



**HAL**  
open science

# Impact de la compatibilité HLA épitopique et physico-chimique sur la survenue d'anticorps spécifique du donneur en transplantation rénale à bas risque immunologique

Alexandra Delion

## ► To cite this version:

Alexandra Delion. Impact de la compatibilité HLA épitopique et physico-chimique sur la survenue d'anticorps spécifique du donneur en transplantation rénale à bas risque immunologique. Sciences du Vivant [q-bio]. 2017. hal-01931817

**HAL Id: hal-01931817**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01931817>**

Submitted on 23 Nov 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

## **THESE**

Pour obtenir le grade de

### **DOCTEUR en MEDECINE**

Présenté et soutenue publiquement  
Dans le cadre du troisième cycle de Médecine spécialisée  
par

**Alexandra DELION**

Le 12 septembre 2017

WHAT IS THE BEST PREDICTOR OF DE NOVO DSA IN A  
COHORT OF NON-SENSITIZED FIRST KIDNEY  
TRANSPLANTATION: ANTIGENIC, ALLELIC, EPITOPIC OR  
PHYSIOCHEMICAL PROPERTIES HLA MISMATCHES ?

Président :

Monsieur le Professeur Frimat Luc

Juges :

Madame le Professeur Rubio Marie-Thérèse

Monsieur le Professeur De Carvalho Bittencourt Marcelo

Madame le Docteur Aarnink Alice

Madame le Docteur Girerd Sophie



**UNIVERSITÉ  
DE LORRAINE**



FACULTÉ de MÉDECINE  
NANCY

**Président de l'Université de Lorraine :  
Professeur Pierre MUTZENHARDT**

**Doyen de la Faculté de Médecine  
Professeur Marc BRAUN**

**Vice-doyens**

Pr Karine ANGIOI-DUPREZ, Vice-Doyen

Pr Marc DEBOUVERIE, Vice-Doyen

**Asseseurs :**

**Premier cycle :** Dr Guillaume GAUCHOTTE

**Deuxième cycle :** Pr Marie-Reine LOSSER

**Troisième cycle :** Pr Marc DEBOUVERIE

*Innovations pédagogiques :* Pr Bruno CHENUÉL

*Formation à la recherche :* Dr Nelly AGRINIER

*Animation de la recherche clinique :* Pr François ALLA

*Affaires juridiques et Relations extérieures :* Dr Frédérique CLAUDOT

*Vie Facultaire et SIDES :* Pr Laure JOLY

*Relations Grande Région :* Pr Thomas FUCHS-BUDER

*Etudiant :* M. Lucas SALVATI

**Chargés de mission**

*Bureau de docimologie :* Dr Guillaume VOGIN

*Commission de prospective facultaire :* Pr Pierre-Edouard BOLLAERT

*Orthophonie :* Pr Cécile PARIETTI-WINKLER

*PACÉS :* Dr Chantal KOHLER

*Plan Campus :* Pr Bruno LEHEUP

*International :* Pr Jacques HUBERT

=====

**DOYENS HONORAIRES**

Professeur Jean-Bernard DUREUX - Professeur Jacques ROLAND - Professeur Patrick NETTER - Professeur Henry COUDANE

=====

**PROFESSEURS HONORAIRES**

Etienne ALIOT - Jean-Marie ANDRE - Alain AUBREGE - Jean AUQUE - Gérard BARROCHE - Alain BERTRAND - Pierre BEY  
 Marc-André BIGARD - Patrick BOISSEL - Pierre BORDIGONI - Jacques BORRELLY - Michel BOULANGE  
 Jean-Louis BOUTROY - Serge BRIANÇON - Jean-Claude BURDIN - Claude BURLET - Daniel BURNEL  
 Claude CHARDOT - Jean-François CHASSAGNE - François CHERRIER - Jean-Pierre CRANCE - Gérard DEBRY  
 Emile de LAVERGNE - Jean-Pierre DESCHAMPS - Jean DUHEILLE - Jean-Bernard DUREUX - Gilbert FAURE - Gérard FIEVE  
 Jean FLOQUET - Robert FRISCH - Alain GAUCHER - Pierre GAUCHER - Alain GERARD - Hubert GERARD  
 Jean-Marie GILGENKRANTZ - Simone GILGENKRANTZ - Gilles GROSDIDIER - Oliéro GUERCI - Philippe HARTEMANN  
 Gérard HUBERT - Claude HURIET - Christian JANOT - Michèle KESSLER - François KOHLER - Jacques LACOSTE  
 Henri LAMBERT - Pierre LANDES - Marie-Claire LAXENAIRE - Michel LAXENAIRE - Alain LE FAOU - Jacques LECLERE  
 Pierre LEDERLIN - Bernard LEGRAS - Jean-Pierre MALLIÉ - Philippe MANGIN - Jean-Claude MARCHAL - Pierre MATHIEU  
 Michel MERLE - Pierre MONIN - Pierre NABET - Jean-Pierre NICOLAS - Pierre PAYSANT - Francis PENIN - Gilbert PERCEBOIS  
 Claude PERRIN - Luc PICARD - François PLENAT - Jean-Marie POLU - Jacques POUREL - Jean PREVOT - Francis RAPHAEL  
 Antoine RASPILLER - Denis REGENT - Michel RENARD - Jacques ROLAND - Daniel SCHMITT - Michel SCHMITT  
 Michel SCHWEITZER - Daniel SIBERTIN-BLANC - Claude SIMON - Danièle SOMMELET - Jean-François STOLTZ  
 Michel STRICKER - Gilbert THIBAUT - Gérard VAILLANT - Paul VERT - Hervé VESPIGNANI - Colette VIDAILHET  
 Michel VIDAILHET - Jean-Pierre VILLEMOT - Michel WEBER

=====

## PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Etienne ALIOT - Professeur Gérard BARROCHE - Professeur Pierre BEY – Professeur Serge BRIANÇON  
Professeur Jean-Pierre CRANCE - Professeur Gilbert FAURE - Professeur Alain GERARD - Professeure Michèle KESSLER -  
Professeur Jacques LECLÈRE - Professeur Alain LE FAOU - Professeur Jean-Marie GILGENKRANTZ - Professeure Simone  
GILGENKRANTZ – Professeur Gilles GROSDIDIER - Professeur Philippe HARTEMANN - Professeur François KOHLER  
Professeur Alain LE FAOU - Professeur Pierre MONIN - Professeur Jean-Pierre NICOLAS – Professeur Luc PICARD -  
Professeur François PLENAT Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC - Professeur Jean-François STOLTZ - Professeur Paul  
VERT - Professeur Michel VIDAILHET

=====

## PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

(Disciplines du Conseil National des Universités)

### 42<sup>ème</sup> Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

#### 1<sup>ère</sup> sous-section : (Anatomie)

Professeur Marc BRAUN – Professeure Manuela PEREZ

#### 2<sup>ème</sup> sous-section : (Histologie, embryologie et cytogénétique)

Professeur Christo CHRISTOV – Professeur Bernard FOLIGUET

#### 3<sup>ème</sup> sous-section : (Anatomie et cytologie pathologiques)

Professeur Jean-Michel VIGNAUD – Professeur Guillaume GAUCHOTTE

### 43<sup>ème</sup> Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

#### 1<sup>ère</sup> sous-section : (Biophysique et médecine nucléaire)

Professeur Gilles KARCHER – Professeur Pierre-Yves MARIE – Professeur Pierre OLIVIER

#### 2<sup>ème</sup> sous-section : (Radiologie et imagerie médicale)

Professeur René ANXIONNAT - Professeur Alain BLUM - Professeur Serge BRACARD - Professeur Michel CLAUDON

Professeure Valérie CROISÉ-LAURENT - Professeur Jacques FELBLINGER

### 44<sup>ème</sup> Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

#### 1<sup>ère</sup> sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)

Professeur Jean-Louis GUEANT - Professeur Bernard NAMOUR - Professeur Jean-Luc OLIVIER

#### 2<sup>ème</sup> sous-section : (Physiologie)

Professeur Christian BEYAERT - Professeur Bruno CHENUÉL - Professeur François MARCHAL

#### 4<sup>ème</sup> sous-section : (Nutrition)

Professeur Didier QUILLIOT - Professeure Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT - Professeur Olivier ZIEGLER

### 45<sup>ème</sup> Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

#### 1<sup>ère</sup> sous-section : (Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière)

Professeur Alain LOZNIEWSKI – Professeure Evelyne SCHVOERER

#### 2<sup>ème</sup> sous-section : (Parasitologie et Mycologie)

Professeure Marie MACHOUART

#### 3<sup>ème</sup> sous-section : (Maladies infectieuses ; maladies tropicales)

Professeur Thierry MAY - Professeure Céline PULCINI - Professeur Christian RABAUD

### 46<sup>ème</sup> Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

#### 1<sup>ère</sup> sous-section : (Épidémiologie, économie de la santé et prévention)

Professeur François ALLA - Professeur Francis GUILLEMIN - Professeur Denis ZMIROU-NAVIER

#### 3<sup>ème</sup> sous-section : (Médecine légale et droit de la santé)

Professeur Henry COUDANE

#### 4<sup>ème</sup> sous-section : (Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication)

Professeure Eliane ALBUISSON - Professeur Nicolas JAY

### 47<sup>ème</sup> Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

#### 1<sup>ère</sup> sous-section : (Hématologie ; transfusion)

Professeur Pierre FEUGIER

#### 2<sup>ème</sup> sous-section : (Cancérologie ; radiothérapie)

Professeur Thierry CONROY - Professeur François GUILLEMIN - Professeur Didier PEIFFERT - Professeur Frédéric MARCHAL

#### 3<sup>ème</sup> sous-section : (Immunologie)

Professeur Marcelo DE CARVALHO-BITTENCOURT – Professeure Marie-Thérèse RUBIO

#### 4<sup>ème</sup> sous-section : (Génétique)

Professeur Philippe JONVEAUX - Professeur Bruno LEHEUP

**48<sup>ème</sup> Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence)**

Professeur Gérard AUDIBERT - Professeur Hervé BOUAZIZ - Professeur Thomas FUCHS-BUDER  
Professeure Marie-Reine LOSSER - Professeur Claude MEISTELMAN

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Réanimation ; médecine d'urgence)**

Professeur Pierre-Édouard BOLLAERT - Professeur Sébastien GIBOT - Professeur Bruno LÉVY

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie)**

Professeur Pierre GILLET - Professeur Jean-Yves JOUZEAU - Professeur Patrick NETTER

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie)**

Professeur François PAILLE - Professeur Patrick ROSSIGNOL - Professeur Faiez ZANNAD

**49<sup>ème</sup> Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP ET RÉÉDUCATION**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Neurologie)**

Professeur Marc DEBOUVERIE - Professeur Louis MAILLARD - Professeur Luc TAILLANDIER - Professeure Louise TYVAERT

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Neurochirurgie)**

Professeur Jean AUQUE - Professeur Thierry CIVIT - Professeure Sophie COLNAT-COULBOIS - Professeur Olivier KLEIN

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Psychiatrie d'adultes ; addictologie)**

Professeur Jean-Pierre KAHN - Professeur Raymund SCHWAN

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Pédopsychiatrie ; addictologie)**

Professeur Bernard KABUTH

**5<sup>ème</sup> sous-section : (Médecine physique et de réadaptation)**

Professeur Jean PAYSANT

**50<sup>ème</sup> Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE ET CHIRURGIE PLASTIQUE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Rhumatologie)**

Professeure Isabelle CHARY-VALCKENAERE - Professeur Damien LOEUILLE

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie orthopédique et traumatologique)**

Professeur Laurent GALOIS - Professeur Didier MAINARD - Professeur Daniel MOLE - Professeur François SIRVEAUX

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Dermato-vénéréologie)**

Professeur Jean-Luc SCHMUTZ

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie)**

Professeur François DAP - Professeur Gilles DAUTEL - Professeur Etienne SIMON

**51<sup>ème</sup> Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Pneumologie ; addictologie)**

Professeur Jean-François CHABOT - Professeur Ari CHAOUAT - Professeur Yves MARTINET

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Cardiologie)**

Professeur Edoardo CAMENZIND - Professeur Christian de CHILLOU DE CHURET - Professeur Yves JUILLIERE

Professeur Nicolas SADOUL

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie thoracique et cardiovasculaire)**

Professeur Thierry FOLLIGUET - Professeur Juan-Pablo MAUREIRA

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire)**

Professeur Sergueï MALIKOV - Professeur Denis WAHL – Professeur Stéphane ZUILY

**52<sup>ème</sup> Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF ET URINAIRE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie)**

Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI - Professeur Laurent PEYRIN-BIROULET

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Néphrologie)**

Professeur Luc FRIMAT - Professeure Dominique HESTIN

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Urologie)**

Professeur Pascal ESCHWEGE - Professeur Jacques HUBERT

**53<sup>ème</sup> Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE, CHIRURGIE GÉNÉRALE ET MÉDECINE GÉNÉRALE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie)**

Professeur Athanase BENETOS - Professeur Jean-Dominique DE KORWIN - Professeure Gisèle KANNY

Professeure Christine PERRET-GUILLAUME – Professeur Roland JAUSSAUD – Professeure Laure JOLY

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie générale)**

Professeur Ahmet AYAV - Professeur Laurent BRESLER - Professeur Laurent BRUNAUD

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Médecine générale)**

Professeur Jean-Marc BOIVIN – Professeur Paolo DI PATRIZIO

**54<sup>ème</sup> Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Pédiatrie)**

Professeur Pascal CHASTAGNER - Professeur François FEILLET - Professeur Jean-Michel HASCOET  
Professeur Emmanuel RAFFO - Professeur Cyril SCHWEITZER

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie infantile)**

Professeur Pierre JOURNEAU - Professeur Jean-Louis LEMELLE

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale)**

Professeur Philippe JUDLIN - Professeur Olivier MOREL

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale)**

Professeur Bruno GUERCI - Professeur Marc KLEIN - Professeur Georges WERYHA

**55<sup>ème</sup> Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Oto-rhino-laryngologie)**

Professeur Roger JANKOWSKI - Professeure Cécile PARIETTI-WINKLER

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Ophtalmologie)**

Professeure Karine ANGIOI - Professeur Jean-Paul BERROD - Professeur Jean-Luc GEORGE

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie)**

Professeure Muriel BRIX

=====

**PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS**

**61<sup>ème</sup> Section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL**

Professeur Walter BLONDEL

**64<sup>ème</sup> Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE**

Professeure Sandrine BOSCHI-MULLER

=====

**PROFESSEUR ASSOCIÉ DE MÉDECINE GÉNÉRALE**

Professeur associé Sophie SIEGRIST

=====

**MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS**

**42<sup>ème</sup> Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Anatomie)**

Docteur Bruno GRIGNON

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Histologie, embryologie et cytogénétique)**

Docteure Chantal KOHLER

**43<sup>ème</sup> Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Biophysique et médecine nucléaire)**

Docteur Jean-Marie ESCANYE

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Radiologie et imagerie médicale)**

Docteur Damien MANDRY - Docteur Pedro TEIXEIRA

**44<sup>ème</sup> Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)**

Docteure Shyue-Fang BATTAGLIA - Docteure Sophie FREMONT - Docteure Isabelle AIMONE-GASTIN  
Docteure Catherine MALAPLATE-ARMAND - Docteur Marc MERTEN - Docteur Abderrahim OUSSALAH

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Physiologie)**

Docteure Silvia DEMOULIN-ALEXIKOVA - Docteur Mathias POUSSEL

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Biologie Cellulaire)**

Docteure Véronique DECOT-MAILLERET

**45<sup>ème</sup> Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière)**

Docteure Corentine ALAUZET - Docteure Hélène JEULIN - Docteure Véronique VENARD

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Parasitologie et mycologie)**

Docteure Anne DEBOURGOGNE

**46<sup>ème</sup> Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Epidémiologie, économie de la santé et prévention)**

Docteure Nelly AGRINIER - Docteur Cédric BAUMANN - Docteur Frédérique CLAUDOT - Docteur Alexis HAUTEMANIÈRE

**2<sup>ème</sup> sous-section (Médecine et Santé au Travail)**

Docteure Isabelle THAON

**3<sup>ème</sup> sous-section (Médecine légale et droit de la santé)**

Docteur Laurent MARTRILLE

**47<sup>ème</sup> Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Hématologie ; transfusion)**

Docteure Aurore PERROT – Docteur Julien BROSEUS (*stagiaire*)

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Cancérologie ; radiothérapie)**

Docteure Lina BOLOTINE – Docteur Guillaume VOGIN (*stagiaire*)

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Génétique)**

Docteure Céline BONNET - Docteur Christophe PHILIPPE

**48<sup>ème</sup> Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE**

**2<sup>ème</sup> sous-section : (Réanimation ; Médecine d'urgence)**

Docteur Antoine KIMMOUN

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie)**

Docteur Nicolas GAMBIER - Docteure Françoise LAPICQUE - Docteur Julien SCALA-BERTOLA

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Thérapeutique ; Médecine d'urgence ; addictologie)**

Docteur Nicolas GIRERD

**50<sup>ème</sup> Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE ET CHIRURGIE PLASTIQUE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Rhumatologie)**

Docteure Anne-Christine RAT

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Dermato-vénéréologie)**

Docteure Anne-Claire BURSZEJN

**4<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie)**

Docteure Laetitia GOFFINET-PLEUTRET

**51<sup>ème</sup> Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE**

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire)**

Docteur Fabrice VANHUYSE

**52<sup>ème</sup> Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF ET URINAIRE**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie)**

Docteur Jean-Baptiste CHEVAUX

**53<sup>ème</sup> Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE, CHIRURGIE GÉNÉRALE ET MÉDECINE GÉNÉRALE**

**3<sup>ème</sup> sous-section : (Médecine générale)**

Docteure Elisabeth STEYER

**54<sup>ème</sup> Section : DEVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**

**5<sup>ème</sup> sous-section : (Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale)**

Docteure Isabelle KOSCINSKI

**55<sup>ème</sup> Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU**

**1<sup>ère</sup> sous-section : (Oto-Rhino-Laryngologie)**

Docteur Patrice GALLET

=====

**MAÎTRES DE CONFÉRENCES**

**5<sup>ème</sup> Section : SCIENCES ÉCONOMIQUES**

Monsieur Vincent LHUILLIER

**7<sup>ème</sup> Section : SCIENCES DU LANGAGE : LINGUISTIQUE ET PHONETIQUE GENERALES**

Madame Christine DA SILVA-GENEST

**19<sup>ème</sup> Section : SOCIOLOGIE, DÉMOGRAPHIE**

Madame Joëlle KIVITS

**60<sup>ème</sup> Section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE, GÉNIE CIVIL**

Monsieur Alain DURAND

**64<sup>ème</sup> Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE**

Madame Marie-Claire LANHERS - Monsieur Nick RAMALANJAONA - Monsieur Pascal REBOUL

**65<sup>ème</sup> Section : BIOLOGIE CELLULAIRE**

Madame Nathalie AUCHET - Madame Natalia DE ISLA-MARTINEZ - Monsieur Jean-Louis GELLY

Madame Céline HUSELSTEIN - Madame Ketsia HESS – Monsieur Hervé MEMBRE - Monsieur Christophe NEMOS

**66<sup>ème</sup> Section : PHYSIOLOGIE**

Monsieur Nguyen TRAN

=====  
**MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE**

Docteur Pascal BOUCHE – Docteur Olivier BOUCHY - Docteur Arnaud MASSON – Docteur Cédric BERBE

Docteur Jean-Michel MARTY

=====  
**DOCTEURS HONORIS CAUSA**

Professeur Charles A. BERRY (1982)  
*Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)*  
Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)  
*Brown University, Providence (U.S.A)*  
Professeure Mildred T. STAHLMAN (1982)  
*Vanderbilt University, Nashville (U.S.A)*  
Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)  
*Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)*  
*Université de Pennsylvanie (U.S.A)*  
Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)  
*Research Institute for Mathematical Sciences de  
Kyoto (JAPON)*

Professeure Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS (1996)  
Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)  
*Université d'Helsinki (FINLANDE)*  
Professeur Duong Quang TRUNG (1997)  
*Université d'Hô Chi Minh-Ville (VIËTNAM)*  
Professeur Daniel G. BICHET (2001)  
*Université de Montréal (Canada)*  
Professeur Marc LEVENSTON (2005)  
*Institute of Technology, Atlanta (USA)*

Professeur Brian BURCHELL (2007)  
*Université de Dundee (Royaume-Uni)*  
Professeur Yunfeng ZHOU (2009)  
*Université de Wuhan (CHINE)*  
Professeur David ALPERS (2011)  
*Université de Washington (U.S.A)*  
Professeur Martin EXNER (2012)  
*Université de Bonn (ALLEMAGNE)*

## REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Luc Frimat  
Professeur de Néphrologie, CHRU Nancy

Vous me faites l'honneur de juger et de présider mon travail de thèse.  
Je vous suis reconnaissante pour votre accueil dans cette spécialité  
captivante, votre aide et votre soutien dans mes choix, ainsi que votre  
bienveillance tout au long de mon parcours.  
Je vous remercie d'avoir partagé vos connaissances et votre expérience.  
Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect et de ma sincère  
gratitude.

A Madame le Professeur Marie-Thérèse Rubio  
Professeur en Hématologie, Médecine Interne, CHRU Nancy

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites en acceptant de juger mon travail de thèse.

Soyez assurée de ma sincère gratitude et mon profond respect.

A Monsieur le Professeur DE CARVALHO BITTENCOURT Marcelo  
Professeur en Immunologie, CHRU Nancy

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites en acceptant de juger mon travail.

Je vous remercie d'avoir cru en un premier projet de thèse, et aurais été ravie de travailler avec vous.

Soyez assuré de mon profond respect et de mes sincères remerciements.

A Madame le Docteur Alice Aarnink  
Docteur en Immunologie Biologie Histocompatibilité, CHRU Nancy

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites en dirigeant ce travail.  
Merci pour votre encadrement et pour votre accueil au sein de votre laboratoire.

Je vous remercie également pour la transmission de vos connaissances, votre patience et votre disponibilité.

Merci de m'avoir fait découvrir une spécialité à la fois complexe et passionnante que j'espère pouvoir continuer à explorer.

Veillez trouver ici l'expression de mon profond respect, de mon admiration et de ma reconnaissance.

A Madame le Docteur Sophie Girerd  
Praticien Hospitalier en Néphrologie, CHRU Nancy

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites en dirigeant ce travail.  
Je vous remercie également d'avoir cru en ce travail à la frontière de la  
néphrologie.

Merci de m'avoir soutenu et conseillé pour la réalisation de celui-ci.

Merci pour la transmission de vos connaissances tout au long de ma  
formation. J'ai apprécié travailler à vos côtés.

Soyez assurée de l'expression de ma gratitude et de mon profond respect.

A Pierre, mon mari, qui me soutient au quotidien, m'encourage et m'épaule pour tous les aspects de ma vie. Parce qu'« il n'y a que l'amour qui nous rende à nous-mêmes », je te remercie pour ton amour, tu es mon oxygène.

A ma famille pour leur soutien indéfectible, ma sœur Aurélia, mes parents Isabelle et Jean-Philippe, mes grands-parents André et Jacques, mon oncle Jean-Claude et ma cousine Jennifer. Ces quelques lignes ne suffiront pas à vous témoigner toute mon affection et ma reconnaissance. Vous m'avez soutenu dans mes choix même les plus originaux, m'avez supporté (dans les deux sens du terme) et encouragé dans les épreuves. Je serai toujours à vos côtés pour affronter la vie et partager des moments heureux. Vous êtes le noyau de ma vie.

A Claude qui nous a quitté trop tôt et qui aurait aimé être là pour fêter l'aboutissement de ce long travail et à laquelle je pense tout particulièrement.

A ma belle-famille, Christine, Frédéric, Pauline, Thomas, Matthieu, qui m'a accueilli chaleureusement.

A mes amies de longue date, Barbara et Sarah. Merci pour votre amitié sincère et solide qui m'est précieuse. Je vous remercie pour votre soutien inébranlable. Malgré la distance qui nous a séparé et mes études chronophages, vous êtes restées à mes côtés et je vous en remercie.

A Coraline et Marie, merci pour ces moments passés ensemble, vous m'aidez à déconnecter de la médecine et je vous en remercie.

A Céline, Adenike, Mickael. Notre amitié a survécu au dévastateur ECN. Merci pour vos encouragements et votre soutien.

A Anaïs, Arnaud, Clotilde, Laurent, merci pour ces gouter-potins du 5<sup>e</sup>, ces soirées TBC, ces balades à vélo et tous ces moments qui ont participé à rendre cet internat agréable.

A mes co-M2, Lola, Julie, je vous remercie pour votre bonne humeur et votre soutien dans ce chemin semé d'embûches.

A mes co-internes nancéens: Alice, Emilie, le 11e était devenu notre chez nous, merci pour votre bonne humeur et ces moments mémorables ensemble. Arielle, ma co-interne, ma chef, merci pour ta folie, ta lucidité et ton soutien que m'ont aidé dans ce parcours. Aux jeunes et moins jeunes, Sophie, Perrine, Benjamin, Arnaud, Alexandre, Ophélie, Johan, Clément, Fleuria, Asma, Nicolas, Mael, Laurie-Mathilde, Lucille, Clémence, Jean-Baptiste, Cyril, je vous remercie pour votre sympathie, votre grain de folie et votre soutien.

A mes chefs nancéens et meusiens, Emmanuelle, Marc, Joelle, Nicolas, Acetou, Dr Bindi, Dr Gilson, je vous remercie pour votre accueil au sein de l'équipe, la transmission de vos connaissances et votre accompagnement pendant mon internat.

A toute l'équipe de la néphrologie du CHRU de Nancy, merci de votre patience et votre accueil chaleureux.

A mes co-internes parisiens, Dolly, Kevin, Maureen, Sophie, Delphine, Marianne, Hortense, merci pour ces moments passés ensemble et de m'avoir supporté pendant la dernière ligne droite de la préparation de cette thèse.

A Carmen et Denis, et l'équipe de St Louis je vous remercie pour la gentillesse de votre accueil, de m'avoir accordé votre confiance pour la suite.

Enfin mes remerciements les plus sincères à tous ceux qui ont de près ou de loin contribué à la réussite de mon parcours et à mon épanouissement personnel, et qui n'ont pas trouvé leur nom dans ces quelques lignes.

## SERMENT

« **A**u moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque ».

