UE6 Immunologie

Lundi 12 novembre 17h30-18h30

A. Toubert

Ronéotypeuse : Gaëlle Hélias

Ronéolectrice : Elise Cordonnier

Cours n°3

**Immunologie des greffes**

**INTRODUCTION :**

Notion immunologique qui distingue greffe et transplantation :

* La greffe est une implantation de tissu sans anastomose vasculaire (moelle osseuse, cornée, peau)
* La transplantation nécessite le rétablissement d’une continuité vasculaire, elle concerne donc les organes.

Définitions :

* Autogreffe : Dans laquelle le donneur=receveur (utilisé dans le cadre de cancers, myélomes,..)
* Isogreffe (ou greffe synergique) : Deux individus génétiquement identiques (uniquement le cas des jumeaux monozygotes)
* Allogreffe : deux individus différents au sein d’une même espèce
* Xénogreffe : deux individus d’espèce différente
1. **Les allogreffes**

Rappel :

Système HLA-MHC : Complexe Majeur d’Histocompatibilité

But : définit la compatibilité tissulaire des greffes.

Deux types : Classe I et Classe II avec différents locus. Il y a une diversité de ces loci car il existe plusieurs locus pour la classe I : A, B, C et pour la classe II : DP, DQ, DR. Il y a à l’intérieur du même locus il y a un grand nombre allèles exprimés de façon codominante, on a donc une carte d’identité génétique propre à chaque individu et qui est la combinaison des allèles des différents loci classe I et classe II.

Il y a très peu de chance d’avoir deux individus exactement identiques génétiquement car il y a un nombre d’allèle très important pour les molécules de classe I A, B, C, et classe II DR. La recombinaison allélique crée donc une grande diversité.

Nomenclature HLA : Capacité de caractériser ces molécules avec deux niveaux de résolution différente

En **transplantation d’organes** on a besoin d’un niveau de **basse résolution** (résolution générique) tandis qu’en **greffe hématopoïétique** on a besoin d’un niveau de **haute résolution** pour avoir la meilleure compatibilité possible entre donneur et receveur.

Le typage HLA : Caractériser les molécules exprimées à la surface de la cellule à l’aide d’Ac qui se fixent à la cellule et on révèle cette fixation en rajoutant du complément induisant la lyse de la cellule (= test de microlymphotoxicité ) c’est un test sérologique qui fait appel aux Ac dont on connait la spécificité (HLA - A2, -A3).

Aujourd’hui il existe d’autres techniques plus utilisées : des techniques de biologies moléculaires qui vont regarder à l’intérieur le typage génétique de la cellule via des PCR.

1. L’immunologie des greffes

1° Les transplantations

Les premières transplantations remontent à 1956.

* Le premier événement dans la transplantation d’organes consiste en le rétablissement de la continuité vasculaire de l’organe transplanté.
* Il existe potentiellement chez le receveur des Ac préformés (la plupart du temps HLA) dirigés contre les Ag du donneur, c’est le rejet. Il est avant tout suraiguë, car survient rapidement.
* Les premières cibles sont les cellules endothéliales du greffon.

Les différents types de rejets :

\_ Rejet suraiguë (min-h) : destruction immédiate du greffon via les Ac préformés. Evitée par une bonne caractérisation des Ac Anti-HLA du receveur et par le test de CROSSMATCH.

\_ Rejet aiguë (= rejet cellulaire) (à partir de 4 jours) : correspondant à une reconnaissance immunologique allogénique de l’organe greffé par les LT du receveur. Evité par des agents immunosuppresseurs

\_ Rejet chronique (=néphropathie chronique du greffon) entrainant des retransplantations après 10 ans.

ETAPE DE REJET AIGU :

* Reconnaissance de l’Ag et réponse inflammatoire médiée par les LT CD4+ et CD8+
	+ Production de cytokine pro-inflammatoire activant des LT CD 8 (cytotoxiques)
	+ Augmentation d’expression des molécules du CMH
* Boucle d’activation du système immunitaire et de destruction de l’organe par activation du complément et ADCC sur laquelle peut agir les immunosuppresseurs.

