

# **T SEJT VÁLASZOK NEUROLÓGIAI BETEGSÉGEKBEN**

**Doktori értekezés (Ph.D.) tézisei**

**Dr. Bánáti Miklós János**

**Neurológiai Klinka**

**Általános Orvostudományi Kar Klinikai Központ**

**Pécsi Tudományegyetem**

***Témavezető: Prof. Dr. Illés Zsolt MTA doktora***

***Programvezető: Prof. Dr. Komoly Sámuel MTA doktora***

***Doktori iskola vezetője: Prof. Dr. Komoly Sámuel MTA doktora***

**Pécs**

**2012**



# 1. BEVEZETÉS

Az immunrendszer fő feladata, hogy a patogén mikroorganizmusokat, a fertőzött és tumor sejteket felismerje és elpusztítsa, miközben fenntartja a szervezet integritását is. Az immunválasz biztosítja a védelmet a fertőző ágensekkel (baktériumok, paraziták, vírusok és gombák), nem fertőző idegen anyagokkal, makromolekulákkal (pl. proteinek és poliszacharidok) és tumor sejtekkel szemben. Az idegen sejtek és anyagok elleni védelmet az immunrendszer két fő funkcionális része (az ősi és az adaptív immunrendszer) szabályozza. A szervezetet az ősi immunitás nem specifikus, korai, gyors és első vonalbeli mechanizmusokkal óvja, míg az adaptív immunitás specifikus immunválaszokat biztosít, és memóriával rendelkezik.

Az NK (natural killer) sejt a citotoxikus limfociták egy típusa, az ősi immunrendszer egyik fő komponense, képes különböző citotoxikus mechanizmusokkal a cél sejteket elpusztítani, és hirtelen, nagy mennyiségű citokint, főként interferon-gammát (IFN- $\gamma$ ) előállítani. A humán NK sejtek a sejt felszíni CD56 markert expresszálják. A perforin és a Fas/FasL által szabályozott útvonalak a két fő celluláris citotoxicitási mechanizmusok. Degranuláció után, a perforint tartalmazó citotoxikus granulomok a cél sejt membránjában létrehozott pórusok által sejt lízist okoznak. Az effektor sejt által termelt sejt felszíni FasL a target sejt felszínén elhelyezkedő receptora, a Fas segítségével apoptózist indukál.

T és B limfociták az adaptív immunrendszer legfontosabb sejt komponensei. Ezen sejtek fő funkciója, hogy antigén-specifikus receptorokkal felismerjék a specifikus „nem-saját” antigéneket. A T sejt receptor (TCR) egy heterodimer molekula, amely egy  $\alpha$  és egy  $\beta$  transzmembrán fehérje láncból épül fel, minden lánc tartalmaz egy variábilis (V) és egy konstans (C) domént. A V domén három hipervariábilis vagy komplementaritást meghatározó régióval (CDR-k) rendelkezik, amelyek a TCR és az antigén felismerés változatosságáért felelősek. Ez a diverzitás az antigén receptor kódoló gének átrendeződésének az eredménye. A TCR  $\alpha$ -lánc a V és J (joining), míg a  $\beta$ -lánc V, D (diversity) és J gén szegmentek rekombinációja által képződik. Az  $\alpha$ - és  $\beta$ -lánc három-három CDR régiója képezi a TCR azon részét, amely specifikusan felismeri a peptid-MHC komplexeket. A citotoxikus, CD8<sup>+</sup> T sejtek képesek a cél sejt halálát indukálni. CD4<sup>+</sup> T sejtek két, eltérő csoportba oszthatók: a konvencionális T helper (Th) sejtekre és a regulatórikus T (Treg) sejtekre. A Th sejtek egyéb effektor sejt aktiválásával kontrollálják az adaptív immunitást. A Treg sejtek képesek a potenciálisan káros autoreaktív Th sejt aktivációját szuppresszálni. Aktiváció során az összes T sejt expresszálja a CD25 késői aktivációs markert. A CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T sejt között csak a magas CD25 fluoreszcens intenzitásúak rendelkeznek regulatórikus funkciókkal, míg a CD25 alacsony szintű expressziója T sejt aktivációt jelezhet. Az ősi és az adaptív immunrendszer által termelt citokinek kisméretű szignál protein molekulák. A Th1 sejt pro-inflammatórikus citokineket termelnek, mint például az IFN- $\gamma$  és a TNF- $\alpha$ , amelyek erősítik a celluláris immunválaszt: maximalizálják a makrofágok ölési hatékonyságát és a citotoxikus CD8<sup>+</sup> T sejt proliferációját. A Th2 sejt által termelt anti-inflammatórikus

