

# A szervtranszplantációt követő gyógyszeres kezelés újabb lehetőségei

Pócze Balázs dr.<sup>1</sup> ■ Németh Péter dr.<sup>2</sup> ■ Langer Róbert dr.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Transzplantációs és Sebészeti Klinika, Budapest

<sup>2</sup>Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Immunológiai és Biotechnológiai Intézet, Pécs

A szervtranszplantáció ötvenéves történetében az immunuszuppresszív terápia fejlődésének köszönhetően egyre jobb szerv- és betegtúlélési eredményekről számoltak be világszerte, azonban a bázisgyógyszereknek minősülő kalcineurin inhibitorok káros mellékhatásait, elsősorban a nephrotoxicitást mellőző vegyületek kifejlesztése csak az elmúlt két évtizedben zajlott. A gazdaszervezet számára idegennek minősülő implantált szerv a recipiensből komplex immunválaszt vált ki. A dolgozatban az immunválasz vázlatos áttekintését követően a szerzők bemutatják az új, eltérő támadáspontokon ható gyógyszereket. Ezek vagy már gyakorlati alkalmazásban lévő, vagy rövid időn belül esetlegesen forgalomba kerülő vegyületek, amelyek távlati lehetőségeket nyújtanak a kalcineurin inhibitorok leváltására. Kiemelt hangsúlyt kap a kostimulációs blokádon keresztül ható belatacept és az elmúlt években egyre nagyobb kutatási teret nyerő toleranciaindukció, mint jövőbeli lehetőség. *Orv. Hetil.*, 2012, 153, 1294–1301.

**Kulcsszavak:** szervátültetés, immunuszuppresszió, kalcineurin inhibitor, kostimulációs blokáde, toleranciaindukció

## Recent options in drug therapy after solid organ transplantation

Solid organ transplantation has shown improvement in patient and graft survival rates due to the development of immunosuppression in the last fifty years; however only the last two decades led to the development of new, baseline immunosuppressive drugs that avoid the unlikely side effects of calcineurin inhibitors, especially nephrotoxicity. The transplanted organ is foreign to the host and, therefore, it induces a complex immune response of the recipient. In this review, a brief outline of immune response is given, followed by the introduction of new immunosuppressive drugs acting via variant pathways. These are compounds which are already in use or becoming shortly available and are potential future alternatives for the calcineurin inhibitors. This paper highlights the role of co-stimulation blockade with belatacept and the recently even more intensively studied field of tolerance induction. *Orv. Hetil.*, 2012, 153, 1294–1301.

**Keywords:** organ transplantation, immunosuppression, calcineurin inhibitor, co-stimulation blockade, tolerance induction

(Beérkezett: 2012. február 12.; elfogadva: 2012. június 17.)

### Rövidítések

APC = (antigen presenting cell) antigén-bemutató sejt; BKV = BK-vírus; CD = (cluster of differentiation) sejtfelszíni fehérjék jelölése; CMV = cytomegalovírus; CNI = kalcineurin inhibitor; CTLA4 = citotoxikus T-lymphocyt-antigén-4; DC = dendritikus sejt; EBV = Epstein-Barr-vírus; FDA = Food and Drug Administration; FKBP12 = (FK-binding protein 12) FK-kötő fehérje 12; FOXP3 = forkhead borsz p3, egyike a transzkripció regulátor fehérjéknek;  $\gamma$ -IFN = gamma-interferon; GVH = graft versus host; HUS = hemolitikus urémiás szindróma;IDO = indolamin-2,3-dioxigenáz; IL = interleu-

kin; IL-2R = interleukin-2-receptor; JAK3 = Janus activated kinase 3, citokinreceptorokhoz kötődő tirozinkinázok egyike; LFA-1 = limfocytafunkció-asszociált antigén-1; ICAM-1 = intracelluláris adhéziós molekula-1; MHC = erős hisztokompatibilitási antigén; mTOR = mammalian target of rapamycin, rapamicin célfehérje; NK-sejtek = (natural killer) természetes ölősejtek; PML = progresszív multifokális leukoencephalopathia; PTLD = poszttranszplantációs lymphoproliferatív megbetegedések; RA = rheumatoid arthritis, reumás ízületi gyulladás; TCR = T-sejt-receptor; TNF = tumornekrózis-faktor; T-reg = regulátor T-sejt

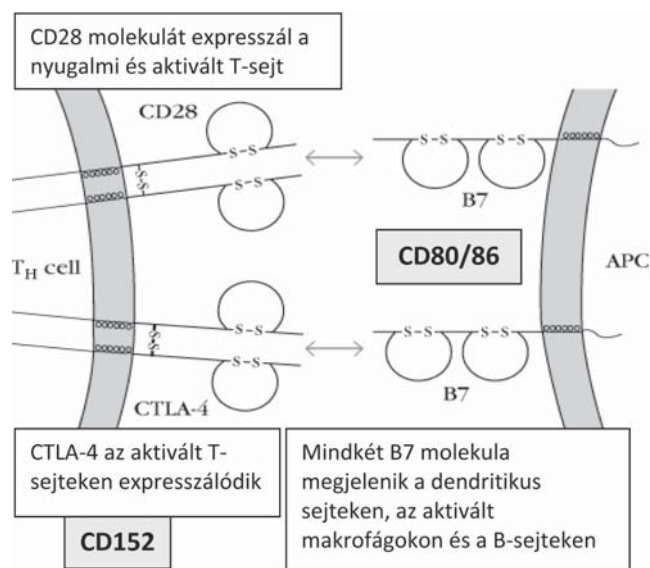
A szolid szervek transzplantációját kísérő immun-suppressziós kezelés immáron ötvenéves története során az első két évtized egyetlen elérhető, fenntartó terápiája a szteroid-azatioprin kombináció volt. Az 1980-as években megjelentek a kalcineurin inhibitorok (CNI): a ciklosporin, illetve az azt követő takrolimusz. A CNI-k a szteroiddal és az azatioprint követő mikofenoláttal kettős vagy hármas kombinációban adva forradalmasították a szolid szervek átültetését, és a transzplantációs centrumok világszerte javuló eredményeket közöltek a kilökődés gyógyszeres megelőzésében. A CNI-k ismert nephrotoxicitása azonban progresszív vesefunkció-romláshoz vezet. Ezzel nemcsak a transzplantált vese életidejét befolyásolják, hanem egyéb szervek transzplantációját követően is, hosszú távon számolni kell a CNI okozta vesekárosodással. Mivel a szervtranszplantációk jelentős hányadát a veseátültetés adja, az új immun-suppresszív gyógyszerek kifejlesztésekor döntő szempont ennek a nem kívánt hatásnak a kiküszöbölése.

