

# La tolérance aux allogreffes : l'Europe relève le défi

## *Transplantation tolerance : European Union meets the challenge*

**M. Goldman<sup>1,2</sup> et V. Donckier<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Hôpital Erasme et Institut d'Immunologie Médicale, U.L.B.

<sup>2</sup>Coordinateur du projet européen intégré RISET

### RESUME

*Notre meilleure connaissance des mécanismes qui contrôlent le rejet d'allogreffe ouvre de nouvelles perspectives en transplantation d'organes. Si l'induction d'une tolérance absolue des greffons se heurte encore à de multiples obstacles, le développement de nouveaux biomarqueurs devrait permettre dans les années à venir d'adapter le traitement anti-rejet en fonction du profil immunologique de chaque patient et d'en réduire ainsi les effets secondaires. Ces questions sont à l'étude au sein de réseaux de recherche mis en place par la Commission Européenne, dont le consortium RISET coordonné par l'Institut d'Immunologie Médicale de l'U.L.B.*

*Rev Med Brux 2008 ; 29 (Suppl) : S 41-4*

### ABSTRACT

*Recent developments in basic and translational immunology open new exciting perspectives for the induction of transplantation tolerance in the clinic. However, a number of hurdles still need to be overcome before immunosuppressive drugs can be safely withdrawn in solid organ transplant recipients. With this background, the European Commission recently launched several initiatives to tackle unmet needs in transplantation medicine. Herein, we focus attention on the RISET project, an ongoing collaborative effort across the European Union aiming at minimization of immunosuppression on the basis of validated biomarkers.*

*Rev Med Brux 2008 ; 29 (Suppl) : S 41-4*

*Key words : biomarker, immunosuppression, tolerance, transplantation*

### INTRODUCTION

On dénombre aujourd'hui plus d'un million de patients transplantés de par le monde. Au sein de l'Union Européenne, sont pratiquées chaque année 15000 greffes rénales, 5500 greffes hépatiques, 2000 greffes de cœur, 900 greffes pulmonaires et 700 greffes pancréatiques, et tout indique que ces nombres vont continuer à croître. Les traitements immunosuppresseurs actuels sont très efficaces pour prévenir ou maîtriser le rejet aigu des greffes et permettent ainsi d'obtenir d'excellents résultats à court et moyen terme: selon l'organe considéré, 75 à 95 % des greffes sont encore fonctionnelles 1 an après la transplantation et 50 à 70 % au terme de la cinquième année. Cependant, les résultats à long terme sont beaucoup moins favorables<sup>1</sup> ; ainsi, environ la moitié des greffons rénaux sont perdus 15 ans après avoir été mis en place, le plus souvent en relation avec un rejet chronique non maîtrisé par les médicaments

immunosuppresseurs. Ces patients deviennent alors candidats à une nouvelle transplantation. Cette situation contribue à accroître le fossé entre le nombre de patients en attente de transplantation et le nombre d'organes disponibles. En Europe, plus de 40000 patients insuffisants rénaux sont en attente d'une greffe et, selon les pays, 15 à 30 % des candidats à une transplantation cardiaque ou hépatique décèdent avant d'avoir pu bénéficier d'une greffe salvatrice. Compte tenu de la pénurie d'organes disponibles pour transplantation, la réduction du nombre de patients en attente d'une deuxième ou d'une troisième greffe apparaît comme une première priorité<sup>2</sup>.

Outre leur incapacité à maîtriser les rejets chroniques, les médicaments immunosuppresseurs actuels entraînent différents effets secondaires qui altèrent la qualité de vie des patients greffés et les exposent à un risque accru de cancer<sup>3</sup>. Au plan pharmacoéconomique, on peut estimer que le coût

global des médicaments immunosuppresseurs et de la prise en charge de leurs effets secondaires est de l'ordre de 2 milliards d'Euros par an au sein de l'Union Européenne<sup>4</sup>.

