

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI



AZ EGÉR PERIFÉRIÁS NYIROKSZÖVETEK VASZKULÁRIS- STROMÁLIS ELEMINEK DIFFERENCIÁLÓDÁSA ÉS SZEREPE A LIMFOID SEJTEK HOMEOSZTÁZISÁBAN

Dr. Balogh Péter

Pécsi Tudományegyetem

Klinikai Központ

Immunológiai és Biotechnológiai Intézet

2020

TARTALOMJEGYZÉK

Tartalomjegyzék.....	2
1. Rövidítések jegyzéke.....	3
2. Bevezetés: A perifériás nyirokszövetek kialakulásának fejlődésbiológiai áttekintése	5
2.1. A nyirokszöveti területek embrionális indukciójának celluláris partnerei: inducer és organizátor sejtek	5
2.1.1. A perifériás nyirokszövetek fejlődésében résztvevő főbb morfogén faktorok	6
2.1.2. A perifériás nyirokszövetek fejlődésének citokin/kemokin szabályozása.....	7
3. A lép fejlődésének főbb jellemzői.....	9
3.1. A lép alapvető struktúrális összetevői emberben és egérben	9
3.2. A lép korai fejlődésének transzkripcionális szabályozása.....	12
3.3. A lép-előtelep kialakulása, a vörös pulpa és fehér pulpa elkülönülése	15
4. Az Nkx2-3 szerepe a bél-asszociált nyirokszövetek képződésében és érmintázatának meghatározásában	17
5. A hasüregi B-sejtek és B-sejtes limfómák bél-asszociált szerozális kötőhelyei	18
6. Célkitűzések	20
7. Fontosabb módszerek.....	21
7.1. Monoklonális antitestek előállítása, immunglobulin tisztítás és jelölés.....	21
7.2. Immunhisztológiai vizsgálatok.....	21
7.3. Áramlási citometria	22
7.4. Monoklonális antitestek reaktivitásának és epitop-specificitásának meghatározása	22
7.5. Egerek genotipizálása és mRNS kifejeződésének qPCR vizsgálata	22
7.6. Adoptív sejt-transzfer, hematopoetikus kimérák és <i>in vivo</i> jelölés	23
8. Eredmények.....	24
9. A dolgozat alapját adó publikációk	31
9.1 A témában megjelent további közlemények.....	34
9.2 Tudománymetriai adatok.....	37
10. Köszönetnyilvánítás	40

1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

BcR:	B-sejt receptor
CFSE:	karboxifluoreszcein-hidroszukcinimid észter
CLP:	közös limfoid progenitor
ColP:	vastagbél-plakk
CP:	kriptoplakk
CRC:	CXCL12-termelő stromális sejt
DLBCL:	diffúz nagy B-sejtes limfóma
DMSO:	dimetil-szulfoxid
DSS:	dextrán-nátrium-szulfát
ECM:	extracelluláris mátrix
FALC:	zsírszöveti limfoid csoportosulás
FDC:	follikuláris dendritikus sejt
FGF:	fibroblaszt növekedési faktor
FITC:	fluoreszcein-izotiocianát
FLAg:	leveles limfoid csoportosulás
FRC:	retikuláris fibroblaszt
GFP:	zöld fluoreszcens fehérje
GWAS:	teljes genom asszociációs tanulmány
HEV:	magas endoteliális posztkapilláris venula
HRP:	tormagyökér-peroxidáz
HVEM:	herpes virus entry mediator
ICAM-1:	intercelluláris adhéziós molekula-1
IFN:	interferon
IL:	interleukin
ILC:	veleszületet limfoid sejt
ILF:	izolált nyiroktüsző
LEC:	limfoid endoteliális sejt
LIGHT:	lymphotoxin exhibits inducible expression, and competes with HSV glycoprotein D for HVEM, a receptor expressed by T lymphocytes
LFA-1:	leukocita funkcionális antigén-1
LT α :	limfotoxin alfa
LTi:	limfoid szövet indukáló sejt

LTo:	limfoid szövet organizátor sejt
MACS:	mágneses sejtszeparálás
MAdCAM-1:	mukózális addresszin sejt adhéziós molekula-1
MARCO:	makrofág receptor kollagén-szerkezettel
MRC:	marginális retikuláris sejt
MS:	milky spot („tejfolt”)
M-CSF:	makrofág kolónia-stimuláló faktor
MZ:	marginális zóna
NF- κ B:	nukleáris faktor kappa-B
NK	természetes ölősejt
PALS:	periarterioláris limfoid hüvely
PCR:	polimeráz lánc reakció
PDGF:	trombocita eredetű növekedési faktor
PNAd:	perifériás nyirokcsomó addresszin
PP:	Peyer-plakk
PTPN2:	protein tirozin-foszfataz 2
RAG:	rekombinációt aktiváló gén
ROR γ :	retinsav-receptor rokon árvareceptor-gamma
SCID:	súlyos kombinált immunhiány
Shh:	sonic hedgehog
SHIP:	Src homológ 2-domén-tartalmú inozitol-foszfataz
SIGN-R1:	specific ICAM-3 grabbing nonintegrin-related 1 (CD209b)
SILT:	szoliter bél-asszociált nyirokszövet
SMP:	szplanchnikus mezodermális lemez
Sn:	szialoadhezin
TLR:	Toll-típusú receptor
TNF:	tumor nekrosis faktor
TRANCE:	TNF-rokon aktiváció-indukált citokin
TSLP:	timikus stromális limfopoetin
RANK:	NF- κ B receptor aktivátor
VCAM-1:	vaszkuláris sejtadhéziós molekula-1
VEGF:	vaszkuláris endoteliális növekedési faktor
VSC:	verzatilis stromális sejt
vWF:	von Willebrand-faktor

2. BEVEZETÉS: A PERIFÉRIÁS NYIROKSZÖVETEK KIALAKULÁSÁNAK FEJLŐDÉSBIOLOGIAI ÁTTEKINTÉSE

2.1. A nyirokszöveti territóriumok embrionális indukciójának celluláris partnerei: inducer és organizátor sejtek

A 90-es években újszülött egerek perifériás nyirokcsomó-sejtösszetételének tanulmányozása egy $CD45^+/CD3^-/CD4^+$ fenotípusú, addig nem ismertt limfoid sejt-alcsoport jelenlétét igazolta. Ezen limfoid sejtek $IL7R\alpha$ citokin-receptort hordoznak, és nincs T-sejtképző potenciáljuk, valamint immunglobulint sem termelnek, ugyanakkor in vitro tenyészetben az NK-sejtekre jellemző NK1.1 marker kifejeződését lehet rajtuk kiváltani. A fejlődő nyirokcsomóba való eljutásukhoz ezek a $CD45^+/CD4^+/CD3^-$ sejtek az $\alpha4\beta7$ integrin révén a mezenterialis (illetve (a posztnatális korban átmenetileg a perifériás) nyirokcsomókban kialakuló magas endoteliális venuláinak (HEV) endotel sejtjein kifejeződő MAdCAM-1 (mucosal addressin cell adhesion molecule-1) addresszinhez kapcsolódnak.

Az egér Peyer-plakkok (PP) vizsgálata hasonló fenotípusú limfoid sejtek jelenlétét igazolta, és kimutatta, hogy ezen sejtek stromális mikrokörnyezete nagy számban tartalmaz VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1/CD106) glikoproteint hordozó mezenhimális sejteket. A hematopoetikus sejt-csoport és éretlen stromális sejtek közötti kölcsönhatások a későbbi érési folyamatok során megjelenő differenciált T- és B-limfociták számára alakítanak ki megfelelő mikrokörnyezetet, amik a stroma további specializációját segítik elő. Ezeket a $CD45^+/CD4^+/CD3^-$ sejteket limfoid szövet indukáló sejt-ként (LTi) jelöli a szakirodalom, melyek azonosítása jelentette annak az addig ismeretlen sejt-csoport létezésének az első bizonyítékát, amiket jelenleg összefoglalóan veleszületett limfoid sejteknek (ILC) nevezünk. Ezek közül a mostani besorolás alapján az LTi sejtek a 3. típusú ILC (ILC3) közé tartoznak.

Az embrionális nyirokszövet-előtelepek első érési eseménye a differenciálatlan mezenhimális sejtek VCAM-1-pozitív sejtekből álló csoportosulásokká szerveződése és LTi

sejtekkel való kapcsolódása. Ebben a stádiumban ezen alapállományi sejteket nyirokszövet organizátor (LTo) sejteknek nevezzük. A következő fejlődési szakaszban az érett T- és B-sejtek érkezése "hígítja" és egyidejűleg a nyirokszöveten belül áthelyezi az LT_i sejteket. Így az az időablak, amíg a megfelelő helyeiken a fiziológiás organogenezis részeként (LT_i – LTo összekapcsolódás eredményeként) nyirokszövet-iniciálás történhet, valószínűleg lezárul.

Az LT_i sejtek partnereit reprezentáló VCAM-1-pozitív LTo sejtek jellemzőit vizsgáló további kutatások igazolták ezen mezenhímális sejteken az ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) és MAdCAM-1 adhéziós molekulák kifejeződését. Ezen adhéziós fehérjék és szolúbilis kemotaktikus faktorok (elsősorban CXCL13 kemokin) közreműködésével a mezenhímális sejteket a korábbihoz képest eltérő limfocita-mikrokörnyezet veszi körül, amire ezek a stromális prekurzorok további érési-specializálódási folyamatokkal válaszolnak. Így a follikuláris dendritikus sejtek (FDC) kialakulásához a nyirokszövetnek dedikált territóriumon belül B-sejtekre van szükség, míg a T-sejtek a T-zóna retikuláris fibroblasztok (FRC) által kialakított mikrokörnyezetben dúsulnak.

2.1.1. A perifériás nyirokszövetek fejlődésében résztvevő főbb morfogén faktorok

A limfoid organogenezis megértésében az egyik legfontosabb mérföldkő a tumor nekrosis faktor (TNF) és limfotoxin (LT) morfogenetikai szerepének felismerése volt. Az idevonatkozó kutatások fontosságát jelzi, hogy azok a krónikus gyulladás és autoimmun megbetegedések során alkalmazható immunszuppresszív biológiai terápia koncepcionális megújulását és a korábbiaknál jóval hatéknyabb készítmények kifejlesztését eredményezte.

A TNF/LT molekulák nyirokszöveti organogenezisben játszott fontos szerepét elsőként a LT α hiányos egér nyirokszöveteinek drámai eltérései mutatták, ahol a nyirokcsomók és a PP hiányához a lép súlyos szerkezeti zavarai társultak. A LT α hiányával ellentétben a LT β inaktiválása során a nyaki és hasi nyirokcsomók létrejöttek, ami arra utal, hogy ezekben a

régiókban a limfoid organogenezis a $LT\alpha/\beta 2$ komplextól független. Ugyanakkor $LT\beta R$ hiányában egyik nyirokcsomó sem jelent meg. A $LT\alpha$ vagy $LT\beta$ hiánya miatt kialakuló, változó jellegű nyirokcsomó-hiánnyal szemben a PP fejlődése minden esetben gátlódott.