### Immunológiai háttér

A beültetett szerv túlélése nagymértékben függ attól, hogy vele szemben a gazdaszervezet immunrendszere inkább toleranciát mutat vagy támadó immunválaszt indít-e el. Alapvető ebben a folyamatban, hogy a recipiens szervezet antigén-bemutató sejtjei (APC) – elsősorban a dendritikus sejt (DC), makrofágok és B-lymphocyták – mikor és milyen mértékben lépnek a beültetett szövetekkel kapcsolatba. Lényeges szempont a graft biológiai állapotának kérdése is, ugyanis a műtéti revascularisatio során a recipiens szervezetéből érkező antigén-bemutató sejtek, az érfalsérülések és az elhalt sejtekből felszabaduló szöveti mediátorok azonnal elindítják az immunválaszt. A graft elleni immunválasz további sorsát a perifériás nyirokcsomókban az APC-k és a T-sejtek között létrejövő kölcsönhatások statisztikai gyakorisága és effektivitása határozza meg. A transzplantáció alatt adott indukciós szerek, mint a nagy dóziszú szteroid vagy az anti-CD3 ellenanyag, éppen a T-sejtek számának drasztikus csökkentésével képes – átmenetileg – mérsékelni a graft elleni T-sejtes reakciót.

A T-sejtek kaszkádszerű aktivációjához három fő jelátviteli mechanizmus együttese szükséges. Az elsődleges szignál az MHC II–T-sejt-receptor (TCR) kapcsolat (1.), ennek elengedhetetlen egyidejű kísérője a CD80/CD86–CD28 kostimuláció (2.) és az IL-2 citokin által az IL-2 receptoron (IL-2R) keresztül indukált intracelluláris folyamatok (3.).

1. Az antigén-bemutató sejt MHC (erős hisztokompatibilitási antigén, emberben a HLA) általi antigén felismerését, illetve a TCR-en keresztüli felismerést a recipiens immungenetikai haplotípusa határozza meg. Jelenleg még érdemben nem tudjuk a folyamatnak ezt a kétségtelenül kulcsfontosságú lépését befolyásolni. Tudjuk azonban a transzplantált szerv által a recipiensben kiváltott alloimmunválasz elsődleges kulcsmozza-



1. ábra

A fenti vázlatos ábra felső részén a kostimuláció aktiválási fázisát jelentő CD28 és a CD80/86, illetve a már aktiválódott T-lymphocytákon megjelenő, szuppresszor hatású, CD152- (korábbi elnevezése CTLA-4 = citotoxikus T-sejt-asszociált antigén-4) kapcsolódást mutatja be

natát: a donor szervvel érkező dendritikus sejtek *direkt*, és a recipiens saját DC-sejtjei által mediált *indirekt* válasz során a DC-k felszíni MHC II molekuláihoz a CD4+ (helper) T-sejtek TCR-rel kapcsolódnak.

2. Az APC-k és a T-sejtek kölcsönhatásának további, hosszú távon meghatározó eleme a *kostimuláció* mértéke. A két sejt közti kölcsönhatás ugyanis csak akkor indít el egy támadó jellegű immunválaszt, ha a TCR- és MHC II- (valamint a CD4-) kapcsolódás mellett a CD28 és a CD80/86 (korábbi elnevezéssel B7-1, B7-2) ligandpár kapcsolódása is kialakul, és sikeresen indít el jelátviteli folyamatokat a T-sejtben. Ezt a folyamatot nevezzük kostimulációnak (1. ábra). Az antigén-bemutató sejtek által expresszált CD80/86 és a T-sejtek felszínén folyamatosan jelen levő CD28-kapcsolódás indítja el azokat a jelátviteli utakat, amelyek eredményeként az IL-2-termelés, valamint az IL-2-receptor-expresszió fokozásán keresztül további T-lymphocyták aktiválása is elindul [1]. A T-sejt-aktiválódás beindítja az ön-maga leállítását kiváltó mechanizmusokat is. A CD152 (CTLA-4) fehérje az aktivált T-lymphocyták felszínén expresszáldódik. Affinitása a CD80/86 ligandhoz nagyobb, mint a CD28-é, így a kapcsolódás sokkal erősebb, az immunválasz előrehaladtával dominálóvá válik. A CD152 szerepe a T-sejt-aktiváció gátlása, amely két módon érvényesül. Egyrészt, míg a CD28 receptor aktivációs, addig a CD152 receptor inhibíciós szignált közvetít. Másrészt, ahogy a CD152 az aktivált T-sejtek felszínén egyre nagyobb számban expresszáldódik, úgy kompetitív antagonistaként lép fel a CD28 mellett.

3. Az *IL-2* az egyik kulcsfontosságú citokin, az *IL-2/IL-2R* interakció stimulálja az antigén-specifikus cytotoxicus T-sejtek növekedését, differenciálódását és életidejét. Az immunrendszer egyik jellegzetessége az immunológiai memória, amelyben az *IL-2* szintén szerepet játszik, a specifikus memória-T-sejt-vonalak (klónok) számának és működésének kiterjesztésével. Az *IL-2* szükséges továbbá a csecsemőmirigyben a reguláló T-sejtek (T-reg) érésében is. Ezek a sejtek a „saját” sejteket védik a többi T-sejt támadó mechanizmusától, tehát az autoimmun reakciótól. Az *IL-2* funkciója még, hogy az *IL-15*-höz hasonlóan a B-sejtek immunoglobulin-termelését facilitálja és a természetes ölősejtek (NK-sejtek) differenciálódását és proliferációját indukálja. Az *IL-2* és *IL-15* között a különbség elsősorban a szerzett immunválaszban van. Az *IL-15* szükséges a specifikus T-sejt-válaszok fenntartásában azáltal, hogy a CD8+ memória-T-sejtek fennmaradásához szükséges.

