

## Immunologie

P-28

### Erworbene Toleranz trotz autologer Rekonstitution - 23 Jahre nach haplo-identischer Knochenmarktransplantation

H.Th.Brüster

Institut für Blutgerinnung und Transfusionsmedizin, Universität Düsseldorf

Bei einem der ersten Knochenmarktransplantationspatienten in Deutschland konnte eine Nachuntersuchung nach 10 und nach 23 Jahren durchgeführt werden. Der HLA-DR11-homozygote Patient mit schwerer aplastischer Anämie war mit Knochenmark seiner Mutter transplantiert worden und hatte am Tag 20 eine GvHD II<sup>o</sup> entwickelt, die mit Steroiden und Mercaptopurin über einen Zeitraum von 6 Monaten behandelt wurde. Nach 10 Jahren konnten ein inkompletter lymphopoetischer Chimärismus und komplette hämatologische Rekonstitution dokumentiert werden. Nach 23 Jahren wurden mit Hilfe von RFLP nach Oligonukleotidhybridisierung Rezipienten-vs. Donor-Zellen mit einer Empfindlichkeit von 1-5 % differenziert. Zusammen mit der Karotypanalyse waren in isolierten bzw. mit 99,9 % angereicherten T-Zellen, B-Zellen nach EBV-Transformation, Monozyten, und Granulozyten keine Spenderzellen nachweisbar. Anhand dieses Fallberichtes kann dokumentiert werden, daß die Eliminierung des haplo-differenten Transplantates nicht im Rahmen einer akuten Abstoßung, sondern wahrscheinlich über einen prozessierten Verdrängungsprozess erfolgt ist, der sich insgesamt über mehr als 10 Jahre erstreckte. Diese Interpretation wird auch durch die niedrigen Vorläuferfrequenzen der alloreaktiven T-Helferzellen des Patienten gegen die Mutter gestützt, die selbst in Anwesenheit von exogenem IL-2 mit ca. 1/2000 im Bereich einer autologen gemischten Lymphozytenkultur liegen.

P-29

### Suche nach Transplantattoleranz bei nieren-transplantierten Patienten

J.Steinmann, J.Kaden, J.Groth, H.Böttcher, W.Müller-Ruchholtz

Institut für Immunologie der Universität Kiel,

Krankenhaus im Friedrichshain, Urologische Klinik, Berlin

Toleranzinduktion gegen Allotransplantate ist bei Versuchstieren mit zahlreichen Methoden möglich. Das Vorhandensein von Toleranz kann z.B. durch Hauttransplantate von Tieren des Organspenderstammes geprüft und mit allogenen Hauttransplantaten von einem dritten Inzuchtstamm kontrolliert werden. In der klinischen Transplantation läßt sich das Vorhandensein von Toleranz *in vivo* nicht prüfen. Ein Absetzen der Immunsuppression würde das Transplantat und damit den Patienten in nicht vertretbarer Weise gefährden. Sekundärtransplantationen zur Toleranzüberprüfung kommen aus ethischen Gründen ebenfalls nicht in Betracht. Solange ein Transplantatempfänger Abstoßungskrisen hat, stellt sich die Frage nach dem Vorhandensein von Toleranz nicht, aber bei der Mehrheit der Patienten ist nicht zu beurteilen, ob sie die Immunsuppression, die sie erhalten, überhaupt benötigen. Weil die Immunsuppression für den Patienten mit zahlreichen unerwünschten Wirkungen verbunden ist, werden Methoden benötigt, die eine Beurteilung des individuellen Bedarfs an Immunsuppression des transplantierten Patienten ermög-

lichen. Wir haben deshalb T Lymphozyten und Serum von nieren-transplantierten Patienten vor der Transplantation und im Abstand von drei Monaten bis 18 Monate nach Transplantation gewonnen und testen auf Reaktivität gegen Milzzellen des Organspenders. Zytotoxische Antikörper werden im Mikrozytotoxizitätstest nach Terasaki und durchflußzytometrisch charakterisiert. Zusätzlich werden die Isotypen der donorreaktiven Antikörper im Durchflußzytometer bestimmt. Die donorspezifische T Lymphozytenreaktion wird in der gemischten Lymphozytenkultur und in der Grenzverdünnungsanalyse für Vorläufer zytotoxischer T Lymphozyten untersucht. Die Relevanz der Laboruntersuchungen wird durch den Vergleich mit klinischen Daten und Biopsieergebnissen geprüft.

P-30

### Induktion von Transplantat-Toleranz gegen Xenoantigen durch eine Pharmakon-Antigen-Kombinationsbehandlung

A.Breitkreuz, K.Ulrichs, V.Eckstein, W.Müller-Ruchholtz,

Institut für Immunologie der Universität Kiel

Die Transplantation zwischen phylogenetisch diskordanten Arten wird durch natürliche Xenophile Antikörper (NAXA) und Transplantat (Graft)-induzierte Xenophile Antikörper (GIXA) entscheidend erschwert. Um diese Barriere zu beseitigen, müssen die NAXA aus dem Empfängerserum eliminiert und die Transplantat-abhängige (Nach) Bildung der GIXA verhindert werden. Dies sollte beispielhaft im Modell "Ratte-gegen-Mensch" erprobt werden. Dazu wurde normalen und xenogen sensibilisierten LEW-Ratten (Antigen (AG) =  $5 \times 10^6$  menschliche PBL i.p. am Tag 0) 20 mg/kg Cyclophosphamid ((CY) appliziert) (Tag 0 bis +5). Die Rattenserum wurden nach Behandlung titriert und im FACS auf verminderte NAXA/GIXA-Bindung (IgG und IgM) gegen humane PBL gemessen.

**Ergebnisse:** (1) CY supprimiert NAXA in normalen LEW-Ratten. Dieser Effekt ist nur von kurzer Dauer, d.h. reversibel. (2) Nach xenogener Sensibilisierung steigt der Gehalt an GIXA sprunghaft an und ist mit einem Isotypen-Switch (IgG >> IgM) verbunden. (3) Kombiniert mit der Xenosensibilisierung wirkt CY nunmehr langanhaltend immunsuppressiv auf die GIXA-Produktion. (4) Wiederholung der kombinierten Behandlung am Tag +30 wirkt signifikant effektverstärkend. (5) Diese langanhaltende Immunsuppression ist Xenoantigen-spezifisch, d.h. die kombinierte Behandlung ist in der Lage, Toleranz zu induzieren.

**Schlußfolgerung:** Die Kombinationsbehandlung, bestehend aus Xenoantigen und Cyclophosphamid und insbesondere ihre Wiederholung, ist offenbar ein erfolgsversprechender Weg zur Down-Regulation der Antikörpervermittelten primären Xenotransplantat-Abstoßung.