

Transplantationsimmunologi

Ebbe Dickmeiss & Arne Svejgaard

Den kliniske transplantations centrale problem er afstødningen. Afstødningen skyldes et immunrespons rettet mod alloantigener, vævstyper, på transplantatets celler. Vævstyper er celleproteiner, som udviser genetisk variation. Vævstyper inddeles i to hovedgrupper: 1) de stærke vævstyper *major histocompatibility complex* (MHC), hos mennesket HLA-systemet med to klasser, klasse I, som udtrykkes på alle kerneholdige cellers membran, og klasse II, der kun udtrykkes på visse af immunsystemets celler og herunder særligt de antigenpræsenterende celler (dendritiske celler (DC) og monocytter/makrofager), og 2) de svage (minor) vævstyper, der udtrykkes på celleoverfladen, ved at peptidfragmenter fra celleproteinsyntesen præsenteres bundet til celleoverfladens klasse I-antigener [1].

De transplantationsimmunologiske grundbegreber kan illustreres ved hudtransplantationeksperimenter. Transplanteres hud mellem isogene individer (f.eks. enæggede tvillinger), ses der komplet indhelning og overlevelse af transplantatet. Transplanteres hud mellem MHC-identiske, minorvævstypesforskellige, individer (f.eks. HLA-identiske søskende), ses der afstødning efter 18-23 dage. Transplanteres hud mellem MHC-forskellige, kongene (dvs. identisk for alle minorvævstyper) mus, ses der afstødning allerede efter 10-12 dage. Genemføres en fornyet hudtransplantation fra den oprindelige donorstamme, ses der en accelereret afstødning fuldført efter 4-6 dage (såkaldt *second set rejection*), hvorimod et samtidigt transplantat fra en helt tredje musestamme afstødes efter de sædvanlige 10-12 dage. Der opbygges således specifik immunitet mod transplanteret væv. Denne immunitet kan overføres adaptivt med lymfocytter, men ikke med plasma (antistoffer).

Det modsatte af rejektion er *graft-versus-host-sygdom* (GVHD). Det udløses ved at transfundere T-celler fra et individ til et vævstypenonidentisk andet individ og forudsætter, at recipienten er ude af stand til selv at rejse et immunrespons mod donorcellerne, f.eks. fordi recipientindividet har svær kombineret immundefekt. Donorcellerne vil her etablere en voldsom cellemedieret immuninflammation i stort set alle væv hos recipienten, og sygdommen har ofte et dødeligt forløb. I klinikken med mennesker ses sygdommen hyppigt som komplikation til knoglemarvstransplantation, hvor recipienten er svær immundefekt pga. den nødvendige forbehandling, og hvor transplantatet er »forurennet« med store mængder T-celler fra donor. GVHD er årsagen til, at der ved knoglemarvstransplantation stilles meget store krav til forlidelighed i det mindste for HLA-systemet - mellem donor og recipient.

Transplantatimmunitet kan deskriptivt opdeles i immuni-

seringsfasen og effektorfasen. Immuniseringsfasen starter med aktivering af naive T-celler. Disse vokser op i thymus og har klonalt udtrykte T-celle-antigenreceptorer, og det samlede spektrum af antigenreceptorer i de eksporterede naive T-celler dækker det antigene univers. For de fleste antigener gælder, at kun brøkdele af promiller af de cirkulerende naive T-celler besidder receptorer med høj affinitet over for netop det antigen, men for alloantigenkomplekset, der hører til det stærke vævstypesystem, er fraktionen af primært reaktive naive T-celler i procentstørrelsesordenen. Dette er årsagen til, at antigenerne, der hører til MHC, spiller en unik rolle ved transplantation. Der er to veje for alloimmunisering ved transplantation, den direkte og den indirekte. Ved den direkte alloimmunisering migrerer donorderiverede dendritceller (DC, antigenpræsenterende celler) fra transplantatet til drænerende værtslymfeknuder, hvor de aktiverer recipientens naive CD4⁺-T-celler (Fig. 1). Der fremkommer herved en stor mængde CD4⁺-armede effektor-T-celler (virkning, se senere) og celler, der kan yde obligat »hjælp« til de naive CD8⁺-cytotoksiske T-celler, der har høj affinitet over for transplantatets klasse I-antigener. De pågældende celler stimuleres til klonal ekspansion og uddifferentiering til aktive cytotoksiske T-celler (CTL).

