

A HUMÁN TONSILLA LYMPHOCYTÁK SZEREPE AZ IMMUNVÉDEKEZÉSBEN

ANTONI FERENC, a biológiai tudományok doktora, STAUB MÁRIA az
orvostudományok kandidátusa és PUSKÁS MÁRIA

Közlésre érkezett: 1974. III. 25.

A tonsilla helye az immunrendszerben

Közel fél évszázada ismerték fel, hogy az immunrendszer szerepe a szervezeteknek a környezethez történő alkalmazkodásában, az idegen anyagok felismerésében és az ezzel kapcsolatos válaszreakciókban van. Ez a szemlélet az immunológia egyik nagy megalapítójának, Paul Ehrlichnek a „horror-autotoxicus” elméletén alapszik. A felismerés általános megállapításai ma is helytállóak és az eltelt idő óta felhalmozódott ismeretek az immunvédekezési folyamatok részletesebb és pontosabb megismeréséhez vezettek, különösen az idegen és saját fogalmának a meghatározásával.

Az immunrendszerhez tartozó szerveket a legcélszerűbben funkciójuk alapján lehet csoportosítani. Nossal 1971-ben összefoglaló munkájában centrális és perifériás lymphatikus szervekről ír. Az utóbbiakhoz tartoznak a primer és szekunder lymphatikus szervek.

Centrális lymphatikus szervnek a csontvelőt tartják, amelyben a pluripotens sejtek termelődnek, ezek a sejtek telepítik be a többi lymphatikus szervet.

A perifériás lymphatikus szervek között különleges szerepe van a thymusnak, amely gazdag epithel sejtekben. A thymusban a csontvelőből származó pluripotens őssejtek immunkompetens lymphocytákká differenciálódnak. Ezek az ún. T-lymphocyták, amelyeknek egyik jellegzetes sajátossága, hogy ellenanyagot nem termelnek. Goldstein (1974) izolált a thymusból egy peptid természetű hormont, a thymint, amelynek hatására történne a lymphoid sejtek differenciálódása. A szárnyasokban a thymuson kívül primer lymphatikus szerv a Bursa Fabricii, amelyben a betelepült őssejtek immunkompetens B-lymphocytákká differenciálódnak.

A szekunder lymphoid szervekben elsősorban ellenanyag-termelő B-lymphocyták találhatók, ilyenek a lép, a nyirokcsomók.

Felmerül a kérdés, hogy ebben a funkció szerinti osztályozásban a tonsilla palatina primer vagy szekunder nyirokszerv? A tonsilla — sejtjeinek morfológiai vizsgálata alapján — vitathatatlanul a lymphoid szervek közé

sorolható. Helyzeténél fogva közvetlenül kapcsolatban áll a külvilággal. Eltérően más nyirokszervektől, a tonsilla nem rendelkezik afferens nyirokerekkel, ami különleges helyzetével magyarázható (Oláh, 1973). Sejtjeinek összetétele is eltér a szekunder nyirokszervekétől, ugyanis gazdag epithel sejtekben. Ez az utóbbi megfigyelés, valamint a tonsillának a pubertás korban bekövetkező involúciója a thymushoz hasonló funkció lehetőségét vetette fel. Harrison 1970-ben leírt kísérleteivel ezt a feltételezést alátámasztotta. Embriónális tonsillákat implantált thymectomizált egerekbe és vizsgálta, hogyan alakul ki a lépben az ún. thymus dependens folliculáris organizáció. Eredményei azt látszottak alátámasztani, hogy a thymus és a tonsilla között nemcsak morfológiai, hanem funkcionális hasonlóság is van.

Az utóbbi években azonban egyre több adat jelenik meg arról, hogy a tonsillában ellenanyag-termelés folyik, ami a szekunder lymphatikus szervekre jellemző (Hoffmann, 1973).

Az elmondottakból kitűnik, hogy a tonsilla palatina szerepéről ellentétesek a vélemények. Még az utóbbi időben sem alakult ki egységes álláspont arról, hogy a tonsilla primer vagy szekunder lymphatikus szervek közé tartozik-e (Nossal, 1971).

A tonsilla az immunrendszer tagja. Ezért röviden: szükségesnek tartjuk a rendszer néhány funkcióját, különösen az ellenanyag-termelésre vonatkozó vizsgálati eredményeket ismertetni. Közleményünkben összefoglaljuk a tonsilla funkciójával kapcsolatos adatokat, ezekből és az általunk végzett vizsgálatokból következtetéseket vonunk le a tonsilla szerepének jelentőségére az immunrendszerben.

Az antigén felismerés és az ellenanyag-termelés folyamata a lymphoid sejtekben

Az utóbbi néhány esztendőben az immunológia a biológiai kutatások előterébe került. A vizsgálatok két fő kérdés köré csoportosíthatók: az antigén felismerése és az ellenanyagtermelés. A két kérdés egymástól nem választható el és legtöbb esetben együtt is vizsgálják őket.

