

TRANSZPLANTÁCIÓS TOLERANCIA INDUKCIÓJÁNAK LEGÚJABB LEHETŐSÉGEI

Petrányi Győző

az orvostudomány doktora, az MTA rendes tagja
Országos Gyógyintézeti Központ, Budapest – petranyi.home@axelero.hu

A transzplantációs immunológia alapvető kérdése, hogyan lehetne beavatkozások és terápia fejlesztésével a recipiensbe a histoinkompatibilis transzplantátummal szemben végleges immunológiai befogadóképességet elérni. Az immunosuppresszív gyógyszerek látványos fejlődése és a biotechnológia segítségével létrehozott biológiai anyagok bevezetése ellenére az ideális állapot még messze van a klinikai realitástól. A kísérletes és klinikai kutatások célja ebben a vonatkozásban a végleges transzplantációs tolerancia létrehozása. Bár az utóbbi évtizedben számos kutatási program zajlott le ebben az irányban, a közölt eredményekből igen nehéz egyértelmű következtetéseket levonni. Mindezek előrebocsátásával ebben a közleményben a történeti háttér bemutatása mellett tisztázzuk a terminológiai kérdéseket, és összefoglaljuk a perifériás tolerancia indukciójához alkalmazott módszereket. Mivel a legtöbb eddigi klinikai tanulmány csak kevés beteget ölel fel, és rövid megfigyelési időre támaszkodik, azok bemutatását nem kísérheti kritikai értékelés.

A kimérizmus és az immunológiai tolerancia felfedezése

Roy Owen 1945-ben közölte a szarvasmarha kétpetéjű ikrekkel kapcsolatos alapvető felismerését, mely szerint a felnőtt ikrek vörösvérsejtjei genetikailag saját, de egyben eltérő tulajdonsággal is rendelkeznek, mely utóbbi

az ikertestvértől származtatható. Arra a következtetésre jutott, hogy „valamely mechanizmus felelős a genotípusosan különböző, de fenotípusosan identikus” biológiai tulajdonságért, melynek háttérében Frank Rattray Lillie tíz évvel korábbi megfigyelését feltételezte, miszerint a szarvasmarha ikrek placentái anatómiai érösszeköttetésben állnak egymással. Négy évvel később, 1949-ben Frank Macfarlane Burnet és Frank Fenner a „saját marker” hipotézisükről írt monográfiájukban kiemelték, hogy Owen megfigyelése mint a természetben előforduló egyedi eset, kitűnő bizonyíték az elméletükre. Hipotézisük kísérletes alátámasztására javasolták idegen vörösvérsejtek embrionális korban való beoltását e „toleráns állapot” létrehozására. Ezt a fogalmat E. Traubtól vették át, aki először írta le ezt a jelenséget, amikor egér embriókat lymphocytás *choriomeningitis* vírussal oltotta be, melynek következtében az egerek a vírus egészséges hordozói lettek, mivel specifikus ellenanyagtermelésre nem voltak képesek a mikroorganizmussal szembeni tolerancia kialakulása miatt.

A fentiekben említett kísérletektől függetlenül Peter Medawar a kétpetéjű szarvasmarha ikreket bőrtranszplantációs tesztekkel vizsgálta az egypetéjűség illetve kétpetéjűség megállapítása céljából. A legnagyobb meglepetésére azonban a kétpetéjű ikrek transzplantátuma nem löködött ki. Miután egyik munkatársa felhívta a figyelmét Burnet

monográfiájára, feltételezte, hogy az abban leírtak és az általa megfigyelték háttérében azonos jelenség állhat. Miután 1951-ben Medawar közölte alapvető bőrtranszplantációs megfigyeléseit, kutatásait Londonban folytatta Leslie Brent és Rupert Billingham társaságában. Kísérleteikben egérembriókat oltottak idegen törzsből származó lépsejtekkel, majd felnőtt korban bőrátültetésekkel tesztelték a transzplantációs immunitás állapotát. Az embrionális sejtoltás következtében az egerek nem lökték ki a sejteket adó donorok bőrtranszplantátumát, bizonyítva a tolerancia sikeres indukcióját. Ezekben a kísérletekben a *haematopoietikus* őssejtek beadása alkalmával kiméra állapotok kialakulását is leírták. Medawar és Burnet ezekért a felfedezésekért kapta a Nobel-díjat 1960-ban. A következő évtizedekben tovább fejlődött ez a kísérletes irányzat, és kiegészült a kísérletes csontvelő-transzplantáció módszerének bevezetésével, melyhez kapcsolódóan felismerték a *graft-versus-host* és a *host-versus-graft* betegséget, valamint a kapcsolatot a kimérizmus és tolerancia között (Jankowski, 1977; Sachs, 1989).

A kimérizmus és a tolerancia terminológiája és alapvető feltételei

Mi a kimérizmus, és milyen különböző formái vannak? A kiméra olyan biológiai szervezet, mely azonos vagy eltérő faj genetikailag különböző egyedinek sejtjeit vagy szöveteit hordozza. Általánosságban a kiméra állapot két formája különböztethető meg: a komplett vagy teljes (makro) és a kevert (mikro) kimérizmus. A komplett kiméra teljes *haematopoietikus* rendszere az idegen donortól származik. A kevert kiméra esetében a *haematopoietikus* rendszer, beleértve az immunrendszert, részben donor-eredetű a recipiensből származó sejtpopulációk mellett. Ez utóbbi esetében a donor és recipiens eredetű sejtek keveréke egy sejtvonalon, illetve sejtpopuláción belül is előfordulhat

(például dendritikus sejtek vagy T-sejt-szubpopulációk). Ezt a lehetőséget mozaik- vagy hasított kimérizmusnak is nevezik.

