

**A FERTŐZÉSEK HATÁSA AZ ALLERGIÁS  
RENDELLENESÉGEK KIALAKULÁSÁRA**

**Ph.D. tézisek**

**Major Tamás M.D.**

**Szegedi Egyetem**

**Orvosi Mikrobiológiai Intézet**

**Szeged, 2004.**

## TARTALOM

1	<b>BEVEZETÉS</b> .....	5
2	<b>CÉLKITŰZÉS</b> .....	6
2.1	<b>A Th1 immunválasz allergén által indukált légúti eosinophiliára való hatásának vizsgálata</b> .....	6
2.2	<b>Előzetes, a Th2 típusú allergiás reakcióban Th2 immunválaszt ekoidézó féregfertőzés felbecsülése</b> .....	6
2.3	<b>Az I. osztályú Major Histocompatibilitási Complex molekulák allergiás reakcióban játszott szerepének vizsgálata</b> .....	
	Hiba! A könyvjelző nem létezik.	
2.4	<b>Előzetes allergén immunizációt követő vírusfertőzések hatásának feltárása (II.)</b> ....	7
3	<b>EREDMÉNYEK</b> .....	8
3.1	<b>HK-BCG intrapulmonális adása gátolja az OVA által indukált légúti eosinophiliát (I, III)</b> .....	8
3.2	<b>A Nippostrongylus brasiliensis fertőzés hatásai az ovalbumin által kiváltott légúti eosinophiliára</b> .....	10
3.3	<b>Az I. osztályú Major Histocompatibility Complex molekulák szükségesek az OVA által kiváltott légúti eosinophilia kifejlődéséhez</b> .....	12
3.4	<b>Influenza fertőzés Flu antigén által indukált cután anaphylaxiához vezet egereknél II)</b> .....	13
4	<b>MEGBESZÉLÉS</b> .....	16
4.1	<b>Mind az élő, mind az elölt baktériumok fellépnek az VA által indukált légúti eosinophiliával szemben és képesek elnyomni az allergiás gyulladást (I,III)</b> .....	16
4.2	<b>Influenza fertőzés Flu antigén által indukált cután anaphylaxiához vezet egereknél II)</b> .....	16
5	<b>KÖVETKEZTETÉSEK</b> .....	18
5.1	<b>HK-BCG gátolja az allergén által indukált Th2 válaszokat (I, III)</b> .....	18
5.2	<b>A férgek által indukált Th2 immunválasz képes elnyomni, vagy potenciálni az allergén által kiváltott Th2 választ, az alkalmazás idejétől ügően</b> .....	18

<b>5.3</b>	<b>Az I. osztályú MHC molekulák szükségesek a Th2 válaszban a II. Osztályú MHC molekuláktól függő antigén prezentációhoz .....</b>	<b>19</b>
<b>5.4</b>	<b>A Flu virus-specifikus IgE antitestek hízósejt degranulációt váltanak ki allergiás reakcióhoz vezetve (II).....</b>	<b>19</b>
<b>6</b>	<b>KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁSOK.....</b>	<b>20</b>
<b>7</b>	<b>IRODALOM.....</b>	<b>21</b>

## 1 Előjáróban

Ezek a tézisek az alábbi, a római számok sorrendjében felsorolt cikkeken alapszanak:

- I. Major, T., Wohlleben, G., Reibetanz, B. & Erb, K.J. Application of heat killed mycobacterium bovis-BCG into the lung inhibits the development of allergen-induced Th2 responses. *Vaccine* 2002; 20: 1532-40.
- II. Grunewald, S. M., Hahn, C., Wohlleben, G., Teufel, M., Major, T., Moll, H., Broucker, E. B. Erb, K. J. Infection with influenza A virus leads to flu antigen-induced cutaneous anaphylaxis in mice. *J Invest Dermatol* 2002;4: 645-51
- III. Major, T., Szilvasy, B., Wohlleben, G., Erb, KJ. Heat-killed Mycobacterium bovis- Bacillus Calmette-Guerin prevents experimental respiratory tract eosinophilia in mice. *Orv Hetil.* 2002;143(22):1361-6.

## 2 Bevezetés

Az asthma világméretű probléma, ami szociális terheket és költséget jelent, így mind a köz-, mind a magán egészségügyi ellátó rendszer számára fontos. Hathatós bizonyítékaik vannak az asthma prevalencia növekedésének számos országban, főként a “westernizált” társadalmakban. Az atopiás betegségek és az asthma jelen nagyfokú elterjedtsége bizonyos gyermekkori fertőzések számának csökkenésére, vagy az első életévekben széles körben előforduló fertőző tényező általános hiányára, mint következményre vezethető vissza. 1989-ben Strachan javasolt egy új, de spekulatív magyarázatot az allergiás betegségek száma terén megfigyelhető emelkedés okának magyarázatára, melyet szóban „higiéné hypothesis”-nek nevezett.<sup>1</sup> Ez a magyarázat a westernizált társadalmakban észlelhető prevalencia emelkedést *a családok nagyságának múlt századtól bekövetkező csökkenése, a háztartások kényelmének növekedése és a személyi tisztaság fokának javulása által a fiatal családokban előforduló kereszt-fertőzések lehetőségének csökkenésére* alapozza. Először szkepticizmus fogadta ezt a hypothesis, mivel az uralkodó immunológiai gondolkodás szerint a fertőzés inkább lehetséges kiváltója, mint sem védő hatású tényezője az allergiás szenzitációnak.<sup>2</sup> Mindazonáltal, a 90-es évek elején felismerésre került laboratóriumi állatoknál a Th1 és Th2 lymphocyták közti mechanizmus különbözősége és, hogy a bakteriális és virális fertőzések elleni „természetes immunitás” Th1 választ indukál cytokinek felszabadulásával, ami potenciálisan elnyomja a Th2 immunválaszt, beleértve az IgE által mediált allergiát. Bár a Th1/Th2 minta nem egészen olyan egyértelmű embereknél, mint az először annak látszott rágcsálóknál, a “higiéné hypothesis” mind az immunológusok, mind az epidemiológusok érdeklődésének tárgya maradt a 90-es évek során.<sup>3,4</sup>

Tanulmányunkban a fertőzések és allergiás rendellenességek közötti összefüggéseket kívántuk demonstrálni, ezért a különféle fertőző ágensek Th2 immunválasz kifejlődésében játszott szerepét vizsgáltuk. Ennek érdekében egereknél ovalbumin adásával allergiás reakciót váltottunk ki, majd baktériumokkal, férgekkel, vagy vírusokkal fertőztük az állatokat.

