



## **Samenvatting proefschrift J.J.A. Coenen**

**'Facilitation of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T-cell function in transplantation'**

**Promotie 24 mei 2007  
Radboud Universiteit Nijmegen**

**Promotor: Prof. Dr. B. de Pauw**

**Co-promotores: Dr. I. Joosten  
Dr. L.B. Hilbrands**

### *Orgaantransplantatie en het immuunsysteem.*

Transplantatie van een donororgaan is vaak de beste mogelijkheid om ernstige aandoeningen door een falend orgaan te genezen. Tegenwoordig worden donororganen met veel succes getransplanteerd dankzij immunosuppressieve medicijnen. Een groot nadeel van deze medicijnen is echter is dat ze ook de respons tegen virussen, bacteriën en tumorcellen remmen. Daarnaast heeft het noodzakelijke continue gebruik van deze medicijnen nog andere bijwerkingen zoals het ontstaan van nierschade en bloeddruk problemen. Het is dus van groot belang om de huidige immunosuppressieve medicijnen sterk te reduceren en een vorm van immunosuppressie te ontwikkelen die donor-specifiek is.

Het immuunsysteem kan worden ingedeeld in natuurlijke en specifieke immuniteit. Natuurlijke immuniteit is het deel van het immuunsysteem dat gebruik maakt van niet specifieke verdedigingsmechanismen. De specifieke immuniteit wordt bepaald door zogenaamde T- en B- cellen, die geactiveerd worden door antigen presenterende cellen (APC's). De activiteit van het immuunsysteem dient echter strak gereguleerd te worden omdat het anders schade toebrengt aan gezond weefsel. Hiertoe beschikt het lichaam over de zogenaamde regulatoire T-cellen, die de capaciteit hebben om de groei en functie van agressieve T-cellen te remmen. Na een transplantatie kan het immuunsysteem het getransplanteerde orgaan als "lichaamsvreemd" herkennen en een immunerespons initiëren, hetgeen kan leiden tot afstoting. B- en T-cellen van de ontvanger worden in dit geval geactiveerd door weefsel antigenen die aanwezig zijn op het donororgaan. Voor het in dit proefschrift beschreven onderzoek hebben we ons gericht op de immunerespons van de T-cellen. Het weefsel antigeen zorgt voor het op scherp zetten van de T-cel (signaal 1). Na deze herkenning volgt er een tweede signaal, de zogenaamde costimulatie (signaal 2). Wanneer ook het tweede signaal



aanwezig is, deelt de T-cel zich en wordt deze agressief voor donorweefsel. T-cellen die reageren op donorweefsel worden ook wel allo-reactief genoemd.

### *Transplantatie tolerantie.*

Transplantatie tolerantie is de situatie waarin een donororgaan in de afwezigheid van immunosuppressieve medicijnen niet afgestoten wordt door het immuunsysteem. Tolerantie wordt sterk bepaald door de balans tussen agressieve T-cellen en regulatoire T-cellen. Teveel agressieve allo-reactieve T-cellen leiden tot afstoting, terwijl meer regulatoire T-cellen leiden tot een betere balans en een verhoogde kans op transplantatie tolerantie. Nieuwe immuno-suppressieve technieken zijn gericht op het faciliteren van de functie van deze allo-reactieve regulatoire T-cellen, met als hoogste doel donor-specifieke transplantatie tolerantie. In dit proefschrift hebben we onderzocht of agressieve allo-reactieve T-cellen selectief geremd kunnen worden terwijl regulatoire T-cellen gespaard blijven, en of dit bijdraagt aan transplantatie tolerantie. Hiernaast hebben we onderzocht of de momenteel gebruikte immunosuppressieve medicijnen de regulatoire T-cellen ten goede of ten kwade beïnvloeden. Een mogelijke toekomstige strategie is het in grote hoeveelheden kweken van regulatoire T-cellen en deze bij de ontvanger in te spuiten bij een orgaantransplantatie. Ook in dit geval is het belangrijk te weten welke medicijnen er direct na transplantatie als een beschermende “paraplu” gebruikt kunnen worden zonder dat de regulatoire T-cellen aangedaan worden.