## ABREVIATIONS

REIN : Réseau Epidémiologie et Information en Néphrologie  
CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité  
HLA : Human Leukocyte Antigen  
TNF : Tumor Necrosis Factor  
TCR : T cell receptor  
LCT : Lymphocytotoxicité  
UTR : Untranslated Transcribed Region  
PCR-SSP : Polymerase Chain Reaction - Single Specific Primer  
PCR-SSO : Polymerase Chain Reaction - Sequence Specific Oligonucleotide probes  
NGS : New Generation Sequencing  
CPA : Cellules présentatrices d'antigènes  
BCR : B-Cell Receptor  
IL-2 : Interleukine 2  
INF-g : Interféron gamma  
NK : Cellules natural killer  
DSA : Donor Specific Antibody  
MAC : Complexe d'attaque membranaire  
ADCC : Antibody dependent cellular cytotoxicity  
CDR : Complementarity determining regions  
UNOS : United Network for Organ Sharing  
PFD : Probability of finding a donor  
EpMS : Score d'éplets incompatibles  
GvHa : Réaction aigue du greffon contre l'hôte  
EMS : Score d'incompatibilité électrostatique  
HMS : Score d'incompatibilité hydrophobique  
AMS : Score d'incompatibilité d'acides aminés  
CREG : Cross-reactive antigen groups  
NMDP : National Marrow Donor Program  
MLR : Mixed Lymphocyte Reaction  
PIRCHE II : Predicted Indirectly ReCognizable HLA Epitopes presented by HLA class II

# SOMMAIRE

LISTE DES PROFESSEURS .....	2
REMERCIEMENTS .....	8
SERMENT.....	14
ABREVIATIONS .....	15
SOMMAIRE.....	16
INTRODUCTION .....	17
A. Généralités .....	17
1. Insuffisance rénale et Transplantation .....	17
2. Le système HLA.....	17
3. Physiopathologie.....	22
4. Rejets.....	26
5. Anticorps anti-HLA et DSA.....	28
B. Compatibilité HLA en TR.....	30
1. Compatibilité sérologique/antigénique .....	30
2. Compatibilité épitopique : nouveau concept.....	30
3. Impact des propriétés physico-chimiques .....	35
C. Problématique et objectif de l'étude .....	37
ARTICLE .....	38
Abstract.....	40
Introduction .....	41
Materials and Methods .....	43
Results .....	48
Discussion .....	52
Conclusion .....	56
Acknowledgments.....	57
Conflict of interest.....	58
Reference list.....	59
Tables.....	61
Figures.....	70
Supplementary data.....	75
DISCUSSION/ SYNTHESE / OUVERTURE.....	79
A. Avantages de notre cohorte .....	79
B. Résultats.....	80
1. Compatibilité antigénique/allélique .....	80
2. Compatibilité épitopique .....	81
3. Compatibilité physico-chimique.....	81
4. Meilleur prédicteur ? .....	82
C. Limites de notre cohorte.....	82
D. Utilisation en clinique.....	83
E. Autres méthodes d'évaluation de la compatibilité.....	84
1. Hypothèse du « non-self-self ».....	84
2. Épitope des lymphocytes T .....	85
Conclusion .....	86
REFERENCES.....	87

# INTRODUCTION

## A. Généralités

### 1. Insuffisance rénale et Transplantation

L'insuffisance rénale chronique est de nos jours une pathologie sévère fréquente et en progression. En France en 2015 le registre de Réseau Epidémiologie et Information en Néphrologie (REIN) recensait 11093 nouveaux patients ayant débuté un premier traitement de suppléance pour insuffisance rénale terminale et 82295 patients en cours de traitement pour une insuffisance rénale chronique terminale, soit environ 1 français sur 1000<sup>1</sup>. De nos jours les options thérapeutiques sont la dialyse qui comptait 45862 patients hémodialysés ou en dialyse péritonéale et la transplantation rénale avec 36433 patients transplantés. La transplantation rénale est actuellement le traitement de choix de l'insuffisance rénale chronique terminale avec une mortalité et une morbidité moins importantes qu'en dialyse, respectivement 2% versus 18,6%.

L'histoire de la transplantation rénale débute en 1952 avec la première transplantation à l'hôpital Necker d'un patient de 16 ans avec le rein de sa mère. Après des suites opératoires simples, un « soudain arrêt fonctionnel du greffon » est survenu à 22 jours post-greffe. L'hypothèse évoquée alors était un rejet du greffon. D'autres tentatives ont été entreprises dès 1954 avec initialement des transplantations de jumeaux non homozygotes lourdement immunodéprimés pour prévenir ces phénomènes de rejets. Dès lors grâce à l'essor et l'optimisation des traitements immunosuppresseurs, le nombre de transplantation rénale n'a cessé d'augmenter à partir de donneur vivant ou cadavérique

### 2. Le système HLA

Avec le système ABO, le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) est la clé immunologique de la transplantation rénale. En effet c'est le système de reconnaissance du soi et du non-soi présent chez la plupart des vertébrés et identifié chez l'homme sous le nom de système HLA pour *Human Leukocyte Antigen*. Certaines molécules HLA sont présentes à la surface de toutes les cellules nucléées du corps humain et d'autres sont plus spécifiquement exprimées sur les cellules de surveillance du système immunitaire que sont les cellules présentatrices d'antigènes. Les molécules HLA permettent de présenter aux lymphocytes T, principaux acteurs de l'immunité adaptative, les antigènes du soi et du non-soi. La présentation de ces derniers va alors déclencher une réponse immunitaire via l'activation des lymphocytes T.

Les molécules du HLA présentent la caractéristique d'être les molécules les plus polymorphes mis en évidence dans l'espèce humaine. Ce terme « polymorphisme » désigne les différences entre deux êtres d'une même espèce, chez qui un phénotype, ou caractère, est présent sous au moins deux formes, ou allèles.

## Découverte du système HLA

Le complexe majeur d'histocompatibilité fut découvert et nommé ainsi par Peter Görer en 1936 à la suite d'expérience de rejet de greffon chez des souris. Chez l'homme, ce n'est qu'en 1952 que Jean Dausset le mettra en évidence sur les leucocytes à l'occasion de transfusions sanguines chez des sujets immunisés, et lui donnera le nom de système HLA, pour lequel il obtiendra le prix Nobel en 1980. Les premières molécules découvertes ont été définies comme appartenant à des molécules HLA de classe I et le polymorphisme de ces molécules sera exploré dès 1958<sup>2</sup>. La découverte des molécules HLA de classe II aura lieu plus tardivement avec l'avènement de nouvelles techniques de détection qui permettront de mettre en lumière l'énorme polymorphisme des molécules HLA de classe I et II.

## Définition et structure du HLA

Chez l'homme, le complexe majeur d'histocompatibilité est une région du génome qui s'étend sur 7,6 mégabases située sur le bras court du chromosome 6. Sa carte génétique établie en 1999<sup>3</sup> révèle plus de 250 gènes dont seul 60% d'entre eux seraient exprimés. Le système HLA appartient au complexe majeur d'histocompatibilité et ne représente que 3,6 mégabases. Seuls 9 gènes sont actuellement étudiés en transplantation d'organe, il s'agit des gènes codant les molécules HLA dites classiques (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1, HLA-DPB1, HLA-DQA1, HLA-DPA1, HLA-DRB3, HLA-DRB4 et HLA-DRB5) qui ont la particularité de présenter un énorme polymorphisme. Ces gènes sont présents dans l'espèce humaine sous différents variants, appelés allèles. Chaque individu possède deux copies de chaque gène, une provenant de sa mère et une de son père. Si par hasard, les deux parents ont transmis un allèle identique, l'individu est alors homozygote pour ce gène. Si les allèles transmis sont différents, l'individu est dit hétérozygote pour ce gène. L'expression des gènes HLA est de caractère codominant, c'est-à-dire que les deux molécules codées par les deux allèles transmis sont exprimées à la surface des cellules.

Les gènes du système HLA sont divisés en trois grandes classes selon leurs caractéristiques structurelles et fonctionnelles :

- les gènes HLA de classe I codent pour des molécules HLA constituées de deux chaînes, une chaîne de  $\beta$ 2microglobuline invariante (codé par un gène situé sur le chromosome 15) et une chaîne alpha polymorphe constituée de trois domaines extracellulaires dont les domaines alpha 1 et 2 constituent le sillon peptidique, où vient se loger, après apprêtement, le fragment d'antigène du soi ou du non-soi. Trois gènes de classe I sont étudiés en transplantations d'organes : HLA-A, -B et -C (figure 1).
- les gènes HLA de classe II codent pour des molécules constituées d'un hétérodimère d'une chaîne alpha et d'une chaîne beta constituées chacune de deux domaines extracellulaires ( $\alpha$ 1 et  $\alpha$ 2 ;  $\beta$ 1 et  $\beta$ 2 respectivement). Le sillon peptidique est formé par les segments alpha 1 et beta 1. Trois molécules sont étudiées en transplantation d'organes les molécules DR, DQ et DP respectivement codées par les gènes des chaînes alpha HLA-DRA, -DQA1, -DPA1 et des chaînes bêta HLA-DRB1, -DRB3, -DRB4, -DRB5, -DQB1 et -DPB1 (figure 1). Les gènes HLA-DRB1, -DQB1 et -DPB1 sont les plus polymorphes et étudiés en priorité en transplantation d'organe. Le gène HLA-DRA n'est jamais étudié car très peu polymorphe (seulement deux protéines différentes sont décrites dans l'espèce humaine).

- les gènes HLA de classe III situés entre les deux classes précédentes sont des gènes codant diverses protéines qui peuvent avoir un rôle dans la réponse immunitaire comme par exemple des facteurs du système du complément, le Tumor Necrosis Factor (TNF), ... L'ensemble de ces gènes sont très peu polymorphes, même invariant et ne sont pas étudiés pour la compatibilité donneur-receveur en transplantation d'organe.

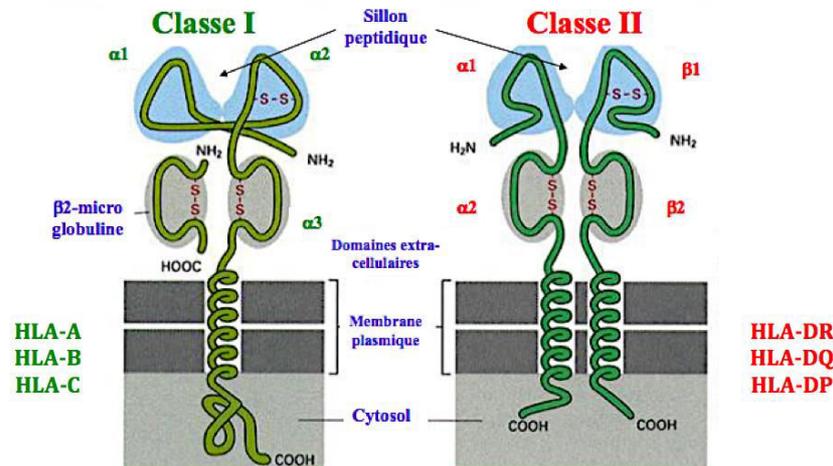


Figure 1: structure des molécules de CMH de classe I et II

Alors que les molécules de classe I sont exprimées à la surface de toutes les cellules nucléées et des plaquettes, l'expression des antigènes de classe II est plus sélective. Elles sont exprimées à l'état basal principalement sur les cellules présentatrices d'antigènes incluant les cellules dendritiques, les macrophages, les cellules épithéliales thymiques et les lymphocytes B.

Les molécules HLA classiques sont la porte d'entrée dans l'immunité adaptative car elles sont reconnues par les lymphocytes T CD4+ (pour les molécules HLA de classe II) et T CD8+ (pour les molécules HLA de classe I) via leur TCR (*T cell receptor*).

### Nomenclature HLA

La découverte de l'immense polymorphisme des molécules HLA a nécessité la mise en place d'une nomenclature internationale dès 1968<sup>4</sup>. Tous les allèles décrits sont répertoriés dans une base internationale commune appelée IMGT (*The international ImMunoGeneTics information system*) et mise à jour constamment.

Les nomenclatures utilisées pour la nomination des différentes molécules HLA est imposée par le comité international « *WHO nomenclature committee* »<sup>5</sup> et dépend de la technique utilisée pour la mise en évidence de l'allèle.

Actuellement, 17166 allèles HLA sont décrits dont 12544 en classe I et 4622 en classe II. Les nombres d'allèles pour les gènes les plus polymorphes décrits et répertoriés dans la database internationale sont indiqués dans le tableau suivant.

Gène HLA	A	B	C	DRB1	DQB1	DPB1
Allèles	3968	4828	3579	2103	1142	894

Tableau : Nombre d'allèles pour les gènes HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1, -DPB1 décrits en Juin 2017

Historiquement, la première technique utilisée pour décrire le polymorphisme des molécules HLA est la technique de lymphocytotoxicité (LCT) qui met en évidence par l'utilisation d'anticorps monoclonaux les molécules HLA exprimées à la surface des lymphocytes. Cette technique permet de distinguer des groupes de molécules HLA très différents les uns des autres mais ne permet pas de différencier des molécules HLA structurellement très proches. C'est une technique de typage dite de faible résolution. La nomenclature utilisée est très simple, par exemple : HLA-A24, HLA-B8, HLA-Cw5, HLA-DR15, HLA-DQ6. Pour le HLA-C la lettre w est ajoutée pour éviter la confusion avec les facteurs du complément : exemple : HLA-Cw1.

Les techniques de biologie moléculaire utilisent l'ADN de l'individu pour identifier les allèles des différents gènes. Dans ce cas, la nomenclature impose d'ajouter un astérisque après le locus pour préciser qu'il s'agit de typage obtenu à partir d'ADN. Suivant le degré de résolution de la technique utilisée, il est possible d'obtenir des typages HLA de 1 à 4 champs. Le 1<sup>er</sup> champ correspond *grosso modo* au typage obtenu par technique de LCT et correspond à un ensemble d'allèles présentant une séquence nucléotidique proche. L'association du 1<sup>er</sup> champ et du 2<sup>ème</sup> champ correspond à des allèles présentant la même protéine (la même séquence d'acides aminés). Le 3<sup>ème</sup> champ permet de distinguer les allèles présentant la même séquence d'acides aminés avec une séquence nucléotidique différente dans les exons. Cela est possible du fait de la redondance du code génétique (plusieurs codons d'acides nucléiques peuvent coder un même acide aminé, on parle de mutation synonyme). Le 4<sup>ème</sup> champ permet de distinguer des allèles identiques dans les exons avec une séquence nucléotidique différente dans les introns ou région UTR (*Untranslated Transcribed Region*) des gènes. Enfin, la nomenclature permet d'ajouter des précisions sur l'expression de la protéine sous forme de lettres lorsque cette dernière est particulière comme détaillé sur la figure 2. Un allèle nul correspond à un allèle qui ne produit pas de protéine fonctionnelle.

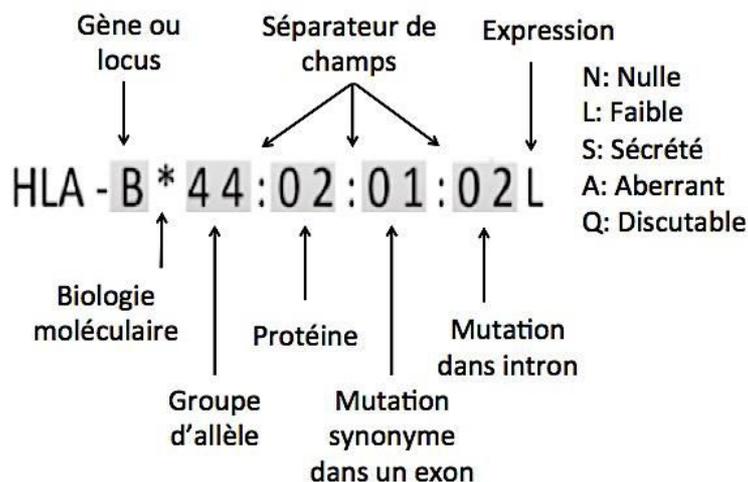


Figure 2 : Nomenclature HLA

### Méthode de phénotypage

Le phénotypage HLA correspond à l'utilisation de techniques de lymphocytotoxicité ou de biologie moléculaire dans le but de déterminer les allèles HLA portés par un individu. La technique de LCT consiste à analyser les molécules HLA exprimées à la surface alors que la biologie moléculaire s'intéresse aux gènes codant ces molécules dont certains ne sont pas exprimés à la surface (figure 3). Ces deux approches sont donc

complémentaires. Actuellement, il est possible de réaliser un typage pour HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DRB3, -DRB4, -DRB5, -DQB1, -DQA1, -DPB1, -DPA1.

Le typage par LCT est basé sur la détection des molécules HLA présentes sur les lymphocytes du sang circulant. Ces cellules obtenues à partir d'un prélèvement sanguin sont mises en contact avec des anticorps anti-HLA cytotoxiques de spécificité connue. En présence de complément de lapin, si les anticorps se fixent sur les antigènes (molécules HLA) à la surface des lymphocytes T ou B, le complément est activé et la cellule est lysée, et visualisable grâce à l'ajout d'un colorant vital. Les cellules vivantes sont visualisées en vert alors que les cellules mortes sont visualisées en rouge au microscope à fluorescence. Les molécules HLA de classe I peuvent être étudiés à partir de lymphocytes T et B alors que les molécules HLA de classe II ne peuvent être étudiés qu'à partir de lymphocytes B. Cette technique a l'avantage de confirmer qu'un allèle décrit en biologie moléculaire (à partir d'ADN) est exprimé à la membrane de la cellule ce qui n'est pas le cas des allèles nuls. Les allèles nuls sont des allèles qui du fait de mutations, d'insertions ou de suppressions de nucléotides ne permettent pas de coder une protéine exprimée. Cette technique n'est utilisable en routine que pour les loci HLA-A, -B, -DR et -DQ et présente une faible résolution de typage mais reste complémentaire des techniques de biologie moléculaire.

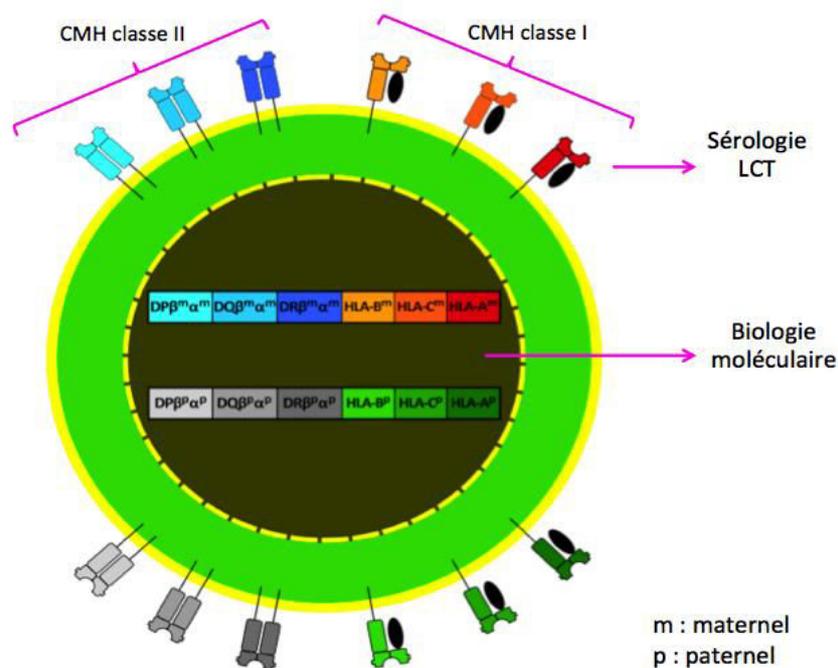


Figure 3 : Méthodes de phénotypage HLA

Plusieurs techniques de biologie moléculaire sont utilisées actuellement en routine dans les laboratoires d'histocompatibilité (HLA) français.

Les deux plus anciennes techniques encore utilisées sont les techniques de PCR-SSP et PCR-SSO (PCR, *Polymerase Chain Reaction*).

La PCR-SSP (*Single Specific Primer*) développée en 1992 utilise une méthode d'amplification dont les couples d'amorces sont complémentaires et spécifiques d'allèles ou groupes d'allèles. Si l'amplification a lieu, elle témoigne de la présence de l'allèle ou groupe d'allèles. Cette technique est actuellement utilisée en contexte de typage d'urgence notamment pour le typage des donneurs d'organes. Dans ce contexte, elle ne

permet pas l'assignation des allèles en 4 digits (c'est-à-dire des deux premiers champs) et donne pour résultat une liste d'allèles dont on déduit le plus probable en terme de fréquence. En typage d'urgence, cette technique est peu résolutive et laisse fréquemment des ambiguïtés à lever.

La PCR-SSO (*Sequence Specific Oligonucleotide probes*) implique une première étape d'amplification spécifique de locus (PCR) à l'aide d'amorces biotinylées qui s'hybrident dans les régions du gène d'intérêt. Ces produits d'amplification vont ensuite être mis en contact avec des sondes spécifiques d'allèles ou groupes d'allèles fixées sur un support. Actuellement, la PCR-SSO utilise la technologie du Luminex qui est un cytomètre doté de deux 2 lasers :

- un laser rouge permettant d'identifier les billes (=support) sur lesquelles sont fixées les sondes,
- un laser vert permettant de mesurer un signal. Dans notre cas, le signal mesuré est la fluorescence de la phycoérythrine couplée à la streptavidine qui révèle l'hybridation entre la sonde (accrochée sur la bille) et le produit d'amplification biotinylé.

Au fur et à mesure des années, le nombre de sondes est de plus en plus important et permet d'obtenir des résultats de plus en plus résolutifs laissant de moins en moins d'ambiguïtés. La technique de PCR-SSO permet de réaliser de nombreux typages HLA en peu de temps avec une résolution suffisante par rapport aux demandes actuelles de l'agence de biomédecine.

Les autres techniques utilisées en routine sont des techniques de séquençage Sanger (SBT) ou NGS (*New Generation Sequencing*) permettant de séquencer directement la séquence nucléotidique des exons codant les régions en contact avec le TCR des lymphocytes. Ces techniques sont utilisées principalement pour définir les typages HLA hautement résolutifs des donneurs et receveurs de cellules souches hématopoïétiques où la compatibilité HLA donneur/receveur doit être identique sur les loci HLA-A, -B, -C, DRB1 et -DQB1.

Comme nous l'avons vu, le système HLA est caractérisé par son extrême polymorphisme permettant ainsi une grande diversité génétique entre les humains.

Cette force qui rend chaque individu unique, est une faiblesse de la transplantation rénale. En effet depuis les années 1970 les connaissances du système HLA ont permis de mettre en évidence que les différences entre donneur et receveur en terme de phénotypage HLA sont responsables de l'activation du système immunitaire et de lésions du greffon rénal impactant ainsi sa survie.

### **3. Physiopathologie**

Depuis le succès de la première transplantation rénale en 1954, la transplantation est apparue comme étant la meilleure option thérapeutique de l'insuffisance rénale chronique terminale. Cependant, le donneur étant de la même espèce mais génétiquement différent, le receveur par son système immunitaire adaptatif est capable de reconnaître les allo-antigènes présents sur le greffon du donneur.

Les principaux allo-antigènes en transplantations d'organes sont les antigènes des groupes sanguins ABO et des molécules HLA. La réponse immunitaire développée contre ces allo-antigènes conduit à la destruction de l'organe transplanté selon un processus dit

de « rejet » qui reste de nos jours la première cause de perte de greffon. Plusieurs types de rejets sont décrits : rejet hyper-aigu (qui survient dans les minutes ou heures après la revascularisation du greffon), rejet aigu (qui est mis en évidence dans les 3 mois post-greffe) et rejet chronique (qui se manifeste plusieurs mois ou années post-greffe).

Chaque type de rejet a un mécanisme physiopathologie différent mais pour chacun d'entre eux, le point de départ est un mécanisme d'allo-reconnaissance que nous allons détailler ci-dessous.

Trois mécanismes d'allo-reconnaissance sont décrits (figure 4):

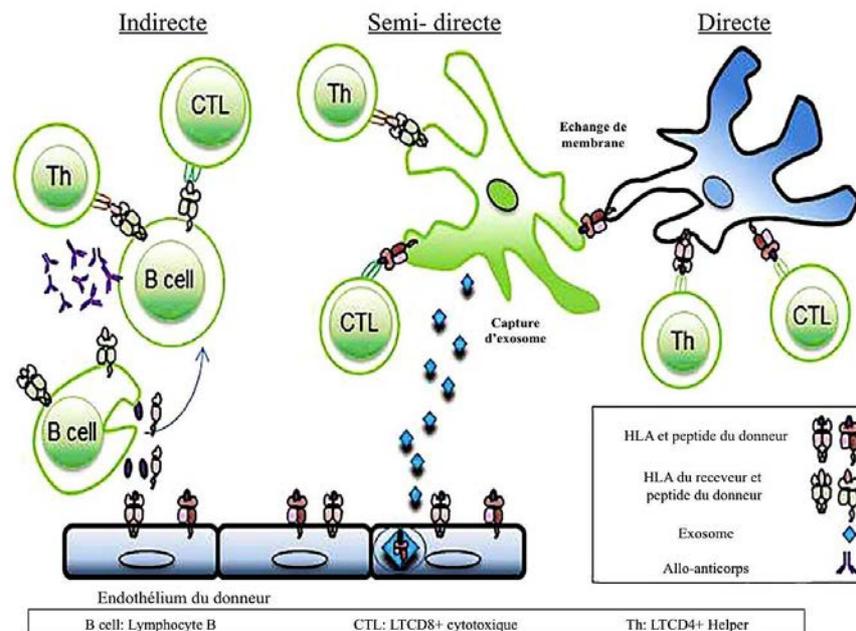


Figure 4: Trois modes de présentation antigénique<sup>6</sup> (les cellules bleues appartiennent au donneur et les cellules vertes au receveur)

- mécanisme d'allo-réactivité indirecte :  
où les protéines allogéniques du donneur sont internalisées, apprêtées par les cellules présentatrices de l'antigène (CPA) du receveur et reconnus par les lymphocytes T du receveur. En effet, les CPA du receveur attirées par le microenvironnement inflammatoire dû à la transplantation capturent les débris tissulaires et migrent vers les ganglions drainant le greffon. Aussi, des molécules solubles du donneur peuvent être transportées par voie sanguine vers les ganglions et présentés par les CPA du receveur. Ce mécanisme de reconnaissance correspond à une réponse immunitaire habituelle en cas par exemple d'infection. Le nombre de lymphocytes alloréactifs activés par ce mécanisme d'allo-réactivité indirecte se rapproche de celui observé pour un antigène étranger quelconque.

Pour rappel, alors que les lymphocytes B reconnaissent l'antigène natif par leur BCR (*B-Cell Receptor*, constituée d'une immunoglobuline de surface), les lymphocytes T CD4+ et CD8+ reconnaissent via leur TCR uniquement les antigènes présentés par les molécules HLA de classe II et de classe I respectivement. Le mécanisme d'apprêtement du peptide au sein de la molécule HLA diffère selon la nature de l'antigène (endogène ou exogène à la cellule) comme indiqué sur la figure 5. Les allo-antigènes rencontrés étant exogènes, ce sont essentiellement les molécules de CMH de classe II et les lymphocytes T CD4+ qui sont impliquées.

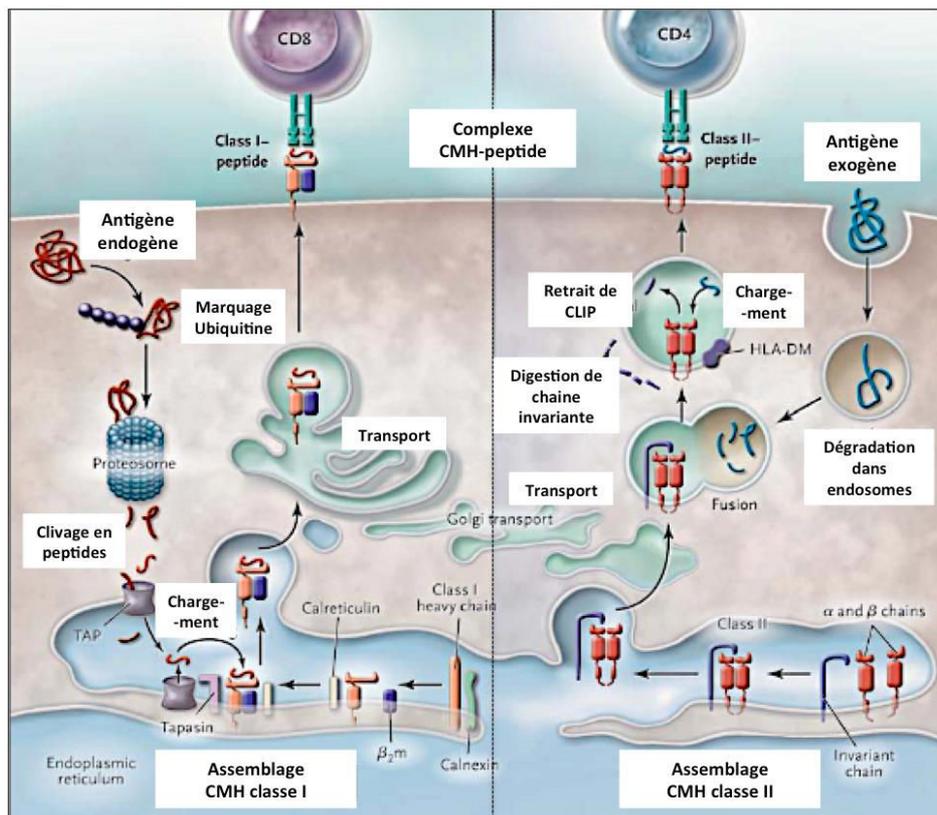


Figure 5 : Apprêtement peptidique (CMH-I : dégradation par le protéasome d'antigènes endogènes après marquage par ubiquitine, chargement après passage dans le réticulum endoplasmique à la molécule de CMH assemblée, adressage à la membrane ; CMH-II : dégradation dans les endosomes d'antigènes exogènes, chargement des peptides sur les molécules de CMH après digestion d'une chaîne invariante et retrait de la partie CLIP terminale sous contrôle d'une molécule HLA-DM, puis adressage à la membrane)

- mécanisme d'allo-réactivité directe :

où les lymphocytes T du receveur dits « allo-réactifs » sont capables de reconnaître directement les molécules HLA du donneur exprimées à la surface des CPA contenues dans le greffon. Entre 5 et 10% du répertoire des lymphocytes T d'un individu est allo-réactif vis-à-vis des molécules HLA d'un donneur présentant des molécules HLA différentes. Ceci est expliqué par le fait que les complexes [molécule HLA du receveur – peptide étranger] reconnus par les TCR des lymphocytes T (éduqués dans le thymus) présentent un mimétisme avec les complexes [molécules HLA du donneur – peptide donneur ou receveur].

