



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Chimerism in health, transplantation and autoimmunity

Koopmans, M.; Kremer Hovinga, I.C.L.

Citation

Koopmans, M., & Kremer Hovinga, I. C. L. (2009, March 24). *Chimerism in health, transplantation and autoimmunity*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/13697>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/13697>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

13

**NEDERLANDSE SAMENVATTING,
DISCUSSIE EN CONCLUSIE**

De term 'chimerisme' vindt zijn oorsprong in de Griekse mythologie, waar de Chimaera (Χίμαίρα) een wezen was met een lichaam opgebouwd uit delen van een leeuw, een slang en een geit. Het is dit naast elkaar bestaan van lichaamsdelen van verschillende origine in één individu, waar in de geneeskunde naar verwezen wordt met de term chimerisme. In de wetenschap wordt chimerisme gedefinieerd als een individu of orgaan bestaande uit weefsels van verschillende origine.

Er zijn verschillende situaties die kunnen leiden tot chimerisme: zwangerschap, bloedtransfusie en transplantatie van een orgaan of van beenmerg. In **hoofdstuk 1** worden deze situaties afzonderlijk besproken en wordt beschreven wat de mogelijke implicaties van de aanwezigheid van deze chimere cellen kunnen zijn. Tijdens een zwangerschap treedt uitwisseling op van foetale cellen naar de circulatie van de moeder en *vice versa*. Vooral naar de uitwisseling van foetale cellen naar de moeder is veel onderzoek gedaan, omdat dit foetale materiaal tijdens de zwangerschap gebruikt kan worden voor prenatale diagnostiek. Intrigerend is het feit dat foetale cellen tot tientallen jaren na de zwangerschap in het lichaam van de moeder aangetoond kunnen worden, en ook kunnen differentiëren tot orgaanspecifieke cellen zoals levercellen (hepatocyten) of specifieke immuuncellen (onder andere T-cellen). Uit de literatuur blijkt dat na een bloedtransfusie cellen van de donor in de ontvanger kunnen blijven bestaan. Interessant genoeg leidt niet iedere bloedtransfusie tot persisterend chimerisme en ook lijkt het aantal transfusies (en dus het aantal lichaamsvreemde cellen dat in het lichaam van de ontvanger komt) geen invloed te hebben op het ontstaan van langdurig chimerisme. Daarnaast blijkt dat vaak cellen van één specifieke donor blijven voortbestaan (onafhankelijk van het aantal transfusies dat iemand ontvangt). Waar dit door veroorzaakt wordt, is niet geheel duidelijk. Na transplantatie is de ontvanger per definitie chimeer (het getransplanteerde orgaan is afkomstig van een genetisch ander individu), maar het orgaan zelf kan ook chimeer worden (als cellen van dit orgaan vervangen worden door cellen van de ontvanger). Tot slot komen donorcellen vanuit het getransplanteerde orgaan terecht in de circulatie en perifere weefsels van de ontvanger.

Chimerisme kan verschillende gevolgen hebben. De bevinding dat chimere, dus lichaamsvreemde, cellen voor lange tijd aanwezig kunnen zijn in een individu zonder

opgeruimd te worden, leidt tot de vraag wat voor effect chimere cellen hebben op het immuunsysteem. Chimerisme in een getransplanteerd orgaan heeft mogelijk een effect op de acceptatie of afstoting van het getransplanteerde orgaan en circulerende donorcellen kunnen van invloed zijn op het immuunsysteem van de ontvanger. Daarnaast is er de hypothese dat chimere cellen een rol spelen in het ontstaan van auto-immuunziekten. Via beïnvloeding van het immuunsysteem zou aanwezigheid van chimere cellen ertoe kunnen leiden dat de normaliter bestaande tolerantie voor eigen cellen verstoord wordt.

In dit proefschrift is de rol van chimerisme onderzocht in zowel gezonde individuen, als in patiënten die een orgaantransplantatie hebben ondergaan, en in patiënten met de auto-immuunziekte systemische lupus erythematosus (SLE).

