

4. Bader P, Niethammer D, Willasch A, Kreyenberg H, Klingebiel T. How and when should we monitor chimerism after allogeneic stem cell transplantation? *Bone Marrow Transplant* 2005; 35(2): 107-119.
5. Alizadeh M, Bernard M, Danic B, Dauriac C, Birebent B, Lapart C, et al. Quantitative assessment of hematopoietic chimerism after bone marrow transplantation by real-time quantitative polymerase chain reaction. *Blood* 2002; 99(12): 4618-4625.
6. Weger RA de, Tilanus MG, Scheidel KC, Tweel JG van den, Verdonck LF. Monitoring of residual disease and guided donor leucocyte infusion after allogeneic bone marrow transplantation by chimaerism analysis with short tandem repeats. *Br J Haematol* 2000; 110(3): 647-653.
7. Lazaruk KD, Stein J, Bost D, MacLaughlin I, Krausa P, McGinnis M. High sensitivity chimerism detection by real-time quantitative PCR. *Human Immunology* 2008; 69(S1): S113.
8. Baron F, Little MT, Storb R. Kinetics of engraftment following allogeneic hematopoietic cell transplantation with reduced-intensity or nonmyeloablative conditioning. *Blood Rev* 2005; 19(3): 153-164.
9. Kristt D, Stein J, Yaniv I, Klein T. Interactive ChimerTrack software facilitates computation, visual displays and long-term tracking of chimeric status based on STRs. *Leukemia* 2004; 18(5): 909-911.

Summary

Hepkema BG, Lems SPM. Chimerism: the monitor for allogeneic stem-cel transplantation. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2009; 34: 22-26.

Reduced intensity stem-cell transplantation requires frequent monitoring of chimerism. The technique used is not essential as long as the chimerism status can be reproducibly quantified. Longitudinal measurement of chimerism is more important than single time point measurements. A decrease in donor T cell chimerism might indicate either a graft failure or recurrence of the original disease. A rapid increase in donor T cell chimerism is associated with graft versus host disease.

Keywords: chimerism; stemceltransplantation; STR

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2009; 34: 26-34

Tolerantie na orgaantransplantatie: is het mogelijk en hoe stel je het vast?

I. JOOSTEN¹ en L.B. HILBRANDS²

De immunologisch gerichte laboratoriumdiagnostiek heeft zich met betrekking tot de preventie van transplantataafstoting aanvankelijk vooral gericht op het traject voorafgaand aan de transplantatie. Het selecteren van de optimale donor-ontvangercombinatie door middel van HLA-matching en antistofscreening heeft volop aandacht gekregen en heeft samen met de toepassing van steeds effectievere immunosuppressiva geleid tot een duidelijke toename van de transplantatoeverleving. Echter, recente inzichten en ontwikkelingen maken het noodzakelijk de immunologische diagnostiek uit te breiden. Na langdurig gebruik van immunosuppressieve middelen wordt hiervan ook de schaduwkant duidelijk. De verbeterde inzichten in de immunologische processen die betrokken zijn bij transplantataafstoting en tolerantie-inductie hebben de aandacht verschoven naar strategieën waarmee actief de inductie van tolerantie voor het orgaan wordt nagestreefd. Voordat deze protocollen voor immunomodulatie succesvol kunnen worden toegepast in de kliniek, is het noodzakelijk om over diagnostische

technieken te beschikken waarmee de immunologische reactie van de ontvanger op het transplantaat gevolgd kan worden. In deze bijdrage leggen wij eerst beknopt uit hoe transplantataafstoting tot stand kan komen, en hoe dat te voorkomen is door tolerantie te induceren. Vervolgens geven we een overzicht van de kennis over biologische markers waarmee immunologische monitoring kan worden uitgevoerd.

Trefwoorden: orgaantransplantatie; immunomonitoring, tolerantie; transplantataafstoting; immunosuppressie, T-cel; cytokine

De immunobiologie van afstoting

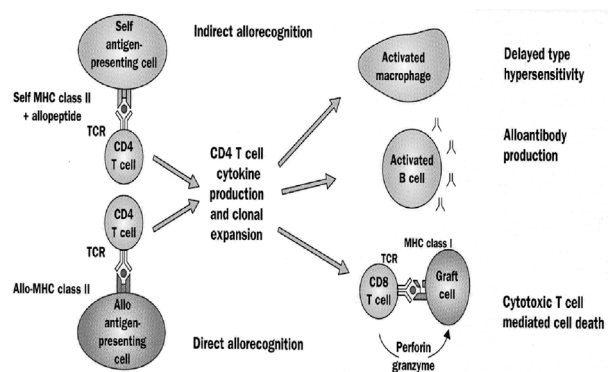
Na een orgaantransplantatie zal het immuunsysteem van de ontvanger vreemde antigenen van de donor herkennen waardoor een afstotingsreactie (rejectie) in gang wordt gezet. De donor-HLA-moleculen die hierbij de hoofdrol spelen, kunnen via twee wegen door het immuunsysteem van de ontvanger worden herkend (zie figuur 1). In de 'directe route' reageren de T-cellen van de ontvanger op de vreemde HLA-antigenen, die aanwezig zijn op het oppervlak van donorcellen. In de 'indirecte route' herkennen de T-cellen van de ontvanger peptiden van allo-HLA-moleculen die eerst door antigeenpresenterende cellen van de ontvanger zijn verwerkt en vervolgens op hun celoppervlak verschijnen in de peptidebindende groeve van het eigen HLA-molecuul. Om volledig geactiveerd te raken heeft de T-cel daarnaast een tweede, costimulator

Afdeling Bloedtransfusie en Transplantatie Immunologie¹ en Afdeling Nierziekten². Universitair Medische Centrum St Radboud, Nijmegen

Correspondentie: dr. I. Joosten, Afdeling Bloedtransfusie en Transplantatie Immunologie, Universitair Medische Centrum St Radboud, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen
E-mail: i.joosten@abti.umcn.nl

signaal nodig. Een bekende costimulatoire receptor op de T-cel is CD28, waarvoor CD80 en CD86 op de antigeen presenterende cel als ligand kunnen dienen. Ook de cytokines die geproduceerd worden door de antigeen presenterende cellen zijn als derde signaal nodig voor activatie en differentiatie van de T-cellen. De geactiveerde CD4+ helper-T-cellen produceren veel interleukine 2 en stimuleren zo de proliferatie van cytotoxische CD8+ T-cellen die vervolgens het transplantaat kunnen aanvallen met behulp van perforine en granzymen. De helper-T-cellen spelen daarnaast een belangrijke rol bij het aantrekken en activeren van macrofagen. In tweede instantie komt ook een humorale immuunrespons tot stand, waarin B-cellen met behulp van helper-T-cellen prolifereren en uitrijpen tot antistofproducerende plasmacellen. Circulerende antistoffen gericht tegen HLA-antigenen in het transplantaat kunnen cellulose veroorzaken via complementactivatie en het aantrekken en activeren van granulocyten en NK-cellen. Ook het stollingssysteem kan worden geactiveerd, hetgeen bij een heftige reactie aanleiding geeft tot intravasale stolling.

