

## AOR "Recherche et Greffe"

### Résumés et résultats

2006 - 2023

Cliquer sur les titres pour accéder au détail des projets

Nom et institution	Titre	Année AOR
ASHTON-CHESS Joanna - INSERM U643 - CHU de NANTES	<a href="#">Caractérisation de nouveaux biomarqueurs sanguins du rejet chronique chez des patients ayant reçu une greffe rénale.</a>	2006
AZZARONE Bruno - INSERM U542, Hôpital Paul Brousse	<a href="#">Rôle de l'interleukine-15 dans les mécanismes du rejet d'allogreffe rénale.</a>	2006
BROUARD Sophie - INSERM U643 - CHU de NANTES	<a href="#">Identification de marqueur(s)protéique(s) sérique(s) du rejet chronique dans un modèle d'allogreffe rénale.</a>	2006
CUSSENOT Olivier - Hôpital TENON, APHP	<a href="#">Développement d'un nouveau type de vélocimètre doppler laser, basé sur l'interférométrie optique, pour le monitoring de la perfusion de greffons rénaux.</a>	2006
HERTIG Alexandre - Hôpital TENON, APHP	<a href="#">Impact pronostic de la transition épithélio-mésenchymateuse du greffon rénal à long terme.</a>	2006
MARQUET Pierre - CHU de Limoges	<a href="#">Etude épidémiologique de faisabilité d'un registre pharmaco-clinique chez les patients greffés rénaux.</a>	2006
SOULILLOU Jean-Paul - INSERM U643 - CHU de Nantes	<a href="#">Caractérisation phénotypique et fonctionnelle des Lymphocytes B dans le sang de patients greffés rénaux présentant des signes histologiques de rejet chronique.</a>	2006
BAUD Laurent - INSERM U 702, Hôpital TENON	<a href="#">Identification des calpaïnes comme marqueurs biologiques et cibles thérapeutiques dans la néphropathie chronique du transplant</a>	2007
BROUARD Sophie - INSERM U643 - CHU Nantes	<a href="#">SMILE, un nouveau biomarqueurs du devenir du greffon</a>	2007
HUBERT Thomas - INSERM U859 - CHRU de Lille	<a href="#">Etude prospective de la corrélation entre la réponse insulinique aigue et l'isolement des îlots de Langherans chez le donneur en mort encéphalique</a>	2007
VANDEWALLE Alain - INSERM U773 - BICHAT - APHP	<a href="#">Dysrégulation phagocytaire en réponse à l'activation des récepteurs Toll-like et des protéines Nod chez les patients transplantés rénaux</a>	2007
GLOTZ Denis - Saint-Louis - APHP	<a href="#">Rôle des anticorps anti-HLA de classe II, spécifiques des antigènes du donneur dans l'accommodation du greffon en transplantation rénale</a>	2008

Nom et institution	Titre	Année AOR
ANGLICHEAU Dany - INSERM ADR Paris 5	<a href="#">Dépistage précoce non invasif de la néphropathie chronique du greffon rénal par suivi longitudinal des ARN urinaires</a>	2009
AZZARONE Bruno - INSERM Paris XI	<a href="#">Prévention du rejet d'allogreffe rénale : Rôle du système IL-15/IL-15R dans l'homéostasie des cellules épithéliales rénales</a>	2009
CHARREAU Béatrice - ITERT - CHU de Nantes	<a href="#">Impact du polymorphisme génétique sur l'expression endothéliale des molécules MICA et conséquences en transplantation rénale</a>	2009
PATTOU François - INSERM U859 - CHRU de Lille	<a href="#">Développement de l'autogreffe intramusculaire d'îlots pancréatiques dans un modèle pré-clinique chez les patients pancréatectomisés pour TIPMP</a>	2009
THUILLIER Raphaël - INSERM U927 - Poitiers	<a href="#">La perfusion oxygénée du greffon : évaluation, limitations, perspectives</a>	2009
VANDEWALLE Alain - INSERM U773, Bichat - APHP	<a href="#">Effets de la Ciclosporine A dans l'activation cellulaire et la défense des greffons rénaux contre les Escherichia coli uropathogènes</a>	2009
SOULILLOU Jean-Paul - ITERT - INSERM U643 - CHU de Nantes	<a href="#">Analyse phénotypique et fonctionnelle des lymphocytes B chez des patients tolérants un greffon rénal</a>	2010
THAUNAT Olivier - HCL - Lyon	<a href="#">Evaluation de l'activité catalytique des IgG circulantes comme test prédictif non-invasif de la néphropathie chronique d'allogreffe : étude prospective multicentrique CATAPULT</a>	2010
WOJTUSCISZYN Anne - LTCD - CHU de Montpellier	<a href="#">Stratégie de préservation de CREB afin d'améliorer la survie et la fonction des îlots pancréatiques humains isolés pour la greffe</a>	2010
ANGLICHEAU Dany - Necker - APHP	<a href="#">Rôle de miR-146a dans la réponse épithéliale tubulaire rénale à l'inflammation</a>	2011
MOUGIN Chirstiane - CHU de Besançon	<a href="#">Evaluation du statut viral HPV chez des patients avant et après transplantation rénale à l'ère de la vaccination contre les HPV</a>	2011
PATTOU François - CHRU de Lille	<a href="#">Evaluation chez le mini-porc de la survie et de la sécrétion des îlots de Langherans greffés dans le muscle lors d'une CO-TX avec des progéniteurs endothéliaux circulants (PECS)</a>	2011
KERR-CONTE Julie - Université de Lille	<a href="#">Influence de l'obésité sur les caractéristiques fonctionnelles des îlots humains : Les îlots d'obèses sont-ils les meilleurs îlots pour la thérapie cellulaire du diabète?</a>	2012
WOJTUSCISZYN Anne - LTCD - CHU de Montpellier	<a href="#">Préservation de l'activité protéasomale au sein des îlots de Langerhans afin d'améliorer la masse fonctionnelle bêta pancréatique lors de greffe</a>	2012
LORENZO Hanz Christian - INSERM	<a href="#">Pathogénèse du syndrome néphrotique à hyalinose segmentaire et focale : rôle de Lin-2/CASK dans la récurrence après transplantation rénale</a>	2013

Nom et institution	Titre	Année AOR
OLLERO Mario - INSERM	<a href="#">Récidive post transplant du syndrome néphrotique idiopathique : Identification et caractérisation de facteurs circulants de perméabilité glomérulaire</a>	2013
RIGOTHIER Claire - INSERM	<a href="#">Unité glomérulaire : de la conception à la validation</a>	2013
VANTYGHEM Marie-Christine - CHRU de Lille	<a href="#">Pronostic néphrologique 10 ans après thérapie cellulaire du diabète de type 1 : etude-cas témoin PRONOCELDIAB</a>	2013
ANGLICHEAU Dany - Necker - APHP	<a href="#">Rejet aigu humoral du greffon rénal sans anticorps anti-HLA : description et identification de nouvelles cibles antigéniques</a>	2014
BRESSOLLETTE-BODIN Céline - CHU de Nantes	<a href="#">Vers de nouveaux marqueurs immunovirologiques pour le suivi des infections à polyomavirus BK en transplantation rénale</a>	2014
BROUARD Sophie - Université de Nantes	<a href="#">Identification de biomarqueurs diagnostiques et de cibles thérapeutiques de la tolérance aux allogreffes rénales chez l'homme</a>	2014
CAILLARD Sophie - CHRU de Strasbourg	<a href="#">Nouveaux outils diagnostiques et pronostiques des rejets humoraux en transplantation rénale : identification des anticorps anti-HLA spécifiques du donneur dans le sérum et dans le greffon et analyse de leur capacité à fixer le C1q</a>	2014
FOUCHER Yohann - CHU de Nantes	<a href="#">Score diagnostique de la normalité anatomo-pathologique sur les biopsies de surveillance des greffons rénaux à un an post-transplantation</a>	2014
FREMEAUX-BACCHI Véronique - Centre de recherche des Cordeliers - Paris	<a href="#">Contribution de la voie alterne du complément et de sa régulation dans le rejet de greffe rénale</a>	2014
LE GUELLEC Chantal - Université de Tours	<a href="#">Approche métabolomique pour l'évaluation de la qualité des greffons de rein conservés sur machine de perfusion avant transplantation</a>	2014
MOONEY Nuala - Université Paris Diderot	<a href="#">Etude des mécanismes du rejet chronique des allogreffes rénales associées avec les anticorps HLA de classe II</a>	2014
THAUNAT Olivier - HCL Lyon	<a href="#">Réponse humorale alloimmune après greffe d'îlots de Langerhans : caractéristiques et impact sur la fonction du greffon</a>	2014
CHATELET Valérie LOBBEDEZ Thierry - INSERM U1086, UCBN-CHU de Caen	<a href="#">La précarité, estimée par l'European Deprivation Index, est-elle associée à l'échec de transplantation rénale?</a>	2015
THAUNAT Olivier - HCL - Lyon	<a href="#">Prédiction du risque de rejet humoral en monitorant les lymphocytes T helper folliculaires circulants chez les transplantés rénaux</a>	2015
DANTAN Etienne - EA 4275 SPHERE - Nantes	<a href="#">Validation du score KDRI: étude française multicentrique comparative de la survie à long-terme de patients transplantés rénaux</a>	2016

Nom et institution	Titre	Année AOR
GUILLONNEAU Carole - ITUN - INSERM U1064 - CHU de Nantes	<a href="#">Interleukine-34, inducteur de tolérance et biomarqueur</a>	2016
MANDRY Damien - Radiologie, CHRU de Nancy	<a href="#">Evaluation de la fonction différentielle rénale par scanner chez les patients donneurs vivants d'organe: Etude Doviscan</a>	2016
PALLET Nicolas - INSERM U1147, Paris	<a href="#">L'angiogénine, un nouveau médiateur de la réponse au stress du réticulum endoplasmique dans le greffon rénal</a>	2016
DURRBACH Antoine - Néphrologie - Mondor - APHP	<a href="#">Biomarqueurs de la réponse thérapeutique à un traitement par Cellules Souches Mésoenchymateuses autologues pour le rejet chronique rénal</a>	2017
HUBERT Thomas - INSERM U1190, CHRU de Lille	<a href="#">Optimisation de la greffe d'ilots de Langerhans par perfusion hypothermique ex vivo de pancréas humains</a>	2017
LEGENDRE Christophe - Necker - APHP	<a href="#">Déterminants de l'évolution de la fonction rénale chez les donneurs vivants de rein</a>	2017
ARMANET Mathieu - IRMB - Montpellier	<a href="#">Amélioration de la qualité des îlots greffés grâce à la matrice de cellules stromales pancréatiques immortalisées</a>	2018
CHATELET Valérie - Néphrologie - CHU de Caen	<a href="#">Enquête concernant la paternité chez les hommes transplantés rénaux</a>	2018
DURRBACH Antoine - UMRS-MD-1197 - APHP	<a href="#">Identification de nouvelles cibles thérapeutiques pour prévenir les rejets résistant à l'inhibiteur du rejet Belatacept</a>	2018
LIMOU Sophie - ITUN - INSERM U1064	<a href="#">Transplantation rénale – Investigation génomique des donneurs vivants (KIT-GENID)</a>	2018
BOUCQUEMONT Julie - SPHERE - UMR 1246 - Nantes	<a href="#">Différence d'espérance de vie entre les receveurs de transplantation rénale obèses et les patients obèses restant en dialyse</a>	2019
VINCE Nicolas - ITUN - INSERM U1064 - CHU de Nantes	<a href="#">Transplantation rénale - exploration génomique et phénotypique des cellules CD8 TEMRA (KIT-TEMRA)</a>	2019
JAISSER frederic - INSERM U1138 Paris	<a href="#">Bénéfice des antagonistes du récepteur minéralocorticoïde en transplantation rénale : étude translationnelle chez le porc</a>	2020
PALLET Nicolas - INSERM U1138 Paris	<a href="#">Modulation de la biosynthèse de novo du NAD+ dans la néphropathie chronique du transplant</a>	2020
TAUPIN Jean-Luc - Immunologie - Saint-Louis - APHP	<a href="#">TITRAGE DES ISOAGGLUTININES ANTI-A ET ANTI-B EN TRANSPLANTATION RENALE ABO-INCOMPATIBLE</a>	2020

Nom et institution	Titre	Année AOR
THAUNAT Olivier - CIRI – INSERM U1111 – CNRS UMR5308 - Lyon	<a href="#">Dissection moléculaire des TCMR résistants aux bloqueurs de la costimulation: une étude nationale</a>	2020
DEGAUQUE Nicolas - CRTI-ITUN Nantes	<a href="#">Cartographie du système immunitaire dans les greffes rénales pédiatriques</a>	2021
BACH Jean-Marie - IECM/Physio, Oniris - Nantes	<a href="#">Transplantation préclinique sous-cutanée d'un bio-pancréas innovant et optimisé en O2 pour traiter le diabète de type 1</a>	2021
BRANCHEREAU Julien - CRTI-ITUN Nantes	<a href="#">Perfusion hypothermique oxygénée des transplants pancréatiques dans un modèle préclinique de DDAC contrôlé (MIII)</a>	2021
DEKEYSER Manon - Inserm U1186 - Hôpital Paul Brousse	<a href="#">Projet BKVIR : Prédiction du risque de survenue de la néphropathie à BKvirus par la méthode NEPHROVIR chez les patients transplantés rénaux avec virémie à BKvirus soutenue</a>	2021
FILA Marc - DJOUADI Nabila - Néphrologie Pédiatrique - CHU de Montpellier	<a href="#">Etude des modalités de gestion du traitement immunosuppresseur et immunisation secondaire lors du retour en dialyse en transplantation rénale pédiatrique. Acronyme ISAGRAL (ImmunoSuppression After GRAft Loss and immunization)</a>	2021
OLLIVIER-HOURMAND Isabelle - CHATELET Valérie - INSERM U1086 - CHU de Caen	<a href="#">TRANSVAS : Facteurs de risque de Maladie Vasculaire Porto-Sinusoïdale chez les transplantés rénaux: Etude cas-témoins.</a>	2021
BRESSOLLETTE-BODIN Céline - CRTI-ITUN Nantes	<a href="#">Facteurs génétiques associés à la virémie polyomavirus BK après transplantation rénale</a>	2022
DANTAN Etienne - INSERM 1246 – SPHERE - Nantes	<a href="#">Développement et Validation d'un score de marginalité du donneur de rein</a>	2022
LABLANCHE Sandrine - Diabétologie/Endocrinologie, CHU Grenoble	<a href="#">Effet de la greffe d'îlots sur l'incidence des complications du diabète et sur la mortalité des patients diabétiques de type 1</a>	2022
MERVILLE Pierre - ImmunoConcEpT - CNRS UMR 5164 – Bordeaux	<a href="#">Analyse protéomique de la modulation du système du complément au cours du rejet humoral en transplantation rénale par spectrométrie de masse</a>	2022
VILLE Simon - CRTI-ITUN Nantes	<a href="#">Cartographie du paysage cellulaire associé au rejet médié par les lymphocytes T en utilisant le RNAseq à l'échelle cellulaire.</a>	2022
DROUIN Sarah - Transplantation rénale - Pitié-Salpêtrière	<a href="#">Evaluation morphométrique de la qualité du greffon rénal</a>	2023
GALICHON Pierre - INSERM UMR_S1155 - Hôpital Tenon	<a href="#">Retarder le prélèvement d'organes après arrêt cardiaque récupéré : effets sur le rein et le foie</a>	2023
GMYR valéry - INSERM U1190 -Lille	<a href="#">Évaluation métabolique in vitro des îlots de Langerhans isolés dans le traitement du diabète de type 1 : développement d'une chambre de périfusion 2.0</a>	2023

Nom et institution	Titre	Année AOR
MASSET Christophe - CR2TI - ITUN -CHU de Nantes	<a href="#">Rôle de l'angiotensine II dans le développement de lésions thrombotiques et inflammatoires en transplantation pancréatique</a>	2023
PALLET Nicolas - Les Cordeliers - INSERM UMRS1138	<a href="#">Acyl-CoA Synthetase Long Chain Family Member 4 (ACSL4) est un vecteur de la progression des lésions chroniques de l'allogreffe rénale</a>	2023
RABANT Marion - Anatomopathologie - Necker Enfants Malades	<a href="#">Signature transcriptomique spatiale de l'inflammation de la microcirculation au cours du rejet humoral du greffon rénal</a>	2023
THAUNAT Olivier - INSERM U1111 – CNRS UMR5308	<a href="#">Activation monocyttaire induite par un mésappariement SIRP<math>\alpha</math>-CD47 : extension du cadre des rejets « innés » en transplantation?</a>	2023

**Année: 2006**

## Caractérisation de nouveaux biomarqueurs sanguins du rejet chronique chez des patients ayant reçu une greffe rénale.

**ASHTON-CHESS Joanna** - CHU Hôtel Dieu, INSERM U643 NANTES

[Retour tableau](#)

### Résumé

Bien que les immunosuppresseurs aient considérablement amélioré la survie des greffons et diminué le risque de rejet des greffes, ils n'ont que peu d'influence sur la cause principale de la perte de greffon à long terme : le rejet chronique (RC). L'identification de marqueurs diagnostiques dans le sang conduira à une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans le rejet chronique et permettra le développement de nouvelles stratégies de traitement plus efficaces. Ces marqueurs auront également un potentiel pronostique et permettront un dépistage plus précoce du RC. Cette détection précoce permettra une intervention avant l'apparition de lésions irréversibles, et par conséquent, une amélioration de la survie à long terme. Notre équipe a déjà réalisé deux études en parallèle par la technique de puce à ADN afin d'analyser le profil transcriptionnel du sang de patients transplantés rénaux présentant soit un RC soit une intolérance opérationnelle. Le but du projet présenté ici est d'identifier des marqueurs sanguins potentiellement diagnostiques ou pronostiques et de caractériser, dans le sang périphérique et le greffon, le lien entre ces molécules très spécifiques et le processus du RC. Nos objectifs spécifiques sont de corrélérer l'expression de ces molécules dans le sang et la fonction rénale, d'évaluer leur capacité à prédire le RC (expression dans des biopsies et dans le sang avant et après dégradation de la fonction rénale), d'analyser in vitro leur fonction biologique et d'analyser in vivo leur fonction biologique et leur potentiel comme cible thérapeutique dans des modèles des transplantations chez le rat. A long terme, notre but est 1/ de traduire ces résultats à une application clinique, 2/ de développer un nouvel agent thérapeutique pour le traitement du RC. Ce but sera favorisé par l'association étroite entre INSERM U643 et le département de Néphrologie clinique au sein de l'Institut de Transplantation et de Recherche en Transplantation.

### Résultats

Ashton-Chess J, Giral M, Mengel M, Renaudin K, Foucher Y, Gwinner W, et al. Tribbles-1 as a Novel Biomarker of Chronic Antibody-Mediated Rejection. JASN. 6 janv 2008;19(6):1116-27.

[Retour tableau](#)



Année: 2006

## Rôle de l'interleukine-15 dans les mécanismes du rejet d'allogreffe rénale.

**AZZARONE Bruno** - Hôpital Paul Brousse, INSERM U542, VILLEJUIF

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'IL-15 secrétée par les cellules épithéliales rénales participe au déclenchement du rejet d'allogreffe et est considérée comme une cible thérapeutique prioritaire. Cependant, son rôle semble être limité à l'expansion et la survie des lymphocytes allospécifiques CD8+/CD103+ qui infiltrent le greffon. Nous proposons donc un modèle alternatif impliquant une participation directe de l'IL-15 sous sa forme membranaire, et de la chaîne IL-15R $\alpha$  soluble agissant comme ligand de l'IL-15mb aux mécanismes de rejet d'allogreffe et plus particulièrement au processus de transdifférentiation épithélio-mésenchymateuse. La réalisation du projet s'articule selon les étapes suivantes : 1° démontrer in vivo l'acquisition d'IL-15 membranaire, 2° identifier in vitro les partenaires moléculaires responsables de l'ancrage de l'IL-15 à la membrane des cellules épithéliales, 3° caractériser les mécanismes responsables de la sécrétion de l'IL-15R $\alpha$  soluble ; 4° établir si l'IL-15 membranaire peut activer par rétro signalisation de voies de signalisation () impliquées dans processus de transition épithélio-mésenchymateuse, 5° analyser si l'IL-15mb peut participer à l'activation de la transdifférentiation épithélio-mésenchymateuse des cellules épithéliales rénales. La connaissance des molécules d'ancrage de l'IL-15 à la membrane permettra d'identifier des nouvelles cibles moléculaires pour inhiber son expression. L'identification de mécanismes qui activent la sécrétion de l'IL-15R $\alpha$  soluble aideront à contrôler ce processus et à empêcher l'activation de l'IL-15mb. Enfin, l'identification des voies de signalisation activées par la signalisation rétrograde dépendante de l'IL-15mb aidera à acquérir des nouvelles cibles moléculaires afin d'interférer dans les fonctions de cette cytokine.

### Résultats

Azzi, Sandy, Stefania Bruno, Julien Giron-Michel, Denis Clay, Aurore Devocelle, Michela Croce, Silvano Ferrini, et al. 2011. « Differentiation Therapy: Targeting Human Renal Cancer Stem Cells with Interleukin 15 ». JNCI: Journal of the National Cancer Institute 103 (24): 1884-98.

Giron-Michel, Julien, Fanny Menard, Simone Negrini, Aurore Devocelle, Bruno Azzarone, et Caroline Besson. 2009. « EBV-associated mononucleosis does not induce long-term global deficit in T-cell responsiveness to IL-15 ». Blood 113 (19): 4541–4547.

Khawam, K., J. Giron-Michel, Y. Gu, A. Perier, M. Giuliani, A. Caignard, A. Devocelle, et al. 2009. « Human Renal Cancer Cells Express a Novel Membrane-Bound Interleukin-15 That Induces, in Response to the Soluble Interleukin-15 Receptor Chain, Epithelial-to-Mesenchymal Transition ». Cancer Research 69 (4): 1561-69.

[Retour tableau](#)



**Année: 2006**

## Identification de marqueur(s)protéïque(s) sérique(s) du rejet chronique dans un modèle d'allogreffe rénale.

**BROUARD Sophie** - CHU Hôtel Dieu, INSERM U643, NANTES

[Retour tableau](#)

### Résumé

Actuellement, la survie d'un greffon dépend de l'administration d'immunosuppresseurs puissants, associés à des effets secondaires indésirables (néphrotoxicité, susceptibilité aux infections opportunistes, pathologies tumorales). De plus, si ces traitements au long court sont efficaces sur le rejet aigu, ils n'ont aucune incidence sur le rejet chronique à distance de la transplantation et qui reste donc aujourd'hui la cause majeure de la perte ou de la dégradation de la fonction du greffon à distance de la transplantation. L'origine du rejet chronique est multifactorielle, d'origine immunologique et non immunologique. Les facteurs et mécanismes déclenchant ce rejet chronique sont encore mal connus. Notre objectif est d'identifier des protéines présentes dans le sérum des seuls patients en rejet chronique et absent dans celui des patients tolérants ou de sujets présentant des signes d'insuffisance rénale. Ces protéines différenciellement exprimées entre les deux groupes de patients seront ensuite identifiées par séquençage et pourront servir de marqueurs prédictifs précoces de l'apparition d'un rejet chronique. L'objectif est ensuite de rechercher ces marqueurs biologiques sériques chez des patients sous immunosuppresseur et présentant une fonction stable de leur greffon afin de dépister précocement des signes de rejet chronique.

### Résultats

Braza, Faouzi, Emilie Dugast, Ivo Panov, Chloé Paul, Katrin Vogt, Annaick Pallier, Mélanie Chesneau, et al. 2015. « Central Role of CD45RA- Foxp3hi Memory Regulatory T Cells in Clinical Kidney Transplantation Tolerance ». Journal of the American Society of Nephrology 26 (8): 1795-1805.

[Retour tableau](#)

**Année: 2006**

Développement d'un nouveau type de vélocimètre doppler laser, basé sur l'interférométrie optique, pour le monitoring de la perfusion de greffons rénaux.

**CUSSENOT Olivier** - Hôpital Tenon, 75020 PARIS

[Retour tableau](#)

### **Résumé**

L'objectif de ce projet est de développer un nouveau type de vélocimètre doppler laser (« Laser Doppler Flowmetry » : LDF) pour le monitoring des greffons rénaux, afin de quantifier en temps réel, la perfusion des reins lors du prélèvement et au décours des procédures de transplantation. Les avantages de ce système sur les moyens d'analyses écho-doppler actuels reposent sur l'utilisation d'une fibre optique comparable à celles utilisées dans les lasers thérapeutiques pour les traitements par voie endoscopique, alliant un très petit calibre (<0,8 mm), des matériaux biocompatibles stérilisables et à usage unique. La fibre optique peut être placée au contact de la surface du rein lors des procédures chirurgicales et laissée en place avec le système de drainage de la loge de transplantation pour un suivi continu en période post-opératoire. La LDF classique soulève cependant des difficultés, liées au fait que la mesure effectuée est très locale : cette méthode ne sonde qu'une très petite zone, de l'ordre du mm<sup>3</sup>, et ne renseigne pas sur la perfusion globale du tissu. Elle est donc sensible à toutes sortes d'hétérogénéités de surface. De plus, l'irrigation de cette petite zone explorée dépend fortement de la pression exercée par le capteur, source d'artefacts. Nous proposons de mettre en œuvre un procédé original, développé au Laboratoire de Physique des Lasers, capable d'effectuer des mesures LDF résolues dans le temps. Il sera ainsi possible, en sélectionnant la lumière correspondant à un temps de transit important dans le tissu, d'explorer le milieu beaucoup plus profondément (plusieurs cm<sup>3</sup>), s'affranchissant ainsi des inconvénients susmentionnés. Le développement technologique à réaliser et évaluer un prototype, qui devra être suffisamment compact et transportable et disposé sans difficulté au bloc opératoire ou au lit du patient. Les applications pratiques de ce système se placent aux différents temps des procédures de transplantation : évaluation de la perfusion des reins de cadavre avant le clampage aortique. Evaluation de la perfusion du rein lors des prélèvements de donneurs vivants par techniques laparoscopiques en fonction des variations de la pression intraabdominale. Evaluation continue (monitorage avec alerte) de la perfusion du greffon depuis la phase de déclampage vasculaire jusqu'au 3<sup>ème</sup> ou 5<sup>ème</sup> jour suivant l'intervention. Durant cette période les modifications de la perfusion du greffon, comparées, aux paramètres hémodynamiques et de reprise de la diurèse du receveur, permettent de dépister les troubles de perfusion des greffons. Evaluation indépendante des territoires de perfusion lors des transplantations de greffons avec artères multiples.

[Retour tableau](#)

Année: 2006

## Impact pronostic de la transition épithélio-mésenchymateuse du greffon rénal à long terme.

HERTIG Alexandre - Hôpital Tenon, 75020 PARIS

[Retour tableau](#)

### Résumé

La néphropathie chronique d'allogreffe (NCA) est une fibrose du greffon rénal qui aboutit progressivement à sa perte de fonction. C'est aujourd'hui la première cause de retour en dialyse chez les transplantés. Parmi les mécanismes de fibrogénèse en jeu, la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) des cellules épithéliales tubulaires pourrait jouer un rôle déterminant. La TEM est caractérisée par la perte des marqueurs épithéliaux (comme la E-cadhérine), et par l'acquisition de l'expression de marqueurs mésenchymateux : vimentine, protéine S100A4, et alpha actine du muscle lisse. Ainsi les cellules tubulaires en réponse à une agression immunologique ou ischémique, par exemple, peuvent contribuer à la synthèse de collagène au sein du tube rénal ou même dans l'interstitium après avoir migré hors de la structure tubulaire. Nos résultats préliminaires suggèrent que la TEM est un phénomène fréquent, et précoce en transplantation rénale : ainsi, près de 40 % des greffons montrent des signes de TEM dès le troisième mois de la greffe, sur des biopsies-protocole réalisées en dehors de toute altération de fonction rénale.

Objectif : Nous souhaitons déterminer sur une cohorte de patients suivis dans plusieurs centres, la valeur pronostique à moyen terme de la présence au troisième mois de la greffe de marqueurs de TEM. Méthodologie : Pour cela, nous proposons d'exploiter les biopsies-protocoles à 3 mois de plusieurs centres de transplantation rénale en France, en quantifiant par immunohistochimie les deux marqueurs suivants : la translocation intra-cytoplasmique de la beta-caténine, et l'expression de novo de la vimentine. L'expression de ces marqueurs validés de TEM sera mesurée à l'aide d'un score semi-quantitatif. Ce score de TEM à trois mois sera ensuite corrélé aux marqueurs cliniques et biologiques de routine à 1 et 2 ans, et, pour les centres dont c'est la pratique, au score histologique de fibrose établi selon la classification de Banff sur les biopsies-protocole plus tardives (1 et 2 ans).

Résultats attendus et perspectives : Nous pensons que la présence de TEM à 3 mois aura un impact sur la fonction rénale à 1 ou 2 ans, parce qu'elle présente probablement un mécanisme actif et majeur de fibrogénèse, et donc de NCA. Trois perspectives se dessinent. D'une part, une meilleure compréhension de la physiopathologie de la NCA. D'autre part, si la présence de TEM à trois mois a bel et bien un impact défavorable sur la fonction rénale à terme, l'identification de facteurs de risque de TEM du greffon (rejet aigu, toxicité de certains immunosuppresseurs, etc.) aiderait à déterminer des mesures interventionnelles précoces susceptibles d'améliorer le pronostic de la transplantation rénale. Enfin, d'importants progrès ont été obtenus dans des modèles animaux de néphropathie fibrosante avec des agents capables de s'opposer spécifiquement et efficacement aux phénomènes de TEM (BMP7, HGF, KCP...), ce qui laisse envisager dans le futur un traitement curatif moderne de la fibrose rénale, qui pourrait s'appliquer au transplanté et améliorer la survie des greffons.

## Résultats

Galichon, Pierre, Yi-Chun Xu-Dubois, David Buob, Claire Tinel, Dany Anglicheau, Sabrina Benbouzid, Karine Dahan, et al. 2018. « Urinary transcriptomics reveals patterns associated with subclinical injury of the renal allograft ». Biomarkers in Medicine 12 (5): 427-38.

Hertig, A., D. Anglicheau, J. Verine, N. Pallet, M. Touzot, P.-Y. Ancel, L. Mesnard, et al. 2008. « Early Epithelial Phenotypic Changes Predict Graft Fibrosis ». Journal of the American Society of Nephrology 19 (8): 1584-91.

Mezni, Imen, Pierre Galichon, Mohammed Mongi Bacha, Yi-Chun Xu-Dubois, Imen Sfar, David Buob, Sabrina Benbouzid, et al. 2018. « Urinary MRNA Analysis of Biomarkers to Epithelial Mesenchymal Transition of Renal Allograft ». Nephrologie & Therapeutique 14 (3): 153-61.

[Retour tableau](#)

Année: 2006

## Etude épidémiologique de faisabilité d'un registre pharmaco-clinique chez les patients greffés rénaux.

**MARQUET Pierre** - CHU Limoges, LIMOGES

[Retour tableau](#)

### Résumé

Les déterminants pharmaco-cliniques influençant la survie des greffons et transplantés rénaux nécessitent d'être mieux connus par un suivi à long terme. Objectif principal : Etudier la faisabilité d'un registre des transplantés rénaux et de valider l'emploi d'un carnet de suivi avec auto-questionnaires réguliers, en termes d'efficacité pour le recueil de données pharmaco-cliniques dans la transplantation rénale. Objectifs secondaires : (1) Valider des propriétés psychométriques de l'échelle française de qualité de vie pour les transplantés rénaux, (2) Etudier les relations entre qualité de vie / observance / effets indésirables, (3) Etudier les relations entre exposition aux immunosuppresseurs / effets indésirables / observance, (4) Etudier les relations entre les caractéristiques génétiques et efficacité / tolérance des immunosuppresseurs.

Etude de cohorte pilote multicentrique (Bordeaux, Limoges, Toulouse), nov. 2006 – oct. 2009 (3 ans), recrutement (500 patients) : 60 patients greffés depuis 6 mois à 10 ans, et tous nouveaux transplantés. Recueil : données cliniques, consommations médicamenteuses, effets indésirables, observance, qualité de vie, exposition aux immunosuppresseurs et caractéristiques pharmacogénétiques.

Cette étude va permettre de comparer des outils de recueil de données (carnet de suivi avec auto-questionnaires, entretien avec un pharmacologue, dossier clinique) et d'estimer l'acceptabilité de l'utilisation d'un carnet de suivi. L'échelle française de qualité de vie mise au point pourra être utilisée ultérieurement dans le cadre d'un registre ou dans des essais cliniques. Une meilleure connaissance par les cliniciens des facteurs – notamment pharmacologiques – influençant la survie du greffon seront déterminés et cela permettra de proposer dans l'avenir des stratégies thérapeutiques personnalisées. Un tel recueil de données pharmaco-épidémiologiques en transplantation rénale a pour vocation d'être poursuivi au-delà de cette période et d'être élargi à d'autres centres de transplantation.

### Résultats

Monchaud, Caroline, Brenda C. De Winter, Christiane Knoop, Marc Estenne, Martine Reynaud-Gaubert, Christophe Pison, Marc Stern, et al. 2012. « Population pharmacokinetic modelling and design of a Bayesian estimator for therapeutic drug monitoring of tacrolimus in lung transplantation ». *Clinical pharmacokinetics* 51 (3): 175–186.

Villeneuve, Claire, Annick Rousseau, Jean-Phillipe Rerolle, Lionel Couzi, Nassim Kamar, Marie Essig, Isabelle Etienne, et al. 2020. « Adherence profiles in kidney transplant patients: Causes and consequences ». *Patient Education and Counseling* 103 (1): 189-98.

Winter, Brenda CM de, Caroline Monchaud, Aurélie Prémaud, Christophe Pison, Romain Kessler, Martine Reynaud-Gaubert, Claire Dromer, et al. 2012. « Bayesian estimation of mycophenolate mofetil in lung transplantation, using a population pharmacokinetic model developed in kidney and lung transplant recipients ». *Clinical pharmacokinetics* 51 (1): 29–39.

[Retour tableau](#)

**Année: 2006**

Caractérisation phénotypique et fonctionnelle des Lymphocytes B dans le sang de patients greffés rénaux présentant des signes histologiques de rejet chronique.

**SOULILLOU Jean-Paul** - CHU Hôtel Dieu, INSERM U643, NANTES

[Retour tableau](#)

### **Résumé**

Nous avons montré que les patients rejetant une greffe de rein de façon chronique présentaient moins de LB que des patients tolérant spontanément leur greffon. Cette étude a pour objectif de caractériser phénotypiquement et fonctionnellement ces LB chez les patients transplantés rénaux en rejet chronique. L'analyse de différentes sous populations de LB n'a pour l'instant jamais été réalisée dans le cadre de la transplantation mais a fait l'objet d'un grand nombre d'observations pertinentes, en particulier dans les maladies auto-immunes. Les différents stades de maturation des LB (Bm) seront caractérisés en association avec la présence de marqueurs de costimulation comme CD80, CD86 ou HLADR et aussi en association avec l'expression de marqueurs plus spécifiques aux LB définissant précisément leur état d'activation (CD21, CD5, CD27). La caractérisation des LB « régulateurs » sera effectuée grâce à l'expression de l'IL-10. Nous essaierons de dégager le profil de maturation des LB chez les patients atteints de rejet chronique en comparaison à des patients stables ou à des patients qui tolèrent spontanément leur greffe. Cette analyse phénotypique originale des LB sera accompagnée d'une analyse fonctionnelle cherchant à caractériser l'action des LB sur les autres cellules immunitaires par des expériences de culture mixte en présence de LT allogéniques issus du sang périphérique. La prolifération des cellules T sera analysée in vitro en présence de différentes catégories de LB (Bm et/ou B régulateurs) afin de dégager le rôle de certaines sous populations dans l'induction ou la suppression de la tolérance. Enfin, une analyse de l'effet des immunoglobulines présentes dans les sérums des patients sera effectuée. L'utilisation d'une technique particulière (Flow cytometry complement mediated cytotoxicity assay FCCA) permettra d'analyser l'effet potentiellement cytotoxique des immunoglobulines sur les différentes catégories de cellules immunitaires ainsi que sur l'activation ou la destruction des cellules endothéliales. La méthodologie sera la suivante : les études phénotypiques seront effectuées par une analyse 5 couleurs en cytofluorométrie grâce à l'utilisation d'un cytomètre LSRII (BD biosciences). En parallèle, différentes sous populations de LB (BD biosciences) et mis en culture en présence de LT allogéniques stimulés par un anti-CD3. La prolifération des LT sera mesurée au bout de trois jours. A chaque prélèvement les sérums seront récupérés afin d'entamer les études de cytotoxicité sur les PBMC du patient.



