

19 mars 2015

# Immunisation anti-récepteur de type 1 de l'Angiotensine II (AT1R) en pré-transplantation et devenir des greffons rénaux

Clément Deltombe<sup>1</sup>, Florence Gillaizeau<sup>1,2</sup>, Magali Giral<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Institut de Transplantation en Urologie et Néphrologie (ITUN), INSERM UMR1064, CHU de Nantes

<sup>2</sup>EA4275-SPHERE bioStatistics, Pharmacoepidemiology and Human sciEnces Research, Université de Nantes

- I. Introduction: AT1R et les anticorps anti-AT1R
- II. L'immunisation anti-AT1R en transplantation
- III. Etudes antérieures sur les données de DIVAT
- IV. Etude en cours sur les données de DIVAT
- V. Conclusion

# I. Introduction: AT1R et les anticorps anti- AT1R

- **Le récepteur de type 1 de l'Angiotensine II (AT1R)**

- Glycoprotéine membranaire
- Ubiquitaire / cellules musculaires lisses vasculaires
- Médiation des effets de l'angiotensine II
- Médiation de signaux de l'inflammation et de la prolifération cellulaire

De Gasparo *et al.*, 2000

- **Les anticorps anti-AT1R (Ac-AT1R) sont Agonistes**

- Dysfonction endothéliale et vasculaire
  - Dysfonction tensionnelle
  - Dysfonction rénale
- } → (1)  
 • Hypertension essentielle  
 • Pré-éclampsie (2)  
 • Sclérodermie (3)

## II. L'immunisation anti-AT1R en transplantation

# Première observation des Ac-AT1R en transplantation rénale

- **Dragun *et al.*, 2005:** découverte chez 16 patients parmi 33 transplantés rénaux avec un rejet aigu vasculaire réfractaire aux stéroïdes
- **Première patiente**
  - Antécédents d'éclampsie
  - Greffe : 0 miss-match HLA
  - 1<sup>er</sup> rejet aigu vasculaire à J7
  - Tableau clinique sévère avec crise hypertensive sévère et convulsions
  - Rejet réfractaire aux corticoïdes et sérum anti lymphocytaire
  - Absence d'immunisation anti HLA spécifique du donneur (DSA)
  - In vitro, le sérum stimule les cardiomyocytes néonataux (porteur de AT1R)
- **Confirmation chez 15 patients**
  - Clinique et biologie similaires
  - Différence significative dans la stimulation des cardiomyocytes néonataux (VS rejets non réfractaires aux stéroïdes)
  - Effet bénéfique des antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II (ARAII) et de la déplétion des anticorps sur la survie des greffons

# L'immunisation anti-AT1R en transplantation

Auteurs	Année	Organe	Critères de jugement	Résultats
Slowinski <i>et al.</i>	2006	Toute greffe	Description de l'immunisation anti-AT1R	23% de la liste d'attente de greffe avec un taux > 17u
Reinsmoen <i>et al.</i>	2010	Cœur	Rejet Aigu (RA) chez 63 Patients DSA et MICA (-)	Ac-AT1R pré ou post-greffe: associé au Rejet humoral
Taniguchi <i>et al.</i>	2013	Rein	N= 351 Survie greffon	Ac-AT1R pré et post greffe: ↗ perte de greffon
Giral <i>et al.</i>	2013	Rein	N=599 Rejet aigu (RA), Survie greffon	Ac-AT1R > 10u en pré-greffe: ↗ RA précoce ↗ retour en dialyse après 3 ans
Reinsmoen <i>et al.</i>	2014	Cœur	N=200 Survie greffon	Effet synergique négatif des Ac-AT1R et des DSA de novo sur la survie des greffons

- Dragun *et al.*, 2005: 16 patients avec rejet réfractaire et Ac-AT1R +
  - Endartérite
  - artérite transmurale et/ou nécrose fibrinoïde (Banff IIb ou III)
  - micro-thromboses, facteur tissulaire endothéliale / mésangiale
  - quelques signes de tubulite / infiltrat interstitiel
  - 5/16 patients présentent des dépôts de C4d : mécanisme complément indépendant?
  - lésions histologiques reproductibles (modèle animal et anti-AT1R purifiés) => effets Angiotensine II et lésions de rejet
  
- Reinsmoen *et al.*, 2010: 63 patients DSA(-) MICA(-)
  - 7 RHA: 6/7 AT1R > 17u « Only a few biopsies were C4d positive »
  - 9 RCA: 0/9 AT1R > 17u
  
- Giral *et al.*, 2013: 44 patients avec rejets aigus
  - dont 31% font un rejet humoral aigu
  - parmi lesquels 71% ont des AC anti AT1R

- Mécanisme immun
  - Tropicité vasculaire, activation endothéliale
  - Signe d'humoralité indirect: C4d négatif
  - Signes de « cellularité » minimales
  - Probable inflammation de la micro circulation
- => perte accélérée du greffon?
- => favorise l'action délétère des DSA (synergie)?

Les Ac-AT1R provoquent-ils  
une perte chronique des greffons rénaux  
indépendamment de l'immunisation  
anti-HLA spécifique du donneur  
et des épisodes de rejets aigus?



