Immunologie de la transplantation

I- Quelques définitions
II- Rappels : Le CMH
- A- Les lois de la transplantation
- B- complexe majeur d'histocompatibilité : CMH
- C- La diversité du CMH
- D- Le rôle du CMH
- E- Restriction au CMH et reconnaissance
- F- Les lois de la transplantation

III- Les rejets : manifestations cliniques
- A- Les différents types de rejet
- B- Le rejet hyperaigu
- C- Le rejet aigu
- D- Le rejet chronique ou néphropathie chronique du transplant

IV- Les rejets : aspects immunologiques
- A- La réponse allogénique
- B-Les mécanismes effecteurs
- C-Séquences des événements impliqués dans le rejet d'allogreffe
  - 1) Présentation de l'Ag qui active le système immunitaire et entraine le recrutement des cellules
  - 2) Activation de la réponse allogénique
  - 3) différenciation des effecteurs
- D- cytotoxicité cellulaire/humorale

V- L'immunosuppression
- A- Les anticalcineurines
- B- Les inhibiteurs de mTOR
- C- Les antimétabolites

VI- Conclusion
- A Les résultats de la transplantation rénale
- B- Les problèmes persistants de la transplantation
- C- Les espoirs et les enjeux

I. Quelques définitions

Transplantation : lorsqu'il existe un rétablissement de la continuité vasculaire (ex : rein, cœur, foie, pancréas, poumon, cœur-poumon). La maladie qui entraîne le plus de transplantation cœur-poumon : mucoviscidose.
Greffe : tissus sans anastomoses vasculaires (ex : moelle osseuses, peau, cornée)

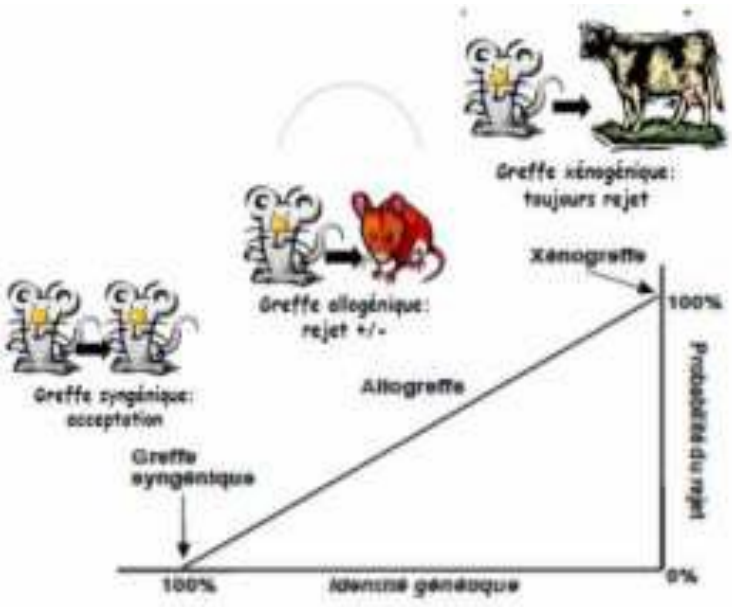
Greffe syngénique : donneur et receveur génétiquement identiques (autogreffe, chez un jumeau, les caractères épigénétiques sont différents, ce n'est donc pas une greffe syngénique)
Greffe allogénique : donneur et receveur génétiquement différents mais appartenant à la même espèce
Greffe xénogénique : donneur et receveur n'appartiennent pas à la même espèce

La transplantation est orthoptique si l'organe implanté chez le receveur dans la position anatomique qu'il occupait chez le donneur. Dans le cas contraire, il s'agit de transplantation hétérotopique (le plus souvent). Ex : si on greffe un rein, on le greffe à côté du rein malade.

II. Rappels : Le CMH

A- Les lois de la transplantation

Plus l'identité génétique entre donneur et receveur est différente, plus la probabilité de rejet est élevée. Les greffes xénogéniques sont celles entraînant le plus de rejet. Jusqu'à la greffe syngénique où il n'y a jamais de rejet.

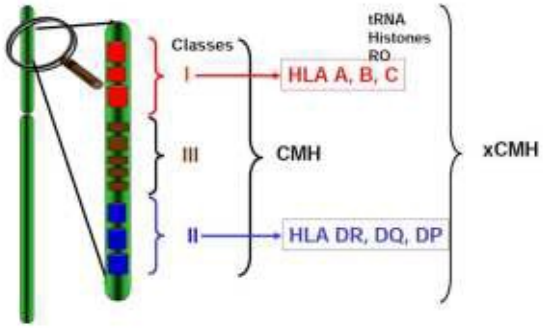


B- Complexe Majeur d'Histocompatibilité

On distingue 3 grands groupes de gènes suivant la localisation des gènes sur le K6.

