

Prof. Dr. Pongrácz Judit bírálataira adott válaszok

Szeretném megköszönni Dr. Pongrácz Judit Professzor Asszonynak, hogy időt szakított dolgozatom bírálataira. Hálásan köszönöm kritikai megjegyzéseit és elgondolkodtató kérdéseit.

Alacsony IgG2a/IgG1 arányt mértek a fertőzést követően, ezzel szemben magasabb IgG2a/IgG1 arányt a reinfekciók után és megállapították, hogy ez a primer fertőzés és a reinfekció elkülönítéséhez hasznos markerként szolgálhat. Hogyan állapítható meg az, hogy mit tekinthetünk alacsony vagy magas IgG2a/IgG1 aránynak emberben, amely klinikai szempontból is hasznosítható információval szolgálhat?

C. pneumoniae reinfekciós egérkísérletünk egyik célja volt olyan eltérést, markert találni, ami segít megkülönböztetni a primer fertőzést az esetleges reinfekcióktól, melyek a *C. pneumoniae* fertőzés esetén előfordulhatnak. Az IgM kimutatása, mely tipikusan az akut fertőzés jele nem megfelelő, mivel a fertőzést követően sokáig perzisztálhat és a reinfekció után is megjelenik. Az egérkísérleteink során szignifikánsan megemelkedett az IgG2a/IgG1 arány a reinfekciók során a kontrollként alkalmazott egyszer fertőzött egerekben tapasztaltakhoz viszonyítva. Ez alapján gondoltuk, hogy ennek az aránynak az alkalmazása segíthet annak eldöntésében, hogy primer fertőzéssel vagy reinfekcióval állunk szemben, és felvetettük esetleges alkalmazását a humán diagnosztikában, de ezt kísérletileg nem igazoltuk. A humán és az egér genom közötti több mint 90%-os hasonlóság ellenére vannak különbségek. Az egyik fontos eltérés az Ig-k tekintetében van. Az egerek IgA-t, IgD-t, IgE-t, IgM-et, valamint négy IgG altípust termelnek: IgG1, IgG2a, IgG2b és IgG3. Különösen érdekes, hogy a C57BL/6, C57BL/10, SJL és NOD egértörzsek nem termelnek IgG2a-t, ehelyett ezek az egértörzsek az IgG2c-t expresszálják. Ezzel szemben az emberek két IgA altípust, valamint egy-egy formát az IgD-ből, IgE-ből és IgM-ből termelnek. Az emberben négy IgG altípus található: IgG1, IgG2, IgG3 és IgG4; azonban ezek nem közvetlenül homológjai az egérben található fehérjéknek¹. Az emberben a számozás a szérumban található mennyiség alapján történt (IgG1: 66%, IgG2: 23%, IgG3: 7%, IgG4: 4%). A szubtypusok különböznek a biológiai funkcióikban és azokban a specifikus immunválaszokban, amelyeket elősegítenek. Az egerekben az IgG1 főként Th2 típusú immunválasz során termelődik, amely allergiás reakciókban és parazitás fertőzések elleni védekezésben vesz részt. Az IgG1 hatékonyan köti az Fc receptorokat, ami fontos a patogének opszonizációjában és eltávolításában. Az IgG2a az egér legerősebb komplement aktiváló alosztálya, és főleg Th1 típusú válaszok során termelődik, amelyek vírusok, intracelluláris baktériumok (mint a chlamydiák) és más intracelluláris kórokozók elleni védekezésben kulcsfontosságúak. Különösen hatékony a sejtek által közvetített citotoxicitásban és a fagocitózis elősegítésében. Az IgG2b is részt vesz a komplement rendszer aktiválásában, bár kevésbé hatékony ebben, mint az IgG2a. Szerepe lehet a krónikus fertőzések és bizonyos típusú antigénekkal szembeni válaszokban. Az IgG3 a legnagyobb méretű egér IgG alosztály, és jelentős szerepet játszik a vírusokkal és más nagy molekulájú antigénekkal szembeni elsődleges immunválaszokban. Az IgG3 jellemzője a magas affinitású Fc receptorokhoz való kötődés, ami erősíti az antitest-függő sejtes citotoxicitást (ADCC). Emberben az IgG1 a legnagyobb mennyiségben, előforduló IgG alosztály a szérumban, a teljes IgG-tartalom mintegy 60-70%-át teszi ki. Különösen hatékony a bakteriális toxinok és fehérjék elleni védekezésben, mivel képes aktiválni a komplement rendszert

és erősen köt az Fc γ receptorokhoz. Fontos szerepet játszik a vírusok és baktériumok elleni adaptív immunválaszokban. Az IgG2 főként poliszacharid antigénekre válaszol, mint amilyeneket bizonyos tokos baktériumok, pl. a *Streptococcus pneumoniae* és a *Haemophilus influenzae* B produkál. Az IgG2 különösen fontos a gyermekkorban a tokos baktériumok okozta fertőzésekkel szembeni védekezésben. Az IgG3 a legerősebb komplement aktiváló képességgel rendelkezik az összes IgG alosztály közül, ami kiemelkedővé teszi a patogének eliminálásában. Azonban ez az alosztály viszonylag rövid felezési idővel rendelkezik a vérben (7 nap, szemben a többi IgG alosztállyal, melyek 21 napos felezési idejűek). Hatékony az antitest-függő celluláris citotoxicitás elősegítésében is. Az IgG4 a legkisebb mennyiségben termelődő IgG alosztály, a teljes IgG tartalom körülbelül 1-4%-át teszi ki. Gyakran asszociál allergénekkal szembeni expozícióval, és úgy gondolják, hogy szabályozó szerepet játszik a túlérzékenységi reakciókban. Különleges tulajdonsága, hogy képes "half-antibody exchange"-re, amelynek során két IgG4 molekula Fc részei cserélődnek, ami bispecifikus antitesteket eredményez². A fentiek alapján kitűnik az, hogy a humán és az egér IgG szubtypusok biológiai funkciók alapján nehezen feleltethetők meg egymásnak, így nem lehet megmondani, hogy az egérben talált magasabb IgG2a/IgG1 aránynak mi felel meg az emberben. Kevés irodalmi adat van az IgG szubtypusok tekintetében chlamydia fertőzések során. Az IgG alosztály-specifikus antitesteket a *C. pneumoniae* és a chlamydiális LPS ellen 15 primer *C. pneumoniae* pneumoniás, valamint 16, újr fertőződött pneumoniás beteg, továbbá 40 olyan személynél, akiknél lehetséges krónikus *C. pneumoniae* fertőzés állt fenn, és 40 egészséges kontroll esetében vizsgálták a cikkünk megjelenése után. A teljes IgG-t, IgM-et és IgG alosztály-specifikus antitesteket a *C. pneumoniae* fehérje antigénjeire a mikroimmunfluoreszcens (MIF) módszerrel mérték, míg az LPS antigén elleni antitesteket enzim immunoassay (EIA) eljárással. A MIF teszt szerint a *C. pneumoniae* ellen mind a 3 betegcsoportban minden egyénben kimutathatók voltak az IgG1 antitestek. IgG2 alosztály antitesteket nem tudták detektálni MIF teszttel. Az IgG3 antitesteket a primer fertőzésben szenvedő betegek 40%-ánál, az újr fertőzöttek 31%-ánál, a krónikus fertőzésben szenvedők 25%-nál mutatták ki. Az IgG4 antitestek az akut *C. pneumoniae* fertőzéssel társultak, és az elsődleges fertőzések 13%-ában, valamint az újr fertőzések 31%-ában találták meg. Az LPS elleni antitestek alosztály mintázata hasonlított a MIF-fel mért fehérje antitestekéhez: az IgG1 volt a leggyakoribb alosztály az LPS elleni antitestek között³. Ezeket az adatokat figyelembe véve talán az IgG1/IgG3 arány feleltethető meg az egérben általunk találtakkal, de ennek bizonyítása újabb kísérleteket igényel. Egy másik csoport felhívta a figyelmet arra, hogy a fertőzés során kialakuló IgG ellenanyagválasz függhet a behatolási kaputól is. A céljuk az volt, hogy összehasonlítsák a különféle antigénekre, amelyek vírusból, intra- és extracelluláris baktériumokból származtak, adott specifikus antitest válasz IgG alosztály profiljait. 162 dán nő szérummintáit elemezték IgG1, IgG2, IgG3 és IgG4 antitestek szempontjából a *C. trachomatis* fő külső membrán proteinjének (MOMP) egy peptidje, a *C. pneumoniae* natív külső membrán fehérjéi, a *Mycoplasma pneumoniae* rekombináns membrán fehérjéi, a rekombináns parvovírus B19 kapszomerei (VP1 és VP2) és a *Streptococcus pneumoniae* (pneumococcus) C-poliszacharidja ellen. A vírusokra és bakteriális fehérje antigénekre specifikus antitestek főként az IgG1 és IgG3 alosztályokhoz tartoztak, míg a pneumococcus C-poliszacharidjára specifikus antitestprofilját az IgG2 alosztály dominálta. A légzőszerveken keresztül a szervezetbe belépő vírusokra, intra- és extracelluláris baktériumokra adott antitest válasz elsősorban IgG1 választ váltott ki. Ezzel szemben a *C. trachomatis* MOMP-jára specifikus antitestek, amely a húgyivarrendszert traktust

fertőzi meg, főként IgG3 alosztályhoz tartoztak. Eredményeik azt mutatták, hogy az antigén természete és/vagy a kolonizáció vagy fertőzés helye hatással van arra, hogy egy mikroorganizmus milyen típusú IgG alosztály választ vált ki⁴.

Ahhoz, hogy megállapíthassuk, hogy milyen IgG alosztály mintázat felelne meg az emberben az egerben mért magas IgG2a/IgG1 aránynak, meg kellene határozni a primer és a reinfekciók során kialakuló IgG alosztály mintázatot. Az akut szakaszban IgM pozitív és IgG negatív vagy alacsony IgG szintű embereket definiálhatunk primer fertőzöttként, ezt követően a konvaleszcens savóban kellene alosztályokat mérni, mind a 4-et. A reinfekcióra utalhat már az akut szakaszban magas IgG szint. Ezekben a betegekben is meg kellene határozni az alosztályokat a gyógyuláskor. Ezután lehetne megkeresni a két csoport közötti IgG alosztály mintázatbeli különbséget. A megfelelő alosztályok segítségével aránypárt kellene számolni, majd megállapítani a cut off értéket a primer fertőzésen átesett betegek mintáiból. Ha a későbbi elemzések során mért értékek ettől magasabbak, akkor az reinfekcióra utalhat.

