

Selective immunosuppression in organ transplantation

Citation for published version (APA):

Ruers, T. J. M. (1989). *Selective immunosuppression in organ transplantation*. Rijksuniversiteit Limburg.

Document status and date:

Published: 01/01/1989

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

In the last decade potent immunosuppressive drugs have been introduced in the field of organ transplantation and graft survival rates improved concomitantly. However, the therapeutic index of many immunosuppressive agents presently used is low and systemic side effects of the drugs are still a major impediment to successful therapy. Hence, attempts should be made to improve selectivity of immunosuppressive therapy. In this thesis different approaches are investigated to induce more selective immunosuppression after organ transplantation.

In the first two chapters of this thesis an overview is given of the immunobiological aspects of transplantation and the immunosuppressive therapy currently used. In summary, it is concluded that the rejection process includes contributions from all the major elements of the immune system. Immunosuppressive drugs all interfere with one or several steps of the immune reaction and in this way prevent or suppress rejection. Specific actions and side effects of several immunosuppressive agents are discussed, amongst them are azathioprine, steroids, cyclosporin A, ATG and monoclonal antibodies.

Chapter three gives an introduction to and discussion of the experimental work. In the thesis two different approaches to induce selective immunosuppression are presented. The first part of the thesis concerns the induction of selective immunosuppression by means of interference with enzymatic reactions within lymphocytes. The second part, concerns selective immunosuppression by means of local immunosuppressive treatment of the graft.

Studies 1-3 deal with selective immunosuppression by interference with enzymatic reactions within lymphocytes. It has been shown by others that congenital deficiency of the enzyme adenosine deaminase (ADA) is strongly associated with severe combined immunodeficiency disease. The disease is almost restricted to the lymphoid tissue with minor impairment of other tissues. Hence, inhibition of the enzyme ADA after organ transplantation may be an attractive approach to induce immunosuppression. The agent 2'-deoxycoformycin (2'dcf) is an extremely tightly binding inhibitor of ADA. The drug would provide therefore the possibility to induce selective impairment of lymphocyte function and hence selective immunosuppression. Study 1 shows that continuous infusion of 2'dcf results in complete suppression of skin allograft rejection in rats. 2'dcf preferentially affected lymphocyte function while neutrophils seemed resistant to the drug. In study 2 it is demonstrated that in a rat skin transplantation model the potency of 2'dcf is comparable to that of cyclosporin A, which leads to the conclusion that in rats 2'dcf is a strong immunosuppressive drug. The effect of 2'dcf and deoxyadenosine (AdR) on human T cell function is investigated in study 3. It is demonstrated that 2'dcf and AdR interfere with several steps in T cellular immune response, such as cell activation,

IL 2 production and IL 2 receptor expression. According to these results it is concluded that inhibition of the enzyme ADA is an attractive approach to induce immunosuppression. However, further investigations are necessary to determine the safety of 2' dcf as an immunosuppressive agent.

The second part of this thesis (studies 4-8) reports on selective immunosuppression by means of local treatment of the allograft . In study 4, various ways of prednisolone administration are tested in a rat kidney transplantation model. Local delivery of the drug directly into the renal artery of the graft proved superior to any other way of drug administration. At a low dose of 4 mg/kg/body weight per day, continuous intrarenal infusion of the drug resulted in significant prolongation of graft survival whereas during systemic administration of the drug, the dose had at least to be doubled to observe an effect on graft survival. In study 5 it is demonstrated that local prednisolone levels within the kidney allograft were responsible for the immunosuppressive effect observed during local treatment. At the dose of 4 mg/kg/body weight per day, local prednisolone administration resulted in drug levels within the graft that were twice as high as during systemic drug delivery whereas systemic drug levels in both groups were comparable. During intrarenal delivery, systemic responsiveness to the renal allograft proved normal since intrarenal treated grafts were infiltrated by MHC class II positive host cells. However, within the graft, intrarenal prednisolone levels interfered with IL 2 receptor expression, IFN- γ production and MHC class II induction on grafted tissue. In this way T cells and macrophages present within the intrarenal treated grafts were not able to mediate graft destruction. These results demonstrate that local drug levels within the graft contribute significantly to effective inhibition of cellular immune response in allograft rejection. Study 6 was performed to determine more precisely the potency of local immunosuppressive therapy alone. In a special heart transplantation model it was demonstrated that local graft treatment with the topical steroid budesonide resulted in significant prolongation of graft survival while systemic drug levels were so low that signs of systemic immunosuppression were not measurable. These results demonstrate that allograft rejection can be treated locally without significant systemic immunosuppression. From studies 4-6 it is concluded that selective immunosuppression by local treatment of the graft is an effective and attractive way to induce immunosuppression.

