

IMMUNOLOGIE

Rejet de greffe et CMH

Le CMH constitue le principal problème lors de greffe d'organes ou de tissus.

I. Les gènes du CMH II

1. Expression

L'expression des gènes du CMH II est strictement régulée et est restreinte dans la plupart des situations physiologiques à quelques types cellulaires hautement spécialisés :

- **Cellules présentatrices de l'antigène professionnelles** = cellules dendritiques
- Les **cellules B**
- Les **cellules T activées** (un lymphocyte T qui n'a pas été activé n'exprime pas de HLA de classe II alors qu'il exprime beaucoup de HLA de classe I)
- **Compartiment cellulaire du thymus** (sélection positive)
- Leur expression peut être augmentée par l'*IFN* γ . Il a été démontré que lorsqu'on traite des cellules dans un tube à essai par des IGF γ , on augmente de façon considérable les molécules de HLA de classe I et II à la surface de celles-ci.

En situation physiologique, lorsqu'on le système immunitaire a des Ag à exprimer, le système HLA est également très exprimé. On aura beaucoup de cytokines et de chémokines qui diront à ces molécules d'être présentes à la surface des cellules et cela permettra que la réponse immunitaire perdure dans le temps.

2. Régulation

La régulation du CMH de type II a **principalement lieu au niveau transcriptionnel** (par l'intermédiaire de l'ARN), ce qui permet la mise en évidence de régions régulatrices à proximité du site d'initiation de la transcription boîtes W, X1, X2, et Y.

Les facteurs se fixant sur ces boîtes ont été décrits :

- RFX (FRX5 +RFXAP+FRXANK) se lie à X1
- X2BP se lie à X2
- NFY (NF-YA+NF-YB+ NF-YC) se lie à Y

RFX + *X2BP* + *NFY* donnent un complexe formant une plateforme servant de site de recrutement pour un coactivateur CIITA. **Ces complexes permettent donc de recruter des activateurs de la transcription.**

L'existence de CIITA a été démontrée en étudiant les patients atteints de déficience en molécules CMH de classe II. Ils sont atteints de ce que l'on appelle le « *Bare lymphocyte Syndrome* » ou BLS.

L'absence des molécules de classe II à la surface des cellules présentatrices de l'antigène et des autres types cellulaires sous *IFN* γ entraîne une **immunodéficiência humorale et cellulaire sévère** entraînant la mort des patients au cours de l'enfance

L'absence d'expression des molécules CMH II est la conséquence d'un défaut de transcription des gènes CMH II. Cela concerne les gènes α et β codants pour HLA-DR, HLA-DP et HLA-DQ. Il est maintenant clairement démontré que CIITA et RFX sont essentiels pour la transcription des classes II et ne peuvent être « court-circuités ». Ainsi un dysfonctionnement par mutations de CIITA et RFX sera responsable du BLS.

II. Induction de réponses immunitaires contre les greffes

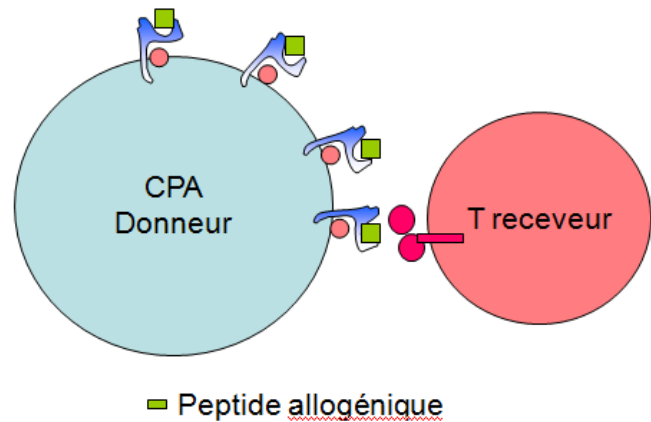
Lorsqu'on fait une greffe d'organe, on a un conflit entre deux tissus différents : le greffon et l'hôte.

Notre système immunitaire, en l'occurrence les lymphocytes T du receveur, peut reconnaître les antigènes du donneur présents dans le greffon de deux manières différentes :

- La voie directe

La cellule présentatrice du donneur présente un peptide avec des molécules HLA caractéristiques du greffon au lymphocyte T receveur entraînant l'activation de ce dernier.