Deel I: chimerisme in gezonde individuen

Naar het vóórkomen van chimerisme in gezonde individuen is vooral onderzoek gedaan tijdens de zwangerschap: foetale cellen werden opgespoord in het lichaam van de moeder, en cellen van maternale oorsprong werden ontdekt in het lichaam van het kind. Beide situaties blijken tijdens een zwangerschap frequent voor te komen, al is het aantal cellen vaak laag. Zo zijn er tussen de 1 en 6 foetale cellen detecteerbaar in 1 milliliter bloed van de moeder. Vooral foetale cellen die tijdens een zwangerschap in het lichaam van een vrouw terechtkomen zijn veel bestudeerd. Ten eerste omdat deze foetale cellen tijdens de zwangerschap informatie kunnen geven over aandoeningen bij het kind, en ten tweede omdat deze foetale cellen nog kunnen differentiëren tot allerlei verschillende soorten cellen. Om foetale cellen aan te tonen is er een verschil nodig met cellen van de moeder. Dit kan een verschil in bloedgroep zijn of in erfelijke eigenschappen (bijvoorbeeld HLA-type). Een relatief eenvoudige methode die het meest gebruikt wordt om chimere cellen aan te tonen, is een verschil in geslacht. Zo kunnen tijdens of na een zwangerschap van een zoon, mannelijke foetale cellen aangetoond worden in het lichaam van de moeder. Het voortbestaan van deze foetale cellen in het lichaam van de moeder na de zwangerschap was voor de publicatie van dit proefschrift nog maar zeer summier onderzocht. Wat gebeurt er met de chimere cellen? Blijven ze in het bloed of zijn ze ook aanwezig in organen en welke organen dan?

In **hoofdstuk 2** wordt het vóórkomen van mannelijke, chimere cellen in organen van vrouwen met en zonder zonen beschreven. Door middel van in situ hybridisatie van het Y-chromosoom (waarbij het Y-chromosoom, dat alleen aanwezig is in mannelijke cellen, wordt aangekleurd) is onderzocht of mannelijke cellen aanwezig waren in normaal nier-, lever-, hart- en miltweefsel van 46 vrouwen met zonen en 29 vrouwen zonder kinderen. Met een techniek waarbij op DNA niveau het Y-chromosoom herkend wordt (PCR), werd bevestigd dat het daadwerkelijk mannelijke cellen betrof. Kleine aantallen mannelijke cellen werden gevonden in 13 van 51 nieren (25%), 10 van 51 levers (20%), 4 van 69 harten (6%) en 8 van 44 milten (18%). Er waren 27 vrouwen (36%) met mannelijke cellen in minimaal één orgaan. Bij 6 vrouwen werden er in 2 of 3 organen mannelijke cellen aangetoond. De 27 positieve vrouwen varieerden in leeftijd van 29 tot 93 jaar. Tegen de verwachting in werd er geen verschil gevonden in het vóórkomen van mannelijke cellen in organen van vrouwen met zonen en vrouwen zonder kinderen. Van alle vrouwen was bekend of zij ooit een bloedtransfusie hadden ontvangen en het eventuele aantal hiervan. Er werd echter geen relatie gevonden tussen bloedtransfusievoorgeschiedenis en aanwezigheid van mannelijke cellen in één of meer organen. Deze studie toonde de frequentie van mannelijke cellen in organen van vrouwen zonder ziekte aan. Dit is onder andere van belang voor studies waarbij het vóórkomen van chimerisme in transplantatie organen na transplantatie wordt onderzocht. In de medische literatuur waren al meerdere studies verschenen die het vóórkomen van chimerisme in getransplanteerde organen onderzochten en hier conclusies uit getrokken met betrekking tot de overleving van dit transplantaat. Deze onderzoekers vergaten echter vaak de mogelijkheid dat het chimerisme dat zij vonden na transplantatie al voor de transplantatie aanwezig kon zijn in het orgaan, zeker in organen afkomstig van vrouwen met kinderen. Onze studie toont aan dat bij een niet onaanzienlijk deel van de vrouwen, al vóór transplantatie, een klein aantal mannelijke cellen aanwezig was in hun organen. Onderzoekers die willen beoordelen wat het vóórkomen is van chimere cellen na orgaantransplantatie moeten derhalve rekening houden met de chimere cellen die al aanwezig kunnen zijn vóór de transplantatie.

