

Anticorps anti-HLA et non anti-HLA dans le rejet humoral des greffes d'organes

Anti-HLA and non-HLA antibodies and humoral rejection in organ transplantation

Jean-Luc Taupin*

RÉSUMÉ

» Grâce aux tests récents d'identification d'anticorps anti-HLA de type *single antigen*, l'implication des alloanticorps anti-HLA est de mieux en mieux décrite. Cependant, la reproductibilité de ces tests est limitée, ce qui empêche de les utiliser sur un mode quantitatif, pour estimer la quantité d'anticorps présente, la corrélérer à un effet pathogène et définir des seuils de positivité (antigènes à interdire) comparables entre les centres. De plus, des travaux de plus en plus nombreux montrent l'implication significative d'un nombre croissant d'antigènes allogéniques non-HLA dans le processus de rejet et, plus récemment, la participation d'autoantigènes. La réponse humorale anti-donneur a donc encore beaucoup à nous apprendre.

Mots-clés: Anticorps anti-HLA – Anticorps non-anti-HLA – *Single antigen* – Auto-immunité – Allo-immunité.

RÉSUMÉ

Taking advantage of the recent tests for anti-HLA antibody identification such as the "single antigen" assays, the role of anti-HLA alloantibodies is far better apprehended. However, these assays display a limited reproducibility which strongly limits their use as quantitative tests allowing estimating the amount of antibody in order to correlate this parameter with a pathogenic effect and determine positivity thresholds (unacceptable antigens) that can be compared between transplant centers. In addition, an increasing number of reports implicate an ever-growing number of non-HLA alloantigens, and more recently an autoimmune reactivity as well. Therefore, we still have a lot to learn from humoral response.

Keywords: Anti-HLA antibody – Non-anti-HLA antibody – *Single antigen* – Autoimmunity – Alloimmunity.

La compréhension du rôle des anticorps allogéniques dirigés contre les antigènes HLA du donneur a grandement profité au cours de la dernière décennie de l'utilisation croissante des techniques dites sensibles, permettant de détecter une immunisation jusqu'alors invisible avec les méthodes anciennes reposant sur le principe de la cytotoxicité dépendante du complément. En particulier, l'approche des "antigènes isolés", ou "*single antigen*", dans un format multiplex utilisant des billes fluorescentes (c'est le principe des appareils Luminex®), a apporté une résolution jusqu'alors impossible dans la précision de l'analyse, permettant, d'une part, de comparer des allèles HLA entre eux et donc, par déduction, d'identifier les épitopes peptidiques responsables de l'immunisation, et, d'autre part, d'étudier les antigènes HLA polymorphes d'abord techniquement difficile, que sont Cw, DP, DR51/52/53 et les chaînes α de DQ et DP. Pour ces derniers, en effet, les connaissances sont beaucoup moins avancées que pour A, B, DR et la chaîne bêta de DQ.

Cependant, ce test apporte aussi son lot de questions nouvelles. Par exemple, s'il est commercialisé pour une utilisation sur un mode qualitatif (c'est-à-dire qu'il n'est censé déterminer que la présence ou l'absence de tel ou tel type d'anticorps anti-HLA), il est facilement, et par excès, interprété sur un mode quantitatif pour apprécier un niveau d'immunisation. Cette pratique tentante, facilitée par le fait que le test fournit des résultats chiffrés de la mesure de la fluorescence, ne peut être envisagée qu'après la démonstration, au sein du laboratoire, d'une bonne reproductibilité des résultats. Elle ne peut actuellement être généralisée à d'autres laboratoires, à cause de trop grandes variations d'un laboratoire à l'autre. Ces conditions une fois réunies, se posera alors la question du seuil de positivité qu'il faut prendre en compte pour définir un antigène HLA interdit et, le cas échéant, des différents paliers fixant les niveaux de risque immunologique acceptables pour permettre à un patient difficile à greffer à cause d'une immunisation trop large de bénéficier d'un greffon

* Laboratoire d'immunologie et d'immunogénétique, CHU de Bordeaux; CNRS UMR 5164, université Bordeaux-Segalen.

Dossier thématique

en théorie incompatible. Un double consensus doit donc être trouvé, entre les biologistes des laboratoires HLA, d'une part, et entre les médecins des équipes de transplantation, d'autre part, et une concertation entre l'ensemble de ces acteurs réunis doit s'établir. Les bases de ce travail ont récemment été publiées (1).

