



Samenvatting proefschrift D.M. Hullegie-Peelen

“Dynamics of endothelial cells and tissue-resident lymphocytes in the transplanted kidney”

Promotie: 3 juli 2024

Erasmus Universitair Medisch Centrum Rotterdam

Promotor:

Prof. dr. C.C. Baan

Copromotor:

Dr. D.A. Hesselink en Dr. M.J. Hoogduijn

Voor patiënten met eindstadium nierfalen is een niertransplantatie de beste behandeloptie. Deze behandeling heeft grote voordelen vergeleken met dialyse, het enige alternatief. Zo geeft transplantatie een veel betere kwaliteit van leven, omdat patiënten meer vrijheid ervaren, minder dieet restricties hebben en zich veel energiekeker voelen. Ook vergroot een transplantatie de levensverwachting aanzienlijk ten opzichte van dialyse. De gemiddelde levensduur van een niertransplantaat is 10 jaar voor nieren afkomstig van overleden donoren en 25 jaar voor nieren afkomstig van levende donoren. Helaas is er ook een deel van de patiënten waarbij het niertransplantaat wordt afgestoten.

Afstoting van een niertransplantaat wordt veroorzaakt doordat het afweersysteem van de ontvanger het donororgaan als lichaamsvreemd herkent en aanvalt, voornamelijk door verschillen in het eiwit humaan leukocyt antigeen (HLA). Dit HLA eiwit is aanwezig op bijna alle cellen in het menselijk lichaam, inclusief die in het niertransplantaat. Om de kans op een afweerreactie tegen het HLA van het donororgaan te verkleinen, moeten patiënten die een niertransplantaat ontvangen levenslang afweeronderdrukkende medicijnen gebruiken. Ondanks deze medicijnen kan afstoting niet altijd voorkomen worden. Zo ervaart ongeveer 20% van de patiënten een afstoting. Gelukkig kan afstoting in de meeste gevallen effectief behandeld worden met (tijdelijk) extra krachtige afweeronderdrukkende medicijnen, bovenop de standaard onderhoudsbehandeling. Het ervaren van een afstoting, ondanks succesvolle behandeling, verhoogt wel het risico op een verkorte levensduur van zowel het transplantaat als ook van de patiënt. Daarom is het verminderen van het afstotingsrisico en het effectiever behandelen ervan belangrijk.

Bij afstoting van een niertransplantaat spelen verschillende celtypen een rol, zoals afweercellen van de ontvanger en weefselcellen van het donororgaan. Voor de



ontwikkeling van effectievere behandelingen die afstoting tegen gaan is het essentieel om beter te begrijpen hoe diverse celtypen bijdragen aan het afstotingsproces. Dit proefschrift focust op het vergroten van de kennis over twee specifieke celtypen die (vermoedelijk) een rol spelen bij afstoting: Endotheelcellen en een specifiek type afweercellen die in het weefsel zitten, zogeheten weefselresidente lymfocyten. Endotheelcellen, die de binnenkant van bloedvaten in het donororgaan bekleden, vormen de barrière tussen het donor orgaan en de afweercellen uit het bloed van de ontvanger. Weefselresidente lymfocyten zijn unieke afweercellen die, in tegenstelling tot de meeste andere afweercellen, langdurig of zelfs permanent in het orgaanweefsel verblijven.

Ook is het van belang om de behandeling van afstoting beter op de individuele patiënt af te stemmen, in plaats van een algemene "one size fits all" aanpak te hanteren. Dit is met name belangrijk vanwege de potentieel ernstige bijwerkingen van de krachtige afweeronderdrukkende medicijnen die bij de behandeling worden ingezet. Het vermogen om van tevoren te voorspellen welke patiënten wel of geen baat zullen hebben bij een specifieke behandeling kan een aanzienlijke verbetering betekenen in het verminderen van bijwerkingen. Daarom richt dit proefschrift zich als tweede op het ontwikkelen van gepersonaliseerde behandelstrategieën voor afstoting van niertransplantaten, door het ontwikkelen van een voorspellend model.

In **Hoofdstuk 1** worden de complexe afweermechanismen die ten grondslag liggen aan de afstoting van een niertransplantaat geïntroduceerd. Hierbij wordt specifiek ingegaan op de rol van endotheelcellen en weefselresidente lymfocyten in dit afstotingsproces. Ook wordt een overzicht gegeven van de huidige behandelmethoden voor acute afstoting, waarbij het belang van het ontwikkelen van behandelingen op maat voor de individuele patiënt wordt onderstreept.