In **hoofdstuk 3** wordt beschreven wat het vóórkomen is van mannelijke cellen in normaal schildklier-, long-, huid- en lymfklierweefsel van 51 vrouwen met zonen, op vergelijkbare

wijze onderzocht als in hoofdstuk 2. Chimere, mannelijke cellen werden aangetoond door middel van in situ hybridisatie van het Y-chromosoom. Nadat in de literatuur de hypothese was gesteld dat chimerisme een rol zou kunnen spelen bij het ontstaan van auto-immuunziekten, verschenen er meerdere publicaties over het vóórkomen van chimerisme in verschillende organen die aangedaan waren door verschillende auto-immuunziekten. Als gevolg hiervan werd de aanwezigheid van chimerisme in zieke organen wel goed in kaart gebracht, terwijl er nog maar weinig bekend was over het vóórkomen van chimerisme in gezonde organen. In onze studie werden Y-chromosoom positieve cellen aangetoond in 8 van 44 schildklieren (18%), 10 van 38 longen (26%), 3 van 21 huiden (14%) en 1 van 7 lymfklieren (14%). Er waren 18 vrouwen (35%) met mannelijke cellen in minimaal één orgaan. Bij 4 vrouwen werden in twee organen mannelijke cellen aangetoond. De 18 positieve vrouwen varieerden in leeftijd van 47 tot 81 jaar. De long was het enige orgaan waarin relatief veel chimere cellen voorkwamen. Van alle vrouwen was bekend of zij ooit een bloedtransfusie hadden ontvangen van een mannelijke donor en het eventuele aantal transfusies. Er werd ook in deze studie geen relatie gevonden tussen bloedtransfusievoorgeschiedenis en aanwezigheid van mannelijke cellen in één of meer organen. Evenals in de studie beschreven in hoofdstuk 2, blijkt ook uit deze studie dat chimere cellen aanwezig kunnen zijn in organen zonder ziekte.

Deel II: chimerisme in transplantatie

Zoals hiervoor al opgemerkt zijn er meerdere publicaties naar het vóórkomen van chimerisme na transplantatie, omdat het chimerisme dat na transplantatie ontstaat mogelijk invloed heeft op het resultaat van de transplantatie. Na transplantatie uit het chimerisme zich op twee verschillende niveaus: ten eerste vervangen cellen die van de ontvanger afkomstig zijn, donorcellen in het getransplanteerde orgaan. De hypothese is beschreven dat dit het orgaan meer 'eigen' maakt en daardoor minder kans op afstoting geeft. Ten tweede kunnen van het transplantaat afkomstige cellen in het hele lichaam van de ontvanger terecht komen waar ze mogelijk het immuunsysteem van de ontvanger kunnen beïnvloeden. Hierbij is het de vraag of deze cellen een positieve of negatieve invloed hebben op de acceptatie van het orgaan en/of op de gezondheid van de patiënt. **Hoofdstuk 4** beschrijft een literatuuronderzoek naar de verschillende

vormen van chimerisme na transplantatie, waarbij de nadruk ligt op de cellen van de ontvanger die in een getransplanteerd orgaan de cellen van donororigine vervangen. Bij dit onderzoek bleek dat de uitkomsten van de verschillende studies mede afhankelijk waren van de gebruikte technieken. Daarom worden in dit hoofdstuk verschillende methoden om chimere cellen aan te tonen besproken samen met hun voordelen en beperkingen.

Het lot van cellen van donororigine was ook het onderwerp van studie in **hoofdstuk 5**. Hierin werd onderzocht of in patiënten die een niertransplantatie hebben ondergaan en daarna huidkanker ontwikkelden, cellen uit het getransplanteerde orgaan in de tumor aangetoond konden worden. Na transplantatie gebruiken patiënten levenslang medicijnen die het immuunsysteem onderdrukken. Het is bekend dat deze patiënten op de lange termijn een grotere kans hebben om (onder andere) huidkanker te ontwikkelen. Het is mogelijk dat van de donor afkomstige cellen een rol spelen bij het ontstaan van huidkanker. Om dit te onderzoeken werd van een groot cohort patiënten die in het Leids Universitair Medisch Centrum een niertransplantatie hadden ondergaan in de periode 1971 tot en met 2002, achterhaald of zij na de transplantatie een specifieke vorm van huidkanker hadden gekregen (basaalcelcarcinoom of plaveiselcelcarcinoom). Om cellen van de donor aan te kunnen tonen in de huidtumoren werden voor deze studie vrouwen geselecteerd die een nier hadden ontvangen van een mannelijke donor. Door middel van *in situ* hybridisatie van het Y-chromosoom werd getracht mannelijke donorcellen aan te tonen in het tumorweefsel. Weefsels van 42 huidtumoren van 17 vrouwen werden beoordeeld. In geen van de huidtumoren werden mannelijke cellen aangetoond. Experimenten op DNA niveau toonden evenmin mannelijk DNA aan.

