

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**Betegség okozó génmutációk néhány primer
immundeficienciában**

Tóth Beáta

Témavezető: Prof. Dr. Maródi László



DEBRECENI EGYETEM

**PETRÁNYI GYULA KLINIKAI IMMUNOLÓGIAI ÉS ALLERGOLÓGIAI
DOKTORI ISKOLA**

Debrecen, 2011

**BETEGSÉG OKOZÓ GÉN MUTÁCIÓK
NÉHÁNY PRIMER IMMUNDEFICIENCIÁBAN**

Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében
a klinikai orvostudomány tudományágban

Írta: Tóth Beáta, okleveles molekuláris biológus

Készült a Debreceni Egyetem Petrányi Gyula Doktori Iskolája
Fertőző betegségek és immundefektusok programja keretében

Témavezető: Prof. Dr. Maródi László, az MTA doktora

A doktori szigorlati bizottság:

elnök:	Dr. Muszbek László, akadémikus
tagok:	Dr. Szegedi Andrea, az MTA doktora
	Dr. Prohászka Zoltán, az MTA doktora

A doktori szigorlat időpontja: 2011. május 30. 9.00 óra

Az értekezés bírálói:

Dr. Szabó Kornélia, Ph.D.
Dr. Lányi Árpád, Ph.D.

A bírálóbizottság:

elnök:	Dr. Muszbek László, akadémikus
tagok:	Dr. Szabó Kornélia, Ph.D.
	Dr. Szegedi Andrea, az MTA doktora
	Dr. Lányi Árpád, Ph.D.
	Dr. Prohászka Zoltán, az MTA doktora

Az értekezés védésének időpontja: 2011. május 30. 14.00 óra

BEVEZETÉS

A primer immunhiányos betegség világszerte közegészségügyi problémát jelenet. A legkorábban azonosított primer immundefektus az X-kromoszómához kötött agammaglobulinaemia (XLA) vagy Bruton betegség. Az XLA-ra jellemző a B-lymphocyták érési defektusa, amelynek oka a Bruton tirozin kináz gén defektusa (*BTK*), ami a citoplazmatikus tirozin kinázt kódolja, a myeloid és B-sejtek differenciálódása során fejeződik ki (Tsukada, 1993; Vetrie, 1993). Az érintett személyekben megfigyelhető az érett B-sejtek hiánya a perifériás keringésben, és a különböző izotípusú immunglobulinok alacsony értéke. Az XLA betegek nagy fogékonyságot mutatnak a fertőzésekre különböző kórokozókkal szemben, mint a piogén baktériumok, enterovírusok és a *Giardia lamblia*, amelyek ellen nem termelődik antitest (Ochs, 1996; Plebani, 2002). Az XLA klinikai manifesztációja a visszatérő felső- és alsó légúti, valamint bőr infekciók, meningoencephalitis, gastroenteritis, és conjunctivitis (Winkelstein, 2006). A fertőzések gyakran 6 hónapos korban kezdődnek, ami egybeesik az anyai IgG lebomlásával. Az XLA betegeknél is kialakulhat purulens és nem purulens arthritis, hepatitis, osteomyelitis, és elhúzódó enterovírus fertőzés (Winkelstein, 2006).

A hyper-IgE szindróma (HIES) egy multisztémás primer immunodeficiencia betegség, amire jellemző a piogén bőr égy tüdőfertőzések, pneumatocele kialakulása, súlyos eczema, és extrém magas szérum IgE szint (Davis, 1966; Grimbacher, 2005; Buckley, 2001). További tünetek közé tartozik a jellemző arckarakter, hyperextendálható ízületek, cranialis synostosis, scoliosis, rendellenes fogazat, és patológiás törések (Grimbacher, 2005; Buckley, 2001). Központi idegrendszeri elváltozások, a koszorúér-aneurysma, és a Chiari a rendellenesség is lehet része a komplex klinikai patológiának (Ling, 2007; Freeman, 2007). A HIES betegek leggyakoribb kórokozói közé tartozik a *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, és a *Candida*. A *Staphylococcus* okozta bőrtályogok általában nem mutatnak bőrpírt és melegséget, úgynevezett hidegtályogok alakulnak ki (Davis, 1966). Autoszomális recesszív (AR) és autoszomális domináns (AD) öröklődést is leírtak, de a legtöbb HIES betegség sporadikus (Renner, 2004; Grimbacher, 2005). A legújabb tanulmányok alapján az AD és sporadikus formáért a 17q21 kromoszómán lévő signal transducer and activator of transcription-3 (*STAT3*) gén a felelős (Holland, 2007; Minegishi, 2007). A mutációk általában a STAT3 DNA-kötő doménjét vagy az SH2 doménjét érintik.

Az 1. típusú autoimmun poliendocrinopathia szindróma (APS1) vagy közismertebb nevén autoimmun polyendocrinopathia-candidiasis-ectodermalis dystrophia szindróma

(APECED szindróma) egy monogénes primer immundeficiencia betegség, ami érinti a bőrt és az endokrin szerveket (Leonard, 1946; Perheentupa, 2006; Husebye, 2009). A betegség gyermekkorban vagy 10 éves kor magasságában alakul ki, jellemző a hypoparathyroidismus, primer adrenocorticalis insufficiencia és a krónikus mucocutan candidiasis. A klinikai fenotípus azonban igen változó, a rendellenesség érintheti a hasnyálmirigy β -sejtjeit, az ivarmirigyeket, és a gyomor parietális sejtjeit. Az endokrin és nem endokrin szervek elégtelensége autoimmun reakciók eredménye. Az APS1 kialakulása az *AIRE* (autoimmun regulator) gén mutációjának a következménye (Nagamine, 1997; Perheentupa, 2002; Mathis, 2007). Napjainkban több mint 60 mutáció ismert az *AIRE* génen, a mutációk nagy gyakorisággal fordulnak elő a 2, 6, 8, és a 10 exonon (www.hgmd.cf.ac.uk; Meriluoto, 2001; Peterson, 2005). Különböző szövet specifikus autoantitestek figyelhetők meg az érintett betegekben, amelyek mennyisége korrelál a betegség tüneteinek a megjelenésével és súlyosságával (Blizzard, 1963; Gylling, 2000; Söderbergh, 2004; Alimohammadi, 2008). Az autoantitestek közvetlen patogén szerepe a szöveti károsodásban jelenleg még nem ismert. Az utóbbi időben megállapították, hogy minden APS1 betegben magas titerben voltak kimutathatók az 1-es típusú interferonok (IFN), különösen az IFN- ω and IFN- α 2 elleni antitestek, amelyek megbízható diagnosztikai markernek számítanak (Meager, 2006; Meloni, 2008; Oftedal, 2008).

CÉLKITŰZÉSEK

1. Génmutációk spektrumának vizsgálata X-kromoszómához kötött agammaglobulinaemiás betegekben. Népcsoportra vagy földrészre jellemző mutációk keresése.
2. Új, korábban nem ismert mutációk felismerése, diagnosztizálása, azok patogenitásának igazolása.
3. Adatokat nyerni az XLA gyakoriságáról a KKE országokban és összehasonlítani azokat más földrészek adataival.
4. A HIES autoszómális domináns és sporadikus eseteiért felelős *STAT3* variancia vizsgálata különböző etnikai csoportokban.
5. Új *STAT3* mutáció betegség okozó hatásának immunológiai vizsgálata.
6. Az APS1 és *AIRE* génmutációk előfordulásának vizsgálata Magyarországon.
7. Korábban nem ismert *AIRE* mutáció patogenitásának bizonyítása.
8. Az anti-IFN- ω szérum koncentráció prognosztikai szerepének tanulmányozása 1-es típusú autoimmun poliendocrinopathiában.
9. Génmutáció azonosításával genetikai tanácsadás, családtervezés segítése.
10. IL-17A és IL-22 termelés vizsgálata HIES és APS1 betegekben.

BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

Betegek

Tíz Közép-Kelet Európa (KKE) országaiból érkező, 109 nem rokon családból származó 122 XLA beteg vizsgálata történt meg. Az XLA diagnózis alapját minden beteg esetében a családi anamnézis, a tipikus klinikai és immunológiai jellemzők, a visszatérő otitis media, sinusitis, bronchitis és pneumonia megléte, a perifériás B-sejtek hiánya (<2%), és a szérum immunglobulin izotípusok alacsony szintje adta. Az XLA diagnózisát *BTK* gén mutáció analízise segítette. A 122 beteg közül 52 beteg vizsgálata a Jeffrey Modell Diagnosztikai Laboratóriumában történt, a Debreceni Egyetemen, 70 beteg vizsgálata pedig Primer Immundeficiencia Központokban.

