

Transplantační imunita

Protinádorová imunita

Lukáš Kubala

kubalal@ibp.cz

Transplantační imunita

Rozdělení trasplantací podle příbuznosti příjemce

Autologní transplantace (Autograft)

- transplantace štěpu (graftu, transplantátu) identickému jedinci
- např. transplantace kůže v rámci jednoho jedince, autotransfúze vlastní krve

Isogenní nebo syngenní transplantace (Isograft nebo Syngraft)

- transplantace štěpu jinému, avšak geneticky identickému jedinci
- např. transplantace mezi jednovaječnými dvojčaty nebo jedinci imbredního kmene

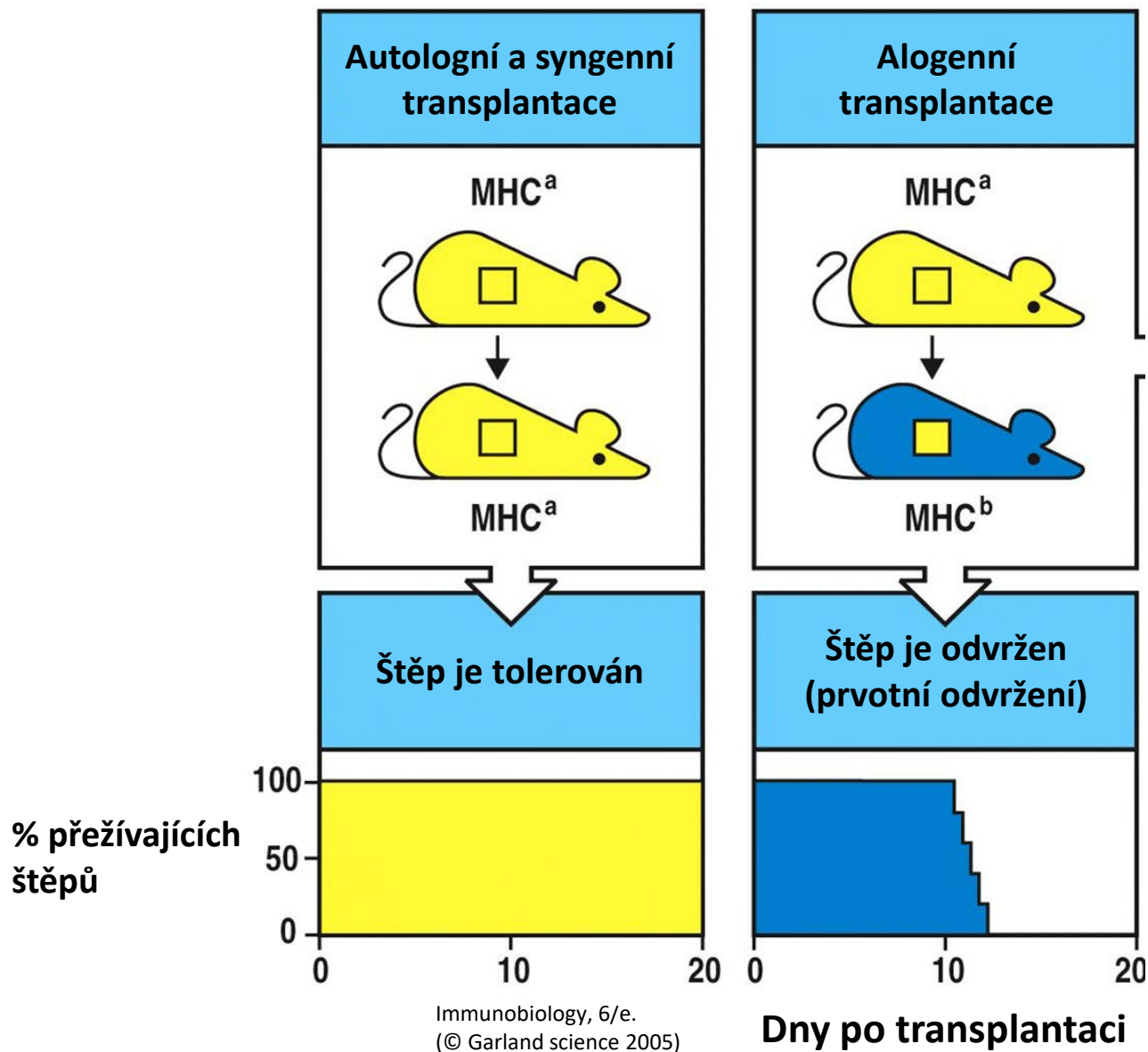
Alogenní transplantace (Alograft)

- transplantace štěpu geneticky odlišnému jedinci stejného druhu

Xenogenní transplantace (Xenograft)

- transplantace štěpu mezi jedinci odlišného druhu

Tolerance štěpu a odvržení štěpu



Odvržení (rejekce) štěpu

Klíčovou roli hrají **T lymfocyty**, které indukují komplexní imunitní odpověď na cizorodý štěp.

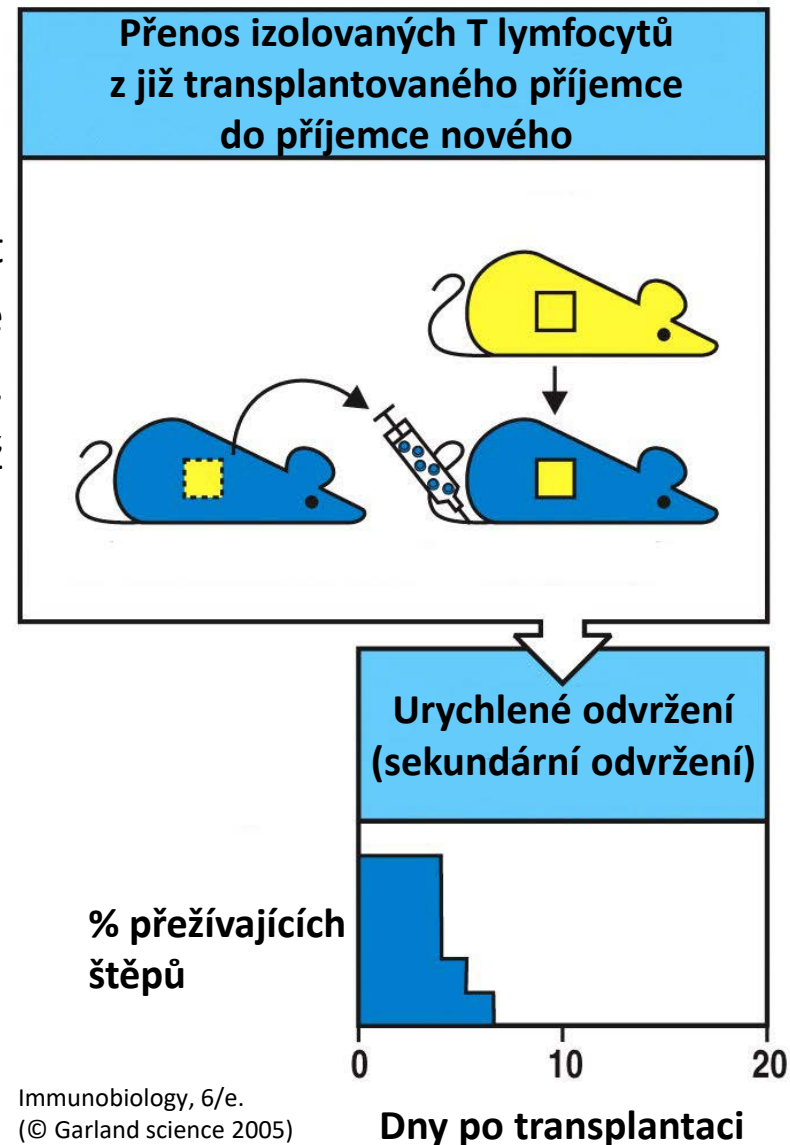
Aloreaktivita T lymfocytů

Schopnost T lymfocytů příjemce rozeznávat cizorodé buňky dárce na základě odlišné alelické formy MHC antigenů, případně jiných antigenů. Cizorodé MHC antigeny jsou schopny aktivovat až 5% celkového počtu klonů T lymfocytů příjemce.

U „bez-tymových“ jedinců nedochází k indukci rejekce.

Odstranění T lymfocytů z organismu navozuje toleranci ke štěpům.

Přenos senzitivity ke štěpům z dárce do jedince, který se s daným štěpem nesetkal pomocí T lymfocytů.



