

Année 2023/2024

Thèse

Pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'État
Par

Roxane GAMOT

Née le 19 avril 1995 à Bergerac (24)

LA DETERMINATION DES MISMATCHES EPITOPIQUES AMELIORE LA PREDICTION DU RISQUE D'APPARITION DE DSA EN TRANSPLANTATION RENALE

Présentée et soutenue publiquement le **mardi 15 octobre** date devant un jury composé de :

Président du Jury : Professeur Matthias BUCHLER, Néphrologie, Faculté de Médecine - CHU Tours

Membres du Jury :

Docteur Camille HUMEAU, EFS CENTRE PAYS DE LA LOIRE - Tours

Docteur Hélène LONGUET, Néphrologie, Praticien Hospitalier - CHU Tours

Docteur Barbara PROUST, EFS CENTRE PAYS DE LA LOIRE - Tours

Professeur Philippe GATAULT, Néphrologie, Faculté de Médecine - CHU Tours

Résumé

Contexte : L'apparition de DSA de novo est un facteur de risque de rejet et de perte de greffon. Les facteurs de risque les plus connus sont la sous-immunosuppression, le jeune âge et l'appariement donneur – receveur déterminé par le nombre de mismatches HLA. Les typages HLA de nouvelle génération (NGS) rendent maintenant possible une meilleure détermination de la disparité antigénique HLA par le calcul du nombre de mismatches épitopiques.

Objectif : Étudier l'intérêt de la charge épitopique dans le risque de DSA *de novo* (dn DSA) en transplantation rénale.

Patients et méthodes : étude rétrospective monocentrique chez 1046 patients transplantés rénaux entre 01/2013 et 04/2023 sans DSA pré-greffe. L'analyse des épitopes a été déterminée chez 345 patients avec des typages NGS donneur et receveur disponibles (suivi médian 3,4 ans). La MFI seuil était de 1000 (One Lamda).

Résultats : Les facteurs associés à une réduction du risque de dnDSA étaient l'âge du receveur (HR = 0,985, $p=0,002$), et la greffe avec donneur vivant (HR = 0,370, $p=0,009$). Le nombre de mismatch en classe 1 (HLA-A et-B) et en classe 2 (HLA-DR et –DQ) n'était pas différent entre les patients avec et sans dnDSA. Si l'incidence cumulée de dnDSA de classe 2 ne différait pas en fonction du nombre de mismatches classe 2 ($p=0,227$), celle en classe 1 différait en fonction du nombre de mismatch classe 1 ($p=0,047$). L'analyse de l'incidence des dnDSA en classe 1 et 2 en fonction du nombre de mismatches épitopiques montrait une meilleure stratification du risque, en particulier en classe 2 ($p=0,006$). L'analyse ROC plaide pour un seuil de mismatches épitopiques en classe 1 à 26, et en classe 2 à 23, avec d'excellentes VPN (respectivement 0,992 et 0,951).

Conclusion : Le risque de dnDSA de classe 2 est mieux appréhendé en utilisant le calcul du nombre de mismatches épitopiques que le nombre de mismatches sérologiques. Les excellentes VPN ouvrent des perspectives de personnalisation du rythme de surveillance des DSA.

Mots clefs : Transplantation rénale, DSA de novo, épitope, appariement HLA, rejet humoral

Abstract

Determining epitopic mismatches improve prediction of the risk of de novo DSA in renal transplantation

Background: De novo donor-specific antibodies (dnDSA) are risk factor for rejection and graft failure in kidney transplantation. Risk factors for dnDSA include low immunosuppression, younger recipient age, and number of HLA mismatches. Advances in next-generation sequencing (NGS) for HLA typing have enhanced the ability to assess antigenic disparity by quantifying epitope mismatches.

Objective: This study aims to investigate the relevance of epitope load to evaluate the risk of developing dnDSA in kidney transplant recipients (KTR).

Methods: Retrospective monocentre analysis involving 1,046 KTR transplanted from January 2013 to April 2023 without DSA. Epitope analysis was performed on 345 patients for whom both donor and recipient NGS typing data were available. We used a MFI threshold of 1,000 (One Lambda).

Results: Factors associated with a decreased risk of dnDSA were increased recipient age (HR = 0.985, $p = 0.002$) and the utilization of living donors (HR = 0.370, $p = 0.009$). The frequency of HLA mismatches in both class I (HLA-A and HLA-B) and class II (HLA-DR and HLA-DQ) did not significantly vary between patients who developed dnDSA and those who did not. While the cumulative incidence of class II dnDSA was similar regardless of the number of class II mismatches ($p = 0.227$), the incidence of class I dnDSA was significantly influenced by the number of class I mismatches ($p = 0.047$). Notably, stratification of dnDSA incidence based on epitope mismatch numbers, especially for class II, improved risk stratification ($p = 0.006$). ROC analysis suggested optimal thresholds for epitope mismatches at 26 for class I and 23 for class II, both exhibiting excellent negative predictive values (NPVs) of 0.992 and 0.951, respectively.

Conclusion: The assessment of class II dnDSA risk is enhanced by calculating epitope mismatches. The high NPV associated with epitope mismatch thresholds present an opportunity for personalized strategies in monitoring of dnDSA in KTRs.

Key words : Kidney transplantation, de novo DSA, eplet, HLA mismatch, antibody mediated rejection

UNIVERSITE DE TOURS FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

DOYEN

Pr Denis ANGOULVANT

VICE-DOYEN

Pr David BAKHOS

ASSESSEURS

Pr Philippe GATAULT, *Pédagogie*

Pr Caroline DIGUISTO, *Relations internationales*

Pr Clarisse DIBAO-DINA, *Médecine générale*

Pr Pierre-Henri DUCLUZEAU, *Formation Médicale Continue*

Pr Hélène BLASCO, *Recherche*

Pr Pauline SAINT-MARTIN, *Vie étudiante*

RESPONSABLE ADMINISTRATIVE

Mme Carole ACCOLAS

DOYENS HONORAIRES

Pr Emile ARON (†) – 1962-1966

Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962

Pr Georges DESBUQUOIS (†) – 1966-1972

Pr André GOUAZE (†) – 1972-1994

Pr Jean-Claude ROLLAND – 1994-2004

Pr Dominique PERROTIN – 2004-2014

Pr Patrice DIOT – 2014-2024

PROFESSEURS EMERITES

Pr Daniel ALISON

Pr Gilles BODY

Pr Philippe COLOMBAT

Pr Etienne DANQUECHIN-DORVAL

Pr Patrice DIOT

Pr Luc FAVARD

Pr Bernard FOUQUET

Pr Yves GRUEL

Pr Frédéric PATAT

Pr Loïc VAILLANT

PROFESSEURS HONORAIRES

P. ANTHONIOZ – P. ARBEILLE – A. AUDURIER – A. AUTRET – D. BABUTY – C. BARTHELEMY – J.L. BAULIEU – C. BERGER – JC. BESNARD – P. BEUTTER – C. BONNARD – P. BONNET – P. BOUGNOUX – P. BURDIN – L. CASTELLANI – J. CHANDENIER – A. CHANTEPIE – B. CHARBONNIER – P. CHOUTET – T. CONSTANS – C. COUET – L. DE LA LANDE DE CALAN – P. DUMONT – J.P. FAUCHIER – F. FETISSOF – J. FUSCIARDI – P. GAILLARD – G. GINIES – D. GOGA – A. GOUDEAU – J.L. GUILMOT – O. HAILLOT – N. HUTEN – M. JAN – J.P. LAMAGNERE – F. LAMISSE – Y. LANSON – O. LE FLOCH – Y. LEBRANCHU – E. LECA – P. LECOMTE – AM. LEHR-DRYLEWICZ – E. LEMARIE – G. LEROY – G. LORETTE – M. MARCHAND – C. MAURAGE – C. MERCIER – J. MOLINE – C. MORAINÉ – J.P. MUH – J. MURAT – H. NIVET – D. PERROTIN – L. POURCELOT – R. QUENTIN – P. RAYNAUD – D. RICHARD-LENOBLE – A. ROBIER – J.C. ROLLAND – P. ROSSET – D. ROYERE – A. SAINDELLE – E. SALIBA – J.J. SANTINI – D. SAUVAGE – D. SIRINELLI – J. WEILL

LAURE Boris.....	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
LE NAIL Louis-Romée	Cancérologie, radiothérapie
LECOMTE Thierry	Gastroentérologie, hépatologie
LEFORT Bruno.....	Pédiatrie
LEGRAS Antoine	Chirurgie thoracique
LEMAIGNEN Adrien	Maladies infectieuses
LESCANNE Emmanuel	Oto-rhino-laryngologie
LEVESQUE Éric	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence
LINASSIER Claude	Cancérologie, radiothérapie
MACHET Laurent	Dermato-vénéréologie
MAILLOT François	Médecine interne
MARCHAND-ADAM Sylvain	Pneumologie
MARRET Henri	Gynécologie-obstétrique
MARUANI Annabel.....	Dermatologie-vénéréologie
MEREGHETTI Laurent.....	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
MITANCHEZ Delphine	Pédiatrie
MOREL Baptiste.....	Radiologie pédiatrique
MORINIERE Sylvain	Oto-rhino-laryngologie
MOUSSATA Driffa	Gastro-entérologie
MULLEMAN Denis.....	Rhumatologie
ODENT Thierry	Chirurgie infantile
OUAISSI Mehdi	Chirurgie digestive
OULDAMER Lobna.....	Gynécologie-obstétrique
PAINTAUD Gilles	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
PARE Arnaud	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
PASI Marco.....	Neurologie
PERROTIN Franck	Gynécologie-obstétrique
PISELLA Pierre-Jean.....	Ophtalmologie
PLANTIER Laurent.....	Physiologie
REMERAND Francis.....	Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence
ROINGEARD Philippe.....	Biologie cellulaire
RUSCH Emmanuel.....	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
SAINT-MARTIN Pauline	Médecine légale et droit de la santé
SALAME Ephrem.....	Chirurgie digestive
SAMIMI Mahtab	Dermatologie-vénéréologie
SANTIAGO-RIBEIRO Maria	Biophysique et médecine nucléaire
SAUTENET-BIGOT Bénédicte.....	Thérapeutique
THOMAS-CASTELNAU Pierre	Pédiatrie
TOUTAIN Annick	Génétique
VOURC'H Patrick.....	Biochimie et biologie moléculaire
WATIER Hervé	Immunologie
ZEMMOURA Ilyess	Neurochirurgie

PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

DIBAO-DINA Clarisse
LEBEAU Jean-Pierre

PROFESSEURS ASSOCIES

LIMA MALDONADO Igor.....Anatomie
MALLET Donatien.....Soins palliatifs

PROFESSEUR CERTIFIE DU 2ND DEGRE

MC CARTHY Catherine.....Anglais

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

CANCEL Mathilde	Cancérologie, radiothérapie
CARVAJAL-ALLEGRIA Guillermo.....	Rhumatologie
CHESNAY Adélaïde.....	Parasitologie et mycologie
CLEMENTY Nicolas.....	Cardiologie
DE FREMINVILLE Jean-Baptiste	Cardiologie
DOMELIER Anne-Sophie.....	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
DUFOUR Diane	Biophysique et médecine nucléaire
FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie	Anatomie et cytologie pathologiques
GARGOT Thomas	Pédopsychiatrie
GOUILLEUX Valérie	Immunologie
HOARAU Cyrille	Immunologie
KERVERARRE Thibault.....	Anatomie et cytologie pathologiques
KHANNA Raoul Kanav.....	Ophthalmologie
LE GUELLEC Chantal.....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
LEDUCQ Sophie	Dermatologie
LEJEUNE Julien	Hématologie, transfusion
MACHET Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques
MOUMNEH Thomas.....	Médecine d'urgence
PIVER Éric.....	Biochimie et biologie moléculaire
RAVALET Noémie	Hématologie, transfusion
ROUMY Jérôme	Biophysique et médecine nucléaire
STANDLEY-MIQUELESTORENA Elodie.....	Anatomie et cytologie pathologiques
STEFIC Karl.....	Bactériologie
TERNANT David.....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
VAYNE Caroline.....	Hématologie, transfusion
VUILLAUME-WINTER Marie-Laure.....	Génétique

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

AGUILLON-HERNANDEZ Nadia.....	Neurosciences
BLANC Romuald	Orthophonie
EL AKIKI Carole	Orthophonie
NICOGLOU Antonine.....	Philosophie – histoire des sciences et des techniques
PATIENT Romuald	Biologie cellulaire
RENOUX-JACQUET Cécile	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

AUMARECHAL Alain	Médecine Générale
BARBEAU Ludivine	Médecine Générale
CHAMANT Christelle.....	Médecine Générale
ETTORI Isabelle.....	Médecine Générale
MOLINA Valérie	Médecine Générale
PAUTRAT Maxime	Médecine Générale
PHILIPPE Laurence.....	Médecine Générale
RUIZ Christophe	Médecine Générale
SAMKO Boris.....	Médecine Générale

CHERCHEURS INSERM - CNRS - INRAE

BECKER Jérôme.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
BOUAKAZ Ayache	Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
BOUTIN Hervé.....	Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
BRIARD Benoit.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
CHALON Sylvie.....	Directrice de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
DE ROCQUIGNY Hugues.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1259
ESCOFFRE Jean-Michel.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
GILOT Philippe	Chargé de Recherche Inrae – UMR Inrae 1282
GOMOT Marie	Chargée de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
GOUILLEUX Fabrice	Directeur de Recherche CNRS – UMR Inserm 1100
GUEGUINOU Maxime	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1069
HAASE Georg.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
HENRI Sandrine	Directrice de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
HEUZE-VOURCH Nathalie.....	Directrice de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
KORKMAZ Brice.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
LABOUTE Thibaut.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
LATINUS Marianne	Chargée de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
LAUMONNIER Frédéric	Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
LE MERRER Julie	Directrice de Recherche CNRS – UMR Inserm 1253
MAMMANO Fabrizio	Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1259
PAGET Christophe.....	Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
RAOUL William	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1069
SECHER Thomas.....	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
SI TAHAR Mustapha.....	Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100
SUREAU Camille	Directrice de Recherche émérite CNRS – UMR Inserm 1259
TANTI Arnaud	Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253
WARDAK Claire	Chargée de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Pour l'éthique médicale

BIRMELE Béatrice.....Praticien Hospitalier

Pour la médecine manuelle et l'ostéopathie médicale

LAMANDE Marc

Pour l'orthophonie

BATAILLE Magalie.....Orthophoniste
 CLOUTOUR Nathalie

Orthophoniste

CORBINEAU Mathilde

Orthophoniste

HARIVEL OUALLI Ingrid

Orthophoniste

IMBERT Mélanie

Orthophoniste

SIZARET Eva

Orthophoniste

Pour l'orthoptie

BOULNOIS Sandrine.....Orthoptiste

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des enseignants et enseignantes
de cette Faculté, de mes chers condisciples
et selon la tradition d'Hippocrate,

Je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur
et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits aux indigents,
et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admise dans l'intérieur des maisons, mes yeux
ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira
les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira
pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueuse et reconnaissante envers mes Maîtres,
je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de
leurs parents.

