

Cytokinen en immunotherapie bij infectieziekten

J.W.M.VAN DER MEER, M.G.NETEA EN B.J.KULLBERG

Cytokinen zijn essentiële mediators in fysiologische en pathologische processen; ze brengen onder zeer uiteenlopende omstandigheden signalen over tussen cellen. Vrijwel alle bekende cytokinen blijken behalve nuttige en beschermende effecten ook een schadelijke uitwerking te hebben. Dergelijke schade treedt bijvoorbeeld op tijdens sepsis, waarbij onder invloed van microbiële producten een grote hoeveelheid cytokinen wordt gevormd die leidt tot een soms dodelijke weefselschade: de letale cytokinemie.¹ Deze cytokinen worden proïnfammatoire cytokinen genoemd; hun effecten worden geremd door de zogenaamde anti-inflammatoire cytokinen. Behalve door deze anti-inflammatoire cytokinen wordt de proïnfammatoire respons geremd door vrij in de circulatie aanwezige (oplosbare) receptoren en andere mediators (tabel 1).

Op het eerste gezicht zou men menen dat vooral de proïnfammatoire cytokinen onder omstandigheden schadelijk zijn. De anti-inflammatoire cytokinen kunnen echter ook schadelijke effecten hebben, zoals het remmen van de afweer tegen infecties. Er is derhalve geen simpele dichotomie tussen de gunstige en de ongunstige effecten van cytokinen. De koortsreactie is hiervan een goed voorbeeld.

Koorts. Koorts wordt teweeggebracht door proïnfammatoire cytokinen.² Bij koorts functioneert een aantal afweermechanismen beter, zoals de fagocytenfunctie tegen bacteriële verwekkers, terwijl andere effectormechanismen worden geremd. Dit laatste geldt voor de functie van 'natural killer'(NK)-cellen die deel uitmaken van de antivirale afweer.^{3,4} De door cytokinen teweeggebrachte koortsreactie lijkt dus gunstig tijdens een bacteriële infectie, maar zou minder gunstig kunnen zijn tijdens een virale infectie.

PATRONEN VAN CYTOKINERESPONS

Pro- en anti-inflammatoire cytokinen komen naast elkaar voor. Sterker nog: de proïnfammatoire cytokinerespons is ten dele verantwoordelijk voor de productie van de remmende cytokinen en mediators. Min of meer parallel aan het concept van pro- en anti-inflammatoire cytokinerespons zoals wij dat hier hanteren, bestaat er een tweede concept, te weten de balans tussen T-helper-1- en -2-cellen.⁵ Enerzijds zijn er T-helper-1(Th1)-lymfocyten die cytokinen maken of induceren die de cellulaire immuniteit bevorderen, zoals interleukine-2 (IL-2), IL-12 en interferon- γ (IFN γ). Daarnaast zijn er T-helper-

SAMENVATTING

- Cytokinen zijn essentiële mediators tijdens infectie en ontsteking.
- Vrijwel alle cytokinen hebben behalve nuttige ook schadelijke effecten: de proïnfammatoire cytokinen die vrijkomen tijdens ernstige infecties leiden in hoge concentraties tot orgaanschade en dood. De antagoniserende anti-inflammatoire cytokinen remmen de afweer tegen infecties.
- Immunotherapie door modulatie van de cytokinerespons kan zich richten op remming van de proïnfammatoire en versterking van de anti-inflammatoire cytokinerespons, om de inflammatoire schade te beperken. Bij patiënten met sepsis was dit voorsnog weinig succesvol, waarschijnlijk door de multipale effecten van de cytokinen. Remming van proïnfammatoire cytokinen had wel succes bij patiënten met reumatoïde artritis of de ziekte van Crohn.
- Een andere mogelijkheid richt zich juist op de versterking van de proïnfammatoire en remming van de anti-inflammatoire cytokinerespons om de gastheerweerstand te verhogen. Bij een beperkt aantal infecties worden hiermee gunstige resultaten bereikt.