Odvržení štěpu závisí na shodě povrchových antigenů (tzv. histokompatibilitě)

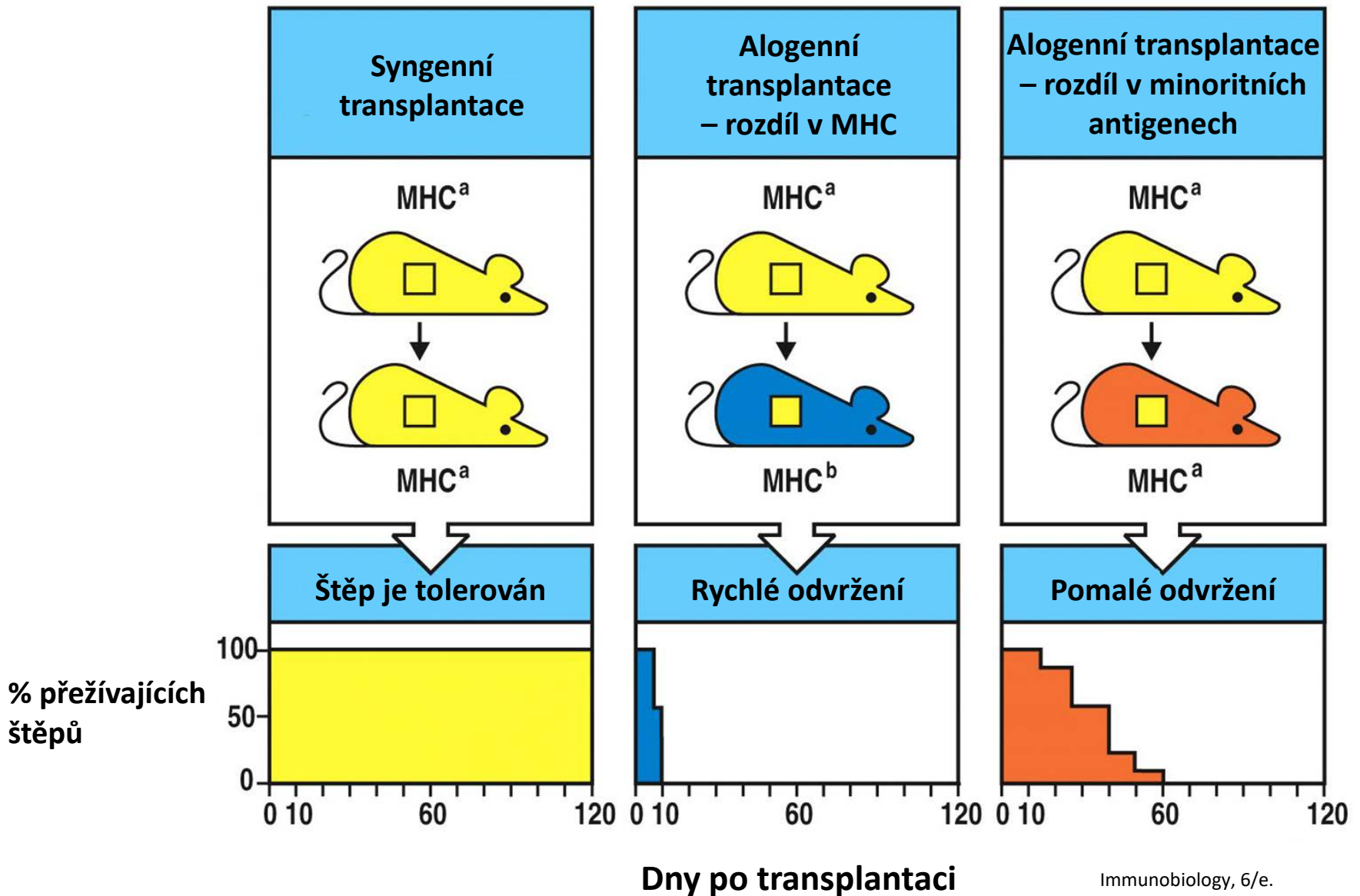
Antigeny hlavního histokompatibilního komplexu (MHC antigeny) = antigenní struktury klíčové pro indukci odvržení štěpu

***Myši** – antigeny komplexu H-2 kódované geny na chromozómu 17;
rozlišujeme geny MHC třídy I (K, D, L) a MHC třídy II (I)*

***Člověk** – antigeny komplexu HLA kódované geny na chromozómu 6;
rozlišujeme geny MHC třídy I (A, B, C) a MHC třídy II (DP, DQ, DR); každý gen
má celou řadu alel*

Antigeny minoritních histokompatibilních komplexů – také schopny indukce odvržení štěpu, ale méně významné

Odvržení štěpu závisí na histokompatibilitě



Rozpoznávání transplantačních antigenů

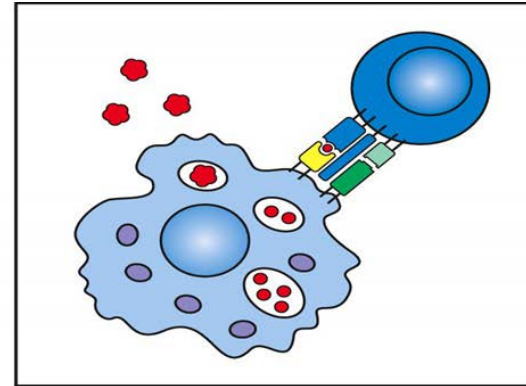
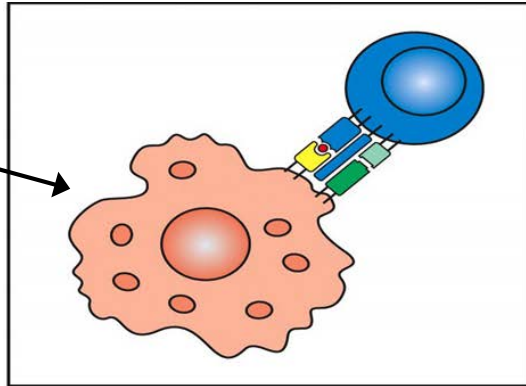
Přímé rozpoznání

Antigeny štěpu jsou rozpoznány přímo na povrchu APC pocházejících ze štěpu.

Nepřímé rozpoznání

Antigen štěpu je zpracován v APC příjemce a následně prezentován na jejich povrchu.

APC = antigen prezentující buňka

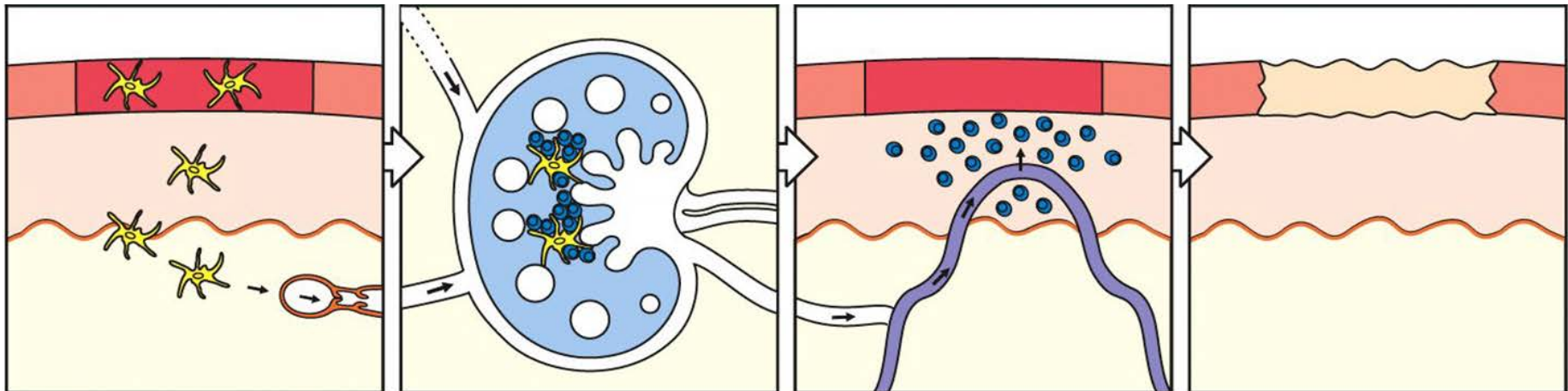


Dendritické buňky ze štěpu migrují do lymf. orgánů příjemce.

Zde indukují aktivaci a klonální proliferaci imunokompet. buněk.

Lymfocyty infiltrují štěp.

Dochází k odvržení štěpu.


