcl-xL (sejttúlélés) és a Ras (sejtproliferáció) szignálátvitel is. Az ICI-k hatására emellett anyagcsere-változások (a glikolízis visszaállítása, a zsírsav-oxidáció gátlása) is



4. ábra

A PD-1-PD-L1/L2 kapcsolódást követő intracelluláris szignalizációs mechanizmusok a T-sejtben

A PD-1-stimuláció (1) az SHP-2 foszforilációja révén gátolja a B7-CD28 kostimulációt; (2) az elsődleges TCR-MHC kölcsönhatásból eredő Zap70-foszforilációt és a következményes T-sejt-aktivációs folyamatokat gátolja; (3) a Bcl-xL és Ras gátlása révén gátolja a sejtek túlélését és fokozza az apoptosist; (4) a B7-CD28 kostimuláció aktiválja a PIP₃/Akt komplexet. A PD-1 működése gátolja ezt a folyamatot is, és ezen keresztül serkenti a regulátor T-sejtek (T_{REG}) működését; (5) a PIP₃/Akt komplex serkentené az mTOR-t is, a PD-1 révén ez gátlódik, és ezáltal a sejtek növekedése és fehérjeszintézise is; (6) az Akt ugyancsak gátolja a FoxO1-et, így a PD-1 ezt felszabadítja. A folyamatos FoxO1-aktiváció a sejten tovább fokozza a PD-1-expressziót, circulus vitiosus jön létre, a sejtet „túlhajtja”, és ún. „kimerült” (exhausted) fenotípus jön létre; (7) a PD-1 anyagcsere-változásokat is indukál: gátolja a normál glikolízist és serkenti a zsírsav-oxidációt. A PD-1 vagy PD-L1 gátlása (ICI) mindezen folyamatokat ellenkező előjellel változtatja meg ([21] nyomán)

bekövetkeznek (4. ábra). Az ICI-k tehát az ellenőrzőpontok gátlása révén stimulálják a tumorellenes immunválaszban részt vevő T-sejtek növekedését, proliferációját, túlélését. Ennek következtében tehát az ICI-k serkentik a tumorellenes immunválaszt, de, mint látni fogjuk, egyúttal az autoimmun folyamatokat is (4. ábra) [1, 21, 22].

Azok az immunológiai hatások, amelyek kedvezően befolyásolják a daganatellenes immunitást, egyúttal stimulálják az autoimmunitást, és megnövelik az autoimmun mellékhatások esélyét (2. ábra) [1, 7, 22]. E tekintetben alapvető a T_H17/T_{REG} egyensúly felborulása. Láttuk, hogy a CTLA4 fokozza a T_{REG}-mediált immungátlást. Nyilvánvaló, hogy az anti-CTLA4 eliminálja a tumor környezetéből a T_{REG}-sejteket [22].

A PD-1 és PD-L1 fokozott expressziója a T_{REG}, míg a PD-1-deficiencia vagy -gátlás a T_H17 irányú differenciálódásnak kedvez. Az előbbi folyamat az autoimmunitás ellen, az utóbbi az autoimmun folyamatok felerősödése irányában hat. Az egyéb immunpatogenetikai tényezők között megemlítendő, hogy az ICI-k fokozhatják egyes autoantitestek, továbbá proinflammatorikus citokinek (TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6, IL-15, IL-17, IL-21) termelődését. Az interferon- (IFN-) szignatúra aktiválódását, elsősorban az IFN- β -termelődés fokozódását is kimutatták. A komplementrendszer szerepére utal, hogy a szöveti CTLA4 antigénhez kötődő anti-CTLA4 antitest serkenti a komplementaktivációt [1, 21, 22, 24, 25, 31-33]. Összességében négy fő immunológiai mechanizmus állhat az IRAE-k hátterében: a

daganatokban és az egészséges szövetekben jelen lévő antigének elleni fokozott T-sejtes válasz, a már eleve is kismértékben termelődő autoantitestek szintjének emelkedése, a proinflammatorikus citokinek és más mediátorok termelése és a kompetensrendszer aktivációja (összefoglalók: [22, 25]).

Természetesen a daganat visszahat a PD-1-expresszióra és a tumorelles védekezésre. Például a daganatok által termelt, a tumorangiogenesisben kiemelt szerepet játszó vasculáris endothelialis növekedési faktor (VEGF) egyik hatása a T-sejt-felszíni PD-1-expresszió és ezáltal a koinhibíció fokozása. A tumor-mikrokörnyezet gyulladásos sejtjei által termelt IL-6 és IL-12 a STAT3 és STAT4 fehérjék révén a PD-1 génjének distális szabályozó elemeit aktiválják. Az egyéb szabályozó molekulák közül az NFATc1 serkenti, a Blimp-1 és a T_H1-sejtek markereként ismert T-bet pedig gátolja a PD-1 gén átíródását. Hasonlóan a γ -láncú citokinek (IL-2, IL-15, IL-21) és az IFN- β mellett a granulocita-makrofág kolóniastimuláló faktor (GM-CSF) és IFN- γ is serkenti a PD-L1-szintézist. Fontos továbbá, hogy a daganatképződéssel együtt járó egyéb faktorok (pl. hypoxia és hypoxiaindukált faktor, HIF; EGFR) is fokozzák a VEGF és a PD-L1 expresszióját [1, 21, 22].

Az egyéb tényezők közül felmerült a genetikai faktorok szerepe is. Nem egyértelmű ugyanis, hogy egyes betegeken miért, mások kezelése során pedig miért nem alakulnak ki súlyos adverz események. Legújabbban az RA kialakulásában is szerepet játszó HLA-DRB1 („shared epitóp”) genetikai szerepét igazolták az ICI-kiváltott arthritiszben is [34]. Ezzel szemben egy melanomás kohorszban nem sikerült specifikus genotípussal (HLA-státusz) összefüggést kimutatni [25].

Felvetődött még mikrobiológiai faktorok (például bizonyos baktériumtörzsek, gastrointestinalis flóra, mikrobiom) szerepe is. Két retrospektív vizsgálat alapján úgy tűnik, hogy egyes diétás manipulációkkal megváltoztatva a bélflórát (például probiotikumok adása), az immunmediált colitis incidenciája csökkenthető, ám ennek bizonyítására még további vizsgálatok szükségesek [25].

IRAE: az immunchekpointgátlók autoimmun mellékhatásai

Megfigyelések preklinikai állatmodellekben

Előzőleg levezettük azokat az ICI-k által kifejtett immunológiai változásokat, amelyek az egyensúlyt megbontva autoimmun jelenségek, gyógyszer mellékhatások (IRAE) kialakulásához vezetnek (2. ábra) [7, 13, 21, 35]. Különböző autoimmun állatmodellekben a PD1 gén hiánya vagy a PD-1 és PD-L1 gátlása fokozta különböző típusú arthritisek, az SLE, autoimmun encephalomyelitis (a sclerosis multiplex állatmodellje), cardiomyopathia és diabetes kialakulását [31–33]. Mindezek hátterében T-sejt-aktivációt, valamint fokozott IL-17- és IFN- γ -termelést találtak [31].

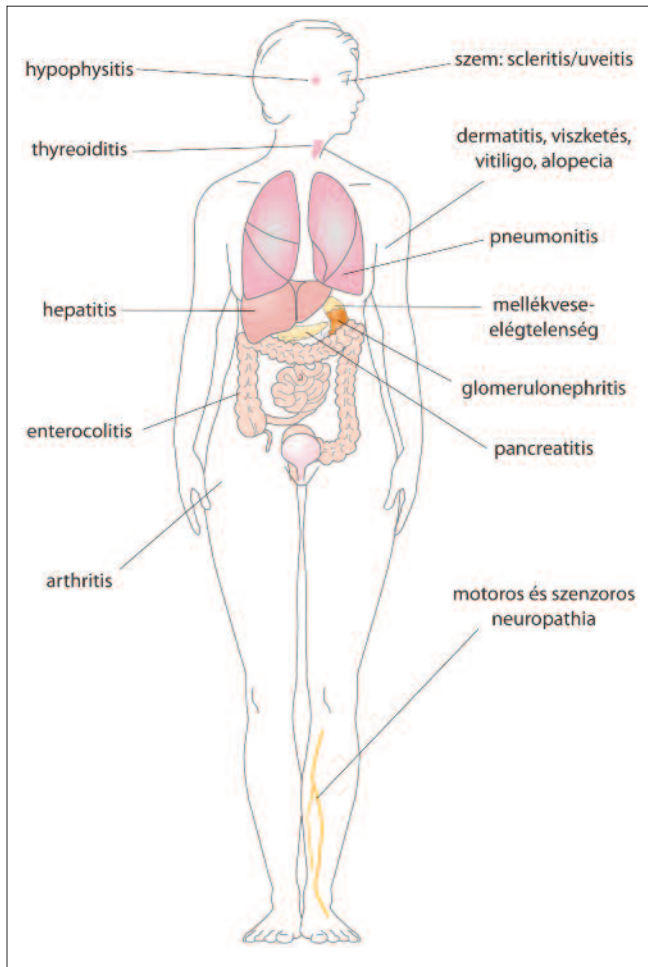
Humán ex vivo vizsgálatok

Rheumatoid arthritiszben (RA) a synovialis membránban és a synovialis folyadékban fokozott PD-1- és PD-L1-expresszió mutatható ki az egészségesekhez képest. Ezek a koinhibíciós molekulák a CD3⁺ T-sejteken, a CD19⁺ B-sejteken és a CD163⁺ makrofágokon mutathatók ki. A PD-1/PD-L1 koinhibíciós szerepére utal, hogy a PD-1 útvonalat serkentő PD-L1.Fc fúziós fehérjével gátolni lehet a T-sejtek IFN- γ -termelését [32]. Az RA mellett arthritisz psoriaticában (PsA) is a PD-1 és PD-L1 fokozott expressziója mutatható ki az egészségesekhez képest [32, 36]. Szisztémás lupus erythematosusban (SLE) a PD-1⁺, CD4⁺ T-sejtek aránya megnövekedett a kontrollokhoz viszonyítva. E sejtek nagy mennyiségben termelnek az SLE patogenezisében szerepet játszó IFN- γ -t [37]. Zhang és mtsai [38] óriássejtes arteritisben (GCA) a PD-1/PD-L1 mechanizmus defektusát észlelték. Az ilyen betegeken a dendritikus sejteken csökkent PD-L1-expressziót mutattak ki ex vivo. Az IC-deficientia korrelált a betegség aktivitásával és számos proinflammatorikus T-sejt-citokin (IL-17, IL-21, IFN- γ) fokozott termelését vonta maga után [38]. Ezek az eredmények csak látszólag ellentmondóak. Az autoimmun betegség (pl. GCA) kialakulásában az ICI-deficientia állhat, ami a koinhibíció elmaradását és gyulladásos válasz indukcióját eredményezi [38]. A már kialakult reumatológiai kórképekben viszont fokozott PD-1- és PD-L1-termelés van, ami arra utal, hogy a gyulladás miatt feedback formájában beindulnak a koinhibíciós ellenreguláló mechanizmusok. Ugyancsak valószínű, hogy T-sejt-anergia alakul ki a koinhibícióval szemben, így a megnövekedett PD-1/PD-L1 expresszió ellenére az autoimmunitás kialakul [31, 39, 40].

Az autoimmun mellékhatások klinikuma

Az ICI-k mellékhatásprofilja teljesen eltér az eddig megszokott, „klasszikus” kemoterápiák és célzott kezelések okozta jelenségektől (5. ábra, 2. és 3. táblázat). Mivel az ICI-k célpontja nem a daganatsejt maga, hanem a gazdaszervezet immunrendszere, az egyre gyakrabban felismert autoimmun mellékhatások a védekezőrendszer aktiválódása következtében jönnek létre (összefoglalók: [7, 13, 35, 41–45]).

Ami a klinikumot illeti, az ICI mellékhatásainak előfordulása sokkal ritkább, mint a hagyományos citotoxikus kezeléseké (2. és 3. táblázat). Jellegzetes, hogy viszonylag hamar, a kezelés indítása utáni első hetekben, vagy inkább annak első 3 hónapjában kezdődnek, azután már csak jóval ritkábban jelennek meg [2, 46]. A különböző autoimmun mellékhatásokat az 5. ábra, valamint a 2. és 3. táblázat foglalja össze [7, 13, 22, 47]. Mind szerv- vagy szövetspecifikus, limitált autoimmunitás (5. ábra), mind valódi szisztémás autoimmun kórkép vagy annak variánsa előfordulhat (2. és 3. táblázat). Az általános tünetek közül fáradtság, kimerültség a vezető panasz [25, 46]. Összességében a szövődmények csaknem va-



5. ábra

A legfőbb szervspecifikus mellékhatások immunecheckpointgátló kezelés mellett

Szinte bármely szervrendszerben autoimmun jelenségek alakulhatnak ki. A szervspecifikus eltérések mellett valódi autoimmun betegségek is megjelenhetnek ([43] nyomán)

lamennyi szervet érinthetik, beleértve a mozgásszervi (arthritis, myositis, PMR), légző- (pneumonitis), gastrointestinalis (colitis), endokrin szerveket (pajzsmirigy, hypophysis, diabetes), idegrendszert (polyneuropathia, demyelinisatio, arcideg-bénulás, myasthenia, myelitisek, aszeptikus meningitis, Guillain-Barré-szindróma), a kültakarót (pruritus, kiütések, vascu-

litis), érrendszert (vasculitis), sokkal ritkábban a szemet (uveitis, keratitis, dacryadenitis, retinopathia), vesét (nephritis) és a májat is (hepatitis) [2, 10, 22, 25, 43, 47–50].

Ami az ICI-k által okozott klasszikus autoimmun-reumatológiai kórképeket illeti, az ICI okozta kórformák nem mindenben egyeznek meg. Inkább RA-szerű, SLE-szerű betegségről kell beszélnünk. Leggyakrabban RA-szerű, PMR-szerű kórképek, myositis, sicca szindróma, jelentkeznek. Ritkább jelentések szólnak PsA, reaktív arthritis, RS3PE szindróma, tenosynovitis, enthesitis jelentkezéséről is (2. és 3. táblázat) [22, 50]. A klasszikus és az ICI által okozott kórképek összevetését a 4. táblázat mutatja [43]. A leggyakrabban jelentkező arthritis az egyes ízületeket a következő gyakorisággal érinti: váll (50%), PIP (50%), MCP (49%), térd (42%), csukló (40%), csípő (22%), MTP (18%), könyök (13%), láb kis ízületek (8%) [50].