A kimérizmus formáit meghatározó feltételeket az 1. táblázat foglalja össze.

Általánosságban ezek egyrészt a befogadó, vagyis recipiens szervezetével kapcsolatosak, beleértve annak mindennemű kezelését, másrészt a beadott sejtek eredetével illetve manipulációjával állnak összefüggésben. A befogadó illetve recipiens tekintetében két fő szempontnak kell érvényesülnie ahhoz, hogy a kiméra állapot kialakulhasson. Az egyik a befogadó szervezet T-sejtjeinek eltávolítása különböző immunosuppresszív kezelések segítségével a kilöködés megelőzése céljából, a másik a „meghonosodás” helyének előkészítése a *myeloablatív* kezelés révén. Ezenkívül még számos fiziológiai és patológiai feltétel szabja meg a kimérizmus állapotát. Ezek közül csak egyet említünk, a *thymust*, mely központi és alapvető szerepet játszik a tolerancia egyik formájának kialakításában. A beadott sejtek vonatkozásában azok száma és összetétele lényeges szereppel bír a donorra jellemző immunológiai állapot mellett. A donorsejtek a transzplantált szervvel is átkerülhetnek mint „utas *lymphocyták*”.

Az immunológiai tolerancia fogalma jól definiált, habár szükséges hangsúlyozni, hogy annak speciális formáját képezi a *transzplantációs tolerancia*. Ebben az esetben az allotranszplantátum immunosuppresszív kezelés nélkül is folyamatosan és jó funkcióval marad életben, szemben a *klasszikus tolerancia* állapottal, amely specifikus antigén által indukált immunológiai válaszképtelenséget jelent. Más szempontból különböztethető meg a *centrális* és a *perifériás tolerancia*. A centrális tolerancia mechanizmusára és jellemző sajátosságaira vonatkozóan ezúton csak kiváló összefoglaló tanulmányokra hivatkozunk, melyek elsősorban a *thymus* szerepét hangsúlyozzák (Sprenth, 2001).

Gazda (recipiens) faktorok

- Immunológiai és hematopoietikus feltételek
- Anamnesticus* transfúzió
- Csontvelői dendritikus sejtek túlélése
- Radio-chemo* rezisztens T-sejt klónok
- Preventív/terápiás protokollok komplikációi
- Kondicionáló kezelés *myeloablativ* és toxikus hatásai
- Teljes testbesugárzás dózisa (TBI)
- Kondicionáló protokoll *myeloablativ cytoreductiv* hatása
- Immunszuppresszív kezelés erőssége
- Thymus* destrukció fokozata

Donorral kapcsolatos feltételek

- A beadott őssejtek eredete és a kíséző egyéb sejtkomponensek
- Csontvelői vagy perifériás eredetű őssejtek
- Átültetett őssejt mennyisége
- A szövet teljes vagy részleges T-sejt-*depletiója*
- Szöveti *lymphoid* sejtek differenciációjának és aktivációjának állapota
- A transzplantátumot infiltráló prekurzor dendritikus sejtek aránya és érettségi foka
- A donor anamnesztikus (történeti) háttére
- Transzfúzió, terhesség és/vagy virális fertőzés, vakcináció

Transzplantáció utáni állapot, komplikációk és terápia

- Graft-versus-host* és *host-versus-graft* reakció
- Fertőzések
- Kondicionáló kezeléssel adódó toxikus mellékhatások

1. táblázat • A kimerizmus kialakulásáért felelős tényezők

Mivel a perifériás tolerancia e közlemény fő témája, a következőkben erről adunk részletesebb információt. A perifériás tolerancia az alloreaktív T-*lymphocyták* inaktivációját jelenti a periférián a donor antigén folyamatos jelenléte következtében, kialakítva egy immunreguláció-eltérést a különböző funkciók szintjén. A centrális tolerancia esetében – ezzel ellentétben – az alloreaktív T-*lymphocyták* klonális deléciója történik a *thymusban* a sejtek differenciációja során lezajló pozitív és negatív szelekció révén. Megjegyzendő azonban, hogy a centrális tolerancia is szerepet játszhat a kevert kimerizmus kialakításában vagy a perifériás tolerancia mechanizmus lezajlása során (Lechler, 2001).

A 2. táblázat foglalja össze a perifériás tolerancia főbb formáit, melyeknek színes nomenklatúrájuk van, mint például aktív,

infekciózus és operatív tolerancia vagy szuppresszív immunreguláció. Klinikai és immunológiai szempontból a kevert kimerizmusnak a legnagyobb előnye, hogy megmarad az immunokompetencia, ám csökken a *graft-versus-host*reakció kialakulása. Ezzel ellentétben a komplett kimerizmus esetében súlyos immundeficiencia alakul ki, és nő a tumorok előfordulása. Csontvelő-átültetés esetében a *graft-versus-leukemia* effektus az egyéb mellékhatásoknál fontosabb szerepet játszik.