# III. Etudes antérieures sur les données de DIVAT

Giral M, Foucher Y, Dufay A, Van Huyen JPD, Renaudin K, Moreau A, et al. Pretransplant Sensitization Against Angiotensin II Type 1 Receptor Is a Risk Factor for Acute Rejection and Graft Loss. *Am J Transplant.* 2013.

- **Patients**

- 599 transplantés rénaux entre 1997 et 2007
- DIVAT Nantes

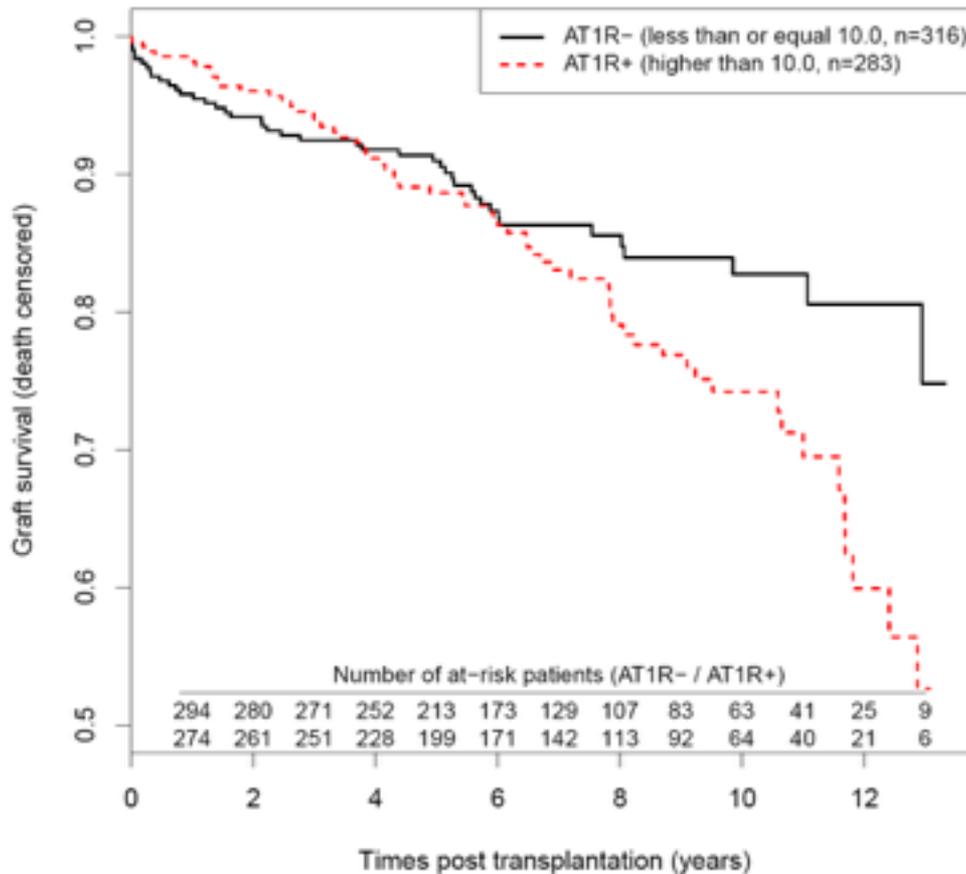
- **Dosage de l'immunisation**

- Ac-AT1R:
  - en pré-greffe
  - réalisé en collaboration avec le Pr Duska Dragun (Berlin)
  - technique ELISA (One Lambda, USA)
- Anti-HLA:
  - technique LCT (PRA) en pré-transplantation

# Analyses statistiques

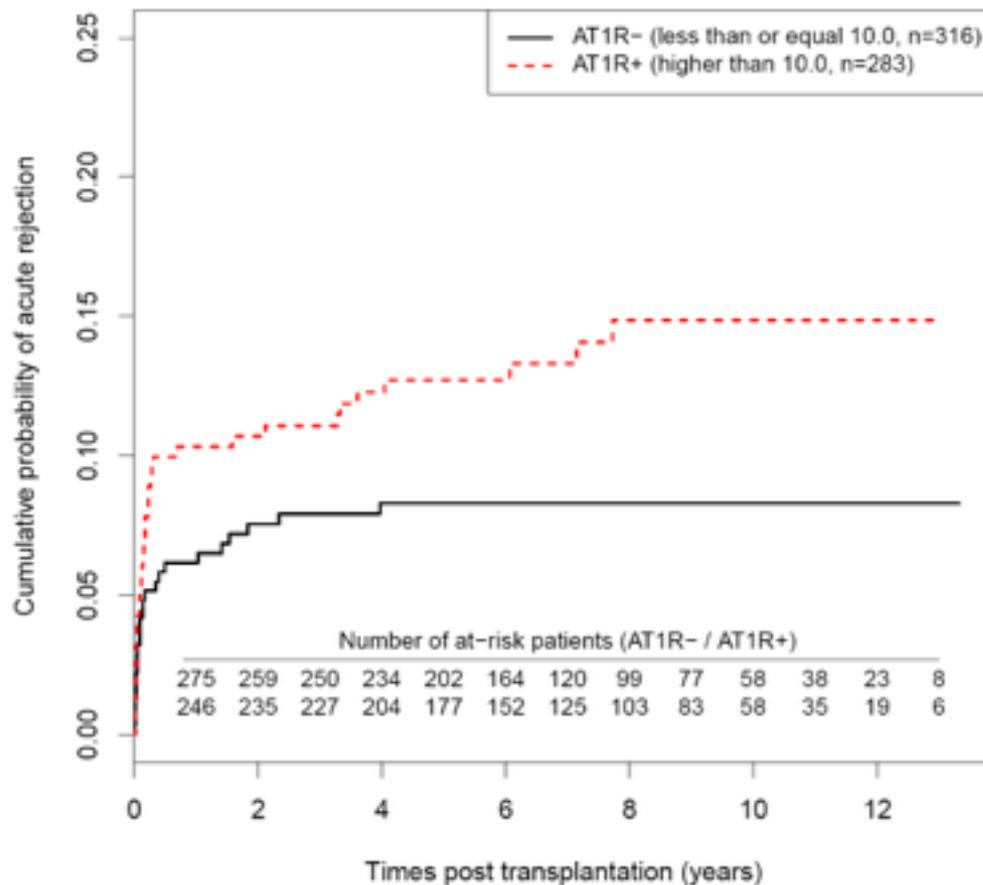
- **Critères de jugement**
  - Survie greffon (en censurant les décès avec un greffon fonctionnel)
  - Survie sans rejet aigu prouvé sur biopsie (en censurant les retours en dialyse et les décès avec un greffon fonctionnel)
- **En pratique**
  - Modèle de Cox multivarié, avec possibilité d'estimer des hazard ratio (HR) différents selon le temps post-transplantation
  - En collaboration avec l'EA4275-SPHERE de l'Université de Nantes (Dr Y. Foucher)