Dans tous les tissus, il existe des cellules dendritiques intra tissulaires qui sont capables de sortir de l'organe et d'aller présenter l'alloantigène (Ag des cellules greffées) aux lymphocytes T du receveur dans les organes lymphoïdes. Cela est extrêmement classique, notamment dans la greffe de rein.



Sur le plan de la reconnaissance allogénique, cela est paradoxal car les CPA du donneur vont présenter l'Ag aux cellules T du receveur. D'après des expériences chez l'animal, on sait que cette voie est **prédominante dans le rejet aigu**. C'est un *mécanisme cellulaire*, c'est à dire qu'il faut du temps pour que les cellules dendritiques sortent du tissu et aillent présenter l'Ag dans les organes lymphoïdes.

Les cellules T vont alors être armées pour détruire l'étranger et donc le greffon. Cela va se passer dans les jours qui vont suivre une greffe d'organe.

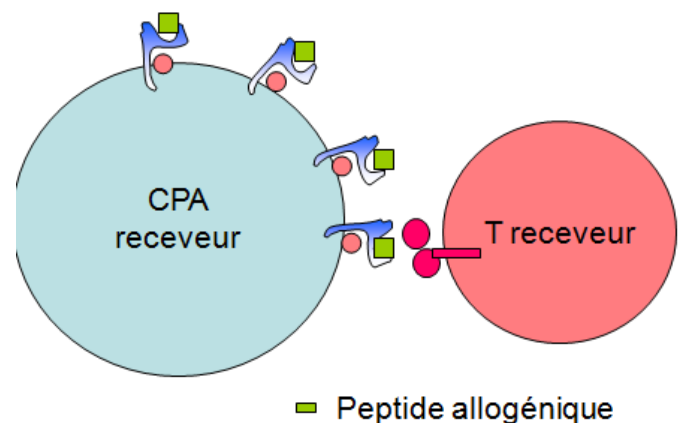
La voie directe induit donc une réponse immune intense avec :

- Une haute densité de déterminants : les LT alloréactifs reconnaissent principalement les déterminants étrangers de la structure du CMH allogénique. Il y a peu d'alloantigènes présentés mais beaucoup de CMH
- De multiples complexes binaires : les peptides fixés par le CMH allogénique sont variés et de nombreux clones T différents sont recrutés

Si expérimentalement on s'amuse à drainer les cellules dendritiques d'un tissu, on voit qu'on abolit complètement la phase de rejet aigu. Il y a donc une corrélation entre la reconnaissance allogénique par le receveur et le rejet de greffe.

- La voie indirecte

Cette voie prédomine dans le **rejet chronique** donc celui qui est plus à distance de la greffe. Ce n'est plus la cellule présentatrice du donneur qui agit mais celle du receveur qui a force de circuler dans l'organisme va pouvoir capter des Ag du tissu qui a été greffé. On va rentrer dans une réponse immunitaire vis-à-vis du greffon.



Ces deux voies sont les principales à retenir mais il en existe d'autres.

III. Le rejet de greffe

Le niveau de réponse immunologique est fonction de l'organe greffé : *Cœur < Foie < Rein.*

On peut classer le rejet de greffe **selon le délai de survenue du rejet** :

- Le rejet hyperaigu apparaît *quelques minutes après la greffe*
- Le rejet aigu apparaît *quelques jours à quelques années après la greffe*
- Le rejet chronique apparaît *plusieurs années après la greffe*

On peut également effectuer une **classification basée sur la cause** : anticorps ou cellules.

- Le rejet hyperaigu est du à *un anticorps seul*
- Le rejet aigu est du à *des cellules et/ou Ac*
- Le rejet chronique est du à *des cellules et /ou Ac*

Le rejet chronique, a lieu longtemps après la greffe, et est du à la présence de cellules spécifiques dirigés contre le greffon mais aussi d'AC dirigés contre le HLA du donneur.

Pour les greffes de cœur, de rein et de foie, on ne regarde pas beaucoup le HLA. L'organisation de la greffe et la liste d'attente entraînent que l'on ne peut pas attendre la greffe parfaite et donc qu'il n'y a pas une parfaite compatibilité HLA d'où le rejet de greffe. On utilise donc des immunosuppresseurs mais ce sont des substances quand même assez toxiques.