Il apparaît ainsi que les progrès futurs en transplantation dépendront de notre capacité à réduire ou éviter complètement l'immunosuppression à long terme. Dans cette optique, l'Union Européenne a lancé le Projet Intégré Riset avec deux objectifs majeurs :

- 1 Adapter l'immunosuppression à la réactivité immunologique du receveur de la greffe
- 2 Développer de nouvelles stratégies thérapeutiques pour maîtriser les rejets chroniques.

### **QU'AVONS-NOUS APPRIS DES MODELES EXPERIMENTAUX ET DES OBSERVATIONS CLINIQUES ?**

C'est au début des années 50 que Sir Peter Medawar et son équipe démontrent qu'il est possible d'induire chez la souris une tolérance vis-à-vis d'allogreffes de peau par l'injection néonatale de cellules hématopoïétiques allogéniques<sup>5</sup>. Depuis cette époque, les efforts se sont multipliés pour reproduire cette observation chez le grand animal et chez l'homme. Si certains protocoles basés sur le remplacement intégral du système immunitaire du receveur par celui du donneur de la greffe ont démontré qu'il était possible d'induire de cette manière la tolérance vis-à-vis de greffes rénales, le conditionnement nécessaire (qui comporte soit une irradiation lymphoïde totale, soit une myéloablation profonde) s'est avéré très lourd et inapplicable à large échelle. Récemment, l'équipe de Megan Sykes de la *Harvard Medical School* (Boston, USA) a démontré qu'un conditionnement plus léger (comportant tout de même des globulines anti-lymphocytaires, du cyclophosphamide, une irradiation thymique et de la cyclosporine) pouvait aboutir à une tolérance du greffon rénal sans persistance de cellules hématopoïétiques du donneur, lorsque celui-ci et le receveur partagent les mêmes antigènes majeurs d'histocompatibilité<sup>6</sup>. Nous-mêmes avons démontré qu'une stratégie analogue peut permettre d'arrêter l'immunosuppression rapidement après transplantation hépatique sans déclencher de rejet<sup>7</sup>.

Au cours des dernières années, plusieurs travaux expérimentaux ont permis de comprendre pourquoi une tolérance stable est beaucoup plus difficile à induire chez l'homme que chez le petit animal. D'une part, le système immunitaire humain se caractérise par sa richesse en lymphocytes T «mémoire» de type CD8 qui représentent une barrière importante pour l'induction de tolérance<sup>8</sup>. Ces lymphocytes T «mémoire» se développent tout au long de la vie suite aux infections virales. Ces infections peuvent directement interférer avec l'induction de tolérance notamment lorsqu'elles sont causées par le cytomégalovirus<sup>9</sup>, un microbe fréquemment retrouvé chez les patients porteurs d'une greffe d'organe. La prolifération

lymphocytaire lors de la phase de reconstitution du système immunitaire qui suit l'administration de médicaments qui éliminent les lymphocytes (par exemple les globulines anti-lymphocytaires, l'anticorps monoclonal alemtuzumab) peut elle aussi empêcher l'installation de la tolérance, cette prolifération dite «homéostatique» entraîne l'apparition de lymphocytes T agressifs<sup>10</sup>. Enfin, l'inhibition des voies classiques du rejet fait souvent apparaître des voies alternatives impliquant entre autres les éosinophiles, les neutrophiles ou les cytokines de la famille de l'interleukine 12, comme nous l'avons revu récemment<sup>11,12</sup>.

Si l'induction délibérée de la tolérance s'avère encore un objectif lointain, une forme de tolérance qualifiée «opérationnelle» s'observe parfois de façon fortuite chez des patients qui ont arrêté leur traitement immunosuppresseur, le plus souvent à l'insu de leur médecin. L'étude approfondie des caractéristiques biologiques de ces rares patients pourrait permettre de définir une signature moléculaire de la tolérance, comme le suggèrent deux études récentes<sup>13,14</sup>.

