

Stamceltransplantatie en genterapie voor de behandeling van primaire immuundeficiënties

N.M. WULFFRAAT¹ en I.C.M. SLAPER-CORTENBACH²

Primaire immuundeficiënties zijn aangeboren afweerstoornissen die gekenmerkt worden door het optreden van ernstige, recidiverende infecties, dan wel infecties met opportunistische micro-organismen. De behandeling is afhankelijk van de aard van het onderliggend lijden. In de regel kan volstaan worden met antimicrobiële therapie en profylaxe, substitutietherapie met gammaglobuline of toediening van groeifactoren en andere cytokines. Bij zeer ernstige immuundeficiënties kan stamceltransplantatie of genterapie overwogen worden. In dit artikel zullen de verschillende behandelingsmodaliteiten van primaire immuundeficiënties en de daarmee geassocieerde problematiek besproken worden.

Trefwoorden: immuundeficiëntie; IVIG; groeifactor; stamceltransplantatie; genterapie

Patiënten met primaire immuundeficiënties ondervinden als gevolg van hun afweerstoornis vaak ernstige, recidiverende infecties en infecties met opportunistische micro-organismen (1, 2). Daarnaast komen bij deze patiënten vaker auto-immuunsymptomen voor, wellicht als uiting van een immunologische dysbalans. Een immuundeficiëntie kan ook secundair ontstaan ten gevolge van exogene factoren zoals chromosomale afwijkingen (bijvoorbeeld Down-syndroom of verhoogde kans op chromosomale breuken ten gevolge van een DNA-‘repair’stoornis), ondervoeding, immaturiteit, infecties (HIV), behandeling met immuunsuppressiva of cytostatica, of diverse infiltratieve afwijkingen. Deze secundaire immuundeficiënties blijven hier buiten beschouwing (zie voor verdere informatie de handboeken (3, 4). Een goed overzicht over de diagnostiek en therapie van primaire immuundeficiënties biedt ref. 5.

Antimicrobiële therapie en profylaxe

De therapie van immuundeficiënties is natuurlijk afhankelijk van de aard van het onderliggend lijden.

Afdeling Pediatrische Immunologie, Wilhelmina Kinderziekenhuis, UMC, Utrecht¹, Afdeling Immunologie, UMC, Utrecht²

Correspondentie: Dr. N.M. Wulffraat, Afdeling Pediatrische Immunologie, KC03.063.0, Wilhelmina Kinderziekenhuis, Universitair Medisch Centrum Utrecht, Postbus 85090, 3508 AB Utrecht
E-mail: n.wulffraat@wzkz.azu.nl

Snelle, adequate therapie en preventie van infecties zijn bij de meeste immuundeficiënties van groot belang. Een voorbeeld is de profylaxe voor *Pneumocystis carinii*-pneumonie (PCP) met trimethoprim-sulfamethoxazole (Bactrimel®). PCP-infecties worden vooral gezien bij verworven of aangeboren cellulaire immuundeficiënties. Itraconazole wordt gebruikt voor profylaxe en behandeling van schimmelinfecties (met name aspergillosis) zoals die kunnen optreden bij een granulocytopenie, granulocytenfunctiestoornissen (‘chronic granulomatous disease’, CGD) of lymfopenie.

Medicamenteuze substitutietherapie

Bij humorale of gecombineerde cellulair-humorale immuundeficiënties (agammaglobulinaemie, hyper-IgM-syndroom, primaire T-cel-immuundeficiëntie) vindt substitutie met immunoglobuline G (IVIG) plaats. Bij subklassedeficiënties is de eerste keus antimicrobiële profylaxe; pas in tweede instantie worden IVIG toegepast. Deze substitutie heeft een sterke reductie van het aantal, de duur en de ernst van infecties bewerkstelligd. Voor kinderen is het advies om een dalspiegel van ongeveer 5g/l te bereiken. Bij persisterende infecties wordt de dosis IVIG opgehoogd. Het preparaat wordt bereid uit gepoolde sera van vele (tenminste 1000) gezonde donoren. In de regel bevat het preparaat geen hoge specifieke antistoftiters. Het bevat vooral antilichamen tegen veel (in de luchtwegen) voorkomende bacteriën en virussen en hun toxines. Infectieuze partikels worden door de immunoglobulines geopsoniseerd, waarna complementfixatie, binding aan Fc- en complementreceptoren, en uiteindelijk fagocytose plaats vindt. In geval van een infectie moet in de regel aanvullende behandeling plaatsvinden met anti-microbiële middelen.