Differenciáldiagnosztikai szempontból többen felhívják a figyelmet arra, hogy a tumoros alapbetegség miatt a betegnek paraneoplasia is lehet. Ez szintén jelentkezhet autoim-

3. táblázat. Reumatológiai betegségek előfordulási gyakorisága immunecheckpointgátló kezelés mellett [7, 47]

Gyógyszer	Autoimmun kórkép/tünet	Gyakoriság
CTLA4-gátló	Arthralgia és arthritis	5–16%
	Myalgia és myositis	2–18%
	Sicca szindróma	3–4%
	Xerophthalmia	3–4%
	Xerostomia	7%
PD-1-gátló	Arthralgia és arthritis	5–16%
	Myalgia és myositis	2–18%
	Sicca szindróma	3–11%
	Xerostomia	3–11%
Kombinált kezelés	Arthralgia és arthritis	10,5%
	Myalgia és myositis	1%
	Sicca szindróma	3–4%
	Xerostomia	3–4%

CTLA: citotoxikus T-lymphocyt antigen; PD: programmed death

2. táblázat. A leggyakoribb IRAE-k orvosi szakmák szerint [22, 50]

Reumatológia	Gastroenterológia	Endokrinológia	Bőrgyógyászat	Egyéb
Arthralgia, arthritis Sicca szindróma Polymyalgia rheumatica Myalgia, myositis Uveitis	Colitis Hepatitis Pancreatitis	Thyreoiditis Hypadrenia Hypophysitis I. típusú diabetes	Vitiligo Dermatitis Psoriasis Alopecia	Pneumonitis/ILD Nephritis

ILD: interstitialis tüdőbetegség; IRAE: immunológiai mellékhatás

4. táblázat. Az immuncheckpointgátlók okozta és a klasszikus autoimmun-reumatológiai kórképek összehasonlítása [43, 50]

ICI okozta betegség (IRAE)	Klasszikus reumatológiai kórkép	Miben hasonlít az IRAE a klasszikus kórképhez?	Miben különbözik az IRAE a klasszikus kórképtől?
Arthritis	RA	Lehet erozív A legtöbb betegben hasonló érintettség (MCP, PIP, csukló, térd)	Inak érintettsége gyakoribb Korábbi eróziók RF- és ACPA-negatív Nincs női dominancia
	SpA (SPA és PsA)	Gyulladásos gerincfájdalom, enthesitis, dactylitis Steril urethritis, conjunctivitis, oligoarthritis	Psoriasis ritka HLA-B27-negatív Korai eróziók
PMR és/vagy GCA	PMR és/vagy GCA	A GCA hisztológiai lelete hasonló a klasszikushoz Kor a klasszikushoz Kor >50 év	PMR: gyakran nincs gyorsult We, magas CRP Néhány PMR-es beteg nem reagál kortikoszteroidra
Myositis	IIM	CK 10–100 U/l között A biopsziás lelet megfelel a PM, DM leletének	Ritka a klasszikus DM-es bőrtünet Kevésbé reagál IVIG-re
Sicca szindróma	Sjögren-szindróma	A szájszárazság reagál nyáltermelést fokozó szerekre A száraz szem és száj gyakori	Az anti-SS-A és anti-SS-B gyakran negatív Parotitis ritka

ACPA: citrullinált fehérje elleni antitest; CK: kreatinínáz; CRP: C-reaktív protein; DM: dermatomyositis; GCA: óriássejtes arteritis; HLA: humán leukocitaantigén; ICI: immuncheckpoint-inhibitor; IIM: idiopathiás inflammatorikus myopathia (myositis); IRAE: immunológiai mellékhatások; MCP: metacarpophalangealis; PIP: proximalis interphalangealis; PM: polymyositis; PMR: polymyalgia rheumatica; PsA: arthritis psoriatica; RA: rheumatoid arthritis; RF: rheumatoid faktor; SpA: spondylarthritis; SPA: spondylitis ankylopoetica; SS: Sjögren-szindróma; We: vörösvérsejt-süllyedés

mun-reumatológiai kórkép formájában. Sokszor nehéz elkülöníteni az IRAE-t a paraneoplasziától [7, 48, 51].

Az IRAE-k epidemiológiája regiszteradatok, metaanalízisek és esetközlések alapján

A 3. táblázat mutatja, hogy a CTLA4- vagy PD-1-gátló monoterápia, illetve ezek kombinációja milyen gyakorisággal okoznak valódi autoimmun jelenségeket [47]. Általánosságban a CTLA4-gátlók mellett súlyosabb toxicitás figyelhető meg, de azt nem sikerült még tisztázni, hogy miért különbözik e kockázat vonatkozásában a CTLA4 és PD-1/PDL-1 gátlók szervspecifitása. Kombinált kezelés (pl. ipilimumab + nivolumab) esetén a mellékhatások összeadódnak, és sokkal súlyosabbak lehetnek [13, 25, 41, 52].

Ami a nagyobb jelentéseket illeti, időrendi sorrendben, Bertrand és mtsai [41] 2015-ben 81 közlemény metaanalízisét elvégezve 1265 klinikai vizsgálatban ICI-vel kezelt beteg adatait tekintette át. Leggyakrabban bőrtünetek (kiütés, vitiligo, pruritus) és colitis, ritkábban hepatitis, hypophysitis, thyreoiditis, sarcoidosis, uveitis, Guillain-Barré-szindróma és polymyalgia rheumatica (PMR) jelentkeztek. Az összincidenca az összes IRAE vonatkozásában 72%, a súlyos IRAE esetében 24% volt. Az IRAE-k átlagosan 10 hét után jelentkeztek.

A halálozás 0,9% volt. Az IRAE nem volt összefüggésben az alkalmazott ICI dóziséval [41]. Később 2017-ben egy kisebb francia jelentésben Belkhir és mtsai [53] hat RA és 4 PMR esetet írtak le, akik igen jól reagáltak a szokványos kortikoszteroid és bázisterápiás kezelésre. Calabrese és mtsai [54] az irodalmat áttekintve 13 autoimmun-reumatológiai jellegű IRAE esetet prezentált. A betegek döntően ipilimumabot vagy nivolumabot kaptak, öten ezek kombinációját. Az IRAE-k 7 esetben arthritis, 5 esetben sicca szindróma, 3 esetben PMR és egy esetben myositis voltak. Három esetben kétféle IRAE is kialakult. Az IRAE-k 2–52 hét után jelentkeztek. A betegek többségét kortikoszteroiddal kezelték, három beteg szorult szintetikus immunszuppresszív szerre vagy biológikumra. Összességében 6 beteg szignifikánsan, 5 beteg közepesen javult, 2 betegben minimális javulás következett be [54]. Ugyanabban az évben Kostine és mtsai [55] egyetlen francia centrum adatainak prospektív elemzését végezték el. 2015–2017 között 524 beteg kapott ICI-t és IRAE miatt 35 beteg (6,6%) került a reumatológiára. Közülük 34 beteg anti-PD-1/PDL-1 kezelést kapott. Az átlagos kezelési idő 70 nap volt. A betegek egy részében (20 beteg) gyulladásos arthropathia alakult ki, mely RA, PMR vagy PsA képét adta. A betegek másik részében nem gyulladásos reumatológiai kórkép alakult ki. Összesen 19 beteg szorult kortikoszteroid- és 2 beteg me-

thotrexatkezelésre. Egy kivétellel minden betegben folytatni tudták az ICI-kezelést [55]. Ugyancsak 2017-ben Cappelli és mtsai [56] a Johns Hopkins Egyetemen 2012–2016 között ipilimumabbal és nivolumabbal kezelt betegek közül 13 esetben tapasztalták autoimmun betegség, ezen belül RA-szerű gyulladásos arthritis és sicca szindróma kialakulását. Le Burel és mtsai [57] egy francia regiszter 447 kezelt betege közül pedig 2 Sjögren-szindrómás, egy cryoglobulinaemiás vasculitises és egy myositises esetet írtak le, 2 beteg PD-1-, 2 pedig PD-L1-gátlót kapott. Arnaud és mtsai [35] 2018-ban a WHO adatbázisban 86 IRAE esetet találtak és dolgoztak fel. A daganatot tekintve a betegek 40%-a tüdőrákos és 37%-a melanomás volt. 83%-uk PD-1-gátló monoterápiát kapott, míg 10%-uk anti-PD-1/PD-L1 és anti-CTLA4 kombinációját kapta. A leggyakoribb IRAE az RA volt (68%). Egyéb arthritis 16%-ban, SLE 15%-ban fordult elő. Az ICI kezdetéhez képest az IRAE átlagosan 3 hónappal később jelentkezett, az esetek felében az első 8 hétben [35]. Ugyancsak 2018-ban Lidar és mtsai [58] egy izraeli centrum adatait dolgozták fel. Összesen 400 kezelt betegben 14 IRAE (3,5%) alakult ki. Közülük 12 betegben melanoma, egy betegben endometrium-, míg egyben garatrák miatt történt ICI-kezelés. A betegek közül 8 pembrolizumabot, 4 nivolumabot, egy ipilimumabot, egy pedig ICI-kombinációt kapott. Összesen 11 betegben arthritis, 1-1 betegben sarcoidosis, eosinophil fascitis és dermatitis alakult ki [58]. Boland és mtsai [48] 2020-ban a vasculitiseket tekintették át. Ezek összességében ritkák, de súlyosak lehetnek. Leggyakrabban a nagyereket érintő vasculitisek (GCA) jelentkeznek, amelyek patogenezisében a PD-1 útvonal szerepet játszik [48].

A ritka, érdekesebb esetközlések közül kiemelendő a kombinált ipilimumab és nivolumab kezelés mellett jelentkező, akut rhabdomyolysist okozó polymyositis [59]. Két PMR esetet is leírtak pembrolizumab mellett. Mindkét PMR eset jól reagált kortikoszteroidra és az ICI-kezelés folytatható volt [60]. Egy esetben a gyakrabban paraneoplasziaként jelentkező RS3PE szindróma (Remitting Seronegative Symmetric Synovitis with Pitting Edema) jelentkezett melanoma nivolumabkezelése során [61]. Végül intézményünkben egy HPV-pozitív garatrákos beteg nivolumabkezeléséhez társulva Raynaud-szindróma alakult ki szeronegativitás mellett [27].

Összességében, ezek a mellékhatások egyre több checkpointgátlóval (monoterápiában vagy kombinációban) kezelt betegben kialakulnak. Ennek valószínűleg az lehet a magyarázata, hogy az egyre növekvő (kezelt) betegszám mellett egyre részletesebb, releváns adatot nyerünk [13, 25].

Fontos kérdés, hogy vannak-e különbségek az egyes ICI-k között az IRAE vonatkozásában. E tekintetben Chai és mtsai [62] 2019-ben végeztek szisztémás áttekintést és hálózati metaanalízist. Ehhez a PubMed, EMBASE, Cochrane Library és ClinicalTrials.gov adatbázisaiban a 2019. január 1-ig jelentett, II. és III. fázisú klinikai vizsgálatokból származó eseteket vették be az elemzésekbe. Összevetették az ICI-kezelést a ke-

monoterápiával és az egyes ICI-ket is egymással. Úgynevezett Bayes-i hálózati metaanalízist végeztek. Összesen 18 randomizált vizsgálat 11 223 betegének adatait elemezték. A betegeknek vagy malignus melanomája, vagy nem kissejtes tüdőrákja (NSCLC) volt. Általánosságban az atezolizumab (1200 mg dózisban) és a pembrolizumab (2 mg/kg dózisban) 3 hétenként adva jobban tolerálható volt, mint más ICI-k. Az ICI és kemoterápia kombinációja magasabb kockázatot jelentett IRAE szempontjából, mint az ICI monoterápia, kivéve az ipilimumabot és durvalumabot. Ha csak az NSCLC-t tekintjük, a pembrolizumab esetén gyakrabban fordult elő súlyosabb fokozatú IRAE, mint nivolumab adásakor. Tüdőrákban a nivolumab, atezolizumab vagy avelumab monoterápia alacsonyabb IRAE-rizikóval járt, mint akár a kemoterápia önmagában, akár az ICI + kemoterápia kombinációja. A legalacsonyabb rizikót a nivolumab jelentette. Melanomában viszont az ICI-k nem bizonyultak biztonságosabbnak és tolerálhatóbbnak a kemoterápiánál. Az ICI-k közül a pembrolizumab volt a leginkább tolerálható. A mellékhatások jellegét illetően, tüdőrákban a pneumonitis/pneumonia vonatkozásában nem volt különbség az egyes ICI-k között. Colitist leggyakrabban a nivolumab és ipilimumab kombinációja, legkevésbé az atezolizumab vagy pembrolizumab okozott [62].