Az egerben végzett in vivo immunológiai vizsgálatok eredményei mennyire korrelálthatók a humán immunválaszokkal chlamydia fertőzés esetén?

A különböző eger modellek használata az emberi betegségek tanulmányozására rendkívül elterjedt, genetikai hasonlóságuk valamint nagy reprodukciós kapacitásuk miatt. Az egerek közelebb állnak genetikailag az emberekhez mint gondolnánk, eredetünk egy körülbelül 65-75 millió évvel ezelőtti közös ősrre vezethető vissza⁵. A genetikai feltérképezés, a genom szekvenálás, a génmanipulációs eljárások felgyorsították az egerek alkalmazását az emberi betegségek és az immunológia vizsgálatában. Az egerek és az emberek több mint 90 százalékban azonos génekkel rendelkeznek. Mivel minden emlős genetikai tartalma nagymértékben homológ, az emberekben történő géntérképezés gyakran megjósolható az egerekben⁶. A genetikai állomány mellett azonban az egerek életmódbeli, környezeti, életkori és mikrobiomhoz köthető tényezői is nagyban befolyásolják a fertőzésre kialakult immunválaszokat. Bár vannak különbségek az emberi és az eger immunrendszer között, számos alapvető hasonlóság is fennáll, ami miatt az egereket gyakran használják modellként az immunológiai kutatásokban, fertőzések modellezésében. Ezek a hasonlóságok 5 nagyobb csoportba sorolhatók:

1.) Immunsejtek: Mind az egerek, mind az emberek rendelkeznek a főbb immunsejt típusokkal, mint például T-sejtek, B-sejtek, macrophágok, dendritikus sejtek, NK sejtek, és ezek alapvető funkciói hasonlóak a két fajban. Viszont nagy különbségek vannak a neutrophil granulocytá és a lymphocytá számok tekintetében egerben és emberben¹.

2.) Immunrendszeri folyamatok: Az adaptív és veleszületett immunrendszeri folyamatok, mint az antigén felismerés, a sejtek aktiválódása és a különböző immunválaszok kiváltódása, mindkét fajban jelen vannak és alapvetően hasonló módon működnek. Viszont kiemelendő, hogy az egerek jelentős mértékű BALT szövettel rendelkeznek, ami azt jelzi, hogy valószínűleg nagy antigén terhelésnek vannak kitéve, mely vélhetően abból ered, hogy sokkal közelebb élnek a földhöz.

Fontos különbség még, hogy egérben a macrophágok nem fejeznek ki CD4-et, valamint a mucosalis szövetekben és a bőrben a T sejtek főleg $\gamma\delta$ T sejtek, míg az emberben $\alpha\beta$ T sejtek vannak^{1,7}.

3.) Immunfehérjék: A citokinek, kemokinek, immunoglobulinok, Ig receptorok és egyéb fehérjék, amelyek az immunválaszban részt vesznek, mind az egerekben, mind az emberekben megtalálhatók, bár a specifikus funkciók és a kifejeződési minták eltérhetnek. Viszont több különbség van az FcR kifejeződésében az egerek és az emberek között. Az emberekben az FcRI (CD89) fontos IgA receptor, melyet neutrophil sejtek, eosinophil sejtek, monocyták/macrophágok, dendritikus sejtek és Kupfer sejtek expresszálnak⁸. Az egerekben hiányzik az FcRI, és feltételezhetően alternatív receptorokat használnak, például az Fc/R-t, a transferrin receptort (CD71) és a polimerikus IgR-t, amely IgM-et is képes kötni. Az embereknek két olyan IgG receptoruk van, amely nem található az egerekben: az FcRIIA és az FcRIIC⁹. Az adaptív immunválasz tekintetében fontos különbség még, hogy eltérő IgG szubtypusokkal rendelkeznek az egerek¹.

4.) Antigén prezentáció: Az antigének feldolgozása és bemutatása a T-sejteknek az MHC molekulákon keresztül mindkét fajban kulcsfontosságú, és hasonló mechanizmusokon alapszik.

5.) Immunmemória: Mind az egerek, mind az emberek képesek immunmemóriát kialakítani, ami lehetővé teszi számukra, hogy gyorsabb és erősebb választ adjanak a korábban már felismert fertőzésre¹.

A genetikai adottságok mellett az egerek, csakúgy, mint az emberek esetében, a megváltozott mikrobiom valamint a krónikus és akut kórokozók okozta fertőzések megváltoztatják az immunválaszt. Egy a Nature-ben megjelent tanulmány alapján azon laboratóriumi egerek, amelyek többféle kórokozóval voltak fertőzve, az emberekéhez hasonló válaszokat produkáltak. A tanulmány összehasonlította SPF (specific pathogen-free) létesítményből származó laboratóriumi egerek immunválaszát olyan egerekével, amelyeket a vadonban fogtak be, vagy kisállat-kereskedésből vásároltak. Míg a laboratóriumi egereknek nincsenek differenciált memória T-sejtjeik, a vadon élő és kisállat-kereskedésből származó egereknek sokkal több differenciált memória T-sejtjük van a nyirok- és nem nyirokrendszerben, hasonlóan a felnőtt emberekéhez. Ráadásul a kisállat-kereskedésből származó egerekben megfigyelt T-sejt fenotípus átadható volt a laboratóriumi egereknek közös tartás útján, ami arra utal, hogy egy átvihető ágens befolyásolja a T-sejtek differenciációs állapotát. A kisállat-kereskedésből származó és közös tartású laboratóriumi egerek számos kórokozóra adtak immunválaszt szerológiai vizsgálatok szerint, ami arra utal, hogy a T-sejt fenotípus változásai és a mortalitás valószínűleg a kórokozó-expozíciónak köszönhető¹⁰. A szerzők összehasonlították továbbá a kiskereskedésből és laboratóriumi egerekből származó perifériás vér mononukleáris sejtjeinek (PBMC-k) génexpressziós adatait az emberi köldökzsinór-vér PBMC-inek és a felnőtt PBMC-inek expressziós mintázatával. A laboratóriumi egerek immunrendszere inkább az újszülöttek (humán) immunrendszeréhez hasonlított, alacsonyabb veleszületett immunaktivitással és több naiv lymphocytával. Ezzel szemben a különböző mikrobiális expozíciónak kitett egerekben fokozódott azon gének expressziója amelyek IFN jelátviteli utak aktiválódására és effektor/memória lymphocytá jelenlétére utalnak, ilyen módon inkább hasonló a felnőtt emberekéhez. Az adatok azt mutatják, hogy a különböző

környezeti expozícióval rendelkező egerek érettebb immunválasszal rendelkeznek, hasonlóan a felnőtt emberekhez, míg a laboratóriumi egereknek éretlen vagy újszülött jellegű immunrendszerük van. Egy másik tanulmány közvetlenül vizsgálta, hogy a kórokozó-expozíció megváltoztatja-e az immunrendszer alapállapotát. Laboratóriumi egereket egymás után fertőztek meg három krónikus betegséget okozó patogénnel és egy akut betegséget okozó kórokozóval, majd összehasonlították őket az azonos korú egerekkel, melyek csak mock fertőzésben részesültek. Az adatok arra utalnak, hogy a különböző mikrobiális expozíció megváltoztatja mind a veleszületett, mind az adaptív immunrendszer útvonalait, valamint, hogy a laboratóriumi egereket több kórokozóval megfertőzve reprodukálható a kisállat-kereskedésből származó egerekben talált mikrobiális expozíció és immunválasszal¹¹.

Ha figyelembe vesszük azt, hogy egy ember élete során sokféle fertőzésen esik át, és összehasonlítjuk ezt a laboratóriumi egerek fertőzés-történetével, nyilvánvalóvá válik, hogy a kísérleti egerek ultra-higiénikus környezete nem tükrözi vissza az emberek környezeti expozícióit. Az előbb említett csoportok munkája azt bizonyította, hogy az infektív előzmények megváltoztatják az egér immunrendszerét és válaszát a további fertőzésekre, így akár chlamydia fertőzésekre is. Ráadásul az egér fertőzési expozíciójának növelése javíthatja az egér és a felnőtt ember immunválassza közötti korrelációt, mely alapján az egér továbbra is megfelelő modellként szolgálhat az emberek fertőző betegségeinek modellezéséhez¹².