A 2. ábrán vázoljuk azokat a T-sejtben lezajló komplex folyamatokat, amelyek az immunregulációban szerepet játszanak. Látható, hogy az immunszuppresszió számos támadásponton elképzelhető, ugyanakkor egyelőre gyakorlati jelentősége csak néhány csatlakozási pontnak van. A jelenleg alkalmazott immunszuppresszív gyógyszerek közül a *szteroidok* gátolják a citokinek, adhéziós molekulák és a NO-szintetáz génjeinek transzkripcióját, emellett blokkolják a humorális immunitást, így a B-sejtek *IL-2*-termelését és az *IL-2*-receptorok termelését is. A szteroid mellett a fenntartó immunszuppressziós kezelés másik törzsgyógyszere a purinszintézis gátlásán keresztül ható *mikofenolát*. A T-sejt-aktiváció gátlásán keresztül intracellulárisan ható gyógyszerek legjelentősebb csoportjai a *kalcineurin inhibitorok* és az *mTOR-gátlók*. A CNI-k a legelterjedtebb immunszuppresszáns vegyületek közé tartoznak, a *ciklosporin* 1983 óta törzskönyvezett, és azóta is a legszélesebb körben alkalmazott immunszuppresszív gyógyszer. A T-sejtek citoszoljában a ciklofilin fehérjéhez kötődve komplexet képez, amely komplex a kalcineurin fehérjét gátolja. A kalcineurin az *IL-2*-transzkripciót aktiválja normális esetben. A ciklosporin emellett gátolja a citokintermelést és interleukin felszabadulást. Így összességében az effektor T-sejtek funkcióját gátolja, de nem hat a citosztatikus tevékenységre. A *takrolimusz* egy makrolidmolekula, hatásmechanizmusa hasonló a ciklosporinéhoz. Egy komplexet képezve az FK-binding protein 12-vel (FKBP12) kalcineuringátló hatású, így az *IL-2*-kibocsátást blokkolja.

Az immunreguláció alaposabb megismerése feltétele volt, hogy a CNI-alapú immunszuppressziót egy több támadásponton ható, kombinált stratégia váltsa fel, amely lehetővé teszi a transzplantált egyén aktuális állapotának megfelelő, individuális gyógyszeres kezelését és a nem kívánt mellékhatások csökkentését. Az *mTOR*-gátló gyógyszerek kifejlesztése nyitott kaput a standard gyógyszeres protokollok átírása felé.

## Az mTOR-inhibitorok

1996-tól kezelünk betegeket szirolimusszal, amely az everolimusszal együtt az úgynevezett *mTOR*- („mammalian target of rapamycine”) inhibitorcsoportba tartoznak. A kalcineurin inhibitoroktól abban különböznek, hogy a kostimulációs út gátlásán keresztül is módosítják az immunválaszt. Az *mTOR*-gátlók megjelenésével a paletta bővült, a farmakokinetikai különbségek, az eltérő mellékhatásspektrum és a daganatokra kifejtett hatások lehetővé tették többféle kettes és hármas kombinációjú terápia kialakítását. Az *mTOR*-inhibitorok alkalmazásával vált lehetővé minimális szteroidtartalmú, sőt szteroidmentes immunszuppressziós protokollok kidolgozása is [2, 3].

A *Rapamicin* (*Szirolimusz*) egy makrolidmolekula, amelyet 1999-ben szabadalmaztattak. Míg a takrolimusz az *IL-2*-termelést blokkolja, a szirolimusz az *IL-2*-re adott választ blokkolja, és ezzel a T- és B-sejt-aktivációt. Ezzel egyidejűleg az alloimmun toleranciáért felelős T-reg (FoxP3+) -sejtek kialakulását és funkcióját is erősíti [4, 5]. A citoszolban a takrolimusz és az ahhoz kötődő FKBP12 alkotta komplex a kalcineurinnal, míg a szirolimus-FKBP12 komplex az *mTOR*-ral képez komplexet. A rapamicin elsődleges előnye a CNI-kkel szemben a vesetoxicitás hiánya, különös jelentőségű ez a hemolitikus urémiás szindróma (HUS) miatt vesetranszplantált beteg esetében. A rapamicin bevezetése lehetővé teszi a szteroid- vagy CNI-mentes, valamint a korai és késői konverziós gyógyszeres protokollok [2, 3] felállítását. Több publikáció igazolja az *mTOR*-inhibitorok tumorellenes [6] hatását. Elterjedt gyakorlat transzplantált betegeknél kialakult igazolt malignus betegség esetén a CNI-ről *mTOR*-inhibitorra történő gyógyszeres konverzió. A szirolimusz antiproliferatív hatását használják ki a gyógyszerkibocsátó coronariastenteknél, vagy például Bourneville-szindróma (sclerosis tuberosa) kezelésében is. Főbb mellékhatásai között szerepelnek a sebgyógyulási zavarok, ezért sokszor megkérdőjelezzik a közvetlenül transzplantáció után beállított *mTOR*-inhibitor célszerűségét. Alkalmazása esetén *Pneumocystis carinii* profilaxis elengedhetetlen.

Az *Everolimusz* (RAD-001), a szirolimuszhoz hasonlóan, az *mTOR*-komplexeen keresztül fejti ki hatását. 2010 áprilisa óta engedélyezett a rejekciómegelőző használata, CNI-vel kombinálva, korai konverzió esetén [7], és CNI-mentes protokoll alkalmazása esetén is hatékony rejekció prevenciót értek el. A transzplantáltak de novo malignus elváltozásai esetén a terápia részeként különös hangsúllyal nyerhet teret [8]. Emellett fázis II–III vizsgálatok zajlanak számos rákos megbetegedés (például mell-, gyomor-, máj-, nyirokrák) kezelésében való esetleges felhasználásához is.

A *Tofacitinib/Tazocitinib* (CP-690550) egy szintetikus Janus activated kinase 3 (JAK3-) specifikus inhibitor, amely alacsony dózisban is nagy erősséggel kötődik a JAK3-hoz, ezzel gátolva az *IL-2* mediálta



lymphocytaproliferációt. Tofacitinib fázis III vizsgálatai zajlanak reumás ízületi gyulladás (RA) kezelésében, a kutatási eredmények rejekciómegelőzés terén is ígéretesek. Legfőbb mellékhatása az anémia, és a fokozott vírusinfekciós fogékonyág (BKV, CMV). Klinikai kipróbálása előtt további kutatások szükségesek [9, 10].

## A kostimuláció gátlásán keresztül ható immunszuppresszánsok

A fent bemutatott gyógyszerektől merőben eltérő hatásmechanizmussal működő, extracellulárisan ható gyógyszer-csoport a *kostimulációblokkolók* csoportja. Több kostimulációs út is ismert, ezek mechanizmusa és funkciója változó, de mindig az APC és T-sejt közötti interakció zajlik. A leginkább fókuszban lévő kostimulációs út a CD28–CD80/CD86 kölcsönhatás. Amint a kostimuláció végbemegegy, a T-sejtek CTLA-4 (CD152) molekulákat expresszálnak. A CTLA-4 a CD28-cal ellentétben a T-sejt-proliferációt gyengíti, így a kostimuláció pozitív és negatív irányba is befolyásolhatja a T-sejt-proliferációt [11].