## INHIBITORY PERIPHERAL B CELL PHENOTYPE IN LONG-TERM KIDNEY GRAFT RECIPIENTS

Anaïck Pallier, Sophie Hillion, Nicolas Degauque, Magali Giral, Joanna Ashton-Chess, Christophe Braud, Richard Danger, Maud racapé, Cécile Braudeau, Jean-Paul Souillou and S. Brouard. IITERT, INSERM U843, Nantes, France



Funded by  
Agence de la  
Biomédecine

### INTRODUCTION

We previously showed that spontaneous operational tolerance, i.e. graft acceptance in an immunosuppression-free environment, after kidney transplantation could occur in some patients. There is, nevertheless, no reliable parameter to monitor such patients and to determine which of them may discontinue immunosuppression without a risk of rejection. In a previous study, we analysed the phenotype of the peripheral blood mononuclear cells from these operationally tolerant patients and we showed that they were characterized by a higher number of peripheral B cells compared with those from age-matched patients with sign of chronic rejection and patients with stable graft function. Whereas this result may provide important clues for reliable indicators of tolerance after transplantation, the contribution of the B cell subset to the tolerant state remains elusive. The aim of this study was to analyze the peripheral blood B cells using the Bm1-Bm5 classification system and associated markers in patients with operational tolerance, patients under immunosuppression, patients with chronic rejection and aged matched volunteers.

### RESULTS

We have previously reported on operational tolerance, i.e. graft acceptance in an immunosuppression-free environment occurring after kidney transplantation. We reported that these patients are characterized by a higher number of blood B cells compared to patients with stable graft function or with chronic rejection. We also found a significant B cells footprint within the PBMC using microarray, and functional analysis identified key B cell molecules in these patients. Patients with operational tolerance had significantly more B cells than patients with stable graft function and patients with chronic rejection. Moreover, we observed a significant increase in activated, memory and early memory B cells (Bm2, EBm5, Bm5) affecting both the frequency and the absolute cell number in patients with operational tolerance (Fig. 1). The costimulatory-migratory molecules B7-1/CD86, B7-2/CD80, CD62L were up-regulated on B cells, and particularly on memory B cell populations of operationally tolerant patients. Interestingly, we found a profound decrease in the CD32a/CD32b ratio (Fig. 2a) and an increase in the molecule BANK (Fig. 3b), a negative modulator of CD40-mediated AkT activation, associated with an over-expression of BAFF-R, the specific receptor of BAFF in operational tolerance (Fig. 3).

### PATIENTS, MATERIAL AND METHODS

**Study Cohorts:** i) Immunosuppressive drug-free operationally tolerant recipients (TOL) with a stable kidney graft function (blood creatinemia < 150µmol/L and proteinuria < 1g/24h) in the absence of immunosuppression for at least one year. ii) Patients with stable graft function (STA) under standard immunosuppression (Mycophenolate Mofetil and a calcineurin inhibitor) with a creatinemia < 150µmol/L and proteinuria < 1g/24h for at least 3 years. iii) Patients with deteriorating graft function under standard immunosuppression and biopsy proven chronic rejection (CR). **Materials and Methods:** Venous blood samples were collected in EDTA vacutainers and processed for analysis within 6 hours. Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMC) were separated on a Ficoll layer (Eurobio, Les Ulis, France) and frozen in TRIZOL® reagent (Invitrogen, Cergy Pontoise, France). RNA was extracted using the TRIZOL® method (Invitrogen) according to the manufacturer's instructions. Real-time qPCR was performed using commercially available primer and probe sets from Applied Biosystems (Foster City, CA). Relative expression between a given sample and a reference sample was calculated according to the 2- $\Delta\Delta C_t$  method (ABI PRISM 7900 user bulletin, PE Applied Biosystems, Foster City 2:11-24, 1997). Flow cytometry was performed on a BD LSR II analyzer with DIVA software (BD Biosciences, Mountain View, CA). The non-parametric Mann-Whitney test was used for comparison between two groups and the non-parametric Kruskal Wallis test was used for comparison of more than 2 groups. Differences were defined as statistically significant when  $p < 0.05$  (\*).

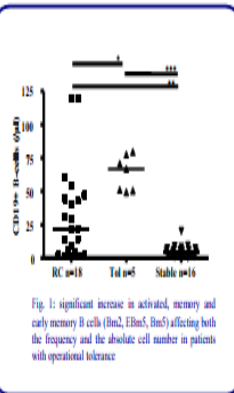


Fig. 1: significant increase in activated, memory and early memory B cells (Bm2, EBm5, Bm5) affecting both the frequency and the absolute cell number in patients with operational tolerance

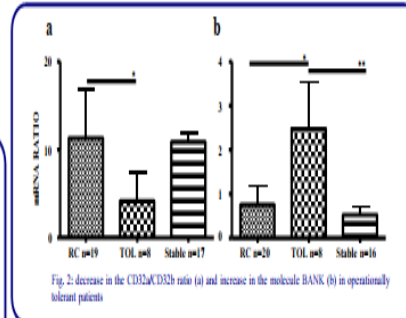


Fig. 2: decrease in the CD32a/CD32b ratio (a) and increase in the molecule BANK (b) in operationally tolerant patients

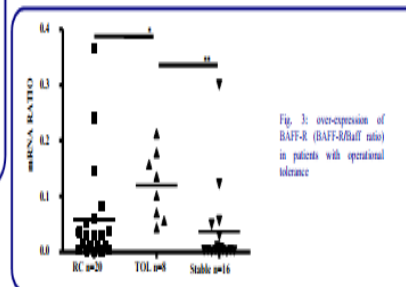


Fig. 3: over-expression of BAFF-R (BAFF-R/Baiff ratio) in patients with operational tolerance

### CONCLUSION

These results suggest that patients with operational tolerance are characterized by a B cell profile suggestive of regulatory properties: 1) an over-expression of the Fc-g Receptor IIB-CD32b, an immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif transducing an inhibitory signal upon interaction with the B cell receptor, 2) a significant upregulation of BAFF-R that could enhance the survival of these B-cells, and may explain why these patients have an increase in B-cells compared to other patients and 3) An increase in BANK, a negative modulator of CD40-mediated AkT activation, thereby preventing hyperactive B cell responses in the blood of operationally tolerant patients. Given that the contribution of B cells to the state of tolerance remains elusive, this study may provide important clues or reliable indicators of tolerance after transplantation.



Année: 2007

## Identification des calpaïnes comme marqueurs biologiques et cibles thérapeutiques dans la néphropathie chronique du transplant

**BAUD Laurent** - INSERM U 702

Hôpital Tenon

Paris

[Retour tableau](#)

### Résumé

La néphropathie chronique du transplant (chronic allograft nephropathy ou CAN) est une cause majeure de perte du transplant rénal. Cette atteinte rénale est caractérisée par une fibrose, qui résulte principalement de l'ischémie puis de la reperfusion du transplant, de la toxicité des immunosuppresseurs et d'épisodes de rejet incorrectement traités. Différentes stratégies ont été développées pour mettre en évidence et limiter l'impact de la néphropathie chronique du transplant, mais jusqu'à ce jour sans réelle efficacité. Dans le projet qui est soumis, nous proposons de considérer les calpaïnes comme une nouvelle cible dans ces stratégies diagnostiques et thérapeutiques. En effet, ces protéases à cystéine intracellulaires, activées par le calcium et inhibées par la calpastatine, sont impliquées dans la nécrose de l'épithélium tubulaire au cours de l'insuffisance rénale aiguë ischémique et potentiellement dans les mécanismes moléculaires de rejet et de fibrose. Pour tester notre hypothèse, nous bénéficierons de la disponibilité d'échantillons d'urine et de biopsies rénales collectés dans une cohorte de patients transplantés rénaux ainsi que d'un modèle original de souris transgéniques qui sur-expriment la calpastatine et qui expriment donc une activité calpaïne limitée. En utilisant ces outils, nous voulons déterminer (1) si l'activité calpaïne est un marqueur fiable de la néphropathie chronique du transplant et (2) si l'inhibition de l'activité calpaïne limite les lésions d'ischémie et reperfusion, de rejet cellulaire avec mise en jeu de la calcineurine et de fibrose favorisée par la transformation épithélio-mésenchymateuse des cellules épithéliales tubulaires, prévenant ainsi le développement de la néphropathie chronique du transplant.

### Résultats

Letavernier, Emmanuel, Boris Dansou, Matthias Lochner, Joëlle Perez, Agnès Bellocq, Maja T. Lindenmeyer, Clemens D. Cohen, Jean-Philippe Haymann, Gérard Eberl, et Laurent Baud. 2011. « Critical Role of the Calpain/Calpastatin Balance in Acute Allograft Rejection ». *European Journal of Immunology* 41 (2): 473-84.

Brevet: PELLE, MEDDAHI Anne, Aïcha ABED, Didier Letourneur, et Anne BAUDOT. 2013. Cryoconservation de cellules, tissus et organes. WO2013107797 A1, filed 17 janvier 2013, et issued 25 juillet 2013. <http://www.google.fr/patents/WO2013107797A1>.

[Retour tableau](#)

Année: 2007

## SMILE, un nouveau biomarqueurs du devenir du greffon

**BROUARD Sophie** - INSERM U 643

CHU Nantes

[Retour tableau](#)

### Résumé

Depuis 4 ans, nous avons constitué un matériel biologique unique en Europe (PBMC, urines, biopsies), stocké à DIVAT Biocollection INSERM (#02G0555), comportant des malades spontanément « opérationnellement tolérants ». Il s'agit de sujets très rares (15 cas identifiés dans la Communauté Européenne) qui, principalement pour des raisons de non compliance, ont totalement interrompu leurs immunosuppresseurs et dont la fonction du greffon reste normale et inchangée depuis  $6 \pm 3$  années (Roussey-Kesler, Giral et al. 2006) (Ashton-Chess, Brouard et al. 2006). Ces sujets ne présentent pas de déficit immunitaire particulier (pas d'augmentation de maladies opportunistes). Le matériel de cette cohorte unique côtoie celui de sujets sains, de greffés stables sous immunosuppression ou présentant un rejet chronique histologiquement défini (Banff). Différents travaux conduits sur cette population ont porté sur le répertoire lymphocytaire T, le phénotype des lymphocytes T CD4, CD8, des lymphocytes B et le profil transcriptionnel des cellules mononuclées sanguines. Cette dernière étude, conduite en collaboration avec l'Université de Stanford, a utilisé des puces à cDNA comportant 12 400 gènes (S. Brouard et al., soumis). Elle a permis d'identifier 2083 gènes différentiellement exprimés dont une collection de 49 gènes statistiquement associés à l'état de tolérance opérationnelle et au rejet chronique (Provisional Patent Application Serial No. 60/571,471 filed May 14, 2004 and Provisional Patent Application Serial No. 60/538,439 filed on January 21, 2004). L'ensemble des 49 gènes ont été testés par RT-PCR quantitative sur des patients indépendants et 8 gènes les plus significativement différentiellement exprimés entre les deux cohortes de patients, opérationnellement tolérants et patients en rejet chronique, ont été retenus.

Notre objectif est d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques impliquées dans les processus de tolérance et de rejet chronique. Sur ces bases, nous avons retenu un gène dont la fonction est, à ce jour, inconnue. SMILE (TMTC3) est un tétratricopeptide transmembranaire surexprimé de façon significative dans le sang des patients tolérants leur greffon rénal par rapport aux patients en rejet chronique. Le but de cette étude est de définir la relation entre l'expression de la protéine SMILE et l'état clinique des patients greffés rénaux, afin de valider SMILE en tant que bio-marqueur sanguin du risque immunologique de rejet en transplantation (faible risque : tolérance, haut risque : rejet chronique).

Les points suivants seront développés dans notre projet : 1) Identification des cellules responsables de la sur-expression de SMILE chez les patients transplantés rénaux tolérant leur greffon rénal, 2) Etude de la fonction et de la régulation du gène SMILE dans la tolérance. Le fait que SMILE soit surexprimé dans le sang des patients tolérant leur greffon suggère que ce gène puisse être impliqué dans des phénomènes de régulation. Cette hypothèse sera étudiée in vitro chez l'homme et in vivo dans un modèle d'induction de tolérance chez le rat ; Interaction de SMILE avec d'autres protéines in vitro, down-régulation de SMILE et fonction cellulaire in vitro (siRNA), sur-régulation de SMILE et fonction in vivo (AAV8) dans un modèle de greffe allogénique chez l'animal, 3) Phénotype des animaux déficients pour la molécule SMILE (Souris SMILE-KO) et des rats transgéniques surexprimant SMILE.

## Résultats

Racapé, Maud, Jean-Paul Duong Van Huyen, Richard Danger, Magali Giral, Françoise Bleicher, Yohann Foucher, Annaïck Pallier, et al. 2011. « The Involvement of SMILE/TMTC3 in Endoplasmic Reticulum Stress Response ». Édité par Niels Olsen Saraiva Câmara. PLoS ONE 6 (5): e19321.

Poster

## SMILE, A NEW MOLECULE INVOLVED IN OPERATIONAL TOLERANCE IN TRANSPLANTATION?

Maud Racapé<sup>1</sup>, Jean-Paul Duong Van Huyen<sup>2</sup>, Richard Danger<sup>1</sup>, Magali Giral<sup>1</sup>, Françoise Bleicher<sup>3</sup>, Annaïck Pallier<sup>1</sup>, Joanna Ashton-Chess<sup>1</sup>, Emilie Dugast<sup>1</sup>, Ségolène Pettré<sup>1</sup>, Béatrice Charreau<sup>1</sup>, Jean-Paul Soullou<sup>1</sup> and Sophie Brouard<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INSERM U643-ITERT, Nantes, France, <sup>2</sup>INSERM UMRS 765, Paris, France, <sup>3</sup>Faculté d'Odontologie, Lyon, France .

[maud.racape@univ-nantes.fr](mailto:maud.racape@univ-nantes.fr)

Publication Number: P-780

**Background:** Chronic injury is poorly influenced by immunosuppression treatments in kidney transplantation. Thus there is a concerted effort in the transplant community to find procedures to induce or to detect immune tolerance in patients under chronic immunosuppression in the hope to obviate the need for life-long exposure to these drugs.

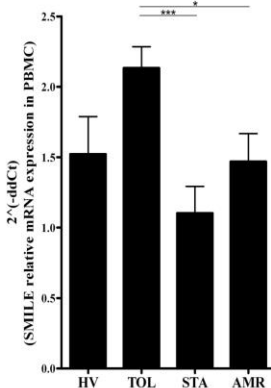
**Aim:** Our team has studied several biomarkers to define set of genes differentially expressed in operationally tolerant patients compared with other group of patients. We have identified by microarrays a molecular signature associated with operational tolerance state in drug-free patients with stable graft function. Among the molecules composing this signature, SMILE is overexpressed in the blood of operationally tolerant patients compared to patients undergoing a chronic antibody mediated rejection. Function of this molecule is yet to be determined. The structure of SMILE suggests that this molecule is involved in protein-protein interactions since SMILE exhibits tetratricopeptide repeats. In this study, we investigate the expression of SMILE by different group of transplant patients and its function in cell biology.

**Materials and Methods, Results:**

We first studied SMILE mRNA expression, by qRT-PCR, in PBMCs of operationally tolerant patients (TOL), healthy volunteers (HV), stable patients (STA) and patients undergoing chronic antibody mediated rejection (AMR). We thus confirmed the microarray data, showing that SMILE is increased in the blood of operationally tolerant patients (Figure 1). Because biopsies of operationally tolerant patients are not available, we looked at SMILE transcripts in normal kidney biopsies of non transplant (HV) or transplant patients (STA) displaying a normal histology and in pathological biopsies from patients undergoing chronic AMR (AMR). We showed that SMILE transcripts are down-regulated in biopsies from patients with chronic AMR (Figure 2).

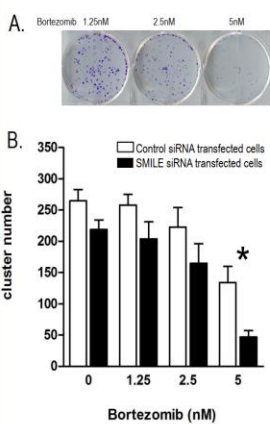
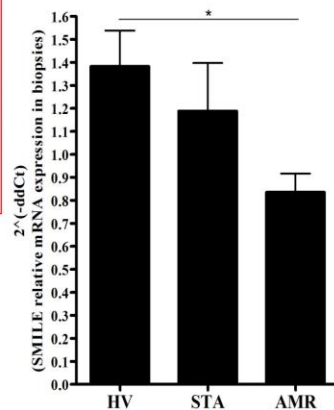
As the function of SMILE is still unknown, we aim to identify potential partners using the yeast double hybrid technique. Several interesting ligands were identified, and among them a protein disulfide isomerase family A member 3. The PDIA3 protein is involved in the loading peptide complex on MHC class I and in the folding of glycoproteins by disulfide bond formations in the endoplasmic reticulum. PDIA3 was shown to be overexpressed by the endoplasmic reticulum undergoing stress environment. We analyzed the response to endoplasmic reticulum stress of HeLa cells in which SMILE expression was knock-down by siRNA. Bortezomib was used to induce an endoplasmic reticulum stress by blocking the proteasome and inducing accumulation of unfolded proteins in endoplasmic reticulum. HeLa cells in which SMILE expression was previously knock-down or not were cultured with Bortezomib for 24 hours and cell survival was analyzed 7 days later (Figure 3). Cell survival was impaired when SMILE expression was knock-down.

### RESULTS



**Figure 1. SMILE mRNAs are overexpressed in PBMCs from operationally tolerant patients.** Expression of SMILE mRNAs was studied by qRT-PCR in PBMCs from different individuals: healthy volunteers (HV), operationally tolerant patients (TOL), stable patients (STA) and patients undergoing chronic AMR (AMR). (\* p=0,037; \*\*\* p=0,001; Mann-Whitney tests)

**Figure 2. SMILE mRNAs are down-regulated in renal biopsies from AMR patients.** Expression of SMILE mRNAs was analyzed in renal biopsies from non transplant patients (HV with normal renal biopsies), from renal transplant patients (STA, with normal renal biopsies) and from chronic rejection patients (AMR). (\* p=0,0125; Mann-Whitney test)



**Figure 3. SMILE is involved in the endoplasmic reticulum stress response.**  
**A. Principle of the clonogenic assay.** Cells were transfected with siRNA, and plated at 500 cells per well in a 6 well-plate. Then these 500 cells were treated with Bortezomib during 24h, the drug was removed and the cells were cultured for seven days. Finally, clusters were colored and the growth of the clones was evaluated by a count of the cluster number.  
**B.** When cells are not treated (0), the number of clusters is decreasing when cells are transfected with the SMILE siRNA compared with the cells transfected with the control siRNA. We observed a synergistic effect of the Bortezomib treatment and of the lack of SMILE on the decrease cluster number. These results suggests a decrease survival potential of the cells in a long-term culture when SMILE is lacking. (\* p<0,05; t test)

### CONCLUSION :

Taking together, our results suggest that SMILE plays a role in the control of the reticulum endoplasmic stress given :

- the putative interaction between SMILE and PDIA3
- the increased sensitivity of HeLa cells transfected with SMILE siRNA to the toxic effect of the proteasome inhibitor Bortezomib.

The physiological relevance of SMILE over-expression in TOL patient remains to be identified. Functional analysis are undergoing in an experimental model of kidney allograft in a fully allogeneic mismatched rat model. In this model, SMILE was found to be overexpressed in the kidney graft of tolerant recipients (XI TTS Basic Science Symposium, I ESOT Basic Science Meeting, Brussels). Studying SMILE function may help to reveal a new pathway of regulation of allo-immune response.

Année: 2007

## Etude prospective de la corrélation entre la réponse insulinique aiguë et l'isolement des îlots de Langerhans chez le donneur en mort encéphalique

**HUBERT Thomas** - Inserm U859 Thérapie Cellulaire du Diabète

CHU de Lille

[Retour tableau](#)

### Résumé

**Contexte :** La faible reproductibilité de l'isolement des îlots de Langerhans reste un facteur limitant majeur pour le développement clinique de l'allogreffe d'îlots. Même dans les centres les plus expérimentés, les résultats actuels de l'isolement permettent la réalisation d'une greffe dans moins d'un cas sur deux seulement. La sélection des donneurs, basée sur des critères cliniques non validés, ne permet pas d'améliorer significativement ces résultats. Résultats préliminaires: Nous avons démontré chez le porc que le déterminant majeur du rendement de l'isolement était la masse effective d'îlots présente dans le pancréas du donneur (Hubert Diabetologia 2005). Nous avons ensuite confirmé au cours d'une étude pilote réalisée chez 29 donneurs en état de mort encéphalique, qu'une réponse insulinique aiguë (RIA) à l'arginine (reflet in vivo de la masse d'îlots) inférieure à 55  $\mu$ UI/mL prédisait l'échec de l'isolement dans 90 % des cas.

**Objectif :** Le but de ce projet est de valider l'intérêt clinique de la sélection des donneurs basée sur la mesure extemporanée de la RIA à l'aide d'un dosage extemporané de l'insuline.

**Méthodes:** La RIA sera évaluée chez 50 donneurs en état de mort encéphalique, chez lesquels un prélèvement pancréatique sera envisagé. Des prélèvements sanguins seront réalisés avant le début du prélèvement, avant puis 1, 3 et 5 minutes après une injection intraveineuse d'arginine. L'insulinémie sera mesurée par une méthode extemporanée (STAT-Insulin; résultats disponibles en 20 minutes). Les îlots seront isolés selon une technique validée (certification ISO 9001-2000) dans le cadre de notre programme de greffe clinique. La RIA mesurée chez le donneur sera corrélée avec les résultats quantitatifs (nombre d'îlots équivalents) et qualitatifs (pureté, viabilité, sécrétion d'insuline), le caractère libérable ou non de la préparation d'îlots et sa greffe effective.

**Résultats attendus :** Si cette étude valide les résultats de notre étude pilote, la mesure de la RIA pourrait constituer une méthode simple et rapide (20 minutes) pour optimiser la sélection des donneurs et accroître significativement (+ 50 %) la proportion des prélèvements débouchant effectivement sur une greffe d'îlots.

### Résultats

Hubert, T., G. Strecker, V. Gmyr, L. Arnalsteen, D. Garrigue, R. Ezzouaoui, R. Caiazzo, et al. 2008. « Acute Insulin Response to Arginine in Deceased Donors Predicts the Outcome of Human Islet Isolation ». American Journal of Transplantation 8 (4): 872-76.

[Retour tableau](#)



Année: 2007

## Dysrégulation phagocytaire en réponse à l'activation des récepteurs Toll-like et des protéines Nod chez les patients transplantés rénaux

**VANDEWALLE Alain** - INSERM U 773

Centre de Recherches Biomédicales Bichat-Beaujon

[Retour tableau](#)

### Résumé

**Objectifs :** Les infections du tractus urinaire (ITU) et les pyélonéphrites (APN) sont fréquemment observées chez les patients transplantés rénaux. Une étude rétrospective sur une cohorte de patients transplantés rénaux nous a permis de montrer que les APN représentent un facteur de risque associé à une diminution durable de la fonction rénale (Pellé et coll. Am. J. Transplant., 2007). La reconnaissance de motifs conservés d'éléments bactériens (lipoprotéines, lipopolysaccharide, peptidoglycane, flagelline, ou DNA hypométhylé) par des récepteurs de la famille Toll-like (TLR) et/ou des protéines intracellulaires comme les protéines Nod exprimées par les cellules hématopoïétiques et les cellules épithéliales, est responsable d'une activation des voies de signalisation intracellulaire. Celles-ci conduisent à la production de cytokines proinflammatoires, notamment l'IL-8 impliquée dans le recrutement au niveau des foyers inflammatoires des polynucléaires neutrophiles (PMN) qui jouent un rôle clé dans la clairance rénale des bactéries. Cependant, la fonction des PMN, comme les niveaux d'expression et la fonctionnalité des TLR et des protéines Nod des cellules phagocytaires chez les patients transplantés soumis à une immunosuppression prolongée, restent encore mal connus.

**Résultats attendus :** La mise en évidence d'altérations de la fonction des PMN et/ou des niveaux d'expression des récepteurs de l'immunité innée à distance d'épisodes infectieux chez des patients transplantés rénaux pourrait rendre compte, au moins en partie, de la fréquence anormalement élevée des ITU et des APN.

**Méthodologie :** Le but du projet, associant des membres de l'unité INSERM U773 (Faculté Bichat, Paris) et le service de transplantation rénale de l'Hôpital Tenon (AP-HP), est d'analyser les capacités de réponse immunitaire des cellules phagocytaires de patients transplantés rénaux ayant présenté ou non des épisodes d'ITU et/ou d'APN, les prélèvements sanguins étant effectués à distance des épisodes infectieux. Les études porteront sur l'analyse 1- de la fonction des PMN circulants (i. expression des molécules d'adhérence, ii. production des formes réactives de l'oxygène, iii. degré d'apoptose des PMN) en réponse à différents agonistes des TLR (1, 2, 4, 6 et 9) et des Nod (Nod1 et Nod2) ; 2- de la production de cytokines et chimiokines mesurée sur sang total incubé avec des agonistes des TLR et des Nod et 3- des niveaux d'expression des ARN messagers par PCR en temps réel des récepteurs TLRs et des protéines Nod1 et Nod2 à partir de sang total et de PMN purifiés prélevés à distance des épisodes infectieux. Parallèlement, l'effet d'agents immunosuppresseurs (ciclosporine A, rapamycine) sur les fonctions des PMN et la production de cytokines de sujets sains seront aussi évalués in vitro. Les résultats préliminaires ont mis en évidence des anomalies fonctionnelles des PMN en réponse aux agonistes de TLR9 et Nod1 ainsi qu'une augmentation singulière de l'expression de TLR9 associée à une diminution de l'expression de la protéine Nod1. Ce projet devrait ainsi permettre de mieux caractériser les anomalies d'expression des récepteurs de l'immunité innée chez les patients greffés rénaux et d'appréhender leur implication dans la survenue des ITU et des APN.

### Résultats

Tourneur, Emilie, Sanae Ben Mkaddem, Cécilia Chassin, Marcelle Bens, Jean-Michel Goujon, Nicolas Charles, Christophe Pellefigues, et al. 2013. « Cyclosporine A Impairs Nucleotide Binding Oligomerization

Domain (Nod1)-Mediated Innate Antibacterial Renal Defenses in Mice and Human Transplant Recipients ». PLoS Pathog 9 (1): e1003152.

[Retour tableau](#)



Année: 2008

## Rôle des anticorps anti-HLA de classe II, spécifiques des antigènes du donneur dans l'accommodation du greffon en transplantation rénale

**GLOTZ Denis** - HOP Saint Louis

[Retour tableau](#)

### Résumé

Les allo-anticorps anti-HLA spécifiques des antigènes du donneur (DSA) chez les patients transplantés rénaux sont d'importants médiateurs du rejet aigu humoral (RAH) dont la cible principale est la cellule endothéliale. Sous certaines conditions, leur présence n'entraîne aucune lésion endothéliale, phénomène dénommé « accommodation » du greffon. Un des mécanismes impliqué dans l'accommodation du greffon est l'expression de « gènes de survie » comme Bcl-2 et Bcl-x par la cellule endothéliale. Il a été montré que de faibles concentrations d'anticorps anti-HLA de classe I induisaient l'expression de ces gènes dans la cellule endothéliale en activant la voie de signalisation PI3K/Akt. Le rôle in vivo de ces médiateurs de la signalisation associée aux molécules HLA de classe I en transplantation rénale reste néanmoins à définir. Par ailleurs, les effets de l'activation de la cellule endothéliale après engagement des molécules HLA de classe II ainsi que les voies de signalisation associées restent méconnus. Nos travaux précédents ont montré que la signalisation via les molécules HLA de classe II pouvait initier l'apoptose des lymphocytes B et des cellules dendritiques. Par contre, l'activation de monocyte-derived endothelial like cells (MO-ELC) par un anticorps monoclonal anti-HLA-DR n'induisait pas d'apoptose contrairement au lymphocyte B. Ces résultats préliminaires soulèvent donc l'hypothèse d'un effet non délétère des anticorps anti-HLA de classe II sur la cellule endothéliale, voire bénéfique en participant aux mécanismes d'accommodation. Notre projet a trois objectifs :

1) déterminer le rôle in vitro des anticorps anti-HLA de classe II issus de patients immunisés sur l'activité de la cellule endothéliale (prolifération, différenciation, apoptose, résistance à la cytotoxicité médiée par le complément, expression de gènes de survie) en utilisant comme modèle de culture les Human Arterial Endothelial Cells (HAECs). Notre hypothèse est que l'engagement des molécules HLA de classe II sur la cellule endothéliale conduit à l'expression de gènes de survie, inhibant l'apoptose de la cellule, participant ainsi aux mécanismes d'accommodation du greffon.

2) identifier les acteurs de la voie de signalisation associée à l'engagement des molécules HLA de classe II à la surface de la cellule endothéliale. Nous pensons que deux voies distinctes sont impliquées dans l'inhibition de l'apoptose de la cellule endothéliale : (a) une voie impliquant la Focal Adhésion Kinase (FAK) et ses cibles (b) et un rôle direct de l'interaction du cytosquelette avec les molécules HLA de classe II. L'identification des médiateurs impliqués dans chacune de ces deux voies, leur fonction ainsi que leur rôle temporo-spatial dans la signalisation via HLA II seront étudiés en associant des techniques de protéomiques (Immunoprécipitation, Immunoblot), d'imagerie et de SiRNA.

3) étudier le rôle in vivo de cette signalisation dans la survenue et l'évolution du RAH en transplantation rénale. Nous pensons que les médiateurs de la signalisation via les molécules HLA de classe II dans la cellule endothéliale sont impliqués in vivo dans l'accommodation du greffon et dans l'évolution favorable des RAH. Nous étudierons ces deux hypothèses en analysant l'expression in situ (par Immunohistochimie et RT-PCR) des médiateurs de la signalisation via HLA II dans les greffons rénaux de patients immunisés (biopsies de greffon protocolaires et avec diagnostic de RAH).

[Retour tableau](#)

**Année: 2009**

## Dépistage précoce non invasif de la néphropathie chronique du greffon rénal par suivi longitudinal des ARN urinaires

**ANGLICHEAU Dany** - INSERM ADR Paris 5

[Retour tableau](#)

### Résumé

**Introduction :** L'étude de l'expression des ARN messagers (ARNm) des cellules urinaires des transplantés rénaux est en plein essor, comme outil non invasif de remplacement de la procédure de référence qu'est la biopsie. Ces techniques ont surtout été appliquées pour prédire le rejet aigu (Anglicheau D & Suthanthiran M. Transplantation 2008). Cependant, en transplantation rénale, l'apparition progressive d'une fibrose du greffon, la néphropathie chronique du transplant (NCT), secondaire à divers facteurs immuns, hémodynamiques ou toxiques, demeure la principale cause de perte de greffon à long terme. La transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) est impliquée dans ce phénomène. Par analyse immunohistochimique, nous avons précédemment montré que des altérations épithéliales tubulaires suggestives de TEM dans des biopsies de greffons rénaux à 3 mois post-greffe prédisaient la progression vers la fibrose entre 3 mois et 1 an post-greffe (Hertig A et al. J Am Soc Nephrol 2008). Nous avons également montré que la ciclosporine était responsable de TEM des cellules tubulaires humaines (Pallet N et al. Am J Transplant 2008).

**Objectifs :** Les objectifs de ce projet sont de démontrer que l'étude de l'expression urinaire d'ARNm impliqués dans la TEM et la fibrogénèse constitue (i) un outil de diagnostic non invasif de l'existence de lésions de NCT, (ii) un outil prédictif de la progression vers la fibrose interstitielle du greffon au cours de la première année et (iii) un outil prédictif de la fonction du greffon rénal à long terme.

**Résultats attendus :** Le développement de biomarqueurs précoces prédictifs, diagnostiques ou pronostiques de NCT comporte un intérêt majeur, puisqu'il pourrait conduire à optimiser et individualiser le traitement immunosuppresseur. Nous prédisons de définir un outil non invasif diagnostique (le profil d'expression des ARNm urinaires évalué au moment d'une biopsie de dépistage diagnostiqueront de façon non invasive des lésions de NCT) et prédictif de la NCT (les profils d'expression des ARNm urinaires prélevés séquentiellement au cours de la première année de greffe prédiront de façon non invasive la progression de la NCT entre 3 mois et 1 an post-greffe et la fonction ultérieure du greffon).

**Méthodologie :** Les patients éligibles sont tous les receveurs adultes d'un greffon rénal transplantés dans le service de Transplantation rénale adulte de l'Hôpital Necker pendant 1 an. Dans ce centre, des biopsies de greffons sont systématiquement réalisées à 3 mois et 1 an post-transplantation et une évaluation du débit de filtration glomérulaire est effectuée à 1 an et 3 ans. Un prélèvement urinaire sera obtenu à 3, 6, 9 et 12 mois post-greffe en vue d'une extraction d'ARN. Une étape de pré-amplification permettra la quantification par PCR quantitative de 21 ARNm impliqués dans la TEM et la fibrogénèse. La fibrose du greffon rénal sera quantifiée sur les biopsies effectuées à 3 mois et à 1 an post-greffe par analyse d'image.

### Résultats

2 publiés ne citant pas l'agence

[Retour tableau](#)

Année: 2009

## Prévention du rejet d'allogreffe rénale : Rôle du système IL-15/IL-15R dans l'homéostasie des cellules épithéliales rénales

AZZARONE Bruno - INSERM Paris XI

[Retour tableau](#)

### Résumé

Au cours du rejet d'allogreffe rénal, l'IL-15 sécrétée par les cellules de l'épithélium tubulaire rénal (CET) agit comme un facteur clé impliqué dans le rejet aiguë et chronique. Elle représente donc une cible prioritaire à inhiber afin d'éviter le rejet. Cependant, ces études considèrent uniquement l'action de l'IL-15 sous sa forme soluble et négligent l'implication d'autres formes fonctionnelles de la cytokine et de son récepteur (formes membranaires et soluble liée à l'IL-15R $\alpha$  (hyper-IL-15) considérées comme les formes physiologiquement dominantes de la cytokine. En effet, alors que les cultures primaires de CET, dérivées d'un rein normal, ne secrètent pas d'IL-15R $\alpha$  soluble et expriment une IL-15 membranaire retenue par la chaîne IL-15R $\alpha\beta$  (IL-15mb type 1), nos études montrent que les CET primaires péricancéreuses secrètent l'IL-15R $\alpha$  soluble et expriment une IL-15mb indépendante du récepteur de l'IL-15 (type 2). Cette dernière est capable, après stimulation par de l'IL-15R $\alpha\beta$  soluble, d'activer une rétrosignalisation responsable de l'induction de la trans-différenciation épithélio-mésenchymateuse (TEM).

Nous proposons que les changements du microenvironnement tissulaire rénal et plus particulièrement le développement d'un état d'hypoxie pourrait moduler le système IL-15/IL-15R et permettre notamment la transition d'une IL-15mb de type 1 vers une forme de type 2. En effet, chez la souris s'établit in vivo lors de la phase d'ischémie-reperfusion un état d'hypoxie du greffon responsable sur les CET de l'expression du Toll-Like Receptor 4 (TLR-4) dont l'activation (voie MyD88) induit une production disproportionnée de cytokines proinflammatoires comme l'IL-15. De plus, l'activation du TLR-4 induit dans les monocytes humains le recrutement rapide à la surface d'IL-15mb de type 2 suggérant que l'hypoxie pourrait être associée à l'expression de cette forme d'IL-15mb.

Pour vérifier cette hypothèse, nous adapterons des cultures primaires de CET à un état d'hypoxie permanent en utilisant une enceinte spécifique garantissant un niveau d'hypoxie constant. Nous évaluerons si ce traitement induit: A) l'expression du TLR-4, B) l'expression d'IL-15mb de type 2 et les effets induits en réponse à l'IL-15R $\alpha\beta$  soluble, C) l'activation des métalloprotéases ADAM10 et ADAM17 conduisant à la sécrétion de différentes formes d'IL-15 et de son récepteur qui pourraient modifier l'environnement immunitaire. Les effets de l'IL-15mb et de l'hyper-IL-15 sur les populations immunitaires impliquées dans le rejet d'allogreffe seront ensuite analysés. Enfin, nous chercherons :1) à identifier les partenaires d'ancrage et de signalisation associés à l'IL-15mb par des expériences de coimmunoprécipitations, couplées à des analyses par spectrométrie de masse et du phosphoprotéome, 2) à corrélérer à l'aide d'inhibiteurs spécifiques, ces voies de signalisation aux différentes fonctions dépendantes de l'IL-15mb, dans le but de définir de nouvelles cibles moléculaires pour le traitement du rejet.