A perifériás tolerancia indukciójának módszertana

Általánosságban elfogadott, hogy a tolerancia együtt jár a kevert kimerizmussal. Ez világosan megnyilvánul a klasszikus csontvelő-transzplantációs kísérletekben, amikor a *graft-versus-host* reakció szignifikánsan

DELETIO	Antigénspecifikus T-sejt-klónok kiesése Korlátozott hisztokompatibilitási eltérés, Csökkent alloreaktív T-sejt receptorok, <i>Thymus</i> vagy perifériás aktiváció útján.
ANERGIA	T-sejtek funkcionális, specifikus válaszképtelensége A kostimulációs megváltozott ligandok részleges aktivációja Sejt divízió nélküli jelzés, T-sejt antigénprezentáció.
SZUPPRESSZIÓ	Szuppresszor sejtek fejlődése és differenciálódása T-sejtekkel átvihető, Szabályozó citokinek részvétele (IL-4, IL-10, TGF β) Sejt-sejt kapcsolat igénye.

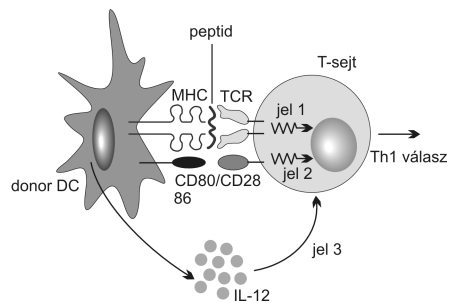
2. táblázat • A perifériás tolerancia főbb formáinak jellegzetességei

csökkent mértékben fordult elő vagy éppen hiányzik a kevert kimérismus állapotában. Ezekben az esetekben a donor eredetű bőrtranszplantátumok nem lökődnek ki. Ezzel ellentétben a teljes kiméra állapothoz súlyos és gyakori *graft-versus-host* reakció társult. Mik az alapvető feltételei a perifériás tolerancia indukciójának?

Az egyik tényező a donorsejtek folyamatos jelenléte (dendritikus-, T-, B-sejtek), a másik a nem professzionális antigénprezentáció, beleértve a sejt-sejt kontaktust valamint a jelátvitel sajátosságait. Az 1. ábra vázolja az aktivációs folyamatért felelős, és a „jelátvitel” 1- és 2-ben részt vevő sejt felszíni determinánsokat, valamint ligandokat. Egy másik fontos feltétel a donor eredetű alloreaktív klónok visszaszorítása, bár a befogadó szervezet egyes sejt populációinak közreműködése szintén nélkülözhetetlen. A befogadó szervezet ezen antigénprezentáló sejtjeinek túlsúlya biztosítja az indirekt alloantigén vagy peptid prezentációt, mely összefüggésben áll a tolerancia fennmaradásával (2. a-b ábra). Optimális helyzetben a kevert kiméra állapotban beadott *haematopoietikus* sejtek a csontvelőben megtapadnak, ahonnan mind a donor, mind a recipiens típusú sejtek a *thymus*ba migrálnak, és részt vesznek a klonális deléció folyamatában. Ezért ebben a fázisban

fontos a donorreaktív T-sejtek kiiktatása a *thymus*ból, de egyben e szerv eredeti funkciójának helyreállítása is. A periférián emellett a donor és a recipiens eredetű sejtek toleráns és kevert kiméra állapotban találhatóak. Ez a mechanizmus azonban csak az egyik lehetőség, más *thymus*független utak is működnek az anergia vagy szuppresszív reguláció eseteiben (2. táblázat) (Onodera, 1999).

A fenti mechanizmusoknak megfelelő protokollok a következő két fő csoportba sorolhatók. A beavatkozások egyik csoportja a gazdaszervezet kondicionálójának kezelését, a másik a donor alloantigének vagy sejtek manipulációját foglalja magába. A teljesség

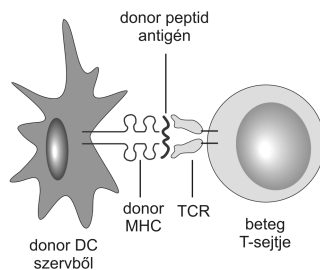


1. ábra • Az 1-es és 2-es jelátvitelben részt vevő kiegészítő membránreceptorok a T- és dendritikus sejtek interakciójában.

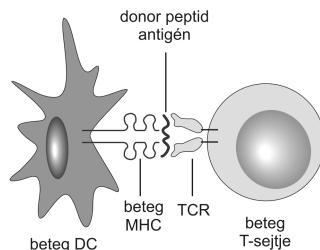
igénye nélkül a 3. táblázat foglalja össze mindkét metodológia lehetőségeit. A recipiens kondicionálása tekintetében valamennyi eljárás részleges *myeloabláció* és immunszuppressziót kíván elérni, általában e célra alkalmazott gyógyszerek redukált dózisaival vagy biológiailag aktív immunoterápiás anyagokkal. A teljes test irradiációt szubletális dózissal végzik, egy ülésben vagy frakcionáltan (3 Gy). Ezt lehet kombinálni a *thymus* 7 Gy-vel történő lokális besugárzásával. Ezeket a kezeléseket általában a donorsejt-infúzió napján vagy egy-két nappal azt megelőzően végzik. Alternatív *myeloabláció* végezhető konvencionális, csontvelő-átültetéseknel használt citosztatikus gyógyszerekkel, például Busulphan, de redukált dózisu protokollokkal egyaránt (Sharabi, 1989; Barta, 2001). A gazdaszervezet *haemato-* és immunapparátus funkciója blokkolásának új útja a *T-lymphocita-markerek*, receptorok, adhéziós és kostimulációs molekuláinak külön, vagy együttes blokkolása aspecifikus monoklonális ellenanyagokkal. A következőkben csak a legszélesebb körben alkalmazott egyes módszereket fogjuk bemutatni.