Ma egységesen elfogadott, hogy az ellenanyag-termelésért a kis lymphocyták is felelősek. A csontvelő eredetű B-lymphocyták bizonyos antigénnel szemben önmaguk nem képesek ellenanyagot termelni, szükséges, hogy kapcsolatba kerüljenek T-lymphocytákkal (Raff, 1970), az ún. helper sejtekkel. Az ellenanyag-termelést az antigénnek a B-sejtekhez történő kötődése indítja el, ezt követően indul meg a blastos transzformáció, amely a sejtek klonális osztódásához vezet. Ezt a folyamatot a sejtek fokozott biokémiai aktivitása kíséri (fehérje-, nukleinsav-, lipid-szintézis), amely végül a speciális ellenanyagot termelő sejtek kialakulásával zárul.

A B-sejtek felületén a specifikus receptorok az immunglobulin molekulák (Rabellino és mtsai, 1971, Raff, 1970, Unanue és mtsai, 1971). Feltéte-

lezik, hogy ezek a receptorok IgM típusú immunglobulinok (Uhr, 1973). Ezeknek a receptor molekuláknak nemcsak az antigén felismerésében, hanem a lymphocyták közötti kooperációban, a stimulálásban és az immuntoleranciában is szerepük lehet (Cooper, 1973). Érdekes megfigyelést tettek Unanue és mtsai 1973-ban. Azt találták, hogy a felületi receptorok száma és jellege állandóan változik, ha a rendszer hőmérsékletét változtatták. A lymphocyták felszínét a „liquid-mozaik” modellel lehet a legjobban jellemezni (Berlin, 1974). Ennek megfelelően a sejt felszíne allandó mozgásban, változásban van, amit a fehérjék motilitása és konformáció-változása biztosít.

A B-lymphocyták és a T-lymphocyták felszíni membránjai között a legszembetűnőbb különbség, hogy az utóbbiak felületén kevés és más típusú receptor immunglobulin molekula található.

Az antigén stimulációra meginduló immunglobulin szintézis mechanizmusát plazma-sejtes tumorok és Burkitt lymphoma esetében igazolták (Uhr és mtsai 1973). Kimutatták, hogy a poliriboszómákon szintetizálódott polipeptid-lánc az endoplazmatikus retikulum ciszternáiba jut, itt épülnek a láncra a szénhidrátok. Az immunglobulinok a Golgi-komplexbé, majd a vesiculákba jutnak, ahonnan végül a plazma-membránba kerülnek, illetve szekretálódnak.

Antigén receptorok és ellenanyagtermelés a tonsilla sejtekben

A tonsilla sejteknek az ellenanyagtermelésben betöltött szerepéről még nem áll rendelkezésünkre annyi adat, mint más lymphoid sejtről. A vizsgálatok itt is az előzőekben már említett két kérdés köré csoportosíthatók. Hordoznak-e felületükön a tonsilla sejtek receptor immunglobulinokat, illetve képesek-e in vitro ellenanyag termelésre?

A felületi immunglobulinokat hordozó sejtek számát a tonsillában különböző módszerekkel is meghatározták. Zucker—Franklin és mtsai (1972) fluoresceinnel konjugált antihumán gamma-globulin kötődését követték és azt találták, hogy a sejteknek csak 5—7%-a hordoz felületi immunglobulinokat. A plazmasejtek pedig az említett szerzők vizsgálatai alapján egyáltalán nem tartalmaztak felületi Ig molekulákat. Ebből azt a következtetést vonták le, hogy a tonsilla lymphocyták legnagyobb része T-sejt. Ezzel alátámasztottnak látszott az az elképzelés, hogy a tonsilla primer lymphatikus szerv.