Toedienen van groeifactoren en andere cytokines

Bij granulocytenfunctiestoornissen wordt behandeling met interferon- α met redelijk succes toegepast. In een placebo-gecontroleerde studie bij CGD-patiënten verminderde interferon- α de incidentie en de ernst van infecties (6). In-vitro-studies konden echter dit gunstige klinische effect niet bevestigen: na behandeling met interferon- α werd geen stijging van de NADPH-oxidatieve respons waargenomen (7). Leukocytetransfusies worden slechts bij uitzondering toegediend bij patiënten met CGD die een zeer ernstige infectie doormaken.

‘Granulocyte-colony stimulating factor’ (G-CSF) sti-

muleert aanmaak en uitrijping van de myeloïde reeks in het beenmerg. In geval van aangeboren of verworven granulopenieën wordt therapie met GCSF toegepast in een dosering van 5–10 µg per kg. Vaak vindt dit plaats bij granulopenieën geïnduceerd door cytostaticagebruik om de apasieduur en het daarmee gepaard gaande infectierisico te beperken.

Hematopoietische stamceltransplantatie

Eind 1968 werden de eerste succesvolle stamceltransplantaties (SCT) verricht bij zuigelingen met een zeer ernstige immuundeficiëntie ('severe combined immune deficiency', SCID), onder andere in Leiden. Tegenwoordig is allogene SCT toepasbaar bij een scala van zekere of waarschijnlijke hemopoietische stamceldefecten (tabel 1). De hematologische maligniteiten als indicatie voor SCT blijven hier buiten beschouwing. Zie tabel 1 voor een overzicht van de diverse primaire immuundeficiënties waarvoor een BMT in aanmerking komt. Voor de kliniek van deze beelden wordt hier verwezen naar ref. 8. In een recent gepubliceerde retrospectieve analyse van de Europese transplantaties voor primaire immuundeficiënties in de jaren 1968-1999 bleek er op een totaal van 919 kinderen een duidelijke verbetering van de 3-jaars-overleving te zijn (9). Dit werd bereikt dankzij een meer effectieve wijze van diagnostiek, preventie en behandeling van onder andere infecties en 'graft versus host disease'.

De donor'search'

Indien de indicatie voor een SCT gesteld is dient met behulp van HLA-typering een geschikte donor gevonden te worden. In circa 25% is er een HLA identieke broer of zus. Indien er geen identieke familiëdonor is kan soms een der ouders als donor fungeren, of gezocht worden naar een niet verwante donor (een 'matched' unrelated donor, MUD) via de beenmerg donororganisaties in Europa en Noord-Amerika.

De stamcelbron en voorbereiding

De stamcellen worden verkregen door aspiratie van beenmerg (uit de cristaë iliacaë) dan wel uit perifeer bloed na voorafgaande mobilisatie met GCSF. Ook kan navelstrengbloed dienen als stamcelbron. Alvorens infusie van de stamcellen plaatsvindt dient de patiënt meestal een voorbehandeling te ondergaan. Deze voorbehandeling, de zogenaamde conditionering, bestaat uit een combinatie van myeloablatieve en immuunsuppressieve medicamenten. Deze medicamenten induceren een pancytopenie die 2 tot 4 weken duurt.

Bewerking van de stamcellen

Afhankelijk van het onderliggend lijden en de mate van HLA-matching kan ervoor gekozen worden het transplantaat te bewerken. In de regel wordt hieronder verstaan het isoleren van de CD34-positieve stamcellen en het verwijderen van de T-lymfocyten. Dit laatste gebeurt vooral met het oog op de preventie van ernstige 'graft versus host disease'. Nadeel van deze bewerking is dat de immunologische reconstitutie langer duurt (tenminste 4 maanden) en dat de pa-

Tabel 1. Primaire immuundeficiënties met indicatie voor BMT
 XL: X-linked, AR: autosomaal recessief, GS; Griscelli-syndroom, CH: Chediak-Higashi-syndroom, GP91^{phox}: fagocytoxidasedefect, LAD: leukocytenadhesiemolecuuldeficiëntie, FEL: familiale erytrofagocytair lymfo-histiocytose.