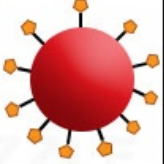
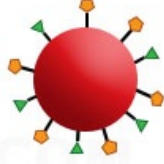
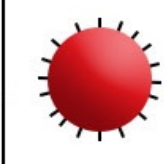








Antigeny erytrocytů

Hlavní systémy: A a B antigeny a antigen Rh

A a B antigeny

- v krvi proti nim kolují přirozené protilátky IgM, které způsobují aglutinaci a hemolýzu erytrocytů nesoucích cizorodý antigen A nebo B
- exprimovány také na povrchích jiných typů buněk, např. endoteliálních, a mají tedy význam pro indukci odvržení jakýchkoli vaskularizovaných transplantovaných orgánů → indukce až hyperakutní rejekce

	Group A	Group B	Group AB	Group O
Red blood cell type				
Antibodies in Plasma	 Anti-B	 Anti-A	None	 Anti-B and Anti-A
Antigens in Red Blood Cell	 A antigen	 B antigen	 A and B antigens	None

<https://nutritionactivist.wordpress.com/2016/12/24/blood-types/>

© Buzzle.com

Antigen Rh

- Rh⁺ jedinci nesou antigen
- Rh⁻ jedinci antigen nemají a nemají ani protilátky proti Rh (jsou to třídy IgG), ty vznikají až po imunizaci antigenem

Testy histokompatibility

Sérologická detekce

Používá se kolekce antisér nebo monoklonálních protilátek reagujících specificky s odlišnými alelami HLA genů.

V testu tyto protilátky v přítomnosti komplementu indukují lyzi testovaných lymfocytů nesoucích danou alelu příslušného HLA genu.

Výsledkem je stanovení MHC I a MHC II alel dárce a příjemce – sérologické typy.

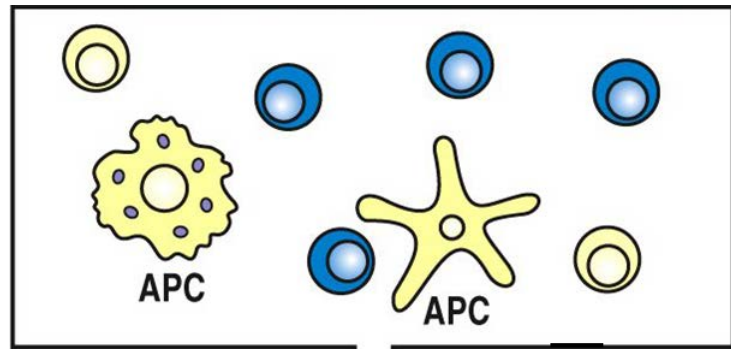
Genotypizace

Stanovují se specifické alely HLA genů dárce a příjemce, které se následně porovnávají.

Směsná lymfocytární reakce

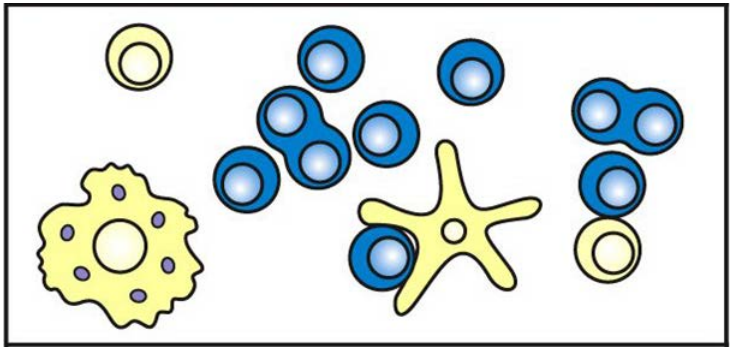
Směsná lymfocytární reakce

Leukocyty dárce jsou ovlivněny tak, aby nemohly proliferovat. Přidají se lymfocyty příjemce.



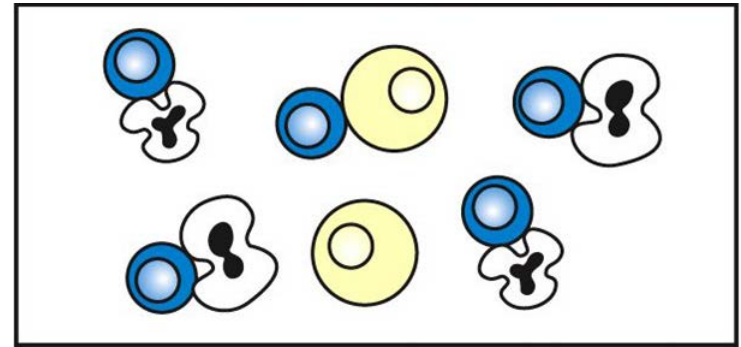
Žádné změny počtu leukocytů = histokompatibilita

Indukce proliferace lymfocytů příjemce



Proliferace lymfocytů je závislá především na rozdílech v MHC II alelách.

Indukce usmrcování buněk dárce



Cytotoxicita je závislá především na rozdílech v MHC I alelách.

Intenzita odvržení štěpu

- Prvotní odvržení vs sekundární (opakované) odvržení alogenního štěpu

- Charakteristika odvržení štěpu na základě klinického průběhu

- akutní rejekce
- hyperakutní rejekce
- chronická rejekce

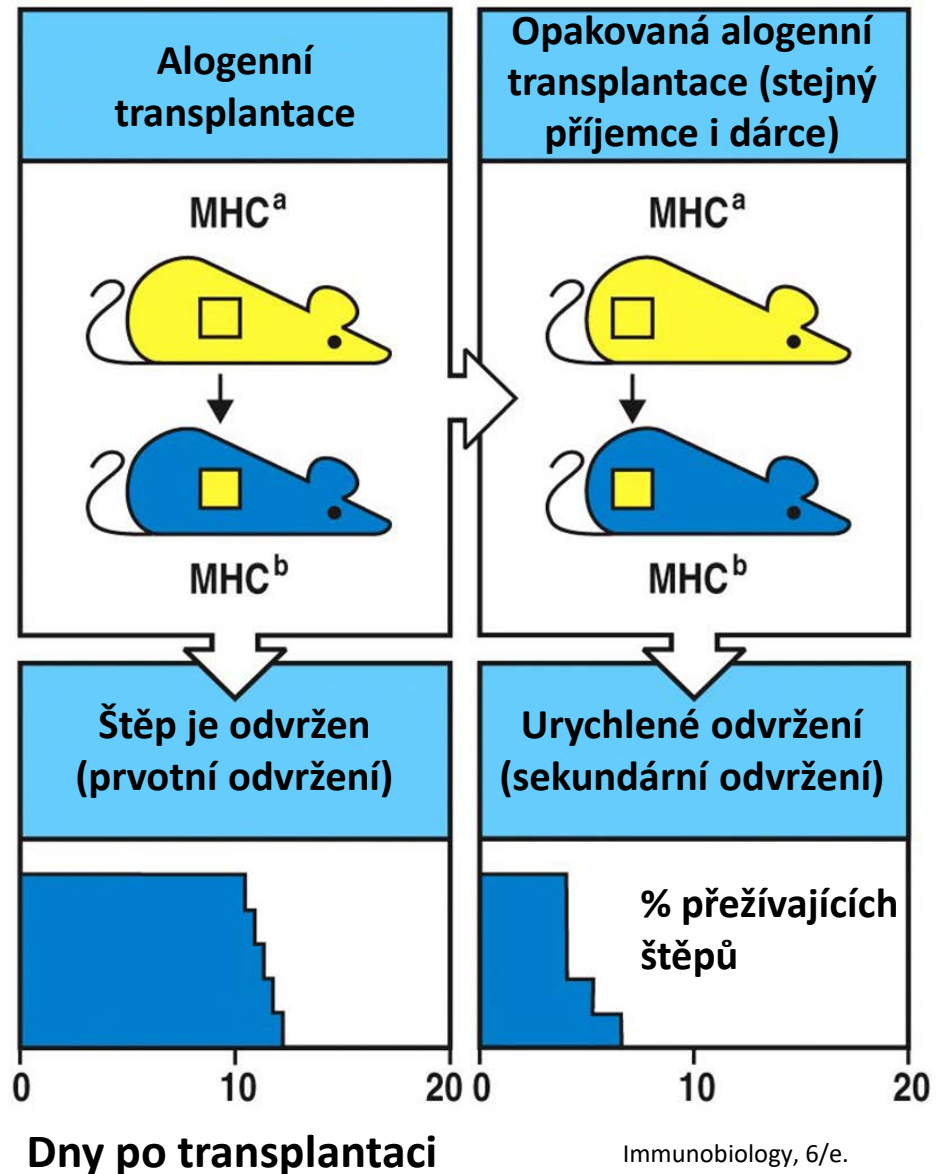
Intenzita odvržení štěpu – paměťové buňky

Prvotní odvržení alogenního štěpu

Postupné rozpoznání cizorodých antigenních struktur T lymfocyty, jejich aktivace, klonální proliferace a následná indukce imunitní odpovědi.

Sekundární (opakované) odvržení alogenního štěpu ze stejného dárce

Rychlejší díky paměťovým buňkám (pro rejekci důležité zejména T lymfocyty), které okamžitě indukují silnou imunitní odpověď.



Charakteristika odvržení štěpu na základě klinického průběhu imunitní odpovědi

Akutní rejekce

Pozdější fáze prvotní nebo časná fáze opakované reakce na transplantovaný štěp.

