



VIA MEDICA

www.fn.viamedica.pl

Teresa Maria Bączkowska

Klinika Medycyny Transplantacyjnej i Nefrologii Instytutu Transplantologii im. prof. T. Orłowskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Tolerancja transplantacyjna — przełom w immunosupresji?

Transplantation tolerance — a breakthrough in immunosuppressive treatment?

ABSTRACT

Transplantation tolerance has been the goal of many scientists and clinicians since the experiments of Bernet and Medawar over 50 years ago. Huge advances in defining the mechanisms of tolerance have been made during the last two decades: fundamental discoveries have been made in the field of costimulation and regulatory cells in the animal models. However, tolerogenic protocols in rodents are rarely translated successfully into humans, underlying barriers to tolerance in higher order species. There is also a need to determine the exact role of each of the currently immunosuppressive drug on regulatory cells. Anti-thymocyte globulin (ATG, alemtuzumab) seems to be positive, it may spare the Treg suppressive activity while impairing T effector activity. Calcineurin inhibitors (CNI), cyclosporine A and tacrolimus block the production of interleukin 2 (IL-2). Considering the importance of IL-2 for Treg cell function it is likely that CNI have detrimental effect on Treg cells. It seems that mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitors (sirolimus, everolimus) can pro-

mote tolerance. Inhibitors of proliferation (mycophenolate mofetil, mycophenolate sodium) do not appear to suppress survival and suppressive function of Tregs. In clinical trials transplantation tolerance has been achieved by using total lymphoid irradiation, deep lymphocytes depletion by administration of anti-CD52 monoclonal antibody (alemtuzumab — Campath-1H), hematopoietic mixed chimerism induction through bone marrow transplantation with non-myeloablative protocols. It seems that new tolerogenic strategy that can be an effective way to induce allogeneic specific tolerance is immunoregulatory cell-based therapy. The isolation and use of regulatory lymphocytes T (Treg), regulatory lymphocytes B (Breg), macrophages (Mreg — TAIC [transplant acceptance inducing cells]), tolerogenic dendritic cells (tolDCs), mesenchymal stem cells (MSC) are gaining interest over the last years.

Forum Nefrologiczne 2013, vol. 6, no 1, 23–29

Key words: transplantation tolerance, regulatory T cells, regulatory B cells, tolerogenic dendritic cells, regulatory macrophages, mesenchymal (Berg), stem cells, immunosuppressive drugs

WSTĘP

Od ostatnich kilku dekad, mimo zastosowania schematów leczenia immunosupresyjnego z zastosowaniem nowych przeciwciał, białek fuzyjnych, nowych leków o niskiej masie cząsteczkowej, odległe przeżycia przeszczepionych narządów nie ulegają poprawie [1]. Zdolność indukcji tolerancji transplantacyjnej pozostaje więc nadal w sferze zainteresowań

wielu naukowców i klinicystów zajmujących się zagadnieniem leczenia schyłkowej niewydolności narządów za pomocą przeszczepiania ich alogenicznych odpowiedników. Tolerancję transplantacyjną definiuje się jako permanentną akceptację przeszczepionego narządu, charakteryzującą się jego stabilną czynnością, bez konieczności stosowania przewlekłego leczenia immunosupresyjnego, przy zachowanej immunokompetencji [2]. Początki badań nad

Adres do korespondencji:

dr hab. n. med.
Teresa Maria Bączkowska
Klinika Medycyny Transplantacyjnej
i Nefrologii
Instytut Transplantologii
Warszawski Uniwersytet Medyczny
ul. Nowogrodzka 59, 02–006 Warszawa
tel.: 22 502 19 59
e-mail: tbaczkowska@wum.edu.pl

▶▶ Duże nadzieje wiąże się z wynikami badań mających na celu identyfikację biomarkerów przewidujących rozwój tolerancji, a więc umożliwienie identyfikacji chorych, u których będzie można bezpiecznie zaprzestać leczenia immunosupresyjnego◀◀

