

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/31592> holds various files of this Leiden University dissertation.

**Author:** Dierselhuis, Miranda Pauline

**Title:** Minor histocompatibility antigen specific cytotoxic and regulatory immune responses in health and disease

**Issue Date:** 2015-01-20



CHAPTER IX

## **Nederlandse samenvatting / Dutch summary**



In dit proefschrift worden immuun responses (afweer reacties) tegen Minor Histocompatibiliteits antigenen (kortweg minors) beschreven in gezonde individuen en in relatie tot transplantatie. Beenmerg of stamceltransplantaties worden uitgevoerd voor verschillende indicaties, met name in patiënten met leukemie (bloedkanker). Hierbij wordt feitelijk het immuunsysteem van de ontvanger vervangen door het immuunsysteem van de donor. Voor een goed resultaat van de transplantatie is het belangrijk dat de donor en de ontvanger immunologisch gezien zoveel mogelijk gelijk zijn aan elkaar. Dit gebeurt door te matchen op het HLA niveau. Aangezien je de helft van het HLA van je moeder krijgt en de andere helft van je vader is er een kans van 25% dat het HLA van een patiënt volledig gelijk is aan dat van een broer of zus. Als deze broer of zus de donor is, spreken we van een HLA-identieke transplantatie. Echter zelfs bij een HLA-identieke transplantatie kunnen er na de transplantatie afweerreacties optreden. Deze zijn dan vaak gericht tegen de minors die niet gelijk zijn tussen donor en ontvanger. Ernstige reacties zijn de Graft versus Host ziekte (GvHD), waarbij er een immuunreactie tegen de huid, darmen en lever op kan treden, die zo heftig kan zijn dat er patiënten aan overlijden. Een positieve reactie is de Graft versus Leukemia (GvL), waarbij er een immuunreactie tegen de leukemische cellen ontstaat. Hierdoor is de kans op genezing van deze patiënten verhoogd.

Zwangerschap wordt weleens gezien als de natuurlijke vorm van transplantatie, waarin een foetus die genetisch maar voor de helft gelijk is aan de moeder, volledig door de moeder geaccepteerd wordt. Tijdens de zwangerschap is de bloedsomloop van het kind en de moeder gescheiden. Toch zijn er cellen die van moeder naar kind gaan en van kind naar moeder. Deze cellen kunnen tientallen jaren in de moeder of in het kind aanwezig blijven, hetgeen microchimerisme genoemd wordt. Verschillen in minors tussen moeder en kind kunnen door de aanwezigheid van microchimere cellen leiden tot immuunreacties die waarschijnlijk met name tolerant zijn.

In de eerste drie hoofdstukken wordt er voornamelijk naar immuunreacties tussen moeder en kind gekeken, die ontstaan zijn tijdens zwangerschap.

Naast beenmerg en stamcellen van een (volwassen) donor kunnen ook cellen uit navelstrengbloed gebruikt worden voor transplantatie. Men gaat er vanuit dat er nog maar weinig immuun responsen in navelstrengbloed aanwezig zijn. Derhalve hoeft er minder goed gematched te worden tussen navelstrengbloed en de ontvanger. Desalniettemin is eerder al beschreven dat er in navelstrengbloed weldegelijk antigeen specifieke cellen aanwezig zijn, gericht tegen bijvoorbeeld virussen of antigenen van de moeder. Aangezien er cellen uitgewisseld worden tussen moeder en kind tijdens

de zwangerschap en deze cellen langdurig in de moeder aanwezig kunnen blijven, is het mogelijk dat deze cellen in een volgende zwangerschap aan het volgende kind doorgegeven worden. Hierdoor zou er al in navelstrengbloed een reactie tegen de microchimere cellen van een oudere broer of zus kunnen ontstaan.

In *hoofdstuk II* is voor het eerst onderzocht of er in navelstrengbloed specifieke reacties tegen een oudere broer of zus aantoonbaar zijn. Hiervoor werden 23 navelstrengbloed samples van meisjes van gezonde moeders met een ongecompliceerde zwangerschap bestudeerd. Immuncellen gericht tegen mannelijke (HY) antigenen werden uit het navelstrengbloed geïsoleerd, opgekweekt en functioneel getest. Het bleek dat een deel van de geïsoleerde cellen een duidelijke HY-specifieke reactie liet zien. Daarnaast werden mannelijke microchimere cellen in het navelstrengbloed geïdentificeerd. Dit zullen met name cellen van een oudere broer van de foetus zijn, maar kunnen ook cellen van bijvoorbeeld de oudere broer van moeder zijn. Waarschijnlijk zijn de gevonden immuun responsen gericht tegen microchimere mannelijke cellen die via de moeder naar de foetus zijn gegaan. Hiermee is bewezen dat cellen inderdaad via de moeder naar een volgend kind reizen, waardoor immuun reacties tegen een oudere broer of zus vanaf de geboorte al aanwezig kunnen zijn. Daarnaast toont het aan dat er in navelstrengbloed waarschijnlijk al meer specifieke immuncellen aanwezig zijn dan tot op heden werd aangenomen.