Les cellules dendritiques immatures du donneur contenues dans le rein transplanté vont être sensibles à l'environnement inflammatoire engendré par la transplantectomie et la conservation extra corporelle du greffon et vont ainsi mûrir. Une augmentation de l'expression de CCR7 et des molécules d'adhésion sur les cellules dendritiques vont provoquer leur migration dans les ganglions lymphatiques du receveur drainant le greffon où elles vont devenir matures et être capables d'activer les lymphocytes T allo-réactifs du receveur.

- mécanisme d'allo-réactivité semi-directe :

où les cellules dendritiques du receveur « capteraient » des complexes [molécules HLA classe I du donneur – peptide donneur] par un mécanisme faisant intervenir des

exosomes<sup>7</sup> et pourraient ainsi présenter directement les molécules HLA classe I du donneur aux lymphocytes T allo-réactifs.

Pour rappel, l'activation des lymphocytes nécessite plusieurs signaux d'activation dont le premier est l'interaction entre les molécules HLA et les récepteurs TCR du lymphocyte T (*T-cell receptor*) décrit ci-dessus. Ce signal sera suivi d'un signal de co-stimulation grâce à l'interaction de co-récepteurs au sein d'une synapse immunologique. Cela conduira à l'activation de voies intracellulaires et à des facteurs de transcription aboutissant à la synthèse de cytokines activatrices de façon autocrine comme l'interleukine 2 (IL-2).

Après activation des lymphocytes T CD4+, il existe une coopération entre lymphocytes T et B au sein des organes lymphoïdes secondaires permettant la prolifération clonale de lymphocytes T CD4+ spécifiques d'antigènes de donneur et de lymphocytes B (Figure 6).

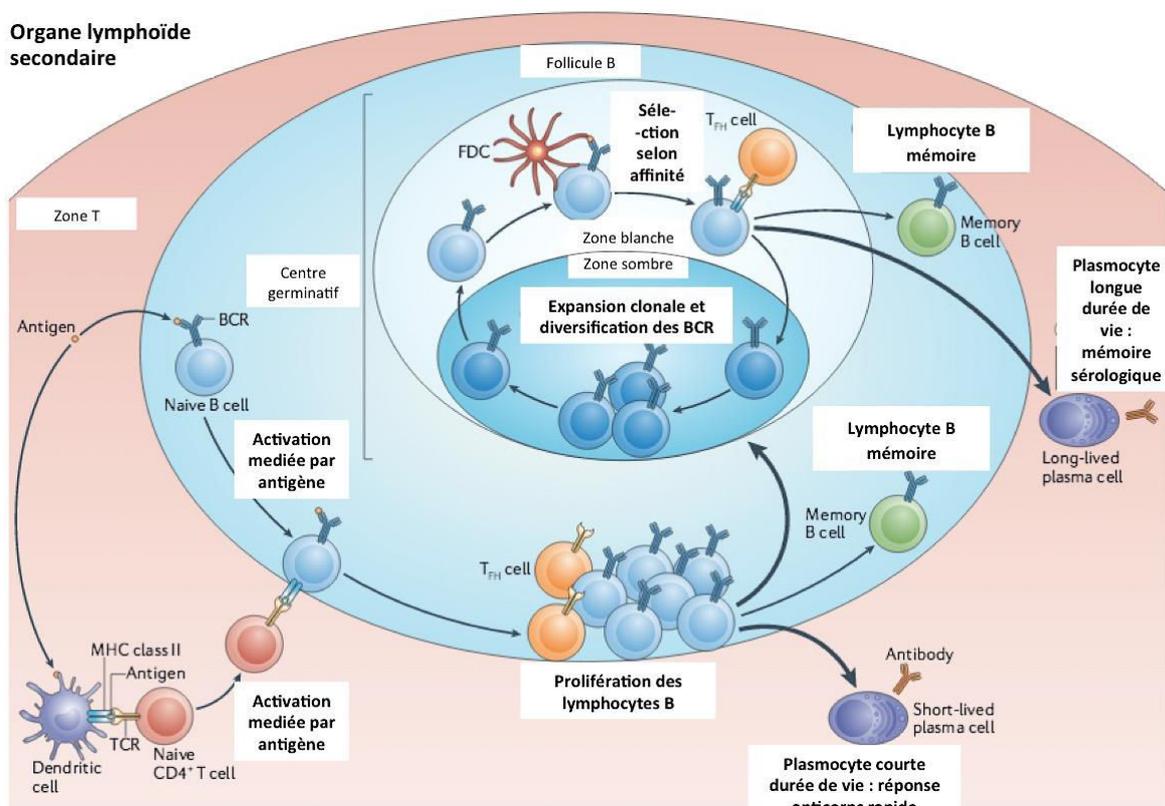


Figure 6 : activation des lymphocytes B, coopération B-T<sup>8</sup>

La réponse immunitaire est alors dirigée par les lymphocytes T auxiliaires CD4+ via la sécrétion de cytokines, permettant de réguler différentes cellules effectrices et d'orienter la réaction immunitaire vers une voie cellulaire et/ou humorale.

Les lésions de type cellulaires sont induites par les lymphocytes T CD8+ cytotoxiques spécifiques du donneur qui après reconnaissance des molécules HLA de classe I exprimées par les cellules du donneur vont conduire à la rupture de la membrane cellulaire ciblée et l'apoptose de la cellule par la sécrétion perforines/granzymes ou par action du système Fas/Fas-ligand. Les T auxiliaires CD4+ peuvent également, par la sécrétion d'interféron gamma (INF-g) activer de façon non spécifique des cellules natural killer (NK) et des macrophages capables d'induire des dommages tissulaires de façon non spécifique.

Les lésions de type humorales sont secondaires à la sécrétion d'anticorps de type IgG de haute affinité pour les antigènes du greffon (*Donor Specific Antibody, DSA*) par les plasmocytes de courte et/ou longue durée (figure 6). Après reconnaissance et liaison aux molécules HLA présentes à la surface des cellules endothéliales des vaisseaux de l'organe transplanté, les immunoglobulines fixées peuvent

- activer la voie classique du complément et conduire à la formation d'un complexe d'attaque membranaire (MAC) menant à l'apoptose de la cellule ciblée,
- entraîne l'ADCC (*Antibody dependent cellular cytotoxicity*) : les cellules NK, monocytes et polynucléaires neutrophiles possèdent des récepteurs au fragment constant des immunoglobulines et vont pouvoir lyser directement les cellules spécifiquement reconnues.

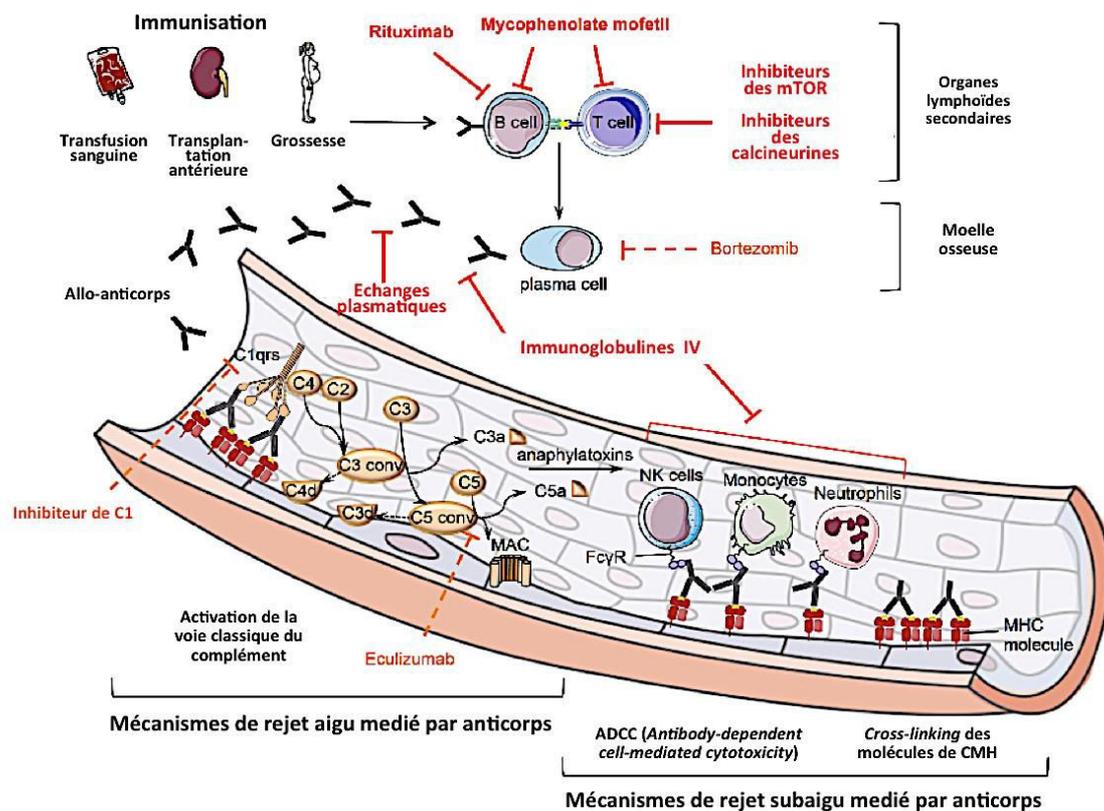


Figure 7 : schéma adapté des mécanismes lésionnels de rejet médié par les anticorps<sup>9</sup>

#### 4. Rejets

Ces réponses immunitaires adaptatives cellulaire et humorale vont avoir des actions distinctes histologiquement, source de la description de plusieurs formes de rejets histologiques.

La classification de BANFF 2015 regroupe les lésions histologiques retrouvées sur les biopsies de greffons rénaux<sup>10</sup>. Deux principales lésions sont définies : les rejets médiés par les lymphocytes T et ceux médiés par les anticorps.

### **Rejet médié par les lymphocytes T**

Grâce aux thérapeutiques actuelles, l'incidence du rejet aigu médié par les lymphocytes T ou cellulaire n'est plus que de 5 à 10% selon les études.

La symptomatologie clinique est le plus souvent limitée à une élévation sanguine de la créatinine reflétant la dégradation de la fonction rénale ainsi qu'une diminution de la diurèse quotidienne, associés ou non à de la fièvre. Ces épisodes surviennent souvent précocement après la transplantation.

Le mode de reconnaissance antigénique directe par les cellules présentatrices du donneur est principalement en cause.

Les lymphocytes T impliqués dans ce type de rejet utilisent des molécules d'adhésion pour rouler et adhérer à l'endothélium, et migrer à travers les capillaires péri-tubulaires pour entrer dans le greffon. Le contact des lymphocytes T CD4+ et CD8+ et des cellules épithéliales tubulaires est directement responsable des lésions tubulaires par l'action des cytokines qu'ils relarguent, tel que les TNF alpha et beta qui se lient aux récepteurs cellulaires du TNF sur les cellules endothéliales et tubulaires et induisent leur apoptose. L'infiltration interstitielle et la prolifération des lymphocytes T au sein du parenchyme conduit à un envahissement des tubules rénaux, appelé tubulite. Les cytokines inflammatoires sécrétées activent les cellules épithéliales tubulaires qui par la sécrétion de chimiokines recrutent davantage de lymphocytes T.

Grâce aux thérapeutiques actuelles ciblant particulièrement les lymphocytes T, ce type de rejet médié par les lymphocytes T tend à diminuer. Son traitement par doses importantes de corticoïdes est le plus souvent efficace et permet un retour à la fonction rénale initiale. L'impact de ces épisodes à plus long terme n'est pas connu.

Cependant ces lésions peuvent conduire à une transformation fibreuse et une atrophie tubulaire responsables de dysfonction de greffon au long court.

### **Rejet médié par anticorps**

L'incidence du rejet humoral ou médié par anticorps est en moyenne de 5 à 8% des transplantations rénales.

Il peut survenir à tout moment de la transplantation et se manifeste également par une dégradation de la fonction rénale et souvent par la présence de DSA. Le mode de reconnaissance antigénique indirecte est responsable de l'initiation de l'allo-reconnaissance, les cellules présentatrices du donneur ayant disparu.

La forme sub-clinique correspond à la découverte des lésions histologiques à fonction d'organe stable.

La séquence lésionnelle débute par la formation de DSA. Comme détaillé précédemment, l'action de ces anticorps, après liaison aux cellules endothéliales du greffon, implique l'activation du complément, des cellules de l'immunité innée ainsi que différents médiateurs de l'inflammation par cross-linking des anticorps entre eux (figure 7). Les structures vasculaires vont ainsi être la cible de ces anticorps conduisant à des lésions de vascularite, de capillarite péri-tubulaire et de glomérulite par l'atteinte des capillaires glomérulaires. Des lésions de micro-angiopathie thrombotique, d'œdème interstitiel et de nécrose tubulaire aiguë peuvent également être observées. En immunofluorescence la présence de C4d correspond au dépôt d'une fraction du complément et signe l'activation de celui-ci.

La définition de rejet aigu médié par anticorps implique la présence de 3 critères :

- l'existence de lésions histologiques : glomérulite ou capillarite péri-tubulaire, ou vascularite, ou micro-angiopathie thrombotique/nécrose tubulaire aiguë sans autre étiologie retrouvée ;

- la présence d'anticorps anti-HLA dirigés contre le donneur dans le sérum du receveur ;
- la preuve de l'interaction des anticorps avec l'endothélium par la présence de dépôts linéaires de C4d, ou de l'inflammation micro-vasculaire (glomérulite et capillarite péri-tubulaire), ou la présence de marqueurs moléculaires endothéliaux.

Il n'existe pas, à ce jour, de consensus thérapeutique du rejet à médiation humorale. Les options privilégiées visent à dépleter les anticorps circulants par l'administration d'immunoglobulines polyvalentes intraveineuses et la réalisation d'échanges plasmatiques ou d'immuno-absorption. L'adjonction d'anticorps monoclonaux chimériques anti-CD20 présent sur les lymphocytes B (rituximab) ou d'inhibiteur du protéasome des plasmocytes (bortezomib) permettrait de cibler directement la production de ces DSA (figure 7). Enfin l'utilisation plus rare de bloqueurs du complément, notamment des fractions C1 et C5 montre des résultats prometteurs. Hélas l'efficacité de ces traitements reste controversée. En l'absence de traitement curatif, il apparaît essentiel de prévenir l'apparition de DSA.

## 5. Anticorps anti-HLA et DSA

Le polymorphisme des molécules HLA est la base de l'alloréactivité. Ainsi lorsque donneur et receveur n'ont pas une compatibilité parfaite, il en résulte la formation d'anticorps anti-HLA.

La prévalence de candidats à la transplantation porteurs d'anticorps anti-HLA préexistants est supérieure à 20% et est en progression. Les grossesses, les transplantations antérieures, ainsi que les transfusions sanguines précèdent la greffe sont la source de ces immunisations.

Après transplantation environ 20% des patients non immunisés développent dans les 5 ans des anticorps anti-HLA dirigés contre les donneurs *de novo*<sup>11,12</sup>.

Les effets délétères de ces DSA *de novo* ont été mis en évidence dès 1970 avec des lésions vasculaires oblitérantes appelées « vasculopathie d'allogreffe »<sup>13</sup>.

### Anticorps anti-HLA, DSA et survie du greffon

En 2007, Mao et son équipe étudient l'impact des anticorps anti-HLA sur la survie des greffons rénaux parmi 54 patients et observent une augmentation de la créatininémie et une diminution de survie rénale chez les patients ayant développés des anticorps anti-HLA non spécifiques et des DSA. Il est noté que ces DSA apparaissent avant la diminution de fonction d'organe<sup>14</sup>.

Ces résultats sont confirmés par Lachmann dans une population plus large de 1014 transplantés rénaux avec donneurs cadavériques avec respectivement 70% et 49% de survie de greffon à 5 ans en cas de développement d'anticorps anti-HLA non spécifiques et de DSA contre 83% sans apparition d' anticorps<sup>15</sup>.

Plusieurs autres études ont démontrés l'impact péjoratif des DSA sur la survie du greffon<sup>12,16,17</sup>.

De plus le caractère délétère des DSA a été démontré même en l'absence de rejet cliniquement significatif, cellulaire ou humoral<sup>18</sup>.

## **Histologie et rejet**

Sur le plan histologique, Worthington et collab. mettent en lumière le lien entre la présence de dépôts histologiques de C4d focal ou diffus, la positivité des DSA et le risque de perte du greffon dans une étude observationnelle de 92 transplantés rénaux<sup>19</sup>.

L'impact des anticorps anti-HLA sur la microcirculation est observé dans une analyse de 234 biopsies provenant de 173 patients, prélevés de 6 jours à 31 ans post-transplantation. Les atteintes histologiques de la microcirculation de type capillarite et glomérulite sont plus fréquemment retrouvées dans les rejets médiés par anticorps en cas de dysfonction de greffon<sup>18</sup>.

L'effet délétère de ces DSA est bien démontré dans l'étude de Wiebe dans laquelle 1091 biopsies ont été analysées chez 508 transplantés dont 64 ont développé des DSA. L'évaluation des 1091 biopsies met en évidence une association entre la survenue de DSA de novo et des lésions de glomérulopathie chronique. Cette association est non retrouvée avec la fibrose interstitielle et l'atrophie tubulaire<sup>20</sup>.

De plus les lésions de rejet médié par anticorps semblent pouvoir survenir et progresser chez des patients ayant des DSA de novo sans dysfonction du greffon, de rejet cellulaire et de mauvaise observance<sup>21</sup>.

Par ailleurs ces DSA pourraient également avoir des effets délétères par accélération des lésions d'artériosclérose comme l'a montré l'équipe de Loupy<sup>22</sup>. La prolifération des myofibroblastes au sein des artérioles des greffons de patients ayant des DSA et une intima hypercellulaire pourraient être en lien avec une réaction inflammatoire secondaire à la réaction immunologique des DSA.

## **Pathogénicité**

Sur le plan physiopathologique, la reconnaissance allogénique et la production d'anticorps dirigés contre le donneur impliquent la coopération lymphocytes B et T CD4, lesquels reconnaissent les molécules HLA de classe II. Cela permet d'expliquer en partie la prévalence des DSA anti HLA-DQ de novo sur les autres locus<sup>23</sup>.

Une équipe anglaise s'est intéressée à la pathogénicité de ces anticorps anti-DQ de novo, en analysant rétrospectivement 92 patients ayant développé des DSA parmi 505 transplantés rénaux<sup>24</sup>. Cinquante patients possédaient des anti-DQ soit 54% des immunisés de novo et leurs risques de rejet médié par anticorps, de glomérulopathie du transplant et de perte de greffon étaient significativement plus importants que les patients ayant développé des DSA dirigés contre les autres antigènes HLA-A, -B et -DR. La même année ces résultats étaient également retrouvés par une équipe américaine<sup>25</sup>.

Récemment, la pathogénicité des DSA de novo en comparaison aux préexistants a été étudiée par une équipe française<sup>26</sup>. Cette étude européenne multicentrique met en lumière la meilleure survie des greffons des transplantés ayant des DSA préexistants par rapport à ceux chez qui des DSA se développent de novo. Ces derniers présentent une protéinurie majorée et des lésions de glomérulopathie chronique plus conséquentes.

## **Compatibilité HLA et DSA**

La compatibilité HLA en transplantation rénale est un facteur important de survie de greffon à long terme<sup>27</sup>.

Les facteurs de risque de développer des DSA dans une analyse menée par une équipe américaine sont l'origine ethnique africaine ou afro-américaine, la non compliance médicamenteuse, les greffes combinées rein-pancréas ainsi que le nombre d'incompatibilité HLA<sup>28</sup>. La population d'étude regroupe 503 patients greffés non immunisés dont 24% développent des DSA. 35% des patients avec DSA présentent un

rejet aigu contre 10% dans le groupe sans DSA. De même la survie des greffons des patients avec DSA est significativement plus faible après 31 mois de suivi médian.

L'équipe de Wiebe a montré des résultats similaires. En effet parmi 47 patients ayant développés des DSA dans une cohorte de 315 transplantés non immunisés, les facteurs de risques indépendants identifiés sont la non adhérence, les épisodes de rejets avant la survenue de DSA et la présence de plus d'une incompatibilité HLA-DRB1.

De plus, dans une étude citée précédemment, les couples donneur-receveur ayant une incompatibilité en DR et DQ étaient plus à risque de développer des DSA de classe II qu'en cas d'incompatibilité HLA DR ou DQ seule suggérant un effet cumulatif des incompatibilités<sup>24</sup>.

L'ensemble de ces observations souligne le caractère pathologique de ces anticorps qu'ils soient symptomatiques ou non, et l'importance de la compatibilité HLA dans leur développement. Il apparaît donc essentiel de les prévenir en limitant le nombre de transfusions inutiles, en optimisant les traitements et l'observance, et en favorisant un appariement HLA optimal entre donneur et receveur.

## **B. Compatibilité HLA en TR**

### **1. Compatibilité sérologique/antigénique**

Depuis les années 1970, l'introduction de traitements immunosuppresseurs tel que les inhibiteurs des calcineurines et la prise en compte de la compatibilité HLA dans le choix du donneur ont permis de diminuer le nombre de perte de greffon. Morris et collab. ont étudié le devenir de 6363 transplantés rénaux entre 1986 et 1993 et montré l'effet bénéfique important de la compatibilité des antigènes HLA pour les locus A B et DR<sup>29</sup>. De la même façon, Opelz et collab. retrouvent un impact hautement significatif de cette compatibilité sur la survie du transplant<sup>30</sup>, non plus seulement liée à la durée d'ischémie froide.

Actuellement l'appariement donneur et receveur est réalisé avec les typages rendu en nomenclature « sérologique » pour les molécules HLA-A, -B -DR et plus récemment HLA-DQ.

Néanmoins la présence d'anticorps anti-HLA chez un receveur survenu au décours d'un événement immunisant limite le nombre de donneurs compatibles.

### **2. Compatibilité épitopique : nouveau concept**

#### **Définition**

Les années 2000 et l'amélioration des techniques d'identification des anticorps anti-HLA ont vu apparaître un nouveau concept : l'**épitope**. En effet, les anticorps anti HLA ou autres réagissent avec des régions de surface spécifiques des antigènes appelées épitopes.

Ces épitopes structurels comportent 15 à 25 résidus d'acides aminés sur une surface de 700 à 900 angström (Å) qui interagissent avec six régions déterminant la

complémentarité (CDR pour *complementarity determining regions*), situées sur les segments variables des chaînes lourdes et légères des immunoglobulines.

Si la plupart des résidus peuvent être remplacés par d'autres sans influencer la liaison épitope-anticorps, une modification d'une partie fonctionnelle de l'épitope dite « hot spot » peut être responsable d'une modification de la capacité de reconnaissance de l'anticorps.

Ces épitopes dits fonctionnels, correspondant de 1 à 5 résidus d'acides aminés sont nommés **éplets** et sont principalement situés au niveau des domaines  $\alpha 1$  et  $\beta 1$  pour les molécules HLA de classe II et  $\alpha 1$  et  $\alpha 2$  pour les molécules HLA de classe I. Ils sont très variables selon les allèles et c'est eux qui « entraînent » la majorité du polymorphisme des allèles. Ils se lient à la partie des CDR des immunoglobulines appelé CDR-H3 (figure 8).

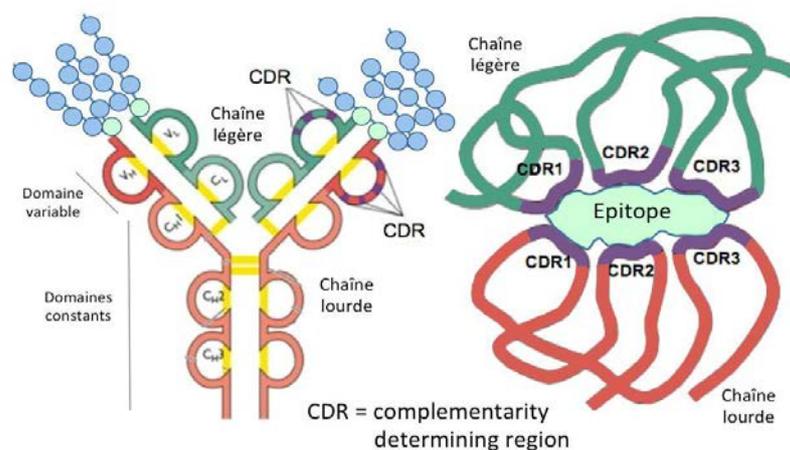


Figure 8 : liaison anticorps-épitope au sein du paratope constitué des domaines variables des chaînes légères et lourdes (CDR3 ou CDR-H3 : le H correspond à la chaîne légère « Heavy »)

### Propriétés

Les épitopes sont dits immunogènes du fait de leur capacité à induire des anticorps, et possède une antigénicité par leur capacité à être reconnu par des anticorps spécifiques. L'antigénicité de ces épitopes peut être vérifiée par des anticorps monoclonaux spécifiques, appelés TerEps car décrits par le groupe du Professeur Terasaki<sup>31,32</sup>.

Certains épitopes sont restreints à un antigène HLA, ils sont dits privés, en comparaison aux épitopes publics partagés par 2 ou plus antigènes HLA.

De plus un épitope peut être linéaire formé de plusieurs acides aminés consécutifs, anciennement appelés triplets, ou conformationnel c'est-à-dire constitué d'acides aminés discontinues rapprochés par le repliement de la protéine (figure 9).

Il existe un registre contenant la liste des épitopes connus à ce jour (<http://www.epregistry.com.br>), qui distingue les épitopes exposés ou non à une reconnaissance anticorps et vérifiés ou non comme étant capable de lier des anticorps spécifiques.

La reconnaissance de ces épitopes se fait de façon directe dans leur conformation native par les lymphocytes B par l'intermédiaire de leur immunoglobuline de surface constituant leur récepteur BCR. Le complexe antigène du donneur-anticorps du receveur est internalisé et apprêté pour être chargé sur des molécules HLA du receveur,

pour être présenté aux lymphocytes T CD4 effecteurs. La collaboration T-B permet ensuite d'engendrer la production d'anticorps spécifiquement dirigés contre les épitopes reconnus du donneur.