A röntgenbesugárzás és az *anti-lymphocita* illetve *anti-thymocita-globulin* kombinált adása mellett a nem depletáló anti-CD4 monoklonális ellenanyag Kathryn Wood (Oxford) által történt bevezetése került az érdeklődés központjába. Ez a jelátvitel 1. út erős blokkolását eredményezte. A kostimulációs 2. jelátviteli út blokkolására olyan anyagokat fejlesztettek, melyek a CD40-CD154 és/vagy CD28-CD80/86 interakcióját érintik (2. a-b ábra). Kísérletes modellekben optimális eredmény volt elérhető, ha mindkét kostimulációs utat együtt blokkolták. A másik fontos tényező, amely az összessenti beavatkozást megelőzi, a donorspecifikus antigén illetve sejtek beadása. Ezen biológiai aktív anyagok alkalmazása, nem *myeloablatív* kondicionálással kombinálva, kísérletes szövet- és szervátültetésekben

a.) direkt allofelismerés



b.) indirekt allofelismerés



2. a és b ábra • Direkt és indirekt allofelismerés donor DC és recipiens T-sejtek (a), valamint recipiens DC és recipiens T-sejtek között (b).

(vese-, szív-, máj- és Langerhans-sejtek átültetése) kevert kimérismus és tolerancia kialakulásához vezetett. E kombinációk alkalmazása a donorspecifikus klónok aktivációját hozza létre, miáltal azok érzékenyebbé válnak a citosztatikus vagy funkcionális blokkoló kezelésekkel szemben. Mivel a donorspecifikus transzfúzió állatkísérletekben és klinikai szervátültetésekben e területen igen eredményesen volt alkalmazható, a következőkben részletezzük a „játékony transzfúziós hatás” lényegét és jelenlegi felhasználását (Lechler, 2001; Subbotin, 1998; Bushell, 1994).

A transzfúzió és őssejt-inokuláció szerepe a perifériás tolerancia indukálásában

A 4. táblázat foglalja össze a transzfúzió hatásának mérföldköveit az emberi vesetranszplantáció történetében. A mechanizmusra vonatkozó legtöbb elmélet a perifériás tolerancia valamely típusát vagy a szuppresszív immunreguláció szerepét feltételezi. Ezek

a feltételezések alátámaszthatók azokkal a megfigyelésekkel, amikor a párhuzamosan adott immunosuppresszív kezelés eredményeként *in vitro* módszerekkel az alloreaktivitás csökkenését lehetett kimutatni (Petrányi, 1997). Annak érdekében, hogy köny-

nyebben lehessen megérteni a transzfúzió szuppresszív hatását, saját kísérletes és klinikai vizsgálatainkból mutatunk be reprezentatív eredményeket a donorspecifikus transzfúzió (DST) élő donoros vesetranszplantációk esetében való alkalmazásáról.

Kísérletes:	Donorspecifikus antitestek Donorspecifikus transzfúzió Donor csontvelő és ALS, ATG Donor antigén és anti-CD4 Donor antigén a <i>thymus</i> ban és ALS Donor dendritikus sejtinjekció Teljes test/ <i>lymphoid</i> besugárzás Nem <i>myeloablátív</i> kondicionálás Anti-LFA1 és anti-ICAM-1 CD40/CD28 blokkolás Cyclosporin és ALG Donorsejtek genetikai manipulációja Teljes <i>lymphoid</i> besugárzás és ATG Anit-CD3 immunotoxin Nagy mennyiségű összejt injekció
Klinikai:	Össejt és <i>lymphoid</i> besugárzás és ATG Anti-CD25 monoklonális antitest és donor antigén Anti-CD28 monoklonális antitest és donor antigén Anti-CD4 monoklonális antitest és donor antigén „Mini” csontvelő-transzplantáció, Donorspecifikus transzfúzió és Cyclosporin, Csontvelő és OKT3 vagy ATG, Campath 1-3, Nagy mennyiségű összejt beoltás, Dendritikus sejt kezelés

3. táblázat • Toleranciaindukciót előidéző kísérletes és klinikai lehetőségek

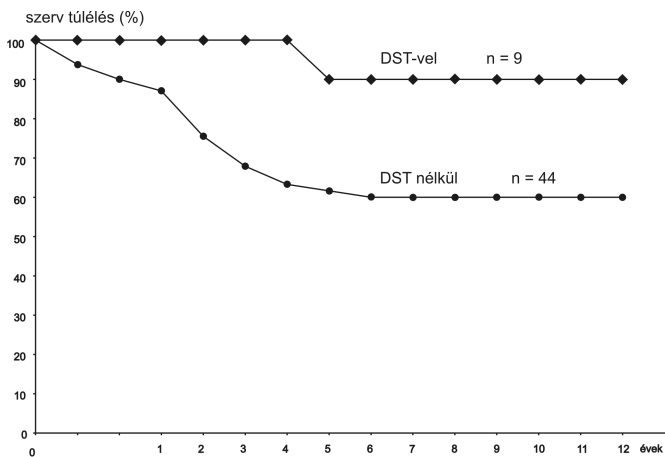
1973	Első beszámoló a transzfúzió és a vesetűlésés összefüggéseiről
1975-1985	Számos, „előnyös” transzfúziós hatást támogató kísérletes és klinikai tanulmány.
1985	A Cyclosporin bevezetése a klinikumban növelte a szerv túlélését, és az „előnyös” transzfúziós hatás elhomályosításához vezetett.
1990	Kísérletes immunogenetikai és molekuláris biológiai tanulmányok a perifériás toleranciaindukció transzplantáció előtti „transzfúziószerű” donorsejt kezelésre vonatkozóan.
1997	Prospektív, véletlenszerű tanulmány nagyszámú betegcsoporton újra igazolta a „előnyös” transzfúziós hatást, még a leghatékonyabb, új immunosuppresszív gyógyszerekkel kezelt betegenként is.