La classe I sur toutes les cellules nucléées
La classe II sur les CPA

La classe III regroupe des molécules très différentes codées par la région chromosomique située entre classe I et II : codent des protéines à fonction immunologique, en particulier les protéines du complément. Mais ne possède pas de rôle dans la reconnaissance allogénique (mais très importante dans la fonction immunologique).



C- La diversité du CMH

La CMH est polygénique car codé par plusieurs gènes.

Les loci principaux :
- classe I : A, B, C
- classe II : DR, DQ, DP

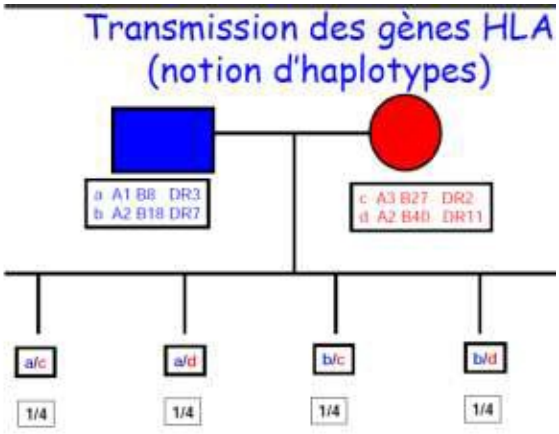
Polymorphisme :

Chaque gène est très polymorphe (très grand nombre d'allèles dans la population) (ex : 149 allèles différents pour HLA-B)

Chaque allèle peut être exprimé car tous sont co-dominants (on exprime à la fois un allèle paternel et un allèle maternel) et du fait du grand polymorphisme beaucoup d'individus sont hétérozygotes, ce qui augmente la diversité même au sein d'une même famille.

Donc, les individus génétiquement les plus proches sont les frères et sœurs, ce sont les choix privilégiés lors d'un don d'organe (le mieux étant entre 2 frères ou 2 sœurs).

La transmission des gènes HLA se fait en haplotype, ils ne sont pas transmis individuellement mais de manière groupée (=haplotype). Les fréquences d'haplotypes diffèrent selon les régions et les populations.



D- Rôle du CMH

La sélection thymique : le CMH, dès la naissance des LT dans le thymus, sert à sélectionner les LT sur leur capacité à reconnaître notre propre CMH (le LT doit reconnaître le CMH pour être activé) ; c'est la sélection positive. Les autres LT sont éliminés. La molécule qui reconnaît le CMH sur le LT est CD4 (CMH2) et CD8 (CMH1). C'est pour cela que les T CD4 sont dits « helper » car ils reconnaissent aussi CMH2. Le CD8 reconnaît le CMH1, et donc potentiellement toutes les cellules de l'organisme, son rôle est donc l'élimination anti- tumorale ou anti-virale. Il existe ensuite une sélection négative pour que le LT reconnaisse le non-soi.

La réponse immunitaire adaptative : tolérer le soi et rejeter le non-soi.

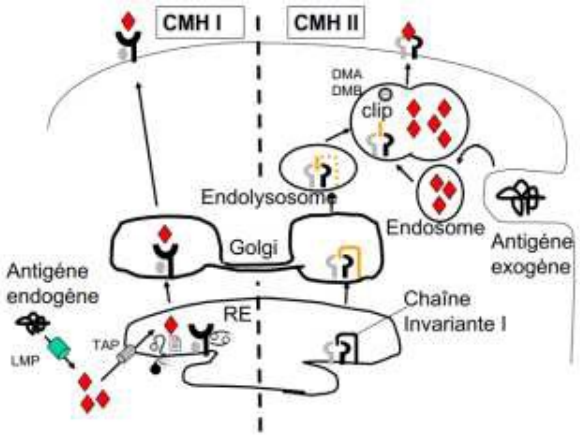
L'immuno-surveilance des lymphocytes natural killer (pas abordé dans ce cours).

La greffe d'organes

Rôle du CMH de classe 1 : exprimer des Ag endogènes (ex : Ag tumoral). Cet Ag est dégradé, puis processé dans le RE où il va migrer vers les endolysosomes pour être exprimé à la surface de la cellule. Chaque cellule exprime un CMH1 avec des molécules endogènes ; c'est la « carte d'identité » de la cellule. Le CMH 1 est classiquement reconnu par les LT CD8 .