### **LA VALEUR AJOUTEE DES RESEAUX DE RECHERCHE CLINIQUE : L'EXEMPLE DU CONSORTIUM Riset**

L'établissement de cohortes de patients «opérationnellement tolérants», la caractérisation et la validation de biomarqueurs de tolérance, et le développement de protocoles novateurs impliquant des agents thérapeutiques ou des produits cellulaires au stade expérimental, requièrent l'assemblage de multiples compétences pointues. C'est pour cette raison que le *National Institutes of Health* aux Etats-Unis a mis sur pied l' *Immune Tolerance Network* qui soutient et met en oeuvre des protocoles innovants en transplantation d'organes et aussi dans le domaine des allergies et des maladies autoimmunes (<http://www.immunetolerance.org>).

En Europe également, la Commission Européenne finance plusieurs initiatives visant à promouvoir les collaborations entre équipes cliniques et laboratoires de recherche. Ainsi, le projet intégré *Riset* coordonné par l'Institut d'Immunologie Médicale de l'U.L.B. rassemble 25 partenaires issus d'universités européennes et du monde industriel (Tableau 1). Le consortium *Riset* a d'ores et déjà mis en place de nouvelles méthodes de suivi de la réactivité immunologique appliquées à des patients enrôlés dans des protocoles visant à la minimisation du traitement immunosuppresseur (<http://www.risetfp6.org>). C'est dans ce contexte que nous menons en étroite collaboration avec l'équipe de transplantation hépatique de l'Hôpital Universitaire de Gand (Pr B de Hemptinne, Pr R. Troisi, Pr X. Rogiers) une étude qui prévoit l'arrêt complet du traitement immunosuppresseur 3 mois après la greffe hépatique, le traitement initial comportant des globulines anti-lymphocytaires et du sirolimus.

**Tableau 1 : Le consortium Riset.**

Investigateur(s)	Institution partenaire	Ville	Pays
M. GOLDMAN/V. DONCKIER	Hôpital Erasme & IMI, U.L.B. (Coordination)	Bruxelles/Charleroi	B
H.D.VOLK	Charité – University Medicine Berlin	Berlin	DE
C. CUTURI	C.H.U. Nantes	Nantes	FR
L. CHATENOUD	Université René Descartes Paris	Paris	FR
K. WOOD	Oxford University	Oxford	UK
R. RIEBEN	Bern University Hospital	Bern	CH
F. FANDRICH	Blasticon Gmb, Kiel	Kiel	DE
B. ARNOLD	Deutsches Krebsforschungszentrum	Heidelberg	DE
R. LECHLER	Kings College London	London	UK
A. CAMBON-THOMSEN	INSERM U558	Paris	FR
JP. SOULILLOU	C.H.U. Nantes	Nantes	FR
O. VILKICKY	Institute for Clinical and Experimental Medicine	Prague	CZ
F. CLAAS/C. VAN KOOTEN	Leids Universitair Medisch Centrum	Leiden	NL
F. CLAAS	Leids Universitair Medisch Centrum	Leiden	NL
U. JANSSEN	Memorec Biotec GmbH	Cologne	DE
H. WALDMANN	Sir William Dunn School of Pathology	Oxford	UK
MG. RONCAROLO	San Raffaele Telethon Institute for Gene Therapy	Milan	IT
M. GUILLET	TC Land	Nantes	FR
B. MIRANDA	Organizacion Nacional de Transplantes	Madrid	SP
Y. REISNER	Weizmann Institute of Science	Rehovot	IR
C. HERMANN	Universität Konstanz	Konstanz	DE
N. SCHWABE	ProlImmune Limited	Oxford	UK
S. HOUARD	Henogen	Gosselies	B
A. SANCHEZ-FUEYO	Hospital Clinic Barcelona	Barcelona	SP
E. GEISLER	University of Regensburg	Regensburg	DE

## LA QUETE DE NOUVEAUX BIOMARQUEURS EN TRANSPLANTATION

Le développement de nouveaux tests permettant de mesurer de façon reproductible et sensible la réactivité du patient transplanté vis-à-vis de son greffon est une étape indispensable à la mise en oeuvre à large échelle d'études cliniques visant à réduire l'immunosuppression au minimum nécessaire pour éviter le rejet.