Összesen 12 (4 magyar, 2 orosz, 2 ukrán, és 1 lengyel család) AD vagy sporadikus HIES beteget vizsgálata történt meg. A HIES diagnózis felállítása klinikai, immunológiai, és a radiológiai leletek, és a családi anamnézis alapján történt.

A magyarországi endokrinológusok és gyermekorvosok segítségével 9 APS1-ben szenvedő beteg vizsgálatára volt lehetőség. A betegek az APS1 klinikai kritériumainak megfeleltek, a major tünetek (mucocutan candidiasis, melékvese elégtelenség és hypoparathireosis) 2 vagy 3 megléte, családi anamnézis és a laboratóriumi eredmények alapján. A genetikai diagnózis az *AIRE* gén vizsgálatával történt.

A kontroll csoport tagjai egészséges tünetmentes személyek voltak, életkoruk 2-50 év közötti volt.

A vizsgálatok a kontroll csoport tagjai, a betegek vagy a szülők tájékoztatását és beleegyező nyilatkozat aláírását követően történtek a Debreceni Egyetem Orvos és Egészségtudományi Centrum Etikai Bizottsága által jóváhagyott feltételei mellett.

Immunkémia

A szérum IgM, IgG és IgA mennyiségi meghatározása standard immunkémiai vizsgálattal (nefelometria) történt.

Flow citometria

Heparinnal alvadásgátolt vérből sűrűség grádiens centrifugálással mononukleáris sejteket izoláltunk, phycoerytrinnel jelzett anti-CD19 antitesttel (BD Pharmingen) inkubáltuk a sejteket, a jelzett CD19+ B-lymphociták százalékanak meghatározása áramlási citometriával történt.

Mutáció analízis

A genomiális DNS izolálása leukocytákból történt standard protokoll alapján. Mutáció analízis során vizsgáltuk a *BTK* gén 1-19, a *STAT3* gén 1-23 és az *AIRE* gén 1-14 exonjait, valamint az exon-intron határokat. Az amplikonok szekvenálásához Big Dye Terminator cycle sequencing kitet (Applied Biosystems, Foster City, CA) használtunk, az analízis ABI 3130 automata szekvenálóval történt (Applied Biosystems, Foster City, CA). A szekvenálás során kapott elektroferogramok értékeléséhez a GenBank adatbázist használtuk (*BTK* accession no. ENSG00000010671; *STAT3* accession no. ENSG00000168610; *AIRE* accession no. ENSG00000160224) (www.ensembl.org).

A nukleotid sorrend számozásakor a cDNS iniciációs kódjának (ATG) az adeninje felel meg az első pozíciónak. A mutációk nomenklaturájakor a den Dunnen and Antonarakis (2001) ajánlásait követtük (den Dunnen and Antonarakis, 2001).

Restrikciós fragment analízis

A c.994C>T mutáció jelenlétének elemzéséhez a Mph11031 restrikciós enzimet használtuk a betegek, családtagjaik és egészséges kontrollok esetében. A *STAT3* gén 9. exonját amplifikáltuk, majd a 230 bp nagyságú PCR terméket Mph11031 (Fermentas, Rockford, IL) enzimmel kezeltük. A *STAT3* gén vad típusú szekvenciája esetében jön létre a hasítás, aminek következtében 130 és 100 bp nagyságú fragmentek keletkeznek.

Antitest assay

Az IFN- ω antitest meghatározása radio-immunoassay-val történt Oftedal és munkatársai leírása alapján (Söderbergh 2004, Oftedal, 2008).

In vitro citokin assay

HIES betegek és kontroll esetében mononukleáris sejteket izoláltunk EDTA-val alvadásgátolt perifériás vérből. A sejteket AIMV médiumba (Invitrogen, San Diego, CA) szuszpendáltuk 5×10^6 /ml sejtkoncentrációban 96 lyukú plateben, és kezeltük 200 ng/ml *Escherichia coli*-ből származó lipopoliszachariddal (LPS) (Sigma), 2,5 μ g/ml TLR7/8 (toll like receptor 7/8) agonistával (Invitrogen, San Diego, CA), vagy 40 ng/ml interleukin-6-val (PeproTech, Rocky Hill, NJ) és 48 óráig inkubáltuk a sejteket. A felülúszóban lévő citokinek (TNF- α és MCP-1) mennyiségét ELISA-val (enzyme-linked immunosorbent assay) határoztuk meg (Bender MedSystems, Vienna, Austria).

Aktivált mononukleáris sejtek IL-17A és IL-22-termelésének vizsgálata

APS1 és HIES betegek valamint kontroll esetében mononukleáris sejteket izoláltunk heparinnal alvadásgátolt perifériás vérből. A sejteket DMEM médiumba (Sigma Aldrich, St. Louis, MO) szuszpendáltuk 10% hőinaktivált autológ normal humán szérum mellett 1×10^6 /ml sejtkoncentrációban 96 lyukú plateban. A mononukleáris sejteket élő 1×10^3 /ml és hőinaktivációval előlt 1×10^5 /ml és 5×10^5 /ml *Candida albicans*sal (ATCC 10231) aktiváltuk és tenyésztettük 4 napig. A felülúszó IL-17A és IL-22 mennyiségét ELISA-val határoztuk meg (R&D systems, Minneapolis, MN).

EREDMÉNYEK

BTK mutációk típusa és gén lokalizációja

A 122 beteg mutáció analízise alkalmával 98 különböző mutációt azonosítottunk a *BTK* génen. A mutációk között szerepel nukleotid csere (missense és nonsense), hasítási hely defektusát okozó mutációk (splice-site mutáció), kis és nagy deléciók és inserciók (frameshift mutáció). A legnagyobb gyakorisággal a missense mutációk (35; 36%) fordulnak elő, amit a splice-site mutáció (23; 23,2%) a nonsense mutáció (17; 17,2%) követ. Kis arányban fordul elő a frameshiftet eredményező inserciók vagy deléciók (16; 16,2%), és a nagy szakaszt érintő deléciók (7; 7,2%). A mutációk a fehérje minden szakaszára lokalizálódnak, a leggyakoribb mutációs hely az SH1 domén (45; 45,3%), nagy gyakorisággal fordul elő mutáció a PH doménen is (22; 22,3%), míg az SH2 domén (13; 13,3%), az SH3 domén (7; 7,3%) és a TH domén (6; 6,3%) ritkábban érintett. Egyedül csak az SH3 doménen nem fordul elő missense mutáció.

Új mutációk

A vizsgált XLA betegeknél 46 adatbázisban (www.bioinf.uta.fi/BTKbase) nem szereplő, új mutációt azonosítottunk 58 beteg vizsgálatakor. A betegek kelet- és közép-európai országból érkeztek, a többségük főleg Lengyelországból (15; 26%), Magyarországból (10; 17%), Oroszországból (9; 15%) és Ukrajnából (8; 14%).

Az új mutációk spektrumát vizsgálva 17 missense, 11 splicing, 9 frameshift, 7 nonsense és 2 nagy szakaszt érintő deléciót találtunk.

Ismert mutációk

Az új mutációk mellett 52 ismert, adatbázisban szereplő mutációt azonosítottunk a 10 országból származó betegek esetében. A betegek főleg Lengyelországból (20; 31%), Ukrajnából (10; 15%), Oroszországból (9; 14%), és Magyarországról származtak (6; 9%).

XLA gyakorisága az európai országokban

Kilenc kelet- és közép-európai (KKE) országban határoztuk meg (kivéve Oroszország) az XLA prevalenciáját. A különböző országokban eltérő az XLA gyakorisága, ha a kilenc országban együttesen vizsgáljuk az gyakoriságot elmondható, hogy 1.399.000 lakosra esik 1 XLA beteg. Az általunk kapott adatok megbízhatóságára utal, hogy a vizsgálatban az összes Primer Immundeficiencia Központ (PID) részt vett Lengyelországból,

Ukrajnából, Magyarországról, Szerbiából, Romániából, Fehéroroszország, Horvátország, Macedóniából és Szlovéniából. Oroszország adatait nem dolgoztuk fel, mert nem sikerült pontos, megbízható adatokat beszerezni.