### *Immunosuppressie en regulatoire T-cellen.*

In **hoofdstuk 1** van het proefschrift wordt een algemene inleiding gegeven over transplantatie immunologie en regulatoire T-cellen. **Hoofdstuk 2** beschrijft hoe een veelbelovende nieuwe therapie bij kan dragen aan transplantatie tolerantie. In deze therapie worden anti-lichamen gebruikt die signaal 2 (de costimulatie) blokkeren. Met deze anti-lichamen, gericht tegen de moleculen CD40L en CD86, wordt voorkomen dat T-cellen die een vreemd eiwit herkennen tot volle activatie komen. Dit leidt er toe dat de balans tussen agressieve allo-reactieve T-cellen en regulatoire T-cellen verschuift in het voordeel van de regulatoire T-cellen. In **hoofdstuk 3** laten we zien dat het in deze therapie van belang is niet teveel verschillende soorten signaal 2 moleculen te blokkeren. Een bepaald signaal 2 molecuul, CD80, bindt ook aan een molecuul met een sterk remmend effect op de agressieve allo-reactieve T-cellen, het CTLA-4 molecuul. Een complicerende factor is dat dit niet alleen tot expressie komt op agressieve allo-reactieve T-cellen, maar ook op allo-reactieve regulatoire T-cellen. In dit hoofdstuk laten we zien dat CTLA-4 geen rol speelt in de functie van de regulatoire T-cel. Het ongemoeid laten van het CTLA-4 signaal draagt wel bij aan een vermindering van agressieve allo-reactieve effector cellen, waardoor de balans in het voordeel van de regulatoire T-cel blijft. Co-stimulatie blokkade kan op deze manier bijdragen aan transplantatie tolerantie.

De resultaten uit hoofdstuk 2 en 3 laten zien dat het belangrijk is een balans te houden tussen agressieve allo-reactieve T-cellen en regulatoire T-cellen. In **hoofdstuk 4** hebben we bestudeerd in welke mate er allo-reactieve regulatoire T-cellen kunnen ontstaan uit de oorspronkelijke populatie regulatoire T-cellen. Hieruit komt naar voren dat regulatoire T-cellen net als agressieve T-cellen sterk geactiveerd kunnen worden.



door de weefsel antigenen op het getransplanteerde orgaan. Deze activatie leidt binnen de oorspronkelijke populatie tot een relatieve verrijking van regulatoire T-cellen die specifiek en met zeer potente suppressieve capaciteit reageren op de herkenning van transplantatie weefselantigenen.

Met het oog op de balans tussen agressieve en allo-reactieve geeft hoofdstuk 4 aan dat het belangrijk kan zijn de populatie regulatoire T-cellen te sparen in een patiënt die een orgaantransplantatie ondergaat. Van de regulatoire T-cellen is bij de mens bekend dat er sub-groepen zijn te onderscheiden. De regulatoire T-cellen die CD27 tot expressie brengen zijn cellen met een extra krachtige suppressieve capaciteit. De immuno-suppressiva die tegenwoordig in de kliniek gebruikt worden hebben een remmend effect op T-cel activatie en T-cel deling in het algemeen. In **hoofdstuk 5** hebben we daarom onderzocht of deze medicijnen ook de activatie en deling van de regulatoire T-cellen negatief beïnvloeden. Cyclosporine en rapamycine zijn twee van deze medicijnen en werden met elkaar vergeleken vanwege hun verschillende werkingsmechanismen. Uit onze bevindingen komt naar voren dat het gebruik van cyclosporine of rapamycine de werking van regulatoire T-cellen niet verstoort. Het blijkt wel dat het gebruik van rapamycine de aanwezigheid van regulatoire T-cellen met CD27 toelaat, terwijl het gebruik van cyclosporine resulteert in een relatieve vermindering van deze cellen. Dit kan consequenties hebben voor het ontstaan van transplantatie tolerantie. De signalen die door rapamycine en cyclosporine geblokkeerd worden in de T-cellen zijn ook van belang in de ontwikkeling van T-cellen in de thymus. Bovendien zorgen dezelfde signalen ook voor het gehandhaafd blijven van de populatie regulatoire T-cellen in bloed en in de perifere lymfoïde organen zoals milt en lymfknoopen. In **hoofdstuk 6** hebben we daarom onderzocht hoe door het op verschillende manieren blokkeren van deze signalen door cyclosporine en rapamycine het ontstaan van regulatoire T-cellen in de thymus en de handhaving van deze cellen in de perifere lymfoïde organen verstoord wordt. In tegenstelling tot rapamycine blokkeert cyclosporine de ontwikkeling van regulatoire T-cellen in de thymus en vermindert cyclosporine de aanwezigheid van regulatoire T-cellen in bloed, milt en lymfknoopen. Verschillende immunosuppressiva kunnen dus op uiteenlopende wijze de regulatoire T-cel populatie beïnvloeden. In **hoofdstuk 7** wordt tot slot een beschouwing van de in dit proefschrift behandelde onderwerpen gegeven.

Het verschuiven van de balans tussen agressieve alloreactieve T-cellen en regulatoire T-cellen ten gunste van regulatoire T-cellen draagt bij aan het induceren van transplantatie tolerantie. Regulatoire T-cellen kunnen geactiveerd worden door transplantatie antigenen en kunnen bij toepassing van de juiste immunosuppressie gespaard blijven. Hopelijk draagt het aanwenden van dit lichaamseigen beschermingsmechanisme toekomst bij aan de vermindering van afstoting van getransplanteerde organen en daarmee aan een betere kwaliteit van leven van de ontvangers.