### **3 Célkitűzés**

#### **3.1 A Th1 immunválasz allergén által keltett légúti eosinophilia kialakulására kifejtett hatásának vizsgálata. (I.)**

Érdeklődésünk fókuszában a Th1 immunválasz allergén által keltett légúti eosinophilia kialakulására kifejtett hatásának vizsgálata állott. Erőteljes Th1 immunválasz kifejtésére élő *Bacillus Calmette-Guerin*-t (BCG), hővel elölt *Bacillus Calmette-Guerin*-t (HK -BCG), és Purified Protein Derivative of *Mycobacterium tuberculosis*-t (PPD) alkalmaztunk OVA immunizáció előtt. A BCG OVA által keltett légúti eosinophiliát gátló hatását a munkacsoport már korábban közölte. A jelen vizsgálatsorozat fő tárgya az volt, hogy vajon a baktériumnak élőnek kell lennie, ahhoz, hogy ezt a tulajdonságát megőrizze?

#### **3.2. Megelőző féreg fertőzés által kiváltott Th2 immunválasz Th2 típusú allergiás reakcióra gyakorolt hatásának feltárása.**

További tárgyat képezte munkánknak a megelőző féreg fertőzés által kiváltott Th2 immunválasz Th2 típusú allergiás reakcióra gyakorolt hatásának feltárása. Ebből a célból vizsgálat sorozatot végeztünk, melynek során egereket fertőztünk féreggel, majd OVA-nal immunizáltuk azokat a fentebb leírt protokoll szerint. Az egerekben erőteljes immunválasz eléréséhez egy metazoon féreg fajtát, a *Nippostrongylus brasiliensis*-t használtuk, ami a rágcsálóknál ubiquiter patogén.

#### **3.3 Az I. osztályú Major Histocompatibilitási Complex molekulák allergiás gyulladásban játszott szerepének vizsgálata.**

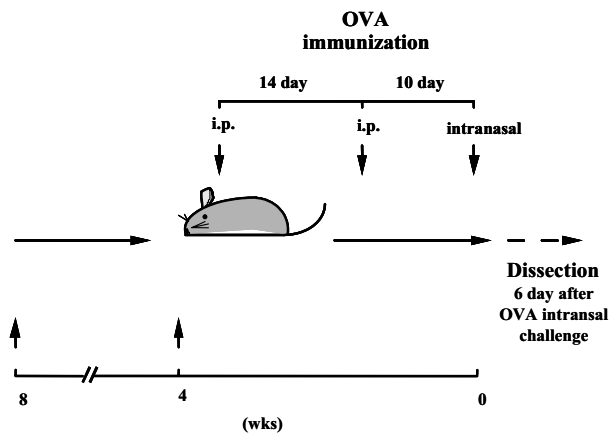
Az allergiás reakcióban végbemenő antigén prezentáció részleteinek vizsgálata során az I. osztályú Major Histocompatibility Complex (MHC) sejtfelszíni molekulák kerültek érdeklődésünk központjába. Ennek a munkának a célja annak azonosítása volt, hogy vajon a Th2 immunválasz képes-e kialakulni OVA immunizáció alkalmával I. osztályú MHC molekulák jelenléte nélkül? Ennek a kérdésnek a megoldására tanulmányt végeztünk, amelynek során I. osztályú MHC-hiányos és kontroll egereket immunizáltunk azonos OVA immunizációs protokoll szerint.

### **3.4 A vírus fertőzések előzetes allergén immunizációra kifejtett hatásának feltárása (II.).**

Az összegyűjtött epidemiológiai adatok és klinikai megfigyelések szerint a fertőzések által kiváltott Th1 válasz szerepe az allergiás rendellenességek kialakulásában ellentmondásos. Mint azt már korábban kifejtettük, ezek a tényezők nemcsak a Th2 válasz elnyomásáért felelősek egy éretlen immunrendszerben, hanem beindíthatják az allergiás tünetek újra fellángolását. Ez különösen igaz a légúti vírusok, mint az influenza, vagy az RSV esetében. A légúti vírus fertőzések megelőző allergén immunizációra gyakorolt hatásának feltárására BALB/c egereket tettünk ki OVA hatásának intranasális úton egy nap eltéréssel és ezt követően fertőztük azokat influenza A vírusokkal.

## 4 Eredmények

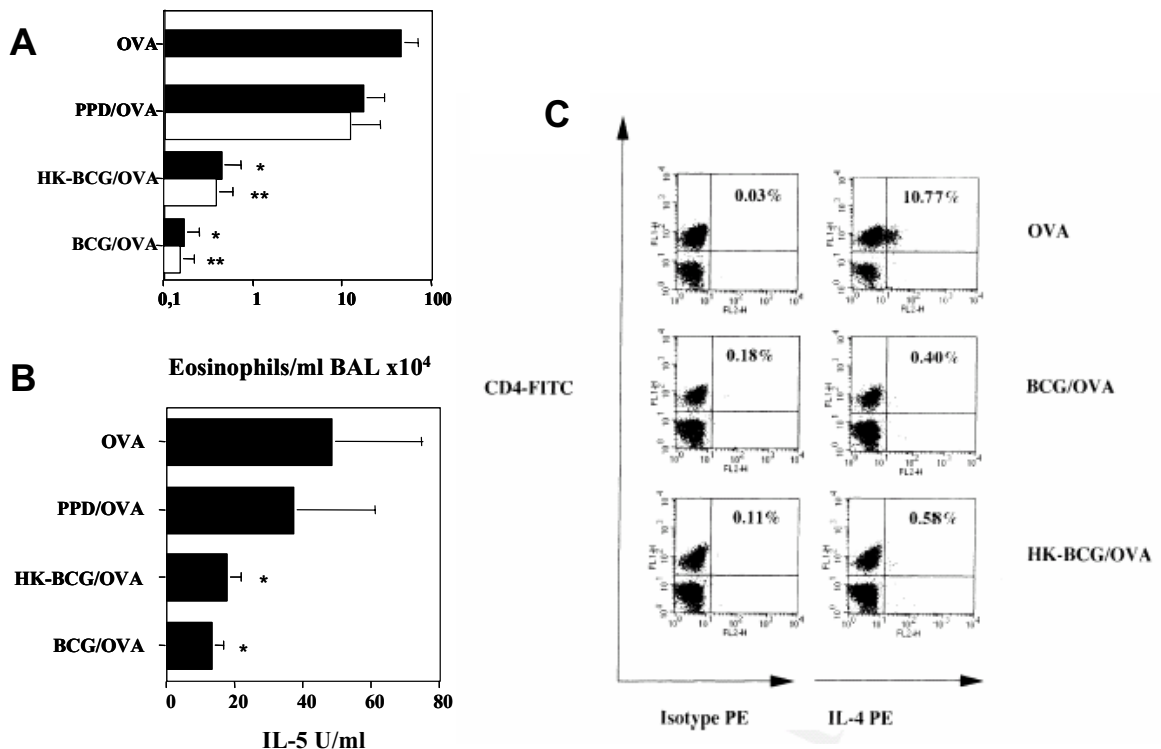
### 4.1 HK-BCG alkalmazása a tüdőben gátolja az OVA által kiváltott légúti eosinophilia kialakulását (I, III).