Deel III: chimerisme bij auto-immuunziekten

Als derde onderdeel van dit proefschrift werd de rol onderzocht van chimerisme in auto-immuunziekten, waarbij de ziekte systemische lupus erythematosus (SLE) centraal stond. Een auto-immuunziekte is een aandoening waarbij de immunologische afweer zich richt tegen eigen cellen. De immunologische afweer beschermt het lichaam normaliter met behulp van antistoffen en cellen tegen ziekteverwekkers. Bij SLE keren de antilichamen zich tegen het eigen weefsel. De ziekte ontstaat vooral bij jonge vrouwen.

De kenmerken van SLE zijn zeer divers, en kunnen onder andere zijn: ontsteking van gewrichten, ontsteking van de nier (specifiek: lupus nefritis), bloedarmoede, zweertjes in de mond- en keelholte, ontsteking van het borstvlies of het hartzakje (pleuritis of pericarditis), rode plekken op de huid (vooral in het gelaat), psychoses en toevallen. Het verschilt per patiënt waar hij of zij last van heeft. SLE is een chronische ziekte, waarin perioden met ziekte-activiteit worden afgewisseld met rustige perioden. De gedachte dat chimere cellen een rol zouden kunnen spelen in het ontstaan van SLE, wordt gevoed door een aantal zaken. Er zijn veel meer vrouwen dan mannen die SLE krijgen en bij vrouwen ontstaat de ziekte met name tijdens de vruchtbare leeftijd. Vrouwen hebben een grotere kans om chimeer te worden dan mannen door zwangerschappen die zij doormaken. Het is bekend dat foetale cellen kunnen voortbestaan in het lichaam van de moeder na een zwangerschap. Zou dit het relatief hoge vóórkomen van SLE bij vrouwen in de geslachtsrijpe leeftijd kunnen verklaren? Verder is in proefdieren bewezen dat het toedienen van chimere immuuncellen (T-cellen) een ziekte kan veroorzaken die lijkt op humane SLE. In dit proefschrift werd de rol onderzocht van chimere cellen in SLE bij mensen. In **hoofdstuk 6** staat het vóórkomen van chimere, mannelijke cellen beschreven in nierweefsel van vrouwen met SLE die deze ziekte ook in nieren hadden (lupus nefritis). Tevens werd getracht deze cellen nader te identificeren. Hiervoor werden 57 nierbipten van 49 vrouwen met SLE onderzocht. Y-chromosoom positieve cellen werden aangetoond in nierweefsel van 27 van 49 patiënten met SLE (55%), hetgeen significant vaker was dan in nierweefsel van gezonde vrouwen (25%). Het betrof in alle gevallen een klein aantal cellen (maximaal 5 per coupe), die aanwezig waren in alle delen van de nier (glomeruli, tubuli en interstitium). Er was geen relatie tussen het vóórkomen van mannelijke chimere cellen en de kinderstatus, bloedtransfusiegeschiedenis, of klinische bevindingen ten aanzien van de ziekte SLE. Helaas waren uitgebreide zwangerschapsgegevens van de vrouwen in de studie niet bekend. Om te onderzoeken wat voor soort cellen het betrof, werden dubbelkleuringen uitgevoerd in nierweefsel van 5 vrouwen met SLE. Zowel Y-chromosoom positieve immunologische cellen (CD3+) als Y-chromosoom positieve endotheel-/stamcellen (CD34+) werden aangetoond. Met name de bevinding dat een deel van de chimere cellen CD3+ T-cellen zijn is interessant, aangezien in bepaalde muizen is aangetoond dat een op SLE lijkende ziekte kan ontstaan na injectie van chimere T cellen. Dit zou kunnen betekenen dat chimere cellen een rol spelen bij het ontstaan van SLE.

