



## **Samenvatting proefschrift K. de Leur**

“T cell communication in kidney transplantation”

**Promotie: 2 juli 2019  
Erasmus Universitair Medisch Centrum Rotterdam**

**Promotor:**  
Prof. Dr. C.C. Baan  
Prof. dr. R.W. Hendriks  
Prof. dr. L.J.W. van der Laan

Het doel van dit proefschrift is om de functie van twee recent ontdekte subtypen T cellen - de folliculaire T helper (Tfh) cel en de tissue-resident memory T (TRM) cel - in het proces van een donor-specifieke immuunrespons beter te begrijpen. Een verbeterd inzicht in de werking van deze twee typen T cellen in het proces van donororgaan afstoting zal bijdragen aan een verbeterde afstemming van immuunonderdrukkende geneesmiddelen en het ontwikkelen van geneesmiddelen met minder bijwerkingen en een efficiëntere werking. Dit proefschrift bestaat uit twee delen. In Deel I wordt de rol van de IL-21 producerende Tfh cellen beschreven aan de hand van studies in verschillende allogene modellen. Deel II van dit proefschrift richt zich op de werking van ectopische lymfoïde structuren en TRM cellen die zich in de donornier bevinden.

In hoofdstuk 2 wordt de huidige kennis van immuunonderdrukkende medicatie op de ontwikkeling en werking van Tfh cellen uiteengezet. Op basis van deze kennis bespreken we mogelijke nieuwe strategieën waarbij de functie van Tfh cellen beïnvloed kan worden. Deze strategieën dragen bij aan de ontwikkeling van betere en meer specifieke immuunonderdrukkende geneesmiddelen. De activiteit van Tfh cellen kan op verschillende punten beïnvloed worden, zoals door het blokkeren van co-stimulatie signalen, cytokine signalen, of signalen die de migratie van de Tfh cellen naar de lymfeklieren beïnvloeden. Daarnaast hebben we op basis van de bestaande literatuur de mogelijkheden in kaart gebracht om de Tfh cel te gebruiken als biomarker om een immuunrespons tegen het donororgaan te voorspellen.

In hoofdstuk 3 wordt de rol van het cytokine IL-21 binnen de interactie tussen Tfh cellen en B cellen bestudeerd in een allogeen kweekmodel. Hierbij hebben we gebruik gemaakt van geïsoleerde Tfh cellen en B cellen van niertransplantatie patiënten. Deze Tfh cellen en B cellen zijn gestimuleerd met de cellen van de donor zowel in de aan- als afwezigheid van een antagonistisch antilichaam dat de IL-21 receptor blokkeert. Hieruit bleek dat Tfh cellen in combinatie met de allogene stimulus de B cellen konden laten differentiëren naar immunoglobuline producerende



plasmablasten. In de aanwezigheid van het anti-IL-21 receptor antilichaam werden de plasmablastformatie en immunoglobulineformatie significant geremd. Het remmen van de IL-21 receptor signalering had geen effect op de activatiestatus van de Tfh cellen. We kunnen hieruit concluderen dat het blokkeren van IL-21 signalering een potentiële manier is om na transplantatie de formatie van donor-specifieke antilichamen te remmen.

Om de rol van het cytokine IL-21 binnen de alloimmunrespons verder te bestuderen wordt in hoofdstuk 4 gebruik gemaakt van een gehumaniseerd transplantatiemodel. In dit model zijn immuundeficiënte muizen getransplanteerd met een stukje menselijke huid. Vervolgens zijn deze muizen geïnjecteerd met lymfocyten van een ander individu. De muis is in dit model dus de drager van een humane anti-donor immunrespons. De controle dieren werden behandeld met fysiologisch zout terwijl bij de behandelde groep een blokkerend anti-IL-21 receptor antilichaam werd toegediend. In de controle dieren was de humane huid sterk verdikt en was er infiltratie van T en B cellen in de huid zichtbaar. Ook was de huid van de controle dieren ontstoken en konden we aantonen dat de expressie van de ontstekingsmarkers keratine 17 en Ki67 verhoogd was. Daarentegen bleek dat in de behandelde dieren de humane huid niet verdikt was, er nauwelijks T en B cellen geïnfiltrerd waren in de humane huid, en de ontstekingsmarkers keratine 17 en Ki67 nauwelijks tot expressie kwamen. Deze verminderde ontsteking van de huid in de behandelde dieren kan deels verklaard worden doordat het nestelen van de humane lymfocyten in de muis ook verstoord werd door de aanwezigheid van het blokkerende anti-IL-21 receptor antilichaam.