A TNF és receptorainak hiánya a $LT\alpha\beta$ és $LT\beta R$ hiányához viszonyítva sokkal mérsékeltebb hatást vált ki. TNF-R1 hiányában nyirokcsomók létrejönnek, ugyanakkor a PP fejlődés károsodott. TNF-R2 hiányában nincs értékelhető nyirokszöveti defektus, bár nem alakul ki FDC és a csíracentrum reakció is gátolt.

A TNF-család további tagjai közül a TRANCE (RANKL) és receptora a TRANCE-R/RANK szintén fontos szerepet tölt be a nyirokcsomók fejlődésében, ugyanakkor nem befolyásolják a PP és lép kialakulását, az utóbbi változó súlyosságú szerkezeti eltérései ellenére.

2.1.2. A perifériás nyirokszervek fejlődésének citokin/kemokin szabályozása

Az elkötelezett hematopoetikus sejt-vonalak a belső programozás és a mikrokörnyezeti hatások integrált eredményeként alakulnak ki. Utóbbiak között számos szolúbilis faktor fejt ki fontos hatást, amik közül az egyik legkorábban azonosított citokin az interleukin-7 (IL-7). Bár több évtizeddel korábban az IL-7-et eredetileg az egér pre-B-sejtek és fejlődő timociták differenciálódásának egyik fontos mediátoraként azonosították, később a limfoid organogenezisben játszott szerepükre is fény derült.

IL-7-hiányos egerekben a nyirokcsomók fejlődése változó mértékben gátolt. A hasi nyirokcsomók általában kialakultak, míg a nyaki, térdhajlati és zsigeri (vese, máj, hasnyálmirigy melletti valamint a paraaortikus) nyirokcsomók gyakorisága drasztikusan csökkent vagy hiányzott, amihez a PP hiánya társult. Jelenleg nincs adat a szintén az IL-7 citokin receptorához (IL-R) kötődő TSLP ligand hiányának a nyirokcsomók és a PP fejlődésére kifejtett hatásáról, a hasi nyirokcsomó meglétén kívül.

Az IL-7 fokozott termelése az LTi sejtek számbeli növekedésén keresztül ektopiás nyirokcsomók megjelenéséhez vezetett, és IL-7 hozzáadása fokozta az LTi sejtekstroma-sejtekkel együtt kialakított *in vitro* kultúrában való túlélését és sejtfelszíni LT α β 2 heterotrimer kifejeződését.

A T- és B-sejtek szegregációját a perifériás nyirokszövetekben a G-fehérjéhez kötött CXCR5 kemokin receptor irányítja (eredetileg Burkitt's lymphoma receptor-1/BLR1) amely hatására a B-sejtek és a follikuláris helper T-sejtek (T_{FH}) a nyiroktüszőbe vándorolnak a később azonosított CXCL13 (eredetileg B-lymphocyte chemoattractant – Blc) megkötésén keresztül. CXCR5-hiányos egerekben a lép limfociták diffúz elrendeződése mellett az ágyéki nyirokcsomók is hiányoztak, és a PP fejlődése is változó mértékben károsodott.

A CCR7 kemokin receptor és ligandjai, a CCL21 és CCL19 szintén szerepet játszanak a limfoid organogenezisben. Felnőtt egerekben a CCR7 ligandkötése a T-sejtek és dendritikus sejtek magas endoteliális venulákon (HEV) keresztüli eljutását irányítja a nyirokcsomóban. Az embrionális LTi sejtek hordozzák a CXCR5 és CCR7 receptorokat, és a megfelelő (CXCL13 és CCL19/21) ligandok grádiensében *in vitro* rendszerekben hatékonyan vándoroltak. CXCL13 és CCR7 illetve a CXCR5 és CCR7 kombinált hiányában a hasi nyirokcsomók továbbra is kialakultak, ugyanakkor a CXCL13 hiány és IL-7R α inaktiválás kombinálása az LTi sejtek hiányán keresztül teljes mértékben megakadályozta a hasi nyirokcsomók kialakulását, ami a CXCR5 és IL-7R szignalizációnak az LTi sejtek túlélésére kifejtett meghatározó szerepét igazolja. Összefoglalóan ezek a megfigyelések azt támasztják alá, hogy a különböző elhelyezkedésű nyirokcsomók fejlődése jelentősen eltérő CXCL13/CXCR5, IL-7/IL-7R α és CCL21/CCR7 függés-mintázatot mutat.

3. A LÉP FEJLŐDÉSÉNEK FŐBB JELLEMZŐI

A lép a gerincesek legősibb kompartmentalizált egyedi perifériás nyirokszerve. Főbb részei a halaktól kezdődően egészen az emlősökig nagymértékű hasonlóságot mutatnak, ugyanakkor viszonylag közeli emlős fajok (pl. egér, patkány és ember) lép-szerkezete között is jelentékeny eltérések mutathatók ki.

3.1. A lép alapvető struktúrális összetevői emberben és egérben

A lépben a limfoid szerveződés számára a váz legfontosabb szerkezeti elemét az **érhálózat** és a **retikuláris fibroblaszt hálózat** alkotja. Az extracelluláris matrix és a retikuláris sejtek együttesen hozzák létre a lép **conduit** “csőváz” rendszerét, ami kismolsúlyú oldott összetevők számára nyújt transzport-útvonalat.

A kisméretű centrális arteriolákat a főként T-sejtekből álló PALS veszi körül, míg a B-sejt dús nyiroktüszők viszonylag kevés érkepletet tartalmaznak, bár néhány arterioláris ág vagy kapilláris áthalad rajtuk. Ez a két fő kompartment alkotja a fehér pulpát, amit a vörös pulpától a marginális zóna (MZ) választ el (vagy kapcsol össze). Ezen utóbbi részlet jelentősen különbözik a humán és rágcsálók lépe között.

Egérben a MZ a MAdCAM-1-pozitív marginális szinuszból és az azt körülvevő MZ makrofág rétegek valamint a közöttük található MZ B-sejtek együtteséből épül fel, az emberi lépben nincs marginális szinusz.

Az egér MZ makrofágok a Sn/CD169, SIGN-RI és MARCO antigének valamint a M-CSF függésük alapján legalább két különböző alcsoportot alkotnak. A Sn-pozitív metallofil makrofágok a fehér pulpához kapcsolódva helyezkednek el a MAdCAM-1-pozitív marginális szinusz mentén, míg a MARCO⁺/SIGN-R1⁺ MZ makrofágok perifériásabban találhatóak. A humán lépben a CD169⁺ makrofágok a perifollikuláris sávban helyezkednek el, ami egérben hiányzik.

A centrális arteriolák legkisebb ágai áthaladnak a fehér pulpán, és onnan vagy a vörös pulpa szinuszokban folytatódnak (humán), vagy a marginális zónában végződnek (egér). A humán lépben néhány ág a perifollikuláris zónában végződik, míg mások a vörös pulpa gyűjtővénáihoz kapcsolódnak. Az arterioláris kapillárisok némelyike körül többretegű makrofág-dendritikus sejt-fibroblaszt összetételű ellipszoid (Schweiger-Seidel hüvely) található. Az itt elhelyezkedő endotel sejtek fenotípusa mind emberben, mind egérben nagyfokú heterogenitást mutat.

Az érpályák mellett a fehér pulpa néhány emlős fajban efferens nyirokereket is tartalmaz, amik elektronmikroszkópos leírások szerint elsősorban a fehér pulpa centrális arteriolái mentén haladó vékony falú és bazálmembrán nélküli kapilláris képletek. Ezeknek a helyi folyadék-transzportban és leukocita-recirkulációban betöltött szerepe egyelőre tisztázatlan.

A mezenhímális alapváz az érpályákat veszi körül, és az egész szervet átfogó, simaizomsejtekből, miofibroblasztokból és retikuláris fibroblasztokból valamint az általuk termelt extracelluláris matrix-összetevőkből (ECM) álló háromdimenziós hálózatot alkot. Bár korábban passzív struktúrális szövetalkotónak tartották, a retikuláris fibroblasztok (FRC) fontos szerepet töltenek be a limfociták regionális kompartmentalizációjához vezető irányított mozgás fenntartásában a T-sejteket vonzó CCL19 és CCL21 kemokinek termelése révén.

A nyiroktüszők retikuláris szerkezete komplexebb, mint a T-sejtes régióé, mert a nem-hematopoetikus összetevők follikuláris dendritikus sejtek (FDC) hálózatát és kisebb részben egyéb, FDC-től eltérő fenotípusú retikuláris sejtes komponenseket is tartalmaznak. Az FDC hálózat a CXCL13 termelés révén képes a nyiroktüszőbe vonzani a B-sejteket és T_{FH} sejteket.

A fenti főbb összetevők mellett további, speciális nyirokszöveti kompartmentre jellemző egyéb FRC alcsoportok jelenlétét igazolták. Így a lép és nyirokcsomók nyiroktüszőinek perifériás részén elhelyezkedő stromális populáció – újabban MRC (marginal reticular cells) névvel ellátva – a fehér pulpát fogja körül a marginális szinusz mentén.

Emberben a megfelelő terület a perifollikuláris zóna, amely MAdCAM-1 glikoproteint kifejező fibroblasztokat tartalmaz. A MAdCAM-1 addresszint számos nem-hematopoetikus sejt kifejezheti (differenciálatlan stromális mezenhíma, endotel, fibroblasztok/MRC, FDC), ezért az a stromális alcsoport pontos azonosítására önmagában nem alkalmas.

Rágcsálókban a MZ nem zárja körül teljesen a fehér pulpát, benne néhány nyílás/átjáró található, amiket a nemzetközi szakirodalom „MZ bridging channel” néven ismer. Ezeken a helyeken a T-sejt zóna a vörös pulpa közvetlen szomszédságában helyezkedik el, ahol a marginális szinusz és a FRC-gazdag T-zóna közötti közvetlen kapcsolat lehetővé teszi a limfociták számára az érpályából való kilépés után a PALS vagy nyiroktüsző irányú vándorlást.

A lép fehér pulpa korábban már ismert retikuláris vázának kevésbé részletesen feltért szerveződési formája az oldott anyagok szállítását végző csatorna (“conduit”) rendszer, aminek az első leírása a nyirokcsomók T-sejt zónájára vonatkozóan történt. Ezeket a képleteket fibroblasztokból álló, bazálmembránnal körülvett kötegek alkotják. A csövek tengelyét kollagén-szálak képezik, amelyeket egymással és az őket szintetizáló fibroblasztokkal valamint a külső bazálmembránnal számos ECM összetevő kapcsol össze. Ennek a képletnek az egyik feltételezett funkciója a homeosztatis kemokinek megosztása, ugyanakkor jelenleg nem ismert a viszonylag elzárt struktúrán belül ezeknek a faktoroknak a limfociták általi elérhetősége. Bizonyos szakaszokon a fibroblasztok közötti réseknél dendritikus sejtek helyezkednek el, amelyek nyúlványaik révén érzékelhetik a conduit kemokin-grádiens jellemzőit. Jelenleg nem tisztázott, hogy a human lépben kimutathatóak-e hasonló szerkezetű és feltételezett funkciójú összetevők.