Que les hommes et les femmes m'accordent leur estime
si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes
confrères et consœurs si j'y manque.

Remerciements

A mon Président du jury de thèse,

Pr Matthias BUCHLER, merci de me faire l'honneur de présider ce jury et surtout merci pour ta bienveillance, ton encadrement et ta passion contagieuse pour la transplantation rénale. Sache qu'avant de participer à tes visites professorales, je ne pensais pas qu'il était possible d'avoir des discussions aussi animées sur les sous-populations lymphocytaires en mangeant du fromage et du pâté à 10h du matin.

A mon directeur de thèse,

Pr Philippe GATAULT, un grand merci, ce travail n'aurait pas pu être possible sans toi. Merci de m'avoir fait confiance depuis le début. Ta disponibilité, même à des heures improbables (en témoignent les emails envoyés à 2h49 du matin), m'a permis d'être encadrée de la meilleure manière possible. Ton calme olympien, ta vision moderne de la transplantation rénale, sont autant de qualités qui font de toi une source d'inspiration pour moi.

A mon jury de thèse,

Dr Hélène LONGUET, merci d'être présente pour juger mon travail et plus encore je te remercie énormément pour ton enseignement empreint de joie et de bienveillance, pour ton énergie inépuisable ainsi que pour ton souci constant de veiller sur nous tous.

Dr Barbara PROUST, merci d'être présente pour juger mon travail et pour l'engagement dont tu as fait preuve dès le début de ce projet. Merci également pour ta gentillesse, ta disponibilité et ton implication aux côtés de Camille pour porter ce projet au sein du laboratoire HLA.

Dr Camille HUMEAU, merci d'être présente pour juger mon travail et merci pour ton enthousiasme et ta patience quand il a fallu m'expliquer le fonctionnement des logiciels de calcul des mismatches.

En espérant pouvoir continuer ce travail épi(topi)que aussi avec vous, l'équipe du laboratoire HLA.

Abréviations

ABMR Antibody-mediated rejection
CDR Complementarity Determining Regions
CMH Complexe majeur d'histocompatibilité
DSA Donor specific antibody
dnDSA Donor specific antibody de novo
Fab Fragment antigen-binding
Fc Fragment crystallizable
HLA Human leucocyte antigen
LB Lymphocyte B
LT Lymphocyte T
MFI Mean fluorescence intensity
MM Mismatch
NGS New generation sequencing

Table des matières

Introduction.....	12
Maladie rénale chronique et transplantation rénale.....	12
Système HLA.....	12
Immunisation de novo et rejet humoral	16
Donor Specific Antibodies	18
Épitope et charge épitopique.....	20
Problématique du travail de thèse	21
Matériels et Méthodes	22
Population.....	22
Collection des données	23
Typage HLA	23
Détermination DSA.....	23
Mismatch épitopique.....	24
Analyses statistiques.....	24
Résultats.....	26
Caractéristiques des cohortes	26
Apparition de DSA de novo dans les cohortes.....	28
Association entre ABMR et survie greffon	29
Facteurs de risque associés à l'apparition de dnDSA.....	31
Incidence d'apparition des dnDSA en classe I et II en fonction du mismatch antigénique ..	31
Comparaison mismatch antigénique et épitopique	34
Incidence d'apparition des dnDSA en classe I et II en fonction du mismatch épitopique	35
Discussion	44
Intérêt du matching épitopique en classe II DQ/DR	44
Évaluation charge épitopique : aspect quantitatif et qualitatif	45
Intérêt clinique de l'utilisation du matching épitopique	46
Limites de l'étude	47
Perspectives	47
Conclusion	48
Références	49

Introduction

Maladie rénale chronique et transplantation rénale

La maladie rénale chronique est une affection fréquente et grave avec une prévalence en France estimée à 7 à 10%^{1 2}. Cette dernière est définie par 5 stades. Il existe actuellement deux options de prise en charge de la maladie rénale chronique avancée stade 4-5 : l'épuration extra-rénale et la transplantation rénale.

La transplantation rénale reste à l'heure actuelle le traitement de choix de la maladie rénale chronique terminale. Elle offre une meilleure qualité de vie pour le patient receveur et améliore sa survie^{3 4}. Un de ses enjeux majeurs est l'immunisation du receveur et notamment l'immunisation contre le donneur. Cette dernière est définie par la présence d'anticorps dirigés contre les molécules du système HLA du donneur qu'on appelle des DSA pour Donor Specific Antibody.

Système HLA

En 1958, Jean Dausset découvre le système HLA (Human Leucocyte Antigen) aussi appelé Complexe Majeur d'Histo-compatibilité (CMH). Ce dernier est un système polygénique (impliquant plus de 200 gènes), polyallélique (> 17 000 décrits) et codominant (les allèles hérités des 2 parents s'expriment)⁵. Les gènes du HLA sont regroupés dans différents loci sur le bras court du chromosome 6, eux-mêmes regroupés en plusieurs classes : classe I, II et III. Les classes I et II sont caractérisées par leur extrême polymorphisme avec de très nombreux variants alléliques au sein d'un même locus.

Ce haut degré de polymorphisme des classes 1 et 2 explique qu'en transplantation d'organe elles soient les plus importantes. On distingue dans la classe I les loci A, B et C, et dans la classe II les loci DP, DQ, DR. La classe III regroupe quant à elle des gènes impliqués dans la réponse inflammatoire. Elle ne contribue pas à la présentation d'antigène.

La figure 1 récapitule l'organisation chromosomique du système HLA.

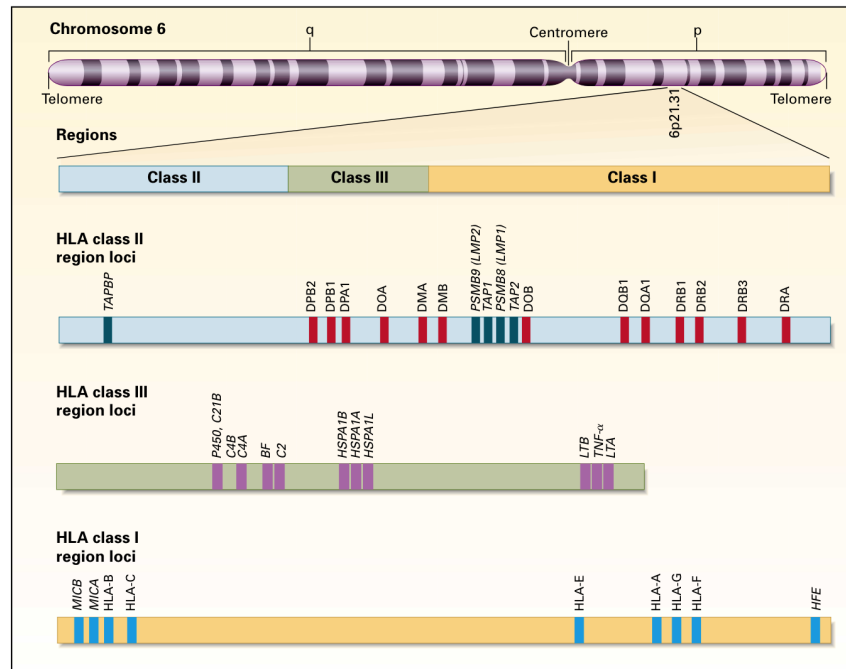


Figure 1 : Localisation et organisation du complexe HLA sur le chromosome 6 ⁵

Les molécules de classe I sont composées de deux chaînes : une seule chaîne α polymorphe associée à la bêta-2 microglobuline non polymorphe ayant un rôle stabilisateur de la chaîne α . Entre les domaines $\alpha 1$ et $\alpha 2$, il existe une région hautement polymorphe appelée « poche à peptide ». Cette poche est le site de liaison avec le peptide antigénique. Les molécules de classe I sont retrouvées sur l'ensemble des cellules nucléées et plaquettes d'un individu. Elles permettent la présentation des peptides aux LT cytotoxiques CD8.

Les molécules de classe II sont composées de deux chaînes polymorphes α et β . La poche à peptides est située entre les domaines hautement polymorphes $\alpha 1$ et $\beta 1$. Les molécules de classe II ont une expression restreinte aux cellules présentatrices d'antigènes (lymphocytes B, macrophages, cellules dendritiques, cellules de Langherans) et aux cellules endothéliales « activées ». Elles permettent la présentation des peptides aux LT CD4.

La figure 2 schématise la structure des molécules HLA classe I et II.

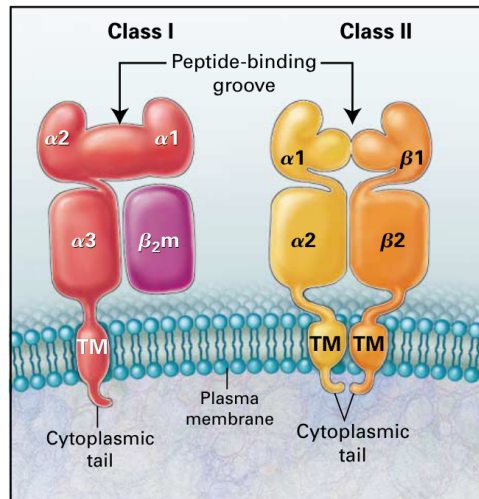


Figure 2 : Structure des molécules HLA classe I et II ⁵

Les polymorphismes HLA sont recensés dans une nomenclature qui a subi des évolutions au gré de l'amélioration des techniques de résolution.

Initialement, le typage HLA était réalisé avec la technique de Lymphotoxicité dépendante du complément (LCT), en utilisant des anticorps anti-HLA de spécificité connue en présence des lymphocytes des patients. Cette technique était peu sensible notamment pour le typage en classe II. Elle permettait d'obtenir un typage HLA sérologique/antigénique exprimé dans la nomenclature avec le locus suivi d'un numéro identifiant l'antigène (1, 2, 3, 4 par exemple) comme montré dans la figure 3. Le typage était initialement rendu pour les HLA-A, -B, DR, puis a été élargi au DQ.

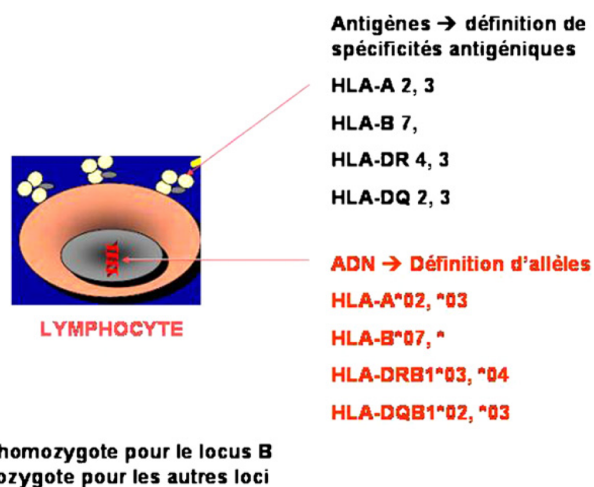


Figure 3 : Comparaison des nomenclatures HLA sérologique et de biologie moléculaire⁶

Avec l'avènement des techniques de biologie moléculaire, il a ensuite été possible de définir les polymorphismes HLA de manière plus précise au niveau allélique. La nomenclature génomique identifie le locus suivi d'un astérisque puis un premier champ de 2 chiffres correspondant à l'allèle concerné. Les informations supplémentaires sur les variants sont numérotées comme montré dans la figure 4. La résolution est d'autant plus précise qu'il existe des digits (2, 4 ou 6 digits)⁶. Au-delà de 6 digits, il n'y a pas de modification de la séquence protéique. Le typage allélique (2 digits) est le niveau de résolution qui est pris en compte par l'Agence de Biomédecine dans son score d'attribution des organes, en ne considérant que les loci A, B, DR et DQ(B). Le laboratoire d'histocompatibilité de l'EFS de Tours, comme de nombreux autres laboratoires en France, utilise depuis 2018 en routine les techniques de NGS permettant une résolution en 4 digits équivalents à un typage allélique spécifique.

HLA-A*02:01:01:01N

Résolution :

- Faible : **Antigénique** : famille d'allèle (2 digits)
- Haute :
 - **Allélique spécifique** : variation séquence protéique (4 digits)
 - **Mutation synonyme** : variation séquence nucléotidique (6 digits)
 - **Mutation région non codante** : variation non codante (8 digits)
 - **Suffixe** : expression particulière protéine

Figure 4 : Nomenclature en biologie moléculaire

Le système HLA a pour rôle physiologique la présentation de peptides aux lymphocytes T capables de reconnaître les peptides antigéniques restreints aux molécules HLA du soi. Ainsi, dans le contexte de la transplantation, des LT alloreactifs peuvent reconnaître des peptides du donneur (notamment issus du HLA du donneur) présentés par les molécules HLA du receveur. Cela s'appelle la présentation indirecte et s'oppose à la reconnaissance directe des molécules HLA du donneur considérée comme la réponse immunitaire alloimmune la plus puissante impliquant jusqu'à 10% du répertoire lymphocytaire T. Les LT CD4 activés après une présentation indirecte, en particulier les LT follicular Helper,

peuvent coopérer avec des LB alloréactifs reconnaissant des molécules HLA (et non des peptides) par leur immunoglobuline de surface, et aboutir à la différenciation en plasmocytes capables de produire les anticorps anti-HLA.

Il existe trois situations d'exposition allogéniques : la transplantation d'organe solide ou de cellules (exemple : îlots de Langerhans), la transfusion de cellules sanguines et la grossesse. De nombreuses observations ont relevé la présence d'Ac anti-HLA dits « naturels » chez des femmes sans antécédent de grossesse et hommes non transfusés non greffés. Cette constatation soulève l'hypothèse de réactions croisées avec des micro-organismes, protéines ou allergènes⁸.

Immunisation de novo et rejet humoral

Dans le cas de la transplantation d'organe, le receveur est à risque de développer des anticorps anti-HLA spécifiques du donneur appelés DSA (Donor Specific Antibodies). On parle alors de DSA *de novo*. Le terme de DSA préformés est utilisé lorsque ces derniers préexistent avant la transplantation. Dans la littérature, l'incidence de dnDSA a été évaluée à plusieurs reprises. Cependant, les valeurs varient en fonction des auteurs et des techniques d'identification. Avec des techniques hautement sensibles (Luminex), Willicombe retrouve que 18,2% des patients développent des dnDSA à 5 ans ⁹ ; Wiebe retrouve quant à lui dans une cohorte nord-américaine que les dnDSA apparaissant dans 15% des cas à dnDSA sur un suivi de 4,6 +/- 3 ans chez des patients à faible risque immunologique ¹⁰.

Certaines situations favorisent l'apparition de DSA. Dans la littérature, les facteurs de risque en transplantation rénale de développement de DSA sont: ^{10 11 12 13 14 15}.

- l'âge : les patients plus jeunes sont plus à risque
- le mésappariement HLA, notamment le mésappariement en classe II (DQ/DR)
- les stratégies de minimisation de l'immunosuppression
- l'inobservance thérapeutique

La présence de DSA est redoutée en transplantation puisqu'elle fait le lit du rejet humoral (aussi dénommé rejet médié par anticorps, ABMR en anglais) en diminuant de ce fait la survie du greffon ^{16 17}. Par rapport à une immunisation anti-donneur pré-greffe, la survenue de novo d'anticorps anti-donneur pourrait compromettre davantage la survie du greffon. En effet, Aubert a démontré que les patients développant des dnDSA présentaient un risque significativement plus élevé de perte de du greffon rénal par rapport à ceux ayant des DSA préformés¹⁸.

