

# NOUVELLES OPTIONS THÉRAPEUTIQUES DANS LE REJET AIGU HUMORAL EN TRANSPLANTATION RÉNALE

par

M. D. STEGALL\*

## INTRODUCTION

Le rejet aigu humoral (RAH) est devenu une entité clinique clairement définie dans la transplantation d'organe. Selon la classification de Banff 2001 [1], le diagnostic de RAH dans les allogreffes rénales nécessite trois critères cliniques : 1) des signes morphologiques de lésion tissulaire, 2) des dépôts de C4d dans le rein et 3) la présence d'anticorps anti-donneur circulants (*Donor Specific Antibody*, DSA). Les autres critères histologiques associés au RAH sont l'accumulation de polymorphonucléaires neutrophiles (PMN) monocytes/macrophages dans les capillaires péri-tubulaires et des lésions de nécrose tubulaire aiguë. Les formes plus sévères peuvent inclure des microthrombi glomérulaires et/ou artériolaires et une nécrose fibrinoïde. Il est intéressant de noter que ces critères peuvent être associés dans des situations cliniques très différentes. Par exemple, les critères de Banff pour le diagnostic du rejet médié par les anticorps (RMA) peuvent être observés tardivement après la transplantation, en association avec un rejet à médiation cellulaire chez un receveur d'une allogreffe rénale au préalable non immunisé présentant un déclin lent de la fonction du greffon, ou peu après la transplantation chez un patient sensibilisé présentant une atteinte rapide et sévère du greffon rénal. Il est donc possible que la

\* Professeur de Chirurgie, von Liebig Transplant Center, Mayo Clinic, 200 First Street SW, Rochester, MN, 55905.

classification de Banff actuelle puisse mettre dans la même catégorie des épisodes de RAH qui peuvent avoir des causes et des pronostics quelque peu différents.

Récemment, plusieurs études ont apporté un nouvel éclairage sur l'histoire naturelle et le traitement du RAH dans plusieurs tableaux cliniques et sont présentées dans ce document.

## DOSAGE DES ALLO-ANTICORPS SPÉCIFIQUES DES ANTIGÈNES DU DONNEUR

Un des développements les plus significatifs dans la compréhension du RAH au cours des dernières années a été dû à l'amélioration de notre capacité à mesurer les allo-anticorps spécifiques des antigènes du donneur (DSA) chez les receveurs d'une transplantation. La connaissance des différentes méthodes de détection et d'estimation du taux d'anticorps anti-donneur est une condition préalable pour comprendre la pathogénie du RAH.

Les méthodes de dosages basées sur la cytotoxicité à médiation cellulaire étaient les principales méthodes de détection des DSA il y a juste une décennie et ils sont toujours utilisés dans de nombreux programmes. Même si ces dosages sont pratiques, ils ne sont pas sensibles et ont tendance à sous-estimer la prévalence réelle et le taux de DSA. Des dosages par cytométrie de flux sur lymphocytes T et B plus sensibles ont largement remplacé ces méthodes. Enfin, le développement des dosages « en phase solide » qui utilisent des microbilles ou des plaques recouvertes de molécules HLA ont permis d'estimer les taux d'anticorps dirigés contre un seul antigène HLA en l'absence de cellules du donneur. Actuellement, nos protocoles à la Mayo Clinic à Rochester impliquent la réalisation d'une batterie de tests chez les patients sensibilisés, avant et pendant la désensibilisation et après la transplantation, incluant : le cross-match T par cytotoxicité sensibilisé par anti-immunoglobuline humaine, le cross-match par cytométrie de flux sur lymphocytes T et B et le test utilisant des microbilles recouvertes d'un seul antigène HLA (Labscreen®).

Plusieurs restrictions doivent être présentes à l'esprit pour interpréter correctement les résultats de ces dosages des DSA. En premier lieu, le fait que même si ces dosages ont tendance à donner des résultats concordants (par exemple les taux élevés de DSA détectés dans le cross-match sont également détectés comme taux élevés par les dosages en phase solide), il existe de nombreux cas dans lesquels un dosage n'est que faiblement positif quand un autre test montre un taux élevé de DSA. C'est pour cette raison que nous continuons à pratiquer plusieurs tests de détection des DSA.