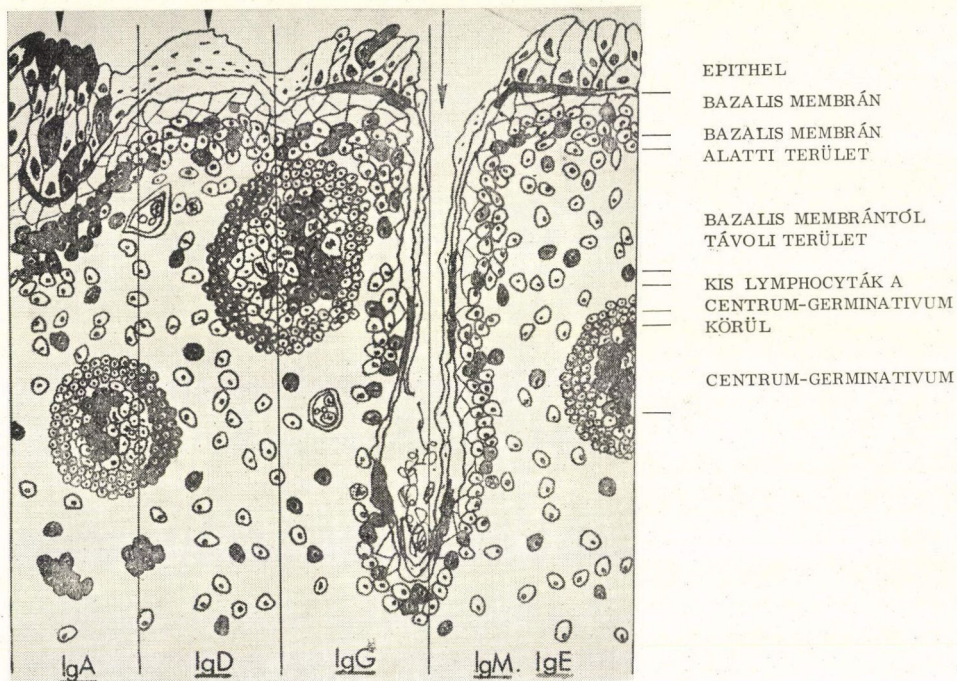
Ellentétes megfigyelésekről számoltak be Ishikawa és mtsai (1972). A sejtek izolálása nélkül, a mirigyszövetben vizsgálták immunfluoreszcein módszerrel a különféle immunglobulin előfordulását. Azt találták, hogy 1—5 éves gyermekek palatinális és pharyngealis tonsillájában az immunglobulinoknak mind az öt fajtája kimutatható. Legnagyobb számban IgG-termelő sejtek vannak, amelyek egyenletesen szétszórva találhatóak a tonsilla szöveti állományában. Idősebb gyermekek (5—17 év) tonsillaszövetében több IgG-termelő sejtet találtak, mint a fiatalabbakéban (1—5 év). A szérum Ig-G-szintje is ennek

megfelelően változik a gyermekek korával. Különösen érdekes a tonsillában az ellenanyagtermelő sejtek elhelyezkedése. A basalis membrán közelében találhatók az IgG-termelő sejtek. Szekretált IgA-t az epithel-sejtek felszínén is találtak. Ogra (1971) figyelte meg, hogy tonsillektomián átesett gyermekek vérében a poliomyelitis vírus elleni IgA-típusú ellenanyagok szintje alacsonyabb. Ez a megfigyelés az IgA lokális keletkezését támasztotta alá. Az IgM- és IgD-ter-

HENGER HÁM

LAPHÁM

KRYPTA



1. ábra Különböző immunglobulinokat termelő sejtek elhelyezkedése a tonsillában

melő sejtek a tonsillaszövetben preferenciális lokalizáció nélkül mindenhol megtalálhatók. A palatinális tonsillákban a centrum-germinativumok gyakran csak IgM-termelő sejteket tartalmaztak. Ezeket körülvevő kis lymphocyták felületén általában IgD-t tudtak kimutatni. A tonsillaszövetben különböző típusú Ig-t termelő sejtek lokalizációját mutatja vázlatosan az 1. ábra (Ishikawa és mtsai, 1972).

Izolált sejtek esetében a sejt felszínén és az intracellulárisan elhelyezkedő immunglobulin láncok mennyiségét hasonlították össze Cooper és mtsai (1973).

I. táblázat

Vér, tonsilla- és thymussejtek felszíni és intracelluláris gamma, mü és kappa lánc tartalma

Lymphocyta	Felszíni			Intetracelluláris		
	Gamma	Mü	Kappa	Gamma	Mü	Kappa
Perifériás vér	11	< 7	< 5	50	< 11	24
Tonsilla	28	13	20	210	4	63
Thymus	4	< 3	< 3	19	3	5

(Cooper A. G., Brown M. C., Derby A. H., Wortis H. H. Clin. Exp. Immunol. 13, 487, 1973)

Jelentős különbséget találtak a perifériás vér és a tonsilla lymphocyták között (I. táblázat). Míg 10^7 normál perifériás lymphocyta 15 ng felületi IgG-t és 75 ng intracelluláris IgG-t tartalmaz, addig a tonsillasejtek felületén 40 ng IgG és 17 ng IgM található. Még szembetűnőbb a nagy mennyiségű intracelluláris IgG ($300 \text{ ng}/10^7$ sejt) jelenléte a tonsillasejtekben.

Az ismertetett vizsgálatok arra utalnak, hogy a tonsillában a B-sejtek száma nagyobb, mint a perifériás vérben.

A következőkben a tonsillasejtek ellenanyagtermelésére vonatkozó vizsgálatok eredményeit ismertetjük.

Immunitás állatokban a tonsillák ellenanyagtermelését hasonlították össze más szekunder nyirokszervek ellenanyagtermelésével (Surján és mtsai 1970). Diftéria toxoiddal immunizálva nem találtak különbséget a tonsilla és a többi vizsgált nyirokcsomó ellenanyagtermelésében. Hasonló következtetésre jutottak a tonsilla szövetben in vitro történő diftéria-antitoxin termelésének mérésével is (Surján L. és mtsai, 1971).