Hoofdstuk 2 richt zich op de rol van endotheelcellen in niertransplantaten en de beschikbare methoden om deze cellen te onderzoeken. In dit hoofdstuk worden de tekortkomingen van traditionele 2D-laboratoriumonderzoeksmodellen voor het bestuderen van endotheelcellen en hun interactie met afweercellen besproken. Deze traditionele modellen bieden geen accurate weergave van de werkelijke situatie in het lichaam. Zo ontbreekt bijvoorbeeld de glycocalyx, een gelachtige laag die in het lichaam de endotheelcellen beschermt en een barrière vormt voor de interactie met afweercellen. Daarnaast bootsen deze modellen de bloedstroom en druk die op endotheelcellen inwerken niet na, wat resulteert in verschillen in uiterlijk en functie van de cellen. Daarom pleit dit hoofdstuk voor een overgang naar geavanceerdere onderzoeksmodellen. Voorbeelden hiervan zijn 3D-modellen zoals gekweekte mini-organen, zogeheten "organoïden". Deze overstap zal leiden tot significante vooruitgang in het bestuderen van endotheelcellen en hun interactie met afweercellen en kan bijdragen aan de ontwikkeling van effectievere en meer gerichte behandelingen voor afstoting van het niertransplantaat.



In **Hoofdstuk 3** wordt het onderzoek naar endotheelcellen in niertransplantaten voortgezet. Wanneer endotheelcellen van het donororgaan beschadigt raken, kunnen deze vervangen worden door cellen van de ontvanger. Dat leidt tot een mix van donor en ontvanger endotheelcellen in de binnenbekleding van de bloedvaten van het transplantaat. Dit fenomeen wordt endotheelcel chimerisme genoemd. Men denkt dat dit fenomeen de immunogeniciteit van het transplantaat, oftewel het vermogen van het orgaan om een afweerreactie in het lichaam op te wekken, kan verminderen. Dit hoofdstuk bespreekt de beperkingen van eerdere methoden om endotheelcel chimerisme te onderzoeken en introduceert een nieuwe methode, waarmee dit fenomeen kwantitatief bestudeerd kan worden. De effectiviteit van deze nieuwe methode wordt bevestigd door de analyse van 19 monsters van niertransplantaten die vanwege terminale afstoting chirurgisch waren verwijderd. In 11 van deze 19 monsters werd endotheelcel chimerisme vastgesteld. Verder wordt in dit hoofdstuk de relatie tussen de aanwezigheid van endotheelcel chimerisme en verschillende kenmerken van donoren, ontvangers en de transplantaties onderzocht. Opvallend is de positieve correlatie tussen de aanwezigheid van endotheelcel chimerisme en de tijd verstreken sinds de transplantatie tot uitname van het afgestoten transplantaat. Ook wordt een hogere prevalentie van chimerisme waargenomen bij jongere patiënten, wat suggereert dat leeftijdsgebonden factoren een rol kunnen spelen bij het ontstaan ervan. Samenvattend biedt de in dit hoofdstuk ontwikkelde methode een betrouwbare manier om endotheelcel chimerisme te kwantificeren, wat van belang is voor toekomstig onderzoek naar de klinische implicaties ervan in niertransplantatie.

In dit proefschrift wordt ook de rol van weefselresidente lymfocyten in niertransplantaten onderzocht. **Hoofdstuk 4** bouwt voort op eerdere bevindingen die aantonen dat weefselresidente lymfocyten van de donor in het niertransplantaat geleidelijk verdwijnen na transplantatie. Dit is opvallend, aangezien deze cellen normaal gesproken langdurig of zelfs permanent in het weefsel aanwezig blijven. In dit hoofdstuk werd ontdekt dat het verlies van deze donor-afkomstige cellen al vóór de transplantatie begint, namelijk tijdens de machineperfusie van nieren afkomstig van overleden donoren. Deze perfusie is een standaard methode om donororganen te bewaren vanaf het moment van verwijdering uit de overleden donor tot aan de transplantatie. Een opmerkelijke bevinding is de positieve correlatie tussen het verlies van deze cellen en het molecuul E-cadherine. Dit molecuul bevindt zich op de epitheelcellen in de nier en zorgt door te binden aan de weefselresidente lymfocyten dat deze cellen vast blijven zitten in de nier. Het verlies van E-cadherine tijdens de perfusie kan dus mogelijk leiden tot het gelijktijdig verlies van weefselresidente lymfocyten. Ondanks uitgebreid onderzoek werd er geen duidelijke relatie gevonden tussen het verlies van deze weefselresidente lymfocyten en specifieke kenmerken van de donor, markers van weefselschade, perfusie-eigenschappen of uitkomsten na de transplantatie. Daarom blijft de relevantie van het verlies van deze cellen tijdens perfusie voorlopig dus nog onduidelijk.

Hoofdstuk 5 van het proefschrift richt zich op het bestuderen van de verschillende typen weefselresidente lymfocyten die in niertransplantaten voorkomen. Voor deze



uitgebreide analyse zijn diverse geavanceerde technieken gebruikt. De onderzochte monsters zijn afkomstig van niertransplantaten die vanwege ernstige onbehandelbare afstoting chirurgisch verwijderd moesten worden. In deze transplantaten zijn diverse typen weefselresidente lymfocyten aangetroffen, inclusief CD4+ en CD8+ geheugen T-cellen, NK-cellen, NKT-cellen en helper-aangeboren lymfoïde cellen. Opvallend is dat deze cellen zowel van de donor als van de ontvanger afkomstig zijn, wat wijst op chimerisme in al deze cel subtypen.