GREFFE RENALE :

* HLA et Transplantation rénale
* Typage du receveur et inscription à la liste de l’agence de biomédecine
* Typage de basse résolution
* Recherche d’apparition d’anticorps anti HLA (Evénements immunisants : grossesse, transfusions, détransplantation)
* Mise en place d’une sérothèque
* Lors de la greffe :
* Compatibilité ABO
* Réalisation d’un typage HLA donneur (en urgence)
* Test de CROSSMATCH entre sérum du receveur et lymphocytes du donneur : s’il est positif, empêche la greffe

Même en greffe rénale il est bénéfique d’avoir une compatibilité HLA, car plus elle est importante, plus le greffon survit. Les receveurs hyper immunisés présentant des Ac anti-HLA préformés sont les plus difficiles à greffer.

1. Recherche et identification d’Ac anti-HLA

1° Ac lymphocytotoxiques anti-HLA

* Circonstance d’apparition des Ac anti-HLA dans les transfusions :
	+ Apparition en 4 semaines environ après
	+ Evolution rapide
	+ Diminution des transfusions des hémodialysés
	+ Utilisation de produits déleucocytés
		- * Grossesses et fausses couches
	+ Fréquence augmente avec le nombre de grossesse
	+ Souvent de haute affinité
		- * Transplantation antérieure
	+ Prévalence environ 70% des patients après 1ère greffe

26% Ac anti HLA I seuls

32% Ac anti HLA I et II

18% Ac anti HLA II

2° Identification d’Ac anti-HLA

* Lymphocytotoxicité :

On part de lymphocytes du donneur, on ajoute le serum du receveur (CROSSMATCH) si il y a des Ac spécifiques des molécules HLA du donneur chez le receveur, ces Acs se fixent, le complément agit et ces cellules sont lysées.

C’est un moyen de reproduire ce qui pourrait exister si on greffait l’organe, les lymphocytes étant le reflet de l’organe.

* Tests faisant appel à des Ag HLA purifiés :
	+ ELISA : Ag fixés dans des puits
	+ Luminex : Ag fixés à des microsphères chacune ayant une spécificité HLA donnée et un niveau de fluorescence spécifique, avec le sérum du malade, on peut reconnaitre la fixation par la fluorescence spécifique.
	+ Identification d’Ac anti-HLA de classe I et II
	+ Techniques Haute Définition

Cas particuliers : Cas d’hyper immunisés : transfusés, transplantation antérieure, grossesses.

* Ac anti-HLA reconnaissant plus de 80% d’un panel de cellules équilibrées. On dispose d’un ensemble de cellules dont le typage HLA est connu (50 à 100 cellules différentes), on fait agir sur ces cellules le sérum des malades, si le sérum reconnait plus de 80% des cellules du panel, il n’y a que 20 % de cellules qui vont être permises pour effectuer la greffe.
* Sujets prioritaires pour les greffons.
* Ils font l’objet de protocoles de désensibilisation par des locapherèses, par des traitements d’Ig intraveineuse à forte dose.

Les Ac anti-HLA n’ont pas tous la même importance et le même impact dans la décision de greffe.

* + - * Classe I :

En fonction de leur place : IgM et IgG en particulier car ils sont beaucoup plus délétères au niveau du risque de rejet (on ne donne donc pas l’organe pouvant etre reconnu par les Ac du malade)

Controversés si de type IgM dans un sérum historique

* + - * Classe II :

Publications contradictoires sur les conséquences pour le greffon

Délétère chez les patients à haut risque, immunisés, retransplantés

* + - * Non HLA :

Associés au rejet chronique

Rôle exact controversé

Problème de détection : cibles ? Techniques ?

Ac anti-cellules endothéliales du greffon, anti-MICA (MHC classe I relative chain)= molécules codées par le complexe du CHM

1. Cross-Match

Examen réalisé immédiatement en urgence avant une transplantation et la contre-indiquant s’il est positif.

Reflet du statut immunitaire sérologique du receveur vis-à-vis de l’organe greffé.