4. táblázat • Az „előnyös” transzfúziós hatás történetének mérföldkövei veseátültetésekben

A hatvannégy főt magában foglaló élő rokondonoros vese várakozási listáról tizenhat beteg került a DST programba, akik a prospektív családi donorral szemben (legtöbb esetben szülők) igen magas kevert *lymphocyta* kultúra (MLC) reakciót képviseltek. Korábbi tanulmányainkban és más vizsgálatokban kiderült, hogy tisztított a vérlemezke-preparátum (csak MHC I osztályú és nem MHC antigéneket kifejezve) szuppresszív immunoregulációt idéz elő szenzitizáció helyett. Ennek megfelelően néhány beoltást követően „blokkoló” antitesttermelés indul meg párhuzamosan *in vitro* mért T-sejt-alloreaktivitás csökkenésével (MLC, CTLp, CML). A csökkent MLC reaktivitású szövetkultúrákból kiemelt effektor sejtek egy másik MLC reakcióba helyezve erős gátlást fejtenek ki, bizonyítva a szuppresszor T-sejtek jelenlétét és szerepét. A T-lymphocyták aktivációs marker vizsgálata kimutatta az MHC II osztályú molekulák, valamint a CD25 (IL-25R) marker csökkent expresszióját (Pádányi, 1998). Ez a megfigyelés adta számunkra az indítékot, hogy hasonló módszerrel indukáljunk a recipiensben vese-transzplantáció előtt szuppresszív regulációt

illetve perifériás toleranciát a családi donor vérlemezke preparátum transzfúziójával. A DST hatékonyságát a „blokkoló” (Fc γ R és MLC) ellenanyag megjelenésével és az MLC-reakció változásával lehetett nyomon követni. Három vérlemezke-transzfúziót követően a tizenegy recipiensben szignifikánsan csökkent az MLC-reaktivitás – gyakorlatilag negatív értékre –, és emelkedett a blokkoló ellenanyagtiter. Ezek az eredmények képezték a vesetranszplantáció indikációját, amely azután a konvencionális immunszuppresszív kezelés kíséretében történt meg. A transzplantációt követő időszakban akut kilökődési reakciót nem lehetett észlelni, és amint azt a 3. ábra demonstrálja, mindegyik vese jó funkcióval élt az első öt évben. Ismert a nagy statisztikai analízisek alapján, hogy a vesetűlési görbe a kilökődések következtében bizonyos százalékkal évről évre folyamatosan csökken, így a mi esetünkben a transzplantátumok hosszú időn túli folyamatos túlélése a perifériás tolerancia kialakulását igazolja.

Jogosan vetődik fel az a kérdés, hogy vajon melyik sejtpopuláció felelős a tolerancia indukciójáért a DST vagy csontvelői sejtek beadásakor. Állatkísérletek sorozatai



3. ábra • Donorspecifikus transzfúzióval kezelt, valamint kontroll betegek élő donoros vese túlélése.

tisztázták, hogy legnagyobb valószínűség szerint a legfontosabb szerepet e folyamatban a donor-eredetű dendritikus sejtek (DC) játsszák. A dendritikus sejtek kezelése különböző anyagokkal, beleértve a biológiailag aktívakat, az MHC II-, a kostimulációs molekulák, valamint a kemokin receptorok sejtfelszíni kifejeződését csökkentik, és gátolják az IL-12 szekrécióját. Géntranszfekeciós technológia alkalmazásával adenovírus vektorba épített IL-10 gén DC-be építésével sikerült az ennek megfelelő citokintermelést és szekréciót növelni. Hasonló genetikai manipulációt lehet elvégezni IL-2, TGF β , CTLA4-Ig, FasL stb. génekkel. Egy másik irányzat a dendritikus sejtek érésének gátlásával azok éretlen állapotban tartása. Ezt a prekursor dendritikus sejtek *in vitro*, GMC-SF, IL-10, TGF β citokineket tartalmazó médiumban történő tenyésztésével lehet elérni (Thomson, 1999; Lu, 2002). A dendritikus sejtek szubpopulációi, azok funkciói, valamint a jellemző sejtfelszíni markereik és az immunogenetikai jelentőségük ma az érdeklődés középpontjában álló kérdés.

A perifériás tolerancia indukciójának immunogenetikai feltételei

A leideni Eurotransplant munkacsoport néhány évvel ezelőtt végzett klinikai kutatásainak eredményei rávilágítottak arra, hogy a „jótékony” transzfúziós hatás a vesetransz-

plantációkban akkor optimális, ha a transzfúziós donor és a recipiens között csak egy MHC II osztályú alloantigén különbség van. Ezt a megfigyelést támasztotta alá továbbá az, hogy ilyen esetekben a citotoxikus HLA-ellenanyag-termelés és a donorspecifikus MLC-reaktivitás is csökkent volt. Másrészt általánosan ismert, hogy a transzfúziós donor és a recipiens közötti erős HLA-alloantigén-eltérés alloszenzitizációt eredményez, citotoxikus anti-HLA ellenanyag-termeléssel. Az 5. táblázat egy reprezentatív vizsgálatunk eredményét mutatja be, mely szerint a transzfúziós szenzitizáció illetve immunmodulációs hatás a donor és recipiens közötti HLA-fenotípus-egyezés illetve különbség függvénye. A három kiválasztott paraméter (CTLp, citotoxikus HLA ellenanyag és „blokkoló” anti-test) jól jelzi a szenzitizáció és immunreguláció mértékét, tükrözve a histokompatibilitás eltérésének mértékét. Más kísérletes megfigyelések is jelzik, hogy jobb hatásfokkal alakítható ki a perifériás tolerancia, ha a donor és recipiens között mérsékeltek az MHC különbségek. Ebben az esetben – mivel a T-sejt-reaktivitás jelentősen alacsonyabb – az alloreaktív „sejtpool” is könnyebben zsugorítható kondicionáló kezeléssel a kontrollálható szintre (Petrányi, 1997; Peugh, 1988).