Ha a kostimuláció végbemegegy, T-sejt-specifikus választ vált ki, aktivációt, proliferációt és differenciálódást. A kostimulációra ható gyógyszerek elméleti alapjai az 1980-as években ismertek voltak. A kostimulációs utak legtöbbször gyakorlati jelentősége még kérdéses, de a kezdeti kutatási nehézségek után ígéretesek lehetnek a jövőben, mint CNI-eket kiváltó gyógyszerek alapjai. A CD28–CD80/CD86, az OX40–OX40L (CD134), a CD154–CD40 és a LFA-1–ICAM-1 útvonalakat és az ezekhez kapcsolódó lehetőségeket ismertetjük [1].

*CD-28-blokkád: abatacept, belatacept:* A CD28–CD80/CD86 kostimuláció a közeljövőben leginkább kiaknázható bioterápiás lehetőség. Az abatacept és a belatacept kifejlesztése egy olyan molekuláris biológiai konstrukció létrehozásán alapult, amely egy immunoglobulin-szerű molekulavázra két CD152 molekulát kapcsolt és expresszálatott emlősejtben. 2006-ban az Amerikai Egyesült Államokban, majd egy évvel később Európában is az abatacept elfogadásra került az RA kezelésében [12]. Ezzel párhuzamosan zajló kutatások eredményeképpen a belatacept 2011-ben elfogadásra került az Amerikai Egyesült Államokban [13].

A belatacept (LEA29Y) az abatacept egy második generációs variánsa két aminosav-különbséggel, ezzel az aprócska változtatással egy sokkal affinisabb molekula alakult ki. Egy szolúbilis fúziós protein, amely tartalmazza a humán CTLA-4 extracelluláris doménját és egy módosított humán IgG Fc doménját. A belatacept szelektíven a CD28–CD80/CD86 interakciót blokkolja, CD80-hoz tizedakkora koncentrációban már kötődik, de értékelhető biológiai hatást csak akkor vált ki, ha adott a CD86-kötődéshez szükséges koncentráció [14, 15].

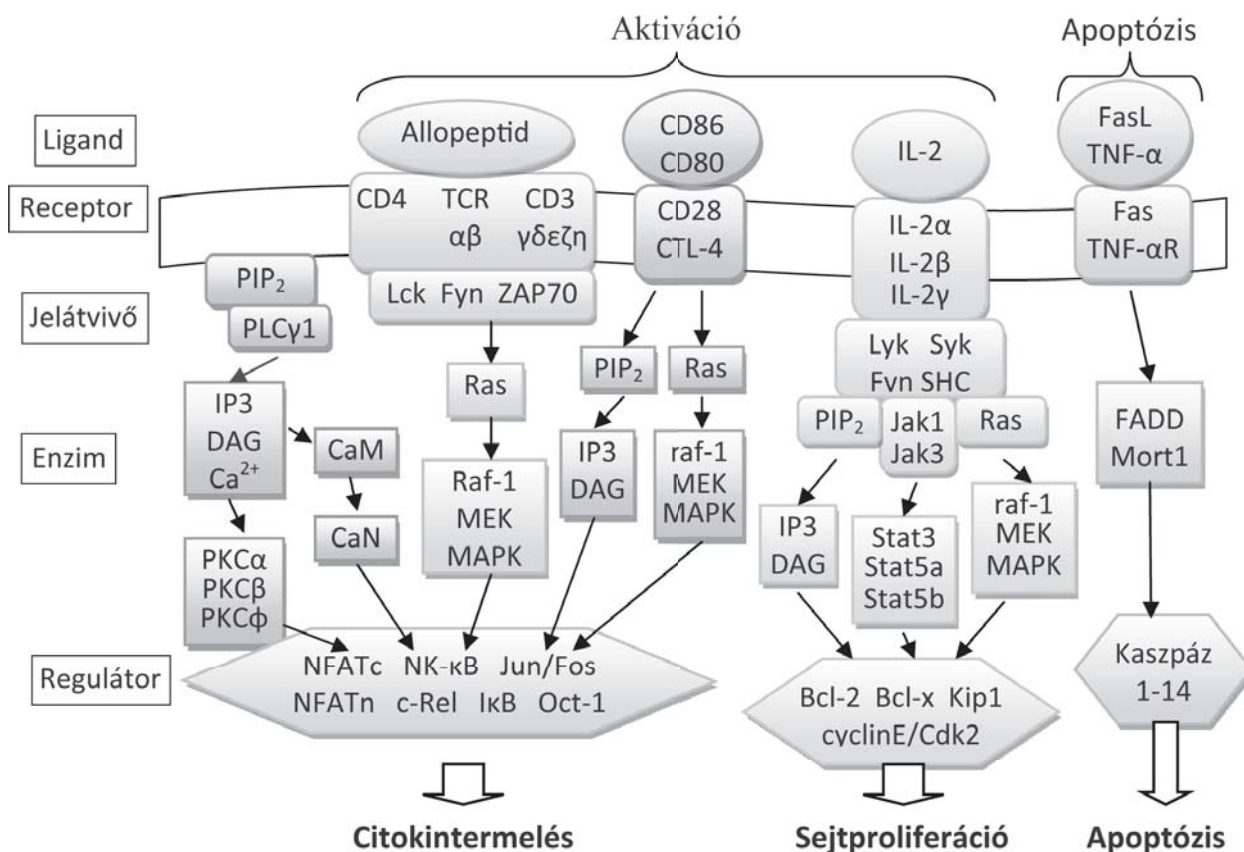
A fázis II–III vizsgálatok során CNI-vel történő összehasonlításban a belatacept hasonló arányokat mutatott

egyéves betegtúlélési mutatókban. A belatacept kifejlesztésében elsődleges cél a nephrotoxicitás kiküszöbölése volt, a cardiovascularis és metabolikus (elsősorban diabetogen) mellékhatások csökkentése az akut rejekciók megelőzése mellett. Tizenkét hónappal a vesetranszplantáció után vizsgálva a belatacepttel kezelt betegeket, a kreatinin clearance és vérnyomásértékek tekintetében szignifikánsan jobb eredmények születtek a kontrollcsoporttal, azaz a kalcineurin inhibitor tartalmazó kezeltekkel szemben, továbbá 50%-kal alacsonyabb arányban alakult ki cukorháztartási zavar is [15, 16, 17]. Hasonló eredményeket a két éves prospektív vizsgálatok is mutattak [18, 19]. A vizsgálatok során CNI-vel történt összehasonlításban a belatacept esetében nagyobb arányban észleltek akut rejekciót. Összességében azonban hatékony rejekció megelőzést jelentett a belatacept, és a vesefunkciók alapján a belataceptcsoport kedvezőbb eredményeket mutatott [17, 19].