Le rejet humoral est la première cause de perte du greffon^{11 19 20}. C'est une réponse immunitaire complexe qui a lieu au niveau de l'endothélium vasculaire du donneur (figure 5). La pathogénicité de ces DSA est à l'heure actuelle expliquée par plusieurs mécanismes. L'élément essentiel est l'activation du système du complément par la voie directe, aboutissant à la formation du complexe d'attaque membranaire responsable de mort cellulaire. Elle est également capable d'amplifier la réponse immunitaire en attirant des cellules (lymphocytes NK, polynucléaires neutrophiles, monocytes) sur le lieu de l'inflammation par la sécrétion de C3a et C5a, expliquant les lésions de glomérulite et de capillarite qui sont les signes cardinaux de l'ABMR. La présence de la protéine C4d est un témoin de l'activation de la voie classique du complément et de l'interaction entre un anticorps (présumé le DSA anti-HLA) et l'endothélium, utilisé comme marqueur diagnostique de l'ABMR.²¹

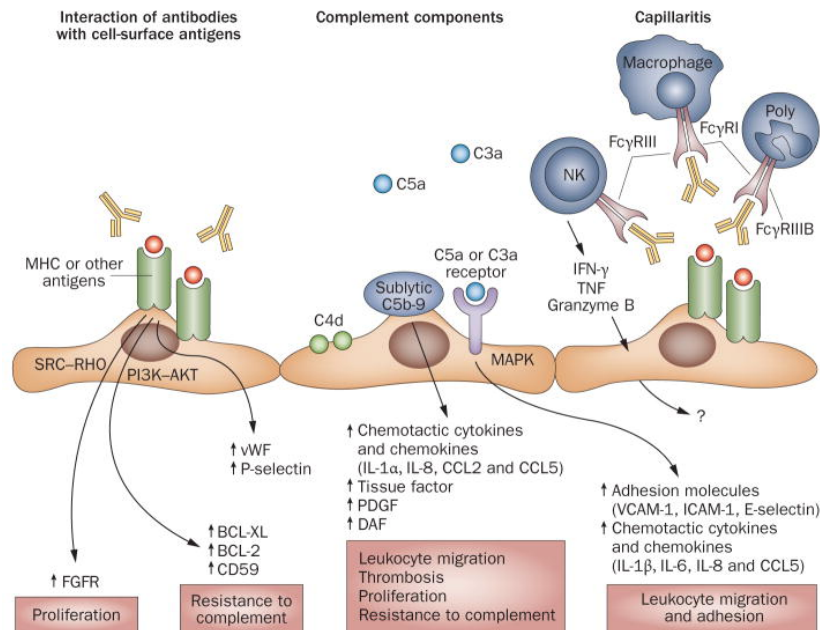


Figure 5 : Mécanismes physiopathologiques des lésions endothéliales médiées par les DSA²²

Donor Specific Antibodies

Bien qu'il existe à la phase précoce de la réponse alloimmune des DSA IgM, seuls les DSA IgG persistent dans le temps et sont identifiés en Luminex. Une IgG est constituée de 4 chaînes : 2 chaînes lourdes H (Heavy chains) type IgG et deux chaînes légères L (light chains) (figure 6). Les chaînes légères peuvent être lambda ou kappa. Ces chaînes sont reliées par des ponts disulfures. Chacune de ces 4 chaînes est constituée d'une partie constante dont la séquence d'acides aminés est commune à tous les anticorps et d'une partie variable dont la séquence d'acides aminés est spécifique à l'anticorps.

Les parties terminales constantes des deux chaînes H constituent le fragment Fc (Fragment crystallizable region). Les parties terminales variables des 4 chaînes constituent le fragment Fab (Fragment antigen-binding).

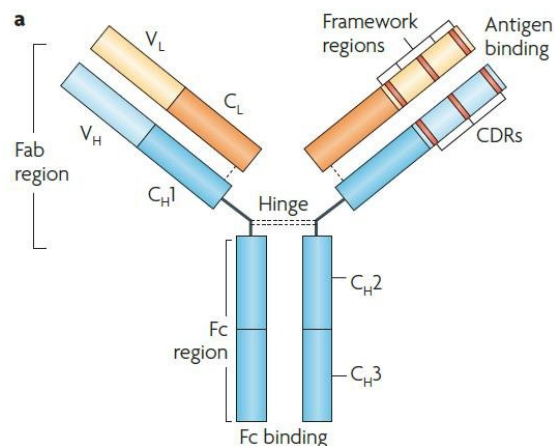


Figure 6 : Représentation schématique de la structure générale d'une Ig, Hansel 2010

Ce fragment Fab comprend le paratope c'est-à-dire la région de l'anticorps qui va se lier spécifiquement à l'antigène. Ce dernier est composé de trois CDR (Complementarity Determining Regions). Le CDR 3 situé sur la chaîne lourde, CDR-H3, est responsable de la reconnaissance la plus spécifique et la plus énergétique. Les autres CDR sont stabilisateurs de la liaison anticorps - antigène. Appliqué à la transplantation d'organe, le Fab des DSA va reconnaître l'antigène du donneur c'est-à-dire la molécule HLA de classe I ou II différent du receveur.

Historiquement, les techniques de détection et d'identification des DSA reposaient sur des réactions de cytotoxicité dépendante du complément. Par la suite, des techniques en phase solide ont été développées telles que les technique ELISA puis de fluorométrie en flux avec des microbilles fluorescentes (Luminex). Ces dernières ont permis de pallier au manque de sensibilité et de spécificité. A Tours, le Luminex (fournisseur One Lambda) est utilisé depuis 2007. Ces techniques très sensibles sont aujourd'hui utilisées par tous les centres de transplantation.

Actuellement, la Haute Autorité de Santé, comme la Société Francophone de Transplantation, qui s'est réunie avec la Société Française d'Histocompatibilité en 2019, recommande qu'à partir du 3ème mois post-transplantation rénale, le suivi des anticorps anti-HLA soit annuel et également en cas de rejet, de diminution de l'immunosuppression ou d'évènement immunisant (transfusion sanguine par exemple).

Épitope et charge épitopique

Un épitope, également appelé déterminant antigénique, est une séquence courte d'acides aminés. L'épitope structurel est la part de l'antigène qui entre en contact avec les 6 régions du CDR du Fab de l'immunoglobuline. L'épitope fonctionnel est la part de l'antigène qui entre en contact avec la région CDR-H3. Cela est illustré dans la figure 7.

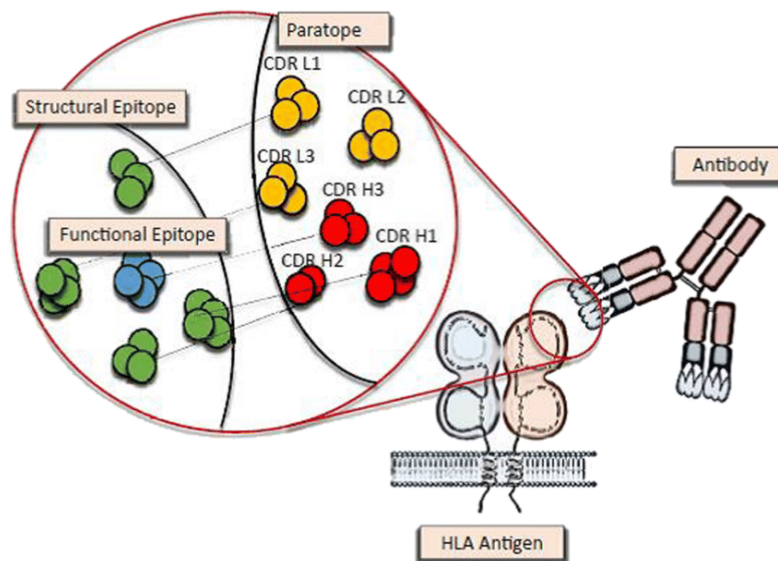


Figure 7 : Schéma de l'interface épitope et paratope²³

Les épitopes ont 2 principales caractéristiques. La première étant l'antigénicité c'est-à-dire la capacité d'être reconnu par un anticorps. La deuxième étant l'immunogénicité c'est-à-dire de pouvoir induire la synthèse d'anticorps²⁴. Ils peuvent être spécifiques d'un antigène d'un même locus HLA ou alors exprimés par plusieurs antigènes provenant de locus HLA différents. Une immunisation contre un épitope partagé se traduit par la présence de DSA capables de reconnaître plusieurs molécules HLA différentes.²⁵ En pratique, un seul anticorps peut se traduire par un rendu biologique de plusieurs DSA. Cela explique à l'échelle moléculaire les réactions croisées (Cross REactivity Group). La figure 8 schématise ce principe où un lymphocyte B reconnaît l'antigène HLA B57, il se différencie en plasmocyte capable de produire des anticorps reconnaissant l'antigène HLA B57 mais il existe également une réaction croisée avec une reconnaissance des antigènes HLA A2, HLA A23 et HLA B58. La séquence épitopique présente sur l'antigène HLA B57 est également partagée par ces autres antigènes.

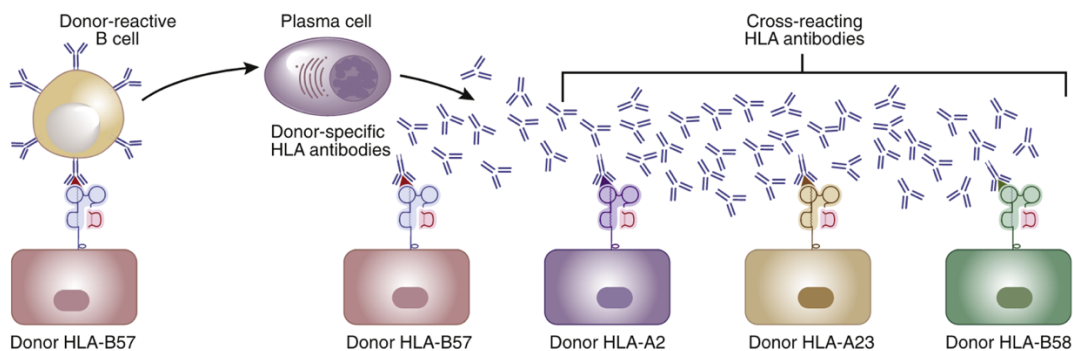


Figure 8 : Réactivité croisée des anticorps anti-HLA humains²⁶

Pour déterminer les épitopes présents chez un individu, il faut au préalable avoir réalisé un typage HLA 4 digits haute résolution grâce la technique du séquençage nouvelle génération (NGS).

En 2002, Duquesnoy a établi un logiciel d'analyse bio-informatique nommé HLA Match Maker. Ce dernier se base sur deux concepts clefs : chaque antigène est porteur de plusieurs épitopes potentiellement immunogènes et il est impossible de développer des anticorps contre des épitopes exprimés par ses propres molécules HLA ²⁷. Ce logiciel permet d'analyser le degré de compatibilité donneur receveur en analysant les acides aminés. L'ensemble des incompatibilités entre le donneur et le receveur constitue la charge épitopique. Plus cette dernière est élevée, plus il existe d'incompatibilités ou de mismatches. Par la suite des banques de données internationales ont été développées par des sociétés académiques pour enrichir le répertoire des épitopes et les vérifier à l'aide d'anticorps. L'un d'entre eux est le registre international HLA Epitope Registry (www.epregistry.com) qui est mis à jour régulièrement. C'est à ce jour, la base la plus complète.

Problématique du travail de thèse

Le typage NGS des donneurs et des receveurs a été mis en place au laboratoire d'histocompatibilité de Tours (Établissement Français du Sang) en 2018. Ainsi, nous avons souhaité déterminer la faisabilité de calculer le matching épitopique dans notre centre et son intérêt éventuel pour évaluer le risque d'apparition de dnDSA.

Matériels et Méthodes

Population

Notre étude a inclus tous les patients transplantés et suivis au CHU de Tours entre le 1^{er} janvier 2013 et le 12 avril 2023. Les critères d'exclusion étaient la présence de DSA pré greffe et l'absence de reprise de fonction du greffon. Au total, 1046 patients ont été étudiés.

Ces 1046 patients représentent la cohorte 1 pour laquelle nous nous sommes intéressés à l'immunisation au cours du suivi ainsi qu'aux paramètres associés à cette immunisation. Au sein de cette cohorte, nous avons étudié l'impact du matching épitopique sur la survenue d'une immunisation de novo. Ainsi, nous avons étudié les patients pour qui la charge épitopique donneur/receveur était disponible. Au total, ces patients composent la cohorte 2 et étaient au nom de 345. Le flow chart est présenté sur la figure 9.

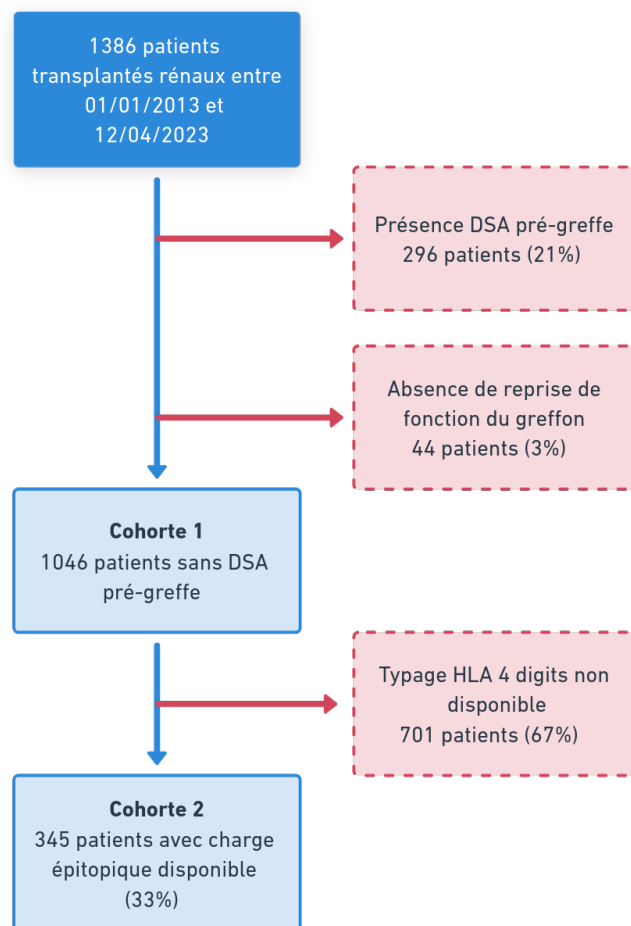


Figure 9 : Flow-chart de l'étude

Collection des données

Les données ont été collectées de manière rétrospective à partir des bases de données du service de transplantation rénale du CHU de Tours et des dossiers des patients. Les données utilisées pour ce travail concernent les données socio-démographiques du receveur et du donneur, le type de greffe, les typages HLA donneur et receveur, les analyses Luminex d'identification des DSA, les traitements immunosuppresseurs d'induction et d'entretien. Il a été nécessaire, pour obtenir une base unique, de fusionner les bases ainsi que d'apparier les donneurs décédés et receveurs via le NATT et le numéro Cristal.