In **hoofdstuk 7** worden de verschillende hypothesen op een rij gezet met betrekking tot de rol van chimere cellen bij het ontstaan van auto-immuunziekten, en dan met name bij SLE. Twee hypothesen gaan over de mogelijke rol van chimere cellen bij het ontstaan van SLE. De toename van chimere cellen in organen aangedaan door SLE zou dan in relatie staan tot meer ziekte-activiteit. Een derde hypothese claimt dat chimere cellen geen rol spelen bij het ontstaan van SLE, maar dat zij juist een positief effect hebben door het herstellen van schade. De toename van chimere cellen in organen van vrouwen met SLE zou dan verklaard kunnen worden door het herstel van schade die door andere oorzaken is toegebracht. Tenslotte is het ook nog mogelijk dat chimere cellen slechts toevallig aanwezig zijn en geen rol van betekenis hebben. De toename van chimere cellen in organen aangedaan door SLE wordt dan verklaard door een toename van het totale aantal immuuncellen in de organen met ziekteactiviteit of door het onvermogen van het immuunsysteem om chimere cellen te verwijderen.

Om meer informatie te krijgen over de lokaties van chimere cellen in het lichaam van vrouwen met SLE en om daarmee mogelijk te kunnen differentiëren tussen de verschillende bovengenoemde hypothesen, werd een groot aantal organen van vrouwen met SLE onderzocht, die deels wel en deels niet door de ziekte waren aangedaan. In **hoofdstuk 8** wordt het vóórkomen van chimere, mannelijke cellen beschreven in 48 organen van 7 vrouwen met SLE. De relatie tussen chimerisme en SLE gerelateerde schade, en tussen chimerisme en niet aan SLE gerelateerde schade werd onderzocht. Mannelijke, chimere cellen werden in kleine aantallen aangetoond in alle 7 vrouwen, in 24 van de onderzochte 48 organen (50%): 3 van 7 harten, 4 van 6 longen, 6 van 7 nieren, 4 van 7 levers, 2 van 6 milten, 2 van 6 huiden, 2 van 5 schildklieren en 1 van 3 lymfklieren. Deze resultaten werden vergeleken met een controlegroep bestaande uit 34 gezonde vrouwen, die overeenkwamen in leeftijd en kinderstatus (aantal kinderen en geslacht ervan), waarbij in 21 van 146 organen (14%) mannelijke cellen werden aangetoond. In beide groepen vrouwen werd geen relatie gevonden tussen het vóórkomen van chimerisme en de kinderstatus of bloedtransfusiegeschiedenis. Chimere cellen kwamen vaker voor in organen met schade dan in organen zonder schade. Deze relatie tussen chimerisme en orgaanschade wijst op een mogelijke rol van chimere cellen in herstel. Desondanks is het ook mogelijk dat deze chimere cellen

een schadelijke rol hebben doordat ze het immuunsysteem dusdanig beïnvloeden dat een auto-immuun reactie ontstaat. De chimere cellen in weefsels met schade zouden ook doelwit geweest kunnen zijn van een schadelijke immuunreactie en juist daarom aanwezig zijn in organen met schade. Wij hebben niet nader onderzocht of specifieke chimere cellen onder bepaalde omstandigheden doelwit kunnen worden van een niet goed verlopende immuunreactie die leidt tot SLE.

Aangenomen wordt dat de chimere cellen in organen van vrouwen met SLE afkomstig zijn van zwangerschappen. In vorige studies (zie hoofdstukken 6 en 8) werd geen verband gevonden tussen het vóórkomen van chimerisme en het aantal kinderen dat zij hebben bij vrouwen met SLE. Echter, wij denken dat ook miskramen en abortussen tot chimerisme kunnen leiden aangezien al na 5 weken zwangerschap foetale cellen in het lichaam van de moeder aanwezig kunnen zijn. Daarom wilden wij graag het vóórkomen van chimerisme in organen onderzoeken van vrouwen met SLE waarvan ook een uitgebreide zwangerschapshistorie bekend was. Dit hebben wij kunnen doen door gebruik te maken van weefsel en gegevens van patiënten die deelnamen aan de Eerste Landelijke Lupus Nefritis Studie. Deze bevindingen worden beschreven in **hoofdstuk 9**. De Eerste Landelijke Lupus Nefritis Studie was een klinische studie, waarbij behandeling met verschillende geneesmiddelen werd onderzocht. Onderdeel van deze studie was een uitgebreide vragenlijst over onder andere zwangerschapswens, doorgemaakte zwangerschappen en uitkomst ervan (voldragen kinderen of een miskraam). Chimere, mannelijke cellen werden aangetoond in nierbiopten van vrouwen met SLE met behulp van in situ hybridisatie van het Y-chromosoom. Van de 26 nierbiopten in de studie bevatten 12 biopten mannelijke cellen. Een duidelijke relatie met zwangerschapsvoorgeschiedenis werd echter niet gevonden, waarbij opgemerkt dient te worden dat het aantal onderzochte biopten vrij klein was. Chimere vrouwen die zwanger waren geweest meldden gemiddeld wel meer zwangerschappen dan niet chimere vrouwen die zwanger waren geweest. Het is mogelijk dat alleen specifieke cellen in het lichaam van de moeder kunnen persisteren, waardoor geen lineair verband bestaat tussen zwangerschapsvoorgeschiedenis en vóórkomen van chimerisme.