***STAT3* mutációk**

A *STAT3* gén molekuláris genetikai vizsgálatát 12 betegnél és családtagjainál elvégezve 4 heterozigóta mutációt (H332Y, R382W, IVS11-1G>T, H410Y) azonosítottunk a DNS kötő doménen és egy heterozigóta mutációt (V637M) az SH2 doménen.

A magyarországi roma családban azonosított új heterozigóta mutáció (c.994C>T; H332Y) a *STAT3* DNS-kötő doménjére (9. exon) lokalizálódik. A családban az édesanya és 2 gyereke hordozza a CAT-TAT nukleotid cserét, ami hisztidin-tirozin cserét (H332Y) eredményez. Restrikciós fragment analízissel vizsgáltuk, hogy a c.994C>T genetikai eltérés előfordul-e az egészséges populációban. A vizsgált 150 kontroll (25 magyar, 25 roma, 50 libanoni és 50 svéd) egyikében sem volt jelen a C>T csere. Az eredmények kizárták a polimorfizmus lehetőségét és megerősítették a mutáció patogenitását.

Kontroll és betegek (C2, C3) mononukleáris sejtjeit lipopoliszachariddal (LPS), TLR7/8 (toll like receptor 7/8) agonistával (CLO75) vagy IL-6-val aktiváltuk és emelkedett TNF- α (tumor nekrosis faktor-alfa) termelést kaptunk az új H332Y mutációt hordozó betegekben a kontrollhoz képest. Az IL-6 stimulust követően pedig a betegek MCP1 (monocita kemotaktikus protein-1) aktivitása lényegesen elmaradt a kontroll mintához képest. Az adatok azt mutatják, hogy a H332Y mutáció felelős a betegség kialakulásáért a roma családba tartozó multiszipisztémás HIES tünetekkel rendelkező betegekben.

***AIRE* mutációk**

A leggyakoribb finn major mutáció (c.769C>T; p.R257X) minden APS1 betegben jelen volt heterozigóta vagy homoigóta formában. Az összetett heterozigóta mutációk esetében a második mutáció a c.44_66dup23bp (p.R15fsX19), c.965_977del13bp (p.L323fsX373), vagy c.1344delC (p.C449fsX479) volt. Egy új mutációt (c.1344delC) azonosítottunk 2 betegben (testvérek). A deléció kereteltolódást eredményez, melynek következtében a fehérje szintézise a 479-es aminosav pozícióban leáll.

Anti- interferon- ω termelése

Az anti-IFN- ω mennyisége az APS1 betegekben magas titer értéket mutatott, a hordozó családtagok esetében pedig a normal tartományon belüli értéket kaptuk. A B1 beteg

első anti-IFN- ω vizsgálata 6 hetes korában történt, amikor a normal értéknek megfelelő titert mértünk, a vizsgálatokat a későbbi életkorba megismételtük és emelkedett értéket kaptunk. A B1 beteg esetében a kor előrehaladtával az anti- IFN- ω autoantitest nagymértékű emelkedése volt megfigyelhető. Az autoantitestek jelenléte ellenére a B1 beteg 2 éves korában tünetmentes.

IL-17A és IL-22 termelés hyper-IgE szindrómás és 1-es típusú autoimmunpoliendocrinopátiás betegekben

A krónikus mucocutan candidiasis a HIES és az APS1 betegek egyik fő klinikai tünete. A betegek és kontrollok mononukleáris sejtjeit élő vagy hő-inaktivált *Candida albicanssal* aktiváltuk és mértük a sejtek által termelt IL-17A és IL-22 mennyiségét. A kontroll csoporthoz képest alacsony IL-17A és IL-22 terelés vagy a citokinek teljes hiánya figyelhető meg a betegekben.

MEGBESZÉLÉS

A primer immundeficienciák globális egészségügyi problémát jelentenek, 250 személyre jut egy beteg, azonban ezen betegek többségében nem ismerik fel a betegséget és a megfelelő kezelés is elmarad (Casanova, 2007). Ez főleg a kedvezőtlen társadalmi és gazdasági körülmények között élőkben fordul elő. Hét évvel ezelőtt indult útjára a J Project, azóta jelentősen nőtt a diagnosztizált primer immunhiányos betegek száma Kelet és Közép Európában, beleértve a genetikai vizsgálatokkal igazolt betegségeket is. Dolgozatomban három veleszületett immundeficiencia immunológiai és genetikai sajátosságait foglaltam össze különös hangsúllyal saját megfigyeléseinkre.

X-kromoszómához kötött agammaglobulinaemia

Elsőként írtuk le 10 KKE ország XLA-ban szenvedő betegeinek a demográfiai és genetikai jellemzőit. 58 XLA-s betegben találtunk 46 különböző, új mutációt. Az új mutációk esetében szükséges bizonyítani, hogy a genetikai eltérés felelős-e a betegség kialakulásáért, ennek főleg a missense mutációk esetében van nagy jelentősége, amikor a cDNS teljes méretében jelen van, és amelyről normál méretű fehérje szintetizálódik. A nonsense mutációval járó nukleotid csere, valamint a deléciók és inserciók esetében a cDNS méretének csökkenése és a korai stop kodon megjelenése elegendő bizonyítékot jelent a patogenitásra. A fehérje méretében és ennek következtében a szerkezetében bekövetkező nagymértékű változások a fehérje funkcióját károsítják.

Bizonyos primer immundeficienciában a klinikai és immunológiai fenotípus szinte bizonyosan utal a betegség fennállására, amit a családi halmozódás is megerősít. Az XLA esetében az X-kromoszómához kötött öröklődésment, a hordozó állapot jelenléte, a poliszacharid tokkal rendelkező kórokozók okozta fertőzések, az immunglobulin izotípusok extrém alacsony szintje és az érett B-sejtek hiánya megkönnyíti az immunológiai diagnózist, amit a genetikai vizsgálat tovább erősít.

A PH, SH2, SH1 doméneken 17 új missense mutációt találtunk. Direkt bizonyítékot jelent a mutáció és a betegség közötti kapcsolatban, ha a mutáció konzervált aminosavat érint, erre 2 példát találtunk, a p.F10Y és a p.A367E missense mutációt. A konzervált aminosavak megtartják állandóságukat az evolúció során, változásuk nagymértékben befolyásolja a protein struktúráját és funkcióját. A PH doménen azonosított p.F10Y és p.Y39N patogenitására utal az a megfigyelés, hogy a F10 és Y39 aminosavaknak fontos szerepe van a foszfatidil-inozitol-3,4,5-triszfoszfát kötésében és a membránon belüli lokalizációban. Ha a

10. pozícióban lévő nem poláros fenilalanin hidrofil tirozinra cserélődik, károsodhat a sejtmembránhoz való kötődés (Conley, 1998; Holinski-Feder, 1998). A PH domén kötődik az inozitol molekulák negatív foszát csoportjaihoz, a kötés kialakulásában a Y39 is részt vesz, károsodása a fehérje funkcionális zavarát eredményezi (Vihinen, 2000).

Az SH2 doménen 4 mutációt (p.L294P, p.V317G, p.I355N és p.A367E) találtunk. Az SH2 domén kapcsolatot létesít a plazmamembránnal és a foszfolipáz C- γ -val. A külső egysége hordozza a foszfolipáz kötő régiót (pY), ami esszenciális a protein affinitásához és a specificitásához. Vihinen és munkatársai 6 missense mutációt tanulmányoztak a pY régióban, és azok mindegyike kapcsolatba hozható volt az XLA kialakulásával. Az általam talált 4 mutáció pozíciója szomszédos a Vihinen által vizsgált mutációkkal, ami megerősíti a mutációk patogén hatását (Vihinen, 2000).

A BTK katalitikus doménjén (SH1) 11 új missense mutációt azonosítottunk. A p.R641G mutáció az SH1 domént érinti és korábban már leírtak a 641 pozícióban lévő arginin cseréjét hisztidinre és ciszteinre, de a glicin cseréjét még nem (Gaspar, 1995). A 641 pozíció kulcsfontosságú az enzim működéséhez, az aminosavcsere következtében károsodik a E567 és a R641 közötti ionos kötés és destabilizálódik a kináz struktúrája (Jin, 1995; Saha, 1997; Speletas, 2001).