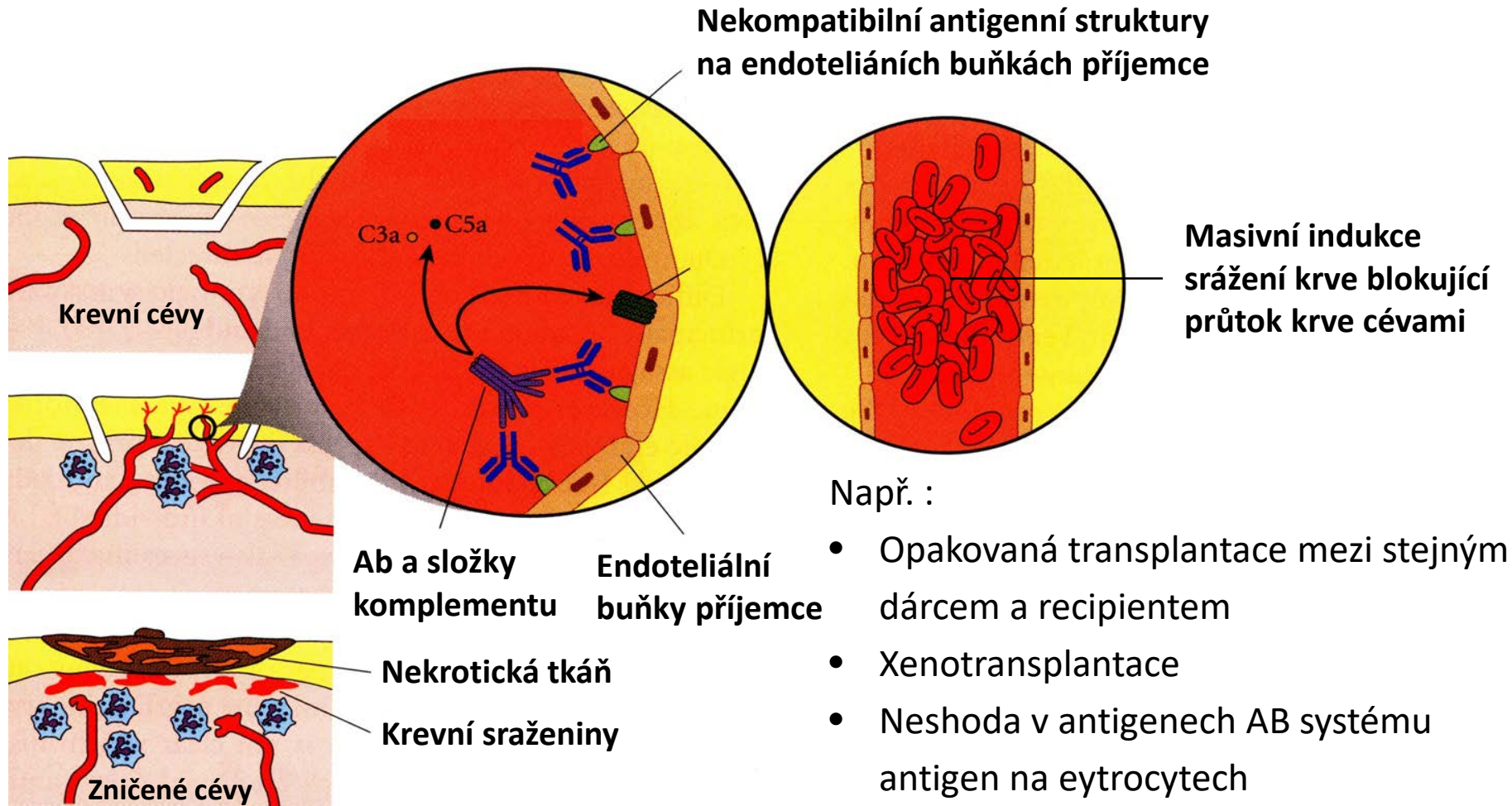
- > Cytotoxické T lymfocyty lyzují buňky štěpu.
- > Pomocné T lymfocyty produkují cytokiny (zejména IL-2, TNF- β a IFN- γ) stimulující migraci fagocytů a dalších cytotoxických lymfocytů a stimulující jejich cytotoxické působení.
- > B lymfocyty stimulované pomocnými T lymfocytů produkují protilátky specifické proti antigenům štěpu.

Transplantovaný orgán ztrácí funkčnost, tkáň je silně infiltrována lymfocyty a makrofágy, dochází k otoku orgánu díky rozsáhlé zánětlivé reakci.

Charakteristika odvržení štěpu na základě klinického průběhu imunitní odpovědi

Hyperakutní rejekce

Příjemce má už před transplantací vytvořeny protilátky proti antigenům štěpu.



Charakteristika odvržení štěpu na základě klinického průběhu imunitní odpovědi

Chronická rejekce

Opakovaně se objevuje měsíce a roky po úspěšné transplantaci, kdy orgán vykonává svoji funkci.

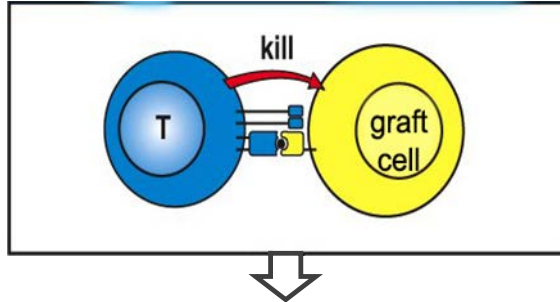
Je způsobena jak protilátkami, tak cytotoxickými lymfocyty. Je charakterizována pozvolnou ztrátou funkce transplantovaného orgánu.

Primárně se jedná o chronický zánět malých artérií vedoucí k vzniku zánětlivých lézí, fibróze a postupnému selhání orgánu.

Problém je zavčas chronickou rejekci detekovat a opětovně nasadit silnou imunosupresivní léčbu podobně jako krátce po transplantaci.

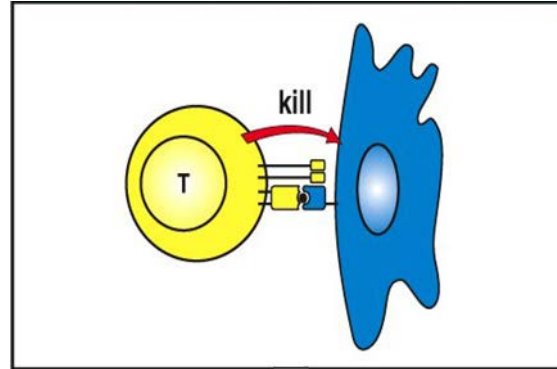
Reakce štěpu proti hostiteli (graft-versus-host disease)

Cytotoxické lymfocyty hostitele napadají buňky štěpu.



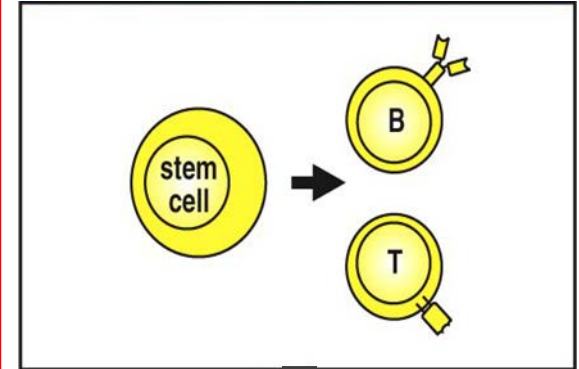
Reakce hostitele proti štěpu.

Cytotoxické lymfocyty štěpu napadají buňky hostitele.



Reakce štěpu proti hostiteli.

Odstranění imunokompetentních buněk ze štěpu.



Žádná reakce. Obnovení imunokompetentních buněk z kmenových buněk štěpu.

Reakce štěpu proti hostiteli se objevuje v případech, kdy transplantovaný orgán (např. kostní dřeň) obsahuje imunokompetentní buňky, které atakují buňky hostitele.

Uplatňují se jak pomocné, tak cytotoxické T lymfocyty. Obranou je snížení počtu imunokompetentních buněk ve štěpu a co nejvyšší stupeň histokompatibility.

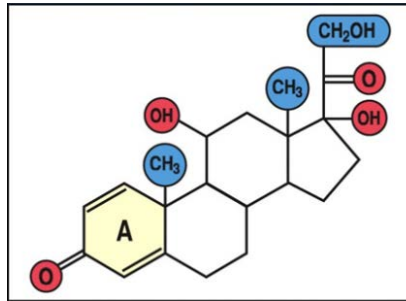
Avšak potenciální výhoda imunokompetentních buněk ve štěpu je, že atakují i leukemické buňky hostitele – snížení relapsů.

