

**IMMUNREGULÁCIÓ KÍSÉRLETES ENCEPHALOMYELITISBEN:**

**AZ NKT SEJTEK SZEREPE**

**Ph.D. tézisek**

**DR. PÁL ENDRE**

**PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM  
Általános Orvostudományi Kar  
NEUROLÓGIAI KLINIKA**

**2001**

## **Bevezetés**

A sclerosis multiplex (SM) a központi idegrendszer egyik leggyakoribb szerzett megbetegedése (Kurland, 1982). Az SM pontos patomechanizmusa nem ismert. A jelenleg elfogadott elmélet szerint a betegséget az élet korai szakaszában elszenvedett (vírus) infekció indítja el. Ezt követően alakul ki elsősorban celluláris, másodsorban humorális immunválasz – autoimmun reakció – a központi idegrendszer myelin antigénjeivel (Myelin oligodendrocita glycoprotein [MOG], Proteolipid protein [PLP], Myelin asszociált glycoprotein [MAG], Myelin bázikus protein [MBP]) szemben (Gran 1999, Fazekas 2000). A környezeti hatások mellett genetikai tényezők, elsősorban bizonyos MHC-II allélek asszociációja is ismertek (Marcadet 1985). A patológiai folyamat alapvető jellemzője a myelinhüvely destrukciója. Az axonok a betegség kezdetén rendszerint megkíméltek, a tünetek előrehaladásával azonban egyre inkább károsodnak (Raine 1984). Egyes kutatók szerint a patológiai folyamat alapján a betegség altípusokra osztható, annak alapján, hogy a myelinhüvely és az axonok milyen arányban érintettek (Lassmann 1998).

## **Előzmények, célkitűzések**

A spontán kialakuló SM-hez hasonló, állatokban előforduló betegséget nem ismerünk. A kísérletes encephalomyelitis (EAE) alapja a különböző egérpatkány, vagy tengerimalac törzsek immunizációja myelin antigénekkal (aktív EAE), vagy encephalitogén T sejtek átvitele fogékony törzsekbe (passzív EAE) (Weller 1991). A betegség kiváltásában alapvető szerepet játszanak Th1 fenotípusú CD4<sup>+</sup> T sejtek (Alvord 1984), azonban a szöveti károsodás előidézésében számos más effektor sejtpopuláció (B sejtek, makrofágok, NK sejtek) és citotoxinok (TNF $\alpha$ , Fas-FasL, perforin, proteolitikus enzimek, stb.) is szerepet játszanak. A központi idegrendszer állandó rezidensei (neuron, mikrogliá, asztrocita) és az immunreakció során bejutott sejtek között bonyolult kölcsönhatás alakul ki.

Az autoimmunitás kutatása az utóbbi években új fordulatot vett. Az autoreaktív sejtek tanulmányozása mellett egyéb, regulációs funkcióval rendelkező sejtpopulációk kerültek a vizsgálatok középpontjába, mint a  $\gamma\delta$  T sejtek, NK és NKT sejtek (Rajan 1996, Zhang 1997, Sakaguchi 1995, Falcone 1999).

Az NK sejtek IFN- $\gamma$  termelése révén a Th1 típusú differenciálódást segítik elő (Arase 1996). Az NKT sejtek képesek mind Th1 (IFN- $\gamma$ ), Th2 (IL-4) és Th3 (TGF $\beta$ ) citokinek termelésére, ezáltal szerepet játszhatnak az immunológiai folyamatok szabályozásában (Chen 1997). Az NKT sejteknek EAE-ben játszott szerepe ezideig nem ismert. Nem tudjuk, hogy antigén stimulációt követően mikor, hogyan aktiválódnak és mely irányba befolyásolják az autoimmun folyamatot. Nem ismert szerepük a helyi (központi idegrendszeri) szövetkárosodásban sem.

Munkánk célja az NK és NKT sejtek szerepének vizsgálata volt EAE-ben. Ennek gyakorlati alapját az képezte, hogy SM-ben (Illés 2000) és más autoimmun betegségekben is (diabetes, thyroiditis) leírták a fenti sejtpopulációk eltéréseit (számuk csökkenését, illetve funkcionális defektust; Gombert 1996, Falcone 1999, Pál 1997). Az NKT sejtek hiánya szerepet játszhat egyes egértörzsek fokozott EAE-iránti fogékonyságában (Yoshimoto 1995) is. Alapvető fontosságúak a tumor ellenes immunitásban (Tamada 1997, Bendelac 1997, Smyth 2000), bizonyos kórokozók elleni védelemben (Tamada 1997, Naiki 1999), toleranciában (Sonoda 1999) és a graft versus host betegségben (Zeng 1999) is igazolták szerepüket.