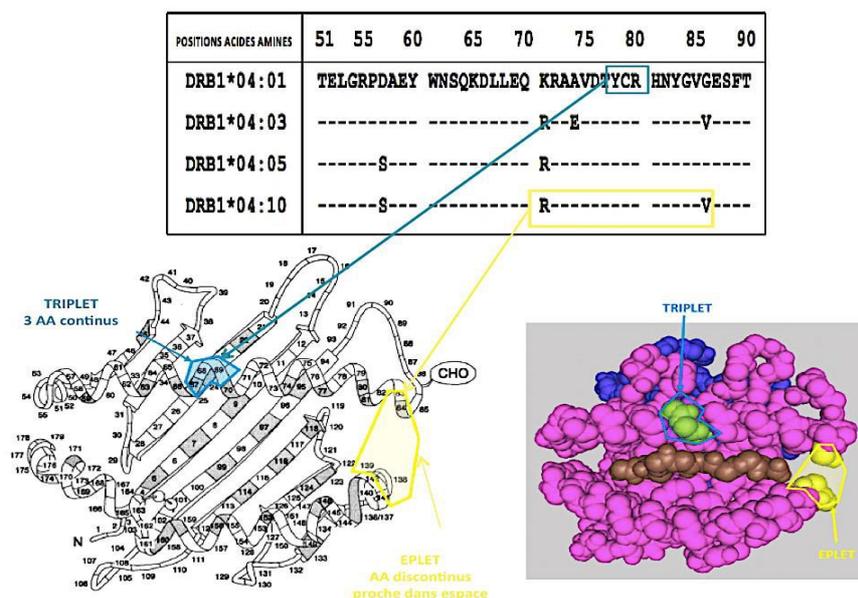


Figure 9: exemple des deux types d'épitopes définis à partir des séquences d'acides aminés des allèles HLA DR4<sup>33</sup>

### HLAMatchmaker

L'identification des épitopes qui diffèrent entre donneur et receveur d'une transplantation peut être déterminée par le logiciel HLAMatchmaker. Cet algorithme mis au point par une équipe américaine en 2001<sup>34</sup>, permet théoriquement d'analyser le degré de compatibilité en comparant les séquences d'acides aminés des différentes molécules HLA entre le donneur et le receveur. La version originale, utilisait des triplets, séquence linéaire de 3 résidus d'acides aminés.

Il repose sur deux principes : 1) chaque antigène HLA représente une chaîne distincte d'épitopes définis comme potentiellement immunogènes, 2) un patient ne peut pas développer d'anticorps contre des épitopes exprimés par ses propres molécules HLA, les anticorps développés par le système immunitaire d'un individu seront dirigés contre des antigènes reconnus comme étranger dit du « non-soi »<sup>35</sup>.

Ce logiciel identifie des épitopes théoriquement accessibles à la reconnaissance des anticorps c'est à dire à la surface des molécules HLA.

L'algorithme recensait en juillet 2016, 289 épitopes HLA-A/B/C dont 81 TerEps vérifiés par anticorps, et 228 épitopes HLA-DRB/DQB/DQA dont 44 TerEps.

Il permet ainsi d'évaluer le rôle de la compatibilité des séquences d'acides aminés sous forme d'épitopes et a initialement été développé pour augmenter la probabilité de trouver un donneur acceptable pour les candidats à la greffe hautement sensibilisés sur liste d'attente<sup>36,37,38</sup>.

### Premiers résultats en transplantation

Dès 2003, les données des registres UNOS (United Network for Organ Sharing) et Eurotransplant retrouvent une survie de greffons rénaux comparable entre les transplantés ayant peu d'incompatibilités en terme de triplets d'acides aminés pour HLA-A et HLA-B et ceux n'ayant aucune incompatibilité antigénique pour ces locus<sup>39</sup>.

Dankers et collab. mettent également en évidence une forte corrélation entre ce nombre d'incompatibilités épitopiques et la production de DSA chez des patients ayant perdu leur greffon<sup>40</sup>. Haririan et collab. proposent un seuil de 10 mismatch de triplets en classe I pour prédire la survie du greffon au sein d'une cohorte afro-américaine<sup>41</sup>. Ces résultats ont néanmoins été contesté en 2004, lorsque Laux et son équipe n'ont pas mis en évidence de corrélation entre le nombre d'incompatibilités de triplets pour les locus A et B et la survie du greffon chez 16997 greffés compatibles en DR<sup>42</sup>.

En 2006 une nouvelle version du logiciel est proposée reposant sur le « modeling stéréochimique » du complexe antigène-anticorps et la contribution de résidus d'acides aminés principaux du site de liaison dits « critiques », incluant des éplets en plus des triplets. Cette nouvelle version implique de posséder les typages des molécules HLA du donneur et du receveur en nomenclature de biologie moléculaire en deux champs (anciennement appelé 4 digits) pour réaliser l'analyse. En effet les séquences d'acides aminés qui forment les différents allèles (que l'on peut différencier par biologie moléculaire comme expliqué précédemment) permettent de définir les épitopes utilisés par HLAMatchmaker.

### **En transplantation d'organes solides**

Cette notion de compatibilité épitopique a initialement été étudiée par l'équipe de Duquesnoy, créateur de l'application HLAMatchmaker, chez 75 transplantés d'organes solides candidats à une nouvelle transplantation<sup>43</sup>. Ils ont mis en lumière pour la première fois l'importance des différences d'épitopes entre donneurs et receveurs, sur la réponse anticorps chez ces transplantés de reins, de foie, de cœur, de poumons, de pancréas et d'intestin, pour le HLA classe II.

Plus récemment une étude de cohorte rétrospective d'effectif conséquent s'est intéressée à la survie des greffons de 4851 transplantés cardiaques pédiatriques. Un seuil de 10 incompatibilités d'éplets en classe I apparait comme étant de mauvais pronostic pour la survie des transplants. Aucun seuil n'est significatif en classe II, pouvant s'expliquer par une expression tissulaire faible des molécules HLA de classe II au sein du parenchyme cardiaque<sup>44</sup>.

### **Patients hyperimmunisés**

En transplantation rénale les premiers articles se focalisent sur des patients hyperimmunisés dans le but d'améliorer leur accès à la greffe. En effet le logiciel HLAMatchmaker permet d'expliquer certaines immunisations dirigées contre différentes molécules HLA (HLA-A et -B) parfois par un unique épitope issu d'une incompatibilité au sein d'une seule molécule (par exemple HLA-B).

Dès 2002, Duquesnoy et son équipe utilisent HLAMatchmaker pour 35 receveurs potentiels hautement immunisés en calculant leur probabilité de trouver un donneur (PFD, probability of finding a donor)<sup>37</sup>. Le typage des antigènes HLA de chaque patient permet de définir les triplets qu'il possède et ainsi identifier les autres antigènes HLA qui partagent ces triplets, à l'aide du programme HLAMatchmaker dans sa version initiale. Pour 33 patients, soit 92% des receveurs sur liste d'attente, ces antigènes identifiés étaient définis comme acceptables et permettaient d'augmenter le PFD.

Récemment, Singh et collab. se sont intéressés à l'immunisation de 66 patients non immunisés à la greffe n'ayant plus de greffon fonctionnel et ont trouvés que 34 d'entre eux devenaient hyper-immunisés<sup>45</sup>. En analyse multivariée, le nombre

d'incompatibilités épitopiques pour le locus HLA-DQB1 était statistiquement associé à cette immunisation.

La vérification de la compatibilité épitopique par HLAMatchmaker est actuellement intégrée dans le programme « acceptable mismatch » de répartition des greffons d'Eurotransplant (incluant l'Autriche, la Belgique, la Croatie, l'Allemagne, le Luxembourg, la Slovénie et le Netherland) pour augmenter le nombre de donneurs potentiels pour les receveurs hyperimmunisés<sup>46</sup>. Les chances de transplantation des patients intégrant ce programme passe de 20% à 60% dans les 2 ans<sup>47</sup>.

### **Épèles et transplantation rénale**

Chez les patients non hyperimmunisés plusieurs études ont été réalisées.

Pour les molécules HLA de classe I, une équipe chilienne ne retrouve pas de lien entre la survie des 62 greffons rénaux et le nombre d'incompatibilités épitopiques, mais une meilleure prédiction de la survenue d'anticorps anti-HLA lorsque ce nombre excède 6 pour le locus B par rapport aux nombres d'incompatibilités serologiques<sup>48</sup>. L'absence de significativité peut s'expliquer par le faible effectif de patients, conséquence d'un grand nombre de typages HLA insuffisamment complet (environ 2/3) pour l'utilisation de HLAMatchmaker.

Concernant les molécules HLA de classe II, Sapir-Pichhadze et collab. ont menés une étude de type cas-témoins comportant 52 transplantés rénaux ayant un rejet chronique du greffon et 104 patients sans rejet chronique parmi 1480 patients de leur cohorte<sup>49</sup>. Plusieurs analyses ont été faites pour déterminer les seuils les plus sensibles. Le risque de glomérulopathie du transplant est plus important dans les tertiles médian et haut en comptabilisant les épèles HLA-DRB1/3/4/5 et HLA-DQB1/A1. De plus, la charge en épèles HLA-DR semble conférer un risque plus important que celle en épèles HLA-DQ. Wiebe et collab. ont publié deux articles démontrant que l'application d'une approche de compatibilité épitopique permet une meilleure prédiction du développement des anti-HLA de classe II spécifiques du donneur, chez des transplantés rénaux en comparaison à l'appariement sérologique conventionnel. Le premier article met en lumière les seuils de 10 incompatibilités épitopiques pour HLA-DRB1/3/4/5 et 17 incompatibilités HLA-DQB1/A1, en dessous desquels le risque de développement de DSA de novo est faible, parmi 286 patients étudiés dont 45 ont eu des DSA de novo<sup>50</sup>. Dans la seconde étude ces mêmes seuils permettent de montrer que la combinaison d'un nombre important d'incompatibilités épitopiques et d'une mauvaise observance thérapeutique agissaient de façon synergique en augmentant le risque de pertes de greffon et de rejets aigus tardifs pour le HLA-DQ<sup>51</sup>. L'observance des 195 transplantés était évalué pendant 2 mois post-greffe immédiat à l'aide de boîtier électronique, et aucune différence n'était retrouvée chez les patients adhérents aux traitements. L'absence d'homogénéité d'immunisation avant transplantation des populations d'étude, et l'utilisation d'un logiciel d'extrapolation pour les typages alléliques HLA (nécessaires pour l'utilisation de HLAMatchmaker) limitent l'interprétation des résultats.

Une équipe anglaise s'est également intéressé aux patients non-hyperimmunisés<sup>52</sup> pour le CMH de classe I et II. L'analyse du développement d'anticorps anti-HLA chez 131 patients de retour sur liste d'attente après avoir reçu une première transplantation rénale entre 1995 et 2010, montre une association indépendante entre le développement d'anticorps anti-HLA-A, -B et -DQ et le score d'épèles incompatibles (EpMS) sans association avec la survenue de DSA. Cependant l'analyse de patients n'ayant plus de greffons fonctionnels dont une partie d'entre eux néphrectomisés et

l'absence de données concernant la survenue de rejets aigus limitent l'extrapolation des résultats.

Ainsi la détermination de la compatibilité épitopique implique la réalisation de typage HLA de haute résolution et il semble nécessaire d'évaluer les bénéfices, notamment en termes de survie de greffon et d'immunosuppression optimale, par rapport aux contraintes financières et temporelles engendrées par l'utilisation d'une technique de typage HLA de haute résolution pour le receveur et également le donneur cadavérique. A l'heure actuelle, l'intérêt d'incorporer cette compatibilité à l'algorithme pré-greffe d'appariement HLA donneur/receveur, demeure incertain.

### 3. Impact des propriétés physico-chimiques

L'utilisation des incompatibilités épitopiques fournit des informations concernant l'immunogénicité des incompatibilités HLA de classe I et II, pour la prédiction du devenir des greffons rénaux. Cependant cette définition épitopique de l'immunogénicité reste incomplète.

En effet, la spécificité et l'affinité des liaisons antigène-anticorps sont amplement gouvernées par les forces physico-chimiques. Ces interactions sont régies par différents types de liaisons. La liaison de l'anticorps est stabilisée par des interactions électrostatiques qui incluent des liaisons ioniques intramoléculaires et des liaisons hydrogènes intermoléculaires (figure 10). D'autres interactions sont impliquées telles que les liaisons covalentes de type ponts disulfures, les forces de van der Waals ainsi que les effets hydrophobes des acides aminés polaires qui modifient la structure tertiaire de la molécule en se rapprochant<sup>53</sup>. L'interaction électrostatique forte et les ponts disulfures ont pour conséquence une rigidité de l'association et une faible flexibilité au niveau du site de liaison. En revanche des forces électrostatiques plus faible et l'effet hydrophobe de certains acides aminés rendent la liaison flexible et sujette à la cross-réactivité en cas de mutation épitopique<sup>54</sup>. Récemment, une équipe espagnole a également mis en évidence l'importance du nombre de liaisons ioniques sur l'activation immunologique découlant de l'interaction du TCR des lymphocytes T et des molécules HLA chargées de peptide à la surface des cellules présentatrices d'antigènes<sup>55</sup>.

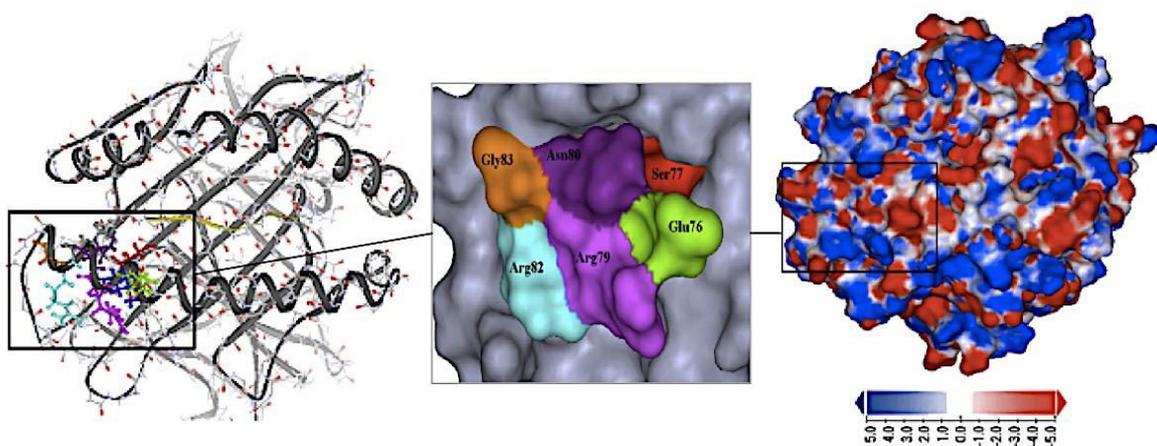


Figure 10: Structure tertiaire et variations de potentiel électrostatique à la surface de la molécule Bw6 selon les différents acides aminés<sup>56</sup>

Ces forces physico-chimiques sont dictées par le nombre et la distribution des charges atomiques et de la polarité des acides aminés à la surface des molécules HLA. Ainsi des

mutations d'acides aminés critiques pour le site de liaison peuvent induire des changements de propriétés électrostatiques des épitopes et par conséquent une modification de reconnaissance antigénique par l'anticorps.

Ces forces d'interaction ont pu être étudiées grâce à l'utilisation des données de séquences d'acides aminés et de cristallographie par rayon X. Une étude récente démontre que la composition physico-chimique des épitopes Bw4 et Bw6 est caractérisée par des motifs électrostatiques conservés entre ces molécules<sup>56</sup>. Cela permet de suggérer que la conservation de ces motifs, malgré des différences de séquences d'acides aminés, pourrait participer à des réactions sérologiques croisées.

Kosmoliaptsis et collab. ont analysé le risque de développer une réaction aigue du greffon contre l'hôte (GvHa) chez 171 patients recevant une greffe de cellules souches hématopoïétiques avec des donneurs 9/10 (incompatibilités uniquement pour HLA-A, -B, ou -C) ou 10/10. Dans le groupe ayant une incompatibilité entre donneur et receveur, un score calculé à partir des « mismatch électrostatique » (EMS) et « mismatch hydrophobique » (HMS) a été défini pour chaque paire donneur-receveur. Les couples donneurs-receveurs possédant des scores EMS/HMS élevés ont une augmentation significative d'incidence de GvHa comparé aux couples avec un score EMS/HMS faible. L'incidence de GvHa est la même entre les couples 9/10 ayant des scores EMS/HMS faibles et les receveurs greffés avec un donneur 10/10<sup>57</sup>.

Une seconde étude de Mallon et collab. retrouve une bonne prédiction du risque de développer des anticorps anti-HLA ainsi que des DSA notamment de classe II, lorsque le score de « mismatch électrostatique » est augmenté chez 141 patients traités pour une infertilité par immunothérapie à base de lymphocytes du conjoint<sup>58</sup>.

En transplantation d'organe solide, peu d'études se sont intéressées à ces propriétés physico-chimiques. A ce jour, une seule équipe anglaise a menée plusieurs études chez les transplantés rénaux.

Les premiers articles analysent la réponse anticorps de classe I et II parmi une population de patient hyperimmunisés en attente d'une transplantation rénale et mettent en lumière l'intérêt d'évaluer les différences physico-chimiques afin de trouver un donneur ayant un typage de faible immunogénicité pour un receveur donné<sup>59,60</sup>.

Chez des patients non hyperimmunisés, une étude rétrospective de transplantés avec un greffon de donneurs décédés entre 1990 et 2005 propose une approche de compatibilité physicochimique limitée aux acides aminés en classe I permettant une sélection de combinaison HLA-A et -B donneur-receveur à faible risque immunologique avec un bénéfice sur le devenir des greffons<sup>61</sup>.

Plus récemment une étude de cohorte citée précédemment, chez 131 patients de retour sur liste d'attente après avoir reçu une première transplantation rénale entre 1995 et 2010 a été réalisée. L'analyse des 67,9% des patients s'étant immunisés retrouve une association indépendante entre le développement d'anticorps anti-HLA-A, -B et -DQ et, les scores AMS (incompatibilités d'acides aminés) et EMS (« mismatch électrostatique ») après ajustement sur le temps d'attente sur liste de greffe, le maintien d'une immunosuppression et les incompatibilités HLA conventionnelles. Concernant la survenue de DSA, le score EMS est indépendamment associé au développement d'anticorps anti-HLA-A et-B, et ces deux scores sont associés à l'apparition de DSA de classe II sans différence sur leur pouvoir prédictif propre<sup>52</sup>. L'analyse limitée aux greffons non fonctionnels ne permet pas de conclure quant au risque de rejet.

### **C. Problématique et objectif de l'étude**

L'ensemble de la littérature met en évidence l'effet délétère des anticorps anti-HLA dirigés contre le donneur. Optimiser la compatibilité HLA donneur-receveur reste une priorité, hors jusqu'alors la règle de la compatibilité sérologique s'applique en mettant l'accent sur le HLA de classe II. Pourtant les avancées en matière de typage HLA, l'émergence du concept d'épitope et la découverte de l'impact des propriétés physico-chimiques, tendent vers une compatibilité impliquant l'utilisation des typages alléliques. Les premières études s'y intéressant semblent prometteuses mais manque d'uniformité.

L'objectif de notre étude est d'analyser la formation d'anticorps spécifiques du donneur (DSA) chez des patients non immunisés recevant une première transplantation rénale, selon leur compatibilité épitopique et physicochimique avec le donneur.

# ARTICLE

**What is the best predictor of *de novo* DSA in a cohort of non-sensitized first kidney transplantation: antigenic, allelic, epitopic or physiochemical properties HLA mismatches?**

Alexandra Delion\*<sup>1</sup> MD MSc, S. Girerd\*<sup>1</sup> MD MSc, K. Duarte<sup>2</sup>, N. Girerd<sup>2</sup> MD PhD, J. Schikowski<sup>1</sup> MD, M. Ladrière<sup>1</sup> MD MSc, M. Kessler<sup>1</sup> MD PhD, L. Frimat<sup>1</sup> MD PhD, A. Aarnink<sup>3</sup> MD PhD.

\*co-first authors

<sup>1</sup> Service de Néphrologie et Transplantation rénale, CHRU Nancy Brabois, Vandœuvre-lès-Nancy, France

<sup>2</sup> INSERM, Centre d'Investigations Cliniques Plurithématique 1433, Université de Lorraine, CHRU de Nancy and F-CRIN INI-CRCT, Nancy, France

<sup>3</sup> Laboratoire d'Histocompatibilité, CHRU Nancy Brabois, Vandœuvre-lès-Nancy, France

**Corresponding author:** Alice Aarnink

phone number: 33 3 83 15 48 63

fax number: 33 3 83 15 48 66

e-mail address: [a.aarnink@chru-nancy.fr](mailto:a.aarnink@chru-nancy.fr)

**Running title:** Evaluation of antigenic, allelic, epitopic, physical properties HLA mismatches on kidney transplantation

**Keywords:** HLA, kidney transplantation, epitopic mismatches, physiochemical properties, antibody

## **Abstract**

**Background:** *De novo* donor specific antibodies (dnDSA) development is an independent risk factor of rejection in kidney transplantation. HLA allele typing using molecular high-resolution techniques may help to better predict dnDSA development. Nevertheless, this expensive and time-consuming technique has to be evaluated against antigenic matching used in the actual graft allocation policy.

**Methods:** We conducted a monocentric cohort study (n=150) to compare antigenic HLA matching versus eplet matching or physiochemical matching in non-sensitized first kidney transplant recipients.

**Results:** After a mean follow-up time of  $49.3 \pm 17.7$  months, 18 patients developed dnDSA. In multivariate model, total load of antigenic, allelic and epitope mismatches (MM) for HLA class II were all significantly associated with the development of dnDSA (HR (CI 95%), 1.68 [1.11-2.53]; 1.83 [1.16-2.89]; 1.04 [1.00-1.08] respectively). The sum of allelic mismatches for HLA class I and II seems to be the best prediction tool (C-Index 70.6,  $p=0.0005$ ). In this cohort, the optimal cut-off of 5 or more antigenic MM was optimal to predict dnDSA development (c-index 68,  $p=0.0005$ ), as well as 6 or more allelic MM (c-index 67.7,  $p=0.002$ ), or 22 or more epitopic MM (c-index 65.7,  $p<0.0001$ ). Analyses with C-index techniques did not demonstrate an improvement of the prediction of the dnDSA development by the allelic approach, in comparison with the antigenic usual approach.

**Conclusion:** In this cohort of low immunological risk first kidney transplant patients, we observed that allelic and epitopic mismatches were significantly associated with dnDSA development. Nevertheless, no prediction improvement was demonstrated in comparison to antigenic approach.

Words : 250

## Introduction

Among the factors influencing long-term kidney graft survival, Human Leukocyte Antigen (HLA) matching is an important factor<sup>1</sup>. Recipients of a mismatched graft have an increased risk to develop donor-specific antibodies (DSA), which is described as independent risk factors for acute and chronic antibody-mediated rejection (ABMR) and graft loss<sup>2</sup>. Furthermore, the development of DSA complicates repeat transplantation due to long waiting times of highly sensitized patients. Due to high polymorphism of HLA antigen, the chance of finding an unrelated fully matched kidney donor is low. In France, more than eighty per cent of recipients grafted in 2015 receive grafts with one or more HLA mismatches based on HLA-A, -B, -DR and -DQ antigen<sup>3</sup>.

However, the probability of developing DSA or HLA antibodies is not correlated with the number of HLA antigen mismatched because HLA antibodies do not recognize whole HLA antigens but interact with a small set of aminoacid residues in the so-called structural epitope through six complementarity determining regions (CDR) loops of antibody<sup>4</sup>. Immunization by a single HLA antigen mismatch can result in antibodies directed against numerous other HLA antigens due to the sharing of epitopes. Conversely, the mismatched antigen can have no foreign epitope and thus no ability to induce a DSA. Thus, several approaches were described to determine the structural compatibility between donor and the recipient.

The available quaternary HLA molecule structures allow to Duquesnoy *et al.* to describe the eplet as functional epitope bind by the CDR-H3 loop which a dominant role in determining antibody specificity<sup>5</sup>. The eplet is a cluster of polymorphic amino acids, either linear or discontinuous, within a 3-3.5 Å radius of an accessible sequence position being capable of inducing an antibody response. The last version of HLA Matchmaker, a computer algorithm provide by Duquesnoy *et al.*, determine for each mismatched donor HLA antigen which eplet

is non-self, compared with the repertoire of self-eplets on the HLA antigens of the recipients, resulting in a quantification of eplet mismatches. An important component of the algorithm is that antibodies cannot be induced against eplet present on a self-HLA antigen.

Recently, Kosmoliaptsis *et al.* proposed that the relative antigenicity of an eplet can be predicted from the physiochemical properties of its amino acid residues and define three physiochemical properties: amino acid mismatch score (AAMM), electrophobic mismatch score (EMS), and hydrophobic mismatch score (HMS)<sup>6</sup>. Accordingly, the electrostatic difference between a non-self eplet and a self eplet might provide the trigger for B-cell activation.

Numerous studies have demonstrated significant correlations between eplet load (via HLA Matchmaker) of HLA mismatches and the development of donor-specific class I and class II antibodies as well as rejection incidence and allograft outcome<sup>7,8</sup>. But, to the best of our knowledge, only one<sup>9</sup>, compared the two approaches provided by Duquesnoy *et al.* and Kosmoliaptsis *et al.*

We compared in a cohort of non-sensitized first kidney transplant patients the associations between the number of antigenic mismatch, allelic mismatch, eplet load and physiochemical properties of amino-acid (via AAMM, EMS, and HMS) and the development of donor-specific class I and class II antibodies. Our goal being to determine what is the best predictor of dnDSA development in a cohort of recipient with the lowest immunological risk.

## **Materials and Methods**

### ***Patient population and clinical data***

This single-center study included all patients aged >18 years non-immunized who received a first kidney transplantation from January 1, 2010, to December 31, 2014 in the Nancy University Hospital, Nancy, France. Patients were followed until January 1, 2017. The transplantation allocation system followed the rules of the French national agency for organ procurement (Agence de la Biomédecine).

All kidney transplantations including living donor transplantations were included. Expanded criteria donors were defined as: deceased donors aged 60 years and older, and those aged over 50-59 years with at least two of the following three conditions: cerebrovascular cause of death, serum creatinin greater than 1.5 mg/dL (132.6 $\mu$ mol/L), or a history of hypertension.

Patients received induction therapy with thymoglobulin (ATG) (based on the risk of delayed graft function or expanded criteria donors), or basiliximab (BSX) or none of them. Patients received intravenous methylprednisolone intraoperatively, followed by tapering doses next days. Standard immunosuppression consisted of a calcineurin inhibitor, a mycophenolate mofetil and prednisone.

Recipients were excluded if they have HLA antibodies before transplantation, kidney-pancreas transplant, ABO incompatible kidney transplants, others previous organ transplants or hematopoietic stem cell (HSC) graft before kidney transplant.

Anonymized data were prospectively entered in a computerized database on day 0, at 3 months and 12 months after kidney transplantation, and annually thereafter.

### ***Renal biopsy***

Kidney allograft biopsies were performed in case of graft dysfunction, detection of proteinuria, or an increase in proteinuria level. Biopsies were evaluated by light microscopy

and immunofluorescence. The graft biopsies were scored and graded by trained pathologists according to the international Banff criteria for kidney allograft transplantation.

### ***HLA Typing Methods***

Recipient and living donors HLA typing were performed in the Histocompatibility Laboratory of Nancy on genomic DNA by a Luminex-based PCR-SSO typing method (LABType™ HD kit, One Lambda Inc Canoga Park) according to manufacturers' instructions.