Terápia

Számos, az IRAE-k kezelésére vonatkozó ajánlás látott napvilágot mind a reumatológus, mind az onkológus szemszögéből [44, 46, 63–66]. A kezelés alapelveit és az egyes mellékhatások esetében alkalmazandó gyógyszerek hatékonyságát az 5., 6. táblázat és a 6. ábra foglalják össze [7, 47, 65]. Az 5. táblázatban látható, hogy mely, a reumatológiában használt gyógyszerek hatékonyak a mellékhatások kezelésére, és a gyakorlatban melyeket milyen gyakran alkalmazzák [65]. Egy ajánlott, a 6. ábrán bemutatott terápiás séma alapján a legenyhébb tünetek esetén az immunterápia (néhány hematológiai és neurológiai eltérés kivételével) folytatható, de már enyhe toxicitás (I. fokozat) esetén is szorosan kell kontrollálni a beteget. Közepes erősségű (II. fokozat) mellékhatás esetén óvatosság szükséges az immunterápia folytatását illetően, illetve alacsony dózissal szisztémás kortikoszteroid kezelés indítása mérlegelendő. Középsúlyos nemkívánatos esemény esetén szisztémás kortikoszteroid kezelés javasolt, minimum 4–6 hétig: II. fokozatú mellékhatás esetén általában 0,5–1 mg/kg, III. fokozat esetén legalább 1–1,5 mg/kg vagy magasabb dózisban. A kortikoszteroid, az ismert módon, a dózist fokozatosan csökkentve hagyható el a tünetek megszűnése után. Az ICI-kezelés abban az esetben folytatható, ha a szövődmény megszűnik vagy I. fokozatúra mérséklődik. Ezzel szemben, III. fokozatú IRAE megszűnte után újraindított immunterápia esetén fokozott óvatosság és a beteg igen szoros követése szükséges. Súlyos, életet veszélyeztető (IV. fokozat) szövődmény esetén az immunterápia megszakítása, a

5. táblázat. Az egyes antireumatikus gyógyszerek hatékonysága és gyakorlatban való alkalmazása immuncheckpointgátló mellékhatásainak kezelésére [65]

	NSAID	Kortikoszteroid	csDMARD	bDMARD	IVIG/PEX
Arthritis					
hatékonyság	+	+++	++	+++	?
használat	+	+++	++	+	–
PMR					
hatékonyság	?	+++	?	+++	?
használat	–	+++	–	+/-	–
Myositis					
hatékonyság	?	++	++	+	++
használat	–	+++	+	+/-	++
Vasculitis					
hatékonyság	?	++	++	?	?
használat	–	+++	+	–	–
Sjögren-szindróma/sicca tünetek					
hatékonyság	?	++	?	+/-	+/-
használat	–	+++	–	+/-	+/-

A táblázat bizonyos gyógyszer csoportok hatékonyságát és azt mutatja, hogy a gyakorlatban milyen gyakran használják őket. Magyarázat: +++: a betegek >50%-ában használják / igen hatékony; ++: a betegek 10–50%-ában használják / közepesen hatékony; +: a betegek <10%-ában használják / kissé hatékony; +/-: egyes esetközlések vannak; -: nem használatos; bDMARD: biológiai terápia; csDMARD: konvencionális szintetikus (bázis)terápia (methotrexat, cyclophosphamid, azathioprin); IVIG: intravénás immunglobulin; NSAID: nem szteroid gyulladásgátló; PEX: plazmacsere; PMR: polymyalgia rheumatica

6. táblázat. Az autoimmun-reumatológiai jellegű IRAE-k kezelése [50]

Klinikum	Kezelés	ICI terápia
Arthralgia, enyhe arthritis, tendinitis, enthesitis	NSAID és/vagy intraarticularis kortikoszteroid	Folytatható
Közepes fokú arthritis/tendinitis/enthesitis; PMR	Alacsony-közepes dózisz prednisolon (10–20 mg/nap) +/- analgetikum, intraarticularis kortikoszteroid; súlyosabb esetben csDMARD	Folytatható
Súlyos arthritis/tendinitis/enthesitis; enyhe myositis; sarcoidosis; scleroderma; sicca szindróma; enyhe-középsúlyos vasculitis	Közepes-nagy dózisz prednisolon (10 mg–1 mg/kg); refrakter esetekben csDMARD, bDMARD; myositis esetén IVIG, PEX	Az onkológussal konzultálva folytatható vagy átmenetileg megszakítandó
Súlyos myositis; súlyos vasculitis	Nagy dózisz prednisolon (1–2 mg/kg iv.); bDMARD; myositis esetén IVIG, PEX	Végleg leállítandó

bDMARD: biológiai betegségmódosító terápia; csDMARD: konvencionális szintetikus DMARD; IRAE: immunológiai mellékhatás; ICI: immuncheckpoint-inhibitor; IVIG: intravénás immunglobulin; NSAID: nem szteroid gyulladásgátló; PEX: plazmacsere; PMR: polymyalgia rheumatica

beteg megfelelő intézményben történő hospitalizációja és nagy dózisz szisztémás kortikoszteroid adása szükséges. Ha kétnapos kortikoszteroid (és szükség esetén antibiotikus) kezelés ellenére sincs javulás, a terápiát más immunszupp-

resszív szerrel szükséges kiegészíteni: leggyakrabban anti-TNF, esetleg más támadáspontú biológiai terápia, humán intravénás immunglobulin (hIVIG), mycophenolat mofetil, illetve cyclophosphamid adására kényszerülünk. A szövődménye-

súlyossági fokozat	kezelés	követés, monitorzás
I. fokozat	• az ICI terápia folytatása • tüneti kezelés	• gyakori monitorozás • súlyosbodás esetén: a II. vagy III-IV. fokozat szerint
II. fokozat	• az ICI terápia halasztása • tüneti kezelés	• az ICI folytatása, ha IRAE enyhül (I. fokozat) • kortikoszteroid 0,5-1 mg/nap, ha az IRAE 5-7 napon túl perzisztál • súlyosbodás esetén: a III-IV. fokozat szerint
III-IV. fokozat	• az ICI terápia felfüggesztése (kivéve bőr és endokrin IRAE) • kortikoszteroid 1-2 mg/nap • kórházi kezelés	• a kortikoszteroid folytatása, amíg az I. fokozatig enyhül • kortikoszteroid leépítése lassan, legalább egy hónap alatt • romlás esetén egyéb immunszuppresszió

6. ábra

Immuncheckpointgátló (ICI) okozta autoimmun mellékhatások (IRAE) kezelésére javasolt algoritmus
Ez mind a CTLA4-, mind az PD-1- vagy PD-L1-gátlók mellett javasolt ([52] nyomán)

ket rendszeresen ellenőrizni kell, követve a súlyosság változását. Ha egyéb oki tényező kizárható és a beteg állapota nem javul a fenti kezelés ellenére sem, az ICI-terápiát véglegesen fel kell függeszteni (6. ábra) [2, 44, 47, 52, 60, 67, 68]. A 6. táblázat a reumatológiai jellegű IRAE-k kezelésére ad iránymutatást [50].

A súlyosabb IRAE kezelésére a legtöbb ajánlás a biológikumok közül először a TNF-gátlókat (pl. infliximab) ajánlja [2, 44, 47, 52, 60, 67, 68]. Újabban jelentek meg tanulmányok az IL-6-receptor-gátló tocilizumabbal kapcsolatban [68]. Kim és mtsai [68] három súlyosabb ICI okozta arthritis esetét közölte, amelyek jól reagáltak tocilizumabra.

Az immuncheckpointgátlókkal kezelt betegek gondozása

Az ICI-kezelés előtt, illetve a kezelés alatt rendszeresen dokumentálni és ellenőrizni kell a beteg tüneteit [44, 46, 63, 65]. A szükséges képalkotó vizsgálatok mellett laborvizsgálatok (vese-, mellékvese-, máj- és pajzsmirigyfunkció) is nélkülözhetetlenek a szervek funkcionális állapotának monitorozására [44, 46]. Típusosan a transzaminázemelkedés hívja fel a figyelmet a májtoxicitásra, a bilirubinszint csak alkalmanként emelkedik [44]. Erre azért nagyon fontos figyelni, mert hepatopathia, akár súlyos fokú is, tünetmentesen is tartósan fennállhat [44, 69]. Az IRAE-k sokszínűsége miatt ezek ellátá-

sában és a betegek gondozásában nagyon fontos a multidiszciplináris szemlélet. A kollaborációban történő kezelés és betegvezetés nélkülözhetetlen a szövődmények morbiditásának és mortalitásának csökkentése érdekében, úgy, hogy az az ICI-kezelés hatékonyságát ne veszélyeztesse [7, 13, 25, 70]. Különösen fontos az onkológus és az immunológus/reumatológus együttműködése az ilyen betegek ellátása során [2, 7, 43]. A megfelelő betegoktatás és az idejében történő mellékhatás-jelentés a szövődmények elhárításának egyik sarkalatos pontja [2, 7, 13, 46, 64].

Speciális kérdések

Hatékonyság és mellékhatások lehetséges összefüggései

A korábban már említett francia vizsgálatban (Kostine és mtsai) a reumatológiai jellegű IRAE-t mutató betegekben az ICI hatásosabb volt a daganatra vonatkozóan (hatékonysági ráta: 86%), mint azokban, akikben IRAE nem alakult ki (35%) [55]. Rkman és mtsai [71] egy metasztatikus urothelialis rákban szenvedő, atezolizumabbal kezelt beteg esetét közölték. Az első 1200 mg-os injekció után a betegben kiterjedt vitiligo jelentkezett. A beteg túlélése végül 26 hónapnál hosszabb volt, ami az atezolizumab vizsgálatokban (SAUL, IMvigor211) jelentett 8,7-10 hónapos átlagos túlélésnél jóval hosszabb

volt. A szerzők szerint a bőrtünetek a T_H17 -polarizáció következtében alakulhatnak ki, és ez az eltolódás kapcsolatban állhat a kedvezőbb túléléssel [71].

Shafqat és mtsai [72] retrospektív módon elemeztek 157 ICI-vel kezelt beteget, akik közül 45-ben IRAE alakult ki. Összesen 21 beteget kortikoszteroiddal kezeltek. Kezelési szövődmény kialakulása kedvezőbb progressziómentes túléléssel járt együtt, és ez a kortikoszteroidkezelés mellett is megmaradt [72].

Legújabb Sugano és mtsai [73] az IRAE-k közül az interstitialis tüdőbetegség (ILD) kimenetelre gyakorolt hatását elemezték NSCLC-ben. Összesen 130 tüdőrákos beteget kezeltek nivolumabbal, pembrolizumabbal vagy atezolizumabbal. Közülük 39 betegben jelentkezett mellékhatás és 16 betegben (12%) ILD. Az objektív terápiás válasz az ILD-s betegek 63%-ában, a non-ILD IRAE-s betegek 43%-ában, míg a szövődménymentes betegek 22%-ában alakult ki. Tehát az IRAE, azon belül az ILD jelentkezése jobb kimenetellel jár együtt. A progressziómentes túlélés az ILD-s betegekben 15,9 hónap, a non-ILD IRAE-s betegekben 5,4 hónap, míg az IRAE-mentes betegekben 3,3 hónap volt. A kiindulási interstitialis pneumonia független rizikófaktor volt az ILD kialakulása szempontjából [73].

Vannak-e biomarkerei a kialakuló autoimmun mellékhatásnak?

Az előzőekben tárgyalt összefüggés az ICI-hatékonyság és az IRAE gyakorisága között már egyfajta klinikai prediktív markernek tekinthető. Ugyanis az ICI-kezelésre adott jó klinikai válasz önmagában is magában hordozhatja a kialakuló IRAE esélyét [55]. Természetesen azonban olyan, főleg laboratóriumi, biomarkerekre lenne szükség, amelyek előre jelezhetik az IRAE kialakulását. Mivel, mint láttuk, az IRAE formájában kialakuló RA-, SLE-szerű kórkép általában szeronegatív, az autoantitest-meghatározás sajnos nem segít [7, 55]. Pavan és mtsai [74] a neutrophil granulocyt/lymphocyt (NLR) és thrombocyt/lymphocyt (PLR) arányokat vizsgálták ICI-vel kezelt NSCLC-s betegekben. Összesen 184 beteg kapott átlagosan hat ciklus pembrolizumab-, nivolumab- vagy atezolizumabkezelést. Az átlagos túlélés (overall survival; OS) 20,6, a progressziómentes túlélés (progression-free survival; PFS) 4,8 hónap volt. IRAE 60 betegben (33%) alakult ki, általában I-II. fokozatúak voltak. A kiinduláskor alacsony NLR és PRL szignifikáns korrelációt mutatott az IRAE kialakulásával. Multivariáns analízis megerősítette, hogy a PLR az IRAE független előrejelzője [74].

Az IRAE utáni ICI-újraindítás biztonságossága

Mint láttuk, az I. fokozatú IRAE esetén az ICI-kezelést nem kell felfüggeszteni, III-IV. fokozatú szövődmény esetén viszont teljesen le kell állítani. II. fokozatú mellékhatás esetén

átmeneti kezelési szünet után az ICI újraindítható. Minden magasabb fokozatú IRAE esetén is felmerül az ICI újraindítása, ha a mellékhatások csendesednek (I-II. fokozat) vagy megszűnnek [7, 47, 65]. Felmerül, milyen a biztonságossága az újraindított ICI-kezelésnek? Santini és mtsai [75] előrehaladott NSCLC-s betegeknek adtak PD-1- vagy PD-L1-gátlókat. A 482 kezelt betegből 68-ban (14%) alakult ki a terápia felfüggesztését indokoló IRAE. Ezeket a betegeket kettéosztották aszerint, hogy véglegesen leállították a kezelést (30; 44%) vagy átmeneti felfüggesztés után újraindították (38; 56%). Az újraindított csoportban 18 betegben (48%) nem alakult ki ismét IRAE, 10 betegben (26%) a korábbi IRAE kiújult, míg 10 betegben (26%) új IRAE alakult ki. A legtöbb rekuráló vagy új IRAE enyhe volt (58%; I-II. fokozat). A betegek 84%-ában az IRAE megszűnt vagy I. fokozatú lett. A rekurrens vagy új IRAE leginkább azokban alakult ki, akikben már az első IRAE is súlyos volt. Az újraindítás javította a daganat össz- és progressziómentes túlélését [75].

ICI-kezelés daganatos betegben korábbi autoimmun kórkép mellett

Ismeretes, hogy az autoimmun-reumatológiai kórképek megnövelik a szekunder szolid daganatok és malignus lymphoproliferatív kórképek rizikóját [76–78]. Előfordulhatnak tehát olyan szituációk, amikor a korábbi autoimmun betegség talán alakul ki a tumor, melyet ICI-vel kezelnek. Felmerül a kérdés, mi történik a korábbi autoimmun kórállapottal, és kialakul-e az ICI-kezelés következtében IRAE [22, 79, 80].

Richter és mtsai 6 esetet írtak le, ahol a betegeknek eredetileg valamilyen reumatológiai betegségük volt (RA, vasculitis, Sjögren-szindróma), majd malignitás (öt esetben melanoma, egy esetben tüdőrák) alakult ki [80]. A 6 beteg közül 3 ipilimumabot, 2 pembrolizumabot, egy nivolumabot kapott. A fenti betegekben 1–20 kezelési ciklus után II-IV. fokozatú mellékhatások (colitis, pneumonitis, vasculitis fellángolása, hypophysitis) alakultak ki. Mind a 6 beteg jól reagált kortikoszteroidokra. A tanulság az volt, hogy a 6 esetből csak egynél volt tapasztalható az eredeti autoimmun betegség fellángolása, 5 esetben más, általában szervspecifikus autoimmun jelenség lépett fel [80].