2(Th2)-cellen die de afweer remmen en IL-4, IL-5 en IL-10 produceren. Dit Th1-Th2-concept is nuttig om op een simpele wijze veelvoorkomende cytokinepatronen inzichtelijk te maken, vooral bij ziekten waar de cellulaire immuniteit van belang is. Echter, bij infecties waarbij granulocyten of humorale afweer cruciaal zijn (sepsis, bacteriële pneumonie) is het minder toepasbaar en bovendien is er een aantal bezwaren tegen dit concept: (a) een strikte dichotomie, zoals oorspronkelijk gesuggereerd, komt in vrijwel geen enkele situatie voor en berust op een oversimplificatie van de werkelijkheid;⁶ doordat er in vele klinische situaties zowel Th1- als Th2-cytokinen worden gevonden, verliest het concept aan betekenis; (b) het refereren aan de 2 typen T-helpercellen doet geen recht aan het feit dat behalve T-lymfocyten een groot aantal andere celtypen cytokinen maakt: macrofagen, granulocyten, NK-cellen, endotheel-, mast- en epitheelcellen; (c) het concept doet weinig recht aan de sequentiële productie van pro- en anti-inflammatoire cytokinen.

MODULATIE VAN CYTOKINEN

Bij de behandeling van patiënten kan men de modulatie van de cytokineproductie onderzoeken. Men realiseert zich dat dergelijke interventies ingrijpen in de delicate balans van cytokinen en kunnen leiden tot ernstige verstoringen. Voor het ingrijpen in de cytokinestatus van patiënten zijn er 4 mogelijkheden: (a) versterking van de proïnfammatoire cytokinerespons om de gastheerweerstand te verhogen; (b) vermindering van de anti-inflammatoire cytokinerespons om de effecten van de proïnf-

Academisch Ziekenhuis, afd. Algemeen Interne Geneeskunde, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen.

Prof.dr.J.W.M.van der Meer en dr.B.J.Kullberg, internisten-infectiologen; dr.M.G.Netea, assistent-geneeskundige.

Correspondentieadres: dr.B.J.Kullberg.

TABEL 1. De belangrijkste cytokinen en enkele remmers van cytokinen

stof	belangrijkste effecten	pro-inflammatoir	anti-inflammatoir
<i>cytokinen</i>			
IL-1 α - β	koorts, acutefaserespons, slaap, anorexie, activatie van B- en T-lymfocyten en endotheel, inductie van andere cytokinen		
IL-2	activatie van T-lymfocyten	++	+
IL-4	proliferatie en activatie van B-lymfocyten, IgE- en IgG ₁ -productie		++
IL-5	proliferatie en activatie van eosinofiele granulocyten		+
IL-6	groei en differentiatie van B-lymfocyten; synthese van acutefase-eiwitten	+	+
IL-8	chemotaxie en activatie van granulocyten en mestcellen	++	
IL-10	remming van TNF-synthese		++
IL-12	aanzetting van IFN γ -synthese	++	
IL-18	aanzetting van IFN γ -synthese	++	
TNF α - β	koorts, acutefaserespons, slaap, anorexie, activatie van granulocyten en endotheel, inductie van andere cytokinen		
IFN α - β	antivirale werking; activatie van macrofagen, granulocyten, NK-cellen	+	+
IFN γ	sterke activatie van macrofagen en granulocyten	++	+
G-CSF	groei en activatie van granulocyten, remming van cytokinen	+	++
GM-CSF	groei en activatie van macrofagen en granulocyten, stimulatie van cytokinen	++	
<i>remmers</i>			
IL-1ra	remming van effecten van IL-1		+
sTNF-R*	remming van effecten van TNF		+