## **Módszerek:**

### EAE (Kísérletes encephalomyelitis létrehozása)

C57BL/6 (B6) egértörzsben tanulmányoztuk a myelin oligodendrocyte glycoprotein (**MOG**)<sub>35-55</sub> peptid immunizációval előidézett EAE-t (Zhang 1997). Valamennyi kísérlethez 6-12 hetes beltenyésztett, patogén-mentes környezetben tartott nőstény egereket használtunk. Kétszer történt immunizáció (0. és 7. napon) MOG + Komplet Freund adjuváns 1:1 arányú keverékével, melyet az állatok minkét hátsó láb talppárnájába, szubkután adtunk be. Négyyszer adtunk pertussis toxint (0., 2., 7., 9. napon), mely az immunválasz felerősítését és a vér-agy gát átjárhatóságát segítette elő. Az ismertett protokoll alkalmazásával jól reprodukálható, enyhe lefolyású, monofázisos betegséget sikerült előidézni. A klinikai tüneteket 0-6 pontos pozitív skálán osztályoztuk.

### Az NK és NKT sejtek szerepének indirekt vizsgálata

Az NK sejteket asialo-GM1 antitest alkalmazásával távolítottuk el az immunizációt megelőzően. Az NKT sejtek szerepét knockout (KO) ereken tanulmányoztuk. Az NKT sejtek többsége a J $\alpha$ 281-V $\alpha$ 14 invariáns T sejt receptort (TCR) expresszálja. E gén kiütésével létrehozott egerekben az NKT sejtek többsége hiányzik (Bendelac 1997, Cui 1999), így szerepük vizsgálható.

### In vitro vizsgálatok

Flow cytometria felhasználásával vizsgáltuk a lép NK (NK1.1+, CD3-) és NKT (NK1.1+, CD3+) sejtjeinek számát, valamint citotoxicus aktivitását (YAC-1 sejtek felhasználásával) az EAE során, különböző időpontokban.

## Az NKT sejt aktiváció tanulmányozása

A közelmúltban felfedezett glycolipid,  $\alpha$ -galactosylceramide (GC) szelektíven képes az NKT sejteket aktiválni (Kawano 1997). Intraperitonealis GC injekciót követően szérumot gyűjtöttünk, amelyből ELISA módszerrel határoztunk meg citokineket. Normális lépsejt kultúrákban tanulmányoztuk a GC hatását (sejtprolifерáció, citokin termelés, citotoxikus aktivitás). Az aktiváció mechanizmusának vizsgálatára különböző blokkoló antitesteket adtunk a kultúrákhoz, majd a sejtek proliferációját ( $^3\text{H}$ -Timidin beépülés) és citokin termelését vizsgáltuk (ELISA). Ugyancsak tanulmányoztuk a különböző szövetek (máj, lép, thymus, csontvelő és agyszövet) NKT sejtjeit, illetve antigén prezentáló képességét. Citokin ellenes antitestek és rekombináns citokinek felhasználásával a szolúbilis faktorok szerepét vizsgáltuk.

Ismételt GC stimulációval, és a GC-specifikus sejtek szelekciójával hosszú távú sejtvonalakat állítottunk elő a GC hatás további tanulmányozására, meghatároztuk ezek fenotípusát és funkcionális sajátosságait.

EAE indukciót követően az egereket GC-vel kezeltük, és a klinikai tünetekre gyakorolt hatást elemeztük. Citokin knockout állatok felhasználásával a citokinek szerepére kerestünk választ.

Ex vivo kezelt APC sejtek beadásával az EAE immunológiai folyamatait és klinikai lefolyását próbáltuk módosítani az NKT sejtek aktiválásán keresztül.

## Statisztikai módszerek

Az in vivo kísérleteket Mann-Whitney teszttel, míg az in vitro adatokat kétmintás T próba felhasználásával hasonlítottuk össze.