## Résultats

Azzi, Sandy, Stefania Bruno, Julien Giron-Michel, Denis Clay, Aurore Devocelle, Michela Croce, Silvano Ferrini, et al. 2011. « Differentiation Therapy: Targeting Human Renal Cancer Stem Cells with Interleukin 15 ». *Journal of the National Cancer Institute* 103 (24): 1884-98.

Giron-Michel, Julien, Sandy Azzi, Silvano Ferrini, Salem Chouaib, Giovanni Camussi, Pierre Eid, et Bruno Azzarone. 2013. « Interleukin-15 Is a Major Regulator of the Cell-Microenvironment Interactions in Human Renal Homeostasis ». *Cytokine & Growth Factor Reviews* 24 (1): 13-22.

Giron-Michel, Julien, Sandy Azzi, Krystal Khawam, Erwan Mortier, Anne Caignard, Aurore Devocelle, Silvano Ferrini, et al. 2012. « Interleukin-15 Plays a Central Role in Human Kidney Physiology and Cancer through the  $\Gamma_c$  Signaling Pathway ». Édité par Eliane F. Meurs. *PLoS ONE* 7 (2): e31624.

[Retour tableau](#)

Année: 2009

## Impact du polymorphisme génétique sur l'expression endothéliale des molécules MICA et conséquences en transplantation rénale

CHARREAU Béatrice - ITERT

[Retour tableau](#)

### Résumé

Bien que la fréquence de l'immunisation anti-MICA et son implication dans le rejet de greffe aient été montrées par plusieurs études cliniques, les conditions de cette alloimmunisation demeurent mal connues. Par ailleurs, le génotypage de MICA n'est pas réalisé en routine et peu d'informations sont à l'heure actuelle disponibles pour détecter un éventuel mismatch entre donneur et receveur avant la greffe ni prédire une alloimmunisation spécifique de MICA.

Dans ce contexte l'objectif principal de notre projet est de déterminer le polymorphisme génétique de MICA dans une cohorte de patients transplantés rénaux pour lesquels nous possédons des cellules endothéliales issues du donneur afin d'identifier les bases de l'alloimmunisation spécifique de MICA. La collection de cellules endothéliales issues des donneurs d'organes (n=65 à ce jour) qui est développée dans notre équipe est un outil unique pour réaliser une corrélation génotype/phénotype et un suivi post greffe de l'alloréactivité humorale spécifique du donneur et de l'endothélium en Transplantation rénale. Les objectifs secondaires seront (1) de déterminer la fréquence dans notre cohorte et (2) de caractériser 2 polymorphismes de MICA (A5.1 et Met/Val129) modifiant l'expression (A5.1) et la fonction (variants Met/Met129) des molécules MICA. Cette caractérisation utilisera notre collection de cellules endothéliales et elle comportera une analyse du phénotype par cytométrie de flux, western blot et microscopie confocale associée à une analyse fonctionnelle des molécules MICA sur l'activation du récepteur NKG2D.

Il n'existe à ce jour aucun test prédictif des épisodes de rejet aigu, de dysfonction chronique du greffon, ou d'évaluation de la cinétique de dégradation de la fonction du greffon. A terme, une meilleure connaissance des molécules MICA de leur polymorphisme génétique et phénotypique à leur rôle dans l'alloimmunisation et le rejet permettra de développer de nouveaux tests de screening pré-greffe et de suivi des patients transplantés.

### Résultats

Allard, Mathilde, Pierre Tonnerre, Steven Nedellec, Romain Oger, Alexis Morice, Yannick Guilloux, Elisabeth Houssaint, Béatrice Charreau, et Nadine Gervois. 2012. « HLA-E-Restricted Cross-Recognition of Allogeneic Endothelial Cells by CMV-Associated CD8 T Cells: A Potential Risk Factor Following Transplantation ». Édité par Vassiliki A. Boussiotis. PLoS ONE 7 (11): e50951.

Gavlovsky, Pierre-Jean, Pierre Tonnerre, Christophe Guitton, et Béatrice Charreau. 2016. « Expression of MHC class I-related molecules MICA, HLA-E and EPCR shape endothelial cells with unique functions in innate and adaptive immunity ». Human Immunology, The TRANSPLANTEX initiative: in search for novel histocompatibility antigens and biomarkers, 77 (11): 1084-91.

Guitton, Christophe, Nathalie Gérard, Véronique Sébille, Cédric Bretonnière, Olivier Zambon, Daniel Villers, et Béatrice Charreau. 2011. « Early Rise in Circulating Endothelial Protein C Receptor Correlates with Poor Outcome in Severe Sepsis ». Intensive Care Medicine 37 (6): 950-56.

[Retour tableau](#)

Année: 2009

## Développement de l'autogreffe intramusculaire d'îlots pancréatiques dans un modèle pré-clinique chez les patients pancréatectomisés pour TIPMP

**PATTOU François** - Inserm U859 « Thérapie Cellulaire du Diabète » - Faculté de Médecine

[Retour tableau](#)

### Résumé

Introduction : La greffe intraportale d'îlots permet la normalisation prolongée de l'équilibre glycémique chez les patients atteints de diabète de type 1 sévère. D'autres patients devenus diabétiques après une pancréatectomie totale pour TIPMP (Tumeur Intra-canalair e Papillaire et Mucineuse de Pancréas) pourraient également bénéficier de ce traitement. L'absence de maladie auto-immune et la possibilité de recourir à l'autogreffe permettraient de s'affranchir des complications de l'immunosuppression dans cette indication. Étant donné la nature pré-néoplasique de ces tumeurs, il paraît indispensable de proposer un site d'implantation dans lequel le greffon puisse être plus facilement surveillé et retiré. Déjà couramment utilisé en clinique lors d'autogreffe de parathyroïde, le site intramusculaire paraît ici particulièrement séduisant.

But du travail : Ce projet est un pré-requis à l'application clinique de l'autogreffe intramusculaire d'îlots chez les patients pancréatectomisés pour TIPMP.

Méthodes : Nous confirmerons la survie et la fonction des îlots humains greffés en intramusculaire en l'absence de réaction immunitaire spécifique chez le Rat immunoincompétent.

Nous confirmerons ces résultats et l'absence de prolifération tumorale avec des îlots provenant de patients atteints de TIPMP.

Enfin, nous validerons la stratégie envisagée chez l'homme en confirmant la prévention du diabète lors d'une autogreffe intramusculaire d'îlots chez le Miniporc pancréatectomisé.

Résultats attendus : Ce projet nous permettra de proposer une stratégie nouvelle pour le traitement chirurgical des TIPMP, basé sur la pancréatectomie totale avec prévention du diabète par autogreffe des îlots. Cette approche pourrait également constituer une alternative de choix car moins invasive, pour la greffe d'îlots chez les patients atteints de diabète de type 1.

### Résultats

Le Bacquer, O., J. Kerr-Conte, S. Gargani, N. Delalleau, M. Huyvaert, V. Gmyr, P. Froguel, B. Neve, et F. Pattou. 2012. « TCF7L2 Rs7903146 Impairs Islet Function and Morphology in Non-Diabetic Individuals ». *Diabetologia* 55 (10): 2677-81.

Pattou, François, Julie Kerr-Conte, et Damian Wild. 2010. « GLP-1-receptor scanning for imaging of human beta cells transplanted in muscle ». *New England Journal of Medicine* 363 (13): 1289–1290.

[Retour tableau](#)

Année: 2009

## La perfusion oxygénée du greffon : évaluation, limitations, perspectives

THUILLIER Raphaël - INSERM ADR Bordeaux

[Retour tableau](#)

### Résumé

Actuellement, les demandes de greffes excèdent les dons, et les listes d'attente s'allongent, posant un réel problème pour les équipes de transplantation en termes de santé publique. Pour y remédier, des greffons de plus en plus marginaux sont transplantés, dont la susceptibilité aux lésions d'ischémie reperfusion (IR) est majorée. Ces lésions, en grande partie liées à la conservation, influencent le devenir à court et long terme du greffon et majorent le risque de rejet aigu. Les organes provenant de donneurs décédés après arrêt cardiaque pourraient être utilisés. Ces greffons sont exposés à une période d'ischémie chaude avant la conservation, majorant le risque de reprise différée et de non-fonction primaire. Dans ce contexte, il apparaît important de disposer de moyens de conservation plus adéquats. Des données récentes mettent en avant l'intérêt de l'oxygénation pendant la conservation ainsi que celui d'une perfusion sub-normothermique. Nous proposons de perfuser les organes avec une solution oxygénée pendant la conservation à l'aide d'une machine conceptualisée par notre partenaire. Le but de ce projet est de minimiser les lésions d'IR, et par le fait améliorer la qualité du greffon transplanté. Cette étude a un impact direct sur la santé : comme les lésions d'IR sont liées à la survie et le comportement du greffon, le contrôle de ces phénomènes lésionnels peut éviter la perte du greffon et donc directement affecter le bien-être du patient. Ce projet utilise un modèle d'étude de transplantation rénale chez le porc Large White, qui présente une proximité intéressante avec l'homme en termes de physiologie rénale et d'un point de vue anatomique. De plus, ce modèle permet la mise en place de protocoles proches de la clinique. En effet, l'utilisation de machines de perfusion destinées initialement à un usage chez l'homme, peuvent être évaluées tel quel dans ce modèle, permettant une extrapolation rapide des résultats du laboratoire vers la clinique. Les outils mis en œuvre permettront une étude fonctionnelle complétée par une approche histologique ainsi qu'une analyse génomique et protéomique.

Notre objectif est de vérifier le concept permettant d'obtenir une amélioration substantielle de la qualité des greffons, par rapport aux méthodes actuelles.

### Résultats

Thuillier, Raphaël, Geraldine Allain, Olivier Celhay, William Hebrard, Benoit Barrou, Lionel Badet, Henri Leuvenink, et Thierry Hauet. 2013. « Benefits of Active Oxygenation during Hypothermic Machine Perfusion of Kidneys in a Preclinical Model of Deceased after Cardiac Death Donors ». *Journal of Surgical Research* 184 (2): 1174-81.

[Retour tableau](#)



Année: 2009

## Effets de la Ciclosporine A dans l'activation cellulaire et la défense des greffons rénaux contre les *Escherichia coli* uropathogènes

VANDEWALLE Alain - INSERM U773, CRB Bichat-Beaujon

[Retour tableau](#)

### Résumé

Les pyélonéphrites aiguës (APN) principalement dues aux *Escherichia coli* uropathogènes (UPEC) représentent la principale complication infectieuse des patients transplantés rénaux. Les agents immunosuppresseurs comme la ciclosporine A (CsA), favorisent la survenue des infections, mais leurs effets sur les capacités de réponse inflammatoire des cellules tubulaires rénales cibles des UPECs (i.e. les cellules du tubule collecteur) et la colonisation bactérienne rénale restent encore mal connus. Notre hypothèse est que la CsA induit une altération de l'expression des voies de signalisation dépendante du récepteur Toll-like 4 (TLR4), le récepteur du lipopolysaccharide (LPS) des bactéries Gram-négatif. Le but du projet sera d'analyser les effets *in vitro* de concentrations non cytotoxiques (10<sup>-10</sup>-10<sup>-7</sup>M) de CsA sur l'activation de cellules mpkIMCD de tubule collecteur médullaire induite par le LPS et une souche d'UPEC (HT7). Les effets de l'administration chronique de CsA (5 mg/kg pendant 7 jours) seront aussi testés *in vivo* dans un modèle d'APN expérimentale chez des souris, C3H/HeN exprimant TLR4 ou C3H/HeJ présentant une mutation inactivatrice du gène TLR4, infectées par voie transurétrale avec la souche HT7. Les premiers résultats ont montré que la CsA induit une diminution dose-dépendante de l'expression des ARNm de TLR4 associée à une inhibition de l'augmentation induite par le LPS de l'expression des ARNm des cytokines RANTES, MIP-2 et KC. De manière similaire, l'administration prolongée de CsA induit une diminution de l'expression de MIP-2 et KC dans les reins de souris C3H/HeN mais pas des souris C3H/HeJ déficientes en TLR4. Ces expériences seront complétées par l'analyse des effets *in vitro* de la CsA sur 1- la production de RANTES, MIP-2 et KC ainsi que le TNF dans les cellules mpkIMCD, 2- la phosphorylation de la protéine p65 de NF-κB et des MAP kinases ERK1/2, p38 et JNK, et 3- l'analyse transcriptome des cellules traitées par la CsA et stimulées ou non par le LPS et les UPEC. Les conséquences de l'invalidation du facteur de transcription NFAT sur l'expression de TLR4 seront aussi analysées. Ces études seront complétées par l'étude des effets d'un traitement chronique de CsA sur l'expression de TLR4, les charges bactériennes, l'infiltration des neutrophiles et la production de chimiokines dans les reins infectés des souris C3H/HeN.

Ces analyses seront aussi réalisées sur des souris C3H chimères exprimant TLR4, soit dans le compartiment parenchymateux, soit dans le compartiment hématopoïétique. Ces études devraient apporter la démonstration que la CsA entraîne une inhibition de la réponse inflammatoire dépendante de TLR4 dans les cellules du tubule collecteur cibles des UPECs. Un tel défaut de réponse immunitaire innée locale pourrait rendre compte, au moins en partie, de la susceptibilité des patients transplantés rénaux aux APN

### Résultats

Ben Mkaddem, Sanae, Cecilia Chassin, et Alain Vandewalle. 2010. « Contribution of Renal Tubule Epithelial Cells in the Innate Immune Response during Renal Bacterial Infections and Ischemia-Reperfusion Injury ». *Chang Gung Medical Journal* 33 (3): 225-40.

Bens, Marcelle, Sophie Vimont, Sanae Ben Mkaddem, Cécilia Chassin, Jean-Michel Goujon, Viviane Balloy, Michel Chignard, Catherine Werts, et Alain Vandewalle. 2014. « Flagellin/TLR5 Signalling

Activates Renal Collecting Duct Cells and Facilitates Invasion and Cellular Translocation of Uropathogenic Escherichia Coli ». *Cellular Microbiology* 16 (10): 1503-17.

Chassin, Cecilia, Emilie Tourneur, Marcelle Bens, et Alain Vandewalle. 2011. « A Role for Collecting Duct Epithelial Cells in Renal Antibacterial Defences ». *Cellular Microbiology* 13 (8): 1107-13.

[Retour tableau](#)

Année: 2010

## Analyse phénotypique et fonctionnelle des lymphocytes B chez des patients tolérants un greffon rénal

**SOULILLOU Jean-Paul** - ITERT - INSERM U643, CHU Hôtel Dieu, Nantes

[Retour tableau](#)

### Résumé

Malgré les progrès réalisés dans le domaine de la transplantation d'organes, la morbidité et la mortalité restent beaucoup plus élevées dans la population de patients transplantés que dans la population générale. Ceci est principalement dû aux effets secondaires des immunosuppresseurs et au phénomène de rejet. Ainsi l'un des objectifs des chercheurs en transplantation aujourd'hui est l'induction d'une tolérance spécifique du greffon qui permettrait au receveur de vivre sans la contrainte d'un traitement immunosuppresseur. Alors que ce processus de tolérance a été maintes fois décrit dans des modèles animaux, il reste rare en clinique. Pourtant, 30% des patients ayant reçu un greffon hépatique et inclus dans un protocole de minimisation de traitement immunosuppresseur tolèrent leur greffon après arrêt total des traitements et de tels cas ont été décrits en transplantation rénale après arrêt spontanée des immunosuppresseurs. Ces dix dernières années, des efforts importants ont été faits en transplantation et ceci principalement via la mise en place de programmes européens (Reprogramming the Immune System for Establishment of Tolerance and Indices of Tolerance) et américains (Immune Tolerance Network) dans la recherche de signature biologique de la tolérance. Depuis maintenant plusieurs années, et à travers ces réseaux notamment, nous avons créé une banque d'échantillons biologiques (PBMC, urine, cellules) regroupant 25 patients transplantés rénaux présentant un tel état de tolérance. Nous avons analysé le sang périphérique de ces patients et notamment nous avons montré que ces patients présentaient une augmentation du nombre de leurs lymphocytes B en périphérie par rapport aux autres patients transplantés présentant des situations cliniques différentes (fonction stable sous immunosuppression, rejet chronique). Ces lymphocytes présentent un profil particulier dit « pseudo-mémoire » et expriment des molécules d'inhibition (FcγRIIb, BANK1). Par ailleurs, ces mêmes patients présentent un déficit en plasmocytes et un profil de type IgG4, une immunoglobuline incapable de fixer de façon efficace le complément.

Nous faisons ainsi l'hypothèse que les lymphocytes B périphériques de ces patients au profil particulier sont impliqués dans ce processus de tolérance. L'objectif de ce projet est donc de caractériser précisément ces lymphocytes B/ plasmocytes, d'en étudier la fonction (prolifération, production en cytokines, suppression, apoptose) et les processus de différenciation (expression de molécules particulières, switch des immunoglobulines).

### Résultats

Chesneau, M., A. Pallier, F. Braza, G. Lacombe, S. Le Gallou, D. Baron, M. Giral, et al. 2014. « Unique B Cell Differentiation Profile in Tolerant Kidney Transplant Patients: B Cell Differentiation in Tolerance ». *American Journal of Transplantation* 14 (1): 144-55.

[Retour tableau](#)

Année: 2010

## Evaluation de l'activité catalytique des IgG circulantes comme test prédictif non-invasif de la néphropathie chronique d'allogreffe : étude prospective multicentrique CATAPULT

THAUNAT Olivier - Hôpital Edouard Herriot

[Retour tableau](#)

### Résumé

La néphropathie chronique d'allogreffe (NCA), qui constitue la cause principale de perte de greffon au-delà de la première année de transplantation, est devenue une préoccupation majeure dans le contexte actuel de pénurie d'organe. Des études récentes ont montré que seule l'initiation précoce des traitements préventifs permettait d'en retarder le développement. Ce dernier point souligne l'importance de disposer d'outils diagnostics prédictifs, capables d'identifier les patients « à risque » de développer une NCA avant l'apparition des lésions histologiques irréversibles.

La physiopathologie de la NCA est un processus complexe dans lequel la cascade de la coagulation joue un rôle amplificateur. Des travaux fondamentaux ont identifié des « superanticorps » capables d'hydrolyser certains facteurs de la coagulation : les « Catalytic Antibodies » (CatAb). Notre groupe a émis l'hypothèse que les CatAb, présents dans la circulation des transplantés rénaux, pourraient ralentir le développement de la NCA chez ces patients en fournissant un meilleur contrôle de la cascade de la coagulation. Nous avons mis en place une collaboration avec l'équipe INSERM U872 (Dr Lacroix-Desmazes), et montré, dans une étude pilote rétrospective, qu'un test in vitro quantifiant l'activité catalytique des IgG circulantes, permettait par une simple prise de sang de prédire la survenue d'une NCA 18 mois avant l'apparition des lésions histologiques.

Nous souhaitons maintenant mettre en place "CATAPULT", une étude prospective multicentrique pour :

- Valider l'activité catalytique des IgG comme marqueur prédictif précoce de la NCA
- Évaluer la sensibilité, la spécificité et la valeur seuil optimale de ce test
- Définir son intérêt dans la stratégie de diagnostic de la NCA

La durée de l'étude CATAPULT est estimée à 4 ans. Le nombre d'inclusion a été fixé à 100 patients répartis en 3 groupes en fonction du risque « à priori » de NCA (haut risque immunologique, haut risque non-immunologique et faible risque). L'activité catalytique des IgG circulantes sera mesurée le jour de la greffe (J0), à 3 mois, 6 mois, 9 mois, 1 an, 18 mois et 2 ans. Le diagnostic de NCA sera porté sur la progression des lésions histologiques sur les biopsies rénales (réalisées à J0, 3 mois et 2 ans). Au terme de l'étude, l'intérêt des CatAb comme test prédictif de la NCA sera évalué. La valeur seuil optimale du test sera établie pour chaque groupe à risque. Son intérêt dans la stratégie diagnostic de la NCA sera défini par comparaison avec les autres marqueurs non-invasifs disponibles : la protéinurie et le débit de filtration glomérulaire.

Si CATAPULT confirme les résultats de notre étude pilote, elle nous permettra de proposer les CatAb comme test prédictif efficace, peu coûteux et non-invasif pour stratifier le risque de NCA et permettre d'optimiser la thérapeutique (avant l'apparition des lésions histologiques irréversibles) afin de prolonger la survie des greffons. Des études complémentaires pourront alors être mises en place pour étudier l'intérêt des CatAb dans les autres types de transplantations et explorer leur potentiel thérapeutique.

### Résultats

Mahendra, Ankit, Ivan Peyron, Olivier Thauat, Cécile Dollinger, Laurent Gilardin, Meenu Sharma, Bharath Wootla, et al. 2016. « Generation of Catalytic Antibodies Is an Intrinsic Property of an Individual's Immune

System: A Study on a Large Cohort of Renal Transplant Patients ». The Journal of Immunology 196 (10): 4075-81.

[Retour tableau](#)

Année: 2010

## Stratégie de préservation de CREB afin d'améliorer la survie et la fonction des îlots pancréatiques humains isolés pour la greffe

**WOJTUSCISZYN Anne** - IRB Hôpital Saint Eloi

Laboratoire de thérapie cellulaire du diabète

Montpellier

[Retour tableau](#)

### Résumé

La greffe d'îlots pancréatiques est un traitement du diabète type 1 validé tant pour le patient présentant une instabilité glycémique sévère que pour le patient déjà transplanté rénal (1-3). Cette technique permet l'obtention de très bons résultats métaboliques sans les complications post-opératoires parfois majeures observées avec la greffe de pancréas entier. Cependant, le nombre de patients insulino-indépendants à moyen terme reste restreint (4). Deux phénomènes principaux limitent la viabilité et la fonction des îlots greffés : 1) le stress inflammatoire lors de l'isolement à partir du pancréas entier: il limite le nombre d'îlots viables isolés; 2) le phénomène thrombotique et inflammatoire nommé IBMIR survenant lors de la greffe intra-portale en elle-même, responsable d'une apoptose des îlots greffés (5). La réduction de la masse fonctionnelle greffée rend souvent nécessaire l'infusion d'îlots provenant de deux donneurs pour un receveur. L'amélioration du « rendement » de l'isolement et de la greffe d'îlots est donc un objectif essentiel pour développer cette thérapeutique.

Le GLP-1 est un peptide intestinal utilisé en clinique pour amplifier la sécrétion d'insuline par les cellules bêta des îlots pancréatiques chez le diabétique de type 2. Des expériences in vitro et in vivo ont démontré le rôle protecteur du GLP-1 sur la fonction des îlots en culture et après transplantation (6). Le GLP-1 protège également la cellule bêta de l'apoptose induite par les cytokines pro-inflammatoires (7). Ce peptide agit en stimulant l'expression de CREB, un facteur de transcription essentiel pour le maintien de la survie et de la fonction des cellules bêta (8). Nos travaux préliminaires mettent en évidence la dégradation de CREB dans les îlots fraîchement isolés avec une restauration de son expression après culture. CREB est dégradé en condition d'hypoxie chronique (9), d'inflammation aiguë (10) ou de traitement par immunosuppresseur (11). Pour toutes ces raisons, préserver l'intégrité fonctionnelle de CREB dans les îlots avant et/ou après transplantation semble essentiel.

In vitro, nous avons montré que le traitement d'îlots humains avec un peptide original (tat-CREB) bloquant la dégradation protéasomale de CREB empêche l'apoptose des îlots en conditions hyperglycémiques (12). Notre hypothèse est que l'augmentation de la fonction de CREB, par augmentation de son expression induite par le GLP-1 ou par inhibition de sa dégradation grâce à tat-CREB, permet d'améliorer la survie et la fonction des îlots. L'association de ces 2 stratégies pourrait mettre en évidence un effet additif ou synergique de tat-CREB et du GLP-1. Les expériences seront réalisées in vitro sur des îlots humains isolés et traités dont on évaluera la fonction sécrétrice et le niveau d'apoptose. En parallèle, in vivo, des greffes d'îlots humains traités par nos molécules seront réalisées chez la souris. L'amélioration de la survie et fonction des îlots traités devrait permettre à une quantité plus importante d'îlots de survivre à la greffe. La correction de l'hyperglycémie chez les souris diabétiques greffées devrait donc être plus rapide et la réversion du diabète plus fréquente et plus durable.

Les perspectives à moyen terme sont l'application de ces résultats pour la transplantation d'îlots de Langerhans chez l'homme, la réduction de la masse d'îlots à infuser pour obtenir un succès clinique et la possibilité de proposer à un plus grand nombre de patients cette voie thérapeutique innovante.

## Résultats

Varin, E. M., A. Wojtuszczyński, C. Broca, D. Müller, M. A. Ravier, F. Ceppo, E. Renard, J.-F. Tanti, et S. Dalle. 2016. « Inhibition of the MAP3 Kinase Tpl2 Protects Rodent and Human  $\beta$  -Cells from Apoptosis and Dysfunction Induced by Cytokines and Enhances Anti-Inflammatory Actions of Exendin-4 ». *Cell Death & Disease* 7 (1): e2065-

[Retour tableau](#)



Année: 2011

## Rôle de miR-146a dans la réponse épithéliale tubulaire rénale à l'inflammation

ANGLICHEAU Dany - RTRS Fondation Centaure (hôpital Necker)

[Retour tableau](#)

### Résumé

Les cellules épithéliales rénales subissent des modifications phénotypiques intenses en réponse à l'agression inflammatoire au cours du rejet aigu (expression de cytokines/chimiokines/molécules de surface). Les mécanismes moléculaires de ces altérations sont mal connus. Une percée importante de la biologie de la dernière décennie est la découverte des microARN (miARN) qui régulent l'expression des gènes au niveau post-transcriptionnel. Les miARN émergent actuellement comme des régulateurs clé de la réponse immune innée et adaptative (Anglicheau, Transplantation 2010). Nous avons précédemment rapporté la première étude décrivant leur expression dans le greffon rénal au cours du rejet aigu, et avons montré que le rejet aigu altère profondément le profil d'expression des miARN (Anglicheau, PNAS 2009). Pour identifier les conséquences de l'inflammation sur l'expression des miARN, nous avons étudié le profil d'expression global des miARN dans des cellules tubulaires rénales exposées à des cytokines proinflammatoires et nous avons trouvé que, parmi 768 miARN, un nombre limité de miARN était significativement régulé par l'inflammation. En particulier, miR-146a était le miARN le plus induit par l'inflammation. L'objectif de ce projet est d'identifier le rôle de miR-146a in vitro et in vivo dans les cellules tubulaires rénales subissant une agression inflammatoire. Nos objectifs spécifiques sont : (#1) d'identifier les conséquences fonctionnelles de l'induction de miR-146a dans les cellules épithéliales rénales; (#2) d'étudier l'impact de cytokines pro-inflammatoires et de ligands de TLR sur l'expression de miR-146a; (#3) d'identifier les voies de signalisation impliquées dans l'induction de miR-146a induite par l'inflammation; (#4) de valider in vivo l'induction de miR-146a induite par l'inflammation en développant un modèle in vivo de néphrite interstitielle aiguë.

La lignée de cellules tubulaires proximales humaines HK2 et des cultures primaires épithéliales rénales seront utilisées pour les expériences in vitro. Le stimulus Inflammatoire sera induit par le traitement avec du surnageant de culture de PBMC activées par la PHA ou par l'IFN $\gamma$ , le TNF $\alpha$ , l'IL1 $\beta$ , l'IL6 et l'IL17. L'expression des miARN et des ARNm sera évaluée par PCRq. Des analyses transcriptomiques seront réalisées sur des cellules transfectées avec un inhibiteur ou un précurseur de miR-146a pour identifier les ARNm cibles de miR-146a. Des algorithmes de prédiction seront utilisés pour identifier les ARNm candidats. La sécrétion de cytokines par les cellules épithéliales rénales sera quantifiée par Luminex. Un modèle animal de néphrite interstitielle aiguë sera développé.

Ce projet devrait permettre d'améliorer notre compréhension des mécanismes régulant la réponse de l'épithélium tubulaire à l'inflammation qui caractérise non seulement l'agression allo-immune subie par le greffon rénal, mais aussi l'inflammation locale subie par les reins natifs au cours de nombreuses néphropathies.

### Résultats

Amrouche, Lucile, Geoffroy Desbuissons, Marion Rabant, Virginia Sauvaget, Clément Nguyen, Aurélien Benon, Pauline Barre, et al. 2017. « MicroRNA-146a in Human and Experimental Ischemic AKI: CXCL8-Dependent Mechanism of Action ». Journal of the American Society of Nephrology 28 (2): 479-93.

[Retour tableau](#)

Année: 2011

## Evaluation du statut viral HPV chez des patients avant et après transplantation rénale à l'ère de la vaccination contre les HPV

MOUGIN Chirstiane - CHU Besançon

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'immunosuppression instaurée chez les patients transplantés rénaux est essentielle pour limiter le rejet du greffon. Elle expose aussi les patients à un risque accru de développement de lésions (pré)cancéreuses anogénitales associées aux papillomavirus humains (HPV). Ainsi, une récente méta-analyse indique que le rapport d'incidence standardisée pour les cancers associés aux HPV augmente de façon importante dans cette population : RIS de 2,13 (IC95% 1,37 - 3,30) pour le cancer du col de l'utérus, RIS de 22,76 (IC95% 15,8 - 32,7) pour les cancers de la vulve et du vagin, RIS de 15,8 (IC95% 5,79 - 34,40) pour le cancer du pénis et RIS de 4,85 (IC95% 1,36 - 17,3) pour le cancer de l'anus. De fait, les patients transplantés doivent faire l'objet d'une surveillance particulière pour déceler l'apparition et/ou la progression de lésions (pré)cancéreuses, en particulier au niveau anogénital. Les données relatives à l'infection par HPV au niveau de la sphère génitale de patients transplantés rénaux sont peu nombreuses et concernent des cohortes avec un nombre modeste de sujets.

L'objectif principal est de comparer la prévalence des génotypes d'HPV à haut risque oncogène (13 HPV haut risque) au niveau de la sphère anogénitale et les réponses immunes humorales périphériques anti-HPV (Ac totaux et neutralisants) avant et après transplantation rénale. Nous nous sommes fixés plusieurs objectifs secondaires (i) étudier la prévalence de l'HPV au niveau de la sphère anogénitale, chez les patients insuffisants rénaux chroniques inscrits sur liste d'attente de greffe, (ii) établir s'il existe une corrélation entre infection HPV et réponse immune avant et après transplantation, (iii) établir s'il existe un lien entre infection HPV et immunosuppression (durée, type de molécule) et (iv) établir s'il existe un lien entre réponse immune et immunosuppression (durée, type de molécule).

Nous devons inclure 674 hommes et femmes de plus de 18 ans inscrits sur liste d'attente de greffe en vue d'une première transplantation rénale dans un des CHU participant à l'étude (Besançon, Dijon, Nancy, Reims et Strasbourg). Au cours du bilan pré-transplantation et des visites posttransplantation habituelles (à 3 mois et 1 an), les patients bénéficieront outre d'un examen clinique, d'un dépistage de lésions précancéreuses et cancéreuses du col de l'utérus (frottis effectués pour cytologie et recherche d'HPV), du pénis et de l'anus (frottis effectués pour la recherche d'HPV). Les échantillons dédiés à la recherche d'HPV seront génotypés par PCR/hybridation afin de connaître les types d'HPV présents. Toute lésion constatée au cours du suivi sera prise en charge selon les recommandations en vigueur. Un prélèvement sanguin sera effectué à chaque bilan et le jour de la greffe afin de rechercher par ELISA la présence d'anticorps spécifiques des HPV16 et 18.

Cette étude nous permettra de décrire de façon précise la prévalence des HPV au niveau de la sphère anogénitale chez des patients insuffisants rénaux avant et après transplantation. Nous nous attendons à observer une augmentation de la prévalence des infections en lien avec l'immunosuppression. Par ailleurs, si nous montrons que le portage en HPV16 ou 18 augmente significativement après transplantation, nous conduirons une réflexion sur l'éligibilité de patients non concernés par les recommandations actuelles à une vaccination prophylactique contre les HPV16/18.

[Retour tableau](#)

**Année: 2011**

## Evaluation chez le mini-porc de la survie et de la sécrétion des îlots de Langherans greffés dans le muscle lors d'une CO-TX avec des progéniteurs endothéliaux circulants (PECS)

**PATTOU François** - Université de droit et de la santé de Lille 2

[Retour tableau](#)

### Résumé

**Contexte scientifique :** La thérapie cellulaire est un traitement émergent pour le diabète de type 1, fondé sur le succès prolongé de la transplantation intraportale d'îlots. Son optimisation comprend le développement de sites alternatifs d'implantation. Parmi la variété de sites potentiels, la voie intramusculaire offre des propriétés attractives, notamment en termes d'accessibilité du greffon pour un suivi biologique. Néanmoins la mauvaise revascularisation des îlots transplantés dans les premiers jours de la greffe peut représenter un obstacle qui limite la prise de greffe. Ainsi, les îlots peu vascularisés ont un apport en oxygène et en nutriments limités, ce qui compromet leur capacité de colonisation et leur survie. Les progéniteurs circulants des cellules endothéliales (PECs) sont déjà connus pour induire efficacement une néovascularisation dans des modèles d'ischémie tissulaire. En cotransplantation avec des îlots, ils pourraient accélérer la vascularisation du greffon.

**Objectifs :** Cette étude teste l'hypothèse que la cotransplantation d'îlots avec des PECs par voie intramusculaire améliore la survie et la fonction du greffon.

**Matériels et méthodes :** la première année, les îlots de 6 miniporcs seront autotransplantés dans les muscles graciles après pancréatectomie caudale. Chaque miniporc recevra deux autogreffes : une greffe associée à des PECs dans le muscle gracile droit et l'autre greffe sans PECs dans le muscle gracile gauche. Un mois après la transplantation, la fonction de chaque greffon sera évaluée après totalisation de la pancréatectomie par la mesure de l'insulinémie après test de stimulation au glucose en excluant le greffon controlatéral. Les miniporcs seront suivis pendant un mois afin d'évaluer l'équilibre glycémique régulé par les greffons. Les cellules  $\beta$ , les PECs et les vaisseaux sanguins seront évalués par immunomarquage anti insuline, vWfF et CD31. La vascularisation du greffon sera suivie par des techniques d'imagerie non invasive. La seconde année, nous étudierons l'effet dose des PECs pour l'optimisation du greffon.

**Résultats attendus :** Valider que la co-injection de PECs et d'îlots améliore la prise de greffe, et la survie à long terme du greffon en améliorant sa vascularisation. Par ailleurs, cette meilleure vascularisation du greffon permettra une meilleure disponibilité de l'insuline, qui passera plus facilement dans le sang périphérique. Le modèle préclinique choisi, grâce à son caractère prédictif, permettra un transfert rapide à la clinique.

### Résultats

A, Sterkers, Hubert T, Gmyr V, Torres F, Baud G, Delalleau N, Vantighem Mc, Kerr-Conte J, Caiazzo R, et Pattou F. 2013. « Islet Survival and Function Following Intramuscular Autotransplantation in the Minipig ». American Journal of Transplantation : Official Journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. avril 2013.

[Retour tableau](#)

**Année: 2012**

## Influence de l'obésité sur les caractéristiques fonctionnelles des îlots humains : Les îlots d'obèses sont-ils les meilleurs îlots pour la thérapie cellulaire du diabète?

**KERR-CONTE Julie** - Université de Lille

[Retour tableau](#)

### Résumé

#### Objectif

La pénurie des pancréas disponibles est un frein important pour le développement de la greffe d'îlots. Les donneurs obèses ne sont généralement pas prélevés car ils ne sont pas utilisables pour la greffe de pancréas. L'objectif de ce projet est de comparer les caractéristiques des îlots humains provenant de sujets obèses ou non obèses afin d'évaluer leur potentiel en vue de l'allogreffe d'îlots.

#### Résultats attendus.

Le nombre d'îlots isolés à partir d'un pancréas humain semble corrélé à l'indice de masse corporelle du donneur. Les caractéristiques fonctionnelles des îlots de sujets obèses devraient être identiques voire supérieures à celles des îlots de sujets minces. Si leur fonction et leur survie in vivo après transplantation se révèle également satisfaisante, cette étude constituera un argument de poids pour favoriser le prélèvement de pancréas chez les donneurs obèses ou en surpoids afin d'accroître le nombre de pancréas disponibles pour la greffe d'îlots.

#### Méthodologie

- 1) Nous comparerons dans un premier temps les caractéristiques morphologiques des îlots des sujets obèses à ceux des sujets en surpoids et non obèses en profitant d'une collection unique au monde de blocs histologiques conservés depuis 5 ans lors de chaque isolement dans le cadre de notre programme clinique pour la traçabilité (n> 250 blocs).
- 2) Nous étudierons ensuite les caractéristiques fonctionnelles des îlots de sujets obèses ou non à l'aide des techniques utilisés en routine dans notre équipe pour qualifier les préparations d'îlots humains en vue de leur transplantation.
- 3) Enfin un modèle original mis au point par notre équipe (QIVIPA) pour quantifier la qualité des préparations d'îlots humains nous permettra d'étudier la survie et la fonction des îlots in vivo, après transplantation chez la souris immuno incompétente.