In het verdere verloop van **Hoofdstuk 5** en in **Hoofdstuk 6** wordt dieper ingegaan op de functies van weefselresidente lymfocyten afkomstig van zowel de donor als de ontvanger in niertransplantaten. Er heerst een algemene hypothese dat weefselresidente lymfocyten van de donor gericht zouden zijn tegen virussen en bacteriën, terwijl die van de ontvanger gericht zouden zijn tegen het niertransplantaat en dus betrokken zijn bij afstoting. In Hoofdstuk 5 wordt de virus-specificiteit onderzocht. Er worden weefselresidente lymfocyten die gericht zijn tegen veelvoorkomende virussen gevonden in niertransplantaten. In tegenstelling tot de gestelde hypothese, blijken deze virus-specifieke cellen zowel van de donor als van de ontvanger afkomstig.

In Hoofdstuk 6 wordt onderzocht of weefselresidente lymfocyten van de ontvanger ook de eigenschap hebben om het donororgaan aan te vallen, bekend als alloreactiviteit. Het blijkt dat lymfocyten met alloreactieve kenmerken, die al voor de transplantatie in het bloed van de ontvanger aanwezig zijn, het niertransplantaat kunnen binnendringen en zich kunnen omvormen tot weefselresidente lymfocyten. Bovendien suggereert deze studie het mogelijke bestaan van autoreactieve, oftewel tegen het eigen lichaam gerichte, weefselresidente lymfocyten. Al deze bevindingen benadrukken samen de diverse rollen van weefselresidente lymfocyten in niertransplantaten, waaronder hun antivirale, alloreactieve en autoreactieve eigenschappen.

Hoofdstuk 7 beschrijft de ontwikkeling van een model om te voorspellen hoe individuele patiënten reageren op behandeling met alemtuzumab bij ernstige acute afstoting van niertransplantaten. Alemtuzumab is een krachtig afweerderdrukkend medicijn dat wordt ingezet bij patiënten met een ernstige afstoting. Dit model, de zogenoemde ALEmtuzumab voor Acute Rejection (ALEMAR)-score, is ontwikkeld op basis van een studie met 115 patiënten die ernstige acute afstoting van hun niertransplantaat ondervonden. Van deze groep reageerden 84 patiënten (72%) goed op de alemtuzumab behandeling. Een goede respons wil zeggen dat de nierfunctie van deze patiënten aanzienlijk verbeterde na de alemtuzumab behandeling. De ALEMAR-score bleek effectief in het voorspellen van de respons op de behandeling door gebruik te maken van een combinatie van diverse patiënt- en transplantaatkenmerken. Daarnaast onderzoekt dit hoofdstuk de meerwaarde van genexpressieanalyse voor het verder verfijnen van de voorspellingen van de behandeling met alemtuzumab. Met een genexpressie analyse kunnen stukjes DNA afgelezen worden, wat informatie kan geven over de type cellen en hun functie in het niertransplantaat. Deze genexpressie analyse toonde vooral verschillen in genen gerelateerd aan een specifiek type afweercel, namelijk de B-cel, tussen patiënten die



wel en niet reageerden op de behandeling. Door een selectie van deze B-cel gerelateerde genen toe te voegen aan de ALEMAR-score kon de nauwkeurigheid van de voorspellingen verbeterd worden. De ontwikkeling van dit voorspellend model is een belangrijke stap naar op maat gemaakte en effectievere behandelstrategieën voor acute afstoting van niertransplantaten. Hoewel dit model veelbelovend is, benadrukt het hoofdstuk ook de noodzaak van verdere validatie om de betrouwbaarheid en effectiviteit van het model voor gebruik in de klinische praktijk te bevestigen.

Concluderend biedt dit proefschrift vernieuwende inzichten in de eigenschappen van endotheelcellen en weefselresidente lymfocyten in niertransplantaten, vooral in relatie tot transplantaatafstoting. Het onderzoek toont aan dat chimerisme, een mix van donor- en ontvangercellen, niet alleen voorkomt in endotheelcellen maar ook in diverse soorten weefselresidente lymfocyten in getransplanteerde nieren. Bovendien werd ontdekt dat deze weefselresidente lymfocyten in niertransplantaten diverse functionele eigenschappen hebben. Daarnaast is een belangrijke stap gezet in de richting van gepersonaliseerde behandelstrategieën voor patiënten met een niertransplantaat die een acute afstoting ervaren. Samengevat kunnen deze bevindingen bijdragen aan het ontwikkelen van effectievere behandelmethoden voor afstoting, en zo uiteindelijk het lange termijn succes van niertransplantaties verbeteren.