Du fait de la complexité et de l'hétérogénéité des données, il est parfois difficile d'évaluer les données comparatives. Nous présentons couramment les données sur les taux de DSA avec le cross-match par cytométrie de flux sur lymphocytes B en indiquant la variation de canal parce que ce dosage détecte les anticorps contre les antigènes HLA de classe I et de classe II du donneur. Cependant, cette approche présente des limitations ; par exemple, quand le cross-match T par cytométrie de flux est significativement plus élevé que le cross-match B et quand les DSA détectés par les dosages en phase solide sont élevés mais que le résultat du cross-match par

cytométrie de flux est relativement faible (par exemple anticorps contre les antigènes des cellules endothéliales ou contre certains antigènes HLA-C qui sont exprimés à des niveaux variables par les lymphocytes). L'utilisation de dosages en phase solide en remplacement des données de cross-match présente également des limitations en cas de présence d'anticorps dirigés contre plus d'un antigène HLA du donneur et de détection d'anticorps dirigés contre des allèles ou des antigènes HLA étroitement apparentés. L'expérience clinique croissante de ces dosages permettra de clarifier certains de ces problèmes.

Une autre limitation majeure de ces différents tests a été l'absence de standardisation entre les différents laboratoires d'histocompatibilité. Pour permettre la standardisation des dosages par cytométrie de flux, nous convertissons fréquemment nos données de variation de canal en molécules d'équivalent de fluorochrome soluble (MESF). Les comparaisons entre les tests de cytotoxicité sont particulièrement difficiles, mais elles peuvent être estimées en comparant les résultats de cytotoxicité aux résultats de la cytométrie de flux. Dans notre laboratoire par exemple, les tests sur lymphocytes T en présence d'AHG sont souvent positifs lorsque, pour le cross-match T par cytométrie de flux, le déplacement du canal est supérieur à 300 (MESF ~ 20 000) et de plus en plus positif avec l'augmentation du déplacement du canal. En utilisant la plate-forme Luminex, nous avons démontré une corrélation relativement bonne entre l'intensité moyenne de fluorescence (IMF ou MFI) et le décalage du canal/résultat MESF (Tableau I). Ainsi, un déplacement de canal de 300 dans un cross-match B par cytométrie de flux correspond généralement à une MFI d'environ 8 000 contre un seul antigène HLA. Les données de plusieurs groupes semblent indiquer que les patients ayant un taux initial élevé d'allo-anticorps anti-donneur spécifiques ont un risque élevé de développer un rejet aigu humoral après la transplantation [2].

TABLEAU I. – COMPARAISON DES TESTS DE DÉTECTION DES ALLO-ANTICORPS ANTI-DONNEUR SPÉCIFIQUES.

---

Lymphocytes T en présence d'AHG :

Lymphocytes T du donneur + sérum du receveur + anti-immunoglobuline humaine + complément

Interprétation : dilution maximale qui entraîne la lyse cellulaire

Cross-match en cytométrie de flux sur lymphocytes T et B :

Lymphocytes T ou B du donneur + sérum du receveur + anticorps anti-immunoglobuline humaine couplé à la fluorescéine

Interprétation : déplacement du canal de fluorescence ou équivalent de fluorochrome soluble moyen

Dosage en phase solide :

Un seul antigène HLA purifié lié à des microbilles ou plaques ELISA

Interprétation : intensité moyenne de fluorescence (IMF ou MFI)

Dans notre laboratoire de la Mayo Clinic à Rochester, un dosage sur lymphocytes T en présence d'AHG faiblement positif correspond généralement à un déplacement du canal supérieur à 300 (MESF ~ 20 000) au cross-match par cytométrie en flux et à une MFI d'environ 12 000 contre un seul antigène HLA de classe I du donneur

---

## HISTOIRE NATURELLE DU RAH APRÈS UNE TRANSPLANTATION RÉNALE AVEC CROSS-MATCH POSITIF

Avec le développement de dosages plus sensibles, il est maintenant clair que presque tous les cas de RAH impliquent une élévation du taux sérique d'allo-anticorps anti-donneur spécifiques dirigés contre les antigènes du système HLA (*Human Leukocyte Antigens*). Cependant, il devient également manifeste que les taux de DSA peuvent varier fortement et que tous les DSA ne provoquent pas un rejet aigu humoral. Notre groupe a étudié l'histoire naturelle des taux de DSA après une transplantation rénale avec cross-match positif [3] (fig. 1). Cette étude a démontré que le RAH précoce était associé au développement de taux élevés de DSA dans les premières semaines suivant la transplantation. Les receveurs qui ne développent pas des taux élevés de DSA (environ 60 p. 100 des patients avec nos protocoles basés sur les plasmaphèreses) ne développent pas de RAH. À l'inverse, l'incidence de RAH a été de 92 p. 100 chez les patients ayant présenté un déplacement du canal de 359 (MESF ~ 34 000) ou plus au cross-match B en cytométrie de flux. Cela correspond à une MFI supérieure à 10 000 contre un seul antigène HLA du donneur en utilisant le dosage LABscreen® sur une plate-forme Luminex dans notre établissement.