Rôle du CMH de classe 2 : exprimer des Ag exogènes. Il est présent sur les CPA. Les Ag sont phagocytés, entrent dans les endosomes. Il y a fusion de l'endosome en endolysosome avec fusion entre l'Ag et le CMH2 qui est ensuite exprimé à la surface. Le CMH 2 est classiquement reconnu par le LT CD4 qui a une fonction helper.

Apprêtement de l'antigène et présentation antigènique :
Internalisation et digestion du peptide, ils vont dans le Golgi est associés aux molécules de classe II synthétisée de base par la cellule, puis passage par la loge cellulaire puis présentation du peptides à la surface de la cellule.
Certaines cellules portent **toujours** une molécule CMH I mais elle n'est pas reconnue par son SI du fait de la sélection positive (mais dans le cas d'une transplantation, le CMH I n'est pas toléré par le SI du receveur, d'où le déclenchement d'une réaction immunitaire).



F- Les lois de la transplantation

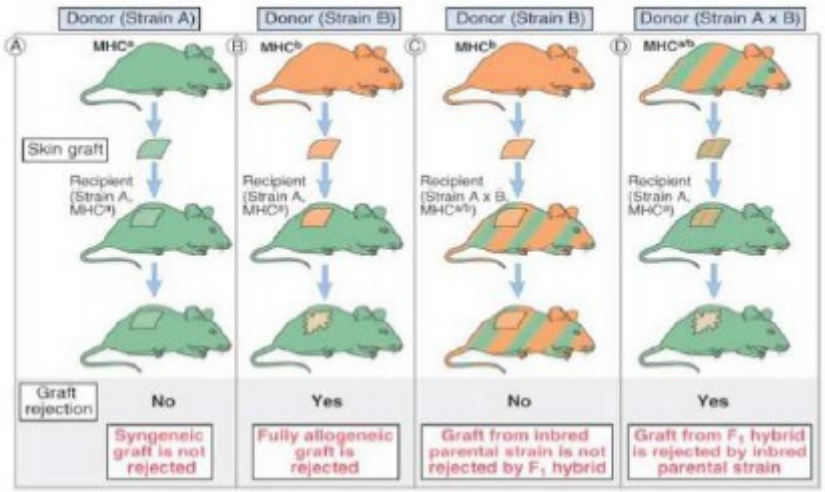
Si on fait une greffe de peau d'une souris de lignée A vers une autre souris de lignée A : il n'y a **pas de rejet** (greffe syngénique).

Si on fait une greffe de peau d'une souris de lignée B sur une souris de lignée A, il y a **rejet**.

Si on fait une greffe de peau d'une souris de lignée B sur une souris croisée AxB, il n'y a **pas de rejet** car la souris reconnaît à la fois les CMH des lignées A et B.

Si on fait une greffe de peau d'une souris de lignée AxB sur une souris A, il y a **rejet** car la souris A ne reconnaît pas l'haplotype de la lignée B.

La peau est relativement tolérogène à la greffe ! Dès qu'il y a un CMH différent, il y a rejet !



III. Les rejets : manifestations cliniques

A- Les différents types de rejet

C'est la réaction allogénique contre le greffon.

Classification clinique du rejet :

Hyper aigu : Quelques minutes à quelques heures après la transplantation (peut exister pendant l'opération)
Aigu : Quelques jours à 3 mois (le plus fréquent)
Chronique : plusieurs mois, années

B- Le rejet hyper aigu

(Quand quelque chose est rapide, c'est que les acteurs sont déjà présents !)

Se manifeste dans les minutes qui suivent le rétablissement de la continuité vasculaire :

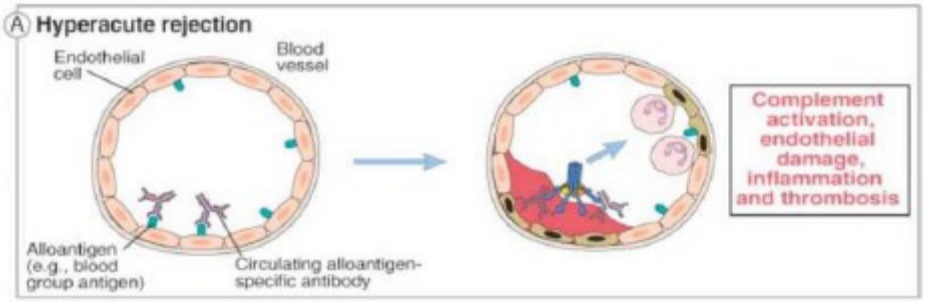
Secondaire à la fixation sur l'endothélium vasculaire d'Ac préformés, pré-existants chez le receveur. Ces anticorps (anti-HLA, contre le donneur) fixent le complément, créant des lésions des cellules endothéliales du greffon, ce qui provoque l'extravasation de cellules et de plasma ainsi que l'agrégation des plaquettes conduisant à la thrombose des micro-vaisseaux et à l'arrêt de la circulation sanguine.