Deel II van het proefschrift richt zich op de werking van ectopische lymfoïde structuren (ELS) en TRM cellen die zich in de donornier bevinden. ELS worden gedefinieerd als georganiseerde structuren van immuuncellen, die veel overeenkomsten vertonen met lymfeklieren, maar die zich in weefsels bevinden waar zich een immunoreactie afspeelt. Na een niertransplantatie wordt het lichaam van de ontvanger continu blootgesteld aan de lichaamsvreemde donornier. Ondanks het gebruik van immunonderdrukkende medicatie zijn de lymfocyten van de ontvanger in staat om naar de donornier te migreren waar ze zich nestelen en organiseren tot ELS. De rol van ELS formatie in de donornier is niet geheel bekend.

In hoofdstuk 5 wordt de aanwezigheid en activatie status van ELS in nierbiopten van drie verschillende typen acute afstoting onderzocht. Hierbij hebben we gebruik gemaakt van paraffine coupes van acute/actieve antilichaam-gemedieerde rejectie (a/aABMR), acute T-cel gemedieerde rejectie type I (aTCMRI) en acute T-cel gemedieerde rejectie type II (aTCMR II). Deze weefselcoupes van nierbiopten zijn gekleurd voor verschillende markers gerelateerd aan ELS formatie. Hieruit bleek dat voornamelijk in de aTCMRI biopten cel aggregaten aanwezig waren bestaande uit B cellen omringd door T cellen. Deze T-B cel aggregaten waren ook positief voor verschillende ELS markers. In tegenstelling hiermee werd in de a/aABMR en aTCMR II biopten een diffuser beeld gedetecteerd van geïnfiltrerde T en B cellen, in de afwezigheid van ELS formatie. We speculeren dat T cellen in ELS de aanwezige B cellen kunnen stimuleren tijdens een acute T-cel gemedieerde rejectie. Dit proces van



T-B cel interactie kan op lange termijn leiden tot een chronische antilichaam gemedieerde afstoting tegen de donornier.

In Hoofdstuk 6 wordt de lokale rol van TRM cellen in de donornier onderzocht. De TRM cellen nestelen zich in de organen waar ze vanwege hun memory status lokaal een snelle immuunrespons kunnen genereren. Voor deze studie is gebruik gemaakt van donornieren die vanwege eindstadium afstoting verwijderd zijn, ook wel explantaatnieren genoemd. In alle explantaatnieren waren T cellen aanwezig met het TRM fenotype en genexpressie profiel, met de hoogste frequentie TRM cellen binnen het CD8+ T cel compartiment. Deze CD8+ TRM cellen hadden de capaciteit om de pro-inflammatoire cytokines IFN $\gamma$  en TNF $\alpha$  te produceren, waren positief voor granzyme B en zwak positief voor perforine. De aanwezige T cellen in de explantaatnieren kunnen in principe zowel van de donor als van de ontvanger afkomstig zijn. Indien zowel donor als ontvanger cellen aanwezig zijn spreekt men van chimerisme. Op basis van analyse van de explantaatnieren in deze studie kan geconcludeerd worden dat in de donornier binnen de eerste vijf maanden na transplantatie de T cellen afkomstig van de donor worden vervangen door T cellen afkomstig van de ontvanger. Dit chimerisme is dus van korte duur. Een interessante bevinding was dat de TRM cellen afkomstig van de donor in vergelijking met de overige donor-T cellen langer in het donororgaan konden verblijven.

Concluderend, in dit proefschrift worden verschillende nieuwe manieren beschreven waarop Tfh cellen en TRM cellen een bijdrage leveren aan de anti-donor respons na niertransplantatie. Beide typen T cellen hebben een effector memory fenotype en zijn in staat om een alloimmuunrespons te initiëren. Ook wordt beschreven dat IL-21 gestuurde T cellen lokaal actief zijn in de donornier, waar ze direct bijdragen aan het afstotingsproces door te communiceren met CD8+ cytotoxische T cellen en met B cellen. Met een blokkerend anti-IL-21R antilichaam werd bevestigd dat de functie van allogeen geactiveerde T en B cellen onderdrukt werd in de afwezigheid van IL-21R signalering. De bevindingen uit dit proefschrift zouden gebruikt kunnen worden om in de toekomst patiënten op een meer persoonsgerichte manier te behandelen die past bij het specifieke type afstoting dat zij ondergaan. Hierbij is het in kaart brengen van cel-cel communicatie tussen verschillende type T cellen en andere immuuncellen van groot belang om nieuwe geneesmiddelen te ontwikkelen die uiteindelijk zullen bijdragen aan verbeterde uitkomsten na niertransplantatie.