Azzal kapcsolatban, hogy az egerek chlamydia fertőzése során kialakult immunválasszal mennyire korreláltatható a humán fertőzésekben tapasztalt immunválasszal kevés adat áll rendelkezésre. Egyrészt néhány régebbi, empirikus alapokon nyugvó chlamydia modelleket tárgyaló cikkekre, másrészt a később megjelenő az egér és az ember immunológiáját szisztematikusan összehasonlító közleményekre lehet támaszkodni. Ez utóbbi cikkekből kiválogatva azon sejteket, receptorokat, citokineket, jelátviteli utakat stb., amelyek szerepet játszhatnak a chlamydia fertőzésekben juthatunk következtetésekre az esetleges azonosságok alapján, de akkor még nem számoltunk a redundáns mechanizmusok előfordulásával. A *C. trachomatis* genitális modell esetén további tényező bonyolítja az összehasonlítást, amikor is a kutatók még egy „csavart” visznek a rendszerbe és a *C. trachomatis* helyett egy egér chlamydiával, a *C. muridarum*mal modellezik a humán fertőzést egérben. A genetikai hasonlóságon túlmenően, a *C. muridarum* okozta genitális fertőzés utánozza a *C. trachomatis* fertőzés nőkben okozta kórképet. A *C. muridarum* intravaginális inokulációja a vaginális és a cervicális epithelsejtek önlimitáló fertőzését eredményezi, mely a későbbiek során a hámréteg felületén terjedve felszálló fertőzést okozhat az uterus szarvában, valamint a petevezetőben¹³. A gyógyulás kb. 4 hetet vesz igénybe, és hosszú távú adaptív immunitást eredményez, mely többnyire védő hatású az ismételt fertőzésekkel szemben¹⁴. A hisztopatológiai vizsgálatok alapján a korai fertőzést a polimorfonukleáris sejtek uralják. Az akut fertőzés után ezen sejtek kicserélődnek macrophágokra, B-sejtekre CD4⁺ és CD8⁺ T-lymphocytákra. A CD4⁺ T-sejtek jelen maradnak a fertőzés késői szakaszában, majd a fertőzés felszámolását követően is, sokszor kis aggregátumokat alkotva a genitális submucosában¹⁵. A gyógyulást követően az egerek 60%-a rezisztenssé válik ugyanazzal a törzzsel kiváltott reinfekcióval szemben. Azok az egerek is, amelyek érzékenyek maradnak a fertőzésre, sokkal hamarabb képesek felépülni, és a visszatenyészhető baktériumok száma is sokkal kevesebb bennük, mint a primer fertőzés során¹⁶. Ahogy a humán fertőzésekben, az egerekben is

megfigyelhető a fertőzést követő kései szövődmény, az infertilitás, ami megerősíti a *C. muridarum* szerepét a genitális fertőzések modellezésében¹⁷. Néhány egértörzs nagyobb hajlamot mutat a hydrosalpinx kialakulására, valamint nagyobb számban ürítik a kórokozót, de más tekintetben a fertőzés általában hasonló képet mutat. Ezzel ellentétben a humán patogén *C. trachomatis* okozta fertőzés kimenetele nagymértékben függ az alkalmazott egértörzstől. A C57BL/6N és C57BL/10 egerek nagyfokú rezisztenciát mutatnak, még akkor is, ha nagy a fertőző dózis. A kialakult klinikai képre jellemző az alacsony számú baktériumürítés, minimális gyulladás, nem jellemző a hydrosalpinx kialakulása, és a reinfekciók során csak néhány napig lehet kimutatni a kórokozót^{17,18}. A CH3 egerek viszont lényegesen érzékenyebbek a *C. trachomatis* okozta fertőzésre. A fertőzést követően ezen egerekben a *C. trachomatis* 2-5 hétig lehet jelen¹⁹. Amennyiben az állatokat intravaginálisan fertőzik *C. trachomatisszal*, ritkán alakul ki kései szövődmény pl. hydrosalpinx. Ezen szövődmény kifejlődése akkor valószínű, ha az uterus szarvába vagy a petefészek burzába direkt inokulálással történik a fertőzés²⁰. Erős adaptív immunválasz alakul ki *C. trachomatis* fertőzés során²¹, de ezek a fertőzések az adaptív immunitás hiányában is meggyógyulnak²², ami arra utal, hogy a természetes immunválasz egyedül is képes a fertőzés legyőzésére. Az a tény, hogy a *C. trachomatis* fertőzést a természetes immunitás képes felszámolni, önmagában nem jelenti azt, hogy haszontalanok lennének a *C. trachomatis* szerovariánsokkal létrehozott genitális fertőzések modellek és a vakcina fejlesztések. A rendelkezésre álló tudás a humán genitális fertőzések természetes lefolyásáról és a protektív válaszról hiányos, mivel a betegség diagnózisa azonnali, kötelező kezelést parancsol. Napjainkban még nem áll rendelkezésre olyan állatmodell, amely tökéletesen utánozná a humán fertőzés klinikai képét. Különösen nagy jelentősége van ennek a védőoltás fejlesztése során. A *C. trachomatisszal* végzett vakcina kísérletek azt mutatják, hogy a kialakult adaptív immunválasz bizonyos fokú védelmet biztosít a fertőzéssel szemben, ami alátámasztja a *C. trachomatis* használatát egerekben vakcina kísérletek során²³. Mivel a *C. trachomatis* fertőzés felszámolására az egerekben a természetes immunitás önmagában is képes²², elengedhetetlen, hogy az összes vakcinálási tanulmány alkalmazzon a protektív természetes immunválasz kimutatására kontrollokat. A *C. trachomatisszal* ellentétben a *C. muridarum* okozta genitális fertőzés leküzdése, valamint a védelem kialakulása az ismételt fertőzésekkel szemben az egerekben teljes mértékben az adaptív immunválasztól függ. Ezért a *C. muridarum* genitális fertőzések modell alkalmasabbnak tűnik az adaptív immunválasz tanulmányozására a vakcina fejlesztések során.

A humán és egér *C. pneumoniae* fertőzés hatására kialakuló immunválasz korrelációjáról nem érhetőek el tudományos közlemények. A megfelelő egérmodell kiválasztásával kapcsolatban hasonló probléma ez esetben is fennáll, mint a *C. trachomatis* kapcsán. A *C. muridarum* hasonló légúti fertőzést okoz egérben, mint a *C. pneumoniae* emberben, ezért sokan ezt használják kísérleteik során. Annak köszönhetően, hogy a *C. muridarum* egy egérpatogén kórokozó az egerek sokkal érzékenyebbek a fertőzésre, ami azt jelenti, hogy 1000-2000 chlamydia elemi test elegendő egy súlyos pneumonia kialakítására bennük, és ezen mennyiség duplája már a halálos dózist jelenti számukra. Ha *C. pneumoniae*t használunk a modellünkben, legalább 10^5 elemi test szükséges a pneumonia kiváltására, ahogy azt a kísérleteink során mi is tapasztaltuk. A humán és az egér szerzett és adaptív immunválasz közötti diszkrepanciák közül néhányat elemezve, a következők valószínűleg befolyásolhatják a *C. pneumoniae* fertőzésre kialakult immunválaszt. Talán az első és legszembetűnőbb különbség az, hogy az egerekben és az emberben nagyon eltér a perifériás

vér granulocytá és lymphocytá aránya. Az egerekben a keringő vér sejtés elemeinek a 75-90%-a lymphocytá, míg csak 10-25%-ot tesznek ki a neutrophil granulocyták. Ezzel szemben a humán keringésben a neutrophil granulocyták aránya elérí az 50-70%-ot¹. Az elérhető irodalmi adatok alapján nem tudni, hogy mi a következménye ennek az eltérésnek, ha egyáltalán van. Humán *C. pneumoniae* fertőzés során nem tanulmányozták a bronchoalveoláris lavage (BAL) neutrophil granulocytá számát, de egy közeli tüdőpatogén, a *Chlamydia psittaci* esetén igen. Egy kínai csoport vizsgálta három súlyos *C. psittaci* fertőzésben szenvedő beteg BAL-ját és azt tapasztalta, hogy a BAL-ban a neutrophil sejtek mennyisége emelkedett és elérte a 85.2%-94.6%-ot míg a lymphocyták száma csökkent, és a BAL sejtés állományának csak a 3.2%-7.7%-át tették ki²⁴. A saját egér kísérletünkben amikor is *C. pneumoniae*val fertőztünk Balb/c egereket a fertőzés első napjaiban az egerek BAL-jában szignifikánsan emelkedett neutrophil granulocytá számot mértünk, ami a humán fertőzéssel egybevág. Lehet, hogy az egerek neutrophil és lymphocytá aránya más, mint az ember esetén, de valahogy másként, intenzívebben redistributálnak a fertőzés területére, és így a nem halálos dózisú chlamydia fertőzést viszonylag könnyen eliminálják. Már korábban említésre került, hogy az egerek tüdeje igen gazdag BAL szövetben, talán ennek is köszönhető részben, hogy a chlamydiákat eliminálni tudják. A chlamydiákra kialakuló immunválaszt befolyásolhatják az antimikrobiális peptidok, a defenzinek termelése. A neutrophil sejtek gazdag forrásai a leukocytá defenzineknek az emberekben, de az egerek neutrophil sejtjei nem fejeznek ki defenzinokat²⁵. Ellenben az egér bél Paneth-sejtek 20 féle defenzint fejeznek ki, míg az emberekben csak kettőt, valószínűleg ez a különböző evolúciós nyomást, az élelmiszerfogyasztáson keresztüli mikroorganizmus kitettséggel kapcsolatos eltéréseket tükrözi²⁶. Fontos különbség lehet az is, hogy az embertől eltérően az egér macrophágok nem fejeznek ki CD4-et²⁷, ami talán befolyásolhatja a chlamydia ellenes sejtés immunválaszt, de minden bizonnyal ezt a hiányt az egerek más redundáns utakon pótolják. A TLR receptorok családja nagyon konzervált és leggyakrabban egereken tanulmányozzák, de a fajok között különbségek is léteznek. Például, a TLR2 konstitutív módon kifejeződik az egerek, de nem az emberek thymus és T-sejtjeiben, gyengén expresszálódik az egerek keringő leukocytáiban, hacsak az nem LPS által indukált. A TLR4 kifejeződik az egér izmaiban, májában, veséjében, tüdejében, szívben és lépben, de emberben elsősorban az lépben és perifériás vér leukocytákban azonosítható¹. Mind a TLR2 mind pedig a TLR4 szignálút fontos szerepet játszik a *C. pneumoniae* okozta gyulladás során, tehát az eltérések modifikálhatják az egerekben kialakult immunválaszt. Az egerekben eltérnek az immunoglobulin izotípusok is a humánhoz képest. Az emberben négy IgG-alcsoport cirkulál, azonban ezek nem közvetlen homológjai az egérfehérjéknek, ahogy azt már fentebb említettem¹. A különbségek ellenére mind egérben, mind pedig emberben a *C. pneumoniae* fertőzés során ezeket az immunoglobulinokat detektálni lehet szerológiai módszerekkel. Összegzésként azt lehet mondani, hogy bár vannak különbségek az emberi és az egér immunrendszer között, számos alapvető hasonlóság is fennáll, amelyek miatt az egereket gyakran használják modellként az immunológiai kutatásokban, fertőzések modellezésére, így a chlamydia fajok által okozott fertőzések modellezésére is. Természetesen az állatmodellben leírt eredményeket fenntartással kell kezelni, de jobb híján ezek az egérmodellek segítenek a fertőző ágens hatására kialakuló immunológiai változások megértésében.