A fentiekben vázolt immunogenetikai és allogénstimulációs sajátosságok mellett egyre növekszik az egyéb tényezők megismeré-

Recipiens/ donor párok	Cytolitikus T-sejt gyakoriság		HLA-eltérés után 10 nappal	antitest-termelés	
	transzfúzió előtt	transzfúzió előtt		HLA spec.	TLX-B spec
KP – BA	2062:10 ⁶ ly	362:10 ⁶ ly	2AB 2DR	+	-
FJ – NJ	3497:10 ⁶ ly	89:10 ⁶ ly	1AB 2DR	+	+
MJ – SI	38:10 ⁶ ly	38:10 ⁶ ly	1AB 1DR	-	+
CsF – LG	218:10 ⁶ ly	27:10 ⁶ ly	2AB 1DR	+	+
HJ – RK	783:10 ⁶ ly	829:10 ⁶ ly	3AB 1DR	-	+
RR – RM	246:10 ⁶ ly	377:10 ⁶ ly	4AB 1DR	-	+

5. táblázat • HLA-diszparitáshoz kapcsolódó *cytolitikus T-lymphocyta* gyakoriság és HLA-antitest-termelés

se, melyek szükségesek a specifikus alloreaktív T-sejtek immunsuppresszív kezeléssel való befolyásolásához. A specifikus reaktív sejtek elpusztításának indukciójához a gyógyszeres kezeléshez (Rapamicin, IL-2 szekréciót gátlók, kalcineurin gátlók stb.) társulva a donor antigének különböző formáinak közreműködése (szolubilis alloantigének vagy peptidok, sejtek csökkent MHC expresszióval, alárendelt MHC- és más, nem-MHC polimorf antigének) segíthetik elő a perifériás aktivációt. A másodlagos alloantigén rendszerek aktivációs folyamatban való részvétele tekintetében felismertünk egy polimorfizmust, mely a *leukocyták* egyes populációin, a vérelemzéken és a trophoblastokon kifejeződve található meg. Ez a még csak szegényesen felismert rendszer öt allotípussal rendelkezik, melyek az előbbiekben említett sejtpopulációkon mutathatók ki. Tipizált donor/recipiens párok között végzett tervezett transzfúziós vizsgálatainkban kimutattuk, hogy e polimorf rendszerben eltérésnek kell lenni a donor és recipiens között a suppresszív reguláció előidézéséhez. Ez azt jelentette, hogy a HLA-haploiditás és TLX-allotípus-eltérés együtt járt a blokkoló ellenanyag-termeléssel és a csökkent CTLp gyakorisággal (Petrányi, 1995). Ezek a megfigyelések talán segítenek a perifériás toleranciaindukció komplexitásának megértésében, ami nemcsak a *myeloablátív* és immunsuppresszív kezeléstől, valamint donorsejt-, illetve antigénbeadás körülményeitől, hanem az immunogenetikai feltételektől is függ.

Tolerancia-indukció lehetőségei a klinikai transzplantációban

Bár igen meggyőző az immunosuppresszív gyógyszerek fejlődése, hiszen egyre több szelektív hatással rendelkező anyag kerül forgalomba, a toxikus mellékhatások, a fertőzés és daganatos szövödmények indítékot adnak arra, hogy alternatív és fejlettebb be-

avatkozásokat dolgozzanak ki a transzplantátum különböző kilöködési formáinak megelőzésére. Ezért nemcsak az állatkísérletekben (lásd fent), hanem a klinikai gyakorlatban is különböző eljárásokat vezettek be, hogy specifikus válaszképtelenséget hozzanak létre a transzplantátummal szemben. Annak érdekében, hogy a fejlődést ezen a területen jobban elősegítsék, az NIH (National Institute of Health) közreműködésével Immuntolerancia Hálózatot (Immune Tolerance Network, ITN) hoztak létre 1999-ben Jeffrey Bluestone vezetésével. USA és Európa legjobb transzplantációs központjai különböző munkacsoportok kialakításával csatlakoztak az együttműködéshez, a tapasztalatok kicseréléséhez, mint például szigetsejt-transzplantáció, a tolerancia kialakulásának nyomon követése, vesetranszplantáció, autoimmunitás és allergia. A következőkben az ITN-ből származó legfrissebb adatok alapján összegezzük a humán szervátültetésekkel kapcsolatos eljárásokat és eredményeket.