Johnson és mtsai ipilimumabbal kezelt melanomásokat vizsgáltak ebből a szempontból [79]. A több centrumból 2012–2015 között összegyűjtött 30 beteg közül előzetesen 6-nak RA-ja, 6-nak gyulladásos bélbetegsége, 5-nek psoriasis, 2-2-nek SLE-je, sclerosis multiplexe vagy autoimmun thyroiditis volt, míg 7 egyéb korábbi autoimmun kórképben szenvedett. A betegek 43%-a az ipilimumab indításakor kapott valamilyen immunszuppresszív kezelést. Összesen 8 betegben (27%) az ipilimumab az alapbetegség exacerbációját okozta. Súlyosabb (III-IV. fokozatú) IRAE 10 betegben alakult ki, amely kortikoszteroidra, illetve két betegben infliximabra

jól reagált. A betegek felében sem a korábbi autoimmun betegség nem lángolt fel, sem egyéb IRAE nem alakult ki [79].

Végül, mi a helyzet azokkal, akik az ICI-kezelés megkezdésekor antinukleáris antitest (ANA-) pozitívak, még manifest reumatológiai kórkép nélkül? Sakakida és mtsai a közelmúltban 191 beteget vizsgáltak, akik nivolumab-, pembrolizumab-, atezolizumab- vagy durvalumabkezelést kaptak előrehaladott, inoperábilis daganatok miatt [81]. A betegeket ANA pozitív (ANA titer $\geq 1 : 160$) és negatív (ANA-titer $< 1 : 160$) csoportba osztották. Összesen 9 ANA-pozitív beteg volt. Összesen 4 ANA-pozitív és 69 ANA-negatív betegben alakult ki IRAE. Nem volt különbség az ANA-pozitív és -negatív csoport között. Az ICI-kezelés hatékonysága jobb volt az ANA-negatív esetekben. ANA-pozitivitással járó reumatológiai kórkép (SLE, Sjögren-szindróma, MCTD, szisztémás sclerosis, polymyositis vagy dermatomyositis) egyetlen betegben sem alakult ki [81].

Köszönetnyilvánítás: A munka az Európai Unió Szociális Alap TÁMOP-4.2.4.A/2-11/1-2012-0001 „Nemzeti Kiválóság Program” (Sz. Z.); valamint az Európai Unió GINOP-2.3.2-15-2016-00050 (Sz. Z.) támogatásával készült.

A közlemény elkészítését a Roche (Magyarország) Kft. támogatta.

IRODALOM

- [1] Szekanecz Z, Szekanecz É: A PD-1 és a PD-L1 immunológiai és immuno-onkológiai szerepe. *Immunol Szemle* 2017; IX/1: 23-27.
- [2] Gálffy G: Az immunterápiák mellékhatásai és kezelésük. *Immunol Szemle* 2017; 9(1): 12-14.
- [3] Türk-Mázló A, Rajnavölgyi É: A CTLA-4 rendszer immunológiai és immuno-onkológiai szerepe: kétélű fegyver? *Immunol Szemle* 2017; 9(1): 18-22.
- [4] Dank M: Immunterápia onkológiai betegségekben. *Immunol Szemle* 2017; 9(1): 34-37.
- [5] Horváth Z: Az urothelialis és vesesejtes carcinoma ellenőrző-pont-gátló terápiájának újdonságai. *Immunol Szemle* 2017; 9(1): 38-41.
- [6] Ostoros G: Fókuszban a tüdőrák. A tüdőrák immunterápiája. *Immunol Szemle* 2017; 9(1): 42-43.
- [7] Szekanecz É, Szekanecz Z: Az onkológiában alkalmazott immunchekpoint-gátló terápiák autoimmun mellékhatásai: patogenezis, klinikum és terápia. *Orv Hetil* 2019; 160: 887-895.
- [8] Ostoros G: A tüdőrák immunterápiája az újabb eredmények tükrében. *Klin Onkol* 2018; 5: 11-15.
- [9] Ostoros G: Az immunterápia térhódítása. *Medical Tribune* 2018; 16: 14-15.
- [10] Gálffy G, Puskás R, Szentkereszty M, et al: Immunterápia tüdőrákban. *Medicina Thoracalis* 2017; 70: 81-93.
- [11] Gálffy G: A tüdőtumor immunterápiás kezelésének aktualitásai. *Onkológia & Hematológia (olo.hu)* 2018; 8: 3.
- [12] Kullmann T: Immunterápia a húgyhólyagdaganatok kezelésében. *Medical Tribune* 2018; 16: 12.
- [13] Kazai A: A checkpoint inhibitorok autoimmun mellékhatásai. *Medical Online* 2017; 2017 Nov 23.
- [14] Liszkay G: Az előrehaladott melanoma immunterápiája. *Háziorv Továbbk Szle* 2018; 23: 496-499.
- [15] Liszkay G: Immunterápia: a daganatellenes gyógyszeres kezelés új lehetősége a bőrdaganatok területén. *Háziorv Továbbk Szle* 2018; 23: 515-517.
- [16] Gécz L: Immunterápia: a daganatellenes gyógyszeres kezelés új lehetősége az urológia területén. *Háziorv Továbbk Szle* 2018; 23: 513-514.
- [17] Bellyei S, Bakó P, Orosz É, et al: Immunterápia első hatékony alkalmazása Magyarországon lokálisan kiújult fej-nyaki laphámkarcinómás betegnél *Magyar Onkol* 2018; 62: 175-178.
- [18] Bogos K: Új terápiás lehetőségek a nem kisgyermek tüdőrák kezelésében. *Medical Tribune* 2018; 16: 18-19.
- [19] Kuzmanovszki D, Varga A, Tóth B, et al: Az immunterápia aktualitásai metasztatikus melanoma malignum kezelésében. *Bőrgyógy Venereol Szemle* 2017; 93: 155-159.
- [20] Rotte A, D'Orazi G, Bhandaru M: Nobel committee honors tumor immunologists. *J Exp Clin Cancer Res* 2018; 37(1): 262.
- [21] Chinai JM, Janakiram M, Chen F, et al: New immunotherapies targeting the PD-1 pathway. *Trends Pharmacol Sci* 2015; 36(9): 587-595.
- [22] Weinmann SC, Pissetsky DS: Mechanisms of immune-related adverse events during the treatment of cancer with immune checkpoint inhibitors. *Rheumatology (Oxford)* 2019; 58(Suppl 7): vii59-vii67.
- [23] Le Mercier I, Lines JL, Noelle RJ: Beyond CTLA-4 and PD-1, the Generation Z of Negative Checkpoint Regulators. *Front Immunol* 2015; 6: 418.
- [24] Kumar P, Saini S, Prabhakar BS: Cancer immunotherapy with check point inhibitor can cause autoimmune adverse events due to loss of Treg homeostasis. *Semin Cancer Biol* 2019; doi: 10.1016/j.semcancer.2019.01.006
- [25] Postow MA, Sidlow R, Hellmann MD: Immune-Related Adverse Events Associated with Immune Checkpoint Blockade. *N Engl J Med* 2018; 378(2): 158-168.
- [26] Madden K, Kasler MK: Immune Checkpoint Inhibitors in Lung Cancer and Melanoma. *Semin Oncol Nurs* 2019; 35(5): 150932.
- [27] Bodoki L, Csonka T, Szekanecz Z, et al: Checkpoint inhibitor által indukált autoimmunitás fej-nyak tumoros betegben. *Magyar Reumatol* 2018; 59: 144.
- [28] Ostoros G: Újabb lehetőség a tüdőrák gyógyszeres kezelésében: az immunterápia. *Medicina Thoracalis* 2018; 71: 313-319.
- [29] Pusztai L, Ladanyi A, Szekely B, et al: [Immunotherapy opportunities in breast cancer]. *Magy Onkol* 2016; 60(1): 34-40.
- [30] Oláh J: Előrelépés az áttétes melanoma immunterápiájában. *Magyar Onkol* 2017; 61: 132-136.
- [31] Dai S, Jia R, Zhang X, et al: The PD-1/PD-Ls pathway and autoimmune diseases. *Cell Immunol* 2014; 290(1): 72-79.
- [32] Raptopoulou AP, Bertsias G, Makrygiannakis D, et al: The programmed death 1/programmed death ligand 1 inhibitory pathway is up-regulated in rheumatoid synovium and regulates peripheral T cell responses in human and murine arthritis. *Arthritis Rheum* 2010; 62(7): 1870-1880.
- [33] Salama AD, Chitnis T, Imitola J, et al: Critical role of the programmed death-1 (PD-1) pathway in regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Exp Med* 2003; 198(1): 71-78.
- [34] Cappelli LC, Dorak MT, Bettinotti MP, et al: Association of HLA-DRB1 shared epitope alleles and immune checkpoint inhibitor-

- induced inflammatory arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2019; 58(3): 476-480.
- [35] Arnaud L, Lebrun-Vignes B, Salem JE: Checkpoint inhibitor-associated immune arthritis. *Ann Rheum Dis* 2019; 78(7): e68.
- [36] Peled M, Strazza M, Azoulay-Alfaguter I, et al: Analysis of Programmed Death-1 in Patients with Psoriatic Arthritis. *Inflammation* 2015; 38(4): 1573-1579.
- [37] Dolff S, Quandt D, Feldkamp T, et al: Increased percentages of PD-1 on CD4+ T cells is associated with higher INF-gamma production and altered IL-17 production in patients with systemic lupus erythematosus. *Scand J Rheumatol* 2014; 43(4): 307-313.
- [38] Zhang H, Watanabe R, Berry GJ, et al: Immunoinhibitory checkpoint deficiency in medium and large vessel vasculitis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2017; 114(6): e970-e979.
- [39] Greisen SR, Rasmussen TK, Stengaard-Pedersen K, et al: Increased soluble programmed death-1 (sPD-1) is associated with disease activity and radiographic progression in early rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2014; 43(2): 101-108.
- [40] Wan B, Nie H, Liu A, et al: Aberrant regulation of synovial T cell activation by soluble costimulatory molecules in rheumatoid arthritis. *J Immunol* 2006; 177(12): 8844-8850.
- [41] Bertrand A, Kostine M, Barnetche T, et al: Immune related adverse events associated with anti-CTLA-4 antibodies: systematic review and meta-analysis. *BMC Med* 2015; 13: 211.
- [42] Calabrese L, Velcheti V: Checkpoint immunotherapy: good for cancer therapy, bad for rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2017; 76(1): 1-3.
- [43] Calabrese LH, Calabrese C, Cappelli LC: Rheumatic immune-related adverse events from cancer immunotherapy. *Nat Rev Rheumatol* 2018; 14(10): 569-579.
- [44] Friedman CF, Proverbs-Singh TA, Postow MA: Treatment of the Immune-Related Adverse Effects of Immune Checkpoint Inhibitors: A Review. *JAMA oncology* 2016; 2(10): 1346-1353.
- [45] Abdel-Wahab N, Shah M, Suarez-Almazor ME: Adverse Events Associated with Immune Checkpoint Blockade in Patients with Cancer: A Systematic Review of Case Reports. *PLoS One* 2016; 11(7): e0160221.
- [46] Haanen J, Carbonnel F, Robert C, et al: Management of toxicities from immunotherapy: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2018; 29(Suppl 4): iv264-iv266.
- [47] Tocut M, Brenner R, Zandman-Goddard G: Autoimmune phenomena and disease in cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors. *Autoimmun Rev* 2018; 17(6): 610-616.
- [48] Boland P, Heath J, Sandigursky S: Immune checkpoint inhibitors and vasculitis. *Curr Opin Rheumatol* 2020; 32(1): 53-56.
- [49] Vermeulen L, Depuydt CE, Weckx P, et al: Myositis as a neuromuscular complication of immune checkpoint inhibitors. *Acta Neurol Belg* 2020; 120(2): 355-364.
- [50] Kostine M, Truchetet ME, Schaevebeke T: Clinical characteristics of rheumatic syndromes associated with checkpoint inhibitors therapy. *Rheumatology (Oxford)* 2019; 58(Suppl 7): vii68-vii74.
- [51] Szekanecz É, András Cs, Kiss E, et al: Reumatológiai kórképek és tumorok: paraneoplasziás szindrómák. *Lege Artis Med* 2006; 16: 749-756.
- [52] Boutros C, Tarhini A, Routier E, et al: Safety profiles of anti-CTLA-4 and anti-PD-1 antibodies alone and in combination. *Nat Rev Clin Oncol* 2016; 13(8): 473-486.
- [53] Belkhir R, Burel SL, Dunogean L, et al: Rheumatoid arthritis and polymyalgia rheumatica occurring after immune checkpoint inhibitor treatment. *Ann Rheum Dis* 2017; 76(10): 1747-1750.
- [54] Calabrese C, Kirchner E, Kontzias K, et al: Rheumatic immune-related adverse events of checkpoint therapy for cancer: case series of a new nosological entity. *RMD open* 2017; 3(1): e000412.
- [55] Kostine M, Rouxel L, Barnetche T, et al: Rheumatic disorders associated with immune checkpoint inhibitors in patients with cancer-clinical aspects and relationship with tumour response: a single-centre prospective cohort study. *Ann Rheum Dis* 2018; 77(3): 393-398.
- [56] Cappelli LC, Gutierrez AK, Baer AN, et al: Inflammatory arthritis and sicca syndrome induced by nivolumab and ipilimumab. *Ann Rheum Dis* 2017; 76(1): 43-50.
- [57] Le Burel S, Champiat S, Routier E, et al: Onset of connective tissue disease following anti-PD1/PD-L1 cancer immunotherapy. *Ann Rheum Dis* 2018; 77: 468-470.
- [58] Lidar M, Giat E, Garelick D: Rheumatic manifestations among cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors. *Autoimmun Rev* 2018; 17(3): 284-289.
- [59] Bilen MA, Subudhi SK, Gao J, et al: Acute rhabdomyolysis with severe polymyositis following ipilimumab-nivolumab treatment in a cancer patient with elevated anti-striated muscle antibody. *Journal for immunotherapy of cancer* 2016; 4: 36.
- [60] Garelick B, Kramkimel N, Trouvin AP, et al: Pembrolizumab-induced polymyalgia rheumatica in two patients with metastatic melanoma. *Joint Bone Spine* 2017; 84(2): 233-234.
- [61] Gauci ML, Baroudjian B, Laly P, et al: Remitting seronegative symmetrical synovitis with pitting edema (RS3PE) syndrome induced by nivolumab. *Semin Arthritis Rheum* 2017; 47(2): 281-287.
- [62] Chai QQ, Du JY, Zhu J, et al: The Differences in the Safety and Tolerability of Immune Checkpoint Inhibitors as Treatment for Non-Small Cell Lung Cancer and Melanoma: Network Meta-Analysis and Systematic Review. *Front Pharmacol* 2019; 10: 1260.
- [63] Brahmer JR, Lacchetti C, Schneider BJ, et al: Management of Immune-Related Adverse Events in Patients Treated With Immune Checkpoint Inhibitor Therapy: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol* 2018; 36(17): 1714-1768.
- [64] Steven NM, Fisher BA: Management of rheumatic complications of immune checkpoint inhibitor therapy – an oncological perspective. *Rheumatology (Oxford)* 2019; 58(Suppl 7): vii29-vii39.
- [65] Leipe J, Mariette X: Management of rheumatic complications of ICI therapy: a rheumatology viewpoint. *Rheumatology (Oxford)* 2019; 58(Suppl 7): vii49-vii58.
- [66] Benesova K, Lorenz HM, Leipe J, et al: How I treat cancer: treatment of rheumatological side effects of immunotherapy. *ESMO Open* 2019; 4(Suppl 4): e000529.
- [67] Puzanov I, Diab A, Abdallah K, et al: Managing toxicities associated with immune checkpoint inhibitors: consensus recommendations from the Society for Immunotherapy of Cancer