HLA typing of deceased donors were performed in each transplant center according to local practice. In Nancy, the deceased donors were typed by PCR-SSP (Micro SSP Generic HLA kit, One Lambda Inc Canoga Park)

We convert antigenic typing into allelic typing for the antigen with only one frequent allele in the European NMDP population (*Supplementary Table 1a and 1b*) and we performed high definition typing for the other HLA antigens.

Because the typing of HLA-C, -DRB3, DRB4, DRB5, -DQA1, -DPA1 and DPB1 were not commonly performed over the study period and were not available for many included patients, we focused on HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1, HLA-DQB1.

For each locus, the number of antigenic mismatch and allelic mismatch were calculated using the serological nomenclature and the two first sets of digits of molecular HLA nomenclature respectively.

### ***Eplet mismatch identification***

Eplet mismatch score (EpMs) was determined with HLA Matchmaker program ([www.hlamatchmaker.net](http://www.hlamatchmaker.net), VO2 for class I and V02.1 for class II) by using the alleles, of each donor-recipient pair, defined by two first sets of digits of molecular HLA nomenclature. This program uses the genotypes of donor and recipient HLA alleles to generate a list of eplets. It

compares within loci and across loci of the same class the specific eplets found on the HLA molecules of the donor and the recipient and calculates the number of unique eplets found in the donor, but not the recipient. These unique eplets, termed eplet mismatches, represent the amount of novel antigenic material to which the recipient is exposed by the graft.

### ***Physiochemical disparity identification***

HLA immunogenicity of donor HLA mismatches was analysed by three physiochemical properties including: amino acid mismatch score (AAMM), electrophobic mismatch score (EMS), and hydrophobic mismatch score (HMS) described by Kosmoliaptsis *et al.* For each mismatched donor HLA was determined by performing inter- and intralocus amino acid sequence comparisons between the donor HLA and the recipient HLA class I or class II type; using a freely available computer algorithm

([http://www.hlaimmunogenicity.org/download/Cambridge\\_HLA\\_Class\\_I\\_Immunogenicity\\_Algorithm.xls](http://www.hlaimmunogenicity.org/download/Cambridge_HLA_Class_I_Immunogenicity_Algorithm.xls) and

[http://www.hlaimmunogenicity.org/download/Cambridge\\_HLA\\_Class\\_II\\_Immunogenicity\\_Algorithm.xls](http://www.hlaimmunogenicity.org/download/Cambridge_HLA_Class_II_Immunogenicity_Algorithm.xls)). For each donor-recipient pair and for each score (AAMM, EMS and HMS), the sum of HLA-A / HLA-B scores and HLA-DRB1 / HLA-DQB1 scores were calculated and named “class I” and “class II” respectively.

### ***Antibody monitoring***

Serum samples were collected at 0, 3, 6, 12 month, then annually, and at the time of biopsy when clinically warranted (presence of graft dysfunction or suspicion of rejection). Sera were screened for HLA-specific antibodies using solid-phase Luminex HLA antibody-detection beads (LABScreen™ Mixed, One Lambda Inc Canoga Park) and selected HLA-specific antibody-positive samples were analysed using Luminex single-antigen HLA class I and class

II antibody-detection beads (LABScreen Single Antigen HLA Class I and Class II, One Lambda Inc Canoga Park). Specificities with an mean fluorescence intensity (MFI) > 1000 were considered positive.

### *Statistical analysis*

All analyses were performed using R software (the R foundation for Statistical Computing). The two-tailed significance level was set at  $p < 0.05$ . Continuous variables are described as mean  $\pm$  standard deviation and median (interquartile range), categorical variables as frequencies (percentages). Comparisons of baseline characteristics, follow-up data and mismatch data according to development or not of de novo DSA (dnDSA) were carried out using non parametric Wilcoxon test for continuous variables and Fisher's exact test for categorical variables.

Boxplots were used to illustrate the distribution of epitope mismatches within antigenic/allelic mismatches groups (the bottom and top of the box are the first and third quartiles, the band inside the box is the median and the ends of the whiskers represent the minimum and maximum).

Survival analysis was done by the Kaplan-Meier method using the log-rank test for significance and the three following outcomes: dnDSA development, rejection and graft failure (return in dialysis or death with a functioning graft). Harrell's c-index was used to determine the optimal threshold for each mismatch variable.

Univariable and adjusted cox proportional hazard models were used to evaluate the association between dnDSA development with antigenic, allelic and epitopes mismatches. The adjustment variables included age, induction treatment and type of donor (living or deceased). Hazard ratios are presented with their 95% confidence intervals as HR (CI 95%).

The diagnostic performance of each mismatch variable (continuous, dichotomized according optimal threshold) was assessed using Harrell's c-index with their confidence interval at 95%.

## Results

### *Baseline Characteristics of the Kidney Transplant Recipients and Donors*

Of the 398 transplantations performed in our center between January 2010 and December 2014, 248 recipients were excluded (previous kidney transplant (n=57), previous others organ transplant (n=4), previous HSC transplant (n=1), ABO-incompatible kidney transplants (n=2), kidney-pancreas transplant (n=2), sensitized (n=182)). 150 non-sensitized first kidney transplantation recipients were eligible for these analyses (*Figure 1*).

The baseline characteristics for the included recipients and their donors are shown in *Table 1*. The median recipient age was 52 years. Standard immunosuppression included a calcineurin inhibitor (tacrolimus n=89, cyclosporine n=57), mycophenolate mofetil (n=131) or azathioprine (n=3), and prednisolone (n=148). Induction therapy with thymoglobulin (n=82) or basiliximab (n=58) was used in 140/150 patients (93,4%).

The mean follow-up time was  $49.3 \pm 17.7$  months. During this period, among the 150 patients, 18 patients developed dnDSA (12%) (7 HLA class I dnDSA, 17 HLA class II dnDSA and 6 HLA class I and II dnDSA, *data not shown*). There were 7 deaths and 45 patients experienced graft loss with no significant difference between patients with or without dnDSA. Patients who developed dnDSA received more frequently kidney graft from a deceased donor, experienced more frequently rejection (55.6% vs 24.2%,  $p=0.01$ ), and return to dialysis. Type of rejection among patients with dnDSA was mostly borderline rejection. There was no difference in pre-transplant dialysis time, cold ischemia time, between the two groups.

*Table 2* displays mismatch data according to the development or not of dnDSA during follow-up. The mean of HLA-DR and HLA-DQ antigenic mismatches were higher among patients

with dnDSA (for DR :  $1.4 \pm 0.6$  vs  $1.0 \pm 0.7$ ,  $p=0.038$  ; for DQ :  $1.3 \pm 0.6$  vs  $0.9 \pm 0.7$ ,  $p=0.021$  ; for DR + DQ :  $2.7 \pm 1.1$  vs  $1.9 \pm 1.3$ ,  $p=0.019$ ).

With regards to the allelic mismatches, the number class II (DR and DQ) mismatches were higher among patients with dnDSA (for DR + DQ:  $3.2 \pm 0.9$  vs  $2.4 \pm 1.3$ ,  $p=0.010$ ). The proportion of patients with 3 or 4 allelic class I MM was also higher among the patients with dnDSA (88.9% vs 62.1%,  $p=0.033$ )

For eplets, the number of HLA class I MM was higher among patients developing dnDSA ( $15.4 \pm 4.0$  vs  $12.2 \pm 6.8$ ,  $p=0.037$ ), as well as HLA-DQ MM ( $14.2 \pm 7.9$  vs  $9.0 \pm 7.2$ ,  $p=0.024$ )

HLA immunogenicity of donor HLA mismatches was analysed by AAMM, EMS, and HMS. For some donor-recipient pairs ( $n=20$ ), not result was provided at one locus due to presence of not frequent allele in donor or recipient unknown by the algorithm. Thus, the number of patients was reduced from 150 to 135 and 145 patients for class I and II, respectively. The HMS, EMS, and AAMM for HLA class I mismatches were not significantly different between patients without and with dnDSA, while there were significantly higher in patient with dnDSA for HLA class II mismatches ( $13.5 \pm 13.0$  vs  $23.9 \pm 17.4$ ,  $p=0.013$ ;  $13.5 \pm 13.0$  vs  $23.9 \pm 17.4$ ,  $p=0.013$ ;  $16.9 \pm 13.7$  vs  $27.6 \pm 17.3$ ,  $p=0.018$ , for HMS, EMS and AAMM respectively).

#### *Association between de novo DSA development and HLA mismatches*

*Figure 2* presents the number of MMEp according to the number of antigenic MM, either in class I or in class II.

In multivariate model, adjusted on age, induction and type of donor (*Table 3*), total load of antigenic, allelic and epitope mismatches for HLA class II were all significantly associated with the development of dnDSA (HR (CI 95%), 1.68 [1.11-2.53]; 1.83 [1.16-2.89]; 1.04

[1.00-1.08] respectively). For HLA class I, the risk of dnDSA generation was significantly high for antigenic and eplet mismatches but not allelic. Class II MM were also significantly associated with the development of dnDSA with antigenic, allelic and eplet approaches.

The effect of different mismatches load was analysed to search optimal cut-offs using Kaplan-Meier dnDSA free survival curves (*Supplementary Table 2*).

Analyse revealed optimal cut-offs of 2 ( $p=0,035$ ) and 5 antigenic mismatches ( $p=0,006$ ) for respectively HLA class I and sum of HLA class I and II.

For allelic mismatches, more than 2 ( $p=0,025$ ), 3 ( $p=0,021$ ) and 6 mismatches ( $p=0,009$ ) of HLA class I, II, and sum of class I and II respectively, significantly increased the risk of development of dnDSA (*Figure 3*).

Dividing epitope mismatches by medians, tertiles and quartiles, revealed a significant difference in dnDSA free survival for 11 ( $p=0,009$ ), 25 ( $p=0,034$ ) and 22 eplets mismatches ( $p=0,005$ ) respectively HLA class I, II and sum of class.

Analyse of incidence of biopsy proven rejection revealed various cut-offs (*Figure 4*). The HLA class I and II eplets mismatches cut-offs was higher than for DSA development (36 mismatches,  $p=0,031$ ), whereas for HLA class II alone 5 eplets mismatches increase significantly the risk of rejection all type involved ( $p=0,004$ ). For class I no cut-off was found (16 mismatches,  $p=0,11$ ).

*Table 4* displays results of C-statistic analysis performed to assess the interest of antigenic, allelic or epitopic mismatch to predict dnDSA development.

All the C-Index ranged from 61,4 to 68 using the number of MM as a continuous variable. The sum of allelic mismatches for HLA class I and II seems to be the best prediction tool (C-Index 70.6,  $p=0,0005$ ). Nevertheless, the usual antigenic approach seems to be also very

effective in predicting dnDSA development (C-index 69.3,  $p < 0.0001$ ). The capacity of prediction with epitopic approach was not higher as the usual approach (c-index 66.5,  $p = 0.003$ ).

In this cohort, the optimal cut-off of 5 or more antigenic MM was optimal to predict dnDSA development (c-index 68,  $p = 0.0005$ ), as well as 6 or more allelic MM (c-index 67.7,  $p = 0.002$ ), or 22 or more epitopic MM (c-index 65.7,  $p < 0.0001$ ).

## Discussion

In our cohort of non-sensitized first kidney transplant patients, we showed interesting results using eplet approach to assess HLA immunogenicity and improve the transplant survival rate in the organ transplantation. The strength of our study is the uniformity of the population despite monocentric design and sample size. Indeed recipients non-sensitized receiving the first kidney transplant were the lowest immunological risk. It also explains why the incidence of acute humoral rejection in our study was very low. Furthermore biopsies were not systematically realized but only when clinically warranted.

As detailed, the patient cohort in the present study was moderately well matched with 61,3% and 32% of recipient, respectively for HLA Class I and II, with 3 or 4 antigenic mismatches. This is due to the French allocation policy for deceased donor kidneys. It favours HLA-DR and young patients since few years, and matching on HLA-DQ was introduced only in 2017. Regarding allelic mismatches, matching was less well than antigenic with 65,3% of patients for HLA class I and 46,7% for HLA class II especially for HLA-DR. The results were expected and were explained by some alleles associated with high frequency in the Caucasian population as for example HLA-DRB1\*04, \*11, \*13 or HLA-DQB1\*06.

Due to the small sample size of our population, few patients developed dnDSA (12%). These findings are in line with previous reports as Wiebe et al<sup>10</sup> or Willecombe et al<sup>11</sup>, that observed 15% and 18% respectively of dnDSA production.

Following kidney transplantation, DSA development against HLA class I and/or class II alloantigens, is an important risk factor for humoral rejection and allograft failure<sup>12,13</sup>. The main outcome DSA de novo occurrence might be seen as an intermediate outcome and an imperfect proxy for immunologic activity against the donor graft but is closer to the pathophysiology of humoral rejection for which, up to date, no cure has proved its efficiency.

In our cohort, we established the optimal cut-off for class I (HLA-A and HLA-B) and II (HLA-DRB1 and HLA-DQB1) epitope mismatches on dnDSA free survival at 11 and 25 mismatches respectively. Our findings are in line with previous reports from Sapir-Pichhadze et al, who conducted a nested case-control study and established that HLA-DR+DQ eplet load is a risk factor for transplant glomerulopathy<sup>14</sup>. They showed that the cut-off of 36 eplets mismatches HLA-DR+DQ was significant when the eplet load was modelled as a binary variable using the median number of eplets mismatches as a threshold. This result is higher than in our study and might be due to the fact they studied the epitopic mismatch of HLA-DRB1 and HLA-DRB3/4/5, and HLA-DQB1 and HLA-DQA1 alleles. Actually, 17 eplets were defined on  $\alpha$  chain DQ (<http://epitopes.net>).

Also, it may be interesting to evaluate separately HLA class II loci. Indeed, recent reports from Wiebe et al focussed on the development of DSA against HLA class II and the risk of graft loss according to the number of HLA mismatch eplets<sup>7,8</sup>. Optimal threshold for epitope mismatches on development of HLA Class II dnDSA were 10 for HLA-DR (including DRB1/3/4/5) and 17 for HLA-DQ (DQA1/B1). Of note the cohort study was not uniform regarding anti HLA immunisation before the transplantation.

Silva et al also evaluated eplets mismatches as predictor of graft survival, rejection free graft survival and presence of anti-HLA antibodies for HLA class I<sup>15</sup>. In contrast to our results, using 10 eplets mismatches for HLA class I including HLA-A and HLA-B loci, there were no significant differences between eplet and traditional antigenic mismatches. This lack of significance might be due to a large number of missing HLA high-resolution typing data.

Knowledge of HLA structure allows evaluation of the potential impact of physiochemical property including hydrophobicity, electrostatic force and properties of aminoacid. We found that these properties based on three components (AAMM, EMS and HMS) were higher on patient producing dnDSA. Kosmoliaptsis et al also evaluated the importance of

immunogenicity<sup>16</sup>. It was reported that physiochemical properties of recipient's HLA type were strong predictors of HLA class II alloantigen immunogenicity. They found that HLA-DR mismatches carried the greatest influence on allograft outcomes, but this analysis do not included HLA-DQ locus.

C-Index comparison demonstrated high-resolution typing affords no additional benefit over low-resolution typing when it comes to predictive the development of dnDSA among non-sensitized recipients.

Recently, the previous group recorded the risk of allosensitization following failure of first renal transplant using three different approaches: amino-acid residues, eplets and electrostatic mismatches scores<sup>9</sup>. Aminoacid and electrostatic mismatches were independently associated with the development of dnDSA class II only. However they did not demonstrate an advantage in using an eplet approach to assess HLA immunogenicity over enumerating the number of aminoacid to evaluate the risk of DSA development. These findings are consistent with ours, even if the studied population differed with 50% of them without immunosuppressive drugs and 43% that were nephrectomised.

This study has several limitations that should be acknowledged. First, the retrospective design limits us from completely controlling for differences between groups for all confusion factors, but there were comparable in pre-transplant dialysis time, expanded criteria donor, and cold ischemia time, increasing graft loss risk<sup>17</sup>. Cyclosporin immunosuppression was more frequent among the dnDSA group. Some studies have reported that the use of cyclosporin is associated with an increased risk of dnDSAs compared with tacrolimus<sup>18,19</sup>, but this difference is not always replicated<sup>20</sup>. Second, approximately 10% in HLA class I and 3% in HLA class II of subjects were missing HLA physiochemical data missing, because of rare allele unknown to Cambridge algorithm. The impact of the missing data tends to be small for

analyse. Third, analyses were limited to the HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1 and HLA-DQB1. These loci are considered the most important loci in influencing transplant outcomes and are used for matching donor to recipient. In the future, the addition of HLA-C<sup>21</sup>, -DQA<sup>22</sup>, -DPB1<sup>23</sup>, -DRB3/4/5<sup>14</sup> or non-HLA antigens like MICA<sup>24</sup> (Major Histocompatibility Complex Class I Chain-Related A) may improve risk stratification.

## **Conclusion**

HLA matching is one of the highlights of long-term research in the field of organ transplant. Our study is the first to include patients without any immunisation and suggest that a more precise approach including physiochemical, epitopic and allelic study to determine the risk of DSA development, which is the start of humoral rejection, may be added as complementary information to traditional HLA matching approach based on counting antigenic mismatches with low-resolution typing. Larger cohort studies are needed to replicate and specify those findings, in order to optimise donor-recipient pairing and limit graft rejection. Future studies need also to determine whether the increased time and cost are out-weighed by definitive benefits, like more equitable organ allocation, better graft survival, and reduced future sensitization.

Up to date, it remains unclear if pre-transplantation epitope analysis should be routinely incorporated into HLA-matching algorithms. Chances of a suitable HLA-compatible kidney being available for patients who require repeat transplantation are markedly reduced by the presence of HLA-specific antibodies that arise during or following failure of their first transplant. Yet, the most efficient use could be for highly sensitized recipients. Moreover, Eurotransplant has implemented the use of HLA Matchmaker to identify antibody-compatible donors for this population<sup>25</sup>.

Even if no advantages of using each one of these methods alone is demonstrated among non-sensitized patients with a low immunological risk, it should be usefully implemented in an algorithm as a complementary tool.

## **Acknowledgments**

We are pleased to thank Dr Anne Kennel of Laboratory of Histocompatibility for her advices.

## **Conflicts of interest**

The authors have no conflicts of interest.

## Reference list

1. Opelz G, Dohler B. Effect of Human Leukocyte Antigen Compatibility on Kidney Graft Survival: Comparative Analysis of Two Decades: *Transplantation* 2007;84(2):137–43.
2. Cooper JE, Gralla J, Cagle L, Goldberg R, Chan L, Wiseman AC. Inferior Kidney Allograft Outcomes in Patients With De Novo Donor-Specific Antibodies Are Due to Acute Rejection Episodes: *Transplantation* 2011;91(10):1103–9.
3. Activité de greffe - rein - rapport Agence Biomédecine 2016. Available from: <https://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2015/donnees/organes/06-rein/pdf/rein.pdf>
4. Duquesnoy RJ. Human leukocyte antigen epitope antigenicity and immunogenicity. *Curr Opin Organ Transplant* 2014;19(4):428–35.
5. Duquesnoy RJ, Marrari M, Mulder A, Claas FHJ, Mostecky J, Balazs I. Structural aspects of human leukocyte antigen class I epitopes detected by human monoclonal antibodies. *Hum Immunol* 2012;73(3):267–77.
6. Kosmoliaptsis V, Sharples LD, Chaudhry A, et al. HLA class I amino acid sequence-based matching after interlocus subtraction and long-term outcome after deceased donor kidney transplantation. *Hum Immunol* 2010;71(9):851–6.
7. 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. *Am J Transplant* 2013;13(12):3114–22.
8. 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. *Am J Transplant* 2015;15(8):2197–202.
9. Kosmoliaptsis V, Mallon DH, Chen Y, Bolton EM, Bradley JA, Taylor CJ. Alloantibody Responses After Renal Transplant Failure Can Be Better Predicted by Donor-Recipient HLA Amino Acid Sequence and Physicochemical Disparities Than Conventional HLA Matching. *Am J Transplant* 2016;16(7):2139–47.
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. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg* 2012;12(5):1157–67.
11. 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;94(2):172–7.
12. Lefaucheur C, Viglietti D, Bentelejewski C, et al. IgG Donor-Specific Anti-Human HLA Antibody Subclasses and Kidney Allograft Antibody-Mediated Injury. *J Am Soc Nephrol* 2016;27(1):293–304.
13. Lee P-C, Zhu L, Terasaki PI, Everly MJ. HLA-Specific Antibodies Developed in the First Year Posttransplant are Predictive of Chronic Rejection and Renal Graft Loss: *Transplantation* 2009;88(4):568–74.
14. Sapir-Pichhadze R, Tinckam K, Quach K, et al. HLA-DR and -DQ Eplet Mismatches and Transplant Glomerulopathy: A Nested Case–Control Study. *Am J Transplant* 2015;15(1):137–48.
15. Silva E, Alba A, Castro A, et al. Evaluation of HLA Matchmaker Compatibility as Predictor of Graft Survival and Presence of Anti-HLA Antibodies. *Transplant Proc* 2010;42(1):266–9.
16. Kosmoliaptsis V, Sharples LD, Chaudhry AN, Halsall DJ, Bradley JA, Taylor CJ. Predicting HLA Class II Alloantigen Immunogenicity From the Number and

Physiochemical Properties of Amino Acid Polymorphisms: Transplantation 2011; 91(2):183–90.

17. Morris PJ, Johnson RJ, Fuggle SV, Belger MA, Briggs JD. Analysis of factors that affect outcome of primary cadaveric renal transplantation in the UK. HLA Task Force of the Kidney Advisory Group of the United Kingdom Transplant Support Service Authority (UKTSSA). *Lancet Lond Engl* 1999;354(9185):1147–52.
18. Huang Y, Ramon D, Luan FL, Sung R, Samaniego M. Incidences of preformed and de novo donor-specific HLA antibodies and their clinicohistological correlates in the early course of kidney transplantation. *Clin Transpl* 2012;247–56.
19. Kaneku H, O’Leary JG, Banuelos N, et al. De novo donor-specific HLA antibodies decrease patient and graft survival in liver transplant recipients. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg* 2013;13(6):1541–8.
20. Terasaki PI, Ozawa M. Predicting kidney graft failure by HLA antibodies: a prospective trial. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg* 2004;4(3):438–43.
21. Tran TH, Döhler B, Heinold A, Scherer S, Ruhstroth A, Opelz G. Deleterious Impact of Mismatching for Human Leukocyte Antigen-C in Presensitized Recipients of Kidney Transplants: Transplantation 2011;92(4):419–25.
22. 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;98(2):157–66.
23. Laux G, Mytilineos J, Opelz G. Critical evaluation of the amino acid triplet-epitope matching concept in cadaver kidney transplantation: Transplantation 2004;77(6):902–7.
24. Baranwal AK, Mehra NK. Major Histocompatibility Complex Class I Chain-Related A (MICA) Molecules: Relevance in Solid Organ Transplantation. *Front Immunol* [Internet] 2017 [cited 2017 Jul 8];8. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2017.00182/full>
25. Claas FH, Doxiadis II. Management of the highly sensitized patient. *Curr Opin Immunol* 2009;21(5):569–72.

**Tables**

**Table 1a: Baseline characteristics and follow-up data of patients according to the development or not of *de novo* DSA during follow-up**

	Population (N=150)			No DSA (n=132)			De novo DSA (n=18)			p-value
	N	Mean ± SD / n (%)	Median (Q1 - Q3)	N	Mean ± SD / n (%)	Median (Q1 - Q3)	N	Mean ± SD / n (%)	Median (Q1 - Q3)	
<b>Demographics</b>										
Age (years)	150	50.1 ± 14.6	52.0 (38.0 - 62.0)	132	50.8 ± 14.7 (39.5 - 62.5)	53.0	18	45.1 ± 13.1 (35.0 - 59.0)	39.0	0.083
Gender	150			132			18			0.76
Male		118 (78.7 %)			103 (78.0 %)			15 (83.3 %)		
Female		32 (21.3 %)			29 (22.0 %)			3 (16.7 %)		
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	150	25.9 ± 5.2 (22.0 - 30.0)	25.0	132	25.5 ± 5.1 (21.5 - 29.0)	25.0	18	28.9 ± 4.6 (26.0 - 33.0)	30.0	<b>0.006</b>
<b>Comorbidities</b>										
Smoking status	150			132			18			1.00
No smoker		56 (37.3 %)			49 (37.1 %)			7 (38.9 %)		
Former smoker		68 (45.3 %)			60 (45.5 %)			8 (44.4 %)		
Current smoker		26 (17.3 %)			23 (17.4 %)			3 (16.7 %)		
Stroke	150	7 (4.7 %)		132	7 (5.3 %)		18	0 (0.0 %)		1.00
Diabetes	150	29 (19.3 %)		132	23 (17.4 %)		18	6 (33.3 %)		0.12
Diabetes	150			132			18			<b>0.036</b>
No history of diabetes		121 (80.7 %)			109 (82.6 %)			12 (66.7 %)		
Type I diabetes		7 (4.7 %)			4 (3.0 %)			3 (16.7 %)		
Type II diabetes		22 (14.7 %)			19 (14.4 %)			3 (16.7 %)		
History of coronary disease	150	15 (10.0 %)		132	15 (11.4 %)		18	0 (0.0 %)		0.22



**Table 1b: Transplantation data and follow-up data of patients according to the development or not of *de novo* DSA during follow-up**

	Population (N=150)			No DSA (n=132)			De novo DSA (n=18)			
	N	Mean ± SD / n (%)	Median (Q1 - Q3)	N	Mean ± SD / n (%)	Median (Q1 - Q3)	N	Mean ± SD / n (%)	Median (Q1 - Q3)	p-value
Type of donor	150			132			18			0.22
Living donor		56 (37.3 %)			50 (37.9 %)			6 (33.3 %)		
Standard criteria		58 (38.7 %)			48 (36.4 %)			10 (55.6 %)		
Expanded criteria		36 (24.0 %)			34 (25.8 %)			2 (11.1 %)		
Living donor	150	56 (37.3 %)		132	50 (37.9 %)		18	6 (33.3 %)		0.80
Link donor/recipient	56			50			6			0.48
Children		3 (5.4 %)			3 (6.0 %)			0 (0.0 %)		
Parents		9 (16.1 %)			9 (18.0 %)			0 (0.0 %)		
Brothers and sisters		17 (30.4 %)			16 (32.0 %)			1 (16.7 %)		
Uncles and aunts		1 (1.8 %)			1 (2.0 %)			0 (0.0 %)		
Husbands and wives		26 (46.4 %)			21 (42.0 %)			5 (83.3 %)		
Cold ischemia time (hours)	150	11.4 ± 8.0	11.0 (3.8 - 15.1)	132	11.4 ± 8.0	11.0 (3.8 - 15.3)	18	11.2 ± 7.6	11.3 (4.2 - 15.0)	0.98
Induction treatment	150	140 (93.3 %)		132	123 (93.2 %)		18	17 (94.4 %)		1.00
Induction treatment	150			132			18			0.27
Lymphocyte depletive-agent		82 (54.7 %)			69 (52.3 %)			13 (72.2 %)		
Anti-interleukin-2 receptor antibodies		58 (38.7 %)			54 (40.9 %)			4 (22.2 %)		
No induction		10 (6.7 %)			9 (6.8 %)			1 (5.6 %)		
Immunosuppressive regimen	150			132			18			<b>0.010</b>
Cyclosporine		57 (38.0 %)			45 (34.1 %)			12 (66.7 %)		