A vörös pulpa szerkezetének részletei kevésbé ismertek. Fő struktúrális elemei a vörös pulpa Billroth-kötegei, amiket elsősorban fibroblasztok és makrofágok, kisebb mértékben limfociták és plazmasejtek alkotnak. A plazmasejtek elhelyezkedését a stromális sejtek CXCL12 termelése és az ICAM1-LFA1 interakció révén létrejövő integrin-közvetítette

retenció szabályozza, míg a helyi makrofágok általában rezidens sejtek. A vörös pulpa kötegekben szintén kimutathatók vénás szinuszoidok és az ecset-arteriolák terminális ágai, amelyek a lép vérkeringésének nyitott szegmentumát alkotják. Ebben a szakaszban a vénás szinuszoidok bazálmembránja fenesztrált szerkezetű, valamint az endotelsejtek között résszerű nyílások is találhatók, amik együttesen elősegítik a fehérvérsejtek érpályából való kilépését. A vénás szakaszok nagyobb gyűjtővénákhoz kapcsolódnak, amelyek a trabekuláris vénákat hozzák létre. A szinusz-rendszeren való kilépés és visszalépés a vérsejtek bizonyos fokú rugalmasságát igényli, ezért a károsodott és fokozottan fragilis sejtek a vérpályán kívül rekednek, ahol a helyi makrofágok távolítják el őket.

3.2. A lép korai fejlődésének transzkripcionális szabályozása

Az egér lép fejlődésének első szakasza a dorzális mezogasztrium bal felszínének mezenhímális kondenzációjával kezdődik, ennek során a gyomor hátoldalán a szplanchnikus mezodermális lemez (SMP) mentén alakul ki a lép-kezdemény. A második szakaszban a lép-kezdeményben hematopoetikus sejtek telepsznek meg, aminek eredményeképpen a fejletlen vörös pulpa és kezdetleges periarterioláris limfoid hüvely (PALS) mint a fehér pulpa elsőként azonosítható részlete jelenik meg. A harmadik szakaszban a születés utáni első hét során érett T- és B-sejtek jutnak nagy mennyiségben a lépbe, és eleinte a periarterioláris limfoid hüvelyben, később attól disztálisan elhelyezkedve a FDC megjelenésével párhuzamosan elkülönül a nyiroktüsző és a T-sejt zóna, benne az utóbbi kompartment vázát alkotó FRC hálózat. A születés utáni harmadik hét környékére jelenik meg a MZ. Ennek megfelelően a szerv fejlődésének jelentékeny része a születés utáni időszakra tevődik, beleértve az immunológiailag fontos limfoid kompartmentek kialakulását. Az emberi lép ehhez képest gyorsabb pre/perinatális fejlődési kinetikát mutat, aminek részeként már a második trimeszter

első felére kialakulnak a FDC-t tartalmazó nyiroktüszők és a megfelelő FRC-hálózatattal átszőtt T-sejt zóna.

Az egér lép fejlődésében fontos morfogéneket kódoló gének spontán vagy irányított mutagenézise révén kialakult lép-szerkezeti változások tanulmányozása alapvető információkat nyújtott a lép korai fejlődésének meghatározó összetevőiről, ugyanakkor ezek hierarchikus kapcsolódása és pontos fejlődésbiológiai szerepe jelenleg még ismeretlen.

A lép blokkolt fejlődését okozó első leírt spontán mutáció a domináns hemimélia (Dh), aminek genetikai háttere egyelőre tisztázatlan. A végtag-rendellenességek mellett súlyos zsigeri elváltozásokkal jár, benne a lép hiányával. A Dh-ban megfigyelt léphiány valószínűleg az SMP-t érintő károsodás következtében jön létre.

Az SMP szimmetrikus megjelenését követően a lép-előtelep kialakításához egy erőteljes baloldali irányú növekedés indul meg, míg a jobb oldali rész néhány napon belül elsorvad. A folyamat során fontos szerep jut a Bapx1/Nkx3.2 homeodomén-típusú transzkripció faktor által kontrollált fibroblaszt növekedési faktor 9 és 10 (FGF9 és FGF10) grádienseknek, aminek hiánya szintén léphiányt okoz. Bapx1-deficiens egerekben a szintén SMP-ből differenciálódó hasnyálmirigy és lép szeparációja elmarad, helyette a hasnyálmirigy endoderma és a lép-előtelep mesenchyma metaplasztikus jellegű átalakulás révén bél-szerű struktúrákat hoz létre, amiben a Sonic hedgehog (Shh) útvonal is szerepet játszhat.

A Bapx1 a lépfejlődésben részt vevő transzkripcionális hálózat egyik fontos szabályzó tagjaként is szerepel. Így egyik fontos célgénje a Hox11/Tlx1, ami az első homeodomén gén volt, aminek célzott kiiktatása léphiányt okozott. Normál lépfejlődés során a Bapx1 kifejeződése megelőzi a Hox11/Tlx1 kifejeződését, és Bapx1 hiányban a Hox11/Tlx1 sem expresszálódik, ami a Bapx1 irányító szerepére utal. Ugyanakkor a Hox11/Tlx1 szükséges a Wt1 (Wilms tumor szuppresszor gén) kifejeződéséhez, ami hiánya szintén léphiányt okoz, valószínűleg a lép előtelep mezenhíma sejtek osztódásának elmaradása miatt. A Bapx1 hiánya

ugyanakkor nem befolyásolja az Nkx2-5 homeodomén transzkripciós faktor kifejeződését, ami alapvető kardiogén hatásai mellett szintén szükséges egy Bapx1-independens módon zajló lép-morfogenezist szabályzó folyamathoz.

A fentiekől eltérő (harmadik, illetve alternatív Bapx1-dependens) útvonal is részt vesz a lép fejlődésében. A Pbx1 homeobox gén inaktiválását követően kialakuló léphiányban a SMP fennmarad (ami hiányzik a Dh mutáció esetén), ennek ellenére a lép-előtelep nem alakul ki. Pbx1 hiánya esetén a Hox11/Tlx1, Wt1 és Nkx2-5 kifejeződése elmarad, ugyanakkor a Bapx1 továbbra is expresszálódik. Úgy tűnik, hogy a Hox11/Tlx1 és Wt1 közbeiktatott géneket a Bapx1 és Pbx1 egymástól függetlenül, nem-redundáns módon szabályozza. A Pbx1-irányította útvonal a Bapx1 hatásától eltérően nem a lép előtelep perifériás-kapszuláris részében, hanem a mélyebben elhelyezkedő sejt-csoportosulások differenciálódásában játszhat fontos szerepet. Ezek alapján a lép fejlődése egy igen komplex szerveződésű, számos helyen nem-redundáns átfedésekből és összekapcsolódásokból álló transzkripciós hálózat révén jön létre, melyek közül a Bapx1 hatása a Hox11/Tlx1-Wt1 útvonal mentén valósul meg, az Nkx2-5 részvétele nélkül. Az ettől függetlennek tűnő Pbx1 szerepe kettős, egyrészt Bapx1-független módon aktiválhatja a Hox11/Tlx1-Wt1 útvonalat, másrészt aktiválhatja az Nkx2-5 kifejeződését.

A lép mezenhíma specifikációját követően megfigyelhető vaszkuláris expanszió a 15.5 embrionális nap idején összekapcsolódik az Nkx2-3 homeodomén transzkripciós faktor aktiválódásával. Az Nkx2-3 a MAdCAM-1 promoter egyik transzaktivátor hatású szabályozója, ami szerepet játszhat az Nkx2-3-hiányos egerek MZ defektusában. Az Nkx2-3 hiánya a PP fejlődését is befolyásolja, és a posztnatális helyi limfoid neogenezisben betöltött szerepére utalhat a promoterben lévő SNP variánsainak előfordulása gyulladásos bélbetegségekben.

3.3. A lép-előtelep kialakulása, a vörös pulpa és fehér pulpa elkülönülése

A lép előtelepének a gyomorfaltól és a dorzális hasnyálmirigy-kezdeménytől való elkülönülése során intenzív vaszkularizáció zajlik. Az egér embrionális lép-artériák VE-kadherin, CD31 és Tie-2 markereket hordoznak, ugyanakkor a MECA-32 endoteliális antigen nem mutatható ki, míg a kapillárisok VE-kadherint és MECA-32 epitópot hordoznak. A fejlődő érelemek ezek mellett MAdCAM-1 és ICAM-1 adhéziós molekulákat hordoznak, az arteriolákat VCAM-1+ retikuláris sejtek veszik körül. Az arterioláris endotél sejtek CCL19, CCL21, CXCL12 és CXCL13 kemokineket termelnek, míg a perivaszkuláris stromális sejtek csak az utóbbi két faktorral rendelkeznek. Feltehetően ezen kemokinek jelenlétének hatására a perivaszkuláris mezenhíma perifériás részében LT α fenotípusú (CD4⁺/CD3⁺/IL-7R α ⁺/ROR γ t⁺) limfoid sejtek akkumulálódnak a 13.5 embrionális napot követően.

Közvetlenül születés után a lép arteriolák mellett szerveződő, MAdCAM-1 és VCAM-1-pozitív FRC és simaizom-sejtek laza hálózatából álló fehér pulpa állomány nem mutat a felnőttre jellemző territoriális szerveződést. Az FRC fehér pulpa perifériás része felé történő vándorlásával párhuzamosan egyre nagyobb számban telepsznek meg (eleinte többségében CD5⁺/B-1) B-sejtek és T-sejtek, ezáltal biztosítva a follikuláris stroma (elsősorban FDC) indukciójához szükséges LT/TNF ligandokat.

A B-sejtek akkumulációja és a follikulusok FDC-differenciálódáshoz kapcsolódó szerveződése két különböző szignalizációs folyamat eredményeként zajlik. A korai időszakban az elsődleges stimulust a LT β R ligand-kötése és az ahhoz kapcsolódó nem-kanonikus NF- κ B NIK-RelB útvonal nyújtja. Az éretlen FDC-előalakok 3. napos egérben a fehér pulpa széli részében csoportosulnak, és feltehetően a TNF-RI aktiválását követően a posztnatális első hét során vándorolnak a fejlődő follikulusba.

A B-sejtek fejlődő lépben történő posztnatális felhalmozódása a CCL19 és CCL21 kemokinek FRC általi termelésének fokozásához is szükséges, amelyek a T-sejteket vonzzák a

fejlődő T-sejt zónába. Hasonlóan a FDC-áthelyeződéshez, a retikuláris fibroblaszt összetevők is szerkezeti átrendeződést mutatnak a PALS első két posztnatális hét során lejátszódó érésében, amiben FRC-ként a PALS-ban valamint MRC-ként a nyiroktüszőket a marginális zónától héjszerűen elhatároló rétegben dúsulnak fel.