andoening	defect	overerving
Primaire T cel defecten		
SCID	common γ chain, ZAP70, JAK3, RAG1,2	XL en AR
ADA- en PNP-deficiëntie	ADA en PNP	AR
'Bare lymphocyte'-syndroom	MHC klasse II	AR
Wiskott-Aldrich-syndroom	WASP	XL
Omenn's syndroom	RAG1,2	AR
NK-celdefecten		
GS en CH	NK-cellen	AR
Granulocytendefecten		
CGD	GP91 ^{phox}	XL
CGD	P22 ^{phox} , GP47 ^{phox} , GP67 ^{phox}	AR
Shwachmann syndroom	chemotaxiedefect, neutropenie	?
Defecte B- en T-celinteractie		
Hyper-IgM	CD40-ligand	XL
Leukocytadhesiedeficiëntie		
LAD1	CD18	AR
LAD2	Neutrophyl sialyl-Lewis-X ligand	XL
Macrofaagaandoening		
FEL	perforine	AR

tiënt langer verhoogd gevoelig is voor infecties. Indien T-celdepletie achterwege kan blijven vindt men reeds immunologische reconstitutie na 3 – 4 weken.

Verzorging van de patiënt tijdens en na de transplantatie: complicaties en follow-up

Het kind dat een stamceltransplantatie ondergaat wordt opgenomen op een hiervoor gespecialiseerde afdeling, waar kennis aanwezig is over de diverse mogelijke complicaties en infectiepreventie. Ten tijde van de apasie wordt het kind in met bacterie-gefilterde lucht onder overdruk, soms met een laminaire luchtstroom, verpleegd, waarbij gebruik gemaakt wordt van aseptische verpleegtechnieken (beschermende isolatie). Infectieprohylaxe vindt plaats in de vorm van selectieve darmdecontaminatie, schimmel- en gistprohylaxe, PCP-prohylaxe en gammaglobulinesubstitutie.

De mogelijke complicaties zijn gerelateerd aan het onderliggend lijden, de toegediende voorbehandeling (conditionering) en de interacties van donorcellen met de ontvanger. Bloedproducten worden frequent

toegediend totdat erythro- en trombopoïese weer op gang komen. Ze moeten bestraald zijn om graft-versus-host-ziekte te voorkomen. Nadat de myelopoïese hersteld is kunnen de isolerende maatregelen geleidelijk worden afgebouwd. Men dient zich daarbij terdege te realiseren dat er nog geruime tijd een verhoogde infectiegevoeligheid bestaat, met name voor latent aanwezige virussen.

Na de transplantatie wordt gedurende lange tijd het immunologisch herstel vervolgd. In de regel vindt een half jaar of later na een T-cel-gedepleteerde transplantatie volledige revaccinatie plaats; aanvankelijk worden daarvoor alleen geïnactiveerde of chemisch samengestelde vaccins gebruikt, en pas veel later levend-verzwakte vaccins.

‘Severe combined immunodeficiency’: van stamceltransplantatie tot gentherapie?

Ongeveer 70% van de gevallen van SCID wordt veroorzaakt door een mutatie in het gen dat codeert voor ‘common gamma-chain’ (γ_c) (9). Dit is een X-gebonden vorm van SCID, gekenmerkt door een afwezigheid van T-lymfocyten en ‘natural killer’(NK)-cellen, terwijl het aantal aanwezige B-cellen normaal is. De ‘common gamma-chain’ is een cytokinereceptor-subunit die voorkomt in de receptor van IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 en IL-15. Hierdoor kunnen geen signalen worden doorgegeven die de celdeling stimuleren, hetgeen de volledige blokkade van de ontwikkeling van de T-lymfocyt en NK-cellijnen verklaart. Patiënten met een dergelijke aandoening overlijden vrijwel altijd in het eerste levensjaar aan ernstige recidiverende infecties, tenzij een allogene beenmergtransplantatie (ook wel: stamceltransplantatie) wordt uitgevoerd. Indien een HLA-identieke donor beschikbaar is, is het succespercentage van deze ingreep ongeveer 70 tot 90% (9). Indien deze ingreep wordt uitgevoerd met een niet HLA-identieke donor (zoals een ouder, die haplo-identiek is) is de overlevingskans beduidend lager (50 tot 70%, afhankelijk van infecties en leeftijd). Hierbij moet nog worden opgemerkt dat bij de meeste patiënten na transplantatie de B-cellen niet functioneren en de patiënt levenslang afhankelijk is van gammaglobulinesuppletie. Dit waren redenen om alternatieve stamceltherapie te onderzoeken.