### Résultats

Gargani, S., J. Thévenet, J. E. Yuan, B. Lefebvre, N. Delalleau, V. Gmyr, T. Hubert, A. Duhamel, F. Pattou, et J. Kerr-Conte. 2013. « Adaptive Changes of Human Islets to an Obesogenic Environment in the Mouse ». *Diabetologia* 56 (2): 350-58.

Latreille, Mathieu, Jean Hausser, Ina Stützer, Quan Zhang, Benoit Hastoy, Sofia Gargani, Julie Kerr-Conte, et al. 2014. « MicroRNA-7a regulates pancreatic  $\beta$  cell function ». *The Journal of Clinical Investigation* 124 (6): 2722-35.

[Retour tableau](#)

Année: 2012

## Préservation de l'activité protéasomale au sein des îlots de Langerhans afin d'améliorer la masse fonctionnelle bêta pancréatique lors de greffe

**WOJTUSCISZYN Anne** - CHU Montpellier

[Retour tableau](#)

### Résumé

La greffe d'îlots pancréatiques est un traitement du diabète type 1 validé tant pour le patient présentant une instabilité glycémique sévère que pour le patient déjà transplanté rénal (1-3). Cette technique permet l'obtention de très bons résultats métaboliques sans les complications postopératoires de la greffe de pancréas entier. Cependant, le nombre de patients insulinoindépendants à moyen terme reste restreint (4). Trois phénomènes limitent la viabilité et la fonction des îlots greffés : 1) le stress inflammatoire lors de l'isolement à partir du pancréas; 2) le phénomène thrombotique et inflammatoire nommé IBMIR survenant lors de la greffe intra-portale (5); 3) la glucotoxicité survenant lors d'épisodes hyperglycémiques en post transplantation. Ainsi, la réduction de la masse fonctionnelle de cellules beta pancréatiques au sein des îlots greffés nécessite la transplantation d'îlots provenant de deux donneurs pour un receveur. L'amélioration du « rendement » de l'isolement des îlots puis de la greffe est donc un objectif essentiel pour développer cette thérapeutique. La recherche de traitements pharmacologiques permettant d'améliorer ce rendement semble donc essentielle.

Le système ubiquitine-protéasome, principal système de dégradation protéique au sein de la cellule, tient un rôle important dans la régulation des fonctions cellulaires (6). Son rôle dans la cellule bêta pancréatique est encore peu étudié. Les données sur l'apoptose et la sécrétion d'insuline par une cellule bêta dont le protéasome serait altéré sont contradictoires mais laissent entrevoir un rôle majeur du protéasome dans la masse fonctionnelle bêta-cellulaire (7). Ainsi, dans des conditions de stress oxydant ou en présence

d'hlAPP, l'activité du protéasome est diminuée. Notre équipe a par ailleurs montré l'augmentation de l'apoptose lors de l'inhibition du protéasome dans des cellules bêta, effet décuplé sous haut glucose (8).

Il nous semble donc important de préciser l'activité du système ubiquitine-protéasome dans les îlots humains en conditions de stress post-greffe, i.e. en présence de cytokines pro-inflammatoires et de glucotoxicité. Nous espérons ainsi répondre à ces questions :

a) l'excès de cytokines pro-inflammatoire et/ou l'hyperglycémie sont-ils responsables d'un déficit d'activité du protéasome dans les îlots humains?

b) Quel est l'impact d'une diminution ou augmentation de l'activité du protéasome, en condition de stress cytokinique et/ou de glucotoxicité, sur la masse fonctionnelle bêta?

c) le protéasome peut-il être la cible pour un prétraitement pharmacologique des îlots humains afin d'améliorer leurs survie et fonction in vivo après transplantation?

Grâce à l'obtention d'îlots humains isolés dans notre laboratoire à partir de pancréas de donneurs, nous proposons de répondre à ces questions en regardant:

1) in vitro, le niveau d'activité protéasomale, en corrélation avec le taux d'apoptose et de sécrétion d'insuline, dans les îlots humains cultivés en présence de haut glucose et de cytokines pro-inflammatoires;

2) in vitro, si le traitement avec un activateur (PA28) ou un inhibiteur (MG132) du protéasome modifie la réponse cellulaire au stress cytokinique et glucotoxique;

3) in vivo, si un prétraitement des îlots humains par ces modulateurs du protéasome peut être bénéfique sur la masse fonctionnelle des îlots greffés chez la souris NOD/scid.

Les perspectives à moyen terme sont l'application de ces résultats pour la greffe d'îlots chez l'homme, la réduction de la masse d'îlots à infuser pour obtenir un succès clinique, et la possibilité de proposer à un plus grand nombre de patients cette voie thérapeutique innovante.

## Résultats

Broca, Christophe, Elodie Varin, Mathieu Armanet, Cécile Tourrel-Cuzin, Domenico Bosco, Stéphane Dalle, et Anne Wojtusciszyn. 2014. « Proteasome Dysfunction Mediates High Glucose-Induced Apoptosis in Rodent Beta Cells and Human Islets ». Édité par Amar Abderrahmani. PLoS ONE 9 (3): e92066.

Varin, E M, A Wojtusciszyn, C Broca, D Muller, M A Ravier, F Ceppo, E Renard, J-F Tanti, et S Dalle. 2016. « Inhibition of the MAP3 kinase Tpl2 protects rodent and human  $\beta$ -cells from apoptosis and dysfunction induced by cytokines and enhances anti-inflammatory actions of exendin-4 ». Cell Death & Disease 7 (1): e2065.



Poster



Rôle du protéasome sur la masse et la fonction des îlots pancréatiques: Intérêt pour la greffe d'îlots chez les patients diabétiques de type 1.



C. Broca, E. Varin, S. Dalle, E. Renard, A. Wojtusciszyn

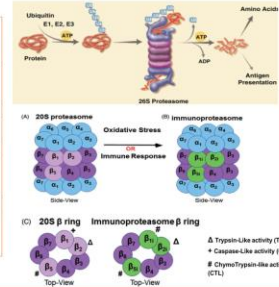
Laboratoire de Thérapie Cellulaire du Diabète, IRMB, CHU ST-Eloi, Av A. Fliche, 34295 Montpellier. Tel: 04 67 33 04 16. E-mail: a-wojtusciszyn@chu-montpellier.fr

INTRODUCTION

Le système ubiquitine-protéasome (UPS), un des principaux mécanismes de dégradation des protéines, est impliqué dans la régulation de nombreuses fonctions cellulaires (prolifération, différenciation, apoptose, intégration des signaux externes, réponse au stress, réponse immunitaire). Mais son rôle sur la fonction sécrétrice et la survie des îlots humains est mal connu.

Par ailleurs, à côté du protéasome classique, un variant a été mis en évidence d'abord dans les cellules immunitaires, puis dans nombre de cellules stimulées par les cytokines; chez ce variant, appelé immuno-protéasome, les sous-unités catalytiques standards  $\beta 1$ ,  $\beta 2$ , et  $\beta 5$  sont remplacées par les sous-unités inducibles  $\beta 1i$  (LMP2),  $\beta 2i$  (MECL-1) et  $\beta 5i$  (LMP7), formant ainsi un cœur catalytique avec des sous-unités et des activités différentes (cf. schéma ci contre). L'immuno-protéasome, longtemps été restreint à la génération de peptides pour la présentation antigénique par les molécules du CMH classe I, pourrait jouer aussi un rôle dans la réponse cellulaire au stress.

Nous avons donc recherché l'impact des différents stressés touchant les îlots après greffe chez les diabétiques, i.e. le stress de l'environnement glucotoxique et le stress de l'agression cytokinique, sur l'activité du protéasome/immuno-protéasome; ainsi que sur la masse et la fonction des cellules bêta pancréatiques après inhibition spécifique des variants protéasomaux. Améliorer la survie et la sécrétion d'insuline des îlots permettrait d'éviter le recours à de multiples donneurs dans le contexte de la greffe d'îlots de Langerhans.

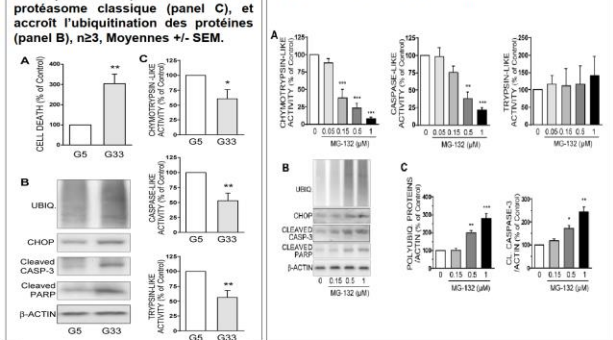


MATERIEL ET METHODES

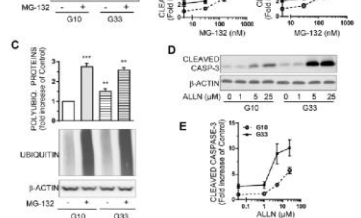
- Les expériences ont été réalisées avec des îlots humains issus de donneurs PMO, isolés dans notre laboratoire, ainsi qu'avec la lignée cellulaire bêta INS-1E. Les îlots/cellules ont été cultivés pendant plusieurs jours dans le milieu RPMI-1640, complété avec albumine, glutamine, antibiotiques, sous différentes concentrations de glucose (en mM) mimant la glucotoxicité, ainsi qu'en présence ou pas d'inhibiteurs du protéasome (MG132, Bortezomib) ou de l'immuno-protéasome (ONX-0914) ou d'un cocktail de cytokines (IL-1b, TNFa, IFNg).
- Les activités classiques du protéasome (Chymotrypsin-like, Caspase-like et Trypsin-like) et de l'immuno-protéasome ont été évaluées, de même que la sécrétion d'insuline (incubation à bas glucose puis haut glucose), et l'apoptose (détection par WesternBlot des marqueurs caspase 3 clivée et PARP clivée, fragmentation de l'ADN par kit ELISA).

RESULTATS GLUCOTOXICITE ET PROTEASOME CLASSIQUE

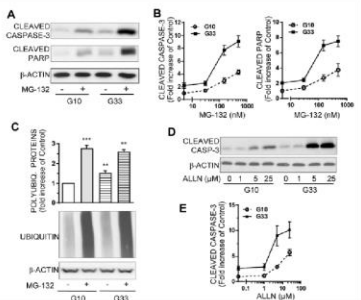
1 : L'exposition chronique (14 jours) des îlots humains à un haut glucose (G33mM soit 6g/L vs contrôle à G5,5mM) induit la mort cellulaire (A), l'apoptose (clivage de caspase 3 et PARP, panel A et B), réduit l'activité du protéasome classique (panel C), et accroît l'ubiquitination des protéines (panel B), n $\geq$ 3. Moyennes +/- SEM.



2 : Une réduction de l'activité du protéasome classique par l'inhibiteur MG132 (panel A) conduit à l'apoptose des îlots humains (panels B et C); les îlots humains ont été cultivés 48 h sous glucose normal (5,6 mM), avec ajout de l'inhibiteur du protéasome (MG-132) dans les 16 dernières heures. n $\geq$ 3. Moyennes +/- SEM.

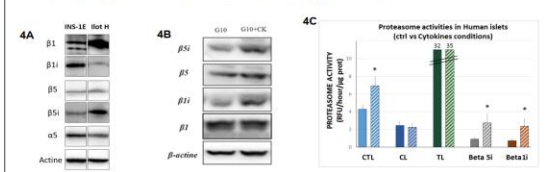


3 : Un taux élevé chronique de glucose hypersensibilise les cellules bêta à l'effet pro-apoptotique des inhibiteurs du protéasome classique, utilisés dans les rejets réfractaires. Les cellules INS-1E ont été cultivées 48h à glucose normal (10mM) ou élevé (33mM) et traitées les 16 dernières heures avec des inhibiteurs du protéasome classique (MG132, ALLN). Effets de MG132 sur les marqueurs de l'apoptose (caspase 3 et PARP clivée, panel A) et après quantification des bandes de densité (panel B). Effet de MG132 sur la quantité de protéines ubiquitinylées (C). Effet de ALLN sur le marqueur d'apoptose caspase 3 clivé (D et E). n $\geq$ 3, moyennes +/-SEM.



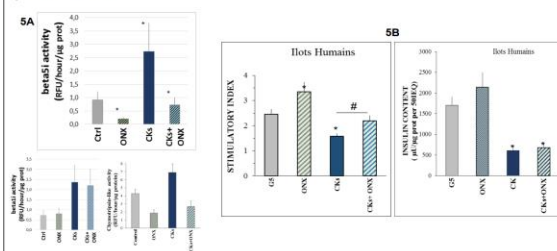
RESULTATS CYTOKINES ET IMMUNO-PROTEASOME

4. L'immuno-protéasome est présent dans les cellules bêta pancréatiques humaines et il est up-régulé par un cocktail de cytokines (CK) proinflammatoires:



4A  $\rightarrow$  Expression de différentes sous-unités de l'(immuno)-protéasome dans les îlots humains. 4B  $\rightarrow$  Expression de différentes sous-unités de l'(immuno)-protéasome dans les cellules INS-1E stimulées par un cocktail de Cytokines. 4C  $\rightarrow$  Différentes activités du protéasome mesurées dans les îlots humains en conditions basales (uni) ou sous cytokines (rayé). n=4, \* p<0,05.

5. L'inhibition spécifique de la sous-unité  $\beta 5i$  de l'immuno-protéasome accroît l'index de stimulation de la sécrétion d'insuline des îlots humains en conditions normale et pro-inflammatoire:



5A  $\rightarrow$  ONX inhibe spécifiquement (~80%) l'activité  $\beta 5i$  de l'immuno-protéasome en conditions basales et sous cytokines. La sous unité  $\beta 1i$  n'est pas inhibée, ni les autres sous unités du protéasome. En conséquence, l'activité CTL globale dans les îlots est réduite d'environ 50%. 5B  $\rightarrow$  L'inhibition de  $\beta 5i$  améliore la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose en absence et présence des cytokines (CKs, qui exercent un effets délétère sur la sécrétion d'insuline et l'index de stimulation = ratio de sécrétion d'insuline sous haut glucose -16,7mM- vs bas glucose -2,8mM-). Le contenu cellulaire en insuline des îlots n'est pas significativement modifié. \* p<0,05 vs Ct, # p<0,05 vs CKs.

CONCLUSIONS

L'hyperglycémie chronique induit une dysfonction du système ubiquitine-protéasome. Une dysfonction de l'UPS conduit à l'apoptose des cellules bêta. La toxicité de l'hyperglycémie chronique sur la cellule bêta pancréatique pourrait donc être liée, au moins en partie, à un déficit d'activité du protéasome. Les inhibiteurs du protéasome, utilisés dans les rejets, auraient des effets synergiques avec l'hyperglycémie, limitant leur utilisation chez les diabétiques ou favorisant l'apparition du diabète post-greffe.

Par ailleurs, l'immuno-protéasome est présent et actif dans les cellules bêta et îlots pancréatiques humains. Indépendamment du protéasome constitutif, et via la sous-unité  $\beta 5i$ , l'immuno-protéasome joue un rôle délétère dans la capacité sécrétrice des cellules bêta. Le mécanisme d'action liant l'immuno-protéasome à la fonction sécrétrice reste à élucider, de même qu'un possible effet sur l'apoptose des cellules bêta. L'inhibition de l'immuno-protéasome serait alors moins délétère sur la fonction bêta cellulaire et ferait préférer ce type de drogue dans le traitement des rejets.

Mieux comprendre le mécanisme des effets délétères de l'immuno-protéasome, notamment lorsqu'il est stimulé par les cytokines proinflammatoires, constitue un objectif important pour améliorer la survie des îlots après greffe chez les diabétiques de type 1 transplantés.



Année: 2013

## Pathogénèse du syndrome néphrotique à hyalinose segmentaire et focale : rôle de Lin-2/CASK dans la récurrence après transplantation rénale

LORENZO Hanz Christian - INSERM

[Retour tableau](#)

### Résumé

Le Syndrome néphrotique par hyalinose segmentaire et focale (HSF), dans sa forme cortico-résistante, conduit au stade terminal d'insuffisance rénale dans les 3 à 7 ans. Même après la transplantation rénale, la maladie peut réapparaître très rapidement suggérant une origine systémique. La présence dans le sérum d'un facteur circulant qui déstabilise la barrière de filtration glomérulaire a été évoquée, cependant son identité reste inconnue. La plasmaphérèse ainsi que l'immunoabsorption sur colonnes de protéine A ont montré leur efficacité à réduire la protéinurie en éliminant ce facteur inconnu. Nous avons identifié par spectroscopie de masse la présence de CASK (Calcium/calmodulin-serine protein kinase dépendante) dans les sérums de patients HSF après immunoabsorption sur colonne de protéine A. CASK est une « pseudokinase » importante pour le maintien de la polarisation cellulaire au niveau des podocytes (cellules qui s'intègrent dans la barrière de filtration). Récemment, il a été démontré également sa présence dans l'espace extracellulaire.

Nous démontrons dans notre travail que CASK est capable d'induire les altérations typiques de la pathologie au niveau in vitro, mais aussi in vivo : délocalisation de ZO-1 dans les jonctions des cellules, réorganisation de fibres d'actine, relocalisation de synaptopodine ou l'effacement des pédicelles. L'expression finale de ces altérations consiste dans l'apparition d'une protéinurie bien avérée. Nous avons aussi identifié CD98 comme récepteur de CASK à la membrane podocytaire et observé que CASK/CD98 induit l'activation d'Akt, ERK, NF- $\kappa$ B et c-mip. C'est la première fois que ce complexe est à l'étude.

La suite de nos recherches comprend :

- 1) Développer un test ELISA pour la détection de la maladie.
- 2) Approfondissement dans l'étude des altérations podocytaires au cours de la maladie.
- 3) La signalisation induite par CASK dans les podocytes.
- 4) Etude de l'origine du CASK dans le sérum (sécrétion lymphocytaire?).
- 5) Développement d'un modèle de souris transgéniques pour l'étude in vivo chez la souris (reproductibilité de la maladie).
- 6) Caractérisation du complexe CASK/CD98 à des buts thérapeutiques.

[Retour tableau](#)

**Année: 2013**

## Récidive post transplant du syndrome néphrotique idiopathique : Identification et caractérisation de facteurs circulants de perméabilité glomérulaire

**OLLERO Mario** - INSERM Paris

[Retour tableau](#)

### Résumé

La récidive du syndrome néphrotique idiopathique (SNI) reste un problème de santé important en transplantation rénale. Elle peut conduire à une impasse thérapeutique et condamner les patients à une dialyse définitive. En dépit des progrès immunologiques majeurs dans la prévention des rejets d'allogreffe, nos connaissances de la physiopathologie de la récidive post transplant restent largement méconnues. Plusieurs arguments suggèrent que la récidive est due à un facteur circulant extra-rénal. Cette hypothèse a été l'objet d'une recherche intense, afin d'identifier et caractériser ce facteur circulant. Si plusieurs protéines ont été suggérées comme candidates, les résultats de ces recherches n'ont pas été conclusifs.

Notre projet aborde la recherche du ou des facteurs circulants d'hyperperméabilité glomérulaire par une approche protéomique originale qui permet d'éviter la complexité analytique associée au sérum sanguin. Nous postulons que le(s) facteur(s) sont sécrétés par les cellules mononucléaires sanguines (PBMC) et proposons une analyse ex-vivo du sécrétome de ces cellules. Le projet proposé est divisé en trois étapes : (i) identification de facteurs candidats, (ii) confirmation de leur association à la maladie par une analyse spécifique comportant une évaluation qualitative et quantitative par qPCR et des tests ELISA chez des patients atteints de SNI avant et juste après la transplantation. Les contrôles incluent des patients atteints de syndrome néphrotique liés à d'autres causes ainsi que des sujets sains; (iii) création de modèles transgéniques dans le but de reproduire la maladie chez le rat. Si les résultats sont encourageants, un test ELISA sera rapidement disponible

A partir d'une étude préliminaire basée sur l'analyse protéomique comparative du sécrétome des PBMC isolées de patients d'INS avec récidive post-greffe et de contrôles sains, nous avons identifié trois facteurs candidats, que nous appellerons FR1, FR2 et FR3. Par PCR quantitative nous avons confirmé une expression plus importante des trois transcrits dans les PBMC de patients atteints de SNI en rechute, ainsi que chez des patients qui ont récidivé le SNI après transplantation alors que ces facteurs ne sont pas détectés dans les contrôles sains et surtout chez les patients atteints d'autres pathologies rénale notamment de glomérulopathie extra-membraneuse. Ces résultats suggèrent que ces trois facteurs circulants, inconnus, pourraient être impliqués dans la physiopathologie de la récidive.

Nous proposons un projet portant sur la caractérisation de ces trois facteurs, comportant les objectifs suivants : (i) détermination par des tests ELISA des niveaux sanguins de FR1, FR2 et FR3 dans les cohortes de patients atteints de SNI en dialyse, avant après transplantation rénale ainsi que chez les patients transplantés qui ont ou non récidivé; (ii) caractérisation des effets morphologiques et fonctionnels de FR1, FR2 et FR3 in vitro sur des lignées podocytaires et in vivo par injection directe des protéines recombinantes à des souris ; (iii) création de modèles transgéniques chez le rat afin de tenter de reproduire la maladie.

Le projet sera complété en deux ans. Les informations obtenues devraient amener au développement de tests de valeur prédictive et envisager des perspectives thérapeutiques qui permettraient une amélioration considérable de la prise en charge de ces patients.

### Résultats

Brevet : Sahali, Djillali, André PAWLAK, et Mario Ollero. 2017. Methods and kits for predicting the risk of relapse in patients suffering from idiopathic nephrotic syndrome. World Intellectual Property Organization

WO2017149018A1, filed 1 mars 2017, et issued 8 septembre 2017.  
<https://patents.google.com/patent/WO2017149018A1/en?inventor=ollero+mario&oq=ollero+mario>.

## Appel d'offres

### Récurrence après transplantation du syndrome néphrotique idiopathique: Identification et caractérisation des facteurs de perméabilité glomérulaire circulants

Coordinateur: Mario OLLERO  
INSERM U955 (Equipe 21)

#### Objectifs

Une proportion élevée de patients présentant un syndrome néphrotique idiopathique (SNI), subissant une transplantation rénale, souffrent d'une récurrence rapide de la pathologie. Plusieurs faits suggèrent que la récurrence est due à un facteur circulant. Plusieurs molécules ont été proposées comme candidats potentiels. Néanmoins, leur lien fonctionnel avec la pathogénèse du SNI reste flou. Notre groupe a envisagé la recherche de facteurs circulant sous un nouvel angle: une analyse *ex vivo* sans *a priori* du sécrétome des cellules sanguines mononuclées circulantes (PBMC) obtenues à partir de patients ayant une récurrence du SNI et de patients témoins.

#### Méthodologie

##### Patients

Du sang périphérique a été prélevé chez des patients juste après la fin de la procédure de transplantation rénale. Les sangs étudiés provenaient des patients qui ont présenté une récurrence du SNI 24h après la chirurgie. Du sang a été prélevé en parallèle chez des donneurs sains.

##### Isolement des PBMC

Les PBMC ont été isolées sur un gradient de densité de Ficoll® puis cultivées dans du milieu sans sérum sur la nuit en vue de leur synchronisation. Les PBMC ont ensuite été incubées pendant 4h dans des conditions de stimulation non spécifique.

##### Culture et immunofluorescence

Une lignée de podocytes murins immortalisés ont été traitées avec les surnageant des PBMC collectées. Le cytosquelette a été visualisé à l'aide de la phalloïdine

##### Analyse du sécrétome

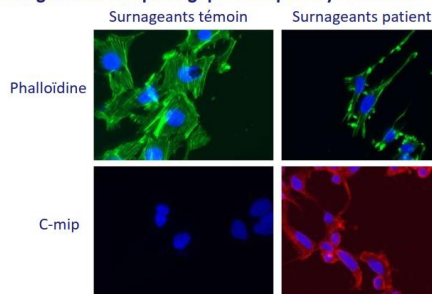
Des aliquots des surnageants des PBMC ont soumis à une analyse en LC-MS/MS

##### Dosage du facteur SF3

Les niveaux d'ARNm et de protéine du facteur SF3 ont été déterminé respectivement par RT-PCR quantitative et par ELISA.

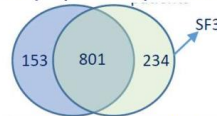
#### Résultats

##### Les surnageants des PBMC de patients présentant un SNI récurrent induisent des changements morphologiques des podocytes murins.



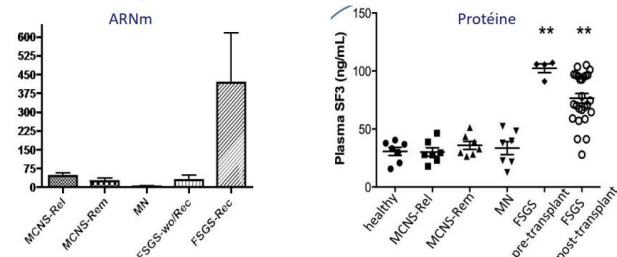
Les podocytes murins ont été incubés pendant 24h avec un précipité de protéines obtenus à partir de 200-300µL de surnageant de PBMC de patients ayant un SNI récurrent ou de donneurs sains. Les cellules ont été marquées avec un anticorps anti-cmip (rouge) et avec la phalloïdine (vert).

##### L'analyse protéomique révèle 234 protéines spécifiques du surnageant des patients



La figure montre le nombre de protéines identifiées. SF3 a été choisie, parmi les 234 protéines rencontrées dans le surnageant des patients, basée sur sa relative abondance et sa localisation extracellulaire prédire par GO

##### Les patients avec un SNI récurrent présentent des niveaux élevés de SF3 au niveau de l'ARNm et de la protéine



#### Conclusion

Nos résultats suggère que SF3 est un biomarqueur prédictif de la récurrence post-transplantation du SNI. Nous émettons l'hypothèse que SF3 peut être un facteur circulant responsable de cette pathologie.

Des travaux sont en cours pour évaluer le potentiel pathogénique du SF3 recombinant: i) *in vitro*, sur des podocytes humains; ii) *in vivo*, par injection intraveineuse à des rats.

De plus, nous planifions d'identifier et de caractériser la population de cellule dans les PBMC responsable de l'augmentation de la production de SF3 ainsi que d'étudier la séquence du gène codant pour SF3 chez les patients présentant une récurrence du SNI.

Année: 2013

## Unité glomérulaire : de la conception à la validation

RIGOTHIER Claire - INSERM Aquitaine

[Retour tableau](#)

### Résumé

Plusieurs alternatives aux traitements actuels de suppléance de la fonction rénale peuvent être envisagées : le rein artificiel, la réparation tissulaire par les cellules souches, la thérapie génique et l'ingénierie tissulaire rénale. Le développement éventuel d'un rein bio-artificiel nécessite de nombreuses étapes. Sa conception implique une modélisation de ses différentes structures, parmi lesquelles le glomérule. Le glomérule, peloton vasculaire recouvert d'une membrane basale tapissée par des podocytes, assure la fonction de filtration.

Notre objectif est de reproduire l'agencement glomérulaire en créant une unité glomérulaire par ingénierie tissulaire. A l'aide de techniques de microfabrication : micro-impression d'éléments biologiques assistée par laser et microfluidique, une structure tissulaire tubulaire organisant en 3 dimensions cellules humaines glomérulaires, endothéliales et podocytaires sera obtenue. La technique de micro-impression est basée sur le dépôt contrôlé (localisation, épaisseur et forme) de microgouttelettes de suspension cellulaire permettant l'obtention d'une structure en 3 dimensions tout comme la technique de microfluidique basée sur l'écoulement de fluides à l'origine de la formation d'une fibre cellulaire en présence d'une suspension cellulaire et d'agents réticulant. A une étude de la viabilité cellulaire succèdera une étude des caractéristiques cellulaires et tissulaires de ce modèle : nous attendons du fait de la reproduction des interactions cellulaires des phénotypes proches de la physiologie. Afin de reproduire les conditions physiologiques et notamment le régime de contraintes physiques, l'unité glomérulaire sera placée au sein d'une chambre de flux et soumise à des contraintes de flux par la technique de microperfusion in vitro. Enfin, dans l'optique de modéliser les pathologies rénales et leur prise en charge thérapeutique, cette unité sera exposée à différents agonistes. La conception d'une unité glomérulaire permettra de mieux appréhender la physiopathologie glomérulaire, pré-requis au développement de la bioingénierie tissulaire rénale.

### Résultats

Flegeau, Killian, Sébastien Rubin, Simon Mucha, Pauline Bur, Julie Préterre, Robin Siadous, Béatrice L'Azou, et al. 2020. « Towards an in Vitro Model of the Glomerular Barrier Unit with an Innovative Bioassembly Method ». *Nephrology Dialysis Transplantation* 35 (2): 240-50. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfz094>.

[Retour tableau](#)

**Année: 2013**

## Pronostic néphrologique 10 ans après thérapie cellulaire du diabète de type 1 : étude-cas témoin PRONOCELDIAB

**VANTYGHEM Marie-Christine - CHRU Lille**

[Retour tableau](#)

### **Résumé**

#### **OBJECTIFS**

Les résultats de la thérapie cellulaire du diabète de type 1 s'améliorent continuellement avec une insulinoindépendance associée à une HbA1c normale variant entre 25 et 50% à 5 ans, 80% des patients conservant un C-peptide détectable. Outre l'injection de 2 à 3 préparations d'îlots, cette thérapie cellulaire requiert un traitement immunosuppresseur qui peut avoir des effets délétères en particulier sur le plan rénal. Par ailleurs, le bénéfice de la greffe en termes de prévention ou stabilisation des complications du diabète n'a pas été évalué à long terme. Dans un travail préliminaire mené sur 5 ans, nous avons constaté une stabilisation ou une amélioration des complications microangiopathiques par rapport aux données pré-greffes (EASD 2012).

Néanmoins, nous ne disposons pas de groupe témoin. L'objectif de cette étude est de comparer l'évolution des complications notamment néphrologiques du diabète 10 ans après greffe d'îlots par rapport



à un groupe témoin de diabétiques de type 1 recevant une insulino-thérapie optimisée, initialement évalués en vue d'une greffe mais non inclus.

#### RESULTATS ATTENDUS

Une moindre détérioration ou une stabilisation de la fonction rénale des patients greffés 10 ans après greffe d'îlots en comparaison aux sujets non greffés est attendue.

#### METHODOLOGIE

Etude cas-témoins comparant, 10 ans après évaluation pour une greffe d'îlots, les patients diabétiques de type 1, ayant effectivement reçu une greffe d'îlots selon le protocole d'Edmonton et ceux n'en ayant pas reçu.

Patients :

- patients diabétiques de type 1 avec C-peptide indétectable, greffés rénaux ou non
- ayant consulté en vue d'une greffe d'îlots il y a au moins 5 ans

Critère de jugement principal :

Filtration glomérulaire estimée par la formule MDRD 10 ans après greffe d'îlots ou évaluation pour greffe

Critères de jugement secondaires

Microangiopathie

Néphrologie

Créatininémie, clairance de la créatinine à l'iohexol

Microalbuminurie ou protéinurie en mg/24h

Ponction biopsie rénale chez les greffés rénaux

Ophthalmologie

% d'hémorragie du vitré, d'intervention pour cataracte, de photocoagulation, de traitement pour maculopathie

Acuité visuelle, OCT (Optical Coherence Tomography)

Neurologie

Electromyogramme (amplitude et vitesses de conduction sensibles et motrices des membres inférieurs)

Testing neuro-végétatif (hypotension orthostatique, espace R-R, fréquence cardiaque en inspiration, Valsalva)

Macroangiopathie

Clinique (angioplastie, stent, infarctus, insuffisance cardiaque, accident vasculaire, décès, tabagisme)

MAPA (Monitoring de pression artérielle ambulatoire) : pression artérielle moyenne

Echodoppler des vaisseaux du cou et des membres inférieurs : épaisseur intima-media, calcifications

Scintigraphie myocardique MIBI

Paramètres biologiques

Glycémie, insulémie et C-peptide à jeun et post-prandiaux,  $\beta$  score, HbA1c, Holter glycémique

HDL et LDL- cholestérol, triglycérides

Anticorps anti-GAD, ICA, IA2, anti-HLA

Immunophénotypage lymphocytaire, Dosage de Tacrolimus et Sirolimus

Sérothèque, plasmathèque, DNA thèque

Paramètres Thérapeutiques

% de patients traités par anti-diabétiques oraux, par analogues du GLP1, par insuline; dose d'insuline (U/jour)



% de patients traités par hypolipémiant, par anti-hypertenseur, nombre d'antihypertenseurs

### Résultats

Benomar, K., M. Chetboun, S. Espiard, A. Jannin, K. Le Mapihan, V. Gmyr, R. Caiazzo, et al. 2018. « Purity of Islet Preparations and 5-Year Metabolic Outcome of Allogenic Islet Transplantation ». American Journal of Transplantation 18 (4): 945-51.

Vantyghem, Marie-Christine, Mikael Chetboun, Valéry Gmyr, Arnaud Jannin, Stéphanie Espiard, Kristell Le Mapihan, Violeta Raverdy, et al. 2019. « Ten-Year Outcome of Islet Alone or Islet After Kidney Transplantation in Type 1 Diabetes: A Prospective Parallel-Arm Cohort Study ». Diabetes Care 42 (11): 2042-49.

Vantyghem, Marie-Christine, Eelco J P de Koning, François Pattou, et Michael R Rickels. 2019. « Advances in  $\beta$ -cell replacement therapy for the treatment of type 1 diabetes ». The Lancet 394 (10205): 1274-85.

[Retour tableau](#)

Année: 2014

## Rejet aigu humoral du greffon rénal sans anticorps anti-HLA : description et identification de nouvelles cibles antigéniques

ANGLICHEAU Dany - Hôpital Necker

[Retour tableau](#)

### Résumé

Le rejet aigu humoral (RAH) est associé à une mauvaise survie du greffon rénal. Les anticorps pathogènes sont classiquement dirigés contre les antigènes HLA du donneur (DSA). Cependant la description de RAH en l'absence de DSA suggère l'existence d'anticorps non anti-HLA, identifiés sous le nom d'anticorps anti-cellules endothéliales (AECA). Malgré la sévérité du RAH sans DSA anti-HLA, peu de données sont disponibles. Nous souhaitons mettre en place une étude nationale au cours de laquelle seront inclus tous les patients présentant un RAH dans les trois premiers mois posttransplantation en l'absence de DSA anti-HLA démontré par Luminex Single Antigen®.

L'objectif général de ce projet est de mettre en place une cohorte importante de patients ayant présentés cette entité rare. Nos objectifs spécifiques sont :

(#1) de proposer une description clinique et histologique du RAH non-HLA. Une description clinique complète sera effectuée. Une relecture centralisée des biopsies comportera une analyse histologique conventionnelle à laquelle seront associés des immunomarquages complémentaires (CD3, CD20, CD86, C4d et protéine ribosomale S6 phosphorylée comme marqueur des altérations endothéliales).

(#2) d'identifier une signature IgG associée avec le RAH sans DSA anti-HLA. L'absence de DSA sera confirmée par Luminex SA®. Une recherche d'anticorps anti-MICA, MICB et anti-AT1R sera réalisée. De nouvelles cibles antigéniques associées au RAH non-HLA seront identifiées par Protein Array®. Cette approche, qui sera réalisée sur sérums prélevés le jour de la transplantation, permet d'identifier des IgG circulantes ciblant plus de 9000 protéines natives à partir d'un seul échantillon. La présence des IgG candidates sera confirmée par ELISA.

(#3) de démontrer la pathogénicité des IgG identifiées sur des cellules endothéliales allogéniques. Une analyse In vitro des anticorps circulants réactifs contre des cellules endothéliales sera réalisée à partir de cultures primaires de cellules endothéliales obtenues à partir de donneurs (BioCollection INSERM N°02G55). Cette étude comportera une analyse en cytométrie de flux des cross match endothéliaux. L'analyse fonctionnelle reposera sur la caractérisation du phénotype et de la fonction endothéliale. D'autre part, la capacité de ces anticorps à activer les cellules T et NK sera étudiée.

L'identification et la caractérisation de nouvelles IgG non anti-HLA responsables de rejet aigus humoraux permettrait le développement de nouveaux outils capables de prédire la survenue de cet événement sévère, de surveiller l'efficacité du traitement et de développer des approches thérapeutiques innovantes.

### Résultats

Delville, Marianne, Béatrice Charreau, Marion Rabant, Christophe Legendre, et Dany Anglicheau. 2016. « Pathogenesis of non-HLA antibodies in solid organ transplantation: Where do we stand? » *Human Immunology*, The TRANSPLANTEX initiative: in search for novel histocompatibility antigens and biomarkers, 77 (11): 1055-62.

