

Prof. dr hab. Jerzy Kupiec-Węgliński

Plan wykładu

WYKAZ NAJWAŻNIEJSZYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH

I. Moje pierwsze publikacje z lat 80. ub. wieku dotyczące krążenia limfocytów i ich recyrkulacji zawierały wyniki szeregu nowatorskich badań, które dokumentowały istnienie specyficznych szlaków migracyjnych komórek limfoidalnych po przeszczepieniu tkanek w modelach eksperymentalnych u gryzoni. Badania te jednoznacznie wykazały, że drogi migracji limfocytów są zależne od stanu immunologicznego biorcy przeszczepu. Podczas gdy immunoblasty osiedlają się głównie w tkankach pozostających w bezpośrednim kontakcie ze środowiskiem zewnętrznym (na przykład skóra, płuca, jelita), to cytotoksyczne limfocyty T gromadzą się w odrzuconych przeszczepach. Równoległe prowadzone badania wykazały po raz pierwszy, że komórki dendrytyczne (DC) migrują z krążącej krwi do śledziony, pod kontrolą rezydujących w tkankach komórek T. Tak więc, zarówno limfoidalne komórki DC w śledzionie, jak i te w krążeniu stanowią odrębną migracyjną populację, różniącą się od „osiadłej” i stosunkowo mało ruchliwej frakcji komórek. Odkrycia te wskazały na intrygującą możliwość, potwierdzoną później przez innych autorów, że komórki DC wykazują ekspresję „naprowadzających receptorów”, podobnie jak komórki T do komórek śródbłonna; natomiast komórki T mogą modyfikować śródbłonek naczyńniowy, umożliwiając DC opuszczenie krwiobiegu. Ta część badań nad wybiórczym rozmieszczeniem subpopulacji leukocytów przyczyniła się do zrozumienia tego, co dziś jest określane jako „kaskada adhezji komórkowej”. We wszystkich tych badaniach byłem kierownikiem projektów naukowych (*primary investigator*).

- a. **Kupiec-Weglini, J.W.** & Tilney, N.L. (1981). Migration patterns of lymphocytes from recipients of organ allografts. I. The unmodified host. *Transplantation*, 32:1217. PMID: 7027547.
- b. **Kupiec-Weglini, J.W.**, Lear, P.A., Heidecke, C.D., Araneda, D. & Tilney, N.L. (1984). Restoration of allograft responsiveness in B rats. IV. The divergent migratory behavior of lymphocyte populations mediating cardiac allograft rejection. *Cell. Immunol.* 85:45976. PMID: 6424953.
- c. **Kupiec-Weglini, J.W.**, Towpik, E., Schneider, T.M., Araneda, D., Ma, L. & Tilney, N.L. (1985). T suppressor lymphocytes reverse ongoing acute allograft rejection. *Hum. Immunol.* 14:2708. PMID: 2937758.
- d. **Kupiec-Weglini, J.W.**, Austyn, J.M. & Morris, P.J. (1988). Migration patterns of dendritic cells in the mouse. Traffic from the blood, and T celldependent and independent entry to lymphoid tissues. *J. Exp. Med.* 167:63245. PMID: 3258009.

II. Moje badania udowodniły i potwierdziły nową koncepcję roli receptora IL-2 w terapii celowanej w przeszczepianiu narządów. W istocie, leczenie przeciwciałami monoklonalnymi (mAb) anty-IL-2R, (łańcuch p55, CD25) znacznie przedłużało czas przeżycia allogenicznego przeszczepu serca szczura i powodowało selektywny niedobór immunologiczny, w którym

komórki T supresorowe dawcy były wybiórczo oszczędzane, podczas gdy komórki T pomocnicze były dezaktywowane lub niszczone. Terapia z użyciem mAb anti-IL-2R nie tylko selektywnie oszczędzała fenotypowo odmienną populację komórek T o funkcji supresorowej, ale przez zajęcie określonych funkcjonalnych epitopów IL-2R i eliminację komórek IL-2R+, ta wybiórcza terapia immunosupresyjna spowodowała synergistyczny efekt biologiczny.