On prend les lymphocytes du donneur comme reflet des molécules HLA donneur et pouvant être reconnu par les Ac anti-HLA du receveur = LYMPHOCYTE DU DONNEUR, SERUM DU RECEVEUR

Techniques différentes :Microlymphocytotoxicité/kappa/DTT

 Cytofluorométrie de flux

On veut savoir si les Ac anti-HLA présentent dans le sérum du receveur sont IgG ou IgM et s’ils reconnaissent des molécules de classe I ou de classe II.

Intérêt de la cytométrie de flux: l’Ag HLA reconnu par l’AC anti-HLA peut lui-même être reconnu par un Ac anti IgG permettant de connaitre la place de l’Ac anti-HLA.

On peut aussi savoir si l’Ac reconnait des LBs , des LTs ou les deux, car les LB portent des molécules de classe I et de classe II, donc si l’Ac présent chez le receveur reconnait les LT et les LB on pourra conclure qu’il est plutôt anti-classe I, s’il ne reconnait pas des les LT mais seulement les LB, alors il est anti-classe II.

On utilise le marqueur CD19 pour visualiser les LT.

Examen HLA d’urgence :

* + - * Typage HLA classe I et II sur le sang
			* CROSSMATCH T et B sur un ganglion
	+ Ganglion inguinal ou mésentérique du donneur
	+ Sérum du patient disponible au laboratoire
	+ Sérum du jour en cas d’événement immunisant

Résumé de la greffe d’organe :

* + - * Problème majeur : existence chez le receveur d’Ac anti-HLA préexistant pouvant donner lieu à un rejet hyper aigu.
			* Autres formes de rejet : aigu, chronique
			* Niveau de résolution de typage HLA du donneur et du receveur à niveau générique
			* Réalisation de tests réguliers pour dépister les Ac anti-HLA après immunisation chez le receveur
			* Exclusion des donneurs pouvant avoir une spécificité correspondant aux Ac anti-HLA du receveur
			* Difficulté des receveurs déjà transplantés ou hyper immunisé -> Prioritaires
			* Test de CROSS MATCH en urgence avant greffe dont la positivité contre-indique la transplantation.
1. **Greffes de cellules hématopoïétiques**

Les greffons sont rarement rejetés mais donnent d’autres types de complications.

Ce type de greffe est beaucoup plus récent, elles sont réellement réalisées depuis 1980. Possibilité d’effectuer des greffes à partir de donneurs apparentés et en 1988 greffes à partir de cordon ombilical.

Les typages HLA et la compatibilité sont extrêmement importantes et on va jusqu’à un typage de niveau allèlique.

Tout en restant dans le cadre de greffes allogéniques on a :

* Des greffes apparentées : HLA identiques quand on a à faire à un greffon d’un membre de la même fratrie. Les HLA étant transmis par haplotype (=par bloc de molécule), on a donc 25% de chance d’avoir un frère ou une sœur HLA identique.

/!\ Ils ne sont pas génétiquement identiques mais sont HLA identiques /!\

* Greffons non apparentés : (en cas d’impossibilité d’avoir des greffes apparentées, dans les registres de greffes de donneurs volontaires, on va essayer de les apparier au mieux pour les molécules HLA. En ce moment, on recherche un apparient de type 10/10 (meilleur appariement) car il concerne les molécules de classe I HLA-A, -B, -C et de classe II DR et DQ (5 locus x 2= 10 d’où 10/10)

Réalisation de ces greffes sur des patients de plus en plus agés.

Provenance des greffons :

* 53% MO prélevée en bloc opératoire
* 30% Cellules souches hématopoïétiques mobilisées, car le donneur est prétraité avec du GCSF entrainant une sortie de la MO de CSH qu’on caractérise par un marqueur de surface CD34 et que l’on recueille par une locaphrèse.
* 15% Sang placentaire, mais peu de CSH. Avantage : immédiatement disponible.

Greffe hématopoïétique : Le plus souvent, patient atteint d’une hémopathie maligne en rémission dont on veut obtenir une guérison, on prépare le receveur par un conditionnement myéloablatif et en même temps un traitement immunosuppresseur.

Le receveur est alors totalement déplété en système immunitaire et donc dans l’incapacité de rejeter le greffon.