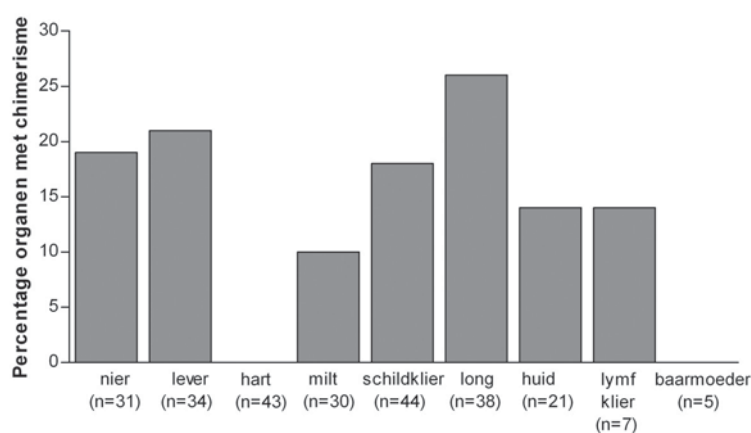
Na de voorgaande studies is duidelijk dat in veel vrouwen mannelijke cellen aangetoond kunnen worden. De meest gangbare hypothese is dat deze cellen afkomstig zijn van een mannelijke foetus waarbij cellen tijdens de zwangerschap via de placenta in de bloedcirculatie van de moeder terecht zijn gekomen. In voorgaande hoofdstukken is beschreven dat in vrouwen met SLE chimere cellen significant vaker aanwezig zijn dan in gezonde vrouwen. **Hoofdstuk 10** beschrijft onderzoek dat nagaat of dit ook geldt voor de baarmoeder (uterus). Hiervoor werd weefsel onderzocht van baarmoeders van 7 vrouwen met SLE en 11 gezonde vrouwen, plus één baarmoeder die direct na de bevalling van een zoon verwijderd werd vanwege complicaties. Er bleken significant vaker en meer mannelijke cellen voor te komen in baarmoeders van vrouwen met SLE dan in die van gezonde vrouwen. In de baarmoeder die na de zwangerschap werd verwijderd, werd het grootste aantal chimere cellen aangetoond. Deze baarmoeder was verwijderd vanwege hevige bloedingen bij een afwijkende, ingegroeide, placenta. Hieruit zou geconcludeerd kunnen worden dat een toename in chimere cellen samenhangt met een stoornis in de placenta-aanleg. Deze resultaten kunnen niet alleen verklaard worden door het feit dat deze baarmoeder kort na de zwangerschap is verwijderd, omdat een andere baarmoeder in de studie die kort na de zwangerschap was verwijderd geen chimere cellen liet zien. De hypothese dat een verstoorde placenta-aanleg kan leiden tot een toename in chimere cellen is moeilijk te bewijzen, maar indirect bewijs is dat bij vrouwen met zwangerschapsvergiftiging (pre-eclampsie) tijdens de zwangerschap meer foetale cellen in het bloed van de moeder aanwezig zijn dan bij vrouwen met zwangerschappen zonder complicaties. Bij pre-eclampsie is er ook sprake van een afwijkende placenta-aanleg, en vrouwen met SLE die zwanger worden hebben een verhoogde kans om pre-eclampsie te ontwikkelen. Wellicht is dus het vaker vóórkomen van chimere cellen bij vrouwen met SLE een gevolg van een andere placenta-aanleg.