Le test *single antigen* est, dans de nombreux cas, mal (ou même très mal) corrélé aux tests cellulaires de *cross-match* de sensibilité équivalente (en cytométrie en flux) ou inférieure (cytotoxicité), au moins en partie à cause d'imperfections qui doivent être corrigées pour en garantir la fiabilité. Il présente en effet 2 inconvénients majeurs. Tout d'abord, il produit parfois des faux négatifs, lorsqu'un anticorps est très abondant : dans ce cas, la saturation de la bille entraîne l'activation du complément, qui, ensuite, empêche la liaison de l'anticorps fluorescent employé pour révéler la présence de l'anticorps allogénique (2). Cet effet, qui concerne les anticorps cytotoxiques, responsables des rejets les plus sévères et les plus rapides (rejet hyperaigu, notamment), peut être dramatique. La parade est simple : il suffit d'inactiver le complément avant de procéder au test (utilisation de plasma prélevé sur EDTA [acide éthylène diamine tétra-acétique], ajout d'EDTA dans le sérum, chauffage du sérum à 56 °C, ajout de dithiothréitol [DTT]). Le test *single antigen* produit aussi des faux positifs, liés notamment à la présence d'antigènes HLA dits "dénaturés" à la surface des billes. Ce phénomène est surtout décrit pour la classe I, à ce jour. Ce HLA dénaturé provient des traitements que subit la molécule entre la production cellulaire et l'attachement à la bille. La molécule HLA de classe I est fragile, c'est un complexe trimoléculaire de stabilité limitée, et la conformation de certains épitopes dépend fortement de la forme de l'ensemble. L'altération de la molécule s'accompagne de modifications épitopiques, perturbant la reconnaissance par certains anticorps et en révélant de nouvelles. La proportion de ces molécules à la surface des billes, sans être déterminée, n'est pas négligeable, car de fortes réactions positives peuvent être obtenues avec des sérums ne contenant pas d'anticorps capables de reconnaître les molécules HLA exprimées par les cellules. La parade, plus complexe, consisterait à éliminer les molécules altérées au moment de la fabrication des réactifs. Il est important de connaître ces limites et de les combattre, pour une meilleure utilisation de ce test, qui néanmoins a permis d'accélérer les connaissances dans ce domaine.

Ce test permettra d'améliorer les connaissances sur les anticorps HLA "exotiques". L'incompatibilité HLA-Cw semble associée à un moins bon pronostic (3), et les antigènes DP, contre lesquels l'immunisation est fré-

quente, ont été décrits comme responsables de rejets humoraux aigus sévères (4). L'immunisation contre les chaînes α polymorphes des molécules bicaténaires DP et DQ existe aussi, et est fréquente, notamment pour DQ α (5), mais aucune donnée clinique ne confirme ni n'infirme encore leur rôle pathogène, et il en est de même pour DR51/52/53. La mise en évidence de cette allo-immunisation directement dans le greffon pourrait être décisive, et le test *single antigen*, de par ses avantages, est le meilleur outil pour répondre à cette question, car sa précision est bien meilleure que celle du marquage C4d. Sur cette base, nous avons mené une étude sur 51 biopsies et les sérums concomitants, et montré la présence potentielle d'anticorps antidonneur associés au greffon pour les antigènes HLA classiques et exotiques, ainsi que l'association de la présence de ces anticorps avec un pronostic plus sévère (6).

Il est certain que ces anticorps exotiques sont capables de positiver le *crossmatch*, et même en lymphocytotoxicité, ce qui montre la force que peut atteindre cette immunisation. Sur une durée de 3 ans (2008-2010), le groupe d'experts HLA a repris l'ensemble des *crossmatches* positifs ayant entraîné le refus du greffon (essentiellement en LCT [lymphocytotoxicité] : 130 sur les 137), et près de 50 % d'entre eux ne s'expliquaient que par une immunisation anti-Cw, DP et DR51/52/53 (résultats non publiés). Cela suggère 2 choses :

- ✓ le profil d'immunisation d'un patient, pour être clairement interprétable, nécessite de disposer d'un groupage complet du donneur ou, au minimum, du groupage des loci HLA contre lesquels le patient est immunisé ;
- ✓ le test *single antigen* est capable d'apporter une information précise, utilisable pour une stratégie de *crossmatch* virtuel efficace.