Ces Ac préformés peuvent être produits à la suite de transfusions sanguines (réaction ADCC) , de grossesses mêmes non menées à terme, du rejet d'une première greffe. Les femmes en âge de procréer sont théoriquement plus dur à greffer que les hommes.

La fixation du complément permet la création de pores dans la cellule endothéliale qui se lyse, explose et forme une thrombose.

Comment y pallier?
Tout anticorps reconnaissant un Ag est capable de déclencher un phénomène d'ADCC, il faut remédier au rejet hyper-aigüe : on effectue des recherches de cross-match, on recherche des Ac anti-HLA.

Chez tout patient transfusé, atteint d'une insuffisance rénale et susceptible d'être un jour transplanté, il convient de rechercher l'apparition d'Ac anti-HLA dans les semaines qui suivent une transfusion. La recherche d'Ac anti-HLA se fait contre un panel de cellules qui représentent la population générale.



Le test standard = test de **lymphotoxicité**

1. Test de lymphotoxicité : Test standard en présence de complément (du receveur) et détecte donc les anticorps d'isotypes IgG et IgM.
2. on met in vitro la greffe + le sérum du receveur et on regarde si ça entraîne la lyse cytotoxique.

Les patients sont considérés comme immunisés quand au moins une cellule est lysée et hyperimmunisés quand 80% des cellules sont lysés (ex : patients qui ont déjà été transplantés, grossesse)

Ces patients bénéficient de priorité pour l'attribution d'un greffon sans incompatibilités HLA.

2. ELISA

3. Luminex : test 100 fois plus sensible qu'ELISA et permet de connaître la totalité des Ac anti-HLA que l'on cherche mais ne donnera pas la nature (IgG ou IgM) des Ac.

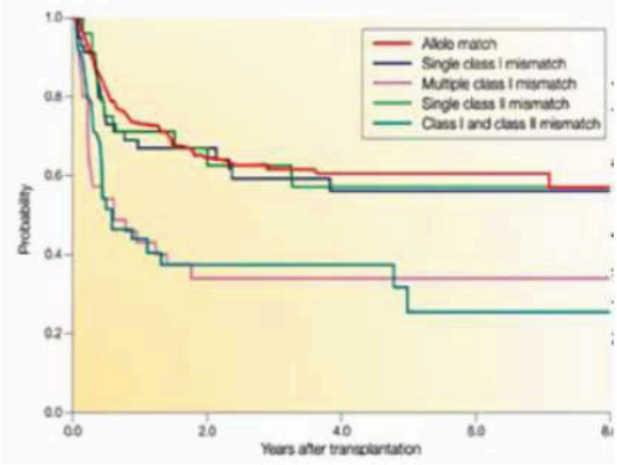
   NB : pas besoin d'avoir des C du donneur et pas d'action lytique.

Exemple : un rein ayant subi un rejet hyper aigu devient entièrement thrombosé.

Le rejet hyper aigu est le gros problème de la xénogreffe. C'est pourquoi on n'en fait pas chez l'homme.

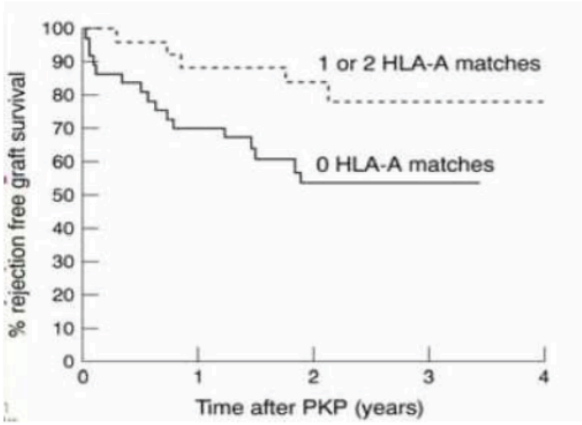
Plus il y a de mismatch (=reconnaissance du donneur), plus la probabilité de rejet augmente. Cela dépend aussi des organes ; les greffes de peau et de cornée sont moins sensibles au mismatch (peut-être dû à la faible vascularisation).

Greffe de Rein



Parham *et al., Nature Reviews Immunology,* 2003

Greffe de cornée



Bartels *et al., Br J Ophtalmol,* 2001

Sur l'axe des ordonnées : pourcentage de survie.
Sur l'axe des abscisses : Temps après transplantation

On voit que plus il y a de "matches" et moins il y a de "mismatches", plus le pourcentage de survie augmente.