Az újszülött egerek lépének érszerkezete eleinte semmiféle elkülöníthető mintázatot nem mutat, a viszonylag kevés számú B-sejt elsősorban a későbbi centrális arteriolák mentén rendeződik el. A lép nagymértékű növekedése az ellátó érkepletek expanszióját teszi szükségessé új erek megjelenésének elősegítésével. Ebben a folyamatban szereplő fontos angiogén faktorok az Ang-1, Ang-2 és VEGF, aminek megfelelően a felismerő receptoraik (Tie-2 és VEGFR-2) kimutathatók az újszülött lép endotél sejteken.

A születést követően a fehér pulpa terület perifériás részén endoteliális csoportosulás figyelhető meg, az első hét végére lazán egymáshoz kapcsolódó endotél-sejtekből álló éretlen marginális szinusz képződik. A marginális szinuszt kialakító sejtek előalakjainak érését és vándorlását a LT/TNF szignalizáció irányítja, ami a posztnatális első héát során érvényesül. Ezek mellett egyéb sejtek, így pl. MZ makrofágok is szerepet játszhatnak a marginális szinusz integritásának fenntartásában, amint azt a makrofág-deficiens egereken kapott eredmények jelzik.

Az egerben nyert adatmennyiséggel ellentétben az emberi lép korai transzkripcionális szabályzó faktorainak kifejeződéséről és szerepéről szinte semmilyen ismeret nem áll rendelkezésre. A lép fejlődésbiológiai eseményeire vonatkozó ismereteink túlnyomó része morfológiai jellegű leírás, ultrastruktúrális és immunhisztokémiai adatokkal kiegészítve.

4. AZ NKX2-3 SZEREPE A BÉL-ASSZOCIÁLT NYIROKSZÖVETEK KÉPZŐDÉSÉBEN ÉS ÉRMINTÁZATÁNAK MEGHATÁROZÁSÁBAN

Korábbi kutatások feltárták az Nkx2-3 transzkripciós faktornak a lép és Peyer-plakkok (PP) fejlődésében a MAdCAM-1 addresszin endoteliális expressziójának szabályozása révén játszott fontos szerepét. Nkx2-3 hiányos egerekben a lép MZ szerkezeti és érpálya-eltérései mellett a PP és hasi nyirokcsomó HEV endotél-sejtjein hiányzik a MAdCAM-1. Az Nkx2-3 mRNS kimutatható a PP és hasi nyirokcsomók HEV sejtjeiben, így feltehetőleg közvetlenül ezekre a sejtekre korlátozódóan fejt ki a MAdCAM-1 termelődésében betöltött hatását, de az egyéb (stromális és/vagy hámsejteken) keresztüli módosító hatást sem lehet bizonyossággal kizárni. A PP-ba történő limfocita hominghoz a MAdCAM-1 HEV-en történő kifejeződésére van szükség, így a MAdCAM-1 hiányában a mutáns PP HEV-ben egy alternatív adhéziós folyamattal járó homing történhet, ami a mutáns PP kisebb mérete alapján feltehetőleg kevésbé hatékony.

Az Nkx2-3 által szabályozott gén-kifejeződés a krónikus gyulladással járó Crohn-betegség és colitis ulcerosa kialakulásában játszhat fontos szerepet, ahol az Nkx2-3 expressziójának autoantitest-termelődéssel és nagymértékű limfocitás bél-infiltrációval együttjáró megváltozását és számos szekvencia-variáns meglétét igazolták. Így az Nkx2-3 hiányában a MAdCAM-1-től független mukozális homing jelensége egyrészt felhívja a figyelmet az endotél sejteknek az addresszin-expresszió eltéréseiben megnyilvánuló plaszticitására, másrészt figyelmeztet a gyulladással járó bélbetegségekben egyre szélesebben alkalmazott addresszin/integrin-specifikus immunterápiák lehetséges korlátaira.

Gyulladásos bélbetegségekben a nyálkahártyában megfigyelt limfoproliferatív elváltozásokban és gyakori ektopiás nyirokszövet-kialakulásban a fehérvérsejtek fokozott mukozális megtelepedése szintén szerepet játszhat. Ugyanakkor nincsen arra vonatkozó adat, hogy a MAdCAM hiánya (Nkx2-3 szabályozástól függően vagy függetlenül) ezekben a folyamatokban

hogyan befolyásolja akár a normális szoliter bél-asszociált nyirokszöveti (SILT) összetételt, vagy a gyulladásban érintett veleszületett (ILC, elsősorban ROR γ t⁺ ILC3) és adaptív (elsősorban Th17 és FoxP3⁺ Treg) limfoid alcsoportok megoszlását. Bár az Nkx2-3 eddigi ismeretek alapján a nem-hematopoetikus sejtekben expresszálódik, kóros körülmények között (elsősorban transzlokáció következtében) különböző Nkx gének tumor-asszociált aberráns expressziója is megfigyelhető, ami szerepet játszhat ezen daganatok disszeminációjában.

5. A HASÜREGI B-SEJTEK ÉS B-SEJTES LIMFÓMÁK BÉL-ASSZOCIÁLT SZEROZÁLIS KÖTŐHELYEI

A bél nyálkahártya-felületéhez kapcsolódó különböző nyirokszövetekkel ellentétben a szerozális felület immunológiai védelmét ellátó nyirokszövetekről csak kevés ismeret áll rendelkezésre. A csepleszben elhelyezkedő tejfoltok (MS - milky spots) létezéséről már régóta van tudomásunk, viszont a kialakulásuk és speciális immunológiai jelentőségük nagyrészen ismeretlen.

A közelmúltban a beleket ellátó ereket körülvevő hasüregi zsírszöveti kötegekben egy nagy számban előforduló új nyirokszöveti formációt azonosítottak, amelyek a zsír-asszociált limfoid csoportosulás (FALC – fat associated lymphoid clusters) elnevezéssel jelölnek. A FALC szerepe a 2. típusú veleszületett limfoid sejtek (ILC2) számára megfelelő mikrokörnyezet kialakítása. Az ILC2 sejtek által termelt IL-5 a CXCL13 kemokin közreműködésével elősegíti a savós üregekben a B-1 B sejtek megtelepedését, amik idővel nagy részben a lamina propria IgA-termelő plazmasejtjeivé alakulnak, míg fégfertőzés során az IL-33 által stimulált ILC2 sejtek az IL-13 termelésük révén fokozzák a bél kehelysejtjeinek regenerációját. Ilyen módon a szerozális nyirokszöveti összetevők a mukozális szöveti integritás fenntartásában is fontos szerepet játszanak, bár ezek további részletei ismeretlenek.

A bél-nyálkahártya nyirokszöveiteinek és a perifériás nyirokcsomók képződése ROR γ t-függő ILC3/LTi sejtek jelenlétét igényli, viszont a MS és FALC (a LT α és CXCL13 dependenciájuk ellenére) függetlenek a LTi sejtektől. A LT α szerepe feltehetőleg annak alternatív TNF-receptor ligand aktivitásán alapul, ezáltal összekapcsolva a TNF-termelő makrofágokat és a TNF-receptort kifejező stromális sejteket vagy előalakjaikat. A *Rag2⁻/Il2rg⁻* T/B/NK/ILC-deficiens mutánsokban megfigyelt hiányuk alapján a FALC struktúrák fejlődéséhez valamilyen nem-ILC3 típusú limfoid sejt szükséges, az ILC2 szerepe a MS és FALC fejlődésében (azok immunológiai működésében betöltött jelentősége mellett) egyelőre vitatott.

A közelmúltban a munkacsoportunk által izolált spontán nagy malignitású DLBCL-típusú egér B-sejt limfóma hasüregi terjedésének vizsgálata révén lehetőség nyílt a szerozális nyirokszöveti képletek részletesebb megismerésére. Ennek a limfómának a legjellegzetesebb tulajdonsága a hasüregi zsírszövetben, a hasi nyirokcsomóban és lépben való felhalmozódása a hasüregi oltás után a hasi nyirokerekken történő áttétképzés során. A limfóma korai megtapadásának vizsgálata új adatokat nyújthat a szerozális B-sejt-megoszlás folyamatára.

6. CÉLKITŰZÉSEK

A kutatások célja az egér lép és bél-asszociált nyirokszövetek stromális szerveződésének és a kompartmentalizációjukban részt vevő morfogén szabályzók szerepének részletesebb megismerése volt. Ezen témakörben az alábbiakat vizsgáltam:

- 1. Az egér lép retikuláris-vaszkuláris stróma-elemeinek azonosítására alkalmas új patkány monoklonális antitestek előállítása, reaktivitásuk elemzése;*
- 2. A lép limfoid kompartmentjeiben jellemző stromális alcsoportok (vaszkuláris endotél, follikuláris dendritikus sejtek, T-sejt zóna retikuláris fibroblasztok) posztnatális érési folyamatának és limfocita-kapcsolódási jellemzőinek vizsgálata;*
- 3. A lép morfogenezisét irányító Nkx2-3 homeodomén transzkripciós faktor hiányának következményei a vaszkuláris-stromális szerveződésre;*
- 4. A Peyer-plakkok magas endoteliális venulák (HEV) Nkx2-3 függő érése és a limfoid sejtösszetételre kifejtett hatása DSS-indukálta vastagbél-gyulladás modellben;*
- 5. A lép és bél-nyálkahártya Nkx2-3-függő összetevők humán analógjainak vizsgálata, valamint az Nkx2-3 humán B-sejtes limfoproliferatív kórképekben betöltött szerepének vizsgálata B-sejtes limfóma Eμ-NKX2-3 transzgenikus egér-modellben;*
- 6. Egy új típusú szerozális nyirokszöveti formáció szerkezet-analízise, a B-sejtek és high-grade B-sejtes limfómák terjedésében betöltött szerepének vizsgálata.*

7. FONTOSABB MÓDSZEREK

7.1. Monoklonális antitestek előállítása, immunglobulin tisztítás és jelölés

Wistar patkányokat BALB/c egér lépből vagy nyirokcsomóból izolált limfocitákkal, vagy sztereomikroszkóp alatt mikrodisszekcióval feltárt (korábban humán vörösvértesttel oltott) lép fehér pulpa fragmentummal immunizáltunk, majd az immunizált patkányok lépsejtjeit polietilén-glikol segítségével Sp-2/0Ag14 sejtvonallal fúzionáltattuk. Standard hybridoma HAT-szelekciós eljárást követően a túlélő klónok felülűszóit felhasználva áramlási citometriás vagy indirekt immunhisztológiai eljárással választottuk ki a tervezett vizsgálatok szempontjából releváns klónokat. Klónozást követően a termelt hybridoma felülűszóból az antitesteket Protein G affinitás kromatográfiás eljárással tisztítottuk, a kapott IgG frakciót szükség szerint FITC, Cy3, Alexa Fluor 568, Alexa Fluor 647 vagy biotin-N-hidroszukcinimid-észterrel konjugáltuk.

