

## Rejet de greffe

- Niveau de réponse immunologique différents en fonction de l'organe : Cœur < Foie < Rein (*attention compatibilité HLA*)
- Classification basée sur le délai de survenue du rejet après la greffe :
  - **rejet hyperaigu** (min)/ **rejet aigu** (qq jours - qq années)/ **rejet chronique** (plusieurs années après la greffe)
- Classification basée sur la cause : anticorps, cellules
  - **Hyperaigu** : anticorps seul/ **Aigu** : cellules (T) et/ou Ac / **Chronique** : cellules et /ou Ac

## - Comment prévenir le rejet ?

Prévenir le rejet hyper-aigu (non prise du greffon) → rechercher présence d'Ac antiHLA précédant la greffe

### → Suivi immunologique des patients

Dès que patient inscrit sur liste d'attente pr greffe, typage HLA

Puis, on cherche à détecter Ac antiHLA

Il peut être immunisé contre HLA si : déjà greffé, transfusé, si grossesse (♂ jms greffé : proba très faible de rejet hyperaigu)

Si patient déjà greffé, on sait les Ag du greffon ; si femme ayant déjà eu enfants, on regarde HLA du père

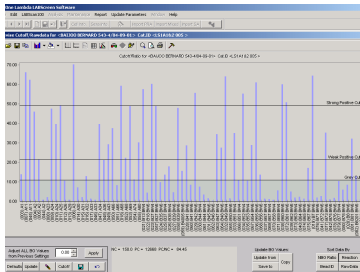
Différentes techniques pr la recherche d'Ac :

- on recherche si ces Ac sont cytotoxiques : mise en contact cellules d'1 type HLA donné avec serum du patient → lyse de la cellule si c'est un Ac cytotoxique (Ac les plus dangereux) (techniq efficace mais faible sensibilité)

Regarder si réaction contre cellule B ou T (implication HLA 1 ou 2)

- Techniques avec billes fluorescentes : cytométrie de flux (+ sensible)

On incube sérum avec billes (1 Ag HLA par bille), on regarde quelles billes se colorent, on obtient des pics de fluorescence (traduisant l'immunisation) → intérêt = regarder contre quels Ag le patient n'est pas immunisé



Exemple : Ag A2 : 2 sont très réactifs, 1 ne l'est pas du tout (A203) (c'est l'Ag que porte le patient : réactivité faible contre ses propres Ag)

Patient a déjà subi 2 greffes de rein (d'HLA A201, puis A206 → il présente mtnt 1 forte réaction contre ces Ag car il y a eu immunisation), on va lui faire une 3<sup>e</sup> greffe

Différence entre A201 et A206 très faible (1AA), celle ac A203 est portée sur la poche peptidique (très exposée à l'immunisation)

-> ne pas donner de rein A2 même si le patient est lui-même A2 !

Il faudra prendre un autre Ag contre lequel il a peu de réaction détectée en cytométrie de flux

Suivre le patient et vérifier qu'il n'y a pas de changement ds le statut immunologique (test ts les 3 mois)

### → Cross match pré greffe

= épreuve de compatibilité croisée, faite juste avant la greffe

Incubation cellules T et B du donneur avec serum du receveur pr regarder de façon ultime si pas de réaction contre donneur

Si réaction de type IgG contre cellules T: pas de greffe possible

## La reconnaissance allogénique

### • Voie directe :

Elle induit une réponse immune intense.

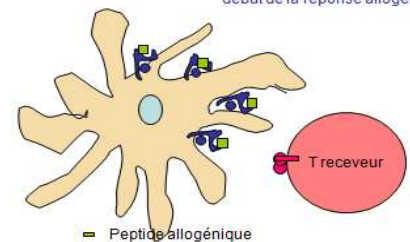
- haute densité de déterminants : les LT alloréactifs reconnaissent principalement les déterminants étrangers de la structure du CMH allogénique

Peu Ag allo présenté mais bcp CMH

- multiples complexes binaires: peptides fixés par CMH allogénique sont variés et de nbreux clones T différents sont recrutés

CPA donneur présente l'Ag au LT du receveur (paradoxe : normalement activation du LT grâce à 1 cellule présentatrice qui présente le HLA de notre organisme, ici interaction avec la HLA donneur)

• Voie directe : Prédomine dans rejet aigu et début de la réponse allogénique



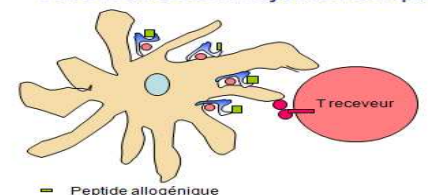
### • Voie indirecte :

Plus intense en phase de rejet chronique

- disparition des CPA donneur ?