## Eredmények

### Az NK és NKT sejtek protektív szerepet játszanak az EAE-ben

Klinikai vizsgálataink bizonyították, hogy az NK-sejtekkel kapcsolatos citotoxikus aktivitás változó SM betegekben, azonban határozottan csökken a relapszusok során. Fontos megjegyezni, hogy ezen eredményeket számos más körülmény, mint genetikai faktorok (HLA konfiguráció) és lelki tényezők (depresszió) is befolyásolja. Ezek kiküszöbölésére alkalmasak a beltenyésztett állattörzsek, melyek azonos genetikai háttérrel rendelkeznek. Állatkísérletekben az NK sejtek eltávolítása súlyos klinikai tünetekkel járó, progresszív klinikai tünetekkel jellemezhető betegséget eredményezett, mely az állatok többségének pusztulásával járt ( $p < 0.01$ ). Flow cytometriás mérések bizonyították, hogy a remisszió során az NK és NKT sejtek száma emelkedik, bár a citotoxikus aktivitás változatlan marad. Mindezek az eredmények támogatják a hipotézist, amely szerint az NK sejtek protektív szerepet játszanak az általunk tanulmányozott autoimmun betegségekben, szerepük elsősorban az effektor fázis szabályozásában lehet.

Az NKT sejtek protektív szerepét ismertették NOD egerekben. SM-ben szerepük nem ismert, bár a közelmúltban közölte kutatócsoportunk az NKT sejt-klónok alacsonyabb előfordulását SM-ben (Illés 2000). NKT ( $V\alpha 14-J\alpha 281^{-/-}$ ) knockout egerekben az EAE súlyossága nem változott, azonban az első tünetek szignifikánsan korábban kezdődtek, azaz a betegség tartama meghosszabbodott ( $p < 0,01$ ). Ezen indirekt adatok alapján arra következtettünk, hogy az NKT sejtek is szuppresszív hatást fejtenek ki az autoimmun folyamatra, azonban a hatás ideje és mechanizmusa eltérő az NK sejtektől, azaz az NKT sejtek az indukciós fázist befolyásolhatják.

### Az NKT sejtek aktiválódásának mechanizmusa

Továbbiakban a GC-aktivált NKT sejteket tanulmányoztuk. Vad típusú egerekben intraperitoneális GC injekciót követően a citokinek szekvenciális termelése mutatható ki a szérumban. A legkorábban az IL-4 (max. 2h) termelődik, majd IL-12 (max. 6h) és végül a legnagyobb mennyiségben és legtartósabban IFN- $\gamma$  mutatható ki (2-48h, max. 12h). A fenti változások nem igazolhatók NKT knockout egerekben, ami bizonyítja, hogy a hatás az NKT sejtekkel kapcsolatos. Az immunizációt követő in vivo GC kezelés várakozásunk ellenére nem befolyásolta az EAE lefolyását, feltehetően azért mert a vad típusú egerekben mind Th1, (IFN- $\gamma$ ) mind Th2 (IL-4) citokinek termelődnek, így ezek egyensúlya nem változik meg. Ezzel szemben az EAE IL-4 knockout egerekben súlyosabb lefolyású volt, míg az IFN- $\gamma$  knockout egerekben enyhébb tünetekkel járt, amelyet in vitro kísérleteink szerint azzal magyarázhatunk, hogy ezen egértörzsekben az NKT sejtek citokin termelése korlátozott (csak IFN- $\gamma$  [IL-4 KO], illetve csak IL-4 [IFN- $\gamma$  KO]) termelődik, amely az EAE megfelelő irányú változását eredményezi.

Eredményeink bizonyították, hogy az NKT sejtek effektív immunregulációs képességgel rendelkeznek, mivel mind Th1 és Th2 típusú citokinek termelésére képesek (GC adása in vitro kultúrában IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-12, sejtvonalak esetében a fentiekén túl IL-10 termelését idézi elő). Feltettük a kérdést, milyen módon lehetne elérni az NKT sejtek polarizált aktiválódását, amellyel csak IFN- $\gamma$ , vagy csak IL-4 termelését stimulálnánk vad típusú egerekben. A hagyományos T sejtek irodalmát áttekintve az egyik legjobban ismert és tanulmányozott módszer a kostimulációs szignálok befolyásolása (Kuchroo 1995). A konvencionális T sejtek analógiájára megvizsgáltuk számos blokkoló antitest hatását a GC-kiváltotta NKT stimulációra. Eredményeink szerint a CD3-TCR kölcsönhatás blokkolása teljesen, az NK1.1 receptor gátlása részlegesen blokkolta az NKT sejtek aktiválódását, mind az IFN- $\gamma$ , mind az IL-4 termelését. A kostimulációs kölcsönhatások közül néhány jól ismert, a hagyományos T sejtek kostimulációjában fontos szerepet játszó antitestet (anti-B7.1/B7.2 [CD80/CD86] és anti CD40) választottunk ki a

