



Samenvatting proefschrift Marlies Dankers

'Differentiële immunogeniciteit van HLA mismatches: relevantie voor nieuwe matching strategieën'

**Promotie 16 juni 2004
Universiteit Leiden**

Het immuunsysteem is van belang voor de bescherming tegen bacteriële en virale infecties. Helaas kan het immuunsysteem ook geactiveerd worden na een orgaan transplantatie wat kan leiden tot afstoting van het transplantaat. De cellen van het getransplanteerde orgaan worden namelijk als lichaamsvreemd herkend. Op alle cellen zijn unieke antigenen aanwezig die door de cellen van het immuunsysteem herkend kunnen worden. Deze antigenen worden in de mens humane leukocyten antigenen (HLA) genoemd. Omdat er veel verschillende antigenen gevonden zijn is het vaak onmogelijk om een donor te vinden die dezelfde HLA antigenen bezit als de patiënt. Daarom worden patiënten vaak getransplanteerd met organen waarop één of enkele HLA mismatches aanwezig zijn. Om een afstotingsreactie te voorkomen worden de patiënten levenslang behandeld met afweeronderdrukkende medicijnen. Helaas hebben deze medicijnen vervelende bijwerkingen en onderdrukken ze ook de normale afweer waardoor er een verhoogde kans is op het ontstaan van infecties en kanker.

Het is dus van belang om een donor te vinden die qua HLA antigenen zoveel mogelijk overeenkomt met de patiënt. De HLA moleculen kunnen onderverdeeld worden in twee klassen. De HLA klasse I moleculen (HLA-A, -B en -C) komen voor op alle kernhoudende cellen en op bloedplaatjes. De HLA klasse II moleculen (HLA-DR, -DQ en -DP) komen voor op specifieke subpopulatie van witte bloedcellen. De vreemde HLA moleculen op het transplantaat kunnen herkend worden door T cellen en B cellen. De T cellen worden onderverdeeld in cytotoxische T cellen die een orgaan door direct cel-cel contact kunnen vernietigen en T-helper cellen die een regulerende rol hebben door het produceren van signaalstoffen (cytokines). De B cellen produceren antistoffen die het orgaan kunnen beschadigen.

Bij een aantal patiënten zijn er voor de transplantatie al antistoffen aanwezig die specifiek gericht zijn tegen de HLA antigenen op het transplantaat. Deze antistoffen kunnen gevormd zijn na zwangerschap, na een bloedtransfusie of na een eerder afgestoten transplantaat.



Deze al aanwezige antistoffen kunnen een versnelde, hyperacute afstoting van het transplantaat veroorzaken. Daarom worden alle patiënten voordat ze een transplantaat ontvangen gescreend op het voorkomen van deze donorspecifieke antistoffen met behulp van een kruisproef. Als er donorspecifieke antilichamen gevonden worden zal de transplantatie niet doorgaan.

Uit eerdere studies is gebleken dat niet alle HLA mismatches even immunogeen zijn. Dat wil zeggen dat niet elke mismatch eenzelfde immunologische reactie oproept. Er zijn HLA mismatches die geen of een zwakke immuunreactie teweeg brengen (acceptabele mismatches) wat leidt tot een vergelijkbare transplantaatoverleving als transplantaten zonder mismatches. Daarnaast zijn er ook HLA mismatches die een sterke immuunreactie opwekken (taboe mismatches) wat resulteert in een sterk verminderde transplantaat overleving.

In dit proefschrift is deze differentiële immunogeniciteit van HLA mismatches in meer detail onderzocht. Voornamelijk de humorale arm van het immuunsysteem, de antilichaam productie door B cellen, is in dit proefschrift bestudeerd. Als er meer bekend is over de immuunreactie die bepaalde HLA mismatches oproepen kan dit onderzoek leiden tot het vergroten van het donoraanbod voor transplantatiepatiënten en een verbeterde transplantaat overleving.

In dit proefschrift is de antilichaam productie van zwangere vrouwen tegen de HLA mismatches van het kind (HLA antigenen die het kind van de vader heeft geërfd) geanalyseerd. Sera van 1300 zwangere vrouwen zijn geanalyseerd en de HLA typering van alle vrouwen en kinderen en de antilichaam specificiteiten zijn opgenomen in een database. Er is bekeken of vrouwen die bepaalde HLA antigenen tot expressie brengen vaker of minder vaak antilichamen produceren. Vervolgens is geanalyseerd of tegen bepaalde HLA mismatches van het kind vaker of minder vaak antilichamen worden gemaakt. Als laatste is de antilichaamproductie in verschillende combinaties van HLA antigenen van moeder en kind geanalyseerd. Uit deze studie is gebleken dat de immunogeniciteit van een HLA mismatch niet alleen afhankelijk is van de HLA mismatch maar ook van het HLA fenotype van de ontvanger.