7.2. Immunhisztológiai vizsgálatok

A vizsgálandó szöveteket Killik fagyasztó médiumba téve lefagyasztottuk, majd kriosztáttal 6-8 μm -es metszeteket készítettünk. A vizsgálatok során általában indirekt immunhisztokémiai/immunfluoreszcens eljárást, vagy többszörös jelölés esetén különböző fluorokrómokkal jelölt antitest-koktélt alkalmaztunk. Kombinált LacZ/ β -galaktozidáz:immunhisztokémiai eljárás során X-gal festést és peroxidáz-jelölt kecske anti-patkány IgG felhasználásával indirekt jelölést végeztünk. In vivo antitest-kezelés és/vagy jelölés esetén az alkalmazott antitestet Na-azid mentes pufferbe dializáltuk, és 200-400 μl /recipiens dózisban a farokvénába injektáltuk. Whole-mount immunhisztológia esetén 4% PFA-fixált szöveteket éjszakán keresztül inkubáltuk primer jelöletlen vagy fluorokrom-jelölt antitestekkel 0,1% szaponin-BSA-tartalmú pufferben. A kapott jelölődést Olympus BX61 fény-

és fluoreszcens mikroszkóppal vagy Olympus Fluoview FV-1000 laser scanning konfokális mikroszkóppal vizsgáltuk. A kapott képeket AnalSYS morfometriai szoftverrel értékeltük.

7.3. Áramlási citometria

A különböző nyirokszövetekből (lép, nyirokcsomó, Peyer-plakk, csontvelő, tímusz, peritoneális sejtek) készített sejtszuspenziót a vizsgálatok céljának megfelelő antitestekkel jelöltük, majd a jelölt sejteket 1%-os paraformaldehides fixálást követően Becton Dickinson FACSCalibur áramlási citométeren a CellQuestPro szoftverrel mértük és értékeltük.

7.4. Monoklonális antitestek reaktivitásának és epitop-specifitásának meghatározása

A leukocita membrán-antigénekkal szemben előállított monoklonális antitestek reaktivitását a szöveti/sejtes kötődés meghatározása mellett immunprecipitációval (CD8, CD11a/CD18, CD45, CD49b, CD90, MHC II), M13 fág-display eljárással (CD45RC), prediktált antigén-specifitás alapján az antigén cDNS-sel történő lentivirális transzdukciójával (MARCO) valamint a feltételezett antigénre KO egér lép-vizsgálatával (Sn/CD169) állapítottuk meg.

7.5. Egerek genotipizálása és mRNS kifejeződésének qPCR vizsgálata

Az Nkx2-3 hiányos és a kutatások során felhasznált egyéb (*Ltbr*^{-/-}, *Rag2*^{-/-}) egértörzsek keresztezésével kialakított kombinált mutáns egerek genotipizálását az eltávolított farokvégből izolált DNS PCR reakciójával, vagy BALB/c^{eGFP} Tg esetén az újszülöttek UV lámpával való megvilágításával végeztük. A nyirokszövetek gén-expressziós vizsgálatához teljes RNS izolálása (RNeasy Plus Mini Kit [Qiagen]) és DN-áz kezelés után cDNS-t szintetizáltunk. Tervezett primerekkel (Primer Express Software [Applied Biosystems]) végzett amplifikáció

során Power Sybr Green Master Mix (Applied Biosystems) felhasználásával három párhuzamos mintában vizsgáltuk a mRNS mennyiséget β -actin vagy HGPRT referencia génekhez hasonlítva (ABI 7500 Real Time PCR System (Applied Biosystems).

7.6. Adoptív sejt-transzfer, hematopoetikus kimérák és *in vivo* jelölés

A homing-vizsgálatokhoz különböző nyirokszövetekből limfocita-szuszpenziót készítettünk, majd a sejteket karboxi-fluoreszcein diacetát szukcinimid-észter (CFSE, Invitrogen) vagy biotin-N-hidroszukcinimid észter (Sigma Aldrich) jelenlétében inkubáltuk. A jelölést szérum hozzáadásával leállítottuk, majd PBS-ben történő ismételt mosás után a sejteket DMEM tápfolyadékos szuszpenzióban a farokvénába oltottuk 200 μ l/recipiens térfogatban $1-3 \times 10^7$ sejt/recipiens dózisban. A jelölt sejteket különböző időpontokban immunfluoreszcens mikroszkópiával vagy áramlási citometriával vizsgáltuk. Hematopoetikus kimérák kialakításához a recipiens egereket 11 G össz-dózisban Co^{60} forrással besugaraztuk, majd xenogén kiméra esetén 5×10^6 patkány csontvelősejttel vagy embrionális máj hematopoetikus sejttel, szingén kiméra esetén eGFP Tg BALB/c egér csontvelő mononukleáris sejtekkel rekonstruáltuk. A kimérizmus mértékét a rekonstruált állatok perifériás vér leukocitáinak faj-specifikus (patkány/egér) CD45 expressziója alapján, szingén egér transzfer esetén eGFP/CD45 vizsgálatával áramlási citometriás eljárással határoztuk meg. A peritoneális leukociták *in situ* jelzéséhez DMSO-ban feloldott 5 mg/ml CFSE törzsoldatot használtunk, melyet PBS-ben hígítottunk 25-50 μ g/ml végkoncentrációra. Az ip. oltással végzett jelöléshez 0,5 ml/10 g testsúly dózist alkalmaztunk.

8. EREDMÉNYEK

1. A kutatásaink során számos egér CD markert felismerő validált, valamint a stróma retikuláris-vaszkuláris komponenseivel reagáló új, egyedi patkány monoklonális antitestet állítottunk elő (8.I. táblázat).

8.I. táblázat: Az egér nyirokszöveti markerekkel reagáló monoklonális antitestek

Klón	Lép stromális immunhisztokémiai reaktivitás
IBL-7/1	Lép marginális szinusz endotél, fehér pulpa terminális arteriola endotél, vörös pulpa szinusz-alcsoport endotél
IBL-7/22	Fehér pulpa és vörös pulpa ECM retikulum
IBL-9/2	Vörös pulpa szinusz-alcsoport endotél
IBL-10	Fehér pulpa T/B-zóna és marginális zóna ECM retikulum
IBL-11	Fehér pulpa T-zóna és marginális zóna ECM retikulum
IBL-18	Fehér pulpa dendritikus sejtek, vörös pulpa makrofágok és szinusz endotél
IBL-19	Fehér pulpa és vörös pulpa ECM retikulum (IBL-7/22 mintázathoz hasonló)
IBL-20	Fehér és vörös pulpa endotél
IBL-21	Fehér pulpa és vörös pulpa ECM retikulum (IBL-7/22 mintázathoz hasonló)
IBL-22	Fehér pulpa dendritikus sejtek és terminális arteriola endotél, vörös pulpa makrofágok és szinusz endotél
Hematopoetikus reaktivitás (azonosított antigén – azonosítás módja)	
IBL-1, IBL-6/13, IBL-6/23	T-sejtek, neurális sejtek (Thy-1.2/CD90 – áramlási citometria, immunprecipitáció)
IBL-3/16, IBL-5/25	Leukociták (CD45 – immunprecipitáció)
IBL-3/5, IBL-5/22	B-sejtek, tímusz hám, makrofágok (MHC II – immunprecipitáció, áramlási citometria)
IBL-6/2	Leukociták (LFA-1/CD18a – áramlási citometria, immunprecipitáció)
IBL-8, IBL-27	B-sejtek (CD45RC – peptid fág display, áramlási citometria, immunprecipitáció)
IBL-12	Marginális zóna makrofágok (MARCO: <u>M</u> arginal zone macrophage antigen with <u>c</u> ollagenous structure – lentivirális rekombináns expresszió)
IBL-13	Metallofil makrofágok (szialoadhezin/CD169 – normál és Sn KO lép immunhisztokémia)
IBL-17	Megakariociták, trombociták
IBL-16	B-sejtek, plazmasejtek (IgM – immunoprecipitáció)
IBL-3/25, IBL-25	T-sejt alcsoport (CD8 – áramlási citometria, referencia antitest-kötődés-gátlás)
IBL-28	NK-sejtek (CD49b – áramlási citometria DX5 referencia antitesttel, immunprecipitáció)

2. Az általunk előállított patkány monoklonális antitestekkel kimutattuk, hogy egér lépben a különböző limfoid régiók eltérő fenotípusú endotéllel bélelt érelemeket tartalmaznak, és ezek a vaszkuláris domének különböző pre- és posztnatális differenciálódási kinetikával rendelkeznek. Az egér lép kötőszövet stroma-összetevőinek vizsgálatára kifejlesztett patkány monoklonális antitestekkel kimutattuk, hogy a lép fehér pulpa különböző részleteinek retikuláris alapállománya (FRC) szelektív immunológiai markerekkel és jelölési mintázattal jellemezhető, és ezek elrendeződése limfocita jelenlétet igényel (**8.II. táblázat**).

8.II. táblázat: Az egér lép érpályáinak endotél-jellemzői

Szöveti kompartment/értípus	Marker reaktivitás		
	IBL-7/1	IBL-9/2	IBL-20
<i>Centrális arteriola</i>	-	-	+
<i>Fehér pulpa terminális arteriola</i>	++	-	+
<i>Marginális szinus</i>	++	-	+
<i>Vörös pulpa szinus I, venulák</i>	+/-	++	+
<i>Vörös pulpa szinus II</i>	++	-	+

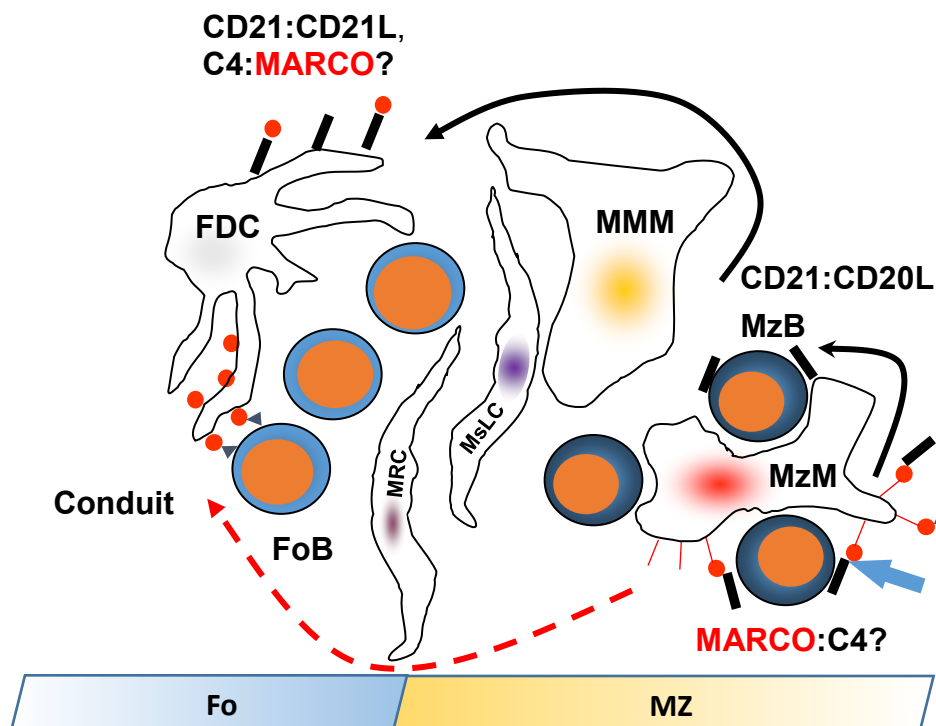
Az egyes jelzések a felsorolt antitestekkel reaktivitást és intenzitását (+, ++) vagy annak hiányát (-) jelzik

3. Kimutattuk, hogy a lép follikuláris dendritikus sejtjei (FDC) a posztnatális időszakban egy jól leírható fenotípus-változás során szerzik meg az immunkomplexet tartós megkötésének képességét, ami viszonylag kevés B-sejt jelenlétét igényli, és γ -sugárzásra valamint az általa előidézett B-sejt deplációra rezisztens (**8.III. táblázat**).
4. Az egér lépben a T-dependens immunogénekkal történő immunizálás során kialakuló csíracentrum reakció egyik jellemző eseményeként leírtuk, hogy a VCAM-1 és MAdCAM-1 adhéziós molekulák indukálható módon kifejeződnek a FDC hálózaton, és ez az indukció a marginális zóna (MZ) stromális összetevőivel létrejövő folyamatos stroma-kompartment létrejöttét eredményezi.