**Figure 1.** Experimental protocol for BCG, HK-BCG, PPD-OVA immunization experiments

C57Bl/6 egereket előkezeltünk intranasálisan  $2 \times 10^6$  CFU BCG-vel, HK-BCG-vel, vagy PPD-vel négy és nyolc héttel az intranasális OVA provokáció előtt. (1. ábra). Az eredményeket összefoglalva, világosan állíthatjuk, hogy az intranasálisan alkalmazott BCG, vagy HK-BCG vakcináció, melyet négy, vagy nyolc héttel a légúti allergén provokáció előtt adva a légúti eosinophilia. Ez a hatás korrelációt mutatott az IL-5-t termelő Th2 sejtek csökkent

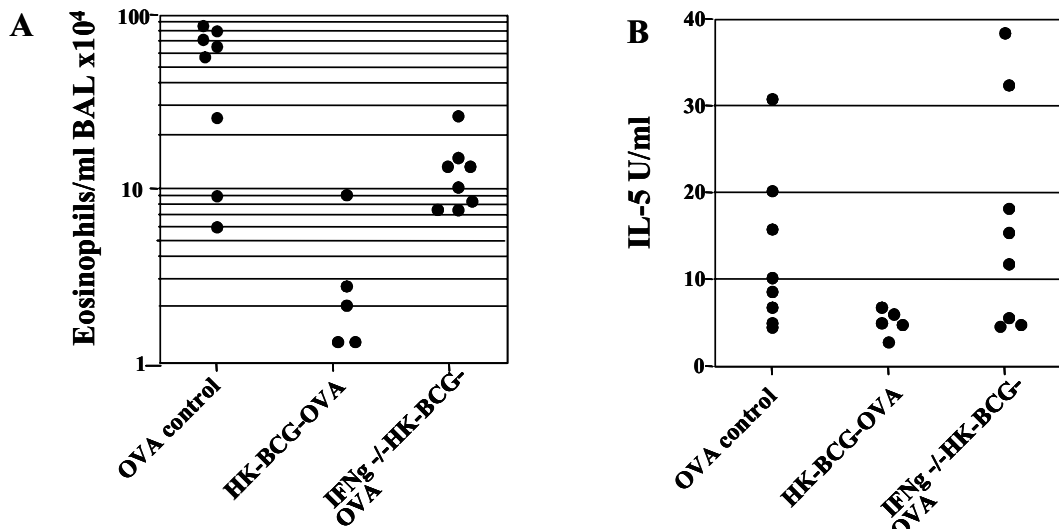
számával az OVA-val provokált egerekben (2 A-C ábra).



**Figure 2 A:** Shown are the average numbers of eosinophils  $\pm$  SD present in the BALs of 5–6 mice/group (A).  $P < 0.05$ .  $P < 0.001$ , compared to values obtained in OVA-only treated mice. **B:** Shown is the average amount of IL-5 present in the MLN cultures from six mice per group with SD determined by ELISA.  $P < 0.05$ , compared to values obtained in mice only immunized with OVA. **C:** Shown are FACS-stainings gated on CD4+ T cells representative of six mice per group. The percentage of CD4+ T cells positively stained for IL-4 production is indicated



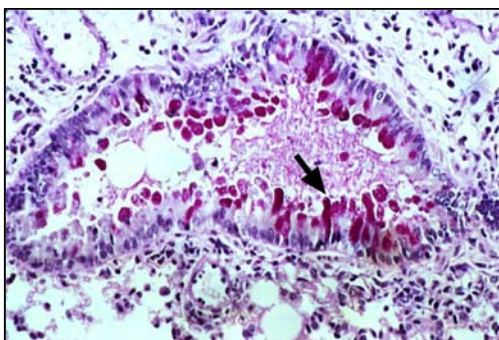
A légúti eosinophilia szupressziója és a Th2 sejtek számának csökkenése, amit a BCG és HK-BCG váltott ki, a tüdőre korlátozódott, a szisztémás Th2-függő OVA specifikus B sejtek általi IgG1 és IgE termelés nem csökkent az intranasálisan adott élő, és hővel előlt mykobaktériumok hatására (nincsenek közölt adatok).



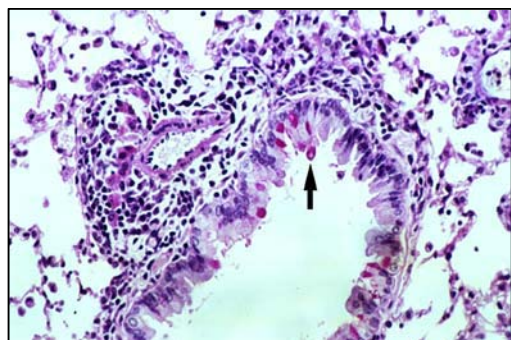
**Figure 3.** HK-BCG-induced suppression of airway eosinophilia and reduction of IL-5 secretion by MLN cells was dependent upon the presence of IFN- $\gamma$ . Shown are the numbers of eosinophils present in the BALs (A) and the amount of IL-5 secreted by the MLN cells after *in vitro* restimulation with anti-CD3/IL-2 of individual mice (B).

Annak a kérdésnek az eldöntésére, hogy vajon az IFN- $\gamma$  is részt vett-e a HK-BCG-által kiváltott légúti eosinophilia gátlásban, IFN- $\gamma$  deficiens és kontroll egereket vetettünk alá ugyan annak az OVA immunizációs protokollnak, és fertőztünk meg négy héttel az intranasális provokáció előtt, ami a légúti eosinophilia erősen csökkent szupresszióját eredményezte az IFN- $\gamma$  deficiens egereknél (3 A, B ábra).

Szövetetani metszeteket készítettünk a csak OVA és a HK-BCG-OVA kezelt egerek tüdejéből, és a nyáktermelés szignifikáns csökkenését észleltük a HK-BCG kezelt csoporthoz viszonyítva (4. A, B ábra).



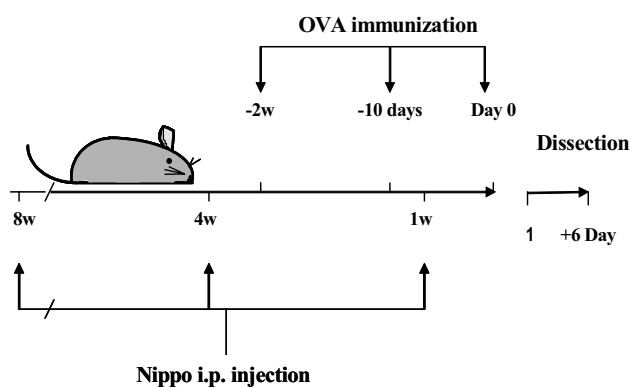
**Figure 4 A:** Mucus produced by goblet cells in OVA-induced allergic reaction. PAS staining



**Figure 4 B:** Mucus produced by goblet cells in HK-BCG pretreated, OVA-induced allergic reaction. PAS staining

Összegezve, ezeknek a vizsgálatoknak az eredményei világosan mutatják, hogy a hővel előlt mycobaktériumok képesek az ovalbumin által kiváltott gyulladás elnyomására egereknél. Úgy tűnik, hogy a légúti eosinophilia elnyomása Th1 immunválasz által vezérelt, mivel az OVA által kiváltott eosinophilia elnyomása nem volt kimutatható IFN- $\gamma$ -hiányos egereknél.