Interakcja między mAb anti-IL-2R i cyklosporyną A indukowała brak odpowiedzi immunologicznej/tolerancję na mAb anti-IL-2R i stłumienie neutralizującej odpowiedzi anti-Id, prowadząc do trwałego przyjęcia przeszczepu. Badania te utorowały drogę do udanego włączenia (dekadę później) terapii przeciwciałem anti-CD25 do arsenału postępowania immunosupresyjnego w transplantacjach klinicznych. We wszystkich tych badaniach pełniłem rolę głównego wykonawcy projektu lub głównego badacza (*senior investigator*).

- a. **Kupiec-Weglinski, J.W.**, Diamantstein, T., Tilney, N.L. & Strom, T.B. (1986). Therapy with monoclonal antibody to interleukin 2 receptor spares suppressor T cells and prevents or reverses acute allograft rejection in rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 83:26247. PMID: 2939456.
- b. **Kupiec-Weglinski, J.W.**, Padberg, W., Uhteg, L.C., Ma, L., Lord, R.H., Araneda, D., Strom, T.B., Diamantstein, T. & Tilney, N.L. (1987). Selective immunosuppression with antiinterleukin 2 receptortargeted therapy: Helper and suppressor cell activity in rat recipients of cardiac allografts. *Eur. J. Immunol.* 17:3139. PMID: 2952511.
- c. Di Stefano, R., Mouzaki, A., Araneda, D., Diamantstein, T., Tilney, N.L. & **Kupiec-Weglinski, J.W.** (1988). Antiinterleukin 2 receptor monoclonal antibodies spare phenotypically distinct T suppressor cells in vivo and exert synergistic biological effects. *J. Exp. Med.* 167:19816. PMID: 2968435.
- d. Tanaka, K., Tilney, N.L., Stunkel, K.G., Hancock, W.W., Diamantstein, T. & **Kupiec-Weglinski, J.W.** (1990). Pretreatment with cyclosporine A and antiinterleukin 2 receptor antibody abrogates antiidiotype response in rat recipients of cardiac allografts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:73759. PMID: 2217171.

III. Uczulenie biorców przeszczepów na antygeny MHC jest jednym z najbardziej krytycznych problemów w transplantacji klinicznej. Rzeczywiście, u uczulonych pacjentów wyższy jest odsetek odrzucenia przeszczepu, w porównaniu do osobników nieuczulonych. Odrzucanie często jest nieodwracalne i trudne do kontrolowania przez aktualnie stosowane leki immunosupresyjne. Moje prace dostarczyły dowodów na to, że wspólnym czynnikiem w patogenezie odrzucania przeszczepu u uczulonych biorców jest połączona alloreaktywność komórkowa i humoralna, natomiast udane terapie mają wspólne trzy elementy: zmniejszoną aktywację komórek jednojądrzastych, ekspresję cytokin i aktywację komórek śródbłonna. Wyniki tych badań opublikowane w szeregu znaczących publikacji udokumentowały: (1) zróżnicowane nasilenie kostymulacji komórek CD154 T naiwnych vs. uczulonych komórek pamięci T CD8 +, oraz (2) pomyślne leczenie uczulonych biorców, aby osiągnąć stabilne i długotrwałe przyjęcie przeszczepu. Ponieważ oporna na blokadę CD154 aktywacja komórek T CD8 była zależna od limfocytów T CD4, badania te podkreśliły synergistyczny (korzystny) efekt terapii celowanej łącznie dla CD4 i CD154 dla zapobieżenia przyspieszonego odrzucenia przeszczepu. We wszystkich tych badaniach uczestniczyłem jako główny badacz.

