

UNTERSUCHUNG CD4+/CD8+ Th1 UND Th2 SPEZIFISCHER ZELL-LINIEN AUS PATIENTEN NACH NIERENTRANSPLANTATION IN ABHÄNGIGKEIT DER IMMUNSUPPRESSION UNTER VERWENDUNG VON MMF



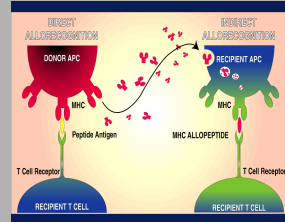
M Gasser, I Tsaur, M Büter, A Trumpfeller, D Meyer, A Thiede, AM Waaga-Gasser
Chirurgische Universitätsklinik und Poliklinik, Julius-Maximilians-Universität Würzburg



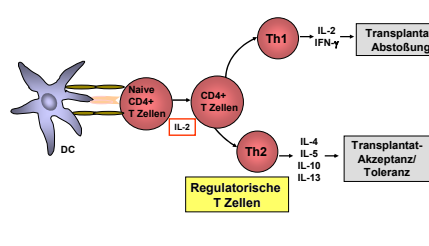
HINTERGRUND

In Voruntersuchungen haben wir erstmals die regulatorischen Funktionen von HLA-DR Allopeptid-spezifischen Th2-Zellen beim Menschen aufgezeigt:

- In vitro Co-Kultur-System:**
 - signifikant inhibierte proliferative Antwort von Th1-Zellen aus Patienten mit chronischer Abstoßung (CR) durch Th2-Zellen in Antwort auf präsentierte Spender-HLA-Allopeptide
- Th2-Zellen regulieren die Produktion von IFN- γ (Th1-Zellen) in Antwort auf die spender-spezifischen Peptide (Co-Kultur)
- Die regulatorische Funktion der Th2-Zellen ist Antigen-spezifisch (Auftreten nur, wenn sowohl Th1- als auch Th2-Zellen reaktiv gegenüber ihren spezifischen HLA-DR Allopeptiden sind) **Regulatorische Funktion durch IL-10 vermittelt**
- T Zell-Linien und Klone vom CD4+ Phänotyp
- Diese Patienten erhielten ein immun-suppressives Protokoll aus Cyclosporin (CsA), Azathioprin und Corticosteroid



Regulation der T Helfer Zell-Antwort



ZIEL DER STUDIE

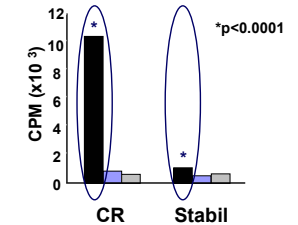
- Untersuchung des **indirekten Weges der Alloerkennung** bei Patienten nach Nierentransplantation mit
 - einer biotisch nachgewiesenen chronischen Allotransplantatabstoßung **oder**
 - einer stabilen Transplantat-Nierenfunktion
- Etablierung Allopeptid-spezifischer CD4+/CD8+ T-Zell-Linien aus peripheren Blutlymphozyten humaner renaler Transplantat-Empfänger
- Charakterisierung dieser Th1- und Th2-Zell-Linien *in vitro*

ERGEBNISSE

HLA-DR Allopeptid-reaktive T-Zell-Linien von Nierentransplantatempfängern

| Zell-Linie | CD3+CD4+ (%) | CD3+CD8+ (%) | HLA Mismatch | Zytokine |
|---------------|--------------|--------------|--------------|----------------------|
| CR | | | | |
| 1 | 22 | 30 | DR7 | IFN- γ |
| 2 | 66 | 39 | DR7 | IFN- γ |
| 3 | 42 | 58 | DR7 | IFN- γ |
| Stabil | | | | |
| 1 | 4 | 34 | DR1+DR2 | IFN- γ /IL-10 |
| 2 | 18 | 39 | DR4 | IL-10 |
| 3 | 66 | 41 | DR7 | IL-10 |