A missense mutációk patogenitását igazolhatja még a genetikai eltérés több családtagnál való előfordulása, a mutáció „együttes vándorlása” a betegséggel. A vizsgált családok közül 17 családban azonosított 7 új mutáció esetében a ko-szegregáció is bizonyítékul szolgált arra, hogy a mutációk felelősek a betegség kialakulásáért.

Megvizsgáltuk az XLA gyakoriságát a KKE országaiban, és összehasonlítottuk más országok és földrész adataival. Winkelstein 201 amerikai XLA betegről számolt be, ahol a lakosság száma 2006-ban 299.398.484 volt, így az XLA gyakorisága az USA-ban 1:489.544, ami összhangban van az általunk vizsgált 9 KKE ország hasonló adataival (1:1.399.000) (Winkelstein, 2006). Öt nyugat-európai országban (Olaszország, Franciaország, Egyesült Királyság, Spanyolország, Németország) az XLA prevalenciája 1:891.751, azaz 350 beteget írtak le a 312.112.922 lélek számú populációban. Winkelstein és munkatársainak adatai megbízhatónak tekinthetők, mert 1999 és 2006 között gyűjtötték az adatokat tudományos társaságoktól és egyetemi tanszékekről. Az általunk kapott gyakoriság szintén megbízhatónak mondható, mert elismert PID központokból gyűjtöttük össze az adatokat. Oroszország adatait azért nem dolgoztuk fel, mert nem sikerült pontos, megbízható adatokat beszerezni. A nyugat-európai országok adatai nagyobb gyakoriságot mutatnak, mint az USA-ban és KKE országokban. Az adatokból arra lehet következtetni, hogy az USA-ban és KKE országaiban

vannak még nem diagnosztizált betegek és heterozigóta családtagok. Az aluldiagnosztizálás oka lehet a PID centrumok alacsony száma, pl. Romániában 7 millió, Ukrajnában 23 millió betegre jut egy központ, az XLA gyakorisága pedig ebben a két országban mutatja a legalacsonyabb értéket. Magasabb a prevalencia Macedóniában, Magyarországon és Horvátországban, ahol 2-4,5 millió emberre jut egy PID központ.

Hyper-IgE szindróma

A hyper-IgE szindróma klaszikus tüneteit mutató betegekben 3 ismert és egy új (H332Y) mutációt azonosítottunk a *STAT3* génen különböző etnikai csoportokba tartozó 9 család esetében. A His332 és az Arg382 is alapvető fontosságúak a STAT3 DNS-hez való kötődésében, mindkét aminosav szoros kapcsolatot biztosít a DNS foszfát-csoportjaival, amit egyértelműen bizonyítanak a korábbi tanulmányokban szereplő 3D struktúrák, amik szemléltetik a STAT3 és a STAT1 kötődését a DNS-hez (Becker 1998; Chen 1998). A V463del a STAT3 DNS-kötő doménjét érinti strukturális változást előidézve. A V436 aminosav hiánya következtében az S465 és az N466 kötődése a DNS-hez zavart szenved (Becker 1998; Chen 1998). Figyelembe véve a korábbi vizsgálatokat valószínű, hogy a H332Y mutáció ugyanolyan káros következménnyel jár, mint az R382W és a V463del mutációk, és ennek eredményeként vezet a betegség kialakulásához. Az új H332Y mutáció patogenitását igazolta a mutáns allél hiánya a kontroll csoportban, és az érintett betegek mononukleáris vérsejtjeiben az IL-6 által kiváltott MCP-1 termelés csökkenése. Az MCP-1 a β -kemokinek csoportjába tartozó protein, feladata a mononukleáris sejtek vonzása a gyulladás helyszínére. Termelését pro-inflammációs citokinek (IL-6, TNF- α és IL-1 β) stimulálják. Az IL-6 aktiválja az IL-6 receptort, melynek következtében aktiválódik a JAK/STAT3 jelátviteli folyamat, ami az MCP-1 expresszióját eredményezi. Abban az esetben, ha mutáció következtében a STAT3 nem tudja ellátni a funkcióját, a jelátviteli útvonal károsodik és az MCP-1 termelése csökken. A LPS és a CLO75 a TLR aktivációját eredményezi, az NF κ B jelátviteli útvonal aktiválódik, ami számos citokin, többek között a TNF- α expresszióját szabályozza. A TNF- α alapvető mediátora az akut gyulladásos immunválasznak, szerepe a citokinkaskád elindítása, granulocita aktiválás és apoptózis indukálása. A HIES betegekben a TLR4 és TLR7/8 aktivációja TNF- α termelést eredményezett, azaz a TLR útvonal nem gátolt.

Az 1. típusú autoimmun poliendocrinopathia szindróma

Az APS1 3 fő klinikai manifesztációja a hypoparathyreosis, az Addison-kór és a mucocutan candidiasis. A betegek többségében 20 éves korban figyelhető meg 2 vagy 3 fő

tünet, de a nem teljes fenotípus jelenléte mellett is lehetőség van az APS1 diagnózis felállítására. A diagnózist segíti a beteg családtagok tipikus klinikai tüneteinek a megléte, a beteg valamint a családtagok *AIRE* mutáció analízise és az anti-IFN- ω titer magas értéke. A betegekben megfigyelhetők egyéb autoimmun manifesztációk is, mint pl. az autoimmun hepatitis, thyroiditis, ovarium elégtelenség, alopecia és alacsony termet. Ezek a másodlagos tünetek betegenként eltérőek, még az azonos mutációban szenvedő betegek esetében is eltérések figyelhetők meg, ami arra utal, hogy a másodlagos tünetek kifejlődése függ az egyéni adottságoktól és a környezeti tényezőkkel. Az APS1 nagy gyakorisággal fordul elő egyes populációkban, mint például az iráni zsidó (1:9.000), a finn (1:25.000) és a szardíniai (1:14.400) populációban (Zlotogora, 1992; The Finnish-German APECED Consortium, 1997, Husebye 2009). Más csoportokban, mint a norvégiai és ír populációban a betegség gyakorisága 1:100.000 (Wolff, 2007; Dominguez, 2006). Magyarországon az APS1 prevalenciája pontosan nem ismert. Magyarországon 9 APS1 betege diagnózisa történt meg fenotípus és genotípus alapján, így az APS1 gyakorisága Magyarországon 1:1.117.000; ebből arra lehet következtetni, hogy a betegek többsége még nincs diagnosztizálva. Az adatok azt mutatják, hogy az APS1 gyanúja esetén szükségessé válik az anti-IFN- ω mennyiségének a meghatározása, valamint a genetikai vizsgálat nélkülözhetetlen a pontos diagnózis felállításához. Kutatómunkám során 3 ismert és egy új mutációt azonosítottunk, a leggyakoribb finn mutáció (R257X) allélgyakorisága a betegek körében 78%. Érdekes, hogy ez az érték hasonlóságot mutat a finn beteg populációval (82%), míg Nagy-Britania, Észak-Amerika és Észak-Olaszország betegek esetében a R257X frekvenciája alacsonyabb (The Finnish-German APECED Consortium, 1997; Pearce, 1998; Wang, 1998; Björnsen, 2000). A finn major mutáció magas gyakorisága a magyarországi beteg populációban jelezheti a lakosság genetikai rokonságát a finn csoporttal. Ezzel szemben az angol, ír, észak-amerikai és norvég betegekben leggyakrabban előforduló L323fsX373 mutációt csak egy magyarországi betegben sikerült kimutatni. Az új C449fsX479 mutáció összetett heterozigóta formában volt jelen a R257X mutációval 2 tesztelésében és az érintett betegek anti-IFN- ω mennyisége igen magas értéket mutatott.

A citozin deléciója (c.1344delC) kereteltolódást eredményez az *AIRE* mRNS szekvenciájában. A mutáció következtében funkcióvesztés jön létre a PHD doménben, ami nélkülözhetetlen a fehérje transzkripcióaktivitáshoz (Sato, 2004). Hasonló mutációt már korábban leírtak a c.1344-es nukleotid pozícióban, ahol a citozin delécióját TT inszerció követett. Az inszerció-deléció következtében a 449 aminosavnál keret eltolódás miatt a

fehérje szintézise az 502 aminosavnál leállt (Sato, 2004). A mutáció károsította a második PHD-típusú zink-ujj domént és kiesett a karboxil vég, beleértve a 3 LXXLL motívumot.