Ved den indirekte alloimmunisering er det værtens egne DC, som optager alloantigen herunder HLA-antigener fra donorceller, procederer dem og præsenterer peptidfragmenter fra dem på DC's egne HLA-antigener. Processen bag den indirekte alloimmunisering er således identisk med processen, som udløser immunrespons mod virusantigener ved virusinfektion. Ved den indirekte alloimmunisering vil der ikke kunne dannes CTL med specificitet over for intakte HLA-klasse I-antigener på donorvævet, men derimod alloantistoffer mod HLA-klasse I-antigenerne.

Effektorfasen: Klinisk kan der skelnes mellem den hyperakutte rejektion, de akutte rejektioner, som optræder de første måneder til år efter transplantationen, og den sene kroniske rejektion.

Den hyperakutte rejektion skyldes præformerede komplementfikserende alloantistoffer hos recipienten, disse reagerer med alloantigener på transplantatets karendotel, aktiverer komplement, trombocytter og koagulationskaskaden og fremkalder generaliseret intraarteriel trombose. Hos mennesket er det antistofferne, der hører til AB0-systemet, og præformerede HLA-klasse I-antistoffer, der kan udløse hyperakut rejektion.

Ved de akutte rejektioner er effektormekanismerne væ-

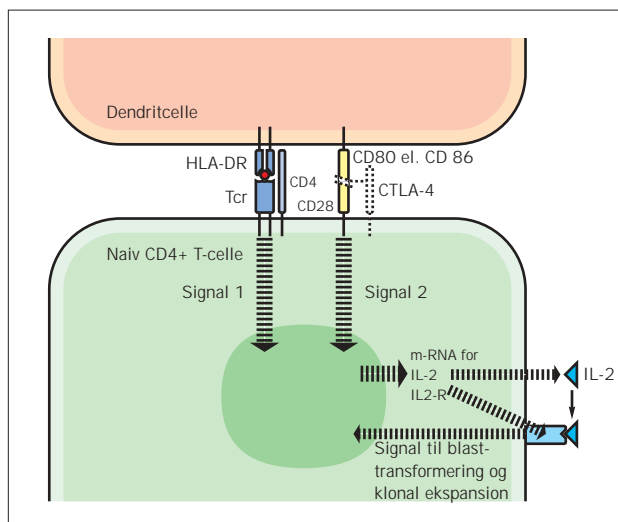


Fig. 1. Aktivering af naiv CD4+-T-celle. Ved den direkte stimulering vil naive CD4+-T-celler via T-celle-receptoren (Tcr) bindes til HLA-DR-alloantigenerne på de donorderiverede dendritceller og med assistance fra CD4 modtage et første aktiverende signal (signal 1). Naive T-celler kræver yderligere et kostimulatorisk signal (signal 2) for at aktiveres. En naiv T-celle, som kun modtager signal 1, bliver inaktiveret (anerg). Det kostimulatoriske signal fremkommer ved, at en receptor på T-cellen, CD28, reagerer med liganderne CD80 eller CD86 på dendritceller. Binding mellem CD40-ligand (på T-cellen) og CD40 (på dendritceller) styrker yderligere signal 2 og øger DC's ekspression af CD80 og CD86 (ikke vist på tegningen). Dobbelt-signaleringen vil aktivere interleukin-2 og interleukin-2-receptor gentranskriberingen. Interleukin-2 er en kraftig autokrin vækstfaktor for T-celler, der stimulerer T-cellen til blasttransformering og klonal ekspansion. Under forløbet af T-celle-stimuleringen udtrykkes i stigende grad CTLA-4-receptoren på de responderende T-celler. CTLA-4 konkurrerer med CD28 om CD80/86 på dendritceller. Herved vil signal 2 efterhånden slukkes og responsen dermed nedreguleres. Den indirekte stimulering foregår i princippet på samme måde, blot er dendritceller og HLA-DR her recipientens egne og alloantigenet er peptid-fragmenter fra donorproteiner præsenteret på recipientens HLA-DR (markeret med rød cirkel på tegningen).

sentligst genereret af den direkte alloimmunisering og er langt overvejende cellemedierede med den armerede CD4+-T-celle og den CD8+-cytotoksiske T-celle som de væsentligste aktører. Den armerede CD4+-T-celle reagerer med makrofager i graften og fremkalder herved en massiv aktivering af makrofagens biotoksiske maskineri, herunder udskillelse af oxygenradikaler, nitrogenoxid (NO) og proteaser med svær cellemedieret inflammation og vævsødelæggelse til følge. CTL besidder en særegen immunbiologisk effektormekanisme, der udløses ved, at CTL etablerer kontakt med målcellen via binding mellem dens T-celle-receptor og vævets HLA-klasse I-antigener, og denne kontakt resulterer i målcellens død og desintegration.