citokinek, mint például interleukin (IL)-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, elősegítik a humorális immunválaszt: stimulálják a B sejtproliferációt, elősegítik az izotípusváltást és növelik a neutralizáló antitesttermelést. A Th17 sejtek az IL-23 és IL-17 pro-inflammatórikus citokin termelésükkel szintén fontos szerepet tölthetnek be számos szervspecifikus autoimmun betegség indukciójában.

A  $\gamma\delta$ T sejtek a T sejtek egy kis csoportját alkotják, egy  $\gamma$ - és egy  $\delta$ -láncból álló TCR-ral rendelkeznek.  $\gamma\delta$ T sejteket az ősi és adaptív immunrendszert összekötő, azok határára álló sejteknek tartják, mivel a fertőzések során gyorsan reagálnak és képesek hirtelen, nagy mennyiségű IFN- $\gamma$ -t termelni. A V $\delta$ 2 alcsoport sejtjei  $\delta$ 2TCR-t expresszálnak és citotoxikus tulajdonságokkal rendelkeznek. Ezen sejtek teszik ki a felnőtt korban előforduló  $\gamma\delta$ T sejtek nagy többségét.

A natural killer T (NKT) sejtek a T sejtek kis alcsoportja, amelyek az  $\alpha\beta$ TCR expresszió mellett az NK sejtekre specifikus molekulákat (pl. CD56) is kifejeznek. Ezt a populációt,  $\gamma\delta$ T sejtekhez hasonlóan, szintén az ősi és az adaptív immunrendszer összekötő sejteknek tartják, és fontos szerepet töltenek be az autoimmunitás és tumorok elleni védelem szabályozásában. Az NKT sejteket a TCR repertoárjuk alapján számos, különböző alcsoportba sorolhatjuk. Az I-es típusú NKT sejtekre a limitált receptor repertoár diverzitás a jellemző, ezért nevezik őket invariáns NKT (iNKT) sejteknek is, és invariáns V $\alpha$ 24-J $\alpha$ Q TCR  $\alpha$ -láncot expresszálnak. Az iNKT sejtek mellett a CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> T sejt alcsoport konvencionális, diverz  $\alpha\beta$ TCR-ral rendelkező, nagy, granulált limfocitákat is tartalmaz. Ezeket a sejteket NKT-szerű sejteknek is nevezik. Az NKT-szerű sejtek fontos szerepet játszanak a fertőző ágensekkel, a tumor sejtekkel és az autoimmun betegségekkel szembeni immunválasz szabályozásában. Az iNKT sejtekhez hasonlóan, a mucosa-asszociált invariáns T (MAIT) sejtekre szintén egy invariáns TCR átrendeződés (V $\alpha$ 7.2-J $\alpha$ 33) a jellegzetes. Az emberi MAIT sejtek invariáns TCR-jának az expressziója autoimmun központi és perifériás idegrendszeri léziókban egyaránt kimutatható volt, és ez összefüggésben állt az IL-4 termeléssel, amely a gyulladásgátló szerepüket veti fel az autoimmun válaszokban.

A késői kezdetű Pompe kór egy metabolikus miopátia, amely egy lizoszomális enzim, az alfa-glikozidáz (GAA) hiánya vagy elégtelen működése miatt kialakuló glikogéntárolási betegség. Jelenleg a ritka Pompe kór az egyetlen öröklődő izombetegség, amely kezelhető a rekombináns humán enzim (rhGAA) rendszeres infúziójával. Az enzimpótló kezelés (ERT) hatására anti-rhGAA IgG-antitestek képződnek, amelyek befolyásolhatják a terápiás hatékonyságot. A kezelés hatékonyságát tekintve vitatott az anti-rhGAA antitestek hatása a humán vizsgálatok során. Pompe kórban, a GAA teljes hiánya esetén az immuntolerancia hiánya miatt megnövekedett az rhGAA elleni antitest termelődés, ezáltal a terápiás hatás is rosszabb. Ezzel szemben számos egyéb humán tanulmányban azt találták, hogy nincsenek antitestfüggő változások a kezelés hatékonyságában, illetve egyéb, enzimpótló terápiával kezelt lizoszomális tárolási betegségekhez hasonlóan az antitest titer csökkenhet a kezelés során.