IL-17A és IL-22 termelés vizsgálata krónikus mucocutan candidiasisban

A krónikus mucocutan candidiasis az APS1 és a HIES egyik jellegzetes tünete. A granulociták defektusa tehető felelőssé az invazív candidiasis kialakulásában, míg a mucocutan candidiasis hátterében a T-sejtek abnormalitása állhat. Számos citokin (IL-17A, IL-17F, IL-22 és IL-26) fontos szerepet játszik a *Candida albicans* elleni védekezésben, az IL-17 a mucocutan immunitásban alapvető (Puel, 2010). A HIES betegekben az IL-17 termelő Th17 sejtek hiánya, míg az APS1-ban az IL-17 elleni antitestek jelenléte eredményezi a IL-17 csökkent mennyiségét vagy hiányát, ami a mucocutan candidiasis kialakulásához vezet. A HIES betegekben a STAT3 defektusa miatt a ROR γ t gén expressziója szenved zavart, így elmarad a Th17 sejtek képződése, míg az APS1-s betegekben nem ismert, hogy milyen mechanizmus eredményezi az anti-IL-17 megjelenését. Mind az APS1-ben mind a HIES-ban szenvedő betegekben alacsony az IL-17A és IL-22 termelés, ami bizonyítja, hogy a *STAT3* és az *AIRE* deficiencia hajlamosít a krónikus mucocutan candidiasis kialakulására.

EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

1. Összesen 143 primer immundeficienciában szenvedő beteg esetében sikerült azonosítanunk a betegség kialakulásáért felelős gén mutációt.
2. Az X-kromoszómához kötött agammaglobulinaemiás betegekben azonosított mutációk a *BTK* teljes szakaszát érintették.
3. A meglévő adatbázisokat 46 új *BTK* mutációval bővítettük.
4. Az XLA gyakorisága Kelet-és Közép Európa országaiban 1:1.399.000.
5. A STAT3 DNS-kötő és SH2 doménjének domináns negatív mutációja autoszómális domináns és sporadikus hyper-IgE szindrómát eredményez különböző etnikai csoportokban.
6. Genetikai és funkcionális vizsgálatokkal igazoltuk, hogy az új, H332Y mutáció a STAT3 funkció vesztését eredményezve felelős a hyper-IgE szindróma kialakulásáért.
7. Kilenc autoimmun poliendocrinopathia szindrómás betegben azonosítottunk heterozigóta és homozigóta mutációt az *AIRE* génen. Két beteg esetében új mutációt találtunk.
8. Az anti-IFN- ω antitest korai markere az autoimmun poliendocrinopathia szindrómának, a klinikai tünetek megjelenése előtt segíti a korai diagnózist és a betegség monitorozását.
9. A finn major mutáció magas gyakorisága a magyarországi beteg populációban jelezheti a lakosság genetikai rokonságát a finnekkel.
10. Az alacsony IL-17A és IL-22 termelés felelős lehet a krónikus mucocutan candidiasis kialakulásáért HIES és APS1 betegekben.

ÖSSZEFOGLALÁS

A primer immundeficienciák tünetei már korai életkorban jelentkeznek. Sok esetben nehéz a pontos diagnózis megállapítása, amit segíthet a molekuláris genetikai vizsgálat. Az elsőként felismert immundeficiencia, az XLA hátterében a bruton tirozin kináz (*BTK*) defektusa áll. A HIES és APS1 kialakulásáért szintén gén (*STAT3*, *AIRE*) defektusok tehetők felelőssé.

Kutatómunkám során az XLA, a HIES és az APS1 molekuláris genetikai hátterét és a betegségek patomechanizmusát vizsgáltam. Bidirekcionális DNS szekvenálással határoztuk meg a betegségért felelős gének (*BTK*, *STAT3*, *AIRE*) nukleotid sorrendjét, a családtagok szűrésével vizsgáltuk az adott betegség öröklődésmenetét, restrikciós fragment analízissel és funkcionális tesztekkel igazoltuk az irodalomban nem ismert, új mutációk patogenitását.

10 Közép-Kelet-Európa (KKE) országaiból 5 év adatait gyűjtöttük össze a XLA-s betegekről és *BTK* mutációkról. Mutáció analízis során 98 különböző *BTK* mutációt azonosítottunk, melyből 46 mutáció korábban nem ismert, új mutáció. A kapott adatok bemutatják a *BTK* mutációk spektrumát a KKE országaiban, ami hasonlóságot mutat más országok és kontinensek adataival.

Magyar és közép-kelet európai HIES betegekben azonosítottunk 3 ismert és 1 új mutációt a *STAT3* génen. Az új *STAT3* mutáció (H332Y) patogenitását igazolta genetikai eltérés hiánya a kontroll csoportban, és a mutációt hordozó betegek csökkent IL-6 válaszkészsége és megemelkedett TNF- α termelése TLR stimulus hatására.

Kilenc magyarországi APS1 betegnél sikerült azonosítani a betegségért felelős mutációkat az (3 ismert, 1 új) *AIRE* génen. A legkorábban detektálható és a betegségre specifikus anti-IFN- ω titer minden beteg esetében emelkedett értéket mutatott. A genetikai vizsgálat és a családi anamnézis ismeretében sikerült még a klinikai tünetek megjelenése előtt diagnosztizálni a betegséget, ami lehetőséget teremt a korai terápiára és a beteg megfelelő életminőségének a megőrzésére.

A *STAT3* és az *AIRE* mutáció következtében alacsony az IL-17A és IL-22 mennyisége, ami hajlamosító tényező a mucocutan candidiasis kialakulásában.

PUBLIKÁCIÓS LISTA



DEBRECENI EGYETEM EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR
KENÉZY ÉLETTUDOMÁNYI KÖNYVTÁRA

Iktatószám: DEENKÉTK /42/2011.
Tételszám:
Tárgy: Ph.D. publikációs lista

Jelölt: Tóth Beáta

Neptun kód: CU5W21

Doktori Iskola: Petrányi Gyula Klinikai Immunbiológiai és Allergológiai Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Lajszné Tóth, B.**, Wolff, A.S.B., Halász, Z., Tar, A., Szüts, P., Ilyés, I., Erdős, M., Szegedi, G., Housebye, E.S., Zeher, M., Maródi, L.: Novel sequence variation of AIRE and detection of interferonomega antibodies in early infancy.
Clin. Endocrinol. (Oxf). 72 (5), 641-647, 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2265.2009.03740.x>
IF:3.201 (2009)
2. **Lajszné Tóth, B.**, Volokha, A., Mihás, A., Pac, M., Bernatowska, E., Kondratenko, I., Polyakov, A., Erdős, M., Pasic, S., Bataneant, M., Szaflarska, A., Mironska, K., Richter, D., Stavrik, K., Avcin, T., Márton, G., Nagy, K., Dérfalvy, B., Szolnoky, M., Kalmár, Á., Belevtsev, M., Guseva, M., Rugina, A., Kriván, G., Tímár, L., Nyúl, Z., Mosdósi, B., Kareva, L., Peova, S., Chernyshova, L., Gherghina, I., Serban, M., Conley, M.E., Notarangelo, L.D., Smith, E.C.I., Dongen van, J., Burg van der, M., Maródi, L.: Genetic and demographic features of X-linked agammaglobulinemia in Eastern and Central Europe: A cohort study.
Mol. Immunol. 46 (10), 2140-2146, 2009.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2009.03.012>
IF:3.202
3. Jiao, H., **Lajszné Tóth, B.**, Erdős, M., Fransson, I., Rákóczi, É., Balogh, I., Magyarics, Z., Dérfalvy, B., Csorba, G., Szaflarska, A., Megarbane, A., Akatcharian, C., Dbaiibo, G., Rajnavölgyi, É., Hammarström, L., Kere, J., Lefranc, G., Maródi, L.: Novel and recurrent STAT3 mutations in hyper-IgE syndrome patients from different ethnic groups.
Mol. Immunol. 46 (1), 202-206, 2008.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2008.07.001>
IF:3.555

4032 Debrecen, Egyetem tér 1.

e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Impakt factor:

