



Samenvatting proefschrift F. Luk

“Elucidation of the Mechanisms of Action of Mesenchymal Stem Cell Immunotherapy”

**Promotie: 15 januari 2019
Erasmus Universitair Medisch Centrum
Rotterdam**

Promotor:
Prof. Dr. C.C. Baan

Copromotor:
Dr. M.J. Hoogduijn

Mesenchymale stamcellen (MSC), ook wel Mesenchymale stromale cellen genoemd, zijn voorloper cellen die kunnen uitgroeien tot volwassen steunweefsels zoals bot-, kraakbeen- en vetcellen wanneer zij de juiste signalen hiervoor ontvangen. Op het lab kunnen we deze cellen isoleren uit vrijwel alle weefsels van zowel embryo's als volwassenen. Doordat MSC nog kunnen uitgroeien tot de verschillende celtypen van het Mesenchym is er veel onderzoek gedaan naar het gebruik van deze cellen voor regeneratieve therapie met het idee dat de MSC disfunctionele cellen in zieke organen van patiënten zouden kunnen vervangen. De laatste decennia is duidelijk geworden dat MSC ook in staat zijn om afweerreacties van het immuunsysteem te remmen. Deze eigenschappen maken MSC interessant als celtherapie voor bijvoorbeeld patiënten met immunologische ziekten of orgaantransplantatie patiënten. Vooral in het laboratorium is veel onderzoek gedaan naar de werkingsmechanismen achter hoe MSC cellen van het immuunsysteem kunnen onderdrukken. Daarnaast laten klinische trials met MSC therapie zien dat MSC celtherapie veilig is voor patiënten. Echter, er is minder bekend over de werkzaamheid van MSC als behandeling van patiënten. Zo wijzen studies met diermodellen er op dat na het intraveneus (IV, in de ader) inspuiten van MSC, de grote meerderheid van de cellen na 24 uur niet meer aanwezig is in het lichaam. Desondanks de korte aanwezigheid van de cellen in het lichaam laten sommige klinische trials langdurige positieve effecten zien bij patiënten nadat zij met MSC behandeld zijn (hoofdstuk 1). Om een beter beeld te krijgen van de effectiviteit van MSC celtherapie werden in hoofdstuk 2 62 klinische trials waarbij MSC als celtherapie gegeven werd aan patiënten met verschillende ziekten vergeleken. Er werd gekeken naar data die vermindering van symptomen bij patiënten beschreef en parameters die veranderingen van het afweersysteem van patiënten aanduiden. Sommige van de beschreven studies lieten verlichting van symptomen zien na behandeling met MSC maar bij andere studies werd geen zichtbaar effect gemeten. Daarnaast is het lastig om een conclusie te baseren op de studies omdat de studies erg verschillen in studie-opbouw, patiëntpopulatie en het moment van het meten van



symptoomveranderingen. Ook zijn de patiënt groepen vaak klein en ontbreekt een goede controle groep. De resultaten van deze review benadrukken dat er momenteel nog steeds een gebrek aan inzicht is in wat er gebeurt met het afweersysteem van de patiënten na het toedienen van MSC celtherapie en hoe patiënten baat hebben van MSC therapie.

In hoofdstuk 3 werd het effect van een inflammatoire omgeving op MSC beschreven. Wanneer MSC worden ingespoten in patiënten is de kans groot dat zij blootgesteld worden aan een inflammatoire omgeving omdat de behandelde patiënten vaak lijden aan acute of chronische inflammatoire ziekten. In dit hoofdstuk werd beschreven dat inflammatoire signalen het effect van MSC op B-cellen veranderen. B-cellen zijn immuuncellen die betrokken kunnen zijn bij orgaanafstoting na transplantatie door bijvoorbeeld de productie van donorspecifieke antistoffen en cytokines (celsignalerende moleculen). Na activatie kunnen B-cellen uitrijpen tot plasmablasten en plasmacellen die grote hoeveelheden antistoffen uitscheiden. Op basis van o.a. cytokine productie kunnen B-cellen worden onderverdeeld in verschillende populaties, variërend van effector B-cellen en regulatoire B-cellen die de immuunreactie kunnen onderdrukken. Onder normale omstandigheden hebben MSC een stimulerend effect op B-cel expansie en regulatoire B-celvorming. Echter, onder inflammatoire omstandigheden remmen MSC B-celproliferatie en plasmablastvorming, terwijl de inductie van regulatoire B-cellen wordt verminderd. In een inflammatoire omgeving zetten MSC tryptofaan (TRP) om in L-kynurenine via indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO). De depletie van TRP in de omgeving leidt tot een remming van B-cel expansie maar voorkomt ook de aanmaak van regulatoire B-cellen. Deze gegevens tonen aan dat immunologische factoren het effect van MSC op B-celfunctie beïnvloeden.