A belatacepttel kapcsolatos legfőbb aggályok a központi idegrendszeri érintettséggel járó elváltozások (például: progresszív multifokális leukoencephalopathia, PML) és a poszttranszplantációs lymphoproliferatív megbetegedések (PTLD) nagyobb előfordulási aránya miatt merülnek fel. Összességében kisebb rizikót jelentett a klinikai vizsgálatban a nagyobb arányú PTLT előfordulása, mint a vesetoxicitás, cardiovascularis és diabetogen mellékhatások összessége. A PTLT és PML kialakulása kivédhető az EBV-szeronegatív betegek kizárásával, mert az EBV-re nem immunizált betegekben a PTLT előfordulása jóval nagyobbak bizonyult [15, 18, 19].

Két további említendő előnye van a belataceptnek. Az egyik, hogy a farmakokinetikája stabil, a testsúlykilogrammonként adott gyógyszer szérumszintje állandó, monitorozása a gyártó szerint szükségtelen. Másrészt a mikofenoláttal való együttalkalmazás esetén körülbelül 40%-kal magasabb vérszint érhető el azonos mennyiségű peroralis mikofenolátbevitel mellett, mint ciklosporinnal együttadás esetén (a ciklosporin az enterohepaticus körforgás gátlásával éri el szintcsökkentő hatását) [15, 20].

*OX40-blokkád:* Az OX40 (CD134) egy kostimulációs molekula, amely a tumornekrozis-faktorok (TNF) csoportjába tartozik. A naiv T-sejteken nem expresszáldik. Csakúgy, mint az OX40-ligand (OX40L) 24–72 órával a T-sejt-aktivációt követően jelennek meg, főleg a CD4+ T-sejteken. Fő funkciója az immunválasz első néhány napja után annak fenntartása, illetve stimulálása és a CD4+ T-sejtek apoptózisának megakadályozása, feltehetően a CTLA-4 le-regulációjának megakadályozásán keresztül. Klinikai vizsgálatok kimutatták, hogy az OX40-receptoron keresztüli kostimulációs blokkád egérbőrtranszplantátum és szívallograft rejekcióját megelőzheti, illetve az OX40-stimulációval kilökődés provokálható [21, 22].



2. ábra

A T-sejt-aktiváció, illetve apoptózis viszonya a sejtmembrán és a sejtmag között. Fentről lefelé haladva látható, ahogy a ligand a membránreceptorhoz kötődve a jelátvivő mechanizmusokon keresztül, az enzimatív befolyásolásával a magban elhelyezkedő regulálófaktorok képződését indítja, ezzel citokintermelést, sejtproliferációt vagy apoptózist indukálva. Az aktivációhoz szükséges hármasszignálút komplexitása több támaszponton is lehetővé teszi az immunosuppressziót. Kahan, B. D., Ponticelli, C.: Principles and Practice of Renal Transplantation. Dunitz, London, 2000 (a szerzők engedélyével)

Bcl = B-sejt-lymphoma; CaM = kalmodulin; CaN = kalcineurin; Cdk = ciklindependens kináz; DAG = diacil-glicerol; ER = endoplazmatikus reticulum; FADD = Fas-asszociált protein 'death domain'-nel; Fas = CD95; FasL = Fas ligand; Fyn = protoonkogén tirozin-protein kináz; IL = interleukin; IP3 = inozitol 1;4;5-trifoszfát; Jak = Janus kináz; Lck = lymphocytaszpecifikus protein-tirozin kináz; Lyk = tirozin-protein kináz; MAPK = mitogénaktivált proteinkináz; MEK = extracelluláris szignálregulált kináz; NFAT = nuclear factor of activated T-cell; PIP2 = foszfatidilinositol 3;4-bisfoszfát; PKC = proteinkináz C; RAF-1 = protoonkogén szerin/treonin-protein kináz; SHC = Src homolog domént tartalmazó protein; Stat = signal transducer and activator of transcription; Syk = Spleen tyrosine kinase; TCR = T-sejt-receptor; TNF- $\alpha$  = tumornekrózis-faktor- $\alpha$ ; ZAP70 = zéta-lánc-asszociált proteinkináz-70

**CD154-CD40 út:** A CD154 molekulát CD40-ligandnak (CD40L) is hívják, a TNF-szupercsaládba tartozó protein. Elsőként az aktivált T-sejteken mutatták ki, de mára már számos immunsejten azonosították. A CD40 az APC-k felszínén jelenik meg, tehát a makrofágok, dendritikus sejtek és B-sejtek felszínén állandóan jelen van. A CD40-CD40L interakció kostimulációs szignál, amely az APC-től függő választ vált ki. A makrofágok aktiválásához elsődlegesen a CD4 Th1 típusú sejtek  $\gamma$ -IFN szignálja szükséges. A másodlagos szignál a makrofág felszíni CD40-molekulákhoz kötődő T-sejtek kostimulációja. A két stimulus együtt további CD40-expresszióhoz és az aktivált makrofág funkciókhoz (fagocitózis, nekrozis) vezet. A DC-k éréséhez és aktivációjához, valamint fennmaradásához, továbbá a B-sejt-aktivációhoz és annak plazmasejtté válásához szintén a CD40-kostimuláció szükséges. A kutatások során az anti-CD154 monoklonális antitestekkel végzett

vizsgálatokat leállították a thromboemboliás mellékhatások miatt. További kísérletek a CD40-blokkolást megcélzó gyógyszerek kifejlesztésére terelődtek, ezek során in vivo thrombosis már nem észleltek. Az egér- és majomkísérletek során a monoterápiában alkalmazott anti-CD40-antitest csak mérsékelt eredménnyel járt, ugyanakkor belatacepttel kombinált adása esetén a szinergista hatásnak köszönhetően hatékony immunosuppressziót igazoltak [1]. A humán alkalmazásokat még hosszas kutatások előzhetik meg.

