

A HL-A, VALAMINT VÉRC SOPORTRENDSZEREK (Rh, ABO) ÉS AZ IMMUNREAKTIVITÁS GENETIKAI KAPCSOLATA

PETRÁNYI GYÖZÖ, IVÁNYI PAVEL és HOLLÁN ZSUZSA az MTA levelező tagja

Közlésre érkezett: 1974. X. 10.

Az elmúlt években egyre szélesebb körben végzett kísérletes vizsgálatok eredményei egyértelműen igazolták, hogy a különböző antigénekkal szemben keletkező specifikus immunválasz genetikai kontroll alatt áll (*Benacerraf* és mtsai 1971, *Benacerraf* és *McDevitt* 1971, *McDevitt* 1971). Szintetikus polypeptidekkel (*Bluestein* és mtsai 1971, *Günther* és mtsai 1972, *Merryman* és *Maurer* 1972, *Shearer* és mtsai 1972) serum fehérjék kis dóziséval (*Liebermann* és mtsai 1972, *McDevitt* 1971) haptén-carrier komplexekkel (*DelGuericio* és *Zola* 1972, *Rihova-Skavova* és *Riha* 1972) bakteriális antigénekkal (*Amsbaugh* és mtsai 1972, *Biozzi* és mtsai 1971) vörösvértest és transzplantációs antigénekkal (*Fuji* és mtsai 1972, *Stimpfling* és *Durham* 1972) az egerekben, patkányokban és tengerimalacokban indukált immunválaszt, feltehetően autosomalisan domináns önálló génműködés szabályozza (*Benacerraf* és mtsai 1971, *Benacerraf* és *McDevitt* 1971, *McDevitt* és mtsai 1972). E géneket a szóban forgó antigénektől függően egerekben Ir-1, Ir-3 (*Benacerraf* és mtsai 1971, *Benacerraf* és *McDevitt* 1971, *McDevitt* 1971) tengerimalacokban PLL, GA, GT, GL, BSA stb. elnevezésekkel illették (*Benacerraf* és mtsai 1971, *Benacerraf* és *McDevitt* 1971, *Günther* és mtsai 1971, *McDevitt* 1971). A beltenyésztett egér, patkány és tengerimalac törzsek keresztezésével, visszakeresztezésével végzett génlokalizációs vizsgálatok döntő többségében az egyes antigénekkal szembeni immunreakcióért felelős géneket elsősorban a hisztokompatibilitási locushoz kapcsoltnak találták (*Benacerraf* és mtsai 1971, *Benacerraf* és *McDevitt* 1971, *Bluestein* és mtsai 1971, *McDevitt* 1971, *Merryman* és mtsai 1972). Az egerek Ir-1 locusa már közel pontosan lokalizálható a H-2 „szupergén” komplex „K” vége és az Ss-Slp locus közötti szakaszon (*McDevitt* és mtsai 1972).

Az eddigi vizsgálatok alapján feltételezhető, hogy a különböző antigénekkal szembeni immunválaszt több gén határozza meg, bár egy gén több rokon antigénnel és haptén konjugátummal szembeni humoralis, vagy sejtközvetített immunreakciót is befolyásolhat, ugyanakkor egy antigénnel szembeni immunreakció is lehet multigenetikus faktorok eredménye.

A génműködés valószínűleg az antigénelismerés képességét kódolja a T-lymphocyták szintjén *McDevitt* (1971), bár ismeretesek olyan genetikusan meghatározott funkciózavarok (pl. az immunocyták clonalis osztódásának

meglassúbbodása), melyek a legkülönbözőbb csoportba tartozó antigénekkal szembeni immunválaszokat egyaránt és egyöntetűen befolyásolni képesek. Az ilyen „gyenge” vagy „alacsony” immunreakcióval rendelkező egyedekben kísérletes daganatok könnyebben indukálhatók (*Biozzi és mtsai 1971, Biozzi és mtsai 1972, Lieberman és mtsai 1972, Liocopulos és mtsai 1972*). Ez utóbbit, vagyis a daganat fogékonyságot meghatározó géneket is egyes esetekben a hisztokompatibilitási locussal kapcsoltnak találták (pl. Rgv-1 gént, mely a Gross leukaemia-vírus iránti fogékonyságot határozza meg).

A kísérleti adatokon nyugvó, az immunreaktivitással kapcsolatos összefüggések felfedezése hasonló emberi adatok keresése iránti érdeklődést keltett fel.

Így az utóbbi években intenzíven kutatták az emberi HL-A locus allel-jeinek különböző lympho- és myeloproliferatív, valamint kóros immunfunkciókkal járó autoimmun betegségekkel feltételezett korrelációját (*Conkell és mtsai 1971, Jeannet és Maguin 1971, Lilly 1971, Thorsby és Lie 1971, Thorsby és mtsai 1972, vanRood és vanLeuwen 1971, Walford és mtsai 1971*).

Az eddigi vizsgálatok eredményei egyes esetekben szignifikáns összefüggéseket tártak fel; pl. a Hodgkin-kóros betegekben a W5, az akut myeloid leukaemiában a HL-A 12 antigének gyakrabban fordultak elő (*Conkell és mtsai 1971, Sybesma és mtsai 1972, Thorsby és mtsai 1972, vanRood és vanLeuwen 1971*). Az esetek egy részében a talált összefüggések még további megerősítésre szorulnak, pl. akut lymphoid leukaemiában a HL-A haplotypus, vagy Hodgkin kórban a HL-A antigén gyakoribb előfordulása (*Morris és Forbes 1972, Thorsby és Lie 1971, Walford és mtsai 1971*). Feltűnő az összes malignus haematológiai megbetegedések egybevetése esetén, hogy a HL-A 11 antigén azokban a szokottnál jóval ritkábban fordul elő (*Jeannet és Maguin 1971*). Egyes autoimmun jellegű betegségekben (myasthenia gravis, lupus erythematosus, rheumatoid arthritis dermatitis herpetiformis, stb.) különösen a HL-A 1 és 8 antigének gyakoribb előfordulását találták (*Katz és mtsai 1972, Pirkskanen és mtsai 1972, Signalet és mtsai 1972, Stenszky és mtsai megj. alatt*).

