

Specificiteit en kinetiek van donor-T-celresponsen na allogene stamceltransplantatie

Auteur F.M. Kloosterboer

Trefwoorden allogene stamceltransplantatie, donorlymfocyteninfusie, graft-versus-leukemie-reactiviteit, 'minor histocompatibility antigens'

Samenvatting

Op 15 december 2004 promoveerde mw. drs. F.M. Kloosterboer aan de Universiteit van Leiden op het promotieonderzoek getiteld 'Nature and kinetics of T cell responses after allogeneic stem cell transplantation' onder begeleiding van

de promotoren prof. dr. J.H. Falkenburg en prof. dr. R. Willemze. Hieronder volgt een samenvatting van de belangrijkste bevindingen van haar promotieonderzoek.

(Ned Tijdschr Hematol 2006;3:164-6)

Inleiding

Allogene immuunresponsen van donor-T-cellen spelen een belangrijke rol bij zowel de schadelijke 'graft-versus-host disease' (GVHD) als bij de gunstige graft-versus-leukemie (GVL)-reactiviteit. Beide reacties kunnen optreden na een allogene stamceltransplantatie (SCT). Het inzicht dat GVL-reactiviteit een belangrijke component is van de genezende werking van een allogene SCT, heeft ertoe geleid dat de toepassing van allogene SCT's in de afgelopen jaren is veranderd.

Tegenwoordig dient SCT als platform voor cellulaire immunotherapie bij de behandeling van leukemie. De beperkte bestraling en chemotherapie die voorafgaan aan de SCT zijn vooral bedoeld om transplantaatafstoting te voorkomen en om donorhematopoëse bij de patiënt te bewerkstelligen. Immunotherapie met donorlymfocyteninfusie (DLI) zorgt vervolgens voor de vernietiging van de leukemiecellen. Hoewel DLI na SCT zeer effectief is bij de behandeling van leukemie, kan het ook GVHD veroorzaken.

T-celgedieerde immuunreacties veroorzaakt door herkenning van 'minor histocompatibility antigens' (mHags). Hoewel een GVL-respons vaak geassocieerd is met GVHD, wordt GVL-reactiviteit ook waargenomen in afwezigheid van GVHD. Dit wijst erop dat donor-T-cellen een specifiek GVL-effect kunnen induceren.

De weefselverdeling van de verschillende mHags waartegen de T-celrespons is gericht, bepaalt grotendeels het klinische effect van de donor-T-celgedieerde immuunrespons. Donor-T-cellen die mHags herkennen die op vrijwel alle cellen in het lichaam tot expressie komen, kunnen zowel GVL als GVHD veroorzaken. Donor-T-cellen die hematopoësespecifieke mHags herkennen, induceren mogelijk een GVL-effect zonder de inductie van GVHD. In dit promotieonderzoek zijn de kinetiek van donor-T-celresponsen en de daarbij betrokken mHags bestudeerd. De resultaten kunnen bijdragen aan de ontwikkeling van een cellulaire immunotherapie die GVL-reactiviteit induceert zonder GVHD.

Reactiviteit tegen 'minor histocompatibility antigens'

Na een HLA-identieke allogene SCT worden donor-

Dominante bijdrage van mHags HA1- en HA2-specifieke T-cellen aan GVL-respons

Marijt et al. toonden met tetrameren aan dat T-cellen die gericht zijn tegen de hematopoësespecifieke

mHags HA1 en HA2, betrokken zijn bij de anti-leukemierespons bij drie HA1- en HA2-positieve patiënten na DLI van hun HA1- en/of HA2-negatieve donoren.¹ Binnen vijf tot zeven weken na DLI stegen de percentages HA1- en/of HA2-specifieke T-cellen in het bloed van de patiënt. De piek in het percentage HA1- en/of HA2-specifieke T-cellen ging gepaard met een afname van het aantal tumorcellen in het bloed. Geïsoleerde en geëxpandeerde tetrameerpositieve T-cellen waren reactief tegen de leukemische en de normale hematopoëtische cellen van de patiënt en zij remden de groei van leukemische voorlopercellen. Bij twee van de drie patiënten ging de toename van HA1- en HA2-specifieke T-cellen niet samen met ernstige GVHD.