Study 7 describes the effect of steroids on the regulation of MHC class II expression on human non-lymphoid tissue. It is shown that steroids inhibit the production of those factors responsible for the induction of MHC class II antigens on non-lymphoid cells. However, once these factors are present, steroids do not affect the induction process of MHC class II antigens on these cells.

Study 8 was performed to determine cellular proliferation at the site of the allograft in the absence and presence of immunosuppressive therapy. In the untreated renal allografts it was shown that T cytotoxic/suppressor cells as well as T helper cells clearly proliferate at the site of the graft. During effective systemic immunosuppressive therapy with the steroid budesonide cellular proliferation at the site of the graft

was not affected whereas signs of graft destruction were absent. Concerning the action of steroids, this observation questions the importance of the anti-proliferative effect of steroids as described *in vitro*. In contrast, it strongly suggests the importance of other immunosuppressive effects of steroids which prevent the destruction of the graft.

The main conclusion from the second part of this thesis is that graft rejection can effectively be treated by local immunosuppressive therapy. Since this approach offers an attractive way to induce selective immunosuppression, special attention is paid to the clinical application of local immunosuppressive therapy. In the final part of the discussion, the pharmacological and therapeutic aspects of local graft treatment are discussed and suggestions are made for clinical application.

Samenvatting

In de laatste jaren heeft de introductie van meer effectieve immunosuppressiva geleid tot een aanzienlijke verbetering van de transplantaatoverleving. De therapeutische index van de huidige immunosuppressiva is echter nog laag en systemische bijwerkingen vormen regelmatig een beperking in het klinisch gebruik.

In dit proefschrift worden twee verschillende benaderingen onderzocht waarmee de selectiviteit van immunosuppressie bij orgaantransplantatie kan worden verhoogd. In hoofdstuk I en II van het proefschrift wordt een overzicht gegeven van de bij orgaantransplantatie belangrijke immunologische aspecten en de wijze waarop afstoting kan worden onderdrukt. De specifieke werking en klinische toepassing van de verschillende immunosuppressiva wordt nader besproken.

In hoofdstuk III wordt het experimentele werk ingeleid en beschreven. In het eerste gedeelte van het proefschrift is onderzocht op welke wijze selectieve immunosuppressie kan worden geïnduceerd door interactie met enzymatische reacties welke min of meer specifiek zijn voor lymfocyten. In het tweede gedeelte van het proefschrift is onderzocht in hoeverre onderdrukking van de lokale immuunrespons in het transplantaat kan leiden tot effectieve en selectieve immunosuppressie.

In de studies 1-3 wordt het immunosuppressieve effect dat kan worden bereikt door interactie met enzymatische reacties binnen de lymfocyt populatie nader uitgewerkt. Het is bekend dat congenitale deficiëntie van het enzym adenosine deaminase kan leiden tot ernstige vormen van immuundeficiëntie. In de eerste twee studies is onderzocht in hoeverre remming van dit enzym, met behulp van het geneesmiddel 2'-deoxycoformycin (2'dcf), kan leiden tot effectieve immunosuppressie bij orgaantransplantatie. In studie 1 wordt aangetoond dat bij de rat de afstoting van huidtransplantaten volledig kan worden onderdrukt door continue infusie van 2'dcf. Behandeling met 2'dcf resulteert voornamelijk in lymfopenie terwijl neutrofielen resistent lijken te zijn voor 2'dcf. In studie 2 wordt het immunosuppressieve effect van 2'dcf vergeleken met het immunosuppressieve effect van cyclosporine. Bij de rat geven beide middelen een gelijke overleving van huidtransplantaten. In studie 3 wordt de werking van 2'dcf en deoxyadenosine op humane T cellen nader geanalyseerd. 2'Deoxycoformycin en deoxyadenosine blijken, in vitro, te interfereren met T cel activatie, IL 2 productie, en IL 2 receptor expressie. Naar aanleiding van de gegevens verkregen uit studie 1-3 wordt geconcludeerd dat remming van het enzym adenosine deaminase een aantrekkelijke benadering vormt voor de inductie van selectieve immunosuppressie na orgaantransplantatie. De klinische toepassing van deze benadering verdient nadere studie.