Een eerdere studie heeft laten zien dat patiënten die een beenmerg of stamceltransplantatie van een jongere broer of zus krijgen een betere uitkomst hebben. Dit zou kunnen komen doordat zij tijdens de zwangerschap cellen van een oudere broer of zus hebben gekregen waar ze een tolerante respons tegen hebben ontwikkeld. Dit fenomeen wordt het "birth order effect" genoemd. In *hoofdstuk III* is onderzocht of het birth order effect verklaard kan worden door reacties tegen minors. Hiervoor is gebruik gemaakt van een internationale studie waarin 311 HLA-identieke transplantaties werden bestudeerd. Het bleek dat in transplantaties verricht tussen zussen er inderdaad een betere uitkomst was als er getransplanteerd werd met de jongere zus. Hieruit blijkt dat het birth order effect mogelijk geslachtsafhankelijk is. Gezien het relatief kleine aantal transplantaties kon er geen verband worden gelegd met individuele minors. Het feit dat het birth order effect met name in zussen duidelijk aanwezig was kan te maken hebben met het effect van zwangerschap(pen) op reeds aanwezige immuunresponsen tegen de oudere zus. Hierbij is de hypothese dat reeds aanwezige tolerante responsen die ontstaan zijn tijdens de zwangerschap tegen antigenen van de oudere zus, gereactiveerd worden tijdens een eigen zwangerschap. Na transplantatie kunnen deze responsen tot een gunstige uitkomst leiden.

In *hoofdstuk IV* is gekeken of er een relatie is tussen aantoonbaar microchimerisme en de aanwezigheid van een tolerante respons. Hiervoor zijn 45 vrouwen, waarbij een uitgebreide familie en obstetrische anamnese bekend was bestudeerd. In deze vrouwen is gekeken in hoeverre er in verschillende soorten witte bloedcellen mannelijke microchimere cellen aanwezig waren. Daarnaast is er met behulp van een muismodel waarin antigeen specifieke humane tolerantie goed te testen was, gekeken of deze vrouwen tolerante responsen hadden voor HY antigenen. HY-specifieke tolerantie kon in 26 van de 42 (62%) vrouwen worden aangetoond. De aanwezigheid van HY-specifieke tolerantie kwam significant meer voor in vrouwen zonder zonen, zowel vrouwen die nooit zwanger waren geweest als vrouwen met alleen dochters, dan in vrouwen met mannelijk nageslacht. Mannelijk microchimerisme werd in 24 van de 45 (53%) van de vrouwen gedetecteerd. De aanwezigheid van mannelijk microchimerisme was niet gecorreleerd met de aanwezigheid van HY-specifieke regulatoire responsen. Daarnaast hield de aanwezigheid van microchimerisme geen verband met het hebben van zonen van de vrouwen. Eerder onderzoek heeft al getoond dat het hebben van zonen geen voorwaarde is voor het hebben van mannelijk microchimerisme. Dit kan bijvoorbeeld afkomstig zijn van een oudere broer, een eventuele tweelingbroer die vroeg in de zwangerschap tot een miskraam heeft geleid en eventueel mannelijke cellen die door geslachtsgemeenschap in de vrouwen achter zijn gebleven. Tot op heden worden vrouwelijke donoren voor transplantatie vaak vermeden omdat ze door eventueel doorgemaakte zwangerschappen vaker complicaties geven zoals GvHD. Hier laten we zien dat een groot gedeelte van de vrouwen juist tolerante responsen heeft. Helaas is het niet mogelijk om op basis van de voorgeschiedenis van de vrouwen of de aanwezigheid van microchimerisme een uitspraak te doen over de aan-, of afwezigheid van tolerante responsen.