Op basis van deze immunologische principes zal er na orgaantransplantatie altijd resectie ontstaan, tenzij de transplantatie plaats vindt binnen een eenzijdige tweeling. Transplantatie is dan ook alleen maar mogelijk door de ontvanger te behandelen met immunosuppressieve medicijnen. Elders in dit tijdschrift is beschreven dat daarnaast met HLA-matching tussen donor en ontvanger, en antistofscreening bij de ontvanger, de kans op resectie zo klein mogelijk wordt gemaakt. Ondanks al deze preventieve maatregelen kan er echter toch resectie optreden, waarbij twee klinische vormen worden onderscheiden. Een 'acute resectie' treedt meestal op in de eerste drie tot zes maanden na transplantatie en kenmerkt zich door snelle achteruitgang van de transplantaatfunctie. De diagnose wordt gesteld met een transplantaatbiopsie, waarbij de bevindingen uiteraard kunnen verschillen per orgaan. Meestal wordt infiltratie van voornamelijk lymfoïde cellen gevonden in het parenchym van het orgaan en soms ook acute ontsteking van bloedvatwanden (endovasculitis). Bij de endovasculitis kunnen zowel de cellulaire component van de immuunrespons als antistoffen een belangrijke rol spelen. Een 'chronische resectie' kan op elk moment na transplantatie in gang worden gezet.



Figuur 1. Directe en indirecte route van alloherkenning en activatie van de allo-respons. Bron: Denton MD, Magee CC, Sayegh MH. Immunosuppressive strategies in transplantation. Lancet 1999; 353: 1083-1091.

Deze vorm van afstoting wordt waarschijnlijk veroorzaakt door de vorming van cytotoxische antistoffen en zij manifesteert zich door geleidelijke vermindering van de transplantaatfunctie. In het transplantaatbiopt vindt men vaak vernauwing van de bloedvaten door intimaproliferatie en -fibrose, met daarnaast fibrose en atrofie van het parenchym. Bij de meeste vormen van orgaantransplantatie is de chronische resectie de belangrijkste oorzaak van transplantaatverlies.

Immunosuppressieve therapie versus tolerantie

De afgelopen jaren is de effectiviteit van de immunosuppressieve therapie sterk verbeterd waardoor de overleving van de getransplanteerde organen is toegenomen. Zo is het percentage nierontvangers dat na 1 jaar nog in leven is met een functionerend transplantaat momenteel 90-95%. Op de langere termijn gaan er echter toch nog veel transplantaten verloren, vooral door chronische afstoting, maar ook door overlijden van de ontvanger met een functionerend transplantaat. Naast het feit dat immunosuppressiva dus lang niet altijd in staat zijn om chronische resectie te voorkomen, hebben ze ook vervelende bijwerkingen. Door de niet-specifieke onderdrukking van het immuunsysteem hebben ze als gemeenschappelijk nadeel dat de afweer tegen infecties en kwaadaardige aandoeningen verminderd wordt. Hoewel het relatieve risico op vrijwel alle maligniteiten na transplantatie verhoogd is, geldt dit vooral voor maligniteiten waarbij virussen een rol spelen in de pathogenese, zoals huid- en cervixtumoren, maligne lymfomen en Kaposi-sarcoom. Verder hebben de verschillende immunosuppressiva een aantal individuele bijwerkingen, zoals hypertensie, diabetes mellitus, en nefrotoxiciteit. In de praktijk wordt in de eerste 6 tot 12 maanden na transplantatie vrij intensieve immunosuppressie toegepast. Meestal betreft het een combinatie van een calcineurineremmer (cyclosporine of tacrolimus), een antiproliferatief middel (mycofenolzuur of azathioprine) en prednison. Alternatieve middelen zijn sirolimus en everolimus. In een aantal gevallen wordt direct na de transplantatie ook nog zogenaamde inductietherapie toegepast met monoklonale of polyklonale antistoffen tegen T-cellen. Wanneer er na deze eerste fase een stabiele situatie is bereikt, doet zich de vraag voor of de immunosuppressie niet kan worden verminderd om de gevreesde bijwerkingen te voorkomen. De ervaring heeft geleerd dat het bij een aanzienlijk deel van de patiënten zonder problemen lukt om de intensiteit van de immunosuppressie te verminderen door bijvoorbeeld een, of zelfs twee, van de drie medicamenten te staken. Soms komt het voor dat de behandeling met immunosuppressiva volledig wordt gestaakt, bijvoorbeeld vanwege ernstige bijwerkingen zoals maligniteiten, of omdat de patiënt niet langer therapietrouw is. Hoewel in deze situaties vaak resectie ontstaat, zijn er interessant genoeg ook patiënten beschreven bij wie de immunosuppressie volledig gestaakt kon worden zonder dat er afstoting optrad (1, 2). In feite werd in deze bijzondere gevallen voldaan aan de definitie van donorspecifieke tolerantie: zonder algemene onderdrukking van het immuunsysteem treedt geen afstoting van het donororgaan op, terwijl het vermogen om op andere antigenen

zoals ziekteverwekkers te reageren intact is. Er zijn wel enkele immunologische mechanismen bekend die theoretisch aan het ontstaan van donorspecifieke tolerantie bij kunnen dragen. Op de eerste plaats kan het transplantaat door bepaalde aanpassingsmechanismen minder vatbaar zijn geworden voor beschadiging door het immuunsysteem van de ontvanger (3, 4). Ook kunnen cellen van het immunologische systeem van de donor met het orgaan meegekomen zijn en binnen het immuunsysteem van de ontvanger bijdragen aan de ontwikkeling van tolerantie voor donorantigenen (5), analoog aan de inductie van centrale tolerantie voor eigen antigenen (vide infra). Tenslotte is er binnen de immunologie een concept waarbij niet zo zeer wordt uitgegaan van het verschil tussen 'vreemd' en 'zelf', maar van het onderscheid tussen gevaarlijk en onschuldig (6). Een recent getransplanteerd orgaan wordt in dat concept als gevaarlijk waargenomen omdat er uit de operatiewond en tengevolge van ischemie-reperfusieschade ontstekingsmediatoren vrijkomen. Een langdurig aanwezig transplantaat zonder ontstekingsverschijnselen zal daarentegen door het lichaam als onschuldig beschouwd kunnen worden en niet afgestoten worden. Het tot stand komen van een netwerk van regulatorische systemen zou in die laatste situatie een belangrijke rol kunnen spelen.

