



Samenvatting proefschrift Krista Haanstra

'Costimulation blockade and regulatory T-cells in a non human primate model of kidney allograft transplantation'

**Promotie: 13 maart 2008
Universiteit Leiden**

Promotor:
Prof. dr. F.H.J. Claas

Co-promotor:
Dr. M. Jonker

Inleiding

Al snel na de opkomst van transplantatie als behandeling voor mensen met een falend orgaan werd duidelijk dat transplantatie van organen tussen twee niet-verwante mensen heftige afstotingsverschijnselen teweeg bracht. Dit leidde tot de ontdekking van het *major histocompatibility complex* (MHC). Door evolutie is het MHC van mens tot mens verschillend. Dit is de reden waarom allogene transplantatie gepaard gaat met afstoting. T-cellen van de orgaanontvanger herkennen het MHC op het donororgaan en zien dit als lichaamsvreemd. De T-cellen reageren met een afweerreactie tegen het orgaan en het orgaan wordt afgestoten. Naast de herkenning van het MHC is ook een costimulatie signaal nodig voordat een afweerreactie, ook genoemd immuunrespons, kan plaatsvinden tegen het orgaan.

Verschillende medicijnen zijn ontwikkeld, die de immuunrespons van de ontvanger onderdrukken. Deze hebben echter als nadeel, dat ze ook de normale immuunresponsen van het lichaam tegen infecties en kankercellen onderdrukken. Nieuwere methoden worden ontwikkeld om de afstoting van het donororgaan meer specifiek te onderdrukken, zonder de niet-specifieke onderdrukking van het immuunsysteem. Door tolerantie van de ontvanger tegen het donororgaan te induceren kunnen immuunsuppressieve medicijnen worden verminderd en/of gestopt. Eén van de methodes om tolerantie te induceren richt zich op het blokkeren van het T-cel costimulatie signaal. Antistoffen tegen costimulatie moleculen voorkomen de activatie van de T-cellen. Deze methode wordt al in de kliniek op kleine schaal uitgetest, voornamelijk bij auto-immuun ziekten, maar ook bij transplantatie. Een tweede methode richt zich op het gebruik van regulatoire T-cellen (Tregs). Deze methode is nog in een experimentele fase en wordt nog niet toegepast in de kliniek.



Het resusaap niertransplantatie model

De resultaten die behaald worden in muizen met betrekking tot tolerantie inductie, laten zich niet goed vertalen naar resultaten die worden behaald in de mens. Om deze reden is het van belang om tolerantie inductie protocollen te testen in een meer relevant model, zoals het resusaap niertransplantatie model. Resusapen zijn net als mensen niet ingeteeld; muizen wel. Het immuun systeem van resusapen is meer vergelijkbaar met de mens dan het immuun systeem van een muis dat is. Ook hebben resusapen, in tegenstelling tot onderzoeksmuizen, al infecties doorgemaakt voordat ze een transplantatie ondergaan. De immuniteit die aanwezig is in de ontvanger, de *memory* respons, beïnvloedt (meestal in negatieve zin) de overleving van het implantaat.

Costimulatie blokkade

De effecten van costimulatie blokkade in het resusaap niertransplantatie model werden bestudeerd. Eén groep werd behandeld met monoklonale antistoffen tegen CD40. Drie van de zes behandelde apen stootten het donororgaan pas af 30 tot 150 dagen na het stoppen van de behandeling. Deze dieren hadden een hoge concentratie ch5D12 in het bloed gedurende de hele behandeling, in tegenstelling tot de dieren die al afstootten gedurende de behandeling. Een tweede groep werd behandeld met monoklonale antistoffen tegen CD40 gecombineerd met monoklonale antistoffen tegen CD86. In deze groep werd geen afstoting tijdens de behandeling waargenomen en had minder histologische verschijnselen van afstoting dan de groep behandeld met anti-CD40. Geen van de dieren behandeld met anti-CD40 vormden antistoffen tegen het donororgaan.

Vervolgens werden condities onderzocht die mogelijk de implantaat overleving na behandeling met anti-CD40 en anti-CD86 verder konden verlengen.

Cyclosporine A (CsA) werd pas te geven vanaf dag 42 waardoor werd geprofiteerd van een CsA vrije inductie periode. Na dag 126 werd gestopt met de behandeling. Twee van de vier behandelde dieren zijn nog in leven, meer dan 6 jaar na het stoppen van de behandeling. Echter, de nierfunctie van deze dieren verslechtert zeer langzaam en in nierbiopten zijn tekenen van chronische afstoting zichtbaar. Een combinatie van het T-cel depletende medicijn anti-thymocyte globulin (ATG) en costimulatie blokkade heeft geen gunstig effect op de nieroverleving. Theoretisch kan ATG de eventuele *memory* respons tegen het donor orgaan verminderen. In combinatie met costimulatie blokkade kan daarna tolerantie tegen het donor orgaan geïnduceerd worden. Echter, na ATG behandeling werden verhoogde hoeveelheden *memory* T-cellen in het bloed gevonden. Dit is een mogelijke verklaring voor de gevonden vervroegde afstoting

Analyse van infiltraten in getransplanteerde nieren

Nierinfiltraten in afgestoten nieren werden vergeleken met de infiltraten in (nog) niet afgestoten nieren. Ook werd de invloed van verschillende soorten immuunsuppressie onderzocht.



Een belangrijke marker voor tolerantie door Tregs in het muizenmodel is FOXP3. Zonder FOXP3 geen tolerantie, met FOXP3 geen rejectie. In de getransplanteerde nieren van resus apen werden grote hoeveelheden FOXP3 en andere markers voor Tregs gevonden als de nier afgestoten was. Het type immuunsuppressie was niet van belang. Voor de aanwezigheid van Treg markers tijdens rejectie zijn twee verklaringen mogelijk. Of FOXP3 is in (niet-humane) primaten niet zo'n duidelijke marker voor Tregs, of door de afstotingsreactie worden veel Tregs in de infiltraten geïnduceerd of gerekruteerd uit het bloed.

Karakterisatie van Tregs in resusapen

Om tolerantie inductie protocollen die zich richten op natuurlijk voorkomende Tregs te kunnen testen in een relevant preklinisch model, de resusaap, moeten eerst deze Tregs van de resusaap gekarakteriseerd worden. **Hoofdstuk 6** beschrijft dat het fenotype van Tregs van resusapen veel lijkt op het fenotype van humane Tregs. FOXP3 en CTLA-4 komen tot expressie in CD4+CD25+ Tregs en veel minder in CD4+CD25-responder cellen. Ook functioneel verschillen ze niet veel van humane Tregs; ze onderdrukken de proliferatie en cytokine productie van responder cellen en ze hebben daarbij cel-cel contact nodig met de responder cellen.

Conclusie

Costimulatie blokkade is in staat de afweerreactie tegen het donororgaan te onderdrukken, maar langdurige tolerantie zonder medicijnen lijkt niet mogelijk. Uit de analyse van infiltraten in getransplanteerde nieren is duidelijk geworden dat in (niet-humane) primaten voorzichtig moet worden omgegaan met de marker FOXP3 als marker voor tolerantie. Uit analyse van natuurlijk voorkomende Tregs van resusapen blijkt dat ze zeer goed vergelijkbaar zijn met die van de mens, en dit biedt de mogelijkheid om tolerantie inductie protocol eerst te testen in een niet-humane primaten model, voordat ze zullen worden toegepast in de mens. ◀