Den kroniske rejektion er resultatet af en immunmedieret destruktion, hvor såvel humorale som cellulære effektor-mekanismer spiller en rolle [2]. Ætiologien er kompleks, og iskæmitid og anden organtraume samt recidiv af eventuel oprindelig organødelæggende autoimmun sygdom er medvirkende, men alloimmunresponsen spiller også her den væsentligste rolle. Således har nyrer fra HLA-identiske søskende den senest indsættende kroniske rejektion, og ved nekroryretransplantation er der en signifikant sammenhæng mellem matchningsgraden og nyreoverlevelsen. Det er væsentligst

den indirekte alloimmunisering, som forårsager processen. Den kroniske rejektion bliver først klinisk manifesteret adskillige år efter transplantationen. Histopatologisk er den karakteriseret ved koncentrisk arteriosklerotisk forsnævring af større og mindre arterier i transplantatet. Vævet infiltreres med makrofager og lymfocytter, og der ses aflejring af immunoglobulin G (IgG) og komplement. Der fremkommer nekroser og indvækst af fibrøst væv. Hvor moderne immunosuppressiv behandling radikalt har forbedret profylakse og behandling af akutte rejektioner, er der ikke set reelle fremskridt i behandlingen af den kroniske rejektion.

Immunosuppression

Det forhold, at blasttransformering og klonal ekspansion af lymfocytter er væsentlige elementer i immunresponsen førte Schwartz & Dameshek til i 1959 at foreslå at anvende antileukæmisk kemoterapi til immunosuppression, og de kunne demonstrere en virkning af 6-mercaptopurin ved eksperimentel transplantation. Tre år senere gennemførte Murray den første vellykkede nyretransplantation på mennesket under dække af azathioprin (der metaboliseres til 6-mercaptopurin) og glukokortikoid. Denne kombinationsterapi blev grundstammen i de følgende 15-20 års medikamentelle immunosuppression. I 1976 isolerede forskere fra Sandoz ciclosporin A, og der blev hermed indledt et stort fremskridt i den medikamentelle immunosuppression. Ciclosporin forhindrer signaloverførslen fra T-celle-receptoren til kernen, hvorved aktivering af IL-2-produktion bortfalder, og de specifikt reaktive T-cellers blasttransformering og klonale ekspansion udebliver (Fig. 1). Nyrerestoffer med lignende virkning er tacrolimus, der som ciclosporin blokerer »signal 1« (Fig. 1), og sirolimus, der blokerer signalet fra IL-2R (Fig. 1).

Antistoffer mod cellemembranproteiner på T-cellen kan virke immunosuppressive dels ved at deplettere for cirkulerende T-celler, dels ved blokering af receptor-ligand-interaktioner uden i øvrigt at være cytolytiske. Eksempler på den depletterende type er det klassiske polyklonale antilymfocyt-globulin (ALG), det monoklonale anti-CD3 og campath. Eksempler på den blokerende type er anti-CD4, CTLA-4Ig, anti-CD40-ligand, anti-CD45RB og anti-LFA-1 [3]. På forskellig måde griber de ind i antigenstimuleringen af naive T-celler ved at blokere for receptor-ligand-interaktioner i T-helper-DC-cellekooperationen med mulighed for bortfald af signal 2 og påfølgende anergisering og (under visse eksperimentelle omstændigheder) apoptose af den naive T-celle og dermed specifik tolerance.

Et nyt immunosuppressivt princip er introduceret med ascomycet-metabolitten FTY 720 [3]. Det er agonist for G-proteinkoblede 7-transmembran kemokinreceptorer på T- og B-lymfocytter, hvorved respons på *homing* kemokiner fra sekundært lymfoidt væv potenseres, og lymfocytterne sekvesteres til lymfeknuder mv., der forårsager lymfopeni og svækket udmigrering til inflammatorisk væv. FTY720 har vist meget

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

lovende resultater i dyreforsøg. En uventet bivirkning af stof-fet hos mennesker har været udløsning af bradykardiepisoder.

Som det vil fremgå andetsteds i herværende temanummer, er den livslange immunosuppressive terapi kompliceret af mange bivirkninger. Mange grupper har efter *trial and error*-princippet med vekslende held forsøgt at reducere behandlingsintensiteten. For nylig har Starzls gruppe [4] publiceret et reduktivt regimen baseret på en intensiv forbehandling med ALG efterfulgt af tacrolimusmonoterapi under aftrapning. Blandt 50 nyretransplanterede patienter på dette regimen var der 1-1/2 års nyreoverlevelse hos 94%, og tacrolimusaftrapning kunne iværksættes hos 80%. Langtidsresultater må afventes, men det er løfterigt, at regimenet over de første 1 1/2 års observationsperiode ikke har givet anledning til større frekvens af klinisk alvorlige akutte rejektionsepisoder.