Afgezien van de inflammatoire signalen die MSC kunnen tegen komen hebben ook de kweekomstandigheden in het laboratorium grote invloed op de cellen.

In hoofdstuk 4 werd het effect van invriezen (cryopreservatie) op MSC onderzocht. Uit vergelijking van MSC uit kweek en vers ontdooide MSC bleek dat cryopreservatie weinig invloed heeft op de MSC genexpressie. Echter, cryopreservatie leidt tot een iets grotere kans op het in gang zetten van een directe bloed-gemedieerde ontstekingsreactie. Deze ontstekingsreactie zou de overlevingstijd van MSC na toediening verkorten en zou mogelijk kunnen leiden tot negatieve effecten op de gezondheid van patiënten. Na het inspuiten van MSC werden belangrijke veranderingen in de genexpressie van MSC gemeten die een reactie op inflammatoire activering weerspiegelen. Deze data laten zien dat er na het inspuiten van MSC sprake is van interactie tussen MSC en cellen in het long micromilieu en dat immuuncellen in de long lijken te worden geactiveerd na het in aanraking komen met MSC.

In hoofdstuk 5 is meer onderzoek gedaan naar de respons van long residente-cellen na interactie met MSC. Door infusie van hitte geïnactiveerde MSC (HI-MS) werd laten zien dat het immuunmodulerende effect van MSC niet afhankelijk is van productie van cytokines of actieve interactie met immuuncellen, maar op herkenning van MSC door monocytische cellen. Deze cellen zijn gespecialiseerd in het opruimen van resten van dode of beschadigde cellen, dit proces wordt fagocytose genoemd.



Deze interactie tussen MSC en monocytische cellen is vervolgens verder onderzocht en beschreven in hoofdstuk 6. Hier werd beschreven dat MSC binnen korte tijd na infusie worden opgeruimd door verscheidene fagocyten. Na het opruimen van MSC zien we dat monocyten (een type monocytische cel) van fenotype veranderen naar cellen met een regulatorisch fenotype. Dit hoofdstuk toont het lot van MSC na infusie en het mogelijke werkingsmechanisme van MSC celtherapie.

Aan immunotherapie met levende MSC zijn risico's verbonden zoals infectie van de kweek of mutatie van de cellen, daarnaast is het in vitro kweken van MSC een arbeidsintensief en tijdrovend proces. In hoofdstuk 7 werden membraandeeftjes van de celwand van MSC gegenereerd. Deze deeltjes zijn kleiner dan MSC en zijn in tegenstelling tot MSC in staat om de haarvaten van de long te passeren. Tevens kan het genereren van membraandeeftjes van MSC zorgen voor een therapie die veiliger, gemakkelijker en minder tijdrovend is om te ontwikkelen. In kweekschaltes bonden deze deeltjes aan monocyten waarna zij de functie van deze monocyten konden moduleren door genexpressie te beïnvloeden en specifieke celdood van pro-inflammatoire monocyten te induceren. Door het op maat maken van membraandeeftjes die kunnen binden aan specifieke celtypen kan een nieuwe therapie met hetzelfde immuunmodulerende effect als conventionele MSC-therapie maar die minder risico's met zich mee brengt worden ontwikkeld.

Het begrijpen van de werkingsmechanismen van MSC-therapie draagt bij aan het genereren van een effectievere en veiligere therapie en kan helpen om patiënten met verschillende immunologische aandoeningen of na orgaantransplantatie beter te behandelen.

Samenvattend laat dit proefschrift zien dat MSC na IV inspuiten voornamelijk functioneren als katalysatoren die immunosuppressie induceren door de eigen immuuncellen van de gastheer. Monocytische cellen lijken een belangrijke rol te spelen in de eerste stap van het induceren van immunosuppressie door hun fenotype te veranderen na fagocytose van MSC. Langdurige immunosuppressieve effecten waargenomen bij patiënten behandeld met MSC suggereren dat fagociterende immuuncellen van de host na contact met MSC in staat zijn een langdurige immuunrespons te induceren door interactie met andere immuuncellen.

Meer onderzoek over hoe deze langdurige immunosuppressie wordt geïnduceerd is noodzakelijk voor de ontwikkeling van betere en mogelijk cel-vrije therapieën voor de behandeling van immunologische ziekten en voor patiënten na orgaantransplantatie.