Question : *Un HLA est il unique ?*

Pour la greffe de moelle par exemple, on pourra trouver 2 ou 3 personnes sur la terre qui auront exactement la même combinaison génique mais on ne connaîtra pas l'arrangement exact des gènes sur le chromosome.

Lorsqu'on fait le typage d'un individu, on a les données en vrac. On ne sait pas comment sont organisés les gènes sur le chromosome. Le fait de faire le génotypage des enfants va nous permettre d'organiser le génotype des parents.

La greffe est phénotypiquement identique mais génotypiquement différente. Pour trouver quelqu'un de génotypiquement identique : il faut avoir un jumeau car il n'y a qu'un jumeau qui peut être ainsi. Il faut donc essayer de trouver quelqu'un qui soit phénotypiquement identique et encore là c'est compliqué...

Pour la greffe d'organe on fait la *sélection des donneurs sur le meilleur appariement HLA.*

IV. Comment prévenir le rejet ?

Il y aura forcément une réaction cellulaire. On essaye de prévenir le rejet lié à l'AC car celui-ci ne peut être stoppé et c'est également le plus dangereux. Celui-ci se passe dans les premières minutes car **il existait déjà avant la greffe des AC dirigés contre le HLA du donneur.** Pour prévenir cela, on va utiliser 2 techniques : le suivi immunologique des patients et le cross match pré greffe → Si on se plante sur ça on fait courir un très gros risque au receveur. C'est une étape importante +++

1. Le suivi immunologique

On va essayer de savoir si un individu X est immunisé contre d'autres personnes qui ont des HLA différents du sien. On ne s'immunise jamais contre son propre HLA, même lors de maladie auto immunes ! Un homme qui n'a jamais été perfusé n'a pas de raison d'être immunisé contre un HLA car on n'est jamais immunisé naturellement contre une molécule de HLA. Il peut cependant certaines fois exister des immunisations naturelles contre des épitopes exotiques mais cela est vraiment rare.

Les différentes causes d'immunisation sont les suivantes :

- Lors de la **délivrance** : la mère peut s'immuniser contre le HLA du père qui est présent chez la moitié de l'enfant.
- Lors de la **transfusion à outrance**, on peut avoir une immunisation contre le HLA de classe I.
- Lors de la **transplantation d'organes**, on peut s'immuniser contre le HLA

Tous les patients inscrits sur liste d'attente vont devoir réaliser un bilan immunologique tous les 3 mois. On va vérifier qu'ils ne sont pas immunisés contre un nouveau HLA.

Par exemple chez une femme qui a eu plusieurs enfants, elle a rencontré des HLA différents du sien cependant ceux la se sont cachés et se sont mis en « latence », ce qui a fait que les tests n'ont pas pu les détecter. Une grippe ou une parasitose peut réveiller certains de ces clones qui étaient présents lors d'un accouchement mais qui n'étaient pas forcément visibles auparavant car « en latence ».

Il faut donc 7 à 10 jours après un événement immunisant (parasitose...), prélever un sérum pour voir s'il n'y a pas de clones émergents.

2. Le cross match pré greffe

Sur une personne qui attend un organe, on regarde contre quels HLA la personne est immunisé. Grâce à des billes fluorescentes qui défilent, on va pouvoir reconnaître avec une grande spécificité les molécules contre lesquelles le patient est immunisé.

Quand on s'intéresse au typage allélique, il existe des variants contre lesquels les billes peuvent être dirigées. C'est donc un système très spécifique. La pertinence du SI le rend capable de trouver des petites différences entre deux Ag face auxquels il peut réagir.

Lors de la greffe, on fait **l'épreuve du cross match** ou « *épreuve de compatibilité croisée* » qui consiste à prendre des cellules du donneur (dans les ganglions profonds) dont on sépare les cellules T et B que l'on met en présence du sérum du receveur. On cherche à voir si les AC du receveur ne reconnaissent pas les HLA du donneur. Si les AC du receveur reconnaissent le HLA du donneur, la greffe n'aura pas lieu.

Si on a un AC IgM dirigé contre un LB cela peut ne pas être un AC HLA et dans ce cas on peut transplanter quand même.