Typage HLA

Le typage HLA pour chaque donneur et receveur a été réalisé par séquençage de nouvelle génération (NGS) permettant la détermination des antigènes HLA-A, B, C, DRB1, DRB2, DQA1, DQB1, DPA1 et DPB1 en haute résolution (4 digits).

Détermination DSA

La méthode de détection des DSA a été réalisée grâce au Luminex (OneLambda). Elle est réalisée de façon systématique chez les patients sans DSA pré-transplantation à 1, 3, 6 et 12 mois suivant la transplantation, puis une fois par an. Un dépistage en classe 1 en classe 2 avec des billes présentant plusieurs molécules HLA à leur surface est utilisé en première intention, avant éventuellement de réaliser un test Single Antigen avec des billes ne présentant qu'une molécule HLA. Les résultats des identifications sont exprimés en Mean fluorescence intensity (MFI). Le seuil de positivité du centre est 500. Cependant la majorité des équipes utilisent aujourd'hui le seuil de 1000, l'agence de biomédecine allant jusqu'à ne considérer que les DSA de MFI > 2000 pour l'attribution des greffons.

Pour cette étude, une relecture des conclusions des recherches de DSA a été faite pour pouvoir discriminer les immunisations qualifiées de « certaines » au sein de toutes les immunisations renseignées désignées par le terme « immunisation totale ». Nous avons déterminé les immunisations certaines comme celles avec un dnDSA ayant une MFI

d'emblée supérieure à 1000 ou avec un dnDSA détectés initialement une MFI inférieure à 1000 mais ensuite confirmée au cours du suivi par une MFI devenant supérieure à 1000.

Missmatch épitopique

Le calcul du mismatch épitopique a été réalisé en utilisant la base de données internationales HLA Eplet Registry (version IPD-IMGT/HLA 3.54), par le laboratoire d'histocompatibilité de Tours. Cette méthode a été privilégiée après une analyse comparée des résultats obtenus avec la solution de calcul des épitopes fournie par One Lambda et HLA Matchmaker dont la dernière mise à jour date de 2020. Pour cette étude nous avons présenté les résultats en utilisant les épitopes vérifiés et non vérifiés. Pour qu'un épitope soit considéré comme « vérifié », il doit avoir été étudié en laboratoire, où sa reconnaissance par des anticorps a été démontrée de manière reproductible et fiable.

Analyses statistiques

Les données quantitatives et qualitatives sont exprimées respectivement par leur médiane [interquartile] et leur proportion. Les statistiques descriptives pour les données quantitatives ont été faites le test de Mann Whitney. Les données qualitatives ont été comparées en utilisant le test du Chi-2 ou le test de Fischer pour les faibles effectifs.

La détermination des facteurs de risque de dnDSA s'est effectuée dans un premier temps par une régression de Cox analysant en univarié des facteurs classiques de dnDSA, ainsi que différentes caractéristiques de la transplantation et des données d'immunosuppression. L'association entre l'immunisation de novo et les paramètres pour lesquels la p-value était $< 0,1$ a ensuite été analysée dans un modèle multivarié

Pour déterminer la fréquence de l'immunisation de l'apparition des DSA dans les deux cohortes, nous avons généré des courbes d'incidence cumulées. Le suivi était censuré à la date de la dernière recherche d'anticorps anti-HLA. Des comparaisons de différents groupes pour le risque dnDSA, de dnDSA de classe I et de dnDSA de classe II ont été faites en utilisant le test de Gray. Les groupes étaient déterminés par le nombre de mismatches ou les quartiles de la charge épitopique. De plus, nous avons déterminé les

des seuils de charge épitopique associés au risque de DSA de novo en générant des courbes ROC. L'incidence cumulée des dnDSA était ensuite comparée sur la base de ces seuils.

Les analyses statistiques ont été réalisées avec XL-STAT (Lumivero). Une p-value < 0,05 était considérée comme significative.

Résultats

Caractéristiques des cohortes

Les caractéristiques des patients de la cohorte 1 et 2 sont renseignées dans la Table 1.

Les patients de la cohorte 1 avaient un âge médian de 59 ans [48-69], étaient majoritairement des hommes (66,5%) et pour 32,7% avait été transplantés pour une néphropathie d'étiologie indéterminée. Les patients étaient dialysés en pré-greffe dans 84,2% des cas. Il faut souligner que seulement 10,6% des transplantations ont été réalisées avec des donneurs vivants, et 4,9% avec une incompatibilité ABO. L'ensemble de ces caractéristiques étaient retrouvées aussi dans la cohorte 2.

En revanche, dans la cohorte 2, nous retrouvions de manière significativement différente plus de patients ayant bénéficiés d'une première transplantation (93% contre 89%). Le protocole d'immunosuppression était différent entre les deux cohortes avec une utilisation plus fréquente de la Thymoglobuline et l'utilisation un peu plus fréquente d'une association tacrolimus-évérolimus dans la cohorte 1 (respectivement 25,6 contre 17,4% et 5,5% contre 2,3%).

La période de suivi pour la cohorte 1 était de 5,6 ans [3,4-7,9] contre 3,4 ans [2,2-4,7] dans la cohorte 2 ($p < 0,001$).

	Cohorte 1 (n = 1046)	Cohorte 2 (n = 345)	p
Age receveur (années)	59 [48-69]	59 [47-70]	0,345
Sexe masculin (%)	696 (66,5)	229 (66,4)	0,956
Caucasien (%)	844 (80,7)	282 (63)	0,666
Néphropathie initiale (%)			
Diabète	139 (13,3)	40 (11,6)	0,314
Vasculaire	69 (6,6)	29 (8,4)	
Glomérulonéphrite	254 (24,3)	97 (28,1)	
Polykystose	145 (13,9)	37 (10,7)	
NTI/Urologique	97 (9,3)	36 (10,4)	
Indéterminée ou autres	342 (32,7)	106 (30,7)	
Dialyse pré-greffe (%)	881 (84,2)	285 (82,6)	0,479
Première transplantation (%)	933 (89,2)	321 (93,0)	0,038
TGI > 0 (%)	337 (32,2)	123 (35,7)	0,240
Donneur vivant (%)	111 (10,6)	40 (11,6)	0,683
ABO incompatible (%)	51 (4,9)	20 (5,8)	0,500
Age donneur (ans)	59 [47-71]	59 [47-70]	0,709
Thymoglobuline (%)	267 (25,6)	60 (17,4)	0,002
Immunosuppression initiale (%)			
Tac-MMF	966 (92,4)	332 (96,2)	0,008
CsA-MMF	20 (1,9)	3 (0,9)	
Tac-mTOR	57 (5,5)	8 (2,3)	
Autre	3 (0,3)	3 (1,2)	
Dialyse dans les 7 jours après greffe (%)	179 (17,1)	48 (13,9)	0,163
Suivi (années)	5,6 [IQ 3,4-7,9]	3,4 [IQ 2,2-4,7]	< 0,001

Table 1 : Caractéristiques démographiques des patients, type de transplantation et traitement immunosuppresseur.

Données qualitatives exprimés en n (%) et quantitatives en médiane [IQR].

CsA : Ciclosporine, MMF : Mycophénolate Mofétil, mTOR : mammalian Target Of Rapamycin, NTI : Néphropathie tubulo-interstitielle, Tac : Tacrolimus, TGI : Taux Greffon Incompatible

Apparition de DSA de novo dans les cohortes

Tout d'abord nous avons évalué le taux d'immunisation au sein des cohortes.

132 patients présentaient des dnDSA dans la première année de transplantation dans la cohorte 1, faisant estimer l'incidence cumulée à 1 an à 12,7% [10,8-14,9]. A 5 ans, cette immunisation atteignait 23,6% [20,9-26,7] avec 247 patients immunisés. A 10 ans, des dnDSA avaient été identifiés chez 289 patients correspondant à une incidence cumulée de 27,7% [24,4-31,4]. La majorité des dnDSA étaient de classe II (171/289 soit 59,1%) avec dans le détail discrètement plus de dnDSA anti DR (79/171 soit 46%) et anti DQ (78/171 soit 45%) que de dnDSA anti DP (66/171 soit 38%).

Concernant l'immunisation certaine, les taux d'incidence cumulée à 1 an (63 patients), 5 ans (174 patients) et 10 ans (237 patients) étaient respectivement de 6,0% [4,7-7,7], 16,7% [14,3-19,4] et 22,7% [19,4-26,6]. Les dnDSA de classe II représentaient 49,7% des dnDSA et étaient représentés majoritairement par des dnDSA anti DQ (67/188 soit 56,7% des dnDSA de classe II).

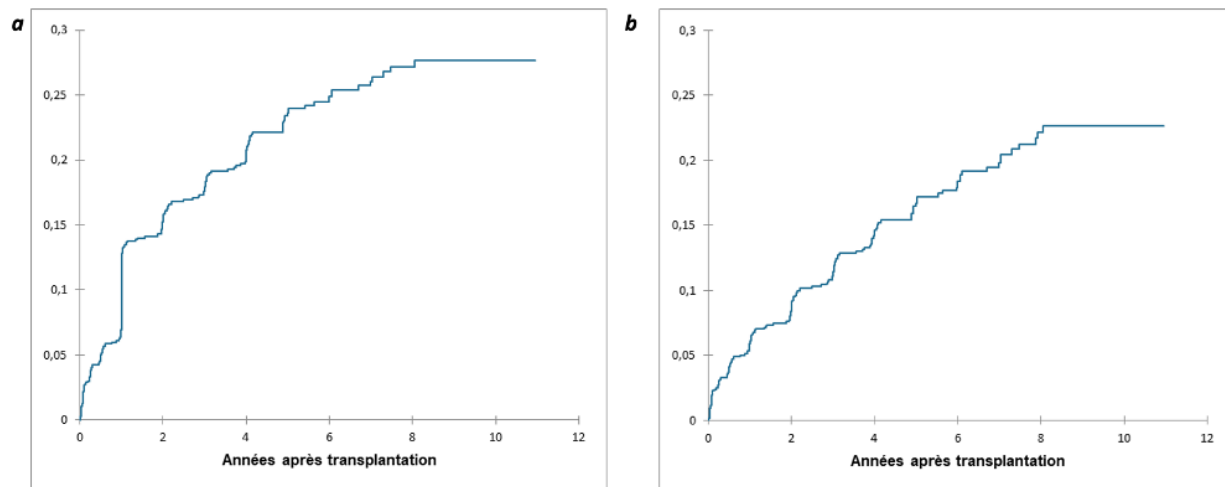


Figure 10 : Immunisation de la cohorte 1 : apparition DSA de novo au cours du suivi (a) toute immunisation, (b) immunisation certaine. Incidence cumulée (%).

Concernant l'apparition de dnDSA au sein de la cohorte 2, le taux d'incidence cumulée était plus important. A 1 an, nous retrouvons 60 patients immunisés soit 17,4% [13,8-22,1], à 5 ans 100 patients soit 28,9% [22,4-37,4] et à 10 ans 179 patients soit 51,8% [36,7-73,2]. Pour les immunisations certaines, à 1 an l'incidence était de 31 patients soit 9,0% [6,4-12,6], à 5 ans de 75 patients soit 21,8% [15,7-30,4] et à 10 ans de 125 patients soit 36,3% [24,4-54,1].

Nous expliquons cette différence d'immunisation avec la cohorte 1 par le fait que la cohorte 2 est composée en parti de patients pour qui le typage a été réalisé de manière rétrospective en présence d'anticorps anti-HLA, afin de vérifier s'il s'agissait de dnDSA. Cela correspond à des patients transplantés avant 2018, lorsque le typage NGS n'était pas réalisé en routine. De cette façon, notre cohorte 2 a été enrichie de patients immunisés. Nous avons confirmé cette explication en retrouvant une incidence d'immunisation identique entre les patients de la cohorte 2 transplantés après 2018 et ceux de la cohorte 1 (résultats non montrés).

Association entre ABMR et survie greffon

Au cours du suivi de la cohorte 1, 54 patients ont présenté un ou plusieurs épisodes de rejet humoral ou AntiBody Mediated Rejection (ABMR). En analyse univariée, les patients avec un ABMR avaient une moins bonne survie rénale comme montré dans la figure 11.

Par la suite, nous avons évalué le risque d'ABMR selon l'intensité de l'immunisation déterminée par la MFI du DSA grâce à des courbes de survie Kaplan-Meier (Figure 12). Il apparaît de manière significative ($p < 0,001$) une association entre ABMR et présence de DSA avec une MFI > 1000 (« immunisation certaine »), alors que les DSA correspondant à de faibles immunisations ponctuelles ne sont pas associées à l'ABMR.

Par conséquent, seule l'immunisation certaine a été retenue comme critère de jugement pour la suite de notre étude.