A fentiekben említett betegségekben feltehető az immunrendszer csökkent, illetve kóros működése. Így ezek, a ma még le nem zárható vizsgálatok csak indirect utalhatnak a HL-A rendszer és az immunreaktivitás feltételezett kapcsolatára. Az immunreaktivitás genetikai hátterének tisztázására vonatkozó közvetlen vizsgálatok kezdeti eredményei szerint az egyes immunológiai paraméterek a HL-A antigénekkal igen polymorph kapcsolatot mutatnak (*Brain 1972, Buckley és mtsai 1973, Sybesma 1972*).

Tekintettel arra, hogy a kérdés vizsgálata rendkívül fontos mind elméleti, mind klinikai szempontból, „Nemzetközi HL-A workshop”-ot szerveztünk, melynek keretében 133 egészséges egyénben a HL-A és vércsoport antigének, és különböző immunológiai vizsgálat kategorizált eredményei között kerestük a kapcsolatot. 463, részben Rh₀(D) pozitív vörösvértestekkel, részben Staphy-

lococcus, valamint Pertussis antigénnel immunizált egyén közül kiválasztott legalacsonyabb, illetve legmagasabb immunválasszal rendelkező 133 egyénen, 14 bakteriális antigénnel szembeni, természetes úton kialakuló ellenanyag-szintet, IgA, IgG, IgM összkomplement és Cl serumszintet, továbbá phytohaemagglutininnel (PHA) lymphocytá stimulációt, indifferens xenogen (egér) fibroblast target sejteken kifejtett lymphocytotoxicitást, tuberculoproteinnel indukált macrophag migrációgátlást vizsgáltunk. Az immunológiai vizsgálatok során nyert eredményeket „alacsony”, „közepes” és „magas” kategóriákba soroltuk. Számítógépes statisztikai analízis segítségével kerestük a HL-A, és különböző vércsoport antigének, valamint a „hypo-”, illetve „hyper” immunreaktivitás kapcsolatát, továbbá a különböző kategóriákba sorolt immunológiai értékek egymáshoz való viszonyát.

Módszerek

Immunizálás: A vizsgálatokat 133 egészséges belgyógyászatiilag kivizsgált 20–50 év közötti önkéntes, 80%-ban férfi véradón végeztük el, akiket 260 Budapesten és 203-at Győrött anti-D savó, Staphylococcus, illetve Pertussis vaccina-termelés céljából immunizált donorok csoportjaiból választottuk ki.

A 4–5 év óta hetenként 3x, 2–5 ml mosott Rh₀(D) pozitív (AB0 csoportazonos) vörösvérsejttel intravénásan immunizált egyének közül 76-ot választottunk ki. Az immunizáltak kb. 30%-a általában rossz ellenanyagtermelőnek bizonyult. A legérzékenyebb serológiai módszert — az enzimkezelt (papainizált) vörösvérsejt agglutinációt alkalmazva — a refrakter egyéneket (39 eset) „areactív”, és az 1:300 titeret meghaladó antitest termeléssel válaszolókat (37 eset) „hyperreactív” csoportba soroltuk.

A donorok másik csoportját Staphylococcus, vagy Pertussis (Polystaph: 2×10^9 bact/ml + alfa toxoid, Pertussis: 2×10^8 particulum/ml, HUMÁN vaccinával (0,2–0,5 ml) 6–8 alkalommal, 5–7 napos közökkel immunizáltuk intracutan. A normál értékeknél (anti-staphylococcus 3,2–9,6 anti-pertussis 1:320–1:1280 titer) alacsonyabb titerű egyedeket „hyporeactív” (24 eset), és az annál magasabb titerű egyéneket „hyperreactív” (23 eset) kategóriába soroltuk.

Vörösvérsejt és HL-A antigén meghatározás: Az 0AB, MN, Rh (D, E, C) vércsoport antigéneket a standard methodikákkal határoztuk meg. A 133 egyén HL-A típusát a „Budapest* HL-A workshop”-on közösen és egyidőben 10 nemzetközi munkacsoport határozta meg. 22 HL-A antigénre tipizáltunk (1. táblázat), és az egyes egyének phenotypusát közösen határoztuk meg. A tipizálást a standard NIH-technikával (Terasaki, 1972) végeztük.

A vizsgált 133 egyén vércsoport, és HL-A antigén megoszlása és gén-

* Belgrád, Berlin, Moszkva, Párizs, Pozsony, Prága, Szófia, Zágráb, Wroclaw és Magyarország (Budapest, Debrecen, Szeged)

I. táblázat

Antigén és gén frekvencia a magyar (kontroll) populációban
(N = 790) és a „Workshop” csoportban (N = 128)

Első locus:	Kontroll csoport		„Workshop” csoport	
	Ag. freq.	G. freq.	Ag. freq.	G. freq.
HL-A 1	0,273	0,147	0,281	0,152
2	0,508	0,299	0,500	0,293
3	0,239	0,127	0,172	0,090
9	0,227	0,121	0,227	0,121*
(W 23)	—	—	(0,219)	(0,116)
(W 24)	—	—	(0,008)	(0,004)
HL-A 10	0,176	0,092	0,164	0,086*
(W 25)	—	—	(0,109)	(0,056)
(W 26)	—	—	(0,055)	(0,028)
HL-A 11	0,135	0,070	0,145	0,077
W 28	0,076	0,040	0,086	0,044
29	—	—	0,078	0,040
30	—	—	0,102	0,052
31	—	—	—	—
32	0,064	0,033	0,070	0,036
x	—	0,072	—	0,010
<i>Második locus:</i>				
HL-A 5	0,170	0,089	0,125	0,065
7	0,179	0,094	0,188	0,099
8	0,192	0,101	0,117	0,060
12	0,213	0,113	0,250	0,134
13	0,096	0,049	0,078	0,040
W 5	0,163	0,085	0,297	0,162
10	0,162	0,085	0,078	0,040
14	0,070	0,036	0,039	0,020
15	0,084	0,043	0,086	0,044
16	—	—	0,047	0,024
17	0,099	0,051	0,039	0,020
18	—	—	0,164	0,086
21	—	—	0,055	0,023
22	0,039	0,020	0,016	0,008
27	0,098	0,050	0,086	0,044
Da 30	—	—	0,055	0,028
y	—	0,185	—	0,102

* A „Workshop” csoportban a HL-A9 magában foglalja W-23 és W 24 antigéneket, továbbá a HL-A 10 pedig a W 25 és W 26 antigéneket.

frekvenciája általában a magyar populáció azonos adataival megegyezett (1. táblázat). Egy-egy antigén vonatkozásában azonban szignifikáns eltérés mutatkozott a szelekció miatt pl. az ABO, valamint Rh₀(D) negatív vércsoport és W5 antigén. Viszont az MN vércsoport megoszlása, mely a szelekciónál nem került figyelembe, jól reprezentálta az átlag magyar populációt (3. táblázat).