Hogyan magyarázható, hogy az IDO anti-mikrobiális hatással rendelkezik, ha a triptofán metabolizmus IDO aktivitás fokozódása következtében tolerogén immunválasz kialakulásához vezethet?

Az indolamin-2,3-dioxigenáz (IDO) enzim kulcsszerepet játszik a triptofán metabolizmusában, melynek aktivitása az immunrendszer működésére is hatással van. Az IDO aktivitásának fokozódása triptofán hiányt okoz a környezetben, ami többféleképpen befolyásolhatja az immunválaszt, és antimikrobiális hatást fejthet ki.

Tolerogén immunválasz

A gyulladás helyszínén felszabaduló IFN-ok több száz gént, úgynevezett IFN-stimulált géneket (ISG-eket) aktiválnak. Történetileg azokra az ISG-kre fókuszáltak a kutatások során, amelyek az immunsejteket aktiválják, hogy immunitást váltsanak ki a fertőzésekkel szemben. Azonban néhány ISG immunregulációs sejteket aktivál a tolerogén, nem pedig immunogén folyamatok elősegítése érdekében. Az IFN-okra adott immunogén és tolerogén válaszok helyi egyensúlya kulcsfontosságú. Az I és II típusú IFN szignálokhoz szükséges IFN válaszselemek, az ISRE és GAS szekvenciák az emlősök IDO1 génjeinek promotereiben helyezkednek el. Bár a legtöbb sejttípus expresszál IFN receptorokat, az IFN-ok csak bizonyos sejttípusokban indukálják az IDO-t. Például a humán és egér dendritikus sejtek (DC-k) bizonyos alcsoportjai képesek IDO-t expresszálni IFN jelenlétében²⁸. A DC-k által kifejezett emelkedett mennyiségű IDO különös jelentőséggel bír, mivel az IDO aktivitás az érett DC-eket tolerogén antigén-prezentáló sejtekké (APCs) alakítja át, amelyek gátolják az effektor T-sejteket, és elősegítik a szabályozó T-sejtek (Tregs) működését, ezáltal elősegítve a toleranciát²⁹. A helyi triptofán hiány, és az immunsuppresszív triptofán katabolitok termelése hozzájárul a tolerogén folyamatokhoz az aminosav elvonásra és az aril-hidrokarbon szignálra érzékeny metabolikus utak aktiválásával. A triptofánhoz való hozzáférés korlátozása aktiválja a riboszómális kinázt, a GCN2-t, amely érzékeli a riboszómákhoz kötődő töltetlen (üres) tRNS-t. Az aminosav elvonására az aktivált GCN2 integrált stresszválaszt (ISR) vált ki, ami CHOP génexpressziót indukál, de a legtöbb géntranszkripciót leállítja, hogy elősegítse a sejt autofágiáját. Az ISR blokkolja a TCR-aktivált T-sejtek sejtciklusba lépését, és aktiválja a nyugvó Foxp3-pozitív szabályozó CD4 T-sejteket (Tregs), hogy elősegítsék a tolerogén válaszokat az immunadjuvánsokból és daganatvakcinákból származó gyulladássos jelekkel szemben³⁰. Az IDO katalizálja az indolgyűrűt tartalmazó vegyületek, beleértve a triptofán és az 5HT-t, oxidatív katabolizmusának kezdeti lépését. Az IDO1 géneket expresszáló sejtek csökkentik a triptofán szintet és bioaktív katabolitokat, úgynevezett kinurenineket (Kyn) állítanak elő. Az IDO-t követő enzimek tovább bontják a Kyn-t, kinurensavat (KA), 3-hidroxi-antranilsavat (HAA), kinolinsavat (QA), niacint és más katabolitokat állítva elő. Az immunsejtek egy része nemcsak a triptofán csökkenését érzékelheti, hanem a katabolitokat, hogy elnyomja a természetes és adaptív immunitást, és elősegítse a tolerogén válaszokat. Például a HAA, a Kyn és a KA gátolják a T-sejtes válaszokat a PDK1-hez (pyruvate dehydrogenase kinase 1) vagy az aril-hidrokarbon receptorokhoz (AhR) kötődve a T-sejtekben, APC-kben vagy más immunsejtekben. Továbbá, a triptofán katabolizmus termékei, beleértve a 3-HAA-t, a 3-hidroxi kynurenint és az l-kynurenint, citotoxikus hatásokkal rendelkeznek a CD3⁺ lymphocytákra, az NK sejtekre és a B-sejtekre²⁹. Fontos, hogy az IDO1 gén transzkripciója nem feltétlenül fokozza az IDO enzim aktivitását a poszttranszlációs szabályozások miatt, mint például a heminhez való korlátozott hozzáférés, ami az IDO enzim ko-

faktora, a helyi redox állapot és a nitrogén-oxid, amely gátolja a hem/O₂ konjugációt, amire szükség van az indol bontásához³¹. Az IDO nem katalitikus szignállal is elősegítheti a toleranciát azáltal, hogy serkenti a DC-k által a TGF- β felszabadulását³². Így az, hogy az IDO aktivitás megnyilvánul-e a gyulladt szövetekben, számos tényezőtől függ, amelyek összekapcsolódnak az IFN-ra adott választ vezérlő biokémiai utak és sejtkölcsönhatások összetettségével.

Összességében elmondható, hogy az IDO által katalizált triptofán lebontás csökkenti a triptofán szintjét a környezetben, ami befolyásolja a T-sejtek működését. A triptofánhiányos környezet és a triptofán lebontása során keletkező metabolitok, valamint az IDO nem katalitikus úton is gátolja a T-sejtek proliferációját és aktivitását, elősegítve ezzel egy tolerogén, vagyis gyulladáscsökkentő és immunsuppresszív immunválasz kialakulását. Ez segíthet megakadályozni az autoimmun reakciókat és a túlzott gyulladással válaszokat.

Antimikrobiális hatás

Ugyanakkor az IDO által előidézett triptofánhiányos környezet antimikrobiális hatással is bírhat. Számos patogén, beleértve bizonyos baktériumokat, vírusokat és parazitákat, számára szükséges a triptofán a szaporodáshoz és túléléshez. A triptofán elérhetőségének csökkentése korlátozhatja ezeknek a mikroorganizmusoknak a növekedését és terjedését. A legtöbb fertőzés gyors IDO kifejeződést indukál, mivel az IFN I indukció egy gyakori veleszületett válasz sok baktérium, vírus, gomba és parazita által okozott fertőzésre. Ez nagyrészt azért van, mert a TLR-ok és a nukleinsav-érzékelők, amelyek felismerik a patogén-asszociált molekuláris mintákat, stimulálják az IFN I termelést a fertőzés helyszínén.

Az első beszámoló az IDO-közvetítette anti-chlamydia hatásról 1986-ban jelent meg egy kísérleti rendszerről, amely *C. psittaci*-t és IFN- γ -stimulált emberi T24 sejteket használt³³. Roshick és mtsai³⁴ leírták a *C. trachomatis* L2 és *C. muridarum* elleni jelentős antibakteriális hatást több emberi sejtben, amit kiegészítő triptofán hozzáadásával blokkolni tudtak. *C. trachomatis* modellt használva továbbá megállapították, hogy az IDO-közvetítette hatások nemcsak gátolták a chlamydia növekedését, hanem részt vehettek a kórokozó perzisztenciájának indukálásában is³⁵. Ezenkívül több csoport is talált IDO-közvetítette antibakteriális hatást a *C. pneumoniae* ellen. Pantoja és mtsai³⁶ megállapították, hogy az IFN- γ -indukálta antibakteriális hatást emberi aorta simaizom-sejtekben az IDO specifikus gátlójával, az 1-metil-triptofánnal blokkolni lehetett. Summersgill és mtsai³⁷ leírták az IDO-függő hatást a *C. pneumoniae* ellen Hep-2 sejtekben, amit triptofán kiegészítéssel meg lehetett szüntetni. A humán sejtekben a *C. trachomatis* ellen főként az IDO aktiválódik, mely a triptofán lebontása következtében – chlamydia triptofánra auxotrof tulajdonsága miatt – a chlamydia éheztetésével, annak pusztulásához vezet. Korábbi munkák azt sugallták, hogy az egerekben, legalábbis *in vitro* körülmények között az IDO nem aktiválódik, helyette az antimikrobiális GTPázok játszanak szerepet a chlamydia elpusztításában³⁸. Saját kísérleteink során az RNS szekvenálás és a qPCR kimutatta, hogy az IDO1 és IDO2 gének is nagymértékben kifejeződnek a fertőzött Balb/c egér tüdőben. A HPLC vizsgálatunk kimutatta chlamydia fertőzött Balb/c egér tüdőben a kinurenint, a triptofán bomlástermékét, ami az IDO1-2 enzimek funkcionális működését igazolta. Az a tény, hogy a C57BL/6 egerek tüdeje is IDO aktivitást mutatott chlamydia fertőzés hatására, alátámasztja azt, hogy a megfigyelt IDO indukció nem egér törzs-specifikus válasz. Az IDO1-2 aktivitás antimikrobiális szerepének tisztázása