Az **LFA-1-ICAM-1** szignálút vonal tulajdonképpen a T-sejt és APC közötti interakcióhoz nélkülözhetetlen adhézió és kostimuláció. Az LFA-1 a T- és B-sejteken, a makrofágokon és neutrophil granulocytákon egyaránt megtalálható. Gyulladásban és fertőzésben az allogén sejtekhez kapcsolódást teszi lehetővé, továbbá a citotoxikus T-sejt-funkció egyik elengedhetetlen molekulája. Számos tanulmány igazolja, hogy az LFA-1-blokkád

nem a T-sejt-depléció útján hat. Bizonyított, hogy a T-sejtek a graftokat infiltrálhatják anélkül, hogy funkciókárosodást okoznának. Ezek alapján úgy tűnik, hogy az LFA-1-en keresztül végbemenő grafttolerancia, illetve -túlélés a kostimuláció és adhézió blokádján keresztül valósul meg. Az *Efaluzimab* ezen a kölcsönhatáson keresztül (LFA-1–ICAM interakció) fejt ki hatását. A pikkelysömörben már alkalmazott szer szélesebb körben történő felhasználásához szükséges kutatások az állatkísérleteknél tartanak [1, 9]. Az *Alefacept* egy fúziós protein, amely a CD2-receptorhoz kötődve *in vitro* és *in vivo* kísérletekben T-sejt-választ és a sejtadhézió blokádját mutatta. 1993 óta engedélyezi az Amerikai Egyesült Államokban a Food and Drug Administration (FDA) az alefacept alkalmazását pikkelysömörben és graft versus host (GVH) betegségben. A kostimuláció bénításán keresztül poszttranszplantációs immunszuppressziós alkalmazásának kipróbálása a fázis II klinikai kísérleteknél tart, ezek eredménye mostanában várható [9]. Főemlősökben végzett kísérletek során igazolódott, hogy az alefacept kiiktatja a memória-T-sejteket, CD28 és CD2 kombinált blokádjával teljes allograft rejekció megelőzést tudtak elérni [23, 24].

Kombinált kostimulációs blokáddal végzett kísérletekkel sikerült az effektor és memória-T-sejt-funkciót is leállítani. Egerekben akcelerált rejekciós modell kísérletek demonstrálják a négyes (CD40, CD28, OX40 és LFA-1) kostimulációs blokad teljes hatékonyságát. A kettős kombinációban alkalmazott kostimulációs szerek esetében szignifikánsan rövidebb grafttúlélést értek el, az eredmények monoblokk esetén természetesen még ennél is rosszabbak voltak [25]. Látható, hogy a kostimulációs szerek térnyerése esetén alkalmazásuk csak kombinációban – egy másik kostimulációs vagy más támadásponton ható immunszuppressziós szer együttes adásával – képzelhető el.

## Toleranciaindukció

Az immunrendszer bonyolult működésének egyre jobb megértése vezetett ahhoz, hogy a transzplantált betegek kezelésében is hasznosítható immunmodulációs kezeléseket dolgozzanak ki. A hagyományos immunszuppresszió az infekciókkal szemben fokozott veszélyeztetettséget okoz. Az autoimmun betegségeknél és poszttranszplantációs terápiában egy új irányvonalat képvisel a toleranciaindukción alapuló immunbiológiai kezelés. Lényege, hogy a toleranciaindukcióval az immunrendszert olyan irányba trenírozzuk, hogy az allograftot, illetve alloantitesteket tolerálja, amellet, hogy a normális T-sejt-válasz, illetve -funkció a többi, a szervezet számára veszélyesnek tartott struktúrával szemben megtartott legyen. A teljes immunblokad elkerülésével és az infekcióra adott fiziológiás válasz fenntartásával a transzplantált betegek infekciós hajlama megszűnne. Klinikai és kísérleti kutatások is igazolják, hogy a bakteriális infekció akut rejekciót triggerelhet [26]. Ez eset-

ben tehát a toleranciaindukció nemcsak a recipiensnek a fertőzésekkel szembeni vulnerabilitását csökkenti, hanem a fertőző ágensekkel szemben megtartott immunválasszal a kilökődés megelőzésében is szerepe lehet.

Az agyhalál, a hideg ischaemia (hypoxia), és a szervebeültetés (műtét) okozta szövetsérülés három olyan trigger, amely azonnal a veleszületett és szerzett immunrendszer választ váltja ki a recipiens szervezetében. A citokinmilióben az immunsejtek láncreakciója indul, középpontban az NK-sejtekkel és a szerzett immunrendszerrel kapcsolatos jelentő dendritikus sejtekkel. Az NK-sejtek és DC-k az immunválasz kiindulópontjai és irányítói, a T-sejtek a végrehajtói. A T-sejtek több fajtáját és ezek funkcióját leírták, az egyik sejt vonal a *FOXP3+ reguláló T-sejt* (T-reg), amely, úgy tűnik, meghatározó szerepet tölt be az immuntolerancia indukciójában és fenntartásában [27]. Arra is fény derült, hogy az IL-17-termelő T-sejtek (T17) proinflammatorikus hatásukkal rejekciót provokálnak szívtranszplantált egerekben, így a rejekció, illetve tolerancia kialakulásáért a T-reg és T17-sejtek egyensúlya felelős [28, 29].

A T-reg sejtek manipulálásával a vesetranszplantált toleranciáját érhetjük el [30]. Az ilyen irányú kutatások rendkívül komplex, drága és nehézségekkel teli vizsgálatokat igényelnek, mégis kecsegtető területre vezetnek. Natív T-sejtből T-reg sejtek képződését indukáló *anti-CD-4* antitest egérvizsgálataiban bőr-, szív- és szigetsejt-transzplantátumok toleranciáját eredményezte [31].

Egy másik lehetőség az alloantitesttel szembeni tolerancia elérésére a DC-k indukciója [32]. A DC-k az immunválasz szabályozásában kulcsszerepet játszanak a centrális és perifériás tolerancia tekintetében. A thymusban felelősek a negatív szelekcióért, ennek során a 'saját'-tal szemben magas affinitást mutató és aktivált T-sejteket eliminálja. *Ex vivo* kísérletekben Flt3 receptor-ligand citokinnel kezelt, csontvelőből származtatott DC-kezeléssel thymusban centrális tolerancia alakult ki az antigén-specifikus CD4+ és CD8+ T-sejt-depléció révén. Ezzel egyidejűleg a periférián donorspecifikus T-sejt-ignoranciát és elnyújtott grafttúlélést lehetett elérni [33, 34]. Teljes csontvelő-transzplantáció, illetve -infúzió szintén allograft-toleranciához vezethet [35]. Szintén a DC-sejteken keresztül fejt ki immunszuppresszív hatását a rekombináns humán szolúbilis CD83, amely nemrég került górcső alá. A CD83-nak szerepe van a DC-k érésében egérben és emberben egyaránt, bizonyítottan. Egérvizsgálataiban igazoltan autoimmun-gátló hatása van, és más immunszuppresszív szerrel kombinációban alkalmazva megelőzi a szívtranszplantátum kilökődését [36].