Imunosupresivní terapie

- 1. Kortikosteroidní terapie**
- 2. Inhibitory kalcineurinu**
- 3. Purinové analogy a inhibitory syntézy purinů**
- 4. Antagonisté receptoru pro interleukin 2**
- 5. Terapeutické protilátky**

Kortikosteroidní terapie

Prednison

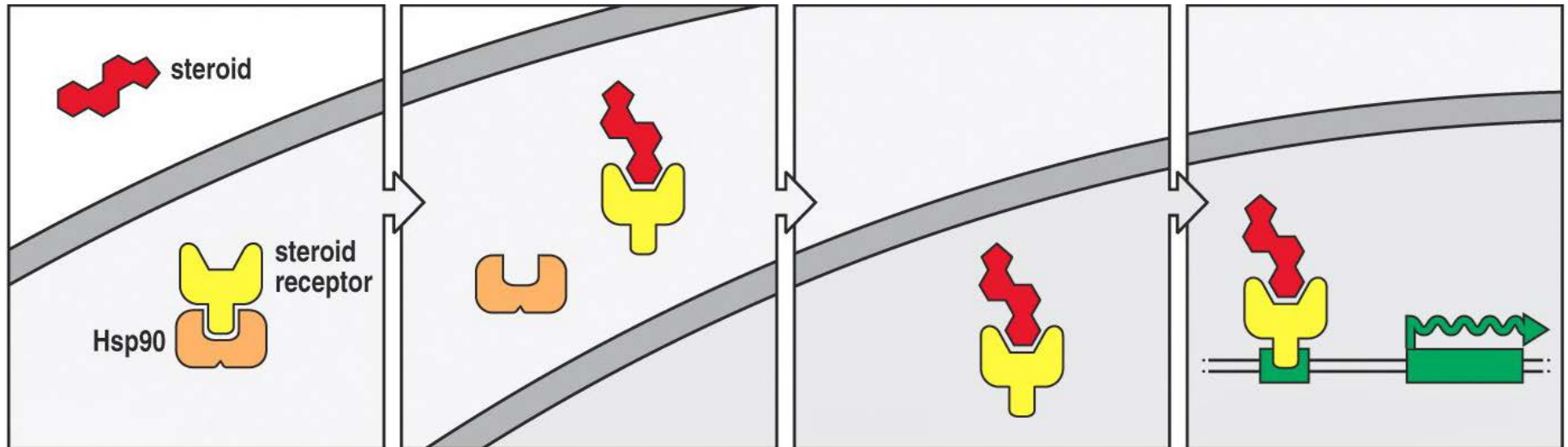


Steroidní receptory jsou v plasmě v komplexech s heat-shock proteiny (Hsp).

Steroidy prostupují buněčnou membránou, váží se na receptory a uvolňují Hsp.

Komplex steroid:receptor vstupuje do jádra.

Steroidní receptor se váže na promotory vybraných genů a inhibuje či iniciuje jejich transkripci.



Efekty kortikosteroidní terapie

Ovlivnění	Fyziologický efekt
Snížení exprese prozánětlivých cytokinů	Redukce celkové zánětlivé odpovědi
Snížení exprese indukibilní syntázy oxidu dusnatého	Redukce oxidativního poškození a dalších patologických účinků nadměrné produkce NO
Snížení exprese fosfolipázy A2 a cyklooxygenázy 2	Snížení tvorby prozánětlivých prostaglandinů a leukotrienů
Snížení exprese adhezních molekul	Redukce migrace leukocytů přes endotel do tkání
Zvýšení aktivity endonukleáz	Indukce apoptózy u lymfocytů a eozinofilů

Inhibitory kalcineurinu

Malé organické molekuly makrolidové laktony původně izolované z bakterií a hub.

V cytoplasmě vytváří komplexy s proteiny imunofiliny, které se dále váží na cytoplasmatickou fosfatázu kalcineurin, kterou tím inhibují. To způsobuje inhibici specifických transkripčních faktorů lymfocytů zajišťujících indukci exprese prozánětlivých cytokinů.

Zástupci: Cyklosporin A, Tacrolimus (FK506)

Účinky

- redukce exprese a produkce cytokinů T lymfocyty (např. IL-2, IL-3, IL-4)
- redukce proliferace T a B lymfocytů
- inhibice cytotoxických mechanismů lymfocytů a neutrofilních granulocytů
- indukce apoptózy aktivovaných B lymfocytů

Purinové analogy a inhibitory syntézy purinů

Cytotoxické látky interferující se syntézou a metabolismem DNA a RNA. Primárně byly objeveny a použity pro léčbu nádorových onemocnění. Nezabraňují aktivaci lymfocytů přímo, ale inhibují proliferaci a funkce lymfocytů. Mají silné vedlejší toxické účinky.

Např. Azathioprin

Antagonisté receptoru interleukinu-2

Blokují povrchový receptor pro interleukin-2 a tím inhibují aktivaci lymfocytů tímto cytokinem.

Terapeutické protilátky

Polyklonální protilátky

- anti-lymfocytární globulin (anti-tymocytární globulin; ATG) – získaný buď z králíků (Thymoglobulin) nebo koní (ATGAM) imunizovaných lidskými lymfocyty
- velice účinně redukuje počet cirkulujících lymfocytů
- mají silné vedlejší účinky díky reakci hostitele proti cizorodému imunoglobulinu

Monoklonální protilátky

- zaměřené specificky na antigenní konkrétní antigenní struktury (např. IL2RA, CD3, CD52, a další)
- Geneticky modifikované s cílem minimalizovat vedlejší účinky mají

Chimerické monoklonální protilátky

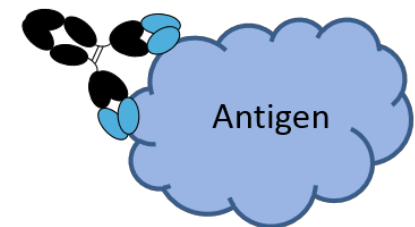
Humanizované monoklonální protilátky

Plně humánní monoklonální protilátky

Polyklonální protilátka



Monoklonální protilátka



Genetické modifikace terapeutických protilátek

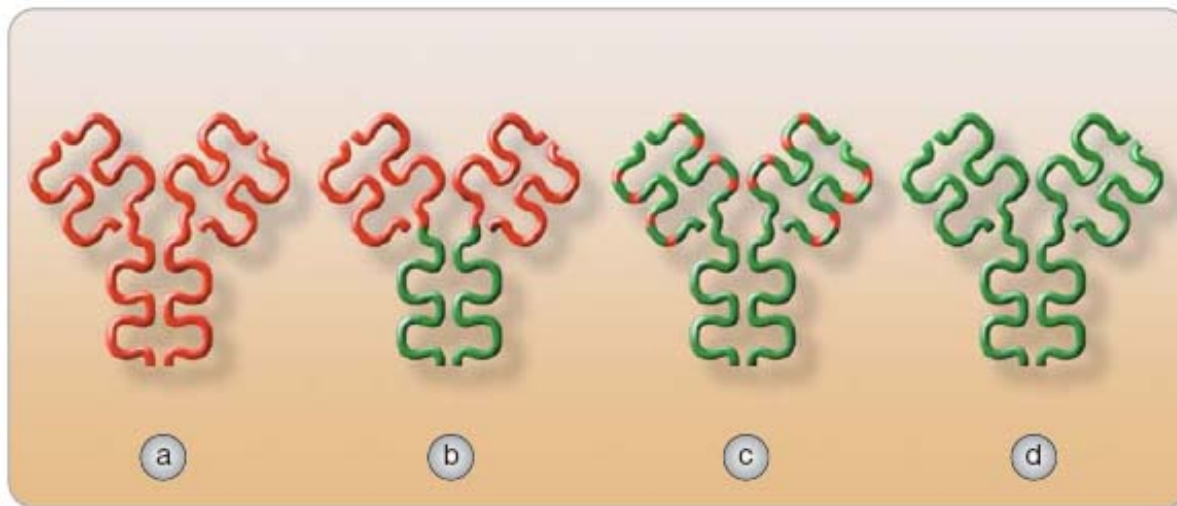
Geneticky modifikované monoklonální protilátky

Část molekuly, která nekóduje oblasti vázající antigen, nahrazena úsekem lidského imunoglobulinu.

Chimérické protilátky - myšího původu je Fab úsek imunoglobulinu

Humanizované monoklonální protilátky - myšího původu jsou jen CDR oblasti (complementarity determining region), které reagují s antigenními epitopy

Plně humánní monoklonální protilátky – lidská monoklonální protilátka



Obr. 2 Typy monoklonálních protilátek užívaných v terapii: (a) myší monoklonální protilátka, (b) chimérická monoklonální protilátka, (c) humanizovaná monoklonální protilátka, (d) lidská monoklonální protilátka.

