

# KUTATÁSI BESZÁMOLÓ

## A HYPER-IMMUNGLOBULIN E SZINDRÓMA MOLEKULÁRIS PATHOLÓGIÁJA

### 1. év

Az elmúlt évben a Magyarországon diagnosztizált és további országokban (Lengyelország, Oroszország, Ukrajna, Svédország, Libanon) kezelt, autosomalis domináns és sporadikus HIGE szindrómában szenvedő betegekben bidirekcionális DNS szekvenálással vizsgáltuk a STAT3 gén szekvenciát. Az érintett betegekben ELISA módszer segítségével a különböző stimulusok (LPS, CLO75, IL-6) hatására bekövetkező TNF-alfa és MCP-1 (monocyte chemotactic protein) termelés alapján vizsgáltuk a mononukleáris sejtek aktiválódását. Azt találtuk, hogy a STAT3 mutáció különböző etnikai csoportokban egyaránt felelőssé tehető a HIGE szindróma kialakulásáért. A vizsgálatok során a Magyarországon gondozottak között egy család három tagjában a STAT3 DNS-kötő doménon korábban nem ismert H332Y missense mutációt találtunk, amelynek pathogenetikai szerepét különböző molekuláris genetikai vizsgálatokkal igazoltuk. A vizsgálatok azt is mutatták, hogy a HIGE szindrómában szenvedő betegek mononukleáris sejtjeinek IL-6 válaszkészsége csökkent. A további sejtes vizsgálatok során a Th17 sejtek mennyiségének csökkenését figyeltük meg. Eredményeinket a „Novel and recurrent *STAT3* mutations in hyper-IgE syndrome patients from different ethnic groups” című közleményünkben, a *Molecular Immunology* című folyóiratban, 2008-ban közzeltük (Mol Immunol. 2008; 46:202-206).

### 2. év

A hyper-IgE szindróma autosomalis domináns formájáért felelős STAT-3 mutáció a betegség immunfenotípusának több részletére magyarázatul szolgál. Nem teljesen ismert azonban, hogy mi a pontos immunpatológiai háttere a betegségben domináns kórokozókkal, a *S. aureus*-szal és a *Candida* speciesekkel szembeni fogékonyságnak. Ezért a magyarországi betegek genotípus vizsgálatának befejezését követően célul tűztük ki, az IL-17-dependens testfelszíni immunitás több részletkérdésének tanulmányozását. Vizsgáljuk a betegek lymphocytáinak IL-17 és IL-22 termelését, és a *Candida* felismerésben szerepet játszó dectin-1 gén szekvenciát és receptor expressziót. Munkahipotézisünk az, hogy az IL-17 és IL-22 citokinek jelentős szerepet játszanak a defensinek (elsősorban a béta-defensin) termelésében, ennek megfelelően hisztokémiai vizsgálatokat kezdtünk a defensinek intracutan expressziójának megítélésére, továbbá a nyál és szérummintákban a defensinek koncentrációjának meghatározására. Részeredményeinkről több konferencián beszámoltunk, illetve az eredmények közlemény formájában való összefoglalása folyamatban van.

### 3. év – Összefoglaló értékelés

A hyper-IgE (HIGE) szindrómában az immunrendszer válasza a bakteriális és gombás fertőzésekkel szemben károsodik, amely klinikailag visszatérő, ritkán fatális fertőzéseket okoz. HIGE szindrómás betegekben vizsgáltuk a *STAT3* gén szekvenciát és ELISA-val a különböző stimulusok (LPS, CLO75, IL-6) hatására bekövetkező TNF- $\alpha$  és MCP-1 termelés alapján a mononukleáris sejtek aktiválódását. Tanulmányoztuk a humán beta defensinek (HBD) termelésében szerepet játszó IL-17- és IL-22-dependens testfelszíni immunitást, ill. a *Candida* felismerésben szerepet játszó dectin-1 gén szekvenciát és receptor expressziót. A vizsgálatok azt mutatták, hogy a betegekben a Th17 sejtek mennyisége és a mononukleáris sejtek IL-6 válaszkészsége csökkent. Eredményeinket a *Mol. Immunol.* folyóiratban közöltük (2008; 46:202).

A defensinek antimikróbás hatású molekulák, hatásukat a baktériumok membránjának károsítása révén fejtik ki. HIGE szindrómában a csökkent antibakteriális védelemben a bőr- és mucosalis defensin expresszió csökkenése is szerepet játszik. A betegek szérumban és nyálmintáiban RT-PCR-rel ill. intracelluláris immunfluoreszcens jelölést követően bőrbioptis mintákban vizsgáltuk a HBD expressziós mintázatát. A szérumban a vizsgált defensinek koncentrációja a kontrollokéval megegyező volt. A székletben a HBD1 koncentráció szignifikánsan csökkent volt, amely a mucosalis defensin expresszió defektusára utal. Az eredmények közlemény formájában való összefoglalása folyamatban van.

#### Summary

The hyper-IgE syndrome is a multisystem primary immunodeficiency disorder characterized by pyogenic and fungal skin and lung infections. We performed genetic studies of *STAT3* in patients with AD or sporadic forms of the disease, and studied LPS-, CLO-75-, and IL-6-induced release of TNF- $\alpha$  and MCP-1, to characterize the activation of the mononuclear cells. Our research also involved investigation of IL-17- és IL-22-dependent mucosal immunity and *Candida* recognizing dectin-1 gene sequence and receptor expression. *STAT3* deficient patients showed decreased Th17 cell population, and negligible production upon IL-6 stimulation of MCP-1 by the patient's blood mononuclear cells. We published our data in *Mol. Immunol.* (2008; 46:202).

Defensins are antimicrobial molecules; function as binding to bacterial cell walls. Decreased antibacterial immunity in HIGE patients partly caused by decreased skin, and mucosal expression of defensins. We investigated human betha defensin (HBD) expression by RT-PCR in serum and saliva samples of HIGE patients. We also analyze the expression pattern by intracellular immunofluorescent staining of skin biopsy specimens. Expression of different HBDs in the patients' sera was comparable to healthy controls; however in HIGE saliva the HBD1 concentration was significantly decreased. Our new results are under publishing.