Tolerance

Et overordnet mål for den transplantationsimmunologiske forskning har været at inducere specifik immunologisk tolerance hos recipienten over for det transplanterede væv. Klonal deletion (negativ selektion) af selvreaktive T-celler i thymus er den væsentligste mekanisme bag immunologisk selv-tolerance. At denne tolerance kan udvides til også at omfatte allogent væv er vist i *Medawars* klassiske eksperimenter fra 1953 med knoglemarvstransplantation på nyfødte mus. De mus, der undgik GVHD, voksede op og var kimære i alle celler, der er derivet fra hæmatopoietisk væv. Dermed har DC i thymus medulla, som er ansvarlig for deletionen af selvreaktive kloner, også været af blandet donor/recipient oprindelse. Musene var komplet tolerante for hudtransplantater fra knoglemarvsdonorstammen, men i øvrigt fuld immunologisk kompetente. Den centrale thymus-etablerede selvtolerance har vist sig ikke at kunne omfatte alle de teoretisk mulige selvpeptider (antallet er skønnet til at være omkring 3×10^7), som præsenteres på eget MHC. Der kan påvises cirkulerende autoreaktive T-celler hos normale individer, hvilket kan afsløres i dyreforsøg gennem eksperimentel immunisering med selvpeptider i stærk adjuvans. Man kan herved kunstigt aktivere de autoreaktive T-celler og fremkalde autoimmun vævsskade. Der må altså være mekanismer, der sikrer, at autoreaktive T-celler normalt holdes inaktive – såkaldt perifer tolerance. En del af disse mekanismer er passive og knyttet til at autoantigenerne normalt ikke gives en effektiv immunogen præsentation. Der har i mange år også været holdepunkter for forekomst af en aktiv T-celle-medieret perifer tolerance, men først i de seneste år er en væsentlig mediator af denne tolerance blevet indkredset med *Sakaguchis* og andres beskrivelse af »regulator«-T-cellen (T_{reg}) [5]. T_{reg} er fænotypisk karakteriserede ved at være CD4⁺, CD25⁺-T-celler. Hvis mus depleteres for T_{reg} får de multiple organspecifikke autoimmune sygdomme. T_{reg} kan også kontrollere det alloimmune respons. For eksempel vil et knoglemarvstransplantat som er depletet for T_{reg} inducere kraftig GVHD i recipientdyret, men hvis

der omvendt tilsættes T_{reg} til knoglemarvstransplantatet fås en beskyttelse mod transplantatets evne til at inducere GVHD. T_{reg} -cellernes oprindelse, deres molekylære markører, deres antigenspecificitet og deres virkningsmekanismer er i disse år under aktiv udforskning. Når dertil føjes udforskningen af de immunologiske forhold hos transplanterede på reductive regimener samt udforskning af brugen af kostimulatorisk blokade og migrationshæmmende stoffer skimtes muligheden for, at det, som *Medawar* betegnede som transplantationsimmunologiens »Hellige Gral« (den specifikke grafftolerance), vil kunne blive en klinisk realitet. Paradoksalt nok vil den aktuelle immunosuppressions store succes i bekæmpelsen af akutte rejektioner kunne vanskeliggøre kliniske forsøg med »langtidsholdbar« tolerogen immunosuppression, der jo først kan afsløre en eventuel overlegenhed gennem forsinkelse/eliminering af den sene kroniske rejektion.

Korrespondance: *Ebbe Dickmeiss*, Stamcellesektionen, Afsnit 2034, H:S Rigshospitalet, DK-2100 København Ø. E-mail: dickmeis@rh.dk

Antaget den 21. oktober 2003.

H:S Rigshospitalet, Diagnostisk Center, Klinisk-immunologisk Afdeling, Stamcellesektionen og Vævstypelaboratoriet.

Litteratur

1. Svejgaard A, Jakobsen BK, Dickmeiss E. Vævstyper. Ugeskr Læger 2003;165:4834-6.
2. Joosten SA, van Kooten C, Paul LC. Pathogenesis of chronic allograft rejection. *Transpl Int* 2003;16:137-45.
3. Vincenti P. What's in the pipeline? New immunosuppressive drugs in transplantation. *Am J Transpl* 2002;2:898-903.
4. Starzl TE, Murase N, Abu-Elmagd K et al. Tolerogenic immunosuppression for organ transplantation. *Lancet* 2003;361:1502-10.
5. Lechler RI, Garden OA, Turka LA. The complementary roles of deletion and regulation in transplantation tolerance. *Nature Rev Immunology* 2003;3:147-58.