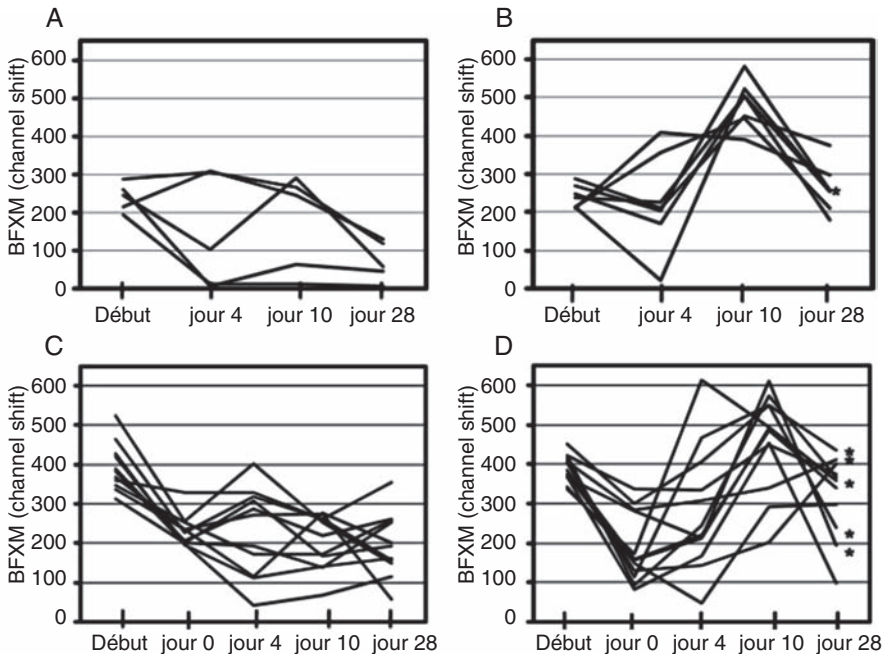


Fig. 1. – Corrélation entre les taux d'allo-anticorps anti-donneur spécifiques (DSA) et le rejet aigu humoral (RAH) précoce.

Les taux sériques de DSA déterminés par le cross-match B par cytométrie en flux diminuent pendant les premiers jours suivant la transplantation chez presque tous les receveurs d'une transplantation rénale avec cross-match positif. Chez les patients qui ne développent pas de RAH, le taux sérique de DSA tend à rester faible (graphiques A et C) tandis que les patients qui présentent un RAH ont tendance à développer des taux élevés dans les premiers mois suivant la transplantation (graphiques B et D). (Adapté de Burns et al, Am J Transplant, 2008 ; 8 : 2684-2694. Reproduit avec leur autorisation.)

## MÉCANISMES DE DÉVELOPPEMENT D'ANTICORPS AU COURS DU REJET AIGU HUMORAL

Les mécanismes cellulaires responsables du RAH ne sont pas connus, mais nos connaissances sur la synthèse d'allo-anticorps chez les patients sensibilisés ont été analysées récemment [4]. Pendant un RAH, il est probable qu'une partie des DSA présents dans le sérum soit due à la synthèse d'anticorps continue par les plasmocytes préexistants. De plus, l'augmentation des DSA qui est observée pendant le RAH permet de penser que la conversion de lymphocytes B mémoire allospécifiques pourrait également jouer un rôle. Malheureusement, il n'existe pas d'études de l'activité des lymphocytes B mémoire pendant un rejet aigu humoral. Malgré cela, plusieurs groupes ont développé des protocoles de traitement du RAH basés sur leur effet présumé sur les lymphocytes B ou les plasmocytes.