- (SITC) Toxicity Management Working Group. *Journal for immunotherapy of cancer* 2017; 5(1): 95.
- [68] Kim ST, Tayar J, Trinh VA, et al: Successful treatment of arthritis induced by checkpoint inhibitors with tocilizumab: a case series. *Ann Rheum Dis* 2017; 76(12): 2061-2064.
- [69] Barroso-Sousa R, Barry WT, Garrido-Castro AC, et al: Incidence of Endocrine Dysfunction Following the Use of Different Immune Checkpoint Inhibitor Regimens: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA oncology* 2018; 4(2): 173-182.
- [70] Postow MA: Managing immune checkpoint-blocking antibody side effects. *American Society of Clinical Oncology educational book American Society of Clinical Oncology Meeting* 2015: 76-83.
- [71] Rkman D, Likic R, Bebek M, et al: Skin autoimmunity might be associated with increased efficacy of atezolizumab in metastatic urothelial carcinoma: a case report. *Croat Med J* 2019; 60(6): 552-555.
- [72] Shafqat H, Gourdin T, Sion A: Immune-related adverse events are linked with improved progression-free survival in patients receiving anti-PD-1/PD-L1 therapy. *Semin Oncol* 2018; 45(3): 156-163.
- [73] Sugano T, Seike M, Saito Y, et al: Immune checkpoint inhibitor-associated interstitial lung diseases correlate with better prognosis in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Thorac Cancer* 2020; 11(4): 1052-1060.
- [74] Pavan A, Calvetti L, Dal Maso A, et al: Peripheral Blood Markers Identify Risk of Immune-Related Toxicity in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Treated with Immune-Checkpoint Inhibitors. *Oncologist* 2019; 24(8): 1128-1136.
- [75] Santini FC, Rizvi H, Plodkowski AJ, et al: Safety and Efficacy of Re-treating with Immunotherapy after Immune-Related Adverse Events in Patients with NSCLC. *Cancer immunology research* 2018; 6(9): 1093-1099.
- [76] Szekanecz É, Szűcs G, Kiss E, et al: Szekunder malignus tumorok előfordulása reumatoid arthritisben. *Lege Artis Med* 2008; 18: 886-892.
- [77] Szekanecz É, András C, Kiss E, et al: Szisztémás autoimmun körképben és immunsuppresszív terápia következtében kialakuló szekunder tumorok. *Magyar Immunol* 2006; 5: 10-15.
- [78] Szekanecz Z, Szekanecz E, Bako G, et al: Malignancies in autoimmune rheumatic diseases – a mini-review. *Gerontology* 2011; 57(1): 3-10.
- [79] Johnson DB, Sullivan RJ, Ott PA, et al: Ipilimumab Therapy in Patients With Advanced Melanoma and Preexisting Autoimmune Disorders. *JAMA oncology* 2016; 2(2): 234-240.
- [80] Richter MD, Pinkston O, Kottschade LA, et al: Brief Report: Cancer Immunotherapy in Patients With Preexisting Rheumatic Disease: The Mayo Clinic Experience. *Arthritis Rheumatol* 2018; 70(3): 356-360.
- [81] Sakakida T, Ishikawa T, Chihara Y, et al: Safety and efficacy of PD-1/PD-L1 blockade in patients with preexisting antinuclear antibodies. *Clin Transl Oncol* 2019; Oct 1. doi: 10.1007/s12094-019-02214-8.

(Dr Szekanecz Zoltán, Debreceni Egyetem ÁOK, Reumatológiai Tanszék, Debrecen, Nagyterdei krt. 98. E-mail: szekanecz.zoltan@med.unideb.hu)

Immunológiai szótár

hízósejt (mastocyt) 10–30 µm átmérőjű szöveti sejt, IgE-re nagy affinitású felszíni receptorokat (FcεRI) és erősen bazofil citoplazmikus szemcséket hordoz, amelyek hasonlóak a bazofil leukocytákban levő granulumokhoz, de azoknál kisebbek. A granulumokban többek között hisztamin, heparin és triptáz található. Antigénnek a hízósejtek felszínén levő IgE-hez való kötődése vagy anafilatoxinok az említett anyagoknak, valamint néhány újonnan képződött farmakológiai mediátomak (pl. prosztaglandinok, leukotriének [SRS-A] és vérlemezke-aktiváló faktor) a felszabadulását okozzák. A hízósejtek fenotípusuk alapján két csoportba sorolhatók. Az egyik típusba a nyálkahártya-hízósejtek tartoznak, amelyekben kevés granulum van, megjelenésük a lymphocytákéhoz hasonló, differenciálódásuk T-lymphocytá-dependens és a tápcsatornában fordulnak elő orsóféreg-fertőzés során. A másik típusba a kötőszöveti hízósejtek tartoznak, amelyek granulumokban gazdagabbak, T-lymphocytáktól függetlenek, megjelenésük azonnali típusú túlérzékenységgel és fibroticus laesiókkal kapcsolatos.

HLA hisztokompatibilitási rendszer Az emberi fő hisztokompatibilitási komplex rendszer sok olyan gént tartalmaz, ame-

lyek a sejtfelszíni izoantigéneket és az egyes immunreakciók létrejöttének lehetőségét (Ir-gének) meghatározzák. A 6. kromoszóma rövid karján található, és három fő csoportba sorolhatók: I-es, II-es és III-as osztály. Az I-es osztályba tartozó HLA antigéneket a HLA-A, -B és -C gének kódolják, és endogén (pl. vírus-) antigén CD8+ T-sejtek felé való prezentálásában játszanak fontos szerepet (antigénprezentálás). A II-es régióba tartozik a HLA-DP, -DQ és DR, amelyek specializálódott antigénprezentáló sejtek révén exogén antigének prezentálását irányítják. A HLA I-es és II-es osztályba tartozó antigének szövet- és szervtranszplantációban is fontos szerepet játszanak, mivel ezeknek az antigéneknek az inkompatibilitása a donor és a recipiens között a graft kilökődéséhez vezethet. Az A, B, C transzporter gének (TAP1 és TAP2) és a DR transzporter gének (DMA és DMB) szintén ebben a régióban helyezkednek el. A III-as régió a C2, a C4 és a Bf komplement génjeit foglalja magába, valamint a Hsp70, a TNF, az LTB és a CYP21 génjét. A régióban egyéb gének is találhatóak. (Megjegyzés: a HLA-rendszer génjeinek nevét egyéb gének nevétől eltérően nem írják dőlt betűvel. A fentiekben, ahol a gének nevét keresztreferenciaként jelöltük, a referencia a termékre vonatkozik, nem a génre.)

Az OFEV idiopathiás pulmonális fibrózis (IPF), szisztémás sclerosissal társuló intersticiális tüdőbetegség (SSc-ILD), és egyéb, progresszív, krónikus, fibrotizáló intersticiális tüdőbetegségek (ILD) kezelésére is javallott felnőtteknél.

Lassítsa az IPF progresszióját!

Az alkalmazási előírás a QR kódon keresztül érhető el. Az alkalmazási előírás dátuma: 2020.07.13.



EÜ 100 BNO J84 – az arra kijelölt centrumokban. Magyar Közlöny 2017. évi 78. szám 7986 oldal 11-es pont.
<http://www.kozlonyok.hu/nkonline/MKPDF/hiteles/MK17078.pdf>

A termékek árával kapcsolatban a változásokat a http://www.neak.gov.hu/felso_menu/szakmai_oldalak/gyogyszer_segedeszkoz_gyogyfurd_o_tamogatas/egeszsegugyi_vallalkozasoknak/pupha/Vegleges_PUPHA.html honlapon tudja követni.

Használat előtt kérjük, olvassa el figyelmesen a részletes alkalmazási előírást!

Készítmény megnevezése	Közfinanszírozás alapjául elfogadott ár (Ft)	TB támogatás mértéke	Vonatkozó indikációs pont	Beteg által fizetendő ár (Ft)
OFEV 150mg 60x	708 417	EÜ 100 (J84)	62	300
OFEV 100mg 60x	472 625	EÜ 100 (J84)	62	300

A fibrotizáló interstitialis tüdőbetegség progressziója

(Wong AW, Ryerson CJ, Guler SA: Progression of fibrosing interstitial lung disease. Respiratory Research 2020; 21: 32.)

Az ILD (interstitial lung disease = interstitialis tüdőbetegség) a tüdőparenchyma gyulladással és fibrosissal járó betegségeinek heterogén csoportja. A fibroticus ILD-k jelentős részét a tüdőfunkció progresszív tünetekkel járó elvesztése, csökkent mértékű terápiás válaszadás és gyenge életminőség jellemzi. Az IPF (idiopathiás tüdőfibrosis) az idiopathiás interstitialis pneumoniák (IIP) leggyakoribb, legsúlyosabb és legprogresszívebb altípusa. Egyéb ILD-altípus is járhat progresszív fibrosissal, ilyenek a kötőszöveti betegségekhez társult ILD-k, a fibrotizáló hyperszenzitiv pneumonitis (HP), a nem klasszifikálható ILD, az idiopathiás nem specifikus interstitialis pneumonia (NSIP) és ritkán a sarcoidosis, a szervülő pneumonia és a foglalkozással összefüggő ILD-k.

Az ILD jelenlegi klasszifikációja figyelembe veszi a háttérben lévő etiológiát, ami gyakran megszabja a választandó terápiát és a prognózt. Az IPF elkülönítése az egyéb fibrotizáló ILD-ktől különösen fontos, mivel az IPF-nek a legrosszabb a prognóza, és a többitől eltérő terápiás megközelítést igényel. Az IPF elsődlegesen fibrotizáló betegség, a többi fibrosissal járó ILD-ben a fibrosist rendszerint megelőzi egy gyulladásos fázis. A különbségek ellenére a különböző ILD-kben a fibrosis hasonló módon fejlődik ki, a gyulladás következtében aktiválódnak a fibroblastok, myofibroblastokká differenciálódnak, melyek extracelluláris mátrixot produkálnak, ami a remodelling állandósulásával az ép tüdőszövet helyén pulmonalis fibrosist eredményez. A szerzők a továbbiakban ezeket az ún. PF-ILD-ket (progresszív fibroticus ILD) tárgyalják.

Definíció

A progresszív fibroticus interstitialis tüdőbetegség (PF-ILD) önfenntartó fibrosis, ami romló légzésfunkcióval, dyspnoéval, csökkent fizikai teljesítőképességgel és egyre romló életminőséggel, a kezelésre adott csökkent válaszadással és korai halálozással jár. Az ILD-k kb. 20–30%-a tartozik a PF-ILD kategóriába. A progressziót az FVC (forsszírozott vitálkapacitás) és a DLCO (diffúziós kapacitás) évenkénti csökkenésének mértékével (≥ 5 –10%, vagy ≥ 10 –15%), a 6 perces sétatávolság csökkenésével (> 50 méter), ill. a dyspnoe és az életminőségi mutatók csökkenésével mérhetjük. A szisztémás sclerosishoz társult ILD (SSc-ILD) esetén az FVC $\geq 10\%$ vagy 5–9% plusz a DLCO $\geq 15\%$ évenkénti csökkenése a halálozás erős prediktora. RA- (rheumatoid arthritis) ILD-ben a megnövekedett mortalitás előrejelzőjeként értékelhető az FVC $\geq 10\%$ -os évenkénti csökkenése. Mindezek ellenére önmagukban

ezek a paraméterek nem elegendők egy adott eset megítélésére (nagyok az interperszonális eltérések), általában együtt kell értékelni a betegek tüneteit, a légzésfunkciós trendet és a képalkotón látható fibrosis időbeli alakulását.

A progresszió kockázati tényezői

Férfi nem, idősebb életkor, alacsonyabb kiindulási FVC és DLCO és bizonyos morfológiai jellemzők. Jellegzetesen a radiológiai vagy patológiai UIP (usual interstitial pneumonia = szokványos interstitialis pneumonia) társul fokozott mortalitással. A különböző ILD-alcsoportok között az UIP-minta prognosztikai jelentősége nagyobb, mint a betegség specifikus etiológiája.

Az akut exacerbatio, amit a hirtelen súlyosbodó légzésromlás és a HRCT-n bilaterális homályok jellemeznek, az ILD-progresszió extrém megnyilvánulása. IPF-ben az akut exacerbatio kockázati tényezői a súlyos dyspnoe, a rossz életminőség, a nagyobb BMI (body mass index), a hypoxia és az alacsony kiindulási FVC és DLCO. Egy beteg esetében az FVC $\geq 10\%$ -os, a DLCO $\geq 15\%$ -os relatív csökkenése a közelmúltban előrejelezheti a közeli akut exacerbatiót, ami arra utal, hogy a PF-ILD is az akut exacerbatio nagy kockázatával járó kórkép. A CTD- (connective tissue disease = kötőszöveti betegség) ILD és a fibroticus HP jobb prognózisú, mint az IPF.