Cíle terapeutických protilátek

Cílené na antigeny na imunitních buňkách

Indukují buněčnou smrt zprostředkovanou aktivací komplementu, ADCC, fagocytózou, nebo apoptózou

Anti-thymocytární globulin (ATG)

Muromonab-CD3 – myší monoklonální anti-CD3 protilátka proti T lymfocytům (negativní reakce – nepoužívá se)

Alemtuzumab – humanizovaná protilátka proti CD52 způsobující depleci T i B-lymfocytů

Rituximab – chimerická protilátka proti CD20 způsobující depleci B-lymfocytů

Narušující cytokinové signálování a kostimulaci mezi T a B lymfocyty

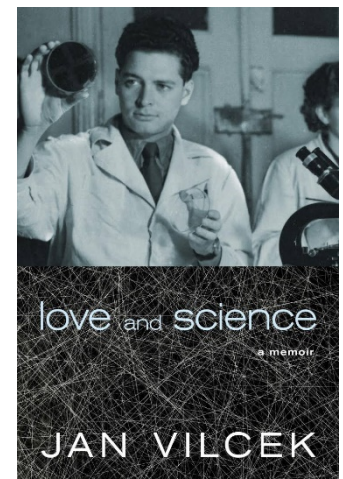
Basiliximab - chimerická protilátka proti řetězci α receptoru pro IL-2. Interferuje s aktivací T lymfocytů IL-2.

Daklizumab - je humanizovaná lidská proti řetězci α receptoru pro IL-2.

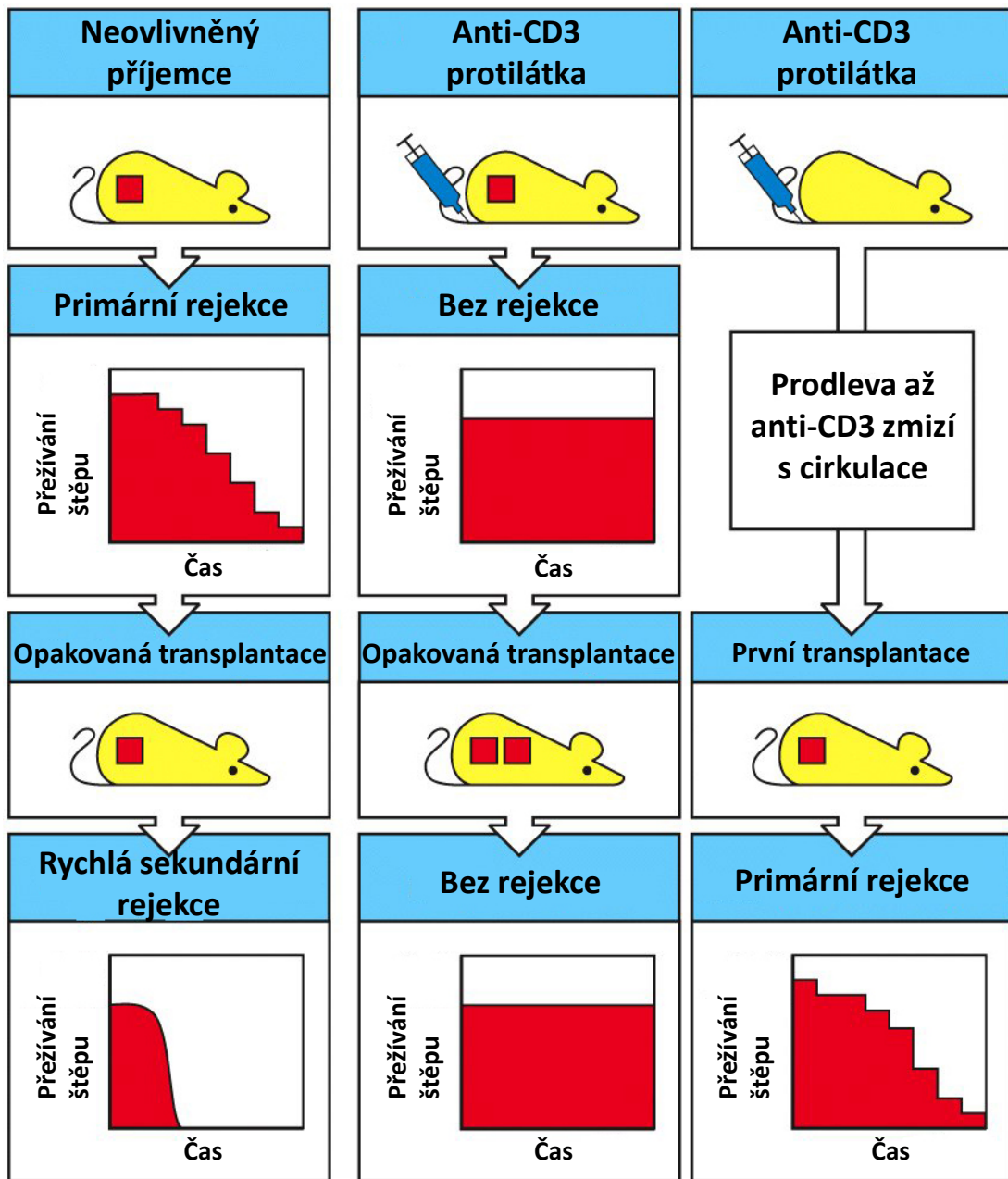
Interferující s aktivací komplementové kaskády

Ekulizumab – humanizovaná protilátka proti C5a složce komplementu.

Zajímavost: Infliximab, první terapeutická protilátka proti TNF-a úspěšně používaná u pacientů, objevil československý biolog Jan Vilček



Terapeutické protilátky



Protinádorová imunita

Organismy se za normálních okolností brání proti proliferaci nádorových buněk a tvorbě nádorů různými mechanismy imunitního systému.

Nádorové buňky jsou rozpoznávány na základě **antigenů (antigeny specifické pro nádory a antigeny asociované s nádory)**, které vyvolávají indukci protinádorové imunitní odpovědi.

Antigeny specifické pro nádory

Abnormální post-translační modifikace proteinů

Změna struktury proteinů mění jejich antigenní vlastnosti. Např. abnormální formy glykoproteinů – snížená glykosylace mucinů produkovaných nádorovými buňkami u nádorů prsu a pankreatu.

Antigeny kódované virovými onkogeny

Jsou to proteiny kódované genomy virů indukujících nádorovou transformaci. Většinou jsou klíčové pro deregulaci proliferace infikovaných buněk. Často jsou lokalizovány v jádře a málo exprimované na povrchu buněk MHC receptory.

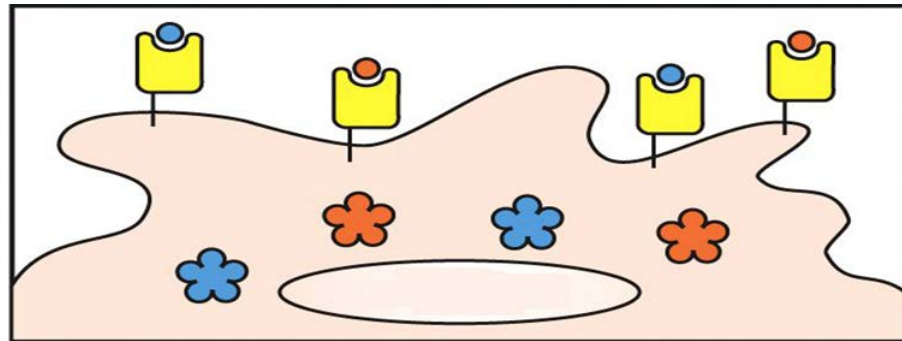
Antigeny vznikající klonální amplifikací

V případě lymfomů nekontrolovaná amplifikace určitého klonu T nebo B lymfocytů, vznik extrémního množství daného idiotypu TCR nebo BCR, případně cirkulujících monoklonálních protilátek.

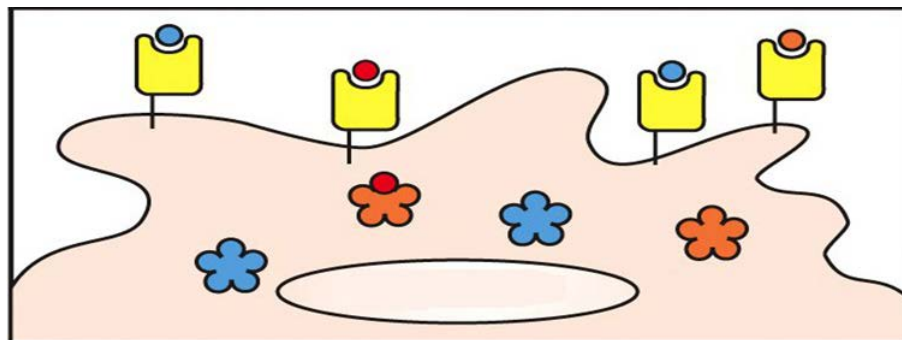
Antigeny specifické pro nádory vznikající mutací či přeskupením genů

Mechanismy – bodová mutace nebo přeskupení genů – vedoucí ke vzniku **nových specifických** nádorových antigenů.