Ac-AT1R pré-greffe  $\geq 10$  Unités  $\rightarrow$   $\nearrow$  du risque de Retour en Dialyse (RD) après 3 ans post-transplantation: HR=2.59 (IC95% 1.50 à 4.45,  $p < 0.001$ )



\* Indépendamment des PKA pré-greffe anti-classe I >0% et II, des incompatibilités HLA A-B-D-R>5, du rang de greffe, de l'âge du donneur, du DGF

Ac-AT1R pré-greffe  $\geq 10$  U  $\rightarrow$   $\nearrow$  du risque de RA dans les 4 premiers mois post-transplantation: HR=1.91 (IC95% 1.03 à 3.54, p=0.04)

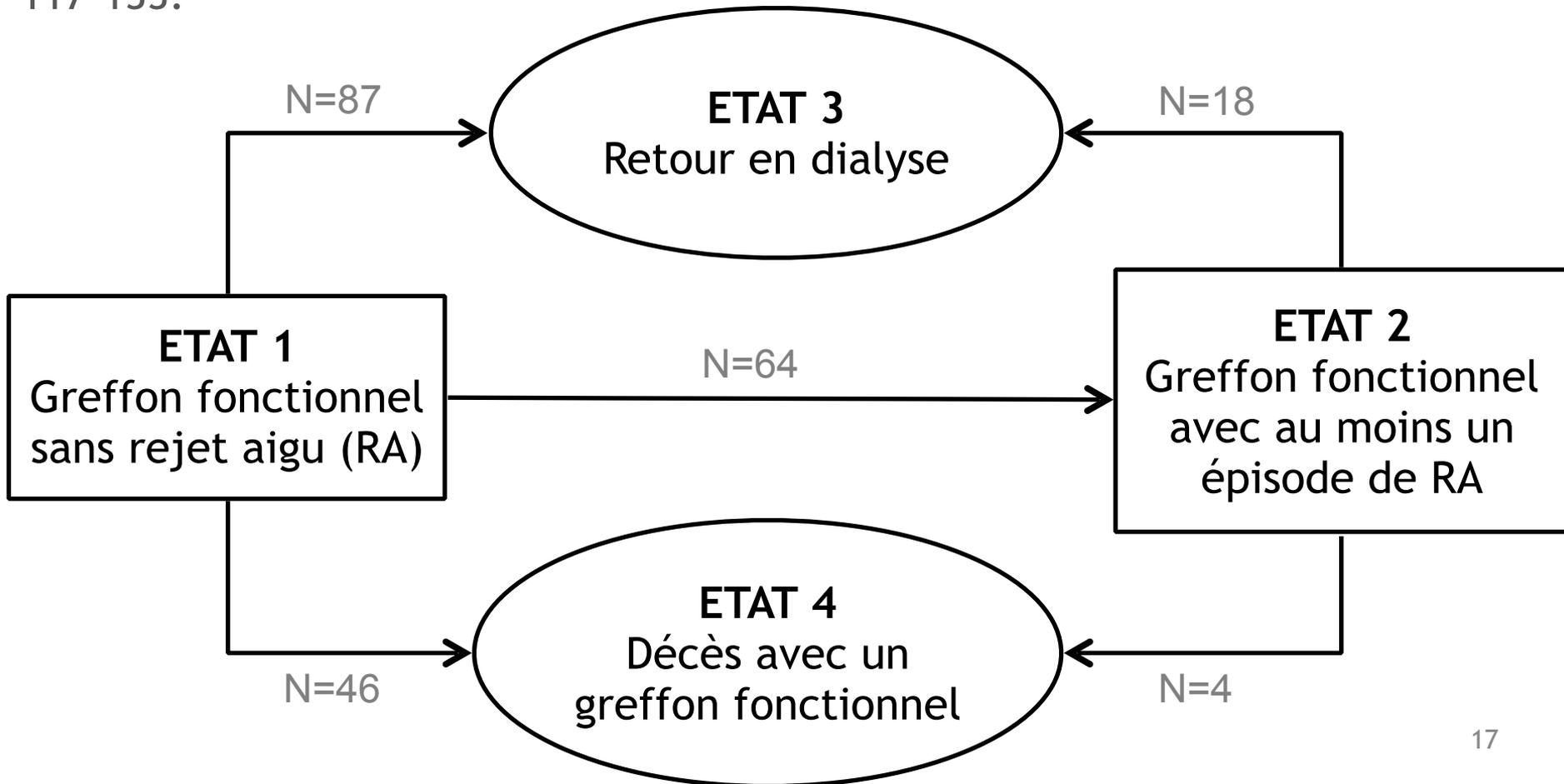


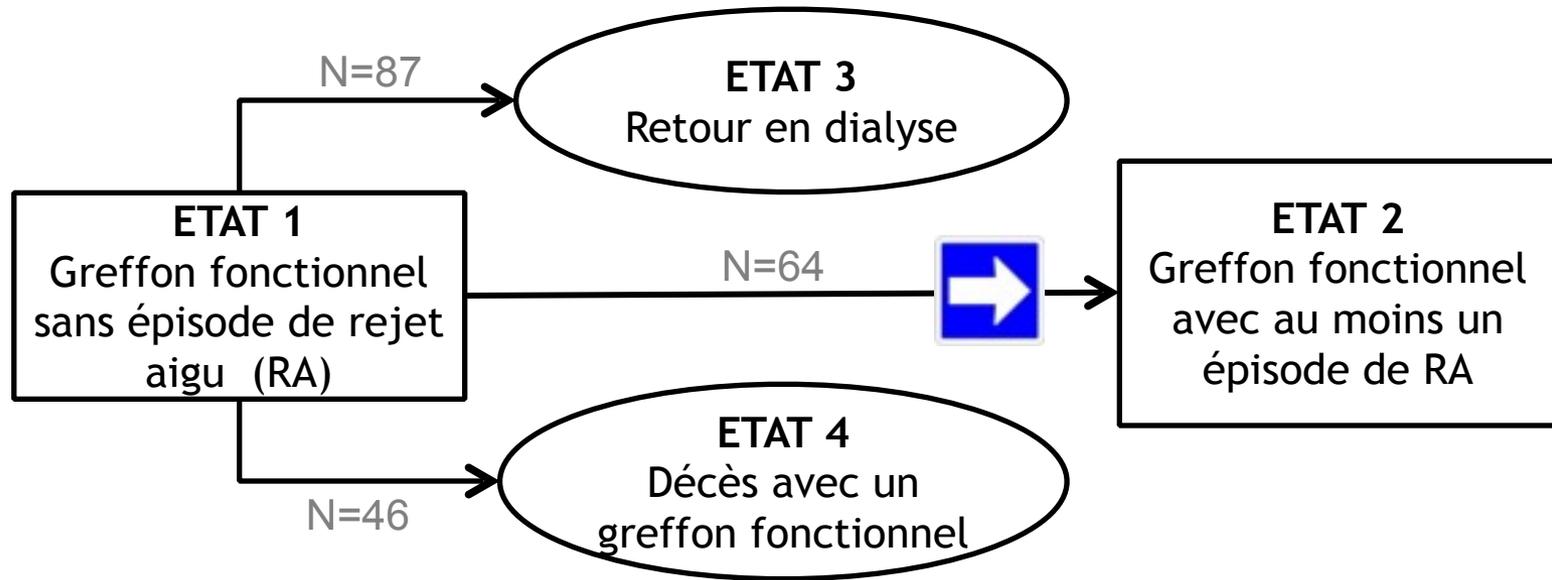
\* Indépendamment des PRA pré-greffe anti-classe I >0% et II, des incompatibilités HLA A-B-D-R>5, du rang de greffe

# Limites

- Compétition possible entre la perte de greffon et survenue de rejet:
  - Le retour en dialyse est-il lié à un effet retardé des Ac-AT1R ou à une augmentation des RA?
- ➔ Analyse statistique avec un modèle multi-états décrivant l'évolution de l'état de santé des transplantés rénaux (Gillaizeau *et al.*, 2014).

Gillaizeau F., Giral M., Dantan E., Dragun D., Souillou J.P., Foucher Y. (2014) Multi-state analysis of kidney transplant recipients outcome: a semi-Markov model for studying the role of pre-transplant sensitization against Angiotensin II Type 1 receptor. *Journal de la Société Française de Statistique*, 155(1): 117-133.





