

A basic disturbance underlying the here described selective defects in CMI of the patients could well be an impairment in antigen presentation and accessory cell function of dendritic cells. T-cells are known to proliferate and secrete lymphokines after clustering with dendritic cells. Preliminary results suggest that the p15E-like serum factors in patients with chronic purulent rhinosinusitis are capable of hampering the cluster capacity of healthy dendritic cells. Further studies are necessary to elucidate these mechanisms.

In view of the presence of immunosuppressive p15E in the circulation of patients suffering from chronic purulent rhinosinusitis, immunotherapy is an obvious choice.

SAMENVATTING

Recidiverende chronische purulente rhinosinusitis is een slecht gedefinieerd ziektebeeld met uiteenlopende klachten. Resistentie tegen gangbare behandelingen met antibioticakuren en chirurgische ingrepen komt regelmatig voor.

De aan dit ziektebeeld ten grondslag liggende pathogenetische mechanismen zijn nog grotendeels onbekend; commensale microorganismen zoals H. influenzae, streptococci en Candida albicans worden er van verdacht een rol te spelen. Van deze normaal in (bepaalde delen van) de bovenste luchtwegen voorkomende microorganismen is bekend dat ze pathogeen worden wanneer ze de sinussen en de bronchiaalboom binnendringen. Reeds tientallen jaren is bekend dat de antistoffen tegen deze microorganismen in het algemeen normaal of zelfs verhoogd zijn bij patiënten met infecties van de bovenste luchtwegen; klaarblijkelijk bieden deze antistoffen geen bescherming. Mochten immunodefecten een rol spelen, dan suggereren de antistoftiters dat de B-celfuncties niet zijn aangedaan. De rol van de cellulaire immuniteit is nog niet uitgebreid onderzocht bij recidiverende chronische purulente rhinosinusitis.

Het doel van dit onderzoek was vast te stellen of stoornissen in de systemische cellulaire immuniteit konden worden aangetoond die bij zouden kunnen dragen aan de pathogenetische mechanismen die verantwoordelijk zijn voor de therapie-resistente vorm van chronische purulente rhinosinusitis.

Onderstaande parameters werden gebruikt:

- a. de huidtestreactiviteit van het vertraagde type, de lymfocytenblasttransformatietest en de MIF-productie, t.o.v. uit H. influenzae, streptococci en Candida albicans geëxtraheerde antigenen, werd bepaald.
- b. Om de chemotaxis van monocytten te bestuderen werd de polarisatie van monocytten na stimulatie met FMLP bepaald.
- c. De aanwezigheid van laag-moleculaire p15E-achtige factoren in serum werd nagegaan, daar deze factoren de cellulaire immuunfuncties kunnen remmen.
- d. De totale aantallen lymfocyten en monocytten in het perifere bloed werden geteld en de verdeling over T-cel subgroepen en B-cellen vastgesteld.

e. B-celfuncties werden nagegaan aan de hand van de titers van de verschillende klassen immuunglobulinen in serum, en de H. influenzae-specifieke antistof titers.

In hoofdstuk II wordt gerapporteerd over de bruikbaarheid van somatisch antigeen uit H. influenzae bij het screenen van de T-celreactiviteit d.m.v. huidtesten van het vertraagde type. Het gemeenschappelijke antigeen van alle Haemophilus stammen werd geëxtraheerd uit een ongekap-selde stam en getest in oplosbare en geaggregeerde toestand in de huid van gezonde vrijwilligers.

Tevens werd een ELISA-methode ontwikkeld voor het bepalen van specifieke antistoffen tegen H. influenzae. In de sera van alle geteste gezonde vrijwilligers waren tegen H. influenzae gerichte IgG en IgM antistoffen aantoonbaar.

Somatisch H. influenzae antigeen bleek in oplosbare vorm ongeschikt te zijn voor het opwekken van vertraagd type overgevoeligheid: van de 16 geteste personen vertoonden slechts 2 een positieve huidreactie. Daarentegen hadden 25 van de 28 geteste vrijwilligers een positieve vertraagd type huidreactie bij gebruik van de geaggregeerde vorm van het somatisch H. influenzae antigeen. Er werden 2 typen reacties in de verhouding 3:2 waargenomen, nl. een reactietype met een vroege (24 uur) en één met een late (48 uur) maximale zwelling. Bij histologisch onderzoek bleken voornamelijk T-helper/T-inducer lymfocyten in de infiltraten aanwezig te zijn.