IL = interleukine; TNF = tumornecrosefactor; IFN = interferon; NK-cellen = 'natural killer'-cellen; G-CSF = granulocyt-koloniestimulerende factor; GM-CSF = granulocyt-macrofaagkoloniestimulerende factor; IL-1ra = IL-1-receptorantagonist.
*Oplosbare recombinant-TNF-receptor(p55 of p75)-Fc-fusie-eiwitten.

flammatore cytokinen op de gastheerweerstand te versterken; (c) vermindering van de proinflammatoire cytokinerespons om de inflammatoire schade te beperken; (d) versterking van de anti-inflammatoire cytokinerespons om de schade door proinflammatoire cytokinen te beperken.

Versterking van de proinflammatoire cytokinerespons en remming van de anti-inflammatoire respons (de eerste 2 behandelopties) zouden effectief kunnen zijn bij maligne aandoeningen en bij infecties; remming van de proinflammatoire respons en versterking van de anti-inflammatoire respons (de laatste 2 opties) zijn te overwegen bij een fulminante ontstekingsreactie, zoals sepsis.⁷ Ook overmatige niet-infectieuze ontstekingen, zoals bij reumatoïde artritis en de ziekte van Crohn, kunnen op deze wijze worden aangepakt.⁸

ANTI-INFLAMMATOIRE STRATEGIEËN

De meeste onderzoeken over moduleren van de cytokinerespons hadden betrekking op de laatstgenoemde 2 behandelopties en waren vooral gericht op remming van de proinflammatoire cytokinen tumornecrosefactor- α (TNF α) en IL-1 β of op toediening van anti-inflammatoire cytokinen zoals IL-10 (tabel 2). Hoewel deze benaderingen effectief waren in dierexperimenten, zijn de klinische onderzoeken bij patiënten met sepsis zonder uitzondering op teleurstellingen uitgelopen.¹⁸⁻²¹ De oorzaken van het falen van deze interventies zijn velerlei. Zo is het klinisch syndroom van sepsis zeer heterogeen en wordt de interventie vrijwel altijd laat in de ziekte toegepast. Optimale dosis en behandelingsduur zijn niet goed bekend doordat men bij het onderzoek in het al-

gemeen te snel overstapt op grootschalig klinisch onderzoek, zonder voldoende kennis van het biologische effect van de interventie bij de mens. Teleurstellingen ontstaan ook doordat de toelatingsautoriteiten in de VS voor sepsisonderzoeken de sterfte na 28 dagen als het belangrijkste eindpunt hanteren. Het wekt nauwelijks verbazing dat het effect van een interventie op de intensive-careafdeling na 4 weken niet meer waarneembaar is, gezien de snelle openvolging van problemen bij de daar opgenomen patiënten.

In scherp contrast met deze negatieve resultaten staan de resultaten van interventies bij patiënten met reumatoïde artritis of de ziekte van Crohn.²³⁻²⁷ Hier blijken strategieën tegen proinflammatoire cytokinen zoals TNF zeer effectief te zijn, met hoopgevende resultaten. Een mogelijk nadeel van de anti-TNF-strategieën is dat deze interventies een negatief effect kunnen hebben op de afweer tegen infecties, die immers in belangrijke mate door de proinflammatoire cytokinen wordt gereguleerd.

In diermodellen van sepsis is sterke blokkade van de proinflammatoire respons schadelijk.²⁸⁻²⁹ Dat het verminderen van de proinflammatoire respons evenmin gunstig is bij patiënten met infecties, wordt ook gesuggereerd in het onderzoek van Van Dissel et al., die een verhoogde kans op overlijden aan infecties vonden bij patiënten met van nature een geringe TNF-respons en een relatief sterk anti-inflammatoir cytokineprofiel.³⁰ Het is uit dierexperimenteel onderzoek bekend dat remming van de TNF-respons vooral ongunstig is bij infecties waarbij micro-organismen zich in granulomen (zoals mycobacteriële infecties) en abscessen bevinden.³¹⁻³³ Er