- Niveau élevé d'Ac-AT1R en pré-greffe associé à une  du risque de faire un RA ( $p < 0.05$ )\*

\* Indépendamment des PRA B > 25%, PRA T > 25%, de l'âge du receveur, de l'âge du donneur



	HR	95%CI	p.value
AT1R > 10U, t < 3 ans	1.11	[0.43-2.9]	0.8298
AT1R > 10U, t ≥ 3 ans	2.37	[1.02-5.5]	0.0430

- **Avant 3 ans**: corrélation non significative du niveau pré-greffe d'Ac-AT1R sur le temps de retour en dialyse
- **Après 3 ans** : un niveau élevé d'Ac-AT1R en pré-greffe accélère le retour en dialyse: HR=2.37 (IC95% 1.02 à 5.50)\*

\* Indépendamment des PRA B > 25%, PRA T > 25%, de l'âge du receveur, de l'âge du donneur

- L'immunisation anti-AT1R pré greffe
  - Effet sur le risque de Rejet Aigu
  - Effet sur le risque de retour en dialyse

Indépendamment  
l'un de l'autre  
et de l'immunisation  
HLA
- Limites
  - L'immunisation HLA détectée par LCT
  - Pas de biopsie de surveillance: absence de détection des rejets infra-cliniques

# IV. Etude en cours sur les données de DIVAT



- Définir le rôle étiologique de l'immunisation anti-AT1R avant la transplantation sur la perte chronique des greffons rénaux
- S'affranchir de certaines limites méthodologiques des études précédentes:
  - Etudes monocentriques
  - Patients greffés avant 2007
  - Technique LCT d'identification de l'immunisation anti-HLA
  - Pas de biopsie de surveillance