8.III. táblázat: A FDC érési folyamata

Életkor	Marker	Expresszió/Lokalizáció
P3	FDC-M1	A fehér pulpa körüli diffúz gyűrű
P5	FDC-M1	A fehér pulpa körül elhelyezkedő egyedi sejtek
P7	FDC-M1	A fehér pulpa szélén elhelyezkedő gyűrű, a fehér pulpában kisebb sejtcsoportok
	CR1.2	Kisebb sejtcsoportok a fehér pulpán belül
P10	CR1.2	Nagyobb számú follikuláris expresszió
	FDC-M2	Néhány CR1.2 pozitív sejthez kapcsolódóan a follikuluson belül és perivaszkuláris köteges reaktivitás
P14	FDC-M2	Fokozódó intenzitású follikuláris reaktivitás
	CD16/32	Elszórt follikuláris reaktivitás

- Kimutattuk, hogy az idős FDC hálózat kostimulációs-aktivátor hatása az életkor előrehaladtával csökken, aminek egyik lehetséges oka a stimulátor vagy gátló szignál-keltő FDC-asszociált ligandumok eltérő prezentációs mechanizmusa az ITAM-tartalmú komplement-receptorok (CR1.2) illetve az ITIM-tartalmú CD16/32 FcγRIIB részvételével.
- Leírtuk, hogy a MARCO scavenger receptor a lép MZ és a nyirokűsző közötti szövet-specifikus kommunikációban a MZ eredetű MARCO a FDC-asszociált „conduit” hálózatba ágyazottan helyezkedik el, ami során a MARCO follikuláris bejutása érett MZ makrofágokat és FDC-indukcióra képes B-sejteket igényel, de független a MZ B-sejtek S1PR1 által irányított follikuláris belépésétől (**8.1. ábra**).
- Kimutattuk, hogy a lép MZ és FDC kialakulásában fontos morfogén szenzorként működő limfotoxin β-receptor (LTβR) a RelB és p52 közvetítette szignalizáción keresztül és a szövet-specifikus expressziót mutató Nkx2-3 homeodomén transzkripciós faktor a lép különböző régióinak érpálya-fejlődését irányítja, amiben a MZ ér-szegmentum közös Nkx2-3:LTβR irányítás alatt áll.



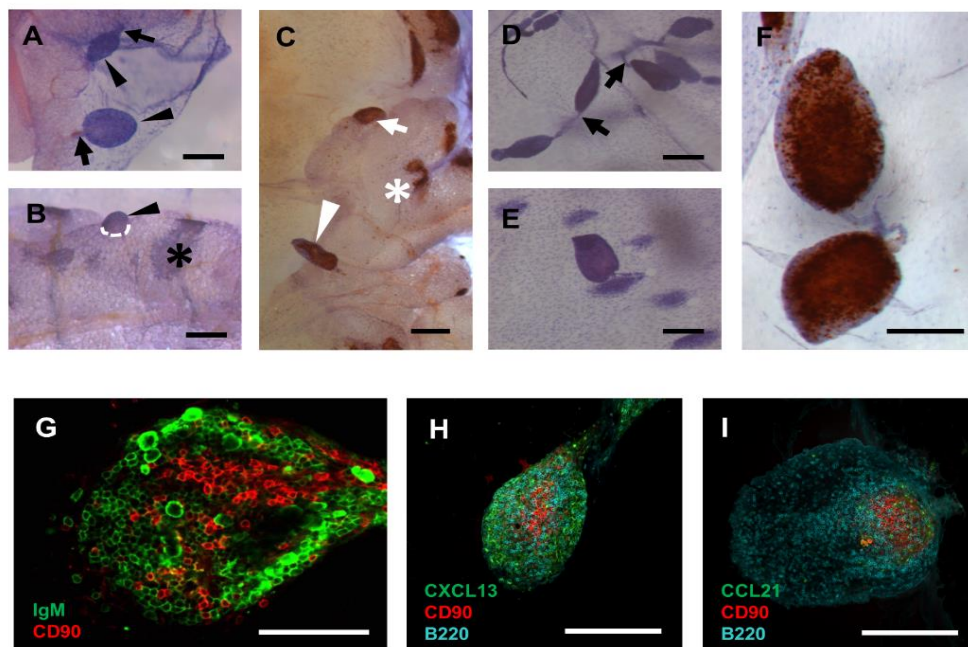
8.1. ábra: a MARCO receptor megoszlásának hipotetikus modellje az egér lép fehér pulpában

A marginális zóna (MZ) makrofágok (MzM) MARCO receptort hordoznak (rövid vörös pálca és kör), ami mikrobiális liganddal (fekete háromszög) vagy C4 komplement komponenssel (fekete téglalap) alkothat komplexet, ezáltal kapcsolódhat az utóbbit CD21 ligandként felismerő MZ B-sejtekkel. Ezt a kapcsolódást anti-MARCO antitesttel történő kezelés felfüggesztheti, ezáltal a MZ B-sejtek mobilizálódhatnak a lép nyiroktüsző felé (kék nyíl). Proteolitikus hasítás vagy egyéb feldolgozó folyamat során C4-tartalmú (MARCO:C4) vagy mikrobiális ligandot tartalmazó szolúbilis MARCO képződhet, ami a conduit (szaggatott vörös nyíl) vagy MZ B-sejt közvetítésével (folytonos fekete nyíl) juthat el a nyiroktüszőkbe (Fo). Ezt követően a MARCO:C4 a folliculáris dendritikus sejtek (FDC) felszínén immobilizálódhat, vagy a FDC-felszíni conduit felszínéhez kapcsolódhat, ahol a MARCO-hoz kapcsolt mikrobiális ligandokat folliculáris B-sejtek (FoB) ismerhetik fel. A marginális zóna metallofil makrofágok (MMM), marginális szinusz endotél sejttel (MsLC) és marginális retikulum-sejtek (MRC) szerepe a folyamatban jelenleg ismeretlen.

8. Bizonyítottuk, hogy az Nkx2-3 hiánya a lép szövet-specifikus érpálya-szerkezetének nyirokcsomó-szerű mintázat-váltását okozza, aminek eredményeképpen L-szelektin függő homing kapacitással rendelkező, magas endoteliális posztkapilláris venula (HEV) mRNS profilt mutató PNA⁺-pozitív erek valamint LYVE-1 nyirokendotel-markert hordozó nyiroktasakok jelennek meg. Ezen képletek LT β R-függő módon fejlődnek, ugyanakkor az Nkx2-3 hiánya nem transzformálja a mutáns lépét egy – a nyirokcsomókhoz hasonló - globálisan LT β R-függő szervvé.

9. Hasonló PNA^d-indukciót igazoltunk a Peyer-plakkok (PP) HEV endotél sejtjein is Nkx2-3 hiányában, ugyanakkor feltételezhető, hogy az *Nkx2-3*^{-/-} PP HEV-en keresztüli homing folyamatban egy nem-PNA^d/MAdCAM-1 endoteliális receptor is részt vehet.
10. Kimutattuk, hogy a humán lépben az Nkx2-3-kifejeződést mutató CD31⁺/CD34⁻/vWF⁺ fenotípusú érelemek a vörös pulpában helyezkednek el, ami megfeleltethető az egér lép Nkx2-3 hiányban defektív fejlődést mutató vörös pulpa szinusz-összetevőinek. Ezzel ellentétben a humán bél lamina propria kötőszöveti-vaszkuláris elemei között az Nkx2-3 kifejeződés nem rendelhető (sejtvonal-markerekkel definiálható) egyféle szövetalkotóhoz.
11. Bizonyos humán MZ B-sejtes limfomákban fellépő IgH-Nkx2-3 kromoszomális transzlokáció modell-vizsgálatára kifejlesztett Eμ-NKX2-3 Tg transzgenikus egérmodellben megfigyeltük a lép szerkezetének fokozatos átépülését.
12. Igazoltuk, hogy a programozott (lép és PP) nyirokszövetek mellett a bél indukált nyirokszöveti (SILT) fejlődése is károsodik Nkx2-3 hiányában, ami csak részben magyarázható a MAdCAM-1 transzkripcionális hiányával, ugyanakkor az Nkx2-3 hiánya protektív hatást fejt ki vastagbél-gyulladás indukciója során. Ennek során jelentékeny eltérést figyeltünk meg a 3. típusú veleszületett limfoid (ILC3) és Treg összetételben és citokin-termelésben, ami a bél stromális sejtjei által közvetített módon az IL-22 citokin-termelődéstől függetlenül felelős lehet a gyulladással szembeni rezisztenciáért.
13. Bizonyítottuk, hogy az *Nkx2-3*^{-/-} egérben kialakuló transzkripcionális és *Madcam1*^{-/-} egérben meglévő genomiális MAdCAM-1 hiány eltérő módon befolyásolja a bél különböző szakaszainak ILC3 összetételét és SILT képződését, és egyikük hiánya sem gátolja a

perifériás nyirokcsomók differenciálódását, ami a nyirokszövet indukáló sejtek (LTi) embrionális megtapadását elősegítő MAdCAM-1: $\alpha 4\beta 7$ integrin kapcsolódást helyettesítő mechanizmusra utal.