Igen lényeges előrehaladást jelentett újabban az, hogy sikerült a tonsilla lymphocytákat sejtkultúrában életben tartani és az in vitro körülmények között képződött ellenanyagokat kimutatni (Hoffmann, 1973). Több napos kultúrákban birka-vörösvérsejtekkel szemben termelt haemolizint Jerneplaque módszerrel határozták meg. Birkavörösvértestekkel kismértékű ellenanyagtermelést tudtak csak indukálni, mind a tonsilla lymphocyták, mind a vér lymphocyták esetében. Általában ötszörösre nőtt az antitest válasz, ha *Esherichia coli* lipopolisachariddal is indukálták a tonsilla sejteket a birka-vörösvérsejtek jelenlétében. Ezeknek a kísérleteknek az összefoglalását mutatja a II. táblázat (Hoffmann, 1973).

Ugyancsak túlélő kultúrában, specifikus antigénnel stimulálva, DNS szintézistől függő ellenanyagtermelést mutattak ki Sloyer (1973) és mtsai. Néhány napos in vitro kultúrában a tonsillasejteket Sabin poliovírus 2-vel, illetve polivalens Salk-vakcinával stimulálták. Fluorescens technikával IgM-típusú ellenanyagtermelést mutattak ki. Aktinomicin-D-vel és Mitomicin-C-vel szupresszálni tudták az IgM termelést.

II. táblázat
Tonsillasejtek in vitro ellenanyag termelése
birka-vörösvérsejtekkel szemben

Tonsilla forrás	E. coli lipopoliszaharid	Plaque-formáló sejtek száma	
		Bvs jelenlétében	Bvs nélkül
G	—	116	8
	+	590	28
H	—	102	100
	+	1.260	280
I	—	65	110
	+	440	170
K	—	6	6
	+	97	26
L	—	0	0
	+	10	0
M	—	24	12

(Hoffmann M. K., Schmidt D., Dettgen H. F.: Nature, 243, 408. 1973)

A betűk jelölik a különböző egyedekből származó tonsillákat. A kultúrák 10^7 tonsilla sejtet, 0.03 mg E. coli lipopoliszaharidot és 3×10^5 birka-vörösvérsejtet tartalmaztak.

Kísérleti rész

A tonsillasejtek izolálása és jellemzése

A sejteket 2—6 éves gyermekek tonsilláiból nyertük Piffkó és mtsai (1970) által leírt módszerrel. Ezzel a módszerrel egy pár tonsillából mintegy 10^9 sejt izolálható. Ez a sejtmennyiség a DNS-tartalom alapján mérve az összes sejtnek 40—50%-a. Az izolálható sejtszám nagysága önmagában nagy jelentőségű, különösen ha figyelembe vesszük, hogy ennyi vér-lymphocytá izolálásához szükséges humán vér beszerzése meglehetősen nehéz.

A tonsillákból izolálható sejtszám a korról csökken, 2—6 éves életkorban azonban nagyon kis egyedi eltérést mutat. A sejt-szuszpenzió kis lymphocytákat (70—80%) és különböző nagyságú blast típusú sejteket tartalmaz (20—30%). Ez a kép egyezik más szerzők leírásával (Goldfarb 1965, Piffkó 1970, Zucker—Franklin 1972). A szerzők egyértelműen megállapították, hogy a granulocyták és monocyták száma nem több 1—2%-nál.

A sejtek jellemzésére meghatároztuk azok fehérje-, RNS- és DNS-tartalmát, ezt mutatja a III. táblázat (Piffkó, 1970). A táblázatban látható RNS/DNS, fehérje/RNS és fehérje/DNS hányadosok a sejtekben folyó makromolekulák szintézisére engednek következtetni. Ezek a hányadosok közel állnak a lépsejtek hasonló paramétereire, ami megengedi azt a feltételezést, hogy a nyugvó és aktív sejtek száma is közel azonos.

A tonsillasejtek jelzett prekursorok jelenlétében in vitro több órán át képesek fehérje szintézisre és RNS szintézisre (Piffkó és mtsai, 1970., Farkas

III. táblázat

Tonsillasejtek fehérje- és nukleinsav-tartalma

Fehérje	38,3 ±	7,0 pg
Ribonukleinsav-foszfor	0,26 ±	0,06 pg
Dezoxiribonukleinsav-foszfor	0,74 ±	0,19 pg
RNS—P/DNS—P	0,35	
Fehérje/RNS	14,7	
Fehérje/DNS	5,2	