Een vervolgstudie toonde aan dat HA1- en HA2-specifieke T-cellen een dominante bijdrage leverden aan de totale antileukemische T-celrespons bij deze drie patiënten.² Na isolatie van de leukemiereactieve donor-T-cellen, op basis van interferon (IFN)- γ -productie na stimulatie met de leukemische cellen van de patiënt, bleek namelijk dat een groot gedeelte (10-30%) van de leukemiereactieve donor-T-cellen specifiek was voor HA1 of HA2 en reactief tegen de leukemische cellen van de patiënt. De studie toonde tevens aan dat het mogelijk is dergelijke HA1- en HA2-specifieke T-cellen in vitro te genereren uit perifere bloed van ongeprimeerde HA1- en/of HA2-negatieve donoren.

Deze studies wijzen erop dat immunotherapie met in vitro gegenereerde HA1- of HA2-specifieke donor-T-cellen effectief kan zijn bij de specifieke eliminatie van leukemische cellen na allogene SCT, zonder inductie van GVHD.

Relatieve specificiteit van mHags

Uit de patiënt met ernstige GVHD na DLI werd ook een mHag ACC2-specifieke cytotoxische T-lymfocyt (CTL)-kloon geïsoleerd. De mHags ACC1 en ACC2, die afkomstig zijn van het *BCL2A1*-gen, werden bij de oorspronkelijke karakterisatie door Akatsuka et al. getypeerd als hematopoësespecifiek.³ Dit promotieonderzoek toont echter aan dat het *BCL2A1*-gen laag tot expressie komt in niet-hematopoëtische mesenchymale stromacellen en dat een opregulatie van *BCL2A1*-expressie optreedt onder invloed van de inflammatoire cytokines TNF- α en/of IFN- γ . Analyse van de cytotoxische en de IFN- γ -productie toont aan dat de ACC2-specifieke CTL-kloon onder normale omstandigheden niet reactief is tegen mesenchymale stromacellen, maar wel tegen mesenchymale stromacellen die zijn

behandeld met TNF- α en IFN- γ .⁴ Dit betekent dat hoewel *BCL2A1*-specifieke T-cellen onder steady-statecondities een relatieve specificiteit voor hematopoëtische cellen bezitten, reactiviteit tegen niet-hematopoëtische cellen kan optreden onder invloed van inflammatoire cytokines. Op basis van deze resultaten kan worden verondersteld dat de gelijktijdige aanwezigheid van een ontstekingsreactie, met name van ontstekingscellen in de niet-hematopoëtische weefsels, een risicofactor is voor GVHD en dat de bijdrage van *BCL2A1*-specifieke T-cellen aan GVL en GVHD mede hierdoor wordt bepaald. Een dergelijke relatieve specificiteit geldt mogelijk ook voor andere mHags.

Diversiteit in mHag-specifieke T-celrespons

Bij de drie voornoemde patiënten is tevens de totale diversiteit bestudeerd van de mHag-specifieke T-cellen die betrokken waren bij de allogene immunorespons tegen hematopoëtische cellen na DLI.⁵ De T-cellen die betrokken waren bij de immunorespons tegen de hematopoëtische cellen, waren op meerdere niveaus divers: fenotype, cytotoxische activiteit tegen normale en leukemische cellen, en proliferatieve capaciteit. De CTL-klonen van de individuele patiënten maakten gebruik van meerdere, verschillende HLA-restrictiemoleculen. Voor elke patiënt werden CTL-klonen specifiek voor zowel bekende als onbekende mHags geïsoleerd. Binnen de afzonderlijke patiënten hadden CTL-klonen met dezelfde HLA-restrictie een verschillende mHag-specificiteit. CTL-klonen die gericht waren tegen bepaalde mHags, waren frequent aanwezig en hadden een monoklonale of oligoklonale oorsprong. Blijkbaar is de immunorespons tegen hematopoëtische cellen na DLI gericht tegen meerdere verschillende mHags, waaronder (maar niet beperkt tot) de immunodominante mHags.

Deze bevinding impliceert enerzijds dat immunotherapie met meer dan één mHag-specificiteit mogelijk effectiever is in het elimineren van leukemicellen dan immunotherapie met één specificiteit. Anderzijds geeft immunotherapie met een enkele specificiteit wellicht een verminderde kans op GVHD. De immunorespons kan dan immers niet meer worden versterkt door T-cellen die gericht zijn tegen andere mHags.