In de dagelijkse praktijk verkeren we bij een individuele patiënt echter in volstrekte onzekerheid over de vraag of het veilig is om de immunosuppressie te reduceren. Studies bij grotere groepen patiënten laten zien dat vermindering van de immunosuppressie in veel gevallen goed gaat, maar anderzijds ook het risico op acute en chronische afstoting onvermijdelijk verhoogt (7). Een gunstige uitzondering vormen de ontvangers van een nier van een HLA-identieke broer of zus, waarbij met weinig immunosuppressie kan worden volstaan. Anderzijds leidt chronisch gebruik van de immunosuppressieve medicijnen bij veel patiënten tot irreversibele bijwerkingen. Zo zijn er hart-, long- en levertransplantatiepatiënten die na jarenlang gebruik van calcineurineremmers een zodanig ernstige nierinsufficiëntie kregen dat ze ook een niertransplantatie nodig hadden (8). Er bestaat daardoor een enorme behoefte aan technieken waarmee kan worden vastgesteld of bij een individuele patiënt de immunosuppressie wel of niet succesvol kan worden vermindert.

Het actief tot stand brengen van tolerantie

Wanneer donorspecifieke tolerantie min of meer spontaan tot stand kan komen na een transplantatie, en de mechanismen die daaraan bijdragen zouden begrijpen, zou het uiteraard ook mogelijk moeten zijn om tolerantie actief te induceren. In diersystemen wordt dit al meer dan 50 jaar onderzocht, en daarbij heeft men uiteraard kunnen profiteren van de toegenomen kennis van de mechanismen waarover het lichaam bezit om tolerantie voor eigen antigenen te ontwikkelen. In grote lijnen kent het immuunsysteem twee belangrijke wegen om tolerantie tegen een gegeven (zelf-)antigeen te bewerkstelligen. 1. Centrale tolerantiemechanismen, waarbij potentieel autoreactieve T-cellen en B-cellen respectievelijk in de thymus en het beenmerg via geïnduceerde celdood uitgeschakeld worden.

2. Perifere tolerantiemechanismen, waarbij autoreactieve T- en B-cellen die aan de centrale selectieprocessen ontsnapt zijn, alsnog onschadelijk gemaakt worden door deletie, gebrek aan mogelijkheden tot herkenning, inductie van hyporesponsiviteit (anergie), of door het remmend effect van zogenaamde suppressor- of regulatorcellen. In experimentele transplantatiemodellen is van beide mechanismen gebruik gemaakt. Zo heeft men centrale tolerantie kunnen induceren door donorantigenen te presenteren in de thymus via directe intrathymale injectie, of door transplantatie van beenmerg van de donor waarna er migratie van donorcellen naar de thymus optreedt (9). Van de mechanismen die perifere tolerantie induceren hebben vooral de remming van de costimulatie, met daardoor inductie van anergie, en de regulatorische T-cellen (Treg) veel aandacht gekregen. De afgelopen jaren is er veel kennis vergaard over de wijze waarop Treg in de thymus van nature ontstaan, buiten de thymus kunnen worden geïnduceerd, en ex-vivo voor therapeutische doeleinden vermeerderd kunnen worden (10).

Inmiddels hebben de eerste succesvolle tolerantie-inducerende strategieën ook hun weg richting klinische toepassing gevonden. Met costimulatie-blokkerende middelen kon bij primaten zonder toepassing van andere immunosuppressiva langdurige transplantaatoverleving worden verkregen (11). Bij mensen zijn deze 'biologicals' alleen in combinatie met conventionele immunosuppressiva gebruikt, omdat men toch niet volledig op de nieuwe middelen durft te vertrouwen en er natuurlijk veel te verliezen is bij de huidige hoge transplantaatoverlevingscijfers. Tegelijkertijd schuilt daar ook een addertje onder het gras omdat bijvoorbeeld de functie van Treg op verschillende wijze beïnvloed kan worden door immunosuppressieve geneesmiddelen. Zo kunnen calcineurineremmers (bijv. ciclosporine) de expansie en functie van Treg verminderen, terwijl sirolimus dit nadelige effect niet heeft (12, 13). Recent is er veel aandacht geweest voor de resultaten die met gecombineerde nier- en beenmergtransplantaties werden bereikt. Bij een kleine groep patiënten heeft men aangetoond dat het na een dergelijke behandeling mogelijk was de immunosuppressie volledig te staken (14). Voorlopig dient een dergelijke behandeling mede vanwege de zware immunosuppressie rondom de beenmergtransplantatie echter nog als experimenteel te worden beschouwd.

Om de tolerantie-inducerende behandelingen verder in de kliniek te kunnen ontwikkelen is het extreem belangrijk om de immunorespons tegen donorantigenen en tegen ziekteverwekkers goed te kunnen monitoren. Net zoals voor de beantwoording van de eerder aan de orde gekomen vraag of de immunosuppressie na transplantatie verminderd kan worden is ook bij de introductie van nieuwe immunomodulerende therapieën dus een sterke behoefte aan biomarkers die inzicht verschaffen in de immunologische status van de ontvanger.

Definiëring van biomarkers

Het definiëren van betrouwbare non-invasieve biomarkers, te gebruiken voor de individuele afstemming van de ingestelde therapie is van groot belang. Hiermee

zou zowel over- als onderdosering van immunosuppressiva voorkomen kunnen worden en is het mogelijk de effectiviteit van nieuwe tolerantie-inducerende therapieën vast te stellen. Antistofidentificatie voorafgaand aan transplantatie is essentieel in het voorkomen van hyperacute resectie, en wordt steeds meer ook na transplantatie toegepast om de immunologische reactie op het transplantaat te volgen. Meting van de cellulaire immuunrespons heeft in de standaarddiagnostiek nog geen vaste plaats, maar wordt steeds belangrijker geacht wanneer het gaat om het individualiseren van immunosuppressieve regimes en bij de monitoring van experimentele trials op het gebied van tolerantie-inductie. Er wordt gezocht naar een simpele, reproduceerbare en betrouwbare techniek, die slechts één monster vereist dat op niet/weinig-invasieve wijze verkregen kan worden (bloed, urine). De uitkomst van de meting moet voorspellend zijn voor een van de regulier toegepaste klinische eindpunten geassocieerd met transplantaatverlies. Deze omvatten o.a acute resectie bewezen door biopsie, en verlies van orgaanfunctie. Hoewel er nog geen praktisch bruikbare, eenduidige biomarkers zijn gedefinieerd, is er met diverse technieken toch de nodige vooruitgang geboekt. Elders in dit tijdschrift wordt uitvoerig aandacht besteed aan de voorspellende waarde van antistoffen gevormd naar aanleiding van de transplantatie. Hier zullen we ons richten op markers die een maat zijn voor de cellulaire respons en kunnen worden verkregen door niet- of minimaal-invasieve technieken. Bloed en urine vormen hiervoor de basis. De diverse technieken zijn samengevat in tabel 1.