8.2. ábra: Szerezési limfoid organoidok megjelenési formái

A mezenterialis FLaG (nyílhegyek) kapillárisokat tartalmazó vékony nyelekkel (nyíl) kapcsolódik (A) a zsírszövethez. A zsírszövetben széles alappal rendelkező és arról kiemelkedő protrúziót (nyílhegy) és lapos, leukocitákkal kevésbé kitöltött FALC (*) képleteket (B) is tartalmaz (hematoxilin). Az intraperitoneálisan oltott Bc.DLFL1 sejtek (C) egyaránt kapcsolódnak FLaG (nyílhegy), protrúzió (nyíl) és FALC (*) képletekhez (HRP anti-FITC whole-mount immunohisztokémia DAB-H₂O₂ reakcióval). A hashártyához vékony nyelekkel (nyíl) kapcsolódó FLaG képletek tipikusan páros elrendeződésben (D) mutathatók ki, bár szoliter FLaG is előfordul (E) a hashártyán. A hashártyán elhelyezkedő FLaG képletek is hatékonyan kötik az ip. oltott CFSE-jelölt Bc.DLFL1 sejteket négy órával az oltás után elvégzett HRP anti-FITC whole-mount immunohisztokémiai (F) mintán. A csepleshöz kapcsolódó FLaG konfokális mikroszkópos képén (G) az IgM⁺ B-sejtek (zöld) a levél-rész perifériás részén, míg a CD90-pozitív T-sejtek a centrális szakaszban helyezkednek el. A FLaG-on belül a B-sejt kemokin CXCL13 (zöld) a levél-rész perifériás részében a B-sejt (kék) lokalizációnak megfelelően található (H), a centrális T-sejt régióban (vörös) kevésbé kifejezett. A T-sejtekre ható CCL21 (zöld) a centrális elhelyezkedésű T-sejtekkel (vörös) mutat átfedést (I), a B-sejtekben dúsabb (kék) perifériás FLaG részben nem detektálható. Lépték=200 μ m, reprezentatív ábrák, $n=5$, kétszer ismételve.

14. Egy spontán high-grade B-sejt limfóma vizsgálata során kimutattuk, hogy a limfóma sejtek hasüregi oltást követően a mezenterialis zsírban haladó nyirokerekken keresztül a hasi nyirokcsomóba jutnak. Kimutattuk, hogy a limfóma megkötésében a vékonybelet és a

cseplest borító zsigeri hashártya különböző nyirokszöveti variánsai vesznek részt, amelyek között található egy általunk foliate lymphoid aggregate (FLAg) névvel jelölt, részleges T/B-kompartmentalizációt mutató formáció. A FLAg-hoz való limfocita kapcsolódásban a hasüreg felől a LYVE-1⁺ makrofágok vesznek részt, míg a vérárammal érkező sejtek egy részben CD62L-függő módon PNAd-pozitív ereken keresztül jutnak el **(8.2. ábra)**.

9. A DOLGOZAT ALAPJÁT ADÓ PUBLIKÁCIÓK

1. **Balogh P**, Horváth G, Szakal AK. Immunoarchitecture of distinct reticular fibroblastic domains in the white pulp of mouse spleen. *J Histochem Cytochem.* 2004 52:1287-98.

IF: 2,513

2. **Balogh P**, Fisi V, Szakal AK. Fibroblastic reticular cells of the peripheral lymphoid organs: unique features of a ubiquitous cell type. *Mol Immunol.* 2008 46:1-7. IF: 3,555

3. Balázs M, Horváth G, Grama L, **Balogh P**. Phenotypic identification and development of distinct microvascular compartments in the postnatal mouse spleen. *Cell Immunol.* 2001 212:126-37. IF: 2,604

4. Kellermayer Z, Hayasaka H, Kajtár B, Simon D, Robles EF, Martinez-Climent JA, **Balogh P**. Divergence of Vascular Specification in Visceral Lymphoid Organs-Genetic Determinants and Differentiation Checkpoints. *Int Rev Immunol.* 2016 35:489-502. IF: 3,279

5. **Balogh P**, Aydar Y, Tew JG, Szakal AK. Ontogeny of the follicular dendritic cell phenotype and function in the postnatal murine spleen. *Cell Immunol.* 2001 214:45-53. IF: 2,604

6. **Balogh P**, Aydar Y, Tew JG, Szakal AK. Appearance and phenotype of murine follicular dendritic cells expressing VCAM-1. *Anat Rec.* 2002 268:160-8. IF: 1,587

7. Aydar Y, **Balogh P**, Tew JG, Szakal AK. Age-related depression of FDC accessory functions and CD21 ligand-mediated repair of co-stimulation. *Eur J Immunol.* 2002 32:2817-26. IF: 4,832

8. Aydar Y, **Balogh P**, Tew JG, Szakal AK. Altered regulation of Fc gamma RII on aged follicular dendritic cells correlates with immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif signaling in B cells and reduced germinal center formation. *J Immunol*. 2003 171:5975-87.

IF: 6,702

9. Szakal AK, Aydar Y, **Balogh P**, Tew JG. Molecular interactions of FDCs with B cells in aging. *Semin Immunol*. 2002 14:267-74.

IF: 8,705

10. Aydar Y, **Balogh P**, Tew JG, Szakal AK. Follicular dendritic cells in aging, a "bottle-neck" in the humoral immune response. *Ageing Res Rev*. 2004 3:15-29.

IF: 4,953

11. Kellermayer Z, Fisi V, Mihalj M, Berta G, Kóbor J, **Balogh P**. Marginal Zone Macrophage Receptor MARCO Is Trapped in Conduits Formed by Follicular Dendritic Cells in the Spleen. *J Histochem Cytochem*. 2014 62:436-449.

IF: 1,959

12. **Balogh P**, Balázs M, Czömpöly T, Weih DS, Arnold HH, Weih F. Distinct roles of lymphotoxin-beta signaling and the homeodomain transcription factor Nkx2.3 in the ontogeny of endothelial compartments in spleen. *Cell Tissue Res*. 2007 328:473-86.

IF: 2,613

13. Czömpöly T, Lábadi A, Kellermayer Z, Olasz K, Arnold HH, **Balogh P**. Transcription factor Nkx2-3 controls the vascular identity and lymphocyte homing in the spleen. *J Immunol*. 2011 186:6981-9.

IF: 5,788

14. Kellermayer Z, Lábadi A, Czömpöly T, Arnold HH, **Balogh P**. Absence of Nkx2-3 homeodomain transcription factor induces the formation of LYVE-1-positive endothelial cysts without lymphatic commitment in the spleen. *J Histochem Cytochem*. 2011 59:690-700.

IF: 2,725

15. Kellermayer Z, Mihalj M, Lábadi Á, Czömpöly T, Lee M, O'Hara E, Butcher EC, Berta G, Balogh A, Arnold HH, **Balogh P**. Absence of Nkx2-3 homeodomain transcription factor reprograms the endothelial addressin preference for lymphocyte homing in Peyer's patches. *J Immunol*. 2014 193:5284-93. IF: 4,922

16. Kellermayer Z, Vojkovics D, Dakah TA, Bodó K, Botz B, Helyes Z, Berta G, Kajtár B, Schippers A, Wagner N, Scotto L, O'Connor OA, Arnold HH, **Balogh P**. IL-22-Independent Protection from Colitis in the Absence of Nkx2.3 Transcription Factor in Mice. *J Immunol*. 2019 202:1833-1844. IF: 4,718

17. Vojkovics D, Kellermayer Z, Gábris F, Schippers A, Wagner N, Berta G, Farkas K, **Balogh P**. Differential Effects of the Absence of Nkx2-3 and MAdCAM-1 on the Distribution of Intestinal Type 3 Innate Lymphoid Cells and Postnatal SILT Formation in Mice. *Front Immunol*. 2019 10:366-372. IF:4,716

18. Vojkovics D, Kellermayer Z, Kajtár B, Roncador G, Vincze Á, **Balogh P**. Nkx2-3-A Slippery Slope From Development Through Inflammation Toward Hematopoietic Malignancies. *Biomark Insights*. 2018 13:1177271918757480.

19. Robles EF, Mena-Varas M, Barrio L, Merino-Cortes SV, **Balogh P**, Du MQ, Akasaka T, Parker A, Roa S, Panizo C, Martin-Guerrero I, Siebert R, Segura V, Agirre X, Macri-Pellizeri L, Aldaz B, Vilas-Zornoza A, Zhang S, Moody S, Calasanz MJ, Tousseyn T, Broccardo C, Brousset P, Campos-Sanchez E, Cobaleda C, Sanchez-Garcia I, Fernandez-Luna JL, Garcia-Muñoz R, Pena E, Bellosillo B, Salar A, Baptista MJ, Hernandez-Rivas JM, Gonzalez M, Terol

MJ, Climent J, Ferrandez A, Sagaert X, Melnick AM, Prosper F, Oscier DG, Carrasco YR, Dyer MJ, Martinez-Climent JA. Homeobox NKX2-3 promotes marginal-zone lymphomagenesis by activating B-cell receptor signalling and shaping lymphocyte dynamics. Nat Commun. 2016 14 7:11889. IF:12,124

20. Vojkovics D, Kellermayer Z, Heidt D, Mihalj M, Kajtár B, Ernszt D, Kovács T, Németh P, **Balogh P**. Isolation and Characterization of a Murine Spontaneous High-Grade Follicular Lymphoma with Restricted In Vivo Spreading--a Model for Lymphatic Metastasis Via the Mesentery. Pathol Oncol Res. 2016 22:421-30. IF: 1,736

21. Jia X, Gábris F, Jacobsen O, Bedics G, Botz B, Helyes Z, Kellermayer Z, Vojkovics D, Berta G, Nagy N, Jakus Z, **Balogh P**. Foliate lymphoid aggregates as novel forms of serous lymphocyte entry sites of peritoneal B cells and high-grade B-cell lymphomas. J Immunol. 2020 204:23-36.