Más kísérletekben a szolúbilis CD83-rejekció preventív hatását *indolamin-2,3-dioxigenáz* (IDO) blokkolásával sikerült gátolni, és így rejekciót provokálni [37]. Az IDO epithelialis, endothelialis és mesenchymalis sejtekben egyaránt megtalálható, a triptofán katabolizmusát katalizálja, ezzel mintegy 'éheztesíti' a gyulladá-



sos folyamatokban aktív proliferációt mutató immunsejteket. Emellett az IDO gátolja a T-sejtek fejlődését, számos citokin (mint például az antiinflammatorikus IL-10) termelését és a T-reg sejtek kialakulását generálja [38]. Ígéretes kutatási terület mind a humán CD83, mind az IDO klinikai alkalmazhatósága.

Egerekben végzett kísérletek során legígéretesebb eredményeket teljes sejtek – T-reg sejtek, DC-k, különböző eredetű őssejtek és makrofágok – csontvelőbe implantálásával értek el [39]. Egy bécsi kutatócsoportnak izolált T-reg sejtek csontvelőbe ültetésével haemopoieticus kevert kimériát és ezzel teljes toleranciaindukciót sikerült elérnie [40]. Más centrumokban végzett kutatások az OX40-kostimulációs blokádon keresztül a dendritikus sejtek és ezáltal a FOXP3+ T-reg sejtek indukcióját mutatták ki [41].

A toleranciaindukció kérdésében jelenleg zajló kutatások egyre specifikusabb, kizárólag az immunrendszerre ható vagy egy-egy immunsejt-populációra ható vegyületek kifejlesztését célozzák meg. Célzott, specifikus immunkezeléssel a mellékhatások széles spektruma beszűkül. Láthatjuk, hogy a toleranciaindukció által nyújtott lehetőségek egyelőre kiaknázatlanok, az intenzív kutatások eredményeinek köszönhetően a jövőben a transzplantált betegek immunszuppressziójában is szerephez juthatnak.

## Következtetések

Immunológiai ismereteink egyre bővülnek, ezzel párhuzamosan a poszttranszplantációs immunszuppresszív kezelés kutatási eredményei is évről évre új perspektívát nyitnak. Láthatjuk, hogy mostanra a klinikus kezében számos lehetőség van arra, hogy optimalizált gyógyszeres kezelést állítson be transzplantált betegének a megbízható rejekció prevenció eléréséhez. Ennél azonban több kell, a graftfunkció hosszú távú fenntartása, a transzplantált vesék életidejének növelése a cél. A calcineurin inhibitor egyeduralom végét jelenthetik a kifejlesztés alatt álló, illetve hamarosan a klinikumban is megjelenő, az immunválasz számos pontján bekapcsolódó és az eddigiektől eltérő mechanizmussal ható gyógyszerek. Ilyenek az mTOR-inhibitorok, a kostimulációs blokádon keresztül ható molekulák vagy a toleranciaindukciót megcélzó immunkezelések. Most a belatacept induló alkalmazása jelenti egy új gyógyszerosztály megjelenését. A nephrotoxicus, diabetogen, hypertonogen hatású calcineurin inhibitor immunszuppresszánsokat tartalmazó protokollok váltása, illetve átalakítása hozhat reformszerű változást a transzplantáltak gyógyszeres terápiájában.

Mit hoz a jövő? Génkezelés hírvivőként felhasznált adenovírusokkal, lentivirális vektorokkal? Lehetséges... De ami inkább a mindennapi klinikai gyakorlatban hamarosan elképzelhető lesz, az a személyre szabott immunszuppresszív gyógyszeres terápia, amely kihasználja a különböző mechanizmussal ható szerek adta lehető-

ségeket, hogy a leghatékonyabb és legkevesebb mellékhatást okozó kombinációt alkalmazzuk az alapbetegség, a kor, immunizáltsági állapot, kísérő betegség függvényében.

## Irodalom

- [1] Ford, M. L., Larsen, C. P.: Translating costimulation blockade to the clinic: lessons learned from three pathways. *Immunol. Rev.*, 2009, 229, 294–306.
- [2] Knight, R. J., Podder, H., Kerman, R. H., et al.: Comparing an early corticosteroid/late calcineurin-free immunosuppression protocol to a sirolimus-, cyclosporine A-, and prednisone-based regimen for pancreas-kidney transplantation. *Transplantation*, 2010, 89, 727–732.
- [3] Chhabra, D., Grafals, M., Cabral, B., et al.: Late conversion of tacrolimus to sirolimus in a prednisone-free immunosuppression regimen in renal transplant patients. *Clin. Transplant.*, 2010, 24, 199–206.
- [4] Zhang, W., Zhang, D., Shen, M., et al.: Combined administration of a mutant TGF-beta1/Fc and rapamycin promotes induction of regulatory T cells and islet allograft tolerance. *J. Immunol.*, 2010, 185, 4750–4759.
- [5] Chen, J. F., Gao, J., Zhang, D., et al.: CD4+Foxp3+ regulatory T cells converted by rapamycin from peripheral CD4+CD25(-) naive T cells display more potent regulatory ability in vitro. *Chin. Med. J. (Engl.)*, 2010, 123, 942–948.
- [6] Manuelli, M., De Luca, L., Iaria, G., et al.: Conversion to rapamycin immunosuppression for malignancy after kidney transplantation. *Transplant. Proc.*, 2010, 42, 1314–1316.
- [7] Sumethkul, V., Tankee, P., Chalermksanyakorn, P., et al.: Long-term outcome of very early cyclosporine minimization and de novo everolimus therapy in kidney transplant recipients: a pharmacokinetic guided approach. *Transplant. Proc.*, 2010, 42, 4040–4042.
- [8] Rostaing, L., Kamar, N.: mTOR inhibitor/proliferation signal inhibitors: entering or leaving the field? *J. Nephrol.*, 2010, 23, 133–142.
- [9] Cooper, J. E., Wiseman, A. C.: Novel immunosuppressive agents in kidney transplantation. *Clin. Nephrol.*, 2010, 73, 333–343.
- [10] Busque, S., Leventhal, J., Brennan, D. C., et al.: Calcineurin-inhibitor-free immunosuppression based on the JAK inhibitor CP-690,550: a pilot study in de novo kidney allograft recipients. *Am. J. Transplant.*, 2009, 9, 1936–1945.
- [11] Gupta, G., Womer, K. L.: Profile of belatacept and its potential role in prevention of graft rejection following renal transplantation. *Drug Des. Devel. Ther.*, 2010, 4, 375–382.
- [12] Linsley, P. S., Nadler, S. G.: The clinical utility of inhibiting CD28-mediated costimulation. *Immunol. Rev.*, 2009, 229, 307–321.
- [13] Pettypiece, S.: Bristol-Myers transplant drug wins U.S. Panel Backing (Update1). Bloomberg, March 1, 2010 17:49 EST
- [14] Latek, R., Fleener, C., Lamian, V., et al.: Assessment of belatacept-mediated costimulation blockade through evaluation of CD80/86-receptor saturation. *Transplantation*, 2009, 87, 926–933.
- [15] [www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/Drugs/CardiovascularandRenalDrugsAdvisoryCommittee/UCM201859.pdf](http://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/Drugs/CardiovascularandRenalDrugsAdvisoryCommittee/UCM201859.pdf)
- [16] Gandhi, A. M., Fazli, U., Rodina, V., et al.: Costimulation targeting therapies in organ transplantation. *Curr. Opin. Organ Transplant.*, 2008, 13, 622–626.
- [17] Vincenti, F., Charpentier, B., Vanrenterghem, Y., et al.: A phase III study of belatacept-based immunosuppression regimens versus cyclosporine in renal transplant recipients (BENEFIT study). *Am. J. Transplant.*, 2010, 10, 535–546.