Peptides du tissu greffé (issus de nécrose) récupérés par CPA du receveur, présentation aux LT du receveur (réponse immunitaire conventionnelle)

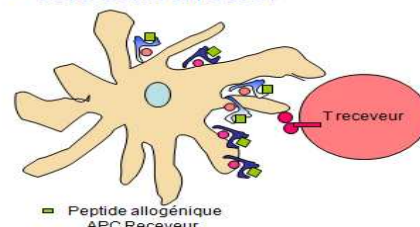
• Voie indirecte : Rejet chronique



### • Voie semi-directe :

CPA du receveur endocytant des molécules HLA du tissu greffé

• Voie semi directe :



## Réaction du greffon contre l'hôte : GvHD

- Complication principale et limitante de le **greffe de cellules souches hématopoïétiques** (CSH).
- Observée dans 30% des cas greffes familiale géno-identique et plus de 80 % des greffes phéno-identiques
- Survient dans les 100 jours après la greffe : atteinte cutanée (paume des mains, plante des pieds), tube digestif (diarrhées +++), foie et poumon
- Risque et grade est d'autant plus grave que la situation de compatibilité est défavorable

- Cellules souches hématopoïétiques = **cellules immunocompétentes** (lymphocytes T et B, monocytes, APC)

- **Receveur Immunodéprimé** (traité par chimiothérapie, radiothérapie)

### - Les sources de cellules souches

- Moelle osseuse : AG, hospitalisation
- Cellules souches périphériques : pas AG ni hospitalisation mais facteur de croissance G-CSF injecté au donneur
- Sang de cordon : nb fini de cellules, congélation

### - mécanisme :

- Les cellules immunitaires du receveur ne sont pas réactives : pas de REJET
- Les cellules du greffon sont actives, elles peuvent réagir contre l'hôte = maladie du greffon contre l'hôte

Avant la transfusion des cellules du donneur.....

Conditionnement du receveur → Irradiation et Chimiothérapie (*pr éliminer les cellules malignes*)

!!! Grande toxicité pour les tissus de l'hôte : muqueuse intestinale, foie + autres tissus

## 1ère phase = effet du conditionnement

- En réponse à cette agression : production de **cytokines, chémokines et induction de molécules d'adhérence** = signaux délivrés au système immunitaire → « tempête cytokinique »

TNF  $\alpha$ , IL-1

CMH I et II

Décharge de LPS provenant bact gram- (*LPS = activateur des cellules dendritiques*)

Niveau LPS sanguin corrélé avec intensité dommages intestinaux et intensification de la réponse inflammatoire

## 2ème phase activation des LT du donneur → ce st les LT du donneur qui st responsables de la GvH

- T du donneur reconnaissent Ag étrangers présentés par les cellules dendritiques (CD) du receveur
- CD présentes dans les tissus sont activées par TNF  $\alpha$ , IL-1 et endotoxine (LPS)
- CD des organes lymphoïdes secondaires et des organes seraient cruciales pour recrutement des LT

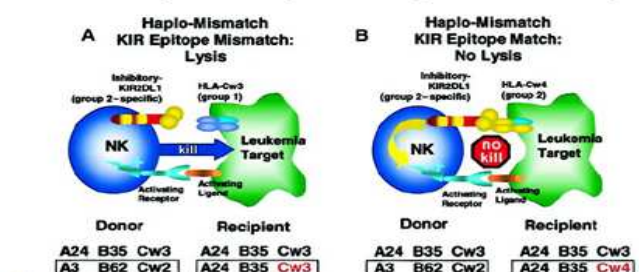
### Activation des LT :

- Engagement du **récepteur T** (reconnaissance Ag : 1<sup>er</sup> signal)
  - Nécessité du **second signal** d'activation : signaux de coactivation  
→ CD28/CD86 (+) ; CD154/CD40 (+) ; CTLA4/CD80 (-) ; ICOS/ICOS-L (+) ; PD1/PDL1 ou PDL2 (-)
  - **Les cytokines**: activation T induit la production de cytokines: IL2 et IFN- $\gamma$ , différenciation des CTL et NK
  - IL18 rôle complexe
  - **G-CSF** : greffon cellules souches mobilisées par G-CSF : polarisation TH2
  - **Les chémokines** : les chémokines inflammatoires (MIP 1a, MIP-2, MCP-1, MCP-3...) sont exprimées par les tissus endommagés = recrutement de cellules effectrices
- Proposées comme marqueur de diagnostic précoce de GvH?

### Les cellules natural killer

- Apparaissent très tôt après la greffe : production d'IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$
- Lymphocytes sans marqueur T ou B
- Expriment CD16 (Ig Récepteur), CD56 (molécule adhérence)
- Rôle décisif dans réponse immune innée (production cytokines)
- Répertoire NK stable pour un individu donné
- Cellules régulatrices
- Récepteurs pour CMH I
- Chaque cellule n'exprime pas tous les récepteurs