Vervolgens is de immunogeniciteit van twee sterk op elkaar lijkende HLA antigenen bestudeerd, namelijk HLA-A2 en HLA-A28. De epitopen op het HLA-A2 molecuul, die verschillen van de epitopen op HLA-A28, zijn uniek terwijl de gemismatchte epitopen op HLA-A28 ook vaak voorkomen op andere HLA-A en HLA-B antigenen. Daarom verwachtten we een verschil in immunogeniciteit tussen een HLA-A2 mismatch in HLA-A28 positieve individuen en een HLA-A28 mismatch in HLA-A2 positieve individuen. Om de immunogeniciteit te analyseren is er gekeken naar de antilichaamproductie, de CTL response en de transplantaat overleving. Uit de resultaten is gebleken dat HLA-A28 mismatches in HLA-A2 individuen minder immunogeen zijn dan HLA-A2 mismatches in HLA-A28 individuen.



Er zijn verschillende verklaringen te vinden voor het feit dat er tegen bepaalde HLA antigenen vaker of minder vaak antilichamen worden gemaakt. Verschillende studies hebben aangetoond dat het HLA-DR fenotype van de patiënt van belang is voor de antilichaam productie gericht tegen HLA klasse I antigenen. Het HLA-DR molekuul dat aanwezig is op het oppervlak van antigeen presenterende cellen van de patiënt, kan peptides van vreemde HLA klasse I molekulen presenteren aan T helper cellen waarna de immuunreactie op gang komt. Bepaalde HLA antigenen kunnen beter binden en gepresenteerd worden door het HLA-DR molekuul van de patiënt wat kan leiden tot een hogere antilichaam reactie. In het vervolg onderzoek is de antilichaam respons van alle HLA-DR homozygote patienten die geregistreerd stonden op de Eurotransplant wachtlijst tussen 1967 en 2000 geanalyseerd. De resultaten laten zien dat het HLA-DR fenotype van de patiënt een rol speelt in de immunogeniciteit van gemismatchte donor HLA antigenen.

Daarnaast kunnen ook de aminozuur sequentie verschillen tussen patient en donor van belang zijn voor het verschil in immunogeniciteit van HLA mismatches. De correlatie tussen de antilichaamproductie van patiënten die een donororgaan hebben afgestoten en de hoeveelheid aminozuur triplet mismatches tussen patiënt en donor is onderzocht. Dezelfde analyse is gedaan bij zwangere vrouwen die antilichamen hebben gemaakt tegen gemismatchte HLA antigenen van het kind. Deze analyse is gedaan met behulp van een computerprogramma, HLAMatchmaker, dat is ontwikkeld door Duquesnoy. De HLA klasse I antigenen van patiënt en donor worden opgedeeld in tripletten van aminozuren die herkend kunnen worden door antilichamen. Vervolgens wordt er bekeken welke tripletten er niet overeenkomen tussen patiënt en donor. HLAMatchmaker is gebaseerd op het feit dat er geen antilichamen gevormd kunnen worden tegen tripletten die overeenkomen tussen patiënt en donor. De resultaten laten zien dat er een sterke correlatie bestaat tussen het percentage individuen dat specifieke antilichamen heeft geproduceerd en de hoeveelheid triplet mismatches. In alle gevallen dat er geen triplet mismatches aanwezig waren zijn er ook geen antilichamen gemaakt. Ook is gevonden dat de immunogeniciteit van de foetus minder is dan die van een afgestoten transplantaat. Dit verschil heeft waarschijnlijk te maken met het feit dat er tijdens een zwangerschap veel minder contact is tussen de HLA antigen van moeder en kind in vergelijking met een transplantaat.

Met behulp van HLAMatchmaker worden alleen de tripletten geanalyseerd die een antilichaam respons op kunnen wekken. Daarnaast is er bekeken of er ook een correlatie gevonden kan worden tussen het aantal triplet mismatches in patiënt/donor combinaties en de CTLp response *in vitro*. CTLs herkennen, anders dan antilichamen, het HLA molekuul in context met het peptide dat in de groeve gepresenteerd wordt.



Omdat HLAMatchmaker de tripletten in de groeve en de peptides die kunnen binden niet meeneemt in de analyse hebben we geen sterke correlatie kunnen vinden tussen het aantal triplet mismatches en de CTL respons zoals bij de antilichaam respons wel het geval was.

De resultaten van de studies beschreven in dit proefschrift laten zien dat de immunogeniciteit van HLA mismatches afhankelijk is van de HLA typering van de patiënt. Meer inzicht in deze immunogeniciteit heeft geleid tot de herkenning van meer acceptabele en taboe mismatches. Ook kan het risico op humorale rejectie voorspeld worden met behulp van het HLA-DR fenotype van de patiënt en de hoeveelheid triplet mismatches tussen patiënt en donor. Implementatie van deze informatie in een niertransplantatie programma kan vele positieve gevolgen hebben. Het selecteren van organen met minder immunogene mismatches, naast de volledig gematchte organen, kan leiden tot een verhoogd aanbod van organen aan (hooggeïmmuniseerde) patiënten. Tevens wordt de kans op een humorale rejectie verkleind en zijn de patiënten die in aanmerking komen voor een tweede transplantatie minder vaak gesensibiliseerd.

De resultaten hebben laten zien dat het van belang is om het matchen van organen niet volledig te baseren op het aantal HLA mismatches maar ook op het functionele effect van deze HLA mismatches wat kan leiden tot de identificatie van nieuwe matching strategieën.