Stroke-ról beszélünk a központi idegrendszer vérellátásának zavara miatt bekövetkező károsodás esetén, aminek következményeként kialakult neurológiai góctünetek több mint

24 órán keresztül fennállnak vagy halálos kimenetelűek. Jelenleg a stroke a szívbetegségek után és a daganatos megbetegedések előtt a második vezető halálozási ok a Nyugati Világban. A stroke betegek halálozása a Kelet-Európai országokban is extrém magas, és a túlélők között gyakran tartós rokkantság marad vissza. Míg a direkt neurológiai deficit a korai halálozásért felelős, a fertőzőes komplikációk a stroke postakut fázisában járulnak hozzá a kedvezőtlen kimenetelhez. A stroke betegek körében magasabb arányban fordulnak elő infekciók, főként húgyúti fertőzés és tüdőgyulladás. Ez az infekciók iránti emelkedett fogékonyság stroke után felveti az immunválasz korai eltéréseit. A fokális cerebrális iszkémia egér modelljében károsodott T és NK sejt válaszokat találtak, különösen az IFN- $\gamma$  termelés csökkent, és az állatok fogékonyabbak lettek a spontán pneumóniára. Ez a légúti infekció összefüggött a limfociták masszív apoptózisával a lépben és a thymusban. A tünetek kezdetétől számított 12 órán belül az akut iszkémiás stroke-t elszedett betegek perifériás vérében erősen lecsökkent a T sejtek száma. Az IL-6 szérumszint emelkedett volt a betegek felvételekor, és a megfigyelési periódus alatt (14 nap) folytatódott az emelkedés, míg az IL-10 szint nem különbözött a kontroll személyektől.

Az ipari társadalmakban a daganatos megbetegedés a három vezető halálozási okok egyike. A daganatok egyetlen transzformálódott sejt utódsejtjeinek a progresszív növekedéséből jönnek létre. A malignus tumorok képesek agresszívan infiltrálni a környező egészséges szöveteket és metasztázisokat képezni. A vese sejt carcinoma (RCC) teszi ki az USA-ban az összes diagnosztizált daganatoknak a 3%-át. A malignus RCC-k 82%-a világossejtvese carcinoma. A gliomák a leggyakrabban előforduló elsődleges malignus daganatok a központi idegrendszerben, és ezen tumorok között a glioblastoma multiforme a leggyakoribb és a legagresszívebb. A meningeomák a leggyakrabban diagnosztizált elsődleges agytumorok. Kis részük (~5%) atípusos és malignus meningeoma. A tumorok antigén jellegű peptideket (tumor-asszociált vagy tumor-specifikus antigéneket) expresszálnak, amelyek a tumor-specifikus immunválasz (főként CD8<sup>+</sup> T sejt mediált folyamatok) célpontjaivá válhatnak. Az anti-tumor válasz esetén az effektor mechanizmusok aktivációjához szükséges, hogy az antigént először antigén prezentáló sejtek mutassák be a T sejteknek. A citotoxikus T sejtek mellett az NK sejteknek is fontos szerepük van a tumor sejtek elleni védelemben. Egyes tumor antigének humorális immunválaszt is indukálhatnak.

## 2. CÉLKITŰZÉSEK

Különböző neurológiai betegségek esetében megvizsgáltuk a T sejtek szerepét az immunválaszban.

### 2.1 Az enzimpótló kezelés T sejt választ indukál késői kezdetű Pompe kórban

Jelenleg a Pompe kór az egyetlen öröklődő izombetegség, amely kezelhető enzimpótló terápiával, a rekombináns humán  $\alpha$ -glikozidáz rendszeres infúziójával. Az ERT a legtöbb betegben a rhGAA-val szemben egy IgG antitestes választ indukál, amely csökkentheti a kezelés hatékonyságát. Ezért megvizsgáltuk, hogy vajon az ERT indukál-e egy rhGAA-specifikus T sejtet választ is:

1. Van-e különbség a rhGAA-val kezelt Pompe betegek perifériás vérében a limfocita populációk százalékos arányában, illetve az aktivációs és citotoxikus molekulák expressziójában?
2. Indukál-e a rhGAA kezelés a Pompe betegekben specifikus anti- vagy pro-inflammatórikus citokin termelést?