további kísérletekhez, mivel ezeknél tapasztaltunk a Th0 fenotípus Th1, illetve Th2 irányú eltolódását (az IFN- $\gamma$ /IL-4 arány megváltozását). A B7.1 kölcsönhatás blokkolása nem befolyásolta a GC hatását és nem változtatta meg az NKT sejtek fenotípusát. Ezzel szemben a B7.2 blokkolás Th2 irányú eltolódást eredményezett, elsősorban az IFN- $\gamma$  termelés gátlása révén. A CD40-CD40L interakció blokkolása ellenkező eredményt hozott: az IL-4 termelés csökkenését és a fenotípus Th1 irányú eltolódását. A B7 blokkolással nyert eredmények lényegesen különböznek a hagyományos T sejtek esetében ismert mechanizmustól: a Th0 sejtek aktiválása a B7.1 útvonalon keresztül Th1, a B7.2 útvonalon keresztül Th2 irányú polarizációt indít el (Kuchroo 1995), ezzel szemben mi a B7.2 egyedüli, ellenkező irányú szerepét találtuk az IFN- $\gamma$  termelés szabályozásában.

#### Az NKT sejtek szerepének in vivo tanulmányozása és befolyásolása

A következőkben arra kerestük a választ, hogyan alkalmazhatjuk fenti eredményeinket az EAE szabályozásában. Egyik lehetőség a fenti blokkoló antitestek szisztémás beadása az immunizáció idején. Ezt a lehetőséget elvetettük, ugyanis ez nemcsak az NKT sejtek aktiválódását, de a konvencionális, a betegség előidézéséért felelős encephalitogén T sejtek aktiválódását, polarizálódását is befolyásolná (ellentétes irányba: pl. anti-B7.2 a konvencionális T sejteket Th1, az NKT sejteket Th2 irányba). Ezen korlátok miatt egy másik NKT aktiválási módszert dolgoztunk ki. Irradiált (és/vagy) fixált normális lép sejteket in vitro GC-vel és blokkoló antitestekkel inkubáltuk együtt 4 óráig, majd többszörös mosást követően az így előkezelt sejteket, mint antigén prezentáló sejteket (APC) jutattuk a szervezetbe. Feltételezéseink szerint ez a sejt-preparátum csak az NKT sejteket aktiválja a beadás után (mivel csak azok képesek a GC-t felismerni). Kontrollként az APC-t kezelés nélkül, csak antitest-kezelés, csak GC kezelés után, illetve GC+B7.1 kezelés után juttattuk immunizált egerekbe. Valamennyi említett a kontroll csoport esetében az EAE lefolyása, súlyossága nem változott. Ezzel szemben a GC+B7.2 kezelt csoportban csak az állatok fele betegedett meg, és a betegség rövidebb lefolyású volt. Mindezeket együttevén az átlagos



score és a kumulatív score is szignifikánsan csökkent az említett csoportban ( $p < 0.05$ ). Ezzel ellentétben anti-CD40 kezelt APC beadása az EAE klinikai tüneteinek súlyosbodását idézte elő ( $p < 0.05$ ). Mindemellett a betegség kezdete 10 nappal eltolódott és nem volt remisszió a kezelt csoportban. Nem tudtunk hatást kimutatni NKT KO egerek APC és/vagy antitest kezelésével, mely indirekt módon bizonyítja az NKT sejtek kulcsszerepét.

