



Samenvatting proefschrift H. Tejada Mora

“On the Role of Non-Parenchymal Cells in Kidney Transplantation”

Promotie: 27 november 2024
Erasmus MC Rotterdam

Promotors:

Prof. dr. C.C. Baan

Prof. dr. L.J.W. van der Laan

Co-promotors:

Dr. M.J. Hoogduijn

Dr. R.C. Minnee

Niertransplantatie is een medische procedure waarbij een gezonde nier van een donor wordt getransplanteerd in een patiënt met ernstig verstoorde nierfunctie. Dit is vaak een levensreddende operatie voor personen met eindstadium nierfalen. Deze nieuwe getransplanteerde nier neemt het verwijderen van afvalstoffen uit het bloed over van de aangetaste nieren van de patiënt. Niertransplantatie patiënten moeten hun verdere leven afweeronderdrukkende medicijnen gebruiken om afstoting van hun getransplanteerde orgaan te voorkomen. Desondanks is afstoting een veel voorkomende complicatie. In veel gevallen is een afstoting te behandelen met extra afweer onderdrukkende middelen, maar in sommige gevallen leidt het tot verlies van het transplantaat. Om te achterhalen hoe afstoting precies werkt wordt er onderzoek gedaan naar de cellen die betrokken zijn bij afstoting. Daarnaast wordt er onderzocht welke typen cellen een rol spelen bij het herstel van het orgaan na afstoting.

Dit proefschrift heeft als doel om de invloed van endotheelcellen (EC) en tissue-resident memory (TRM) T-cellen op de uitkomst van niertransplantatie te onderzoeken. Daarnaast wordt onderzocht hoe mesenchymale stromale cellen (MSC), en in het bijzonder membraandeeltjes (MP) afkomstig van deze cellen, kunnen worden ingezet om afstoting te voorkomen.

Hoofdstuk 1 van dit proefschrift geeft een algemene introductie over de oorzaken van afstoting van een transplantaat. Daarnaast geeft het een overzicht van de mogelijke rollen die EC en TRM T-cellen kunnen spelen bij het verkleinen van de kans op afstoting en daarmee de levensduur van het transplantaat kunnen verlengen. Als laatste beschrijft het de verschillende potentiële mogelijkheden om MP in te zetten ter preventie van afstoting.

De daaropvolgende hoofdstukken van dit proefschrift zijn onderverdeeld in drie delen. Het eerste deel, bestaande uit **Hoofdstuk 2-4**, beschrijft de rol van EC rondom niertransplantaties. EC bekleden de bloedvaten in ons lichaam. Een van de belangrijkste functies van de nier is het filteren van afvalstoffen uit bloedvaten en het gevolg hiervan is dat de nier een uitgebreid bloedvaten stelsel heeft. Afstoting kan plaatsvinden doordat het immuunsysteem van de ontvanger de EC van de donor, aanwezig in bloedvaten van het transplantaat, herkent als vreemde cellen en gaat aanvallen. Om deze reactie te voorkomen wordt in **Hoofdstuk 2** een model getest, waarbij alle EC van de donor eerst worden



verwijderd (decellularisatie) en vervolgens opnieuw worden bekleed met EC van de ontvanger (recellularisatie) waardoor deze niet meer herkent worden door het immuunsysteem. Dit model heeft laten zien dat het inderdaad mogelijk is om een functioneel bloedvat weefsel te creëren met EC van de ontvanger zelf. Door de bloedvaten te bekleden met cellen van de ontvanger, is de kans op afstoting veel minder groot. Daarbij is met hetzelfde model aangetoond dat reparatie van het bloedvat na schade ook mogelijk is. Dit model kan in de toekomst gebruikt worden voor complexere experimenten met meer verschillende celtypen.

Doorgaand op dit concept wordt in **Hoofdstuk 3** dieper ingegaan op de vraag of circulerende EC in het bloed van de ontvanger gebruikt kunnen worden als indicatoren van schade aan het transplantaat op basis van hun kwantiteit en type markers op hun celoppervlak. Allereerst wordt aangetoond dat in organen kort voordat ze getransplanteerd worden in de donor een verhoogd aantal EC losraken. Vervolgens wordt een verhoogd aantal circulerende EC gemeten in de ontvanger kort na transplantatie. Deze toename wordt mogelijk veroorzaakt door schade aan het orgaan dat toegebracht is door de transplantatie procedure zelf. De gemeten EC zijn afkomstig van zowel de donor als de ontvanger van het orgaan. Ondanks dat een afstotingsreactie het aantal EC niet lijkt te beïnvloeden, is er een trend naar de toename in expressie van een specifieke marker, de nierletselmarker (KIM-1). Op basis hiervan kan geconcludeerd worden dat circulerende EC voor een deel gebruikt kunnen worden als maat voor de vitaliteit van het transplantaat. Dit concept kan verder uitgebreid worden door alle aanwezige markers op het EC-oppervlak te kaart te brengen en vervolgens markers te identificeren die de mate van schade en herstel van het orgaan kunnen voorspellen.