Természetes ellenanyag szint meghatározás: A 133 egyénen olyan 14 baktériális (Ty O, Ty Vi, Ty 2, Paty, Flexner 1, 2, 3, 6, Sonnei, Py O, Coli O 26, O 55, O 86, O 111) antigénekkal szembeni, és az anti A, valamint anti B ellenanyag szintet vizsgáltuk, melyekkel a magyar lakosság általában 80–100%-a természetes, vagy mesterséges úton immunizálódott (Backhausz és mtsai 1967,

2. táblázat

A különböző immunparaméterek átlagértékei és kategóriái

	Kontroll csoport	„Workshop” csoport			
	$X_0 - S. D.$	$X_0 \pm S. D.$	„alacsony”	„közepes”	„magas”
anti-D	—	—	0	—	1 : 300 <
anti-Staph. titer	—	—	0—3,2	—	3,2 <
anti-Pert.	—	—	0—1 : 640	—	1 : 640 <
anti-A titer	5,92±1,06	5,77±1,32	< 4,25	4,50—7,00	7,25 <
anti-B titer	5,93±1,59	5,44±1,55	< 3,50	3,75—7,25	7,25 <
S. Ty-0 titer	4,81±1,69	2,02±2,03	< 4,25	—	4,25 <
S. Ty-2 titer	5,06±1,62	3,25±1,01	< 2,00	2,25—4,50	4,50 <
S. Ty-Vi titer	3,87±1,95	3,32±1,41	< 1,75	2,00—5,00	5,00 <
S. Paty titer	4,03±1,39	0,81±1,61	< 2,50	—	2,75 <
S. Flexner 1 titer	5,34±1,40	3,33±1,50	< 1,50	1,75—4,75	5,00 <
S. Flexner 2 titer	4,84±1,39	3,37±0,70	< 2,50	2,75—4,00	4,25 <
S. Flexner 3 titer	4,97±1,42	3,63±1,58	< 1,75	2,00—5,25	5,50 <
S. Flexner 6 titer	6,19±1,47	2,87±1,72	0	1,50—4,50	4,75 <
S. Sonnei titer	5,45±1,58	2,87±1,54	0	1,50—3,25	3,50 <
Pyocy. aerug. titer	4,99±1,71	2,43±1,78	0	1,50—4,25	4,50 <
E. Coli 026 titer	4,49±1,75	3,85±1,22	< 2,50	2,75—5,00	5,25 <
E. Coli 055 titer	3,37±1,63	2,34±1,59	0	1,50—4,00	4,25 <
E. Coli 086 titer	5,78±1,82	1,75±1,84	< 3,50	—	3,75 <
E. Coli 0111 titer	3,74±1,36	2,53±1,67	0	1,50—4,25	4,50 <
Staphyloc. titer	0,56±0,28	1,33±1,03	< 0,28	0,29—2,36	2,37 <
IgA mg/ml	2,33±1,16	2,54±1,09	< 1,43	1,44—3,63	3,64—11,20
IgG mg/ml	10,99±3,25	11,37±4,44	< 8,92	8,93—17,81	17,82 <
IgM mg/ml	0,84±0,39	1,31±0,79	< 0,50	0,51—2,10	2,11 <
Össz-complement	72,00±15,00	73,30±12,3	< 56,00	56,00—87,00	87,00 <
C I CH ₅₀ /ml	941±146	978±231	< 790	790—1090	1090 <
PHA stimuláció c. p. m.	±	6707±2859	< 3848	3849—9566	9566 <
PHA érzékenység PHA dózis ml-ben	—	—	< 0,03	0,01—0,003	0,001 <
Migr. gátlás Migr. index	—	—	—	1,00—0,83	0,83 <
Cutan-test, hyper- aemia mm Ø	—	5,00±3,40	—	< 9,00	9,00 <
Lymphocytotoxi- citás %	—	—	< 4,5	4,50—15,00	15,00 <
Nem	—	—	nő	—	férfi
Kor	—	—	< 45	—	45 <

3. táblázat

Antigén frekvencia a magyar (kontroll) populációban és a „Workshop” csoportban

Vér csop. rendszer	Antigén	Kontroll csoport:		„Workshop” csoport:	
		Ag. freq.	N	Ag. freq.	N
ABO	O	31,51	50,000	12,03	133
	A	41,92		52,38	
	B	18,23		18,79	
	AB	8,34		15,78	
MN	M	32,60	20,000	31,75	126
	N	18,40		11,91	
	MN	49,00		56,35	
Rh	Rh ₀ (D)+	83,68	5,000	40,60	133
	Rh ₀ (D)-	16,32			

Veres J. és Lajos J, 1972). Egyedül csak a Coli O 111 fertőzöttség 55%-os az átlagpopulációban (Backhausz és mtsai 1967, Veres J. és Lajos J., 1972). A bakteriális antitesteket Takátsy mikrómmódszerével (50), Backhausz és mtsai (40) által módosított vizsgálat szerint vizsgáltuk. A bakteriális antitesteket passív haemagglutinációval, az isohaemagglutininek titerét direct agglutinációval, a staphylococcus alpha antitoxin (ASTA) titert haemolysis gátlással határoztuk meg.

A 100 előzetesen vizsgált „kontroll” budapesti véréadó, és a „workshop”-on vizsgált 133 egyén átlag titer értékeit a 2. táblázatban tüntettük fel. Feltűnő, hogy egyes antigének esetében TyO, Ty2, Paty, Flexner 1, 6, Sonnei, Pyoc Coli 066) az átlag titer értékek a „workshop” populációban jelentősebben alacsonyabbak voltak, mint a kontroll csoportban.