zjawiskiem tolerancji transplantacyjnej sięgają końca lat 50. ubiegłego stulecia, kiedy to Burnet oraz Medewar za prowadzenie tychże badań otrzymali Nagrodę Nobla [3]. Wykazali oni na podstawie modeli eksperymentalnych u zwierząt, że można modyfikować proces odrzucania alogenicznego narządu i zapobiec mu poprzez przetoczenie splenocytów oraz krwi od dawcy. Odrzucanie przeszczepionego narządu w modelach eksperymentalnych u zwierząt nie jest więc procesem nieuniknionym. W latach 90. ubiegłego wieku wydawało się, że przełomowym odkryciem mogą być wyniki badań, w których wykazano, że hamowanie sygnału kostymulacyjnego u zwierząt indukowało rozwój tolerancji transplantacyjnej [4, 5]. Niestety, u ludzi hamowanie kostymulacji nie indukuje rozwoju tolerancji transplantacyjnej. Kolejnym istotnym odkryciem, które na powrót zainteresowało środowisko transplantacyjne zagadnieniem tolerancji transplantacyjnej była identyfikacja komórek regulatorowych układu immunologicznego: makrofagów (Mreg), limfocytów T CD4+CD25+FOXP3+ (Treg) i limfocytów B (Breg) [6].

U ludzi również obserwuje się przypadki rozwoju tolerancji transplantacyjnej na przeszczepiany narząd. Najczęściej są one wynikiem samowolnego odstawienia przez chorych leków immunosupresyjnych (*non-compliance, non-adherence*). Występowanie tego zjawiska jest jednak niezmiernie rzadkie oraz obecnie całkowicie nieprzewidywalne. Duże nadzieje wiąże się z wynikami badań mających na celu identyfikację biomarkerów przewidujących rozwój tolerancji, a więc umożliwienie identyfikacji chorych, u których będzie można bezpiecznie zaprzestać leczenia immunosupresyjnego. Wstępne wyniki tych badań sugerują, że limfocyty B mogą odgrywać istotną rolę w indukcji tolerancji transplantacyjnej. U chorych, u których obserwowano tolerancję transplantacyjną, stwierdzono bowiem istotnie większą ekspresję mRNA dla cząsteczki CD20 oraz zwiększoną liczbę zarówno naiwnych, jak i przejściowych limfocytów B we krwi obwodowej [7, 8]. Częstość występowania tolerancji transplantacyjnej zależy od rodzaju przeszczepionego narządu; istotnie częściej można ją obserwować u chorych po transplantacji wątroby. Dotyczy ona 15–20% chorych, znacznie rzadziej pacjentów po zabiegu przeszczepienia nerki (1/1000 przypadków).

Wyróżnia się kilka rodzajów tolerancji transplantacyjnej: prawdziwą tolerancję, „operacyjną” tolerancję oraz „prawie” tolerancję.

Termin „tolerancji operacyjnej” opisuje sytuację kliniczną, w której przeszczepiony narząd przez pewien okres funkcjonuje sprawnie, jednak u 20–40% chorych ostatecznie dochodzi do jego odrzucenia. Określenie „prawie” tolerancji dotyczy sytuacji klinicznej, w której minimalna immunosupresja pozwala na akceptację przeszczepionego narządu. Od lat trwają intensywne badania nad wpływem poszczególnych leków immunosupresyjnych stosowanych we współczesnej transplantologii klinicznej na rozwój tolerancji transplantacyjnej. Potencjalnie korzystnymi preparatami sprzyjającymi rozwojowi tolerancji transplantacyjnej wydają się preparaty surowic antytymocytarnych: tymoglobulina, alemtuzumab; inhibitory mTOR (*mammalian target of rapamycin*): sirolimus, ewerolimus; glikokortykosteroidy. Jako neutralne opisywane są pochodne kwasu mykofenolowego — zarówno mykofenolan mofetilu, jak i mykofenolan sodu. Inhibitory kalcyneuryny najczęściej są opisywane jako wywierające niekorzystny wpływ na rozwój tolerancji transplantacyjnej. Sytuacja staje się jednak bardziej złożona, gdy uwzględnimy różnorodność opisywanych komórek regulatorowych oraz środowisk, w jakich się one aktualnie znajdują [2, 9, 10].