Il faut donc être très entraîné et très vigilant pour faire ce test car cela peut avoir des conséquences dramatiques. A terme, il y aura forcément une réponse immunitaire cellulaire (aigu ou chronique) mais il faut **se méfier des AC préformés car cela constitue un danger.**

On fait ensuite un suivi post greffe où l'on suit les AC du patient, cela permet d'alerter les cliniciens qui vont *modifier le traitement immunosuppresseurs* et on va donc éviter d'éliminer le greffon par une réaction de rejet.

V. Greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH)

1. La greffe

Une greffe de CSH permet de remplacer le tissu hématopoïétique anormal d'un patient par le tissu hématopoïétique d'un donneur sain. On recherche un donneur qui sera génotypiquement HLA identique.

En France 600 allogreffes sont réalisées chaque année (2/3 cas donneurs familiaux) notamment pour :

- Leucémies 70% des cas,
- Lymphomes et myélome 10%,
- Aplasies médullaires 7%,
- Déficits immunitaires et maladies génétiques 13%.

Ces dernières années, les indications de greffe de CSH se sont élargies. Par exemple pour le myélome, avant on ne faisait pas de greffe de CSH.

Le malade est **hospitalisé 15 jours avant la date de greffe** afin de subir une *décontamination digestive* et que les *traitements soient mis en œuvre*.

On fait un conditionnement par radiothérapie et chimiothérapie 8 à 10 jours avant la greffe. Cela entrainera une destruction du SI sain. Pour faire sortir le patient de l'aplasie on sera obligé de lui donner des CS saines. **Le post greffe nécessite un isolement de 5 à 6 semaines.**

2. Les sources de cellules souches

Pour le prélèvement de cellules souches de moelle osseuse, cela nécessite une hospitalisation ainsi qu'une anesthésie générale.

Pour les cellules souches périphériques, pas d'anesthésie générale ni d'hospitalisation mais il faut injecter des **facteurs de croissance G-CSF au donneur**.

On peut prélever le sang du cordon ombilical après l'accouchement. Cela n'est pas contraignant mais présente quelques désavantages : le nombre de cellules est limité contrairement aux CS de moelle osseuse, la décongélation des cellules souches peut entrainer des altérations des cellules.

Expérimentalement la culture de cellules souches marche bien mais cela coute cher et prend du temps...

3. Problème majeur de la greffe contre l'hôte : GvHD

Le receveur est complètement **immunodéprimé** (à cause de la chimio et de la radiothérapie) et donc ses cellules immunitaires ne sont pas réactives. Les cellules souches hématopoïétiques sont des cellules immunocompétentes (lymphocyte T et B, monocytes, CPA...) qui vont entrainer la maladie du greffon contre l'hôte qui est potentiellement très grave.

Chez un patient en attente, on fait le typage du HLA du patient et de sa famille.

- | | |
|--|--|
| • <u>Typage HLA du patient</u> | • <u>Typage de la famille proche : parents + frères et sœurs</u> |
| – Classe I A, B, ± C: sérologie, Bio.mol. Basse résolution | – Classe I A, B |
| – Classe II (DRB1 ± DQB1 ± DPB1) bio.mol. Basse résolution | – Classe II DRB1 |

La recherche d'un donneur potentiel doit se faire le plus vite possible après le diagnostic. Si le patient n'est pas compatible avec sa famille, on va rechercher un donneur non apparenté.

