

Imunitní monitorace a imunoterapie po alogenní transplantaci krvetvorných kmenových buněk

ABSTRAKT

Alogenní transplantace krvetvorných buněk (aloHSCT) je vysoce specializovaná terapeutická metoda, která je potenciálně kurativní pro řadu hematologických i nehematologických onemocnění. Navzdory kontinuálním pokrokům v transplantační medicíně je prognóza pacientů stále limitována řadou potransplantačních komplikací, z nichž dominují relaps původní malignity a reakce štěpu proti hostiteli (Graft-versus-host disease, GvHD). Ty ovlivňují nejenom přežití pacientů, ale také snižují jejich kvalitu života, proto hledáme nové léčebné modalitty, které by jejich prognózu zlepšily. Jedním z nadějných moderních postupů v léčbě GVHD je podání buněk s imunomodulačním potenciálem (imunoterapie). V řadě evropských center, včetně našeho, jsou pacientům po aloHSCT v indikaci steroid-refrakterní GvHD (SR-GvHD) podávány mesenchymální kmenové buňky (MSC). Novou buněčnou populací se slibým potenciálem potlačit GvHD a zároveň potencovat reakci proti leukémii (Graft-versus-leukemia GvL) jsou invariantní NKT lymfocyty. Zavedení aplikace těchto buněčných populací do klinické praxe musí předcházet řada preklinických studií a i v průběhu klinického podávání musí probíhat kontinuální optimalizace výrobních a aplikačních postupů. V naší práci jsme se zaměřili na porovnání vlastností léčivých přípravků z MSC, jejich imunomodulační potenciál a porovnání single a multi-donor přípravků. Přípravky MSC z šarží od různých dárců se po zpracování, kryokonzervaci a rekultivaci při zachování podmínek správné výrobní praxe v řadě parametrů významně nelišily, nicméně prokázali jsme, že MSC z šarží od různých dárců se liší svým proliferačním potenciálem a rychlostí růstu. Na druhou stranu smíchání MSC od různých dárců (tzv. „poolování“) nezvýšilo jejich imunomodulační potenciál. Celkový počet buněk nemá vliv na imunomodulační vlastnosti MSC, jestliže je splněna minimální výrobní dávka. Pro budoucí praxi aplikace MSC v rámci léčby SR-GvHD se stále zdá výhodné využití MSC v režimu 1 pacient – 1 dárc. Dále jsme porovnali MSC s iNKT lymfocyty z hlediska jejich *in vitro* imunomodulačního potenciálu. V rámci preklinického testování jsme porovnali několik šarží kultivovaných a expandovaných iNKT a MSC od různých dárců. Kvantifikovali jsme expresi aktivačního znaku CD25 na nespecificky stimulovaných mononukleárních buňkách po kokultivaci s MSC nebo s iNKT. Prokázali jsme, že obě buněčné populace jsou schopny srovnatelně modulovat imunitní reakce *in vitro*. Vzhledem k tomu, že při podání léčivých přípravků z iNKT musí být respektována HLA shoda mezi dárcem a příjemcem, hledali jsme vhodný zdroj iNKT buněk. Monitorovali jsme dynamiku regenerace iNKT v kontextu reparace imunitního systému po alogenní transplantaci krvetvorných buněk a zkoumali jsme, zda lze stanovit ideální timepoint k odběru autologních iNKT u pacientů. Kinetika v průběhu regenerace imunitního systému po aloSCT nebyla lineární a hladina iNKT neměla vzestupnou tendenci u všech pacientů. Dynamika regenerace iNKT je vysoce variabilní a závisí na celé řadě peritransplantačních faktorů, proto nelze s jistotou určit spolehlivý timepoint, kdy bychom mohli detekovat iNKT v periferní krvi u všech pacientů. Z tohoto důvodu se v rámci přípravy výrobního protokolu zaměříme na využití alogenních HLA shodných dárců iNKT. Naším cílem nebude nahradit MSC v léčbě SR-GvHD novou populací iNKT, ale vytipovat pacienty, kteří budou z jednotlivých léčebných modalit profitovat. Předpokládáme, že jednotlivé buněčné populace navzájem nebudou soupeřit, ale mohou se naopak ve specifických situacích doplňovat a tím vést k lepším výsledkům v léčbě potransplantačních komplikací.