Delville, Marianne, Baptiste Lamarthée, Sylvain Pagie, Sarah B. See, Marion Rabant, Carole Burger, Philippe Gatault, et al. 2019. « Early Acute Microvascular Kidney Transplant Rejection in the Absence of

Anti-HLA Antibodies Is Associated with Preformed IgG Antibodies against Diverse Glomerular Endothelial Cell Antigens ». Journal of the American Society of Nephrology 30 (4): 692-709.

[Retour tableau](#)

Année: 2014

## Vers de nouveaux marqueurs immunovirologiques pour le suivi des infections à polyomavirus BK en transplantation rénale

**BRESSOLLETTE-BODIN Céline** - CHU Nantes

[Retour tableau](#)

### Résumé

Le polyomavirus BK (BKPyv) est un exemple type de virus opportuniste dont le pouvoir pathogène s'exprime notamment après transplantation rénale, puisque dans ce contexte l'infection se complique chez environ 5% des patients d'une néphropathie interstitielle secondaire. Les infections à BKPyV constituent un modèle très intéressant et encore peu exploré d'infection virale chronique, caractérisé dans certains cas par un niveau très élevé de réplication virale pendant plusieurs mois. Les facteurs viraux et de l'hôte qui déterminent l'évolution vers une infection non contrôlée sont mal connus.

Il n'existe pas à ce jour d'étude prospective explorant de façon longitudinale et systématique la réponse immunitaire antivirale chez des patients présentant ou non une réactivation à BKPyV. Le présent projet, mettant à profit une biocollection déjà constituée, se propose d'étudier de façon complète la cinétique de la réponse immunitaire cellulaire et humorale, et d'y associer d'autres marqueurs immunovirologiques, non seulement dans un groupe de patient ayant présenté une réactivation du BKPyV, mais également chez les patients indemnes de cette complication.

160 patients ayant bénéficié d'une transplantation rénale au CHU de Nantes ont été inclus dans une première étude prospective monocentrique visant à définir l'intérêt prédictif de la mesure précoce de la réponse lymphocytaire sur la survenue d'une infection sévère à BKPyV. La biothèque est déjà constituée, et comporte une cellulothèque, une DNATHèque et des aliquots d'urines collectés à 1,2,3,6,9 et 12 mois post transplantation, une sérothèque à J0, 6 et 12 mois.

L'objectif principal de cette étude ancillaire est de décrire l'évolution de la réponse immunitaire spécifique cellulaire et humorale au cours de la première année suivant une transplantation de rein en fonction de la survenue ou non d'une infection à BKPyV. Les objectifs secondaires sont de rechercher d'autres facteurs de risque immunologiques de réactivation du BKPyV (génotype NK/KIR, HLA et du polymorphisme MICA donneur/receveur) et de décrire le polymorphisme génétique viral dans les gènes codant pour la protéine VP1 et la région NCCR.

L'analyse de la réponse lymphocytaire T spécifique polyfonctionnelle (IFNG, TNFa, IL2, CD107a) après stimulation par deux pools de peptides viraux (AgT et VP1) sera mesurée par cytométrie en flux, selon une méthodologie déjà validée pour l'étude princeps. L'analyse de la réponse humorale sera mesurée selon une technique développée par un des partenaires. L'analyse génotypique des récepteurs et ligands de cellules NK et des gènes viraux VP1 et NCCR seront réalisés par séquençage.

Cette étude ancillaire permettra de valoriser une biothèque déjà constituée, susceptible de fournir des informations précieuses, nouvelles et complètes sur les différents aspects de la réponse immunitaire anti BKPyV après transplantation rénale. Le principal résultat escompté est d'identifier de nouveaux biomarqueurs pouvant être pris en compte au moment de la greffe ou pendant le suivi, et permettant de moduler le rythme de surveillance de la réactivation du BKPyV et le traitement immunosuppresseur. Ces données permettraient de mieux anticiper les complications liées à cette infection opportuniste, fréquente chez le transplanté de rein, et contre laquelle il n'existe actuellement aucun traitement spécifique.

### Résultats

Tonnerre, Pierre, Nathalie Gérard, Pierre-Jean Gavlovsky, Simon Mazalrey, Maryvonne Hourmant, Mary-Luce Cheneau, Anne Cesbron-Gautier, Karine Renaudin, Céline Bressollette-Bodin, et Béatrice Charreau.

2016. « MICA Mutant A5.1 Influences BK Polyomavirus Reactivation and Associated Nephropathy After Kidney Transplantation ». The Journal of Infectious Diseases 214 (5): 807-16.

[Retour tableau](#)

Année: 2014

## Identification de biomarqueurs diagnostiques et de cibles thérapeutiques de la tolérance aux allogreffes rénales chez l'homme

**BROUARD Sophie** - Université de Nantes

[Retour tableau](#)

### Résumé

**Objectifs :** Ce projet de génomique intégrative vise à caractériser finement les mécanismes de régulation périphérique mis en oeuvre dans l'activation des différentes populations lymphocytaires à l'état de tolérance aux allogreffes rénales. L'identification des mécanismes de régulation transcriptionnelle et post-transcriptionnelle, conduisant aux variations d'expression (surexpression ou sous-expression de gènes) observées à cet état, répond à cette question. La mise en évidence de ces mécanismes implique l'identification des régulateurs clés (facteurs de transcription et miARNs), l'identification du rôle de ces facteurs (cibles et fonctions), et la modélisation (statique) du réseau de régulation.

**Résultats attendus :** L'intégration des données « Omics » obtenues permettra la caractérisation du réseau de régulation sous-jacent à l'état de tolérance. Ce modèle nous permettra d'identifier des biomarqueurs spécifiques de la tolérance et de proposer des cibles thérapeutiques rationnelles. Ces biomarqueurs doivent permettre d'identifier, parmi les patients sous traitement immunosuppresseur, ceux qui présentent le profil de tolérance et chez lesquels on pourrait envisager un arrêt du traitement. Ces marqueurs permettraient également un meilleur suivi des patients actuellement tolérants. Ces cibles thérapeutiques doivent permettre d'induire chez les patients transplantés une tolérance du greffon en s'affranchissant des traitements immunosuppresseurs.

**Méthodologie :** Les facteurs de transcription spécifiques de populations lymphocytaires seront identifiés par une méta-analyse des données de transcriptome incluant des cohortes de patients tolérants. Cette étape permettra en plus d'obtenir une méta-signature de gènes stable (i.e. des biomarqueurs robustes) aux travers des études analysées, et discriminant ces patients des contrôles appariés (volontaire sains et patients transplantés stables mais sous traitement immunosuppresseur). Les miARNs d'expression dérégulée à l'état de tolérance seront identifiés par analyse de novo du miRNome sanguin des patients tolérants. Le rôle précis de ces facteurs régulateurs sera mis en évidence en identifiant d'une part leurs cibles directes, d'autre part les fonctions biologiques associées. L'ensemble des gènes cibles des facteurs de transcription sera identifié par le ChIP-chip appliqué aux échantillons sanguins. Les ARNms cibles des miARNs seront caractérisés par l'analyse du transcriptome de modèles cellulaires dans lesquels les miARNs étudiés seront exprimés (mimic) ou inactivés (inhibiteur). Les fonctions biologiques des cibles régulées par un même ou plusieurs facteurs régulateurs seront déduites des analyses bioinformatiques (recherche de biais significatifs d'ontologies de gènes). Le réseau de régulation sera modélisé en intégrant les données d'expression des gènes (sens de variation) à l'état de tolérance (transcriptome et miRNome), les données de régulation (interactions régulateur-cibles) sous-jacents (ChIP-chip et mimic/inhibiteur) et les annotations fonctionnelles (analyses bioinformatiques). Ce modèle permettra de prédire, en distinguant les causes (régulateur) des conséquences (cibles), l'impact fonctionnel d'une perturbation sur un des facteurs clé du réseau dont les effets seront validés biologiquement sur des modèles cellulaires in vitro.

**Mots-clés :** Tolérance aux allogreffes rénales, génomique intégrative, réseau de régulation, biomarqueur, cible thérapeutique

### Résultats

Baron, Daniel, Gérard Ramstein, Mélanie Chesneau, Yann Echassériau, Annaick Pallier, Chloé Paul, Nicolas Degauque, Maria P. Hernandez-Fuentes, Alberto Sanchez-Fueyo, et Kenneth A. Newell. 2015.

« A common gene signature across multiple studies relate biomarkers and functional regulation in tolerance to renal allograft ». *Kidney international* 87 (5): 984–995.

Dumontet, Erwan, Richard Danger, Parsia A. Vagefi, Maria-Carlota Londoño, Annaïck Pallier, Juan José Lozano, Magali Giral, et al. 2016. « Peripheral phenotype and gene expression profiles of combined liver–kidney transplant patients ». *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver* 36 (3): 401-9.

[Retour tableau](#)



**Année: 2014**

## Nouveaux outils diagnostiques et pronostiques des rejets humoraux en transplantation rénale : identification des anticorps anti-HLA spécifiques du donneur dans le sérum et dans le greffon et analyse de leur capacité à fixer le C1q

**CAILLARD Sophie** - CHRU Strasbourg

[Retour tableau](#)

### Résumé

Bien que les anticorps (Ac) anti-HLA dirigés contre les antigènes du donneur (DSA) soient associés au rejet humoral et à un plus mauvais pronostic, la valeur prédictive de la présence d'un DSA circulant (sérum-DSA ou sDSA) pour un patient donné semble encore limitée. Des techniques récentes permettraient de mieux préciser le caractère délétère d'un DSA, soit en évaluant la capacité de fixation du complément (c1q) du DSA, soit en identifiant les DSA présents au sein du greffon rénal lui-même (gDSA). Ces deux paramètres semblent liés à une plus grande fréquence du développement de lésions histologiques agressives de rejet humoral et à une augmentation du risque de perte du greffon rénal. Enfin, les marqueurs actuels nous permettant d'évaluer l'activation de la cascade du complément au sein du greffon (C4d) sont peu sensibles alors même que ces marqueurs font partie intégrante de la dernière classification de Banff.

Notre projet consiste à rechercher et caractériser, au sein d'une population de 118 patients transplantés du rein porteurs d'un DSA issus d'une cohorte monocentrique, la présence de DSA sériques le jour de la biopsie rénale par technique Luminex Single Antigen, la présence de DSA au sein du greffon par analyse Luminex Single Antigen des éluats de greffon et leur capacité à fixer le complément (par technique Luminex Single Antigen C1q).

Ces résultats immunologiques seront confrontés à la présence et la sévérité des lésions de rejet humoral aigu ou chronique évaluées selon la classification de Banff 2009, à l'existence de signes d'activation du complément au sein du tissu rénal (marquage c4d et c5b9 en immunofluorescence) et à l'évolution de la fonction du greffon rénal (créatininémie, DFGe et survie du greffon).

Nous espérons pouvoir améliorer la prédiction de l'impact de la survenue d'un DSA après transplantation rénale, en fonction de la capacité de cet anticorps à fixer le complément, l'activer, se fixer au sein du greffon et induire des lésions de rejet humoral. Dans l'avenir, la prise en charge des patients en cas d'apparition de DSA pourra être guidée par une meilleure connaissance de ces différents paramètres.

### Résultats

Gautier Vargas, Gabriela, Jérôme Olagne, Anne Parissiadis, Mélanie Joly, Noelle Cognard, Peggy Perrin, Nadine Froelich, et al. 2020. « Does a Useful Test Exist to Properly Evaluate the Pathogenicity of Donor-Specific Antibodies? Lessons From a Comprehensive Analysis in a Well-Studied Single-Center Kidney Transplant Cohort ». *Transplantation* 104 (10): 2148. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000003080>.



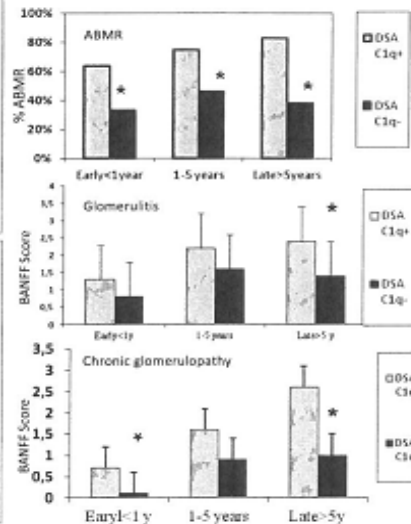
### Identification and consequences of antibodies which bound C1q in 118 kidney transplant recipients with donor specific antibodies

Gabriela Vargas, Sophie Caillard, Anne Parissladi, Jérôme Olgne, Clotilde Muller, Peggy Perrin, Laura Braun, Françoise Heibel, Christian Gachet and Bruno Moulin  
Nephrology and Transplantation Unit, University Strasbourg Hospital and Strasbourg Histocompatibility Laboratory, France

**Introduction** Donor specific antibodies (DSA) play an important role in antibody-mediated rejection (ABMR) and graft dysfunction. Newer antibody detection assay like Luminex is highly sensitive but it is not accurately predictive of clinical outcome. A more precise characterization of DSA potentially harmful for the graft is still a matter of concern.

**Patients and Methods** 118 recipients (8%) among 947 adult kidney transplant followed at University Strasbourg Hospital had a functional graft and DSA in 2011. We identified and analyzed DSA by Single Antigen Beads (SAB), with the potential to activate the complement by binding C1q using a novel Luminex C1q assay. We correlate these results with the presence of ABMR, morphological features, C4d staining and graft function.

**Conclusion** DSA that bound C1q are mainly HLA class II and *de novo* DSA. Our data suggests that these DSA, as determined by a novel C1q assay, are associated with a greater risk of ABMR, severe chronic tissue injury and allograft dysfunction.



**Results** Median follow up of patients was  $8.5 \pm 6.9$  years (6 m. to 35 y.). There were 65 patients sensitized before transplantation (55%). DSA identified by SAB were class II in 72% of cases. 55 patients (47%) had DSA that bound C1q (DSA C1q+) and in 45 patients DSA were *de novo*. 80 patients underwent allograft biopsy for cause. 135 biopsies were studied: 46 done within the 1st post transplant year, 46 between 1 and 5 post transplant year and 43 after 5 years. 48 patients meet criteria for ABMR and in 30 cases there were CABMR. 73% of these patients had DSA C1q+. 84% of patients who didn't have ABMR had DSA C1q-. C4d staining was positive in 69% of DSA C1q+ patients and negative in 52% of DSA C1q- patients. Patients with DSA C1q+ had a poorer graft function (sCr  $164 \pm 75 \mu\text{mol/l}$ ) compared to those with DSA C1q- (sCr  $146 \pm 57 \mu\text{mol/l}$ ).

Année: 2014

## Score diagnostique de la normalité anatomo-pathologique sur les biopsies de surveillance des greffons rénaux à un an post-transplantation

FOUCHER Yohann - CHU Nantes

[Retour tableau](#)

### Résumé

Ces dernières années, les avancées à la fois chirurgicales et thérapeutiques ont permis de considérer la greffe du rein comme étant la prise en charge optimale des patients en insuffisance rénale terminale. Malgré un succès croissant des résultats de la transplantation durant les 30 dernières années notamment dans la première année de greffe, la perte chronique des greffons sur le long terme reste élevée. La prédiction précoce du pronostic à long terme d'un greffon représente donc un enjeu majeur en transplantation pour guider le choix thérapeutique qui doit être adapté au risque immunologique et non-immunologique d'un receveur donné.

Actuellement, l'analyse anatomo-pathologique d'une biopsie du transplant est l'examen le plus pertinent pour analyser la situation du greffon rénal à un instant donné et mieux évaluer son devenir.

Ainsi de nombreuses équipes de transplantation ne se contentent plus de biopsier les patients pour établir un diagnostic devant une dégradation de la fonction rénale, mais réalisent des biopsies « de surveillance » à différents temps de la transplantation. Il s'agit généralement de biopsies précoces au cours du suivi, réalisées parfois à 3 mois, le plus souvent à un an, ou moins souvent à 3 ans post-greffe. Ces biopsies ont pour objet de dépister des lésions précoces infra-cliniques (sans traduction sur la fonction rénale) mais qui vont conditionner le pronostic à moyen et long terme de la greffe.

Dans la mesure où la biopsie est un acte médical invasif, potentiellement dangereux pour le greffon et même pour le patient, il serait donc intéressant de mettre à la disposition du clinicien un outil l'aidant à prendre la décision d'éviter une biopsie de surveillance chez les patients dont la probabilité de présenter un diagnostic anatomo-pathologique normal est très importante. En effet, seules les biopsies anormales peuvent conduire le médecin à adapter la prise en charge en fonction des résultats.

L'objectif de ce projet est de construire et valider un score diagnostique de la normalité anatomo-pathologique de la biopsie des greffons rénaux chez des patients transplantés à partir de variables cliniques disponibles au moment de la greffe et au cours de la première année post-greffe. Nous excluons volontairement les biomarqueurs des variables à inclure dans un tel score, ces derniers n'étant pas mesurables en pratique quotidienne. A partir de ce score, il s'agira de définir deux groupes de patients: les patients dont le score permettrait de prédire, avec une très bonne confiance, que la biopsie de surveillance montre une histologie normale du greffon et les patients à plus fort risque de biopsie anormale. Ce travail sera réalisé à partir de la cohorte DIVAT regroupant des patients greffés rénaux et rassemblant l'ensemble des critères cliniques et biologiques utiles à la prise en charge et au suivi médical du patient.

### Résultats

Giral, Magali, Karine Renaudin, Maarten Naesens, Redmer Luning, Dany Anglicheau, Emmanuel Morelon, Alexandre Huneau, et al. 2018. « The 1-Year Renal Biopsy Index: A Scoring System to Drive Biopsy Indication at 1-Year Post-Kidney Transplantation ». *Transplant International* 0 (0). <https://doi.org/10.1111/tri.13290>.

[Retour tableau](#)



Année: 2014

## Contribution de la voie alterne du complément et de sa régulation dans le rejet de greffe rénale

FREMEAUX-BACCHI Véronique - Centre de recherche des Cordeliers

[Retour tableau](#)

### Résumé

En transplantation d'organe, une cause importante de perte du greffon est le rejet médié par les anticorps dirigés contre les molécules HLA des cellules du donneur (DSA). Ces anticorps induisent une activation du complément par la voie classique et une inflammation endothéliale délétère pour la fonction du greffon. Les dépôts endothéliaux de C4d, témoins de l'activation de la voie classique, constituent un marqueur histologique important de rejet humoral. De plus, la capacité des DSA à lier le C1q et à activer la voie classique du complément constitue un facteur prédictif précoce et fiable permettant d'identifier les patients à haut risque de rejet de greffe. L'activation du complément conduit à la formation du complexe d'attaque membranaire C5b-9 et des anaphylatoxines pro inflammatoires C3a et C5a à l'origine d'une activation endothéliale et des lésions d'endothélite. Les cellules endothéliales activées constituent une surface activatrice pour la voie alterne du complément permettant alors d'amplifier une activation du complément initiée par la voie classique. L'implication de la voie alterne dans le rejet médié par anticorps n'est pas connue. Des données récentes suggèrent toutefois que des lésions endothéliales identiques à celles observées au cours du rejet médié par anticorps peuvent être mises en évidence précocement ou tardivement en post transplantation en l'absence de dépôt de C4d suggérant que l'activation de la voie classique seule ne suffit pas à générer les lésions endothéliales.

L'objectif de ce projet est d'étudier le rôle de la voie alterne du complément et de ses mécanismes de régulation au cours du rejet médié par anticorps. Trois axes de recherche seront développés : 1) Evaluer l'implication de la voie alterne du complément dans l'activation des cellules endothéliales et des mécanismes d'accommodation en présence d'anticorps anti HLA dans un modèle in vitro 2) Déterminer l'influence des polymorphismes des gènes codant pour les protéines régulatrices de la voie alterne dans la perte du greffon lié à la présence d'anticorps anti-HLA 3) Etudier l'implication des haplotypes du Facteur H, de MCP et de CFHR1 dans les mécanismes moléculaires et cellulaires responsables de l'apparition des lésions endothéliales après une activation de la voie alterne ou classique du complément.

L'originalité de ce projet est de rechercher dans la régulation de la voie d'amplification de la voie alterne du complément de nouveaux acteurs du rejet induit par les anticorps anti HLA. Ce projet devrait permettre d'identifier de nouveaux marqueurs ou de nouveaux gènes de susceptibilité pour le rejet de greffe et offre l'espoir d'une nouvelle voie d'approche thérapeutique pour ces patients.

[Retour tableau](#)

Année: 2014

## Approche métabolomique pour l'évaluation de la qualité des greffons de rein conservés sur machine de perfusion avant transplantation

**LE GUELLEC Chantal** - cellules dendritiques, immunointervention et greffes, Université de Tours

[Retour tableau](#)

### Résumé

Introduction : L'évaluation de la qualité des greffons conservés sur machines de perfusion est cruciale car elle conditionne la reprise optimale de fonction du greffon, celle-ci étant associée au pronostic de la greffe, à moyen et à long terme. Cette évaluation repose actuellement sur des paramètres liés à la machine ou sur quelques biomarqueurs biochimiques isolés, dont l'utilisation n'est pas consensuelle. Les machines sont actuellement réservées aux reins issus de donneurs à critères élargis mais leurs indications pourraient s'étendre s'il s'avérait qu'elles procurent un avantage dans d'autres situations.

Objectifs : La métabolomique, ciblée ou non-ciblée, pourrait fournir des éléments d'appréciation importants sur l'état du greffon avant, et en période post-transplantation immédiate. Nos résultats récents indiquent que les urines prélevées à J7 après la greffe présentent un profil métabolomique particulier et que celui-ci diffère selon que la reprise de fonction du greffon soit bonne (IGF) ou pas (DGF/SGF). Nous faisons donc l'hypothèse que le profil métabolomique pourrait constituer un biomarqueur d'évaluation de la qualité du greffon, depuis le prélèvement jusqu'à la transplantation.

Méthodologie : Cette étude portera sur tous les couples donneur/receveur pris en charge dans notre centre sur 18 mois consécutifs. Tous les reins issus de donneurs décédés, qu'ils présentent des critères élargis ou pas, seront placés sur machine à perfusion. Nous utiliserons la spectroscopie RMN et de masse (UPLC/MSMS et GC/MS) pour analyser 3 types d'échantillons : urines du donneur, liquide de perfusion de la machine et premières urines du receveur, afin de caractériser les empreintes métaboliques correspondantes. Pour chacune de ces situations, nous rechercherons les facteurs liés au patient ou à l'environnement susceptibles de modifier les profils. Dans une seconde étape, nous chercherons les liens existant entre les profils métabolomiques et le devenir du greffon, caractérisé par la reprise de fonction du greffon puis par le débit de filtration glomérulaire à 3 mois. Les métabolites discriminants seront identifiés et nous tenterons de les rattacher aux voies physiopathologiques correspondantes.

Résultats attendus : La métabolomique devrait permettre de détecter des anomalies traduisant les dommages cellulaires associés aux processus pathologiques impliqués à ce stade de la greffe. Cette étude permettra aussi d'étudier si ces anomalies métabolomiques ont un impact sur le devenir rénal du greffon à court et moyen terme. Ceci permettrait donc de proposer un nouvel outil utilisable ensuite pour :

- évaluer la qualité des greffons avant transplantation,
- évaluer l'impact de mesures correctives (modifications des conditions de perfusion, ajout dans le perfusé d'agents protecteurs vis-à-vis d'un mécanisme faisant intervenir une voie physiopathologique particulière,...)
- optimiser, à terme, la qualité des greffons et fournir des éléments de sélection des greffons transplantables.

[Retour tableau](#)

Année: 2014

## Etude des mécanismes du rejet chronique des allogreffes rénales associées avec les anticorps HLA de classe II

MOONEY Nuala - Université Paris Diderot

[Retour tableau](#)

### Résumé

#### Objectifs

Ce projet déterminera les mécanismes à la base de l'association entre hauts titres d'allo-anticorps anti-HLA de classe II et les altérations des cellules endothéliales au cours du rejet chronique de rein allogénique greffé. Les effets directs aussi bien qu'indirects de la liaison des allo-anticorps aux cellules endothéliales microvasculaires seront déterminés avec une attention particulière portée à la signalisation initiée par le HLA de classe II et les implications sur la réponse allogénique des lymphocytes T CD4+. Les effets de cette signalisation sur les fonctions des monocytes seront également déterminés, à savoir leur recrutement, leur adhésion et leur différenciation en cellules effectrices au contact de cellules endothéliales activées. Les résultats expérimentaux obtenus in vitro seront validés sur des biopsies de patients.

#### Résultats attendus

Les résultats de cette étude révéleront (i) les interactions moléculaires impliquées dans les altérations des cellules endothéliales induites par les allo-anticorps anti-HLA de classe II, révélant de nouvelles cibles diagnostiques ou thérapeutiques potentielles (ii) comment la réponse allogénique des lymphocytes T CD4+ est modifiée par l'activation des cellules endothéliales induite via HLA-DR (iii) les phénotypes et fonctions des souspopulations de monocytes qui adhèrent aux cellules endothéliales sensibilisées par les anticorps anti-HLA-DR.

#### Méthodes

Nous mettrons à profit les expertises techniques du laboratoire en protéomique et biologie moléculaire pour identifier les interactions moléculaires (analyses de signalisation par électrophorèse uni- et bidimensionnelle, immunoprécipitation, Western Blot, qRT-PCR), en caractérisation de populations cellulaires pour identifier différents types de T CD4+ et de monocytes (FACS multi-couleurs, trieur de cellules, expression de cytokines). Notre équipe a récemment développé une plateforme pour l'identification phénotypique et fonctionnelle de sous-populations de monocytes humains, qui sera utilisée pour déterminer les sous-populations se liant aux cellules endothéliales activées par l'engagement d'HLA-DR par des allo-anticorps. Nos résultats seront validés par l'utilisation d'antisérum de patients et de biopsies fournies par des membres de notre groupe de recherche également membres du Laboratoire Régional d'Histocompatibilité et du service de Néphrologie.

### Résultats

Cross, Amy R, Julien Lion, Pascale Loiseau, Dominique Charron, Jean-Luc Taupin, Denis Glotz, et Nuala Mooney. 2016. « Donor Specific Antibodies are not only directed against HLA-DR: Minding your Ps and



Qs ». Human Immunology, The TRANSPLANTEX initiative : in search for novel histocompatibility antigens and biomarkers, 77 (11): 1092-1100.

Cross, Amy R., Julien Lion, Karine Poussin, Maureen Assayag, Jean-Luc Taupin, Denis Glotz, et Nuala Mooney. 2019. « HLA-DQ alloantibodies directly activate the endothelium and compromise differentiation of FoxP3high regulatory T lymphocytes ». Kidney International 96 (3): 689-98.

Lion, J., C. Taflin, A. R. Cross, M. Robledo-Sarmiento, E. Mariotto, A. Savenay, M. Carmagnat, et al. 2016. « HLA Class II Antibody Activation of Endothelial Cells Promotes Th17 and Disrupts Regulatory T Lymphocyte Expansion ». American Journal of Transplantation 16 (5): 1408-20.

[Retour tableau](#)

**Année: 2014**

## Réponse humorale alloimmune après greffe d'îlots de Langerhans : caractéristiques et impact sur la fonction du greffon

**THAUNAT Olivier** - CHU Lyon

[Retour tableau](#)

### Résumé

#### Introduction

La greffe d'îlots de Langerhans est une technique prometteuse permettant de restaurer l'insulino-sécrétion des patients diabétiques de type I. En théorie elle pourrait offrir les mêmes bénéfices que la transplantation pancréatique : moins d'hypoglycémies iatrogènes, meilleure qualité de vie et prévention des complications microvasculaires invalidantes, tout en étant beaucoup moins invasive.

Hélas ses résultats à long terme sont encore décevants avec une survie du greffon à 5 ans estimée à seulement 10 0/0.

En transplantation d'organes solides vascularisés, il est clairement démontré que la cause majeure de perte tardive des transplants sont les dégâts consécutifs à la fixation des anticorps anti-HLA aux cellules endothéliales allogéniques du greffon. L'importance de ces mécanismes lésionnels dans le rejet des greffes cellulaires (où la vascularisation provient du receveur) reste à établir.

#### Objectif primaire

Déterminer si la présence d'anticorps anti-HLA anti-donneur est associée avec une moins bonne survie du greffon et définir quels paramètres de la réponse humorale alloimmune permettent de stratifier le risque

#### Objectifs secondaires

- 1) Fournir une description précise de la réponse humorale anti-HLA anti-donneur après greffe d'îlots
- 2) Identifier les facteurs de risques associés à l'apparition des anticorps anti-HLA anti-donneur après greffe d'îlots.

#### Méthodologie

Etude rétrospective multicentrique s'appuyant sur le réseau GRAGIL. 109 patients ayant reçu au moins une greffe d'îlots sous un régime immunosuppresseurs de type Edmonton dans un des 7 centres participants ont été évalués pour i) la présence de matériel biologique permettant un typage complet du (ou des) donneur (s), ii) la présence d'un sérum pré greffe de référence, iii) la présence de sera 3 mois, 1 an post-greffe puis tous les ans.

48 patients répondant à ces critères ont été identifiés. Le recueil des données cliniques et biologiques a déjà commencé.

L'analyse de la réponse anticorps anti-HLA post greffe d'îlots (spécificité, titre, capacité à activer la voie classique du complément) sera réalisée en aveugle des données cliniques et biologiques selon la technique sensible du « flow bead assay » dans un laboratoire d'immunologie de référence. Un effort particulier a été réalisé pour assurer la comparabilité des échantillons.

#### Résultats attendus

Une durée d'étude de 24 mois devrait être suffisante pour nous permettre de caractériser, avec une précision sans précédent dans la littérature, la réponse anticorps anti-HLA post greffe d'îlots

Les analyses statistiques détermineront si il est possible d'établir une corrélation entre cette réponse et la survie des greffes d'îlots

## Résultats

Barba, Thomas, Jean Harb, Stéphanie Ducreux, Alice Koenig, Virginie Mathias, Maud Rabeyrin, Eric Pouliquen, et al. 2019. « Highly Variable Sialylation Status of Donor-Specific Antibodies Does Not Impact Humoral Rejection Outcomes ». *Frontiers in Immunology* 10.

Pouliquen, E., P. Baltzinger, A. Lemle, C.-C. Chen, A. Parissiadis, S. Borot, L. Frimat, et al. 2017. « Anti-Donor HLA Antibody Response After Pancreatic Islet Grafting: Characteristics, Risk Factors, and Impact on Graft Function ». *American Journal of Transplantation* 17 (2): 462-73.

Thaunat, Olivier. 2015. « Finding the safe place between the hammer and the anvil: sounding the depth of therapeutic immunosuppression ». *Kidney International* 88 (6): 1226-28.

[Retour tableau](#)

**Année: 2015**

## La précarité, estimée par l'European Deprivation Index, est-elle associée à l'échec de transplantation rénale?

**CHATELET Valérie**

**LOBBEDEZ Thierry** - Unité 1086 INSERM, UCBN-CHU de Caen

[Retour tableau](#)

### Résumé

Contexte :

La littérature anglo-saxonne montre que la précarité sociale et économique est associée à une augmentation du risque de perte du greffon, de rejet de greffe et de mortalité.

Il est admis que les déterminants sociaux de la santé sont multiples et ne peuvent être résumés en une seule mesure. Un indice composite de précarité sociale (European Deprivation Index [EDI]) a été récemment élaboré et validé dans sa version française. L'EDI est construit en s'appuyant sur un découpage du territoire en mailles de taille homogène appelées IRIS pour « Îlot Regroupé pour Information Statistique ». Cette étude géographique de la précarité, des patients transplantés rénaux permettrait d'identifier les IRIS plus défavorisés et d'étudier la relation entre l'EDI et les résultats de la greffe.

Description du projet et résultats attendus :

L'objectif principal de ce travail est d'estimer si la précarité évaluée par l'indice EDI est associée à l'échec de transplantation rénale défini par le retour en épuration extrarénale ou une 2ème greffe avant dialyse.

Les objectifs secondaires sont l'évaluation de l'existence d'une association entre la précarité évaluée par l'EDI et la survie du greffon rénal sans rejet de greffe et la survie des patients.

Seront inclus dans cette étude les patients dialysés de plus de 18 ans, résidant en France métropolitaine, ayant reçu une première transplantation rénale à donneur cadavérique pendant la période 1er Janvier 2009 au 31 Décembre 2013, avec une date de point au 31 décembre 2014. Seront exclus les patients mineurs, non dialysés avant la greffe, ayant reçu une transplantation à donneur vivant ou une transplantation multi-organes et enfin les antécédents de greffe rénale ou d'un autre organe.

L'évènement d'intérêt est l'échec de transplantation rénale. Un géocodage sera réalisé à partir de l'adresse des patients à l'inscription afin d'attribuer à chaque patient la plus petite unité géographique disponible permettant la détermination de l'indice de précarité. L'EDI sera découpé en quintiles. Une analyse descriptive des données sera effectuée. L'incidence cumulée des différents événements (retour en dialyse, décès) sera représentée par méthode graphique et sous la forme d'un tableau de l'incidence cumulée des événements tous les 6 mois. Le cs-HR et le sd-HR de retour en dialyse et son IC95% seront estimés pour chaque variable avec un modèle de Cox à un facteur pour chacun des événements. Pour les variables quantitatives, la relation log linéaire entre la variable et l'évènement sera estimée par la méthode des splines avec un modèle de Cox. L'hypothèse de proportionnalité des risques sera vérifiée par la représentation graphique des résidus de Schoenfeld. Les sujets influents seront détectés par la méthode des dfbéta. Pour l'analyse multivariée les variables seront sélectionnées par une valeur de  $p < 0.20$  en analyse bivariée. L'indice de précarité sera entré dans l'analyse multivariée à priori en quintiles.

Nous émettons l'hypothèse que les inégalités socio-économiques en France, évaluées par l'indice de précarité EDI, sont associées à la survie du greffon rénal. La mise en évidence d'un lien entre la précarité et l'échec de greffe pourrait donner lieu à une modification des pratiques avec la mise en place d'actions

ciblées (éducation thérapeutique du patient, mise en place du concept de navigateur) permettant d'améliorer la survie des greffons rénaux et plus généralement la survie des patients.

Sources des données :

Base de données CRISTAL après obtention de l'accord des centres

Base de données DIADEM

### **Résultats**

Châtelet, Valérie, Sahar Bayat-Makoei, Cécile Vigneau, Guy Launoy, et Thierry Lobbedez. 2018. « Renal Transplantation Outcome and Social Deprivation in the French Healthcare System: A Cohort Study Using the European Deprivation Index ». *Transplant International* 31 (10): 1089-98.

[Retour tableau](#)

Année: 2015

## Prédiction du risque de rejet humoral en monitorant les lymphocytes T helper folliculaires circulants chez les transplantés rénaux

**THAUNAT Olivier** - Sce transplantation néphro et immuno

Hôpital Edouard Herriot, Lyon

[Retour tableau](#)

### Résumé

Les maladies rénales chroniques constituent à l'heure actuelle un problème de santé publique à l'échelle mondiale. La transplantation rénale représente l'option la plus attractive au stade terminal de l'insuffisance rénale, offrant une meilleure survie et une meilleure qualité de vie au patient pour un moindre coût pour la société. Au cours des dernières décennies, la demi-vie des greffons est restée stable. Prolonger la durée de vie des greffons apparaît donc comme une stratégie efficace pour lutter contre la pénurie d'organes actuelle.

Le rejet d'allogreffe résulte de la reconnaissance, par le système immunitaire du receveur, des antigènes spécifiques du donneurs (principalement des molécules HLA) exprimés par le greffon. Cette alloreconnaissance induit la génération d'effecteurs immunitaires cellulaires (Lymphocytes T (LT) CD8+ cytotoxiques) et/ou humoraux (anticorps anti-HLA) responsables de la destruction du greffon.

Pour prévenir le rejet, les receveurs doivent prendre des immunosuppresseurs qui agissent en bloquant l'activation lymphocytaires LT. Ces traitements ont permis de réduire drastiquement l'incidence des rejets cellulaires, leur impact sur la génération d'anticorps anti-donneur a été plus modeste. En conséquence, le rejet humoral est maintenant considéré comme la principale cause de perte des greffons. Cette situation est cependant surprenante au vu du dogme immunologique prévalent, qui prédit que le lymphocyte B ne peut répondre à un antigène protéique (tel que les molécules HLA du donneur) sans l'aide d'une sous-population de LT CD4+ : les LT helpers folliculaires (Tfh). Le blocage efficace des LT du receveur (comme en atteste la faible incidence de rejets cellulaires avec l'immunosuppression actuelle) aurait dû se traduire par une faible incidence de génération d'anticorps anti-donneur. Cette discordance suggère que les immunosuppresseurs ne contrôlent pas de manière efficace les Tfh.