## 4.2 A *Nippostrongylus brasiliensis* fertőzés hatása az ovalbumin által kiváltott légúti eosinophiliára.



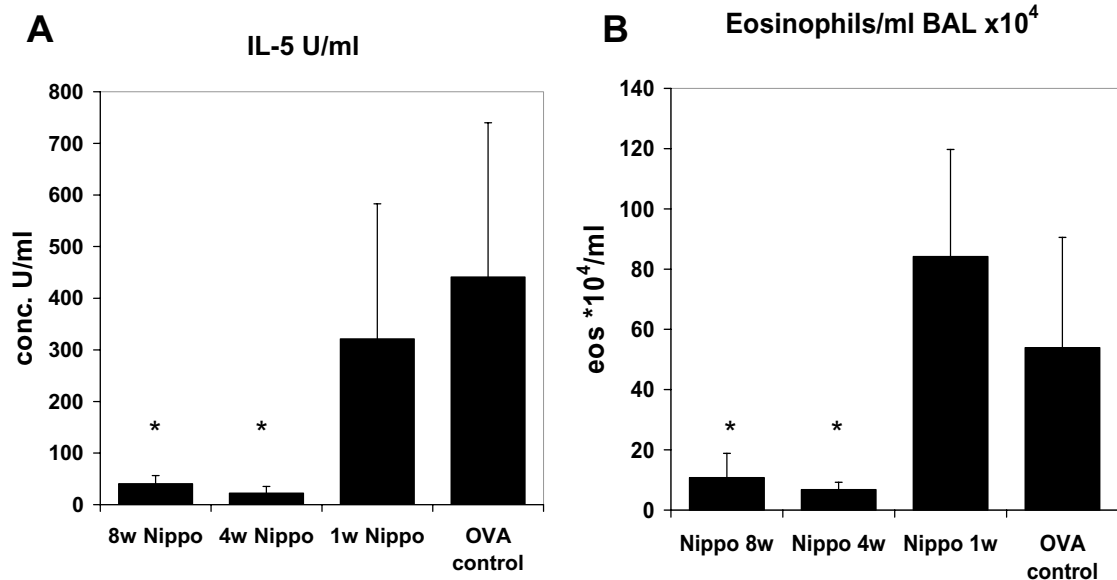
**Figure 5.** Experiment design for *Nippo* infection-OVA immunization experiment. Mice were infected with *Nippo* 8, 4 and 1 wk before OVA intranasal challenge. The mice received OVA immunization treatment according to the protocol mentioned above. Mice were harvested 6 days after OVA intranasal challenge.

Ezeknek a tanulmányoknak a tárgya annak meghatározása volt, hogy az előzetes féregfertőzés következtében növekszik, vagy csökken-e az azzal össze nem függő allergén által kiváltott eosinophilia a légutakban.. C57-B1/6 egereket fertőztünk *Nippo*-val 8, 4 és 1 héttel az OVA immunizáció és intranasális provokáció előtt. BALF-ot nyertünk 6 nappal a provokáció után és mértük a sejtes, valamint humorális immunválaszt (**Figure 5**).

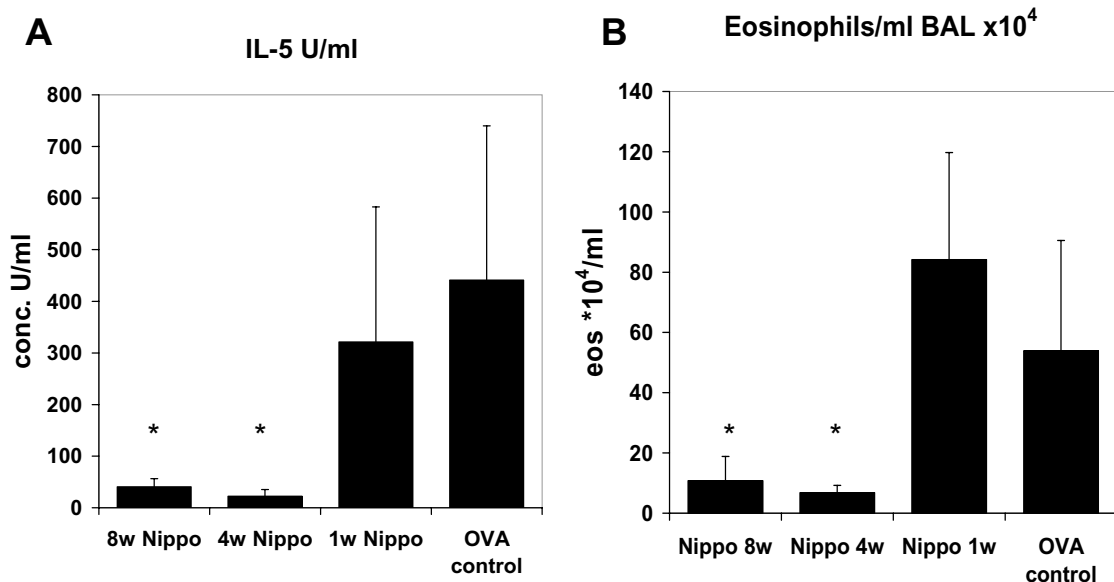
Eredményeink az IL-5 termelés csökkenését mutatták a sejttenyészetekben, melyeket az OVA szenzitáció előtt 8 és 4 héttel (de nem 1 héttel) *Nippo*-val fertőzött egerek mediastinális nyirokcsomóiból készítettünk. (**6 A ábra**). Megnövekedett IL-5 és csökkent IFN- $\gamma$  protein szintet is megfigyeltünk a BALF-ban (az adatokat nem tüntettük fel). Ugyan akkor a légúti eosinophilek felhalmozódásának a növekedését nem, hanem inkább szignifikáns csökkenését figyeltük meg az OVA szenzitáció előtt 4 és 8 héttel, parazitával fertőzött egereknél, szemben a csak 1 héttel az OVA kezelés előtt fertőzött csoporttal és a csak OVA expozíciónak kitett egerekkel (**6 B ábra**).

Ezek az eredmények azt sugallják, hogy a megelőző féregfertőzés elősegítheti a szisztémás Th2 típusú választ, de ezzel párhuzamosan elnyomja a tüdőben az allergén-specifikus IgE válaszokat és az eotaxin termelést a válaszban további allergén expozíciók során, függésben a fertőzés idejétől.

Eredményeink felvetik egy megzavart közömbösítési folyamat létezését két különböző Th2 immunválasz között, amelyek természetükben hasonlóak, de különböző eredetűek.