Do rozwoju tolerancji transplantacyjnej może prowadzić kilka mechanizmów: supresja pod wpływem komórek regulatorowych, anergia klonalna alospecyficznych limfocytów T poprzez blokadę kostymulacji, delecja klonalna alospecyficznych limfocytów T dzięki indukowaniu zjawiska apoptozy oraz akomodacja. Tę ostatnią definiuje się jako oporność przeszczepionego narządu na uszkodzenie zależne od przeciwciał. W celu zwiększenia szans powodzenia badań nad zjawiskiem tolerancji transplantacyjnej u ludzi zarówno w Europie, jak i w Stanach Zjednoczonych, powstały liczne inicjatywy konsolidujące zasoby ludzkie i finansowe, między innymi *Re-programming the Immune System for the Establishment of Tolerance* (RISET) w ramach VI Programu Ramowego Badań i Rozwoju Technicznego w Unii Europejskiej oraz *Immune Tolerance Network* (ITN) w Stanach Zjednoczonych [4]. Zadania obu konsorcjów są podobne: poznanie mechanizmów immunologicznych prowadzących do rozwoju tolerancji transplantacyjnej, a w konsekwencji — osiągnięcie tolerancji transplantacyjnej u ludzi. W wyniku ponad 10-letnich badań nad tym zjawiskiem opracowano kilka strategii mogących powodować rozwój tolerancji:

naświetlanie promieniami X układu limfatycznego (TLI, *total lymphoid irradiation*), głęboką deplecją limfocytów T, indukcję mieszanego chimeryzmu komórek krwiotwórczych poprzez przeszczepianie szpiku kostnego/komórek macierzystych krwi obwodowej dawcy [2, 4]. Nowymi strategiami, które mogą się przyczynić do rozwoju tolerancji transplantacyjnej, są: przetwarzanie komórek regulatorowych, mezenchymalnych komórek macierzystych (Mreg, Treg, tolDC, MSC) [11–16].

GŁĘBOKA DEPLECJA LIMFOCYTÓW T

Lekiem wywołującym silną, długotrwałą deplecję limfocytów T, ocenianą w aspekcie indukcji tolerancji transplantacyjnej jest przeciwciało monoklonalne anti-CD52 (Campath-1H, alemtuzumab). Lek ten w modelach eksperymentalnych u zwierząt indukował rozwój tolerancji transplantacyjnej. Molekuła CD52 ulega ekspresji na limfocytach T, limfocytach B, komórkach naturalnej cytotoxiczności (NK, *natural killers*) oraz monocytach. W badaniach klinicznych przeprowadzonych przez Calne i wsp. Campath-1H zastosowano jedynie w połączeniu z niską dawką cyklosporyny A w grupie 33 biorców nerki [17, 18]. Wyniki pięcioletniego przeżycia chorych i przeszczepionych nerek były porównywalne z wynikami pacjentów, u których stosowano standardową 3-lekową immunosupresję podtrzymującą. Wyniki te sugerują rozwój „prawie” tolerancji u wyżej wymienionych chorych. Wyniki z zastosowaniem alemtuzumabu w połączeniu z deoksypergualiną czy sirolimusem nie były już tak zachęcające [19]. Podjęto więc próby oceny skuteczności alemtuzumabu z innymi lekami immunosupresyjnymi. Badano alemtuzumab wyjściowo w skojarzeniu z takrolimusem, a następnie zastępowano takrolimus przez sirolimus w małej dawce. Wyniki tego badania są bardzo optymistyczne — u 9 spośród 10 chorych stwierdzono prawidłową czynność przeszczepionych narządów. Jednak u 5 pacjentów zaobserwowano obecność przeciwciał specyficznych dla HLA (*human leukocyte antigens*) dawcy (DSA, *donor specific antibodies*) oraz u 4 osób — kompleksy C4d w biopsjach nerki. Wpływ obecności DSA oraz złożeń C4d na odległe wyniki przeszczepionych narządów może być niekorzystny [20]. Nadal do ustalenia pozostają więc skuteczne protokoły leczenia immunosupresyjnego umożliwiające rozwój tolerancji transplantacyjnej z zastosowaniem alemtuzumabu.