TABEL 2. Resultaten van experimentele immunotherapie van infecties bij de mens*

behandelingsstrategie	klinisch effect†	1e auteur
<i>versterking van de proïnfammatoire cytokinerespons</i>		
IL-2 bij HIV-infectie	+	Hengge, ⁹ Chun ¹⁰
IL-2 als adjuvans bij vaccinatie	?	Meuer ¹¹
IL-2 bij lepra	+	Kaplan ¹²
IFN γ bij chronisch granulomateuze ziekte	+	ICGDCSG ¹³
IFN γ bij tuberculose	?	Holland ¹⁴
IFN γ bij lepra	+	Sampaio ¹⁵
IFN γ bij leishmaniasis	+	Badaro ¹⁶
IFN γ als adjuvans bij vaccinatie	?	Quiroga ¹⁷
<i>vermindering van de anti-inflammatoire cytokinerespons</i>		
geen klinische onderzoeken verricht		
<i>vermindering van de proïnfammatoire cytokinerespons</i>		
IL-1ra bij sepsis	-	Van Deventer ¹⁸ Bone ¹⁹ Zeni ²⁰
anti-TNF-antistoffen bij sepsis	-	Van Deventer ¹⁸
oplosbare TNF-receptor p55 bij sepsis	-	Bone ¹⁹
oplosbare TNF-receptor p75 bij sepsis	-	Grau ²¹ Zeni ²⁰
<i>versterking van de anti-inflammatoire cytokinerespons</i>		
IL-10 bij HIV-infectie	+	Weissman ^{22‡}

IL = interleukine; IFN = interferon; TNF = tumornecrosefactor; IL-1ra = IL-1-receptorantagonist.
 *Niet op cytokinen gerichte therapieën zijn hier buiten beschouwing gelaten.
 †+ = gunstig effect; - = geen werkzaamheid; ? = effect onzeker.
 ‡Dr. A.S.Fauci, schriftelijke mededeling, 1996.

zouden inmiddels ook meldingen zijn van mycobacteriële infecties na anti-TNF-therapie bij de mens.

PROÏNFLAMMATOIRE STRATEGIEËN

Minder onderzoek is verricht naar de eerdergenoemde eerste twee behandelopties: de versterking van de proïnfammatoire cytokinerespons en remming van de anti-inflammatoire respons (zie tabel 2). Een behandeling die wel bij de mens goed is onderzocht, is de profylactische toediening van IFN γ bij patiënten met chronische granulomateuze ziekte, een groep zeldzame aangeboren defecten van fagocyterende cellen. Regelmatige toediening van IFN γ bleek effectief in het voorkómen van infecties met bacteriën en schimmels bij deze patiënten.¹³ Een ander voorbeeld is de toediening van lage doses IL-2 in combinatie met de intensieve antiretrovirale therapie bij patiënten met HIV-infectie.⁹⁻¹⁰ Deze behandeling lijkt het aantal latent geïnfecteerde, rustende CD4⁺-lymfocyten te verminderen en het immunologisch vermogen te verbeteren.

Op grond van uitgebreid onderzoek bij proefdieren en in vitro is stimulatie van de cellulaire immuniteit door proïnfammatoire cytokinen, vooral IFN γ , een logische therapeutische stap bij infecties die veroorzaakt worden door de zogenaamde facultatief intracellulaire micro-or-

ganismen. Dit zijn micro-organismen die alleen kunnen worden gedood door macrofagen die door cytokinen zoals IFN γ en TNF gestimuleerd zijn; voorbeelden hiervan zijn mycobacteriën, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*-soorten, schimmels als *Cryptococcus neoformans* en protozoa als *Toxoplasma gondii* en *Leishmania*-soorten. Het aantal onderzoeken die hiernaar bij patiënten zijn verricht, is gering. Er is enig onderzoek bij mycobacteriële infecties inclusief lepra,¹² en bij leishmaniasis.¹⁶