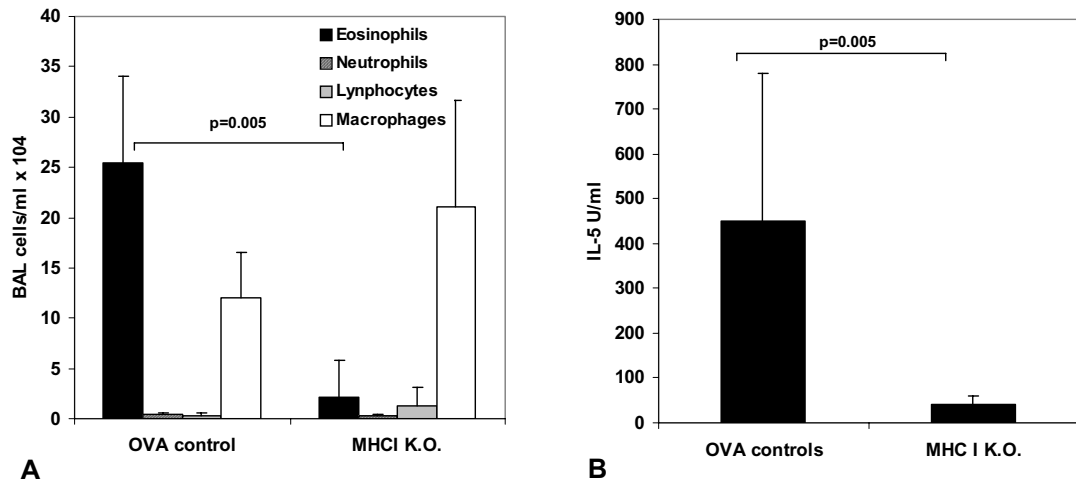
**22 ábra. A:** Megnövekedett IL-5 szintek az OVA intranasális immunizáció előtt 4 és 1 héttel fertőzött csoportban, összehasonlítva az OVA kontrollal. **B:** A BALF eosinophilia szuppressziója az OVA intranasális immunizáció előtt 8 és 4 héttel fertőzött csoportban, Érdekes módon egy szignifikáns növekedést lehet megfigyelni abban a csoportban, amelyiknél az OVA immunizáció előtt 1 héttel történt a Nippo fertőzés. \*  $P \geq 0.005$



**Figure 6 A:** Increased IL-5 levels in the Nippo 4 and 1 week prior to OVA intranasal immunization infected groups versus OVA controls.

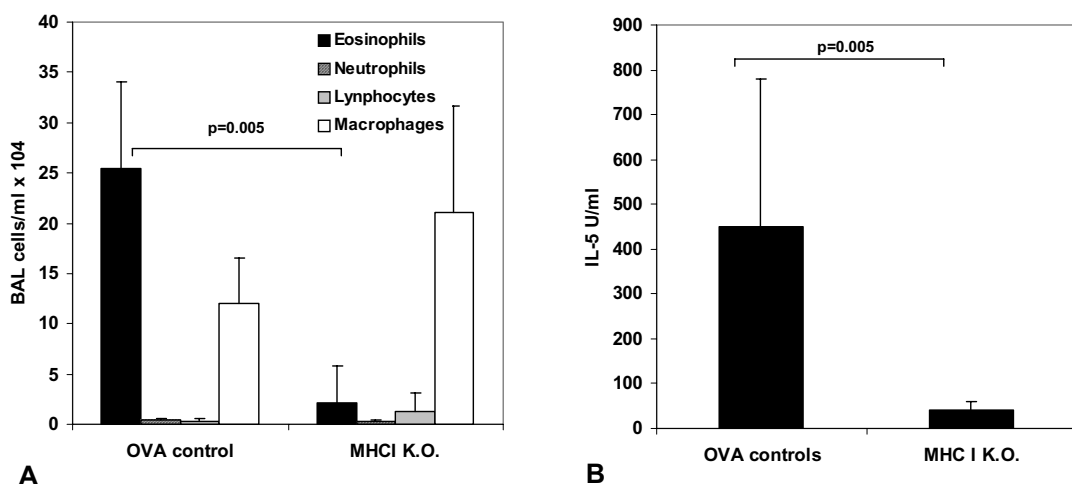
**B:** BAL eosinophilia is suppressed in the groups infected 8 and 4 weeks before OVA intranasal challenge. Interestingly a significant increase can be observed in the group, which was Nippo infected one week before OVA immunization. \*  $P \geq 0.005$

### 4.3 I. osztályú Major Histokompatibilitási Complex molekulák szükségesek az OVA által kiváltott légúti eosinophilia kialakulásához.



**23.ábra, A:** A BALF gyulladásosejtek az OVA kontrollcsoportban és az MHC I. „knockout” egereknél. Az eosinophilek száma emelkedett volt az OVA kontrolloknál, míg nem változott az I. osztályú MHC „knockout” egereknél. **B:** Az IL-5 szintek az MLN-ből származó T sejtenyészetek felülúszójában. Szignifikánsan magasabb IL-5 szinteket mértünk az OVA kontrolloknál, összehasonlítva az I. osztályú MHC „knockout” egereknél.

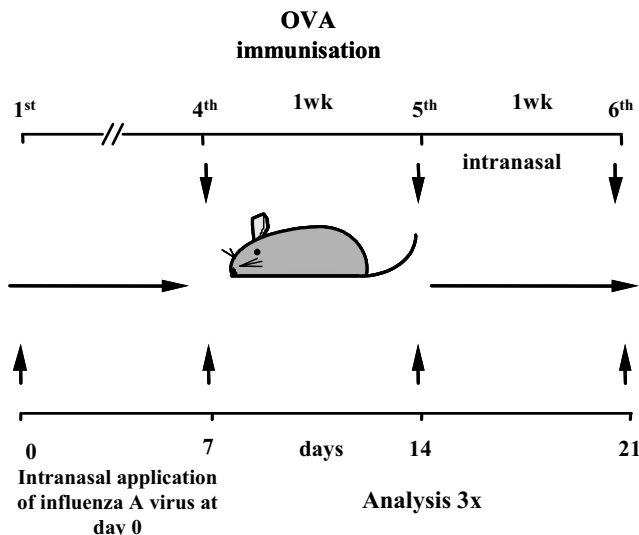
Feltettük azt a kérdést, hogy vajon az I. osztályú MHC molekulák szükségesek-e a sikeres antigén prezentációhoz az antigén-specifikus immunválaszokban? A kérdés megválaszolásához kísérletet terveztünk, aminek az OVA által kiváltott légúti eosinophilia mértékét hasonlítottuk össze I. osztályú MHC hiányos és normál egereknél. MHC I „knock out” egereket és C57/Bl6 egereket, mint kontrollokat immunizáltunk OVA-nal ugyanolyan protokoll szerint, mint amit a korábbi kísérletekben használtunk. Hat nappal az intranasális



**Figure 7. A:** BALF inflammatory cells in OVA controls and MHC I knockouts. Eosinophils were increased in OVA controls, whereas no change was detected in the numbers of eosinophils in the MHC class I knockout mice. **B:** IL-5 levels in the supernatants of the T cell cultures from the MNL. Significantly higher levels of IL-5 were measured in OVA controls as compared to MHC class I knockouts.