Immunoglobulin meghatározások: Az IgG, IgM és IgA serumszinteket a Mancini és mtsai módszerével (30) határoztuk meg.

Complement vizsgálatok: A serum összkomplement és a C1 tényező vizsgálata csak a bakteriális antigénnel immunizáltak csoportjánál történt. Bár az összkomplementszint csak globálisan mutatja a complement rendszer haemolyticus aktivitását, de az újabb vizsgálatok szerint (Margkescu, 1968) párhuzamosan változik a complement szekvenciában kulcsszerepet betöltő C3 tényező (beta 1C globulin) serumkoncentrációjával. A C1 titrálást a Hegedüs és Greiner 1938) által kidolgozott, és Bier és mtsai (1945) által tökéletesített R reagens módszerrel végeztük. Technikai okokból ezt a módszert alkalmaztuk az „effectiv molekula” titrálás (intermedier technika) helyett, miután a korábbi vizsgálatok arra mutattak, hogy a két módszer közel azonos eredményt ad (Schöngut és mtsai 1970). Mind az összkomplementet, mind a C1 titert 50%-os haemolyticus egységekben (CH₅₀/ml) adtuk meg, melyeket grafikus úton a Krogh egyenlet alapján határoztunk meg.

A lymphocyták PHA stimulációs vizsgálata: A lymphocytá tenyésztésben

a sejteket defibrinált vérből, gelatin segítségével ülepítettük. Az 1 ml-es kultúrák 1×10^6 lymphocytát tartalmaztak 20% AB serummal supplementált Parker 199 mediumban. A blastos transzformatios vizsgálatot *Schellekens* és *Eijvoogel* (1968) módszere alapján végeztük.

A lymphocyta stimulációhoz PHA-M-et (Difco) használtunk. Minden egyén lymphocyta tenyészetéhez ugyanazon PHA seriából különböző mennyiségeket adtunk (0,03, 0,01, 0,003, 0,001 ml/tenyészet).

A PHA stimuláció értékét a tenyésztés 3. napján 12 órás $0,5 \mu\text{Ci } ^3\text{H}$ -thymidin (Amersham, spec. act. 10 mCi/mMol) incorporáció után mértük, és cpm értékekben adtuk meg.

Kétféle jellemzőt vizsgáltunk:

a) A PHA stimuláció erőssége: melyet az összes PHA dózis hatására kapott cpm. értékek átlaga alapján 3 csoportba kategorizáltunk (2. táblázat és a matematikai rész).

b) A PHA érzékenység: az egyes PHA dózisokra kapott impulzus értékeket grafikusán ábrázoltuk. A kapott görbéket négy kategóriába osztottuk: a tipusos maximumot mutató görbék lehettek a magas, közepes vagy alacsony PHA dózisoknál, és a maximum nélküli ún. „lapos” görbék, melyeket minden dózusra közel azonos cpm. értékek jellemeztek. Az alacsony PHA dózusra maximálisan reagáló lymphocytákat „PHA hypersensitív”, míg a nagy PHA dózusra reagálókat „PHA hyposensitív” elnevezéssel illettük.

A lymphocyták cytotoxicus aktivitásának mérése:

A lymphocyták spontán cytotoxicus aktivitását xenogen target sejteken semimicro ^{51}Cr release módszerrel vizsgáltuk, mely módszer hasonló más methodikán alapul (*Menard* és *mtsai*, 1972., *Rosenberg* és *mtsai* 1972.). A lymphocytákat gelatin ülepítéssel, Delean oszlopon való granulocyta mentesítéssel és Ficoll-Uromiro gradiens centrifugálással tisztítottuk. Target sejtéként ^{51}Cr -al jelzett (100 $\mu\text{Ci Na}_2\text{CrO}_4/10^6$ sejt, 45 perces inkubálás 37°C -on) DBA/2 egér fibroblast kultúrát használtunk. A mikroplate lyukaiba (Falcon Plastic, type 3040) 5×10^3 target sejtet, 5×10^5 lymphocytával tenyésztettünk együtt 5% CO_2 -ot tartalmazó páratelt atmoszférában 37°C -on, 12 órán át, rázógépen (Belleco) történt lassú (7/perc) mozgatás mellett. A cytotoxicitást a felszabadított aktivitás mérése alapján az alábbi képlet szerint adtuk meg:

$$\frac{\text{cpm ly jelenlétében} - \text{cpm lymphocyták nélkül}}{\text{a target sejtekben incorporált teljes cpm}} \times 100$$

A cytotoxicitási értéket 3 kategóriába soroltuk: 0% – 4,5, 4,5–15% közötti, és 15% feletti cytotoxikus aktivitások.

Minden esetben megvizsgáltuk a cytotoxicus aktivitást 0,003 ml PHA-M jelenlétében is.

Kapilláris migráció módszere: A fenti módszerrel separált tiszta lympho-

cyta suspensioval 5×10^6 lymphocytát 24 órán át tenyésztettünk 5% CO_2 atmoszférában 37 °C-on 1 ml Parker 199 mediumban, mely 10 $\mu\text{g/ml}$ PPD-t tartalmazott (Purified Tuberculin, Statens Serum Institute, Tub. Dept. DK-2300, Copenhagen). E felülúszókat használtuk médiumként, több egyén kevert véréből gelatin ülepítés után Degalan oszlop segítségével tisztított humán adherens sejtek kapilláris migráció gátlásának vizsgálatára. A módszer lényegében Falk és Zabriski (1971) módszerén alapult.

A migrációs területeket planimetriásan mértük, és a gátlást migrációs index segítségével fejeztük ki. Pozitív-gátlásnak a 0,83 alatti index értékeket vettük, mely már szignifikánsan eltért a kontroll értékektől.

A migráció-gátlás vizsgálatát technikai okok miatt csak az $\text{Rh}_0(\text{D})$ pozitív vörösvérsejtekkel immunizált egyének egy részénél (40 eset) vizsgáltuk.

