



Samenvatting proefschrift Marieke Roemeling-van Rhijn

“Towards Mesenchymal Stem Cell Therapy in Kidney Transplant Recipients”

**Promotie: 28 mei 2014
Erasmus Universiteit Rotterdam**

Promotor:
Prof. dr. W. Weimar

Co-promotor:
Dr. M.J. Hoogduijn

Vitale organen zoals het hart, de longen, lever en nieren zijn essentieel voor overleving. Wanneer organen falen als gevolg van ziekte of schade is orgaantransplantatie de enige genezende behandeling. Ieder individu heeft unieke ‘transplantatie moleculen’ (HLA-moleculen) op zijn of haar organen. Lichaamsvreemde (allogene) HLA-moleculen op getransplanteerde organen zullen herkend worden door het immuunsysteem van de ontvanger van dit orgaan. Deze herkenning initieert een afstotingsreactie (alloreactiviteit). Deze afstotingsreactie dient geremd te worden met afweer-onderdrukkende medicijnen om het orgaan te behouden. Ontwikkelingen op het gebied van deze afweer-onderdrukkende medicijnen hebben de afgelopen decennia gezorgd voor indrukwekkende verbetering van de korte termijn uitkomst van orgaantransplantatie. Deze medicijnen hebben echter ook bijwerkingen die vooral de lange termijn uitkomst na transplantatie beïnvloeden. Om de lange termijn uitkomst na transplantatie te verbeteren is er behoefte aan nieuwe behandelmogelijkheden. Celtherapie, waarbij specifieke therapeutische cellen worden toegediend, kan mogelijk voorzien in deze behoefte. Mesenchymale Stam- of Stromale Cellen (MSC) zijn voorloper cellen die kunnen differentiëren in onder andere bot- en vetcellen. Verder zijn deze MSC in staat om een afweerreactie te remmen. Deze eigenschappen maken MSC interessant voor toepassing als celtherapie in orgaantransplantatie patiënten (hoofdstuk 1). In transplantatie patiënten zouden MSC gebruikt kunnen worden om afstotingsreacties te remmen en beschadigde organen te repareren. Er zijn echter nog veel onzekerheden omtrent de klinische toepassing van MSC. Deze vragen betreffen de effectiviteit, werkingsmechanismen en veiligheid van MSC en de optimale MSC preparatie. Het doel van dit proefschrift was het beantwoorden van deze vragen. In hoofdstuk 2 werd het immuun modulerend effect van beenmerg MSC (BM-MSC) en vetweefsel MSC (ASC) bestudeerd. BM-MSC en ASC waren allebei in staat om de proliferatie van imuuncellen te remmen. Vervolgens