- a. Onodera, K., Chandraker, A., Schaub, M., Stadlbauer, T.H.W., Korom, S., Peach, R., Linsley, P.S., Sayegh, M.H. & **Kupiec-Weglinski, J.W.** (1997). CD28-B7 T cell costimulatory blockade by CTLA4Ig in sensitized rat recipients: Induction of transplantation tolerance in association

with depressed cell mediated and humoral immune responses. *J. Immunol.* 159:1711–7. PMID: 9257832.

- b. Zhai, Y., Shen, X.D., Gao, F., Coito, A.J., Wasowska, B.A., Salama, A.D., Schmitt, I., Busuttil, R.W., Sayegh, M.H. & Kupiec-Weglinski, J.W. (2002). The CD154-CD40 T cell costimulation pathway is required for host sensitization of CD8+ T cells by skin grafts via direct antigen presentation. *J. Immunol.* 169:1270–6. PMID: 12133948.
- c. Zhai, Y., Gao, F., Meng, L., Busuttil, R.W. & Kupiec-Weglinski, J.W. (2002). Allograft rejection by primed/memory CD8+ T cells is CD154 blockade resistant: Therapeutic implications for sensitized transplant recipients. *J. Immunol.* 169:4667–73. PMID: 12370407
- d. Zhai, Y., Meng, L., Busuttil, R.W., Sayegh, M.H. & Kupiec-Weglinski, J.W. (2003). Activation of alloreactive CD8+ T cells operates via CD4-dependent and CD4-independent mechanisms and is CD154 blockade-sensitive. *J. Immunol.* 171:514–21. PMID: 12626556.

IV. Nie ma nadal skutecznego postępowania, które zapobiegałoby uszkodzeniu narządu w wyniku niedokrwienia i reperfuzji (IRI) narządu – prowadzącemu do nieuniknionych zmian patologicznych, związanych z pozyskiwaniem narządów, ich przechowywaniem i przeszczepianiem. Mój zespół wykrył silne cytoprotekcyjne działanie oksygenazy hemowej (HO-1; HSP 32) w zapobieganiu skutkom niedokrwienia i reperfuzji (IRI) w przeszczepianiu wątroby. Nadmierna ekspresja HO-1, enzymu antyoksydacyjnego, który katalizuje degradację hemu do biliwerdyny, żelaza i CO, jak udowodniono, odgrywa główną rolę w przywróceniu homeostazy IR (*ischemia-reperfusion*) przeszczepianych narządów. Późniejsze badania dostarczyły uzasadnienie dla klinicznie atrakcyjnej strategii, w której rezydujące w tkance makrofagi transfekowane *ex vivo* HO-1 są wprowadzane drogą infuzji do potencjalnych biorców przeszczepu wątroby narażonych na niedokrwienie i reperfuzję (IRI). Sytuacja ta doprowadziła do nowej koncepcji terapeutycznej stosowania „odmłodzonego” po traktowaniu HO-1 narządu dawcy przez następujące postępowanie: (1) hamowanie wrodzonej aktywacji / odpowiedzi prozapalnej, niekorzystnej dla przeszczepianej wątroby; oraz (2) wzmocnienie cytoprotekcyjnych mechanizmów regeneracji hepatocytów. Obserwacje te stały się wyzwaniem dla dotychczasowych dogmatów i połączyły wrodzone i metaboliczne sygnały we wspólnej mechanistycznej sieci komunikacji między składowymi wątroby, tj. komórkami niestanowiącymi miększu wątroby – makrofagami, oraz komórkami miększu wątroby, czyli hepatocytami. Prowadzone badania powinny przyczynić się do poprawy jakości i liczby pozyskiwanych narządów, co jest absolutnym imperatywem dla pełnej, pomyślnej realizacji programu przeszczepienia narządów. We wszystkich tych badaniach uczestniczyłem jako główny badacz.