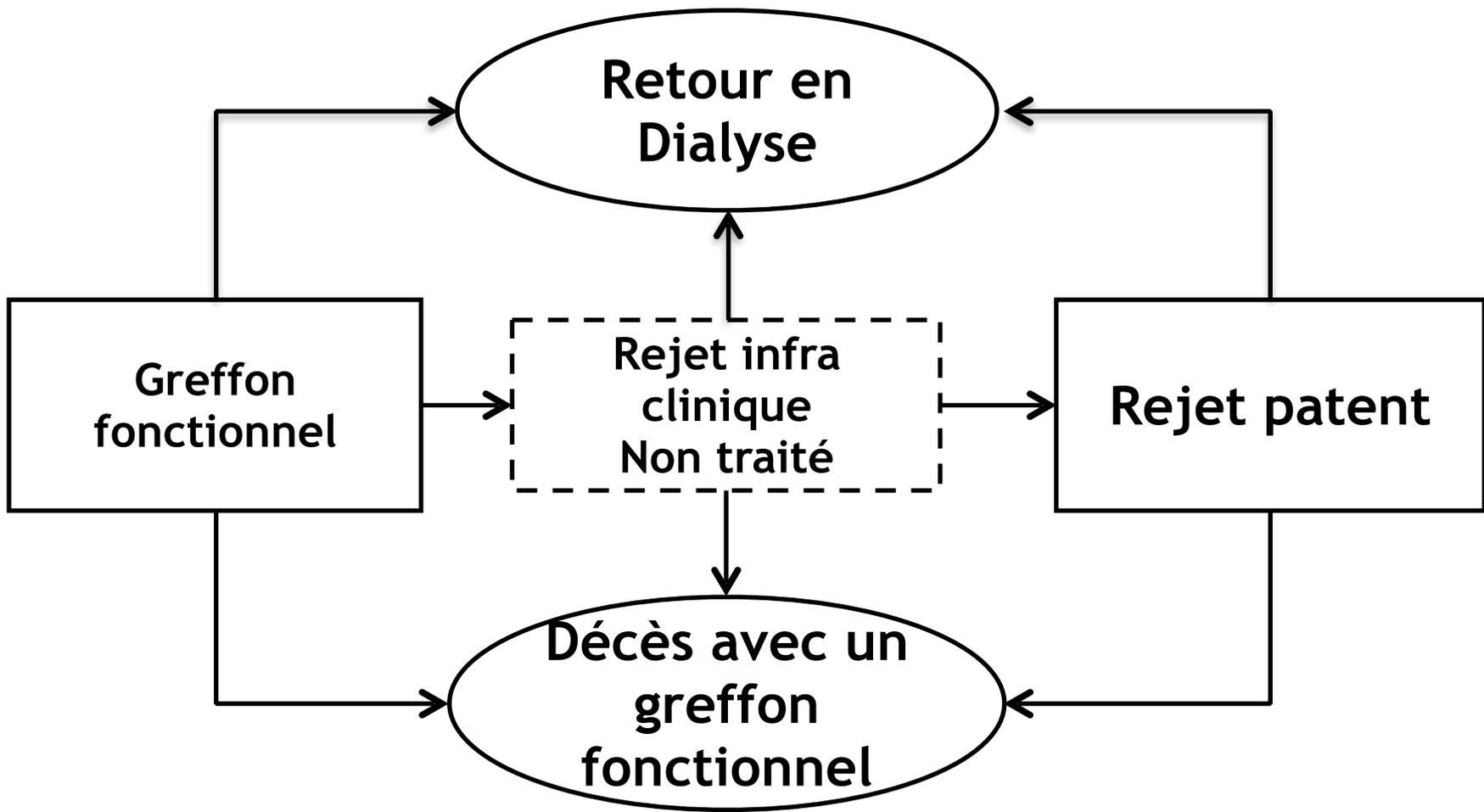
- Patients

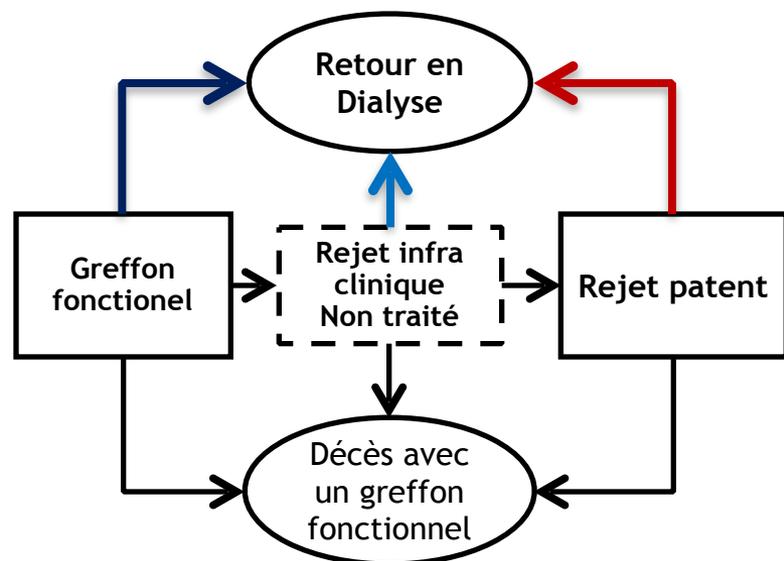
- 3 centres DIVAT: Lyon, Necker, Nantes
  - Transplantés entre 2008 et 2012
  - Donneurs décédés à cœur battant
  - 1ère ou 2ème Greffe Rein / Rein-pancréas
- biopsies de surveillance  
→ à M3 et M12 pour la majorité des patients

- Dosage de l'immunisation

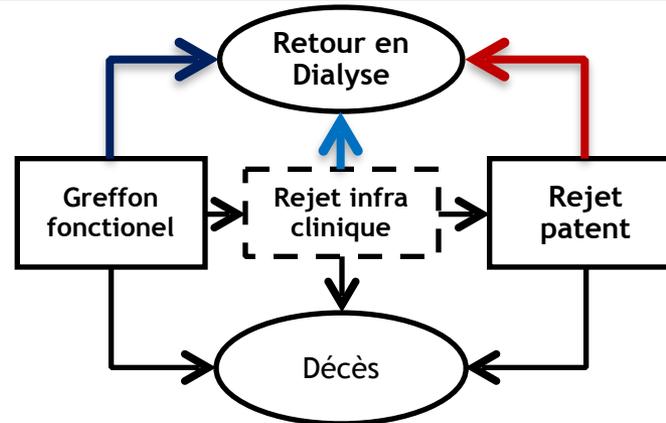
- Ac-AT1R: en pré-greffe par technique ELISA (One Lambda®)
- Anti-HLA: dépistage par Luminex ® dans les 6 mois pré-greffe

# Patients et méthodes





- **Greffon fonctionnel:** pas de lésion immunologique
- **Rejet infra-clinique:** lésions borderlines ou suspectes sans dégradation de la fonction: pas de traitement
- **Rejet patent:**
  - lésions de rejet avec dégradation nécessitant un traitement
  - lésions borderlines ou suspectes traitées
- **Retour en dialyse:** greffon non fonctionnel
- **Décès avec un greffon fonctionnel**