Cutan-test: A bakteriális antigénnel immunizált egyének esetében az immunizálásra felhasznált baktériumból készített allergen test (Allergen test A, F, HUMÁN) 0.1 ml oldatát intracután adtuk. A reakciót 48 óra múlva olvastuk le, és azt a bőrpír átlagos átmérőjével jelöltük. Normál, nem immunizált egyének esetében a Pertussis cután test 1,2 mm \emptyset , a Staphylococcus cután test pedig 12,9 mm \emptyset reakciót idézett elő. A pertussissal immunizáltaknál a reakció átlagos átmérője 4,1 mm volt, míg a Staphylococcus immunizálás esetében 5,4 mm. Minden esetben pozitívnek vettük a 9 mm-nél nagyobb átmérőjű reakciókat.

Matematikai értékelés:

1. Kategóriák meghatározása: A workshopon megvizsgált 133 egyén és a kontroll csoport különböző vizsgálatú eredményeinek középértékét meghatároztuk. A középértékek szórása által határolt értékek alatt lévő vizsgálati eredményeket az „alacsony”, a feletti értékeket a „magas” kategóriába soroltuk. A „normál” kategóriát a szórási értékeken belül adatok képezték (2. táblázat).

A természetes ellenanyagok között volt három (TyO, Paty, Coli 086), melyek esetében csak két kategóriát (alacsony, magas) lehetett megkülönböztetni. Ennek megfelelően a szórás felső határa feletti adatokat a magas, az alattiakat az alacsony kategóriába soroltuk.

2. Computer program: A 133 vizsgált egyén kategorizált immunológiai adatait a HL-A, és vörösvérsejt antigénnel való kapcsolatuk tekintetében analizáltuk, továbbá az összes immunológiai adatokat egymással is összevetettük. Az összehasonlításra került csoportok összefüggését az X^2 számítás, 2×2 kontingencia táblázat segítségével statisztikailag analizáltuk. A szignifikancia szintet mindig az adott X^2 értékhez számoltuk az általunk külön e célra kidolgozott eljárással. A génfrekvencia számításokat az ismert módon végeztük el.

Az adatok számítógépes feldolgozását a Kossuth Lajos Tudomány-

egyetem (Debrecen) Számoló Központjának ODR A 1204 típusú computerén végeztük el.

A programot ALGOL-60 nemzetközi algoritmikus nyelven írtuk. A szignifikáns korrelációkat a computer által kiírt kontingencia táblázatok adataival minden esetben ellenőriztük, és csak a biológiaiag értelmezhető adatokat jeleztük a „háromszög” feldolgozásában (1, 2. ábra).

Eredmények:

Az immunreaktivitás összefüggése a HL-A, és vércsoport-antigének genetikai rendszerével

Az Rh₀(D) pozitív vörösvérsejtekkel, továbbá a Staphylo és Pertussis bakteriális antigénnel immunizált egyéneknél az „alacsony” és „magas” ellenanyagtermelés készsége egyetlen HL-A antigén jelenlétével, vagy hiányával sem függött egyértelműen össze. Az immunizált egyének egyéb immunológia paraméterei sem mutattak egyértelmű összefüggést valamely HL-A antigénnel. Mozaikszerűen egyes korrelációk ugyan kifejezésre jutnak, ezek közül azonban csak az alábbiak jellemzőek (1. ábra).

A HL-A 3 és 7 alloantigének negatív correlációban állanak a „spontán” lymphocytotoxicus aktivitással. Ennek értelmében ezen HL-A antigének jelenlétében a lymphocyták nem, vagy csak igen kismértékű lymphocytotoxicus aktivitást gyakoroltak a xenogen target sejtekre és fordítva, ezen antigének hiányában a nevezett lymphocyták aktivitás igen kifejezett volt. Egy másik jellemző összefüggés szerint a HL-A 10 antigén, és a közepes mértékű PHA lymphocyták stimuláció járnak együtt. A HL-A 2 antigén szintén kapcsolatot mutat egy-két közepes erősségű immunológiai paraméterrel (Flexner 2, Coli O III antitest titer, Complement 1 szint). Az ábrán látható többi korreláció a relatív kevés esetszám miatt (alacsony antigénfrekvencia) a statisztikai véletlen közrejátszása is lehet.

Teljesen váratlan adatként találtuk azt, az igen jellemző összefüggést, hogy egyes Rh antigének jelenléte (C, D, E) különböző bakteriális antigénnel szembeni természetes ellenanyagtermelés magas, vagy közepes, és ezen antigének hiánya pedig alacsony titerértékeivel járt együtt. Ezen Rh antigének pozitív korrelációt mutatnak továbbá a magas PHA dózissal maximális reakciókészséget mutató, „hyporeaktív” lymphocyták populációval. Ugyanakkor negatív korreláció ismerhető fel a D, C antigének, és a spontán lymphocytotoxicus aktivitás között. Mindezen adatok arra utalnak, hogy talán a D és C pozitív egyének magasabb titerű bakteriális antitest szintézissel, és PHA hypsensitív lymphocyták populációval rendelkeznek, mely kevésbé képes a spontán lymphocytotoxicus aktivitást kifejteni. Ugyanez az Rh₀(D) negatív egyéneknél ellenkező értelemben nyilvánult meg.

Egyéb, az OAB és az MN vércsoport rendszerhez tartozó vörösvértest

antigének, és a különböző immunológiai adatok között jellemzőnek mondható összefüggést nem találtunk.

Nem meglepő, de mégis feltűnő erős korrelációk mutatkoztak nemhez kötötten (1. ábra). Ezen korrelációk többsége megegyezett a D és C -vel a fentiekben leírt összefüggésekkel, melyeknek értelmében a férfiaknál — általában — alacsony természetes ellenanyag titerek és immunoglobulin szintek fordultak elő és nem lehetett kimutatni a PHA hyposensitív lymphocyta populációt.

Az életkor vizsgálatánál közepes korrelációt észleltünk több természetes ellenanyagszint magasabb titere, és a 45 év feletti kor között (1. ábra).

A különböző immunológiai adatok egymással fennálló összefüggései

A 2. ábrán az egyes immunológiai vizsgálatok adatainak egymással való összefüggése látszik, melyek közül az alábbiak jelentősek.