- a. Amersi, F., Buelow, R., Kato, H., Ke, B., Coito, A.J., Shen, X.D., Zhao, D., Zaky, J., Melenik, J., Lassman, C.R., Kolls, J.K., Alam, J., Ritter, T., Volk, H.D., Farmer, D.G., Ghobrial, R.M., Busuttil, R.W. & Kupiec-Weglinski, J.W. (1999). Upregulation of heme oxygenase-1 protects genetically fat Zucker rat livers from ischemia/reperfusion injury. *J. Clin. Invest.* 104:1631–9. PMID: 10587527.
- b. Shen, X.D., Ke, B., Zhai, Y., Gao, F., Anselmo, D., Lassman, C.R., Busuttil, R.W. & Kupiec-Weglinski, J.W. (2003). Stat4 and Stat6 in hepatic ischemia/reperfusion injury: HO-1 dependence of STAT4 disruption-mediated cytoprotection. *Hepatology* 37:296–303. PMID: 12540779.
- c. Ke, B., Shen, X.D., Ji, H., Kamo, N., Gao, F., Freitas, M.C., Busuttil, R.W. & Kupiec-Weglinski, J.W. (2013). HO-1 - STAT3 axis in mouse liver ischemia/reperfusion injury: Regulation of TLR4 innate responses through PI3K/PTEN signaling. *J. Hepatology* 2012; 56:359–66. PMID: 23867319.

- d. Ke, B., Shen, X.D., Zhang, Y., Ji, H., Gao, F., Yue, S., Kamo, N., Zhai, Y., Yamamoto, M., Busuttil, R.W. & Kupiec-Weglinski, J.W. (2013). Keap1-Nrf2 complex in ischemia-induced hepatocellular damage of mouse liver transplants. *J. Hepatology* 59:1200–7. PMID: 21756853.

V. Nowo odkryta rodzina białek kostymulacyjnych, immunoglobulinowa mucyna komórek T (TIM) ekspresjonowana przede wszystkim przez aktywowane komórki T CD4 + i APCs, funkcjonuje jako centralne regulatory różnicowania komórek T. Funkcja TIMS w mechanizmie uszkodzenia wątroby spowodowanego niedokrwieniem/reperfuzją (IRI) jest całkowicie nowa i wszystkie opublikowane informacje w tej dziedzinie pochodzą z naszych badań. W prowadzonych nieprzerwanie badaniach zakłócenie szlaku TIM-1 - TIM-4 łagodzi IRI wątroby u OLT biorców przeszczepu przez: (1) zmianę fenotypu/funkcji limfocytów od Th1 prozapalnego w kierunku Th2 przeciwzapalnego; oraz (2) obniżenie lokalnej aktywacji TLR4. W wyraźnym przeciwieństwie do tego, wykorzystanie fizjologicznej kostymulacji Tim-3 - Gal-9 było najbardziej korzystne i okazało się istotne dla przywrócenia homeostazy narządu po uszkodzeniu IR u biorców OLT przeszczepu. Badania te dostarczają nowych spostrzeżeń o tym, w jaki sposób zaangażowanie TIM-1/TIM-3 wpływa na limfocyty T (odpowiedź adaptacyjna) oraz jak ligandy TIM-4 / Gal-9 obecne na makrofagach/hepatocytach (odpowiedź wrodzona) regulują działanie prozapalne (patogenne) oraz cytoprotekcyjną (homeostatyczną) odpowiedź w przeszczepionej wątrobie IRI u biorców OLT. Wyniki te pozwoliły opracować nowy paradygmat, że manipulacja kostymulacją TIM na fazę oddziaływań komórek T CD4 – makrofagi stanowi obiecującą możliwość terapeutyczną w leczeniu stanu zapalnego wątroby i osiągnięciu poprawy funkcji komórek wątroby u biorców przeszczepów. We wszystkich tych badaniach uczestniczyłem jako główny badacz.