Om EC uit de nier in meer detail te kunnen bestuderen, zijn er nier modellen nodig die zo goed mogelijk de functie van een echte menselijke nier nabootsen. Het best beschikbare model hiervoor is een nier organoïde. Een nier organoïde is een miniatuur model van een nier van een aantal millimeters groot. **Hoofdstuk 4** focust zich op de kwaliteit van EC in nier organoïden in vergelijking met EC van foetale en volwassene nieren. Hiervoor hebben we beschikbare datasets gebruikt om de verschillende stadia van uitrijping van EC te bestuderen. De uitrijping van EC wordt onder andere beïnvloed door de stroming van het bloed. In zowel een foetale nier als een volwassen nier is bloedstroming is altijd aanwezig. In een nier organoïde is dit niet het geval wanneer ze gekweekt worden in het laboratorium, maar wel het geval wanneer een nier organoïde is getransplanteerd in bijvoorbeeld een muis. **Hoofdstuk 4** toont aan dat EC van nier organoïden die getransplanteerd zijn in muizen, en dus zijn blootgesteld aan bloedstroming, meer overeenkomsten hebben met EC van foetale en volwassen nieren. Hieruit kan geconcludeerd worden dat bloedstroming noodzakelijk is om de functie van ECs van nier organoïden in het laboratorium te verbeteren. Hierdoor kan een meer realistisch nier model gecreëerd worden.

De tweede sectie van het proefschrift richt zich op tissue-resident memory (TRM) T-cellen. In tegenstelling tot T cellen in het bloed, zitten deze T cellen in organen. Deze cellen spelen een rol in immuunresponsen door het kunnen herkennen en aanvallen van een pathogeen in het orgaan. In **Hoofdstuk 5** en **Hoofdstuk 6** hebben we de moleculen aanwezig op TRM T-cellen in kaart gebracht die een rol spelen bij het herkennen pathogenen. In **Hoofdstuk 5** geeft een overzicht van TRM T-cellen in afgestoten nieren. Er werden zowel TRM T-cellen van de donor als TRM T-cellen van de ontvanger geïdentificeerd in deze afgestoten nieren. Met name waren er veel TRM-cellen aanwezig die veel voorkomende virale pathogenen kunnen herkennen en aanvallen, maar daarnaast hebben we ook TRM T-cellen van de ontvanger geïdentificeerd die betrokken zijn bij afstoting van de getransplanteerde nier (allo-reactieve eigenschap).



In **Hoofdstuk 6** hebben we rol van TRM-cellen bij een afstotingsreactie in meer detail bestudeerd. In dit hoofdstuk wordt aangetoond dat inactieve T-cellen aanwezig in het bloed van de ontvanger vóór de transplantatie, het transplantaat kunnen infiltreren en kunnen transformeren tot een actieve TRM-cel, betrokken bij afstotingreactie ná de transplantatie. Deze resultaten benadrukken de mogelijke rollen van TRM-cellen in een niertransplantaat, bij zowel antivirale als afstotingsreacties. Samen zetten deze hoofdstukken aan tot een heroverweging of onderdrukking van TRM-cellen noodzakelijk is om afstoting van het transplantaat te voorkomen met als gevolg de antivirale functie van TRM-cellen te verliezen.

Het laatste deel van deze thesis is gefocust op een ander celtype, de mesenchymale stromale cellen (MSC). In de natuurlijke situatie produceren mesenchymale stromale cellen zogeheten extracellulaire vesikels, een soort celblaasjes gevuld met eiwitten, die mogelijk helpen in het herstel-proces na transplantatie. In **Hoofdstuk 7** vergelijken we de inhoud van deze celblaasjes met de inhoud van membraandeeltjes (MP) die in grote hoeveelheden het lab gemaakt kunnen worden vanuit MSC. Naast de celblaasjes, kunnen MP mogelijk ook een rol spelen in de immuunreactie en daarbij helpen in het schade-herstel proces van een getransplanteerde nier. In deze studie wordt aangetoond dat dat MP rijker zijn aan eiwitten dan de celblaasjes. Bovendien werd aangetoond dat de inhoud van MP beïnvloed kan worden door de MSC-kweekomstandigheden in het laboratorium. Dit biedt de mogelijkheid om MP te genereren met een selectie van eiwitten die specifiek betrokken zijn bij het herstelproces.

In **Hoofdstuk 8** hebben we de genereerde MP geïnjecteerd in muizen om hun verdeling in het lichaam te bekijken. Analyse van de verschillende organen en weefsel van de muizen toonden aan dat de meeste MP zich 1 uur na injectie met name in het bloed bevonden ingekapseld door witte bloedcellen. Na 24 uur werden de meeste MP aangetroffen in de lever. Dit suggereert dat MP kunnen circuleren door het gehele lichaam, en niet vast komen te zitten in de longen, wat het geval is na het injecteren van intacte MSC.

Over het geheel genomen streeft dit proefschrift ernaar om nieuwe manieren te vinden om het succes van niertransplantaties te verbeteren door te onderzoeken hoe cellen betrokken bij de afweer response en het herstel proces kunnen helpen bij het behouden en beschermen van een getransplanteerd orgaan. Door gebruik te maken van geavanceerde methoden en innovatieve benaderingen zijn nieuwe inzichten verkregen in de cellulaire processen rondom niertransplantatie. De verkregen bevindingen bieden een basis voor verdere studies om het begrip van de verschillende reacties betrokken bij niertransplantatie en kans op afstoting beter te begrijpen.