Kezelés

Nem gyógyszeres módon

A dohányzás elhagyása, az antigének elkerülése, a foglalkozási károsodás megelőzése, a potenciálisan ILD-t okozó gyógyszerek elhagyása, a pneumococcus- és influenzavakcináció, a pulmonalis rehabilitáció, a tartós oxigénterápia, a kísérő betegségek felderítése és kezelése. Felkészülés a tüdőtranszplantációra, ahol ez nem lehetséges, tüneti kezelés, palliatív gondozás.

Gyógyszeres módon

A PF-ILD-k kezelése IPF esetében antifibroticus gyógyszerekkel, nem IPF ILD-ben immunszuppresszív szerekkel történik. A két kórkép elkülönítése azért nagyon fontos, mert IPF-ben az immunszuppresszív gyógyszerek károsak, de a nem IPF ILD-ben potenciálisan hatásosak lehetnek. Ebből a szempontból is hangsúlyos az MDT-k (multidisciplinary team) szerepe az interstitialis betegségben szenvedő betegek ellátásában.

Antifibroticus gyógyszerek

A pirfenidon és a nintedanib antifibroticus gyógyszerek az IPF kezelésében. Az FVC évi csökkenését mindkét gyógyszer minimum 50%-kal mérsékeli. A SENSIS vizsgálat volt az első III. fázisú klinikai tanulmány, ami a nintedanib hatékonyságát vizsgálta nem IPF-ILD-ben [1]. Azokat a betegeket vonták be a vizsgálatba, akiknek 7 éven belül volt az első nem Raynaud Ssc-manifestációja, a HRCT-n legalább 10% volt a fibrosis, stabil háttérterápiában részesültek, a mycophenolat mofetil (MMF) adása megengedett volt, ugyanakkor a súlyos pulmonalis hypertóniával vagy digitális fekélyekkel járó eseteket kizárták. Ebben az esetben is az FVC-csökkenés legalább 50%-kal mérséklődött, a betegek az IPF-hez képest jobb prognózisúak voltak. Az MMF-fel kezelt betegek esetében kevésbé volt hatékony a nintedanib a placebohoz képest (FVC-csökkenés nintedanib mellett a placebohoz képest 26 ml/év MMF-fel vs. 55 ml/év MMF nélkül). A tanulmány eredményei alapján engedélyezte az USA-ban az FDA (Food and Drug Administration) Ssc-ILD-ben a nintedanibet.

Később további nem klasszifikálható és egyéb nem IPF PF-ILD-ben is vizsgálták a nintedanib és a pirfenidon hatását. Az INBUILD klinikai tanulmányban az FVC-csökkenés átlag 57%-kal (107 ml) mérséklődött nintedanib mellett placeboval szemben [2]. Ebben a vizsgálatban immunszuppresszív szerek adása nem volt megengedett, inkább olyan betegek kerültek bevonásra, akiknél a gyulladásos jelek kevésbé voltak kifejezettek. A regulátoros hivatalok várhatóan a közeljövőben hoznak döntést azzal kapcsolatban, hogy az antifibroticus szerek adhatóak-e nem IPF-ILD-kben.

Immunszuppresszív gyógyszerek

IPF-ben nem adhatók, nincs előnyös hatásuk, ugyanakkor növelik a mortalitás és az egyéb nemkívánatos események kockázatát. Erre való tekintettel adásuk nagy megfontolást igényel IPF-szerű fenotípusban is. Ugyanakkor megfelelő terápiát jelentenek CTD-ILD-ben, fibroticus HP-ben és néhány nem klasszifikálható IL-ILD-ben.

CTD-ILD

A legtöbb ismeret a Scleroderma Lung Study-ből származik [3]. Cyclophosphamid mellett lelassult az FVC-vesztés. MMF hasonló eredménnyel járt, de kevesebb volt mellette a toxicitás. A cyclophosphamid és az MMF mellett szóba jön még az azathioprin, a methotrexat és a rituximab is. A sc. tozilizumab (IL-6-receptor- α -gátló) potenciálisan hatásos lehet a fibroticus alcsoportban.

Fibroticus hiperszenzitív pneumonitis (HP)

Nem fibroticus esetben rövid prednisolonkúra az antigén eliminálásával együtt előnyös lehet. Fibroticus esetben már ne-

hezebb a helyzet, az antigén elkerülése ellenére progrediálhat a fibrosis. Az MMF és az azathioprin is jól tolerálható, amivel esetleg mellőzhető a prednisolon adása, és várhatóan mérsékelhető a DLCO csökkenése. Progresszív fibrosisban első választás az MMF és az azathioprin.

Nem klasszifikálható IL-ILD

Kb. az összes IL-ILD-k 12%-a sorolható ebbe a csoportba. A kép emlékeztet a CTD-ILD-re vagy a fibroticus HP-re. Itt vagy antifibroticus vagy immunszuppresszív kezelés jön szóba a klinikai képtől függően. Utóbbi főleg akkor, ha autoimmun jelek is jelen vannak. Utóbbi esetek az IPAF (interstitial pneumonia with autoimmune features = interstitial pneumonia autoimmun jelekkel) kategóriába sorolhatók [4]. Ezzel kapcsolatban további klinikai vizsgálatok vannak folyamatban.

Megbeszélés

A PF-ILD az esetleges terápiás lehetőségek miatt egyre inkább a klinikai gyakorlat része lesz. Ma még azonban számos bizonytalanság van a PF-ILD-k klasszifikációja és kezelése tekintetében. Az IL-ILD-k kb. 12%-ában még sebészi mintavétel esetén sincs pontos diagnózis. A legtöbb esetben azonban a panaszok, a légzésfunkciós értékek és a képalkotók alapján a betegség viselkedése karakterizálható.

Hogyan tudjuk definiálni a PF-ILD-t?

A klinikai vizsgálatokba a tünetek, a légzésfunkciós értékek és a képalkotó eltérések progresszív rosszabbodása szerint vonták be a betegeket. Újabban a DLCO-értékek változását nem veszik figyelembe, korábban a $\geq 15\%$ csökkenés volt a rosszabbodás kritériuma. Az FVC $\geq 10\%$ -os relatív csökkenését tekintik a progresszió küszöbértékének, 5–10% közötti relatív csökkenése esetén a beteg tünetei, ill. a képalkotó eltérések vehetők számításba. A radiológiai kép rosszabbodását önmagában nem szokták a progresszió kritériumaként értékelni, a klinikai kép összessége az iránymutató, melybe beleértendő a beteg terhelési kapacitása, a szervezet oxigenizációja és a respiratorikus okból történt hospitalizáció.

Hogyan tudunk az antifibroticus és az immunszuppresszív kezelés közül választani?

Mindkét antifibroticus gyógyszer a nem IPF PF-ILD-ben jelenleg off label. IPF-szerű fenotípus esetén inkább antifibroticus kezelést válasszunk, különösen, ha a HRCT vagy a sebészi minta UIP-mintázatot mutat, ill. akiknél az immunszuppresszív kezelés nagy kockázatú lenne. Inkább gyulladásos fenotípus esetén, különösen organizáló pneumonia jelleg, ill. aktív autoimmun jelek esetén immunszuppresszív terápia a helyes választás. A „szürke zóna”, a kettő közé eső kórképek

esetén az MDT és a reumatológus szerepe fajsúlyosabb, különösen, ha CTD-jelleget mutat a betegség. Ilyenkor 1-2 hónapos prednisolonadás megkísérélhető, kedvező válasz esetén tartósabb immunszuppresszió jöhet szóba. Végül, a kétféle kezelési mód kombinálása is lehetséges, pl. nem klasszifikálható ILDBen az MMF és pirfenidon együttes adása biztonságosnak bizonyult csakúgy, mint SSC-ILD-ben az MMF és a nintedanib kombinálása.

Bár a közelmúltban történt klinikai vizsgálatok eredményei a fibroticus ILDBen szenvedő betegek számára új terápiás opciókat sugallnak, számos kérdés vár még megválaszolásra, melyekre a válaszokat újabb klinikai vizsgálatoktól várhatjuk.

Kommentár

Shakespeare W Rómeo és Júlia drámájából vett idézet [5]: „What’s in a name? That which we call a rose, by any other word would smell as sweet”) („mi is a név? mit rózsának hívunk mi, bárhogy nevezzük, éppoly illatos”, Kosztolányi Dezső fordítása) lehetne a jellegje a progresszív fibrotizáló ILDBnek. Ha a pulmonalis fibrosis patomechanizmusát vesszük alapul, akkor maga a fibrosis hasonló módon alakul ki a különböző etiológiájú ILDBben. Kérdés, hogy eltekintve az etiológiától, az aktuális betegség fibrotizáló vagy inflammatorikus dominanciája elégséges-e ahhoz, hogy megfelelő terápiát válasszunk. Az INBUILD vizsgálat kicsit részletesebb ismertetése talán meggyőző választ ad a kérdésre, és a Shakespeare-idézetre utalva, ha bárminek is nevezzük a kórképet, de dominál a tüdőfibrosis, akkor kezeljük a fibrosist [2].

Az INBUILD III. fázisú placebokontrollált kettős vak klinikai vizsgálatba olyan betegeket vontak be, akiknél a HRCT a tüdő legalább 10%-át kitevő fibrosist mutatott ki, mely alapján napi 2×150 mg adagban nintedanibot kaphattak. Miután IPFBen a korábbi vizsgálatok már a nintedanib előnyéről beszámoltak, ezért törekedtek nem IPF PF-ILD betegeket bevonni a vizsgálatba. A leggyakoribb kórképek a krónikus HP (26,1%) és az autoimmun interstitialis tüdőbetegségek (25,6%) voltak. Minden esetben a megelőző 24 hónapos intervallumban kimutatható volt a fibrosis progressziója: az FVC-nek a kell értékhez képest legalább 10%-os csökkenése; 5–10% csökkenés esetén a respiratorikus tünetek rosszabbodása vagy a HRCT-n a fibrosis fokozódása, ill. a respiratorikus tünetek fokozódása mellett a HRCT-n a fibrosis progressziója. A bevonáskor az FVC a kell értéknek legalább 45%-a, a DLCO 30 és 80% között volt. A betegek immunszuppresszív kezelésben nem részesülhettek. A randomizációnál a fibrosis mintázatát is figyelembe vették (UIP vagy egyéb). A betegek 2/3-a mutatott a HRCT-n UIP-mintázatot. Az elsődleges végpont az FVC 52 hét alatti csökkenésének mértéke volt. 663 beteget vontak be a vizsgálatba. Az összes esetre vonatkoztatva ninte-

danib mellett az évi FVC-csökkenés 80,8 ml, a placebo csoportban 187,8 ml volt, a különbség szignifikáns volt ($p < 0,001$). Az UIP-mintázatot mutatók esetében az éves FVC-csökkenés nintedanib mellett 82,9 ml, placebo mellett 211,1 ml, a különbség ebben az esetben is szignifikáns volt ($p < 0,001$). Megállapítható volt, hogy a progresszív fibrosist mutató interstitialis tüdőbetegségben a nintedanibkezelésben részesülőknél szignifikánsan kisebb volt az FVC éves csökkenése, mint a placebót kapók eseteiben. A nintedanib hatékonysága hasonlóan bizonyult, mint korábban, az IPF-betegeket bevonó INPULSIS vizsgálatokban [6], ami alátámasztja azt a hipotézist, hogy a klinikai diagnózistól független a progresszív tüdőfibrosis patobiológiai mechanizmusa.

A közelmúltban lezárult és a jelenleg zajló klinikai vizsgálatok alapján reménység szerint a közeljövőben a jelenleg IPFBen adható antifibroticus gyógyszereket az egyéb progresszív tüdőfibrosis esetekben is etiológiától függetlenül tudjuk majd alkalmazni.

IRODALOM

- [1] Distler O, Highland KB, Gahlemann M, et al: Nintedanib for systemic sclerosis-associated interstitial lung disease. *N Engl J Med* 2019; 380(26): 2518-2528.
- [2] Flaherty KR, Wells AU, Cottin V, et al: Nintedanib in progressive fibrosing interstitial lung diseases. *N Engl J Med* 2019; 381(18): 1718-1727.
- [3] Tashkin DP, Elashoff R, Clements PJ et al: Cyclophosphamid versus placebo in scleroderma lung disease. *N Engl J Med* 2006; 354(25): 2655-2666.
- [4] Fisher A, Antoniou KM, Brown KK, et al: An official European Respiratory Society/American Thoracic Society research statement, interstitial pneumonia with autoimmune features. *Eur Resp J* 2015; 46(4): 976-987.
- [5] The illustrated Stratford Shakespeare. Chancellor Press, 1992, 708.
- [6] Richeldi L, DuBois RM, Raghu G, et al: Efficacy and safety of nintedanib in idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2014; 370(22): 2071-2082.

A cikk megjelenését a Boehringer Ingelheim RCV Magyarországi Fióktelepe támogatta. Tartalma a szerző önálló szakmai álláspontját tükrözi, és nem tekinthető a Boehringer Ingelheim részéről közzétett szakmai vagy egyéb tájékoztatásnak vagy állásfoglalásnak. A megemlítt termékek használatakor az érvényes alkalmazási előírás az irányadó.

Az OFEV idiopathiás tüdőfibrosis (IPF) és szisztémás sclerodermához társuló interstitialis tüdőbetegség (SSC-ILD) kezelésére javallott felnőtteknél.

PC-HU-101324

Lezárás dátuma: 2020. 05. 05.

Balikó Zoltán



MÚLJA FÖLÜL A VÁRAKOZÁSOKAT!

**ELJÖTT AZ ÚJ CÉLOK¹⁻³ ALKALMAZÁSÁNAK IDEJE
A RHEUMATOID ARTHRITIS TERÁPIÁJÁBAN**

Methotrexat háttérterápia mellett a RINVOQ-kal
szignifikánsan több beteg ért el remissziót a vizsgálat
12. hetére, mint adalimumabbal⁴⁻⁶

Irodalom:

1. Smolen JS és mtsai, Ann Rheum Dis 2017; 76(6):960-977.
2. Poór Gy; Magyar Reumatológia 2017; 58:68-82.
3. Smolen JS és mtsai, Ann Rheum Dis 2020; 79(6):685-699.
4. Fleischmann R és mtsai, Arthritis Rheumatol. 2019;71(11):1788-1800.
5. Fleischmann R és mtsai, Ann Rheum Dis. 2019; 78(11):1454-1462.
6. Rinvoq alkalmazási előírás, 2020. február 26.