- a. Uchida, Y., Ke, B., Freitas, M.C., Yagita, H., Akiba, H., Busuttil, R.W., Najafian, N. & Kupiec-Weglinski, J.W. (2010). T-Cell Ig Mucin-3 dictates severity of liver ischemia/reperfusion injury in mice in a TLR4-dependent manner. *Gastroenterology* 139:2195–206. PMID: 20637206.
- b. Uchida, Y., Ke, B., Freitas, M.C., Ji, H., Zhao, D., Benjamin, E.R., Najafian, N., Yagita, H., Akiba, H., Busuttil, R.W. & Kupiec-Weglinski, J.W. (2010). The emerging role of T Cell Ig Mucin-1 in the mechanism of liver ischemia-reperfusion injury in mice. *Hepatology* 51:1363–72. PMID: 20091883.
- c. Zhang, Y., Ji, H., Shen, H.D., Cai, J., Gao, F., Koenig, K.M., Batikian, C.M., Busuttil, R.W. & Kupiec-Weglinski, J.W. (2013). Targeting TIM-1 on CD4 T cells depresses macrophage activation and overcomes ischemia/reperfusion injury in mouse orthotopic liver transplantation. *Am. J. Transplant.* 13: 56–66. PMID: 23137033.
- a. Liu, Y., Ji, H., Zhang, Y., Shen, X., Gao, F., Nguyen, T., Shang, X., Busuttil, R.W., Kuchroo, V.K. & Kupiec-Weglinski, J.W. (2015). Recipient T-Cell TIM-3 and hepatocyte Galectin-9 signaling protects mouse liver transplants against ischemia-reperfusion injury. *J. Hepatology* 62:563–72. PMID: 25450716.

- **1973–1979**

Praca naukowa w Instytucie Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN w Warszawie w Zakładzie Chirurgii Doświadczalnej i Transplantologii. Badania w dziedzinie immunologii transplantacyjnej były przedmiotem rozprawy doktorskiej, obronionej w 1979 r., oraz zbioru publikacji podanych w punkcie I planu wykładu. Prezentacja badań na 12. Kongresie Europejskiego Towarzystwa Chirurgii Doświadczalnej w Warszawie w kwietniu 1977 r. otworzyła drogę do kontaktów z ośrodkami naukowymi w Hiszpanii 1975 (Barcelona: St. Paul Hospital), w Niemczech 1976 (Karlsburg: Central Institute of Diabetes), w Wielkiej Brytanii 1986 – 9 miesięcy: (Oxford: University of Oxford Department of Surgery; John Radcliffe Hospital and MRC Cellular Immunology Unit, Sir William Dunn School of Pathology) oraz do prowadzenia badań na Harvardzie oraz UCLA.



- **1979–1997**

HARVARD MEDICAL SCHOOL, BOSTON, MA, USA. Kontynuacja badań w modelach doświadczalnych wpływu czynników komórkowych i humoralnych układu odpornościowego oraz nowych czynników immunosupresyjnych (cyklosporyny) w przeszczepianiu narządów. Zakres badań i wyniki podane w punkcie II planu wykładu i wykazie publikacji.

- **1997–obecnie**

DAVID GEFLEN SCHOOL OF MEDICINE at UCLA, Los Angeles, CA, USA. Badania nad patogenezą odrzucenia przeszczepu wątroby i mechanizmem akceptacji przeszczepu, a także nad zapobieganiem uszkodzeniu narządu w wyniku niedokrwienia i jego reperfuzji dla zapewnienia skutecznego akceptowania przeszczepianego narządu. Badania te przeprowadzane w modelach doświadczalnych (myszy i szczury), a także u pacjentów-biorców przeszczepów przyczyniły się do poprawy jakości i liczby pozyskiwanych do przeszczepów narządów, głównie wątroby. Zakres badań i wyniki podane w punktach III, IV i V planu wykładu i w wykazach publikacji.