A Th egyensúly eltolódását az IgG izotípus titerének megváltozásával támasztottuk alá. Az EAE 30. napján, a klinikai tünetek csúcspontján az egerek szérumból meghatároztuk a MOG-specifikus IgG1-et és IgG2a-t. Az eredmények azt mutatták, hogy a kontroll, kezeletlen egerekben igen alacsony titer volt mérhető. Anti-B7.2-APC kezelés hatására az IgG1 jelentős emelkedést mutatott, ami a humorális immunválasz Th2 irányú eltolódását jelezte. Anti-CD40 kezelés nem eredményezett szignifikáns eltérést az izotípus-titerekben.

#### Az NKT sejtek és antigén prezentáló sejtek kölcsönhatása

További vizsgálatainkban az NKT-APC kölcsönhatást tanulmányoztuk. In vitro és in vivo körülmények között is kimutattuk, hogy az APC felszínén - elsősorban a B sejteken - a B7.2 szelektív és szignifikáns up-regulációja jelentkezik néhány órával a stimuláció kezdetét követően. B7.1 részéről nem találtunk számottevő változást 48-72 óra múlva sem. Rekombináns citokinek és anti-IFN- $\gamma$ , anti-IL-4 blokkoló antitestek felhasználásával bizonyítottuk, hogy ezen folyamatban esszenciális az NKT sejtekből felszabaduló IL-4 és IFN- $\gamma$  együttes hatása (paracrin szabályozás).

Kimutattuk továbbá, hogy GC stimuláció csak lép és perifériás vér NKT sejtjeit aktiválja, míg a thymus és máj NKT sejtek nem reagálnak. A májsejtek képesek az antigén prezentálására, addig a thymus sejtjei nem, ami az NKT sejt aktiváció szöveti specifitására hívja fel a figyelmet. Nem sikerült kimutatnunk NKT sejteket EAE-s egér agyából, illetve agyszövet-kultúra sejtjei nem voltak képesek NKT sejtvonalaknak a GC-t prezentálni. Ennek ellenére nem zárjuk ki, hogy az NKT sejtek részt vehetnek az autoimmun reakció helyi szabályozásában, ehhez további kísérletek szükségesek.

### GC-specifikus NKT sejt vonalak

Az említett módon létrehozott és fenntartott GC-specifikus sejt vonalak tanulmányozása meglepő eredményeket hozott. A sejtek fele-fele arányban voltak dupla negatívak és CD8<sup>+</sup>-ak. Egy kivétellel Th1 fenotípust mutattak, amely IFN- $\gamma$  termelésben nyilvánult meg. Az NKT sejt vonalakat immunizált egérbe juttatva mindössze 1 esetben tapasztaltunk változást (súlyosbodást) a klinikai tünetekben, ebben az esetben az igen jelentős IFN- $\gamma$  termelő képesség szolgálhat magyarázatul.

### GC kezelés hatása passzív EAE-re

MOG<sub>35-55</sub> specifikus T sejtek beadása ( $1 \times 10^7$ /egér) általában nem idézett elő EAE-t a B6 törzsből. Mind a T sejtek, mind a recipiensek GC kezelése elősegítette az EAE kialakulását, ami arra utal, hogy a GC-aktivált NKT sejtek a betegség effektor fázisát is befolyásolják, ennek pontos mechanizmusa nem ismert.

### **Megbeszélés**

Eredményeink új lehetőséget kínálnak az autoimmun betegségek, köztük az SM kezelésében. Eredményeink közül kiemelendő, hogy az immunológiai folyamatok természetes szabályozásában szerepet játszó NKT sejtek aktiválásán keresztül jutottunk el az EAE befolyásolásához. A számos in vitro tanulmányt követően a GC kezelés kezdeti lépéseit teszik meg napjainkban a humán tumorok kezelésében. Munkánkban elsőként alkalmaztuk a GC kezelést autoimmun betegségben. Mivel megelőző in vitro adatok bizonyították, hogy a GC alkalmas nemcsak egér, de humán NKT sejtek aktivációjára is, az általunk alkalmazott ex vivo APC kezelés ígéretes alternatíva lehet az SM kezelésében, amint azt tumorok esetében is kipróbálták (Toura 1999).

Eredményeink arra utalnak, hogy az NKT sejtek nemcsak fejlődésükben (thymicus és extrathymicus) és fenotípus (aktivációs markerek folyamatos expressziója) tekintetében különböznek a hagyományos T sejtektől, de funkciójuk is eltérő. Példa erre ellenállásuk a corticosteroidok okozta apoptosissal szemben (Milner 1999).