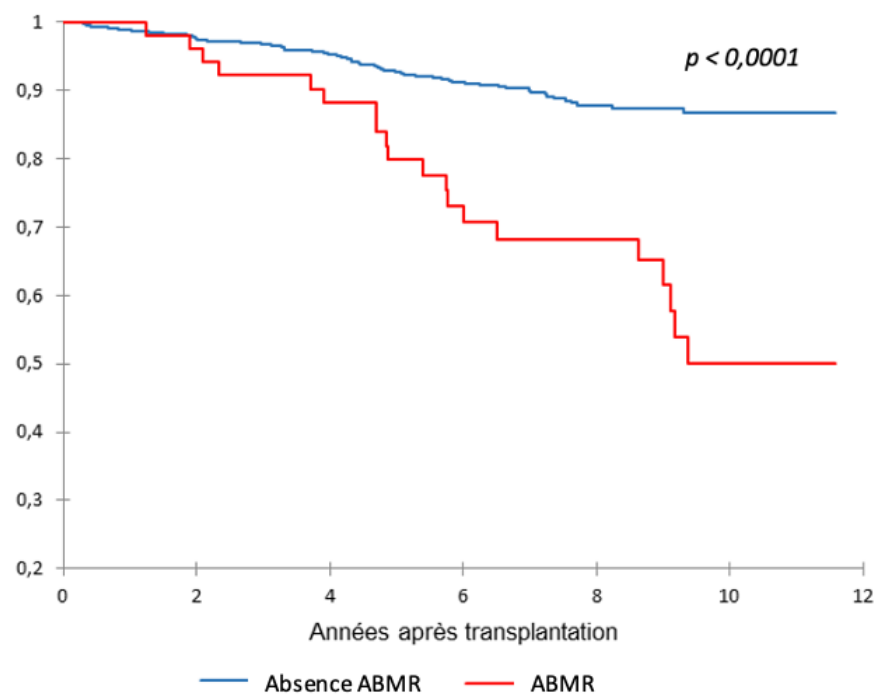


Figure 11 : Survie du greffon selon la présence d'ABMR au cours du temps

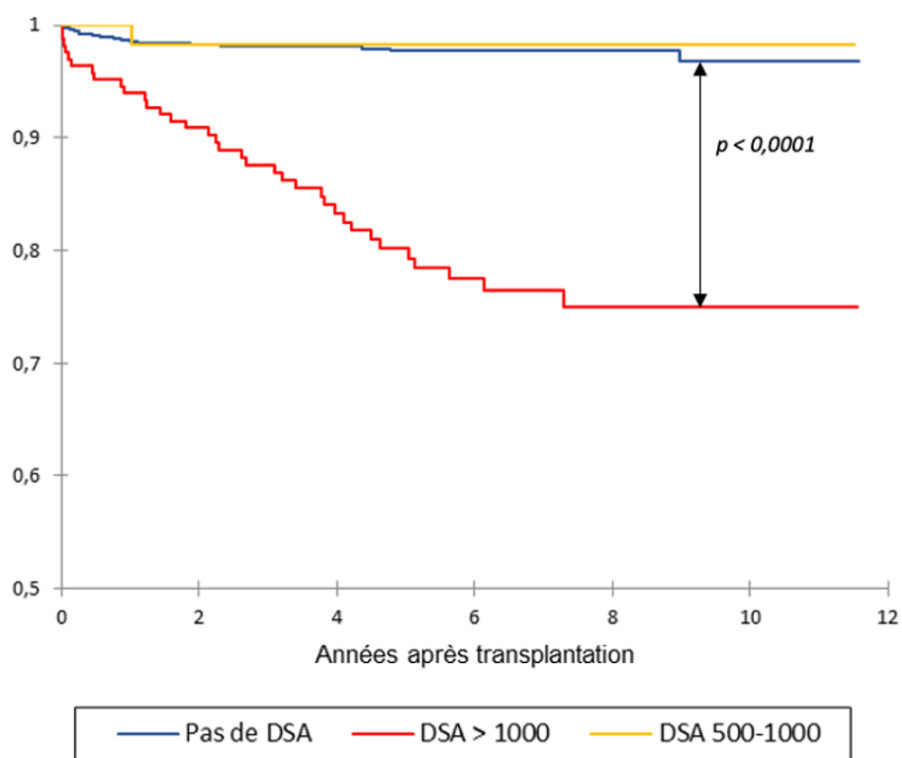


Figure 12 : Risque de rejet humoral (ABMR) en fonction de la profondeur de l'immunisation

Facteurs de risque associés à l'apparition de dnDSA

En considérant les paramètres classiques associés à une immunisation de novo utilisés dans la littérature, nous les avons étudiés dans notre population. Les résultats sont renseignés sur le Tableau 2.

En analyse univariée, les facteurs associés à une augmentation du risque de dnDSA étaient l'âge jeune du receveur (HR 1,01, $p = 0,009$), l'origine non caucasienne (HR 1,52, $p = 0,019$) et le donneur décédé (HR 2,70, $p = 0,006$).

Après ajustement, les seuls facteurs associés à une augmentation du risque de dnDSA étaient l'âge jeune du receveur (HR = 1,01, $p=0,002$) ainsi que la greffe de donneur décédé (HR = 2,70, $p=0,009$). Il est important de souligner que le mismatch (MM) antigénique en classe I et II n'étaient pas associé au risque de développement de dnDSA.

Variable	Analyse univariée				Analyse multivariée			
	HR	IC (5-95%)		p	HR	IC (5-95%)		p
Age receveur	0,988	NC	0,997	0,009	0,985	NC	0,995	0,002
Caucasien	0,659	NC	0,933	0,019	0,743	0,523	1,056	0,097
Sexe masculin	0,954	0,691	1,316	0,773	.	.	.	.
Donneur vivant	0,370	NC	0,753	0,006	0,370	NC	0,777	0,009
SAL	1,316	0,947	1,828	0,102	1,233	0,883	1,720	0,218
Tac-MMF	0,676	0,277	1,649	0,390	.	.	.	.
DGF	1,062	0,707	1,595	0,772	.	.	.	.
MM-AB	1,158	0,990	1,355	0,067	1,078	0,908	1,280	0,389
MM-DRDQ	1,065	0,936	1,211	0,340	1,073	0,939	1,226	0,303

Tableau 2 : Paramètres associés à l'immunisation de novo dans la cohorte 1

DGF Delay graft function, HR Hazard ration, IC intervalle de confiance, MM-AB Mismatch antigénique A et B, MM-DRDQ Mismatch antigénique DRDQ, MMF Mycophénolate mofétil, SAL Sérum anti-lymphocytaire, Tac Tacrolimus.

Incidence d'apparition des dnDSA en classe I et II en fonction du mismatch antigénique

Nous avons par la suite étudié, au sein des 2 cohortes, l'incidence des dnDSA selon leur classe et le nombre de mismatch antigénique en fonction du temps. Les résultats sont renseignés dans les Figure 13 (cohorte 1) et 14 (cohorte 2).

Concernant la cohorte 1, la figure 13.1 fait référence à l'immunisation en classe I. Sur les 111 patients de la cohorte 1 ayant 0 ou 1 mismatch AB, aucun d'entre eux ne développaient de DSA classe I pendant la durée du suivi. Sur les 219 patients ayant 2

MM AB, 14 patients soit 6,4% développaient des DSA classe I. Sur les 423 patients ayant 3 MM AB, 32 patients soit 7,6% développaient des DSA classe I. Sur les 293 patients ayant 4 MM AB, 24 patients soit 8,2% développaient des DSA classe I.

La figure 13.2 fait référence à l'immunisation en classe II. Sur les 165 patients sans mismatch DQDR, 12 d'entre eux soit 7,3% développaient des DSA classe II. Sur 183 patients présentant 1 MM DQDR, 17 soit 9,3% développaient des DSA de classe II. Sur 390 patients présentant 2 MM DQDR, 45 soit 11,5% développaient des DSA de classe II. Sur 199 patients présentant 3 MM DQDR, 31 soit 15,6 % développaient des DSA de classe II. Enfin, sur 110 patients présentant 4 MM DQDR, 13 soit 11,8% développaient des DSA de classe II.

Ainsi, dans la cohorte 1, il est observé en classe I une augmentation graduelle de l'incidence d'immunisation en fonction du nombre de mismatches antigéniques allant de 0 pour les mismatch de 0 et 1 à 8,19% pour le mismatch de 4. Cette augmentation est significative au sein des immunisations avec un seuil de 2 mismatches antigéniques. En revanche, pour la classe II, aucun accroissement similaire n'est observé. Le mismatch antigénique en classe II n'apparaît pas comme un élément discriminatoire.

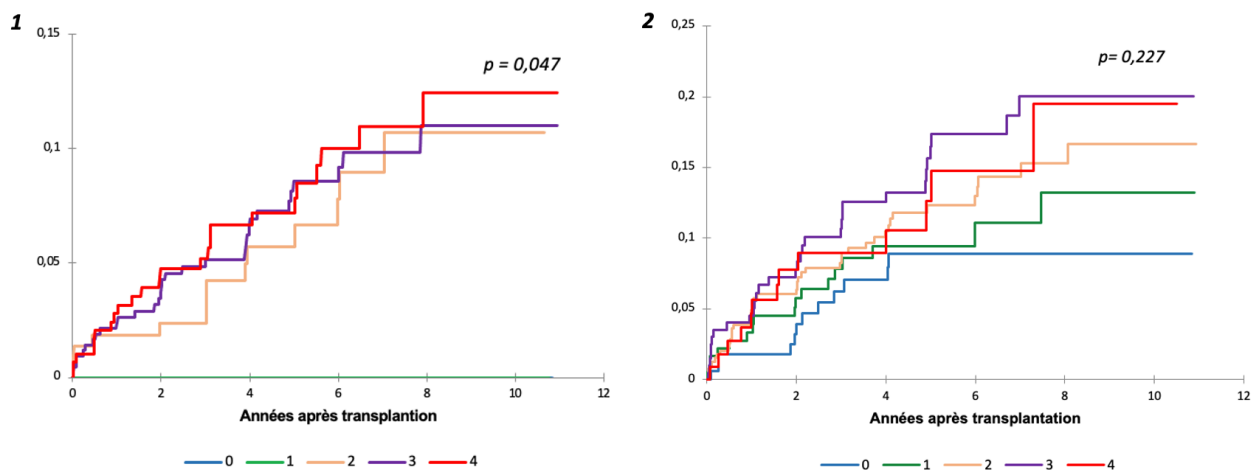


Figure 13 : Cohorte 1 - dnDSA classe I (1) et classe II (2) selon le nombre de mismatch antigénique. Mismatch classe I : MM AB, Mismatch classe II : MM DQDR

Concernant la cohorte 2, de la même façon, nous avons étudié le taux d'immunisation selon le mismatch antigénique en fonction du temps.

La figure 14.1 fait référence à l'immunisation de novo en classe I. Pour les patients présentant 0, 1 ou 2 mismatch antigénique, ils ne développaient pas de DSA de classe I. Sur les 132 patients présentant 3 mismatch antigéniques, 13 (9,85%) développaient des DSA. Sur les 110 patients présentant 4 mismatch antigéniques, 8 (7,27%) développaient des DSA. Les résultats ne sont statistiquement pas différents cependant ils permettent d'isoler en classe I 2 groupes dont le risque de dnDSA diffère : ceux avec 0, 1 et 2 mismatches et ceux avec 3 et 4 mismatches.

La figure 14.2 fait référence aux patients qui ont développé des DSA classe II au cours du temps selon le nombre de mismatch antigénique DQDR. C'était le cas pour 2/48 des patients (4,2%) ayant 0 mismatch, 3/58 (5,2%) des patients présentant 1 MM, 22/140 (15,7%) des patients présentant 2 MM, 11/54 (20,4%) des patients présentant 3 MM, et 5/45 des patients (11,1%) présentant 4 MM.

Ainsi, dans la cohorte 2, nous ne retrouvons pas un profil d'immunisation graduellement croissante en fonction du temps comme observé dans la cohorte 1. En classe II, les résultats observés au sein de la cohorte 2 sont superposables à ceux de la cohorte 1, bien que les résultats soient statistiquement significatifs, l'effet graduellement croissant dans le temps n'est pas retrouvé.

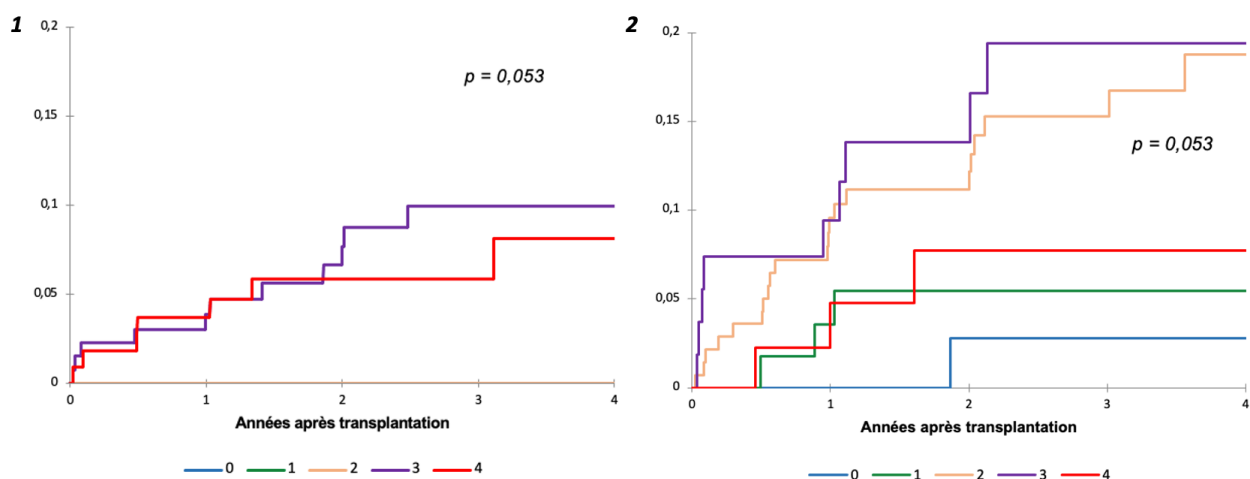


Figure 14 : Cohorte 2 - dnDSA classe I (1) et classe II (2) selon le nombre de mismatch antigénique. Mismatch classe I : MM AB, Mismatch classe II : MM DQDR

Comparaison mismatch antigénique et épitopique

La figure 20 illustre la relation entre le mésappariement à l'échelle épitopique en et le nombre de mismatches antigéniques. Si le nombre d'épitopes différents augmente avec le nombre de mismatches antigéniques, ce graphique montre que pour une même valeur de charge épitopique, le nombre de mismatches antigéniques peut être très variable. Par exemple, un patient présentant une charge épitopique vérifiée en classe II de 7, peut être classé dans les groupes avec 0 mismatch, 1 mismatch, 2 mismatches ou 3 mismatches.

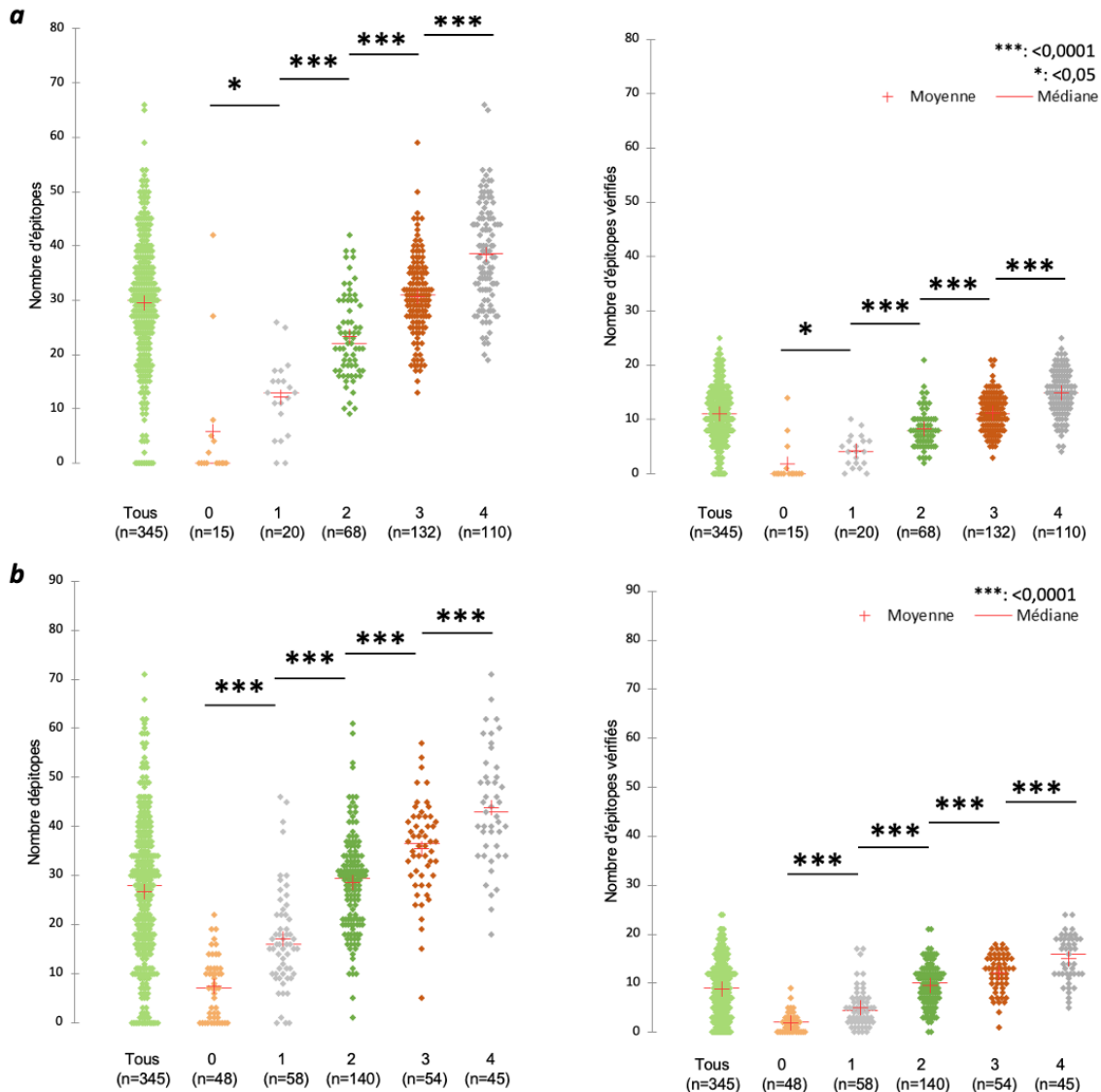


Figure 15 : Distribution du nombre d'épitopes de classe I en fonction du nombre de mismatch antigénique HLA-AB (a) et du nombre d'épitopes de classe II en fonction du nombre de mismatch antigénique HLA-DRDQ (b)

Incidence d'apparition des dnDSA en classe I et II en fonction du mismatch épitopique

Les mismatches épitopiques en classe I et II

La distribution du nombre de mismatches épitopiques en classe I et II sont présentés sur la figure 16. Nous avons étudié l'ensemble des épitopes puis nous avons isolé les épitopes vérifiés. Pour la suite de notre travail, nous n'avons considéré que les épitopes globaux et vérifiés. En effet, les épitopes non vérifiés ont des propriétés physico-chimiques ou une localisation qui ne les rendent pas accessibles aux anticorps.