Het was de Parijse groep van Alain Fischer van het Necker ziekenhuis die een gentherapieprogramma opzette voor X-linked SCID. X-SCID leek zeer geschikt voor deze benadering, aangezien lymfocyt-voorlopercellen de potentie hebben tot snelle celdelingen die zeer diverse populaties (subsets) T-cellen, B-cellen en NK-cellen kunnen vormen (10). Daarnaast is het zo dat T-cellen een zeer lange levensduur hebben. De redenering was dat stamcellen die gentransfer met het ‘common-gamma chain’-gen hebben ondergaan een selectief ontwikkelingsvoordeel hebben boven cellen die geen ‘common-gamma chain’-genproduct tot expressie kunnen brengen.

Dit gentherapieprotocol startte in 1999 en was aanvankelijk zeer succesvol. Van de patiëntjes werd autoloog beenmerg afgenomen en enkele dagen gekweekt in aanwezigheid van groeifactoren en het retrovirus dat het ‘common gamma chain’-gen bevatte.

In 13 van de 14 behandelde jongens werd goede en stabiele transfectie van stamcellen gevonden. Als vector werd een retrovirus gebruikt dat niet tot zelfstandige replicatie is staat is. Na 5 tot 8 dagen werd deze celsuspensie weer in de bloedbaan teruggespoet. De eerste 30 maanden van de trial werd een zeer snel herstel waargenomen van het immunologisch defect met een normale groei en ontwikkeling. Met name de transfectie van het ‘common gamma chain’-gen in de T-lymfocytenpopulatie was zeer succesvol (vrijwel 100 % van de T-cellen brachten het ‘common gamma chain’-eiwit tot expressie en had daarmee een normale IL2-receptor). In-vitro-lymfocytenstimulatie-testen waren normaal. De kinderen hadden na vaccinatie een normale productie van specifieke antistoffen. Ook zonder gammaglobulinesuppletie bleef het IgG in serum op peil en ontwikkelden deze patiënten geen infecties van betekenis. Deze eerste resultaten toonden dat de ‘common gamma chain’-gen transfectie een differentiatie induceerde in ‘precursor’cellen van lymfocyten, die sterk genoeg was om het klinische beeld van de X-linked SCID te herstellen. De hypothese was dat precursors die met het gen getransfected waren, en daarmee de IL2-receptor tot expressie brachten, een selectief ontwikkelingsvoordeel hadden boven niet getransfectede ‘precursors’ (die niet tot proliferatie en differentiatie in staat waren).

De ontwikkeling van de T-celimmunitet leek geheel normaal te verlopen, totdat na 33 maanden duidelijk werd dat 2 van de 14 patiënten een ongecontroleerde, exponentiële klonale T-celproliferatie ontwikkelden met de kenmerken van een T-cel-leukemie (11). Bij deze patiënten bleek dat het retrovirus op een kwetsbare plaats in het genoom ingebouwd was, hetgeen een activatie van een proto-oncogen LMO-2 induceerde. Moleculaire analyse van deze T-celklonen toonde een integratiesite van de retrovirale vector in het promotorgedeelte van het LMO-2-gen. Insertie van de vector op deze plaats in het genoom bleek daarmee verantwoordelijk voor het ontwikkelen van een maligne celproliferatie. Deze ‘insertional mutagenesis’ wordt gezien als het gevolg van een random integratie in het genoom door het retrovirus. Beide kinderen moesten vervolgens cytostatische behandeling ondergaan. Bij 1 van beide kinderen betrof het een hoog risico T-cel-leukemie. Dit kind onderging na een inductiebehandeling een stamceltransplantatie met stamcellen een gematchte niet verwante donor (MUD). Deze ernstige bijwerkingen van de op zich succesvolle gentherapie voor X-linked SCID hebben de Parijse groep ertoe gebracht de trial voorlopig stop te zetten.