céljából a Balb/c egereket 1-MT-vel (ami az IDO1 és az IDO2 korábban leírt inhibitora) kezeltük. Az IDO gátlása azt mutatta, hogy mérsékelt, de szignifikáns, megközelítőleg kétszeres mennyiségű chlamydia IFU tenyésztett vissza az 1-MT-vel kezelt egerekben, jelezve, hogy az IDO aktivitás befolyásolja a *C. muridarum* replikációját *in vivo*. További adatok arra utalnak, hogy a rickettsia, amely szintén obligát intracelluláris baktérium, legalább részben gátolható az IDO által³⁹. Az IDO nemcsak az intracelluláris baktériumok ellen aktív, hanem gátolja az extracelluláris baktériumok, mint a *Staphylococcus aureus*, enterococcusok és a B csoportú streptococcusok növekedését is több humán eredetű sejtvonalban⁴⁰, valamint a *Streptococcus suis* is a sertés plexus choroideus epitheliális sejtjeiben⁴¹. Az IDO gátlása szignifikáns halálozási arányt idézett elő a *Toxoplasma gondii* parazitával fertőzött egereknél, összhangban korábbi munkákkal, amelyek azt mutatták, hogy az IDO hozzájárul a gazda veleszületett ellenállásához egyes kórokozókval szemben. Az IDO eltérő antimikrobiális szerepét viszont jól tükrözi az a tény, hogy néhány, krónikus fertőzéseket okozó kórokozó kihasználhatja a Kyn útvonalat, hogy elősegítse a perzisztenciáját immunokompetens egyénekben. Ezen patogének esetén az IDO gátlók csökkentették a *Leishmania major* mennyiségét egerekben, még a fertőzés csúcán alkalmazva is⁴². Hasonló eredményre jutottak HIV-1 esetén is, mely szerint az IDO gátlók csökkentették a vírus mennyiségét egy HIV-1 encephalitisz egérmódelben, ami arra utal, hogy az erős IDO indukció az HIV-1 fertőzés során gyengíti a gazda immunitását⁴³. De fontos tény, hogy ezen utóbbi kórokozók nem függenek olyan mértékben a triptofán jelenlététől, mint a chlamydiák, és nem akut fertőzésben vizsgálták az IDO szerepét. Ráadásul vannak olyan patogének, melyeket nem befolyásol az IDO jelenléte, így az influenzafertőzések során az IDO aktivitás több mint 100-szorosan nőtt az egerek tüdejében, viszont az IDO eltávolítása nem volt hatással a vírus mennyiségére, és csak enyhe hatást gyakorolt a gazda T-sejtes válaszára⁴⁴.

A saját kísérletünkre visszatérve azt mondhatjuk el, hogy az IDO hatását akut chlamydia fertőzést követően vizsgáltuk, a fertőzést követő 7. napon, amikor is a toleranciának, mely az adaptív immunitás sejtjeinek összehangolt működését igényli, talán még nem volt olyan kifejezett szerepe. Az elképzelhető, hogy a chlamydia fertőzés későbbi szakaszát elemezve esetlegesen már jelenlévő IDO-indukálta tolerogenitás miatt csökken az effektor T sejtek mennyisége, ami a chlamydia szaporodásának kedvez. Ezek alapján kijelenthetjük, hogy az IDO is, mint sok más enzim kétélű kardként működik, ezért ha terápiás célpontként kívánják felhasználni, az további, kiterjedt *in vivo* vizsgálatokat igényel, hogy elkerülhessék az IDO hiánya miatt fellépő patogén fellángolást a chlamydiák és más kórokozók esetén. A triptofán anyagcseréjének az immunrendszer (T-sejt proliferáció gátlása) lefelé szabályozása miatt ellentétesnek tűnhet az antimikrobiális funkciójával. Egyrészt ez az IFN- γ által indukált rendszer védelmet biztosít a behatoló kórokozók ellen, másrészt gátolja az IFN- γ termelését a T-sejtek által. Ezek a látszólag ellentmondó hatások megmagyarázhatók, ha figyelembe vesszük a triptofán termékek helyi koncentrációit és a triptofán hatásos koncentrációjának küszöbértékét mind a T-sejtek, mind a mikroorganizmusok számára. Más kutatók kísérleteket végeztek a staphylococcusok és a T-sejtek triptofán küszöbértékének meghatározására, és azt találták, hogy ez a koncentráció 2-3-szor magasabb a baktériumok számára, mint a T-sejtek esetében. Ennek nyomán MacKenzie és mtsai által megfogalmazott elmélet szerint, az IDO-közvetítette triptofán kimerülés első körben gátolja a kórokozó növekedését, majd alacsonyabb koncentrációkban negatív visszacsatolási hurkot képez a T-sejt

proliferáció és így az IFN- γ termelés lefelé szabályozásával. Ez valójában megakadályozná az immunválasz túlzott aktiválódását⁴⁵.

Kísérleteivel igazolta, hogy a mukolitikumként gyakran használt N-acetyl cystein (NAC) in vitro és in vivo egerekben is fokozza a C. pneumoniae szaporodását. Bizonyította, hogy az Ax in vitro csökkenti a C. pneumoniae szaporodását, viszont a humán dózisnak megfelelő koncentrációban alkalmazva nem befolyásolja a C. pneumoniae szaporodását az egerek tüdejében. Milyen módszerekkel bizonyítaná az egerben tapasztalt kezelések eredményének hasonlóságát vagy eltérő eredményeit in vitro módszerekkel emberben?

Napjainkban robbanásszerűen fejlődnek a különböző *in vitro* humán tüdő modellek, melyek hosszabb távon kivezethetik az állatkísérletek nagy részét a kutatásból. Véleményem szerint ezen rendszerek elterjedésével tanulmányozhatóvá válnak a különböző légúti fertőzések, a patogének által indukált expressziós változások és azok gyógyszeres terápiájának hatékonysága. Ha lenne rá mód a következő tüdő modellek közül választanék (a teljesség igénye nélkül), amelyeken tanulmányozható a *C. pneumoniae* fertőzés illetve a kezelésében alkalmazott hatóanyag.

A lég-folyadék interfész (ALI) 2D ALI kultúra egyszerűen kezelhető, nem igényel bonyolult berendezéseket, ami ideálissá teszi az alap kutatásokhoz. A 2D ALI kultúrák lehetővé teszik a tüdő természetes mikrokozmoszának utánpótlását laboratóriumi körülmények között, lehetővé téve a légúti sejtek fiziológiai viselkedésének tanulmányozását. A 2D kultúrákban lehetőség van a sejtvonalak folyamatos fenntartására és szaporítására, továbbá nagyszámú minta párhuzamos feldolgozására és tesztelésére, ezáltal segítve a nagy áteresztőképességű vizsgálatokat. A 2D ALI kultúrák ideálisak a gyógyszerhatóanyagok és más részecskék átjutási képességének és transzportjának vizsgálatára. Azt gondolom, hogy a 2D ALI rendszer segítségével tisztázhatnánk az egermodellünkben kapott eredményeket⁴⁶.

Az organoidok képesek egyszerre többféle sejttípus együttműködését szimulálni, így pontosabban utánozva a valós szöveti környezetet. Ez lehetővé teszi a különböző sejtpopulációk közötti interakciók és kommunikációs folyamatok tanulmányozását. A 3D kultúrákban a sejtek olyan kölcsönhatásban állnak egymással és az ECM-mel, ami közel áll az *in vivo* körülményekhez, így elősegítve a sejtek természetes viselkedésének megértését. Ez a kommunikáció fontos szerepet játszik a sejtek differenciálódásában, migrációjában és túlélésében. Az organoidok képesek a tüdő fiziológiai folyamatait, mint például a surfactant szekrécióját és a részecskék eltávolítását, utánozni⁴⁶.

Az egyik legújabb fejlesztés a tüdő-a-chipen (OOC) eszközök lehetővé teszik a tüdő különböző szöveti rétegeinek (epithelium, mezenchimális szövet, véredények) egyszerre történő modellezését, ami pontosabban szimulálja a tüdő komplex szerkezetét és funkcióit. Ezek az eszközök képesek utánozni a tüdőre jellemző fizikai és kémiai környezetet, beleértve az ALI-t, a nyíró áramlást, a biokémiai gradienseket, valamint a légzés mechanikai mozgásait. Ez hozzájárul a tüdősejtek természetes viselkedésének és válaszainak pontosabb vizsgálatához. A tüdő-a-chipen eszközök tervezhetők úgy, hogy automatizáltak legyenek, ami lehetővé teszi a kísérleti protokollok pontos és ismételtető végrehajtását, csökkentve az emberi hiba lehetőségét és növelve a

hatékonyságot. Ezek az eszközök integrálhatók különböző típusú szenzorokkal, amelyek képesek folyamatosan monitorozni a biológiai paramétereket, mint pl. a pH-értéket, oxigénszintet, és más molekuláris jelzőket. Ez lehetővé teszi a sejtek és szövetek valós idejű állapotának követését és a kísérleti feltételek finomhangolását. A tüdő-a-chipen eszközök forradalmasíthatják a tüdőbetegségek kutatását, a gyógyszerfejlesztést és a toxicitási tesztelést, lehetővé téve a kutatók számára, hogy részletesebb betekintést nyerjenek a tüdő fiziológiájába és patológiájába egy kontrollált és manipulálható mikrokozmoszban⁴⁶.

A fertőző ágensek hatásának és terápiájának vizsgálata *in vitro* humán tüdőmodellekben még gyerekcipőben jár. Egy tanulmányban kutatók egy innovatív háromdimenziós (3D) emberi tüdőmodellt fejlesztettek (Tissue-Engineered Lung Model (3D-HTLM)), hogy jobban megértsék, hogyan reagál a tüdő az influenzavírus A (IAV) fertőzésére. A cél az volt, hogy egy olyan modellt hozzanak létre, amely jobban utánozza a tüdő valós szerkezetét és funkcióját, mint a hagyományos kétdimenziós (2D) sejt kultúrák. A 3D modell fejlesztésének első lépéseként a kutatók elsődlegesen emberi kis légúti epithel sejteket (HSAEpCs) tenyésztettek egy kitozán-kollagén vázon. Ez a váz segít fenntartani a sejtek térbeli elrendeződését, ami lehetővé teszi a sejtek közötti természetes kölcsönhatásokat. A sejteket ALI-n tenyésztették, ami utánozza a tüdő természetes környezetét. A 3D kultúrákban tenyésztett sejtek jobban hasonlítottak a valós tüdősejtekhez mind életképesség, mind morfológia szempontjából, mint a 2D kultúrákban tenyésztett sejtek. Ezen kívül, az akvaporin-5 és a citokeratin-14 fehérjék kifejeződése, amelyek fontosak a tüdősejtek működésében, szintén magasabb volt a 3D kultúrákban. A kutatók ezt a 3D modellt használták két fontos IAV törzs, a H1N1 és H3N2 fertőzésének vizsgálatára. Az HSAEpC-k jellegzetes változásokat mutattak a markerfehérjék kifejeződésében, mind mRNS, mind fehérjeszinten, valamint a pro-inflammatorikus citokinek felszabadulásában⁴⁷. Az eredmények segítettek jobban megérteni, hogyan fejlődik ki a tüdőgyulladás IAV fertőzés következtében. A modell alkalmas lehet más légúti kórokozóra, akár a *C. pneumoniae* pathomechanizmusának tanulmányozására is.