Uit deze resultaten blijkt dat somatisch antigeen uit H. influenzae in geaggregeerde vorm geschikt is voor het meten van huidtestreactiviteit van het vertraagde type bij mensen.

In hoofdstuk III werd bij 36 aan recidiverende chronische purulente rhinosinusitis lijdende patiënten de huidtestreactiviteit van het vertraagde type t.o.v. commensale microbiële antigenen bestudeerd. Gebruik werd gemaakt van geaggregeerd somatisch H. influenzae antigeen, en in de handel verkrijgbare antigenen uit streptococci en Candida albicans.

De huidtestreactiviteit van het vertraagde type was bij meer dan 90% van de controles positief; bij 2/3 van de patiënten echter afwezig, terwijl bij 4 patiënten een hypererge reactie voorkwam die leidde tot necrose van de plaats van de huidtest en algemene malaise. De lymfocyten-blasttransformatietest t.o.v. H. influenzae bleek bij slechts 3 patiënten negatief te zijn. De ratio CD4+/CD8+ cellen was bij 40% van de

patiënten verhoogd. Atopische huidtestreactiviteit en autoimmunitet kwamen zowel bij de patiënten als bij hun eerstegraads bloedverwanten vrij veel voor.

Deze uitkomsten suggereren dat onverklaarde recidiverende chronische purulente rhinosinusitis gebaseerd zou kunnen zijn op selectieve stoornissen van T-cellen t.o.v. commensale microorganismen zoals H. influenzae, streptococci en Candida. Daarom werden T-cel parameters uitgebreider onderzocht bij een grotere groep van 75 patiënten. In hoofdstuk IV worden de uitkomsten vergeleken van de antigeen-specifieke vertraagd type huidtestreactiviteit (DTH), de lymfocyten-blasttransformatietest (LTT) en de MIF-productie. Voor deze laatste parameter werd een test ontwikkeld die gebruik maakt van U937-indicatorcellen in agarose microdruppels.

De vertraagd type huidtestreactiviteit t.o.v. één of meer microbiële antigenen was gestoord bij 2/3 van de patiënten, terwijl de huidtestreactiviteit bij meer dan 90% van de gezonde controles positief was voor elk van deze 3 antigenen. De lymfocyten-blasttransformatiereactiviteit t.o.v. de 3 microbiële antigenen bleek in de tijd aanzienlijk te fluctueren bij patiënten en controles. In het algemeen was de blastogene reactiviteit van de lymfocyten bij de patiënten intact, de S.I.-waarden waren vergelijkbaar met die van de gezonde controles of zelfs hoger.

De lymfocyten van alle geteste gezonde individuen bleken in staat tot MIF-productie na stimulatie met de 3 antigenen. Bij 2/3 van de patiënten werd een gestoorde MIF-productie vastgesteld. Fluctuatie van de MIF-productie in de tijd kon niet worden vastgesteld. De uitkomsten van de MIF-test en die van de DTH-huidtestreactiviteit bleken zeer goed met elkaar te correleren.

Deze uitkomsten wijzen er op dat naast huidtesten in vivo, de MIF-test de meest geschikte in vitro parameter blijkt te zijn voor het aantonen van stoornissen in de cellulaire immuniteit t.o.v. commensale microorganismen in voornoemde patientengroep.