OVA provokáció után az állatokat feláldoztuk, BAL-t végeztünk és felboncoltuk. Eredményeink szerint az MHC I. hiányos egereknél meggyúdul az eosinophilia kialakulása OVA immunizáció után, a kontrollokkal összehasonlítva [Major, 2002 #287] (**23 ábra, A**). Az Interleukin-5 szintet mértük a tüdőt drenáló nyirokcsomókból nyert sejtek tenyészetének felülúszójában, ami szignifikánsan magasabbnak mutatkozott az OVA kontrollcsoportban, mint az MHC I. hiányos egereknél (**I**) (**7 A ábra**). Az Interleukin-5 szintet mértük a tüdőt drenáló nyirokcsomókból nyert sejtek tenyészetének felülúszójában, ami szignifikánsan magasabbnak mutatkozott az OVA kontrollcsoportban, mint az MHC I. hiányos egereknél (**7 B ábra**).

#### 4.3 Influenza fertőzés Flu antigén által kiváltott cután anaphylaxiához vezet egerekben (II)

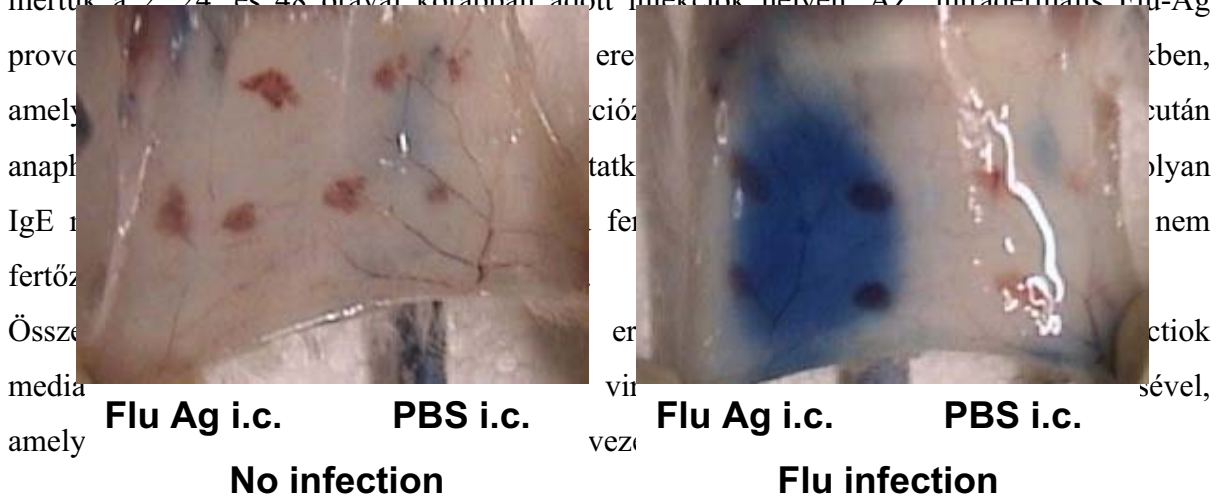


**Figure 8.** Experimental design for intranasal OVA sensitization and flu infection experiments.

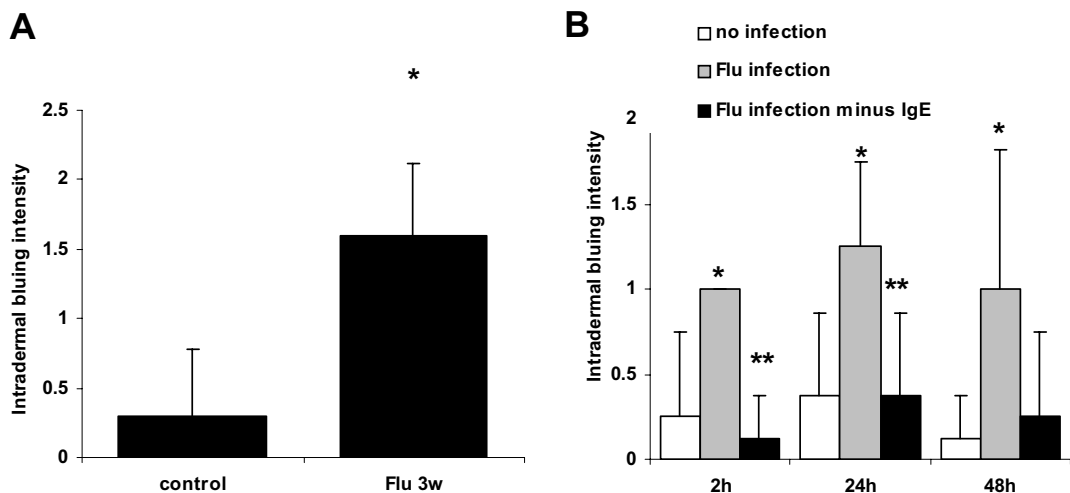
Annak a kérdésnek a megválaszolására, hogy vajon a vírusfertőzések hízósejt degranulációhoz vezethetnek-e, egereket fertőztünk influenza A vírussal és az ez által, a tüdőben kiváltott gyulladást vizsgáltuk szövettanilag. Ebből a célból tüdő metszeteket készítettünk a fertőzés előtt és a 7., a 14. és 21. fertőzés utáni napon (**8. ábra**). Megvizsgáltuk, hogy

vajon a flu vírussal fertőzött egereknél 3 hét alatt kifejlődik-e aktív cután anaphylaxia, ha egy újabb Flu Ag kihívásnak tesszük ki az állatokat. Ezzel a céllal az egerekbe EvansbBlue festéket, majd Flu Ag-t és PBS-t fecskendeztünk intradermálisan, két, előre megjelölt helyen. 15 perc elteltével a hízósejt degranuláció a festett vérszérumszuszpenzióját véltotta ki, ezáltal a vírus-antigénnel oltott állatoknál az injekciós bőrterületen kék folt keletkezését előidézve. (**9 ábra**). A kék folt képződésének elmaradása a nem fertőzött egereknél jelzi, a hízósejt degranuláció hiányát a vírus antigén provokáció után. Intradermális Flu-Ag injekció után, azok az egerek, amelyeket flu-vírussal fertőztünk, lényegesen kifejezettebb hízósejt degranulációt mutattak, mint a nem fertőzött kontroll állatok (**10 A ábra**). Ki akartuk zárni a nem specifikus, vírusok által megváltoztatott hízósejt reaktivitást és bizonyítani, hogy a

specifikus IgE molekulák felelősek a hízósejtes degranulációs hatásért. Ennek érdekében a flu fertőzött egerek szérumát passzívan átvittük a nem fertőzött állatokba és a passzív cután anaphylaxiát tanulmányoztuk a fentebb már említett protokoll szerint. Ebből a célból nem fertőzött egereket injekcióztunk intradermálisan 50  $\mu$ l normál, vagy IgE mentes szérummal, olyan egerekből, amelyeket flu vírussal fertőztünk 3 héttel korábban. A lokális anaphylaxiát mértük a 2, 24 és 48 órával korábban adott injekciók helyén. Az intradermális Flu-Ag



**Figure 9.** Mice infected with flu virus show Flu-Ag-specific active cutaneous anaphylaxis.



**Figure 10 A:** Average bluing intensity with SD of the different groups of mice after active cutaneous anaphylaxis (10 mice per group; \*statistical significance in comparison with uninfected controls).