werd het effect van BM-MSC en ASC bestudeerd in een diermodel. In dit model werd menselijke huid getransplanteerd op de rug van een muis. Toediening van menselijke allogene imuuncellen veroorzaakte vervolgens afstoting van de huid wat gekenmerkt werd door toename van de imuuncellen en het ontstekingsseiwit IFN γ in de huid. Deze afstotingsreactie werd geremd door therapie met BM-MSC en ASC. Deze resultaten ondersteunen het toedienen van BM-MSC en ASC als celtherapie in orgaantransplantatie patiënten. Veiligheid is cruciaal voor MSC therapie. De genetische stabiliteit van de cellen is daarbij van groot belang en werd bestudeerd in hoofdstuk 3. Er werd aangetoond dat een percentage van de gekweekte ASC een abnormaal aantal kopieën van de chromosomen had (aneuploidie). Dit percentage nam toe wanneer ASC langer gekweekt werden. Ongekweekte ASC bevatten geen aneuploide cellen wat impliceert dat aneuploidie wordt geïnduceerd door het kweken van ASC. Van belang is dat geen van ASC kweken kwaadaardig transformeerden of resulteerden in tumor groei wanneer de ASC werden geïnjecteerd in muizen zonder afweer. Het kweken van MSC biedt de mogelijk tot optimalisatie van het MSC celproduct. Het gebruik van lage zuurstof condities (hypoxia) bevorderde de differentiatie capaciteit van MSC. Het effect van hypoxia op de immuunmodulerende eigenschappen van MSC is echter niet bekend en werd bestudeerd in hoofdstuk 4. Wanneer ASC werden blootgesteld aan hypoxia behielden ze hun immuun onderdrukkende eigenschappen. Dit betekent dat ASC kunnen worden toegediend in situaties met lage zuurstof spanning zoals getransplanteerde organen. In hoofdstuk 5 werd onderzocht of HLA-moleculen op allogene BM-MSC en ASC zelf een immuunreactie kunnen opwekken. Blootstelling van BM-MSC aan allogene imuuncellen resulteerde in de inductie van cytotoxische imuuncellen die in staat waren tot HLA specifieke lysis. ASC waren ook in staat tot het induceren van HLA specifieke lysis door cytotoxische imuuncellen. Echter, deze lysis was significant lager dan de lysis geïnduceerd door BM-MSC. Stimulatie van BM-MSC en ASC met het ontstekingsseiwit IFN γ zorgde voor verhoging van het HLA op BM-MSC en ASC en de geïnduceerde lysis. Deze resultaten tonen aan dat allogene BM-MSC en ASC immunogeen kunnen zijn. Dus, om alloreactiviteit te voorkomen heeft het gebruik van patiënt eigen (autologe) MSC in orgaantransplantatie patiënten de voorkeur boven het gebruik van allogene MSC. Het is echter de vraag of autologe MSC therapie in niertransplantatie patiënten mogelijk is omdat dit het gebruik betekent van cellen van nierziekte patiënten. In dit proefschrift werd het effect van nierziekte op BM-MSC (hoofdstuk 6) en ASC (hoofdstuk 7) onderzocht. ASC en BM-MSC afkomstig van patiënten met nierziekte vertoonden een normaal MSC uiterlijk en deling capaciteit. De anti-proliferatieve effecten van ASC en BM-MSC afkomstig van nierziekte patiënten waren vergelijkbaar met die van gezonde donoren. Ten slotte waren de karakteristieken van ASC, inclusief het immuun onderdrukkende effect, niet aangedaan wanneer ASC werden blootgesteld aan bloedserum van nierziekte patiënten. Deze resultaten tonen aan dat het mogelijk is om functionele BM-MSC en ASC te isoleren van patiënten met nierziekte en suggereren bovendien dat ASC hun functionaliteit behouden wanneer ze toegediend zouden worden in een patiënt met nierziekte.



Ten slotte, terwijl MSC momenteel al in de kliniek gebruikt worden is er nog weinig bekend over hoe MSC werken. In hoofdstuk 8 werd het effect van MSC infusie in muizen bestudeerd. Infusie van MSC in muizen resulteerde in een snelle ophoping van de MSC in de longen. Tegelijkertijd was er in de longen een lokaal en in het bloedserum een systemische ontstekingsreactie te detecteren. Deze reactie verdween binnen een dag. Drie dagen na het toedienen van MSC was het immuunsysteem van de muizen echter onderdrukt.

Samenvattend tonen de resultaten besproken in dit proefschrift aan dat BM-MSC en ASC in staat zijn om een afweerreactie te onderdrukken, dat het kweken van MSC veilig is maar dat allogene MSC zelf wel een allereactie kunnen veroorzaken. Om deze allereactie te voorkomen heeft het gebruik van autologe therapie de voorkeur. Dit is ook mogelijk aangezien de BM-MSC en ASC van patiënten met nierziekte niet aangetast zijn in hun functie. Ten slotte werd geconcludeerd dat infusie van MSC in muizen een ontstekingsreactie veroorzaakte waarna een fase van onderdrukking van het immuunsysteem volgde.. ◀