## OPTIONS THÉRAPEUTIQUES DANS LE RAH : PLASMAPHÉRÈSE, IVIG, RITUXIMAB ET SPLÉNECTOMIE

Le RAH se manifeste par une détérioration rapide et sévère de la fonction rénale qui résiste aux traitements antirejet conventionnels. Plusieurs protocoles ont été utilisés pour le traitement du RAH, mais de nombreuses études publiées étaient anecdotiques et manquaient de données comparatives (Tableau II). Les deux traitements les plus courants du RAH sont les plasmaphérèses répétées [2] et les immunoglobulines intraveineuses (IVIG) à dose élevée [5]. Le rituximab a également été couramment utilisé, en général en association avec d'autres traitements [5, 6]. La splénectomie a été utilisée dans les épisodes de RAH réfractaire sévère, mais son efficacité et son rôle réel ne sont pas clairs [7].

Lefaucheur et coll. [8] ont comparé deux stratégies de traitement du RAH dans les trois premiers mois suivant la transplantation : 12 patients ont été traités par IVIG à dose élevée et 12 patients par une association de plasmaphérèse/IVIG/anticorps anti-CD20 (rituximab) [7]. La survie du greffon à 36 mois a été de 50 p. 100 dans le groupe IVIG seules versus 91,7 p. 100 dans le groupe PP/IVIG/rituximab. Cette étude a également montré que la persistance de taux élevés de DSA après le traitement était plus fréquente chez les patients présentant une perte du greffon. Dans cette étude et dans d'autres, on ne sait toujours pas de façon claire si l'utilisation du rituximab a eu des effets sur les lymphocytes B mémoire ou si les plasmaphérèses seules auraient été aussi efficaces dans le traitement du RAH.

TABLEAU II. – OPTIONS THÉRAPEUTIQUES DANS LE REJET AIGU HUMORAL.

- Plasmaphérèses [2, 8]
- Immunoglobulines intraveineuses à dose élevée [5, 8]
- Anticorps anti-CD20 (Rituximab) [5]
- Splénectomie [6]
- Inhibition du protéasome (Bortézomib) [10, 11]
- Inhibition du complément (Éculizumab) [12, 13]

## INHIBITEUR DU PROTÉASOME DANS LE RAH

Le RAH implique la production de taux élevés de DSA par les plasmocytes, soit par les plasmocytes nouvellement différenciés à partir des lymphocytes B naïfs ou mémoire, soit par ceux qui étaient présents avant la transplantation. Par conséquent, une stratégie possible pour contrôler le RAH serait de contrôler la production de DSA par les plasmocytes. Le bortézomib, un inhibiteur du protéasome, qui a été autorisé par la FDA dans le traitement du myélome multiple, entraîne l'apoptose des plasmocytes normaux, ce qui diminue la synthèse d'allo-anticorps chez les receveurs sensibilisés [9]. Dans cette étude, Perry et coll. [10] ont décrit deux patients sensibilisés présentant un RAH qui ont été traités en février 2007 par une association de bortézomib et de plasmaphérèses répétées. Les deux patients ont présenté une résolution du RAH et une diminution du taux sérique de DSA quelques mois après le traitement. Aucun n'a développé de glomérulopathie sur le greffon. Dans un contexte clinique légèrement différent, Everly et coll. [11] ont utilisé le bortézomib pour traiter six patients qui présentaient un rejet aigu humoral et un rejet cellulaire combinés survenant 3 mois à 7,5 ans après la transplantation. Les six patients ont présenté une résolution du rejet humoral et une diminution du taux de DSA après le traitement. Malheureusement, 3 des 6 patients ont développé une glomérulopathie du greffon. Même si ces premières expériences cliniques de l'inhibition du protéasome sont encourageantes, l'absence de témoins est une limitation majeure pour évaluer l'efficacité réelle. De plus, puisque même un RAH traité avec succès peut quand même entraîner le développement d'une glomérulopathie chronique sur le greffon, la prévention du rejet médié par les anticorps pourrait être un objectif plus important de ces types de traitement.

## INHIBITION DE LA FRACTION TERMINALE DU COMPLÉMENT PAR L'ÉCULIZUMAB

Presque tous les épisodes de RAH sont accompagnés de signes d'activation précoce du complément, mis en évidence par un marquage C4d positif des capillaires périrubulaires [2]. Cependant, le rôle exact du complément dans la pathogénie du RAH n'est pas clair. L'éculizumab est un anticorps monoclonal humanisé qui se lie au C5 avec une haute affinité et inhibe ainsi l'activation de la voie terminale du complément. L'éculizumab est autorisé par la FDA dans le traitement de l'hémoglobinurie paroxystique nocturne. Locke et coll. ont décrit le traitement par l'éculizumab d'un patient présentant un RAH sévère [12].