Dans ce projet, nous profiterons du fait qu'il soit possible de détecter dans la circulation humaine de véritables Tfh pour monitorer cette population chez des transplantés rénaux sous immunosuppresseurs. 100 patients sans anticorps anti-HLA recevant une 1ère transplantation rénale seront inclus prospectivement. Le nombre et la capacité d'activation de leurs Tfh circulants seront mesurés par cytométrie en flux à J0, 3 mois et 1 an post-transplantation.

Dans le présent projet, nous émettons l'hypothèse que la surveillance des Tfh circulants pourrait permettre d'identifier les transplantés rénaux à risque élevé de développer des anticorps anti-donneur. Ce nouveau biomarqueur non-invasif permettrait au clinicien d'adapter le traitement immunosuppresseur avant l'apparition des anticorps. Cette stratégie pourrait donc permettre la réduction de la survenue des rejets humoraux, ce qui pourrait se traduire par le prolongement de la demi-vie des greffons.

### Résultats

Chen, Chien-Chia, Alice Koenig, Carole Saison, Suzan Dahdal, Guillaume Rigault, Thomas Barba, Morgan Taillardet, et al. 2018. « CD4+ T Cell Help Is Mandatory for Naive and Memory Donor-Specific Antibody Responses: Impact of Therapeutic Immunosuppression ». *Frontiers in Immunology* 9

[Retour tableau](#)

**Année: 2016**

## Validation du score KDRI: étude française multicentrique comparative de la survie à long-terme de patients transplantés rénaux

**DANTAN Etienne** - EA 4275 SPHERE - UFR des Sciences Pharmaceutiques, Nantes

[Retour tableau](#)

### Résumé

Chez les patients transplantés rénaux, prédire la survenue d'un échec de greffe est essentiel pour la mise en place d'une stratégie thérapeutique adaptée. En particulier, l'étude des caractéristiques marginales du donneur et des interactions avec celles du receveur constitue une piste de réflexion vers de nouvelles sources de greffons et une optimisation des chances de survie de la greffe rénale. La marginalisation du donneur a été caractérisée en 2002 aux Etats Unis par le critère Expanded Criteria Donor (ECD), dont une revue systématique de la littérature a récemment mis en évidence l'absence de validation en France. Récemment, le Kidney Donor Risk Index (KDRI) a également été proposé aux Etats-Unis comme indicateur de la qualité d'un greffon.

### Résultats

Querard, A. H., F. Le Borgne, A. Dion, M. Giral, G. Mourad, V. Garrigue, L. Rostaing, et al. 2018. « Propensity Score–based Comparison of the Graft Failure Risk between Kidney Transplant Recipients of Standard and Expanded Criteria Donor Grafts: Toward Increasing the Pool of Marginal Donors ». American Journal of Transplantation 18 (5): 1151-57.

[Retour tableau](#)



Année: 2016

## Interleukine-34, inducteur de tolérance et biomarqueur

GUILLONNEAU Carole - INSERM UMR 1064

[Retour tableau](#)

### Résumé

Le développement de nouveaux traitements plus spécifiques en transplantation afin d'induire moins d'effets secondaires et une tolérance est un objectif majeur. Récemment, nous avons pu montrer le potentiel d'une thérapie cellulaire avec des Tregs CD8+CD45RClow dans un modèle de souris humanisées inhibant la GVH ou le rejet de greffe de peau humaine. Chez le rat, nous avons montré que les Treg CD8+CD45RClow utilisent l'interleukine-34 (IL-34) comme inducteur de tolérance et que l'injection d'un AAV-IL-34 induit une tolérance à l'allogreffe. Chez l'Homme, nos résultats indiquent une expression spécifique d'IL-34 par les Tregs CD4+ et CD8+ CD45RClowFoxp3+ (Bézie et al., J.Clin. Invest., 2015).

L'objectif de ce projet est d'identifier le rôle de l'IL-34 chez l'homme comme inducteur de tolérance et potentiel biomarqueur d'évolution de la transplantation et du patient.

1) Détermination du rôle d'IL-34 chez l'Homme. Nous analyserons les mécanismes d'action d'IL34 humaine sur les différentes sous-populations cellulaires in vitro et son effet sur la différenciation/génération de Tregs.

2) Etude de l'expression d'IL34 chez des volontaires sains vs patients transplantés : marqueur d'évolution des greffons. Nous étudierons une cohorte de patients transplantés rénaux (DIVAT) et moelle osseuse (BIOCORD) avec différentes évolutions. Nous allons comparer l'expression de l'IL-34 et la co-expression d'autres marqueurs et la capacité suppressive des cellules exprimant l'IL-34 dans les différents groupes de patients.

3) Evaluation préclinique du potentiel de l'IL-34. Nous analyserons in vivo le potentiel d'IL34 recombinantes soluble humaine ou des cellules différenciées in vitro par l'IL34 dans l'inhibition du rejet de greffe de peau humaine ou de la GVH chez la souris humanisées.

Ce projet permettra de décrire le rôle d'une nouvelle cytokine en transplantation humaine en tant que nouvelle stratégie d'induction de tolérance et biomarqueur des patients avant et après transplantation.

### Résultats

Freuchet, Antoine, Apolline Salama, Séverine Bézie, Laurent Tesson, Séverine Rémy, Romain Humeau, Hadrien Règue, et al. 2022. « IL-34 Deficiency Impairs FOXP3+ Treg Function in a Model of Autoimmune Colitis and Decreases Immune Tolerance Homeostasis ». *Clinical and Translational Medicine* 12 (8). <https://doi.org/10.1002/ctm2.988>.

Freuchet, Antoine, Apolline Salama, Séverine Remy, Carole Guillonueau, et Ignacio Anegon. 2021. « IL-34 and CSF-1, Deciphering Similarities and Differences at Steady State and in Diseases ». *Journal of Leukocyte Biology* 110 (4): 771-96. <https://doi.org/10.1002/JLB.3RU1120-773R>.

[Retour tableau](#)

**Année: 2016**

## Evaluation de la fonction différentielle rénale par scanner chez les patients donneurs vivants d'organe: Etude Doviscan

**MANDRY Damien** - Service de radiologie, CHRU de Nancy- Hôpitaux Brabois

[Retour tableau](#)

### Résumé

Le développement de la greffe rénale à partir de donneur vivant est l'une des priorités du plan greffe 2012-2016. Dans le cadre du bilan initialement réalisé chez le donneur vivant, l'imagerie a un double rôle : morphologique vasculaire et parenchymateux, et fonctionnel pour calculer la fonction rénale différentielle (FRD) c'est-à-dire la part respective des 2 reins dans la fonction rénale qui est actuellement évaluée par la scintigraphie au MAG3.

L'introduction récente de nouveaux scanners RX, permettant de couvrir les deux reins en une simple rotation, pour une dose délivrée très réduite, relance l'intérêt de la scanographie pour mesurer la FRD, en complément et dans le même temps que le bilan de cartographie vasculaire et la mesure du volume parenchymateux habituellement réalisés. Par rapport à la scintigraphie, la dose délivrée au patient sur un scanographe récent est très modérément augmentée au niveau des aires rénales, mais il existe une quasi élimination à distance et notamment au niveau des organes à risque (gonades, cerveau, cristallin).

L'étude proposée est comparative, transversale, monocentrique, avec explorations par scanner avec injection de produit de contraste et scintigraphie rénale, sur sujets appariés.

Son objectif principal est d'évaluer le degré de concordance entre la FRD mesurée par scanographie, et celle mesurée par scintigraphie rénale, dans l'évaluation de la fonction rénale chez les patients donneurs vivants en vue d'un possible don de rein.

Ses objectifs secondaires sont d'évaluer:

1. La reproductibilité intra et inter-opérateur dans le traitement des données pour la scanographie.
2. La dose RX délivrée au patient par scanner, en comparaison de celle délivrée par la scintigraphie rénale.
3. La concordance de la scanographie selon la méthode de l'Aire sous la Courbe, de Patlak- Ruthland modifiée en comparaison avec la méthode de Patlak-Ruthland originelle.

Les résultats attendus sont, en cas de bon niveau de concordance entre scanographie et scintigraphie MAG3, la possibilité de disposer, à partir d'un unique examen scanographique, à la fois des données morphologiques classiques (cartographie vasculaire, qualité et volume du parenchyme), et de l'estimation de la FRD. Il en résulterait alors la possibilité de ne plus pratiquer de scintigraphie d'où un gain de temps pour le patient, et un coût moindre du bilan initial.

L'étude prévoit d'inclure 51 patients sur 18 mois sur le CHU de Nancy. Elle associe les services de néphrologie et d'urologie, ceux d'imagerie radiologique et nucléaire, ainsi que le CIC de Nancy par deux de ses composantes : le CIC-EC pour la méthodologie statistique et le CIC-IT pour l'archivage et l'exploitation des données scanographiques.

[Retour tableau](#)

Année: 2016

## L'angiogénine, un nouveau médiateur de la réponse au stress du réticulum endoplasmique dans le greffon rénal

**PALLET Nicolas** - INSERM U1147, Paris

[Retour tableau](#)

### Résumé

Contexte :

La perte progressive de fonction des greffons rénaux est associée à des lésions histologiques chroniques d'atrophie tubulaire, de fibrose interstitielle, d'artériosclérose et de glomérulosclérose. Les lésions rénales aiguës (AKI, acute kidney injury) survenant notamment à l'issue du processus d'ischémie-reperfusion (IR) contribue au développement de ces lésions chroniques. A l'échelon cellulaire, l'AKI s'accompagne de modifications micro-environnementales qui imposent aux cellules d'activer des réponses biologiques adaptatives au stress ayant comme objet de reprogrammer leur métabolisme et de produire des signaux d'alarme qui participent au remodelage tissulaire en induisant de l'inflammation et la fibrogénèse. De nombreux stress tissulaires et cellulaires, dont l'ischémie, le stress oxydatif, la néphrotoxicité, ou la protéinurie induisent un stress du Réticulum Endoplasmique (RE), qui, dans le rein, participe à l'AKI et contribue au développement de lésions chroniques. L'Angiogénine (ANG) est une ribonucléase sécrétée qui clive les ARN de transfert en fragments appelés tiRNA qui réduisent la synthèse protéique lors d'un stress cellulaire. L'ANG est également libérée dans le milieu extracellulaire, mais ses fonctions paracrines sont peu connues. Il n'existe actuellement aucune donnée concernant l'implication de l'ANG dans la réponse au stress du RE rénal et dans le développement des lésions chroniques consécutives à une AKI.

Objectifs :

L'objectif général de notre travail est d'intégrer les voies de signalisation de l'ANG dans la réponse cellulaire au stress du RE dans le rein. Nous avons récemment montré que l'ANG était un régulateur important de la réponse tissulaire rénale à l'AKI induite par le stress du RE ; que l'ANG sécrétée avait des propriétés similaires aux alarmines en activant les macrophages (M $\emptyset$ ) ; et qu'enfin, l'ANG urinaire pouvait servir de marqueur non invasif de lésions tubulaires rénales.

Néanmoins, de nombreuses questions demeurent, et les objectifs de ce projet de recherche sont :

- (1) de déterminer la contribution de l'ANG dans le développement de lésions histologiques chroniques consécutives à l'AKI,
- (2) de déterminer les mécanismes par lesquels l'ANG active les M $\emptyset$ , et comment cela impacte le développement de lésions tissulaires chroniques,
- (3), de déterminer les propriétés diagnostiques et pronostiques de l'ANG urinaire en transplantation rénale.

Méthodologie :

Notre projet combine des modèles in vitro et in vivo avec l'analyse de données issues de cohortes de patients transplantés rénaux afin de caractériser les bases moléculaires de la contribution de l'ANG dans les effets du stress du RE dans le rein. Des M $\emptyset$  humains en culture seront utilisés pour déterminer les mécanismes activateurs de l'ANG. Des modèles murins d'AKI associée au stress du RE (IR, injection de tunycamycine et néphrotoxicité de la cyclosporine) utilisant des souris génétiquement modifiées (souris invalidées constitutivement pour l'ANG, et souris Ksp1.3.rtTA;tetO.Cre;Ang/Angm, dont la sécrétion tubulaire d'ANG est inhibée de manière inductible) seront analysés. Enfin, nous allons mesurer les

concentration urinaires d'ANG dans deux cohortes de patients transplantés rénaux afin de déterminer les valeurs diagnostiques et pronostiques d'ANG urinaire à la suite d'une AKI.

Résultats attendus :

Nous allons montrer que l'ANG est un nouveau médiateur de la réponse au stress du RE dans le rein contribuant au développement des lésions histologiques chroniques consécutives à l'AKI et l'IR. Ce projet pourra générer des nouveaux outils diagnostiques et pronostiques à même d'améliorer la prise en charge des patients transplantés rénaux.

### Résultats

Fohlen, Baptiste, Quentin Tavernier, Thi-mum Huynh, Cédric Caradeuc, Delphine Le Corre, Gildas Bertho, Bernard Cholley, et Nicolas Pallet. 2018. « Real-Time and Non-invasive Monitoring of the Activation of the IRE1 $\alpha$ -XBP1 Pathway in Individuals with Hemodynamic Impairment ». *EBioMedicine* 27 (janvier): 284-92.

Pallet, Nicolas, Alexandre Karras, Eric Thervet, Laurent Gouya, Zoubida Karim, et Hervé Puy. 2018. « Porphyrinuria and kidney diseases ». *Clinical Kidney Journal* 11 (2): 191-97.

Tavernier, Quentin, Evangeline Bennana, Virginie Poindessous, Celine Schaeffer, Luca Rampoldi, Nicolas Pietrancosta, et Nicolas Pallet. 2018. « Regulation of IRE1 RNase activity by the Ribonuclease inhibitor 1 (RNH1) ». *Cell Cycle* 17 (15): 1901-16.

[Retour tableau](#)

Année: 2017

## Biomarqueurs de la réponse thérapeutique à un traitement par Cellules Souches Mésoenchymateuses autologues pour le rejet chronique rénal

**DURRBACH Antoine** - Néphrologie, Dialyse transplantation Villejuif

[Retour tableau](#)

### Résumé

La transplantation rénale est le meilleur traitement de l'insuffisance rénale chronique terminale (IRT). Elle améliore la survie et la qualité de vie des patients et réduit le coût de traitement de l'IRT. Aujourd'hui, 40000 malades ont eu une greffe rénale. Les traitements immunosuppresseurs réduisent l'incidence des rejets aigus mais n'ont pas significativement amélioré la survie des greffons (60% à 10ans). La perte de greffon est liée en grande partie à la survenue d'un rejet chronique humoral (RCH), dont la prise en charge reste l'un des défis majeurs en transplantation rénale puisqu'il n'existe aucun traitement spécifique.

Les thérapies cellulaires sont des stratégies innovantes et prometteuses. Les Cellules Souches Mésoenchymateuses (CSM) modulent la fonction des principales cellules impliquées dans le rejet de greffe aigu ou chronique. En transplantation hématopoïétique, des études ont montré qu'elles permettaient le traitement de GVH réfractaire à tous les traitements conventionnels. En transplantation rénale (donneur vivant), les CSM sont comparables à une induction par anticorps monoclonal (anti-rIL2) permettant une réduction des rejets aigus à 6 mois(-64%), et des infections(-36%). Dans le modèle de rejet chronique rénal, l'injection de CSM réduit la créatinémie de 45% et la protéinurie de 70% (2 marqueurs du rejet chronique) et des lésions de fibrose. In vitro, les MSC réduisant de 50% le collagène produit par les myofibroblastes rénaux. L'objectif du PHRC CARG01 est de démontrer pour la première fois que les CSM autologues sont un traitement du RCH chez l'homme.

Il s'agit d'une étude de phase 2 portant sur des malades ayant un RCH confirmé par une biopsie rénale (critères Banff), randomisée en aveugle en 2 groupes, un groupe -CSM recevant des CSM autologues (3.106 CSM/kg en 2 injections) (produites par le consortium ECellFrance), et un groupe-contrôle (SHAM). Le traitement immunosuppresseur ne sera modifié dans aucun des 2 groupes. L'efficacité de traitement sera évaluée sur l'évolution de la protéinurie et de la fonction rénale, des lésions histologiques rénales de RCH et de fibrose ainsi que des DSA à 1 an.

La fonction rénale, la protéinurie et les paramètres biologiques classiques seront évalués toutes les 2 semaines pendant 2 mois puis tous les mois pendant 6 mois puis tous les 2mois.

La demande actuelle porte sur une étude complémentaire comparative de biomarqueurs plasmatiques et urinaires pour évaluer la réponse au traitement dans le plasma et les urines. Dans le plasma: La recherche d'anticorps anti HLA spécifiques du donneurs (Luminex Single antigen), l'expression des cytokines et chimiokines lymphocytaires (Luminex) et une analyse des RNA leucocytaires(KSort), un phénotypage des lymphocytes T, Treg, Nk et B et la détection des CSM circulantes (CD90,CD73,CD105) (FASC BD-LSRFortessa™) seront déterminés par à J0 puis à 2 mois et 12mois ou lors de survenue d'effets secondaires.

Une Biopsie rénale sera effectuée à l'inclusion et à M12 pour comparer les marqueurs de rejet chronique humoraux et la fibrose (Banff2013) et la présence de CSM (CD73,CD90). Une biopsie sera en cas de suspicion de rejet (augmentation >30% de la créatinémie).

Une analyse des RNA urinaire (urineCRM) sera réalisée aux mêmes échéances. Ces différents paramètres seront comparés entre les 2 groupes et corrélés à l'évolution de la greffe après l'injection des CSM. Ils permettront de définir les paramètres associés à une réponse au traitement par CSM au cours du rejet chronique.

[Retour tableau](#)





Année: 2017

## Optimisation de la greffe d'îlots de Langerhans par perfusion hypothermique ex vivo de pancréas humains

**HUBERT Thomas** - INSERM U 1190 Recherche translationnelle sur le diabète,

Lille

[Retour tableau](#)

### Résumé

**OBJECTIFS :** L'allogreffe d'îlots de Langerhans est une alternative thérapeutique du diabète de type 1 chez des patients sélectionnés souffrant d'hypoglycémies sévères non ressenties et/ou du diabète déséquilibré. Cette thérapie cellulaire du diabète, qui restaure une sécrétion insulinique endogène, permet un équilibre glycémique durable et a montré, de plus, une restauration des complications micro- et macro-vasculaires chroniques induites par le diabète. Le pancréas reste néanmoins un organe composé de cellules endocrines représentant seulement 1 à 2 % de la masse pancréatique totale, très sensible à l'ischémie. Cet environnement a un impact direct sur la rentabilité du processus d'isolement des îlots, lequel conditionne l'accès à la greffe si le rendement de l'isolement est  $\geq 4000$  îlots-équivalents, c'est pourquoi aujourd'hui seulement 30 % des isolements de pancréas peuvent aboutir à une allogreffe. Ce facteur limitant a un impact majeur et détermine l'accès à l'allogreffe d'îlots. L'optimisation de la conservation des organes est donc un point essentiel et a pour but de réduire les lésions d'ischémie inévitables et secondaires à l'arrêt de la perfusion naturelle de l'organe lors de son prélèvement.

Les différentes études et méta-analyses de la littérature montrent l'effet bénéfique de la conservation du greffon rénal sur machine à perfusion hypothermique (MPH) des donneurs dits à critères classiques et à critères élargis. Notre hypothèse est la suivante : le pancréas humain prélevé sur donneur en mort encéphalique et installé sur MPH, pourrait améliorer sa conservation et le rendement de l'isolement des îlots. Notre objectif principal est donc de montrer que l'isolement d'îlots humains après conservation sur MPH permet d'augmenter le nombre d'îlots libérés par rapport à la conservation classique par liquide de conservation « statique » en utilisant un modèle de pancréas humain divisé. L'objectif secondaire est de montrer aussi un bénéfice qualitatif de la mise sur MPH.

**METHODOLOGIE :** Les pancréas de 30 donneurs en mort cérébrale seront prélevés selon la technique de PMO « en bloc » emportant, ainsi, les vaisseaux. Le pancréas sera ensuite divisé en deux au niveau de l'isthme avec une partie (alternativement la tête ou la queue) avec sa vascularisation propre et mis sous MPH pendant 8h. L'autre partie (alternativement la queue ou la tête) sera conservé pendant 8h dans du liquide de conservation « statique ». Ensuite un isolement en parallèle des deux héli-pancréas aura lieu dans notre plateforme de biothérapies et la quantification du nombre d'îlots rapporté au poids et au volume de l'hémi-pancréas isolé sera réalisée. Ce modèle de pancréas divisé permettra l'appariement statistique des données de l'isolement. La qualité de la conservation du pancréas sera évaluée dans le modèle murin par la faculté des îlots humains xéno-greffés chez la souris à sécréter du C-peptide humain. Ainsi, des souris Nude (n=3) de chaque préparation d'îlots obtenu seront alors greffés et le dosage du C-peptide humain dosé et comparé (Jours 7-14-21-30)

**RESULTATS ATTENDUS :** Nous pensons que l'utilisation de MPH permettra d'améliorer la tolérance du pancréas à l'ischémie froide et ainsi que le nombre d'îlots libérés par l'isolement sera supérieur après conservation sur MPH que par conservation « statique » classique. Nous nous attendons de plus à une sécrétion de C-peptide supérieure dans le groupe de souris greffée avec des îlots issus de la conservation sur MPH.

[Retour tableau](#)

Année: 2017

## Déterminants de l'évolution de la fonction rénale chez les donneurs vivants de rein

**LEGENDRE Christophe** - Transplantation rénale, Necker,

[Retour tableau](#)

### Résumé

Introduction :

Le don de rein s'accompagne de modifications cardiovasculaires et métaboliques infracliniques précoces proportionnelles à la baisse du débit de filtration glomérulaire (DFG). Pourtant, dans les mois qui suivent le don, on assiste à une augmentation du DFG du rein restant (c'est le gain fonctionnel). Plusieurs paramètres sont prédictifs du gain fonctionnel tels que l'âge, la vitesse de l'onde de pouls et une variable associant le DFG mesuré du rein restant divisé par le volume du rein restant. Sur un plan physiologique, les mécanismes à l'origine du gain fonctionnel sont une augmentation du débit plasmatique rénal associée à une hypertrophie rénale mais la part de chacun de ces mécanismes reste à établir.

Objectif :

L'objectif de ce travail est d'une part de proposer de nouveaux marqueurs prédictifs du gain fonctionnel et d'autre part comprendre le rôle physiologique de différentes variables (vitesse de l'onde de pouls, DFGm/volume et âge) sur l'augmentation du débit plasmatique rénal et sur l'hypertrophie rénale.

Méthodologie :

Pour répondre à cette question, nous allons constituer une cohorte monocentrique prospective de 85 donneurs vivants, recrutés dans le service de transplantation rénale de l'hôpital Necker. Les donneurs auront tous une évaluation vasculaire avec mesure de la vitesse de l'onde de pouls, de l'épaisseur intima média, de la dilatation artérielle avant le don et une mesure du DFG avant et un an après le don. Un sous-groupe de 28 donneurs aura également une mesure du débit plasmatique rénal et du volume rénal avant le don et un an après. Le sérum, le plasma, et l'urine des donneurs seront conservés dans une biobanque avant le don et un an après le don. Le suivi du DFG mesuré permettra d'analyser la valeur prédictive de tous les marqueurs fonctionnels, morphologiques et biologiques étudiés avant le don sur le gain fonctionnel à un an. Par rapport aux données de la littérature cette approche est novatrice sur plusieurs points. D'une part nous proposons une étude prospective alors que la majorité des travaux sont réalisés rétrospectivement, d'autre part nous proposons d'expliquer le rôle physiologique des marqueurs fonctionnels que nous allons étudier.

Résultats attendus :

Nous proposons une évaluation approfondie non seulement de la fonction rénale mais aussi de paramètres extra rénaux (tels que les paramètres vasculaires) qui ont montré leur intérêt dans les cohortes d'insuffisants rénaux. Nous émettons l'hypothèse que les paramètres vasculaires systémiques et rénaux sont associés au gain fonctionnel après le don. Enfin, grâce à la mesure du volume et du débit plasmatique rénal, nous espérons expliquer les mécanismes physiologiques du gain fonctionnel après néphrectomie.

[Retour tableau](#)

**Année: 2018**

## Amélioration de la qualité des îlots greffés grâce à la matrice de cellules stromales pancréatiques immortalisées

**ARMANET Mathieu** - Laboratoire de Thérapie Cellulaire du Diabète

Institute for Regenerative Medicine & Biotherapy (IRMB)

Centre Hospitalier Universitaire de Montpellier - Hôpital St-Eloi 80 avenue Augustin Fliche 34295 Montpellier

[Retour tableau](#)

### Résumé

La greffe d'îlots de Langerhans est une modalité thérapeutique prometteuse pour le traitement du diabète de type 1. Sa diffusion reste cependant limitée par: a) la procédure d'isolement qui altère la structure et le microenvironnement de soutien des îlots; b) l'inflammation avant et après greffe qui

stress entraînent une perte significative des îlots avant et après transplantation. Leur préservation est donc un enjeu majeur pour optimiser la greffe d'îlots.

De nombreux travaux ont montré l'intérêt des cellules stromales mésenchymateuses (CSM) en transplantation. Outre leurs propriétés immuno-régulatrices, anti-inflammatoires et proangiogéniques, les CSM peuvent sécréter des protéines matricielles et ainsi constituer un microenvironnement de soutien. Lors d'un précédent travail, nous avons généré une lignée cellulaire stromale pancréatique humaine immortalisée (CSPHI). Sa caractérisation a révélé un profil proche des CSM. L'analyse des surnageants de culture a permis d'identifier des protéines matricielles d'intérêt. De plus, des expériences de co-culture ont démontré la capacité des CSPHI à améliorer la fonction des îlots humains.

Nous souhaitons ici montrer que le pré-conditionnement des îlots pancréatiques avec le surnageant de CSPHI améliore leur fonction et leur survie, en conditions physiologiques et lors de stress. Nous pensons que les protéines matricielles sécrétées par les CSPHI jouent un rôle dans cette protection. Leur identification et l'étude des mécanismes cellulaires impliqués seront réalisées.

La lignée humaine EndoC- $\beta$ H1 et des îlots humains isolés seront utilisés pour tester nos hypothèses. Ils serontensemencés sur la matrice déposée par des CSPHI, des CSM, du matrigel+fibronectine ou de la Poly-L-Lysine (contrôle). Une analyse à haut débit du transcriptome identifiera des groupes de gènes d'intérêt impliqués lors du contact cellule bêta-matrice. La fonction sécrétrice sera évaluée par incubation statique et la viabilité par western-blotting et TUNEL. Les composants matriciels, leurs récepteurs et les voies de signalisations cellulaires mis en jeu seront étudiés en utilisant des

anticorps bloquants et inhibiteurs spécifiques. Nous regarderons notamment les voies de survie cellulaire. Enfin, nous validerons notre hypothèse de travail en greffant des îlots conditionnés ou non avec la matrice de CSPHI dans des souris rendues diabétiques.

Les CSPHI représentent une source inépuisable de cellules humaines offrant des propriétés de CSM. D'autre part leur origine pancréatique et la sécrétion de protéines matricielles d'intérêt nous semblent être un réel atout pour une application en thérapie cellulaire. Elles pourraient ainsi améliorer la qualité des îlots et donc améliorer l'efficacité et la durabilité de la greffe chez un patient diabétique.



**Année: 2018**

## Enquête concernant la paternité chez les hommes transplantés rénaux

**CHATELET Valérie** - Centre Universitaire des Maladies Rénales-CHU de Caen

[Retour tableau](#)

### Résumé

Depuis le début des années 1950, le nombre de transplantations d'organes ne cesse d'augmenter dans le monde, permettant une nette amélioration de la qualité de la vie. De nombreuses grossesses chez la femme transplantée ont été rapportées, et la possibilité d'avoir une grossesse pour ces patientes s'est nettement améliorée. Toutefois, de nombreuses études ont permis de démontrer l'effet tératogène de certains immunosuppresseurs, avec un risque accru de fausses couches et de malformations fœtales. Les grossesses chez les patientes transplantées font l'objet d'un suivi multidisciplinaire avec une adaptation et une modulation du traitement immunosuppresseur par le néphrologue.

Chez le sujet masculin transplanté, la situation est tout autre. En effet il n'existe que très peu d'études concernant leur fertilité et le devenir des grossesses conçues par ces hommes. En cas de grossesse chez leur conjointe, l'attitude concernant le traitement immunosuppresseur de ces hommes n'est actuellement pas codifiée. Une recommandation récente de l'ANSM décrète la nécessité d'une contraception efficace chez les hommes traités par Cellcept/Myfortic. En effet il est actuellement recommandé aux hommes transplantés sous Cellcept/Myfortic de ne pas concevoir d'enfants. Le port de préservatif est conseillé pendant toute la durée du traitement et les 90 jours qui suivent son arrêt (durée de la spermatogénèse). Les partenaires féminines d'hommes sexuellement actifs traités par ces médicaments doivent également utiliser une contraception efficace pendant la durée du traitement et durant les 90 jours qui suivent l'arrêt du traitement.

Cependant, il n'existe à notre connaissance qu'une seule étude s'étant intéressée à ce sujet qui ne retrouve pas de sur-risque de malformations fœtales dans cette population.

Nous proposons une étude exploratrice, descriptive, rétrospective, multicentrique évaluant la paternité et le devenir des grossesses conçues par les patients transplantés rénaux.

Cette étude doit inclure environ 3500 patients sur 10 ans (du 01/01/2005 au 31/12/2014). La population incluse est celle des sujets de sexe masculin, âgés de plus de 18 ans, ayant reçu une ou plusieurs transplantations rénales dans l'un des centres investigateurs sur la durée de l'étude. Les patients âgés

:

de plus de 60 ans lors de la première transplantation, ceux sous tutelle, ainsi que les patients ayant reçu une transplantation multi-organe seront exclus de l'étude.

Le recueil des données sera effectué via l'envoi d'un questionnaire anonyme aux patients inclus, portant sur leur traitement immunosuppresseur, l'évènement « grossesse » et leur devenir.

Le but de ce travail est dans un premier temps de déterminer le nombre d'hommes transplantés rénaux ayant eu des enfants après leur transplantation. Dans un second temps nous souhaitons déterminer le devenir de ces grossesses ainsi que le risque de malformations. L'analyse sera effectuée sans tenir compte du traitement immunosuppresseur.

## Résultats

Boyer, Annabel, Thierry Lobbedez, Mohamed Ouethrani, Angélique Thuillier Lecouf, Nicolas Bouvier, Valérie Châtelet, et Bruno Hurault de Ligny. 2020. « Paternity in male kidney transplant recipients: a French national survey, the PATeRNAL study ». BMC Nephrology 21 (novembre).

[Retour tableau](#)



Année: 2018

## Identification de nouvelles cibles thérapeutiques pour prévenir les rejets résistants à l'inhibiteur du rejet Belatacept

**DURRBACH Antoine** - UMRS-MD-1197, équipe 2 Hôpital Paul Brousse, Bâtiment Lavoisier, 12/14 Av. Paul Vaillant Couturier

[Retour tableau](#)

### Résumé

#### Objectifs

Le développement d'immunosuppresseurs ciblant les lymphocytes T s'est révélé nécessaire en raison des effets secondaires des inhibiteurs de la calcineurine (CNI). Cependant, comme nous l'avons déjà publié (Espinosa et coll. Am. J. Transplant. 2016), les patients traités par du CTLA4-Ig présentent des taux plus élevés de rejet cellulaire que les patients traités avec un CNI. L'étude du phénotype des cellules des patients a montré qu'un pourcentage élevé de lymphocytes T CD4 CD57+ PD1- avant la transplantation est associé au rejet pour les patients traités par CTLA4-Ig. La prolifération in vitro de cette population de cellules T est moins inhibée par le CTLA4-Ig que celle des cellules CD4 CD57-. De plus, in vitro, la résistance des cellules T CD4 CD57+ PD1- au CTLA4-Ig n'est pas contournée par d'autres stratégies de blocage des co-stimulations. L'étude in vitro de ces cellules n'a pas permis de les classer comme des cellules T CD4 répliquatives sénescents, cytotoxiques ou Th17. L'analyse de l'expression des ARN des cellules T CD4 CD57+ PD1- est nécessaire pour identifier les mécanismes d'activation de ces cellules au cours du rejet cellulaire en présence de CTLA4-Ig.

#### Résultats attendus

Le blocage de la co-stimulation B7-CD28 par CTLA4-Ig pourrait être contourné par plusieurs signaux. Nous allons comparer le modèle d'activation de différentes populations de lymphocytes T en présence ou en l'absence de co-signalisation B7-CD28.

La comparaison de l'expression de l'ARN sera décomposée en deux étapes:

-

La régulation de la synthèse d'ARN par des cellules T CD4+ CD57+ PD1- activées sera comparée à celle des CD4+ CD57+ PD1+ et CD4+ CD57-. Les niveaux des ARN des CD4 + CD57- sera considéré comme expression basale.

- La différence de profil d'expression des ARN entre les échantillons traités par CTLA4-Ig ou non traités sera comparée pour chaque sous-population.

Ceci permettra la construction d'un schéma d'activation spécifique des cellules T CD4+ CD57+ PD1- et la définition de la signature du CTLA4-Ig dans les trois populations.

#### Méthodologie

Les lymphocytes T CD3 de donneurs sains seront activés par des cellules dendritiques allogéniques avec ou sans CTLA4-Ig. Les cellules T CD4 seront ensuite triées en CD57-, CD57+ PD1- ou CD57+ PD1+ et l'ARN de chaque échantillon sera isolé.

Pour cette analyse la technologie des biopuces à ARN sera préférée au séquençage de l'ARN, de par la vitesse d'analyse (45 min/échantillon, une semaine par séquençage) et la puissance des nouvelles puces. L'analyse transcriptomique sera réalisée, après amplification et contrôle qualité de l'ARN, avec des puces

Affymetrix 750K, (750000 marqueurs, non-polymorphique, SNP, marqueurs intergéniques et intragéniques).

L'analyse bioinformatique identifiera les gènes dont l'expression est significativement régulée. Six donneurs seront analysés permettant des tests de permutation, l'amélioration des valeurs statistiques.

[Retour tableau](#)

**Année: 2018**

## Transplantation rénale – Investigation génomique des donneurs vivants (KiT-GENID)

**LIMOU Sophie** - Centre de Recherche en Transplantation et Immunologie (CRTI) UMR1064

[Retour tableau](#)

### Résumé

La transplantation rénale est le meilleur traitement de suppléance de l'insuffisance rénale chronique terminale, un problème de santé publique croissant dans les pays développés. Les organes en provenance de donneurs vivants assurent une meilleure survie du greffon et du receveur que ceux en provenance de donneurs décédés. En France, 16% des transplantations rénales sont réalisées à partir de donneurs vivants, un chiffre en croissance qui n'est malheureusement pas encore suffisant pour palier à la pénurie des greffons (4,7 candidats pour un greffon disponible en 2015).

Les risques encourus par le donneur sont considérés minimes à condition d'un bilan médical rigoureux en amont du don. La fonction rénale du donneur diminue après la néphrectomie pour se stabiliser à ~70% de la fonction préopératoire. Cependant, il a été observé une variabilité dans le déclin de la fonction rénale des donneurs, ainsi qu'un risque accru d'insuffisance rénale et de mortalité à long terme dans la population des donneurs par rapport à une population appariée de non-donneurs. Ces éléments soulignent la nécessité de prédire au mieux l'évolution à long-terme de la fonction rénale des donneurs vivants.

Nous proposons ici de mener la première étude génétique à grande échelle (ou génomique) explorant les facteurs génétiques contribuant à la fonction rénale et aux complications rénales chez le donneur vivant.

L'analyse génomique de 750 donneurs vivants permettra de révéler les déterminants génétiques de la fonction rénale associée au don, combinant probablement des facteurs précédemment identifiés dans la population générale (tels que UMOD et SHROOM3) et des facteurs spécifiques du stress rénal lié à la néphrectomie. Nous développerons ensuite un score de prédiction de la fonction rénale post-don à court (1 an) et long-terme (5 ans et 10 ans) en intégrant les caractéristiques génétiques identifiées avec des données démographiques et cliniques (ex. sexe, âge, indice de masse corporelle, hypertension, etc.). Nous avons récemment développé un score combinant données préopératoires non-invasives démographiques et cliniques, et permettant de prédire dans >90% des cas l'apparition d'une insuffisance chronique à 1 an post-néphrectomie dans une population de 110 donneurs vivants. Le projet KiT-GENID (Kidney Transplantation – GENomics Investigation of living

Donation) a pour ambition d'améliorer cet outil à court-terme, et de développer un score de prédiction de la fonction rénale du donneur vivant à long-terme en intégrant des données génétiques.

L'établissement d'un outil de prédiction permettra d'accompagner le candidat au don vers une décision éclairée, d'améliorer la prise en charge du donneur post-néphrectomie, et d'améliorer la définition de la population des donneurs potentiels, contribuant ainsi à promouvoir le don du vivant auprès de la population générale.