Tacrolimus	150	89 (59.3 %)	132	84 (63.6 %)	18	5 (27.8 %)	<b>0.005</b>		
Mycophenolate mofetil (cellcept or myfortic)	150	131 (87.3 %)	132	113 (85.6 %)	18	18 (100.0 %)	0.13		
Azathioprin	150	3 (2.0 %)	132	3 (2.3 %)	18	0 (0.0 %)	1.00		
Corticosteroids	150	148 (98.7 %)	132	130 (98.5 %)	18	18 (100.0 %)	1.00		
<b>Post-transplantation events</b>									
Delayed graft function	150	45 (30.0 %)	132	41 (31.1 %)	18	4 (22.2 %)	0.59		
Rejection	150	42 (28.0 %)	132	32 (24.2 %)	18	10 (55.6 %)	<b>0.010</b>		
Type of rejection	42		32		10		0.42		
Borderline		25 (59.5 %)		18 (56.2 %)		7 (70.0 %)			
Cellular		6 (14.3 %)		5 (15.6 %)		1 (10.0 %)			
Vascular cellular		9 (21.4 %)		8 (25.0 %)		1 (10.0 %)			
Acute humoral		1 (2.4 %)		0 (0.0 %)		1 (10.0 %)			
Chronic humoral		1 (2.4 %)		1 (3.1 %)		0 (0.0 %)			
Time to first rejection (years)	42	0.4 ± 0.7	0.1 (0.1 - 0.4)	32	0.4 ± 0.7	0.1 (0.1 - 0.3)	10	0.6 ± 0.8 (0.1 - 0.7)	0.26
Return in dialysis	150	9 (6.0 %)	132	5 (3.8 %)	18	4 (22.2 %)	<b>0.013</b>		
Death with a functioning graft	150	7 (4.7 %)	132	7 (5.3 %)	18	0 (0.0 %)	1.00		
Graft failure from any cause including death	150	16 (10.7 %)	132	12 (9.1 %)	18	4 (22.2 %)	0.10		
Time to follow-up (months)	150	49.3 ± 17.7	47.9 (35.1 - 64.0)	132	48.6 ± 17.5	46.3 (34.7 - 62.9)	18	54.8 ± 18.3 (37.7 - 70.7)	0.17
Last creatinine (µmol/L)	137	131.8 ± 44.7	123.8 (102.5 - 150.3)	123	132.4 ± 44.1	123.8 (103.4 - 151.2)	14	126.3 ± 51.3 (79.0 - 145.9)	0.65
Last eGFR - CKD-EPI (mL/min/1.73m <sup>2</sup> )	137	58.4 ± 22.5	56.3 (41.5 - 70.3)	123	57.5 ± 21.9	56.3 (41.3 - 68.9)	14	66.1 ± 27.0 (44.3 - 85.8)	0.28

**Table 2: Descriptive mismatch data according to the development or not of *de novo* DSA during follow-up**

	Population (N=150)			No DSA (n=132)			De novo DSA (n=18)			
	N	Mean $\pm$ SD / n (%)	Median (Q1 - Q3)	N	Mean $\pm$ SD / n (%)	Median (Q1 - Q3)	N	Mean $\pm$ SD / n (%)	Median (Q1 - Q3)	p-value
<b>Antigenic</b>										
Antigenic MM class I	150	2.7 $\pm$ 1.2	3 (2 - 4)	132	2.6 $\pm$ 1.2	3 (2 - 4)	18	3.2 $\pm$ 0.7	3 (3 - 4)	0.077
Antigenic MM class I	150			132			18			0.068
0-2		58 (38.7 %)			55 (41.7 %)			3 (16.7 %)		
3-4		92 (61.3 %)			77 (58.3 %)			15 (83.3 %)		
Antigenic MM DR	150	1.1 $\pm$ 0.7	1 (1 - 2)	132	1.0 $\pm$ 0.7	1 (1 - 2)	18	1.4 $\pm$ 0.6	1 (1 - 2)	<b>0.036</b>
Antigenic MM DR	150			132			18			0.11
0		33 (22.0 %)			32 (24.2 %)			1 (5.6 %)		
1		75 (50.0 %)			66 (50.0 %)			9 (50.0 %)		
2		42 (28.0 %)			34 (25.8 %)			8 (44.4 %)		
Antigenic MM DQ	150	1.0 $\pm$ 0.7	1 (1 - 1)	132	0.9 $\pm$ 0.7	1 (0 - 1)	18	1.3 $\pm$ 0.6	1 (1 - 2)	<b>0.021</b>
Antigenic MM DQ	150			132			18			0.056
0		37 (24.7 %)			36 (27.3 %)			1 (5.6 %)		
1		79 (52.7 %)			69 (52.3 %)			10 (55.6 %)		
2		34 (22.7 %)			27 (20.5 %)			7 (38.9 %)		
Antigenic MM class II	150	2.0 $\pm$ 1.3	2 (1 - 3)	132	1.9 $\pm$ 1.3	2 (1 - 3)	18	2.7 $\pm$ 1.1	2.5 (2 - 4)	<b>0.019</b>
Antigenic MM class II	150			132			18			0.11
0-2		102 (68.0 %)			93 (70.5 %)			9 (50.0 %)		
3-4		48 (32.0 %)			39 (29.5 %)			9 (50.0 %)		
Antigenic MM class I + II	150	4.7 $\pm$ 1.9	5 (4 - 6)	132	4.6 $\pm$ 2.0	5 (3 - 6)	18	5.9 $\pm$ 1.1	6 (5 - 7)	<b>0.004</b>
Antigenic MM class I + II	150			132			18			0.068
0-2		19 (12.7 %)			19 (14.4 %)			0 (0.0 %)		
3-4		47 (31.3 %)			44 (33.3 %)			3 (16.7 %)		
5-6		54 (36.0 %)			45 (34.1 %)			9 (50.0 %)		

7-8		30 (20.0 %)	24 (18.2 %)	6 (33.3 %)	
<b>Allelic</b>					
Allelic MM class I	150	2.8 ± 1.1	3 (2 - 4)	132	18 3 (3 - 4) 3 (2 - 4) 18 3.2 ± 0.6 3 (3 - 4) 0.094
Allelic MM class I	150			132	18
0-2		52 (34.7 %)			2 (11.1 %)
3-4		98 (65.3 %)			16 (88.9 %)
Allelic MM DR	150	1.3 ± 0.7	1 (1 - 2)	132	18 1.7 ± 0.5 2 (1 - 2) <b>0.019</b>
Allelic MM DR	150			132	18 0.054
0		22 (14.7 %)			0 (0.0 %)
1		62 (41.3 %)			6 (33.3 %)
2		66 (44.0 %)			12 (66.7 %)
Allelic MM DQ	150	1.2 ± 0.7	1 (1 - 2)	132	18 1.6 ± 0.5 2 (1 - 2) <b>0.013</b>
Allelic MM DQ	150			132	<b>0.026</b>
0		26 (17.3 %)			0 (0.0 %)
1		73 (48.7 %)			8 (44.4 %)
2		51 (34.0 %)			10 (55.6 %)
Allelic MM class II	150	2.5 ± 1.3	2 (2 - 4)	132	18 3.2 ± 0.9 4 (2 - 4) <b>0.010</b>
Allelic MM class II	150			132	18 0.082
0-2		80 (53.3 %)			6 (33.3 %)
3-4		70 (46.7 %)			12 (66.7 %)
Allelic MM class I + II	150	5.2 ± 2.1	6 (4 - 7)	132	18 6.4 ± 1.1 7 (6 - 7) <b>0.005</b>
Allelic MM class I + II	150			132	18 <b>0.025</b>
0-2		18 (12.0 %)			0 (0.0 %)
3-4		32 (21.3 %)			1 (5.6 %)
5-6		50 (33.3 %)			6 (33.3 %)
7-8		50 (33.3 %)			11 (61.1 %)
<b>EpMs (total)</b>					
EpMs class I	150	12.6 ± 6.6	13 (8 - 17)	132	18 15.4 ± 4.0 15 (13 - 17) <b>0.037</b>
EpMs DR	150	8.6 ± 6.4	8 (4 - 12)	132	18 10.4 ± 6.2 9 (6 - 13) 0.25

EpMs DQ	150	9.6 ± 7.5	10 (2 - 14)	132	9.0 ± 7.2	10 (1 - 13)	18	14.2 ± 7.9	11 (9 - 21)	<b>0.024</b>
EpMs class II	150	18.2 ± 12.3	16.5 (10 - 28)	132	17.3 ± 12.2	16 (9 - 25.5)	18	24.6 ± 12.1	24 (15 - 33)	<b>0.032</b>
EpMs class I + II	150	30.8 ± 15.5	30 (19 - 42)	132	29.5 ± 15.5	29 (18 - 41.5)	18	39.9 ± 12.4	37.5 (30 - 46)	<b>0.008</b>
<b>Total HMS (hydrophobic)</b>										
HMS class I	135	23.2 ± 16.5	20 (11 - 34)	118	22.8 ± 17.0	19 (10 - 33)	17	26.1 ± 13.1	23 (15 - 38)	0.25
HMS class II	145	14.7 ± 13.9	12 (4 - 21)	128	13.5 ± 13.0	11 (3 - 20.5)	17	23.9 ± 17.4	19 (12 - 40)	<b>0.013</b>
HMS class I + II	130	37.9 ± 23.4	35.5 (21 - 53)	114	35.9 ± 22.8	33.5 (20 - 50)	16	52.0 ± 23.9	49 (32 - 70)	<b>0.016</b>
<b>Total EMS (electrostatic)</b>										
EMS class I	135	27.8 ± 20.2	25 (11 - 41)	118	27.2 ± 20.6	25 (10 - 41)	17	32.3 ± 17.8	26 (19 - 45)	0.24
EMS class II	145	14.7 ± 13.9	12 (4 - 21)	128	13.5 ± 13.0	11 (3 - 20.5)	17	23.9 ± 17.4	19 (12 - 40)	<b>0.013</b>
EMS class I + II	130	42.4 ± 26.3	38.5 (23 - 62)	114	40.2 ± 25.6	35 (21 - 60)	16	58.2 ± 27.2	55 (37 - 70)	<b>0.019</b>
<b>AAMM (amino acids)</b>										
AAMM class I	135	20.9 ± 12.1	20 (13 - 29)	118	20.2 ± 12.6	19 (12 - 29)	17	25.2 ± 7.6	24 (19 - 32)	0.059
AAMM class II	145	18.2 ± 14.5	15 (8 - 27)	128	16.9 ± 13.7	15 (6 - 27)	17	27.6 ± 17.3	24 (14 - 42)	<b>0.018</b>
AAMM class I + II	130	38.9 ± 20.9	39.5 (25 - 52)	114	36.7 ± 20.2	36.5 (22 - 51)	16	54.1 ± 19.8	47 (44.5 - 76)	<b>0.006</b>

**Table 3: Association between *de novo* DSA development with antigenic, allelic and epitope mismatch variables (continuous variables): univariable and adjusted cox models**

	Univariable cox model		Adjusted cox model*	
	HR (CI 95 %)	p-value	HR (CI 95 %)	p-value
Antigenic MM class I	1.62 (0.98-2.68)	0.060	1.70 (1.01-2.84)	<b>0.045</b>
Antigenic MM class II	1.53 (1.04-2.27)	<b>0.032</b>	1.68 (1.11-2.53)	<b>0.014</b>
Antigenic MM class I + II	1.51 (1.10-2.07)	<b>0.011</b>	1.66 (1.17-2.35)	<b>0.004</b>
Allelic MM class I	1.61 (0.96-2.71)	0.071	1.70 (0.99-2.90)	0.054
Allelic MM class II	1.73 (1.10-2.71)	<b>0.017</b>	1.83 (1.16-2.89)	<b>0.009</b>
Allelic MM class I + II	1.52 (1.10-2.09)	<b>0.011</b>	1.62 (1.16-2.26)	<b>0.005</b>
EpMs Total class I	1.07 (1.00-1.15)	0.060	1.08 (1.00-1.17)	<b>0.043</b>
EpMs Total class II	1.04 (1.00-1.08)	<b>0.038</b>	1.04 (1.00-1.08)	<b>0.030</b>
EpMs Total class I + II	1.04 (1.01-1.07)	<b>0.016</b>	1.04 (1.01-1.08)	<b>0.010</b>

\*adjusted on age, induction, type of donor (living or deceased).

**Table 4: C-index of antigenic, allelic and epitope mismatches (continuous, dichotomized according an optimal cutoff) for the risk of *de novo* DSA development**

	C-index (CI 95 %)	p-value
<b>Antigenic MM class I</b>		
Continuous	64.2 (54.1 - 74.3)	<b>0.006</b>
Opimal cutoff (> 2 MM)	63.6 (55.4 - 71.8)	<b>0.001</b>
<b>Antigenic MM class II</b>		
Continuous	64.0 (53.0 - 75.0)	<b>0.013</b>
Opimal cutoff (> 1 MM)	59.2 (51.3 - 67.0)	<b>0.022</b>
<b>Antigenic MM class I + II</b>		
Continuous	69.3 (59.7 - 79.0)	<b>&lt;0.0001</b>
Opimal cutoff (> 5 MM)	68.0 (57.8 - 78.1)	<b>0.0005</b>
<b>Allelic MM class I</b>		
Continuous	63.3 (53.4 - 73.2)	<b>0.009</b>
Opimal cutoff (> 2 MM)	64.1 (57.0 - 71.1)	<b>&lt;0.0001</b>
<b>Allelic MM class II</b>		
Continuous	67.4 (56.9 - 77.9)	<b>0.001</b>
Opimal cutoff (> 3 MM)	63.3 (51.4 - 75.2)	<b>0.029</b>
<b>Allelic MM class I + II</b>		
Continuous	70.6 (60.7 - 80.6)	<b>&lt;0.0001</b>
Opimal cutoff (> 6 MM)	67.7 (56.7 - 78.8)	<b>0.002</b>
<b>EpMs Total class I</b>		
Continuous	65.2 (55.8 - 74.6)	<b>0.001</b>
Opimal cutoff (> 11 MM)	66.6 (59.4 - 73.8)	<b>&lt;0.0001</b>
<b>EpMs Total class II</b>		
Continuous	62.9 (50.6 - 75.3)	<b>0.040</b>
Opimal cutoff (> 25 MM)	61.4 (49.4 - 73.4)	0.062
<b>EpMs Total class I + II</b>		
Continuous	66.5 (55.8 - 77.2)	<b>0.003</b>
Opimal cutoff (> 22 MM)	65.7 (61.9 - 69.4)	<b>&lt;0.0001</b>

## **Figure legends**

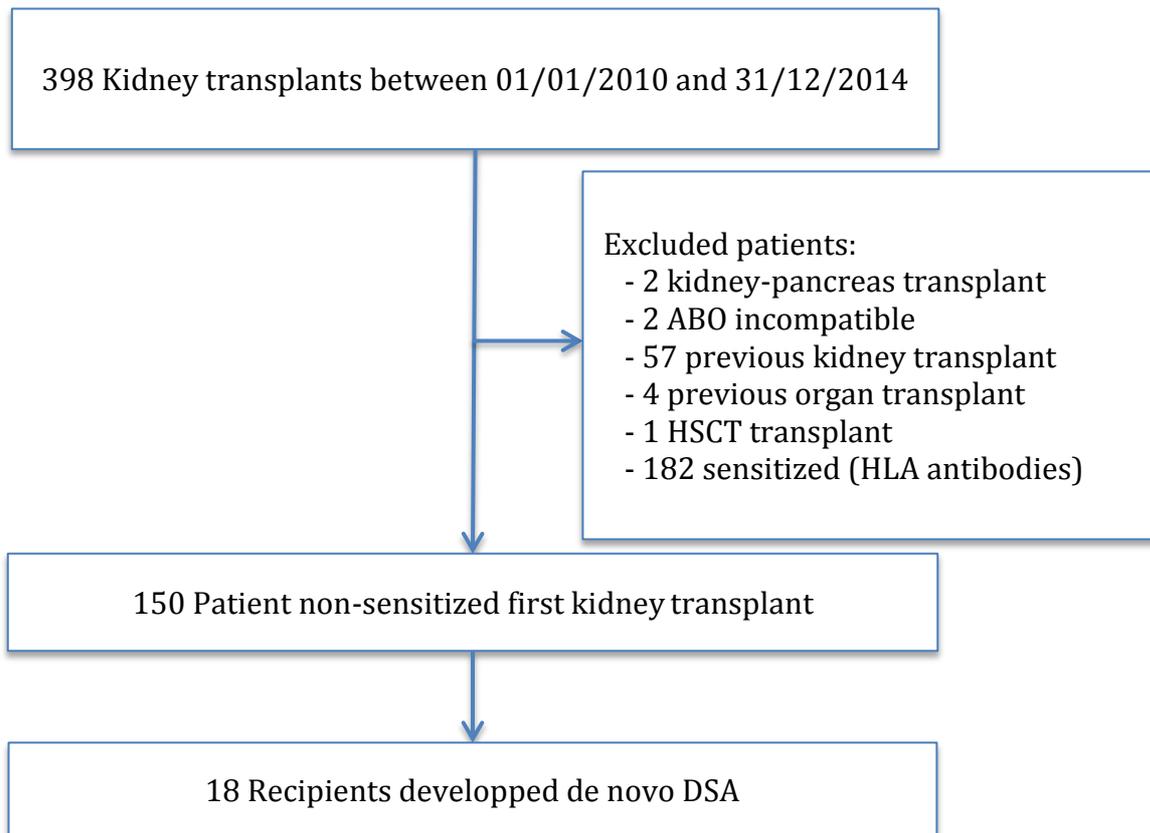
**Fig. 1** Flow chart

**Fig. 2** Description of epitope mismatch within antigenic (2A, 2B) and allelic (2C, 2D) mismatch groups

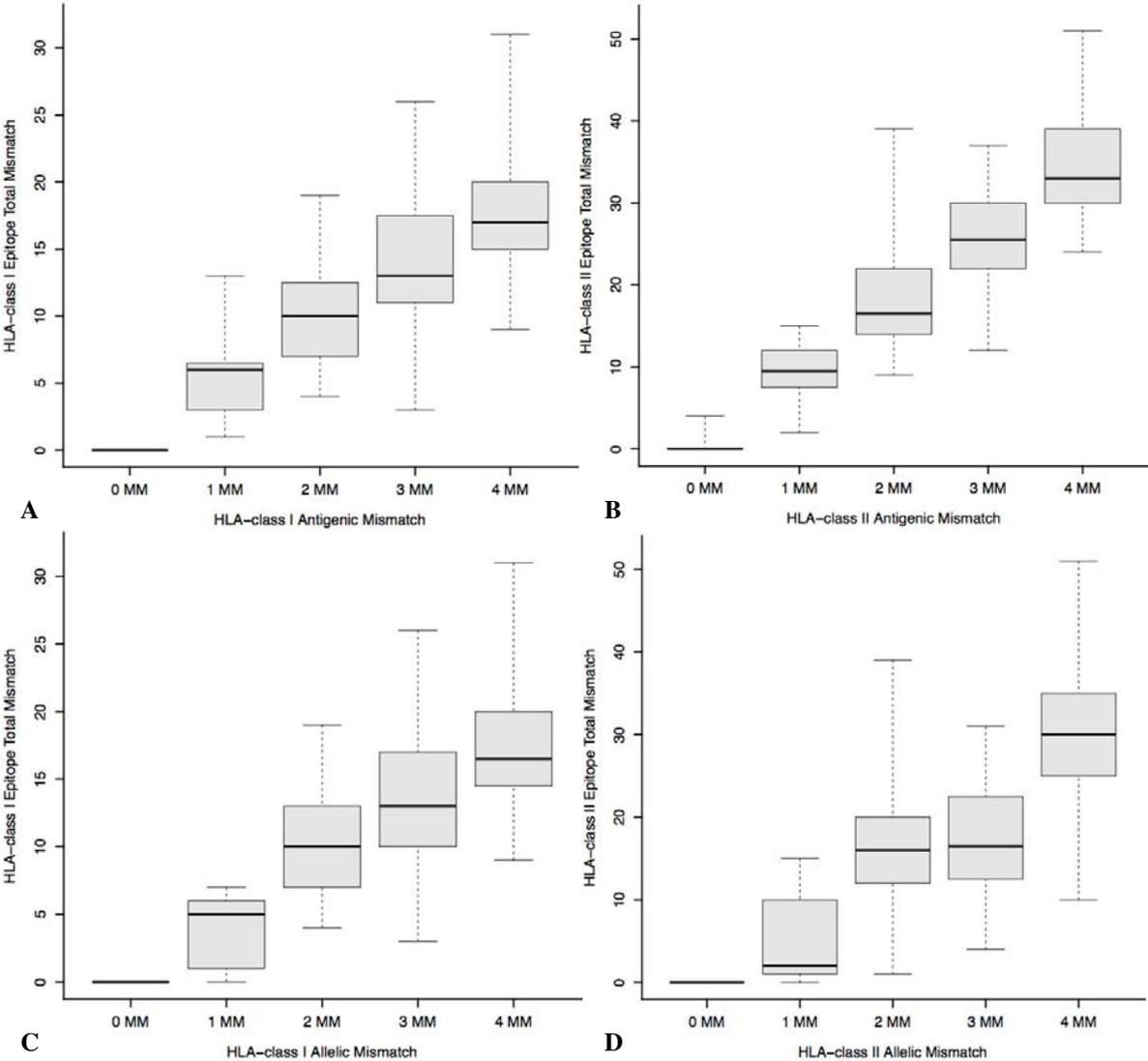
**Fig. 3** Kaplan-Meier survival curves for *de novo* DSA and optimal cutoff for antigenic and allelic and epitope mismatches class I, II and both

**Fig. 4** Kaplan-Meier survival curves for graft rejection and optimal cutoff for antigenic and allelic and epitope mismatches class I, II and both

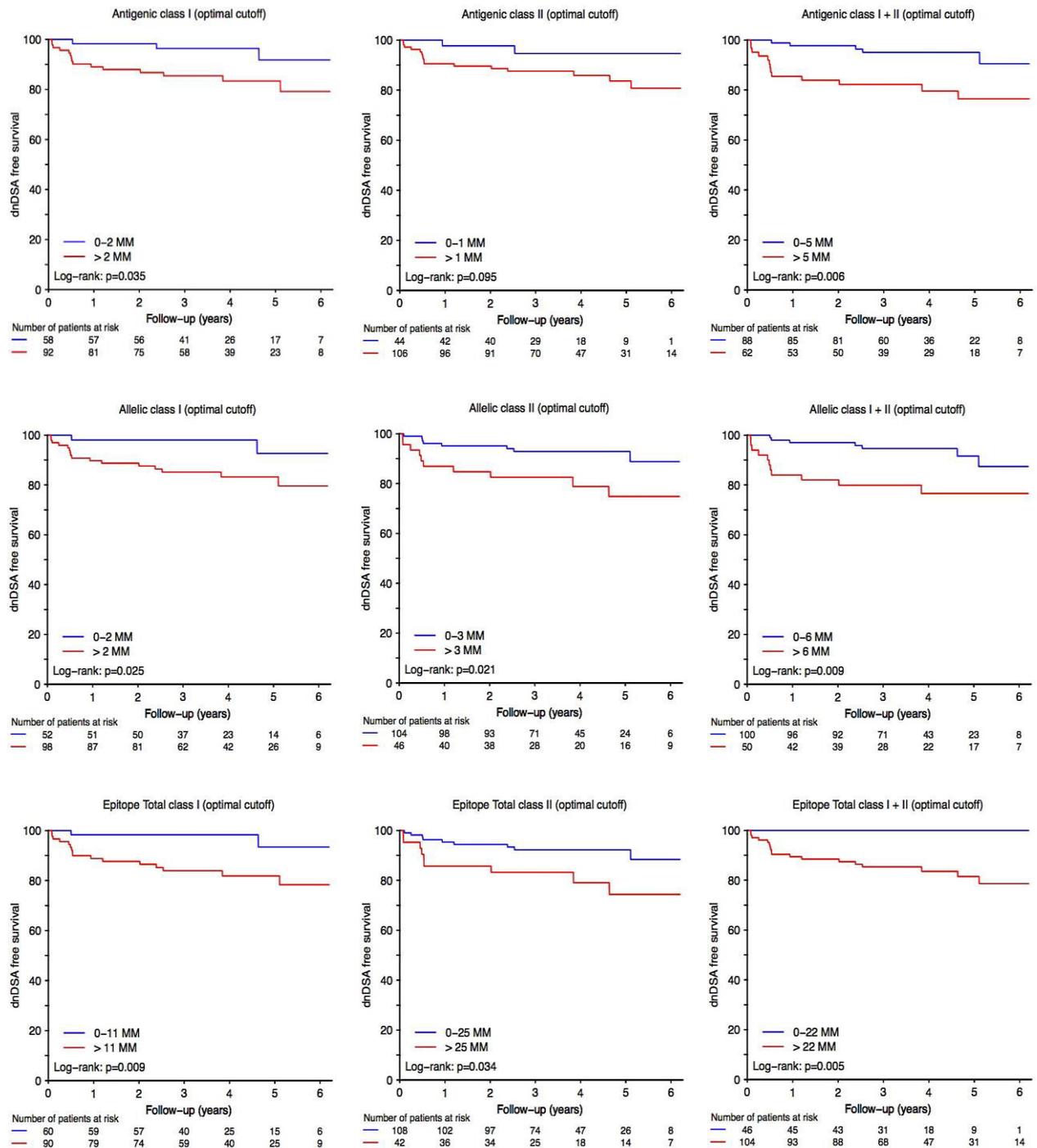
**Fig. 1** Flow chart



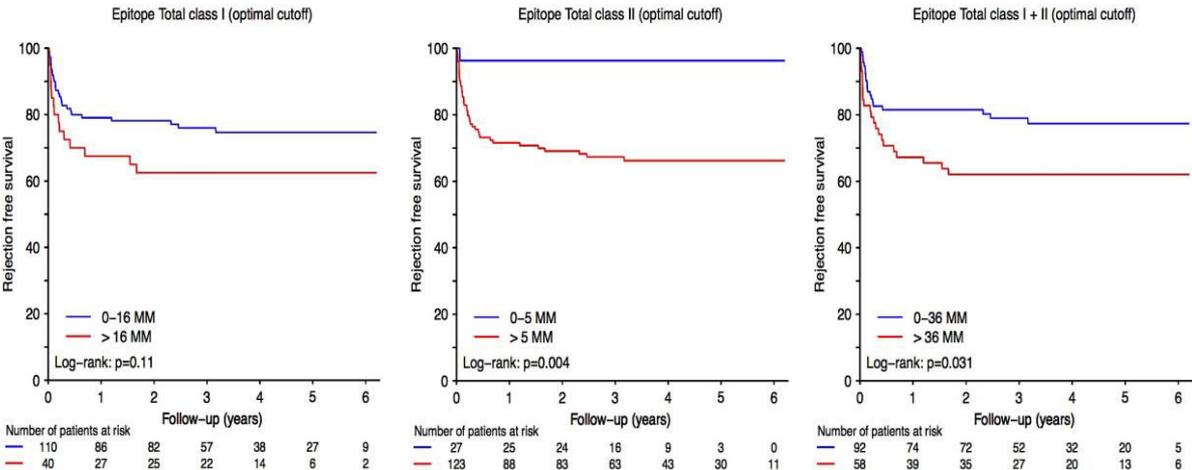
**Fig. 2** Description of epitope mismatch within antigenic (2A, 2B) and allelic (2C, 2D) mismatch groups



**Fig. 3** Kaplan-Meier survival curves for *de novo* DSA and optimal cutoff for antigenic and allelic and epitope mismatches class I, II and both



**Fig. 4** Kaplan-Meier survival curves for graft rejection and optimal cutoff for antigenic and allelic and epitope mismatches class I, II and both