Referenties

1. Marijt WA, Heemskerk MH, Kloosterboer FM, Goulmy E, Kester MG, Van der Hoorn MA, et al. Hematopoiesis-restricted minor histocompatibility antigens HA-1- or HA-2-specific

T cells can induce complete remissions of relapsed leukemia. Proc Natl Acad Sci USA 2003;100:2742-7.

2. Kloosterboer FM, Luxemburg-Heijs SA, Soest RA, Barbui AM, Van Egmond HM, Strijbosch MP, et al. Direct cloning of leukemia-reactive T cells from patients treated with donor lymphocyte infusion shows a relative dominance of hematopoiesis-restricted minor histocompatibility antigen HA-1 and HA-2 specific T cells. *Leukemia 2004;18:798-808.*

3. Akatsuka Y, Nishida T, Kondo E, Miyazaki M, Taji H, Iida H, et al. Identification of a polymorphic gene, BCL2A1, encoding two novel hematopoietic lineage-specific minor histocompatibility antigens. *J Exp Med 2003;197:1489-500.*

4. Kloosterboer FM, Luxemburg-Heijs SA, Soest RA, Van Egmond HM, Willemze R, Falkenburg JH. Upregulated expression in non-hematopoietic-tissues of the BCL2A1-derived minor histocompatibility antigens in response to inflammatory cytokines: relevance for allogeneic immunotherapy of leukemia. *Blood 2005;106:3955-7.*

5. Kloosterboer FM, Luxemburg-Heijs SA, Soest RA, Van Egmond HM, Barbui AM, Strijbosch MP, et al. Minor his-

tocompatibility antigen specific T cells with multiple distinct specificities can be isolated by direct cloning of IFN secreting T cells from patients with relapsed leukemia responding to donor lymphocyte infusion. Leukemia 2005;19:83-90.

Ontvangen 12 september 2005, geaccepteerd 24 november 2005.

Correspondentieadres

Mw. dr. F.M. Kloosterboer, medical advisor

Nieuwe Rijn 96

2312 JM Leiden

Tel.: 071 513 50 06

E-mailadres: fkloosterboer@yahoo.com

Belangenconflict: geen gemeld.

Financiële ondersteuning: geen gemeld.