### Résultats

Ba, Rokhaya, Axelle Durand, Vincent Mauduit, Christine Chauveau, Stéphanie Le Bas-Bernardet, Sonia Salle, Pierrick Guérif, et al. 2023. « KiT-GENIE, the French Genetic Biobank of Kidney Transplantation ». European Journal of Human Genetics, février, 1-9. <https://doi.org/10.1038/s41431-023-01294-z>.

[Retour tableau](#)



Année: 2019

## Différence d'espérance de vie entre les receveurs de transplantation rénale obèses et les patients obèses restant en dialyse

**BOUCQUEMONT Julie** - SPHERE (methodS for Patient-centered outcomes and HHealth Research) - UMR 1246- Nantes Nantes

[Retour tableau](#)

### Résumé

**Objectifs.** La transplantation est considérée comme le traitement optimal de l'insuffisance rénale terminale. Néanmoins, l'augmentation de l'espérance de vie des patients transplantés comparée à celle des patients en dialyse reste mal caractérisée au regard des méthodes statistiques utilisées. Deux principales limites méthodologiques ont été identifiées : 1) la non-prise en compte des variations des paramètres biologiques et/ou des événements cliniques survenant après l'inscription sur liste d'attente, et 2) le choix des patients non-obèses transplantés comme « groupe contrôle », au lieu des patients obèses restant en dialyse. La littérature est donc insuffisante dans un contexte de pénurie d'organes où des règles de priorisation doivent être établies. Notre objectif est donc d'estimer précisément le gain d'espérance de vie dû à la transplantation entre les patients obèses transplantés et les patients obèses dialysés comparables mais toujours en attente de greffe, et ce dans la population française. Nous souhaitons également estimer un effet marginal, populationnel, de la transplantation dans cette population, plus adapté d'un point de vue décisionnel en santé publique.

**Résultats attendus.** Premièrement, cette étude permettra d'avoir des résultats récents dans la population des patients français obèses en insuffisance rénale terminale et en attente de greffe. En termes de santé publique, nos résultats pourront aider aux recommandations dans la décision de transplanter des patients obèses ou non. Nous pensons retrouver un gain d'espérance de vie grâce à la transplantation, au moins pour les catégories de patients en surpoids ou en obésité classe I, ce qui pourrait aider à l'amélioration de l'accès à la transplantation pour cette population. Si ce gain n'est pas retrouvé, nos résultats pourraient aider à repenser les recommandations de perte de poids avant la greffe, malgré le paradoxe de l'obésité en dialyse.

**Méthodologie.** Les données du registre REIN (DIADEM et CRISTAL) seront utilisées pour répondre à notre objectif. L'utilisation de scores de propension dépendants du temps permettra de pallier aux différents biais des études précédents pour estimer précisément le bénéfice de la greffe par rapport à la dialyse chez les patients dialysés obèses inscrits sur liste d'attente. Cette nouvelle approche statistique permettra aussi d'obtenir un effet marginal de la greffe, via les calculs d'espérance de vie.

### Résultats

Castelli, Christel, Yohann Foucher, Julie Boucquemont, Mathilde Prezelin-Reydit, Magali Giral, Emilie Savoye, Marc Hazzan, et Rémi Lenain. 2022. « Impact of Kidney Transplantation in Obese Candidates: A Time-Dependent Propensity Score Matching Study ». *Nephrology Dialysis Transplantation* 37 (9): 1768-76. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfac152>.

[Retour tableau](#)

Année: 2019

## Transplantation rénale - exploration génomique et phénotypique des cellules CD8 TEMRA (KiT-TEMRA)

**VINCE Nicolas** - Centre de Recherche en Transplantation et Immunologie (CRTI) - Institut de Transplantation Urologie Néphrologie (ITUN) - UMR1064

Nantes

[Retour tableau](#)

### Résumé

La transplantation rénale est la meilleure option thérapeutique contre l'insuffisance rénale au stade terminal. Cependant, l'immunosuppression n'influence que peu le rejet chronique et la demie-vie du greffon reste d'environ 10 ans. La conception de thérapeutiques innovantes adaptées aux risques propres du patient (médecine personnalisée) favorisera une meilleure prise en charge. L'identification de biomarqueurs permettant d'anticiper le risque de dysfonction de l'organe transplanté et d'identifier des cibles thérapeutiques innovantes pour prévenir l'échec de la greffe est donc nécessaire.

Nous avons démontré que les lymphocytes T (LT) CD8 Effecteurs Mémoires (EM) CD45RA+ (TEMRA) sont impliqués dans le rejet de greffe. En effet, l'équilibre EM/TEMRA, mesuré un an post-transplantation, permet d'identifier les patients présentant un risque élevé d'échec de greffe. En outre, la fonction innée liée à la toxicité rénale des LT CD8 TEMRA est provoquée lors de la liaison du Fc au CD16. Enfin, nous avons montré que l'expression de CD16 est restreinte à une fraction de LT CD8 TEMRA et que ce phénomène était observé : chez le volontaire sain et chez les transplantés rénaux.

Nous proposons ici d'explorer cette sous-population et leurs phénotypes innés dans un cadre unique associant immunologie, génomique et immunogénétique. Nous étudierons les effets environnementaux et génomiques sur les LT CD8 TEMRA en transplantation rénale afin d'identifier les aspects clés de leur fonction. En parallèle, nous explorerons les gènes KIR chez des patients greffés potentiellement impliqués dans le rejet de greffe de rein en lien avec le phénotype inné des cellules TEMRA.

Profitant de l'importante cohorte de volontaires sains recrutée par le Labex Milieu Intérieur, notre objectif est de définir la fréquence des TEMRA CD16+ dans cette population et d'évaluer les déterminants de la variance immunologique. Nous allons réanalyser les données de cytométrie pour nourrir une analyse conjointe de 39 traits non génétiques et de 5 699 238 SNPs en utilisant un modèle linéaire mixte pour déterminer les facteurs associés aux TEMRA CD16+. Dans une cohorte de 284 patients où les LT CD8 TEMRA sont déjà caractérisées avec

précision, nous génotyperons les gènes KIR afin d'en déterminer le contenu et effectuerons une analyse statistique en comparant les ligands KIR présents à partir des typages HLA de classe I du donneur et du receveur aux gènes KIR du receveur. Cela permettra de définir un sous-groupe de patients pour approfondir l'exploration génétique des allèles KIR par séquençage haut débit. Nous déterminerons l'implication des KIR dans le développement du rejet rénal des patients.

Ainsi notre objectif est de mieux définir les LT CD8 TEMRA et leurs phénotypes innés dans le développement de la réponse immunitaire contre le rein greffé. Notre but est d'identifier des déterminants spécifiques chez les patients qui pourrait bénéficier au développement de thérapies personnalisées.

[Retour tableau](#)



**Année: 2020**

## Bénéfice des antagonistes du récepteur minéralocorticoïde en transplantation rénale : étude translationnelle chez le porc

**JAISSER frederic** - Centre de recherche des cordeliers, INSERM UMRS1138, 15 rue de l'Ecole de Médecine

[Retour tableau](#)

### Résumé

Hypothèse:

le bénéfice de l'antagonisme du récepteur minéralocorticoïde (RM) que nous avons précédemment observé chez le porc en cas d'ischémie-reperfusion bilatérale est également observée en transplantation rénale

Objectifs:

Obtenir une preuve de concept préclinique que l'antagonisme pharmacologique du récepteur minéralocorticoïde (Soludactone®, formulation clinique) est bénéfique contre les lésions ischémiques observées lors de la transplantation chez un modèle gros animal cliniquement pertinent.

Tâche 1: antagonisme RM lors de la perfusion dans la machine de perfusion;

Tâche 2: antagonisme RM dans un modèle d'ischémie froide chez le porc utilisant un suivi de type clinique;

Tâche 3: analyse approfondie des voies ciblées par le traitement par Soludactone® lors de la greffe de rein de porc

Résultats attendus:

1) Démontrer que l'antagonisme RM est bénéfique dans un modèle d'ischémie froide et transplantation chez le porc en utilisant un suivi de type clinique;

2) Identifier les voies lésionnelles ciblées par le traitement par Soludactone® lors de la greffe de rein de porc.

[Retour tableau](#)

Année: 2020

## Modulation de la biosynthèse de novo du NAD<sup>+</sup> dans la néphropathie chronique du transplant

**PALLET Nicolas** - Centre de Recherche des Cordeliers-INSERM U1138 - Paris

[Retour tableau](#)

### Résumé

Introduction.

Les altérations du métabolisme énergétique qui surviennent au cours de la néphropathie chronique du transplant (NCT) et les mécanismes par lesquels ces modifications influent la progression de la maladie rénale sont inconnus. Le nicotinamine adénine dinucléotide (NAD<sup>+</sup>) est comme un facteur clé dans le maintien de l'homéostasie rénale, et l'activité de la voie de synthèse de novo de NAD<sup>+</sup> pourrait être néphroprotectrice. L'impact d'une réduction de synthèse de novo du NAD<sup>+</sup> sur l'évolution de la NCT n'a jamais été exploré.

Hypothèse et objectifs.

Notre hypothèse est que la concentration intra rénale en NAD<sup>+</sup> est un point de résistance aux facteurs de stress rénaux chroniques et qu'une baisse de la synthèse de novo du NAD<sup>+</sup> accélère la progression de la NCT.

Le but de ce projet est de déterminer les causes et les conséquences d'un déficit de synthèse de novo du NAD<sup>+</sup> dans les greffons porteurs de lésions de fibrose interstitielle et atrophie tubulaire (FI/AT), d'évaluer la pertinence clinique d'un monitoring non invasif de l'activité de cette voie et d'explorer les possibilités thérapeutiques qu'elle offre.

Nous allons :

- (1) montrer qu'un défaut de synthèse de novo du NAD<sup>+</sup> est une caractéristique des greffons rénaux porteurs de lésions chroniques;
- (2) caractériser les voies de signalisation qui inhibent la synthèse de novo du NAD<sup>+</sup>;
- (3) déterminer les conséquences cellulaires d'un défaut de synthèse de novo du NAD<sup>+</sup>;
- (4) déterminer si un défaut de la synthèse de novo du NAD<sup>+</sup> a un impact sur l'évolution de la NCT;
- (5) déterminer si la synthèse de novo du NAD<sup>+</sup> constitue une cible thérapeutique intéressante en terme de néphroprotection;
- (6) évaluer l'intérêt clinique d'un monitoring non invasif de l'activité de synthèse de novo du NAD<sup>+</sup> chez les patients transplantés rénaux.

Méthodologie et résultats attendus.

Ce projet combine des approches de biologie moléculaire et cellulaire avec des modèles murins génétiquement modifiés reproduisant des mécanismes des lésions chroniques conduisant à la NCT afin d'étudier les bases moléculaires de la baisse de synthèse de novo du NAD<sup>+</sup> dans le rein. Des souris invalidées pour l'expression tubulaire de la quinolate phosphoribosyl transférase (QPRT), enzyme-clé de la synthèse de novo du NAD<sup>+</sup>, serviront à déterminer comment la QPRT influence la résistance aux lésions ischémiques et néphrotoxiques, et contribue au développement de la FI/AT. Des cellules épithéliales rénales humaines en culture permettront de caractériser le rôle de CHOP, un facteur de transcription lié au stress du Reticulum Endoplasmique, dans la répression de l'expression de la QPRT. Nous allons déterminer à partir de grandes cohortes de patients transplantés rénaux si les concentrations urinaires de quinolinate, marqueur non invasif de l'activité de la biosynthèse de novo du NAD<sup>+</sup>, sont prédictives de la

progression de la NCT. Enfin, nous allons évaluer si les composés augmentant la synthèse de novo du NAD<sup>+</sup> permettent de ralentir le développement de la FI/AT et la progression de la NCT.

Conclusion.

Nous allons montrer que la diminution de la synthèse de novo du NAD<sup>+</sup> dans le greffon rénal participe à la physiopathologie de la CAN. Nous allons développer de nouveaux outils de monitoring non invasif prédisant la progression de CAN et permettant d'identifier les patients qui bénéficieraient d'une augmentation de la synthèse de NAD<sup>+</sup>. Nous allons montrer que la synthèse de novo du NAD<sup>+</sup> constitue une cible pharmacologique pertinente pour ralentir la progression de la NCT et améliorer la prise en charge des patients transplantés rénaux.

### Résultats

Bignon, Yohan, Anna Rinaldi, Zahia Nadour, Virginie Poindessous, Ivan Nemazanyy, Olivia Lenoir, Baptiste Fohlen, Pierre Weill-Raynal, Alexandre Hertig, et Alexandre Karras. 2022. « Cell stress response impairs de novo NAD<sup>+</sup> biosynthesis in the kidney ». JCI insight 7 (1).

Rinaldi, Anna, Hélène Lazareth, Virginie Poindessous, Ivan Nemazanyy, Julio L. Sampaio, Daniele Malpetti, Yohan Bignon, et al. 2022. « Impaired Fatty Acid Metabolism Perpetuates Lipotoxicity along the Transition to Chronic Kidney Injury ». JCI Insight 7 (18).

[Retour tableau](#)

Année: 2020

## TITRAGE DES ISOAGGLUTININES ANTI-A ET ANTI-B EN TRANSPLANTATION RENALE ABO-INCOMPATIBLE

TAUPIN Jean-Luc -

Laboratoire d'immunologie et histocompatibilité Hôpital Saint-Louis

[Retour tableau](#)

### Résumé

Etat de l'art.

La transplantation rénale à donneur vivant ABO-incompatible est en plein essor depuis quelques années en France, profitant de l'expérience accumulée dans d'autres pays. Elle consiste à apporter au receveur un greffon contre lequel il possède une immunisation, elle est donc différente de la transplantation à donneur ABO-compatible pour laquelle le receveur n'est pas immunisé (receveur O pour un donneur A, B ou AB, ou receveur B pour un donneur AB, ou receveur A pour un donneur AB). Malgré la présence d'anticorps anti-donneur, ce type de transplantation est considéré comme à faible risque sous réserve que le titre d'anticorps anti-A/B est faible.

L'immunisation anti-A/B est déterminée par agglutination d'hématies de groupes connus, le titre étant mesuré par la dilution la plus forte du plasma du receveur qui permet d'obtenir une agglutination détectable à l'œil nu des hématies. Un titre de 1/8 est le plafond communément admis en France pour autoriser la transplantation. Le titre pouvant être beaucoup plus élevé chez certains patients, des méthodes d'épuration plasmatique sont mises en œuvre pour atteindre la cible avant de pouvoir transplanter le receveur. Après la greffe, il est très souvent observé un dépôt d'anticorps anti-donneur au sein du greffon, mis en évidence par l'activation du complément via un marquage du fragment C4d, sans remontée du titre plasmatique, et sans altération de la fonction du greffon. Cependant, des événements cliniquement détectables de rejet d'allure humorale survenant rapidement après la greffe surviennent dans un nombre non négligeable de cas, suggérant l'action d'une immunisation présente avant la greffe. Le plus souvent ils ne sont pas expliqués par une incompatibilité pour le système HLA, l'acteur majeur du rejet de greffe en situation ABO-compatible. Ces incidents sont d'autant plus regrettables que le greffon provient d'un donneur vivant et qu'ils surviennent en présence de taux faibles d'anticorps anti-A/B. Les données de l'Agence de la Biomédecine ainsi qu'une méta-analyse exhaustive publiée très récemment montrent une survie significativement inférieure des greffons ABOi à 3-5 ans.

La méthode d'agglutination souffre d'un manque de standardisation, les laboratoires ayant souvent adapté localement ce test. Par exemple, il existe des versions avec ou sans DTT discriminant ou pas IgG et IgM, des protocoles opérés à température ambiante ou à 37°C, en milieux de compositions salines différentes, deux éléments qui jouent sur la réaction d'agglutination. En conséquence, il est peu reproductible entre équipes et il est très difficile de comparer entre laboratoires et entre centres de greffe les résultats biologiques et cliniques obtenus, respectivement. Ceci est aussi vrai dans la littérature, les sections « matériels et méthodes » étant très souvent inexactes ou incomplètes.

Objectifs.

Notre objectif principal est d'étudier une autre méthode de mesure du taux d'anticorps anti-A/B, basée sur l'analyse en cytométrie en flux du marquage d'hématies de groupe ABO connu en présence de sérum du receveur. Les résultats obtenus seront comparés aux titres obtenus en agglutination. L'étude sera menée pour les IgG et les IgM.

Les objectifs secondaires sont : 1) d'explorer la distribution des IgG anti-A/B en sous-classes IgG1 à IgG4, ce qui est possible en cytométrie en flux mais pas en agglutination, et 2) d'analyser les résultats des

titrages effectués par les deux méthodes en fonction des évènements cliniques immunologiques détectés dans les 6 premiers mois post-greffe.

Méthodologie.

18 des 26 équipes françaises pratiquant ce type de transplantation au 30/11/16 participeront à ce travail. Les sérums proviendront des patients transplantés en ABO-incompatible en France entre 2009 et le 31 décembre 2016, pour lesquels au moins deux sérums pré-greffe (avant désimmunisation et le plus proche possible de la greffe avant celle-ci) et un sérum post-greffe (au plus tard à M1, avant toute intervention en cas d'évènement de type rejet) seront disponibles. L'agglutination sera réalisée à nouveau pour les besoins de l'étude dans un laboratoire central pour l'ensemble des échantillons. Les résultats obtenus en cytométrie en flux seront comparés à ceux obtenus en agglutination, et les résultats obtenus en agglutination seront comparés entre eux.

Résultats attendus.

Ce travail permettra de vérifier la possibilité d'appliquer la cytométrie en flux à cette analyse biologique, d'estimer l'apport de la cytométrie en flux dans l'estimation du titre en IgG et/ou IgM, et de définir l'intérêt d'explorer l'immunisation anti-A/B en sous-classes pour les IgG (et pour l'IgA), par analogie avec la littérature récente concernant l'immunisation anti-HLA. Il pourrait déboucher de cette étude la nécessité d'effectuer un travail prospectif pour valider l'intérêt de cette méthode et éventuellement modifier la méthode actuelle en agglutination ne distinguant pas IgG et IgM en l'absence de DTT pour mieux estimer l'immunisation anti-A/B et pour anticiper un éventuel incident clinique immunologique post-transplantation.

[Retour tableau](#)

Année: 2020

## Dissection moléculaire des TCMR résistants aux bloqueurs de la costimulation: une étude nationale

**THAUNAT Olivier** - CIRI – INSERM U1111 – CNRS UMR5308

Université Lyon 1, ENS de Lyon

21 Avenue Tony Garnier -

69365 LYON cedex 07 - France

[Retour tableau](#)

### Résumé

Jusqu'à la fin des années 1970, la survenue d'épisodes de rejet aigu médiés par les lymphocytes T (TCMR) constituait le principal obstacle au succès de la transplantation. L'introduction des inhibiteurs de la calcineurine (qui bloquent le premier signal d'activation des cellules T allogéniques) a entraîné une réduction spectaculaire de l'incidence du TCMR. Cependant, ces progrès n'ont guère eu d'effet sur les résultats à long terme des transplantations rénales. On pense que cette différence est due à la néphrotoxicité des CNI et à leurs effets secondaires métaboliques, qui ont une influence néfaste sur la survie des patients. Beaucoup d'espoir ont été fondés dans une nouvelle classe de médicaments, qui vise à interférer avec les seconds signaux (costimulateurs) de l'activation des cellules T: CD28 / CD80 (belatacept) et CD40 / CD40L. (iscalimab). De manière inattendue, il a été démontré qu'une immunosuppression d'entretien avec un bloqueur de la costimulation était associée à une incidence accrue de TCMR. Ce problème, signalé pour la première fois avec le belatacept, semble en effet se produire également chez les patients inclus dans l'étude Cirrus I, qui évalue actuellement l'iscalimab, un nouvel anticorps monoclonal anti-CD40. La forte incidence de TCMR observée sous les deux types de bloqueur de la costimulation suggère que cette classe de médicament ne convient pas à tous les receveurs. Cependant, le fait de ne pas savoir quels (et comment) les lymphocytes T échappent à l'effet thérapeutique rend impossible de déterminer à quels receveurs (et quel bloqueur de la costimulation) doit être administré. La présente étude s'appuiera sur i) une biobanque locale et un réseau de médecins français qui fourniront des biopsies rénales de TCMR survenus sous iscalimab, belatacept, CNI et inhibiteur de mTOR, et ii) la plate-forme DSP de l'hôpital universitaire de Lyon, qui permet une analyse spatiale (c'est-à-dire dans les compartiments interstitiels, vasculaires et tubulaires) de l'expression de 47 protéines fournissant des informations sur les types cellulaires et leur statut d'activation. En fin de compte, en identifiant les mécanismes moléculaires responsables des TCMR sous bloqueur de la costimulation, ce projet ouvrira la voie à l'adaptation du régime immunosuppresseur au profil immunitaire individuel du receveur (c'est-à-dire une immunosuppression «personnalisée»).

[Retour tableau](#)

Année: 2021

## Cartographie du système immunitaire dans les greffes rénales pédiatriques

**DEGAUQUE Nicolas** - Centre de Recherche en Transplantation et Immunologie (CRTI) - Institut de Transplantation Urologie Néphrologie (ITUN)

CHU de Nantes

30 boulevard Jean Monnet

44093 Nantes cedex 01

[Retour tableau](#)

### Résumé

La transplantation rénale reste la meilleure option thérapeutique pour les enfants atteints d'insuffisance rénale terminale car elle améliore leur survie, leur croissance et leur développement cognitif. Néanmoins, malgré le traitement immunosuppresseur quotidien, la survie à long terme de l'allogreffe est compromise par le rejet aigu et chronique. Le rejet infra-clinique TCMR est souvent observé dans les biopsies protocolaires à 3 mois (29 à 44%) chez les transplantés pédiatriques. Ce taux est beaucoup plus élevé que celui observé chez les adultes et sa survenue a été associée à un risque accru d'événements indésirables (diminution de la fonction rénale, perte du greffon). Les facteurs précis de risque du rejet infra-clinique et la compréhension de la communauté immunitaire impliquée dans le rejet restent mal définis, ce qui se traduit par des stratégies thérapeutiques uniformes peu efficace à prévenir la récurrence dans les études de biopsie en série.

L'objectif du projet MAP-PKT est d'établir une cartographie in situ de nouvelle génération des communautés cellulaires et des interactions fonctionnelles dans les biopsies rénales pédiatriques (objectif#1) et de caractériser la dynamique de la réponse du système immunitaire après transplantation rénale pédiatrique (objectif#2).

Les biopsies de transplantation rénale pédiatrique (n=70) seront analysées à l'aide d'approches innovantes d'imagerie hautement multiplexées (CODEX; OPAL). Cette histopathologie de nouvelle génération permet la détection sur une seule lame FFPE de jusqu'à 40 marqueurs. Nous réaliserons une caractérisation de haute dimension de l'infiltrat cellulaire (CODEX; 30 marqueurs couvrant les cellules du système immunitaire inné et adaptatif), y compris leur localisation pour définir leur interaction fonctionnelle avec les structures rénales (endothélium, tubules).

Nous caractériserons avant et 3 et 12 mois après la transplantation pédiatrique la modification du système immunitaire inné et adaptatif dans le sang (n=17; biocollecton CENTAURE-KIDS). La cytométrie spectrale en flux et quatre panels (18 à 34 marqueurs; phénotype et réponse fonctionnelle) seront utilisés. L'analyse non-supervisée sera effectuée à l'aide de la plate-forme Web OMIQ (gating et réduction de dimension [UMAP, opt-tSNE], clustering [heatmap], annotation des données et analyse statistique). La conception longitudinale de l'analyse permettra de suivre pour chaque individu la dynamique de la réponse immunitaire résultant de la transplantation (single-cell trajectory detection). Enfin, les caractéristiques des



infiltrats seront comparées à ceux du phénotype sanguin à partir d'échantillons appariés afin d'évaluer la migration des cellules depuis le sang vers le greffon.

Collectivement, le projet MAP-PKT vise à améliorer la santé des patients pédiatriques dans un concept de médecine de précision par une meilleure compréhension de la réponse immunitaire dans le sang et dans la biopsie des transplantés rénaux pédiatriques.

[Retour tableau](#)

Année: 2021

## Transplantation préclinique sous-cutanée d'un bio-pancréas innovant et optimisé en O<sub>2</sub> pour traiter le diabète de type 1

**BACH Jean-Marie** - IECM/Physio, Oniris, Atlanpole, La Chantrerie, Nantes

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'allogreffe hépatique d'îlots pancréatiques est une réalité clinique pour le diabète de type 1. La greffe sous-cutanée d'îlots encapsulés en alginate permettrait d'éviter l'immunosuppression systémique nécessaire à la prévention du rejet de greffe. Cependant, après greffe, l'apport de l'oxygène (O<sub>2</sub>) aux îlots au sein de l'alginate, tout en garantissant une protection immunitaire efficace et une taille de dispositif transplantable, reste un défi. Nous avons développé un prototype de bio-pancréas (O<sub>2</sub>-BAP) optimisé en apport et diffusion d'O<sub>2</sub> aux îlots pancréatiques encapsulés à très haute densité dans un feuillet d'alginate. Notre stratégie d'oxygénation combine un générateur d'O<sub>2</sub>, du peroxyde de calcium encapsulé dans du silicone, et un transporteur d'O<sub>2</sub>, une hémoglobine extracellulaire de ver marin. Le générateur permet un apport d'O<sub>2</sub> durant la période critique post-greffe jusqu'à la vascularisation du greffon, alors que le transporteur améliore la diffusion de l'O<sub>2</sub> à travers l'alginate à long terme. Nous avons également effectué une étape d'optimisation, visant à atteindre l'équilibre d'O<sub>2</sub> entre une forte densité d'îlots fonctionnels et la capacité d'approvisionnement en O<sub>2</sub> de notre dispositif, en utilisant la méthodologie du plan d'expérience de surface de réponse.

Aujourd'hui, nous visons la validation préclinique de l'O<sub>2</sub>-BAP, embarquant des îlots humains ou de porcs, transplantés en sous-cutané dans des modèles murins pertinents. Dans un premier temps, nous confirmerons l'absence de fibrose, d'inflammation locale et de réaction immunitaire agressive vis-à-vis de l'O<sub>2</sub>-BAP transplanté sans îlots chez des souris immunocompétentes. Puis, nous évaluerons l'efficacité de l'O<sub>2</sub>-BAP transplanté chez une souris immunodéficiente diabétique ; et enfin, nous validerons l'efficacité de l'O<sub>2</sub>-BAP chez la souris humanisée diabétique. Cette dernière situation correspond aux situations cliniques attendues : allogénique pour les îlots humains et xénogénique pour les îlots porcins.

Le résultat attendu principal est la preuve que l'O<sub>2</sub>-BAP permet de corriger un diabète avec une réaction immunitaire locale limitée. Nos résultats permettront de proposer une étude de phase I/II dans le diabète de type 1 avec des allo-îlots humains, après une phase préclinique chez le gros animal, et, à l'avenir, d'envisager un O<sub>2</sub>-BAP xénogénique comme solution complémentaire.

[Retour tableau](#)

Année: 2021

## Perfusion hypothermique oxygénée des transplants pancréatiques dans un modèle préclinique de DDAC contrôlé (MIII)

**BRANCHEREAU Julien** - Centre de Recherche en Transplantation et Immunologie (CRTI) - Institut de Transplantation Urologie Néphrologie (ITUN)

CHU de Nantes

30 boulevard Jean Monnet

44093 Nantes cedex 01

[Retour tableau](#)

### Résumé

Objectifs :

Le protocole français de donneurs décédés après arrêt circulatoire contrôlé (DDAC controlled-Maastricht III) offre d'excellents résultats en transplantation rénale et hépatique et a été ouvert récemment pour la transplantation pancréatique. La transplantation pancréatique est le traitement de choix du diabète instable. Le pancréas est un organe particulièrement sensible aux lésions d'ischémie reperfusion du fait de son anatomie et de sa physiologie. La technique actuelle de référence de préservation pancréatique demeure la conservation statique hypothermique.

L'objectif de ce travail est d'établir les modalités d'une technique innovante de préservation des transplants pancréatiques sur machine de perfusion hypothermique pulsatile avec oxygénation continue dans un modèle préclinique porcin de donneurs DDAC-MIII. L'objectif de cette perfusion est d'optimiser les conditions de préservation et donc de diminuer les thromboses veineuses et les pancréatites des transplants.

Résultats attendus :

La perfusion hypothermique oxygénée permettrait de limiter les lésions d'ischémie-reperfusion et d'améliorer la préservation des composantes exocrines et endocrines des transplants pancréatiques. L'ajout d'oxygène au cours de la perfusion permettrait de diminuer la glycolyse anaérobie et donc la production de lactate concomitante d'acidose. Les marqueurs de souffrance cellulaire (généraux/endocrines/exocrines) seraient diminués par cet ajout d'oxygène. Les paramètres de reperfusion (ici évalués en normothermie ex-situ) en seraient donc améliorés.

Méthodologie

Le modèle utilisé sera un modèle porcin de donneur DDAC-MIII avec prélèvement pancréatique après ischémique chaude de 30 minutes. Les transplants seront ensuite conservés selon différentes modalités d'oxygénation avec ou sans transporteur d'oxygène (conservation statique, n=2 / machine de perfusion

hypothermique (HMP), n=2 / HMP + O2 95%, n=4 / HMP + O2 21%, n=4 / HMP + O2 95% + M101, n=4 / HMP +O2 21% +M101, n = 4).

Les paramètres de perfusion et la pression partielle en oxygène intra-tissulaire (OxylitePro, Optronix) seront monitorées en continu lors de la préservation. Des prélèvements du liquide de conservation et des biopsies pancréatiques réalisés tout au long de la conservation permettront d'analyser des facteurs macroscopiques, histologiques, biochimiques et moléculaires de fonction et de souffrance des transplants.

Après 12 heures d'ischémie froide, les transplants pancréatiques seront re-perfusés en normothermie ex-situ (80 mmHg, 37°C, 25% hématocrite) avec évaluation de leur fonction endocrine et exocrine.

[Retour tableau](#)

Année: 2021

## Projet BKVIR : Prédiction du risque de survenue de la néphropathie à BKvirus par la méthode NEPHROVIR chez les patients transplantés rénaux avec virémie à BKvirus soutenue

**DEKEYSER Manon** - Inserm U1186 "Immunologie intégrative des tumeurs et immunothérapie"

Thématique : Ciblage thérapeutique des cellules T/médecine personnalisée

Hôpital Paul Brousse

[Retour tableau](#)

### Résumé

La néphropathie à BK-virus (Nx-BKv) est une complication majeure en transplantation rénale. Secondaire à la réplication du BK-virus (BKv) au sein du greffon rénal, elle touche près de 10% des patients et cause la perte du greffon dans plus de 50% des cas. Sans thérapeutique antivirale actuelle, le traitement consiste en une minimisation de l'immunosuppression, exposant secondairement le patient à un risque de rejet de greffe. L'altération de la réponse immune anti-BKv joue un rôle crucial dans la physiopathologie de la Nx-BKv. Plusieurs équipes, dont la nôtre, ont mis en évidence une altération profonde de la réponse cellulaire spécifique du BKv au cours des Nx-BKv.

Notre groupe de travail a développé la méthode NEPHROVIR. Cette méthode biologique non-invasive d'évaluation du risque de Nx-BKv est basée sur la combinaison innovante de différents biomarqueurs incluant la charge virale BKv, la réponse immune anti-BKv et la compatibilité HLA entre le donneur et le receveur du greffon rénal (brevet FR1855342). Basé sur le monitoring immunovirologique, notre méthode NEPHROVIR permet l'identification de 3 niveaux de risque de Nx-BKv : risque faible, intermédiaire et élevé.

L'objectif de ce travail est d'évaluer par la méthode NEPHROVIR le risque de développer une Nx-BKv avec retentissement rénal chez les patients transplantés rénaux avec virémie à BKv soutenue.

Nous proposons l'étude BKVIR. Il s'agit d'une étude multicentrique prospective prévoyant l'inclusion de 100 patients transplantés rénaux avec virémie à BKv soutenue. Quatre centres de transplantation rénale (hôpitaux APHP - Bicêtre, St Louis, Pitié Salpêtrière et H. Mondor) participeront à l'étude. Afin de s'assurer d'une virémie à BKv soutenue, seuls les patients transplantés rénaux ayant une charge virale plasmatique BKv  $\geq 103$  copies/ml confirmé sur 2 valeurs de PCR BKv sanguines consécutives pendant une durée  $\geq 1$  mois seront éligibles pour l'étude. Nous souhaitons corrélérer la survenue d'une Nx-BKv aux résultats de la méthode NEPHROVIR.

Le critère d'évaluation principal sera la survenue d'une Nx-BKv prouvée histologiquement associée à un retentissement rénal dans un délai maximal de 12 mois après la première évaluation par la méthode NEPHROVIR.

Les objectifs secondaires de ce travail sont multiples, incluant l'évaluation du délai de reconstitution de la réponse immune anti-BKv ; ainsi que l'évaluation du caractère pronostic de la réponse NEPHROVIR sur l'infection à BKv et sur la fonction du greffon rénal.

L'objectif de ce travail est d'évaluer la méthode NEPHROVIR comme une méthode innovante de surveillance immunovirologique de prédiction du risque de survenue de Nx-BKv. La caractérisation d'un tel niveau de risque pourrait permettre d'aider au suivi individualisé et à la gestion de l'immunosuppression des patients. L'objectif à terme serait de diagnostiquer très précocement, voire d'anticiper, la survenue d'une Nx-BKv ainsi que de permettre une réadaptation très précoce du traitement immunosuppresseur.

[Retour tableau](#)



**Année: 2021**

Etude des modalités de gestion du traitement immunosuppresseur et immunisation secondaire lors du retour en dialyse en transplantation rénale pédiatrique. Acronyme ISAGRAL (ImmunoSuppression After GRAft Loss and immunization)

**FILA Marc - DJOUADI Nabila** - Service de Néphrologie pédiatrique,  
Hôpital Arnaud De Villeneuve - MONTPELLIER

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'amélioration des techniques de chirurgie, de réanimation et le management des traitements immunosuppresseur ont permis l'accès à la greffe rénale à des patients de plus en plus jeunes avec comme conséquence une augmentation progressive du nombre de patients de retour en dialyse. Les données de la littérature dans la population adulte montrent que cette période retour en dialyse est associée avec un risque d'immunisation secondaire avec une diminution de l'accès à la greffe. A ce jour, aucune donnée n'est disponible sur le risque d'immunisation secondaire après retour en dialyse dans la population pédiatrique.

Cette étude, observationnel multicentrique, portera sur la cohorte nationale française de greffés rénaux pédiatriques avec perte de fonction du greffon avant l'âge de 18ans sur la période 2000 et 2019 avec comme objectif la mise en évidence de facteurs de risque d'immunisation secondaire. Une attention particulière sera portée sur la gestion du traitement immunosuppresseur sur la période considérée avec une étude comparative sur l'impact du sevrage en IS sur l'apparition d'anticorps anti HLA évaluée par le cPRA.

Ce travail pourra servir de base pour l'élaboration de recommandations/protocole au sein de la société de néphrologie pédiatrique.

[Retour tableau](#)



Année: 2021

## TRANSVAS : Facteurs de risque de Maladie Vasculaire Porto-Sinusoidale chez les transplantés rénaux: Etude cas-témoins.

**OLLIVIER-HOURMAND Isabelle - CHATELET Valérie** - Hépato-gastro-entérologie et Nutrition

Unité Inserm 1086 ANTICIPE (UCBN)

- CHU Caen

[Retour tableau](#)

### Résumé

#### Contexte

La Maladie Vasculaire Porto-Sinusoidale (MVPS) est une entité qui regroupe des maladies des petits vaisseaux du foie dont la plus commune est l'hyperplasie nodulaire régénérative (HNR). Les MVPS peut se compliquer d'hypertension portale (HTP). Une thrombose porte survient chez 1/3 des patients à 5 ans et la survie à 10 ans des patients ayant une HTP est de 56 à 82%. L'HNR a été décrite de novo dans les suites de 1 à 1,4% des transplantations hépatiques (TH) adultes, 8,2% des TH pédiatriques, et dans de très petites séries de transplantation rénale, cardiaques et de moelle osseuse. Sa prévalence est estimée à 0,5% après une greffe rénale. Plusieurs affections sont incriminées comme facteurs associés à la MVPS (infections, maladies dysimmunitaires ou de système, maladies hématologiques, états prothrombotiques, médicaments en particuliers l'azathioprine, maladies génétiques). En transplantation une origine vasculaire, médicamenteuse, virale, immunogénétique ou immunologique ont été suggérées mais aucune n'est bien étayée.