Het onderzoek naar de rol van chimerisme in het ontstaan van SLE bij kinderen wordt behandeld in **hoofdstuk 11**. Bij volwassen zijn er veel meer vrouwen dan mannen die deze ziekte ontwikkelen (verhouding 9:1), terwijl bij kinderen de verhouding tussen jongens en meisjes ongeveer gelijk is. Er vanuit gaande dat chimere cellen een rol spelen bij het ontstaan van SLE, zou dit verschil in man-vrouw verhouding op volwassen leeftijd kunnen samenhangen met het gegeven dat volwassen vrouwen een grotere

kans hebben om op latere leeftijd chimeer te worden door de zwangerschappen die zij doormaken. Indien chimerisme een rol speelt bij het ontstaan van SLE, zouden chimere cellen ook aanwezig moeten zijn in kinderen met SLE. Om dit te onderzoeken werd in situ hybridisatie van het Y-chromosoom uitgevoerd op 36 nierbiopten van 29 meisjes met lupus nefritis. Zij varieerden in leeftijd van 4 tot en met 17 jaar. Ter controle werd nierweefsel van 11 meisjes onderzocht die geen afwijkingen aan hun nieren hadden, deze meisjes waren tussen de 1 en 12 jaar oud. Chimere, mannelijke cellen werden gevonden in 12 biopten met lupus nefritis, wat niet verschilde met het vóórkomen van mannelijke cellen in controlenieren (4 van de 11). Het aantal chimere cellen was altijd laag. Deze mannelijke cellen zijn waarschijnlijk afkomstig van broers van de meisjes, al hebben wij dit niet specifiek onderzocht. Bij tweelingzwangerschappen kan er uitwisseling van cellen tussen beide kinderen optreden. Ook is het mogelijk dat cellen van een oudere broer of zus die in het lichaam van de moeder aanwezig zijn, tijdens een volgende zwangerschap in het lichaam van het jongere kind terecht komen. Daarnaast gaan er tijdens zwangerschap ook cellen van de moeder naar het kind, waardoor ook maternaal chimerisme een rol zou kunnen spelen bij kinderen met lupus nefritis. Het is mogelijk dat chimere cellen afkomstig van een kind andere eigenschappen en invloeden op het immuunsysteem hebben dan chimere cellen afkomstig van moeder, broer of zus en daarmee ook een andere potentie tot het veroorzaken van ziekte.

ALGEMENE DISCUSSIE EN CONCLUSIE

De studies beschreven in dit proefschrift laten zien dat chimerisme zeer frequent vóórkomt in zowel gezonde individuen, na transplantatie, en bij de auto-immuunziekte SLE. Bij gezonde individuen is het aantal chimere cellen zeer klein. Opvallend is dat ook in vrouwen op hoge leeftijd nog mannelijke cellen aanwezig zijn. Er is een duidelijk verschil in vóórkomen van chimerisme tussen diverse organen (zie figuur). Hoewel deze bevinding ook in andere studies in de literatuur wordt gedaan, is er nog geen eenduidige verklaring voor gevonden. Na transplantatie van een orgaan ontstaan verschillende vormen van chimerisme, waarbij wij alleen gekeken hebben naar de van de donor afkomstige cellen in het lichaam van de ontvanger. Aangetoond is dat cellen



Figuur. Het percentage organen waarin mannelijke cellen aanwezig zijn van vrouwen met zonen (data uit hoofdstukken 2, 3 en 10).

Chimerisme werd gevonden in verschillende organen van vrouwen met de auto-immuunziekte SLE. In de onderzoeken waarbij wij weefsel van volwassen vrouwen met SLE onderzochten, werden er significant vaker chimere cellen gevonden dan bij weefsel van gezonde vrouwen. De rol van chimerisme in SLE is nog niet duidelijk en er zijn verschillende hypothesen. Het zou zo kunnen zijn dat chimere cellen in principe niet betrokken zijn bij het ontstaan van ziekte, maar onder bepaalde immunologische omstandigheden, afhankelijk van de karakteristieken van de chimere cellen en van de ontvanger, toch ziekte veroorzaken. Dit zal moeten blijken uit toekomstige studies.