MIESZANY CHIMERYZM

Wyniki badań eksperymentalne na modelach zwierzęcych wykazują, że istnieje możliwość indukcji tolerancji transplantacyjnej na przeszczepiony narząd poprzez powstanie mieszanego chimeryzmu z komórek krwiotwórczych dawcy [21]. Warunkiem indukcji chimeryzmu jest jednak zastosowanie silnego, niemieloablacyjnego schematu leczenia immunosupresyjnego w celu umożliwienia przeżycia komórek krwiotwórczych dawcy. Ze względu na potencjalną toksyczność związaną z leczeniem niemieloablacyjnym pierwsze próby kliniczne podjęto u chorych ze schyłkową niewydolnością nerek w przebiegu szpiczaka mnogiego, u których rokowanie jest bardzo poważne. Kawai i wsp. [22] zastosowali protokół niemieloablacyjny u 5 chorych ze wspomnianej grupy. U osób tych wykonano zabieg przeszczepienia szpiku kostnego i nerki od dawcy żywego spokrewnionego, niezgodnego w zakresie jednego haplotypu HLA. Zastosowano u nich niemieloablacyjny protokół z użyciem cyklofosfamidu, anti-CD-2 (MEDI-507), naświetlaniem grasicy oraz cyklosporynę. Następnie protokół ten zmodyfikowano — 2 ostatnim chorym podawano dodatkowo rytuksymab oraz glikokortykosteroidy. U wszystkich badanych obserwowano przejściowy chimeryzm. W przypadku 4 chorych udało się odstawić monoterapię cyklosporynową w 9.–14. miesiącu po transplantacji. Czynność nerek po upływie 3–6 lat pozostaje stabilna. U jednego pacjenta doszło do nieodwracalnego odrzucania humoralnego. Limfocyty T pochodzące od 4 biorców z funkcjonującymi przeszczepionymi narządami nie wykazują *in vitro* specyficznej odpowiedzi immunologicznej oraz charakteryzują się wysoką ekspresją genu *FoxP3* (*forkhead box P3*). Wyniki tego badania sugerują, że możliwa jest indukcja tolerancji transplantacyjnej poprzez zastosowanie niemieloablacyjnego protokołu oraz powstanie jedynie przejściowego chimeryzmu. Wspomniany protokół jest złożony i obciążony wieloma objawami niepożądanymi: brakiem powstania chimeryzmu mieszanego z przeszczepionych komórek macierzystych dawcy, chorobą przeszczep przeciwko gospodarzowi (GvHD, *graft versus host disease*), śmiertelnymi infekcjami, immunizacją przeciwko antygenom HLA dawcy oraz rozwojem przyspieszonego odrzucania, a także wysokimi kosztami. Zatem protokoły niemieloablacyjne nie mogą być rekomendowane powszechnie w praktyce klinicznej do indukcji tolerancji transplantacyjnej [23, 24].

▶▶ Protokoły niemieloablacyjne nie mogą być rekomendowane powszechnie w praktyce klinicznej do indukcji tolerancji transplantacyjnej ◀◀

►► Obecnie stosowane schematy leczenia immunosupresyjnego nie wykazują zdolności indukcji tolerancji transplantacyjnej ani nie zapobiegają odległej utracie przeszczepionego narządu ◀◀

TERAPIE KOMÓRKOWE — PRZETACZANIE KOMÓREK REGULATOROWYCH I KOMÓREK IMMUNOMODULUJĄCYCH

Obecnie stosowane schematy leczenia immunosupresyjnego nie wykazują zdolności indukcji tolerancji transplantacyjnej ani nie zapobiegają odległej utracie przeszczepionego narządu. Co więcej, ich stosowanie wiąże się z występowaniem wielu objawów toksycznych oraz zwiększonej częstości zachorowań na infekcje oraz nowotwory. Ogromne nadzieje pokładane są w różnego rodzaju terapiach komórkowych umożliwiających indukcję tolerancji transplantacyjnej. Trwają intensywne badania w celu dokładnej oceny farmakokinetycznej, farmakodynamicznej, skuteczności oraz toksyczności tych terapii.

SUBPOPULACJA IMMUNOREGULATOROWYCH MAKROFAGÓW DAWCY — MREG (TAIC, TRANSPLANT ACCEPTANCE-INDUCING CELLS)

Zidentyfikowano subpopulację komórek regulatorowych należących do makrofagów (Mreg, makrofagi alternatywnie aktywowane M2). W przeciwieństwie do klasycznych, prozapalnych makrofagów M1, Mreg hamują proliferację poliklonalnych, aktywowanych alogenicznych limfocytów T [14]. Poprzez indukcję 2,3-dioksygenazy indolaminy (IDO), zwiększają ekspresję dla liganda programowanej śmierci 1 (PDL1, *programmed death ligand*) oraz powodują deplecję aktywowanych limfocytów T [25]. Przetoczenie Mreg dawcy na modelach eksperymentalnych indukowało rozwój tolerancji transplantacyjnej na przeszczepiony narząd. Do terapii komórkowych Mreg są najczęściej uzyskiwane *in vitro* po 24-godzinnej ekspozycji na interferon gamma (IFN-gamma) monocytów dawcy stymulowanych czynnikiem stymulującym powstawanie kolonii makrofagów (M-CSF, *macrophage colony stimulating factor*). Obecnie, w ramach I i II fazy badań klinicznych (TAIC-I, TAIC-II), oceniana jest ta strategia indukcji tolerancji u biorców nerki [26, 27]. Liczebność grup chorych nie jest duża (5–12 osób), jednak zaobserwowano, że przetoczenie TAIC było bezpieczne i dobrze tolerowane przez pacjentów. Po zaprzestaniu immunosupresji u kilku chorych obserwowano odrzucanie. W badaniu TAIC-I konwencjonalną immunosupresję stopniowo odstawiono u 10 na 12 chorych w okresie 8 tygodni, poczynając