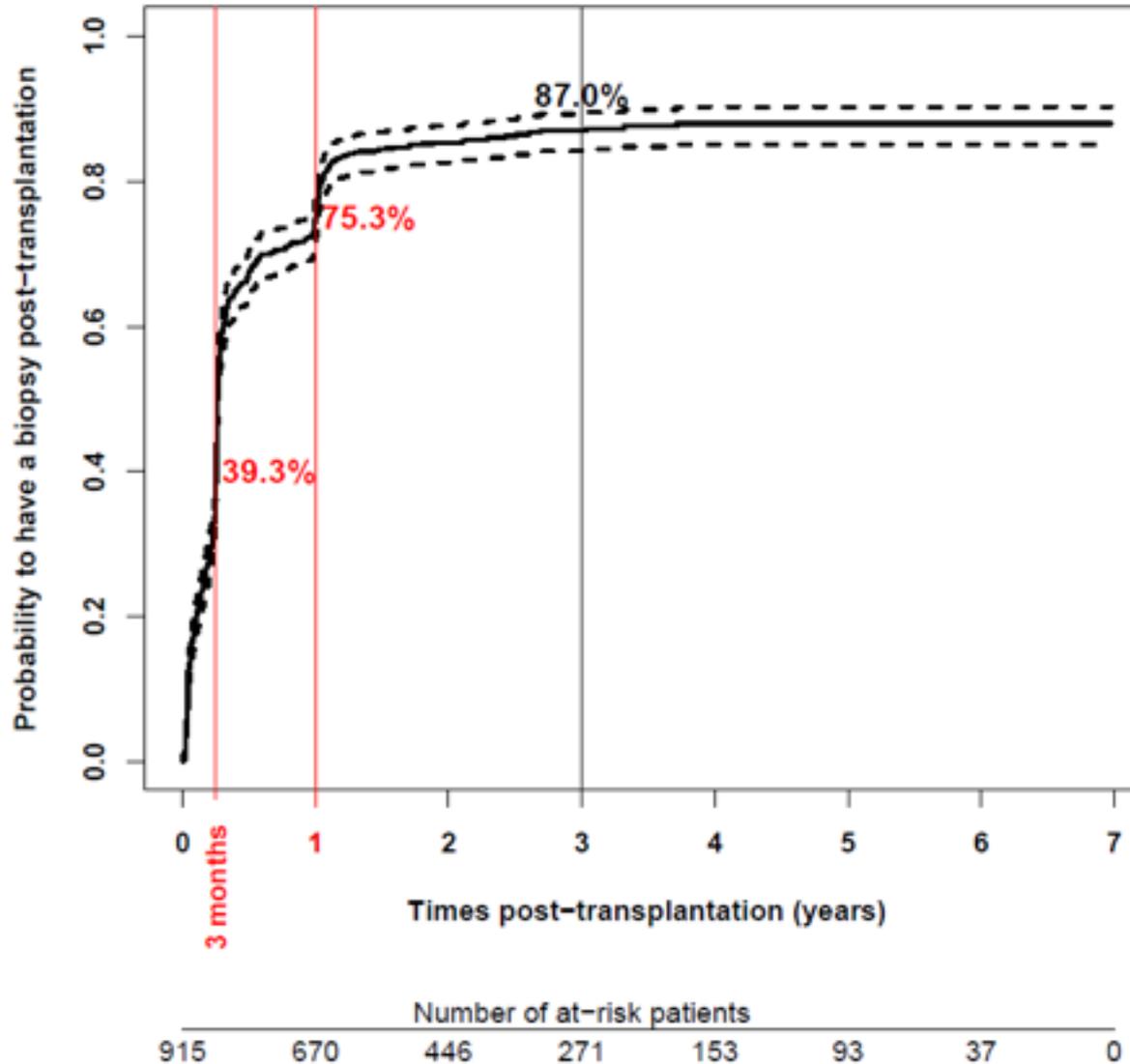
- **Hypothèse:** tout rejet patent passe par un état de rejet infra-clinique qu'on ne peut pas dater
  - Lorsque la biopsie de surveillance indique des lésions, le délai exact d'apparition du rejet infra-clinique est inconnu → le modèle considère que le rejet s'est produit dans l'intervalle depuis la dernière biopsie sans lésion.
  - Les patients sans biopsie ne sont pas exclus (limite les biais d'inclusion) → le modèle leur attribue une probabilité d'avoir fait un rejet aigu infra-clinique entre la greffe et la fin du suivi.

# Description de la cohorte (n=915)

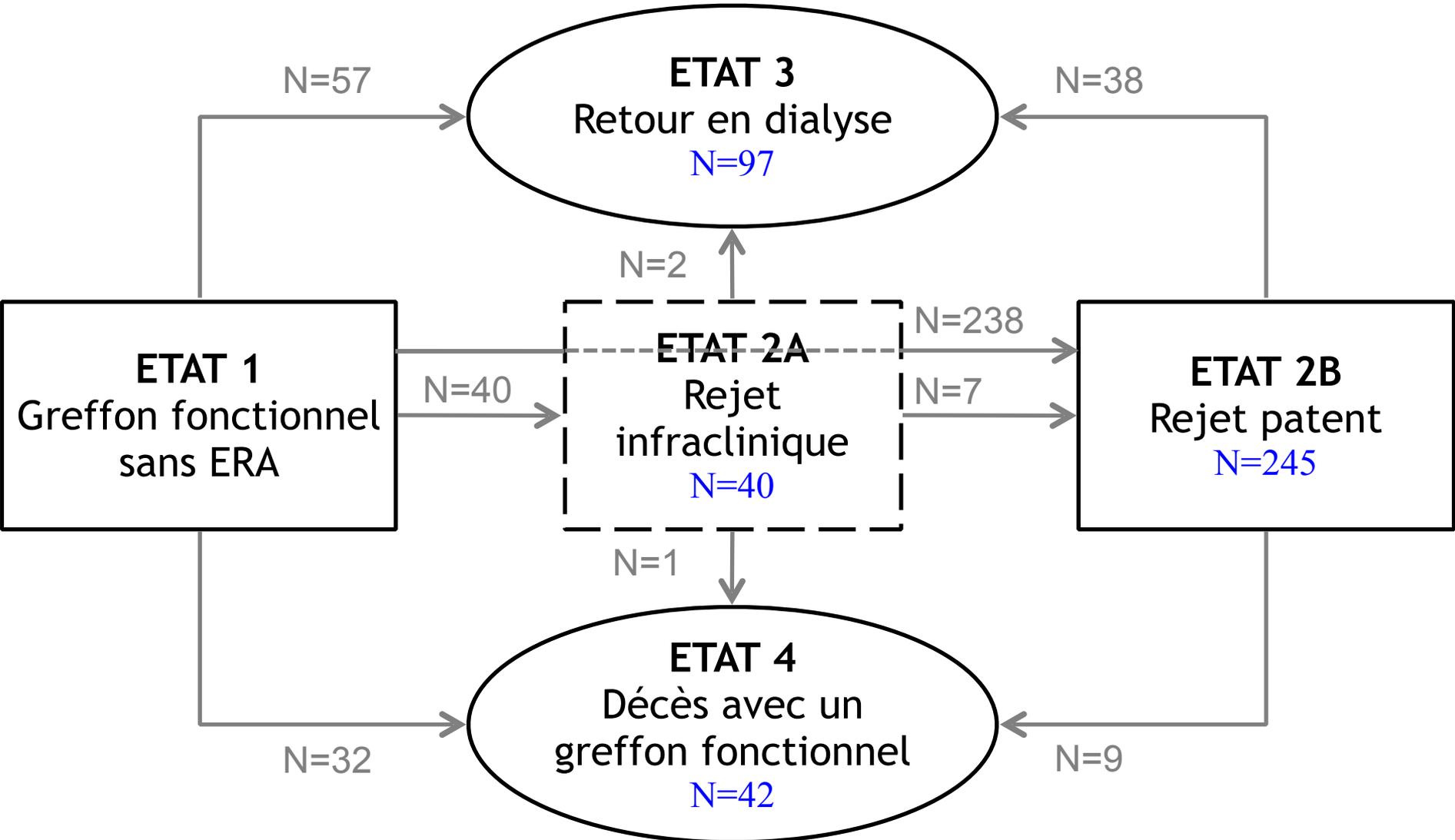
Caractéristiques du receveur	DM	moyenne ± n	SD (%)
Centre	0		
Lyon		332	(36.3)
Nantes		342	(37.4)
Necker		241	(26.3)
Receveur masculin	0	545	(59.6)
Age du receveur (années)	0	51.59 ±	13.25
Temps d'ischémie froide (heures)	4	18.03 ±	6.94
Transplantation rénale	0	847	(92.6)
Première greffe	0	766	(83.7)
Maladie autoimmune	0	261	(28.5)
Sérologies CMV positives	12	576	(63.8)
Sérologies EBV positives	15	870	(96,7)
Anticorps anti-HBs	21	658	(73.6)
Incompatibilités HLA ≥ 4	3	473	(51.9)
Immunisation anti-classe I positive	0	314	(34.3)
Immunisation anti-classe II positive	0	329	(36.0)