Normální buňka prezentující vlastní antigeny MHC molekulami.

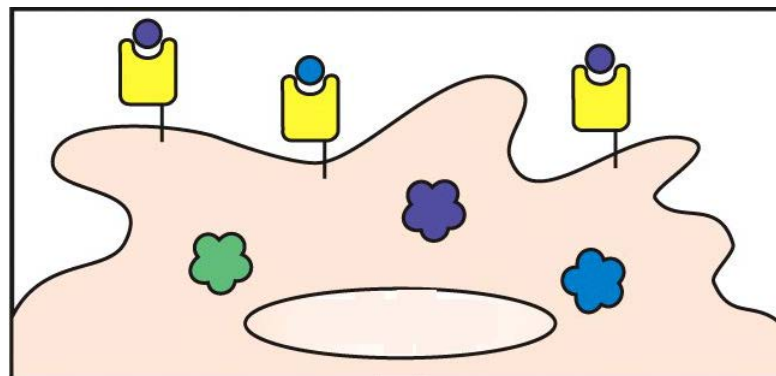


Bodová mutace v proteinu nebo peptidu vede ke vzniku nových antigenních struktur → cizorodý antigen.



Antigeny asociované s nádory

Normální buňka prezentující vlastní antigeny MHC molekulami.



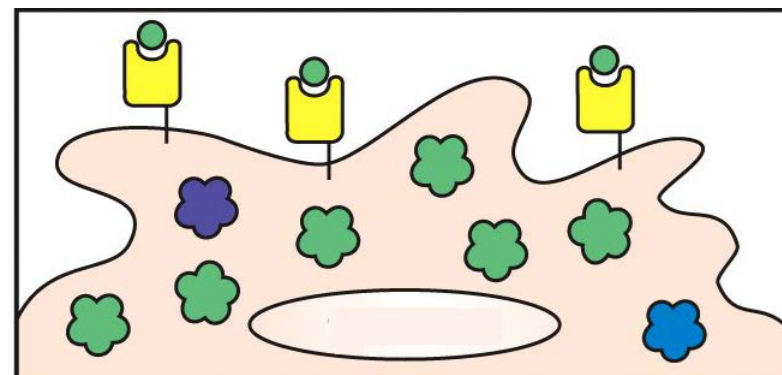
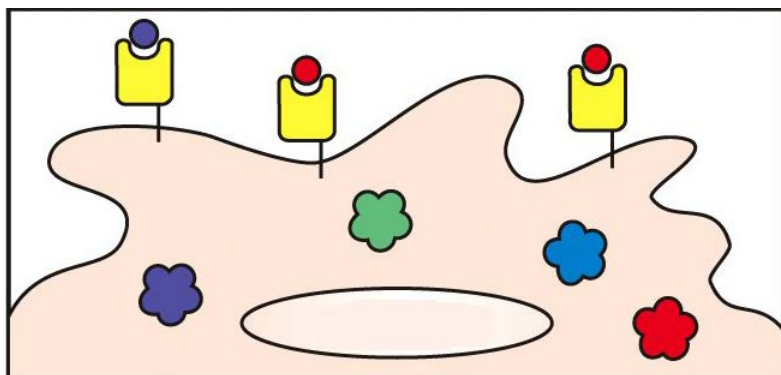
Změna genové aktivace
(např. onkofetální antigeny)

Nadměrná exprese Ag
(např. HER antigen)



Obnova exprese genů normálně expromovaných pouze u nediferencovaných buněk má za následek vznik antigenů cizorodých pro imunitní systém dospělého.

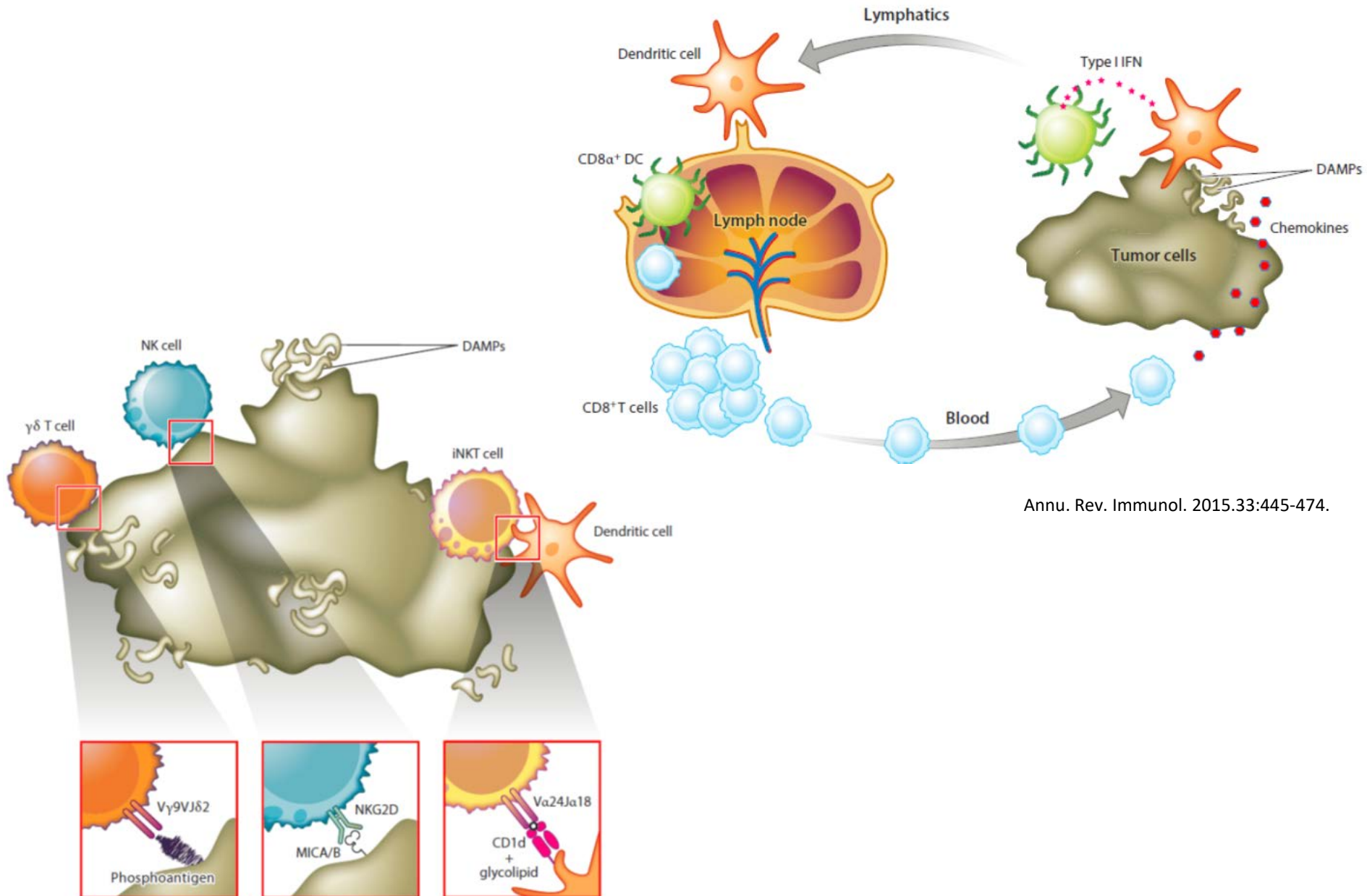
Nadměrná exprese určitých proteinů v nádorových buňkách mění hustotu daného peptidu na povrchu buněk a jejich následné rozpoznání buňkami imunitního systému.



Efektorové mechanismy protinádorové imunity

1. Lyze nádorových buněk protilátkami ve spolupráci s komplementem.
2. Oponizace nádorových buněk a následná destrukce fagocyty.
3. Produkce cytokinů (INF- γ a TNF- α) indukující zvýšení MHC I a MHC II a aktivaci imunokompetentních buněk.
4. Protilátkami zprostředkovaná ztráta adheze mezi nádorovými buňkami.
5. Přímá destrukce nádorových buněk cytotoxickými CD8⁺ lymfocyty.
6. Protilátkami zprostředkovaná buněčná cytotoxicita.
7. Destrukce nádorových buněk NK lymfocyty (zejména u nádorů neexprimujících MHC I antigeny).

Efektorové mechanismy protinádorové imunity



Annu. Rev. Immunol. 2015.33:445-474.