Elsőként írtuk le GC specifikus NKT sejt vonalak jellemzőit. Ezek felhasználásával az NKT sejtek működése tovább tanulmányozható, különös tekintettel a szokatlan CD8 expresszióra, melynek oka és jelentősége egyelőre ismeretlen, lehet, hogy a GC, mint antigén, vagy a B7.2 domináns szerepének a következménye (Yu 2000).

## Összefoglalás

Kísérleteink bizonyítják, hogy az NKT sejtek – hasonlóan más autoimmun betegségekhez – szerepet játszanak az EAE immunológiai folyamatainak szabályozásában.

1. Az NKT sejtek eltávolítása a klinikai tünetek korai megjelenéséhez vezetett, ugyanakkor azok súlyossága és a gyógyulási hajlam nem változott. E jelenség az NKT sejtek protektív szerepére utal az EAE indukciós fázisában.
2. A GC-aktivált NKT sejtek többféle citokint termelnek és citotoxikus hatást fejtenek ki. Az NKT sejtek szabályozó funkciója a termelt citokinek (IFN- $\gamma$ /IL-4) arányától függ.
3. A citokin termelés aránya a ko-stimuláción keresztül befolyásolható: CD 40 blokkolás az IFN- $\gamma$ /IL-4 arány növekedéséhez, Th1 irányú deviációhoz és a klinikai tünetek súlyosbodásához vezet, míg B7.2 blokkolás az IFN- $\gamma$ /IL-4 arány csökkenését, Th2 irányú deviációt és az EAE enyhébb lefolyását idézi elő.
4. A passzív EAE kísérletek alapján az NKT sejtek szerepet játszhatnak az effektor fázisban is, ennek pontos mechanizmusa nem világos, további vizsgálatokat igényel.
5. A GC kezelés szelektíven aktiválja az NKT sejteket, azonban (az NKT sejteken keresztül) más sejtfeleségek aktivált állapota is kialakul: B sejtek (és monociták, dendritikus sejtek) felszínén B7.2 (és más aktivációs markerek) expressziója és IL-12 termelés mutatható ki. A fenti eredmények felhasználásával kidolgoztunk egy módszert, amelynek során *in vitro* GC-vel és blokkoló antitestekkel kezelt APC sejtek beadásával – az NKT sejtek citokin termelésének modulációján keresztül – az EAE hatásosan befolyásolható. A módszer biztonságos alternatívát jelenthet a humán autoimmun, allergiás és daganatos betegségek kezelésében.

## Cikkek és Előadások jegyzéke

### Cikkek:

Lázár Gy., Pál E. Cells of origin and termination of some rhombencephalic ascending pathways in the frog. *Eurol. J. Neurosci.* 1992, S4, 33.

Vécsei L. Pál E. Újabb adatok a neurodegeneratív kórképek és néhány izombetegség pathogeneziséhez: terápiás perspektívák. *Orv. Hetil.* 1993, 134, 1683-1687.

Pál E., Szekeres V., Vécsei L. Ophthalmoplegia herpes zosterben: klinikai áttekintés két eset kapcsán. *Orv. Hetil.* 1993, 134, 1927-1930.

Tóth P., Lázár Gy., Wang S., Li T., Xu J., Pál E., Straznicky C. The contralaterally projecting neurons of the isthmic nucleus in five anuran species: a retrograde tracing study with HRP and cobalt. *J. Comp. Neurol.* 1994, 346, 306-320.

Lázár Gy., Pál E. Removal of cobalt-labeled neurons and nerve fibers by microglia from the frog's brain and spinal cord. *Glia*, 1996, 16, 101-107.

Pál E., Varjú G., Vécsei L., Szekeres J. Pálffy Gy. Natural killer (természetes ölősejt) aktivitás sclerosis multiplexes betegekben. *Orv. Hetil.* 1997, 138, 3167-3170.

Pál E., Magyar H., Szapáry L. Az arteria vertebralis duplex ultrahang vizsgálata. *LAM* 1997, 7, 472-477.

Szapári L., Pál E., Illés Zs., Nádor Gy., Kasó G., Czopf J. Spontán cerebelláris vérzések. *Ideggy. Szle.* 1998, 51, 163-169.