**B:** Passive cutaneous anaphylaxis. Cutaneous anaphylaxis was measured 2, 24, and 48 h later in the sites of previous injection as described above. Data shown are the average bluing intensity with SD (four mice per group). (\* statistical significance in comparison with uninfected controls; \*\* statistical significance in comparison with flu-infected mice).



## 5 Megbeszélés

### 5.1 Mind az élő, mind az elölt baktériumok OVA által kiváltott légúti eosinophilia ellenében történt alkalmazása egyértelműen elnyomta az allergiás gyulladást (I, III).

Eredményeink világosan bemutatják, hogy az élő és HK-BCG,—de a PPD nem,—egerek tüdejébe juttatva, elnyomja az OVA által kiváltott légúti eosinophiliát. Tovább lépve, az allergén provokáció után fellépő nyáktermelést ugyancsak gátolta az élő és HK-BCG alkalmazása. Ez azt sugallja, hogy az élő és elölt mycobacteriumok gátolják a Th2 sejtek összegyülekezését és a tüdőbe történő „hazatérését” légúti OVA provokáció után. Saját kísérleteinkben szintén észleltük, hogy a légúti eosinophilia gátlása legalább is nagymértékben IFN- $\gamma$  -függő volt.. Mivel az IFN- $\gamma$ -át túlnyomó részben a Th1 típusú sejtek termelik, ezek az észlelések azt sugallják, hogy mind az élő, mind a HK-BCG által indított Th1 immunválasz felelős az allergiás Th2 tüdőbeli válasz gátlásáért. Alátámasztják ezt a nézetet azok a korábban közölt észlelések, amelyek szerint a Th2 sejtek fogyatékos „homing”-ot mutatnak a gyulladás helyét illetően domináló Th1 gyulladássalos válasz esetén<sup>5</sup>.

Eredményeink azt sugallják, hogy a HK-BCG a proteinek mellett tartalmazhat más komponenseket, amelyek felelősek lehetnek a légúti eosinophilia gátló hatásáért, mivel a BCG-ből és a *M. tuberculosis*-ből származó fehérjék nagyfokú hasonlóságot mutatnak. . Az alkalmazott HK-BCG, az allergiás Th2 válasz gátlásáért felelős, potenciális alkotórészei lehetnek a CpG oligodeoxynucleotidok (CpG-ODN). CpG-ODN-ok a BCG bakteriális DNS-ának részei, (a DNS immun-stimuláló hatásának korábbi vizsgálata során fedezték fel) és *M. bovis* [24] DNS-ából vonták ki, továbbá bemutatták egereknél az allergiás asthma kifejlődését elnyomó hatását<sup>6-8</sup>.

### 5.2 Influenza A vírusfertőzés Flu antigén által kiváltott cután anaphylaxiához vezet egereknél (II.)

A vizsgálat eredményei világosan mutatják, hogy az influenza A vírus elleni immunválasz BALB/C egereknél erősen sarkított Th1 irányba, de rendelkezik egy kisebb Th2 összetevővel is.

Ez látható az IFN- $\gamma$  nagy mennyiségéből, az IL-4 hiányából és a Flu-Ag, vagy anti-CD3 *in vitro* restimuláció után, az MLN sejtek által szekretált IL-5 alacsony szintjéből.is. Alacsony



számú eosinophilt lehetett kimutatni a tüdőben a fertőzés után, a fertőzött egerek szérumban észlelt flu-specifikus IgE alacsony szintjével együtt.

Érdekes módon, be tudtuk mutatni, hogy a flu vírussal fertőzött egereknél vírus-specifikus IgE antitestek fejlődtek ki, és aktív cután anaphylaxia alakult ki Flu-Ag intradermális befecskendezése után. Passzív cután anaphylaxia szintén igazolható volt, ami amellet szólt, hogy a kimutatott vírus-specifikus immunglobulinok, és nem a vírusok által gerjesztett hízósejt elváltozások közvetítették ezt a hatást. Észleléseink, miszerint a flu-fertőzött egerek specifikus IgG1 titere sokkal magasabb volt, mint a specifikus IgE titerek, már közöltészlelésekkel együtt amellet szólt, hogy mind a lokális, mind a szisztémás anaphylaxis előfordulhat IgE hiányában is, sugallja, hogy az IgG1 mediálhatja az allergiás bőr-reaktivitást.<sup>9,10</sup> Mindazonáltal, ki tudtuk mutatni, hogy az IgE passzív átvitele a kimerített flu szérumból erősen csökkenti az allergiás bőr-reaktivitást, és, hogy a lokális anaphylaxiás reakció fennmarad 48 óráig a szérum passzív átvitele után, jelezve, hogy a hízósejt degranulációt főként a vírus-specifikus IgE mediálja.

## 6 Következtetések

Az allergiás rendellenességek nagy mértékű egészségügyi kockázatot jelentenek a fejlett országokban és nincsenek adatok a hatásos megelőző lehetőségekről. Léteznek összegyűjtött adatok, melyek a gyermekkori csökkenő számú fertőző betegség asthma prevalenciát és súlyosságát fokozó szerepéről szólnak.<sup>1,11,12</sup> Állatkísérletek világosan mutatják, hogy allergén-specifikus Th1 választ előidéző hatásuk hatásosan elnyomhatja az allergiás Th2 immunválaszt különböző megközelítést használva.<sup>13,14</sup> Saját kísérletes egér modellünkben be tudtuk mutatni a főbb kórokozók (bakteriális, féreg és vírusfertőzések) néhány fontos, az allergének által kiváltott légúti eosinophiliára gyakorolt hatását.

### **6.1 Mind az élő, mind az elölt baktériumok OVA által kiváltott légúti eosinophilia ellenében történt alkalmazása egyértelműen elnyomta az allergiás gyulladást (I, III).**

Eredményeink világosan bemutatják, hogy az élő és HK-BCG,—de a PPD nem,—egerek tüdejébe juttatva, intranasális úton, 4, vagy 8 órával a légúti allergen provokáció előtt bejuttatva, elnyomja az OVA által kiváltott légúti eosinophiliát. Ezeknek az eredményeknek az alapján az élő BCG-vel szemben. A HK-BCG igéretes jelöltje lehet egy későbbi asthma ellenes vakcinának embereknél, mivel a mycobacteriális infectio negative mellékhatásai kizárhatók.