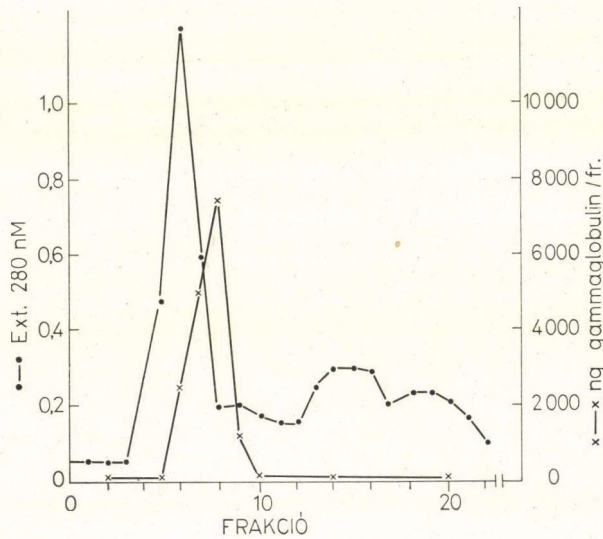
(Piffkó P., G. I. Köteles és F. Antoni; Pract. oto-rhino-laryng, 32. 350 (1970))

és mtsai, 1974. közlés alatt). Kimutattuk, hogy a közepes és a nagy lymphoblastok S-fázisban levő sejtek. A bennük folyó DNS szintézist arabinoz-citozin gátolja, amely gátlóanyagról ismert, hogy baktériumok DNS szintézisére nem hat (Staub, 1974). Aktív magi tevékenységre utal az, hogy sikerült kimutatnunk a sejtekben hiszton-foszforiláló enzimeket (Farágó és mtsai, 1973).

A tonsillasejtek intracelluláris gamma-globulin tartalma és a természetes ellenanyagtermelő sejtek száma

A tonsillasejtekben a B-sejtek jelenlétére kívántunk választ kapni, amikor azok ellenanyagtartalmát határoztuk meg. A már ismertetett módon készített sejt-szuszpenzióknak a gamma-globulin tartalmát Coombs-gátlás módszerével határoztuk meg (Piffkó, 1971). 6×10^9 tonsillasejtet többszöri fagyasztással és teflon Poterral történő homogenizálással feltártuk. A sejtmentes kivonatot 0,7 telítésű ammonium szulfáttal kicsaptuk. A csapadékot 0,04 M pH 7,2 K-foszfát 0,1 M NaCl tartalmú bufferban oldottuk és ugyanebben dializáltuk. A dializált kivonatot Sephadex G—200 oszlopon frakcionáltuk. Az oszlopot a fenti bufferral ekvibráltuk és eluáltuk is. Látható (2. ábra), hogy a sejt kivonat tekintélyes mennyiségű gamma-globulint tartalmaz, amely molekulásúlyának megfelelő helyen eluálódott az oszlopról. Ha a kivonat gamma-globulin-tartalmát 10^7 sejtre vonatkoztatjuk, akkor az 400 ng-nak adódik. Cooper (1973) mérései szerint ez az érték 300 ng/ 10^7 sejt. A mért különbségek a sejtek feltárásának különbségéből származhatnak.

Ismert, hogy a perifériás nyirokszervekben a környezet antigénjeivel szemben állandóan termelődnek kis mennyiségben ellenanyagok. A tonsilla sejt-szuszpenzióban is sikerült kimutatnunk természetes ellenanyagokat termelő sejteket (Merétey és mtsai, 1972) Jerne-plaque módszerrel. Birka-vörösvérsejttel szemben 10^6 sejt közül 0,4 sejt termelt IgM (10 S) típusú ellenanyagot, kevesebbnek találtuk az IgG-t termelő sejtek számát. Esherichia coli 026 antigénnel szemben termelődő ellenanyagokat nem tudtunk kimutatni. Az, hogy a tonsillában is találtunk természetes ellenanyagot termelő sejteket, szintén arra mutat, hogy a tonsilla ebben a vonatkozásban inkább szekunder perifériás nyirokszervnek tekinthető.



2. ábra. Tonsilla lymphocyták intracelluláris gamma-globulin-tartalma, Sephadex G-200-on történt frakcionálás után 6×10^9 sejtet többszöri fagyasztással és Potterral történt homogenizálással feltártuk. Centrifugálás után a felülúszót 0,7 telítésű ammónium-szulfáttal kicsaptuk, majd a csapadékot 0,04 M pH 7,2 $K-PO_4$, 0,1 M NaCl tartalmú bufferban oldottuk és dializáltuk. A sómentesítés után 2,0 ml-t vittünk Sephadex G-2200-as oszlopra. (Átmérő 1,6 cm, magasság 40 cm.) Az oszlopot előtte a fenti bufferral equilibráltuk és eluáltuk is az anyagunkat. Az átfolyási sebesség 20 ml/óra volt. A frakciók térfogata 5,0 ml, azok gammaglobulin-tartalmát Coombs gátlással határoztuk meg. ●—● A frakciók fény-abszorpciója 280 nm-nél mérve; x—x A frakciók gammaglobulin-tartalma

A tonsillasejtek szerepe a bakteriális infekció gyors leküzdésében

Az immunglobulinok termelése az egyik legfontosabb, de nem az egyetlen védekezési mechanizmusa az élő szervezeteknek. A bakteriális fertőzésekkel szemben fontos szerepe van a lizozimnak (mucopeptide N-acetylmuramyl hydrolase, EC 3.2.1. 17, muramidase), amely glikozidos kötés hasításával, a Gram-negatív baktériumok sejtfalát bontja. A lizozim jelentős mennyiségben található a különböző testnedvekben, szekrétumokban, könnyben, nyálban, tejben.