In tegenstelling tot de vorige hoofdstukken is er in *hoofdstuk V* niet gekeken naar minor responsen in relatie tot zwangerschap of stamceltransplantatie, maar naar de rol van minors in niertransplantatie. In samenwerking met 16 internationale laboratoria zijn 15 autosomale, 10 HY minors en 3 CD31 antigenen bestudeerd. Bij 444 HLA-identieke broer/zus (of broer/broer of zus/zus) niertransplantaties werden de minors bepaald en werd dit gecorreleerd aan de transplantatie uitkomst. De uitkomsten van deze groep patiënten was erg goed. Er waren slechts 36 patiënten waarbij er een afstotingsreactie plaatsvond, waarbij dit uiteindelijk bij 8 patiënten leidde tot een definitieve afstoting van de nier. In deze kleine groep kon het hebben van een afstotingsreactie niet gecorreleerd worden aan een mismatch van een specifieke minor of een mismatch in het geslacht. Aan de ene kant is het gezien de kleine aantallen van

afstotingsreacties lastig om definitieve conclusies aan deze studie te verbinden. Aan de andere kant is de uitkomst van HLA-identieke transplantaties dusdanig goed dat de aanwezigheid van minormismatches, die weldegelijk aanwezig waren, mogelijk weinig invloed hebben op de uitkomst van niertransplantaties.

Al de hierboven beschreven immuunresponsen tegen minors worden veroorzaakt door een subpopulatie van de witte bloedcellen, namelijk de T cellen. Deze T cellen veroorzaken de eerder beschreven immuunreacties zoals de GvHD en de GvL. GvL wordt veroorzaakt door T cellen specifiek gericht op antigenen die op de leukemische cellen aanwezig zijn. Het minor antigeen HA-1 is een minor die alleen op bloedcellen aanwezig is en daarmee ook op de leukemie cellen. Het is bekend dat immuunreacties tegen HA-1 tot een krachtige GvL respons kunnen leiden. HA-1 is in vele opzichten uniek. Een van deze unieke eigenschappen is dat een specifiek onderdeel van de T cel receptor (de Vbeta), die het HA-1 op de bloedcel herkent, voor alle HA-1 specifieke T cellen gelijk is. Eerder werd al beschreven dat de HA-1 specifieke T cellen die geïsoleerd waren uit gezonde donoren en uit patiënten na transplantatie allemaal de VBeta TRBV7-9 hadden. Op dit moment lopen er studies om een HA-1 specifieke T cel receptor in donorcellen in te bouwen om zo specifieke immuuntherapie te kunnen geven. In *hoofdstuk VI* hebben we onderzocht of eventueel HA-1 specifieke regulatoire T cellen ook de TRBV7-9 hebben. Deze cellen zouden een adequate HA-1 specifieke GvL respons in de weg kunnen staan. Hiervoor hebben we HA-1 specifieke T cellen geïsoleerd uit 6 gezonde donoren en 1 patiënt na stamceltransplantatie. Nadat de cellen opgekweekt waren konden ze functioneel getest worden. Een deel van de T cellen kon het HA-1, dat aanwezig was op bloedcellen, goed herkennen en vormde daar een immuunreactie tegen. Een ander deel van de HA-1 specifieke T cellen herkende alleen de cellen die beladen waren met een exogeen HA-1 peptide. De beide functioneel verschillende soorten T cellen hadden de eerder beschreven TRBV7-9. Aan de hand van eerdere studies is gesuggereerd dat T cellen die alleen het peptide herkennen en niet de natuurlijk aanwezige minor, in dit geval HA-1, regulatoire T cellen zouden kunnen zijn. In onze studie waren er geen andere verschillen tussen de T cellen zoals bijvoorbeeld in oppervlakte markers die mogelijk specifiek zijn voor regulatoire T cellen. Desalniettemin is voorzichtigheid geboden in het toepassen van TRBV7-9 om een GvL respons in een patiënt te veroorzaken. Voor klinische toepassing moeten de cellen goed functioneel getest worden om de aanwezigheid van enige regulatoire kenmerken uit te sluiten.

SAMENVATTEND benadrukt dit proefschrift de aanwezigheid van minor specifieke responsen direct na de geboorte, die gedurende het hele leven aanwezig kunnen blijven. Deze responsen worden grotendeels veroorzaakt door de uitwisseling van cellen tussen moeder en kind tijdens de zwangerschap, hetgeen leidt tot microchimerisme. De hierdoor ontstane minor specifieke responsen kunnen zowel aanvallend als regulatorisch zijn. De hier uitgevoerde studies vergroten ons begrip van immunoreacties die optreden na transplantatie, waarbij met name de rol van zwangerschap en birth order verder bestudeerd is. Aangezien er veel vrouwen zijn die regulatorische responsen tegen minors hebben, mogen zij niet langer op voorhand gediskwalificeerd worden als potentiële donor voor beenmerg of transplantatie. Het is van groot belang dat in de toekomst meer informatie van donoren met name wat betreft de birth order en zwangerschap wordt verzameld om de hierboven beschreven responsen in grote groepen en de invloed daarvan op transplantatie uitkomst nog beter in kaart te brengen.