Eddig számos különböző sejtípust használtak az *in vitro* tüdőmodellekben, melyek előnyös és hátrányos tulajdonságokkal rendelkeznek. Ezzel szemben az iPSC-k (indukált pluripotens őssejtek) könnyű hozzáférhetősége, gyakorlatilag korlátlan proliferációs és differenciálódási potenciálja, valamint beteg-specifikus jellege biztosíthatja betegségek *in vitro* modellezését, hatékonyan ellensúlyozva más gyakran használt sejtes formák hátrányait. Az iPSC-k kombinálása OOC (szerv-a-chipen) rendszerekkel fiziológiailag releváns és beteg-specifikus modelleket biztosíthat, amelyek hűen reprodukálhatják a tüdő mikrokozmoszát, ahol a celluláris, biokémiai és biomechanikai elemek közösen befolyásolják a sejtek viselkedését és azonosságát.

A COVID-19 globális járvány fényében, a kutatók iPSC-alapú modelleket is fejlesztettek a SARS-CoV-2 fertőzési folyamatok és a lehetséges terápiás útvonalak feltárására. Huang és mtsai hiPSC-eket differenciáltak AT2-szerű sejtekké (iAT2 sejtek), hogy egyszerűsített 2D ALI alveoláris modelleket hozzanak létre a SARS-CoV-2 vírus bejutásának és replikációjának tanulmányozására. A modellben megfigyelték a SARS-CoV-2 fertőzés időfüggő progresszióját és a patológiai eltéréseket, amely széleskörű transzkripcionális változásokhoz vezetett. Ezek a változások magukban foglalták az érett AT2 sejtek jellemzőinek csökkenését és a proinflammatorikus NF- κ B jelátviteli útvonal felfelé szabályozását. A modell detektálhatóan válaszolt a camostat mesylate és a remdesivir kezelésére, amely csökkentette a detektálható vírus transzkriptumok számát, így

ígéretes útvonalat kínálva a SARS-CoV-2 fertőzés kezelésére. Ezen felül, a modellt a proteomikai és foszfo proteomikai változások tanulmányozására használták iAT2 sejtekben a SARS-CoV-2 fertőzés során, segítve a fő patológiai mechanizmusok és új potenciális antivirális terápiák azonosítását⁴⁸.

Így az ilyen emberi sejtalapú tüdő modellek rendkívül értékesek lehetnek az ismeretlen patogén ágensek vagy új vírus törzsek, más mikrobiális patogének, így a chlamydiák által okozott fertőzések tanulmányozásában és az új terápiás lehetőségek keresésében.

Hogyan magyarázná a CMV aktiválta CD8 T sejtek memória típusú markerek expresszióját a fertőzést követően? Hogyan hatnak ezek későbbi avagy a CMV-től eltérő vírusok által kiváltott fertőzésre?

A CMV-fertőzés széles körű T-sejtes választ vált ki számos epitóp ellen, azonban a CD8 T-sejtes válaszok esetében csak néhány immunodomináns epitóp ellen irányuló CD8 T-sejtek válnak dominánssá, ahogy a fertőzés látens állapotba megy át. Az idő múlásával a domináns CMV-specifikus CD8 T-sejt válaszok nem mutatnak kontrakciót, ehelyett folyamatosan növekednek, amíg sok lymphoid és nem lymphoid szövetben magas számban stabilizálódnak. Ez ellentétben áll a "klasszikus" CD8 T-sejt dinamikával, amely az expanziót, kontrakciót és a stabil memória kialakulását foglalja magában. Ezt a különleges CD8 T-sejt dinamikát, vagyis az antigén-specifikus memória T-sejtek idővel történő bővülését, mint „memória infláció” Reddehase és mtsai írták le először, amelyet azóta mások is alátámasztottak. A HCMV-specifikus T-sejt szám szeropozitív emberekben óriási lehet, átlagosan a CD4 és CD8 memória kompartmentek 10-30%-át is kitehetik a vérben, és bizonyos egyéneknél akár az 50%-ot is elérhetik. Ez a CMV-specifikus memória T-sejt növekedés az életkorral növekvő keringő memória T-sejtek teljes számának növekedéséhez vezet, ami CMV fertőzés hiányában (CMV-szeronegatív egyéneknél) az öregedés során nem fordul elő⁴⁹. Az elsődleges CMV fertőzés tipikus litikus replikációs ciklus módon halad előre, ami gazdaszervezet-szerte virémiát eredményez. Azonban az immunrendszer kontrollja miatt nagyon kevés sejt marad, amely látens vírusgenomot hordoz. A látens fertőzés során a vírusgenomot nagyon kis százalékban (0,004-től 0,01%-ig) észlelték a granulocita-kolónia-stimuláló faktorról stimulált szeropozitív egyénekből származó perifériás vér vagy csontvelői eredetű mononukleáris sejtekben (sejtenkénti 2-től 13 genom kópia)⁵⁰. Annak ellenére, hogy feltételezhetően kevés a látens fertőzött sejt száma, masszív klinikai CMV reaktiváció fordulhat elő immunkompromittált emberekben, akiken transzplantációt vagy kemoterápiás kezelést végeznek. A masszív reaktiváció immunkompromittált egyéneknél arra utal, hogy az immunrendszer folyamatosan "törődik" a CMV fertőzés ellenőrzésével. A látens fertőzés során a CMV-vel fertőzött sejtek kifejezhetik a vírus igen korai (IE) génjeit anélkül, hogy vírusutódokat termelnének. Ez folyamatos antigén stimulációt jelent, úgy gondolják, hogy ez szolgál motorként, ami hajtja a „memória inflációt.” Mikroreaktiváció esetén kevés fertőzött sejt is kezdeményezheti a vírusgén transzkripcióját egy adott szöveti helyen. Ez antigén prezentációhoz vezet a gazdaszövet felszínén lévő MHC molekulákon keresztül, ami viszont aktiválja a CMV-specifikus T-sejteket.

A primer litikus fertőzés kontrollálását követően a CMV-specifikus CD8 T-sejtek fokozatosan fejeznek ki memória sejtekre jellemző markereket, melyek a klasszikusan meghatározott memória

alcsoporthoz oszthatók, ezek az effektor memória (T_{EM} , $CD45RO^+$, $CCR7^-$, $CD27^-$, $CD28^-$), központi memória (T_{CM} , $CD45RO^+$, $CCR7^+$, $CD27^+$, $CD28^+$) és szöveti memória (T_{RM} , $CD69$, $CD103$) T-sejtek⁵¹. A „memória inflációt” mutató CMV-specifikus CD8 T-sejt populációk csak viszonylag kis arányban tartalmaznak T_{CM} sejteket, amelyek szinte kizárólag a nyirokcsomókban találhatóak és kisebb mennyiségben a lépben. Ezen inflációs sejtek többsége effektor (memória)-szerű fenotípussal rendelkezik, és a lépben, a keringésben és a perifériás szövetekben található. Az inflációs CMV T-sejteket gyakran effektor-szerű T-sejteknek nevezik, amelyek T_{EM} sejtekre jellemző markereket fejeznek ki, de olyan markereket is, amelyek a T-sejt érésével kapcsolatosak vagy normálisan az NK sejtekben találhatóak meg. Az inflációs sejtek féléletideje azonban jelentősen hosszabb, mint az elsődleges expanzió csúcán indukált effektor sejteké. Emberekben a T_{EM} tovább osztható terminálisan differenciálódott sejtekre, $CD45RA^+$ $CCR7^-$ T_{EM} (T_{EMRA}) sejtekre, amelyek a keringésben perzisztálhatnak, és olyanokra, amelyek alacsony proliferatív kapacitással, de magas $IFN-\gamma$ termeléssel rendelkeznek. A legtöbb inflációs CMV-specifikus CD8 T-sejt ebben a T_{EMRA} populációban található, és a teljes CD8 T_{EMRA} populáció nagysága a vérben összefügg a CMV fertőzéssel, és számuk növekszik az életkorral. A CMV-specifikus T_{EMRA} tovább osztható funkcionálisan különböző alcsoportokra a $CD57$ expressziójuk alapján, a terminálisan differenciált $CD57^+$ T_{EMRA} ($CD57^+$, $KLRG1^+$, ezek a sejtek hosszantartó vírusfertőzések, mint a CMV, során alakulnak ki, jellemzően magas a funkcionális kapacitásuk, de korlátozott a proliferációs képességük és fokozott az apoptózisra való hajlamuk) és a magasabb proliferatív kapacitással és differenciálódási plaszticitással rendelkező $CD57^-$ T_{EMRA} csoportra⁵².

A $CD4$ T_{EMRA} sejtek kevésbé kiemelkedőek a $CD8$ T_{EMRA} sejtekhez képest, és kimutatták, hogy a CMV-specifikus $CD4$ T_{EMRA} az összes CMV-specifikus $IFN\gamma^+$ $CD4$ T-sejt válasznak kevesebb, mint 10%-áért felelős, és a CMV-specifikus citotoxikus ($GPR56^+$ $Perforin^+$) $CD4$ T-sejtek 22,6%-át adják. Annak ellenére, hogy a T_{EMRA} $CD4$ T-sejteknek alacsonyabb a száma, egy nemrégiben végzett egysejt-analízis hangsúlyozta, hogy a CMV szeropozitivitás jelentős, kortól független hatással van a T_{EM} és T_{EMRA} $CD4$ T-sejtek expanziójára. Továbbá, a $CD4$ T_{EM} differenciációs útjaiból kiemelték egy alpopulációt, amely $CD57^+$ $CD27^-$ $CD28^-$ $CD244^+$ $CD4$ T-sejtekből áll, citotoxikus funkciókkal és TCR oligoklonalitással⁵³.