Verkorte bijsluitertekst

BS/2005/036

Naam van het geneesmiddel FEIBA S-TIM 4. **Kwalitatieve en kwantitatieve samenstelling** FEIBA S-TIM 4 500 IE/flacon en FEIBA S-TIM 4 1000 IE/flacon bevatten 200-600 mg resp. 400-1200 mg humane plasma-eiwitten met een Factor VIII Inhibitor Bypassing Activity van 500 E resp. 1000 E (Een oplossing met 1 eenheid aan Factor VIII Inhibitor Bypassing Activity (FEIBA) verkort de geactiveerde partiële tromboplastinetijd (APTT) van een factor-VIII-inhibitor referentieplasma tot 50 % van de bufferwaarde (blanco).) FEIBA S-TIM 4 bevat eveneens factor II, IX en X, voornamelijk in niet-geactiveerde vorm alsook geactiveerde factor VII. Factor VIII coagulant antigeen (F VIII C:Ag) is aanwezig in een concentratie tot 0,1 E/E FEIBA. De factoren van het kallikreïne-kininesysteem zijn slechts in uiterst geringe mate aanwezig, indien ze reeds aanwezig zijn. **Farmaceutische vorm** Poeder voor injectievloeistof. **Therapeutische indicaties** Behandeling van bloedingen bij hemofilie-A-patiënten met antistoffen tegen factor VIII > 10 Bethesda-eenheden (BE) en bij hemofilie-A-patiënten met verworven antistoffen tegen factor VIII met een titer < 10 BE. Behandeling van hemofilie-A-patiënten met lichte tot matige bloedingen met een te verwachten hoge anamnestiche respons op factor VIII, ongeacht de titer van de antistof. Voor inductie van immuuntolerantie zijn verschillende behandelingsprotocollen beschreven, die niet in prospectief gerandomiseerd onderzoek zijn vergeleken. FEIBA S-TIM 4 kan gebruikt worden in combinatie met factor-VIII-concentraat voor ononderbroken langdurige therapie, om tot een volledige en permanente eliminatie van de F VIII-inhibitor te komen. Deze patiënten zullen dus een normale behandeling met F VIII-concentraat krijgen, zoals patiënten zonder antistoffen. FEIBA S-TIM 4 kan eveneens gebruikt worden voor de behandeling van ernstige of levensbedreigende hemorragiën bij patiënten zonder aangeboren hemofilie met verworven antistoffen tegen factor VIII, XI en XII. **Contra-indicaties** Voorzichtigheid is geboden bij patiënten met een bekende allergie voor een van de bestanddelen van het product. Verhoogd risico op trombose of diffuse intravasale stolling (DIS). **Speciale waarschuwingen en voorzorgen bij gebruik** *Speciale voorzorgsmaatregelen* Indien overgevoelighedsreacties optreden tijdens de toediening van FEIBA S-TIM 4, moet de injectie/infusie gestopt worden. Matig ernstige reacties kunnen onder controle gehouden worden met antihistaminica, terwijl voor de therapie van ernstige hypotensieve reacties de gangbare richtlijnen van shockbehandeling in acht moeten worden genomen. Gezien het potentiële risico op trombo-embolische complicaties is voorzichtigheid geboden bij de toediening van FEIBA S-TIM 4 aan patiënten met een anamnese van coronaire hartaandoeningen of myocardinfarct, patiënten met leveraandoeningen, postoperatief, pasgeborenen of patiënten met een risico op trombo-embolische fenomenen of diffuse intravasale stolling. In elk van deze gevallen zal het potentiële voordeel van de behandeling met FEIBA S-TIM 4 afgewogen worden tegen de risico's van deze complicaties. *Bewaking van de therapie* De 100 eenheden FEIBA per kg lichaamsgewicht per individuele dosis en de 200 eenheden FEIBA per kg lichaamsgewicht per dag mogen niet worden overschreden. Patiënten die een individuele dosis van 100 eenheden FEIBA per kg lichaamsgewicht hebben gekregen, moeten worden gecontroleerd en gevolgd voor het optreden van DIS of tekenen van een acute coronaire ischemie. Geen hoge doses FEIBA toedienen tenzij dit absoluut noodzakelijk is om het bloeden te stoppen. Bij het optreden van schommelingen van bloeddruk en onregelmatige polsslag, dyspneu, pijn in de borst of hoest moet de infusie met FEIBA S-TIM 4 onmiddellijk worden stopgezet en worden overgegaan tot diagnostische testen en therapeutische behandeling. De biologische tekenen van DIS zijn een daling van het fibrinogeen, van het aantal bloedplaatjes en/of de aanwezigheid van fibrine- of fibrinogeenafbraakproducten. Andere aanwijzingen voor DIS zijn een duidelijke verlenging van de trombine- en protrombinetijd of van de geactiveerde partiële tromboplastinetijd. *Patiënten zonder hemofilie* Patiënten zonder hemofilie met verworven antistoffen tegen factor VIII, XI of XII kunnen zowel een tendens tot bloeden als een verhoogd risico op trombose hebben. *Laboratoriumtesten en klinische