Hasonlóan a DST eljárashoz az egyik beavatkozás pre- vagy perioperatív csontvelősejtek beadását jelenti klasszikus immunosuppresszív kezelés mellett. Egy másik módszer kiegészítő anti-T-sejt ellenes immuno-therápiát alkalmaz a csontvelősejtek beadása mellett. Szükséges megemlíteni, hogy magas dózisú csontvelősejtek beadása is hatékonynak mutatkozik anélkül, hogy emellett *lymphoablációt* vagy alloreaktív T-sejt-eltávolítást végeznének. A csontvelői sejteket perioperatív beadáshoz *cadaver* szervátültetések esetében a csípőlapátból vagy a bordákból nyerik. A csontvelő sejtuszupenzió tisztítása után, fagyasztás nélkül 2×10^{10} sejtet adnak be a transzplantációval egy időben egy dózisban vagy két adagban. Élő donoros transzplantációk esetében perifériás össejteket szeparálnak és adnak be 1×10^9 dózisban. A kiegészítő citoredukciós immuno-therápia OKT3, ATG vagy ALG készítmé-

nyekkel egyidejűleg történhet a csontvelő-sejtek infúziójával és a transzplantációval. A klinikai szervátültetések, melyekben tolerancia indukciója céljából a fentiekben vázolt sejterápia bármelyik formájával próbálkoztak, érintették a legtöbb transzplantációt: mint például vese, máj, szív, tüdő, *pancreas* és szigetsejtek. A beavatkozások hatékonyságát az immunosuppresszív gyógyszerek (például szteroidok), megvonási lehetőségével, a donorspecifikus *in vitro*sejtközvetített immunparaméterek (például MLC, CML) reaktivitásának mérésével, valamint a kevert kimérizmus kimutatásával lehetett megítélni. Általánosságban a tolerancia indukált csoportokban szignifikánsan eltérő értékeket kapunk a kontrolladatokhoz viszonyítva, melyek a szuppresszív reguláció kialakulása irányába mutattak (Rao, 1998).

Az egyik legutolsó közlemény, mely egyben a legnagyobb esetszámmal rendelkezett, és a csontvelői sejteket adott be szervátültetés kísérletében, a Pittsburgi Intézetből származik. Eredményeikből az alábbiakat emeljük ki. Az 1992 és 2000 közötti időszakban 124 vesetranszplantáció esetében csontvelősejteket infundáltak Tacrolimus alapú immunosuppresszív protokoll kísérletében, mellőzve más citoreduktív terápiát. Kimérizmust 92 %-ban értek el, szemben a kontrollok 64 %-ával. A vesetűlés 76 %/5 év volt a csontvelővel kezelt csoportban, szemben a kontroll 71 %-os értékével. Szignifikáns különbséget kaptak azonban a krónikus *allograft nephropathia* előfordulási gyakoriságára vonatkozóan. A huszonnyolc szívatültetés esetében a transzplantátum túlélése azonos volt a csontvelőkezelés és a kontrollcsoportban (86-87 %), de az akut kilökődési reakció 3. fokozatának előfordulása szignifikánsan csökkent. A csontvelőkezelés csoportban 64 %-ban nem volt kilökődés, szemben a kontrollok 40%-ával. Hasonló számú tüdőátültetés végeztek, melyek során, bár a transzplantátumok túlélése mindkét csoportban azonos

volt, az obliteráló *bronchiolitis* csak 5 %-ban fordult elő a csontvelősejtekkel kezelt csoportban (Shapiro, 2001).

Az egyik legfontosabb következtetés a fentiekben érintett klinikai tanulmányokból, hogy a csontvelősejtek beadása biztonságos, akár *cadaver*, akár élő donorból származnak. Az egyik legnagyobb gond etikai vonatkozású, hiszen kérdéses, mennyiben alkalmazható egy új citoreduktív vagy funkcionális blokkoló kezelés a transzplantációk során bevált és konvencionálisan elfogadott terápia helyett vagy mellett. Hasonló kérdéssel nézhetünk szembe, amikor genetikailag manipulált donor dendritikus sejteket alkalmazunk. Jelenleg a klinikai eredmények még messze nem érik el azokat a lelkesítő eredményeket, melyeket a rágcsálók és majmokkal végzett kísérletes transzplantációkkal értek. Remélhető azonban, hogy nemzetközi együttműködés segítségével az emberi szervátültetésekhez kapcsolt, specifikus toleranciaindukciós módszerekkel kapcsolatos nyitott kérdések lépésről lépésre, rövid időn belül megválaszolhatók lesznek.

Konklúzió

Ötven évvel ezelőtt a transzplantációs immunológia Nobel-díjjal kitüntetett úttörői megnyitották a csontvelő- és szervátültetések kutatási lehetőségeit, beleértve a transzplantációs tolerancia és a kimérizmus jelenségének felismerését és leírását. Mindez az állatkísérletek eredményeinek a klinikumban való értékesítését eredményezte, mely a transzplantációkat a rutin egészségügyi ellátás körébe vonhatta.

Donnall Thomas és Joseph Murray Nobel-díjas kutató klinikusok követői új sebészeti technikákkal, immunosuppresszív protokollokkal, nemzetközi kollaborációkkal gyorsan fejlesztették a klinikai transzplantációkat minden területen. Annak ellenére, hogy igen gyorsan lehetett jobb és jobb eredményeket elérni a klinikai transzplantációkban, egyre

erősebb lett az igény, hogy csökkentsek az immunosuppresszív kezelések szövődményeit, elkerüljék az akut és krónikus kilökődéssel járó súlyos tüneteket. Így jutott az érdeklődés központjába a kimérismus és a toleranciaindukció. Nagy lendületet kaptak azok a kezdeményezések, melyek célja a transzplantátummal szembeni specifikus tolerancia létrehozása volt az immunrendszer patogénekkal szembeni reaktivitásának érinetlenül hagyása mellett. Az új biotechnológiai

és molekuláris genetikai eljárásokra alapítva a megbízható állatkísérletes eredmények rávilágítanak azokra a technikákra és módszerekre, melyek teljesítik majd a klinikai elvárásokat a szervátültetésekkel kapcsolatban.