En classe I, la médiane du nombre de mismatches épitopiques dans les épitopes globaux était de 30 [IQR 22-38]. La médiane du nombre de mismatches épitopiques dans les épitopes vérifiés était de 11 [IQR 8-15]. En classe II, la médiane du nombre de mismatches épitopiques dans les épitopes globaux était de 28 [IQR 16-37]. La médiane du nombre de mismatches épitopiques dans les épitopes vérifiés était de 9 [IQR 4-13]. Cette distribution ne suit pas une normale.

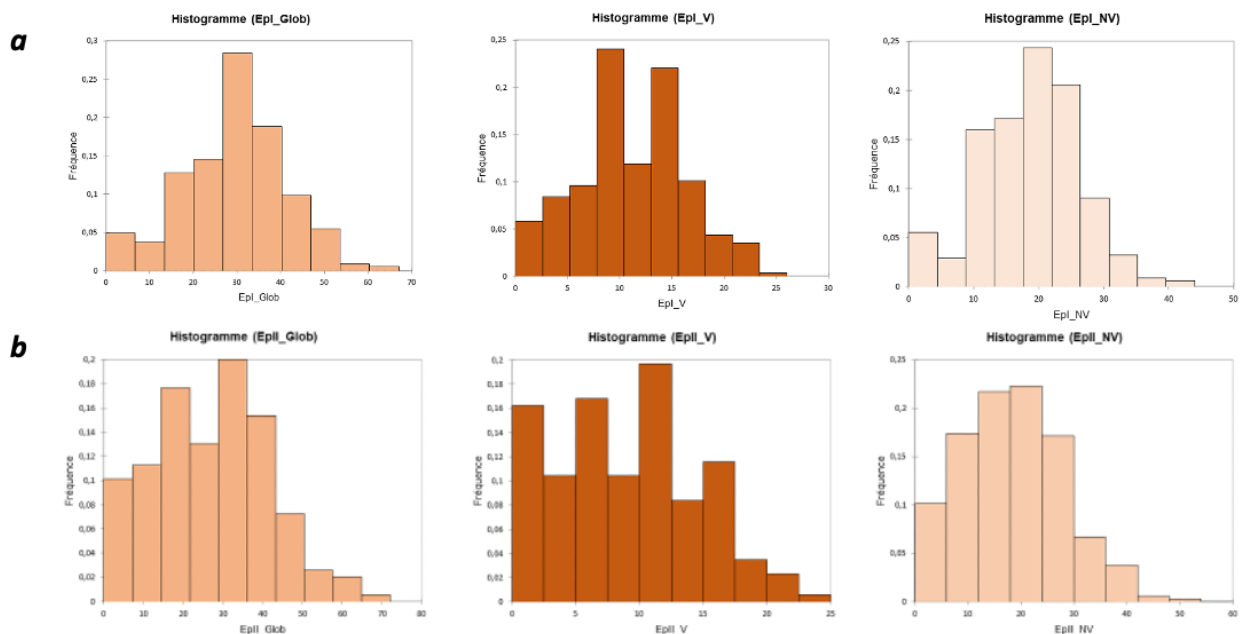


Figure 16 : Distribution des mismatch épitopiques classe I (a) et II (b) dans la cohorte 2.
Epl = épitope, Glob = global, V = vérifié, NV = non vérifié

Risque de dnDSA et charge épitopique

Dans un premier temps, nous avons séparé notre population en quatre groupes selon les quartiles du nombre de mismatches épitopiques, aussi bien en classe I qu'en classe II. Dans un second temps, nous avons réalisé des courbes ROC afin de déterminer le seuil de mismatch épitopique le plus discriminant pour le risque de dnDSA.

Analyse entre charge épitopique globale et dnDSA de classe I

L'incidence cumulée des dnDSA de classe I était significativement différente ($p = 0,007$) entre les 4 groupes ($<22 : 81$, $[22-30[: 82$, $[30-38[: 95$ et $\geq 38 : 87$) comme montré dans la figure 17.

Cela est illustré par les incidences cumulées à 1 et 3 ans qui sont répertoriées dans le tableau de la figure 17a. A 1 an, l'incidence cumulée pour le premier quartile était de 0, pour le deuxième 3,8%, pour le troisième 1,1% et pour le quatrième 5,8%. A 3 ans, l'incidence cumulée pour le premier quartile était de 0%, pour le deuxième 9,4%, pour le troisième 2,5% et pour le quatrième 11,5%.

Nous avons donc constaté que le risque n'était pas graduellement croissant puisque l'incidence cumulée de dnDSA était plus élevée dans le groupe du 2^{ème} quartile que dans le groupe du 3^{ème} quartile. Il est en revanche important de remarquer qu'aucun dnDSA de classe 1 n'est apparu pour les patients du premier quartile c'est-à-dire ceux dont la charge épitopique globale en classe I était < 22 .

La courbe ROC avec une AUC 0,690 ($p = 0,0002$) pour les épitopes globaux a permis de définir en classe I un seuil de mismatch épitopique global de 26 pour une sensibilité de 0,952, une spécificité de 0,38, une VPP de 0,09 et une VPN de 0,992. La moindre incidence de dnDSA de classe I pour les patients avec moins de 26 épitopes en classe 1 est également illustrée dans la figure 17b.

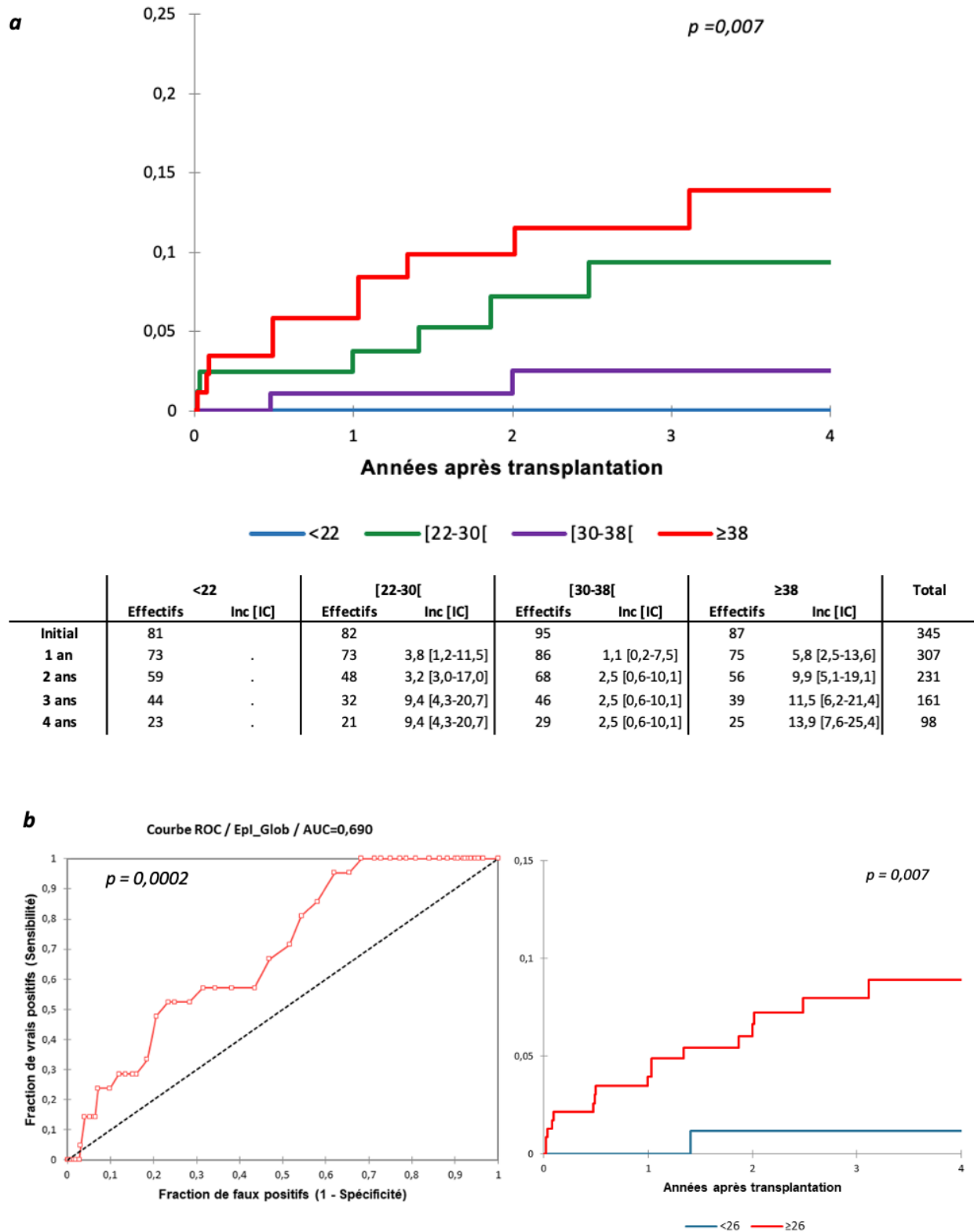


Figure 17 : DSA de novo en classe I selon mismatch épitopique global (a)
Courbe ROC (b)

Analyse entre charge épitopique vérifiée et dnDSA de classe I

L'incidence cumulée des dnDSA de classe I n'était pas significativement différente ($p = 0,122$) entre les 4 groupes ($<8 : 82$, $[8-11[: 83$, $[11-15[: 93$ et $\geq 15 : 87$) comme montré dans la figure 18.

Les incidences cumulées à 1 et 3 ans sont répertoriées dans le tableau de la figure 18a. A 1 an, l'incidence cumulée pour le premier quartile était de 0%, pour le deuxième 3,7%, pour le troisième 2,2% et pour le quatrième 4,6%. A 3 ans, l'incidence cumulée pour le premier quartile était de 1,6%, pour le deuxième 5,4%, pour le troisième 6,8% et pour le quatrième 8,7%.

Là encore, il n'existe pas de véritable d'augmentation croissante de l'immunisation au cours de la première année de suivi. Cependant cette dernière apparaît à partir de la deuxième année de suivi.

La courbe ROC avec une AUC à 0,667 ($p = 0,002$) pour les épitopes vérifiés a permis de définir un seuil de mismatch épitopique de 13 pour une sensibilité de 0,571, une spécificité de 0,691, une VPP de 0,107 et une VPN de 0,96. La moindre incidence de dn DSA de classe I pour les patients avec moins de 13 épitopes en classe 1 est également illustrée dans la figure 18b.

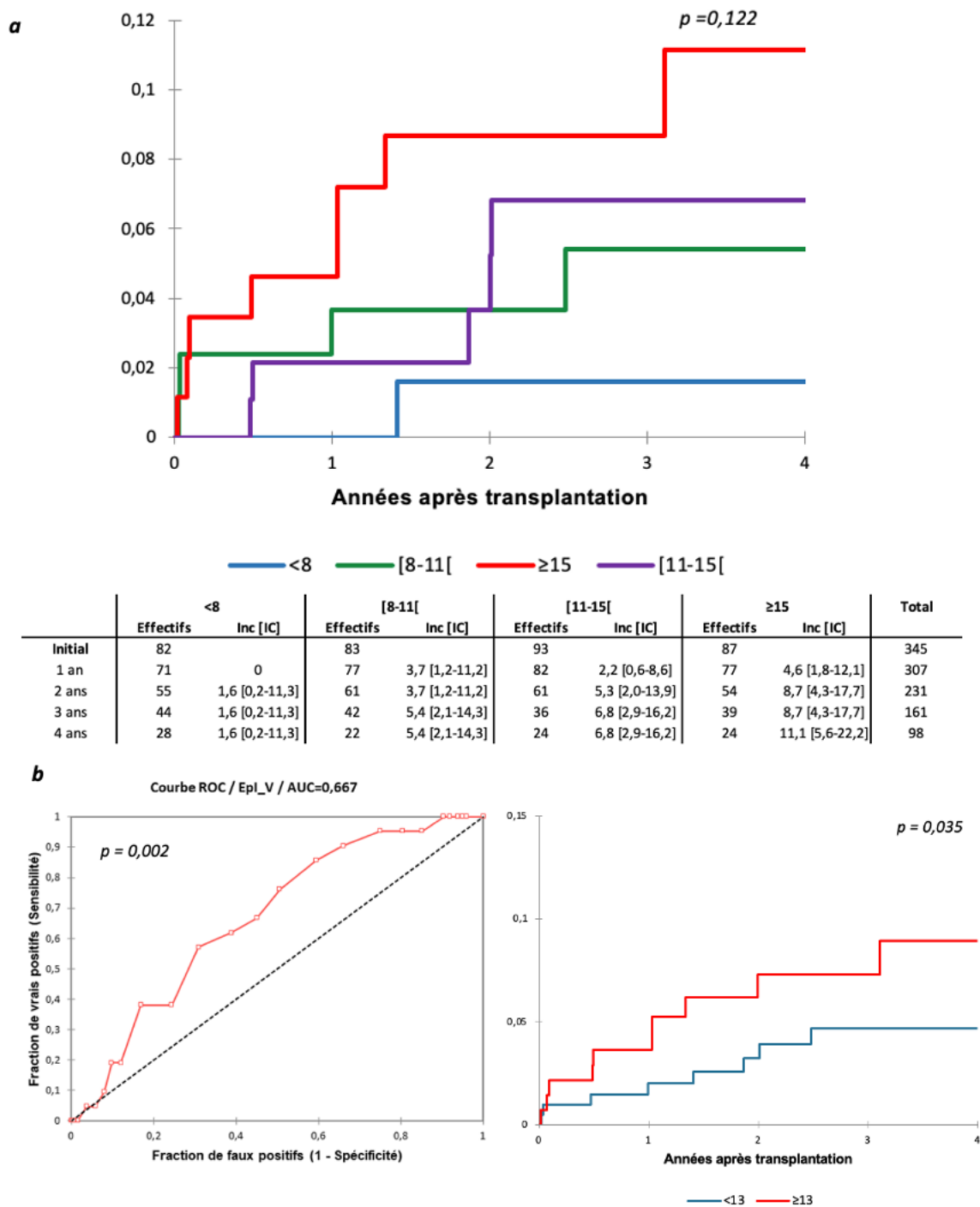


Figure 18 : DSA de novo en classe I selon mismatch épitopique vérifié (a)
Courbe ROC (b)

Analyse entre charge épitopique globale et dnDSA de classe II

L'incidence cumulée des dnDSA de classe II était significativement différente ($p = 0,006$) entre les 4 groupes ($<16 : 82$, $[16-28[: 88$, $[28-37[: 87$ et $\geq 38 : 88$) comme montré dans la figure 19.