Er bestaat controverse over het nut van toediening van proïnfammatoire cytokinen als adjuvans aan dialysepatiënten met een geringe respons tegen hepatitis-B-vaccin.¹¹⁻¹⁷

Andere recombinantcytokinen met mogelijke toekomstige klinische toepassingen zijn IL-1 en granulocyt-koloniestimulerende factor (G-CSF). De werking van IL-1 is deels proïnfammatoir, met activatie van neutrofiële granulocyten, en deels anti-inflammatoir, door remming van de endogene proïnfammatoire cytokinen en hun receptoren, en daarmee van wat in de inleiding letale cytokinemie genoemd werd.¹ Ook de effecten van G-CSF zijn pleiotroop: zowel versterking van de granulocytfunctie als remming van 'cytokinemie'; in het proefdiermodel leidde dit tot een gunstiger beloop van infecties.³⁴⁻³⁵ In klinische onderzoeken had recombinant-G-CSF een gunstig effect op het beperken van orgaan schade bij patiënten met ernstige pneumonieën en een gunstig effect op het beloop en de sterfte van *Candida*-sepsis.³⁶⁻³⁷

Een belangrijk probleem bij het humane onderzoek is van ethische aard. Veel van de infecties met facultatief intracellulaire micro-organismen (tuberculose, lepra, buiktyfus, leishmaniasis) komen voor in de ontwikkelingslanden, waar de gezondheidszorg zich deze kostbare behandelingen niet kan permitteren; om die reden is onderzoek met deze middelen in ontwikkelingslanden moeilijk te rechtvaardigen.

De les die uit deze onderzoeken geleerd kan worden, is dat de stratificatie van de immuunmodulerende effecten in 4 groepen misschien theoretisch juist is, maar voor de praktijk te simpel. Met de toediening van sommige recombinantcytokinen is het enerzijds mogelijk het microbicide vermogen te versterken, terwijl er anderzijds anti-inflammatoire effecten worden opgeroepen die zich richten tegen de schadelijke proïnfammatoire cytokinerespons. Daarnaast leren de weinig succesvolle trials met anti-inflammatoire strategieën ons dat het remmen van de proïnfammatoire respons alleen niet het verwachte gunstige effect heeft. Hoewel de theorie gemakkelijk lijkt, is het toepassen van het juiste cytokine, in de juiste dosis, bij de juiste patiënt, en op het juiste tijdstip, nog allerminst eenvoudig.

ABSTRACT

Cytokines and immunotherapy of infectious diseases – Cytokines are essential mediators in infection and inflammation. Almost all cytokines have not only positive but also noxious effects: the proinflammatory cytokines released during severe infections in high concentrations lead to organ damage

and death. The antagonistic anti-inflammatory cytokines inhibit the defense against infections.

– Immunotherapy through modulation of the cytokine response may aim at inhibition of the proinflammatory and reinforcement of the anti-inflammatory cytokine response, so as to limit the damage of inflammation. In patients with sepsis this has so far been little successful, probably owing to the multiple effects of the cytokines. Inhibition of proinflammatory cytokines was successful, on the other hand, in patients with rheumatoid arthritis or Crohn's disease.

– Another possibility is to aim, on the contrary, at reinforcement of the proinflammatory and inhibition of the anti-inflammatory cytokine response, to strengthen the resistance of the host. This has given favourable results in a limited number of infections.