A tonsilla, különleges helye alapján, a bakteriális fertőzés gyors leküzdésében feltehetően kitüntetett szerepet tölt be. Ezt támasztja alá az a megfigyelésünk is, hogy 1 g nedves súlyú tonsillaszövet 80—85 μ g lizozimot tartalmaz. Az enzimet a szövetből tisztán is előállítottuk (Puskás és mtsai, 1972). A tisztítás lépéseit mutatja a IV. táblázat, ahol látható, hogy a nyers kivonathoz képest, mintegy 15-ezerszeresre sikerült tisztítani az enzimet.

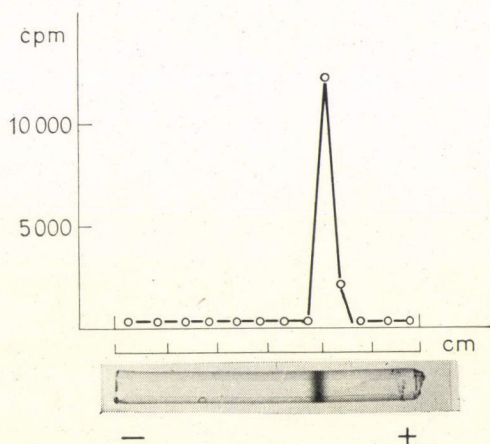
A tisztított enzim poliakrilamid gél elektroforézissel homogén fehérjének bizonyult. A 3. ábrán látható az akrilamid-gél képe, 0,1% amido black-kel történt festés után. A képen egyetlen fehérje-csík látható. Az elektroforézis

IV. táblázat

Lizozim tisztítása gyermek-tonsillákból

A tisztítás lépései	Enzim egység/ml	Fehérje mg/ml	Specifikus aktivitás
1. Tonsilla homogenizátum	0,25	32,52	0,0076
2. 5.600×g-es felülúszó	1,0	17,70	0,059
3. Acetonos kezelés utáni felülúszó	0,85	8,90	0,095
4. pH 4,5-ös felülúszó	0,81	3,52	0,230
5. 100 C° kezelés utáni felülúszó	0,66	2,70	0,244
6. Amberlite IRC-50	0,50	0,12	4,166
7. Bio-Gél P-10	3,0	0,025	120.000

(Puskás M., Antoni F., Staub M., Farkas Gy., Piffkó P.; Pract. Oto-rhinolaryng. 34, 160, 1972)



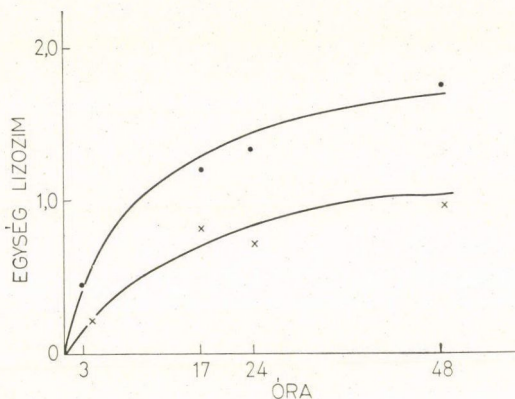
3. ábra. ^{14}C -lizozim kimutatása poliakrilamid-gélen történt elválasztás után

5×10^8 tonsillasejtet 10–10 ml steril Hanks oldatba tettünk. A médiumot kiegészítettük valamennyi aminosavval (10 mM), kivéve a Valint, és antibiotikumokkal (penicillin 100 E/ml, Streptomycin 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, gentamicin 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Minden kultúrához (5 \times 10 ml) 50 mCi univerzálisan jelzett ^{14}C -Valint tettünk. A sejtek ebben a kísérletben különböző egyedekből származtak. 37 °C-on inkubáltuk a sejteket 24 óráig, majd összeöntöttük azokat. Az ismertetett módon feltártuk a sejteket és izoláltuk, valamint tisztítottuk a lizozimot. A tisztított enzimet poliakrilamid-gélen futtattuk (Puskás és mtsai, 1972). A futtatás után a gélt 1 mm-es korongokra szeleteltük, amelyeket 0,5 ml hyaminban hidrolizáltunk 60 °C-on, 2 órán át. A gélről eluált anyag radioaktivitását toluolos koktéliban mértük, Packard-liquidszintillációs spektrométeren

során az enzim nem veszti el aktivitását, a gélről leoldható. Így egyértelműen sikerült bizonyítanunk, hogy az általunk előállított tonsilla lizozim homogén fehérje.