## Mismatch KIR lors d'une greffe hématopoïétique haplo-identique

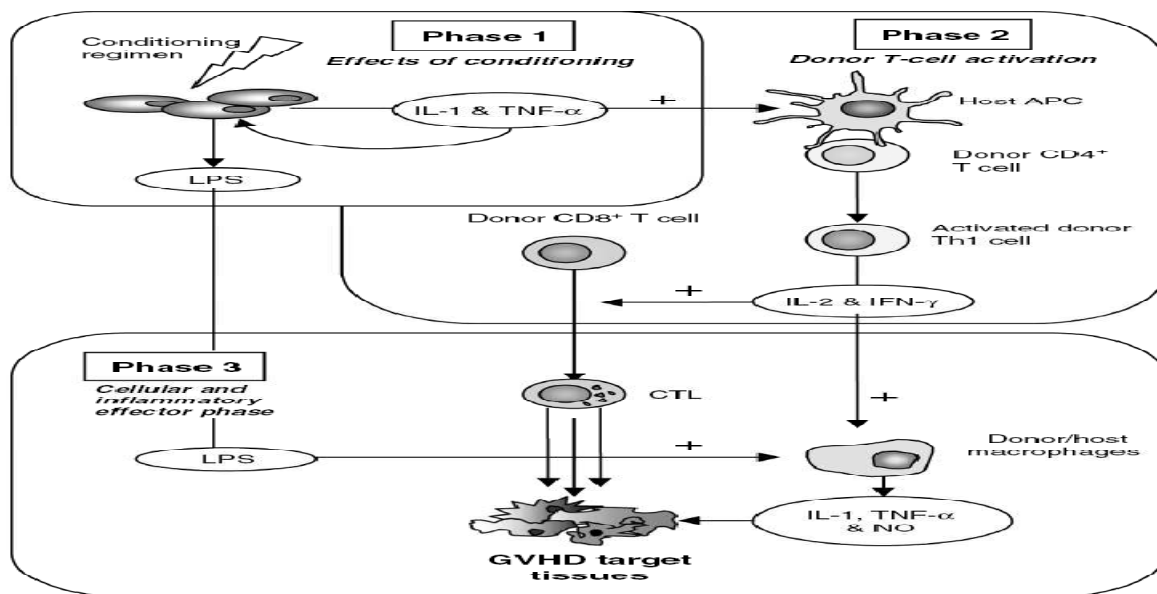


## Les cellules régulatrices

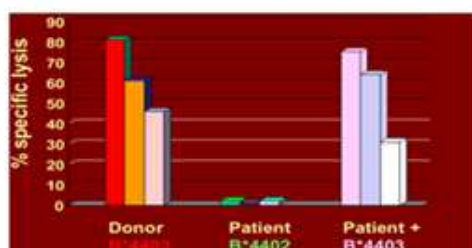
- Pas de marqueur de surface spécifique
- Phénotype CD4+CD25+
- Déplétion T reg → accélération de la GvH (modèle animal)
- Injection de T reg activées *ex-vivo* améliore GvH  
(peut être intéressant pr inhiber GvH mais GvH = aigu, et il faut trop de tps pr avoir assez de T reg → trouver méthodes pr prod + rapide)

## 3ème phase : effecteurs cellulaires et inflammation

- Mise en jeu complexe d'effecteurs multiples :
  - **système Perforine-Granzyme**  
LT et NK – Ca++ la perforine est polymérisée → pores dans la mb et le passage du granzyme activateur de caspases → mort cellulaire
  - **Fas /FasL** : augmentation sur CD4 et CD8 Donneur
  - **lésions dépendantes des cytokines** : TNFα et nécrose tissulaire- IL1



Un seul acide aminé peut être la cible d'une réponse allogénique



Reconnaissance croisée de HLA DP par des cellules T DPB1 allo-réactives

	# 501	# 538	Immunogenicity
Group 1	+	+	+
Group 2	+	+	+
Group 3	+	+	+

- Séquences quasi identiques
- Quelques AA de différence
- + de différences

1 seul AA différent suffit à permettre la reconnaissance par les cellules T (! dépend de la localisation de la différence +/- exposé à reconnaissance)

On essaie d'avoir compatibilité sur A,B,C,DP, (DQ) au niveau allélique

Etude faite sur HLA DP : classement de l'immunogénicité en 3 groupes (+/- tolérance en fonction +/- différences de séquences)

## Matching fonctionnel par analyse des cellules T allo-réactives

Analyse des cellules du patient avant greffe :

- Culture mixte : remplacée par typage 4 digits DRB1
- Précurseur cytotoxiques : remplacés par typage 4 digits classe I

Analyse des cellules du patient après greffe :

- utilisation des cellules T responsables de la réponse allogénique in vivo. Rejet aigu ou GvH

## Les mismatches permissifs :

- **Matching structural** : HLA matchmaker (greffe d'organe), Histocheck (CSH)
- **Matching fonctionnel** : Caractérisation des cellules T allo-réactives

### Prévention de la GvH

- Bonne compatibilité –CMH, mineurs, NK....
- Donneur et receveur HLA identiques 1er succès obtenu chez des jumeaux génétiquement identiques
- Compatibilité HLA est aussi nécessaire pour le fonctionnement du système immunitaire (Tc et cellules épithéliales)

### Effet bénéfique de la Gvh : effet anti-leucémique

- Si on utilise greffon déplété en cellules T → diminution de la réaction greffon contre hôteGvh
- Mais augmentation du nombre de rechutes leucémiques → *effet anti tumeur des LT du donneur*
- Effet des cellules T sur la tumeur amplifié par DLI