Uit de literatuur is bekend dat cellulaire immunstoornissen vaak gepaard gaan met verminderd functioneren van de monocyten. Daarom werd bij 40 patiënten met recidiverende chronische purulente rhinosinusitis de chemotactische reactiviteit van de monocyten bepaald, gebruik makend van de polarisatietest (hoofdstuk V). Bij 26 van de 40 geteste patiënten werd een verminderde polarisatie van de monocyten na stimulatie met FMLP gevonden. Deze verminderde chemotactische reactiviteit van de monocyten

kon verklaard worden door de aanwezigheid van een aan p15E-verbante factor in het serum van de patiënten. De polarisatie van de monocyten van gezonde individuen bleek geremd te kunnen worden door toevoeging van laag-moleculaire (< 25 kD) patiëntenserumfracties; deze remming was op te heffen door een tegen p15E gerichte monoclonale antistof. Een verminderde polariseerbaarheid van de monocyten bleek goed te correleren met de aanwezigheid van p15E-achtige factoren, en met gestoorde antigeen-specifieke T-celreactiviteit (DTH en MIF).

p15E is het hydrofobe transmembraaneiwit van muize- en kattenleukemievirussen, en bezit immuunsuppressieve eigenschappen. Er bestaat structurele homologie tussen p15E en celwandcomponenten van verschillende retrovirussen. Menselijk DNA blijkt copieën te bevatten van een tijdens de evolutie goed geconserveerde sequentie die codeert voor een gedeelte van het p15E, nl. 26 aminozuren; het is daarom niet verbazingwekkend dat zowel maligne als niet-maligne zoogdiercellen in staat blijken te zijn p15E-achtige factoren te produceren. Deze immuunsuppressieve factor speelt mogelijk een rol bij hormonale immunoregulatie van de cellulaire immunrespons. Een recent vervaardigd synthetisch peptide CKS-17, dat 16 aminozuren van de genoemde sequentie bevat, blijkt in staat te zijn de polarisatie van monocyten en de in vitro productie van IL-2 te remmen.

DANKWOORD

Graag wil ik op deze plaats allen bedanken die hebben bijgedragen aan het tot stand komen van dit proefschrift.

In de eerste plaats mijn grote dank aan mijn copromotor, dr. Hemmo A. Drexhage, voor zijn kritische en stimulerende begeleiding van het hele onderzoek.

Prof. dr. Chris J.L.M. Meijer en prof. dr. G.B. Snow dank ik voor hun begeleiding in de laatste fase van de totstandkoming van het manuscript. De leden van de promotiecommissie, prof. dr. T. Sminia, prof. dr. E.C.M. Hoefsmit, prof. dr. A.J.P. Veerman, prof. dr. R. Benner, prof. dr. H.M. Jansen en prof. dr. P. van Cauwenberge dank ik voor de tijd die zij hebben willen steken in het doorlezen van het manuscript.

Prof. dr. Jan Oort, ten tijde van dit onderzoek hoofd van de afdelingen Klinische Immunologie en Experimentele Pathologie, dank ik voor de gelegenheid om met een deeltijd-aanstelling onderzoek te doen.

Zeer veel dank verdient Marjan Kleingeld voor haar grote en enthousiaste bijdrage aan het onderzoek, met name bij de ontvangst van de patienten en het zetten en aflezen van de huidtesten.

Hans Leezenberg ben ik zeer erkentelijk voor het doorverwijzen van zijn patienten met recidiverende chronische purulente rhinosinusitis.

Rita Sluiter dank ik voor het helpen bereiden van somatisch H. influenzae antigeen in de beginfase van het onderzoek; Louise de Groot voor het uitvoeren van zeer veel testen; Odette Pos voor haar bijdrage aan het opzetten van de MIF-test; Meeny de Haan-Meulman voor het uitvoeren van polarisatietesten; Jan de Groot voor assistentie bij het proefdierwerk, en last but not least Maarten Tas voor de vele p15E experimenten.

Ylva Abraham-Dolman en Carla van Rijn ben ik zeer dankbaar voor de snelle en accurate wijze waarop zij vaak in recordtijd het typewerk wisten te verrichten.

De medewerkers van de afdeling Medische Microbiologie (hoofd prof. dr. D. McLaren), destijds nog onze "bovenburen" op de derde etage van het Pathologisch Instituut dank ik voor de bereiding van een aanzienlijke hoeveelheid voedingsbodems voor H. influenzae, en de inschikkelijkheid (ook letterlijk!) bij de antigeenbereiding.

Voor de fotografie gaat mijn dank naar Hans Oskam en Jaap van Veldhuizen.

Met Mary von Blomberg-van der Flier en Ton van Maarsseveen mocht ik