További kérdés volt számunkra, hogy a tonsillasejtek in vitro képesek-e az enzim szintézisére. A sejteknek a lizozim-termelését túlélő kultúrában vizsgáltuk ^{14}C -vel jelzett Valin jelenlétében. ^{14}C -Valint tartalmazó mediumban

inkubáltuk a sejteket 24 órán át 37 °C-on, majd a sejtekből izoláltuk és tisztítottuk a lizozimot, amely poliakrilamid-gélen homogén fehérjének bizonyult és 14-C radioaktivitást tartalmazott. A 3. ábrán mutatjuk be a jelzett, tisztított lizozim elhelyezkedését a gélen. A gél felszeleteltük és a korongokat hidrolizáltuk hyaminban. A hidrolizátum radioaktivitását mutatja az ábra felső része. Látható, hogy csak a lizozimnak megfelelő helyen tartalmazott a gél 14-C radioaktivitást.



4. ábra. Cikloheximid hatása a tonsilla-sejtek lizozim-termelésére

Az ismertetett módon készített sejt-szuspenzióból $1,2 \times 10^7$ sejtet 5—5 ml steril Eagle mediumba tettünk. A medium 100 E/ml penicillint, 100 $\mu\text{g/ml}$ streptomocint és 25 $\mu\text{g/ml}$ gentamicint tartalmazott. A sejteket 37 °C-on inkubáltuk 3, 17, 24, 48 órán át, majd centrifugálás után mértük a felülúszó és a feltárt sejtek lizozim-tartalmát

●—● a kontroll-sejtekben az össz-lizozim-tartalom változása időben; ×—× 10^{-5} M cikloheximid jelenlétében az össz-lizozim-tartalom változása

A sejt-kultúrák lizozim termelését és annak cikloheximiddel történő gátlását mutatja a 4. ábra. $1,2 \times 10^7$ sejtet Eagle mediumban inkubáltunk 37 °C-on, 3, 17, 24 és 48 órát cycloheximid jelenlétében és anélkül. A jelzett időpontokban mértük a sejtek és a felülúszó lizozimtartalmát *Micrococcus-lysodeiktikus* lizisével (Puskás, 1972). Az ábrán az össz-enzimaktivitás növekedése látható, amely 24 óra alatt mintegy 2,5-szeres. A 10^{-3} M cycloheximid koncentráció alkalmazásakor a sejtekben és a felülúszóban levő lizozim mennyiségének összege a kiindulási értéknek megfelelő szinten maradt. Ez a koncentráció tehát a lizozimszintézis teljes gátlását eredményezte, míg 10^{-5} M cycloheximid a sejtek lizozimtermelésének 40%-os gátlását okozta. A cycloheximidről közismert, hogy az eukaryoták fehérjeszintézisét gátolja. A tonsillasejtek *in vitro* lizozim termelésének kimutatása — 14-C Valin beépülése az enzimbe és az enzimszintézisnek cycloheximiddel történő felfüggesztése — arra enged következtetni, hogy ez a bakteriolitikus aktivitás a sejtek funkciójához tartozik.

ÖSSZEFOGLALÁS

A humán tonsilla lymphoid sejtekkel végzett vizsgálataink alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a tonsilla palatina a lymphatikus rendszernek egyik kitüntetett része. Ez következik egyfelől abból, hogy a szerv, más immun szervekkel ellentétben, közvetlen kapcsolatban áll a külvilággal, amit hisztológiai szerkezete is jól bizonyít (lakunáris járatok stb.). Különleges továbbá abban, hogy eltérően más perifériás nyirokcsomóktól, nem rendelkezik afferens nyirokerekkel. Az elmondottak alapján a lokális immun védekezésben feltétlenül szerepe van a tonsillának. A szájüregből a tonsillába jutott antigénnek jelentős szerepe lehet az orális úton szerzett immunitásban.

Az általunk végzett vizsgálatok alapján a szervezet védekezési folyamataiban a tonsilla szerepe kettős: egyfelől ellenanyagtermelés, másfelől lizozimtermelés. A tonsilla sejtek ellenanyagtermelése bizonyítottan fogadható el. Különösen figyelemre méltó a polyomieltis-vírussal szembeni IgA típusú ellenanyagok jelenléte, amelyeknek mennyisége csökken a tonsillektomián átessett gyermekek szérumában. Összehasonlítva a vér, a thymus és a ductus thoracicus lymphocytáinak ellenanyag tartalmát, a tonsilla sejtek bizonyultak a legaktívabbaknak.