## **2.2 Az ősi T limfociták és NK sejtek károsodott működése iszkémiás stroke akut fázisában**

Az akut kezdetű cerebrovaszkuláris megbetegedésekhez számos immunológiai változás kapcsolódik. A korábbi humán tanulmányok mind az immunrendszer adaptív ágának, főként a T sejteknek az eltéréseivel foglalkoztak. Az immunrendszer másik részének a sejtjeit, az ősi limfocita szubpopulációkat alaposan még nem vizsgálták meg az iszkémiás stroke akut fázisában. Lehetséges, hogy az ősi immunválaszban bekövetkező korai változások összefügghetnek a kedvezőtlen kimenetelt eredményező post-stroke infekciókkal és a stroke magas halálozásával. Ezért megvizsgáltuk az ősi T sejteket és NKT-szerű sejteket az akut iszkémiás stroke korai fázisában:

3. Befolyásolja-e az akut iszkémiás esemény az ősi T limfociták százalékos arányát a betegek perifériás vérében?
4. Van-e eltérés az ősi limfocita szubpopulációk anti- és pro-inflammatórikus citokin termelésében és citotoxicitásában az iszkémiás stroke akut fázisában?

## **2.3 Humán vese- és agytumorokban kimutatható az invariáns V $\alpha$ 7.2-J $\alpha$ 33 T sejt receptor (TCR), amely a tumorok MAIT sejtekkel való infiltrációját jelzi**

A fenotípusosan és funkcionálisan is hasonló iNKT és MAIT sejteknek fontos szerepük lehet az autoimmunitás szabályozásában és a tumorok immun surveillance-ben.

Korábban kimutatták az invariáns V $\alpha$ 24-J $\alpha$ Q TCR-ral rendelkező iNKT sejtek szelektív hiányát sclerosis multiplexben szenvedő betegek központi idegrendszeri (CNS) plakkjaiban, míg a konvencionális V $\alpha$ 24 TCR-k és a MAIT sejtek invariáns TCR-a jelen volt. Nem volt egyértelmű, vajon a CNS plakkokban az iNKT sejtek hiánya SM specifikus-e vagy a központi idegrendszer sajátos szabályozásával van összefüggésben, ezért tumorokat vizsgáltunk a központi idegrendszeren belül és azon kívül (malignus agy- és vesetumorokat), és a következő kérdéseket tettük fel:

5. Egyaránt infiltrálják-e az iNKT sejtek a központi idegrendszeri és azon kívül eső tumorokat?

6. Ki tudunk-e mutatni egyéb invariáns T sejteket a tumorokban, különös tekintettel a MAIT sejtekre, amelyek az iNKT sejtekhez hasonló funkciókkal rendelkezhetnek?
7. Amennyiben a MAIT sejtek jelen vannak a tumorokban, akkor milyen a gyulladásos környezet? Ismert, hogy a MAIT sejtek Th2 citokineket termelhetnek, de az iNKT sejtekhez való hasonlóságuk és állatkísérletes adatok azt sejtetik, hogy a MAIT szubpopulációk funkcionálisan heterogének lehetnek.
8. Milyen kapcsolat van a MAIT és az NKT-szerű sejtek között a tumorokban?
9. Expresszálnak-e a MAIT sejtek CD56-t? Részt vesznek-e a CD56<sup>+</sup> MAIT sejtek az anti-tumor immunválaszban?

### 3. VIZSGÁLATOK

#### 3.1 Az enzimpótló kezelés T sejt választ indukál késői kezdetű Pompe kórban

Az enzimpótló kezelés hatására anti-rhGAA antitestek képződnek a Pompe betegekben, amelyek befolyásolhatják a kezelés hatékonyságát.