od 4. tygodnia, u 10 pacjentów odstawiono sterydy, u 8 osób — sirolimus, a u 6 chorych utrzymano zmniejszoną dawkę takrolimusu. W badaniu TAIC-II monoterapia takrolimusem w małej dawce umożliwiła funkcjonowanie przeszczepionego narządu u 4 na 5 pacjentów. U żadnego z badanych nie obserwowano powstania DSA. W wielu jednak przypadkach doszło do ostrego odrzucania. Obecnie prowadzone są liczne, prospektywne, wielośrodkowe badania kliniczne służące ocenie skuteczności i bezpieczeństwa tej terapii komórkowej. Istnieją kazuistyczne opisy przypadków o skuteczności przetaczania Mreg.

LIMFOCYTY T REGULATOROWE (TREG) OD DAWCY

Limfocyty T regulatorowe należą do subpopulacji limfocytów pomocniczych (Th) CD4+, z wyróżniającą je wysoką ekspresją czynnika transkrypcyjnego FoxP3. Dzielą się one na dwie subpopulacje: naiwne limfocyty T powstające w grasicy (nTreg) oraz indukowane na obwodzie Treg (Tr1) z unikatowym profilem cytokinowym IL10++IL-4-TGF beta++IFN gamma+IL2- [28, 29]. Wyniki licznych badań przedklinicznych oraz ostatnio opublikowanych trzech badań klinicznych z zastosowaniem Treg u chorych z GvHD wykazały, że Treg mogą być skuteczną formą terapii komórkowej. Infuzje Treg były dobrze tolerowane; u pacjentów nie obserwowano objawów niepożądanych. Istnieje więc nadzieja, że Treg mogą znaleźć zastosowanie w praktyce klinicznej, umożliwiając zmniejszenie lub nawet eliminację niespecyficznego immunosupresji oraz rozwój tolerancji na przeszczepiony narząd. Znany jest bowiem czas wystąpienia niekorzystnej odpowiedzi immunologicznej w przeciwieństwie do chorych z autoimmunoagresji. Warunkiem powodzenia terapii za pomocą Treg jest przetoczenie ich odpowiedniej liczby. Możliwe jest zastosowanie dwóch rodzajów Treg: poliklonalnych Treg pozyskiwanych przez izolację Treg z krwi obwodowej, ich bankowanie oraz kondycjonowanie z zastosowaniem leków limfodeplecyjnych w celu usunięcia limfocytów T konwencjonalnych lub Treg specyficznych dla aloantygeny dawcy. Specyficzne dla aloantygeny dawcy Treg wykazują przewagę nad poliklonalnymi Treg. W ostatnim czasie opracowano metodę umożliwiającą pozyskiwanie *in vitro* w krótkim czasie i w dużej liczbie Treg specyficznych dla aloantygeny dawcy. W procesie uzyskiwania do stymulacji

stosuje się komórki dendrytyczne dawcy oraz limfocyty B. Aby zwiększyć efektywność terapii, celowa wydaje się kombinacja obu źródeł Treg [12, 13, 16]. Istotnym problemem jest jednak obawa o stabilność Treg, istnieje bowiem potencjalna możliwość utraty przez Treg cząsteczki FoxP3 oraz konwersja komórki regulatorowej w prozapalny limfocyt T. Przetaczane Treg muszą też odpowiednio długo przeżyć, aby indukować długotrwałą tolerancję. Do wyjaśnienia pozostaje też sposób, w jaki przetaczane Treg migrują i ulegają „zakotwiczeniu“ w warunkach fizjologicznych oraz w stanach patologicznych. Migracja do odpowiedniego miejsca ma bowiem podstawowe znaczenie w funkcjonowaniu Treg.