Le *single antigen* ne résoudra pas l'ensemble des situations, car il est limité à l'analyse de l'immunisation anti-HLA. Or, d'autres antigènes peuvent induire une immunité. Ces antigènes peuvent être allogéniques – anticorps dits "anti-cellules endothéliales", dont les cibles antigéniques ne sont pas identifiées (7), anticorps anti-MICA (*MHC class I-related chain A* [8]) dirigés contre des antigènes polymorphiques de type HLA et qui sont notamment exprimés par les cellules endothéliales, ou anticorps dirigés contre des autoantigènes dont le niveau d'expression est beaucoup plus élevé chez le donneur que chez le receveur (anti-AT1R [9, 10]) ; ils peuvent aussi être distribués dans des compartiments cellulaires ou tissulaires inhabituels (antivimentine [11]) et induisant une rupture de tolérance. Cette liste n'est pas limitative (12). Les antigènes dirigés contre MICA et AT1R font l'objet de beaucoup d'attention, et, si l'immu-

nisation contre MICA n'a pas montré une importance suffisante pour justifier son étude en routine, AT1R semble fréquemment impliqué dans le mécanisme du rejet non expliqué par le système HLA. La littérature récente suggère que cette autoréactivité est en fait beaucoup plus large, pouvant toucher un grand nombre de molécules différentes (13). Le tableau semble donc se compliquer singulièrement, avec l'augmentation du

nombre de cibles potentielles hors du système HLA. Il n'est pas actuellement possible de définir la part que jouent les compartiments allogéniques non HLA et auto-immuns, à cause du manque de tests simples et fiables pour la plupart des cibles potentielles et connues, de la prépondérance du rôle du système HLA qui est souvent impliqué chez les mêmes patients et, donc, de l'absence d'études solides.

L'auteur déclare ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références bibliographiques

1. Tait BD, Süsal C, Gebel HM et al. Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with HLA and non-HLA antibodies in transplantation. *Transplantation* 2013;95(1):19-47.
2. Schnaidt M, Weinstock C, Jurisic M, Schmid-Horch B, Ender A, Wernet D. HLA antibody specification using single-antigen beads—a technical solution for the prozone effect. *Transplantation* 2011;92(5):510-5.
3. Tran TH, Döhler B, Heinold A, Scherer S, Ruhenstroth A, Opelz G. Deleterious impact of mismatching for HLA-C in presensitized recipients of kidney transplants. *Transplantation* 2011;92(4):419-25.
4. Jolly EC, Key T, Rasheed H et al. Preformed donor HLA-DP specific antibodies mediate acute and chronic antibody-mediated rejection following renal transplantation. *Am J Transplant* 2012;12(10):3-12.
5. Tambur AR, Leventhal JR, Friedewald JJ, Ramon DS. The complexity of human leukocyte antigen (HLA)-DQ antibodies and its effect on virtual crossmatching. *Transplantation* 2010;90(10):1117-24.
6. Bachelet T, Couzi L, Lepreux S et al. Kidney intra-graft donor-specific antibodies as determinant of antibody-mediated lesions and poor graft outcome. *Am J Transplant* 2013;13(11):2855-64.
7. Le Bas-Bernardet S, Hourmant M, Valentin N et al. Identification of the antibodies involved in B-cell cross-match positivity in renal transplantation. *Transplantation* 2003;75(4):477-82.
8. Zou Y, Stastny P, Süsal C, Döhler B, Opelz G. Antibodies against MICA antigens and kidney-transplant rejection. *N Engl J Med* 2007;357(13):1293-300.
9. Dragun D, Müller DN, Bräsen JH et al. Angiotensin II type 1-receptor activating antibodies in renal-allograft rejection. *N Engl J Med* 2005;352(6):558-69.
10. Reinsmoen NL, Lai CH, Heidecke H et al. Angiotensin type 1 receptor antibodies associated with antibody mediated rejection in donor anti HLA antibody negative patients. *Transplantation* 2010;90(12):1473-7.
11. Mahesh B, Leong HS, McCormack A, Sarathchandra P, Holder A, Rose ML. Autoantibodies to vimentin cause accelerated rejection of cardiac allografts. *Am J Pathol* 2007;170(4):1415-27.
12. Win TS, Pettigrew GJ. Humoral immunity and transplant vasculopathy: when allo is not enough. *Transplantation* 2010;90(2):113-20.
13. Li L, Wadia P, Chen R et al. Identifying compartment-specific non-HLA targets after renal transplantation by integrating transcriptome and "antibodyome" measures. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106(11):4148-53.

Émission à recommander à vos patients...

🕒 02h 05 min



"Un voyage à la découverte des théories, batailles et expériences des pionniers de la **transplantation cardiaque**. Michel Cymes retrace le cheminement d'un cœur, du donneur au receveur, ainsi que sa transplantation au bloc opératoire de l'Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, à Paris, à l'aide d'images de synthèse."



Scannez ce flashcode pour voir l'émission en "REPLAY"



"AVENTURES DE MÉDECINE - Au cœur de l'homme"