On introduit un greffon contenant des CSH pour reconstituer son SI, mais pouvant également contenir des lymphocytes susceptibles d’avoir une activité antivirale. Il est possible que le greffon ai très peu de lymphocytes dans ce cas c’est via des manipulations de greffons que ce type de greffe est possible.

Les LTs peuvent agir sur les molécules HLA du receveur. C’est la complication de type GvH (= Graft-versus-host), elleest médiée par la réponse du LT du donneur vis-à-vis d’un Ag du receveur, c’est cela qui induit des rechutes.

/!\ Différent d’une greffe d’organe car le receveur n’a pas de système immunitaire : il a été détruit, et il n’y a pas le risque de détruire l’organe transplanté/!\

Risque de la greffe de CSH :

* GvH
* Délai de reconstitution immunitaire (1, 2, 3 ans ?)
* Rechute : importance de la compatibilité HLA

*Greffe hématopoïétique simplement : hémopathie maligne-leucémie-cycle de chimiothérapie-mise en rémission complète-conditionnement myéloablatif-ajout d’un système hématopoïétique neutre*

La greffe hématopoïétique est une immunothérapie, il reste des cellules leucémiques résiduelles après le conditionnement myéloablatif.

Le système lymphoïde du donneur, dont l’effet néfaste est la réponse GvH, peut avoir un effet bénéfique quand les cellules du receveur sont des cellules leucémiques du receveur.

Le plus souvent, il y a à la fois un effet GvH (complication=rechute) et un effet leucémique GvL (bénéfique).

But = limiter GvH et induire un effet GvL

OBSERVATION DE L’EFFET GVL :

* Risque réduit de rechute chez les receveurs de CSH allogéniques par rapport :
	+ Aux transplantations synergiques
	+ Aux HSCT allogéniques T-dépletées
* DLI= Donnor Lymphocyte infusion : le fait de réaliser chez des patient en rechute, des transfusions avec des greffes de lymphocytes de leur donneur
* Effet GvL plus important chez les patients atteints de GvH
* Cellules immunes en cause : LT CD4+, LT CD8+, cellules NK

GvH : les tissus cibles de la réaction allogénique sont foie, intestin, thymus, ganglions lymphatiques, peau (avec comme première manifestation visible= érythème)

Ces réactions sont caractérisées et classées selon des grades de gravité croissante.

GvL : reconnaissance par les LTs du donneur de cellules leucémiques résiduelles

Cette différence de cible cellulaire est due au fait que les molécules HLA portent en leur centre un peptide antigénique issu des protéines de la cellule constamment dégradées (pour les molécules de classe I). Le complexe HLA-peptide reconnu par le récepteur T des LT peut être différent dans une cellule intestinale, hépatique, et dans des cellules leucémiques, elles ne vont pas avoir les mêmes peptides antigéniques accrochées aux molécules HLA.

Le receveur lors du conditionnement (irradiation) subit une altèration de ses barrières épithéliales digestives, ce conditionnement présensibilise donc le receveur à un signal inflammatoire, ça le prépare à la réponse allogénique par la production dans le tissu hôte de cytokines pro inflammatoire.

On greffe le donneur, mais il y a des LTs dans le greffon, ceux-ci vont aller dans les ganglions périphériques du receveur où est initiée la réponse allogénique (phase II), activation des LTs, puis ils expriment des molécules de homing le dirigeant vers le foie, thymus, foie,..

Phase I : Conditionnement

Phase II : Activation

Phase III : Effectrice

Gravité et délai de la reconstitution immunologique : Prise de temps avant que le receveur reconstruise un SI parfaitement reconstitué (1, 2, 3 ans) exposant donc le receveur à des risques d’infection.

La première population à se reconstruire sont les NK, tandis que les LT et LB prennent plus de temps.

La reconstitution immunitaire est dépendante de paramètres :

* L’âge, car le thymus fonctionne moins bien
* Type de greffe : MO/ Sang Placentaire/ Greffe apparenté ou non/ Conditionnement/ Manipulation du greffon (déplétion en LT)
* Evolution clinique
* Polymorphismes génétiques