MEZENCHYMALNE KOMÓRKI MACIERZyste (MSC)

Mezenchymalne komórki pnia (MSC, *mesenchymal stem cells*) wykazują silne właściwości immunomodulujące oraz potencjalnie pro-tolerogenne. Wykazano skuteczność terapii za pomocą MSC w zapobieganiu zachorowalności na GvHD oraz w chorobach o podłożu autoimmunologicznym. Czyni to MSC potencjalnie atrakcyjnym produktem dla indukowania tolerancji transplantacyjnej. Wykazano, że w środowisku prozapalnym (IFN gamma, TNF-alfa, IL-1-beta) MSC hamują odpowiedź zależną od efektorowego limfocyty T. MSC pośredniczą też w supresji limfocytów Th1, Th9, Th17 oraz limfocytów B. Hamowanie limfocytów B, plazmocytów i zmniejszenie wytwarzania immunoglobulin, sprawia, że terapia MSC jest bardzo atrakcyjną metodą. Wydaje się bowiem, że limfocyty B odgrywają szczególną rolę w indukcji tolerancji transplantacyjnej. W badaniach koordynowanych przez Riset, ITN wykazano, że u chorych po zabiegu przeszczepienia nerki lub wątroby, u których doszło do rozwoju tolerancji transplantacyjnej, obserwuje się zwiększoną liczbę limfocytów B oraz ekspresję genów związanych z limfocytami B, w porównaniu z pacjentami, u których nie doszło do powstania tolerancji transplantacyjnej i w porównaniu z osobami z grupy zdrowych ochotników. Komórki MSC działają immunosupresyjnie zarówno poprzez bezpośrednie interakcje między komórkami, jak i poprzez wytwarzane substancje, takich jak: PGE2, IL-10, TGF-beta, HLA-G5, galek-

tyny. Co więcej, istnieją dowody, że MSC stymulują proliferację komórek regulatorowych Treg (FoxP3+CD4+CD8+, Tr1IL10+, Th3TGF beta+), wpływają korzystnie na stosunek makrofagów M2/M1 na korzyść makrofagów alternatywnie aktywowanych. Hamują również dojrzewanie i migrację do węzłów chłonnych konwencjonalnych komórek dendrytycznych oraz indukują tolerogenne komórki dendrytyczne. Nie bez znaczenie jest również ich potencjał regeneracyjny [15].

TOLEROGENNE KOMÓRKI DENDRYTYCZNE (TOLDC)

W terapii komórkowej również tolerogenne komórki dendrytyczne (tolDC) wykazują zdolność indukcji tolerancji transplantacyjnej. Komórki te mogą bowiem hamować proliferację aktywowanych limfocytów T oraz zwiększać liczbę Treg. Zatem tolDC hamują odpowiedź immunologiczną na specyficzny aloantigen [30].

TOLEROGENNE LIMFOCYTY B (BREG)

Równowaga między efektorowymi limfocytami B, a regulatorowymi limfocytami B (Breg) jest obecnie przedmiotem wielu badań. Istnieje nadal rozbieżność co do fenotypu określającego Breg, jednak faktem ogólnie uznanym jest to, że IL-10 odgrywa ważną rolę w ich funkcjonowaniu. Niektórzy badacze sugerują, że Breg mogą przyczynić się w istotny sposób do rozwoju tolerancji transplantacyjnej. W celu potwierdzenia tych doniesień, konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań [7, 8, 31].

Podsumowując, terapia komórkowa w medycynie transplantacyjnej pozwala mieć nadzieję, że zastosowanie komórek regulatorowych układu immunologicznego u chorych po transplantacji alogenicznych narządów, umożliwi co najmniej redukcję stosowanej dotychczas niespecyficznej immunosupresji. Należy jednak przeprowadzić wiele badań przedklinicznych oraz udzielić odpowiedzi na liczne pytania, które dotyczą biodostępności, dystrybucji *in vivo*, stabilności, czystości preparatów komórkowych. Aby to osiągnąć, potrzebna będzie standaryzacja procesu uzyskiwania preparatów oraz ocena ich jakości. Obecnie niestety nie obserwuje się perspektyw na przełom w leczeniu immunosupresyjnym u biorców alogenicznych przeszczepów narządowych.