C- Le rejet aigu

C'est la réponse immune du receveur contre le greffon dirigée contre les allo-antigènes du donneur. On peut normalement la contenir avec des médicaments, mais chez certains patients ça ne suffit pas ..

Diagnostic clinique :

- Insuffisance rénale aiguë post-greffe sous traitement
- Pic de fréquence de 8jours à 3mois
- Le diagnostic doit être confirmé par la biopsie :
  * Infiltrat cellulaire par des cellules mononucléées (pas de cellule dans l'aigüe)
  * Œdème interstitiel
  * Atteinte glomérulaire
  * Lésions vasculaires

Le rejet aigüe n'est plus synonyme de perte de greffon aujourd'hui, on peut le traiter par les médicaments.

Il y a deux grands types de rejets aigus selon la prévalence d'un ou de l'autre manifestation :

- **Un rejet aigu à médiation cellulaire** : infiltration des cellules mononucléées, destruction du greffon par lyse cytotoxique (LT CD8)

- **Un rejet aigu à médiation humorale** : dépôts d'Ac néoformés (on a déjà limité au maximum la présence d'Ac préformés) et destruction des tissus complètement dépendants. (LB)

Pour le rejet hyper-aigu, les taches rouges sont des thromboses. Pour le rejet aigu, chaque tache noire est une cellule mononucléé.

Un rejet aigu peut se soigner (à la différence du rejet hyper aigu qui est irréversible).
Le traitement diffère selon le type de rejet. Face à un rejet cellulaire, on va diminuer la prolifération des LT, alors que si on est face à un rejet humoral, on va diminuer la production des Ac. Mais il faut savoir que le rejet n'est jamais totalement humorale ou cellulaire ; il y a toujours un peu des deux.

Le C4D fait parti du complément et permet de détecter le type de rejet pour savoir quelle thérapeutique utiliser. Plus il y a de C4D, plus il y a de risque que le rejet soit humoral (car le complément fixe les Ac).

Statistiquement, un greffon sur deux entraîne un rejet. Mais les traitements sont efficaces : il n'y a que 3-7% de perte à 1 an pour les rejets cellulaires.

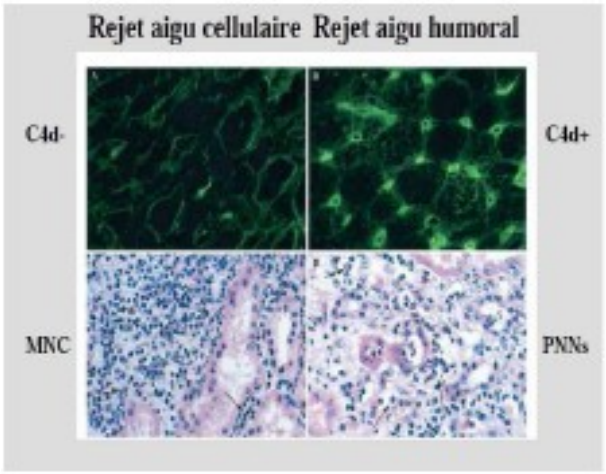
Mais pour les rejets humoraux, il y a de 27 à 40% de perte car on ne sait pas enlever les Ac déjà formés. On a pas de médicaments dirigés contre les LB.

Contre un rejet humoral, on change le plasma du receveur par un nouveau plasma. On peut aussi perfuser des IVIg (immunoglobulines intra-veineuses = anticorps anti-anticorps) en très grande quantité pour contrer les Ig pathogènes mais c'est invasif.

On traite très bien le rejet cellulaire, mais on est plus démuni contre le rejet humoral

Rejet aigu :

Rejet cellulaire	Rejet humoral
Patients naifs	Patient immunisé (ou non)
Infiltrat mononucléaire	Infiltrat moins abondant
CD4d-	CD4d+
Pas Ac anti HLA (le patient ne va pas s'allo imunisé)	**Ac** anti HLA et Ac anti cellules endothélilales
Bon pronostic sous ttt	**Pronostic moins bon**
fréquent	Moins fréquent



Le fait d'avoir fait un rejet aigu n'exclut pas de faire un nouveau rejet d'un autre type. Rejet = réponse allogénique, différent de la perte du greffon.