Humane T-Zell-Linien Proliferationsassay



MATERIAL UND METHODEN

Patientenkollektiv

- Triple-Immunsuppression (CsA, MMF und Corticosteroid)
- Mismatched für spezifische HLA-DR Moleküle
- Gruppe 1: Patienten mit chronischer Abstoßung (CR) (biotisch nachgewiesen, Serum Creatinin > 1,6 mg/dl) T-Zell-Reaktivität *in vitro* gegenüber HLA-DR Peptid
- Gruppe 2: Patienten mit einer stabilen Nierenfunktion (SF) (Serum-Creatinin \leq 1,6 mg/dl) Allopeptid-Reaktivität nicht erkennbar

Peptide

Synthetisiertes Muster entsprechend der vollen Länge der hypervariablen Regionen der β -Kette von HLA-DRB1*0101 (DR1), *1501 (DR2) und *0301 (DR3)

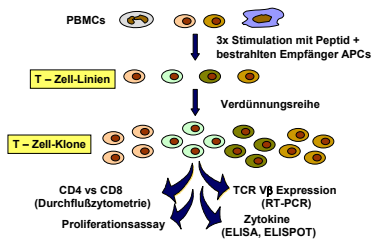
HLA-DRB1 *0101 (Sequenzbereich 6-21, 22-41, 42-62, 63-80, 81-94)

*1501 (Sequenzbereich 1-21, 22-40, 41-60, 61-80, 81-94)

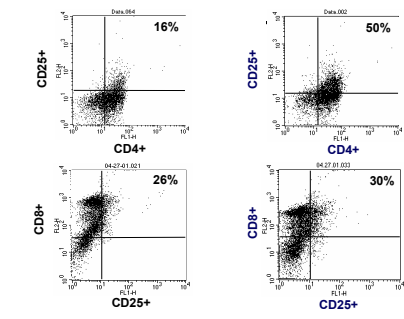
*0401 (Sequenzbereich 1-18, 21-42, 42-62, 62-80)

*0701 (Sequenzbereich 1-18, 20-41, 50-65, 62-82)

Herstellung von humanen Th1- und Th2 Zell-Linien und -Klonen



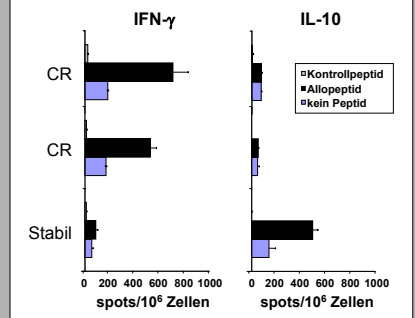
Gruppe 1 (chronische Abstoßung) Gruppe 2 (stabile Funktion)



- T-Zell-Linien aus Patienten mit CR oder mit einer stabilen Nierenfunktion wiesen eine spezifische und signifikante Proliferation gegenüber dem Allopeptid auf

Analyse der Th1- und Th2-Zell-Linien

Enzyme-Linked Immunosorbent Spot Assay (ELISPOT)



ZUSAMMENFASSUNG

- Bei Patienten mit chronischer Abstoßung besteht ein Th1-gerichtetes Zytokinmuster
- Patienten mit **stabiler Nierenfunktion** sind von einem **Th2 Phänotyp** gekennzeichnet
- Dieses Ergebnis scheint **unabhängig vom T Zell-Typ (CD4+ versus CD8+)** und dem aktuellen immunsuppressiven Protokoll (Azathioprin versus MMF) zu sein
- Eine Immunsuppression auf der Basis von MMF scheint jedoch **CD8+ T Zell(sub-)populationen** mit möglichen **Suppressoreigenschaften** zu begünstigen
- Diese Studie bildet damit die Basis zur Entwicklung neuer Strategien zur Induktion von Langzeitakzeptanz nach klinischer Nierentransplantation

- Etablierte T-Zell-Linien aus Patienten mit CR exprimieren IFN- γ (Th1-Zytokin-Profil)
- Zell-Linien aus stabilen Patienten exprimieren IL-10 (Th2-Zytokin-Profil) in Antwort auf spenderabgeleitetes mismatched HLA-DR Allopeptid