Fenotypische T-celanalyse

Oppervlaktemarkeranalyse van T-celsubsets

Zowel bij transplantataafstoting als bij het optreden van tolerantie kan verwacht worden dat er een actieve reactie van het immuunsysteem is opgetreden. Dit zou zich lokaal, maar mogelijk ook perifeer kunnen afspiegelen in de samenstelling van de T-celpopulatie. Het is inmiddels algemeen geaccepteerd dat de balans tussen regulatoire T-cellen en effector-T-celpopulaties van essentieel belang is voor de uitkomst van een respons. Verstoringen in die balans kunnen snel tot immunopathologie c.q. resectie leiden. De activatiestatus van T-cellen, en de verhoudingen tussen T-celsubsets (zoals bijvoorbeeld de balans tussen regulatoire en effectorcellen) kunnen onderliggende processen weerspiegelen.

In een recente studie, waarbij immunosuppressie volgens een standaard protocol werd afgebouwd, bleken twee markers (gemeten voorafgaande aan de reductie van immunosuppressie) geassocieerd te zijn met succesvolle afbouw van immunosuppressie: een lage ratio van memory-CD4+ T-cellen versus regulatoire T-cellen en afname van het percentage naïeve T-cellen in de tijd na transplantatie. Op basis van combinatie van deze markers kon resectie voorspeld worden met een sensitiviteit van 100% en een specificiteit van 76% ((15) en figuur 2). Confirmatie in een tweede cohort is essentieel voor verdere validatie van deze bevinding.

Dat de balans tussen T-celsubsets inderdaad van belang kan zijn wordt ook ondersteund door bevindingen

Tabel 1. Overzicht van monitoringtechnieken

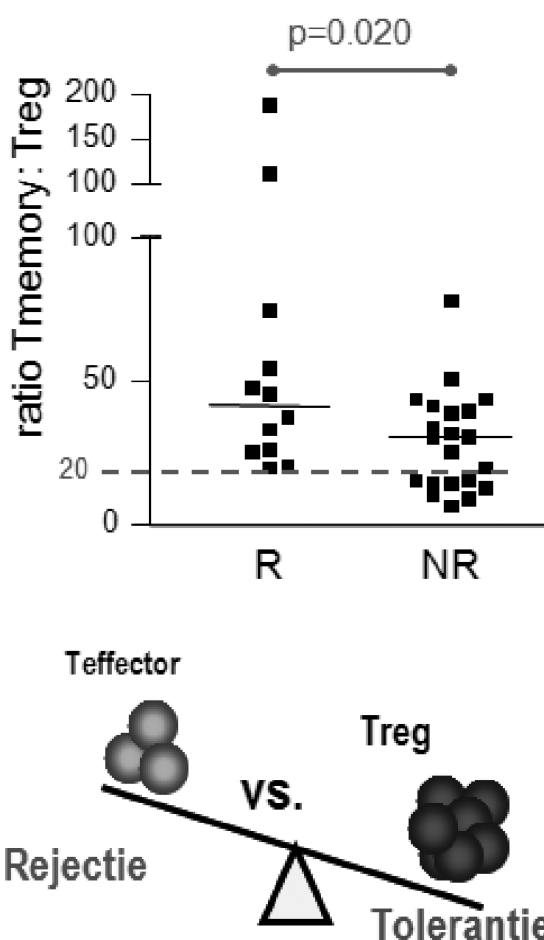
Monitoringstechnieken	Methode	Potentiële biomarker
Cellulaire respons		
Fenotype	Flowcytometrie	Oppervlaktemarkers: activatie / homing / adhesie / functiegerelateerd
Subsetanalyse		
Specificiteit	Flowcytometrie TcR Vbeta mAb tetrameren	Oligoklonaliteit donorspecificiteit
	TcLand TcR CDR3 repertoire	Oligoklonaliteit
Functie	Limiting dilution analysis ³ H-thymidine, CFSE-labeling, cytotox-assay (⁵¹ Cr-europium)	Precursorfrequentie van cytotoxische T-cellen / helper-T-cellen
Donorreactiviteit omvang en aard	ELISPOT ELISA Luminex Proliferatie-suppressieassays Transvivo-DTH	Cytokineprofiel T-celactivatie - Treg-capaciteit Donorreactive helper-T-cel- activiteit
Oplosbare factoren	ELISA	Oplosbare CD-markers
Eiwit- en genexpressie	Microarrayanalyse (genomics, transcriptomics, proteomics)	Eiwit - genfingerprints

gen van anderen (16), die lieten zien dat verlaagde Treg-aantallen waren geassocieerd met het optreden van acute resectie bij levertransplantatiepatiënten. Mogelijk was deze verlaging echter veroorzaakt door de additionele dosis immunosuppressie die verstrekt was, in dit geval methylprednisolon. Het immunosuppressivum zou aldus een negatieve invloed op de Treg-populatie kunnen hebben, en de respons wordt in dat geval alleen beteugeld als er ook een succesvolle onderdrukking van de effector-T-celpool plaatsvindt. Interessant zijn de studies uitgevoerd met materiaal van patiënten die 'operationeel tolerant' zijn. Bij niertransplantatiepatiënten was de frequentie van Treg vergelijkbaar met die van gezonde individuen (17). Bij levertransplantatiepatiënten bleek dat tolerantie geassocieerd was met een verhoogd percentage Treg (18). Deze uitkomsten zijn vooralsnog lastig te duiden en additionele studies zijn noodzakelijk.

T-celreceptor-V β -repertoire

Een T-cel ontleent zijn specificiteit aan de herkenning van antigeen via zijn zogenaamde T-celreceptor (TCR). Inherent aan de specificiteit zijn deze TCRs sterk polymorf en een enkel individu heeft binnen zijn

T-celrepertoire miljoenen varianten, die gerangschikt kunnen worden binnen families. Dit wordt betiteld als een polykloonaal repertoire. De herkenning van donorantigeen kan leiden tot proliferatie en expansie van een aantal klonen. Deze oligoklonale expansie binnen het T-celrepertoire kan met diverse technieken zichtbaar worden gemaakt. Flowcytometrische analyse met antistoffen specifiek voor verschillende TcR β -ketens leverde relatief weinig resultaten op, maar recent is er een gevoeliger techniek ontwikkeld, de zogenaamde 'T-cell landscape' (TcLand)-analyse. Deze techniek analyseert de (variabele) lengtes van de antigeenbindende 'TCR complementary determining region 3' (CDR3) in de totale T-celpopulatie en geeft daarmee indirect informatie over de eventuele expansie van individuele T-celklonen. Recente studies die gebruik maakten van de TcLand-techniek hebben aangetoond dat er oligoklonale expansie en een veranderd V β -repertoire aanwezig is in zowel niertransplantatiepatiënten met chronische resectie als bij patiënten die zogenaamd operationeel tolerant zijn (19). Echter, vooralsnog is er onvoldoende basis om deze techniek routinematig toe te passen om de uitkomsten van transplantatie te voorspellen.