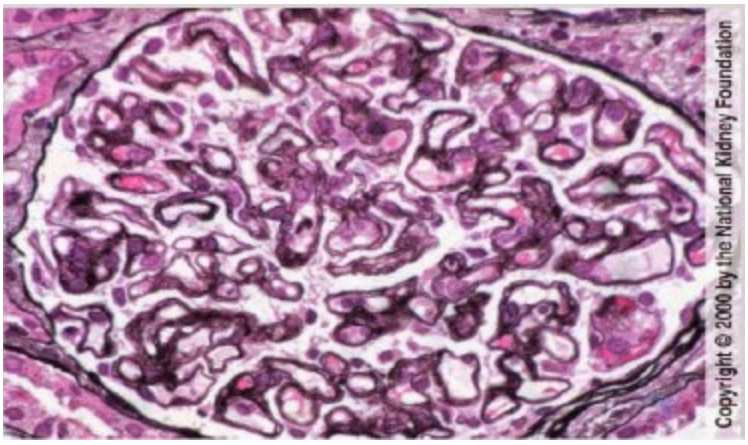
D- Le rejet chronique ou néphropathie chronique du transplant

C'est la dégradation lente et **irréversible** de la fonction rénale ; associée à une HTA, une protéinurie. Il peut arriver plusieurs années après la greffe (10 - 16 ans).

On sait le ralentir, mais on ne sait pas le guérir. On sait qu'on va vers une perte de greffon. Il est diagnostiqué sur la biopsie par des liaisons de fibroses, des atteintes vasculaires et tubulaires de la membrane basale ..

C'est la grosse problématique de la transplantation.

Ça concerne tous les organes, mais surtout le rein car très vascularisé, et cible des Ac qui sont éliminés par le rein. Les Ac ne se déposent pas dans les autres organes, il y a donc très peu de rejets chroniques.



Les cellules sont déformées, en pleine destruction.

Néphropathie chronique du transplant

- Etiologies non univoques
- Mécanismes multiples
- Peu de spécificité
- Facteurs immunologiques difficiles à apprécier
- Pas de traitement curatif
- Beaucoup de progrès en perspective

IV. Les rejets : aspects immunologiques

Ce qui entraîne le rejet, c'est la disparité des molécules CMH et la différences des HLA.

A- La réponse allogénique

L'allo-reconnaissance est l'ensemble des mécanismes de reconnaissance par un lymphocyte d'allo-antigène (Ag issus d'individus appartenant à la même espèce, mais génétiquement différents).

L'allo-réactivité est l'ensemble des mécanismes mis en jeu à la suite de cette reconnaissance aboutissant à une réponse soit anticorps, soit cellulaire.

En transplantation la cible est le CMH de l'organe greffé (et à un moindre degré d'autres systèmes dits mineurs).

Les molécules du CMH sont fortement immunogènes (c'est nécessaire pour permettre d'établir une reconnaissance au soi), donc une petite quantité de CMH du donneur peut déclencher une réponse immunitaire.

La grossesse est une situation naturelle d'allogreffe sans rejet.

B- Les mécanismes effecteurs

- Effecteurs cellulaires
- Anticorps
- Complément

Il y a une phase de reconnaissance, une phase effectrice, puis une phase de destruction.

La phase de reconnaissance peut être plus ou moins longue, et peut être contrée (par le cross-match par exemple).

La phase effectrice ne peut plus être contrée par le cross-match, mais on peut la ralentir par les médicaments contrant la prolifération lymphocytaire.

Pour le rejet chronique, ces phases sont plus lentes, mais il y a une adaptation du système immunitaire qui devient résistant aux traitements.

Cellules infiltrant le greffon : lymphocytes CD4, CD8, NK, LB, polynucléaires neutrophiles, CPA.

C- Séquences des événements impliqués dans le rejet d'allogreffe

1) Présentation de l'antigène qui active le système immunitaire et entraîne un recrutement des cellules.

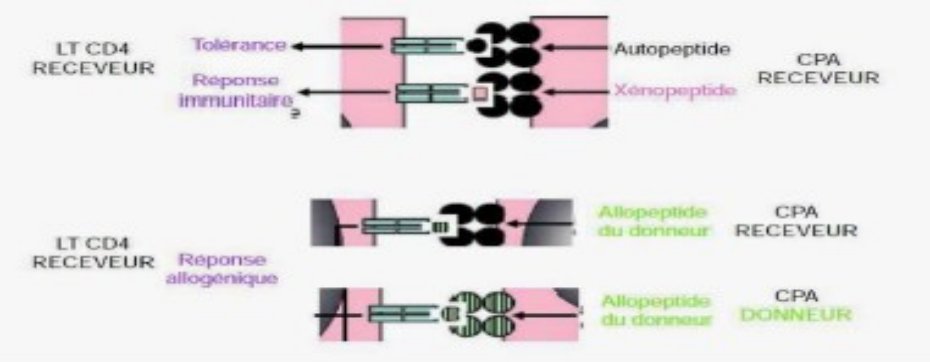
Une transplantation est un évènement critique pour l'organisme, qui entraîne un grand nombre de libération de molécules.