### **6.2 A férgek által kiváltott Th2 immunválasz képes elnyomni, vagy elősegíteni az allergén határára kialakuló Th2 választ, az alkalmazás időpontjától függően.**

Létrehoztuk a parazita fertőzések allergen által előidézett szisztémás immunválaszra gyakorolt hatásának feltárására szolgáló első állatkísérletes modelljét. Eredményeink bemutatják, hogy a Th2 immunválasz, amelyet féregfertőzés vált ki, potenciálhaja az allergén által indukált, szisztémás Th2 típusú reakciókat, míg ezzel szimultán módon elnyomhatja az allergén-specifikus válaszokat és a tüdőbeli eotaxin termelést, a fertőzés idejétől függően. Adataink lehetséges magyarázatul szolgálhatnak a westernizált társadalmak fejlődő

országokkal – ahol a parazita-fertőzések endémiásak - szembeni magasabb atópia prevalenciájára

### **6.3 Az I. osztályú MHC molekulák szükségesek az II MHC molekula-függő antigén prezentációhoz a Th2 válaszokban.**

I. osztályú MHC hiányos egereken végzett vizsgálataink szerint a Th2 válaszokban végbemenő, II. osztályú MHC molekula-függő antigén prezentáció az I. osztályú MHC molekulák jelenlététől függ. Ez az észlelés alátámasztja azt a nézetet, miszerint a Th1 és Th2 sarkított immunválaszok egymástól függőek.

Ezen kívül ezek az eredmények ugyancsak alátámasztják azt a hypothesis-t, miszerint a főbb citokinek termelődése felelős az eosinophilek összegyülekezéséért, ami az I. osztályú MHC molekulák távollétében gátlást szenved. Összegezve, ez az első állati modell, ami feltárja az I. osztályú MHC molekulák döntő szerepét a Th2 immunválasz kifejlődésében.<sup>15</sup>

### **6.4 Flu vírus-specifikus IgE antitestek hízó-sejt degranulációt váltanak ki, allergiás reakcióhoz vezetve (II)**

A Flu vírus kísérletek megállapították, hogy az influenza A vírusfertőzés erős Th1 választ vált ki, kisebb Th2 komponenssel. Legjobb tudomásunk szerint ez az első riport, amely bizonyítékkal szolgál arra nézve, hogy a vírus-specifikus IgE antitestek mediálhatják a hízó-sejt degranulációt, allergiás bőr-reaktivitást kiváltva, egereknél. Ezek az észlelések új magyarázatul szolgálhatnak a korábbi atópiás betegségek vírus fertőzések utáni fellángolásainak mechanizmusát illetően.

## 7 Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani Dr. Klaus Joseph Erb-nek, kísérletvezető főnökömnek, az alap kutatások világába történő bevezetémésemért, értékes ötleteiért és tanácsaiért; Prof. Dr. Magyar Pálnak, javaslataiért és az anyagi támogatásokért, valamint a megfelelő szabadidő biztosításáért; Prof. Dr. Mándy Yvette-nek, amiért elfogadott Ph.D. hallgatónak programjában és értékes, a munka befejezésében nyújtott segítségéért; Prof. Dr. Petrányi Győző akadémikusnak javaslataiért; Dr. Somoskövi Ákosnak ötleteiért és támogatásáért; Alexander von Zant-nak, közreműködéséért a laboratóriumi állatok biztosításában és kiváló ötleteiért, és végül, de nem utoljára szüleimnek: Dr. Major Magdának és Dr. Major Tamás Sr.-nak minden támogatásért, amit, mint szülők és kollégák adhattak nekem.

Ez a munka a Magyar Tüdőgyógyász Társaság támogatásával készült.

## 8 Irodalom

1. Strachan, D.P. Hay fever, hygiene, and household size. *Bmj* **299**, 1259-60 (1989).
2. Busse, W.W. The relationship between viral infections and onset of allergic diseases and asthma. *Clin Exp Allergy* **19**, 1-9 (1989).
3. Yazdanbakhsh, M. & Rodrigues, L.C. Allergy and the hygiene hypothesis: the Th1/Th2 counterregulation can not provide an explanation. *Wien Klin Wochenschr* **113**, 899-902 (2001).
4. Fuleihan, R.L. Editorial review: The hygiene hypothesis and atopic disease. *Curr Opin Pediatr* **14**, 676-7 (2002).
5. Austrup F., V.D., Borges E., Lohning M., Brauer R., Herz U., Renz H., Hallmann A., Scheffhold A., Radbruch A., Hamann A. P- and E-selectin mediate recruitment of T-helper 1 but not T-helper 2 cells into inflamed tissues. *Nature* **385**, 81-83 (1997).
6. Anderson W. J. & L., W. Asthma and the hygiene hypothesis. *N Engl J Med* **344**, 1643-4 (2001).
7. Kline J.N., W.T., Businga TR, Lemish JE, Weinstock JV, Thorne PS, Krieg AM. Modulation of airway inflammation by CpG oligodeoxynucleotides in a murine model of asthma. *J Immunol.* **160(6)**, 2555-9. (1998).
8. Broide D., S.J., Tighe H., Gifford T., Nguyen M. D., Malek S., Van Uden J., Martin-Orozco E., Gelfand E. W., Raz E. Immunostimulatory DNA sequences inhibit IL-5, eosinophilic inflammation, and airway hyperresponsiveness in mice. *J. Immunol.* **161**, 7054 (1998).
9. Oettgen, H.C. et al. Active anaphylaxis in IgE-deficient mice. Passive transfer of immediate hypersensitivity and airway hyperresponsiveness by allergen-specific immunoglobulin (Ig) E and IgG1 in mice. *Nature* **370**, 367-70 (1994).
10. Oshiba, A. et al. Passive transfer of immediate hypersensitivity and airway hyperresponsiveness by allergen-specific immunoglobulin (Ig) E and IgG1 in mice. *J Clin Invest* **97**, 1398-408. (1996).
11. Aaby P, S.S., Heyes CB, Goudiaby A, Hall AJ, Shiell AW, Jensen H, Marchant A. Early BCG vaccination and reduction in atopy in Guinea-Bissau. *Clin Exp Allergy.* **2000 May;30(5):**, 644-50. (2000).
12. Strachan, D.P. Family size, infection and atopy: the first decade of the "hygiene hypothesis". *Thorax* **55 Suppl 1**, S2-10 (2000).
13. Herz U., Lacy P., Renz H. & J., E.K. The influence of infections on the development and severity of allergic disorders. *Curr Opin Immunol* **12**, 632-40. (2000).
14. Herz U. et al. BCG infection suppresses allergic sensitization and development of increased airway reactivity in an animal model. *J Allergy Clin Immunol.* **102:**, 867-74. (1998).
15. Major T., Wohlleben G., Reibetanz B. & J., E.K. Application of heat killed Mycobacterium bovis-BCG into the lung inhibits the development of allergen-induced Th2 responses. *Vaccine* **20**, 1532-40. (2002).