- [18] Grinyó, J., Charpentier, B., Pestana, J. M., et al.: An integrated safety profile analysis of belatacept in kidney transplant recipients. *Transplantation*, 2010, 90, 1521–1527.
- [19] Larsen, C. P., Grinyó, J., Medina-Pestana, J. M., et al.: Belatacept-based regimens versus a cyclosporine A-based regimen in kidney transplant recipients: 2-year results from the BENEFIT and BENEFIT-EXT studies. *Transplantation*, 2010, 90, 1528–1535.
- [20] Bremer, S., Vethe, N. T., Rootwelt, H., et al.: Mycophenolate pharmacokinetics and pharmacodynamics in belatacept treated renal allograft recipients – a pilot study. *J. Transl. Med.*, 2009, 7, 64.
- [21] Kinnear, G., Wood, K. J., Marshall, D., et al.: Anti-OX40 prevents effector T-cell accumulation and CD8+ T-cell mediated skin allograft rejection. *Transplantation*, 2010, 90, 1265–1271.
- [22] Burrell, B. E., Lu, G., Li, X. C., et al.: OX40 costimulation prevents allograft acceptance induced by CD40-CD40L blockade. *J. Immunol.*, 2009, 182, 379–390.
- [23] Weaver, T. A., Charafeddine, A. H., Agarwal, A., et al.: Alefacept promotes co-stimulation blockade based allograft survival in nonhuman primates. *Nat. Med.*, 2009, 15, 746–749.
- [24] Lo, D. J., Weaver, T. A., Stempora, L., et al.: Selective targeting of human alloresponsive CD8(+) effector memory T cells based on CD2 expression. *Am. J. Transplant.*, 2011, 11, 22–33.
- [25] Xie, B., Chen, J., Xia, J., et al.: Combined costimulation blockade inhibits accelerated rejection mediated by alloantigen-primed memory T cells in mice. *Immunol. Invest.*, 2009, 38, 639–651.
- [26] Ahmed, E. B., Daniels, M., Alegre, M. L., et al.: Bacterial infections, alloimmunity, and transplantation tolerance. *Transplant. Rev. (Orlando)*, 2011, 25, 27–35.
- [27] Li, X. C., Turka, L. A.: An update on regulatory T cells in transplant tolerance and rejection. *Nat. Rev. Nephrol.*, 2010, 6, 577–583.
- [28] Hanidziar, D., Koulmanda, M.: Inflammation and the balance of Treg and Th17 cells in transplant rejection and tolerance. *Curr. Opin. Organ Transplant.*, 2010, 15, 411–415.
- [29] Heidt, S., Segundo, D. S., Chadha, R., et al.: The impact of Th17 cells on transplant rejection and the induction of tolerance. *Curr. Opin. Organ Transplant.*, 2010, 15, 456–461.
- [30] Casiraghi, F., Aiello, S., Remuzzi, G.: Transplant tolerance: progress and challenges. *J. Nephrol.*, 2010, 23, 263–270.
- [31] Francis, R. S., Feng, G., Tha-In, T., et al.: Induction of transplantation tolerance converts potential effector T cells into graft-protective regulatory T cells. *Eur. J. Immunol.*, 2011, 41, 726–738.
- [32] Gill, D., Tan, P. H.: Induction of pathogenic cytotoxic T lymphocyte tolerance by dendritic cells: a novel therapeutic target. *Expert Opin. Ther. Targets*, 2010, 14, 797–824.
- [33] Yamano, T., Watanabe, S., Hasegawa, H., et al.: Ex-vivo expanded DC induce donor-specific central and peripheral tolerance and prolong the acceptance of donor skin allografts. *Blood*, 2011, 117, 2640–2648.
- [34] Rodriguez-Garcia, M., Boros, P., Bromberg, J. S., et al.: Immunotherapy with myeloid cells for tolerance induction. *Curr. Opin. Organ Transplant.*, 2010, 15, 416–421.
- [35] Kawai, T., Benedict Cosimi, A.: Induction of tolerance in clinical kidney transplantation. *Clin. Transplant.*, 2010, 24 (Suppl. 22), 2–5.
- [36] Lan, Z., Lian, D., Liu, W., et al.: Prevention of chronic renal allograft rejection by soluble CD83. *Transplantation*, 2010, 90, 1278–1285.
- [37] Lan, Z., Ge, W., Arp, J., et al.: Induction of kidney allograft tolerance by soluble CD83 associated with prevalence of tolerogenic dendritic cells and indoleamine 2,3-dioxygenase. *Transplantation*, 2010, 90, 1286–1293.
- [38] Crisa, L.: Pancreatic islet transplants and IDO: when starving the enemy does you good. *Diabetes*, 2010, 59, 2102–2104.
- [39] Fändrich, E.: Cell therapy approaches aiming at minimization of immunosuppression in solid organ transplantation. *Curr. Opin. Organ Transplant.*, 2010, 15, 703–708.
- [40] Pilat, N., Wekerle, T.: Mechanistic and therapeutic role of regulatory T cells in tolerance through mixed chimerism. *Curr. Opin. Organ Transplant.*, 2010, 15, 725–730.
- [41] Ge, W., Jiang, J., Liu, W., et al.: Regulatory T cells are critical to tolerance induction in presensitized mouse transplant recipients through targeting memory T cells. *Am. J. Transplant.*, 2010, 10, 1760–1773.

(Pöcze Balázs dr.,  
Budapest, Abos utca 23/C, 1122  
e-mail: balazspocze@gmail.com)

Észak-Németországban újonnan megnyíló rendelőkbe németül jól beszélő

## házi orvos és kardiológus

kollégákat keresünk korrekt fizetési feltételekkel.  
A diploma honosításához minden segítséget megadunk.  
E-mail: edit.zaborszky@gmx.de