Hét, késői, felnőttkori kezdetű Pompe beteget (6 kezelt, 1 nem kezelt) és 5 egészséges kontroll személyt vontunk be a vizsgálatba, mindenkinél több alkalommal történt mintavétel. Izolált perifériás mononukleáris sejteket és MACS technikával szeparált CD4<sup>+</sup> és CD8<sup>+</sup> T sejteket (antigén prezentáló sejtek jelenlétében) *in vitro* stimuláltunk 48 órán át a rekombináns enzimmel (1 és 10 µg/ml). *Ex vivo* és *in vitro* aktiválást követően áramlási citometriával vizsgáltuk a T sejtek, az egyes T szubpopulációk, az NK és az NKT sejtek százalékos arányát, a T sejtek intracelluláris IFN-γ, az NK, NKT és CD8<sup>+</sup> T sejtek intracelluláris perforin és sejt felszíni FasL expresszióját, illetve a T sejtek és T szubpopulációk aktiválódását (CD25, CD69). Az izolált CD4<sup>+</sup> és CD8<sup>+</sup> T sejtek Th1, Th2, Th17 citokin termelést cytometric bead array (CBA) segítségével a sejt kultúrák felülúszójából mértük.

Minden kezelt beteg szérumában kimutathatóak voltak az anti-rhGAA IgG antitestek. Az aktivált T sejtek (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>low</sup>) százalékos aránya *ex vivo* magasabb a kezelt betegekben, mint a kezeletlen betegben és az egészséges kontroll személyekben. *In vitro* rhGAA stimuláció hatására a kezelt betegek CD4<sup>+</sup> és CD8<sup>+</sup> T sejtjeinek intracelluláris IFN-γ expressziójában egy dózisfüggő emelkedést tapasztaltunk. Az izolált CD4<sup>+</sup> és CD8<sup>+</sup> sejt kultúrák felülúszójából mért IFN-γ és TNF-α termelés is emelkedett *in vitro* stimuláció után a kezelt betegek felében a kontroll személyekhez képest, míg az IL-4, IL-6, IL-17 termelésben nem találtunk különbséget. Az NK, NKT és CD8<sup>+</sup> T sejtek intracelluláris perforin és sejt felszíni FasL expressziójában nem találtunk különbséget *ex vivo*.

A rekombináns enzimpótló terápia az ellenanyagválasz mellett döntően gyulladáskeltő T sejt választ is indukál, mely hatással lehet az ellenanyag termelésre és a kezelés hatékonyságára.

### **3.2 Az ősi T limfociták és NK sejtek károsodott működése iszkémiás stroke akut fázisában**

A stroke betegek körében magas az infekciós szövődmények aránya, és ez a fertőzések iránti emelkedettebb fogékonyság felveti az immunválasz korai eltéréseinek a lehetőségét. Az ősi limfociták funkcionális változásait vizsgáltuk az iszkémiás stroke akut fázisában. Ezen sejtek gyors immunválasszal reagálnak, és szabályozzák a későbbi T sejt reakciókat is.

A V $\delta$ 2 T sejtek, a CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> NKT-szerű, és az NK sejtek százalékos arányát, az intracelluláris perforin és IFN- $\gamma$  expresszióját vizsgáltuk 20 egészséges kontroll személy és 28, 6 órán belüli kezdetű akut iszkémiás stroke beteg perifériás véréből a betegség kezdetén és 72 óra múlva áramlási citometriával. A szeparált NKT-szerű és NK sejtek citokin termelését *in vitro* aktiváció után cytometric bead array (CBA) módszerrel mértük le. Az NK sejtek citotoxicitását a perifériás vér mononukleáris sejtjeivel egy nem radioaktív, kolorimetriás citotoxicitási assay segítségével vizsgáltuk.

A V $\delta$ 2, az NKT-szerű és az NK sejtek százalékos arányában nem volt különbség a beteg és az egészséges kontroll csoportban. Ezzel szemben, a V $\delta$ 2 T sejtek, az NKT-szerű sejtek, és az NK sejtek 6 órán belüli pro-inflammatórikus intracelluláris IFN- $\gamma$  expressziója, és a szeparált NK sejtek IFN- $\gamma$  termelése alacsonyabb volt, és a stroke után 72 órával érte el az egészséges kontroll személyekben mért szinteket. Az NKT-szerű és NK sejtek anti-inflammatórikus IL-4, IL-5 és IL-10 citokinek termelése nem változott. A V $\delta$ 2 T, az NKT-szerű, és az NK sejtek intracelluláris perforin expressziója, és az NK citotoxicitás 6 órán belül alacsony volt, és 72 óra után érte el az egészséges kontroll személyekben mért szinteket.