▶▶Terapia komórkowa w medycynie transplantacyjnej pozwala mieć nadzieję, że zastosowanie komórek regulatorowych układu immunologicznego u chorych po transplantacji alogenicznych narządów umożliwi co najmniej redukcję stosowanej dotychczas niespecyficznej immunosupresji◀◀

STRESZCZENIE

Zdolność indukcji tolerancji transplantacyjnej pozostaje w sferze zainteresowań wielu naukowców i klinicystów od ponad 50 lat, kiedy to Burnet oraz Medewar za badania nad zjawiskiem tolerancji transplantacyjnej otrzymali Nagrodę Nobla. W ostatnich 20 latach osiągnięto ogromne postępy w dziedzinie zrozumienia mechanizmów prowadzących do rozwoju tolerancji transplantacyjnej. Fundamentalne znaczenia dla zrozumienia tych mechanizmów w modelach zwierzęcych, miały badania nad zjawiskiem kostymulacji i rolą komórek regulatorowych układu immunologicznego. Niestety tolerogenne protokoły w modelu szczurzym okazały się nieskuteczne u ludzi. Istnieje również potrzeba określenia wpływu obecnie stosowanych leków immunosupresyjnych na funkcje komórek regulatorowych. Potencjalnie korzystnymi preparatami sprzyjającymi rozwojowi tolerancji transplantacyjnej wydają się preparaty surowic antytymocytarnych (tymoglobulina, alemtuzumab), inhibitory mTOR (sirolimus, everolimus), glikokortykosteroidy. Jako neutralne opisywane są pochodne kwasu

mykofenolowego — zarówno mykofenolan mofetilu, jak i mykofenolan sodu. Inhibitory kalcyneuryny opisywane są najczęściej jako wywierające niekorzystny wpływ na rozwój tolerancji transplantacyjnej poprzez hamowanie wytwarzania interleukiny 2, która jest niezbędna do funkcjonowania komórek T regulatorowych. W badaniach klinicznych zajmujących się tym zagadnieniem zastosowano kilka strategii: naświetlanie promieniami X układu limfaticznego, głęboką deplecję limfocytów T, indukcję mieszanego chimerizmu komórek krwiotwórczych poprzez przeszczepianie szpiku kostnego/komórek macierzystych krwi obwodowej dawcy. Nowymi strategiami zyskującymi zainteresowanie w ostatnich latach, mogącymi umożliwić rozwój tolerancji transplantacyjnej, są: przetaczanie komórek regulatorowych, mezenchymalnych komórek macierzystych (Mreg, Treg, tolDC, MSC).

Forum Nefrologiczne 2013, tom 6, nr 1, 23–29

Słowa kluczowe: tolerancja transplantacyjna, komórki regulatorowe T, komórki regulatorowe B, tolerogenne komórki dendrytyczne, tolerogenne makrofagi, mezenchymalne komórki macierzyste, leki immunosupresyjne

Piśmiennictwo

1. Lamb K.E., Lodhi S., Meier-Kriesche H.U. Long-term renal allograft survival in the United States: a critical reappraisal. *Am. J. Transplant.* 2011; 11: 450–462.
2. Gírlanda R., Kirk A.D. Frontiers in nephrology: Immune tolerance to allografts in humans. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007; 18: 2242–2251.
3. Billingham R.E., Brent L., Medawar P.B. Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature* 1953; 172: 603–606.
4. Turka L.A., Wood K., Bluestone J.A. Bringing transplantation tolerance into clinic: lessons from ITN and RISE for establishment of tolerance consortia. *Curr. Opin. Transplant.* 2010; 15: 441–448.
5. Gudmundsdóttir H., Turka L.A. T-cell co-stimulatory blockade: new therapies for transplant rejection. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1999; 10: 1356–1365.
6. Fandrich F. Arguments for and against immunoregulatory cell therapy in organ transplantation. *Curr. Opin. Transplant.* 2012; 17: 329–331.
7. Newell K.A., Asare A., Kirk A.D. i wsp. Identification of a B-cell signature associated with renal transplant tolerance in humans. *J. Clin. Invest.* 2010; 120: 1836–1847.
8. Cugini D., Noris M. Toward a B-cell signature of tolerance? *Kidney Int.* 2010; 78: 435–437.
9. Cobbold S.P. Combining regulation with suppression and aiming for tolerance. *Transplantation* 2010; 89: 909–910.
10. Bataglia M., Potential T regulatory cell therapy in transplantation: how far have we come and how far can we go? *Transplant. Int.* 2010; 23: 761–770.
11. Kawai T., Cosimi A.B. Induction of tolerance in clinical kidney transplantation. *Clin. Transplant.* 2010; 24 (supl. 22): 2–5.
12. Tang Q., Lee K. Regulatory T-cell therapy for transplantation: how many cells do we need? *Curr. Opin. Transplant.* 2012; 17: 349–354.
13. MacDonald K.G., Orban P.C., Levings M.K. T regulatory cell therapy in transplantation: stability, localization and functional specialization. *Curr. Opin. Transplant.* 2012; 17: 343–348.
14. Broichhausen C., Riquelme P., Geissler E. i wsp. Regulatory macrophages as therapeutic targets and therapeutic agents in solid organ transplantation. *Curr. Opin. Transplant.* 2012; 17: 332–342.
15. Franquesa M., Hoogduijn M.J., Baan C.C. The impact of mesenchymal stem cell therapy in transplant rejection and tolerance. *Curr. Opin. Transplant.* 2012; 17: 355–361.
16. Lim D.G., Koo S.K., Park Y.H. i wsp. Impact of immunosuppressants on the therapeutic efficacy of in-vitro-expanded CD4+CD25+FoxP3+ regulatory T cells in allotransplantation. *Transplantation* 2010; 89: 928–936.
17. Calne R., Moffatt S.D., Friend P.J. i wsp. Campath-1H allows low-dose cyclosporine monotherapy in 31 cadaveric renal allograft recipients. *Transplantation* 1999; 68: 1613–1616.
18. Kirk A.D., Hale D.A., Mannon R.B. i wsp. Results from a human renal allograft tolerance trial evaluating the humanized CD-52 specific monoclonal antibody alemtuzumab (CAMPATH-1H). *Transplantation* 2003; 76: 120–129.
19. Kirk A.D., Mannon R.B., Kleiner D.E. i wsp. Results from a human renal allograft tolerance trial evaluating T-cell depletion with alemtuzumab combined with deoxyspergualin. *Transplantation* 2005; 80: 1051–1059.