L'objectif principal de ce travail est de rechercher les facteurs d'exposition présents antérieurement à la survenue de la MVPS et pouvant conduire à la survenue de celle-ci dans les suites d'une transplantation rénale, et donc d'envisager l'identification de facteurs de risque (FDR), afin de prévenir ou dépister précocement des signes d'HTP chez des patients prédisposés et améliorer leur pronostic.

#### Méthode

Il s'agit d'une étude multicentrique rétrospective cas-témoins comparant des patients adultes transplantés rénaux ayant une MVPS de Novo avec ou sans hypertension portale, à des patients adultes transplantés rénaux sans arguments pour une MVPS appariés selon l'ancienneté de la greffe (( 2 ans), et à des patients adultes non greffés atteints de MVPS.

#### Sources des données :

Les greffés cas et témoins seront issus des services français de néphrologie/transplantation et d'hépatogastroentérologie/transplantation: Base de données CRISTAL et données des dossiers sources des patients.

Les témoins non greffés atteints de MVPS seront issus de la base de données du centre de référence des maladies vasculaires du foie de l'hôpital Beaujon.

[Retour tableau](#)

Année: 2022

## Facteurs génétiques associés à la virémie polyomavirus BK après transplantation rénale

**BRESSOLLETTE-BODIN Céline** - Equipe 1 MPIV

Centre de Recherche en Transplantation et Immunologie (CRTI) - Institut de Transplantation Urologie Néphrologie (ITUN)

CHU de Nantes

30 boulevard Jean Monnet

44093 Nantes cedex 01

[Retour tableau](#)

### Résumé

Les néphropathies à polyomavirus BK (NBKV), conséquence d'une multiplication intense de ce virus dans le greffon, surviennent chez 2 à 5% des transplantés de rein, majoritairement au cours des 2 premières années post-greffe. La surveillance de ces infections est basée sur la détection et la quantification du BKPyV dans le sang et les urines, afin de moduler le traitement immunosuppresseur lorsque la charge virale dépasse un seuil d'alerte dans le sang. Les facteurs de risque de réactivation sont multiples, associés au donneur, au receveur, à la greffe. Comme pour d'autres infections virales persistantes, le répertoire KIR récepteurs/ligands et les génotypes HLA pourraient être associés à un risque augmenté ou diminué vis à vis des formes sévères de ces infections.

Les chercheurs impliqués dans le projet ont généré récemment les données de génotypage de type GWAS pour plus de 1800 paires donneur-receveur des patients du CHU de Nantes inclus dans la cohorte DIVAT, constituant ainsi l'une des plus grandes cohortes de transplantation rénale avec des données longitudinales au monde. Notre équipe a également développé des stratégies de séquençage haut débit du génome du BKPyV, permettant d'identifier les mutations de substitutions qui sont sélectionnées au cours des infections prolongées, et qui pourraient contribuer à l'échappement à la réponse immunitaire.

Notre objectif est de contribuer à l'identification de facteurs génétiques de l'hôte et du virus associées à un risque élevé d'infection non contrôlée à BKPyV, pouvant conduire à la NBKV. Pour cela, le projet est organisé en deux parties : 1/ identification de marqueurs génétiques de l'hôte associés à une virémie prolongée et 2/ identification de marqueurs génétiques viraux associés à une pression de sélection immunitaire en cas de virémie prolongée.

Cette étude nous permettra dans un premier temps de confirmer ou d'infirmer l'association entre virémie prolongée ou NBKV et certains polymorphismes KIR/HLA. La taille de la cohorte DIVAT pour laquelle un génotypage des paires donneur/receveur a été réalisée est suffisamment grande pour obtenir des résultats solides. L'intégration des données de séquençage viral nous permettra de rechercher des signatures mutationnelles possiblement associées à un échappement immunitaire, ces mutations pouvant être prédictive de la réponse à la modulation du traitement immunosuppresseur. A terme, ces données pourront être intégrées dans un algorithme de suivi des patients transplantés afin d'optimiser la prise en charge de ces infections.

[Retour tableau](#)

**Année: 2022**

## Développement et Validation d'un score de marginalité du donneur de rein

**DANTAN Etienne** - INSERM 1246 – SPHERE

IRS2, 22 boulevard Bénoni Goullin, 44200 Nantes

[Retour tableau](#)

### Résumé

Face à la pénurie de greffon en transplantation rénale, l'identification de donneurs marginaux constitue une piste de réflexion vers de nouvelles sources de greffons. En 2002, la marginalisation du donneur a été définie aux Etats-Unis par le critère Expanded Criteria Donor (ECD), dont une revue systématique de la littérature avait mis en évidence l'absence de validation en France. Dans une étude française récente, ce critère apparaît associé à un excès de risque d'échec de greffe bien moindre que celui estimé aux Etats-Unis. Récemment, le Kidney Donor Risk Index (KDRI) a été proposé aux Etats-Unis comme indicateur de la qualité d'un greffon. Toutefois, dans une étude française récente, ce critère ne présente pas des capacités discriminantes suffisantes pour être considéré comme valide pour qualifier la marginalité du greffon.

L'objectif principal de ce projet est de développer et valider un score de marginalité du donneur de rein. Il s'agira de proposer un score donneur à partir des caractéristiques du donneur qui soient propres aux spécificités de la population française de patients transplantés rénaux. Par ailleurs, une étude des interactions entre les caractéristiques du donneur et celles du receveur sera réalisée pour essayer de déterminer la combinaison optimale entre les caractéristiques du donneur et du receveur pour une optimisation des chances de survie de la greffe rénale.

La cohorte française observationnelle DIVAT regroupe les données nécessaires à l'étude de la survie du patient transplanté rénal. Les critères d'inclusion sont les suivants : patients adultes recevant une première greffe de rein d'un donneur décédé ABO compatible et transplantés entre 2000 et 2021. Le critère de jugement principal est l'échec de greffe défini comme le délai de survenue d'un retour en dialyse, d'une retransplantation ou d'un décès avec un greffon fonctionnel.

Une analyse de survie permettra d'identifier les caractéristiques du donneur associées au risque d'échec de greffe indépendamment des caractéristiques du receveur. Cette analyse de survie sera complétée par une étude des performances pronostiques du score donneur afin de confirmer l'intérêt de ce score de marginalité dans les règles d'attribution des greffons. L'une des hypothèses de ce projet est de s'intéresser à la marginalité du donneur relativement au receveur. L'étude des interactions entre les caractéristiques du donneur et celles du receveur pourrait permettre l'identification de receveurs pour lesquelles l'attribution de greffons issus de donneurs marginaux ne constitue pas une perte de chance de survie de greffe rénale. Par exemple, les greffons avec un score donneur élevé semblant avoir des survies inférieures à ceux ayant un score donneur faible pourrait être attribué en priorité à des receveurs âgés.

[Retour tableau](#)

**Année: 2022**

## Effet de la greffe d'îlots sur l'incidence des complications du diabète et sur la mortalité des patients diabétiques de type 1

**LABLANCHE Sandrine** - Service de Diabétologie/Endocrinologie, Pavillon les Ecrins, CHU Grenoble Alpes, 38000 Grenoble, France

[Retour tableau](#)

### Résumé

Objectifs : L'objectif principal de ce travail est d'étudier l'impact de la greffe d'îlots sur le délai de survenue d'évènements cliniquement significatifs (décès, mise en dialyse, amputation...). Les objectifs secondaires sont d'étudier la survenue de complications ophtalmologiques nécessitant le recours à un traitement par pan-photocoagulation et la survenue de cancers dans la population de patients diabétiques de type 1 greffés d'îlots. Ces données seront comparées à celles issues d'un groupe synthétique.

Résultats Attendus : La cohorte française de patients greffés d'îlots entre 2003 et 2016 comprend plus de 100 patients, sur 8 centres. Cette étude nous permettra d'obtenir pour la première fois des données de suivi de morbi-mortalité à long terme et les comparer à des patients diabétiques de type 1 non greffés. Nous pourrions alors démontrer, en plus du bénéfice à court et moyen terme (5 à 10ans) de la greffe d'îlots, le bénéfice clinique à long terme de la greffe d'îlots sur des critères cliniques durs tels que : le décès, la mise en dialyse, les évènements cardiovasculaires et l'amputation.

### Méthodologie :

Il s'agit d'une étude contrôlée en externe comparant les résultats à long terme des patients inclus dans la cohorte française de patients greffés d'îlots à ceux de témoins inclus dans une autre base de données nationale. Plus précisément, nous utiliserons l'approche du groupe synthétique afin d'avoir un groupe témoin aussi proche que possible des patients greffés de notre cohorte. Cependant, plusieurs problèmes doivent être pris en compte lors de l'utilisation de contrôles externes, y compris l'approche du groupe synthétique. Nous proposons donc de prendre les mesures suivantes pour le contrôle synthétique :

Source de données du contrôle externe :

Les patients seront sélectionnés à partir d'une cohorte de suivi à long terme de haute qualité, à l'échelle nationale, représentative de la population française (SNDS).

Les caractéristiques des patients inclus seront similaires à celles des essais en appliquant les mêmes critères d'inclusion.

La période de recrutement sera similaire.

Les résultats seront enregistrés de manière similaire, en utilisant la même structure de base de données.

Méthode de contrôle synthétique :

Le groupe témoin sera au moins de la même taille que l'essai à un seul bras. La base de données comprend actuellement 1/97ème de la population française. Si possible, nous pouvons augmenter la taille de l'échantillon du contrôle synthétique pour augmenter la puissance et réduire la taille de l'échantillon de l'essai.

Le bras synthétique sera créé en utilisant la pondération par probabilité inverse de traitement (IPTW), une méthode basée sur le calcul du score de propension (PS).

Des analyses de sensibilité seront menées en utilisant d'autres approches, telles que la stratification du PS ou l'ajustement du PS, pour évaluer la robustesse de la méthode.



Année: 2022

## Analyse protéomique de la modulation du système du complément au cours du rejet humoral en transplantation rénale par spectrométrie de masse

**MERVILLE Pierre** - ImmunoConcEpT - CNRS UMR 5164 – Université de Bordeaux

Site de Carreire, Zone Nord, Bâtiment 1B

146, rue Léo Saignat

33076 Bordeaux Cedex – France

[Retour tableau](#)

### Résumé

Le rejet humoral (RH) constitue la principale cause de perte du greffon rénal. Sa physiopathologie implique des anticorps spécifiques du donneur (DSA) qui interagissent avec l'endothélium du greffon et activent la cascade immunologique, à l'origine de la détérioration de fonction du greffon. Les mécanismes moléculaires impliqués sont décrits comme médiés ou non par le complément, en fonction de la présence histologique de dépôts de C4d sur les capillaires péri-tubulaires et/ou de la capacité des DSA à fixer le C1q ou le C3d in vitro. Cependant ces éléments ne semblent pas refléter l'exhaustivité de la modulation du complément intra-greffon, comme l'illustre la disparité d'efficacité des inhibiteurs du complément dans le traitement du RH.

Au cours d'une étude antérieure, nous avons décrit les modifications du protéome glomérulaire du RH actif. Le profil protéique global retrouvait une implication seulement modeste des protéines du complément. De façon intéressante, une hétérogénéité importante était retrouvée suivant les cas, s'inscrivant dans des profils différents de modulation du complément.

L'objectif principal de cette étude est de caractériser et décrire l'hétérogénéité des profils protéiques de modulation du système du complément sur une cohorte de RH actifs en transplantation rénale et d'identifier des profils-types, avec analyse différenciée des compartiments glomérulaire et tubulo-interstitiel. L'étude de l'association entre le statut C4d en immunohistochimie, l'intensité moyenne de fluorescence (MFI) des DSA, leur capacité à fixer le C1q ou le C3d in vitro avec les modulations du complément intra-greffon constitue un des objectifs secondaires.

Il s'agit d'une étude descriptive transversale à composante physiopathologique, avec inclusion bicentrique (CHU de Bordeaux et Hospices Civils de Lyon) rétrospective. Deux groupes d'inclusion sont prévus : RH actif (n=30) et greffé stable sans lésion spécifique (n=10). Pour chaque patient inclus, les biopsies de greffon fixées en formol seront analysées par spectrométrie de masse ciblée, avec optimisation de la détection des protéines du complément via une liste d'inclusion dédiée. Les compartiments glomérulaire et tubulo-interstitiel seront préalablement isolés par microdissection laser. La quantification protéique sera de type label-free. L'hétérogénéité des profils protéiques dans la modulation du système du complément sera étudiée au moyen d'analyses statistiques descriptives non supervisées et d'algorithmes de classification automatique. Les profils-types identifiés seront secondairement validés en immunohistochimie.

Des données protéiques large-spectre de la modulation du complément au cours du RH actif sont un prérequis indispensable à une meilleure compréhension physiopathologique des mécanismes moléculaires impliqués, à l'ère de la renaissance des thérapies inhibitrices du complément en transplantation, impliquées dans de nombreux essais cliniques aux résultats disparates.

[Retour tableau](#)





**Année: 2022**

## Cartographie du paysage cellulaire associé au rejet médié par les lymphocytes T en utilisant le RNAseq à l'échelle cellulaire.

**VILLE Simon** - Centre de Recherche en Transplantation et Immunologie (CRTI) – UMR 1064 (Inserm/ Université de Nantes)

Institut de Transplantation Urologie Néphrologie (ITUN)

CHU de Nantes

30 boulevard Jean Monnet

44093 Nantes cedex 01

[Retour tableau](#)

### Résumé

Il est essentiel d'améliorer la survie à long terme des greffons rénaux. Alors que le rejet médié par les lymphocytes T (TCMR) était considéré comme impactant peu la survie des greffons, des données émergentes ont montré qu'il favorise le développement d'anticorps anti-donneur et d'infiltrats cellulaires dans les zones de fibrose (appelés i-IFTA), tous deux associés à la perte du greffon. Ces récents développements soulignent la nécessité de déchiffrer la physiopathologie du TCMR et d'explorer les processus immunologiques qui se produisent dans les zones de fibrose inflammatoire, qui pourraient former une niche unique favorisant l'expansion de clones allogéniques de cellules T et B et ainsi altérer le greffon. L'analyse transcriptionnelle appliquée aux biopsies de transplant rénal a permis de mieux définir des signatures moléculaires pour chaque type de rejet, mais, la limite de cette approche est que les techniques conventionnelles décrivent l'activité transcriptionnelle à l'échelle du tissu (bulkRNAseq) ce qui ne permet pas d'approfondir des aspects mécanistiques. Le single cell RNAseq (scRNAseq) rend maintenant cela possible à l'échelle cellulaire. Le but de notre projet est d'utiliser, sur des biopsies de greffon rénal et des échantillons de sang prélevés concomitamment, cette technologie de pointe associée au séquençage des récepteurs des cellules T et des cellules B (scTCR/BCRseq) ainsi qu'à des analyses transcriptomiques spatiales de confirmation, afin de cartographier le paysage cellulaire des reins rejetés avec et sans i-IFTA. Des biopsies rénales protocolaires (3 mois et 12 mois post-transplantation) ainsi que pour cause, ont été collectées de façon prospective à cette fin. Nous évaluerons n=3 patients greffés avec une biopsie « normale » (contrôle), n=3 ayant une TCMR sans signe d'i-IFTA, et n=3 ayant un CA TCMR (i-IFTA). L'analyse par scRNAseq permettra d'identifier de façon non biaisée, pour chaque condition les types cellulaires, leurs interactions (analyse ligand récepteur), des mécanismes effecteurs pouvant conduire à la perte du greffon et d'établir des comparaisons entre les différentes conditions. De plus, nous évaluerons les séquences BCR et TCR dans les biopsies et le sang pour déterminer si des clones spécifiques sont développés dans le rein pendant la TCMR et détectable en périphérie. Enfin nous chercherons à confirmer nos résultats au moyen de transcriptomique spatiale. Ce projet constituera une ressource importante, en révélant les événements cellulaires et moléculaires sous-jacents qui peuvent contrôler le résultat de la greffe après un TCMR et déterminer la réponse aux traitements.

[Retour tableau](#)

Année: 2023

## Evaluation morphométrique de la qualité du greffon rénal

**DROUIN Sarah** - Service Médico-Chirurgical de Transplantation Rénale, Hôpital Pitié-Salpêtrière

[Retour tableau](#)

### Résumé

Objectifs :

La transplantation rénale est le traitement de référence de l'insuffisance rénale chronique terminale. En raison du manque de greffons, la sélection des donneurs a été élargie aux donneurs ayant un débit de filtration glomérulaire (DFG) diminué. Cette stratégie améliore l'accès à la transplantation, mais au prix d'un risque d'échec de transplantation majoré. Nous avons montré que, chez le donneur vivant (sans comorbidités), le volume rénal mesuré par morphométrie automatisée sur un scanner est un facteur fortement et indépendamment associé à la réserve fonctionnelle rénale à un an, y compris chez les donneurs ayant une diminution du débit de filtration glomérulaire liée à l'âge.

Résultats attendus :

Nous faisons l'hypothèse que la morphométrie rénale du donneur sur un scanner améliore la prédiction de la fonction du greffon rénal à terme, de manière plus sensible que le DFG au moment du prélèvement. Ce paramètre pourrait éviter le refus par excès de greffons rénaux, et pourrait aussi améliorer l'estimation du ratio bénéfique/risque chez les donneurs à critères élargis ayant un DFG diminué au moment du prélèvement. Ce projet permettra aussi d'initier les démarches pour la création d'une base de donnée nationale incorporant les caractéristiques clinico-biologiques du donneur et les images radiologiques. Cette base devrait permettre la création de critères prédictifs et l'utilisation de l'intelligence artificielle afin de guider l'appariement donneur/receveur et améliorer les résultats de la transplantation rénale.

Méthodologie :

Nous incluons tous les donneurs décédés de mort encéphalique potentiels évalués à l'Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, ayant un scanner disponible et ayant fait l'objet d'au moins une proposition de greffon rénal par l'Agence de Biomédecine entre le 01/01/2015 et le 31/12/2019. Le volume des reins et l'index cortico-médullaire (épaisseur corticale/ épaisseur totale) mesuré en 3 points (tiers supérieur, médian et inférieur) seront relevés sur le scanner pré-don.

Les données morphométriques seront transférées à l'Agence de Biomédecine pour être intégrées à la base CRISTAL et anonymisées en y associant les items connus pour être associés à la fonction du greffon rénal. Le critère de jugement sera le débit de filtration glomérulaire à un an (estimé par la formule du CKD-EPI), si au moins un rein est transplanté. Les autres critères de jugement secondaires seront le nombre de reins transplantés pour un donneur en particulier (0, 1 ou 2), la réserve rénale du receveur un an après la greffe, estimée à partir de son âge et du DFG à 3 et 12 mois après la greffe. Nous étudierons l'association du volume rénal et de l'index cortico-médullaire avec nos critères de jugement prédéfinis, et les incluons dans une analyse multivariée avec les facteurs prédictifs de la fonction à long terme du greffon rénal. Enfin, nous construirons un algorithme de prédiction pour estimer la probabilité de perte de fonction du greffon rénal dépendant des caractéristiques du donneur

[Retour tableau](#)

**Année: 2023**

## Retarder le prélèvement d'organes après arrêt cardiaque récupéré : effets sur le rein et le foie

**GALICHON Pierre** - CoRaKID - Maladies Rénales Fréquentes et Rares INSERM UMR\_S1155 - Hôpital Tenon

[Retour tableau](#)

### Résumé

**OBJECTIFS.** L'arrêt cardiaque pendant la réanimation survient chez 30% des donneurs en état de mort encéphalique. Étonnamment, un arrêt cardiaque récupéré (ACR) n'est pas associé à un pronostic défavorable de la fonction du greffon rénal, il est même favorable pour la fonction du greffon hépatique. Cependant, grâce à une étude en cours à partir des données nationales de CRISTAL, nous avons récemment découvert que prélever les reins rapidement (dans les 3 jours) après l'arrêt cardiaque est un facteur de risque indépendant de reprise retardée de fonction du greffon. Ce paramètre étant modifiable, nous souhaitons tester l'hypothèse que la qualité des greffons rénaux et hépatiques pourrait être optimisée en prenant en compte le délai entre la dernière agression et le prélèvement.

**RESULTATS ATTENDUS.** Si nous montrons qu'éviter de prélever les organes pendant la période de réparation après agression (par temporisation ou traitement pharmacologique) permet d'améliorer la fonction du greffon, nous proposerons de l'intégrer dans les recommandations de prise en charge des donneurs. Cela pourrait améliorer l'offre de transplantation en augmentant le nombre de greffons utilisables, en diminuant la durée et le coût des hospitalisations initiales pour greffe, et en prolongeant la durée de vie des greffons.

**METHODOLOGIE.** Pour tester cette hypothèse, nous souhaitons :

- 1) analyser les données de CRISTAL sur les greffons rénaux et hépatiques afin de s'assurer que le prélèvement plus de 3 jours après l'ACR est protecteur pour le rein et non-délétère pour le foie. Le critère de jugement principal sera la reprise retardée de fonction pour le rein et la survie sans complication artérielle ou biliaire à 1 an (ABC free survival) pour le foie. Les critères secondaires seront, pour la greffe rénale, la survie à un an et, pour la greffe hépatique la durée de séjour en réanimation et le score de dysfonction précoce (EAD).
- 2) analyser les anomalies histologiques (trichrome de Masson) et le processus de réparation (immunohistochimie Ki67) dans les biopsies préimplantatoires rénales et post-reperfusion hépatiques provenant de donneurs avec arrêt cardiaque récupéré. La causalité de la prolifération dans le sur-risque de reprise retardée de fonction associé au prélèvement précoce après arrêt cardiaque sera estimée par la méthode des réseaux bayésiens de causalité.
- 3) Etablir le lien causal entre l'intervalle de temps entre ACR et prélèvement du greffon et l'intensité des lésions et tester des approches thérapeutiques, en utilisant le modèle expérimental que nous avons mis au point chez la souris pour reproduire les deux ischémies causées par l'arrêt cardiaque du donneur et la transplantation.

[Retour tableau](#)

**Année: 2023**

## Évaluation métabolique in vitro des îlots de Langerhans isolés dans le traitement du diabète de type 1 : développement d'une chambre de perfusion 2.0

**GMYR valéry** - Laboratoire de recherche translationnelle sur le diabète, INSERM U1190 -Lille

[Retour tableau](#)

### Résumé

Objectifs : L'allogreffe des îlots de Langerhans (IL) est une alternative thérapeutique du diabète de type 1 chez des patients souffrant d'hypoglycémies sévères non ressenties et/ou diabète déséquilibré. Cette thérapie cellulaire qui restaure une sécrétion insulinaire endogène permet un équilibre glycémique durable et restaure les complications micro et macro-vasculaires chroniques induites par un environnement hyperglycémique. Bien que cette thérapie soit aujourd'hui une réalité, la technique d'isolement ainsi que la qualité du pancréas restent les freins majeurs qui ont un impact direct sur la rentabilité du processus d'isolement des îlots. Le rendement de l'isolement et la qualité de la préparation cellulaire va donc conditionner l'accès à la greffe, c'est pourquoi aujourd'hui seulement 30% des isollements de pancréas peuvent aboutir à une allogreffe. Dans ce projet nous sommes principalement intéressés à l'évaluation métabolique des IL post-isolement. Actuellement, l'analyse la plus utilisée pour mesurer la capacité de sécrétion insulinaire des préparations cellulaires endocrines est la stimulation induite par le glucose, cette stimulation pouvant être réalisée de façon statique ou dynamique. Bien que ces techniques se sont raffinées avec le temps aucune ne permet, aujourd'hui, de corréliser la qualité de la préparation greffée à la survie et au devenir du greffon. L'objectif ce projet est de développer un outil, qui réponde aux attentes des cliniciens, afin de pouvoir évaluer conjointement la sécrétion des hormones pancréatiques associée à d'autres paramètres métaboliques lors d'une stimulation physiologique in vitro d'îlots de Langerhans destinés à la greffe. Méthodologie : En collaboration avec le laboratoire SAGE (Sciences de l'Atmosphère et Génie de l'Environnement) et le FabLab de l'IMT Lille-Douai nous intégrerons dans nos chambres de perfusion des biocapteurs afin d'évaluer en continue la consommation d'oxygène, les variations ioniques, la concentration de glucose lors d'une stimulation hormonales induites par des sécrétagogues. Ces chambres seront réalisées en utilisant toute la chaîne de conception du dessin 3D (SOLIDWORKS de Dassault System) utilisant la découpe laser et l'impression 3D. Les tests cellulaires seront réalisés dans l'unité U1190, qui réalise déjà environ 60 isollements d'îlots de Langerhans par an en parallèle aux protocoles cliniques d'évaluation déjà en place.

Cette forte collaboration entre la recherche clinique et l'ingénierie devrait permettre le développement de nouvelles voies d'exploration dans le traitement des thérapies cellulaires du diabète.

[Retour tableau](#)

Année: 2023

## Rôle de l'angiotensine II dans le développement de lésions thrombotiques et inflammatoires en transplantation pancréatique

MASSET Christophe - CR2TI - ITUN -CHU de Nantes

[Retour tableau](#)

### Résumé

L'échec précoce de transplantation pancréatique par thrombose est une complication survenant dans 10 à 15% des cas, responsable d'une comorbidité majeure. Nous avons récemment montré un surrisque thrombotique lors de greffes provenant de donneurs hypertendus (HR = 2.43 ; 95CI [1.32 ; 4.49] ; p= 0.0044).

Nous faisons l'hypothèse que l'angiotensine II (AngII) est impliquée dans le risque thrombotique de la greffe pancréatique. Nous utiliserons pour ce projet des prélèvements issus de la biocollection DIVAT, ainsi que des prélèvements issus de la biocollection tissulaire, cellulaire et plasmatique de donneurs décédés (prélèvements à visée scientifique).

#### Echelle cellulaire :

Effets de l'AngII sur la cellule endothéliale pancréatique. Les cellules seront soumises à différentes conditions de stimulation (TNF $\alpha$ , IL6, IL1 $\beta$ , IL8, C3a, C5a, hypoxie) en présence ou non d'AngII. Le phénotype pro-thrombotique et inflammatoire sera analysé, et comparé à celui de cellules endothéliales glomérulaires soumises aux mêmes conditions expérimentales. Les expériences seront répétées en comparant des cellules endothéliales primaires provenant de donneurs décédés hypertendus ou non, au préalable isolées et cultivées. Enfin, les effets d'une stimulation par plasma de donneurs décédés, hypertendus ou non et décédés de mort encéphalique ou arrêt cardiaque contrôlé sera évalué.

#### Echelle histologique :

Analyse des tissus pancréatiques thrombosés. Les tissus provenant de greffe pancréatiques thrombosées seront réanalysés en recherchant des signes d'inflammation vasculaire (endothélite). Aux marquages usuels (complément, IgG) seront associés des marquages spécifiques en lien avec nos résultats cellulaires (AT1R, C3aR etc.). Ces données seront confirmées sur une cohorte externe de tissus pancréatiques thrombosés et sur une série de biopsies pré-implantatoires réalisées avant isolation des îlots, via une coopération du réseau TREPID. Enfin, une étude transcriptomique tissulaire sera réalisée sur les tissus thrombosés et leurs contrôles, mais aussi sur les tissus parenchymateux et vasculaires issus de donneurs décédés (prélèvements à visée scientifique).

#### Echelle moléculaire :

Facteurs immunologiques et thrombotiques prédisposants. Nos résultats préliminaires ont montré une augmentation du risque thrombotique chez les receveurs ayant des anticorps anti-AT1R (AT1R-AA). L'ensemble de la biocollection DIVAT sera exploitée (n = 302) pour confirmer ces résultats. Par ailleurs, nous évaluerons aussi de larges panels inflammatoires et thrombotiques plasmatiques (LegendPlex) chez

les receveurs ; qui seront ensuite corrélées à la survie pancréatique et la survenue de thromboses. Des analyses similaires seront réalisées sur le plasma des donneurs décédés.

Echelle physiologique :

Effet des tensions de cisaillement (shear stress) à travers un modèle pré-clinique de perfusion pancréatique normothermique (NRP) porcine. L'utilisation de la NRP a été démontrée comme un modèle satisfaisant pour l'évaluation ex-vivo des greffons pancréatiques. Des pancréas porcins seront soumis à une NRP à pression standard ou à haute pression pendant 12h. Par la suite, les greffons seront prélevés et exposés à une période d'ischémie froide (Cold Storage vs perfusion hypothermique). Les pancréas seront ensuite reperfusés en NRP ex-vivo afin de simuler une situation d'ischémie/reperfusion. De multiples évaluations vasculaires (doppler, diffusion de l'O<sub>2</sub>) et histologiques seront réalisées.

[Retour tableau](#)

**Année: 2023**

## Acyl-CoA Synthetase Long Chain Family Member 4 (ACSL4) est un vecteur de la progression des lésions chroniques de l'allogreffe rénale

**PALLET Nicolas** - Centre de Recherche des Cordeliers- INSERM UMRS1138 - Paris

[Retour tableau](#)

### Résumé

#### Objectif.

Nous allons mettre en évidence le rôle de Acyl-CoA Synthetase Long Chain family member 4 (ACSL4) dans la progression des lésions chroniques de l'allogreffe rénale. ACSL4 métabolise les acides gras polyinsaturés à longue chaîne et enrichit les membranes cellulaires avec des phospholipides sensibles à la peroxydation lipidique. Notre hypothèse est que ACSL4 est activée par les cellules tubulaires proximales dans un microenvironnement pro-inflammatoire susceptible d'activer la signalisation STAT3 et de participer à la progression des lésions chroniques. Une fois activée, ACSL4 va remodeler la composition phospholipidique des membranes avec l'incorporation d'acides gras polyinsaturés à longue chaîne qui rendra les membranes cellulaires plus sensibles à la ferroptose, éventuellement déclenchée à l'occasion d'épisodes toxiques ou ischémiques.

Nos objectifs sont:

- (1) déterminer les mécanismes sous-jacents à l'expression d'ACSL4 dans les cellules tubulaires proximales;
- (2) caractériser les mécanismes par lesquels ACSL4 affecte la progression des lésions rénales chroniques;
- (3) tester si la détection de l'expression d'ACSL4 dans des biopsies de transplant rénal a une valeur pronostique;
- (4) aborder l'aspect thérapeutique de l'inhibition d'ACSL4.

Méthodologie et résultats attendus.

Nous allons combiner des approches de biologie moléculaire et cellulaire, lipidomiques et transcriptomiques avec des modèles murins de transition vers des lésions chroniques après ischémie-reperfusion et des cohortes de patients transplantés rénaux pour caractériser la contribution de ACSL4 à la progression de la néphropathie chronique du transplant. Les conséquences biologiques et cliniques de notre étude sont considérables. Nous allons mettre en évidence pour la première fois un lien entre la signalisation STAT3 à la ferroptose. Nos résultats pourront expliquer pourquoi l'existence de lésions rénales chroniques est un facteur de risque d'insuffisance rénale aigue, car les capacités de résistance au stress cellulaire du tubule proximal sont réduites. Nous allons apporter la preuve que l'expression d'ACSL4 dans le rein aidera à identifier des candidats pour une thérapie spécifique inhibant ACSL4. Enfin, nous allons caractériser de nouveaux inhibiteurs spécifiques d'ACSL4, qui pourraient à terme améliorer la prise en charge des patients transplantés rénaux.

[Retour tableau](#)



Année: 2023

## Signature transcriptomique spatiale de l'inflammation de la microcirculation au cours du rejet humoral du greffon rénal

**RABANT Marion** - Laboratoire d'Anatomopathologie

Hôpital Necker Enfants Malades

[Retour tableau](#)

### Résumé

Introduction :

Le rejet humoral du greffon rénal (ABMR) est caractérisé par la présence de cellules inflammatoires dans la microcirculation du greffon, avec différents types de cellules inflammatoires impliquées (lymphocytes T, macrophages, cellules NK,...). Il est fréquemment causé par la présence d'anticorps spécifiques du donneur (DSA) dirigés contre les molécules HLA, mais peut également survenir en l'absence de DSA anti-HLA, avec des mécanismes encore imparfaitement compris : anticorps non-HLA, cytotoxicité cellulaire dépendant des anticorps (ADCC), « missing-self ». L'histologie et les techniques de transcriptomique globale ne permettent pas à ce jour d'établir de différence entre ces mécanismes. Une technique de cross-match (XM) endothélial mise au point dans notre laboratoire permet de mettre en évidence la présence d'anticorps non-HLA dirigés contre la cellule endothéliale chez des patients avec rejet humoral sans DSA anti-HLA.

Hypothèse : Nous faisons l'hypothèse que l'étude in situ du transcriptome de la microcirculation par technique de transcriptomique spatiale au cours d'ABMR de différents mécanismes (DSA anti-HLA positifs, DSA anti-HLA négatifs et XM endothélial positif, DSA anti-HLA négatifs et XM endothélial négatif) pourrait permettre de mieux comprendre la physiopathologie du rejet humoral.

Objectifs : Le premier objectif est d'étudier la signature transcriptomique de la microcirculation au cours de l'ABMR par technique de transcriptomique spatiale (GeoMx, Nanostring®), appliquée sur des biopsies de greffon rénal et de la corréliser à une analyse phénotypique in situ des cellules inflammatoires par immunofluorescence multiplex. Le second objectif sera de comparer ces signatures au cours de rejets humoraux de mécanismes physiopathologiques différents. Enfin, cette technique permettra de comparer la signature moléculaire de la microcirculation glomérulaire de celle des capillaires péri-tubulaires.

Résultats attendus :

Cette étude permettra de comprendre de façon précise et spatiale les mécanismes et voies impliqués dans la microcirculation au cours du rejet humoral et de comparer les signatures moléculaires et les types cellulaires impliqués en fonction des différents mécanismes d'ABMR.

Méthodologie :

Trente-deux biopsies de greffon rénal seront sélectionnées dont 4 biopsies normales. Les biopsies d'intérêt seront divisées en 6 biopsies d'ABMR DSA (+) XM (-), 6 biopsies d'ABMR DSA+ XM endothélial (+), 6 biopsies d'ABMR DSA (-) XM endothélial (+), 6 biopsies d'ABMR DSA (-) XM endothélial (-), et 4 biopsies d'ABMR chronique (cg  $\geq$ 2). La technique de transcriptomique spatiale de la microcirculation glomérulaire et capillaire péri-tubulaire, délimitée par un marquage endothélial CD34+ sera réalisée avec séquençage par NGS des zones d'intérêt sur l'ensemble des biopsies. Parallèlement, une technique d'immunofluorescence multiplex sera réalisée sur l'ensemble des biopsies avec l'étude des lymphocytes T CD3+, lymphocytes B CD20+, cellules NK NkP46+, macrophages M1 CD68+CD206- et macrophages M2 CD68+ CD206+, avec un marquage endothélial CD34 pour localiser les cellules.

[Retour tableau](#)

Année: 2023

## Activation monocyttaire induite par un mésappariement SIRP $\alpha$ -CD47 : extension du cadre des rejets « innés » en transplantation?

**THAUNAT Olivier** - Equipe NOPAB-CIRI

INSERM U1111 – CNRS UMR5308

Université Lyon 1, ENS de Lyon

[Retour tableau](#)

### Résumé

Malgré le développement d'immunosuppresseurs capables de bloquer l'activation lymphocytaire, la survie au long cours des greffons reste limitée par le développement de lésions de rejet chronique. Ces données suggèrent que d'autres mécanismes immunologiques, indépendants du système immunitaire adaptatif, pourraient exister.

Notre consortium a récemment identifié un nouveau type de rejet inné dans un modèle expérimental de transplantation murin. L'existence d'un polymorphisme de la protéine SIRP $\alpha$  (exprimée par les monocytes) peut être à l'origine d'un mésappariement entre donneur et receveur, qui induit une activation des monocytes et un rejet du greffon.

Sur la base de ces résultats expérimentaux et de données préliminaires non publiées du consortium, démontrant l'existence d'un polymorphisme de la protéine SIRP $\alpha$  chez l'homme influant sur sa capacité à se lier à son ligand ubiquitaire CD47, nous proposons dans ce projet de recherche translationnelle de : i) tester l'hypothèse que ce mécanisme moléculaire de mésappariement de SIRP $\alpha$ /CD47 suffit à induire l'activation de monocytes humains dans des modèles de co-cultures, et ii) par des approches de scRNA sequencing et de cytométrie d'image exclusive, d'identifier les voies de signalisation impliquées dans ce processus afin de déterminer si elles peuvent être ciblées sur le plan thérapeutique.

Enfin, en nous appuyant sur nos larges cohortes de patients transplantés rénaux parfaitement phénotypés (pour lesquels nous disposons d'échantillons dans notre biocollection : PBMC et biopsies), nous déterminerons si le mésappariement SIRP $\alpha$ /CD47 est une variable indépendante associée à iii) la perte du greffon et à iv) l'apparition de lésions histologiques que nous caractériserons plus finement par des techniques d'histologie classiques et de protéomique/transcriptomique spatiales maîtrisées par l'équipe.

[Retour tableau](#)