Mechanismy, kterými nádory unikají rozpoznání imunitním systémem

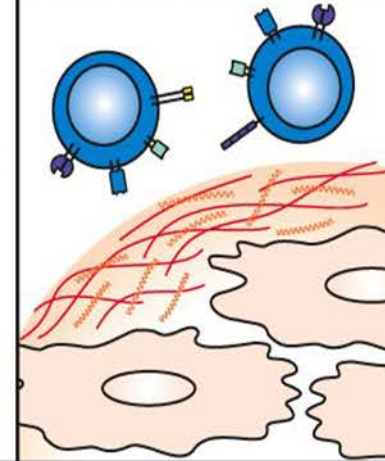
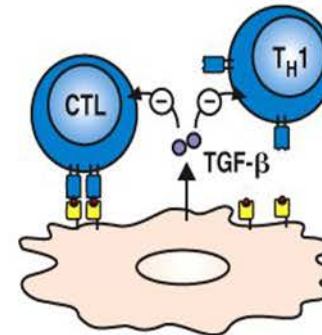
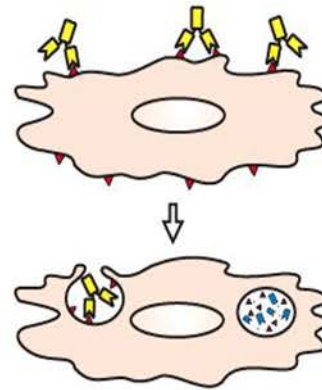
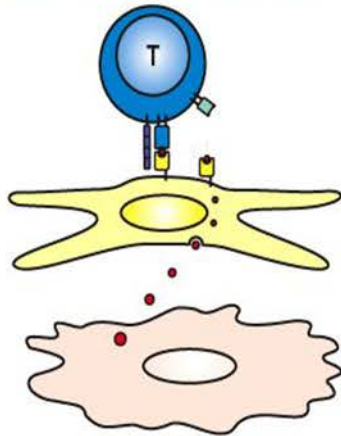
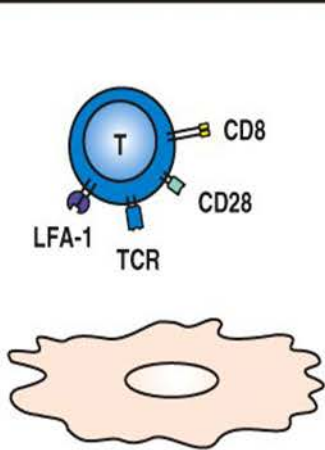
Nízká imunogenicita

Rozeznání nádorového antigenu jako vlastního

Modulace struktury antigenu

Indukce imunosuprese

Vytvoření mechanické bariéry



Žádné

- MHC:antigen ligandy
- adhesivní molekuly
- pomocné receptory

Nádorové Ag prezentovány bez přítomnosti kostimulačních receptorů navozují toleranci k těmto antigenům.

Protilátky proti nádorovým Ag indukují jejich endocytózu a degradaci → snížení jejich exprese.

Produkce imunosupresivních cytokinů a jiných imunosupresivních látek nádorovými buňkami.

Faktory sekretované nádorovými buňkami vytváří fyzickou bariéru.

Imunoterapie v protinádorové léčbě

Léčebné postupy založené na indukci protinádorové imunity nebo na využití imunitních mechanismů k cílenému směřování léčiv do místa nádoru.

Aktivní vakcinace

- Vakcinace proti viru indukujícímu vznik určitého nádoru.
- Vakcinace syntetickými analogy vybraných nádorových antigenů, lyzáty nádorových buněk, nebo celými inaktivovanými nádorovými buňkami.
- Antigeny, které mají stejnou strukturu ve více typech nádorů (např. jsou společné pro různé typy melanomů), jsou dobrým cílem pro imunoterapii.

Pasivní imunizace

- Přímá aplikace protilátek proti nádorovým antigenům.

Imunoterapie v protinádorové léčbě

Nespecifická stimulace zánětu

Indukce intenzivního zánětu v místě výskytu nádoru – např. pomocí suspenze inaktivované mykobakteriální směsi.

Stimulace LAK a TIL

LAK (lymphokine activated killers) – izolované periferní T lymfocyty a NK buňky.

TIL (tumor infiltrating lymphocytes) – lymfocyty izolované z nádoru pacienta.

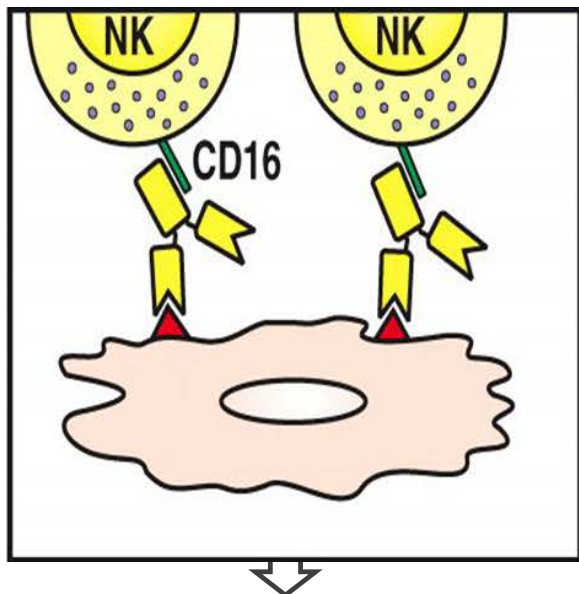
Stimulují se *in vitro* a pak se vrátí do organismu. Cílem je aktivace utlumených cytotoxických buněk proti nádorovým antigenům.

Transfer efektorových buněk

Vlastní izolované dendritické buňky inkubované *in vitro* s nádorovým antigenem se po aktivaci vrátí do organismu.

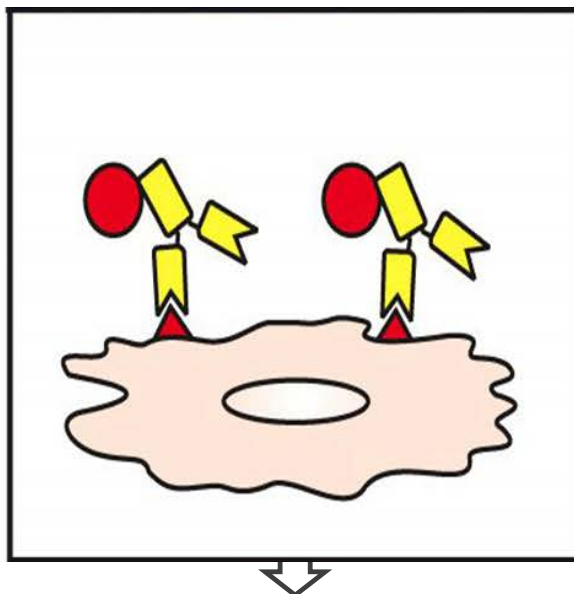
Monoklonální protilátky v protinádorové léčbě

Neznačené monoklonální protilátky.



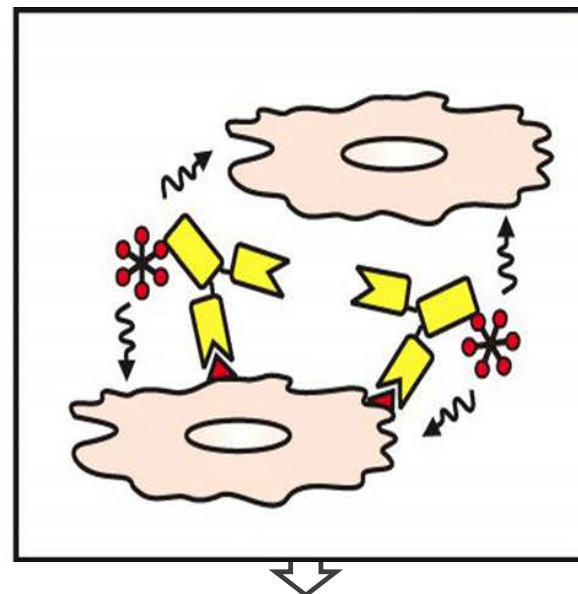
Protilátky se váží na nádorové buňky a indukují protilátkami zprostředkovanou cytotoxicitu. Malá účinnost.

Monoklonální protilátky s navázaným toxinem nebo enzymem.



Protilátky s toxinem jsou internalizovány a toxin usmrcuje nádorovou buňku. Enzym lokálně metabolizuje pro-cytotoxickou látku na cytotoxickou.

Monoklonální protilátky s navázaným radioisotopem.



Radioaktivita usmrcuje nádorové buňky. Využívá se i pro zobrazování lokalizace nádoru.

Immunobiology, 6/e.
(© Garland science 2005)

Příklad protilátek proti nádorovým antigenům: Humanizovaná monoklonální protilátka anti-Her-2 Trastuzumab (Herceptin). Velmi úspěšný v léčbě Her-2 pozitivních nádorů prsu.