Uit de literatuur zijn drie bronnen van chimere cellen bekend: zwangerschap, bloedtransfusies en transplantatie van een orgaan of beenmerg. In onze studies bij gezonde vrouwen en vrouwen met SLE die niet getransplanteerd waren, vonden wij echter tegen de verwachting in geen relatie tussen chimerisme en de zwangerschaps-

of de bloedtransfusievoorgeschiedenis. Vooral voor zwangerschappen geldt echter dat zij moeilijk zijn uit te sluiten op basis van afwezigheid van een levend kind. Onderzoek wijst er namelijk op dat slechts circa 30% van alle zwangerschappen goed verloopt en eindigt met de geboorte van een levend kind. De meerderheid van miskramen treedt vroeg in de zwangerschap op en een deel waarschijnlijk al in een zodanig vroeg stadium van de zwangerschap, dat de vrouw zelf nog niet beseft dat zij zwanger is. Het is bekend dat foetale cellen al vroeg in de zwangerschap, bij 5 à 6 weken zwangerschapsduur, in de circulatie van de moeder kunnen worden aangetroffen. Het is dus mogelijk dat ook deze jonge zwangerschappen leiden tot chimerisme in de moeder, leidend tot afwezigheid van een relatie tussen zwangerschapsvoorgeschiedenis en vóórkomen van chimere cellen (hoofdstuk 9). Er zijn nog andere scenario's omtrent chimerisme na zwangerschap denkbaar. Chimere cellen zouden bijvoorbeeld ook afkomstig kunnen zijn van een tweelingbroer of -zus. In de baarmoeder treedt dan uitwisseling van cellen op tussen beide kinderen. Uit onderzoek blijkt dat veel meer zwangerschappen als tweelingzwangerschap ontstaan dan er tweelingen geboren worden, dus het is niet uit te sluiten dat chimerisme kan ontstaan van een tweelingbroer of -zus, die vroeg in de zwangerschap is overleden. Een andere optie is dat foetale cellen via het lichaam van de moeder tijdens een volgende zwangerschap terecht komen in het lichaam van het jongere kind. Op deze manier zouden chimere cellen van oudere broers of zussen kunnen zijn. Uiteraard is het ook nog mogelijk dat er andere bronnen van chimere cellen bestaan, waar wij momenteel nog niet van op de hoogte zijn.

Het feit dat geen lineaire relatie wordt gevonden tussen chimerisme en bloedtransfusievoorgeschiedenis of zwangerschapsvoorgeschiedenis kan ook het gevolg zijn van het feit dat slechts specifieke chimere cellen in staat zijn om voort te leven. Dit is bewezen in studies naar het voortbestaan van chimere cellen na een bloedtransfusie. Slechts cellen van een klein aantal donoren zijn een aantal maanden na een bloedtransfusie aantoonbaar in het bloed van de ontvanger, ondanks dat deze soms tientallen transfusies had ontvangen van verschillende donoren. Er lijkt dus een specifieke tolerantie voor cellen van een bepaald persoon te bestaan. Welke kenmerken ervoor zorgen dat juist deze chimere cellen kunnen voortbestaan is nog niet bekend.

Op dit moment wordt onderzoek naar chimerisme beperkt door technische grenzen om een dergelijk klein aantal cellen op te sporen en verdere experimenten mee te verrichten. Met het toenemen van de technische mogelijkheden zal het steeds beter mogelijk worden om het vóórkomen van chimerisme in gezonde en zieke individuen te onderzoeken. Voor verdere discussies over de rol die chimere cellen spelen bij gezonde individuen, na transplantatie, maar vooral ook bij auto-immuunziekten is het nodig dat onderzocht kan worden wat voor soort cellen de chimere cellen zijn en hoe functioneel deze zijn.

In dit proefschrift hebben we het vóórkomen van chimerisme in weefsels van vrouwen onderzocht en we vonden chimerisme zowel in gezond weefsel als in weefsel met schade en in verschillende organen. In organen van volwassen vrouwen met SLE vonden we vaker chimerisme dan in andere organen. Dat chimere cellen, die in feite lichaamsvreemd zijn, getolereerd worden door de ontvanger, betekent dat ze het immuunsysteem beïnvloeden. Of deze beïnvloeding van het immuunsysteem door chimerisme een rol speelt bij tolerantie na transplantatie of bij het ontstaan van auto-immuunziekten, is nog onbekend en een interessant onderwerp voor verdere studies. Het feit dat chimerisme zo vaak vóórkomt in gezonde organen, maakt een rol van chimere cellen als uitsluitend ziekte-veroorzakend onwaarschijnlijk. Thans zijn wij van mening dat chimere cellen alleen onder bepaalde omstandigheden kunnen leiden tot ziekte.