Az NK, az NKT-szerű és a V $\delta$ 2 T sejtek pro-inflammatórikus és citotoxikus immunválaszai akut iszkémiás stroke-ban elégtelenné válnak, ami hozzájárulhat a fertőzésekkel szembeni fokozott fogékonysághoz.

### **3.3 Humán vese- és agytumorokban kimutatható az invariáns V $\alpha$ 7.2-J $\alpha$ 33 T sejt receptor (TCR), amely a tumorok MAIT sejtekkel való infiltrációját jelzi**

A humán iNKT sejtek szerepe az anti-tumor immunszabályozásban jól ismert. Egy újabban leírt T sejt alcsoport, a mucosa-asszociált invariáns T (MAIT) sejtek az NKT sejtekhez hasonló regulatórikus tulajdonságokkal rendelkeznek az autoimmun állatmodellekben és betegségekben. A humán iNKT sejtek deficienciáját sclerosis multiplex (SM) esetén leírták. Az SM betegek perifériás vérében az invariáns V $\alpha$ 24-J $\alpha$ Q TCR százalékos aránya csökkent, a központi idegrendszeri plakkokban nem tudták kimutatni, míg a konvencionális V $\alpha$ 24 TCR jelen volt. Ezen eltérések nem voltak karakterisztikusak a perifériás idegrendszer krónikus demielinizációs betegségére, a krónikus gyulladásos demielinizációs polineuropátiára (CIDP). Nem volt egyértelmű,

vajon a CNS plakkokban az iNKT sejtek hiánya SM specifikus-e, vagy a központi idegrendszer sajátos szabályozásával van összefüggésben. Ezért megvizsgáltuk négy invariáns  $\alpha$ TCR-t expresszáló T sejt szubpopuláció (V $\alpha$ 24-J $\alpha$ Q (iNKT), V $\alpha$ 7.2-J $\alpha$ 33 (MAIT), V $\alpha$ 4-J $\alpha$ 29 és V $\alpha$ 19-J $\alpha$ 48 TCR-k) klonalitását 19 tumorban a központi idegrendszeren belül és azon kívül RT-PCR SSCP (single strand conformation polymorphism) klonalitási assay-t használva, specifikus próbák hibridizációjával azonosítva a felerősített, és elektroforetikusan elkülönített szekvenciákat.

A MAIT klonotípus az NKT klonotípussal együtt azonosítható volt a tumorok felében. Ezzel szemben a másik két invariáns T sejt klonotípus (V $\alpha$ 4 and V $\alpha$ 19) nem volt kimutatható a tumorokban. Bizonyos tumor mintákban a MAIT sejtek korlátozott V $\beta$ 2 és V $\beta$ 13 TCR $\beta$  láncai és az antigén-prezentáló molekulája, az MR1 is kimutathatóak voltak. Az infiltráló T sejtek nagy része CD8<sup>+</sup>, és expresszálja az aktivációt jelző HLA-DR-t is. Habár a MAIT sejtek  $\alpha$ TCR-jét a perifériás CD56<sup>+</sup> és CD56<sup>-</sup> alcsoportokból egyaránt kimutattuk, a tumorokat infiltráló limfociták CD56<sup>-</sup> voltak. A MAIT sejtek klonális jelenléte a tumorokban korrelált a pro-inflammatórikus citokinek expressziójával, azonban az IL-4, IL-5 és IL-10 expressziójával nem, azt jelezve, hogy a humán MAIT sejteknek létezhet pro-inflammatórikus alcsoportja is.

Eredményeink alapján a MAIT sejtek CD56<sup>-</sup> alcsoportja, hasonlóan az NKT sejtekhez, fontos szerepet tölthetnek be a tumor ellenes immunválaszban.