20. Knechtle S.J., Pascual J., Bloom D.D. i wsp. Early and limited use of tacrolimus to avoid rejection in an alemtuzumab and sirolimus regimen for kidney transplantation: clinical results and immune monitoring. *Am. J. Transplant.* 2009; 9: 1087–1098.
21. Fudaba Y., Spitzer T.R., Shaffer J. i wsp. Myeloma responses and tolerance following, combined kidney and non-myeloablative marrow transplantation: in vivo and in vitro analyses. *Am. J. Transplant.* 2006; 6: 2121–2133.
22. Kawai T., Cosimi A.B., Spitzer T.R. i wsp. HLA-mismatched renal transplantation without maintenance immunosuppression. *N. Engl. J. Med.* 2008; 358: 353–361.
23. Trivedi L.H., Terasaki P.I., Feroz A. Clonal deletion with bortezomib followed by low or no maintenance immunosuppression in renal allograft recipients. *Transplantation* 2010; 90: 221–222.
24. Murakami T., Cosimi A.B., Kawai T. Mixed chimerism to induce tolerance: lessons learned from nonhuman primates. *Transplant Rev.* 2009; 23: 19–24.
25. Palafox D., Llorente L., Alberu J. i wsp. The role of indoleamine 2,3 dioxygenase in the induction of immune tolerance in organ transplantation. *Transplant. Rev.* 2010; 24: 160–165.
26. Hutchinson J.A., Riquelme P., Brem-Exner B.G. i wsp. Transplant acceptance inducing cells as an immune-conditioning therapy in renal transplantation. *Transplant. Int.* 2008; 21: 728–741.
27. Hutchinson J.A., Brem-Exner B.G., Riquelme P. i wsp. A cell-based approach to the minimization of immunosuppression in renal transplantation. *Transplant. Int.* 2008; 21: 742–754.
28. Griesemer A.D., Sorenson E.C., Hardy M.A. The role of the thymus in tolerance.. *Transplantation* 2010; 90: 465–474.
29. Bashuda H., Shimizu A., Uchiyama M., Okumura K. Prolongation of renal allograft survival by anergic cells: advantages and limitations. *Clin. Transplant.* 2010; 24 (supl. 22): 6–10.
30. Beriou G., Moreau A., Cuturi M.C. Tolerogenic dendritic cells: applications for solid organ transplantation. *Curr. Opin. Transplant.* 2012; 17: 42–47.
31. Le Texier L., Thebault P., Lavault A. i wsp. Long-term allograft tolerance is characterised by the accumulation of B-cells exhibiting an inhibited profile. *Am. J. Transplant.* 2011; 11: 429–438.