Conclusie

De afgelopen 30 jaar zijn er grote vorderingen zijn gemaakt op het gebied van SCT als behandeling van ernstige primaire immuundeficiënties. De verbeterde resultaten zijn mede een gevolg van preventie van infecties en ‘graft versus host disease’. Gentherapie voor deze aandoeningen blijft voornamelijk een experimentele optie met aanzienlijke risico's. Wellicht kunnen nieuw ontwikkelde vectoren met een non-random insertie hier verbetering in brengen.

Literatuur

1. Vossen JMJJ, Kuijpers TW. Immunologie in de medische praktijk. XXXI. Erfelijke immunodeficiënties: verband tussen klinische symptomen en afwijkingen van het immuunsysteem. Ned Tijdschr Geneesk 2000; 144: 1474-1480.
2. Kuijpers TW en Vossen JMJJ. Immunologie in de medische praktijk. XXXIII. Erfelijke immunodeficiënties: van genotype naar fenotype. Ned Tijdschr Geneesk 2000; 144: 1768-1773.
3. Pediatric Aids, 3rd edition, 1998. Pizzo PA and Wilfert CM, ed. Williams Wilkins publ., Baltimore.
4. Sandberg ET, Kline MW, Shearer WT. The secondary immunodeficiencies. In: Immunologic disorders in infants and children, 4th edition, 1996. Stiehm ER, ed. Saunders Comp., Philadelphia.
5. Fleisher TA, Ballou M, editors. Primary immune deficiencies: Presentation, diagnosis and management. Pediatr Clinics N America 2000; 47: 1197-1408.
6. Weening RS, de Klein A, de Boer M, Roos D. Effect of interferon-gamma, in vitro and in vivo, on mRNA levels of phagocyte oxidase components. J Leukoc Biol 1996; 60: 716-720.
7. Weening RS, Leitz GJ, Seger RA. Recombinant human interferon-gamma in patients with chronic granulomatous disease-European follow up study. Eur J Pediatr 1995; 154: 295-298.
8. Hong R, Clement LT, Gatti RA and Kirkpatrick CH. Disorders of the T cell system. In: Immunologic disorders in infants and children, 4th edition, 1996. Stiehm ER, ed. Saunders Comp., Philadelphia.
9. Antoine C, Muller S, Cant A, Cavazzana-Calvo M, Veys P, Vossen J, Fasth A, Heilmann C, Wulffraat N, Seger R, Blanche S, Friedrich W, Abinun M, Davies G, Bredius R, Schulz A, Landais P, Fischer A; European Group for Blood and Marrow Transplantation; European Society for Immunodeficiency. Long-term survival and transplantation of haemopoietic stem cells for immunodeficiencies: report of the European experience 1968-99. Lancet 2003; 361: 553-560.
10. Hacein-Bey-Abina S, Le Deist F, Carlier F, Bouneaud C, Hue C, De Villartay JP, Thrasher AJ, Wulffraat N, Sorensen R, Dupuis-Girod S, Fischer A, Davies EG, Kuis W, Leiva L, Cavazzana-Calvo M. Sustained correction of X-linked severe combined immunodeficiency by ex vivo gene therapy. N Engl J Med 2002; 346: 1185-1193.
11. Hacein-Bey-Abina S, von Kalle C, Schmidt M, Le Deist F, Wulffraat N, McIntyre E, Radford I, Villeval JL, Fraser CC, Cavazzana-Calvo M, Fischer A. A serious adverse event after successful gene therapy for X-linked severe combined immunodeficiency. N Engl J Med 2003; 348: 255-256.

Summary

Stem cell transplanatation and gene therapy in the treatment for primary immunodeficiencies. Wulffraat NW and Slaper-Cortenbach ICM. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2004; 29: 175-178.

Primary immunodeficiencies are hereditary and congenital defects in the immune system leading to severe, recurrent infections or infections with opportunistic micro-organisms. Treatment depends on the underlying disease. Generally, treatment will consist of anti-microbial therapy and prophylaxis, immunoglobulin-replacement therapy or administration of growth factors and other cytokines. In case of severe immunodeficiencies, stem cell transplantation or gene therapy can be considered. In this paper various treatment modalities of primary immunodeficiencies and associated problems are discussed.

Keywords: immunodeficiency; IVIG; growth factor; stem cell transplantation; gene therapy