LITERATUUR

- 1 Meer JWM van der. The effects of recombinant interleukin-1 and recombinant tumor necrosis factor on non-specific resistance to infection. *Biotherapy* 1988;1:19-25.
- 2 Netea MG, Kullberg BJ, Meer JWM van der. Do only circulating pyrogenic cytokines act as mediators in the febrile response? A hypothesis. *Eur J Clin Invest* 1999;29:351-6.
- 3 Kluger MJ, Ringler DH, Anver MR. Fever and survival. *Science* 1975;188:166-8.
- 4 Mackowiak PA. Fever: blessing or curse? A unifying hypothesis. *Ann Intern Med* 1994;120:1037-40.
- 5 Scott P, Kaufmann SHE. The role of T-cell subsets and cytokines in the regulation of infection. *Immunol Today* 1991;12:346-8.
- 6 Allen JE, Maizels RM. Th1-Th2: reliable paradigm or dangerous dogma? *Immunol Today* 1997;18:387-92.
- 7 Dinarello CA. Biology of interleukin 1. *FASEB J* 1988;2:108-15.
- 8 Hodgson H. Prospects of new therapeutic approaches for Crohn's disease. *Lancet* 1999;353:425-6.
- 9 Henge UR, Goos M, Esser S, Exner V, Dotterer H, Wiehler H, et al. Randomized, controlled phase II trial of subcutaneous interleukin-2 in combination with highly active antiretroviral therapy (HAART) in HIV patients. *AIDS* 1998;12:F225-34.
- 10 Chun TW, Engel D, Mizell SB, Hallahan CW, Fischette M, Park S, et al. Effect of interleukin-2 on the pool of latently infected, resting CD4⁺ T cells in HIV-1-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. *Nat Med* 1999;5:651-5.
- 11 Meur SC, Dumann H, Meyer zum Buschenfelde KH, Kohler H. Low dose interleukin-2 induces systemic immune responses against HbsAg in immunodeficient non-responders to hepatitis B vaccination. *Lancet* 1989;i:15-8.
- 12 Kaplan G. Recent advances in cytokine therapy in leprosy. *J Infect Dis* 1993;167 Suppl 1:S18-22.
- 13 The International Chronic Granulomatous Disease Cooperative Study Group. A controlled trial of interferon gamma to prevent infection in chronic granulomatous disease. *N Engl J Med* 1991;324:509-16.
- 14 Holland SM, Eisenstein EM, Kuhns DB, Turner ML, Fleisher TA, Strober W, et al. Treatment of refractory disseminated nontuberculous mycobacterial infection with interferon gamma. A preliminary report. *N Engl J Med* 1994;330:1348-55.
- 15 Sampaio EP, Malta AM, Sarno EN, Kaplan G. Effect of rhuIFN-gamma treatment in multibacillary leprosy patients. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1996;64:268-73.
- 16 Badaro R, Johnson jr WD. The role of interferon-gamma in the treatment of visceral and diffuse cutaneous leishmaniasis. *J Infect Dis* 1993;167 Suppl 1:S13-7.
- 17 Quiroga JA, Castillo I, Porres JC, Casado S, Saez F, Gracia Martinez M, et al. Recombinant gamma-interferon as adjuvant to hepatitis B vaccine in hemodialysis patients. *Hepatology* 1990;12(4 Pt 1):661-3.
- 18 Deventer SJH van. Waarom slaagt de immunotherapie van sepsis niet? *Ned Tijdschr Geneesk* 1995;139:548-9.
- 19 Bone RC. Why sepsis trials fail. *JAMA* 1996;276:565-6.
- 20 Zeni F, Freeman B, Natanson C. Anti-inflammatory therapies to treat sepsis and septic shock: a reassessment. *Crit Care Med* 1997;25:1095-100.
- 21 Grau GE, Maennel DN. TNF inhibition and sepsis – sounding a cautionary note. *Nat Med* 1997;3:1193-5.
- 22 Weissman D, Poli G, Fauci AS. Interleukin 10 blocks HIV replication in macrophages by inhibiting the autocrine loop of tumor necrosis factor alpha and interleukin 6 induction of virus. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1994;10:1199-206.