Pál E., Barta Z., Nagy F., Wágner M., Vécsei L. Neuroborreliosis in county Baranya, Hungary. *Functional Neurology.* 1998, 13, 37-46.

Pál E., Antalicz M., Bedekovics T., Gáti I. A Kearns-Sayre-szindróma klinikai elemzése. *Ideggy. Szle.* 1998, 51, 220-226.

Pál E., Bedekovics T, Gáti I. Familial scapulooperoneal myopathy and mitochondrial DNA defect. *Eur. Neurol.* 1999, 42, 211-216.

Lázár Gy., Pál E. Neuronal connections through the posterior commissure in the frog *Rana esculenta*. *J. Brain Res.* 1999, 39, 369-374.

Pál E., Yamamura T., Tabira T. Autonomic regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis in IL-4 knockout mice. *J. Neuroimmunol.* 1999, 100, 149-155.

Pál E., Tabira T., Taniguchi M., Yamamura T. Treatment of experimental autoimmune encephalomyelitis by activation of NKT cells with glycolipid. Neuroimmunology (Japan), 2000, 8, 52-53.

Pál E., Kawano T., Taniguchi M., Sachiko M., Tabira T., Yamamura T. Costimulation-dependent modulation of experimental autoimmune encephalomyelitis by ligand stimulation of V $\alpha$ 14 NK T cells. J. Immunol. 2001, 166, 662-668.

Pál E., Kawano T., Taniguchi M., Sachiko M., Tabira T., Yamamura T. Glycolipid-specific NKT cell lines acquire CD8+ phenotype and secrete high amount of IFN- $\gamma$ . J. Immunol., közlésre elküldve.

### **Előadások, poszterek**

Pál E., Szekeres V., Vécsei L. Ophthalmoplegia herpes zoosterben. Fialat Neurológusok fóruma, Szeged, 1992.

Pál E., Varjú G., Szekeres J., Pálffy Gy. Correlation between depression, disability and NK cell activity in MS patients. IFMSS, Medical satellite Symposium, Budapest, 1994.

Pál E., Varjú G., Szekeres J., Pálffy Gy., Vécsei L. A pszichés, neurológiai tünetek és az NK aktivitás összefüggése Sclerosis multiplexes betegekben. MIÉT konferencia, Budapest, 1995.

Pál E., Gáti I., Bedekovics T. Felnőttkori mitokondriális myopathiák szövettani és molekuláris genetikai vizsgálata. Fialat Neurológusok Fóruma, Szombathely, 1995.

Pál E., Magyar H., Szapáry L. Az arteria vertebralis duplex ultrahang vizsgálata. Fialat Neurológusok fóruma. Miskolc, 1996.

Pál E. A mitokondriális myopathiák klinikai vizsgálata. Neuropathológusok I. Szekszárdi találkozója. Szekszárd, 1996.

Pál E., Gáti I., Bedekovics T. Adulthood mitochondrial myopathies. Third International Congress of WHMA, Pécs, 1996.

Pál E., Bedekovics T., Gáti I. Familial scapuloperoneal syndrome and mitochondrial DNA defect. Second congress of the EFNS, Roma, 1996 (Eur. J. Neurol. 1996, 3, S5, 207).

Pál E., Gáti I. Familiáris scapuloperoneális szindróma. Neurogenetikai Konferencia, Szombathely, 1997.

Pál E., Bedekovics T., Gáti I. Kearns-Sayre szindrómás betegeink ismertetése. Fialat Neurológusok Fóruma. Vác, 1997.

Pál E. NKT cell ligand and EAE. International symposium "Immunoregulation and Multiple sclerosis - Basic understanding and therapeutic implications". National Institute of Neuroscience, NCNP, Tokyo, November 18, 1998.

Pál E., Yamamura T., Tabira T. Sympathetic nervous system modulation of the development of experimental allergic encephalomyelitis. Annual meeting of Japanese Society for Immunology, Kobe, November 30-December 3, 1998.

Pál E., Yamamura T., Tabira T. The role of sympathetic nervous system in the induction of EAE. Annual meeting of Japanese Neurological Association, Tokyo, May 19, 1999.

Pál E., Yamamura T. The effects of glycolipids on EAE. Annual meeting of Japanese Neurological Association, Tokyo, February 3-5, 2000.