Figuur 2. De ratio tussen memory CD4+ T cellen en regulatoire T cellen is significant hoger in patiënten die na afbouw van immunosuppressie resectie-episoden vertonen. Succesvolle afbouw gaat samen met een gunstige balans van Treg en memory T cellen. Lage ratio's Tmem: Treg (<20) werden alleen gezien bij non-rejectors (15).

Allo-antigen specificiteit

Specifieker dan het bestuderen van TCR-receptor families is het analyseren van de aanwezigheid van (allo-)antigeenspecifieke T-cellen. Fluorescent-gelabelde majorhistocompatibility-complex (MHC)/peptidetetrameren worden al langere tijd succesvol ingezet om antigeenspecifieke T-cellen aan te tonen met flowcytometrie. Deze techniek is vooral succesvol bij het aantonen van virusspecifieke T-cellen waarbij zowel het immunogene peptide als het MHC-restrictie-element bekend zijn. Zo is gebruikmakend van cytomegalovirus (CMV-) peptide-tetrameren aangetoond dat de frequentie van CMV-reactieve T-cellen bij longtransplantatiepatiënten negatief gecorreleerd is met het risico op manifeste CMV-ziekte (20).

Alhoewel succesvol bij het aantonen van antivirale responsen, is het aantonen van alloreactieve T-cellen op deze wijze vooralsnog een stap te ver. Onvoldoende kennis van de immunogene peptiden en hun betreffende restrictie-element, samen met de breedte van de allorespons, maken deze methode voor dit doel minder geschikt. Het aantonen van alloreactieve T-cellen gericht tegen zogenaamde minor antigenen is makkelijker omdat daar zowel peptide als het autologe HLA-restrictie-element bekend zijn. Bij stamceltransplantatie is daar al succesvol gebruik van gemaakt.

Functionele analyse

Gemengde lymfocytenkweek en T-celfrequentiebepaling

De standaardtest om in vitro T-celalloreactiviteit uit te lezen is de zogenaamde gemengde lymfocytenkweek. Hierbij worden perifere bloedcellen (PBMC) of gezuiverde T-celfracties samen met een bestraalde PBMC of een dendritische cel populatie afkomstig van een tweede individu (de beoogde donorpartij of een zogenaamde derde partij) in kweek gebracht gedurende

meerdere dagen. Proliferatie van de T-cellen kan gemeten worden via de inbouw van ^3H -thymidine, of via flowcytometrie wanneer de responderpopulatie voorafgaand aan de kweek gelabeld wordt met een specifieke kleurstof (CFSE). Tevens kan in een dergelijke setting cytokineproductie bepaald worden via meting in het kweeksupernatant, intracellulaire aankleuring op de flowcytometer, of met behulp van immunospotting. De cytotoxische functie kan na een initiële activatieperiode met behulp van gelabelde targets geanalyseerd worden.

Om de frequentie van de reactieve T-cellen te meten is het mogelijk deze test uit te breiden door in plaats van een vaste verhouding responder- versus stimulatorcellen een seriële verdunning in te zetten, de zogenaamde 'limiting dilution analysis' (LDA). Dit wordt toegepast voor het bepalen van de frequentie van voorlopers van cytokineproducerende T-helpercellen of van cytotoxische T-cellen. Correlaties tussen pretransplantatievoorloperfrequenties en resectie-episodes zijn vastgesteld bij zowel hart- als niertransplantatiepatiënten (21, 22). Ook werd gevonden dat lage frequenties van voorlopers van donorspecifieke cytotoxische T-cellen een maat zijn voor het succesvol verminderen van immunosuppressie (23). De arbeidsintensieve uitvoering en beperkte reproduceerbaarheid maken de brede toepassing van deze testen echter lastig.

Kwantificering van cytokine producerende T-cellen

Cytokineproductie door alloreactieve T-cellen kan worden gemeten in kweeksupernatanten van gemengde lymfocytenkweek met ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), met op Luminex gebaseerde technieken, of door intracellulaire aankleuring op de flowcytometer. Het voordeel van de flowcytometrische analyse is dat er tegelijkertijd meerdere markers geanalyseerd kunnen worden en er zo een beter totaalbeeld van de responderende celpopulatie verkregen wordt. Bij niertransplantatiepatiënten is met intracellulaire aankleuring van IFN- γ aangetoond dat het aantal donorreactieve T-cellen hoger is bij patiënten met acute resectie en achteruitgang van nierfunctie (24).

De meest gevoelige, maar niet altijd even handzame methode om cytokineproductie te meten is de 'enzyme-linked immunospot' (ELISPOT)-assay, waarmee cytokine producerende cellen na allostimulatie op individueel niveau kunnen worden gedetecteerd. Er is met deze techniek vastgesteld dat de ratio tussen IFN- γ en IL-10-producerende T-cellen hoger is tijdens acute resectie na niertransplantatie (25).

Een interessante nieuwe toepassing van de IFN- γ -ELISPOT is het gebruik van deze test als screeningsassay, voorafgaand aan transplantatie. Hierbij worden PBMC van patiënten op de wachtlijst getest tegen een panel van HLA-getypeerde bloeddonoren ('panel of reactive T cell assay'; PRT), vergelijkbaar met de huidige bepaling van panelreactieve antistoffen (PRA). In een retrospectieve single centerstudie, bleek een lage PRT geassocieerd met een kleinere kans op resectie na niertransplantatie (26).

In de standaardopzet van de gemengde lymfocytenkweek wordt vooral de directe allorespons gemeten,

waarbij de T-celreceptor van de responder T-cel direct bindt aan het vreemde (allo-)HLA-molecuul aanwezig op de stimulatorcel van de donor. Bij het ontstaan van chronische afstoting is de tweede vorm van alloherkenning, de indirecte route, van meer belang. Het is echter erg moeilijk deze respons betrouwbaar te meten (27). Door in een ELISPOT-assay de respons op peptides afkomstig van donor-HLA te meten, kon bij niertransplantatiepatiënten een correlatie tussen indirecte alloreactiviteit en het optreden van resectie worden vastgesteld (28).