9.958

További Közlemények

4. Gulácsy, V., Freiberger, T., Shcherbina, A., Pac, M., Chernyshova, L., Avcin, T., Kondratenko, I., Kostyuchenko, L., Prokofjeva, T., Pasic, S., Bernatowska, E., Kutukculerli, N., Rascon, J., Iagaru, N., Mazza, C., **Lajszné Tóth, B.**, Erdős, M., Burg van der, M., Maródi, L.: Genetic characteristics of eighty-seven patients with the Wiskott-Aldrich syndrome.
Mol. Immunol. 48 (5), 788-792, 2011.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2010.11.013>
IF:3.202 (2009)
5. Constantin T., Rákóczi É., Ponyi A., Ambrus C., Kádár K., Vastagh I., Dajnoki A., **Lajszné Tóth B.**, Bokrétás G., Müller V., Katona M., Csikos M., Fiedler O., Széchei R., Varga E., Rudas G., Kertész A., Molnár S., Kárpáti S., Nagy V., Magyar P., Mohamed M., Németh K., Bereczki D., Garami M., Erdős M., Maródi L., Fekete G.: Fabry-betegség.
Orv. Hetil. 151 (7), 243-249, 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/OH.2010.28795>
6. Constantin T., Székely A., Ponyi A., Gulácsy V., Ambrus C., Kádár K., Vastagh I., Dajnoki A., **Lajszné Tóth B.**, Bokrétás G., Müller V., Katona M., Medvecz M., Fiedler O., Széchei R., Varga E., Rudas G., Kertész A., Molnár S., Kárpáti S., Nagy V., Magyar P., Mohamed M., Rákóczi É., Németh K., Bereczki D., Garami M., Erdős M., Maródi L., Fekete G.: Fabry-betegség - terápiás útmutató.
Orv. Hetil. 151 (31), 1243-1251, 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/OH.2010.28796>
7. Erdős M., **Lajszné Tóth B.**, Juhász P., Mahdi M., Maródi L.: Nijmegen breakage syndrome.
Orv. Hetil. 151 (16), 665-673, 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/OH.2010.28851>
8. Erdős, M., **Lajszné Tóth, B.**, Veres, I., Kiss, M., Remenyik, É., Maródi, L.: Nijmegen breakage syndrome complicated with primary cutaneous tuberculosis.
Pediatr. Infect. Dis. J. 30 (4), 359-360, 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/INF.0b013e3181faa941>
IF:2.854 (2009)

9. Reiger Z., Varga G., **Lajszné Tóth B.**, Maródi L., Erdős M.: Dyskeratosis congenita: Molekuláris diagnosztika és terápiás lehetőségek.
Orv. Hetil. 151 (8), 285-292, 2010.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/OH.2010.28811>
10. Rákóczi, É., **Lajszné Tóth, B.**, Görögh, S., Erdős, M., Sümegi, J., Maródi, L.: Association of renal ectopy with Fabry disease in three patients.
J. Urol. 181 (4), 1949-1954, 2009.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2008.11.091>
IF:4.016
11. Erdős M., **Lajszné Tóth B.**, Almássy Z., Tímár L., Maródi L.: Porc-haj hypoplasia.
Orv. Hetil. 149 (5), 209-217, 2008.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/OH.2008.28256>
12. Erdős M., **Lajszné Tóth B.**, Maródi L.: Immundeficienciák.
Focus Med. 10 (4), 14-16, 2008.
13. Erdős, M., Garami, M., Rákóczi, É., Zalatnai, A., Steinbach, D., Baumann, U., Kropshofer, G., **Lajszné Tóth, B.**, Maródi, L.: Neuroendocrine carcinoma associated with X-linked hyperimmunoglobulin M syndrome: Report of four cases and review of the literature.
Clin. Immun. 129 (3), 455-461, 2008.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clim.2008.08.005>
IF:3.606
14. Erdős, M., Németh, K., **Lajszné Tóth, B.**, Constantin, T., Rákóczi, É., Ponyi, A., Dajnoki, A., Grubits, J., Pintér, I., Garzuly, F., Hahn, K., Bencsik, K., Vécsei, L., Fekete, G., Maródi, L.: Novel sequence variants of the alfa-galactosidase A gene in patients with Fabry disease.
Mol. Genet. Metab. 95 (4), 224-228, 2008.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgme.2008.09.002>
IF:2.629
15. Kriván, G., Erdős, M., Kállay, K., Benyó, G., Tóth, Á., Sinkó, J., Goda, V., **Lajszné Tóth, B.**, Maródi, L.: Successful umbilical cord blood stem cell transplantation in a child with WHIM syndrome.
Eur. J. Haematol. 84 (3), 274-275, 2008.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0609.2009.01368.x>
IF:2.237

Előadások angol nyelven

1. The 49th J-Project Meeting Future Strategies in the Management of the Primary Immunodeficiencies
Gene expression investigations for the identification of the etiopathogenetical role of missense mutations.
Oradea, Romania, 2010.
2. The International Immunocompromised Host Society
Dectin-1-mediated immunity is redundant for host defense against mucocutaneous candidiasis
Budapest, Hungary, 2010.

Előadások magyar nyelven

1. Magyar Immunológiai Társaság XXXIX. Vándorgyűlése
AIRE gén szekvencia variánsok autoimmun poliglanduláris szindrómában.
Szeged, 2010.
2. Magyar Gyermekgyógyászati Társaság és a Magyar Gyermekgyógyász Társaság
Gyermekeimmunológiai Munkacsoport 2010. évi ülése
AIRE gén szekvencia variánsok autoimmun poliglanduláris szindrómában.
Tolna, 2010.
3. Magyar Gyermekorvosok Társaság 2010.évi Nagygyűlése
AIRE gén szekvencia variánsok autoimmun poliglanduláris szindrómában.
Esztergom, 2010.
4. Magyar Humángenetikai Társaság VIII. Kongresszusa
AIRE gén szekvencia variánsok autoimmun poliglanduláris szindrómában.
Debrecen, 2010.
5. Magyar Humángenetikai Társaság VIII. Kongresszusa
Mutáció analízis és génexpressziós vizsgálatok Niemann-Pick „A” szindrómában.
Debrecen, 2010.
7. Magyar Dermatológiai Társaság Továbbképző Napok
Primer immunodefektusok bőrgyógyászati manifesztáció
Budapest, 2010.
8. Magyar Gyermekgyógyászati Társaság és a Magyar Gyermekgyógyász Társaság
Gyermekeimmunológiai Munkacsoport 2009. évi ülése
Congenitalis neutropenia molekuláris patológiája.
Budapest, 2009.
9. Magyar Immunológiai Társaság XXXVII. Vándorgyűlése
STAT3 szekvencia variánsok hyper-IgE szindrómás betegekben.
Budapest, 2008.

10. Erdélyi Múzeum-Egyesület Orvos- és Gyógyszerésztudományi Szakosztály XVIII. tudományos Ülésszaka
Az X-kromoszómához kötött agammaglobulinemia (XLA) molekuláris patológiája.
Nagyvárad, 2008.
11. Magyar Gyermekorvosok Társaság 2008. évi Nagygyűlése
Az X-kromoszómához kötött agammaglobulinemia (XLA) molekuláris patológiája.
Szeged, 2008.
12. The J-project Meeting in Debrecen
Genetic analysis of *BTK* in countries patients with X-linked agammaglobulinemia
Debrecen, 2007.

Posztterek angol nyelven

1. XIV. Meeting of the European Societi for Immundeficiencies
Beáta Tóth, Péter Gogolák, Szilvia Taskó, Alexandra Bársony, László Maródi
Dectin-1-mediated immunity is redundant for host defense against mucocutaneous candidiasis.
Istanbul, Turkey, 2010.
2. The International Immunocompromised Host Society
Beáta Tóth, Péter Gogolák, Szilvia Taskó, Alexandra Bársony, László Maródi
Dectin-1-mediated immunity is redundant for host defense against mucocutaneous candidiasis.
Budapest, Hungary, 2010.
3. The International Immunocompromised Host Society
Melinda Erdős, Beáta Tóth, Imre Veres, Mária Kiss, Éva Remenyik, László Maródi
Nijmegen breakage syndrome complicated with primary cutaneous tuberculosis.
Budapest, Hungary, 2010.
4. XIV. Meeting of the European Societi for Immundeficiencies
Melinda Erdős, Beáta Tóth, Imre Veres, Mária Kiss, Éva Remenyik, László Maródi
Nijmegen breakage syndrome complicated with primary cutaneous tuberculosis.
Istanbul, Turkey, 2010.
5. XIII. Meeting of the European Societi for Immundeficiencies
Melinda Erdős, Miklós Garami, Éva Rákóczi, Attila Zalatnai, Daniel Steinbach, Ulrich Baumann, Gabrielle Kropshofer, Beáta Tóth, László Maródi
Neuroendocrine carcinoma associated with X-linked hyper-immunglobulin M syndrome.
Hertogenbosch, Netherlands, 2008
6. XIII. Meeting of the European Societi for Immundeficiencies
Hong Jiao, Beáta Tóth, Melinda Erdős, Ingegerd Fransson, Éva Rákóczi, István Balogh, Zoltán Magyarics, Beáta Dérfalvi, Gabriella Csorba, Anna Szaflarska, Andre