Rinvoq 15 mg retard tabletta (upadacitinib)

Bővebb információért olvassa el a gyógyszer alkalmazási előírását!

https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/rinvoq-epar-product-information_hu.pdf

Forgalomba hozatali engedély jogosultjának helyi képviselője:

AbbVie Kft., 1095 Budapest, Lechner Ödön fasor 7. Telefonszám: +36 1 455 8600 www.abbvie.hu.

A készítmény jelenleg közfinanszírozásban nem részesül (www.neak.gov.hu letöltés dátuma: 2020.08.03.)

HU-RNQR-200006

Lezárás dátuma: 2020. augusztus 31.

abbvie

Marienbad (ahogy emléket a régi képes levelezőlapok őrzik)

JAKÓ JÁNOS

Az egykori Habsburg Birodalom leghíresebb gyógyfürdője, Karlsbad (Karlovy Vary) nevezetességeit lapunk múlt évi utolsó és ez évi első számában ismertettem. Jelenlegi munkám célja a nyugat-csehországi „fürdőháromszög” (Karlovy Vary, Mariánské Lázně és Frantiskovy Lázně) keleti csúcsán fekvő Mariánské Lázně (Marienbad) bemutatása a gyűjteményemben található néhány „öreg”, az 1903–1915 közötti években postára adott képes levelezőlap segítségével. A háromszög nyugati csúcsán található Frantiskovy Lázně (Franzensbad) ismertetésére egy – tervezett – újabb írásban kerül majd sor.

A gránit alapzatú Császár-erdő (Kaiserwald) déli lejtőjén, 700–900 m magas, erdővel borított hegyek koszorújában, Karlovy Varytól délnyugatra, 630 m magasan fekvő Mariánské Lázně (Marienbad) Európa egyik legszebb fürdőhelye. Lakosainak száma 1910-ben 6000 volt, mára már elérte a 13 000-t.

Nagyszámú, több mint negyven forrásának többsége a város mögötti erdőben fakad, némelyik vizét 2–3 km távolságból vezetik a díszkutakhoz. Különböző vegyi összetételű hideg, 9–12 °C-os forrásvizei alkalikus, glaubersós, szénsavas, savanyú-, vasas és szulfátos gyógyvizek, „hurutos gyomor- és bélbántalmaknál, májbajoknál, elhízásnál tesznek jó szolgálatot”, de „vese-, bőr-, ideg- és légzőszervi megbetegedések” kezelésére is alkalmasak. Gyógyiszapja vas-szulfátos. Gyógyvizeit ivókúrára és fürdésre egyaránt használják.

Az ásványvízforrások hosszú ideig a várostól néhány km-re keletre fekvő, 12. században alapított premontrei apátság tulajdonában voltak. A környék lakói a régebbi évszázadokban többször „megpróbáltak konyhasót főzni a vizekből, de mindig csak keserűsödött ki belőlük”, ezért később a források vizét gyógyításra kezdték használni. Miután Joseph Nehr apátsági orvos a 19. század elején kimutatta a forrásvizek és az iszap gyógyító hatását, „a szerzetesrend előteremtette a fejlesztéshez szükséges pénzforrásokat”. A fürdőt 1805-ben alapította Karl Reitenberger, a szomszédos Teplá premontrei kolostorának prépostja.

A település 1808-ban kapta a Marienbad nevet. A fürdő 1818-ban „nyitotta meg kapuit”, majd rohamos fejlődésnek indult, a 19. században lett közismert gyógyfürdőhely, 1868-ban várossá nyilvánították. A várost Karlsbaddal összekötő vasút 1896-ban létesült. A fürdővendégek száma már a 20. század elején is évenként 30 000 fő volt.

Marienbad régi, de ma is szép épületei között klasszicista, neobarokk, neoreneszánsz, romantikus és szecessziós stílusban épültek egyaránt előfordulnak. A fürdő „aranykora” a 19. század végére tehető. Észak-déli irányú főutcája (Kaiserstrasse) északi oldalán „zöldell” a Kurpark. A főúttól nyugatra

találjuk az 1900-as évek elején épült, „pompás ikonosztázzal díszített” Orosz templomot. A főutca északi folytatásában látható az 1913-ban felállított díszkút, több nagy szálloda, az evangélikus templom (1857), a színház (1866) és a Waldquelle (Erdei-forrás). A Kurpark északi részén, az 1818-ban épített Kőrcsarnokban van Marienbad legrégebbi forrása, a Kreuzbrunnen (Kereszt-forrás). A kút előtti téren áll a forrás-vizek gyógyhatását kimutató apátsági orvos, Nehr bronz mellszobra. Itt található a fürdővendégek közkedvelt találkozóhelye, az Ivócsarnok és az 1889-ben létesített öntöttvas oszlopsor, a Kreuzbrunnen-Kolonnade, a Ferdinandsbrunnen (Ferdinánd-forrás) és a Rudolfsquelle (Rudolf-forrás), valamint közelükben az 1844–1848 között, bizánci stílusban épült nagy, kéttornyú Szűz Mária katolikus templom. Az utóbbi mögött, nagy szállodák mellett látható az Aranyfürdő-háznak nevezett Goethe-ház (napjainkban múzeum), itt lakott 1824-ben a költő, akinek emléket a róla elnevezett téren egész alakos ülő bronzszobra őrzi. A tértől délre áll a savanyúvízes Ambrosiusquelle (Ambrózius-forrás), nyugatra a Kursalon (Kasszinó) és az 1896–1902 között létesült Neubad (Új fürdő). A fontosabb források közé tartozott az említettekén kívül a Karolinenbrunnen (a Karolina-forrás), az Alfred- és az Alexandrinquelle (forrás) is. Az 1900-as évek elején a város két legnépszerűbb, leglátogatottabb fürdője a Zentralbad (Központi fürdő) és a Neubad volt. A fürdőszezon május 1-től szeptember 30-ig tartott.

Az I. világháború idején katonai gyógyintézet is működött Marienbadban.

A városból kellemes sétautak vezetnek a közeli és távolabbi kirándulohelyekhez, erdei kávéházakhoz, a környező 700–800 m-es magaslatokhoz. Közkedvelt kirándulohely a néhány km-re található, 16. században épült, majd később barokk stílusban átépített, napjainkban múzeumnak berendezett Metternich-kastély és a kissé távolabb fekvő, korábban már említett Teplá apátság jelentékeny könyvtárával és ásványgyűjteményével.

Marienbad legnevezetesebb külföldi látogatói VII. Edward angol király, II. Vilmos német, I. Ferenc József osztrák császár és II. Miklós orosz cár voltak, de megfordultak itt görög, bolgár, jugoszláv uralkodók és a perzsa sah is. VII. Edward évente hosszú időt töltött Marienbadban, „reménykedett benne, hogy csökkenteni tudja jelentős súlyfeleslegét, ám a napi többszöri, tíz fogásos étkezésről nem tudott lemondani, viszont kádfürdőket vett, pihent, kirándult.” Szívesen szórakozott is, 1905-ben ő alapította meg Csehország első golfpályáját. A zeneművészet, irodalom és a tudomány nagyjai közül Weber,

Chopin, Wagner, Mahler, Strauss, Goethe, Puskin, Gogol, Ibsen, Kafka, Twain, Kipling, Gorkij, Nobel, Edison és Nietzsche neve említhető. Goethe tételesen is felsorolta az élvezetes fürdőhelyi időtöltés elemeit: „Pompás szállás, barátságos házigazdák, jó társaság, csinos lányok, muzikális műkedvelők, kellemes esti szórakozás, remek étkezés... mind hozzájárult, hogy a három hétig tartó szép időt teljesen kihasználhattam, élvezhettem.”

A magyarok közül Vajda János, Liszt Ferenc és Deák Ferenc egyaránt kedvelte Marienbadot. Köztudott, hogy „a haza bölcse” kedvenc üdülőhelye Balatonfüred volt, de többször ellátogatott a népszerű csehországi fürdővárosba is. „Két nap óta használom a vizet; lótok-futok, keveset alszom, s oly fáradt vagyok, mintha megverték volna.” – írta 1857-ben sógorának. Őt nem a „víg társaság vonzotta Marienbadba, hanem egészsége kényszerítette a gyógyvíz használatára.”

Az 1. ábrán bemutatott, 1905-ben küldött képeslap a Marienbad melletti kőbányából elének tároló fürdőváros távlati képét mutatja. Egy 1909. szept. 2-án írt szép képeslapon az elegáns Kaiserstrasse és környéke csodálható meg (2. ábra). A kép a bal felső sarkában az Orosz-templom, mellette a hatalmas, palotaszzerű „Volks- und Bürgerschule” (nép- és polgári iskola), a fő utca elején pedig a „Kronprinz Rudolf-Stiftung” („Rudolf trónörökös alapítvány”) épülete és a hozzá tartozó

templom látható. A lapot küldő fürdővendég néhány sora már az ősz közeledtére utal („Itt igen hűvös időjárás van, köpeny nélkül nem is lehet járni.”). Az 1903 nyarán feladott képes levelezőlap a Kreuzbrunnen kettős kereszttel ékesített impozáns csarnokát (3. ábra), a tíz évvel későbbi lap a közelben álló Ivókút kupolás körcsarnokát és sétáló vagy üldögélő, pihenő fürdővendégekkel „benépesült” környékét, valamint a kolonnád díszes épületét örökíti meg (4. ábra). A méltán híres oszlopsor, a Kreuzbrunnen-Kolonnade tágas belső terét, ahol feltűnően sok elegáns hölgy és úr sétálgat, az 5. ábrán láthatjuk. A lapot 1910-ben adták postára. A Ferdinánd-forrás csarnokát és a környező park egy részét a reggeli hangverseny résztvevőivel egy ugyancsak 1910-ben írt képeslapon mutatom be (6. ábra). A Kurhaus (gyógyterem) és a mellette álló Neubad jellegzetes szép épületei figyelhetők meg a 7. ábrán bemutatott képeslapon, előtérben a Ferdinánd-forrás csarnokával. A lapot 1915-ben adták fel. A Neubadot és a fürdőhöz vezető utat látjuk az 1910-es évek elején készült képeslapon. A fákkal szegélyezett kocsúton egy jellegzetes, kétkerekű konflis tűnik szembe, de több hasonló kocsí a távolban is felfedezhető, a járdán fürdővendégek sétálnak (8. ábra). Elegáns, négyemeletes szálloda (Grand Hotel „Ott”) figyelhető meg egy 1906-os keltezésű képeslapon (9. ábra). A valóban kastély benyomását keltő Hotel



1. ábra

„Marienbad. / Blick v. Steinbruch.”



2. ábra
„Marienbad. Kaiserstrasse.“



3. ábra
„MARIENBAD Kreuzbrunnen.“



4. ábra
„MARIENBAD. Beim Kreuzbrunnen.”



5. ábra
„Marienbad / Innere Kreuzbrunnen-Kolonnade.”



6. ábra

„Marienbad. Morgenkonzert beim Ferdinandsbrunnen.”

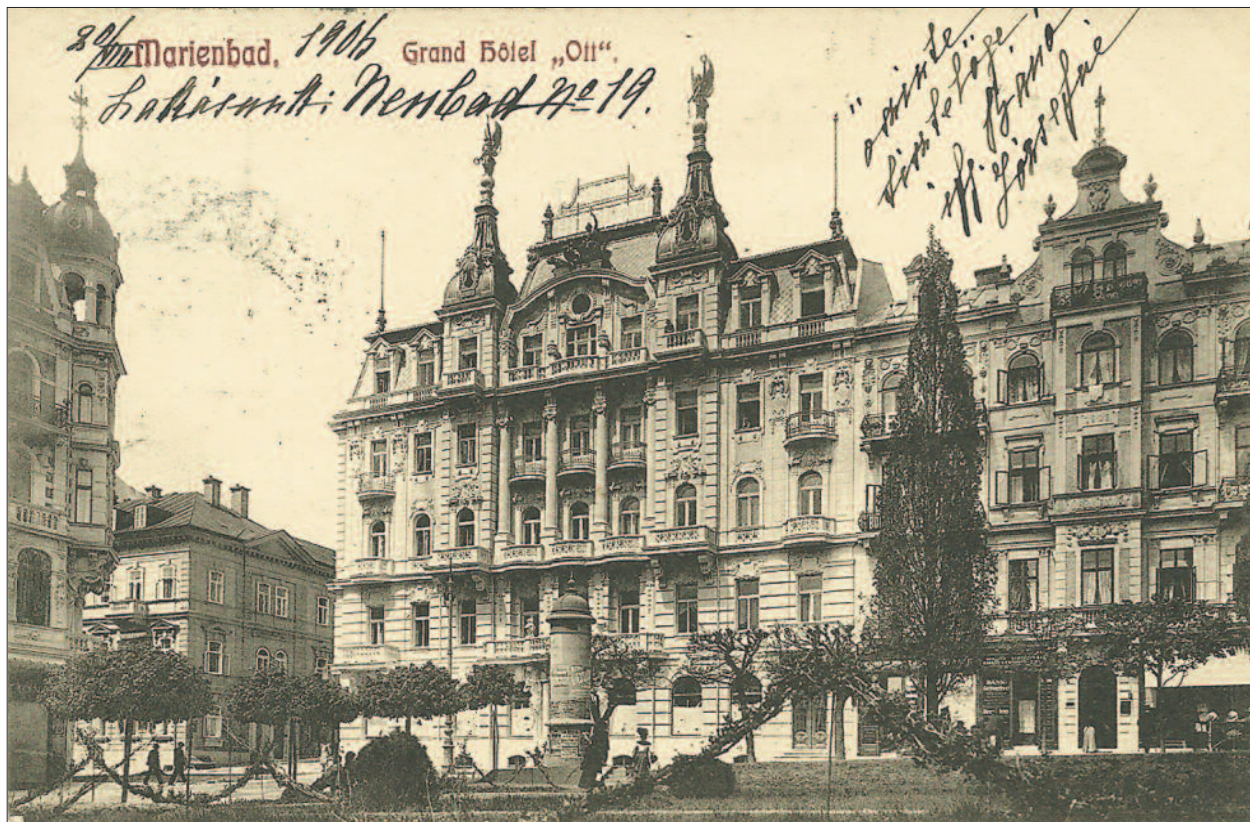


7. ábra

„Marienbad. Kurhaus und Neubad / Ferdinandsbrunnen”



8. ábra
„Marienbad. Neubad.”