A memória infláció fő mozgatórugója a látens fertőzött nem-hematopoietikus sejtek, amelyek közül nemrégiben többek között a nyirokendothél sejteket azonosították, ahol a sporadikus újraaktiválódási események kiváltják a CMV-specifikus T_{CM} sejtek restimulációját és differenciálódását inflációs T_{EM} sejtekké. Ezt az hipotézist tovább erősítve, nemrégiben azonosítottak egy $Tcf1^+$ sejtekből álló alcsoportot, mint amely az inflációs T-sejt poolt tartja fenn⁵⁴. A kérdés másik részére miszerint, hogyan hatnak a $CD8$ sejtek a CMV-től eltérő vírusok által kiváltott fertőzésre – az irodalmi adatok alapján nem egyértelmű a válasz. Tekintettel a CMV-specifikus citotoxikus T-sejtek keringésben történő expanziójára, felvetették, hogy ez a sejtpopuláció zavarhatja a másodlagos fertőzések elleni kontrollt egy szeneszcens immunrendszerben. Mivel a látens CMV fertőzés idővel nagyon jelentős $CD8$ T-sejt válaszokat foglal le (akár az összes $CD8$ T-sejt 50%-át), lehetséges, hogy az immunrendszer erőforrásainak ez az elkötelezettsége a látens CMV fertőzés újraaktiválódásának kontrollálására negatívan befolyásolhatja az immunválaszt más fertőzésekre. A hipotézis igazolására számos cikk született. Az egyik csoport kimutatta, hogy az antigén-specifikus T-sejt válasz vírus fertőzésre csökkent az MCMV-fertőzött idős egerek másodlagos nyirokszerveiben, és ez a csökkenés fordítottan korrelált

a vérben található CD8 TEM sejtek számával. Kimutatták, hogy az MCMV fertőzés jelentősen gyengébb CD8 válaszokat eredményezett az influenza, a humán herpesvírus I vagy a West-Nile vírus szuperinfekcióval szemben, még 16 hónappal az MCMV fertőzés után is. Ezek az irreverzibilis károsodások a T-sejt funkcióban nem voltak megfigyelhetők a nem fertőzött vagy a vaccinia vírussal fertőzött kontrollokban, és ezek a károsodások nem az MCMV immun-elkerülő génjeinek hatásából adódtak⁵⁵. Nemrégiben viszont azt vizsgálták, hogy az idős CMV pozitív egerekben a csökkent T-sejt immunitást okozhatják-e a CMV-specifikus TEM sejtek közvetlenül az új immunválaszok gátlásával. Ennek tesztelésére megvizsgálták a TEM CMV-specifikus CD8 T-sejtek jelenlétét CMV-vel fertőzött egerek nyirokcsomóiban, és azt találták, hogy ezek a sejtek nem halmozódtak fel jelentős mértékben az új, elsődleges immunválasz kiindulási helyein⁵⁶. Ez összecseng azon eredményekkel, hogy az emberi CMV-specifikus T-sejtek nem halmozódnak fel az emberi mandulákban vagy a perifériás nyirokcsomókban. A kutatók később a látens fertőzött egerekből TEM CD8 T sejteket szelektáltak, és transzferálták felnőtt MCMV-negatív egerekbe, és egy másik vírussal (West-Nile vírus) vagy baktériummal (*Listeria monocytogenes*) fertőzték azokat. Az MCMV pozitív egerekből származó TEM sejtek adoptív transzfere nem hatott a későbbi fertőzésre adott válaszra a recipiens egerekben, ami azt jelzi, hogy a vérben található TEM sejtek száma és a szuperinfekcióra adott naiv válasz nagysága közötti fordított korreláció nem feltétlenül okozati. Ezért a kutatók arra következtetésre jutottak, hogy a MCMV-specifikus TEM sejtek valószínűleg nem zavarják közvetlenül a szuperinfekcióra kialakult immunválaszt a másodlagos nyirokcsomókban⁵⁶.

Az előző állatkísérletnek részben ellentmondóan más kutatók azt találták, hogy a CMV szerostátusz és a COVID-19 klinikai kimenetele közötti összefüggés arra utal, hogy a CMV által kiváltott immunmoduláció szerepet játszhat a SARS-CoV-2 fertőzés patogenezisében⁵⁷. A kutatások kimutatták, hogy a CMV-pozitív személyek, bár nem feltétlenül fogékonyabbak a SARS-CoV-2 fertőzésre, egyedi immunválaszokat mutatnak a vírussal való érintkezés során. Különösen a CMV-specifikus CD4 és CD8 T-sejtek jelenléte összefüggésben áll a SARS-CoV-2-specifikus IL-17-termelő CD4 és CD8 T-sejtek emelkedett szintjével. Ez arra utal, hogy a CMV torzíthatja az immunválaszt a SARS-CoV-2-ra, potenciálisan elősegítve egy Th17 típusú választ⁵⁸. Ez az immunfenotípus befolyásolhatja a gyulladást és a betegség lefolyását, jelezve azt, hogy a CMV által felerősített válaszok a SARS-CoV-2-re szerepet játszhatnak a COVID-19-gel összefüggő tartós károsodásokban. Viszont egy másik érdekes kérdés, amely még feltáratlan, a CMV-pozitív fiatal felnőttekkel kapcsolatos, akiknél a két vírus együttes fertőzése kevésbé kifejezett következményekkel jár. Az is lehetséges, hogy a CMV hatása változhat a gazda korától függően. Fiatalabb egyéneknél a CMV-fertőzés potenciálisan fokozhatja az immunválaszt, míg idősebb egyéneknél inkább káros hatással lehet az immunfunkciókra⁵⁹.

A fent leírtak alapján CMV indukálta memóriasejtek hatása más vírusfertőzésekre, még nem tisztázott terület.

Irodalomjegyzék

1. Mestas J, Hughes CCW. Of mice and not men: differences between mouse and human immunology. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2004;172(5):2731-2738. doi:10.4049/jimmunol.172.5.2731

2. Nirula A, Glaser SM, Kalled SL, Taylor FR. What is IgG4? A review of the biology of a unique immunoglobulin subtype. *Curr Opin Rheumatol*. 2011;23(1):119-124. doi:10.1097/BOR.0b013e3283412fd4
3. Anttila T, Leinonen M, Surcel HM, et al. IgG subclass-specific antibodies in Chlamydia pneumoniae infections. *Scand J Infect Dis*. 1998;30(4):381-386. doi:10.1080/00365549850160684
4. Hjelholt A, Christiansen G, Sørensen US, Birkelund S. IgG subclass profiles in normal human sera of antibodies specific to five kinds of microbial antigens. *Pathog Dis*. 2013;67(3):206-213. doi:10.1111/2049-632X.12034
5. Mouse Genome Sequencing Consortium, Waterston RH, Lindblad-Toh K, et al. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature*. 2002;420(6915):520-562. doi:10.1038/nature01262
6. Paigen K. A miracle enough: the power of mice. *Nat Med*. 1995;1(3):215-220. doi:10.1038/nm0395-215
7. Elbe A, Foster CA, Stingl G. T-cell receptor alpha beta and gamma delta T cells in rat and human skin-are they equivalent? *Semin Immunol*. 1996;8(6):341-349. doi:10.1006/smim.1996.0045
8. Monteiro RC, Van De Winkel JGJ. IgA Fc receptors. *Annu Rev Immunol*. 2003;21:177-204. doi:10.1146/annurev.immunol.21.120601.141011
9. Daëron M. Fc receptor biology. *Annu Rev Immunol*. 1997;15:203-234. doi:10.1146/annurev.immunol.15.1.203
10. Beura LK, Hamilton SE, Bi K, et al. Normalizing the environment recapitulates adult human immune traits in laboratory mice. *Nature*. 2016;532(7600):512-516. doi:10.1038/nature17655
11. Reese TA, Bi K, Kambal A, et al. Sequential Infection with Common Pathogens Promotes Human-like Immune Gene Expression and Altered Vaccine Response. *Cell Host Microbe*. 2016;19(5):713-719. doi:10.1016/j.chom.2016.04.003
12. Tao L, Reese TA. Making Mouse Models That Reflect Human Immune Responses. *Trends Immunol*. 2017;38(3):181-193. doi:10.1016/j.it.2016.12.007
13. Morrison RP, Caldwell HD. Immunity to murine chlamydial genital infection. *Infect Immun*. 2002;70(6):2741-2751. doi:10.1128/IAI.70.6.2741-2751.2002
14. Barron AL, White HJ, Rank RG, Soloff BL, Moses EB. A new animal model for the study of Chlamydia trachomatis genital infections: infection of mice with the agent of mouse pneumonitis. *J Infect Dis*. 1981;143(1):63-66.
15. Morrison SG, Morrison RP. In situ analysis of the evolution of the primary immune response in murine Chlamydia trachomatis genital tract infection. *Infect Immun*. 2000;68(5):2870-2879.
16. Morrison RP, Caldwell HD. Immunity to murine chlamydial genital infection. *Infect Immun*. 2002;70(6):2741-2751.