Notre groupe mène une étude de l'éculizumab pour la prévention du RAH chez des patients ayant un cross-match positif contre leur donneur vivant avant la transplantation [13]. Dans cette étude, le protocole de plasmaphérèses sélectives avant transplantation qui est décrit ci-dessus a été utilisé chez des receveurs de donneurs vivants pour obtenir un déplacement de canal inférieur à 300 sur le cross-match B en cytométrie de flux le jour de la transplantation. L'éculizumab est administré au moment de la transplantation puis une fois par semaine pendant un mois. Le traitement est arrêté après un mois si le taux de DSA diminue (c'est-à-dire si le cross-

match B en cytométrie de flux est inférieur à 200). Sinon, le traitement est poursuivi pendant 3 mois et il peut à nouveau être arrêté si le cross-match B en cytométrie de flux est inférieur à 200 après cette période. Les biopsies prévues par le protocole aux jours 7, 12, 21 et 28 sont utilisées pour diagnostiquer le RAH.

Actuellement, les données de suivi de 6 mois sont disponibles pour 10 patients. Aucun patient n'a présenté de RAH, par rapport à une incidence de 41 p. 100 dans un groupe témoin de 54 receveurs consécutifs de donneurs vivants ayant un cross-match positif traités selon un protocole similaire ( $P < 0,01$ ). Dans le groupe témoin, le développement du RAH a été associé au développement de taux élevés de DSA après la transplantation, un déplacement de canal supérieur à 340 du cross-match B en cytométrie de flux étant observé chez 92 p. 100 des patients ayant développé un RAH dans les premiers mois suivant la transplantation. Six des dix patients traités par l'éculizumab ont développé un taux similaire de DSA le premier mois suivant la transplantation et aucun n'a présenté de signes de RAH. Fait important, sur 7 des biopsies du greffon pratiquées chez les patients traités par l'éculizumab, le marquage positif de C4d témoignait de signes d'activation précoce du complément dans le greffon.

On ne sait toujours pas clairement si l'inhibition de la fraction terminale du complément par l'éculizumab est suffisante pour éviter toutes les formes de lésions d'origine humorale. Deux patients du groupe traité par l'anti-C5 présentent des taux élevés persistants de DSA 6 mois après la transplantation et le traitement par l'éculizumab est poursuivi. Même si l'activation de la voie terminale du complément semble être inhibée de façon uniforme, la microscopie électronique montre une activation des cellules endothéliales chez les deux patients et un patient présente des signes de glomérulopathie sur le greffon. Il n'a pas été mis en évidence de signes d'activation des cellules endothéliales chez les 8 autres patients. Il pourrait donc exister des mécanismes de lésions chroniques indépendants du complément qui doivent encore être pris en compte chez certains patients.

## REJET CHRONIQUE MÉDIÉ PAR LES ANTICORPS

Selon notre expérience du traitement à base de plasmaphèreses, plus de 40 p. 100 des patients présentant un RAH développeront une glomérulopathie du transplant (GT) malgré un traitement considéré comme efficace du rejet aigu humoral. La glomérulopathie du transplant est la lésion histologique chronique majeure associée à l'atteinte chronique médiée par les anticorps [14]. Elle est responsable de l'un des pronostics les plus défavorables de toutes les modifications histologiques chroniques, avec des taux de survie du greffon à 5 ans de moins de 50 p. 100 à partir du moment du diagnostic. Le mécanisme et le traitement de ce type de lésions chroniques médiées par anticorps ne sont pas totalement élucidés. Peu d'études ont comporté un traitement préemptif. Trivedi et coll. ont décrit leur expérience dans une étude menée chez 11 patients traités par le bortézomib pour le développement de novo d'anticorps anti-HLA [15]. Dans cette étude, 9 des 11 patients ont présenté une diminution du taux d'anticorps dans les 22 jours suivant l'instauration du traitement. Les auteurs suggèrent que l'administration préemptive de bortézomib pourrait éviter les lésions chroniques médiées par anticorps, mais les résultats à long terme ne sont



pas encore disponibles. Cependant, cette étude n'apporte pas d'autres arguments de l'efficacité de l'inhibition du protéasome dans le contrôle de la production de DSA.