Megarbane, Carlo Akatcherian, Ghassan Dbaibo, Éva Rajnavölgyi, Lennart Hammarström, Juha Kere, Gérard Lefranc, László Maródi
Novel and recurrent *STAT3* mutations in hyper-IgE syndrome patients from different ethnic groups.
Hertogenbosch, Netherlands, 2008

Poszterek magyar nyelven

1. Magyar Gyermekorvosok Társaság 2010.évi Nagygyűlése
Reiger Zsolt, Varga Gergely, Tóth Beáta, Maródi László, Erdős Melinda
Felnőtt korban diagnosztizált dysceratosis congenita
Esztergom, 2010.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás köszönettel tartozom Prof. Dr. Maródi László professzor úrnak, az Infektológiai és Gyermekimmunológiai Tanszék vezetőjének, egyben témavezetőmnek, hogy biztosította a kutatómunkám feltételeit, hasznos tanácsaival és iránymutatásával segítette a munkámat.

Köszönöm a kutatómunkám során nyújtott segítséget Prof. Sümegi Jánosnak, Prof. Anette Wolffnak, Prof. Anne Puellnek, Prof. Rajnavölgyi Évának, Dr. Balogh Istvánnak, Dr. Erdős Melindának, Dr. Magyarics Zoltánnak és Barotáné Taskó Szilviának.

Köszönettel tartozom a társszerzőimnek a segítő együttműködésért.

Köszönetet mondok a DEOEC Infektológiai és Gyermekimmunológiai Tanszék minden dolgozójának, akikhez mindig bizalommal fordulhattam segítségért.

Köszönöm a betegeknek és családtagoknak a készséges együttműködést.

Végül, de nem utolsó sorban megköszönöm a családomnak a támogatást, a szeretetet és a türelmet, amivel mindig átsegítettek a nehézségeken.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Alimohammadi M, Björklund P, Hallgren A, Pöntynen N, Szinnai G, Shikama N, Keller MP, Ekwall O, Kinkel SA, Husebye ES, Gustafsson J, Rorsman F, Peltonen L, Betterle C, Perheentupa J, Akerström G, Westin G, Scott HS, Holländer GA, Kämpe O. 2008. Autoimmun Polyendocrine Syndrome Type 1 and NALP5, a Parathyroid Autoantigen. *New England Journal of Medicine* 358:1018-1028.
2. Becker S, Groner B, Müller CW. 1998. Three-dimensional structure of the Stat3beta homodimer bound to DNA. *Nature* 394:145-151.
3. Björnses P, Halonen M, Palvimo JJ, Kolmer M, Aaltonen J, Ellonen P, Perheentupa J, Ulmanen I, Peltonen L. 2000. Mutations in the *AIRE* Gene: Effects on subcellular location and transactivation function of the autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy protein. *American Journal of Human Genetics* 66:378-392.
4. Blizzard RM, Kyle M. 1963. Studies of the adrenal antigens and the antibodies in Addison's Disease. *Journal of Clinical Investigation* 42:1653-1660.
5. Buckley RH. The hyper-IgE syndrome. 2001. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology* 20:139-154.
6. Casanova JL and Abel L. Primary immunodeficiencies: A field in its infancy. 2007. *Science* 317:617-19.
7. Chen X, Vinkemeier U, Zhao Y, Jeruzalmi D, Darnell JE Jr., Kuriyan J. 1998. Crystal structure of a tyrosine phosphorylated STAT-1 dimer bound to DNA. *Cell* 93:827-839.
8. Cihakova D, Trebusak K, Heino M, Fadeyev V, Tiulpakov A, Battelino T, Tar A, Halász Z, Blümel P, Tawfik S, Krohn K, Lebl J, Peterson P. 2001. Novel AIRE mutations and P450 cytochrome autoantibodies in Central and Eastern European patients with APECED. *Human Mutation* 18:225-232.
9. Conley ME, Mathias D, Treadaway J, Minegishi Y, Rohrer J. 1998. Mutations in Btk in patients with presumed X-linked agammaglobulinemia. *American Journal Human Genetics* 62:1034-1043.
10. Den Dunnen JT, Antonarakis E. 2001. Nomenclature for the description of human sequence variations. *Human Genetics* 109:121-24.
11. Davis SD, Schaller J, Wedgwood RJ. 1996. Job's Syndrome. Recurrent, "cold", staphylococcal abscesses. *Lancet* 1:1013-1015.
12. Dominguez M, Crushell E, Ilmarinen T, McGovern E, Collins S, Chang B, Fleming P, Irvine AD, Brosnahan D, Ulmanen I, Murphy N, Costigan C. 2006. Autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED) in the Irish population. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism* 19:1343–1352.

13. Freeman AF, Collura-Burke CJ, Patronas NJ, Ilcus LS, Darnell D, Davis J, Puck JM, Holland SM. 2007. Brain abnormalities in patients with hyperimmunoglobulin E syndrome. *Pediatrics* 119:e1121-1125.
14. Grimbacher B, Holland SM, Puck JM. 2005. Hyper-IgE syndromes. *Immunological Reviews* 203: 244-250.
15. Gylling M, Tuomi T, Björnses P, Kontiainen S, Partanen J, Christie MR, Knip M, Perheentupa J, Miettinen A. 2000. β -Cell Autoantibodies, Human Leukocyte Antigen II Alleles, and Type 1 Diabetes in Autoimmun Polyendocrinopathy-Candidiasis-Ectodermalis Dystrophy. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 85, 4434-4440.
16. Holinski-Feder E, Weiss M, Brandau O, Jedele KB, Nore B, Backesjo CM, Vihinen M, Hubbard SR, Belohradsky BH, Smith CIE, Meindl A. 1998. Mutational screening of the BTK gene in 56 families with X-linked agammaglobulinemia (XLA): 47 unique mutations without correlation to clinical course. *Pediatrics* 101:276-284.
17. Holland SM, DeLeo FR, Elloumi HZ, Hsu AP, Uzel G, Brodsky N, Freeman AF, Demidowich A, Davis J, Turner ML, Anderson VL, Darnell DN, Welch PA, Kuhns DB, Frucht DM, Malech HL, Gallin JI, Kobayashi SD, Whitney AR, Voyich JM, Musser JM, Woellner C, Schäffer AA, Puck JM, Grimbacher B. 2007. STAT3 Mutations in the Hyper-IgE Syndrome. *The New England Journal of Medicine* 357:1608-1619.
18. Husebye ES, Perheentupa J, Rautemaa R, Kampe O. 2009. Clinical manifestations and management of patients with autoimmune polyendocrine syndrome Type I. *Journal of Internal Medicine* 265:514-259.
19. Jin H, Webster AD, Vihinen M, Sideras P, Vorechovsky I, Hammarström L, Bernatowska-Matuszkiewicz E, Smith CI, Bobrow M, Vetrie D. 1995. Identification of Btk mutations in 20 unrelated patients with X-linked agammaglobulinaemia (XLA). *Human Molecular Genetics* 4:693-700.
20. Ling JC, Freeman AF, Gharib AM, Arai AE, Lederman RJ, Rosing DR, Holland SM. 2007. Coronary artery aneurysms in patients with hyper IgE recurrent infection syndrome. *Clinical Immunology* 122:255-258.
21. Leonard M. 1946. Chronic idiopathic hypoparathyroidism with superimposed Addison's disease in a child. *Journal Clinical Endocrinology and Metabolism* 6:493-495.
22. Mathis D, Benoist C. 2007. A decade of AIRE. *Nature Reviews Immunology* 7:645-650.
23. Meager A, Visvalingam K, Peterson P, Möll K, Murumägi A, Krohn K, Eskelin P, Perheentupa J, Husebye E, Kadota Y, Willcox N. 2006. Anti-interferon autoantibodies in autoimmune polyendocrinopathy syndrome type I. *PLoS Medicine* 3:1152-1164.