A computer analízis legerősebb, és legegyszerűbb összefüggése az Rh₀(D) pozitív vörösvérsejtekkel immunizált Rh₀(D) negatív egyének anti-Rh₀(D) immunválasza, és az egyes természetes ellenanyagszintek között mutatkozott. A D-pozitív vörösvérsejtekkel szemben magas anti-D titerrel válaszoló egyének egyes antibakteriális ellenanyagtiterei igen alacsony értéket képviseltek. A nem reagáló egyéneknél ezzel szemben, egyes esetekben, magas titerű antibakteriális ellenanyagtermelést lehetett találni. Az anti-Pertussis és anti-Staphylococcus alacsony és magas immunválaszkészség hasonló korrelációt nem mutatott.

Az isohaemagglutinin titerek közül csak az anti-B-szint mutatott egyes antibakteriális antitesttermeléssel korrelációt, mely általában a közepes titerű anti-B-szint, és az alacsony antibakteriális titerek között jutott érvényre.

A természetes ellenanyagszintek igen szoros, és számos erősen szignifikáns összefüggésben állottak egymással. Mind a pozitív, mind a negatív korrelációk azt jelezték, hogy a szóbanforgó baktériumokkal szemben termelődő antitestek egy-egy csoportjának tagjai egyöntetűen alacsony, közepes, vagy magas titerértékekben mutatkoznak. Az egyöntetűség megfigyelhető volt a TyO, TyVi, Paratyphus, Sonnei, Pyocyaneus, Coli 086 továbbá a Flexner 1, 2, 3, 6, Pyocyaneus, Coli 055 antitest titerek között. Egyes antitest szintek viszont sem egymással, sem másokkal nem álltak kapcsolatban: Staphylococcus, Coli 026, 0111. Figyelemre méltó azonban, hogy a Coli antitestek csoportjában az egyes antitestek szintje között nincs összefüggés.

A humorális immunválasz további, általunk vizsgált paraméterei közül csak az IgA és complement szintek látszottak kapcsolatban állani egymással.

A lymphocyta működés megítélésére alkalmas módszerek kategorizált értékei nem korreláltak az immunizálásra bekövetkező alacsony, vagy magas immmunválasszal. A magas PHA dózisokra maximalis stimulációval válaszoló

lymphocytá populáció azonban egyértelműen negatív korrelációban állt a természetes ellenanyagok alacsony titerértékeivel. A PHA hyposzenzitív lymphocytaműködés tehát úgy látszik közepes és magas természetes ellenanyag-szintézissel jár együtt. Ennek a jellemző összefüggésnek csak a Paratyphus Vi, és a Typhus O ellenanyag-szintek mondanak ellent, ahol a negatív korreláció éppen a magas titerértékekkel kapcsolatban mutatkozott, továbbá a Staphylococcus titer, ahol ugyanez a közepes titerekkel állt fenn.

A többi vizsgált immunológiai paraméter közül az IgA magas és közepes értékei mutattak még összefüggést az alacsony, és közepes lymphocytá funkcióval PHA stimulációkor.

Végül érdemes rámutatni arra is, hogy az immunológiailag egészséges felnőttek vizsgálata során meglehetősen nagy számban fordultak elő igen szélsőséges értékek, továbbá, hogy az ún. normál, vagy közepes értékeket képviselő immunológiai vizsgálati eredmények — a természetes ellenanyagok egyes csoportjai kivételével — egy esetben sem korreláltak egymással.

Megbeszélés:

133 egészséges egyén immunizálással, vagy a természetes fertőzöttség következtében indukálódott különböző baktériális antigénekkal szembeni gyenge és erős immunválasza, valamint az alacsony és a magas kategóriákba sorolt különböző immunológiai adatai egyöntetű, jellemző összefüggést sem egy, sem több HL-A antigénnel nem mutattak. Az egyébként mozaikszerűen előforduló negatív és pozitív korrelációk közül egyedül a HL-A 3 és 7, a HL-A 2, valamint HL-A 10 antigének és egyes lymphocytá funkciók és antitest szintek kapcsolata emelhető ki. A HL-A 3 és 7, valamint a spontán lymphocytotoxicus aktivitás negatív összefüggése látszik a legerősebbnek, mely adat esetleg egy HL-A locus-hoz kapcsolt Ir-gén működésére utalhat.

Feltűnő, hogy az eddig végzett vizsgálatok alapján az immunreaktivitással látszólag kapcsolatban álló antigének HL-A2, 5, 12, (1,8 haplotypus) jelentősége vizsgálatainkkal nem nyert megerősítést. A legtöbb idevonatkozó adat természetesen főleg indirekt bizonyítékokon nyugszik, hiszen általában egyes kóros immunparaméterekkel együtt járó betegségek összefüggését mutatták ki az egyes HL-A antigénekkal (Conkell és mtsai, 1971, Sybesma és mtsai, 1972, Thorsby és mtsai, 1972, vanRood és vanLeuwen, 1971). Bár a legutóbbi időkben egyes betegségekben a kóros immunfunkciók és az egyes HL-A antigének között is kimutattak közvetlen összefüggéseket (Sybesma, 1972).

A HL-A antigének és az immunreaktivitás szegényes kapcsolata adatainkban természetesen a relatív kevés esetszám eredménye is lehet, mivel a korrelációk sok esetben nem érhatték el a szignifikancia szintet ($P = 0,05$). Hasonló jellegű statisztikai vizsgálatok a heterogén emberi populáción igen nagyszámú esetet követelnek meg, s így lehet, hogy a kérdés megválaszolására

anyagunk nem is volt elegendő. Továbbá elképzelhető, hogy csak család vizsgálatok alapján lehet a kérdést jobban megközelíteni, ahogy azt *Buckley* és *mtsai* tették (1973). Számolni kell azonban azzal is, hogy az immunreaktivitás genetikai háttere olyan komplex és polymorph, hogy az a mai vizsgáló módszereinkkel, emberi anyagon nem közelíthető meg. Erre utalnak az előbbieken említett családvizsgálatok is, melyek szerint az egyes immunparaméterek családon belüli szegregációját a legkülönbözőbb HL-A antigénekhez kötöttnek találták (*Buckley* és *mtsai*, 1973). A polymorphismus egyik indirekt bizonyítéka lehet az is, hogy az immunológiailag normálnak ítélt vizsgálati anyagunkban a legváltozatosabb negatív és pozitív előjelű immunreakciókat lehetett megfigyelni. Továbbá az immunizálások során is megfigyelték, hogy egy antigénnel szembeni rossz ellenanyagtermeléssel reagáló egyén, más antigénnel szemben a legváltozatosabb szintű, igen magas antitest-termeléssel is képes válaszolni (*Dombi* és *Tóth*, személyes közlés). Egyes immunológiai adatokból a klinikumban tehát nem lehet más immun adatokra, vagy az általános immunstatusra következtetni.