Meting van regulatoire T-celactiviteit

Het vermogen van regulatoire T-cellen om de activiteit van effector-T-cellen te onderdrukken is lastig te meten, vooral vanwege het lage aantal Treg in het perifere bloed. Veel studies hebben daarom gebruik gemaakt van een testopzet waarbij deze cellen uit het bloed werden verwijderd, waarna de respons op donorantigenen van de resterende populatie werd vergeleken met die van de totale populatie, de zogenaamde depletieassay. Met deze indirecte analyse van Treg-activiteit is aangetoond dat Treg in staat zijn om antidonorresponsen na transplantatie te reguleren (29, 30), maar een associatie tussen Treg-activiteit en resectie is nog niet aangetoond. Om het probleem van de indirecte analyse te vermijden is er een methode ontwikkeld om Treg ex vivo te expanderen. Hiermee kunnen voldoende Treg gegenereerd worden met behoud van karakteristieke eigenschappen en kan hun activiteit direct gemeten worden. Deze methode is gebruikt om aan te tonen dat na behandeling met daclizumab (anti-CD25-mAb) een functionele Treg-populatie behouden blijft (31). Daarnaast kon zo worden vastgesteld dat de Treg-activiteit niet voorspellend is voor later optredende resectie, wanneer immuunsuppressie wordt afgebouwd (15).

Trans-vivo vertraagd type overgevoeligheidsreactie

De vertraagd type overgevoeligheidsreactie (DTH) is een functionele maat voor T-celactiviteit, en met name die van de CD4+ helper-T-cel. Het beste voorbeeld van de toepassing van deze reactie in de humane diagnostiek is de tuberculine-reactie. Door het injecteren van kleine hoeveelheden antigeen onder de huid en het meten van de zwelling die optreedt als respons hierop wordt inzicht verkregen over voorafgaande immunisatie. Deze test is recent op innovatieve wijze aangepast voor transplantatiedoeleinden. De mononucleaire celfractie uit perifeer bloed van de patiënt wordt gemengd met donorantigenen (celextracten) of controles en geïnjecteerd onder de huid van het oor van een immuundeficiënte muis. De oorzwellings wordt 24 uur later gemeten en is een maat voor de respons op donorantigeen door cellen van de patiënt. Met deze test is men in staat gebleken patiënten te identificeren waarbij immuunsuppressie veilig afgebouwd kan worden (32, 33). Hoewel deze techniek dus veel inzicht lijkt te verschaffen in de in-vivodonorreactiviteit, heeft zij een sterk experimenteel karakter en is zij niet echt geschikt voor routinematig klinisch gebruik, vooral vanwege de technische moeilijkheidsgraad en het gebruik van proefdieren.

Oplosbare factoren als biomarker

Er bestaan meerdere studies naar de relatie tussen de concentratie van oplosbare markers en het optreden van resectie. Meest veelbelovend in deze categorie lijkt het oplosbaar CD30 (sCD30). CD30 behoort tot de tumornecrosefactorsuperfamilie en wordt o.a. tot expressie gebracht op geactiveerde T-cellen. Activatie leidt tevens tot het vrijkomen van sCD30 in het bloed. Verhoogde spiegels van sCD30 voorafgaand aan of vlak na niertransplantatie zijn gecorreleerd aan het optreden van resectie en later transplantaatverlies (34, 35). Ook hier is bevestiging nodig in additionele, meer uitgebreide studies. De voorspellende waarde van sCD30-spiegels bij levertransplantatie is vooralsnog niet bemoedigend (36).

Analyse van eiwit- en genprofielen (proteomics, genomics)

De uitgebreide ontwikkelingen op het gebied van de analyse van genexpressieprofielen met behulp van microarraytechnologie heeft ook in de transplantatiewereld veel weerklank gevonden. Inmiddels zijn associatiestudies uitgevoerd met gebruik van transplantaatbiopten, perifere bloedcellen, en urinesedimenten, waarbij getracht werd brede expressieprofielen, of de expressie van een set van individuele genen, te correleren met resectie-episoden en/of tolerantiestatus (37, 38). De eerste studie vond onder andere een associatie tussen enerzijds de expressie van het gen voor CD20 (B-celmarker en target van het succesvol toegepaste middel rituximab) en anderzijds steroïdresistente resectie en vroeg niertransplantaatverlies. Verder is aangetoond dat verhoogde genexpressie van granzyme B en perforine in T-cellen uit het perifere bloed voorafgaat aan acute resectie na niertransplantatie (39). Bij harttransplantatiepatiënten werd vastgesteld dat met de genexpressie van T-cel- en NK-celactivatiemarkers (perforine/granulysine), en van erytropoëse-gerelateerde factoren gedifferentieerd kan worden tussen rejectors en non-rejectors (40).

Naast bloed is ook urine geschikt als bron om producten afkomstig van T-cellen te analyseren en het vormt daarmee een aantrekkelijk, niet-invasief alternatief voor bloedafname. In het urinesediment van niertransplantatiepatiënten werd mRNA voor granzym B en perforine aangetoond en het mRNA-niveau was geassocieerd met acute resectie-episoden (41). Tevens werd een associatie gevonden tussen FoxP3-mRNA-expressie in de urine en de reversibiliteit van acute resectie (42).

Een andere interessante benadering is het in kaart brengen van de immunusstatus van patiënten die zogenaamd operationeel tolerant zijn, d.w.z. waarbij het orgaan goed functioneert terwijl de immunosuppressie om een of andere reden is gestopt. Gezien het lage aantal patiënten waarbij deze vorm van tolerantie bereikt is, zijn er tot op heden slechts enkele rapporten die gegevens hierover beschrijven. Brouard en collega's (43) identificeerden bij niertransplantatiepatiënten een met tolerantie geassocieerde signatuur. Deze 'fingerprint' omvat 49 genen; downregulatie van T-cel-activatieroutes blijkt één van de belangrijke kenmerken te zijn. Tolerantie en chronische resectie konden

onderscheiden worden op basis van 33 van de 49 genen met een sensitiviteit van 99% en een specificiteit van 86%. Vooralsnog lijkt dit een veelbelovende benadering. Met betrekking tot tolerantie-inductie onderscheiden levertransplantaties zich van andere orgaantransplantaties doordat operationele tolerantie hierbij makkelijker tot stand komt. Mechanismen die daar een mogelijk een rol bij spelen zijn klonale deletie en actieve regulatie door Treg. Recent zijn genexpressiepatronen bestudeerd in een cohort van 80 operationeel tolerante levertransplantatiepatiënten. Ook hier bleek het mogelijk een specifieke signatuur te definiëren en waren vooral cellen geassocieerd met de aangeboren immunusrespons (NK-cellen en $\gamma\delta$ T-cellen) een dominante factor (44).