## CONCLUSION ET FUTURES ÉTUDES

Bien que plusieurs stratégies thérapeutiques nouvelles aient émergé, des études et un suivi plus étendus sont nécessaires pour déterminer si ces avancées amélioreront le pronostic du RAH. En outre, il subsiste plusieurs questions importantes concernant le RAH. Tout d'abord, les mécanismes immunologiques responsables du développement de taux élevés de DSA ne sont toujours pas clairs. La contribution des lymphocytes B mémoire par rapport au rôle des plasmocytes préexistants peut avoir des implications thérapeutiques importantes puisque chaque type de cellule peut avoir une sensibilité variable à différents agents. Le fait que les critères de Banff pour le RAH puissent être observés dans plusieurs situations cliniques apparemment différentes soulève la question de savoir s'il existe des « types » différents de RAH basés sur le moment d'occurrence après la transplantation, la coexistence d'un rejet cellulaire et l'association avec des modifications plus chroniques. Enfin, on ne sait pas clairement si le fait de surmonter l'obstacle du RAH ne sera suivi que de l'autre obstacle majeur que sont les lésions chroniques médiées par anticorps. On peut espérer que ces études et d'autres apporteront de nouvelles connaissances et permettront d'améliorer le traitement dans ce domaine longtemps négligé de la transplantation.

## BIBLIOGRAPHIE

1. RACUSEN LC, HALLORAN PF, SOLEZ K. Banff 2003 meeting report : new diagnostic insights and standards. *Am J Transplant*, 2004, 4 : 1562-1566.
2. STEGALL MD, GLOOR J, WINTERS JL et al. A comparison of plasmapheresis vs high-dose IVIG desensitization in renal allograft recipients with high levels of donor specific alloantibody. *Am J Transplant*, 2006, 6 : 346-351.
3. BURNS JM, CORNELL LD, PERRY DK et al. Alloantibody levels and acute humoral rejection early after positive crossmatch kidney transplantation. *Am J Transplant*, 2008, 8 : 2684-2694.
4. STEGALL MD, DEAN PG, GLOOR JM. Mechanisms of alloantibody production in sensitized renal allograft recipients. *Am J Transplant*, 2009, 9 : 998-1005.
5. VO AA, LUKOVSKY M, TOYODA M et al. Rituximab and intravenous immune globulin for desensitization during renal transplantation. *N Eng J Med*, 2008, 359 : 242-251.
6. BECKER YT, BECKER BN, PIRSCH JD et al. Rituximab as treatment for refractory kidney transplant rejection. *Am J Transplant*, 2004, 4 : 996-1001.
7. LOCKE JE, ZACHARY AA, HOHAMMED BS et al. Rescue splenectomy for severe antibody-mediated rejection. *Clin Transpl*, 2006, 518-520.
8. LEFAUCHEUR C, NOCHY D, ANDRADE J et al. Comparison of combination plasmapheresis IVIg/anti-CD20 versus high-dose IVIg in the treatment of antibody mediated rejection. *Am J Transplant*, 2009, 9 : 1099-1107.
9. JACSON G, EINSELE H, MOREAU P et al. Bortezomib, a novel proteasome inhibitor, in the treatment of hematologic malignancies. *Cancer Treat Rev*, 2005, 31 : 591-602.



10. PERRY DK, BURNS JM, POLLINGER HS et al. Proteasome inhibition causes apoptosis of normal human plasma cells preventing alloantibody production. *Am J Transplant*, 2009, 9 : 201-209.
11. EVERLY MJ, EVERLY JJ, SUSSKIND B et al. Bortezomib provides effective therapy for antibody and cell-mediated rejection. *Transplantation*, 2008, 86 : 1754-1761.
12. LOCKE JE, MAGRO CM, SINGER AL et al. The use of antibody to complement protein C5 for salvage treatment of severe antibody-mediated rejection. *Am J Transplant*, 2009, 9 : 231-235.
13. STEGALL MD, DIWAN T, BURNS P et al. Prevention of acute humoral rejection with C5 inhibition. *Am J Transplant*, 2009, 9 (s2) : 241.
14. GLOOR JM, COSIO FC, REA DJ et al. Histologic findings one-year after positive crossmatch or ABO blood group incompatible living donor kidney transplantation. *Am J Transplant*, 2006, 6 : 1841-1847.
15. TRIVEDI HL, TERASAKI PI, FERAZ A et al. Abrogation of anti-HLA antibodies via proteasome inhibition. *Transplantation*, 2009, 87 : 1555-1561.