DM: Données manquantes

# Biopsies au cours du suivi



# Modèle multi-états (n=915)



# V.

# Conclusion

- Ac-AT1R: significativité clinique probable:
  - Dans des pathologies auto-immunes
  - En transplantation d'organe
- But de l'étude actuelle: validation du rôle étiologique des Ac-AT1R sur la survie rénale en transplantation:  
**Les dosages d'Ac anti-AT1R sont terminés et en cours d'analyse!**
- Si notre hypothèse est confirmée, nous aurons:
  - Un nouveau bio-marqueur du risque de perte précoce de greffon, disponible le jour de la greffe= modification précoce des stratégies immunosuppressives
  - Une stratégie thérapeutique par une utilisation précoce des bloqueurs du système angiotensine/aldostérone à évaluer dans la survie des greffons de ces patients immunisés
  - Et dans le futur:
    - Identification de population plus à risque (HTA primaire/éclampsie?)
    - Possibilité de désensibilisation pré-transplantation?

## Références

- De Gasparo M, Catt KJ, Inagami T, Wright JW, Unger T. International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. *Pharmacol Rev.* sept 2000;52(3):415–72.
- Dragun D, Müller DN, Bräsen JH, Fritsche L, Nieminen-Kelhä M, Dechend R, et al. Angiotensin II type 1-receptor activating antibodies in renal-allograft rejection. *N Engl J Med.* 2005 Feb 10;352(6):558–69.
- Giral M, Foucher Y, Dufay A, Van Huyen JPD, Renaudin K, Moreau A, et al. Pretransplant sensitization against angiotensin II type 1 receptor is a risk factor for acute rejection and graft loss. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* oct 2013;13(10):2567–76
- Liao Y-H, Wei Y-M, Wang M, Wang Z-H, Yuan H-T, Cheng L-X. Autoantibodies against AT1-receptor and alpha1-adrenergic receptor in patients with hypertension. *Hypertens Res Off J Jpn Soc Hypertens.* juill 2002;25(4):641–6
- Reinsmoen NL, Lai C-H, Heidecke H, Haas M, Cao K, Ong G, et al. Anti-angiotensin type 1 receptor antibodies associated with antibody mediated rejection in donor HLA antibody negative patients. *Transplantation.* 27 déc 2010;90(12):1473–7
- Reinsmoen NL, Lai C-H, Mirocha J, Cao K, Ong G, Naim M, et al. Increased negative impact of donor HLA-specific together with non-HLA-specific antibodies on graft outcome. *Transplantation.* 15 mars 2014;97(5):595–601
- Riemekasten G, Philippe A, Näther M, Slowinski T, Müller DN, Heidecke H, et al. Involvement of functional autoantibodies against vascular receptors in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 3 janv 2011;70(3):530–6.
- Taniguchi M, Rebellato LM, Cai J, Hopfield J, Briley KP, Haisch CE, et al. Higher risk of kidney graft failure in the presence of anti-angiotensin II type-1 receptor antibodies. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* oct 2013;13(10):2577–89
- Wallukat G, Homuth V, Fischer T, Lindschau C, Horstkamp B, Jüpner A, et al. Patients with preeclampsia develop agonistic autoantibodies against the angiotensin AT1 receptor. *J Clin Invest.* 1 avr 1999;103(7):945–52