Az immunreaktivitás genetikai háttere nemcsak a HL-A supergén rendszerhez, hanem az egyes állatfajokban megfigyelthez hasonlóan más autósomalis, illetve nemhez kötött genetikus rendszerekkel is kapcsolatban állhat (*Williams* és *Benacerraf*, 1972). Emberben ezideig az IgM szintézis esetében bizonyították csak annak az X-kromoszómával fennálló genetikai kapcsolatát (*Grundbacher*, 1972). Jelen vizsgálatainkban az immunológiai adatok zöme magas értéket mutat nőknél, a férfiaknál viszont alacsonyat. Ez az állatkísérletes adatokból jól ismert sexualis dimorphismus nemcsak az X-kromoszómához kötött Ir gén, hanem hormonális, és egyéb konstitucionális különbségeket is meghatározó gének közvetlen, vagy közvetett hatásának is lehet a következménye (*Eidinger* és *Garret*, 1972., *Iványi* és *mtsai*, 1972).

Vizsgálataink során a legérdekesebbnek mutatkozott bizonyos baktériális antigénnel szembeni antitest szintézis, és az egyes lymphocyta funkciók adatok D és C Rh vércsoport antigénnel megmutatkozó összefüggése. Az eredmények szerint a D és C pozitív egyének közepes és magas titerű baktériális ellenanyagtermelésre képesek, valamint az ún. PHA hyposensitív lymphocyta funkcióval rendelkeznek, ugyanakkor a D és C negatív egyéneknél ennek ellenkezőjével állunk szemben a különbséggel, hogy ez esetben PHA hyposensitív lymphocyta spontán cytotoxicus aktivitása kifejezett. Ez az igen érdekes összefüggés a nemi arány eltolódásából is adódhat, hiszen az Rh immunizáltak csoportja csak férfiakból állt. Így elképzelhető lenne, hogy a D és C antigének jelenlétével kapcsolatos összefüggés végeredményben a hypo-reaktív férfiak túlsúlya következtében juthatott kifejezésre. A kérdés további tisztázására computerrel újabb analízist végeztünk, melynek alapján a nemi különbségektől, és az Rh antigénektől függő összefüggéseket jobban szétválasztva tudtuk vizsgálni. További analíziseket végeztünk teljesen hasonló

elvek szerint 100 főből álló kontroll csoporton is.* Ezen kiegészítő vizsgálatok eredménye a fentiekben vázolt összefüggést az Rh rendszer és az immunreaktívítási készség között, megerősítette. Elképzelhető az is, hogy a sexuális dimorphismusnak tulajdonítható immunreaktívítási készség különbségei superponálódnak az Rh rendszerhez kapcsolódó és az immun reakciós készséggel összefüggő génhatásokhoz. Talán ezzel lehet összefüggésben az, hogy az Rh₀(D) pozitív vörösvérsejtekkel immunizált Rh negatív egyének 30%-a nem képes az anti-D immunválaszra.

E kérdéshez kapcsolódóan mutatkozott meg a matematikai analízisek szerint az a legerősebb korreláció, hogy az anti-D válasz és az egyes bakteriális antitest-titerek egymáshoz viszonyítva ellentétesen viselkedtek, szinte egymást kizáróan. Ennek az összefüggésnek magyarázatára jelenlegi adataink alapján csak teljesen theoretikus alapokon lehetne vállalkozni, igen sokféle hatás képezheti e megfigyelések alapját (kereszt-reaktivitás, tolerancia, antigén kompeticio, génhatások stb.).

Az emberi immunreaktivitás gén, vagy gének HL-A és Rh rendszerrel való genetikai kapcsolata jelen munkánk alapján még csak felvethető, illetve feltételezhető, melynek megerősítése még nagyon sok és körütekintő, széles alapokon végzett vizsgálatot igényel.

A közlemény a „HL-A és immunreaktivitás” workshop (műhelymunka) kutatási eredményeit összefoglaló beszámoló. A „workshop” az MTA és a CSTA egyezményes és közös kutatási témájának keretében az Országos Haematológiai és Vértranszfúziós Intézet (Budapest) és az Institute of Experimental Biology and Genetics (Prága) közös rendezésében került megszervezésre az „Intertransplant” együttműködés programjaként 1972 októberében.

Munkatársak:

Alföldi P.	Hors J.	Ónody K.
Benczur M.	Horváth E.	Puskás É.
Dávid J.	Imre G.	Rochlitz Sz.
Dombi E.	Kerhin Y.	Stenszky V.
Do Trung Phan	Kisbán G.	Surján M.
Dujic A.	Lajos J.	Tóth T.
Friss A.	Matej H.	Varga M.
Füst G.	Menzel G.	Vecsey Z.
Gárdos Gy.	Minev M.	Veres J.
Gergely J.	Mickova M.	Zareckaja L.
Gyódi E.	Nyulassy S.	

* Az adatokat Veres Judit bocsátotta rendelkezésre.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton köszönjük meg a „workshop”-on kifejtett áldozatos és igen magas szintű szakmai tevékenységüket: Baráth Istvánné, Bojárskzy Katalin, Jovanovich Nóra, Oláh Éva, Rausch Katalin, Szentgyörgyi Tamás és Trummer Gabriella munkatársaknak.