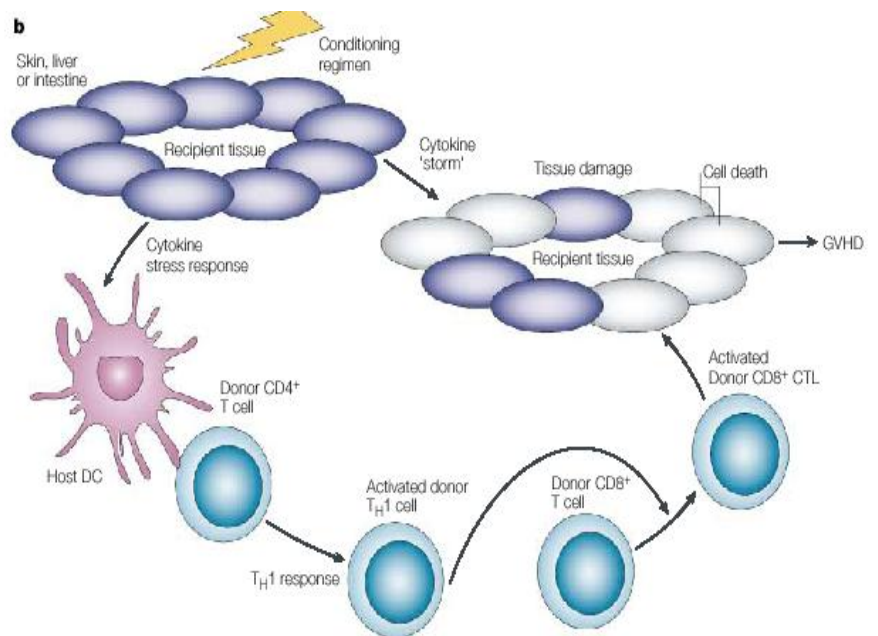
Cette réaction du greffon contre l'hôte est la **réaction principale et limitante de la greffe de CSH**. Elle est observée dans 30% des cas greffes familiale géno-identique et plus de 80 % des greffes phéno-identiques

La GvHD survient dans les *100 jours après la greffe* et peut entrainer des **atteintes cutanée** (paume des mains, plante des pieds), du **tube digestif** (diarrhées +++), **du foie et du poumon**. Le risque et le grade sont d'autant plus graves que la situation de compatibilité est défavorable → Si on a deux incompatibilités entre le donneur et le receveur, on est sur d'avoir une réaction du greffon contre l'hôte.

Dans les 15 jours qui suivent la greffe, il y a une sorte de réaction inflammatoire avec un *relargage massif de cytokines*. Les cellules dendritiques vont activer les cellules T du donneur dans le greffon.

La **tempête cytokinique** qui a lieu au début entraîne l'activation des cellules dendritiques qui activent les CD4 qui eux même activent les CD8 cytotoxiques. Ceux-ci peuvent alors détruire le greffon

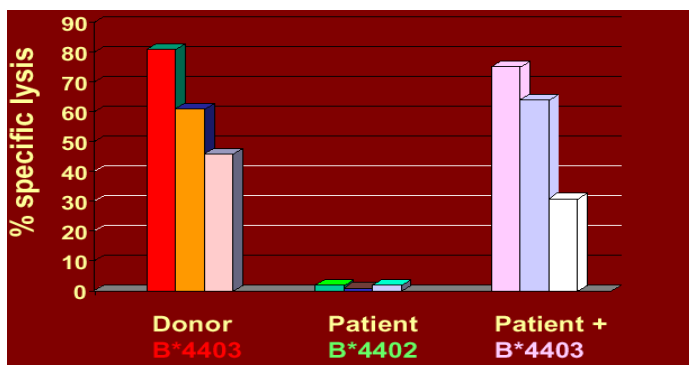
La solution était alors d'enlever les cellules T car on sait que ce sont elles qui sont responsables de la destruction du greffon.



Lorsqu'on enlève les cellules T, on voit que la réaction du greffon contre l'hôte est très atténuée mais on a un risque de rechute qui est plus élevé par la suite. Ces lymphocytes T ont donc un **rôle anti-leucémique** puisque leurs présences inhibent les rechutes.

Lorsqu'on voit qu'il y a des cellules normales du patient qui re-émergent, on essaye d'inhiber ça car on a peur que les cellules tumorales aussi ré émergent.

Exemple classique :



Il y a un donneur et un receveur de CSH. La seule différence se trouve au niveau de l'allèle B4402 car le donneur est B4403.

On a fait des tests de cytotoxicité où on a mis on les cellules du donneur vis à vis des cellules du receveur. Par la seule différence du B4403, les cellules cytotoxiques se sont activées. Les caractéristiques de reconnaissance du SI sont donc extrêmement fines car B4402 et B4403 ne diffèrent que par un seul aminé!

Si ce seul AA est présent, cela peut faire la différence selon l'endroit où il est placé. S'il est dans la poche de présentation peptidique, cela peut avoir des conséquences fonctionnelles importantes.