## Supplementary data

**Table 1a: List of antigens with one allele 15 times more frequent than the others \***

Locus	Serological equivalent	Allele the most frequent in the european NMDP population	Locus	Serological equivalent	Allele the most frequent in the european NMDP population
A	1	01:01	B	52	52:01
A	2	02:01	B	53	53:01
A	3	03:01	B	54	54:01
A	11	11:01	B	55	55:01
A	23	23:01	B	56	56:01
A	24	24:02	B	57	57:01
A	25	25:01	B	58	58:01
A	26	26:01	B	60	40:01
A	29	29:02	B	61	40:02
A	31	31:01	B	62	15:01
A	32	32:01	B	64	14:01
A	34	34:02	B	65	14:02
A	36	36:01	B	72	15:03
A	66	66:01	B	73	73:01
A	69	69:01	B	75	15:02
A	80	80:01	B	78	78:01
B	7	07:02	DR	7	07:01
B	8	08:01	DR	8	08:01
B	13	13:02	DR	9	09:01
B	18	18:01	DR	10	10:01
B	37	37:01	DR	12	12:01
B	38	38:01	DR	14	14:01
B	42	42:02	DR	15	15:01
B	45	45:01	DR	17	03:01
B	46	46:01	DR	18	03:02
B	47	47:01	DQ	2	02:01
B	48	48:01	DQ	4	04:02
B	49	49:01	DQ	7	03:01
B	50	50:01	DQ	8	03:02
B	51	51:01	DQ	9	03:03

\* NMDP frequencies (<https://bioinformatics>) and SFHI (Société francophone d'Histocompatibilité et immunogénétique) recommandations

**Table 1b: List of antigens with at least two frequent alleles (the other allele frequencies are superior to first allele frequency divided per 15)\***

Locus	Serological equivalent	Allele the most frequent in the european NMDP population	Other alleles with frequency		
A	30	30:01	30:02		
A	33	33:01	33:03		
A	68	68:01	68:02		
A	74	74:01	74:03		
B	27	27:05	27:02		
B	35	35:01	35:02	35:03	
B	39	39:01	39:06		
B	41	41:01	41:02		
B	44	44:02	44:03		
B	63	15:17	15:16		
B	71	15:18	15:10		
DR	1	01:01	01:02	01:03	
DR	4	04:01	04:04	04:02	04:07
DR	11	11:01	11:04	11:02	
DR	13	13:01	13:02	13:03	
DR	16	16:01	16:02		
DQ	5	05:01	05:03	05:02	
DQ	6	06:02	06:03	06:04	

\* NMDP frequencies (<https://bioinformatics>) and SFHI (Société francophone d'Histocompatibilité et immunogénétique) recommandations

**Table 2: Association between de novo DSA development with antigenic, allelic and epitope mismatch variables (categorical variables): univariable and adjusted cox models**

	Univariable cox model			Adjusted cox model*	
	$N_{\text{dnDSA}}/N$	HR (CI 95 %)	p-value	HR (CI 95 %)	p-value
<b>Antigenic MM class I</b>					
Categories					
0-2 MM	3 / 58 (5.2 %)	1.00	-	1.00	-
3-4 MM	15 / 92 (16.3 %)	3.49 (1.01-12.07)	<b>0.048</b>	4.29 (1.13-16.35)	<b>0.033</b>
Optimal cutoff					
0-2 MM	3 / 58 (5.2 %)	1.00	-	1.00	-
> 2 MM	15 / 92 (16.3 %)	3.49 (1.01-12.07)	<b>0.048</b>	4.29 (1.13-16.35)	<b>0.033</b>
<b>Antigenic MM class II</b>					
Categories					
0-2 MM	9 / 102 (8.8 %)	1.00	-	1.00	-
3-4 MM	9 / 48 (18.8 %)	2.06 (0.81-5.20)	0.13	2.52 (0.98-6.49)	0.056
Optimal cutoff					
0-1 MM	2 / 44 (4.5 %)	1.00	-	1.00	-
> 1 MM	16 / 106 (15.1 %)	3.27 (0.75-14.23)	0.11	3.32 (0.75-14.71)	0.11
<b>Antigenic MM class II</b>					
Categories					
0-2 MM	0 / 19 (0.0 %)	-	-	-	-
3-4 MM	3 / 47 (6.4 %)	-	-	-	-
5-6 MM	9 / 54 (16.7 %)	-	-	-	-
7-8 MM	6 / 30 (20.0 %)	-	-	-	-
Optimal cutoff					
0-5 MM	5 / 88 (5.7 %)	1.00	-	1.00	-
> 5 MM	13 / 62 (21.0 %)	3.85 (1.37-10.82)	<b>0.010</b>	4.63 (1.53-14.02)	<b>0.007</b>
<b>Allelic MM class I</b>					
Categories					
0-2 MM	2 / 52 (3.8 %)	1.00	-	1.00	-
3-4 MM	16 / 98 (16.3 %)	4.61 (1.06-20.04)	<b>0.042</b>	5.77 (1.20-27.66)	<b>0.028</b>
Optimal cutoff					
0-2 MM	2 / 52 (3.8 %)	1.00	-	1.00	-
> 2 MM	16 / 98 (16.3 %)	4.61 (1.06-20.04)	<b>0.042</b>	5.77 (1.20-27.66)	<b>0.028</b>
<b>Allelic MM class II</b>					
Categories					
0-2 MM	6 / 80 (7.5 %)	1.00	-	1.00	-
3-4 MM	12 / 70 (17.1 %)	2.35 (0.88-6.27)	0.087	2.59 (0.94-7.09)	0.065
Optimal cutoff					
0-3 MM	8 / 104 (7.7 %)	1.00	-	1.00	-
> 3 MM	10 / 46 (21.7 %)	2.85 (1.12-7.24)	<b>0.027</b>	3.19 (1.25-8.14)	<b>0.015</b>
<b>Allelic MM class II</b>					
Categories					
0-2 MM	0 / 18 (0.0 %)	-	-	-	-
3-4 MM	1 / 32 (3.1 %)	-	-	-	-
5-6 MM	6 / 50 (12.0 %)	-	-	-	-

7-8 MM	11 / 50 (22.0 %)	-	-	-	-
Optimal cutoff					
0-6 MM	7 / 100 (7.0 %)	1.00	-	1.00	-
> 6 MM	11 / 50 (22.0 %)	3.31 (1.28-8.56)	<b>0.013</b>	3.76 (1.40-10.14)	<b>0.009</b>
<b>EpMs Total class I</b>					
Quartiles			<b>0.034</b>		<b>0.018</b>
0-8 MM	1 / 38 (2.6 %)	1.00	-	1.00	-
9-13 MM	4 / 44 (9.1 %)	3.71 (0.42-33.24)	0.24	4.75 (0.51-44.55)	0.17
14-17 MM	9 / 33 (27.3 %)	12.04 (1.52-95.06)	<b>0.018</b>	19.60 (2.13-180.29)	<b>0.009</b>
> 17 MM	4 / 35 (11.4 %)	4.57 (0.51-40.91)	0.17	5.96 (0.63-56.69)	0.12
Tertiles			0.10		0.068
0-10 MM	2 / 55 (3.6 %)	1.00	-	1.00	-
11-16 MM	10 / 55 (18.2 %)	5.26 (1.15-24.04)	<b>0.032</b>	6.28 (1.33-29.72)	<b>0.021</b>
> 16 MM	6 / 40 (15.0 %)	4.16 (0.84-20.64)	0.081	4.56 (0.89-23.36)	0.068
Optimal cutoff					
0-11 MM	2 / 60 (3.3 %)	1.00	-	1.00	-
> 11 MM	16 / 90 (17.8 %)	5.64 (1.30-24.56)	<b>0.021</b>	6.25 (1.39-28.18)	<b>0.017</b>
<b>EpMs Total class II</b>					
Quartiles			0.47		0.38
0-10 MM	2 / 41 (4.9 %)	1.00	-	1.00	-
11-16 MM	4 / 34 (11.8 %)	2.35 (0.43-12.85)	0.32	2.55 (0.45-14.43)	0.29
17-27 MM	5 / 37 (13.5 %)	2.57 (0.50-13.24)	0.26	2.50 (0.47-13.36)	0.28
> 27 MM	7 / 38 (18.4 %)	3.54 (0.73-17.08)	0.12	4.03 (0.82-19.65)	0.085
Tertiles			0.29		0.22
0-13 MM	4 / 57 (7.0 %)	1.00	-	1.00	-
14-23 MM	5 / 44 (11.4 %)	1.57 (0.42-5.85)	0.50	1.34 (0.35-5.17)	0.67
> 23 MM	9 / 49 (18.4 %)	2.51 (0.77-8.16)	0.13	2.61 (0.79-8.57)	0.11
Optimal cutoff					
0-25 MM	9 / 108 (8.3 %)	1.00	-	1.00	-
> 25 MM	9 / 42 (21.4 %)	2.62 (1.04-6.60)	<b>0.042</b>	3.08 (1.21-7.84)	<b>0.018</b>
<b>EpMs Total class I + II</b>					
Quartiles			-		-
0-19 MM	0 / 40 (0.0 %)	-	-	-	-
20-30 MM	5 / 36 (13.9 %)	-	-	-	-
31-42 MM	5 / 39 (12.8 %)	-	-	-	-
> 42 MM	8 / 35 (22.9 %)	-	-	-	-
Tertiles			0.097		0.095
0-23 MM	1 / 52 (1.9 %)	1.00	-	1.00	-
24-38 MM	9 / 50 (18.0 %)	9.65 (1.22-76.23)	<b>0.032</b>	9.44 (1.18-75.29)	<b>0.034</b>
> 38 MM	8 / 48 (16.7 %)	8.51 (1.06-68.09)	<b>0.044</b>	9.59 (1.17-78.91)	<b>0.035</b>
Optimal cutoff					
0-22 MM	0 / 46 (0.0 %)				
> 22 MM	18 / 104 (17.3 %)				

## DISCUSSION/ SYNTHÈSE / OUVERTURE

Il est maintenant largement admis par tous que le degré d'incompatibilité des molécules HLA entre un receveur et son donneur est un facteur important dans la survie du greffon rénale. Dès les années 1990, Sijpkens et collab. montrent que le partage de « déterminants antigéniques » entre les molécules HLA de classe I du donneur et du receveur améliore la survie du greffon rénale<sup>62</sup>. A l'époque, on parle de groupes d'antigènes présentant une réactivité croisée (Cross-reactive antigen groups (CREG)). Vingt-cinq ans plus tard, la question de l'appariement entre donneur et receveur est toujours d'actualité et on parle désormais de compatibilité épitopique ou physico-chimique. De nouveaux outils d'évaluation de l'immunogénicité des molécules HLA sont apparus et le but de ce travail était d'une part de les implanter au laboratoire d'histocompatibilité du CHRU de Nancy et d'autre part de les comparer dans notre cohorte nancéenne de transplantés rénaux afin d'acquérir une expertise.

### A. Avantages de notre cohorte

Pour pouvoir comparer les différentes stratégies disponibles, nous avons fait le choix de restreindre notre cohorte aux receveurs non immunisés ayant bénéficiés d'une seule transplantation entre janvier 2010 et décembre 2014. Plusieurs raisons expliquent ce choix :

1. La présence d'anticorps anti HLA avant greffe signifie que le système immunitaire du receveur a déjà été en contact avec des allo-antigènes HLA qui pourraient par des « réactivités croisées » provoquer l'apparition rapide de DSA du fait de la mémoire immunologique et donc « fausser » l'évaluation de l'immunogénicité des molécules HLA du donneur.
2. Nous avons restreint les dates de 1<sup>ère</sup> transplantation de janvier 2010 à décembre 2014 pour que l'immunisation pré-greffe ait été évaluée par une seule méthode : la technique sensible Luminex (utilisée en routine au laboratoire à partir de 2008) mais également pour la résolution des typages des receveurs.

En effet, comme nous l'avons vu, il est nécessaire pour étudier la compatibilité épitopique, allélique et physico-chimique (incompatibilité en nombre d'acides aminés AAMM, le score d'interaction électrostatique EMS, et hydrophobe HMS) de connaître les typages HLA des donneurs et receveur au niveau des 2 premiers champs (encore appelé en 4 digits). Dans la plupart des études, ces typages dits de « haute résolution » sont déduits pour l'ensemble des molécules HLA des allèles les plus fréquents et des haplotypes les plus fréquemment décrits. Dans notre étude, nous avons fait l'effort de « re-typer » les receveurs et donneurs présentant des molécules HLA présentant plusieurs allèles fréquents au vu des fréquences alléliques décrites dans la population du NMDP (*National Marrow Donor Program*, <https://bioinformatics.bethematchclinical.org/HLA-Resources/Haplotype-Frequencies/High-Resolution-HLA-Alleles-and-Haplotypes-in-the-US-Population>) et des recommandations de la SFHI (Société Francophone d'Histocompatibilité et Immunogénétique). Celle-ci considère, de façon arbitraire, qu'un allèle est fréquent lorsque le ratio de fréquence entre allèle fréquent et allèle rare est égal ou supérieur à 15. Autrement dit, nous avons re-typer les locus des individus de notre cohorte présentant les typages A30, A33, A68, A74, B27,

B35, B39, B41, B44, DR1, DR4, DR11, DR13, DR16, DQ5, DQ6 et pour lequel le 1<sup>er</sup> typage n'était pas suffisamment résolutif pour définir l'allèle. Au total, nous avons réétudié 600 loci pour lequel nous avons recherché aux archives, les résultats précis des typages et nous avons dû réétudier 105 ADN et re-typer 189 loci. Le cout de ces ré-analyses a été financé par la société Ingen qui commercialise les kits de typages par Luminex via la technique de PCR-SSO.

3. Malgré toutes ces restrictions (non immunisée, aucune autre transplantation d'organe, absence de greffe de CSH, date de transplantation, ...), nous avons inclus 150 couples donneurs-receveurs ce qui est, comparé aux études similaires, une des plus larges cohortes<sup>24-21</sup> et a permis d'étudier un large panel de compatibilités différentes (notamment quelques allèles rares).

Les forces de notre étude résident donc dans l'homogénéité de notre population incluant des receveurs d'une première transplantation rénale strictement non immunisés, de la justesse de nos typages HLA hautement résolutifs (2 champs ou 4 digits) ainsi que sa taille.

## **B. Résultats**

Le développement de DSA étant connu comme un facteur de risque de rejet humoral<sup>63</sup> et de perte de greffon<sup>12,64</sup>, nous avons donc choisi de l'utiliser comme critère principal de jugement. Pourtant il peut être considéré comme un critère intermédiaire de jugement permettant une interprétation limitée quant au devenir du greffon. La survie des greffons rénaux étant influencée par de nombreux autres facteurs tels que la toxicité des anti-calcineurines, les épisodes de pyélonéphrites, les infections BK virus, la récurrence de néphropathie initiale, l'hypertension artérielle... Néanmoins il nous semblait plus intéressant sur le plan physiopathologique de focaliser notre étude sur la survenue de DSA après transplantation allogénique.

### **1. Compatibilité antigénique/allélique**

La compatibilité HLA antigénique des couples donneurs-receveurs de notre étude pour HLA-DR et HLA-DQ était meilleure que celle pour la classe I. Cela est lié au système français d'allocation des greffons centralisé à l'Agence de la Biomédecine qui tente de minimiser les incompatibilités HLA-DR. A notre connaissance, cette favorisation de la compatibilité HLA-DR est historique et vient du fait qu'au départ, la compatibilité entre deux individus était testée par MLR (*Mixed Lymphocyte Reaction*) qui reflétait principalement la compatibilité classe II et à priori était significativement lié à la compatibilité DR. Cette même « favorisation » de compatibilité HLA-DR est pratiquée en greffe de CSH où on peut accepter des donneurs 9/10 avec une incompatibilité HLA-A, -B, -C ou -DQB1 mais pas -DRB1.

L'appariement HLA-DQ par l'Agence de Biomédecine n'a été pris en compte qu'à partir de janvier 2015. La « naturelle » compatibilité antigénique HLA-DQ observée dans notre cohorte résulte uniquement du fort déséquilibre des gènes HLA-DRB1 et HLA-DQB1. En effet, du fait que ces deux gènes soient très proches, très peu de crossing-over entre ces deux gènes ont lieu. Les haplotypes HLA-DRB1 et -DQB1 sont donc transmis sans

modification au cours de l'évolution. Autrement dit, pour un allèle DRB1 donné, il est possible de « prédire » la ou les allèles DQB1 présents sur le même chromosome.

Néanmoins, cette compatibilité antigénique ne signifie pas que la compatibilité est totale. En effet, nous observons dans notre cohorte que l'appariement HLA au niveau allélique est moins bon en classe II qu'en classe I. Cela peut être facilement expliqué par le nombre important de spécificités antigéniques classe II présentant plus d'un allèle fréquent (DR1, DR4, DR11, DR13, DR16, DQ5, DQ6).

## 2. Compatibilité épitopique

Nous avons tenté de déterminer dans notre population d'étude, les seuils optimaux d'incompatibilité épitopique au-delà desquels la survenue de DSA *de novo* est significativement plus importante. Pour les loci HLA-A et -B, le seuil en classe I est de 11 et 25 en classe II pour HLA-DRB1 et -DQB1 associés. Ces résultats diffèrent de ceux de Silva et collab. qui ont conduit une étude rétrospective évaluant le pouvoir prédictif des incompatibilités épitopiques en classe I sur la présence d'anticorps anti-HLA, la survenue de rejet et la survie du greffon<sup>48</sup>. Aucune différence significative n'est retrouvée pour ces deux paramètres en utilisant les seuils de 8 épélets HLA-A et 6 épélets HLA-B et 10 épélets pour l'association des 2 (choisis d'après étude précédente<sup>41</sup>). Ce résultat peut néanmoins s'expliquer par le nombre important de données de typage HLA manquantes (près de 2/3) et ainsi un effectif restreint à 62 couples donneurs-receveurs analysés.

Au contraire l'équipe de Sapir-Pichhadze démontre une association entre la survenue de glomérulopathie du transplant et le nombre d'incompatibilité épitopique en classe II (HLA-DR + HLA-DQ)<sup>49</sup>. Le seuil choisi est de 36 incompatibilités HLA-DR + HLA-DQ, correspondant à la médiane du total des épélets. Ce résultat est plus élevé que dans notre cohorte. En effet les incompatibilités analysées dans cette étude regroupent de façon plus large les loci HLA-DR et HLA-DQ en incluant les incompatibilités HLA-DRB3/4/5 et HLA-DQA1. A noter qu'à l'heure actuelle, 17 épélets sont définis sur la chaîne alpha DQ (codée par le gène DQA1).

De la même façon Wiebe et collab. se sont intéressés au risque de développement de DSA *de novo* selon le nombre d'incompatibilité épitopique<sup>50</sup>. En différenciant les loci HLA-DR et HLA-DQ, les seuils identifiés s'élevaient à 10 épélets pour HLA-DRB1/3/4/5 et 17 épélets pour HLA-DQB1/DQA1. L'analyse des 2 loci associés n'avait pas été réalisée. Cependant, la population sélectionnée n'était pas uniforme en regard de l'immunisation pré-greffe des patients.

## 3. Compatibilité physico-chimique

Le potentiel de stimulation de l'allo-immunité des molécules de HLA dépendrait de l'orientation, l'accessibilité et les propriétés physico-chimiques des acides aminés polymorphes qui constituent la surface de la molécule. Les connaissances actuelles de la structure des molécules HLA permettent d'évaluer les forces d'interactions de ces molécules. Nous avons tenté d'évaluer l'impact de ces forces à l'aide de 3 composants : les incompatibilités d'acides aminés AAMM, le score d'interaction électrostatique EMS, et hydrophobe HMS. Ainsi l'ensemble de ces scores sont significativement plus important en classe II et en réalisant la somme des classes I et II parmi les 18 patients ayant développés des DSA *de novo*. En revanche cette significativité n'est pas retrouvée en classe I. Ceci est peut-être due au fait qu'une partie limitée mais non négligeable

(N=15 couples donneurs-receveurs en classe I) des données des scores d'acides aminés, de forces électrostatiques et hydrophobes étaient manquantes, en raison d'allèles rares non connus par l'algorithme de Cambridge.

L'équipe de Cambridge, à la source de l'algorithme utilisé dans notre étude, caractérise également les différences entre donneurs et receveurs en terme de variations d'acides aminés et de propriétés physico-chimiques pour les loci HLA-DR et HLA-DQ et rapporte une capacité prédictive importante de ces données sur le développement d'allo-anticorps chez 30 receveurs hyperimmunisés analysés de façon rétrospective<sup>60</sup>. Ce résultat est également retrouvé en classe I chez 32 patients hyper-immunisés<sup>59</sup>.

Les analyses statistiques de ces propriétés physicochimiques dans notre cohorte ont été succinctes. D'autres analyses statistiques apparaissent nécessaires pour vérifier la significativité et l'intérêt de ces scores notamment en essayant de définir des seuils de risques permettant ainsi de préciser leurs places dans le choix du donneur le plus adapté au receveur.

#### **4. Meilleur prédicteur ?**

Dans notre cohorte, les comparaisons de C-Index démontrent que les incompatibilités épitopiques et alléliques sont des facteurs de risque indépendants de développer des anticorps spécifiques du donneur *de novo* sans apport supplémentaire par rapport à l'appariement traditionnel antigénique. Ce résultat est superposable à celui de l'équipe de Kosmoliaptsis, qui est la seule étude à notre connaissance à avoir comparée les approches de compatibilité épitopique, allélique et électrostatique<sup>52</sup>. Leur population d'étude diffère de la nôtre en incluant des patients de retour sur liste d'attente de greffe dont 50% n'avaient plus d'immunosuppression et 43% avaient été néphrectomisés, deux facteurs ayant pu favoriser le développement de DSA.

#### **C. Limites de notre cohorte**

Etant une cohorte de patients à « très faible risque immunologique », nous observons une faible incidence de DSA *de novo* (12%), ainsi qu'un faible nombre de rejets aigus tout type confondu. Néanmoins, il est à noter que durant cette période (2010 à 2014), nous ne réalisions pas de biopsies protocolaires, elles étaient pratiquées uniquement devant une dégradation de la fonction du greffon, l'apparition d'une protéinurie ou d'anticorps anti-HLA. Ainsi le nombre d' « évènements » analysés dans notre étude est faible malgré l'effectif de notre cohorte.

Le design rétrospectif de l'étude ne nous permet pas de contrôler les différences entre les patients ayant développés des DSA et les autres, néanmoins il n'y avait pas de différence significative en regard du temps en dialyse avant transplantation et de la durée d'ischémie froide, deux facteurs de risque d'altération du greffon. Le traitement immunosuppresseur à base de ciclosporine était plus fréquent parmi les patients avec DSA et plusieurs études ont rapportées que l'utilisation de cette molécule était associée à une augmentation du risque de formation de DSA en comparaison du tacrolimus<sup>65,66</sup>, mais d'autres études étaient discordantes avec ces résultats<sup>17</sup>.

Enfin nous avons limité notre analyse aux quatre loci HLA-A, -B, -DRB1 et -DQB1. Pourtant certaines études soulignent l'implication d'autres loci dans la survenue de DSA

et la survie du greffon rénal, tel que HLA-C<sup>67</sup>, HLA-DQA1<sup>68</sup>, HLA-DPB1<sup>42</sup> ou encore HLA-DRB3/4/5<sup>49</sup>. La prise en compte de ces incompatibilités dans notre étude aurait nécessité d'autres typages en biologie moléculaire pour l'ensemble des donneurs et receveurs et ainsi des moyens matériels et financiers dont nous ne disposons pas pour notre étude.

#### **D. Utilisation en clinique**

La compatibilité HLA est un facteur majeur de la survie des organes en transplantation rénale. A ce jour, la place de ces outils de compatibilité HLA dans une utilisation de routine reste floue. Même si nous n'avons pas montré de supériorité de la compatibilité épitopique et physico-chimique chez des patients à très faible risque immunologique, notre étude suggère que l'utilisation de typage HLA de haute résolution (notamment en classe II) pour une approche plus précise d'appariement donneur-receveur pourrait apporter des informations complémentaires à la traditionnelle répartition antigénique des greffons en s'inscrivant dans un algorithme décisionnel pour les cas plus complexes.

Les receveurs particulièrement intéressants pour cette étude seraient les patients de néphrologie pédiatrique. En effet la compatibilité HLA en transplantation pédiatrique revêt une importance particulière puisque ces enfants seront greffés à plusieurs reprises au cours de leur vie. Il est donc nécessaire d'avoir une réflexion sur le risque de développer des anticorps anti-HLA dès la première greffe pour en limiter l'apparition autant que possible. En effet les receveurs pédiatriques développent plus fréquemment des DSA en classe II et plus particulièrement anti-HLA-DQ<sup>69</sup>. De plus ces enfants seront plus sujets à recevoir un greffon apparenté au cours de leur suivi, les typages des parents doivent donc être inclus dans ces réflexions. Dans cette optique, Bryan et collab. ont évalué la compatibilité épitopique et antigénique en classe II de 78 propositions de greffons rénaux faites à 16 receveurs pédiatriques sur liste d'attente de greffe<sup>70</sup>. Ils mettaient en lumière l'insuffisance du système d'allocation antigénique pour estimer le risque de DSA *de novo* en le comparant aux incompatibilités épitopiques correspondantes à l'aide des seuils établis par Wiebe et collab. de 10 et 17 épîtres pour HLA-DR et HLA-DQ respectivement. En effet le nombre d'incompatibilités antigéniques n'était pas proportionnel aux épîtres et reflétait insuffisamment le risque de développement de DSA.

A l'inverse plus de 40% des receveurs français sur liste d'attente ont plus de 65 ans. Hors le système d'allocation national français privilégie principalement l'appariement HLA chez les receveurs jeunes (< 45 ans nombre de point maximum puis décroissance entre 45 et 75 ans). Pourtant ces patients âgés sont plus souvent victimes de complications infectieuses à l'origine d'un taux de mortalité élevé, lié à une immunosuppression trop forte. Chez ces patients l'impact des différentes approches de compatibilité HLA n'a pas été étudié et pourrait être intéressant à préciser afin d'aider à concevoir un programme d'allocation plus adapté à cette tranche d'âge de patient. En effet cette démarche a été amorcée au sein du programme *Eurotransplant Senior Program*<sup>71</sup> mais nécessite d'être optimisée.

Enfin, ces modes de compatibilité pourraient s'appliquer pour les patients hyperimmunisés. En effet les chances de trouver un donneur HLA compatible pour un patient ayant développé de nombreux anticorps anti-HLA lors d'une précédente

transplantation sont réduites. En Europe le groupe Eurotransplant a déjà implémenté la compatibilité épitopique dans son choix de receveur pour ce sous-groupe de patients<sup>47</sup>. En France le programme « Antigènes permis » est en place mais reste limité à l'utilisation de la compatibilité antigénique.

Les épitopes analysés dans notre étude sont dits immunogènes du fait de leur capacité à induire des anticorps. Cette immunogénicité semble être différentes suivant l'épitope notamment par les forces d'interactions électrostatiques et hydrophobes que nous avons tenté d'évaluer. Notre analyse se prolongera par la recherche d'épitopes à l'origine de l'immunisation des 18 patients de notre cohorte rendu possible grâce au logiciel HLAMatchmaker. Cette évaluation a déjà été réalisée par deux équipes mettant en lumière certains épitopes plus fréquemment retrouvés comme source d'allo-immunisation tels que 67LR, 71RRA, 48YQ, 4Q dans l'étude de Sapir-Pichhadze et collab.<sup>49</sup> ou encore 48YQ, 71DRA/71DEA et 52PQ/84EV chez Wiebe et collab.<sup>50</sup> Aucun épitope décrit comme fortement immunogène n'est commun à ces deux études rendant compte de la diversité de ces derniers. Cependant il est possible d'envisager, à l'aide d'autres études de plus grande ampleur, de caractériser et recenser ces épitopes à fort potentiels immunogènes. Ils pourraient, de façon superposable au programme « Antigènes permis » pour les patients hyperimmunisés, être étiquetés « Epitopes Interdits » et être inclus dans le schéma décisionnel afin de guider les néphrologues et biologistes confrontés à un appel de greffe.