Az ellenanyagtermelésen kívül a magas ellenanyagtermelésnek megfelelően viszonylag magas lizozimtartalmat tudunk kimutatni a tonsillasejtekben, amelyeknek túlnyomó többsége lymphoid sejt. A nagy mennyiségű lizozim, továbbá az általunk kimutatott lizozimszintézis arra utal, hogy az enzimnek szerepe lehet a bakteriális invázió elleni elsődleges védekező folyamatokban, a baktériumok lizisében. A tonsillasejtek lizozimaktivitása egyben egy további különbség a tonsilla palatina és az egyéb perifériás nyirokszervek lymphoid sejtjei között, különösen ha figyelembe vesszük, hogy a tonsilla palatina lymphoid sejtjei elsősorban helyzetükből adódóan, bakteriális és vírus antigénnel szemben reagálnak. A tonsilla lymphoid sejtjeiben az antigén stimulus hatására meginduló ellenanyagtermelés, míg az a hatásos szintet eléri, addig feltételezhető, hogy a lizozim gátolja a lizissel a baktériumok szaporodását.

A tonsillectomia mindennapos gyakorlat a megfelelően felállított klinikai indikációk alapján. A tonsilla palatina, jóllehet csak egyik tagja a garati lymphatikus rendszernek, mégis eltávolítása azt jelenti, hogy a szervezet immun rendszeréből kiiktatunk egy szervet, amely bakteriolitikus enzimet és ellenanyagot képes termelni. Továbbá feltehető, hogy ebben a szervben is termelődnek és differenciálódnak lymphoid sejtek.

A jövő immun-farmakológiai kutatásának lesz egyik feladata, hogy a tonsillának, mint szervnek, immunológiai funkcióját aktívan tudja befolyásolni és a tonsillectomia ne legyen az egyetlen, kizárólagos alternatíva a tonsilla palatinával kapcsolatos kórképek kezelésében. A humán tonsilla lympho-

cytákkal kapcsolatos további biokémiai vizsgálataink, különösen a szabályozó folyamatok megismerése fog felvilágosítást adni a beavatkozás lehetőségéről. A szabályozással kapcsolatban más helyen kívánunk részletesen beszámolni.

IRODALOM

- Berlin, R. D., Oliver, I. M., Ukena, T. E., Yin, H. H.: *Nature* **45**, 247, (1974).
 Cooper, A. G., Brown, M. C., Derby, A. H., és Wortiw, H. H.: *Clin. Exp. Immunol.* **13**, 487, (1973).
 Faragó, A., Antoni, F., Takáts, A., és Fábián, F.: *Biochem. Biophys. Acta* **297**, 517, (1973).
 Farkas, Gy., Antoni, F., és Staub, M.: *Acta Biophys. Biochem. Hung.* **9**, 63, (1974).
 Goldfarb, A. R., és Ullal, I.: *Proc. Sov. Exp. Biol. Med.* **119**, 593, (1965).
 Goldstein, G.: *Nature* **247**, 11, (1974).
 Harrison, B. H.: *J. Immunol.* **105**, 38, (1970).
 Hoffmann, M. K., Schmidt, D. és H. F. Oettgen: *Nature* **243**, 408, (1973).
 Ishikawa, T., K. Widner, és C. E. Arbesman: *Int. Arch. Allergy* **43**, 801 (1972).
 Merétey, K., Köteles, G. I., és Elekes, E.: *Experientia* **15**, 457 (1972).
 Nossal, G. J., és G. L. Ada: *Antigens, Lymphoid cells and the Immune Response* Academic press, New York (1971).
 Ogra, P. L.: *J. Med.* **284**, 59 (1971).
 Oláh, I.: *Kandidátusi értekezés* (1973).
 Piffkó, P.: *Kandidátusi értekezés* (1971).
 Piffkó, P., G. J. Köteles és F. Antoni; *Pract. oto-rhino-laryng.* **32**, 350 (1970)
 Puskás, M., F. Antoni, M. Staub, Gy. Farkas és P. Piffkó: *Pract. oto-rhino-laryng.* **34**, 160 (1972).
 Raff, M. C.: *Nature* **226**, 1257 (1970).
 Raff, M. C.: *Immunology* **19**, 637 (1970).
 Rabellino, E. S., S. Colon, H. E. Grey és F. R. Unanue: *J. Exptl. Med.* **133**, 156 (1971).
 Sloyer, J. L., R. W. Veltre, Ph. M. Sprinke: *J. Immunol.* **111**, 183 (1973).
 Surján, L. Jr., és Surján M.: *Arch. Klin. Exp. Ohr-Nas, Kehlk — Heitlk*, **195**, 331 (1970).
 Surján, L., Scn. és Surján, M. *Acta Otolaryng.* **71**, 190 (1971).
 Uhr, J. W., és E. S. Vitetta: *Fed. Proc.* **32**, 35 (1973)
 Unanue, E. R., H. D. Engers és M. J. Karnovsky: *Federation Proc.*, **32**, 44 (1973).
 Unanue, E., E. Rabellino és H. M. Grey: *J. Exptl. Med.* **133**, 1188 (1971).
 Zucker-Franklin, D., és S. Berney: *J. Exptl. Med.* **135**, 533 (1972).