Les nouveaux tests immunologiques et les signatures moléculaires qui ont émergé récemment au sein des réseaux de recherche doivent être validés de façon à ce qu'ils deviennent des références tant pour les médecins-cliniciens que pour les autorités sanitaires. Cette validation est d'ores et déjà mise en oeuvre au sein du consortium Riset pour plusieurs des tests repris dans le tableau 2.

L'objectif du processus de validation est de faire accepter le biomarqueur comme un test prédictif de l'évolution clinique<sup>25</sup>. Le test AlloMap® (XDx, Brisbane, CA, USA) qui consiste à quantifier l'expression de 20 gènes dans des échantillons sanguins pour définir le risque de rejet chez les transplantés cardiaques pourrait représenter le premier exemple de test validé

**Tableau 2 : Biomarqueurs en transplantation.**

Test	Référence
Anticorps anti-HLA, anti-MICA	[15-17]
Empreintes et signatures génétiques	[13, 18, 19]
Taux de cytokines dans les liquides biologiques	[20]
Réactivité lymphocytaire anti-donneur	[21-23]
Histologie et imagerie du greffon	[24]

utilisable en pratique clinique<sup>19</sup>. Il est probable que c'est le suivi des événements biologiques au sein même du greffon qui permettra le mieux de prévoir l'évolution de celui-ci. Aujourd'hui, l'examen histologique des biopsies nous fournit des informations utiles mais il s'agit d'une approche invasive du greffon dont la portée est limitée notamment par l'échantillonnage. De nouvelles techniques d'imagerie fonctionnelle non-invasive pourraient dans le futur fournir des informations précieuses sur les molécules et cellules recrutées dans les tissus greffés<sup>24</sup>.

## CONCLUSIONS

Les progrès futurs en transplantation d'organes dépendront de notre capacité à traduire les connaissances issues des réseaux de recherche en de nouvelles stratégies diagnostiques et thérapeutiques applicables à large échelle. A cet égard, il sera indispensable, dans ce domaine comme dans bien d'autres, de surmonter certains préjugés et d'accroître les collaborations entre le monde académique et celui de l'industrie pharmaceutique<sup>26</sup>. Il sera tout aussi essentiel de définir - de préférence à l'échelle européenne - des recommandations sur les règles éthiques à suivre pour protéger les patients enrôlés dans les études visant à minimiser le traitement immunosuppresseur.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Tantravahi J, Womer KL, Kaplan B : Why hasn't eliminating acute rejection improved graft survival ? Annu Rev Med 2007 ; 58 : 369-85
2. Langone AJ, Helderman JH : Disparity between solid-organ supply and demand. N Engl J Med 2003 ; 349 : 704-6