Samengevat leveren genexpressieprofielen belangrijke nieuwe inzichten op met betrekking tot het verloop van de immunusrespons na transplantatie en kunnen ze bijdragen aan de immunomonitoring van experimentele klinische trials. Het is nog te vroeg om deze testen in te zetten als betrouwbare biomarkers in de routinematige klinische setting.

Conclusies

Er zijn diverse laboratoriumtesten die elk voor zich een beeld kunnen geven van de immunusstatus van de patiënt na transplantatie. Single-centerstudies hebben relevante associaties laten zien tussen de uitkomsten van deze testen en klinische parameters. Echter, ondanks deze veelbelovende resultaten is er tot op heden nog geen test geïdentificeerd die op reproduceerbare, routinematige wijze ingezet kan worden om op individuele basis een betrouwbare voorspelling te doen met betrekking tot de uitkomst van een transplantatie of de mogelijkheid om immunosuppressieve medicatie veilig te verminderen. De transplantatie-immunoloog staat samen met de clinicus voor de uitdaging de komende jaren betrouwbare biomarkers te identificeren die het mogelijk maken immunosuppressieve regimes op individuele basis te ontwikkelen. Ook het faciliteren van klinische trials die gericht zijn op het induceren van tolerantie vraagt een nieuwe inzet van het laboratorium. Er is een aantal veelbelovende strategieën in gang gezet. Grootschalige retrospectieve en prospectieve multicenterstudies zijn nodig om deze strategieën verder te valideren. Recente Europese initiatieven zijn erop gericht deze vorm van samenwerking te bereiken.

Literatuur

1. Zoller KM, Cho SI, Cohen JJ, Harrington JT. Cessation of immunosuppressive therapy after successful transplantation: a national survey. *Kidney Int* 1980; 18: 110-114.
2. Burlingham WJ, Grailer AP, Fechner JH, Jr., Kusaka S, Trucco M, Kocova M, et al. Microchimerism linked to cytotoxic T lymphocyte functional unresponsiveness (clonal anergy) in a tolerant renal transplant recipient. *Transplantation* 1995; 59: 1147-1155.
3. Koene RA. The role of adaptation in allograft acceptance. *Kidney Int* 1989; 35: 1073-1086.
4. Lynch RJ, Platt JL. Accommodation in organ transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2008; 13: 165-170.

5. Starzl TE, Demetris AJ, Murase N, Ildstad S, Ricordi C, Trucco M. Cell migration, chimerism, and graft acceptance. *Lancet* 1992; 339: 1579-1582.
6. Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self. *Science* 2002; 296: 301-305.
7. Smak Gregoor PJ, Sevaux RG de, Ligtenberg G, Hoitsma AJ, Hene RJ, Weimar W, et al. Withdrawal of cyclosporine or prednisone six months after kidney transplantation in patients on triple drug therapy: a randomized, prospective, multicenter study. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1365-1373.
8. Stratta P, Canavese C, Quaglia M, Balzola F, Bobbio M, Busca A, et al. Posttransplantation chronic renal damage in nonrenal transplant recipients. *Kidney Int* 2005; 68: 1453-1463.
9. Fuchimoto Y, Huang CA, Yamada K, Shimizu A, Kitamura H, Colvin RB, et al. Mixed chimerism and tolerance without whole body irradiation in a large animal model. *J Clin Invest* 2000; 105: 1779-1789.
10. Kang SM, Tang Q, Bluestone JA. CD4+CD25+ regulatory T cells in transplantation: progress, challenges and prospects. *Am J Transplant* 2007; 7: 1457-1463.
11. Kirk AD, Burkly LC, Batty DS, Baumgartner RE, Berning JD, Buchanan K, et al. Treatment with humanized monoclonal antibody against CD154 prevents acute renal allograft rejection in nonhuman primates. *Nat Med* 1999; 5: 686-693.
12. Coenen JJ, Koenen HJ, Reissen E van, Hilbrands LB, Joosten I. Rapamycin, and not cyclosporin A, preserves the highly suppressive CD27+ subset of human CD4+CD25+ regulatory T cells. *Blood* 2006; 107: 1018-1023.
13. Coenen JJ, Koenen HJ, Reissen E van, Kasran A, Boon L, Hilbrands LB, et al. Rapamycin, not cyclosporine, permits thymic generation and peripheral preservation of CD4+CD25+ FoxP3+ T cells. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39: 537-545.
14. Kawai T, Cosimi AB, Spitzer TR, Tolkoff-Rubin N, Suthanthiran M, Saidman SL, et al. HLA-mismatched renal transplantation without maintenance immunosuppression. *N Engl J Med* 2008; 358: 353-361.
15. Kreijveld E, Koenen HJ, Cranenbroek B van, Reissen E van, Joosten I, Hilbrands LB. Immunological monitoring of renal transplant recipients to predict acute allograft rejection following the discontinuation of tacrolimus. *PLoS ONE* 2008; 3: e2711.
16. Demirkiran A, Kok A, Kwekkeboom J, Kusters JG, Metselaar HJ, Tilanus HW, et al. Low circulating regulatory T-cell levels after acute rejection in liver transplantation. *Liver Transpl* 2006; 12: 277-284.
17. Louis S, Braudeau C, Giral M, Dupont A, Moizant F, Robillard N, et al. Contrasting CD25hiCD4+T cells/FOXP3 patterns in chronic rejection and operational drug-free tolerance. *Transplantation* 2006; 81: 398-407.
18. Martinez-Llordella M, Puig-Pey I, Orlando G, Ramoni M, Tisone G, Rimola A, et al. Multiparameter immune profiling of operational tolerance in liver transplantation. *Am J Transplant* 2007; 7: 309-319.
19. Brouard S, Dupont A, Giral M, Louis S, Lair D, Braudeau C, et al. Operationally tolerant and minimally immunosuppressed kidney recipients display strongly altered blood T-cell clonal regulation. *Am J Transplant* 2005; 5: 330-340.
20. Sester U, Gartner BC, Wilkens H, Schwaab B, Wossner R, Kindermann I, et al. Differences in CMV-specific T-cell levels and long-term susceptibility to CMV infection after kidney, heart and lung transplantation. *Am J Transplant* 2005; 5: 1483-1489.
21. Hu H, Robertus M, Jonge JN de, Gmelig-Meyling FH, Meulen A van der, Schuurman HJ, et al. Reduction of donor-specific cytotoxic T lymphocyte precursors in peripheral blood of allografted heart recipients. *Transplantation* 1994; 58: 1263-1268.
22. Mast BJ van der, Besouw NM van, Kuiper P de, Vaessen LM, Smak Gregoor PJ, IJzermans JN, et al. Pretransplant donor-specific helper T cell reactivity as a tool for tailoring the individual need for immunosuppression. *Transplantation* 2001; 72: 873-880.
23. Besouw NM van, Mast BJ van der, Kuiper P de, Smak Gregoor PJ, Vaessen LM, IJzermans JN, et al. Donor-specific T-cell reactivity identifies kidney transplant patients in whom immunosuppressive therapy can be safely reduced. *Transplantation* 2000; 70: 136-143.
24. Korin YD, Lee C, Gjertson DW, Wilkinson AH, Pham TP, Danovitch GM, et al. A novel flow assay for the detection of cytokine secreting alloreactive T cells: application to immune monitoring. *Hum Immunol* 2005; 66: 1110-1124.
25. Boogaardt DE van den, Miert PP van, Vaal YJ de, Fijter JW de, Claas FH, Roelen DL. The ratio of interferon-gamma and interleukin-10 producing donor-specific cells as an in vitro monitoring tool for renal transplant patients. *Transplantation* 2006; 82: 844-848.
26. Poggio ED, Augustine JJ, Clemente M, Danzig JM, Volokh N, Zand MS, et al. Pretransplant cellular alloimmunity as assessed by a panel of reactive T cells assay correlates with acute renal graft rejection. *Transplantation* 2007; 83: 847-52.
27. Waanders MM, Heidt S, Koekkoek KM, Zoet YM, Doxidis II, Amir A, et al. Monitoring of indirect allorecognition: wishful thinking or solid data? *Tissue Antigens* 2008; 71: 1-15.
28. Najafian N, Salama AD, Fedoseyeva EV, Benichou G, Sayegh MH. Enzyme-linked immunosorbent spot assay analysis of peripheral blood lymphocyte reactivity to donor HLA-DR peptides: potential novel assay for prediction of outcomes for renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 252-259.
29. Salama AD, Najafian N, Clarkson MR, Harmon WE, Sayegh MH. Regulatory CD25+ T cells in human kidney transplant recipients. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1643-1651.
30. Velthuis JH, Mol WM, Weimar W, Baan CC. CD4+CD25 bright+ regulatory T cells can mediate donor nonreactivity in long-term immunosuppressed kidney allograft patients. *Am J Transplant* 2006; 6: 2955-2964.
31. Kreijveld E, Koenen HJ, Klasen IS, Hilbrands LB, Joosten I. Following anti-CD25 treatment, a functional CD4+CD25+ regulatory T-cell pool is present in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2007; 7: 249-255.
32. VanBuskirk AM, Burlingham WJ, Jankowska-Gan E, Chin T, Kusaka S, Geissler F, et al. Human allograft acceptance is associated with immune regulation. *J Clin Invest* 2000; 106: 145-155.
33. Carrodegua L, Orosz CG, Waldman WJ, Sedmak DD, Adams PW, VanBuskirk AM. Trans vivo analysis of human delayed-type hypersensitivity reactivity. *Hum Immunol* 1999; 60: 640-651.
34. Susal C, Pelzl S, Dohler B, Opelz G. Identification of highly responsive kidney transplant recipients using pretransplant soluble CD30. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1650-1656.
35. Wang D, Wu GJ, Wu WZ, Yang SL, Chen JH, Wang H, et al. Pre- and post-transplant monitoring of soluble CD30 levels as predictor of acute renal allograft rejection. *Transpl Immunol* 2007; 17: 278-282.
36. Truong DQ, Darwish AA, Gras J, Wieers G, Cornet A, Robert A, et al. Immunological monitoring after organ transplantation: potential role of soluble CD30 blood level measurement. *Transpl Immunol* 2007; 17: 283-287.
37. Sarwal M, Chua MS, Kambham N, Hsieh SC, Satterwhite T, Masek M, et al. Molecular heterogeneity in acute renal allograft rejection identified by DNA microarray profiling. *N Engl J Med* 2003; 349: 125-138.
38. Flechner SM, Kurian SM, Head SR, Sharp SM, Whisenant TC, Zhang J, et al. Kidney transplant rejection and tissue injury by gene profiling of biopsies and peripheral blood lymphocytes. *Am J Transplant* 2004; 4: 1475-1489.