Les incidences cumulées à 1 et 3 ans sont répertoriées dans le tableau de la figure 19a. A 1 an, l'incidence cumulée pour le premier quartile était de 1,2%, pour le deuxième 2,3%, pour le troisième 9,5% et pour le quatrième 10,6%. A 3 ans, l'incidence cumulée pour le premier quartile était de 4,1%, pour le deuxième 3,5%, pour le troisième 12,3% et pour le quatrième 20,5%.

La courbe ROC avec une AUC à 0,651 ($p = 0,0002$) pour les épitopes globaux en classe II a permis de définir un seuil de mismatch épitopique de 22 pour une sensibilité de 0,837, une spécificité de 0,444, une VPP de 0,176 et une VPN de 0,95. La moindre incidence de dn DSA de classe II pour les patients avec moins de 22 épitopes en classe 1 est également illustrée dans la figure 19b.

Ainsi, en classe II, il existe une augmentation du risque de dnDSA corrélé avec un nombre de mismatches croissants.

Analyse entre charge épitopique vérifiée et dnDSA de classe II

L'incidence cumulée des dnDSA de classe II était significativement différente ($p = 0,006$) entre les 4 groupes ($<4 : 79$, $[4-9[: 88$, $[9-13[: 87$ et $\geq 13 : 91$) comme montré dans la figure 20.

Les incidences cumulées à 1 et 3 ans sont répertoriées dans le tableau de la figure 20. A 1 an, l'incidence cumulée pour le premier quartile était de 1,3%, pour le deuxième 2,3%, pour le troisième 12,1% et pour le quatrième 10,3%. A 3 ans, l'incidence cumulée pour le premier quartile était de 4,4%, pour le deuxième 7,1%, pour le troisième 17,9% et pour le quatrième 16,2%.

La courbe ROC avec une AUC à 0,637 ($p = 0,0005$) pour les épitopes vérifiés a permis de définir un seuil de mismatches épitopiques de 7 pour une sensibilité de 0,837, une spécificité de 0,474, une VPP de 0,185 et une VPN de 0,953. La moindre incidence de dnDSA de classe II pour les patients avec moins de 7 épitopes en classe 1 est également illustrée dans la figure 20b.

Nos résultats en classe II pour les épitopes vérifiés ne permettent pas d'observer manière évidente une gradation constamment croissante du risque de dnDSA. Cependant, en observant la figure 19.a, deux groupes se distinguent entre les patients ayant un mismatch épitopique < 9 et ceux ayant un mismatch épitopique > 9 . Le seuil offrant la meilleure sensibilité et spécificité déterminé par la courbe ROC de 7 est cohérent avec ces résultats.

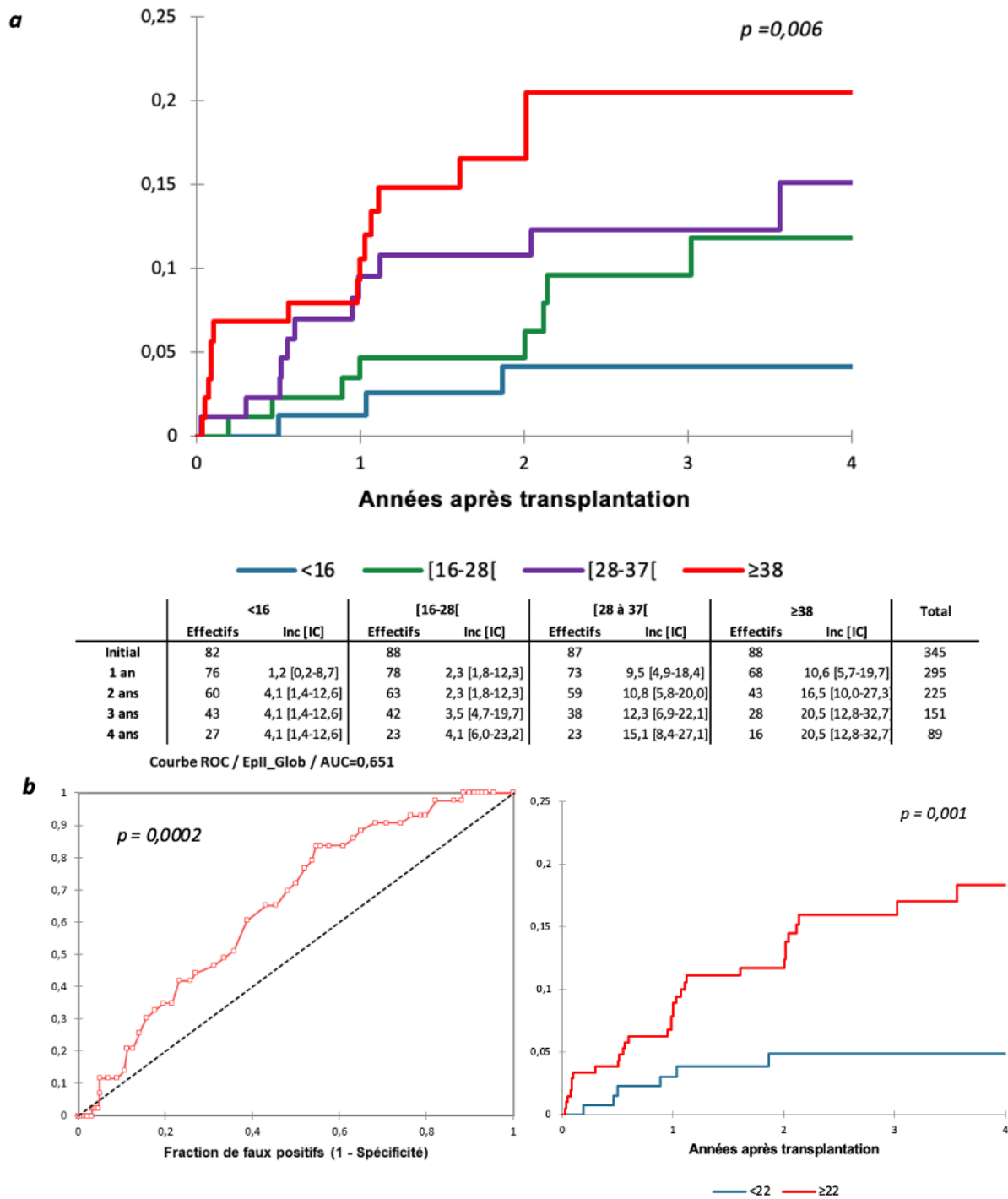


Figure 19 : DSA de novo de classe II selon mismatch épitopique global (a)
Courbe ROC (b)

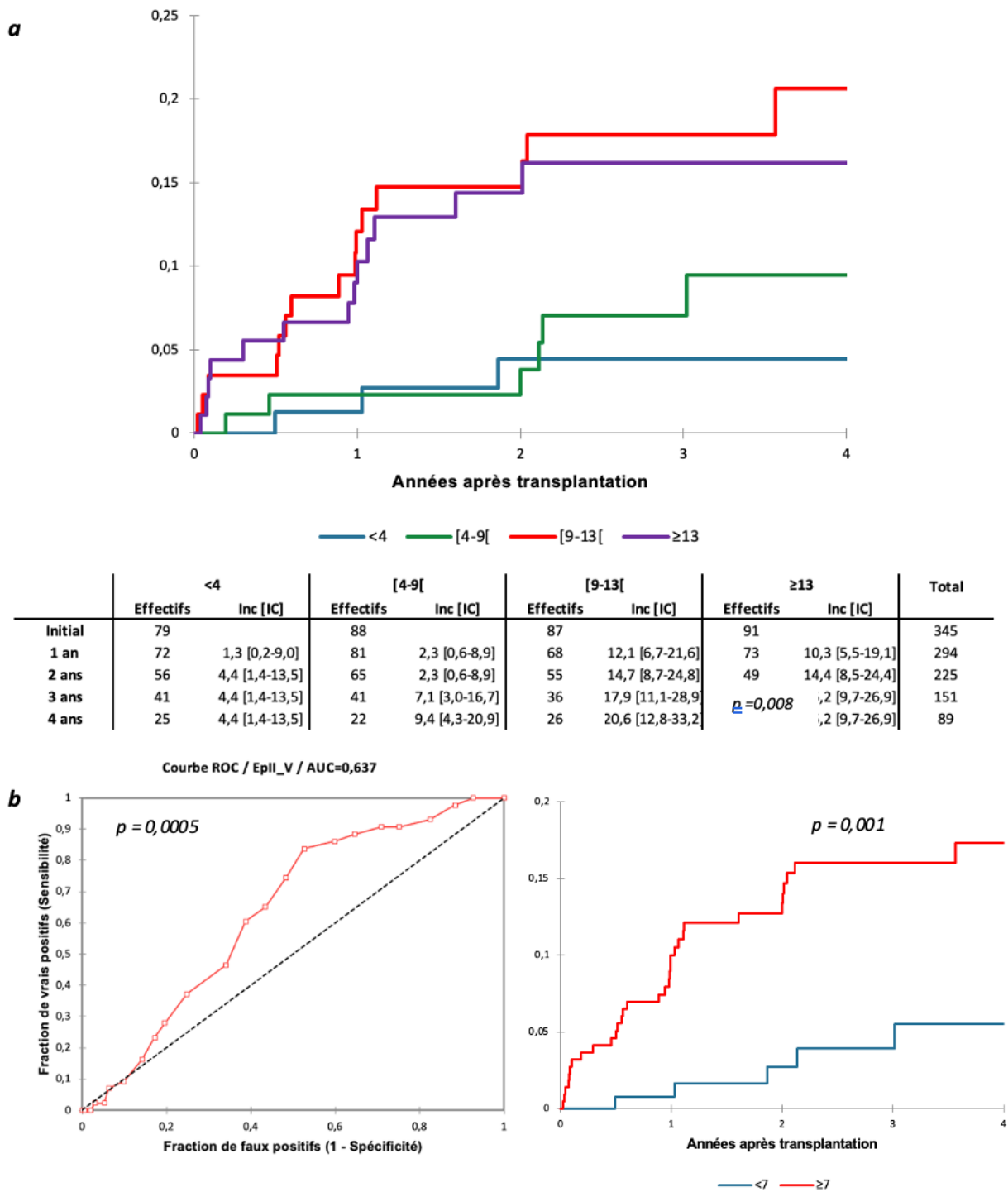


Figure 20 : DSA de novo en classe II selon mismatch épitopique vérifié (a)
Courbe ROC (b)

Discussion

Avec ce travail, nous nous sommes intéressés à l'évaluation du matching à l'échelle antigénique et épitopique et leur implication dans la survenue de dnDSA dans notre cohorte tourangelle. Le taux d'immunisation au sein de cette cohorte reste cohérent avec les données de littérature puisque nous avons mis en évidence une incidence cumulée de 16,7% pour un suivi médian de 5,6 ans. Les dnDSA de classe II de MFI > 1000 les plus fréquents étaient des dnDSA anti-DQ. Le suivi de cette cohorte a été rigoureux et régulier puisque les données ont été recueillies au minimum annuellement, conformément aux recommandations françaises.

Nous retrouvions comme facteur de risque d'immunisation l'âge du receveur, donnée déjà décrite dans la littérature. En revanche, nos résultats révèlent une association entre l'apparition de dnDSA et la greffe issue de donneur décédé, une donnée qui, à notre connaissance, n'a pas encore été démontrée jusqu'à présent.

Intérêt du matching épitopique en classe II DQ/DR

L'immunisation de novo en transplantation d'organe est plus souvent représentée par l'apparition de DSA de classe II²⁸. Tambur avait démontré que les dnDSA sont plus fréquemment des anti DQ²⁹. Un des outils pour éviter la survenue de dnDSA est d'optimiser au maximal le matching entre donneur et receveur. A l'heure actuelle ce dernier est évalué à l'échelle antigénique. Dans notre travail, nous avons mis en évidence que la survenue de dnDSA de classe II était mal estimé par le nombre de mismatches.

Notre travail a permis de mettre en évidence que l'analyse de la charge épitopique en classe II permet une identification plus précise du risque d'immunisation de *novo* que l'approche fondée sur le matching antigénique. Autrement dit, le nombre de mismatch antigénique de classe II ne reflète pas de manière suffisante la disparité antigénique entre le donneur et le receveur.

En revanche en classe I pour le mismatch épitopique global et vérifié, nous observons une stratification des patients concernant le risque de dnDSA de classe I mais celle-ci ne semble pas pour l'instant meilleure que celle obtenu par le simple compte des mismatches

antigéniques en classe I. Par ailleurs, considérer seulement les mismatches épitopiques vérifiés ne semble pas apporté un meilleur résultat.

Avec nos résultats, cette méthode offre une évaluation plus fine et représentative du véritable appariement donneur-receveur, en discriminant particulièrement mieux le matching, notamment pour les antigènes de classe II. Wiebe avait d'ailleurs comparé le mismatch épitopique versus antigénique DR/DQ et pu démontrer que l'évaluation épitopique était un outil pronostic plus précis en terme de survie des greffons ³⁰.

Évaluation charge épitopique : aspect quantitatif et qualitatif

D'un point de vue quantitatif, le seuil offrant le meilleur seuil discriminatoire est de 7 mismatch en classe II et 13 mismatch en classe I dans notre cohorte. Passé ce seuil, le receveur serait considéré à haut risque d'immunisation. Dans la littérature, plusieurs seuils ont été évalués. Wiebe définissait comme à risque immunologique les patients ayant une charge épitopique en DQ ou DR > 11³². Dans une autre étude, il avait déterminé des seuils pour DQ > 17 et DR > 10 ³¹. En additionnant la charge épitopique en classe I et classe II, Snanoudj a fixé un seuil de 27 pour identifier les patients à haut risque immunologique³². Il reste difficile de comparer ces seuils puisque les outils de détermination des épitopes peuvent prendre en compte des évolutions dans les connaissances et la vérification des épitopes. La prise en compte des épitopes vérifiés ou globaux n'est d'ailleurs en toujours clairement précisée.