9. ábra
„Marienbad. Grand Hotel „Ott”

Schloss Miramonti épületét egy néhány évvel későbbi lapon mutatom be (10. ábra). Kiterjedt parkot szegélyező elegáns épületek láthatók az 1909-ben írt képeslapon (11. ábra). Egy

azonos korú másik lapon a távolban a Neubad és a Kurhaus épülete fedezhető fel, a Ferdinands- és a Kaiserstrasse egy-egy részletével (12. ábra). Az 1912-ben feladott képeslap az



10. ábra

„MARIENBAD – Hotel Schloss Miramonti”



11. ábra

„Marienbad. Parkanlagen.”



12. ábra

„Marienbad. Parkanlagen Blick gegen Neubad, Ferdinands- und Kaiserstrasse”

erdei forrás környékét mutatja (13. ábra). Az egyik népszerű kirándulólhely, a Café Egerländer tűnik szembe az utolsóként bemutatásra kerülő, 1912. szeptember 13-án, a fürdőidény vége felé feladott képeslapon (14. ábra), amin az alábbiak olvashatók: „Én a hideg és esős idő daczára jól érzem magamat, eddig már 5 kg. fogytam le. Egy ismerős százados révén igen jó és kedélyes magyar társaságba kerültem, így hát a na-

pok már jobban mulnak el, bár sétálgatni most sem igen lehet.” Nem véletlen, hogy a hivatalos fürdőidény szeptember végéig tartott.

Köszönetnyilvánítás: A képeslapok fényképeinek elkészítéséért Tátrai Gábornak tartozom köszönettel.



13. ábra

„Marienbad. Waldquellzeile”



14. ábra

„Marienbad. Café Egerländer.”

A dolgozat összeállítása során használt fontosabb forrásmunkák

A Pallas Nagy Lexikona. XII. kötet. Pallas Irodalmi és Nyomdai Rt., Budapest, 1896.

Bade-Orte, Heilquellen und Heilanstalten in Deutschland, Österreich-Ungarn u. der Schweiz. Berlin W., Albert-Goldschmidt, 1908-1909.

Britannica Hungarica. Világenciklopédia. XII. kötet. Magyar Világ Kiadó, Budapest, 1998.

Katona Csaba: Magyar és cseh fürdők az Osztrák-Magyar Monarchiában. Limes. Tudományos Szemle. 2008./1.

Magyar Nagylexikon. XII. kötet, Magyar Nagylexikon Kiadó, Budapest, 2001.

Révai Nagy Lexikona. Az ismeretek enciklopédiája. XIII. kötet. Révai Testvérek Irodalmi Intézet Részvénytársaság, Budapest, 1915.

Szombathy Viktor: Csehszlovákia. Panoráma Útikönyvek. Panoráma, Budapest, 1973.

Új Magyar Lexikon. 4. kötet. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1961.

LÁTOGASSON EL HONLAPUNKRA, ÉS TEKINTSE MEG SZAKKÖNYVKÍNÁLATUNKAT!

WWW.MEDICINA-KIADO.HU

Útmutató szerzőinknek

Az Immunológiai Szemle lektorált folyóirat, amelyben eredeti közleményeket, összefoglaló tanulmányokat, esetismertetéseket, cikkreferátumokat, klinikai vizsgálatok eredményeit, kongresszusi beszámolókat, vegyes híreket és közérdekű leveleket jelentetünk meg az elméleti, klinikai immunológia és reumatológia tárgykörében. A lap a Magyar Immunológiai Társaság (MIT) hivatalos sajtóorgánuma is.

A kéziratokat csak elektronikusan (e-mailben; papíralapon nem szükséges) a főszerkesztőnek küldjék: szekanez.zoltan@med.unideb.hu.

A kéziratot Word fájlként, a lehető legkevesebb formázással készítsék el. A táblázatokat és az ábrákat ne illesszék a szövegbe, azokat a kézirat végén (az irodalomjegyzék után) vagy külön file-ban mellékeljék. Az ábrák címeit, leírását kérjük külön listában tüntessék fel.

A kézirat szerkezetét illetően első-, másod- és harmadrendű alcímet fogadunk el. A kéziratokat a következő tagolással készítsék: címlap, összefoglalás, szöveg, támogatás, köszönetnyilvánítás, irodalomjegyzék, ábraszöveg, táblázatok.

A dolgozat lektorálás utáni, végleges változatát is elektronikus formában kérjük.

Az eredeti közlemények és összefoglaló tanulmányok terjedelme az irodalomjegyzéket, ábrákat és táblázatokat nem számítva maximum 8 szabvány oldal (15 000 karakter) legyen, maximum 10 képpel, illetve táblázattal és 50 irodalmi hivatkozással. A rövid közlemények, esetismertetések, cikkreferátumok hossza maximálisan 3 oldal (5000 karakter), legfeljebb 5 illusztrációval és 20 irodalommal. A helyesírást tekintve az MTA Helyesírási Bizottságának állásfoglalását tartjuk vezérfonalnak. Az írásmódról az Akadémiai Kiadó Orvosi helyesírási szótárában tájékozódhatnak. A rövidítéseket a szövegben az első megjelenés helyén, a rövidítendő kifejezés után, zárójelben tüntessék fel először. Külön rövidítésgjegyzéket csak 20-at meghaladó számú rövidítés esetén kérünk. A laboratóriumi vizsgálatok eredményét lehetőleg SI-egységekben kell megadni.

A címlap tartalmazza a dolgozat címét (maximum 100 karakter, rövidítés nélkül); a szerzők teljes nevét, munkahelyét; a levelező szerző címét, telefon- (esetleg fax-) számát, e-mail címét; a futócímet legfeljebb 40 karakter hosszúságban.

Az összefoglalás (magyar és angol nyelven, mely utóbbihoz az angol címet is meg kell adni) egyenként maximum 300 szó, ne tartalmazzon rövidítéseket. Az eredeti közlemények esetén a tagolás: Célkitűzés; Betegség és módszerek; Eredmények; Következtetések. Összefoglaló közleményeknél nem szükséges az absztraktok tagolása. Az összefoglaló a dolgozat legfontosabb megállapításait és a munka számszerű eredményeit tartalmazza. Az összefoglalók után maximum öt kulcsszót kell feltüntetni (magyar és angol nyelven).

Szöveg: Az eredeti közlemény szerkezete: Bevezetés; Betegség és módszerek; Eredmények; Megbeszélés. Az esettanulmányoknál: Bevezetés; Esetismertetés; Megbeszélés. Összefoglaló közleményeknél az egyes témakörök képezzék a fejezeteket.

A statisztikai módszereket olyan részletesen kell leírni, hogy a hozzáértő olvasó a vizsgálat tervezését és kivitelezését meg tudja ítélni, továbbá az eredményeket az eredeti adatok alapján ellenőrizni tudja. Állatkísérleteknél meg kell adni az állatok pontos identifikációját, gyógyszerek alkalmazásánál a dózist és a felhasználás indokait, klinikai vizsgálatoknál a betegcsoportot jellemző statisztikai adatokat és a válogatás módszerét. Humán és állatkísérleteknél meg kell jelölni az etikai engedély forrását.

Az irodalomjegyzékben csak publikált adatokra hivatkozhatnak. (Közlésre már elfogadott cikk esetén in press megjelöléssel). Kerülendő az absztraktra hivatkozás. A tételeket a hivatkozás sorrendjében, arab számokkal jelöljék. A társszerzők neveinél három szerző után az „et al” kifejezést használják. A folyóiratok nevének rövidítésénél az Index Medicus szabályai az irányadók. Könyvfejezet és könyv esetén meg kell adni a fejezet és/vagy a könyv szerzőit (szerkesztőit), címét, a kiadót, a kiadó városát, a kiadás évét és az oldalszámot.

Közlemény:

1. Kiss B, Nagy G: Pathogenesis of lung cancer. *Oncology Res* 2008; 45: 1123-1129.
2. Kiss B, Nagy G, Közepes B, et al: Pathogenesis of lung cancer. *Oncology Res* 2008; 45: 1123-1129.

Könyvfejezet:

1. Cymbalta K, Rogers H: Spine disorders. In: Gross SD, Minor B (eds): *Rheumatology*. Birkhauser, Basel; 2006; pp 822-862.

Könyv:

1. Gross SD, Minor B (eds): *Rheumatology*. Birkhauser, Basel, 2006.

Ábrák, táblázatok: Az ábrákat digitálisan (jpeg, tif vagy bmp formátumban), csatolt fájlként kérjük elküldeni. A táblázatokat lássák el címmel, a rövidítéseket adják meg.

Kísérőlevél: A szerzők nyilatkozzanak, hogy a dolgozat első közlés, amelyet az Immunológiai Szemle számára közlésre ajánlanak; tartalmát valamennyi szerző ismeri, azzal egyetért, köztük érdekütközés nincs; a cikk megjelenése esetén a közlés jogáról lemondanak; támogatás, érdekltség, érdekellentét feltüntetése indokolt. A levelet a levelező szerző írja alá a társszerzők nevében is nyilatkozva. Írásbeli engedély szükséges, ha már közölt adatot, ábrát használnak fel.

Kefelenyomat: A kefelenyomat a véglegesnek szánt verziót tartalmazza, melyet közlés előtt pdf formátumban kapnak meg a szerzők. Változtatásra vonatkozó kéréseiket egyértelmű, elektronikus úton eljuttatott formában jelezzék (pdf-buborékokba írt szöveggel, a nyomtatott formára írva hagyományos korrektúra-jelkkel, majd szkennelve; szöveges felsorolással a hely pontos megjelölésével).

Határidők (zárójelben a megjelenés ideje): 1. szám: február 28./29. (március 31.), 2. szám: május 31. (június 30.), 3. szám: augusztus 31. (szeptember 30.), 4. szám: november 30. (december 31.).



HYRIMOZ®▼

ADALIMUMAB A SANDOZTÓL

» RA-ban klinikai vizsgálattal bizonyított hatásosság és biztonsági profil¹

» A SensoReady toll könnyen kezelhető²



▼ Ez a gyógyszer fokozott felügyelet alatt áll, mely lehetővé teszi az új gyógyszerbiztonsági információk gyors azonosítását. Az egészségügyi szakembereket arra kérjük, hogy jelentenek bármilyen feltehető mellékhatást az OGYÉ-nek az online közzétett bejelentőlapokon, a közzétett bejelentőlapokon (https://www.ogyei.gov.hu/dynamic/melhat_bejelentolap2015_MG2.pdf) az adr.bav@ogyei.gov.hu e-mail címen, a (+36) 1 886-9472 faxszámon vagy az OGYÉ, 1372 Budapest, Pf 450. levelezési címen.

Irodalom:

1. P. Wiland et al.: A Randomized, Double-Blind, Parallel-Group, Multicenter Study to Compare the Efficacy, Safety and Immunogenicity of a Proposed Adalimumab Biosimilar (GP2017) with Reference Adalimumab in Patients with Moderate-to-Severe Active Rheumatoid Arthritis ABSTRACT NUMBER: 1936 2018 ACR/ARHP Annual Meeting
2. Bernd Tischer et al.: Patients' and nurses' preferences for autoinjectors for rheumatoid arthritis: results of a European survey Patient Preference and Adherence 2018;12:1413-1424

Hyrimoz® 40 mg (adalimumab) oldatos injekció SensoReady előretöltött injekciós tollban

Bővebb információért olvassa el a gyógyszer alkalmazási előírását!

A hatályos alkalmazási előírás teljes szövegét megtalálja az Országos Gyógyszerészeti és Élelmezésegészségügyi Intézet (www.ogyei.gov.hu/gyogyszeradatbazis/) vagy az Európai Gyógyszerügynökség (www.ema.europa.eu) honlapokon.

Elérési útvonal: www.ogyei.gov.hu; Adatbázisok, nyilvántartások; Gyógyszer-adatbázis; Gyógyszer neve: Hyrimoz 40 mg oldatos injekció előretöltött injekciós tollban; Keresés indítása; [Kisérőiratok](#) hiperlink.

A 9/1993. NM. rendelet alapján teljes elszámolás alá eső hatóanyagot tartalmaz, a felhasználásra jogosult intézmények számára a Nemzeti Egészségbiztosítási Alapkezelő központi közbeszerzés keretében szerzi be. **Bruttó fogyasztói ára:** 173 691 Ft. Az aktuális árak tekintetében kérjük, ellenőrizze a www.neak.gov.hu honlapon található információkat!

Elérési útvonal: <http://www.neak.gov.hu>; szakmának: gyógyszer/gyse/gyógyfűrdő; egészségügyi szakembereknek; publikus gyógyszerárak; végleges; Publikus gyógyszerárak – lakossági tájékoztató.

Kizárólag egészségügyi szakembereknek szóló kommunikáció. Kérjük, ne tegyék a fogyasztók részére elérhetővé vagy láthatóvá!

A dokumentum lezárásának időpontja: 2019. január 14. • SHYR566/01.19

ÚJ, TELJESEN HUMÁN IL-6 RECEPTOR INHIBITOR

KEVZARA[®]
(sarilumab) injekció
200 mg | 150 mg



Kérjük olvassa el a gyógyszer részletes alkalmazási előírását:

https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kevzara-epar-product-information_hu.pdf

Ez a gyógyszer fokozott felügyelet alatt áll, mely lehetővé teszi az új gyógyszerbiztonsági információk gyors azonosítását. Az egészségügyi szakembereket arra kérjük, hogy jelentsenek bármilyen feltételezett mellékhatást. A mellékhatások jelentésének módjairól a 4.8 pontban kaphatnak további tájékoztatást.

A készítmény kihirdetett árral és támogatással nem rendelkezik.

Sanofi-Aventis Zrt., 1045. Budapest, Tó utca 1-5.
Tel: (+36 1) 505 0050- Fax: (+36 1) 5051470
Gyógyszerinformációs szolgálat: (+36 1) 505 0055, www.sanofi.hu
Lezárás dátuma: 2019. 09. 18. GZHU.SARI.19.09.0047

SANOFI GENZYME