Il existe différents mécanismes d'activation du système immunitaire :

Présentation allogénique directe : Les CPA du donneur active les lymphocytes du receveur, généralement rapide après la greffe.

Le plus souvent, il y a une **présentation allogénique indirecte** : les CPA du receveur présentent un allopeptide du donneur aux LT.

Il y a création d'une réaction inflammatoire.

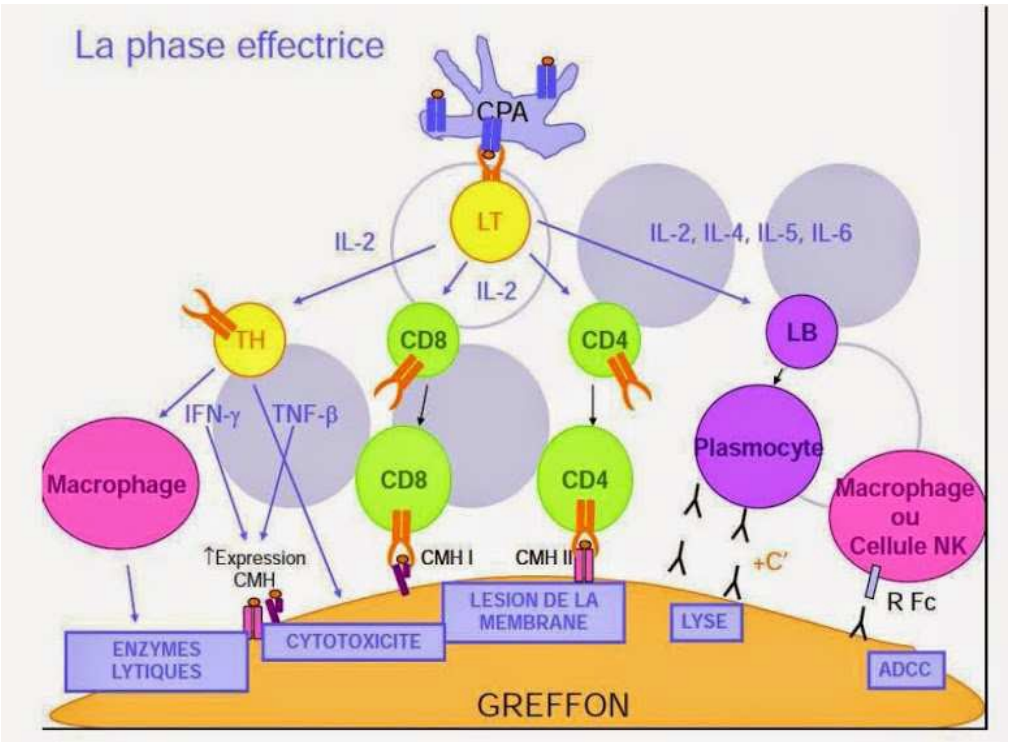


2) Activation de la réponse allogénique

Suite à la présentation antigénique, il y a une infiltration lymphocytaire. Les CPA quittent le lieu de transplantation pour aller dans les organes lymphoïdes secondaires.

3) Différentiation des effecteurs

Les T CD4 sont activés et activent les T CD8 et les LB qui reconnaissent les molécules du donneur. Au début il n'y a que des "unités" qui reconnaissent l'Ag, mais l'amplification permet d'augmenter le nombre d'effecteurs.



La plupart des immuno-suppresseurs dont on dispose aujourd'hui agissent sur la partie de gauche du schéma (jusqu'au CD4). De plus, le LT a une action in-situ contrairement au LB qui commence son action à distance.

On se retrouve avec des patients ayant des réactions immunitaires toujours présente, mais elle est contenue par le système immunitaire et ne permet pas la mort du greffon

Un des effets secondaires de l'immuno-suppression est le cancer : comme les LT sont diminués, la réponse anti-tumorale (TCD8 cytotoxique) est diminuée.

Inversement, les LB sont bien maintenus et permettent aux patients de se protéger efficacement contre les infections.

Cinétique de reconnaissance :
La réponse directe est plus rapide que la réponse indirecte.

D- Cytotoxicité cellulaire/humorale

C'est elle qui entraîne la destruction du greffon.

Les traitements permettent de ralentir chaque étape, mais pas de revenir en arrière.

ADCC : Une cellule cible est reconnue par un allo-anticorps qui capte par son fragment Fc différentes cellules effectrices (NK, PNN, macrophages…). Cette liaison entraîne un signal cytotoxique pour la cellule.