D'un point de vue qualitatif, il est important de rappeler que l'immunogénicité de chaque épitope repose sur son accessibilité et ses propriétés physico-chimiques, c'est ce qui définit la notion d'épitope fonctionnel. Cette dernière a été évaluée par plusieurs auteurs. Tout d'abord, Senev a précédemment mis en évidence que la charge épitopique vérifiée en DQ est associée à une augmentation du risque de dnDSA, de rejet et de déclin de la fonction rénale³³. En étudiant l'antigène DQ7, considéré comme étant la cible la plus fréquente de dnDSA dans l'étude, Snanoudj a mis en évidence que le seul mismatch antigénique DQ7 pouvait entraîner un mismatch à l'échelle épitopique variant de 1 à 16 en considérant la chaîne DQB ³².

Intérêt clinique de l'utilisation du matching épitopique

L'intégration du calcul de la charge épitopique dans le cadre de la transplantation rénale ouvre de nouvelles perspectives pour optimiser plusieurs aspects de la greffe, et ce, à différentes étapes du processus.

Tout d'abord, au stade du système d'allocation des greffons, cette méthode permettrait de sélectionner plus précisément les donneurs en fonction d'une meilleure compatibilité épitopique avec le receveur. Cela souligne l'intérêt de prioriser le matching en classe II dès la phase de sélection des donneurs.

En conséquence de cette sélection, une évaluation du « risque immunologique » pour chaque receveur non immunisé en pré-greffe pourrait être réalisée. Ceci ouvre la voie à une médecine plus personnalisée en terme d'intensité du traitement immunosuppresseur et d'adaptation du suivi post-greffe.

Dans cette optique, des scores pourraient être développés qui intégreraient les facteurs de risques classiques d'immunisation mais aussi le nombre de mismatch épitopique ainsi que de l'éventuelle présence d'épitopes à forte immunogénicité. Il pourrait être également intéressant de combiner les épitopes B avec les outils de prédiction des peptides HLA présentés par les molécules HLA du receveur aux lymphocytes T, comme proposé par Lachman avec l'algorithme PIRCHE-II. En effet cet algorithme semble intéressant pour prédire le risque de dnDSA ²⁸.

Ainsi, chez les patients évalués à faible risque une réduction de l'exposition aux immunosuppresseurs pourrait être discutée dans le but de diminuer les risques de complications post-transplantation tels que les infections et les cancers, comme le soulignent plusieurs études ^{34 35 33 36}. En étudiant l'apparition de dnDSA après une conversion CNI pour inhibiteur mTOR, Snanoudj a mis en évidence que l'évaluation du mismatch épitopique est plus associée au développement de dnDSA que l'étude du mismatch antigénique³².

Au cours du suivi, Wiebe a démontré dans une étude prospective que les patients présentant un faible mismatch développent moins fréquemment des anticorps anti-donneurs³⁷. En pratique, ceci permettrait d'espacer les surveillances DSA pour les patients à faible risque immunologique avec un intérêt économique très probable même si des études d'efficience en France restent à mener.

Limites de l'étude

Notre étude comporte plusieurs limites. En premier, l'effectif de notre cohorte 2 reste limité même si le nôtre est similaire à celui des études déjà réalisées le matching épitopique (Wiebe AJT 2013, N = 286 patients). De plus, une approche multicentrique pourrait être intéressante. Un projet au sein du groupe SPIESSER est en cours d'élaboration. En second, comme expliqué plus haut, il existe un biais de sélection doit être souligné lié au recrutement de patients immunisés tardivement dans la cohorte 2. Cela n'affecte probablement pas la relation entre le nombre d'épitope et le risque d'immunisation mais ne permet pas de calculer l'immunisation sur la période la plus récente.

La limite principale réside dans l'absence d'analyse du niveau d'immunosuppression dans le temps. Des analyses complémentaires doivent être menées. De plus, l'observance n'a pas été prise en compte dans notre travail rétrospectif alors c'est un déterminant majeur du risque de dnDSA ³¹.

Perspectives

L'intérêt grandissant pour l'étude de l'impact du matching épitopique en transplantation d'organes ouvre la voie à de nombreuses perspectives de recherche. Nous prévoyons de poursuivre ce travail en y intégrant les données d'immunosuppression et en étudiant spécifiquement les situations cliniques qui mènent à un allègement du traitement immunosuppresseur telles que les infections au virus BK et les cancers. De plus, compte tenu des nombreux ABMR infracliniques non recensés dans notre base, nous pourrions augmenter la puissance de notre étude en intégrant la relation entre la charge épitopique et l'inflammation microvasculaire.

Conclusion

En conclusion, le risque de dnDSA de classe 2 est mieux appréhendé en utilisant le calcul du nombre de mismatches épitopiques que le nombre de mismatches sérologiques. Les excellentes VPN ouvrent des perspectives de personnalisation du rythme de surveillance des DSA.

Références

1. Rapport Réseau Épidémiologie Information Néphrologie (REIN) 2021
2. Bongard V, Dallongeville J, Arveiler D, et al. Estimation et caractérisation de l'insuffisance rénale chronique en France. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*. 2012
3. Liem YS, Bosch JL, Arends LR, Heijenbrok-Kal MH, Hunink MGM. Quality of Life Assessed with the Medical Outcomes Study Short Form 36-Item Health Survey of Patients on Renal Replacement Therapy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Value in Health*. 2007
4. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, et al. Comparison of Mortality in All Patients on Dialysis, Patients on Dialysis Awaiting Transplantation, and Recipients of a First Cadaveric Transplant. *New England Journal of Medicine*. 1999
5. Klein J, Sato A. The HLA System. *New England Journal of Medicine*. 2000
6. Moalic V. Comment est réalisé un typage HLA ? *Réanimation*. 2008
7. Snanoudj R, Legendre C. Nouveaux aspects de la compatibilité HLA en transplantation. *Néphrologie & Thérapeutique*. 2016
8. Morales-Buenrostro LE, Terasaki PI, Marino-Vázquez LA, Lee JH, El-Awar N, Alberú J. "Natural" Human Leukocyte Antigen Antibodies Found in Nonalloimmunized Healthy Males. *Transplantation*. 2008
9. Willicombe M, Brookes P, Sergeant R, et al. De Novo DQ Donor-Specific Antibodies Are Associated With a Significant Risk of Antibody-Mediated Rejection and Transplant Glomerulopathy. *Transplantation*. 2012
10. Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, et al. Evolution and Clinical Pathologic Correlations of De Novo Donor-Specific HLA Antibody Post Kidney Transplant. *American Journal of Transplantation*. 2012
11. Everly MJ, Rebellato LM, Haisch CE, et al. Incidence and Impact of De Novo Donor-Specific Alloantibody in Primary Renal Allografts. *Transplantation*. 2013
12. Sellarés J, Freitas DG de, Mengel M, et al. Understanding the Causes of Kidney Transplant Failure: The Dominant Role of Antibody-Mediated Rejection and Nonadherence. *American Journal of Transplantation*. 2012
13. Williams RC, Opelz G, McGarvey CJ, Weil EJ, Chakkera HA. The Risk of Transplant Failure With HLA Mismatch in First Adult Kidney Allografts From Deceased Donors. *Transplantation*. 2016
14. Gatault P, Kamar N, Büchler M, et al. Reduction of Extended-Release Tacrolimus Dose in Low-Immunological-Risk Kidney Transplant Recipients Increases Risk of Rejection and Appearance of Donor-Specific Antibodies: A Randomized Study. *American Journal of Transplantation*. 2017
15. Liefeldt L, Brakemeier S, Glander P, et al. Donor-Specific HLA Antibodies in a Cohort Comparing Everolimus With Cyclosporine After Kidney Transplantation. *American Journal of Transplantation*. 2012
16. Terasaki PI, Ozawa M. Predicting Kidney Graft Failure by HLA Antibodies: a Prospective Trial. *American Journal of Transplantation*. 2004
17. Terasaki PI, Ozawa M. Predictive Value of HLA Antibodies and Serum Creatinine in Chronic Rejection: Results of a 2-year Prospective Trial. *Transplantation*. 2005
18. Aubert O, Loupy A, Hidalgo L, et al. Antibody-Mediated Rejection Due to Preexisting versus De Novo Donor-Specific Antibodies in Kidney Allograft Recipients.

JASN. 2017

19. Loupy A, Hill GS, Jordan SC. The impact of donor-specific anti-HLA antibodies on late kidney allograft failure. *Nat Rev Nephrol*. 2012
20. El-Zoghby ZM, Stegall MD, Lager DJ, et al. Identifying Specific Causes of Kidney Allograft Loss. *American Journal of Transplantation*. 2009
21. Loupy A, Lefaucheur C. Antibody-Mediated Rejection of Solid-Organ Allografts. *New England Journal of Medicine*. 2018
22. Farkash EA, Colvin RB. Diagnostic challenges in chronic antibody-mediated rejection. *Nat Rev Nephrol*. 2012
23. Sypek MP, Hughes P, Kausman JY. HLA epitope matching in pediatric renal transplantation. *Pediatr Nephrol*. 2017
24. Duquesnoy RJ. HLA epitope based matching for transplantation. *Transplant Immunology*. 2014
25. Tambur AR. HLA-Epitope Matching or Eplet Risk Stratification: The Devil Is in the Details. *Front Immunol*. 2018
26. Tambur AR, Kosmoliaptsis V, Claas FHJ, Mannon RB, Nickerson P, Naesens M. Significance of HLA-DQ in kidney transplantation: time to reevaluate human leukocyte antigen–matching priorities to improve transplant outcomes? An expert review and recommendations. *Kidney International*. 2021
27. Duquesnoy RJ, HLAMatchmaker: A Molecularly Based Algorithm for Histocompatibility Determination. I. Description of the Algorithm. *American Society for Histocompatibility and Immunogenetics*. 2002
28. Lachmann N, Niemann M, Reinke P, et al. Donor–Recipient Matching Based on Predicted Indirectly Recognizable HLA Epitopes Independently Predicts the Incidence of De Novo Donor-Specific HLA Antibodies Following Renal Transplantation. *American Journal of Transplantation*. 2017
29. Tambur AR, Rosati J, Roitberg S, Glotz D, Friedewald JJ, Leventhal JR. Epitope Analysis of HLA-DQ Antigens: What Does the Antibody See? *Transplantation*. 2014
30. Wiebe C, Kosmoliaptsis V, Pochinco D, et al. HLA-DR/DQ molecular mismatch: A prognostic biomarker for primary alloimmunity. *American Journal of Transplantation*. 2019
31. Wiebe C, Nevins TE, Robiner WN, Thomas W, Matas AJ, Nickerson PW. The Synergistic Effect of Class II HLA Epitope-Mismatch and Nonadherence on Acute Rejection and Graft Survival. *American Journal of Transplantation*. 2015
32. Snanoudj R, Kamar N, Cassuto E, et al. Epitope load identifies kidney transplant recipients at risk of allosensitization following minimization of immunosuppression. *Kidney International*. 2019
33. Senev A, Coemans M, Lerut E, et al. Eplet Mismatch Load and De Novo Occurrence of Donor-Specific Anti-HLA Antibodies, Rejection, and Graft Failure after Kidney Transplantation: An Observational Cohort Study. *JASN*. 2020
34. Wiebe C, Pochinco D, Blydt-Hansen TD, et al. Class II HLA Epitope Matching—A Strategy to Minimize De Novo Donor-Specific Antibody Development and Improve Outcomes. *American Journal of Transplantation*. 2013
35. Sapir-Pichhadze R, Tinckam K, Quach K, et al. HLA-DR and -DQ Eplet Mismatches and Transplant Glomerulopathy: A Nested Case–Control Study. *American Journal of Transplantation*. 2015
36. Lee H, Min JW, Kang H, et al. Combined Analysis of HLA Class II Eplet Mismatch and Tacrolimus Levels for the Prediction of De Novo Donor Specific Antibody

Development in Kidney Transplant Recipients. *IJMS*. 2022

37. Wiebe C, Balshaw R, Gibson IW, et al. A rational approach to guide cost-effective de novo donor-specific antibody surveillance with tacrolimus immunosuppression. *American Journal of Transplantation*. 2023

Vu, le Directeur de Thèse



**Vu, le Doyen
De la Faculté de Médecine de Tours, le**

GAMOT Roxane

53 pages – 2 tableaux – 20 figures

Résumé :

Contexte : L'apparition de DSA de novo est un facteur de risque de rejet et de perte de greffon. Les facteurs de risque les plus connus sont la sous-immunosuppression, le jeune âge et l'appariement donneur – receveur déterminé par le nombre de mismatch HLA. Les typages HLA de nouvelle génération (NGS) rendent maintenant possible une meilleure détermination de la disparité antigénique HLA par le calcul du nombre de mismatches épitopiques.

Objectif : Étudier l'intérêt de la charge épitopique dans le risque de DSA *de novo* (dnDSA) en transplantation rénale.

Patients et méthodes : étude rétrospective monocentrique chez 1046 patients transplantés rénaux entre 01/2013 et 04/2023 sans DSA pré-greffe. L'analyse des épitopes a été déterminée chez 345 patients avec des typages NGS donneur et receveur disponibles (suivi médian 3,4 ans). La MFI seuil était de 1000 (One Lambda).

Résultats : Les facteurs associés à une réduction du risque de dnDSA étaient l'âge du receveur (HR = 0,985, $p=0,002$), et la greffe avec donneur vivant (HR = 0,370, $p=0,009$). Le nombre de mismatch en classe 1 (HLA-A et-B) et en classe 2 (HLA-DR et –DQ) n'était pas différent entre les patients avec et sans dnDSA. Si l'incidence cumulée de dnDSA de classe 2 ne différait pas en fonction du nombre de mismatches classe 2 ($p=0,227$), celle en classe 1 différait en fonction du nombre de mismatch classe 1 ($p=0,047$). L'analyse de l'incidence des dnDSA en classe 1 et 2 en fonction du nombre de mismatches épitopiques montrait une meilleure stratification du risque, en particulier en classe 2 ($p=0,006$). L'analyse ROC plaide pour un seuil de mismatches épitopiques en classe 1 à 26, et en classe 2 à 23, avec d'excellentes VPN (respectivement 0,992 et 0,951).

Conclusion : Le risque de dnDSA de classe 2 est mieux appréhendé en utilisant le calcul du nombre de mismatches épitopiques que le nombre de mismatches sérologiques. Les excellentes VPN ouvrent des perspectives de personnalisation du rythme de surveillance des DSA.

Mots clés : Transplantation rénale, DSA de novo, épitope, appariement HLA, rejet humoral

Jury :

Président du Jury : Professeur Matthias BUCHLER

Membres du Jury : Docteur Camille HUMEAU
Docteur Hélène LONGUET
Docteur Barbara PROUST
Professeur Phillipe GATAULT

Date de soutenance : Mardi 15 octobre 2024