Kulcsszavak: vesetranszplantáció, donorspecifikus transzfúzió, kimérismus, immuntolerancia, szuppresszív reguláció, kilökődés, immunosuppresszív kezelés, immunterápia, csontvelői őssejt

IRODALOM

- Barta Anikó – Dénes R. – Masszi T. – Reményi P. – Bátai A. – Torbágyi E. – Sipos A. – Lengyel L. – Jakab K. – Gyódi E. – Réti M. – Földi J. – Páldi-Haris P. – Avalos, M. – Pálóci K. – Fekete S. – Török J. – Hoffer I. – Jakab J. – Váradi G. – Kelemen E. – Petrányi G. (2001): Remarkable Reduced Transplant Related Complications by Dibromomannitol Non-Myeloablative Conditioning Before Bone Marrow Transplantation in Chronic Myeloid Leukemia. *Acta Haematologica*, **105**, 64-70.
- Bushell, Andrew – Morris, P. J. – Wood, K. J. (1994): Induction of Operational Tolerance by Random Blood Transfusion Combined with Anti CD4 Antibody Therapy. Protocol with Significant Clinical Potential. *Transplantation*, **58**, 2, 133-139.
- Jankowski, Renee A. – Ildstad, Suzanne T. (1997): Chimerism and tolerance. from freemartin cattle and neonatal mice to humans. *Human Immunology*, **52**, 2, 155-161.
- Lechler, Robert I. – NG, W. F. – Camara, NO (2001): Infectious Tolerance? Mechanisms and Implications. *Transplantation*, **72**, S29-S31
- Lu, Lina – Thomson, Angus W. (2002): Manipulation of Dendritic Cells for Tolerance Induction in Transplantation and Autoimmune Disease. *Transplantation*, **73**, S19-S22
- Onodera, Kazuhiko – Chandraker, A. – Volk, H. D. – Ritter, T. – Lehmann, M. – Kato, H. – Sayegh, M. H. – Kupiec-Weglinski, J. W (1999): Distinct Tolerance Pathways in Sensitized Allograft Recipients After Selective Blockade of Activation Signal 1 Or Signal 2. *Transplantation*, **68**, 288-293
- Padányi Ágnes – Horuzsko A. – Gyódi E. – Réti M. – Pócsik E. – Kottán B. – Perner F. – Petrányi G. (1998): Humoral and cell mediated factors involved in the suppressive regulation induced by special blood derivatives and their clinical relevance. *Transplant Proceedings*, **30**, **8**, 3967-3971.
- Petrányi G. – Padányi A. – Szelényi J. – Sármai G. – Gyódi E. – Fülöp V. – Kassai M. – Illés P. – Rti M. – Szigetvári I. – Boros P (1995): The polymorphic human TLX-B/CD46/MCP system and its implication in transplantation and reproduction. *European Journal of Immunogenetics*, **22**, 147-161.
- Petrányi G. – Réti M. – Harsányi V. – Szabó J (1997): Immunologic Consequences of Blood Transfusion and Their Clinical Manifestation. *International Archives of Allergy and Immunology*, **114**, **4**, 303-315.
- Peugh, WN. – Wood, KJ. – Morris PJ. Genetic aspects of the blood transfusion effect (1988): *Transplantation*, **46**, **3**, 438-443.
- Rao, Abdul S. – Shapiro, R. – Corry, R. – Dodson, F. – Abu-Elmagd, K. – Jordan, M. – Gupta, K. – Zeevi, A. – Rastellini, C. – Keenan, R. – Reyes, J. – Griffith, B. – Fung, J. J. – Starzl, T. E. (1998): Adjuvant Bone Marrow Infusion in Clinical Organ Transplant Recipients. *Transplantation Proceedings*, **30**, **4**, 1367-1368.
- Sachs, David H. – Sharabi, Y. – Sykes, M (1989): Mixed Chimerism and Transplantation Tolerance. *Progress in Immunology*, **4**, 1171-1176.
- Shapiro, Ron – Rao, A. S. – Corry, R. J. – Valenti, M. – Zeevi, A. – Jordan, M. L. – Scantlebury, V. P. – Vivas, C. A. – Jain, A. – McCauley, J. – Randhawa, P. – Gray, E. A. – Dvorchik, I. – McMichael, J. – Fung, J. J. – Starzl, T. E. (2001): Kidney Transplantation with Bone Marrow Augmentation. Five-year outcomes. *Transplantation Proceedings*, **33**, **1-2**, 1134-1135.
- Sharabi, Yehonatan – Sachs, David H. (1989): Mixed Chimerism and Permanent Specific Transplantation Tolerance Induced by a Nonlethal Preparative Regimen. *The Journal of Experimental Medicine*, **169**, **2**, 493-502.
- Sprent, Jonathan – Kishimoto, Hidehiro (2001): The Thymus and Central Tolerance. *Transplantation*, **72**, S25-S28.
- Subbotin, Vladimir – Sun, H. – Chen, C. – Aitouche, A. – Valdivia, L. – Fung, J. J. – Starzl, T. E. – Rao, A. S (1998): Combined Blockade of CD28/B7 and CD40/CD40L Costimulatory Pathway Prevent the Onset of Chronic Rejection. *Transplantation Proceedings*, **30**, **4**, 941-942.
- Thomson, Angus W. – Takayama, Takuya (1999): Dendritic Cells and the Outcome of Organ Transplantation. A Contemporary View. *Transplantation Proceedings*, **31**, **7**, 2738-2739.