## **E. Autres méthodes d'évaluation de la compatibilité**

### **1. Hypothèse du « non-self-self »**

La compatibilité épitopique décrite ci-dessus définit les épitopes immunogènes comme des épitopes étrangers absents des molécules HLA du receveur, et déclenchant une réponse anticorps. Bien que HLAMatchmaker soit basé sur ce principe, Duquesnoy et collab. ont récemment proposé un autre modèle intitulé « non-self-self paradigm » pour expliquer certaine réactivité d'anticorps qui restait inexplicée.

Selon ce paradigme, certaines réponses d'anticorps vis-à-vis de certaines molécules HLA étrangères ne peuvent être expliquées que par la reconnaissance d'une configuration d'acides aminés présente à la fois sur la molécule HLA étrangère et autologue<sup>72,73</sup>. Cette théorie est basée sur l'hypothèse que chaque individu possède des lymphocytes B avec des immunoglobulines de surface de faible affinité pour les épitopes HLA autologues. Affinité bien évidemment trop faible pour déclencher l'activation des lymphocytes B et la production d'anticorps chez l'individu. Néanmoins, ces lymphocytes B pourraient être activés lorsqu'ils seraient confrontés à une configuration mixte d'acides aminés étrangers et autologues augmentant ainsi leur affinité. Autrement dit, l'hypothèse implique la présence d'un self-éplet pour induire une réponse anticorps contre certains groupes d'épitopes. Cependant, tous les épitopes décrits jusqu'à présent ne respectent pas ce critère de « non-self-self » et de nombreux simples « non-self » éplets ont été vérifiés par la production d'anticorps<sup>74,75</sup>.

Alors que le paradigme « non-self-self » est intéressant, il est difficile de concevoir pourquoi les anticorps anti HLA présenteraient des propriétés auto-réactives. Contrairement aux récepteurs des lymphocytes T, les récepteurs des lymphocytes B ne sont pas sélectionnés sur la base d'une faible affinité pour les antigènes HLA individuels.

Une autre explication pour comprendre l'implication d'une configuration d'acide aminé autologue est que les molécules HLA partagent de nombreux acides aminés. Si un acide aminé ou un épéplet induit une réponse d'anticorps, un certain nombre de ces acides aminés non polymorphes adjacents peuvent être partagés avec les molécules HLA du patient.

## 2. Épitope des lymphocytes T

L'immunogénicité des épétopes devient encore plus complexe lorsque l'on considère l'exigence d'une aide des lymphocytes T CD4+ aux lymphocytes B pour réaliser la commutation de classe.

Comme nous l'avons vu en première partie, les lymphocytes T auxiliaires jouent un rôle essentiel dans la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes produisant des IgG<sup>76</sup>.

(Rappel : après la reconnaissance par les immunoglobulines de surface des lymphocytes B, l'antigène cible (la molécule HLA étrangère) est internalisée et dégradée en peptides qui pourront alors être présentés via les molécules HLA de classe II autologues aux lymphocytes T CD4+ via leurs TCR. C'est l'interaction lymphocytes B et T avec l'expression de CD40L et la production de cytokines par le lymphocyte T qui entraîne une différenciation des lymphocytes B en cellules plasmatiques.)

Ainsi, il a été démontré que le phénotype HLA de classe II du receveur détermine l'immunogénicité des antigènes HLA de classe I du donneur<sup>77</sup>. Par exemple, la production d'anticorps anti HLA-Bw4 est présente de manière préférentielle chez les individus HLA-DRB1\*01 et HLA-DRB1\*03<sup>78</sup>. Spierings et collab. ont étudié le rôle des épétopes T-helper dérivés des molécules HLA du donneur dans la formation de DSA *de novo in silico*<sup>79</sup>. Pour prédire les épétopes T-helper, un algorithme a été développé pour déterminer le nombre d'épétopes HLA classe I du donneur (peptides de 9 acides aminés présents sur les molécules HLA classe I du donneur et absents de celles du receveur) potentiellement présentables par les molécules HLA classe II appelés PIRCHE II pour *Predicted Indirectly ReCognizable HLA Epitopes presented by HLA class II*.

Ainsi, dans une cohorte de patients transplantés rénaux non immunisés, une corrélation a été observée entre un faible nombre de PIRCHE-II et l'absence de DSA dirigés contre les molécules HLA classe I incompatibles du donneur<sup>80</sup>. Le rôle de PIRCHE-II dans la formation d'anticorps a été confirmé par la suite dans une cohorte de femmes enceintes<sup>81</sup>. Cependant, ces études indiquent une valeur prédictive de PIRCHE-II au niveau des cohortes, mais elle ne présente aucune pertinence clinique pour le patient pris individuellement. Une explication à cette observation serait que d'une part, l'algorithme surestime probablement le nombre de PIRCHE-II par rapport à la réalité car il est peu probable que le protéasome traite en effet tous ces peptides théoriques. D'autre part le rôle fonctionnel de ces épétopes T-helper par rapport à l'activation des lymphocytes T CD4+ reste à prouver.

Il est cependant intéressant de noter que, dans les cohortes de transplantés rénaux et de femmes enceintes, aucune corrélation entre le nombre de PIRCHE-II et d'épéplet n'a été trouvée. Cela s'explique peut-être par le fait que HLAMatchmaker se limite à l'étude des polymorphismes accessibles aux anticorps et qu'il ne tient pas compte de la capacité de présentation de ces antigènes par les molécules HLA classe II. Une autre explication

pourrait être que les cellules B et les cellules T-helpers ne doivent pas nécessairement reconnaître le même antigène. En effet, le groupe de Pettigrew a montré dans des modèles murins de transplantation que les lymphocytes B spécifiques d'un alloantigène peuvent recevoir de l'aide de lymphocytes T-helper reconnaissant une autre spécificité. De la même façon, des réponses alloimmunes humorales durables peuvent être expliquées par ce mécanisme : des lymphocytes T-helper mémoire reconnaissant un alloantigène peuvent aider de façon indépendante des lymphocytes B spécifiques d'un autre alloantigène<sup>82</sup>.

Au vu de ces récentes études, prendre en compte ces aspects d'épitopes « d'anticorps » (en incluant ou non la théorie « Non-self-self) et d'épitopes des lymphocytes T pourrait contribuer à prédire de manière optimale l'immunogénicité d'une incompatibilité HLA entre le receveur et son donneur.

## **CONCLUSION**

Nous n'avons pas montré d'avantage à l'utilisation d'une approche de compatibilité HLA épitopique, allélique ou physico-chimique par rapport au traditionnel appariement antigénique dans une population à très faible risque immunologique. Pourtant cette étude vient s'ajouter aux précédentes pour renforcer les preuves en faveur de l'utilisation de ces approches comme outils complémentaires dans l'arbre décisionnel de choix du greffon rénal optimal. Néanmoins, celles-ci seront applicables lors d'un appel de greffe avec donneurs cadavériques, uniquement lorsque qu'il sera possible rapidement (< 3 heures) d'obtenir pour tous les loci une résolution suffisante du typage HLA du donneur. Cette dernière contrainte est à notre connaissance non réalisable avec les technologies/kits actuels de typage HLA malgré une avancée technologique fulgurante.

## REFERENCES

1. Rapport REIN 2015 [Internet]. [cited 2017 Jun 5]; Available from: <https://www.agence-biomedecine.fr/IMG/pdf/rapport-rein-2015.pdf>
2. Carosella ED. From MAC to HLA: Professor Jean Dausset, the pioneer. *Hum Immunol* 2009;70(9):661–2.
3. Shiina T, Tamiya G, Oka A, Takishima N, Inoko H. Genome sequencing analysis of the 1.8 Mb entire human MHC class I region. 1999;167:193–9.
4. WHO Nomenclature Committee. Nomenclature for Factors of the HL-A System. 1968;
5. HLA Nomenclature @ [hla.alleles.org](http://hla.alleles.org) [Internet]. [cited 2017 Jun 5]; Available from: <http://hla.alleles.org/nomenclature/index.html>
6. Hickey MJ, Valenzuela NM, Reed EF. Alloantibody Generation and Effector Function Following Sensitization to Human Leukocyte Antigen. *Front Immunol* [Internet] 2016 [cited 2017 Jan 11];7. Available from: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fimmu.2016.00030/abstract>
7. Morelli AE. Endocytosis, intracellular sorting, and processing of exosomes by dendritic cells. *Blood* 2004;104(10):3257–66.
8. Kurosaki T, Kometani K, Ise W. Memory B cells. *Nat Rev Immunol* 2015;15(3):149–59.
9. Pouliquen E, Koenig A, Chen CC, et al. Recent advances in renal transplantation: antibody-mediated rejection takes center stage. *F1000prime Rep* [Internet] 2015 [cited 2017 Apr 11];7. Available from: <http://pubmedcentralcanada.ca/pmcc/articles/PMC4447042/>
10. Loupy A, Haas M, Solez K, et al. The Banff 2015 Kidney Meeting Report: Current Challenges in Rejection Classification and Prospects for Adopting Molecular Pathology. *Am J Transplant* 2017;17(1):28–41.
11. Everly MJ, Rebellato LM, Haisch CE, et al. Incidence and impact of de novo donor-specific alloantibody in primary renal allografts. *Transplantation* 2013;95(3):410–7.
12. Cooper JE, Gralla J, Cagle L, Goldberg R, Chan L, Wiseman AC. Inferior Kidney Allograft Outcomes in Patients With De Novo Donor-Specific Antibodies Are Due to Acute Rejection Episodes: *Transplantation* 2011;91(10):1103–9.
13. Jeannet M, Pinn VW, Flax MH, Winn HJ, Russell PS. Humoral Antibodies in Renal Allotransplantation in Man. *N Engl J Med* 1970;282(3):111–7.
14. Mao Q, Terasaki PI, Cai J, et al. Extremely high association between appearance of HLA antibodies and failure of kidney grafts in a five-year longitudinal study. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg* 2007;7(4):864–71.
15. Lachmann N, Terasaki PI, Budde K, et al. Anti-human leukocyte antigen and donor-specific antibodies detected by luminex posttransplant serve as biomarkers for chronic rejection of renal allografts. *Transplantation* 2009;87(10):1505–13.
16. Lee P-C, Zhu L, Terasaki PI, Everly MJ. HLA-Specific Antibodies Developed in the First Year Posttransplant are Predictive of Chronic Rejection and Renal Graft Loss: *Transplantation* 2009;88(4):568–74.
17. Terasaki PI, Ozawa M. Predicting kidney graft failure by HLA antibodies: a prospective trial. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg* 2004;4(3):438–43.
18. Einecke G, Sis B, Reeve J, et al. Antibody-Mediated Microcirculation Injury Is the Major Cause of Late Kidney Transplant Failure. *Am J Transplant* 2009;9(11):2520–31.
19. Worthington JE, McEwen A, McWilliam LJ, Picton ML, Martin S. Association between C4d staining in renal transplant biopsies, production of donor-specific HLA antibodies, and graft outcome. *Transplantation* 2007;83(4):398–403.
20. Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, et al. Rates and Determinants of Progression to Graft Failure in Kidney Allograft Recipients With *De Novo* Donor-Specific Antibody: Post- *dn* DSA Clinical Histologic Progression. *Am J Transplant* 2015;15(11):2921–30.
21. Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, et al. Evolution and clinical pathologic correlations of de novo donor-specific HLA antibody post kidney transplant. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg* 2012;12(5):1157–67.
22. Loupy A, Vernerey D, Viglietti D, et al. Determinants and Outcomes of Accelerated

- Arteriosclerosis Novelty and Significance. *Circ Res* 2015;117(5):470–482.
23. Lucas DP, Leffell MS, Zachary AA. Differences in Immunogenicity of HLA Antigens and the Impact of Cross-Reactivity on the Humoral Response: *Transplantation* 2015;99(1):77–85.
  24. 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;94(2):172–7.
  25. DeVos JM, Gaber AO, Knight RJ, et al. Donor-specific HLA-DQ antibodies may contribute to poor graft outcome after renal transplantation. *Kidney Int* 2012;82(5):598–604.
  26. Aubert O, Loupy A, Hidalgo L, et al. Antibody-Mediated Rejection Due to Preexisting versus *De Novo* Donor-Specific Antibodies in Kidney Allograft Recipients. *J Am Soc Nephrol* 2017;ASN.2016070797.
  27. Opelz G, Dohler B. Effect of Human Leukocyte Antigen Compatibility on Kidney Graft Survival: Comparative Analysis of Two Decades: *Transplantation* 2007;84(2):137–43.
  28. DeVos JM, Gaber AO, Teeter LD, et al. Intermediate-Term Graft Loss After Renal Transplantation is Associated With Both Donor-Specific Antibody and Acute Rejection: *Transplantation* 2014;97(5):534–40.
  29. Morris PJ, Johnson RJ, Fuggle SV, Belger MA, Briggs JD. Analysis of factors that affect outcome of primary cadaveric renal transplantation in the UK. HLA Task Force of the Kidney Advisory Group of the United Kingdom Transplant Support Service Authority (UKTSSA). *Lancet Lond Engl* 1999;354(9185):1147–52.
  30. Opelz G. Very short ischaemia is not the answer. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc* 2002;17(5):715–6.
  31. El-Awar NR, Akaza T, Terasaki PI, Nguyen A. Human Leukocyte Antigen Class I Epitopes: Update to 103 Total Epitopes, Including the C Locus: *Transplantation* 2007;84(4):532–40.
  32. El-Awar N, Terasaki PI, Nguyen A, Lias M, Conger N. New HLA class I epitopes defined by murine monoclonal antibodies. *Hum Immunol* 2010;71(5):456–61.
  33. Tambur AR, Claas FHJ. HLA Epitopes as Viewed by Antibodies: What Is it All About?: HLA Epitopes as Viewed by Antibodies. *Am J Transplant* 2015;15(5):1148–54.
  34. Duquesnoy RJ. HLAMATCHMAKER: a molecularly based donor selection algorithm for highly alloimmunized patients. In: *Transplantation proceedings*. Elsevier; 2001. p. 493–497.
  35. Duquesnoy RJ, Marrari M. HLAMatchmaker: a molecularly based algorithm for histocompatibility determination. II. Verification of the algorithm and determination of the relative immunogenicity of amino acid triplet-defined epitopes. *Hum Immunol* 2002;63(5):353–363.
  36. Duquesnoy RJ, Howe J, Takemoto S. HLAMatchmaker: a molecularly based algorithm for histocompatibility determination. IV. An alternative strategy to increase the number of compatible donors for highly sensitized patients: *Transplantation* 2003;75(6):889–97.
  37. Duquesnoy RJ, Witvliet M, Doxiadis IIN, de Fijter H, Claas FHJ. HLAMatchmaker-based strategy to identify acceptable HLA class I mismatches for highly sensitized kidney transplant candidates. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant* 2004;17(1):22–30.
  38. Valentini RP, Nehlsen-Cannarella SL, Gruber SA, et al. Intravenous immunoglobulin, HLA allele typing and HLAMatchmaker facilitate successful transplantation in highly sensitized pediatric renal allograft recipients. *Pediatr Transplant* 2007;11(1):77–81.
  39. Duquesnoy RJ, Takemoto S, de Lange P, et al. HLAMatchmaker: a molecularly based algorithm for histocompatibility determination. III. Effect of matching at the HLA-A,B amino acid triplet level on kidney transplant survival: *Transplantation* 2003;75(6):884–9.
  40. Dankers MKA, Witvliet MD, Roelen DL, et al. The number of amino acid triplet differences between patient and donor is predictive for the antibody reactivity against mismatched human leukocyte antigen. *Transplantation* 2004;77(8):1236–9.
  41. Haririan A, Fagoaga O, Daneshvar H, et al. Predictive value of human leukocyte antigen epitope matching using HLAMatchmaker for graft outcomes in a predominantly African-American renal transplant cohort. *Clin Transplant* 2006;20(2):226–33.
  42. Laux G, Mytilineos J, Opelz G. Critical evaluation of the amino acid triplet-epitope matching concept in cadaver kidney transplantation: *Transplantation* 2004;77(6):902–7.
  43. Duquesnoy RJ, Awadalla Y, Lomago J, et al. Retransplant candidates have donor-specific antibodies that react with structurally defined HLA-DR,DQ,DP epitopes. *Transpl Immunol*

- 2008;18(4):352–60.
44. Sullivan PM, Warner P, Kemna MS, et al. HLA molecular epitope mismatching and long-term graft loss in pediatric heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2015;34(7):950–7.
  45. Singh P, Filippone EJ, Colombe BW, et al. Sensitization trends after renal allograft failure: the role of DQ eplet mismatches in becoming highly sensitized. *Clin Transplant* 2016;30(1):71–80.
  46. Claas FH, Doxiadis II. Management of the highly sensitized patient. *Curr Opin Immunol* 2009;21(5):569–72.
  47. Claas FHJ, Rahmel A, Doxiadis IIN. Enhanced kidney allocation to highly sensitized patients by the acceptable mismatch program. *Transplantation* 2009;88(4):447–52.
  48. Silva E, Alba A, Castro A, et al. Evaluation of HLA Matchmaker Compatibility as Predictor of Graft Survival and Presence of Anti-HLA Antibodies. *Transplant Proc* 2010;42(1):266–9.
  49. Sapir-Pichhadze R, Tinckam K, Quach K, et al. HLA-DR and -DQ Eplet Mismatches and Transplant Glomerulopathy: A Nested Case–Control Study. *Am J Transplant* 2015;15(1):137–48.
  50. 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. *Am J Transplant* 2013;13(12):3114–22.
  51. 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. *Am J Transplant* 2015;15(8):2197–202.
  52. Kosmoliaptsis V, Mallon DH, Chen Y, Bolton EM, Bradley JA, Taylor CJ. Alloantibody Responses After Renal Transplant Failure Can Be Better Predicted by Donor-Recipient HLA Amino Acid Sequence and Physicochemical Disparities Than Conventional HLA Matching. *Am J Transplant* 2016;16(7):2139–47.
  53. Chong LT, Duan Y, Wang L, Massova I, Kollman PA. Molecular dynamics and free-energy calculations applied to affinity maturation in antibody 48G7. *Proc Natl Acad Sci* 1999;96(25):14330–14335.
  54. Sinha N, Mohan S, Lipschultz CA, Smith-Gill SJ. Differences in electrostatic properties at antibody–antigen binding sites: implications for specificity and cross-reactivity. *Biophys J* 2002;83(6):2946–2968.
  55. García-Guerrero E, Pérez-Simón JA, Sánchez-Abarca LI, Díaz-Moreno I, De la Rosa MA, Díaz-Quintana A. The Dynamics of the Human Leukocyte Antigen Head Domain Modulates Its Recognition by the T-Cell Receptor. *PLOS ONE* 2016;11(4):e0154219.
  56. Kosmoliaptsis V, Dafforn TR, Chaudhry AN, Halsall DJ, Bradley JA, Taylor CJ. High-resolution, three-dimensional modeling of human leukocyte antigen class I structure and surface electrostatic potential reveals the molecular basis for alloantibody binding epitopes. *Hum Immunol* 2011;72(11):1049–59.
  57. Kosmoliaptsis V, Jöris MM, Mallon DH, et al. Physicochemical disparity of mismatched HLA class I alloantigens and risk of acute GVHD following HSCT. *Bone Marrow Transplant* 2015;50(4):540–544.
  58. Mallon D, Kling C, Bradley JA, Taylor C, Kabelitz D, Kosmoliaptsis V. Computational scoring system to predict HLA immunogenicity. *The Lancet* 2016;387:S68.
  59. Kosmoliaptsis V, Chaudhry AN, Sharples LD, et al. Predicting HLA Class I Alloantigen Immunogenicity From the Number and Physicochemical Properties of Amino Acid Polymorphisms: *Transplantation* 2009;88(6):791–8.
  60. Kosmoliaptsis V, Sharples LD, Chaudhry AN, Halsall DJ, Bradley JA, Taylor CJ. Predicting HLA Class II Alloantigen Immunogenicity From the Number and Physicochemical Properties of Amino Acid Polymorphisms: *Transplantation* 2011;91(2):183–90.
  61. Kosmoliaptsis V, Sharples LD, Chaudhry A, et al. HLA class I amino acid sequence-based matching after interlocus subtraction and long-term outcome after deceased donor kidney transplantation. *Hum Immunol* 2010;71(9):851–6.
  62. Sijpkens YW, Doxiadis II, De Fijter JW, et al. Sharing cross-reactive groups of MHC class I improves long-term graft survival. *Kidney Int* 1999;56(5):1920–1927.
  63. Becker LE, Morath C, Suesal C. Immune mechanisms of acute and chronic rejection. *Clin*

- Biochem 2016;49(4-5):320-3.
64. Butler CL, Valenzuela NM, Thomas KA, Reed EF. Not All Antibodies Are Created Equal: Factors That Influence Antibody Mediated Rejection. *J Immunol Res* 2017;2017:1-9.
  65. Huang Y, Ramon D, Luan FL, Sung R, Samaniego M. Incidences of preformed and de novo donor-specific HLA antibodies and their clinicohistological correlates in the early course of kidney transplantation. *Clin Transpl* 2012;247-56.
  66. Kaneku H, O'Leary JG, Banuelos N, et al. De novo donor-specific HLA antibodies decrease patient and graft survival in liver transplant recipients. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg* 2013;13(6):1541-8.
  67. Aubert O, Bories M-C, Suberbielle C, et al. Risk of Antibody-Mediated Rejection in Kidney Transplant Recipients With Anti-HLA-C Donor-Specific Antibodies. *Am J Transplant* 2014;14(6):1439-45.
  68. 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;98(2):157-66.
  69. Kim JJ, Balasubramanian R, Michaelides G, et al. The Clinical Spectrum of *De Novo* Donor-Specific Antibodies in Pediatric Renal Transplant Recipients: *De Novo* DSA in Pediatric Renal Transplants. *Am J Transplant* 2014;14(10):2350-8.
  70. Bryan CF, Chadha V, Warady BA. Donor selection in pediatric kidney transplantation using DR and DQ eplet mismatching: A new histocompatibility paradigm. *Pediatr Transplant* 2016;20(7):926-30.
  71. Dreyer GJ, Hemke AC, Reinders MEJ, de Fijter JW. Transplanting the elderly: Balancing aging with histocompatibility. *Transplant Rev* 2015;29(4):205-11.
  72. Duquesnoy RJ. The antibody response to an HLA mismatch: a model for nonself-self discrimination in relation to HLA epitope immunogenicity: Antibody response to an HLA mismatch. *Int J Immunogenet* 2012;39(1):1-9.
  73. Duquesnoy RJ, Marrari M, Mulder A. Usefulness of the Nonself-Self Algorithm of HLA Epitope Immunogenicity in the Specificity Analysis of Monospecific Antibodies Induced during Pregnancy. *Front Immunol [Internet]* 2015 [cited 2016 Apr 12];6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4443772/>
  74. Duquesnoy RJ, Marrari M, Mulder A, da Mata Sousa LCD, da Silva AS, do Monte SJH. First report on the antibody verification of HLA-ABC epitopes recorded in the website-based HLA Epitope Registry. *Tissue Antigens* 2014;83(6):391-400.
  75. Duquesnoy RJ, Marrari M, Tambur AR, et al. First report on the antibody verification of HLA-DR, HLA-DQ and HLA-DP epitopes recorded in the HLA Epitope Registry. *Hum Immunol* 2014;75(11):1097-103.
  76. Steele DJ, Laufer TM, Smiley ST, et al. Two levels of help for B cell alloantibody production. *J Exp Med* 1996;183(2):699-703.
  77. Dankers MK, Roelen DL, Nagelkerke NJ, et al. The HLA-DR phenotype of the responder is predictive of humoral response against HLA class I antigens. *Hum Immunol* 2004;65(1):13-9.
  78. Fuller T, Fuller A. The humoral immune response against an HLA class I allodeterminant correlates with the HLA-DR phenotype of the responder. *Transplantation* 1999;68(2):173-82.
  79. Spierings E, Vermeulen CJ, Vogt MH, et al. Identification of HLA class II-restricted HY-specific T-helper epitope evoking CD4+ T-helper cells in HY-mismatched transplantation. *The Lancet* 2003;362(9384):610-615.
  80. Otten HG, Calis JJA, Keşmir C, van Zuilen AD, Spierings E. Predicted indirectly recognizable HLA epitopes presented by HLA-DR correlate with the de novo development of donor-specific HLA IgG antibodies after kidney transplantation. *Hum Immunol* 2013;74(3):290-6.
  81. Geneugelijck K, Hönger G, van Deutekom HWM, et al. Predicted Indirectly Recognizable HLA Epitopes Presented by HLA-DRB1 Are Related to HLA Antibody Formation During Pregnancy: PIRCHE-II in HLA Antibody Formation. *Am J Transplant* 2015;15(12):3112-22.
  82. Conlon TM, Cole JL, Motalebzadeh R, et al. Unlinked Memory Helper Responses Promote Long-Lasting Humoral Alloimmunity. *J Immunol* 2012;189(12):5703-12.

---

## RESUME

**Objectif :** Le développement *de novo* d'anticorps spécifiques dirigés contre le donneur (dnDSA) est un facteur de risque indépendant de rejet de greffons rénaux. Le phénotypage moléculaire HLA allélique par des techniques de haute résolution pourrait offrir une meilleure prédiction de la survenue de dnDSA. Néanmoins, ces méthodes coûteuses et chronophages doivent être évaluées par rapport à l'appariement antigénique utilisé actuellement par le système d'allocation de transplantation rénale.

**Patients et méthodes :** Le risque de développement de dnDSA a été étudié au sein d'une cohorte mono-centrique de 150 receveurs non-immunisés d'une première transplantation rénale entre Janvier 2010 et Décembre 2014, selon leur compatibilité antigénique, allélique, épitopique et physicochimique avec le donneur.

**Résultats :** Après un suivi médian de 49.3±17.7 mois, 18 patients ont développé des dnDSA. En analyse multivariée, le nombre total d'incompatibilités HLA antigéniques, alléliques et épitopiques en classe II étaient significativement associés à la survenue de dnDSA (HR (CI 95%), 1.68 [1.11-2.53], 1.83 [1.16-2.89], 1.04 [1.00-1.08] respectivement). Le meilleur outil de prédiction était la somme des incompatibilités alléliques pour les classes I et II (C-Index 70.6, p=0,0005). Dans cette cohorte, le seuil optimal pour prédire la formation de dnDSA était de 5 incompatibilités antigéniques (c-index 68, p=0.0005), 6 incompatibilités alléliques (c-index 67.7, p=0.002), et 22 incompatibilités épitopiques (c-index 65.7, p<0.0001). Les analyses de C-index n'ont pas démontré d'amélioration de la prédiction du développement de dnDSA par une approche d'appariement allélique en comparaison à l'appariement antigénique actuellement utilisé.

**Conclusion :** Dans cette cohorte de receveurs ayant reçu une première transplantation rénale à faible risque immunologique, les incompatibilités alléliques et épitopiques sont significativement associées à la formation de dnDSA. Néanmoins, même si aucun avantage à l'utilisation d'une approche de compatibilité HLA épitopique, allélique ou physico-chimique par rapport au traditionnel appariement antigénique n'a été démontré, ces outils pourraient être complémentaires chez des patients immunisés ou des receveurs pédiatriques.

---

## TITRE

What is the best predictor of *de novo* DSA in a cohort of non-sensitized first kidney transplantation: antigenic, allelic, epitopic or physiochemical properties HLA mismatches?

---

**THESE :** MEDECINE SPECIALISEE NEPHROLOGIE - ANNEE 2017

---

**MOTS CLES :** HLA, transplantation rénale, incompatibilité épitopique, propriétés physico-chimiques, anticorps

---

## INTITULE ET ADRESSE :

UNIVERSITE DE LORRAINE  
Faculté de médecine de Nancy  
9, Avenue de la Forêt de Haye  
54505 VANDOEUVRE LES NANCY Cedex

---