3. Penn I : Overview of the problem of cancer in organ transplant recipients. *Ann Transplant* 1997 ; 2 : 5-6
4. Veenstra DL, Best JH, Hornberger J, Sullivan SD, Hricik DE : Incidence and long-term cost of steroid-related side effects after renal transplantation. *Am J Kidney Dis* 1999 ; 33 : 829-39
5. Brent L : The 50th anniversary of the discovery of immunologic tolerance. *N Engl J Med* 2003 ; 349 : 1381-3
6. Fudaba Y, Spitzer TR, Shaffer J *et al.* : Myeloma responses and tolerance following combined kidney and nonmyeloablative marrow transplantation : *in vivo* and *in vitro* analyses. *Am J Transplant* 2006 ; 6 : 2121-33
7. Donckier V, Troisi R, Le Moine A *et al.* : Early immunosuppression withdrawal after living donor liver transplantation and donor stem cell infusion. *Liver Transpl* 2006 ; 12 : 1523-8
8. Brook MO, Wood KJ, Jones ND : The impact of memory T cells on rejection and the induction of tolerance. *Transplantation* 2006 ; 82 : 1-9
9. Pascher A, Proesch S, Pratschke J *et al.* : Rat cytomegalovirus infection interferes with anti-CD4 mAb-(RIB 5/2) mediated tolerance and induces chronic allograft damage. *Am J Transplant* 2006 ; 6 : 2035-45
10. Hickman SP, Turka LA : Homeostatic T cell proliferation as a barrier to T cell tolerance. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2005 ; 360 : 1713-21
11. Alegre ML, Florquin S, Goldman M : Cellular mechanisms underlying acute graft rejection : time for reassessment. *Curr Opin Immunol* 2007 ; 19 : 563-8
12. Goriely S, Goldman M : The interleukin-12 family : new players in transplantation immunity ? *Am J Transplant* 2007 ; 7 : 278-84
13. Brouard S, Mansfield E, Braud C *et al.* : Identification of a peripheral blood transcriptional biomarker panel associated with operational renal allograft tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 ; 104 : 15448-53
14. Martinez-Llordella M, Puig-Pey I, Orlando G *et al.* : Multiparameter immune profiling of operational tolerance in liver transplantation. *Am J Transplant* 2007 ; 7 : 309-19
15. Campos EF, Tedesco-Silva H, Machado PG, Franco M, Medina-Pestana JO, Gerbase-DeLima M : Post-transplant anti-HLA class II antibodies as risk factor for late kidney allograft failure. *Am J Transplant* 2006 ; 6 : 2316-20
16. Panigrahi A, Gupta N, Siddiqui JA *et al.* : Post transplant development of MICA and anti-HLA antibodies is associated with acute rejection episodes and renal allograft loss. *Hum Immunol* 2007 ; 68 : 362-7
17. Zou Y, Stastny P, Susal C, Dohler B, Opelz G : Antibodies against MICA antigens and kidney-transplant rejection. *N Engl J Med* 2007 ; 357 : 1293-300
18. Dmitrienko S, Hoar DI, Balshaw R, Keown PA : Immune response gene polymorphisms in renal transplant recipients. *Transplantation* 2005 ; 80 : 1773-82
19. Deng MC, Eisen HJ, Mehra MR *et al.* : Noninvasive discrimination of rejection in cardiac allograft recipients using gene expression profiling. *Am J Transplant* 2006 ; 6 : 150-60
20. Matz M, Beyer J, Wunsch D *et al.* : Early post-transplant urinary IP-10 expression after kidney transplantation is predictive of short- and long-term graft function. *Kidney Int* 2006 ; 69 : 1683-90
21. Craciun L, Stordeur P, Troisi R *et al.* : A rapid test of alloreactivity based on interleukin-2 mRNA expression might identify liver transplant recipients with donor-specific hyporesponsiveness. *Transplant Proc* 2007 ; 39 : 2665-7
22. Gebauer BS, Hricik DE, Atallah A *et al.* : Evolution of the enzyme-linked immunosorbent spot assay for post-transplant alloreactivity as a potentially useful immune monitoring tool. *Am J Transplant* 2002 ; 2 : 857-66
23. van der Mast BJ, van Besouw NM, de Kuiper P *et al.* : Pretransplant donor-specific helper T cell reactivity as a tool for tailoring the individual need for immunosuppression. *Transplantation* 2001 ; 72 : 873-80
24. George AJ, Bhakoo KK, Haskard DO, Larkman DJ, Reynolds PR : Imaging molecular and cellular events in transplantation. *Transplantation* 2006 ; 82 : 1124-9
25. BioMarkers Definitions Working Group : Biomarkers and surrogate endpoints : preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001 ; 69 : 89-95
26. The time is now. *Nat Rev Drug Discov* 2005 ; 4 : 613

**Correspondance :**

M. GOLDMAN  
 Institut d'Immunologie Médicale  
 Rue Adrienne Bolland 8  
 6041 Charleroi  
 E-mail: mgoldman@ulb.ac.be