

# 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 kilökődés 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 (Sprenst, 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) háttere  
 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 $\beta$ ) Sejt-sejt kapcsolat igénye.

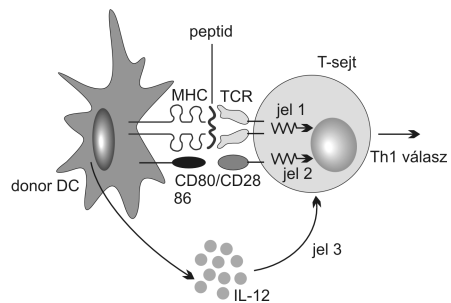
## 2. táblázat • A perifériás tolerancia főbb formáinak jellegzetességei

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 *haematopoetikus* 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 kondicionáló kezelését, a másik a donor alloantigének vagy sejtek manipulációit foglalja magába. A teljesség

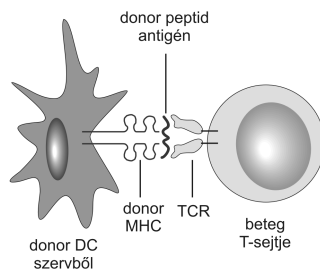


1. ábra • Az 1-es és 2-es jelátvitelben részt vevő kiegészítő membránreceptorok a T- és dendritikus sejtek interakciójában.

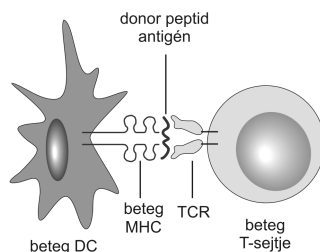
igénye nélkül a 3. táblázat foglalja össze mindkét metodológia lehetőségeit. A recipiens kondicionálása tekintetében valamennyi eljárás részleges *myeloabláció* és immunszuppressziót kíván elérni, általában e célra alkalmazott gyógyszerek redukált dózisaival vagy biológiailag aktív immunoterápiás anyagokkal. 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 összefüggő 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.

<b>Kísérletes:</b>	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
<b>Klinikai:</b>	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

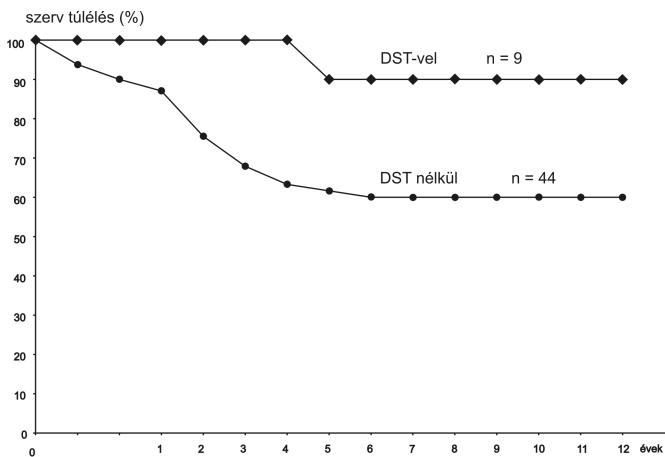
1973	Első beszámoló a transzfúzió és a vesetűlésés összefüggéseiről
1975-1985	Számos, „előnyös” transzfúziós hatást támogató kísérletes és klinikai tanulmány.
1985	A Cyclosporin bevezetése a klinikumban növelte a szerv túlélését, és az „előnyös” transzfúziós hatás elhomályosításához vezetett.
1990	Kísérletes 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 (Padányi, 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 $\gamma$ 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 indukációjáért 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 $\beta$ , 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 $\beta$  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 <sup>6</sup> ly	362:10 <sup>6</sup> ly	2AB 2DR	+	-
FJ – NJ	3497:10 <sup>6</sup> ly	89:10 <sup>6</sup> ly	1AB 2DR	+	+
MJ – SI	38:10 <sup>6</sup> ly	38:10 <sup>6</sup> ly	1AB 1DR	-	+
CsF – LG	218:10 <sup>6</sup> ly	27:10 <sup>6</sup> ly	2AB 1DR	+	+
HJ – RK	783:10 <sup>6</sup> ly	829:10 <sup>6</sup> ly	3AB 1DR	-	+
RR – RM	246:10 <sup>6</sup> ly	377:10 <sup>6</sup> 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 *myeloablatív* 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 eljáráshoz 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-sejtel-távolítást végeznének. A csontvelői sejteket perioperatív beadáshoz *cadaver* szervátültetések esetében a csípőlapátból vagy a bordákból nyerik. A csontvelő sejtuszuspenzió tisztítása után, fagyasztás nélkül  $2 \times 10^{10}$  sejtet adnak be a transzplantációval egy időben egy dózisban vagy két adagban. Élő donoros transzplantációk esetében perifériás össejteket szeparálnak és adnak be  $1 \times 10^9$  dózisban. A kiegészítő citoredukciós immuno-terápiát 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 szívátültetés 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 rágcsálókval 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. – Batai A. – Torbágyi E. – Sipos A. – Lengyel L. – Jakab K. – Gyódi E. – Réti M. – Földi J. – Páldi-Haris P. – Avalos, M. – Pálóczy 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.