39. Simon T, Opelz G, Wiesel M, Ott RC, Susal C. Serial peripheral blood perforin and granzyme B gene expression measurements for prediction of acute rejection in kidney graft recipients. *Am J Transplant* 2003; 3: 1121-1127.
40. Deng MC, Eisen HJ, Mehra MR, Billingham M, Marboe CC, Berry G, et al. Noninvasive discrimination of rejection in cardiac allograft recipients using gene expression profiling. *Am J Transplant* 2006; 6: 150-160.
41. Li B, Hartono C, Ding R, Sharma VK, Ramaswamy R, Qian B, et al. Noninvasive diagnosis of renal-allograft rejection by measurement of messenger RNA for perforin and granzyme B in urine. *N Engl J Med* 2001; 344: 947-954.
42. Muthukumar T, Dadhania D, Ding R, Snopkowski C, Naqvi R, Lee JB, et al. Messenger RNA for FOXP3 in the urine of renal-allograft recipients. *N Engl J Med* 2005; 353: 2342-2351.
43. Brouard S, Mansfield E, Braud C, Li L, Giral M, Hsieh SC, et al. Identification of a peripheral blood transcriptional biomarker panel associated with operational renal allograft tolerance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 15448-15453.
44. Martinez-Llordella M, Lozano JJ, Puig-Pey I, Orlando G, Tisone G, Lerut J, et al. Using transcriptional profiling to develop a diagnostic test of operational tolerance in liver transplant recipients. *J Clin Invest* 2008; 118: 2845-2857.

Summary

Joosten I, Hilbrands LB. Graft tolerance: does it exist and how can we measure it? Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2009; 34: 26-34

Histocompatibility testing for the prevention of graft rejection has historically focused on pre-transplant analysis of immune parameters. The optimal selection of suitable donor-recipient pairs by HLA-matching and extensive antibody screening has received full attention and has, together with improved and novel immunosuppressive regimens, indeed resulted in improved graft survival. However, the required long-term use of immunosuppressive agents has a clear down-side, because of severe side-effects. Tailor-made individual immunosuppression and the active pursuit of graft tolerance are important new developments in clinical transplantation. For these strategies to be successfully exploited, the support of diagnostic immunomonitoring tools is a pre-requisite. Here, we will briefly explain the immunological mechanisms behind graft rejection, and the role of tolerance induction for the prevention thereof. Then, we will provide an overview of the currently available diagnostic tools to monitor immune status and their potential as biomarker for graft rejection versus tolerance.

Key words: immune tolerance; organ transplantation; immune monitoring; graft rejection; immunosuppression; T cell, cytokine