werkzaamheid* Laboratoriumtesten om de klinische werkzaamheid van FEIBA S-TIM 4 te controleren, waaronder de bepaling van de geactiveerde partiële tromboplastinetijd (APTT), geven gewoonlijk slechts een geringe vermindering van de bloedingsijd als resultaat. Zij zijn echter niet noodzakelijkerwijs een weerspiegeling van de klinische toestand. Om deze reden en om inductie van DIS door overdosering te voorkomen, mag men nooit trachten deze waarden te normaliseren door verhoging van de FEIBA S-TIM 4-dosis. *Betekenis van het aantal bloedplaatjes* In geval van onvoldoende of verminderde respons op de FEIBA S-TIM 4-behandeling is het aanbevelen een bloedplaatjestelling uit te voeren, daar een voldoende aantal functioneel intacte bloedplaatjes waarschijnlijk noodzakelijk is voor de werkzaamheid van FEIBA S-TIM 4. *Andere voorzorgsmaatregelen* Gepaste vaccinatie moet overwogen worden bij patiënten met een tendens tot bloeden veroorzaakt door een antistof. **Bijwerkingen** Bij de toediening van geneesmiddelen die bereid worden uit humaan bloed of plasma, kan het optreden van infectieziekten, die veroorzaakt worden door de transmissie van infectieuze agentia, niet volledig worden uitgesloten. Dit is eveneens van toepassing op pathogenen van tot op heden onbekende oorsprong. Om de overdracht van infectieuze agentia bij de toediening van FEIBA S-TIM 4 te voorkomen, worden bij het verzamelen en het testen van het plasma alsook tijdens de fabricage van het product voorgeschreven procedures toegepast. Deze procedures beschrijven criteria voor de selectie van donoren en plasma, alsook de virusverwijderende en inactiverende processen die worden uitgevoerd tijdens het fabricageproces. Zoals na elke infusie van plasmaderivaten, kunnen soms overgevoelighedsreacties optreden, zoals koorts, urticaria, nausea, braken, dyspneu, bloeddrukdaling, shock en andere reacties. Symptomen van duizeligheid en matig ernstige ademhalingsproblemen werden beschreven. Een stijging van de lichaamstemperatuur wordt in zeldzame gevallen waargenomen. Gedurende de behandeling met producten van het protrombinecomplex kan – vooral bij hoge doses en/of bij patiënten met een hoog risico op trombose – een trombo-embolie voorkomen. Er werden enkele gevallen van diffuse intravasale stolling waargenomen na de toediening van hoge doses (eenmalige dosis van > 100 E FEIBA/kg lichaamsgewicht en dagdosis van > 200 E FEIBA/kg lichaamsgewicht). In uitzonderlijke gevallen werd het optreden van een myocardinfarct waargenomen na de toediening van hoge doses en/of na verlengde toediening en/of in aanwezigheid van risicofactoren die aanleiding kunnen geven tot cardiovasculaire ziekten. Alleen het plasma afkomstig van gezonde donoren die negatief reageren in de test op HIV-1- en HIV-2-antilichamen en de test op het hepatitis-C-virus (HCV) en het hepatitis-B-oppervlakteantigeen (HBsAg), wordt gebruikt voor de fabricage van FEIBA S-TIM 4. De ALT-waarde mag niet buiten de geaccepteerde waarden liggen. Bovendien worden monsters van de plasmapool getest op HBsAg en antilichamen tegen HIV en HCV. Daarnaast wordt met behulp van de *Polymerase Chain Reaction* (HIQ-PCR) de plasmapool ook getest op de aanwezigheid van genomische sequenties van eerder genoemde virussen. Met behulp van de *Polymerase Chain Reaction* kan de aanwezigheid van virale nucleinezuren direct vastgesteld worden. Alleen plasmapools waarin geen virale sequenties aantoonbaar zijn, worden voor de fabricage van FEIBA S-TIM 4 gebruikt. Virusverwijderings- en inactivatiestappen (stoombehandeling) zijn in het fabricageproces van FEIBA S-TIM 4 opgenomen. **Houder van de vergunning voor het in de handel brengen** Baxter AG, Industriestrasse 67, A-1220 Wenen. **Oostenrijk Nummers van de vergunning voor het in de handel brengen** FEIBA S-TIM 4, poeder voor injectievloeistof 500 IE/flacon: RVG 17119. FEIBA S-TIM 4, poeder voor injectievloeistof 1000 IE/flacon: RVG 17120. **Afleveringswijze** U.R **Datum van herziening van de samenvatting** Augustus 2001. Vergoeding en prijzen van toepassing binnen Nederland. Zie tarieflijstinstellingen CTG en G-Standaard van de Z-Index.

Referenties

- Hilgartner et al. *Transfusion* 1990;30:626-30.
- Negrier et al. *Thromb Haemost* 1997;77:1113-9.
- Belle and Moliterno. *Thromb Haemost* 1995;73:1427.
- Negrier et al. *Haemophilia* 1998;4:238. Abstract 330.
- Sjamsodin et al. *N Engl J Med* 1981;305:717-21.
- Hilgartner and Knatterud. *Blood* 1983;61:36-40.

Baxter