Le complément peut se fixer directement. Mais dans la réponse allo-génique, il y a très peu d'activation de la voie alterne car les membranes cellulaires sont identiques.

Deux grands mécanismes cytotoxiques des lymphocytes T :

- Dégranulation d'enzymes (granzyme, perforine) par le T CD8

- Mécanisme apoptotique par contact membranaire par les récepteurs « de mort ».

Ce sont des mécanismes de nécroses lorsqu'il y a des facteurs solubles, mais lors du contact membranaire c'est une mort apoptotique.

À savoir :
- **LB** : Médiée par les Ac : ADCC et CDC
- **LT** : Dégranulation et mécanisme apoptotique.

V. L'immunosuppression

Il faut maintenir l'organe transplanté le plus longtemps possible avec une immunosuppression minimale pour prévenir le risque de complications infectieuses et les effets indésirables (pour les greffes rénales surtout). Mais le principal problème est la complication par lésions tumorales.
On utilise aujourd'hui des anti-corps qui empêche la prolifération des LT (coupe action de IL2), c'est le traitement d'induction.

Médicaments immunosuppresseurs :
- Anticalcineurines
- Inhibiteurs de la m-Tor
- Antimétabolites
- Glucocorticoïdes
- Anticorps (IVIg, certains Ac monoclonaux).

A- Les anticalcineurines

Ce sont la **ciclosporine** et le tacrolimus. Ils ne sont pas spécifiques de la transplantation.

La ciclosporine se combine à la cyclophiline pour bloquer l'action de la calcineurine. Cela bloque la production de l'IL-2 par les cellules. L'IL-2 est indispensable à la prolifération cellulaire T. Cela n'affecte pas le reconnaissance allogénique, mais ça bloque la réplication et donc l'activation de tous les effecteurs.

--> **Empêche la prolifération des lymphocytes T**

B- Les inhibiteurs de mTOR

Sirolimus et Evérolimus.

Ils inhibent la mTOR qui est une enzyme produite par les LT et favorise la prolifération lymphocytaire T.

--> **Empêche la prolifération des lymphocytes T**

C- Les antimétabolites

Mycophénolate mofétil (Cellcept ®)

Prodrogue de l'acide mycophénolique.

Il inhibe la synthèse des purines, et donc des acides nucléiques. Cela bloque la duplication de l'ADN, et donc la prolifération cellulaire. Mais ce n'est pas spécifique du système immunitaire. La prolifération lymphocytaire T a lieu au niveau du site d'inflammation, alors que la prolifération des LB a lieu au niveau des organes lymphoïdes secondaires qui sont moins accessibles par le médicament. Donc il y a surtout une inhibition de la prolifération des LT, et moins des LB.

--> **Empêche la synthèse de l'ADN, plus de prolifération**

VI. Conclusion

A- Résultats de la transplantation rénale

Survie de greffe :
- 1 an : 95%
- 5 ans : 80% à 85%
- 10 ans : 65% à 70%

Qualité de vie : beaucoup de médicaments avec effets secondaires (immunosuppression).

Economie de santé :
- Baisse de la morbidité autour de l'insuffisance rénale
- Baisse des coûts de prise en charge de l'insuffisance rénale
- Prix des médicaments = 20.000€ / mois / patient

Peu de nouveaux médicaments : le dernier date de 15ans.

Il existe des gens qui ont arrêtés leurs immuno-suppresseurs sans observer de perte de greffon, on parle de patients **tolérants opérationnels** : le greffon est devenu du "soi".

B- Les problèmes persistants de la transplantation

Le manque d'organes et la « qualité » des greffons

Le rejet chronique

Toxicité des traitements immunosuppresseurs

L'immunosuppression chronique :
- Infections opportunistes
- Cancers (lymphomes, cutanés)

C- Les espoirs et les enjeux

Nouvelles molécules et stratégies d'immunosuppression

Les greffes donneur vivant

L'induction de tolérance : il existe une cohorte de patients qui ont arrêté leur traitement immunosuppresseur et n'ont pas rejeté leur greffe ; ce sont les tolérants opérationnels.

Les cellules souches ?

La xénotransplantation ? Ce serait de transplanter des organes d'animaux à l'homme, ça permettrait d'avoir une grande source d'organes, mais très compliqué.
Car même sans les molécules CMH, il y a encore des rejets.
C'est impossible sur les primates (questions éthiques, virus trop proches etc..)
Pour le porc, il exprime un Ag xéno-génique qui est reconnu par les Ac humain ce qui entraînait des rejets hyper-aigüs. Même si on arrive à supprimer cet anticorps principal, il reste tellement de petits antigènes secondaires que la xénogreffe semble impossible aujourd'hui.