24. Meloni A, Furcas M, Cetani F, Marcocci C, Falorni A, Perniola R, Pura M, Bøe Wolff AS, Husebye ES, Lilic D, Ryan KR, Gennery AR, Cant AJ, Abinun M, Spickett GP, Arkwright PD, Denning D, Costigan C, Dominguez M, McConnell V, Willcox N, Meager A. 2008. Autoantibodies against type I interferon as an additional diagnostic criterion for autoimmune polyendocrine syndrome type I. *Journal Clinical Endocrinology and Metabolism* 93:4389-4397.
25. Nagamine K, Peterson P, Scott HS, Kudoh J, Minoshima S, Heino M, Krohn KJ, Lalioti MD, Mullis PE, Antonarakis SE, Kawasaki K, Asakawa S, Ito F, Shimizu N. 1997 Positional cloning of the APECED gene. *Nature Genetics* 17:393-398.
26. Ochs HD, Smith CIE. 1996. X-linked agammaglobulinemia. A clinical and molecular analysis. *Medicine* 75:287-299.
27. Oftedal BE, Wolff AS, Bratland E, Kämpe O, Perheentupa J, Myhre AG, Meager A, Purushothaman R, Ten S, Husebye ES. 2008. Radioimmunoassay for autoantibodies against interferon omega; its use in the diagnosis of autoimmune polyendocrine syndrome type I. *Clinical Immunology* 129:163–169.
28. Pearce SH, Cheetham T, Imrie H, Vaidya B, Barnes ND, Bilous RW, Carr D, Meeran K, Shaw NJ, Smith CS, Toft AD, Williams G, Kendall-Taylor P. 1998. A common and recurrent 13-bp deletion in the autoimmune regulator gene in British Kindreds with autoimmune polyendocrinopathy type 1. *American Journal of Human Genetics* 63:1675–1684.
29. Perheentupa J. 2002. APS-I/APECED: the clinical disease and therapy. *Endocrinology Metabolism Clinics of North America* 31:295-320.
30. Perheentupa J. 2006. Autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy. *Journal Clinical Endocrinology and Metabolism* 91:2843-2850.
31. Peterson P, Peltonen L. 2005. Autoimmun polyendocrinopathy syndrome type 1 (APS1) and AIRE gene: New views on molecular basis of autoimmunity. *Journal of Autoimmunity* 25:49-55.
32. Plebani A, Soresina A, Rondelli R, Amato GM, Azzari C, Cardinale F, Cazzola G, Consolini R, Mattia D, Erba GD, Duse M, Fiorini M, Martino S, Martire B, Masi M, Monafo V, Moschese V, Notarangelo LD, Orlandi P, Panei P, Pession A, Pietrogrande MC, Pignata C, Quinti I, Ragno V, Rossi P, Sciotto A, Stabile A, and the Italian Pediatric Group for XLA-AIEOP. 2002. Clinical, immunological, and molecular analysis in a large cohort of patients with X-linked agammaglobulinemia: an Italian multicenter study. *Clinical Immunology* 104:221-230.
33. Puel A, Döffinger R, Natividad A, Chrabieh M, Barcenas-Morales G, Picard C, Cobat A, Ouachée-Chardin M, Toulon A, Bustamante J, Al-Muhsen S, Al-Owain M, Arkwright PD, Costigan C, McConnell V, Cant AJ, Abinun M, Polak M, Bougnères PF, Kumararatne D, Marodi L, Nahum A, Roifman C, Blanche S, Fischer A, Bodemer C, Abel L, Lilic D, Casanova JL. 2010. Autoantibodies against IL-17A, IL-17F, and IL-22 in patients with chronic mucocutaneous candidiasis and autoimmune polyendocrine syndrome type I. *Journal of Experimental Medicine* 207:291-297.

34. Renner ED, Puck JM, Holland SM, Schmitt M, Weiss M, Frosch M, Bergmann M, Davis J, Belohradsky BH, Grimbacher B. 2004. Autosomal recessive hyperimmunoglobulin E syndrome: a distinct disease entity. *Journal of Pediatrics* 144:93-99.
35. Saha BK, Curtis SK, Vogler LB, Vihinen M. 1997. Molecular and structural characterization of five novel mutations in the Bruton's tyrosine kinase gene from patients with X-linked agammaglobulinemia. *Molecular Medicine* 3:477-485.
36. Sato U, Horikawa R, Katsumata M, Asakura Y, Kitanaka S, Tanaka T. 2004. Novel Compound heterozygous *AIRE* mutations in a Japanese patient with APECED. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism* 17:917-921.
37. Scott HS, Heino M, Peterson P, Mittaz L, Lalioti MD, Betterle C, Cohen A, Seri M, Lerone M, Romeo G, Collin P, Salo M, Metcalfe R, Weetman A, Papasavvas MP, Rossier C, Nagamine K, Kudoh J, Shimizu N, Krohn KJ, Antonarakis SE. 1998. Common mutations in autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy patients of different origins. *Molecular Endocrinology* 12:1112-1119.
38. Söderbergh A, Myhre AG, Ekwall O, Gebre-Medhin G, Hedstrand H, Landgren E, Miettinen A, Eskelin P, Halonen M, Tuomi T, Gustafsson J, Husebye ES, Perheentupa J, Gylling M, Manns MP, Rorsman F, Kämpe O, Nilsson T. 2004. Prevalence and Clinical Associations of 10 Defined Autoantibodies in Autoimmune Polyendocrine Syndrome Type I. *Journal Clinical Endocrinology and Metabolism* 89:557-562.
39. Speletas M, Kanariou M, Kanakoudi-Tsakalidou F, Papadopoulou-Alataki E, Arvanitidis K, Pardali E, Constantopoulos A, Kartalis G, Vihinen M, Sideras P, Ritis K. 2001. Analysis of Btk mutations in patients with X-linked agammaglobulinaemia (XLA) and determination of carrier status in normal female relatives: a nationwide study of Btk deficiency in Greece. *Scandinavian Journal of Immunology* 54:321-327.
40. The Finnish-German APECED Consortium 1997. An autoimmune disease, APECED, caused by mutations in a novel gene featuring two PHD-type zinc-finger domains. The Finnish-German APECED Consortium. Autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy. *Nature Genetics* 17:399-403.
41. Tsukada S, Saffran DC, Rawlings DJ, Parolini O, Allen RC, Klisak I, Sparkes RS, Kubagawa H, Mohandas T, Quan S, Belmont JV, Cooper MD, Conley ME and Witte ON. 1993. Deficient expression of a B cell cytoplasmic tyrosine kinase in human X-linked agammaglobulinemia. *Cell* 72:279-90.
42. Vetrie D, Vorechovsky I, Sideras P, Holland J, Davies A, Flinter F, Hammarstrom L, Kinnon C, Levinsky R, Bobrow M, Smith CIE, Bentley DR. 1993. The gene involved in X-linked agammaglobulinemia is a member of the *src* family of protein tyrosine kinases. *Nature* 361:226-233.
43. Vihinen M, Mattsson PT, Smith CIE. 2000. Bruton tyrosine kinase (BTK) in X-linked agammaglobulinemia (XLA). *Frontiers in Bioscience* 5:917-928.

44. Wang CY, Davoodi-Semiromi A, Huang W, Connor E, Shi JD, She JX 1998. Characterization of mutations in patients with autoimmune polyglandular syndrome type 1 (APS I). *Human Genetics* 103:681–685.
45. Winkelstein JA, Marino MC, Lederman HM, Jones SM, Sullivan K, Burks AW, Conley ME, Burks AW, Cunningham-Rundles C, Ochs HD. 2006. X-linked agammaglobulinemia: report on a United States registry of 201 patients. *Medicine* 85:193-202.
46. Wolff AS, Erichsen MM, Meager A, Magitta NF, Myhre AG, Bollerslev J, Fougner KJ, Lima K, Knappskog PM, Husebye ES. 2007. Autoimmune polyendocrine syndrome type 1 (APS I) in Norway-phenotypic variation, autoantibodies and novel mutations in the autoimmune regulator (AIRE) gene. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism* 92:595–603.
47. Zlotogora J, Shapiro MS. 1992 Polyglandular autoimmune syndrome type I among Iranian Jews. *Journal of Medical Genetics* 29:824–826.
48. www.hgmd.cf.ac.uk