In het tweede gedeelte van dit proefschrift (studie 4-8) wordt onderzocht of de inductie van lokale immunosuppressie in het transplantaat kan leiden tot effectieve onderdrukking van de rejectierespons. De selectieve immunosuppressie die door mid-

del van locale transplantaatbehandeling wordt verkregen, heeft tot doel systemische bijwerkingen van immunosuppressieve therapie te voorkomen. In studie 4 worden verschillende toedieningsvormen van prednisolon getest in een niertransplantatiemodel bij de rat. Locale toediening van prednisolon direct in de aanvoerende arterie van het transplantaat blijkt de meest effectieve toedieningsvorm. Bij locale toediening kan de dosis worden gehalveerd ten opzichte van systemische toediening zonder dat verlies optreedt aan immunosuppressief effect. In studie 5 wordt de werking van locale toediening van prednisolon nader geanalyseerd. Locale prednisolon spiegels in het transplantaat blijken verantwoordelijk voor het immunosuppressief effect tijdens locale behandeling. Gedurende locale therapie lijkt de systemische immunrespons tegen het transplantaat niet beïnvloed. Niertransplantaten die lokaal behandeld zijn vertonen microscopisch duidelijk cellulaire infiltraten. Echter tijdens locale behandeling interfereert de locale prednisolon spiegel in het transplantaat met de productie van interferon-gamma, de expressie van IL2 receptor en de inductie van MHC klasse II antigenen op getransplanteerd weefsel. Op deze wijze blijken de infiltrerende cellen niet in staat de rejectierespons te effectueren en weefsel destructie te bewerkstelligen.

Studie 6 heeft tot doel de effectiviteit van locale immunosuppressie nader te preciseren. Hierbij werd gebruik gemaakt van een speciaal harttransplantatiemodel bij de rat. Harten werden getransplanteerd met de veneuze afvoer op de vena porta en locale immunosuppressie werd geïnduceerd door locale toediening van het steroid budesonide in de aanvoerende arterie van het transplantaat. Budesonide wordt o.a. gekenmerkt door een hoge klaring in de lever en locale toediening in het genoemde transplantatiemodel resulteert in hoge budesonide spiegels in het transplantaat gecombineerd met extreem lage systemische spiegels. De systemische spiegels blijken zo laag dat systemische bijwerkingen van budesonide niet kunnen worden aangetoond. Locale toediening resulteert echter in effectieve immunosuppressie en de transplantaatoverleving is vergelijkbaar met de transplantaatoverleving in dieren die systemisch met budesonide worden behandeld.

Naar aanleiding van de resultaten verkregen uit studie 4-6 wordt geconcludeerd dat transplantaatafstoting lokaal kan worden behandeld en dat deze benadering een effectieve manier vormt voor de inductie van selectieve immunosuppressie.

In studie 7 wordt aandacht besteed aan het effect van steroïden op de regulatie van MHC klasse II antigenen op humane niet lymfoïde cellen. De experimenten in deze studie tonen aan dat prednisolon de productie remt van die stoffen (bijv. interferon-gamma) die verantwoordelijk zijn voor de inductie van MHC klasse II antigenen op niet lymfoïde cellen. Het inductieproces zelf daarentegen wordt niet beïnvloed door prednisolon.

In studie 8 wordt onderzocht in hoeverre infiltrerende cellen prolifereren in het transplantaat en de mate waarin proliferatie wordt beïnvloed door immunosuppressieve therapie. Uit de experimenten blijkt dat zowel T cytotoxische/suppressor cellen als T helper cellen prolifereren in het transplantaat. Effectieve systemische immunosuppressie met budesonide heeft weinig invloed op het proliferatieve karakter

van de infiltrerende cellen; dit terwijl weefseldestructie en transplantatafstoting tijdens therapie niet optreden. Deze bevinding suggereert het belang van de remmende werking van steroïden, zoals budesonide, op de productie van lymfokinen welke een rol spelen bij de inductie van weefseldestructie.

Uit de resultaten beschreven in het tweede gedeelte van dit proefschrift wordt geconcludeerd dat lokale onderdrukking van de immuunrespons in het transplantaat leidt tot effectieve immunosuppressie. Met name lokale inhibitie van lymfokine productie lijkt hierbij van belang. Aangezien lokale transplantaatbehandeling een attractieve manier vormt voor de inductie van selectieve immunosuppressie wordt in de discussie aandacht besteed aan de farmacologische en therapeutische aspecten van lokale transplantaatbehandeling en de klinische toepassing hiervan.