- 23 Breedveld FC, Putte LBA van de. Immunotherapie bij reumatoïde artritis; huidige stand van zaken. *Ned Tijdschr Geneesk* 1996;140:1255-9.
- 24 Deventer SJH van. Immunologie in de medische praktijk. IV. Inflammatoire darmziekten: pathogenetische aanknopingspunten voor specifieke therapie. *Ned Tijdschr Geneesk* 1997;141:1956-9.
- 25 Targan SR, Hanauer SB, Deventer SJ van, Mayer L, Present DH, Braakman T, et al. A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's disease. Crohn's Disease cA2 Study Group. *N Engl J Med* 1997;337:1029-35.
- 26 Weinblatt ME, Kremer JM, Bankhurst AD, Bulpitt KJ, Fleischmann RM, Fox RI, et al. A trial of etanercept, a recombinant tumor necrosis factor receptor:Fc fusion protein, in patients with rheumatoid arthritis receiving methotrexate. *N Engl J Med* 1999;340:253-9.
- 27 Moreland LW, Baumgartner SW, Schiff MH, Tindall EA, Fleischmann RM, Weaver AL, et al. Treatment of rheumatoid arthritis with a recombinant human tumor necrosis factor receptor (p75)-Fc fusion protein. *N Engl J Med* 1997;337:141-7.
- 28 Opal SM, Cross AS, Jung JW, Young LD, Palardy JE, Parejo NA, et al. Potential hazards of combination immunotherapy in the treatment of experimental septic shock. *J Infect Dis* 1996;173:1415-21.
- 29 Poll T van der, Marchant A, Keogh CV, Goldman M, Lowry SF. Interleukin-10 impairs host defense in murine pneumococcal pneumonia. *J Infect Dis* 1996;174:994-1000.
- 30 Dissel JT van, Langevelde P van, Westendorp RG, Kwappenberg K, Frolich M. Anti-inflammatory cytokine profile and mortality in febrile patients. *Lancet* 1998;351:950-3.
- 31 Nacy CA, Meierovics AI, Belosevic M, Green SJ. Tumor necrosis factor-alpha: central regulatory cytokine in the induction of macrophage antimicrobial activities. *Pathobiology* 1991;59:182-4.
- 32 Kindler V, Sappino AP, Grau GE, Piguet PF, Vassalli P. The inducing role of tumor necrosis factor in the development of bactericidal granulomas during BCG infection. *Cell* 1989;56:731-40.
- 33 Echtenacher B, Falk W, Mannel DN, Krammer PH. Requirement of endogenous tumor necrosis factor/cachectin for recovery from experimental peritonitis. *J Immunol* 1990;145:3762-6.
- 34 Pajkrt D, Manten A, Poll T van der, Tiel-van Buul MM, Jansen J, Wouter ten Cate J, et al. Modulation of cytokine release and neutrophil function by granulocyte colony-stimulating factor during endotoxemia in humans. *Blood* 1997;90:1415-24.
- 35 Kullberg BJ, Netea MG, Curfs JH, Keuter M, Meis JF, Meer JWM van der. Recombinant murine granulocyte colony-stimulating factor protects against acute disseminated *Candida albicans* infection in nonneutropenic mice. *J Infect Dis* 1998;177:175-81.
- 36 Nelson S, Belknap SM, Carlson RW, Dale D, DeBoisblanc B, Farkas S, et al. A randomized controlled trial of filgrastim as an adjunct to antibiotics for treatment of hospitalized patients with community-acquired pneumonia. CAP Study Group. *J Infect Dis* 1998;178:1075-80.
- 37 Kullberg BJ, Vandewoude K, Herbrecht R, Jacobs F, Aoun M, Kujath P. A double-blind, randomized, placebo-controlled Phase II study of filgrastim (recombinant granulocyte colony-stimulating factor) in combination with fluconazole for treatment of invasive candidiasis and candidemia in nonneutropenic patients. 38th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Washington, D.C.: American Society of Microbiology; 1998. p. 479.

Aanvaard op 26 augustus 1999