IRODALOM

- Amsbaugh, F. D., Hauser, T. C., Prescott, B., Stashak, P. W., Barthold, D. R., és Baker, P. J.: J. exp. Med., **136**, 931. (1972).
- Backhausz R., Lajos J., és Meretey K.: Immunol. Hung., **10**, 143, (1967).
- Benacerraf, B., Green, J., Bluestein, H. G., és Ellman, L.: Transpl. Proc. **3**, 1327. (1971).
- Benacerraf, B., és McDevitt, H. O.: Science, **175**, 273. (1971).
- Bier, O. G., Leiton, G., Mayer, M., és Heidelberg, M.: J. exp. Med. **81**, 449. (1945).
- Biozzi, G., Stiffel, C., Morton, D., és Bouthillier, Y., Decreusefond, C.: Transpl. Proc. **3**, 1333. (1971).
- Biozzi, G., Stiffel, C., Morton, D., Bouthillier, Y., és Decreusefond, C.: J. exp. Med. **135**, 1071. (1972).
- Bluestein, H. G., Ellman, L., Green, I., és Benacerraf, B.: J. exp. Med. **134**, 1529. (1971).
- Bluestein, H. G., Green, I., és Benacerraf, B.: J. exp. Med. **134**, 1538. (1971).
- Brain, P.: Transplantation, **13**, 530, (1972).
- Buckley, C. E., Ralph, W. B., Conley, R. B., Dorsey, F. C. és Woodbury, M. A.: Transpl. Proc. in press. (1973).
- Conkell, A., Bodmer, J. G., és Bodmer W. F.: Transpl. Proc. **3**, 1291. (1971).
- DelGuericio, P., és Zola, H.: Immunochemistry, **9**, 796. (1972)
- Eidinger, D., és Garret, T. J.: J. exp. Med. **136**, 1098. (1972).
- Falk, R. E., és Zabriskii, J. B.: In: Bloom, B. R., Glade, Ph. R.: In vitro methods in cell mediated immunity. Academic Press, N. Y. (1971).
- Fuji, H., Zaleski, M. és Milgrom, H.: J. Immunol., **108**, 223 (1972).
- Grundbacher, F. J.: Science, **176**, 311, (1972).
- Günther, E., Rüde, E. és Stark, O.: Eur. J. Immunol. **2**, 152, (1972).
- Hegedüs, A. és Greiner, H.: Z. Immun.forsch. **92**, 1, (1938).
- Iványi, P., Hampf, R., Starka, L. és Mickova, M.: Nature N. B., **238**, (1972).
- Jeannot, M. és Maguin, C.: Transpl. Proc., **3**, 1301, (1971).
- Katz, I. S., Falchrek, M. Z., Dahl, M. V., Rogentine, N. G. és Strober, W.: J. clin. Invest. **51**, 2977. (1972).
- Lieberman, R., Stiffel, C., Asofsky, D., Mouton, D., Biozzi, G. és Benacerraf, B.: J. exp. Med., **136**, 290, (1972).
- Lieberman, R., Paul, W. E., Humphrey, W. és Stimpfling, J. H.: J. exp. Med., **136**, 1231, (1972).
- Liocopoulos-Briet, Y., Bouthillier, D., Mouton, F., Lambert, C., Decreusefoud, H., Stiffel, C. és Biozzi, G.: Transplantation, **14**, 590, (1972).
- Lilly, F.: Transpl. Proc., **3**, 1239, (1971).
- Mancini, G., Carbona, A. O. és Heremans, J. F.: Immunochemistry, **2**, 235, (1965).
- Margkescu, S.: Klin. Wochschr., **46**, 991, (1968).
- McDevitt, O. H.: Transpl. Proc., **3**, 1321, (1971).
- McDevitt, H. O., Deák, B. D., Shreffler, D. C., Klein, J., Stimpfling, J. H. és Snell, G. D.: J. exp. Med., **135**, 1259, (1972).
- Menard, S., Pierotti, M. és Colnaghi, M. L.: Transplantation, **14**, 135, (1972).
- Merryman, C. F. és Maurer, P. H.: J. Immunol. **108**, 135 (1972).
- Merryman, C. F., Maurer, P. H. és Bailey, D. W.: J. Immunol. **108**, 937 (1972).
- Morris, P. J. és Forbes, J. F.: Transplant. **3**, 1315 (1972).
- O'Loughlin, J. M.: Med. clin. North. Am., **56**, 747 (1972).
- Pirkkanen, R., Tiilikainen, A. és Hohhanen, E.: Ann. clin. Res., **4**, 304 (1972).
- Rihova-Skavova, B. és Riha, I.: Folia Biol., **17**, 66 (1972).
- Rosenberg, S. A., Lany, R., Schechter, B., Ficker, S. és Terry, W. D.: Transplantation **14**, 541 (1972).

- Schellekens, P. Th. és Eijssvoogel, V. P.: *Clin. exp. Immunol.* **3**, 571 (1968).
- Schöngut, L., Füst, G. és Surján, M.: *Acta Pediatr. Acad. Sci. Hung.* **11**, 89 (1970).
- Seignalet, J., Clot, J., Sany, J. és Serra, H.: *Vox Sangu.*, **23**, 468 (1972).
- Shearer, G. M., Mozes, E. és Sela, M.: *J. exp. Med.*, **135**, 1009 (1972).
- Stenszky, E., Szegedi, Gy., Aszódi, L. és Petrányi Gy.: *Haematologia, megj. alatt*
- Stimpfling, J. H. és Durham, T.: *J. Immunol.* **103**, 947 (1972).
- Sybesma, J. P.: *Lancet*, II, 884 (1972).
- Sybesma, J. H., Borst-Eilers, E., Holtzer, D. J., Mocs, M., Pielage, E. és de Planque, B. A.:
Vox Sanguis, **22**, 319 (1972).
- Takátsy, Gy.: *Acta Microbiol. Hung.* **3**, 191 (1955).
- Terasaki, P. I.: *Manuel of Tissue Typing Techniques*, **4**, 52 (1972).
- Thorsby, E. és Lie, S. D.: *Transpl. Proc.*, **3**, 1305 (1971).
- Thorsby, E., Falk, J., Engeseth, A. és Osoba, D.: *Transpl. Proc.*, **3**, 1279 (1972).
- vanRood, J. J. és vanLaeuwen, D.: *Transpl. Proc.*, **3**, 1283 (1971).
- Veres J. és Lajos J.: *Szemészet*, 109, 26 (1972).
- Walford, L. R., Zeller, E., Coombs, L. és Konrad, P.: *Transpl. Proc.*, **3**, 1297 (1971).
- White, A. G., Barnetson, R. St., DeCosta, J. A. és McClelland, D. B.: *Lancet* I, 108 (1973).
- Williams, M. és Benacerraf, B.: *J. exp. Med.* **135**, 1297 (1972).