9.1 A témában megjelent további közlemények

22. Balázs M, Horváth G, **Balogh P**. Simple determination of donor/host origin and donor leukocyte subsets in rat-mouse chimeras. J Immunol Methods. 1998 218:117-21. IF: 1,855

23. Balázs M, Grama L, **Balogh P**. Detection of phenotypic heterogeneity within the murine splenic vasculature using rat monoclonal antibodies IBL-7/1 and IBL-7/22. Hybridoma. 1999 18:177-82. IF: 0,509

24. Czömpöly T, Lábadi A, Balázs M, Németh P, **Balogh P**. Use of cyclic peptide phage display library for the identification of a CD45RC epitope expressed on murine B cells and their precursors. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003 307:791-6. IF: 2,836
25. Mok H, Mendoza M, Prchal JT, **Balogh P**, Schumacher A. Dysregulation of ferroportin 1 interferes with spleen organogenesis in polycythaemia mice. *Development*. 2004 131:4871-81. IF:7,149
26. **Balogh P**, Petz A. Selective binding of biotinylated albumin to the lymphoid microvasculature. *Histochem Cell Biol*. 2005 123:357-63. IF: 2,239
27. Kvell K, Czömpöly T, Pikkarainen T, **Balogh P**. Species-specific restriction of cell surface expression of mouse MARCO glycoprotein in murine cell lines. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006 341:1193-202. IF: 2,855
28. Bovári J, Czömpöly T, Olasz K, Arnold HH, **Balogh P**. Complex organizational defects of fibroblast architecture in the mouse spleen with Nkx2.3 homeodomain deficiency. *Pathol Oncol Res*. 2007 13:227-35. IF: 1,272
29. Lábadi A, **Balogh P**. Differential preferences in serosal homing and distribution of peritoneal B-cell subsets revealed by in situ CFSE labeling. *Int Immunol*. 2009 21:1047-56. IF: 3,403
30. Kvell K, Czömpöly T, Hiripi L, **Balogh P**, Kóbor J, Bodrogi L, Pongrácz JE, Ritchie WA, Bosze Z. Characterisation of eGFP-transgenic BALB/c mouse strain established by lentiviral transgenesis. *Transgenic Res*. 2010 19:105-12. IF: 2,569

31. Mihalj M, Kellermayer Z, **Balogh P**. Follicles in gut-associated lymphoid tissues create preferential survival niches for follicular Th cells escaping Thy-1-specific depletion in mice. *Int Immunol*. 2013 25:423-35. IF: 3,181
32. Novak S, Drenjancevic I, Vukovic R, Kellermayer Z, Cosic A, Tolusic Levak M, **Balogh P**, Culo F, Mihalj M. Anti-Inflammatory Effects of Hyperbaric Oxygenation during DSS-Induced Colitis in BALB/c Mice Include Changes in Gene Expression of HIF-1 α , Proinflammatory Cytokines, and Antioxidative Enzymes. *Mediators Inflamm*. 2016 2016:7141430. IF: 3,232
33. Kellermayer Z, Vojkovics D, **Balogh P**. Innate lymphoid cells and their stromal microenvironments. *Immunol Lett*. 2017 189:3-9. IF: 2,439
34. Kugyelka R, Kohl Z, Olasz K, Prenek L, Berki T, **Balogh P**, Boldizsár F. Correction of T cell deficiency in ZAP-70 knock-out mice by simple intraperitoneal adoptive transfer of thymocytes. *Clin Exp Immunol*. 2018 192:302-314. IF: 3,711
35. Boros É, Kellermayer Z, **Balogh P**, Strifler G, Vörös A, Sarlós P, Vincze Á, Varga C, Nagy I. Elevated Expression of AXL May Contribute to the Epithelial-to-Mesenchymal Transition in Inflammatory Bowel Disease Patients. *Mediators Inflamm*. 2018 2018:3241406. IF: 3,545
36. *Developmental Biology of Peripheral Lymphoid Organs* (2011). Ed. **Balogh P**. Springer-Verlag Berlin Heidelberg ISBN 978-3-642-14429-5

37. **Balogh, P.** Follicular Dendritic Cells Péter Balogh Springer Nature Switzerland AG 2019
D. Gu, M. E. Dupre (eds.), Encyclopedia of Gerontology and Population Aging, DOI:
https://doi.org/10.1007/978-3-319-69892-2_65-1

A témában megjelent közlemények összesített impakt faktora: 123,428

9.2 Tudománymetria adatok

Tudományos folyóiratcikkek száma: 60

Könyvfejezetek száma: 9

Könyv (szerkesztés): 1

Összesített impakt faktor: 165,15

Első és utolsó szerzős közlemények impakt faktora: 91,50

Utolsó 10 év teljes lektorált közlemények száma: 29

Impakt faktora: 92,51

Összes hivatkozások száma: 770

Független hivatkozások száma: 567

Hirsch index: 15

MTMT közlemény és idéző összefoglaló táblázat				
Balogh Péter adatai (2019.12.07)				
Közlemény típusok	Szám		Hivatkozások ¹	
Teljes tudományos közlemények ²	Összes	Részletezve	Független	Összes
I. Tudományos folyóiratcikk	<u>60</u>	---	---	---
nemzetközi szakfolyóiratban	---	<u>53</u>	<u>490</u>	<u>682</u>
hazai kiadású szakfolyóiratban idegen nyelven	---	<u>1</u>	<u>1</u>	<u>2</u>
hazai kiadású szakfolyóiratban magyar nyelven	---	<u>6</u>	<u>6</u>	<u>8</u>
II. Könyvek	<u>1</u>	---	---	---
a) Könyv, szerzőként	0	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	0	0
magyar nyelvű	---	0	0	0
b) Könyv, szerkesztőként	<u>1</u>	---	---	---
idegen nyelvű	---	<u>1</u>	³ ---	---
magyar nyelvű	---	0	---	---
III. Könyvrészlet	<u>9</u>	---	---	---
idegen nyelvű	---	<u>7</u>	<u>1</u>	<u>3</u>
magyar nyelvű	---	<u>2</u>	0	0
IV. Konferenciaközlemény folyóiratban vagy konferenciakötetben	<u>1</u>	---	---	---
idegen nyelvű	---	<u>1</u>	<u>3</u>	<u>7</u>
magyar nyelvű	---	0	0	0
Tudományos közlemények összesen (I.-IV.)	<u>71</u>	---	<u>501</u>	<u>702</u>
További tudományos művek⁴	---	<u>6</u>	0	0
Idézetek száma⁵	---	---	<u>501</u>	<u>702</u>
Hirsch index⁵	<u>15</u>	---	---	---
Oktatási művek				
Felsőoktatási tankönyv	0	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	0	0
magyar nyelvű	---	0	0	0
Felsőoktatási tankönyv része idegen nyelven	---	0	0	0
Felsőoktatási tankönyv része magyar nyelven	---	0	0	0
További oktatási művek	0	---	0	0
Olthalmi formák	<u>1</u>	---	0	0
Alkotás	0	---	0	0
Ismeretterjesztő művek				
Könyvek	0	---	0	0
További ismeretterjesztő művek	0	---	0	0

Közérdekű és nem besorolt művek	0	---	0	0
Absztrakt	<u>16</u>	---	0	0
Egyéb szerzőség	0	---	0	0
Idézők szerkesztett művekre	---	---	0	0
Idézők disszertációban, egyéb típusban	---	---	<u>66</u>	<u>68</u>
Összes közlemény és összes idézőik	<u>94</u>	---	<u>567</u>	<u>770</u>
Megjegyzések				
A táblázat számai hivatkozások is. A számra kattintva a program listázza azokat a műveket, amelyeket a cellában összeszámlált.				
--- : Nem kitölthető cella				
¹ A hivatkozások a disszertáció és egyéb típusú idézők nélkül számolva. A disszertáció és egyéb típusú idézők összesítve a táblázat végén található.				
² Teljes tudományos közlemény ebben az adatbázisban: - Folyóiratcikk : szakcikk/tanulmány, összefoglaló cikk, rövid közlemény, sokszerzős vagy csoportos szerzőségű közlemény, forráskiadás, recenzió/kritika, műkritika, esszé - Könyv: szakkönyv, monográfia, kézikönyv, tanulmánykötet, forráskiadás, kritikai kiadás, műhelytanulmány, atlasz - Könyvrészlet: szaktanulmány, fejezet, esszé, forráskiadás, recenzió/kritika, műkritika, műtárgyleírás, térkép, műhelytanulmány része - Konferenciaközlemény: folyóiratban, könyvben, egyéb konferenciakötetben megjelent legalább 3 oldal terjedelemben - Oltalmi formák: szabadalmak, mintaoltalmak (részletek)				
³ Szerkesztőként nem részesedik a könyv idézéséből				
⁴ Ide értve a teljes közlemények listájában nem szereplő publikációkat, a nem ismert lektoráltságú folyóiratokban megjelent műveket és minden olyan tudományos művet, amely a táblázat más, nevesített soraiban nem került összeszámlálásra.				
⁵ A disszertációk és egyéb típusú idézők nélkül számolva (részletek) A sor értéke a "Tudományos közlemények összesen (I.-IV.)", a "További tudományos művek" és az "Absztrakt" sorok idézettség értékeit összegzi.				

Speciális tudományometriai adatok	Adat
Első szerzős folyóiratcikkek száma (az összes %-ban)	<u>13</u> (21,67%)
Utolsó szerzős tudományos cikkek száma (az összes %-ban)	<u>20</u> (33,33%)
Magyar nyelven megjelent tudományos teljes folyóiratcikkek száma	<u>6</u>
Az utolsó 10 év tudományos, teljes, lektorált folyóiratcikkeinek száma	<u>29</u>
Folyóiratcikkek 15-nél több szerzővel	<u>2</u>

2019. dec. 7. 10:39

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Az értekezésben bemutatott eredmények csak része mindannak a fáradozásnak, küzdelemnek, örömmek és kudarcnak, ami nélkül sem erőm, sem lehetőségem nem lett volna akár csak a munka elkezdésére, sikerben az öröm megosztására, kudarcban az erőgyűjtésre és újrakezdésre. Ehhez a legnagyobb biztonságot, szeretetet, türelmet és megértést a feleségemtől, Andreától és gyermekeimtől, Orsolyától és Bendegúztól kaptam, akik leginkább megszenvedhették a hazavitt gondjaimat és a tőlük elvett időt.

Egykori TDK-s hallgatóként a POTE Kórbonctani Intézetében hajdani témavezetőmnek és hosszú ideig munkahelyi vezetőmnek, Dr. Németh Péternek majd Dr. Szekeres Györgynek és munkatársaiknak, Melczer Juditnak és Pápa Marikának (†) köszönöm meg, hogy lehetőséget adtak a munkámhoz, és elviselték kezdeti botladozásaimat.

Külföldi munkahelyeimen vezetőim, a University of Oxford, Sir William Dunn School of Pathology intézetben Dr. Simon V. Hunt (a British Council és a Sir Penley Abraham Foundation támogatásával), később Richmondban a Virginia Commonwealth University, Department of Anatomy immunológiai kutatócsoportjában Dr. Andras K. Szakal (Szakál András) segítettek hozzá, hogy immunológiai ismereteimet új tudással bővíthessem.

A legnagyobb kutatói segítséget azon fiatalok fáradhatatlan hozzájárulása nyújtotta, akiket TDK hallgatóként és később PhD hallgatóként mentorálhattam – Dr. Balázs Mercédesz, Dr. Kvell Krisztián, Dr. Lábadi Árpád, Dr. Vojkovics Dóra, Dr. Martina Mihalj és különösen Dr. Kellermayer Zoltán, akit a tudomány iránti elkötelezettségével, kitartó munkájával és önzetlenségével, ugyanakkor nyitott és kritikus szemléletével a hazai immunológiai kutatás egyik legígéretesebb személyiségének tartok. Együttműködő partnereim közül szintén szeretném megköszönni Dr. Czömpöly Tamásnak, hogy a molekuláris biológiai módszertanban való kiemelkedő felkészültségével alapos és értékes segítséget nyújtott a munkámban. A kutatásaimban nyújtott segítségükért a PTE KK Immunológiai és Biotechnológiai Intézet minden munkatársának tartozom köszönettel.

A kutatásaimat az OTKA ifjúsági (#F016695 és #F023567) és kutatói (#K108429 és #K128322) támogatásai valamint az ETT és a Broad Medical Foundation (#IBD-0341) támogatása tették lehetővé.