17. Ramsey KH, DeWolfe JL, Salyer RD. Disease outcome subsequent to primary and secondary urogenital infection with murine or human biovars of *Chlamydia trachomatis*. *Infect Immun*. 2000;68(12):7186-7189.
18. Williams DM, Grubbs BG, Pack E, Kelly K, Rank RG. Humoral and cellular immunity in secondary infection due to murine *Chlamydia trachomatis*. *Infect Immun*. 1997;65(7):2876-2882.
19. Darville T, Andrews CW, Laffoon KK, Shymasani W, Kishen LR, Rank RG. Mouse strain-dependent variation in the course and outcome of chlamydial genital tract infection is associated with differences in host response. *Infect Immun*. 1997;65(8):3065-3073.
20. Tuffrey M, Alexander F, Taylor-Robinson D. Severity of salpingitis in mice after primary and repeated inoculation with a human strain of *Chlamydia trachomatis*. *J Exp Pathol Oxf Engl*. 1990;71(3):403-410.
21. Brunham RC, Rey-Ladino J. Immunology of *Chlamydia* infection: implications for a *Chlamydia trachomatis* vaccine. *Nat Rev Immunol*. 2005;5(2):149-161. doi:10.1038/nri1551
22. Perry LL, Su H, Feilzer K, et al. Differential sensitivity of distinct *Chlamydia trachomatis* isolates to IFN-gamma-mediated inhibition. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1999;162(6):3541-3548.
23. Hafner L, Beagley K, Timms P. *Chlamydia trachomatis* infection: host immune responses and potential vaccines. *Mucosal Immunol*. 2008;1(2):116-130. doi:10.1038/mi.2007.19
24. Li J, Li S, Liu N, et al. [Rapid evaluation of the early pathogen of severe *Chlamydia psittaci* pneumonia by diagnostic bronchoscopy]. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*. 2023;35(1):37-42. doi:10.3760/cma.j.cn121430-20220824-00782
25. Risso A. Leukocyte antimicrobial peptides: multifunctional effector molecules of innate immunity. *J Leukoc Biol*. 2000;68(6):785-792.
26. Ouellette AJ, Selsted ME. Paneth cell defensins: endogenous peptide components of intestinal host defense. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 1996;10(11):1280-1289. doi:10.1096/fasebj.10.11.8836041
27. Crocker PR, Jefferies WA, Clark SJ, Chung LP, Gordon S. Species heterogeneity in macrophage expression of the CD4 antigen. *J Exp Med*. 1987;166(2):613-618. doi:10.1084/jem.166.2.613
28. Mellor AL, Munn DH. Creating immune privilege: active local suppression that benefits friends, but protects foes. *Nat Rev Immunol*. 2008;8(1):74-80. doi:10.1038/nri2233
29. Heidari F, Ramezani A, Erfani N, Razmkhah M. Indoleamine 2, 3-Dioxygenase: A Professional Immunomodulator and Its Potential Functions in Immune Related Diseases. *Int Rev Immunol*. 2022;41(3):346-363. doi:10.1080/08830185.2020.1836176
30. Munn DH, Sharma MD, Baban B, et al. GCN2 kinase in T cells mediates proliferative arrest and anergy induction in response to indoleamine 2,3-dioxygenase. *Immunity*. 2005;22(5):633-642. doi:10.1016/j.immuni.2005.03.013

31. Thomas SR, Salahifar H, Mashima R, Hunt NH, Richardson DR, Stocker R. Antioxidants inhibit indoleamine 2,3-dioxygenase in IFN-gamma-activated human macrophages: posttranslational regulation by pyrrolidine dithiocarbamate. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2001;166(10):6332-6340. doi:10.4049/jimmunol.166.10.6332
32. Pallotta MT, Orabona C, Volpi C, et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase is a signaling protein in long-term tolerance by dendritic cells. *Nat Immunol*. 2011;12(9):870-878. doi:10.1038/ni.2077
33. Byrne GI, Lehmann LK, Landry GJ. Induction of tryptophan catabolism is the mechanism for gamma-interferon-mediated inhibition of intracellular *Chlamydia psittaci* replication in T24 cells. *Infect Immun*. 1986;53(2):347-351. doi:10.1128/iai.53.2.347-351.1986
34. Roshick C, Wood H, Caldwell HD, McClarty G. Comparison of gamma interferon-mediated antichlamydial defense mechanisms in human and mouse cells. *Infect Immun*. 2006;74(1):225-238. doi:10.1128/IAI.74.1.225-238.2006
35. Beatty WL, Belanger TA, Desai AA, Morrison RP, Byrne GI. Tryptophan depletion as a mechanism of gamma interferon-mediated chlamydial persistence. *Infect Immun*. 1994;62(9):3705-3711. doi:10.1128/iai.62.9.3705-3711.1994
36. Pantoja LG, Miller RD, Ramirez JA, Molestina RE, Summersgill JT. Inhibition of *Chlamydia pneumoniae* replication in human aortic smooth muscle cells by gamma interferon-induced indoleamine 2, 3-dioxygenase activity. *Infect Immun*. 2000;68(11):6478-6481. doi:10.1128/IAI.68.11.6478-6481.2000
37. Summersgill JT, Sahney NN, Gaydos CA, Quinn TC, Ramirez JA. Inhibition of *Chlamydia pneumoniae* growth in HEp-2 cells pretreated with gamma interferon and tumor necrosis factor alpha. *Infect Immun*. 1995;63(7):2801-2803. doi:10.1128/iai.63.7.2801-2803.1995
38. Carlson JH, Porcella SF, McClarty G, Caldwell HD. Comparative genomic analysis of *Chlamydia trachomatis* oculotropic and genitotropic strains. *Infect Immun*. 2005;73(10):6407-6418. doi:10.1128/IAI.73.10.6407-6418.2005
39. Feng HM, Walker DH. Mechanisms of intracellular killing of *Rickettsia conorii* in infected human endothelial cells, hepatocytes, and macrophages. *Infect Immun*. 2000;68(12):6729-6736. doi:10.1128/IAI.68.12.6729-6736.2000
40. MacKenzie CR, Hadding U, Däubener W. Interferon-gamma-induced activation of indoleamine 2,3-dioxygenase in cord blood monocyte-derived macrophages inhibits the growth of group B streptococci. *J Infect Dis*. 1998;178(3):875-878. doi:10.1086/515347
41. Adam RA, Tenenbaum T, Valentin-Weigand P, et al. Porcine choroid plexus epithelial cells induce *Streptococcus suis* bacteriostasis in vitro. *Infect Immun*. 2004;72(5):3084-3087. doi:10.1128/IAI.72.5.3084-3087.2004
42. Makala LHC, Baban B, Lemos H, et al. *Leishmania major* attenuates host immunity by stimulating local indoleamine 2,3-dioxygenase expression. *J Infect Dis*. 2011;203(5):715-725. doi:10.1093/infdis/jiq095

43. Potula R, Poluektova L, Knipe B, et al. Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) enhances elimination of virus-infected macrophages in an animal model of HIV-1 encephalitis. *Blood*. 2005;106(7):2382-2390. doi:10.1182/blood-2005-04-1403
44. Huang L, Li L, Klonowski KD, Tompkins SM, Tripp RA, Mellor AL. Induction and role of indoleamine 2,3 dioxygenase in mouse models of influenza a virus infection. *PLoS One*. 2013;8(6):e66546. doi:10.1371/journal.pone.0066546
45. MacKenzie CR, Heseler K, Müller A, Däubener W. Role of indoleamine 2,3-dioxygenase in antimicrobial defence and immuno-regulation: tryptophan depletion versus production of toxic kynurenines. *Curr Drug Metab*. 2007;8(3):237-244. doi:10.2174/138920007780362518
46. Moreira A, Müller M, Costa PF, Kohl Y. Advanced In Vitro Lung Models for Drug and Toxicity Screening: The Promising Role of Induced Pluripotent Stem Cells. *Adv Biol*. 2022;6(2):2101139. doi:10.1002/adbi.202101139
47. Bhowmick R, Derakhshan T, Liang Y, Ritchey J, Liu L, Gappa-Fahlenkamp H. A Three-Dimensional Human Tissue-Engineered Lung Model to Study Influenza A Infection. *Tissue Eng Part A*. 2018;24(19-20):1468-1480. doi:10.1089/ten.TEA.2017.0449
48. Huang J, Hume AJ, Abo KM, et al. SARS-CoV-2 Infection of Pluripotent Stem Cell-Derived Human Lung Alveolar Type 2 Cells Elicits a Rapid Epithelial-Intrinsic Inflammatory Response. *Cell Stem Cell*. 2020;27(6):962-973.e7. doi:10.1016/j.stem.2020.09.013
49. Seckert CK, Griessl M, Büttner JK, et al. Viral latency drives “memory inflation”: a unifying hypothesis linking two hallmarks of cytomegalovirus infection. *Med Microbiol Immunol (Berl)*. 2012;201(4):551-566. doi:10.1007/s00430-012-0273-y
50. Jergović M, Contreras NA, Nikolich-Žugich J. Impact of CMV upon immune aging: facts and fiction. *Med Microbiol Immunol (Berl)*. 2019;208(3-4):263-269. doi:10.1007/s00430-019-00605-w
51. Martin MD, Badovinac VP. Defining Memory CD8 T Cell. *Front Immunol*. 2018;9:2692. doi:10.3389/fimmu.2018.02692
52. Zangger N, Oxenius A. T cell immunity to cytomegalovirus infection. *Curr Opin Immunol*. 2022;77:102185. doi:10.1016/j.coi.2022.102185
53. Zhang W, Morris AB, Peek EV, et al. CMV Status Drives Distinct Trajectories of CD4+ T Cell Differentiation. *Front Immunol*. 2021;12:620386. doi:10.3389/fimmu.2021.620386
54. Welten SPM, Yermanos A, Baumann NS, et al. Tcf1+ cells are required to maintain the inflationary T cell pool upon MCMV infection. *Nat Commun*. 2020;11(1):2295. doi:10.1038/s41467-020-16219-3
55. Cicin-Sain L, Brien JD, Uhrlaub JL, Drabig A, Marandu TF, Nikolich-Zugich J. Cytomegalovirus infection impairs immune responses and accentuates T-cell pool changes observed in mice with aging. *PLoS Pathog*. 2012;8(8):e1002849. doi:10.1371/journal.ppat.1002849

56. Jergović M, Uhrlaub JL, Contreras NA, Nikolich-Žugich J. Do cytomegalovirus-specific memory T cells interfere with new immune responses in lymphoid tissues? *GeroScience*. 2019;41(2):155-163. doi:10.1007/s11357-019-00068-0
57. Alanio C, Verma A, Mathew D, et al. Cytomegalovirus Latent Infection is Associated with an Increased Risk of COVID-19-Related Hospitalization. *J Infect Dis*. 2022;226(3):463-473. doi:10.1093/infdis/jiac020
58. Frozza FTB, Fazolo T, de Souza PO, et al. A high CMV-specific T cell response associates with SARS-CoV-2-specific IL-17 T cell production. *Med Microbiol Immunol (Berl)*. 2023;212(1):75-91. doi:10.1007/s00430-022-00758-1
59. Müller L, Di Benedetto S. How Immunosenescence and Inflammaging May Contribute to Hyperinflammatory Syndrome in COVID-19. *Int J Mol Sci*. 2021;22(22):12539. doi:10.3390/ijms222212539