#### 4. TÉZISEK

1. Az egyes limfocita szubpopulációk százalékos arányában se *ex vivo*, se *in vitro* nem találtunk különbséget a kezelt Pompe betegek, illetve a kezeltlen beteg és az egészséges kontroll személyek között. Az aktivált T sejtek (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>low</sup>) százalékos aránya *ex vivo* magasabb a kezelt Pompe betegekben. Az NK, NKT és CD8<sup>+</sup> T sejtek intracelluláris perforin és sejt felszíni FasL expressziójában nem találtunk különbséget *ex vivo*.
2. *In vitro* rhGAA stimuláció hatására a kezelt Pompe betegek CD4<sup>+</sup> és CD8<sup>+</sup> T sejtjeinek intracelluláris IFN- $\gamma$  expressziójában egy dóziszfüggő emelkedést tapasztaltunk. Az izolált CD4<sup>+</sup> és CD8<sup>+</sup> sejt kultúrák felülszójából mért IFN- $\gamma$  és TNF- $\alpha$  termelés is emelkedett *in vitro* stimuláció után a kezelt Pompe betegek felében a kontroll személyekhez képest, míg az IL-4, IL-6, IL-17 termelésben nem találtunk különbséget. Kimutattuk, hogy a rekombináns enzim pótló terápia Pompe kórban az ellenanyagválasz mellett döntően gyulladáskeltő T sejt választ is indukál.
3. A V $\delta$ 2, az NKT-szerű és az NK sejtek százalékos arányában, ellentétben a korábban leírt adaptív T sejtszám csökkenéssel, nem volt különbség az iszkémiás stroke akut fázisában.
4. A változatlan százalékos arányokkal szemben az ősi limfociták akut funkcionális deficienciáját találtuk az iszkémiás stroke akut fázisában, 6 órán belül: a pro-



inflammatorikus IFN- $\gamma$  termelés, a perforin expressziója és az NK citotoxicitás alacsonyabb volt, míg a Th2 citokinek termelése és a Th2-függő ICOS expressziója nem változott. Feltételezhetjük, hogy ez a korai deficiencia vagy ennek a nem megfelelő normalizációja erősen befolyásolhatja a fertőzések iránti fogékonyságot hasonlóan az agyi iszkémia állatmodelljeihez.

5. A MAIT és az iNKT sejtek az egyetlen ismert invariáns T sejtek, amelyek agy- és vese tumorokat infiltrálnak.
6. Mivel az iNKT sejtek jelen vannak a központi idegrendszeri tumorokban, ezért ezen sejtek hiánya az SM plakkokban betegség specifikus, és nincs összefüggésben a speciális központi idegrendszeri immunológiai környezettel.
7. A MAIT sejteknek létezik egy pro-inflammatorikus tulajdonságokkal rendelkező alcsoportja, amely sejtek tumorokat infiltrálnak.
8. Az agy- és vese tumorokat különböző T és MAIT sejt szubpopulációk infiltrálják: az agytumorokat infiltráló MAIT sejtek a V $\beta$ 2 és V $\beta$ 13 láncokon kívül további TCR $\beta$  láncokat is expresszálhatnak.
9. A tumorokban található MAIT és iNKT sejtek nem expresszáltak CD56-t, míg mind az egészséges kontroll személyek, mind a tumoros betegek perifériás vérében megtalálhatóak a CD56<sup>+</sup> és CD56<sup>-</sup> alcsoportok is.

## 5. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt témavezetőnek és mentoromnak, Prof. Illés Zsoltnek szeretnék köszönetet mondani a támogatásáért és a kutatásbeli vezetéséért. Szintén hálás vagyok Prof. Komoly Sámuelnek, a Neurológiai Klinika igazgatójának, illetve Prof. Szekeres-Barthó Júliának, az Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézet igazgatójának, hogy támogatták a munkámat.

Hálás köszönetet mondok Szereday Lászlónak, akire mint tiszteletbeli témavezetőmre tekintek, minden segítségért, tanításért és támogatásért, amit tőle kaptam.

Minden, a Pécsi Tudományegyetem Neurológiai Klinikáján, az Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézetében, az Immunológiai és Biotechnológiai Intézetében, a Központi Elektronmikroszkópos Intézetében, és az Orvosi Kémiai és Biokémiai Intézetében dolgozó és közreműködő munkatársnak, kollégának szeretném megköszönni a segítségét, támogatását vagy tanácsait.

Végül szeretném kifejezni a legszívélyesebb köszönetet a szüleimnek, az egész családomnak és a barátnőmnek szeretetükért és folytonos biztatásukért.